



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201311723 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：101118857

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 05 月 25 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P29/00 (2006.01)

A61P37/00 (2006.01)

(30)優先權：2011/05/25 美國

61/489,806

(71)申請人：天賜製藥公司(法國) INNATE PHARMA SA (FR)

法國

(72)發明人：羅馬吉 法蘭斯可 ROMAGNE, FRANCOIS (FR)；安卓 帕斯卡 ANDRE,

PASCALE (FR)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：118 項 圖式數：2 共 398 頁

(54)名稱

治療發炎及自體免疫疾病之抗-K I R 抗體

ANTI-KIR ANTIBODIES FOR THE TREATMENT OF INFLAMMATORY AND AUTOIMMUNE DISORDERS

(57)摘要

本發明係關於抑制 KIR2DL1、KIR2DL2 及/或 KIR2DL3 多肽之化合物，其包含中和 NK 細胞抑制性受體之化合物(例如抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及/或抗-KIR2DL3 抗體)；以及使用該等化合物及含有該等化合物之組合物治療及預防發炎或自體免疫病症的方法。

接受者小鼠：KIR2DL3 tg B6，PBMC，40小時

■ 1-7F9 (300µg) □ 未經處理

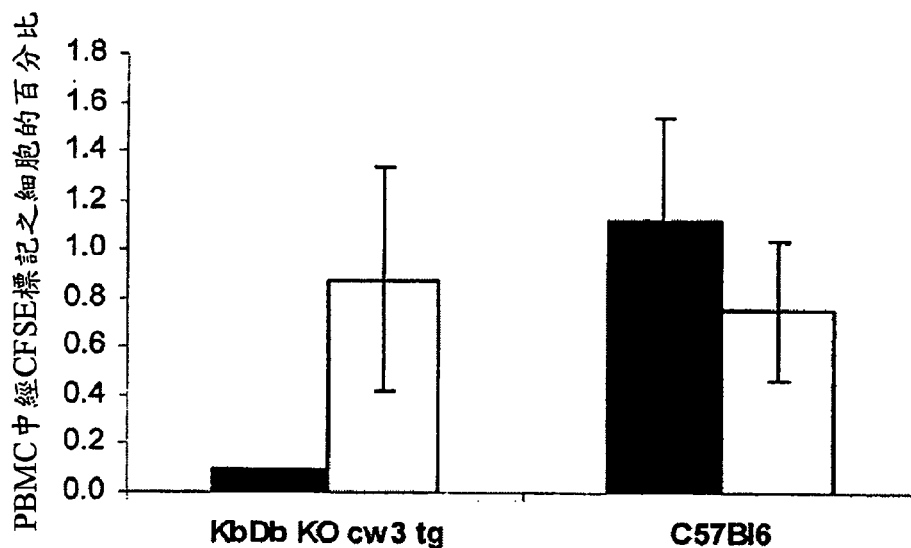


圖 1A

接受者小鼠：KIR2DL3 tg B6，脾，40小時
■ 1-7F9 (300µg) □ 未經處理

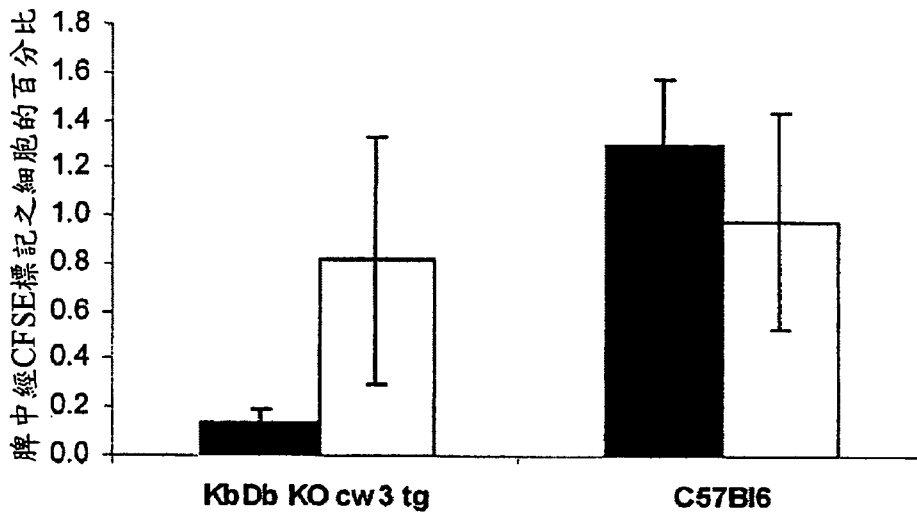


圖1B



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201311723 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：101118857

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 05 月 25 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P29/00 (2006.01)

A61P37/00 (2006.01)

(30)優先權：2011/05/25 美國

61/489,806

(71)申請人：天賜製藥公司(法國) INNATE PHARMA SA (FR)

法國

(72)發明人：羅馬吉 法蘭斯可 ROMAGNE, FRANCOIS (FR)；安卓 帕斯卡 ANDRE,

PASCALE (FR)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：118 項 圖式數：2 共 398 頁

(54)名稱

治療發炎及自體免疫疾病之抗-K I R 抗體

ANTI-KIR ANTIBODIES FOR THE TREATMENT OF INFLAMMATORY AND AUTOIMMUNE DISORDERS

(57)摘要

本發明係關於抑制 KIR2DL1、KIR2DL2 及/或 KIR2DL3 多肽之化合物，其包含中和 NK 細胞抑制性受體之化合物(例如抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及/或抗-KIR2DL3 抗體)；以及使用該等化合物及含有該等化合物之組合物治療及預防發炎或自體免疫病症的方法。

接受者小鼠：KIR2DL3 tg B6，PBMC，40小時

■ 1-7F9 (300µg) □ 未經處理

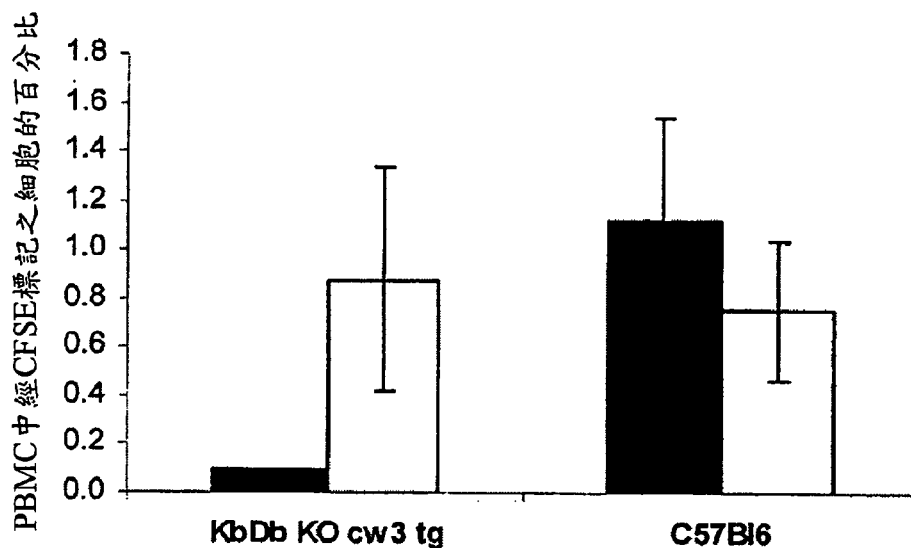


圖 1A

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101118857

※申請日：101.5.25

※IPC 分類：C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61P29/00 (2006.01)

治療發炎及自體免疫疾病之抗-KIR抗體

A61P37/00 (2006.01)

ANTI-KIR ANTIBODIES FOR THE TREATMENT OF
INFLAMMATORY AND AUTOIMMUNE DISORDERS

二、中文發明摘要：

本發明係關於抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物，其包含中和NK細胞抑制性受體之化合物(例如抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體)；以及使用該等化合物及含有該等化合物之組合物治療及預防發炎或自體免疫病症的方法。

三、英文發明摘要：

This invention relates to compounds that inhibit KIR2DL1, 2 and/or 3 polypeptide comprising compounds (e.g., anti-KIR2DL1, 2, and/or 3 antibodies) that neutralize NK cell inhibitory receptors and methods of using such compounds and compositions containing in the treatment and prevention of inflammatory or autoimmune disorders.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1A、1B) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於使用免疫調節性抗-KIR抗體調節NK細胞活性以治療或預防發炎疾病及自體免疫疾病，尤其至少部分由促發炎T細胞介導之疾病。

相關申請案之交叉引用

本申請案主張2011年5月25日申請之美國臨時申請案第61/489,806號之優先權，該臨時申請案之揭示內容全部併入本文中。

【先前技術】

天然殺手(NK)細胞為充當細胞毒性免疫細胞之大顆粒淋巴球之子集。由NK細胞介導之天然針對標靶細胞(例如癌細胞、病毒感染細胞)之細胞毒性活性一般表現為分別由活化性及抑制性細胞表面受體傳遞之正信號與負信號「平衡」之結果。

NK細胞可藉由許多已知細胞表面標記來識別，該等細胞表面標記在物種之間不同(例如，在人類中，常使用CD56、CD16、NKp44、NKp46及NKp30；在小鼠中，常使用NK1.1、Ly49A-W、CD49b)。在活性狀態下，NK細胞能夠殺死某些自體性、同種異體及甚至異種腫瘤細胞、病毒感染細胞、某些細菌(例如傷寒沙氏桿菌(*Salmonella typhi*))及其他標靶細胞。NK細胞看似優先殺死在表面上幾乎不表現第I類主要組織相容性(MHCI或MHC-I)分子之標靶細胞。NK細胞亦殺死連接至抗體分子之標靶細胞，一

種稱作抗體依賴性細胞毒性(ADCC)之機制。在針對標靶細胞之作用中，NK細胞可釋放稱為穿孔素之成孔蛋白質、稱為顆粒酶之蛋白水解酶及直接導致標靶細胞凋亡或溶解或調控其他免疫反應之細胞激素/趨化因子(例如TNF α 、IFN γ)。在活化後，NK細胞亦可表現Fas配體(FasL)，使得此等細胞能夠誘導表現Fas之細胞凋亡。

足夠之NK細胞活性及NK細胞計數通常皆為引發充足之由NK細胞介導之免疫反應所必需。NK細胞可以正常數目存在於個體體內，但此等細胞若不被活化則在發揮重要免疫系統功能(諸如消除異常細胞)方面不起作用。NK細胞活性降低與許多疾病產生及進展有關。舉例而言，研究表明NK細胞活性較低會導致更易患上諸如慢性疲勞症候群(CFS)、病毒感染之疾病及產生癌症。

NK細胞活性由NK細胞活性調節受體(NKCAMR)所調控，該等NK細胞活性調節受體可能對各種配體(諸如MHC-I分子、MHC-I同源物或於標靶細胞上表現之其他生物分子)具特異性。NK細胞在個體體內通常呈現多種活化受體及抑制性受體。NK細胞之活性係藉由經由此等活化受體及抑制性受體所轉導之信號的平衡來調控。大部分NK細胞活性調節受體看似屬於兩類蛋白質中之一類：免疫球蛋白(Ig)樣受體超家族(IgSF)或C型凝集素樣受體(CTLR)超家族。參見例如 Radaev及Sun (2003) *Annu. Rev. Biomol. Struct.* 32: 93-114。然而，已知其他形式之NKCAMR。

許多NK細胞活化受體屬於Ig超家族(IgSF)(該等受體在

本文中亦可稱為Ig樣受體或「ILR」)。活化ILR NK受體(AILR)包括例如CD2、CD16、CD69、DNAX輔助分子-1(DNAM-1)、2B4、NK1.1；殺手免疫球蛋白(Ig)樣活化受體(KAR)；ILT/LIR；及自然細胞毒性受體(NCR)，諸如NKp44、NKp46及NKp30。若干其他活化受體屬於CLTR超家族(例如NKRP-1、CD69；CD94/NKG2C及CD94/NKG2E雜二聚體、NKG2D均二聚體；且在小鼠中，為Ly49之活化同功異型物，諸如Ly49A-D)。其他活化受體(例如LFA-1及VLA-4)屬於整合素蛋白質超家族且其他活化受體甚至可能具有其他可區別的結構。許多活化受體具有結合至MHC-I分子之細胞外域，及相對較短且缺乏為抑制性NK受體所特有的基於酪胺酸之免疫受體抑制基元(ITIM)信號傳導基元的細胞質域。此等受體之跨膜域通常包括帶電荷的胺基酸殘基，該帶電荷的胺基酸殘基有助於此等受體與信號轉導相關分子(例如CD3 ζ 、Fc ϵ RI γ 、DAP12及DAP10)締合(然而，2B4看似為此一般規律之一個例外)，該等信號轉導相關分子含有傳播NK細胞活化信號之稱作「基於酪胺酸之免疫受體活化基元」(ITAM)之短胺基酸序列。受體2B4在其胞質尾區含有4個基於酪胺酸之免疫受體轉換基元(ITSM)。ITSM基元亦可見於NKCAR CS1/CRACC及NTB-A中。2B4及SLAM之細胞質域含有兩個或兩個以上獨特之基於酪胺酸之基元，其類似於活化受體及抑制性受體中所存在之基元且可募集含有SH2域之蛋白質SHP-2及SLAM相關蛋白(SAP)。

壓力誘導之分子(例如MIC-A、MIC-B及ULBP(人類)以及Rae-1及H-60(小鼠))可用作活化受體(諸如NKG2D均二聚體)之配體。細胞碳水化合物、病原性抗原及抗體亦可為活化受體配體。舉例而言，NKR-P1可結合至碳水化合物配體且引起尤其針對展現異常糖基化型態之腫瘤細胞的NK細胞活化。病毒血球凝集素可用作自然細胞毒性受體(NCR)(諸如ILR NKCAR NKp30、NKp44、NKp46及NKp80)之配體。

活化受體可直接轉導活化信號或可連同接附分子或其他受體一起起作用(在有時單獨有效之受體之間的協同反應之情況下或在共受體-受體配對之情況下)。舉例而言，NCR通常缺乏ITAM且因此經由其跨膜域中之帶電荷殘基結合至接附分子(例如NKp30與CD3 ξ 鏈締合；NKp44與DAP12及/或KARAP締合；NKp46偶合至CD3 ξ 鏈及FcRI γ 鏈)，該等接附分子又能夠募集蛋白質酪胺酸激酶(PTK)以傳播NK細胞活化信號。CD16為對NK細胞介導之ADCC及細胞激素產生而言重要的活化受體，其與由CD3 ξ 及/或 γ 鏈形成之均二聚體或雜二聚體締合。NKG2D看似與NCR及活化受體在NK細胞活化中起互補及/或協同作用。活化針對特定標靶之NK細胞可能需要多個活化受體或NCR協同活化，或僅單個受體起作用。包括2B4及NKp80之其他觸發表面分子看似充當NK細胞活化之共受體。

人類殺手免疫球蛋白樣受體(KIR)之活化同功異型物(例如KIR2DS及KIR3DS)及鼠類Ly-49蛋白之活化同功異型物

(例如 Ly-49D 及 Ly-49H) 由某些 NK 細胞表現。天然殺手 (NK) 細胞之刺激或耐受係經由由細胞表面活化受體及抑制性受體產生之信號串擾來達成。殺手細胞免疫球蛋白樣受體 (KIR) 為用作人類 NK 細胞功能之關鍵調節劑的高度多形性活化及抑制性受體家族。不同 KIR 家族成員中截然不同之結構域藉由提供配體或信號傳導蛋白質之停泊位點 (docking site) 來決定功能。參見 Campbell 及 Purdy (2011) *Immunology* 132(3): 315-25。此等分子與其抑制性對應物 (論述於下文中) 不同之處在於在其相對較短之細胞質域中缺乏 ITIM 且具有與信號轉導多肽 (諸如二硫鍵連接之 DAP12 二聚體) 締合之帶電荷跨膜區。

ILR(IgSF)NK 細胞抑制性受體包括對 HLA-A、HLA-B 或 HLA-C 異型具特異性之多種不同人類 KIR，KIR 可識別特定異型內之複對偶基因，例如 KIR2DL1 識別 HLA-Cw2、HLA-Cw4 及 HLA-Cw6 異型。CTLR 超家族抑制性受體包括 CD94/NKG2 蛋白質家族之成員，其包含由凝集素樣 CD94 與 NKG2 家族之各種成員 (諸如 NKG2A) 形成之受體，且識別非經典 MCH-I 分子 HLA-E 及 Qa-1 (分別為人類及小鼠之分子)，且包括識別小鼠之典型 MHC-I 分子之鼠類 Ly49 分子。更進一步對比而言，NKRP1A、Nkrp1f 及 Nkrp1d 為配體與 MHC 無關但為各種細胞類型 (諸如樹突狀細胞、巨噬細胞及淋巴球) 上表現之 CTLR 家族成員的抑制性受體。

第 I 類 MHC 特異性 NK CIR 包括 CTLR Ly-49 受體 (小鼠)；IgSF 受體白血球免疫球蛋白樣受體 (LIR) (人類)、KIR (例如

p58及p70殺手細胞免疫球蛋白樣受體)(人類)及CTLR CD94/NKG2受體(小鼠及人類)。所有MHC-I特異性NK細胞看似利用共同的抑制性機制，該機制顯然涉及在MHC-I結合及募集酪胺酸磷酸酶(例如SHP-1及SHP-2)期間其細胞質域中之ITIM磷酸化成磷酸化之ITIM，從而抑制與經由NK細胞活化NK有關之鄰近蛋白質酪胺酸激酶(PTK)。針對活性調節受體(諸如KIR)之抗體先前已經描述。亦至少提出某種關於將抗-NK受體抗體(諸如抗-KIR抗體)與先前技術之其他抗癌劑組合的建議。舉例而言，WO 2004/056392描述將抗-NKp30及/或抗-NKp46抗體與介白素-2(IL-2)混合使用。WO 2008/084106描述抗-KIR調配物、劑量及給藥方案。WO 2005/079766亦描述用於癌症療法中之包括抗-KIR抗體之抗體(例如抗-組織因子抗體)組合。WO 2005/003168及WO 2005/003172描述多種抗-KIR抗體與多種藥劑(包括IL-2及介白素-21(IL-21))之組合。WO 2005/037306同樣描述IL-21、IL-21衍生物及IL-21類似物以及抗-KIR抗體之組合。WO 2005/009465描述治療性抗體(例如美羅華(Rituxan))與阻斷NK細胞之抑制性受體或刺激NK細胞之活化受體的化合物(例如抗-KIR單株抗體，諸如單株抗體DF200，或抗-NKp30單株抗體)組合以便增強以治療性抗體治療人類個體之有效性。

自體免疫疾病

自體免疫病症為一種在免疫系統錯誤地侵襲及破壞健康身體組織時出現之病狀。存在超過80種不同類型之自體免

疫病症。通常，免疫系統之白血球協助保護身體免受稱為抗原之有害物質影響。抗原之實例包括細菌、病毒、毒素、癌細胞及來自另一人或另一物種之血液或組織。免疫系統產生抗體，其破壞此等有害物質。

然而，在患有自體免疫病症之患者體內，免疫系統不能區分自身與非自身(例如健康組織與外來抗原)。結果為免疫反應破壞正常身體組織。此反應為類似於過敏性病狀中之反應的過敏反應。

在過敏中，免疫系統對其在正常情況下不會起反應之外部物質起反應。在自體免疫病症的情況下，免疫系統對其在正常情況下不會起反應之正常身體組織起反應。

什麼會使得免疫系統不再能夠區分健康身體組織與抗原尚未得知。一種理論為一些微生物(諸如細菌或病毒)或藥物可能引發此等變化中的一些變化，尤其對於具有使得患上自體免疫病症之可能性較大之基因的人員而言。

自體免疫病症會引起對一或多種身體組織的破壞、器官異常生長及器官功能改變。自體免疫病症可能侵害一或多種器官或組織類型。常受自體免疫病症侵害之器官及組織包括血管、結締組織、內分泌腺(例如甲狀腺或胰臟)、關節、肌肉、紅血球及皮膚。人可能同時患有一種以上自體免疫病症。

自體免疫疾病之症狀基於疾病及異常免疫反應之位置而不同。自體免疫疾病常出現之共同症狀包括疲勞、發熱及一般生病感覺(不適)。可用以診斷自體免疫病症之測試可

包括：抗核抗體測試、自體抗體測試、CBC、C-反應蛋白(CRP)及紅血球沈降率(ESR)。

常開立藥物處方來控制或減輕免疫系統反應。其常被稱為免疫抑制藥物。該等藥物可包括皮質類固醇(諸如強的松(prednisone))及非類固醇藥物，諸如硫唑嘌呤(azathioprine)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、黴酚酸酯(mycophenolate)、西羅莫司(sirolimus)或他克莫司(tacrolimus)。

併發症為常見的且視疾病而定。用於抑制免疫系統之藥物的副作用可能為重度的，諸如可能難以控制之感染。

「Autoimmune disorders.」 MedlinePlus – U.S. National Library of Medicine (2012年4月19日)。

發炎病狀

炎症為血管組織對有害刺激物(諸如病原體、受損細胞或刺激物)之複雜生物反應之一部分。炎症為生物體試圖移除有害刺激物及引發癒合過程之保護性反應。在無炎症的情況下，創口及感染決不會痊癒。同樣，對組織之進行性破壞將危及生物體之存活。然而，慢性炎症亦會導致許多疾病，諸如枯草熱、牙周炎、動脈粥樣硬化、類風濕性關節炎及甚至癌症(例如膽囊癌)。出於該原因，炎症通常由身體嚴密調控。

炎症可分類為急性炎症或慢性炎症。急性炎症為身體對有害刺激物之初始反應且藉由增強血漿及白血球(尤其顆粒球)自血液向受損組織中移動而達成。生物化學事件級聯使發炎反應擴散且成熟，累及局部血管系統、免疫系統

及受損組織內之各種細胞。長期炎症稱作慢性炎症，其引起存在於炎症部位之細胞類型發生進行性變化且特徵在於由發炎過程同時破壞組織及使組織癒合。Kindt等人，(2006) **Kuby Immunology** [第6版]。

T細胞與炎症散播有關。天然T細胞分化，導致產生T細胞子集，各子集具有不同細胞激素表現型態以發揮不同免疫功能。經由活化各別信號傳導路徑，此過程產生分化之輔助T(Th)細胞(稱作Th1、Th2及Th17)以及誘導之調節性T細胞(其抑制Th細胞)。此等不同細胞對於對抗感染性疾病及癌症為重要的；然而，在異常時，其可能導致慢性發炎疾病。一種此類疾病為發炎性腸病(IBD)，其中各T細胞子集在疾病中可能起作用。Zenewicz等人，(2009) **Trends in Molecular Medicine** 15(5): 199-207。

雖然NK細胞在科學文獻中在其潛在促成抗腫瘤及抗病毒反應方面已受到廣泛關注，但很少有研究旨在研究NK細胞在炎症及自體免疫中之作用(尤其表現KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之子集)。針對此等NK細胞之方法即使存在亦因NK細胞可能促成炎症及自體免疫而設法消除或抑制NK細胞。迄今為止未著手瞭解由KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3介導之NK細胞細胞毒性增強在發炎背景下之效應。

因此，此項技術中需要利用NK細胞調節作用來向患者提供改良益處之方法。

【發明內容】

經特定研發以研究人類KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3阻斷之活體內模型(KIR2DL3及其HLA配體之轉殖基因小鼠)展示投與抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體能夠誘導NK細胞有效減少或消除刀豆球蛋白A(con A)母細胞。Con A主要作用於T-淋巴球且引起淋巴球生長及分裂，且因此常用作炎症模型。結果表明替代於設法在炎症及自體免疫中減少或消除KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3陽性NK細胞，增強此等NK細胞活性可為有益的，因為其可有助於移除促發炎T細胞，包括(但不限於)循環中之T細胞，而不誘導自體反應性相關毒性。

本發明提供治療患有發炎或自體免疫病症之個體的方法。該等方法可包含投與個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。該個體可能患有由T細胞介導之發炎或自體免疫病症，例如涉及促發炎、活化及/或增殖性T細胞(例如在循環中或在患病或發炎組織中)、CD4+ T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞的病症。在一個實施例中，個體可能患有選自由以下組成之群的發炎或自體免疫病症：全身性紅斑狼瘡、韋格納氏肉芽腫病(Wegener's granulomatosis)、自體免疫肝炎、克羅恩氏病(Crohn's disease)、硬皮病、潰瘍性結腸炎、休格連氏症候群(Sjögren's syndrome)、第1型糖尿病、葡萄膜炎、心肌炎、風濕熱、僵直性脊椎炎、類風濕性關節炎、多發性硬化症及牛皮癬。

在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-

KIR2DL3 抗體可基於其阻斷或中和 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 介導之對 NK 之抑制作用且從而增強 NK 細胞針對以其他方式阻斷之標靶細胞之活性的能力來表徵。

在一個實施例中，抗體可為單一抗-KIR 抗體或抗-KIR 抗體之組合。在另一實施例中，抗體可為抗-KIR2DL1 抗體與抗-KIR2DL2 抗體之組合，或抗-KIR2DL1 抗體與抗-KIR2DL3 抗體之組合，或抗-KIR2DL1 抗體與抗-KIR2DL2 抗體及抗-KIR2DL3 抗體之組合，或結合至少兩種選自由 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 組成之群之不同人類抑制性 KIR 接受體基因產物的抗-KIR 抗體，或抗-KIR 抗體結合 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 中之每一者，其中該抗體能夠中和由 KIR 介導之對表現特定 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 受體之 NK 細胞的 NK 細胞細胞毒性之抑制作用。

在一個實施例中，一或多種 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 抗體之有效量可為在投與該抗體後該抗體可使得 NK 細胞上之 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 實質上完全飽和 (90%，視情況 95% 受體佔有率) 達至少約 1 週，視情況約 2 週，視情況約 3 週，視情況約一個月之時段的量。

在一個實施例中，可以一定量及一定頻率投與抗體以使得 NK 細胞上之 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 實質上完全飽和 (90%，視情況 95% 受體佔有率) 達至少約 1 週之時段而在治療期間無顯著「去飽和」。在一個實施例中，一或多種 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 抗體之有效量可

為在投與該抗體後該抗體使得循環NK細胞上之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和(90% KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3佔有率，視情況95% KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3佔有率)達至少約2週，視情況約3週，視情況約一個月之時段的量，且可投與抗體至少兩次，其中約每2週一次、每3週一次或每月一次進行給藥(後繼給藥相隔約2週、3週或一個月)。

在一個實施例中，可以一定量及一定頻率投與抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以使得NK細胞上之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和(90%，視情況95%受體佔有率)達至少約1週之時段且在治療期間允許顯著「去飽和」。在一個實施例中，一或多種KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3抗體之有效量可為在投與該抗體後該抗體使得循環NK細胞上之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和(90% KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3佔有率，視情況95% KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3佔有率)達至少約2週，視情況約3週，視情況約一個月之時段的量，且可投與抗體至少兩次，其中約每兩個月一次進行給藥(後繼給藥相隔約2個月)。

在一個實施例中，製備抗體之方法可包含：(a)用包含KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之免疫原使非人類哺乳動物免疫；(b)選擇來自該免疫之哺乳動物的抗體，其中該等抗體結合該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多

肽；及(c)選擇(b)中增強NK細胞對T細胞，尤其活化之CD4+ T細胞之消除作用的抗體。在另一實施例中，可確定步驟(c)中所選之抗體適用於治療發炎或自體免疫病症。在另一實施例中，製備抗體之方法可包含視情況藉由噬菌體呈現技術提供抗體庫。在一個實施例中，製備抗體之方法可包含：(a)藉由噬菌體呈現技術提供抗體庫；(b)自該庫中選擇抗體，其中該等抗體結合該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽；及(c)選擇(b)中增強NK細胞對T細胞，尤其活化之CD4+ T細胞之消除作用的抗體。較佳的是，將確定步驟(c)中所選之抗體適用於治療發炎或自體免疫病症。

在一個實施例中，活體外或活體內減少或消除T細胞之方法可包含使T細胞與抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物在表現KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之細胞(例如NK細胞)存在下接觸。在另一實施例中，T細胞可為促發炎、活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。

在一個實施例中，活體內減少或消除T細胞之方法可包含投與患有發炎或自體免疫病症(較佳為至少部分由該等T細胞介導之疾病)的個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，T細胞可為活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、促發炎T細胞(例如在循環中或在患病或發炎組織中)、表現HLA-

cw3及/或HLA-cw4之T細胞或浸潤性T細胞。在另一實施例中，浸潤性T細胞可浸潤至疾病組織(包括(但不限於)滑膜關節組織或滑液)中，浸潤至中樞神經系統、結腸或皮膚組織中。在一個實施例中，減少或消除T細胞之方法包含投與患有發炎或自體免疫病症的個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，該等T細胞為活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、促發炎T細胞(例如在循環中或在患病或發炎組織中)、浸潤性T細胞(浸潤至疾病組織(例如滑膜關節組織或滑液)中，浸潤至中樞神經系統、結腸、皮膚組織中)，及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。在另一實施例中，該患者可患有至少部分由該等T細胞介導之疾病。在另一實施例中，有效量可為抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物有效減少該等T細胞數目的量。

在一個實施例中，針對活化及/或增殖性T細胞之方法可包含投與患有發炎或自體免疫病症(較佳為至少部分由該等T細胞介導之疾病)的個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，減少或消除T細胞CD4+ T細胞之方法包含投與患有發炎或自體免疫病症(較佳為至少部分由該等T細胞介導之疾病)的個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，針對促發炎T細胞(例如在循環中或在患病或發炎組織中)之方法可包含投與患有發炎或自體免疫病症(較佳為至少部分由該等T細胞介導之疾

病)的個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，減少或消除浸潤性T細胞(浸潤至疾病組織(例如滑膜關節組織或滑液)中，浸潤至中樞神經系統、結腸、皮膚組織中)的方法可包含投與患有發炎或自體免疫病症(較佳為至少部分由該等T細胞介導之疾病)的個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼(glycoalkoid)、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體(avemir)、小分子或其任何組合。在另一實施例中，該化合物為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特異性抗體或其抗體片段。

在一個實施例中，減少或消除表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞的方法可包含投與患有發炎或自體免疫病症(較佳為至少部分由該等T細胞介導之疾病)的個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體、小分子或其任何組合。在另一實施例中，該化合物為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特異性抗體或其抗體片段。

在另一實施例中，該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或

KIR2DL3多肽之化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體、小分子或其任何組合。在另一實施例中，該化合物為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特異性抗體或其抗體片段。

在另一實施例中，該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體、小分子或其任何組合。在另一實施例中，該化合物為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特異性抗體或其抗體片段。

在一個實施例中，治療發炎病症之方法可包含：(a)確定個體是否患有發炎或自體免疫病症；及(b)若該個體患有發炎或自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。在另一實施例中，治療自體免疫病症之方法可包含：(a)確定個體是否患有發炎或自體免疫病症；及(b)若該個體患有發炎或自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。在另一實施例中，該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體、小分子或其任何組合。在另一實施例中，該化合物為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特異性抗體或其抗體片段。

在一個實施例中，治療發炎病症之方法可包含：(a)確定個體是否患有至少部分由T細胞(例如促發炎、活化及/或增殖性T細胞(例如在循環中或在患病或發炎組織中)、CD4+ T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞)介導之發炎病症；及(b)若該個體患有至少部分由該等T細胞介導之發炎病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。在另一實施例中，該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體、小分子或其任何組合。在另一實施例中，該化合物為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特異性抗體或其抗體片段。

在一個實施例中，治療自體免疫病症之方法可包含：(a)確定個體是否患有至少部分由T細胞(例如促發炎、活化及/或增殖性T細胞(例如在循環中或在患病或發炎組織中)、CD4+ T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞)介導之自體免疫病症；及(b)若該個體患有至少部分由該等T細胞介導之自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。在另一實施例中，該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體、小分子或其任何組合。在另一實施例中，該化合物為

嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特異性抗體或其抗體片段。

在一個實施例中，治療個體之發炎疾病的方法可包含：
(a)評估個體之發炎疾病之存在、階段及/或進展；及(b)投與該個體有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。視情況而定，評估個體之疾病的存在、階段及/或進展可包含分析自體抗體、CRP或任何蛋白水解酶、發炎介體或進行性炎症之標記的含量。若該個體經確定適於以抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療(例如個體患有關節炎、病情惡化)，則投與該個體有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體、小分子或其任何組合。在另一實施例中，該化合物為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特異性抗體或其抗體片段。

在一個實施例中，治療個體之自體免疫疾病的方法可包含：
(a)評估個體之自體免疫疾病之存在、階段及/或進展；及(b)投與該個體有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。視情況而定，評估個體之疾病的存在、階段及/或進展可包含分析自體抗體、CRP或任何蛋白水解酶、發炎介體或進行性炎症之標記的含量。若該個體經確定適於以抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或

KIR2DL3多肽之化合物治療(例如個體患有關節炎、病情惡化)，則投與該個體有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體、小分子或其任何組合。在另一實施例中，該化合物為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特異性抗體或其抗體片段。

● 在一個實施例中，治療個體之發炎疾病的方法可包含：
(a)確定該個體是否確診有發炎疾病；及(b)若該個體確診有發炎疾病，則投與該患者有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，治療個體之自體免疫疾病的方法可包含：
(a)確定該個體是否確診有自體免疫疾病；及(b)若該個體確診有自體免疫疾病，則投與該患者有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該化合物為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

● 在一個實施例中，治療個體之發炎疾病的方法可包含：
(a)確定該個體是否確診有發炎疾病；及(b)若該個體確診有發炎疾病，則投與該患者有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，治療個體之自體免疫疾病的方法可包含：
(a)確定該個體是否確診有自體免疫疾病；及(b)若該個體確診有自體免疫疾病，則投與該患者有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/

或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該化合物為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

在一個實施例中，治療個體之發炎疾病的方法可包含(a)確定該個體是否正經歷發炎疾病之發作、危象、惡化或突發；及(b)若該個體經歷發炎疾病之發作、危象、惡化或突發，則投與該個體有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該化合物為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。在一個實施例中，治療個體之自體免疫疾病的方法可包含(a)確定該個體是否正經歷自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發；及(b)若該個體經歷自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發，則投與該個體有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該化合物為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

在一個實施例中，治療個體之發炎疾病的方法可包含(a)確定該個體是否患有特徵在於存在T細胞之發炎疾病；及(b)若該個體患有特徵在於存在該等T細胞之發炎疾病，則投與該患者有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，該等T細胞可為活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、促發炎T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。在一個實施例中，該化合物為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。在一個實施例中，治療個體之自

體免疫疾病的方法可包含(a)確定該個體是否患有特徵在於存在T細胞之自體免疫疾病；及(b)若該個體患有特徵在於存在該等T細胞之自體免疫疾病，則投與該患者有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，該等T細胞可為活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、促發炎T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。在一個實施例中，該化合物為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

在一個實施例中，治療患有發炎疾病，尤其確診有發炎疾病或正經歷發炎疾病之發作、危象、惡化或突發之個體的方法可包含投與該個體抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，治療患有自體免疫疾病，尤其確診有自體免疫疾病或正經歷自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發之個體的方法包含投與該個體抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。

在一個實施例中，該化合物為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

在一個實施例中，治療發炎疾病之方法可包含投與抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該化合物為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。在一個實施例中，治療自體免疫疾病之方法可包含投與抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該化合物為抗-KIR2DL1、

抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

在一個實施例中，治療個體之方法可包含：(a)確定個體是否患有發炎或自體免疫病症；及(b)若該個體患有發炎或自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。

在一個實施例中，治療個體之方法可包含：(a)確定個體是否患有至少部分由T細胞介導之發炎或自體免疫病症；及(b)若該個體患有至少部分由該等T細胞介導之發炎或自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。

在一個實施例中，治療個體之方法可包含：(a)評估個體之發炎或自體免疫疾病之存在、階段及/或進展；及(b)投與該個體有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。

在一個實施例中，治療個體之方法可包含：(a)確定該個體是否確診有發炎或自體免疫疾病；及(b)若該個體確診有發炎或自體免疫疾病，則投與該患者有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。

在一個實施例中，治療個體之方法可包含：(a)確定該個體是否正經歷發炎或自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發；及(b)若該個體經歷發炎或自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發，則投與該個體有效劑量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。

在一個實施例中，抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3

多肽之化合物以單療法形式投與，亦即以單一藥劑形式用於治療中。舉例而言，藥物可包含抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物，而不含任何其他醫藥活性劑及/或不使用其他醫藥活性劑治療個體之特定疾病病狀。在活體外方法中，抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物可在不添加或存在其他活性劑的情況下使用。

在本發明之治療方法之一個實施例中，抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物可與第二治療劑組合投與，亦即在第二治療劑之前、與第二治療劑並行，或在第二治療劑之後投與。

在一個實施例中，抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物可與第二治療劑，視情況在特定疾病病狀之情況下通常使用之任何藥劑組合投與。較佳的是，該第二藥劑可為除如下治療性抗體以外的藥劑，該治療性抗體經由ADCC誘導表現該第二藥劑所結合之抗原的細胞死亡。較佳的是，該第二治療劑可為除如下抗體以外的藥劑，該抗體具有IgG1或IgG3同型，其作用方式涉及誘導針對抗體所結合之細胞的ADCC。在一個實施例中，該第二藥劑可為具有IgG4同型之恆定區之抗體或抗體片段(例如Fab或F(ab)'₂片段)。在一個實施例中，該第二藥劑可為連接至細胞毒性部分之抗體。在一個實施例中，該第二藥劑可為非抗體多肽。在一個實施例中，該第二治療劑可為合成小分子藥劑。在另一實施例中，該第二治療劑可為小分子化

學治療劑。在另一實施例中，該第二治療劑可為DMARD。
在另一實施例中，該第二治療劑為

視情況而定，在任何治療方法中，該等方法可進一步包含投與該個體DMARD。在一個實施例中，可提供治療患有自體免疫或發炎疾病之個體的方法，其可包含投與該個體(a)有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物，及(b)DMARD。

較佳的是，化合物抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽且因抑制該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽而調節NK細胞之細胞毒性。較佳的是，化合物可包含結合KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之抗體。

在一個實施例中，確定患者以抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療之適合性的方法可包含確定該患者是否確診有發炎疾病，該患者是否可能正經歷疾病之發作、危象、惡化或突發，及/或該患者是否患有特徵在於存在例如以下之T細胞的疾病：活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、促發炎T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。在一個實施例中，確定患者以抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療之適合性的方法可包含確定該患者是否確診有自體免疫疾病，該患者是否可能正經歷疾病之發作、危象、惡化或突發，及/或該患者是否患有特徵在於存在例如以下之T細胞的疾病：活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、促發炎T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/

或HLA-cw4之T細胞。

在一個實施例中，治療自體免疫病症之方法可包含投與抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，該化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體、小分子或其任何組合。在另一實施例中，該化合物為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。在一個實施例中，個體患有由T細胞介導之自體免疫病症。在另一實施例中，自體免疫病症為後天免疫缺乏症候群(AIDS)、後天脾萎縮、急性前葡萄膜炎、急性播散性腦脊髓炎(ADEM)、急性痛風性關節炎、急性壞死性出血性腦白質炎、急性或慢性竇炎、急性化膿性腦膜炎(或其他中樞神經系統發炎病症)、急性嚴重炎症、艾迪森氏病(Addison's disease)、腎上腺炎、成人發作型糖尿病(第II型糖尿病)、成人發作型特發性副甲狀腺低能症(AOIH)、無 γ 球蛋白血症、顆粒球缺乏症、血管炎病(包括血管炎(包括大血管血管炎(包括風濕性多肌痛及巨細胞性(高安氏(Takayasu's))關節炎))、過敏病狀、過敏性接觸性皮炎、過敏性皮炎、過敏性肉芽腫性血管炎、過敏病症、過敏性神經炎、過敏反應、斑形脫髮、全禿、阿爾波特氏症候群(Alport's syndrome)、肺泡炎(例如過敏性肺泡炎及纖維化肺泡炎)、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)、澱粉樣變性、肌萎縮性側索硬化(ALS；葛雷克氏病(Lou Gehrig's disease))、嗜伊紅血球相關病症(例如嗜伊紅血球增多)、

全身性過敏反應、僵直性脊椎炎、血管擴張、抗體介導之腎炎、抗-GBM/抗-TBM腎炎、抗原-抗體複合物介導之疾病、抗絲球體基底膜病、抗-磷脂抗體症候群、抗磷脂症候群(APS)、口瘡、口瘡性口炎、再生不能性貧血、心律不整、動脈硬化、動脈硬化病症、關節炎(例如類風濕性關節炎，諸如急性關節炎、慢性類風濕性關節炎)、慢性漸進性關節炎、變形性關節炎、蛔蟲病、麩黴腫(或含有嗜伊紅血球之肉芽腫)、麩菌病、無精液症(aspermiogenesis)、哮喘(例如支氣管哮喘(asthma bronchiale/bronchial asthma)及自體免疫哮喘)、共濟失調毛細管擴張症、共濟失調硬化、動脈粥樣硬化、自閉症、自體免疫血管性水腫、自體免疫再生不能性貧血、自體免疫萎縮性胃炎、自體免疫糖尿病、睪丸及卵巢之自體免疫疾病(包括自體免疫睪丸炎及卵巢炎)、與膠原病有關之自體免疫病症、自體免疫自主神經障礙、自體免疫耳部疾病(例如自體免疫內耳疾病(AGED))、自體免疫內分泌疾病(包括甲狀腺炎，諸如自體免疫甲狀腺炎)、自體免疫腸病症候群、自體免疫性腺衰竭、自體免疫聽力喪失、自體免疫溶血、自體免疫肝炎、自體免疫肝臟病症、自體免疫高脂質血症、自體免疫免疫缺乏症、自體免疫內耳疾病(AIED)、自體免疫心肌炎、自體免疫嗜中性球減少症、自體免疫胰臟炎、自體免疫多內分泌病、第I型自體免疫多腺體症候群、自體免疫視網膜病、自體免疫血小板減少性紫癍(ATP)、自體免疫甲狀腺病、自體免疫蕁麻疹、自體免疫介導之胃腸疾病、軸突及

神經元神經病、巴婁病(Balo disease)、白塞氏病(Behcet's disease)、良性家族性及缺血再灌注損傷、良性淋巴球性血管炎、伯格氏病(Berger's disease)(IgA腎病)、養鳥者肺(bird-fancier's lung)、失明、伯克氏病(Boeck's disease)、阻塞性細支氣管炎(非移植)伴有NSIP(**bronchiolitis obliterans (non-transplant) vs NSIP**)、支氣管炎、支氣管肺炎麴菌病、布魯頓氏症候群(Bruton's syndrome)、大皰性類天疱瘡、卡普蘭氏症候群(Caplan's syndrome)、心肌病、心血管缺血、卡斯曼氏症候群(Castleman's syndrome)、乳糜瀉、脂肪便症(麩質性腸病)、小腦退化、大腦缺血及伴有血管形成之疾病、恰加斯氏病(Chagas disease)、通道病(例如癲癇症)、CNS通道病、脈絡膜視網膜炎、脈絡膜炎、自體免疫血液學病症、慢性活動性肝炎或自體免疫慢性活動性肝炎、慢性接觸性皮炎、慢性嗜伊紅血球肺炎、慢性疲勞症候群、慢性肝炎、慢性過敏性肺炎、慢性發炎性關節炎、慢性發炎性髓鞘脫失多神經病(CIDP)、慢性難治炎症、慢性黏膜與皮膚性念珠菌病、慢性神經病(例如IgM多神經病或IgM介導之神經病)、慢性阻塞性氣管疾病、慢性肺部發炎疾病、慢性復發性多灶性骨髓炎(CRMO)、慢性甲狀腺炎(橋本氏甲狀腺炎(Hashimoto's thyroiditis))或亞急性甲狀腺炎、徹奇-斯全司症候群(Churg-Strauss syndrome)、癍痕性類天疱瘡/良性黏膜類天疱瘡、CNS發炎病症、CNS血管炎、腹腔病、柯剛氏症候群(Cogans syndrome)、冷凝集素病、息肉狀結腸炎、結腸

炎(諸如潰瘍性結腸炎(ulcerative colitis/colitis ulcerosa)、
膠原性結腸炎)、涉及T細胞浸潤及慢性發炎反應之病狀、
先天性心臟傳導阻滯、先天性風疹感染、庫姆氏陽性貧血
(Coombs positive anemia)、冠狀動脈疾病、科沙奇病毒性
心肌炎(Coxsackie myocarditis)、CREST症候群(鈣質沉
著、雷諾氏現象(Raynaud's phenomenon))、克羅恩氏病、
冷球蛋白血症、庫欣氏症候群(Cushing's syndrome)、睫狀
體炎(例如慢性睫狀體炎、異時性睫狀體炎、虹膜睫狀體
炎或福斯氏睫狀體炎(Fuch's cyclitis))、囊腫性纖維化、細
胞激素誘發之毒性、聾症、退化性關節炎、髓鞘脫失疾病
(例如自體免疫髓鞘脫失疾病)、髓鞘脫失神經病、登革熱
(dengue)、疱疹樣皮炎及異位性皮炎、皮炎(包括接觸性皮
炎)、皮膚炎、具有急性發炎組分之皮膚病、德維克氏病
(Devic's disease)(視神經脊髓炎)、糖尿病性大動脈病症、
糖尿病性腎病、糖尿病性視網膜病、戴-布二氏貧血
(Diamond Blackfan anemia)、彌漫性間質性肺纖維化、擴
張型心肌病、盤狀狼瘡、涉及白血球滲出之疾病、卓斯勒
症候群(Dressler's syndrome)、杜普伊特倫氏攣縮(Dupuytren's
contracture)、埃可病毒感染(echovirus infection)、濕疹(包括
過敏性或異位性濕疹)、腦炎(諸如羅氏腦炎(Rasmussen's
encephalitis)及邊緣葉及/或腦幹腦炎)、腦脊髓炎(例如過
敏性腦脊髓炎(allergic encephalomyelitis/encephalomyelitis
allergica)及實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE))、動脈內膜增
生、心內膜炎、內分泌性眼病、子宮內膜異位症、心內膜

心肌纖維化、晶狀體過敏性眼內炎(endophthalmitis phacoanaphylactica)、眼內炎、過敏性腸炎、嗜伊紅血球增多-肌痛症候群、嗜伊紅血球性筋膜炎、流行性角膜結膜炎、後天性大皰性表皮鬆懈(EBA)、鞏膜外層、鞏膜外層炎、埃-巴二氏病毒感染(Epstein-Barr virus infection)、持久性隆起性紅斑、多形紅斑、麻風結節性紅斑、結節性紅斑、胎兒紅血球母細胞增多症、食道運動功能障礙(esophageal dysmotility)、原發性混合型冷球蛋白血症、篩骨、伊文氏症候群(Evan's syndrome)、實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE)、因子VIII缺乏症、農民肺(farmer's lung)、風濕熱、費爾提氏症候群(Felty's syndrome)、肌肉纖維疼痛、纖維化肺泡炎、絲蟲病、局部區段性絲球體硬化症(FSGS)、食物中毒、額葉萎縮、胃萎縮、巨細胞性關節炎(顛關節炎)、巨細胞性肝炎、巨細胞性多肌痛、絲球體腎炎、伴有及不伴有腎病症候群之絲球體腎炎(GN)(諸如慢性或急性絲球體腎炎(例如原發性GN))、古德帕斯徹氏症候群(Goodpasture's syndrome)、痛風性關節炎、顆粒球輸注相關症候群、肉芽腫病(包括淋巴瘤樣肉芽腫病)、伴有多血管炎之肉芽腫病(GPA)、肉芽腫性葡萄膜炎、格雷氏病(Grave's disease)、古立安-白瑞症候群(Guillain-Barre syndrome)、點狀牛皮癬、陣發性血紅素尿、黑-里二氏病(Hamman-Rich's disease)、橋本氏病(Hashimoto's disease)、橋本氏腦炎、橋本氏甲狀腺炎、血色病、溶血性貧血或免疫性溶血性貧血(包括自體免疫溶血性貧血(AIHA))、溶血

性貧血、A型血友病、亨-舍二氏紫癍(Henoch-Schonlein purpura)、妊娠疱疹、人類免疫缺乏病毒(HIV)感染、痛覺過敏、低 γ 球蛋白血症、性腺低能症、副甲狀腺低能症、特發性尿崩症、特發性面癱、特發性甲狀腺功能低下、特發性IgA腎病、特發性膜性GN或特發性膜性腎病、特發性腎病症候群、特發性肺纖維化、特發性口炎性腹瀉、特發性血小板減少性紫癍(ITP)、IgA腎病、IgE介導之疾病(例如全身性過敏反應以及過敏性及異位性鼻炎)、IgG4相關硬化性疾病、局部迴腸炎、免疫複合物腎炎、與由細胞激素及T-淋巴球介導之急性及遲發型過敏症有關之免疫反應、免疫介導之GN、免疫調節性脂蛋白(包括成人或急性呼吸窘迫症候群(ARDS))、包涵體肌炎、感染性關節炎、由抗精原細胞抗體所致之不孕症、全部或部分葡萄膜炎症、發炎性腸病(IBD)、發炎性過度增殖性皮膚疾病、發炎性肌病、胰島素依賴型糖尿病(第1型)、胰島炎、間質性膀胱炎、間質性肺病、間質肺纖維化、虹膜炎、缺血再灌注病症、關節炎症、青少年關節炎、青少年皮肌炎、青少年糖尿病、青少年發作型(第I型)糖尿病(包括兒童胰島素依賴型糖尿病(IDDM))、青少年發作型類風濕性關節炎、川崎氏症候群(Kawasaki syndrome)、乾燥性角膜結膜炎、錐蟲病(kypanosomiasis)、藍伯-伊頓症候群(Lambert-Eaton syndrome)、利什曼體病(leishmaniasis)、麻風病、白血球減少症、白血球黏附缺乏症、白血球破碎性血管炎、白血球減少症、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、線性

IgA 皮膚病、線性 IgA 疾病 (LAD)、呂弗勒氏症候群 (Loffler's syndrome)、類狼瘡性肝炎、狼瘡 (包括腎炎、大腦炎、兒童、非腎、腎外、盤狀、脫髮)、狼瘡 (SLE)、播散性紅斑狼瘡、萊姆關節炎 (Lyme arthritis)、萊姆病、淋巴間質性肺炎、瘧疾、男性及女性自體免疫不孕症、上頷骨病、中血管血管炎 (包括川崎氏病及結節性多動脈炎)、膜狀增生性或膜增生性 GN (MPGN) (包括第 I 型及第 II 型) 及快速進行性 GN、膜性 GN (膜性腎病)、美尼爾氏病 (Meniere's disease)、腦膜炎、顯微性結腸炎、顯微性多血管炎、偏頭痛、微小腎病變、混合型結締組織病 (MCTD)、感染性單核細胞增多症、莫倫氏潰瘍 (Mooren's ulcer)、穆-哈二氏病 (Mucha-Habermann disease)、多灶性運動神經病、多發性內分泌衰竭、多器官損傷症候群 (諸如繼發於敗血症、創傷或出血之多器官損傷症候群)、多器官損傷症候群、多發性硬化症 (MS) (諸如脊髓-眼 MS)、多發性硬化症、流行性腮腺炎、肌肉病症、重症肌無力 (諸如胸腺瘤相關重症肌無力)、重症肌無力、心肌炎、肌炎、發作性睡病、壞死性小腸結腸炎及透壁性結腸炎，及自體免疫發炎性腸病；壞死性、皮膚或過敏性血管炎；新生兒狼瘡症候群 (NLE)、腎病、腎病症候群、神經疾病、視神經脊髓炎 (德維克氏)、視神經脊髓炎、神經性肌強直、嗜中性球減少症、非癌性淋巴球增多症、非肉芽腫性葡萄膜炎、非惡性胸腺瘤、眼部及眼眶發炎病症、眼部癬痕性類天疱瘡、卵巢炎、交感神經性眼炎、眼陣攣肌陣攣

症候群(OMS)、眼陣攣或眼陣攣肌陣攣症候群(OMS)，及感覺神經病、視神經炎、肉芽腫性睪丸炎、骨關節炎、復發性風濕病、胰臟炎、全部血球減少症、PANDAS(與鏈球菌(*Streptococcus*)有關之兒童自體免疫神經精神病症)、腫瘤相關小腦退化、腫瘤相關症候群；腫瘤相關症候群，包括神經腫瘤相關症候群(例如藍伯-伊頓肌無力症候群或伊頓-藍伯症候群)；寄生物疾病，諸如利什曼原蟲屬(*Leishmania*)；陣發性夜間血紅素尿(PNH)、帕-羅二氏症候群(Parry Romberg syndrome)、睫狀體平坦部炎(周邊葡萄膜炎)、帕-特二氏症候群(Parsonnage-Turner syndrome)、小病毒感染；類天疱瘡，諸如大皰性類天疱瘡及皮膚類天疱瘡；天疱瘡(包括尋常天疱瘡)、紅斑性天疱瘡、落葉狀天疱瘡、天疱瘡黏膜類天疱瘡、天疱瘡、消化性潰瘍、週期性麻痺、周邊神經病、靜脈周邊性腦脊髓炎、惡性貧血(pernicious anemia/anemia perniciososa)、惡性貧血、晶狀體抗原性葡萄膜炎、肺硬化、POEMS症候群；結節性多動脈炎，第I型、第II型及第III型；原發性慢性多發性關節炎、多軟骨炎(例如難治或復發性多軟骨炎)、多內分泌腺自體免疫疾病、多內分泌異常(polyendocrine failure)、多腺體症候群(例如自體免疫多腺體症候群(或多腺體內分泌病症候群))、風濕性多肌痛、多發性肌炎、多發性肌炎/皮肌炎、多神經病、急性多神經根炎、心切開術後症候群、後葡萄膜炎、或自體免疫葡萄膜炎、心肌梗塞後症候群、心包切開術後症候群、鏈球菌感染後腎炎、疫苗接種後症候

群、早老性癡呆、原發性膽汁性肝硬化、原發性甲狀腺功能低下、原發性特發性黏液水腫；原發性淋巴球增多症，其包括單株B細胞淋巴球增多症(例如良性單株 γ 球蛋白病及意義未明之單株 γ 球蛋白病MGUS)；原發性黏液水腫、原發性進行性MS(PPMS)及復發-緩解型MS(RRMS)、原發性硬化性膽管炎、孕酮皮炎、進行性全身性硬化、增生性關節炎；牛皮癬，諸如斑塊型牛皮癬；牛皮癬、牛皮癬性關節炎、肺泡蛋白沈積症、肺部浸潤性嗜伊紅血球增多、純紅血球貧血或再生不良(pure red cell anemia or aplasia, PRCA)、純紅血球再生不良、化膿性或非化膿性竇炎、膿皰性牛皮癬及指甲牛皮癬、腎盂炎、壞疽性膿皮病、奎汶氏甲狀腺炎(Quervain's thyroiditis)、雷諾氏現象、反應性關節炎、反覆流產、血壓反應降低、反射性交感神經失養症、難治型口炎性腹瀉、萊特爾氏病(Reiter's disease)或症候群、復發性多軟骨炎、心肌或其他組織再灌注損傷、再灌注損傷、呼吸窘迫症候群、腿不寧症候群、視網膜自體免疫、腹膜後纖維化、雷諾氏症候群、風濕性疾病、風濕熱、風濕病、類風濕性關節炎、類風濕性脊椎炎、風疹病毒感染、塞氏症候群(Sampter's syndrome)、類肉瘤病、血吸蟲病、施密特症候群(Schmidt syndrome)、SCID及埃-巴二氏病毒相關疾病(Epstein-Barr virus-associated disease)、鞏膜、鞏膜炎、指硬皮病、硬皮病(包括全身性硬皮病)、硬化性膽管炎、播散性硬化；硬化，諸如全身性硬化；感覺神經性聽力喪失、血清反應陰性脊椎關節

炎、席漢氏症候群(Sheehan's syndrome)、夏爾曼氏症候群(Shulman's syndrome)、矽肺病、休格連氏症候群、精子及睪丸自體免疫、蝶竇炎、斯-約二氏症候群(Stevens-Johnson syndrome)、僵人(stiff-man/stiff-person)症候群、亞急性細菌性心內膜炎(SBE)、亞急性皮膚紅斑狼瘡、突發性聽力喪失、蘇薩克氏症候群(Susac's syndrome)、西登哈姆氏舞蹈病(Sydenham's chorea)、交感神經性眼炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)(systemic lupus erythematosus/systemic lupus erythematoses)(例如皮膚SLE)、全身性壞死性血管炎及ANCA相關血管炎，諸如徹奇-斯全司血管炎或症候群(CSS)；脊髓癆、高安氏動脈炎、毛細血管擴張、顛動脈炎/巨細胞性動脈炎、血栓閉塞性脈管炎；血小板減少症(例如如由心肌梗塞患者所顯現)，包括血栓性血小板減少性紫癍(TTP)，及自體免疫或免疫介導之血小板減少症，諸如特發性血小板減少性紫癍(ITP)，包括慢性或急性ITP；血小板減少性紫癍(TTP)、甲狀腺中毒症、組織損傷、托-亨二氏症候群(Tolosa-Hunt syndrome)、中毒性表皮壞死溶解、中毒性休克症候群、輸血反應、嬰兒期短暫性低 γ 球蛋白血症、橫貫性脊髓炎(transverse myelitis/traverse myelitis)、熱帶肺性嗜伊紅血球增多、結核病、潰瘍性結腸炎、未分化型結締組織病(UCTD)、蕁麻疹(例如慢性過敏性蕁麻疹及慢性特發性蕁麻疹，包括慢性自體免疫蕁麻疹)、葡萄膜炎(例如前葡萄膜炎)、葡萄膜視網膜炎(uveoretinitis)、瓣膜炎、血管功能障礙、血管炎、脊椎關

節炎、水皰性皮膚病、白斑病、韋格納氏肉芽腫病(現稱作伴有多血管炎之肉芽腫病(GPA))、維斯科特-奧爾德里奇症候群(Wiskott-Aldrich syndrome)或X性聯高IgM症候群。

在一個實施例中，治療發炎病症之方法可包含投與抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，該化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體、小分子或其任何組合。在另一實施例中，該化合物為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。在一個實施例中，個體患有由T細胞介導之發炎病症。

在另一實施例中，發炎病症為風濕性疾病(例如類風濕性關節炎、骨關節炎、牛皮癬性關節炎)、脊椎關節病(例如僵直性脊椎炎、反應性關節炎、萊特爾氏症候群)、結晶性關節病(例如痛風、假性痛風、焦磷酸鈣沈積病)、多發性硬化症、萊姆病、風濕性多肌痛；結締組織疾病(例如全身性紅斑狼瘡、全身性硬化、多發性肌炎、皮肌炎、休格連氏症候群)；血管炎病(例如結節性多動脈炎、韋格納氏肉芽腫病、徹奇-斯全司症候群)；發炎病狀，包括創傷或缺血之後果、類肉瘤病；血管疾病，包括動脈粥樣硬化性血管疾病、動脈粥樣硬化及血管阻塞性疾病(例如動脈粥樣硬化、缺血性心臟病、心肌梗塞、中風、周邊血管疾病)、血管支架再狹窄；眼部疾病，包括葡萄膜炎、角膜病、虹膜炎、虹膜睫狀體炎、白內障；酸逆流/胃灼

熱、瘰癧、尋常瘰癧、過敏及敏感、阿茲海默氏病、哮喘、動脈粥樣硬化及血管阻塞性疾病(例如動脈粥樣硬化、缺血性心臟病、心肌梗塞、中風、周邊血管疾病)及血管支架再狹窄、自體免疫疾病、支氣管炎、癌症、心臟炎、白內障、乳糜瀉、慢性疼痛、慢性前列腺炎、肝硬化、結腸炎、結締組織病(例如全身性紅斑狼瘡、全身性硬化、多發性肌炎、皮肌炎、休格連氏症候群)、角膜病、克羅恩氏病、結晶性關節病(例如痛風、假性痛風、焦磷酸鈣沈積病)、癡呆、皮炎、糖尿病、乾眼症、濕疹、水腫、氣腫、肌肉纖維疼痛、胃腸炎、齒齦炎、絲球體腎炎、心臟病、肝炎、高血壓、過敏、發炎性腸病；發炎病狀，包括創傷或缺血之後果；胰島素抗性、間質性膀胱炎、虹膜睫狀體炎、虹膜炎、關節疼痛/關節炎/類風濕性關節炎、萊姆病、代謝症候群(症候群X)、多發性硬化症、肌炎、腎炎、肥胖症；眼部疾病，包括葡萄膜炎；骨質減少、骨質疏鬆症、帕金森氏症(Parkinson's Disease)、骨盆發炎性疾病、牙周病、多動脈炎、多軟骨炎、風濕性多肌痛、牛皮癬、再灌注損傷、風濕性關節炎、風濕性疾病(例如類風濕性關節炎、骨關節炎、牛皮癬性關節炎)、類風濕性關節炎、類肉瘤病、硬皮病、竇炎、休格連氏症候群、結腸痙攣、脊椎關節病(例如僵直性脊椎炎、反應性關節炎、萊特爾氏症候群)、全身性念珠菌病、腱炎、移植排斥反應、UTI、陰道炎；血管疾病，包括動脈粥樣硬化性血管疾病；血管炎病(例如結節性多動脈炎、韋格

納氏肉芽腫病、徹奇-斯全司症候群)及血管炎。

在另一實施例中，該化合物可為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。在一個實施例中，抗體可為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特异性抗體。在一個實施例中，抗體可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1、3或5之VL胺基酸序列。在一個實施例中，SEQ ID NO: 3之殘基3、4、9、24、32、41、47、50、55、71及74可分別為Q、L、S、R、A、G、L、D、E、F及A。在一個實施例中，抗體可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2、4或6之VH胺基酸序列。在另一實施例中，SEQ ID NO: 3之殘基3、4、9、24、32、41、47、50、55、71及74可分別為R、M、F、W、Y、A、F、Y、Q、Y及T。

在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可包含對應於SEQ ID NO: 1之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 1之殘基50至56的輕鏈CDR2胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 1之殘基89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 2之殘基31至35的重鏈CDR1胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 2之殘基50至65的重鏈CDR2胺基酸序列；或對應於SEQ ID NO: 2之殘基99至112的重鏈CDR3胺基酸序列。

在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可包含對應於SEQ ID NO: 3之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 3之殘基50至56的輕鏈CDR2胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 3之殘基

89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 4之殘基31至35的重鏈CDR1胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 4之殘基50至66的重鏈CDR2胺基酸序列；或對應於SEQ ID NO: 4之殘基99至113的重鏈CDR3胺基酸序列。

在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可包含分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2，分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3及SEQ ID NO: 4，或分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5及6的VL及VH序列。

在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可包含如下CDR區：大致對應於SEQ ID NO: 1之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 1之殘基50至56的輕鏈CDR2胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 1之殘基89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 2之殘基31至35的重鏈CDR1胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 2之殘基50至65的重鏈CDR2胺基酸序列；或大致對應於SEQ ID NO: 2之殘基99至112的重鏈CDR3胺基酸序列。

在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可包含如下CDR區：大致對應於SEQ ID NO: 3之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 3之殘基50至56的輕鏈CDR2胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 3之殘基89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 4之

殘基 31 至 35 的重鏈 CDR1 胺基酸序列；大致對應於 SEQ ID NO: 4 之殘基 50 至 66 的重鏈 CDR2 胺基酸序列；或大致對應於 SEQ ID NO: 4 之殘基 99 至 113 的重鏈 CDR3 胺基酸序列。

在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及 / 或抗-KIR2DL3 抗體可包含基本上由 SEQ ID NO: 1 之殘基 24 至 34 組成的輕鏈 CDR1 胺基酸序列；基本上由 SEQ ID NO: 1 之殘基 50 至 56 組成的輕鏈 CDR2 胺基酸序列；基本上由 SEQ ID NO: 1 之殘基 89 至 97 組成的輕鏈 CDR3 胺基酸序列；基本上由 SEQ ID NO: 2 之殘基 31 至 35 組成的重鏈 CDR1 胺基酸序列；基本上由 SEQ ID NO: 2 之殘基 50 至 65 組成的重鏈 CDR2 胺基酸序列；或基本上由 SEQ ID NO: 2 之殘基 99 至 112 組成的重鏈 CDR3 胺基酸序列。

在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及 / 或抗-KIR2DL3 抗體可包含如下 CDR 區：基本上由 SEQ ID NO: 3 之殘基 24 至 34 組成的輕鏈 CDR1 胺基酸序列；基本上由 SEQ ID NO: 3 之殘基 50 至 56 組成的輕鏈 CDR2 胺基酸序列；基本上由 SEQ ID NO: 3 之殘基 89 至 97 組成的輕鏈 CDR3 胺基酸序列；基本上由 SEQ ID NO: 4 之殘基 31 至 35 組成的重鏈 CDR1 胺基酸序列；基本上由 SEQ ID NO: 4 之殘基 50 至 66 組成的重鏈 CDR2 胺基酸序列；或基本上由 SEQ ID NO: 4 之殘基 99 至 113 組成的重鏈 CDR3 胺基酸序列。

在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、

抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可結合胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9或10內之抗原決定基。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可在由至少一個選自由以下組成之群的胺基酸殘基所界定之區域內結合KIR2DL1：105、106、107、108、109、110、111、127、129、130、131、132、133、134、135、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、181及192。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可在由至少一個選自由以下組成之群的胺基酸殘基所界定之區域內結合KIR2DL1及KIR2DL2/3：105、106、107、108、109、110、111、127、129、130、131、132、133、134、135、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、181及192。

在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體或其抗體片段可直接或間接結合至標記、細胞毒性劑、治療劑或免疫抑制劑。在一個實施例中，標記可為化學發光標記、順磁性標記、MRI對比劑、螢光標記、生物發光標記或放射性標記。在一個實施例中，順磁性標記可為鋁、錳、鉑、氧、鐳、銻、釷或鐳。在一個實施例中，細胞毒性劑可為抑制DNA、RNA或蛋白質合成之部分、放射性核種或核糖體抑制蛋白。在一個實施例中，細胞毒性劑可為²¹²Bi、¹³¹I、¹⁸⁸Re、⁹⁰Y、長春地辛(vindesine)、甲胺喋呤(methotrexate)、

阿黴素 (adriamycin)、順鉑 (cisplatin)、商陸抗病毒蛋白 (pokeweed antiviral protein)、假單胞菌 (*Pseudomonas*) 外毒素 A、蓖麻毒素、白喉 (*diphtheria*) 毒素、蓖麻毒素 A 鏈或細胞毒性磷脂酶。

在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體阻斷或中和NK抑制作用。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體可結合至KIR2DL1、KIR2DL2或KIR2DL3中之至少一者且中和KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3介導之對NK細胞之細胞毒性的抑制作用。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體之中和可包含使得NK細胞介導之NK標靶細胞特異性溶解增加至少約20%。

在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體可與單株抗體1-7F9、DF200及/或NKVSF1競爭結合相同抗原決定子區。在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體可結合至NK細胞表面上之至少兩種抑制性KIR受體。在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體可結合人類KIR2DL受體之共同抗原決定子區。在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體可結合至KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3受體。在一個實施例中，用於本發明治療

方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體對KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之親和力為至少約 10^4 至約 10^{10} M^{-1} 。在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體對KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之親和力可為至少約 10^7 至約 10^9 M^{-1} 。在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體結合KIR之解離常數可小於約100 nM。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體可與KIR 2DL1加上2DL2/3、3DL1加上3DL2、2DL1(及2DL2/3)加上2DS4，以及2DL1(及2DL2/3)交叉反應，但不與2D24交叉反應。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體可為DF200、1-7F9或NKVSF1抗體。

在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物可以單療法形式投與。在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物可與第二治療劑組合投與。在一個實施例中，該第二治療劑可為減輕炎症之藥劑。在一個實施例中，該第二治療劑可為小分子化學劑。在一個實施例中，第二治療劑可為DMARD，視情況為抗-TNF α 抗體、小分子酪胺酸激酶抑制劑或甲胺喋呤(MTX)。在一個實施例中，第二治療劑可為除具有IgG1或IgG3同型之抗體以外的藥劑。

在一個實施例中，用於本發明治療方法中之抑制

KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之化合物可為能夠阻斷或中和由KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3介導之NK抑制作用且從而增強NK細胞針對以其他方式阻斷之標靶細胞的活性之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。在一個實施例中，抗體可為可結合KIR2DL1及KIR2DL2/3之抗-KIR抗體。在一個實施例中，抗-KIR抗體可與1-7F9競爭結合至KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3。

在一個實施例中，抗體可為1-7F9。在一個實施例中，抗體可包含1-7F9之VL域及VH域。在一個實施例中，抗體可包含1-7F9之VL CDR及VH CDR。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以醫藥學上可接受之組合物形式投與，該組合物可包含有效量之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。在一個實施例中，該組合物可不含任何其他醫藥活性劑。

在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以一定量投與以使得NK細胞上之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和達至少約1週之時段。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以一定量投與以使得NK細胞上之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和達至少約2週之時段。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以一定量投與以使得NK細胞上之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和達至少約1個月之時段。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、

抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以約每2週一次之給藥頻率多次投與。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以約每1個月一次之給藥頻率多次投與。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以約每2個月一次或每2個月以上之時段一次之給藥頻率多次投與。

在一個實施例中，本發明提供一種治療自體免疫或發炎病症之組合物，其可包含抗-KIR2DL1抗體及視情況選用之另一活性劑。在另一實施例中，組合物可包含抗-KIR2DL2抗體。在另一實施例中，用於本發明中之組合物可包含抗-KIR2DL3抗體及視情況選用之另一活性劑。在另一實施例中，組合物可包含抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體及視情況選用之另一活性劑。

在一個實施例中，用於治療自體免疫病症之組合物可包含有效量之抗-KIR2DL1抗體。在一個實施例中，本發明之用於治療自體免疫病症之組合物可包含有效量之抗-KIR2DL2抗體。在一個實施例中，本發明之用於治療自體免疫病症之組合物可包含投與有效量之抗-KIR2DL3抗體。在另一實施例中，用於治療自體免疫病症之組合物可包含投與有效量之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

在一個實施例中，本發明之用於治療發炎病症之組合物可包含抗-KIR2DL1抗體。在一個實施例中，本發明之用於治療發炎病症之組合物可包含抗-KIR2DL2抗體。在一

個實施例中，本發明之用於治療發炎病症之組合物可包含抗-KIR2DL3抗體。在另一實施例中，本發明之用於治療發炎病症之組合物可包含抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

在一個實施例中，本發明提供一種製備抗體之方法，其包含(a)用KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽使動物免疫；(b)取得該動物之脾臟且製備單細胞懸浮液；(c)使脾細胞與骨髓瘤細胞融合；(d)在融合瘤選擇培養基中培養融合後細胞；(e)培養所得融合瘤；(f)針對特異性抗體產生進行篩選；及(g)選擇產生所需抗體之融合瘤。

在一個實施例中，本發明提供一種製備用於治療發炎或自體免疫病症之抗體的方法，其包含(a)用包含KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之免疫原使非人類哺乳動物免疫；(b)選擇來自該免疫之哺乳動物的抗體，其中該等抗體結合該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽；及(c)選擇(b)中增強NK細胞對T細胞之消除作用的抗體。

在一個實施例中，本發明提供一種製備用於治療發炎或自體免疫病症之抗體的方法，其包含(a)藉由噬菌體呈現技術提供抗體庫；(b)庫，其中該等抗體結合該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽；及(c)選擇(b)中增強NK細胞對T細胞之消除作用的抗體。

在另一實施例中，上述各種方法中之任一者可進一步視情況藉由應用一或多種其他治療劑(例如小分子藥劑、DMARD(較佳為不為主要作用方式可為誘導ADCC之抗體))

之治療而改良。

在一個實施例中，本發明提供一種治療自體免疫病症之方法，其可包含投與有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，治療發炎病症之方法可包含投與有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，消除或減少與疾病病狀有關之T細胞數目的方法可包含在表現KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之細胞存在下使該等T細胞與抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物接觸。在一個實施例中，表現KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之細胞為NK細胞。在一個實施例中，其係離體達成。在一個實施例中，其在活體內達成。在一個實施例中，T細胞包括促發炎、活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞中之一或多者。

在另一實施例中，消除或減少與發炎病症病理有關之T細胞數目的方法可包含投與患有發炎病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，消除或減少與自體免疫病症病理有關之T細胞數目的方法可包含投與患有自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，T細胞包含活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、促發炎T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之

T細胞。在一個實施例中，T細胞包括以下一或多者：循環中之T細胞；患病或發炎組織中所包含之T細胞；浸潤性T細胞；已浸潤於疾病組織中之T細胞；滑膜關節組織或滑液中所包含之T細胞；或中樞神經系統、結腸或皮膚組織中所包含之T細胞。在一個實施例中，個體患有至少部分由該等T細胞介導之疾病。

在另一實施例中，活體內消除或減少與發炎或自體免疫病症病理有關之活化及/或增殖性T細胞數目的方法可包含投與患有發炎或自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，消除或減少與發炎或自體免疫病症病理有關之CD4+ T細胞數目的方法可包含投與患有發炎或自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，消除或減少促發炎T細胞數目的方法可包含投與患有發炎或自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該疾病至少部分由該等T細胞介導。

在另一實施例中，消除或減少浸潤性T細胞數目的方法可包含投與患有發炎或自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該疾病至少部分由該等T細胞介導。在一個實施例中，浸潤性T細胞包括

以下一或多者：已浸潤於疾病組織中之細胞、已浸潤於滑膜關節組織或滑液中之細胞，或已浸潤於中樞神經系統、結腸或皮膚組織中之細胞。

在另一實施例中，消除或減少表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞數目的方法可包含投與患有發炎或自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該等T細胞至少部分介導該病症。

在另一實施例中，治療發炎病症之方法可包含：(a)確定個體是否患有發炎或自體免疫病症；及(b)若該個體患有發炎或自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。

在另一實施例中，治療自體免疫病症之方法可包含：(a)確定個體是否患有發炎或自體免疫病症；及(b)若該個體患有發炎或自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。

在另一實施例中，治療發炎病症之方法可包含：(a)確定個體是否患有至少部分由T細胞介導之發炎病症，及(b)若該個體患有至少部分由該等T細胞介導之發炎病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。在一個實施例中，T細胞包括以下一或多者：促發炎、活化及/或增殖性T細胞、循環中或患病或發炎組織中之T細胞、CD4+ T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。

在另一實施例中，治療自體免疫病症之方法可包含：(a) 確定個體是否患有至少部分由T細胞介導之自體免疫病症；及(b)若該個體患有至少部分由該等T細胞介導之自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。在一個實施例中，T細胞包括以下一或多者：促發炎、活化及/或增殖性T細胞、循環中之T細胞或患病或發炎組織中之T細胞、CD4+ T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。

在另一實施例中，治療個體之發炎疾病的方法可包含：(a)評估個體之發炎疾病之存在、階段及/或進展；及(b)投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，治療個體之自體免疫疾病的方法可包含：(a)評估個體之自體免疫疾病之存在、階段及/或進展；及(b)投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該方法可包含評估個體之疾病的存在、階段及/或進展，其可包含分析自體抗體、CRP、任何蛋白水解酶、發炎介體或進行性炎症之標記的含量。在一個實施例中，確定該個體適用於用抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療，投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，治療個體之發炎疾病的方法可包含：(a)確定該個體是否確診有發炎疾病；及(b)若該個體確診有發炎疾病，則投與該

患者有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，治療個體之自體免疫疾病的方法可包含：(a)確定該個體是否確診有自體免疫疾病；及(b)若該個體確診有自體免疫疾病，則投與該患者有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，治療個體之發炎疾病的方法可包含(a)確定該個體是否正經歷發炎疾病之發作、危象、惡化或突發；及(b)若該個體經歷發炎疾病之發作、危象、惡化或突發，則投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，治療個體之自體免疫疾病的方法可包含(a)確定該個體是否正經歷自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發；及(b)若該個體經歷自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發，則投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，治療個體之發炎疾病的方法可包含(a)確定該個體是否患有特徵在於存在T細胞之發炎疾病；及(b)若該個體患有特徵在於存在該等T細胞之發炎疾病，則投與該患者有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，治療個體之自體免疫疾病的方法可包含(a)確定該個體是否患有特徵在於存在T細胞之自體免疫疾病；及(b)若該個體患有特徵在於存在該等T細胞之自體免疫疾病，則投與該患者有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。

在一個實施例中，T細胞可為活化及/或增殖性T細胞、

CD4+ T細胞、促發炎T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。

在一個實施例中，本發明提供治療正經歷發炎疾病之發作、危象、惡化或突發之個體的方法，其可包含投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該個體確診有發炎疾病。在另一實施例中，治療正經歷自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發之個體的方法可包含投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該個體患有自體免疫發炎疾病。在另一實施例中，治療個體之方法可包含：(a)確定個體是否患有發炎或自體免疫病症；及(b)若該個體患有發炎或自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。在另一實施例中，治療個體之方法可包含：(a)確定個體是否患有至少部分由T細胞介導之發炎或自體免疫病症；及(b)若該個體患有至少部分由該等T細胞介導之發炎或自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。在另一實施例中，治療個體之方法可包含：(a)評估個體之發炎或自體免疫疾病之存在、階段及/或進展；及(b)投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在另一實施例中，治療個體之方法可包含：(a)確定該個體是否確診有發炎或自體免疫疾病；及(b)若該個體確診有發炎或自體免疫疾病，則投與該

患者有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。

在另一實施例中，治療個體之方法可包含：(a)確定該個體是否正經歷發炎或自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發；及(b)若該個體經歷發炎或自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發，則投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。在一個實施例中，該化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體、小分子或其任何組合。在一個實施例中，個體患有由T細胞介導之發炎或自體免疫病症。在一個實施例中，自體免疫病症為後天免疫缺乏症候群(AIDS)、後天脾萎縮、急性前葡萄膜炎、急性播散性腦脊髓炎(ADEM)、急性痛風性關節炎、急性壞死性出血性腦白質炎、急性或慢性竇炎、急性化膿性腦膜炎(或其他中樞神經系統發炎病症)、急性嚴重炎症、艾迪森氏病、腎上腺炎、成人發作型糖尿病(第II型糖尿病)、成人發作型特發性副甲狀腺低能症(AOIH)、無 γ 球蛋白血症、顆粒球缺乏症、血管炎病(包括血管炎(包括大血管血管炎(包括風濕性多肌痛及巨細胞性(高安氏)關節炎))、過敏病狀、過敏性接觸性皮炎、過敏性皮炎、過敏性肉芽腫性血管炎、過敏病症、過敏性神經炎、過敏反應、斑形脫髮、全禿、阿爾波特氏症候群、肺泡炎(例如過敏性肺泡炎及纖維化肺泡炎)、阿茲海默氏病、澱粉樣變性、肌萎縮性側索硬化(ALS；葛雷克氏病)、嗜伊紅血

球相關病症(例如嗜伊紅血球增多)、全身性過敏反應、僵直性脊椎炎、血管擴張、抗體介導之腎炎、抗-GBM/抗-TBM腎炎、抗原-抗體複合物介導之疾病、抗絲球體基底膜病、抗-磷脂抗體症候群、抗磷脂症候群(APS)、口瘡、口瘡性口炎、再生不能性貧血、心律不整、動脈硬化、動脈硬化病症、關節炎(例如類風濕性關節炎, 諸如急性關節炎、慢性類風濕性關節炎)、慢性漸進性關節炎、變形性關節炎、蛔蟲病、麴黴腫(或含有嗜伊紅血球之肉芽腫)、麴菌病、無精液症、哮喘(例如支氣管哮喘及自體免疫哮喘)、共濟失調毛細管擴張症、共濟失調硬化、動脈粥樣硬化、自閉症、自體免疫血管性水腫、自體免疫再生不能性貧血、自體免疫萎縮性胃炎、自體免疫糖尿病、睪丸及卵巢之自體免疫疾病(包括自體免疫睪丸炎及卵巢炎)、與膠原病有關之自體免疫病症、自體免疫自主神經障礙、自體免疫耳部疾病(例如自體免疫內耳疾病(AGED))、自體免疫內分泌疾病(包括甲狀腺炎, 諸如自體免疫甲狀腺炎)、自體免疫腸病症候群、自體免疫性腺衰竭、自體免疫聽力喪失、自體免疫溶血、自體免疫肝炎、自體免疫肝臟病症、自體免疫高脂質血症、自體免疫免疫缺乏症、自體免疫內耳疾病(AIED)、自體免疫心肌炎、自體免疫嗜中性球減少症、自體免疫胰臟炎、自體免疫多內分泌病、第I型自體免疫多腺體症候群、自體免疫視網膜病、自體免疫血小板減少性紫癍(ATP)、自體免疫甲狀腺病、自體免疫蕁麻疹、自體免疫介導之胃腸疾病、軸突及

神經元神經病、巴婁病、白塞氏病、良性家族性及缺血再灌注損傷、良性淋巴球性血管炎、伯格氏病(IgA腎病)、養鳥者肺、失明、伯克氏病、阻塞性細支氣管炎(非移植)伴有NSIP、支氣管炎、支氣管肺炎麴菌病、布魯頓氏症候群、大皰性類天庖瘡、卡普蘭氏症候群、心肌病、心血管缺血、卡斯曼氏症候群、乳糜瀉、脂肪便症(麩質性腸病)、小腦退化、大腦缺血及伴有血管形成之疾病、恰加斯氏病、通道病(例如癲癇症)、CNS通道病、脈絡膜視網膜炎、脈絡膜炎、自體免疫血液學病症、慢性活動性肝炎或自體免疫慢性活動性肝炎、慢性接觸性皮炎、慢性嗜伊紅血球肺炎、慢性疲勞症候群、慢性肝炎、慢性過敏性肺炎、慢性發炎性關節炎、慢性發炎性髓鞘脫失多神經病(CIDP)、慢性難治炎症、慢性黏膜與皮膚性念珠菌病、慢性神經病(例如IgM多神經病或IgM介導之神經病)、慢性阻塞性氣管疾病、慢性肺部發炎疾病、慢性復發性多灶性骨髓炎(CRMO)、慢性甲狀腺炎(橋本氏甲狀腺炎)或亞急性甲狀腺炎、徹奇-斯全司症候群、癍痕性類天庖瘡/良性黏膜類天庖瘡、CNS發炎病症、CNS血管炎、腹腔病、柯剛氏症候群、冷凝集素病、息肉狀結腸炎、結腸炎(諸如潰瘍性結腸炎、膠原性結腸炎)、涉及T細胞浸潤及慢性發炎反應之病狀、先天性心臟傳導阻滯、先天性風疹感染、庫姆氏陽性貧血、冠狀動脈疾病、科沙奇病毒性心肌炎、CREST症候群(鈣質沉著、雷諾氏現象)、克羅恩氏病、冷球蛋白血症、庫欣氏症候群、睫狀體炎(例如慢性睫狀體

炎、異時性睫狀體炎、虹膜睫狀體炎或福斯氏睫狀體炎)、囊腫性纖維化、細胞激素誘發之毒性、聾症、退化性關節炎、髓鞘脫失疾病(例如自體免疫髓鞘脫失疾病)、髓鞘脫失神經病、登革熱、疱疹樣皮炎及異位性皮炎、皮炎(包括接觸性皮炎)、皮肌炎、具有急性發炎組分之皮膚病、德維克氏病(視神經脊髓炎)、糖尿病性大動脈病症、糖尿病性腎病、糖尿病性視網膜病、戴-布二氏貧血、彌漫性間質性肺纖維化、擴張型心肌病、盤狀狼瘡、涉及白血球滲出之疾病、卓斯勒症候群、杜普伊特倫氏攣縮、埃可病毒感染、濕疹(包括過敏性或異位性濕疹)、腦炎(諸如羅氏腦炎及邊緣葉及/或腦幹腦炎)、腦脊髓炎(例如過敏性腦脊髓炎及實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE))、動脈內膜增生、心內膜炎、內分泌性眼病、子宮內膜異位症、心內膜心肌纖維化、晶狀體過敏性眼內炎、眼內炎、過敏性腸炎、嗜伊紅血球增多-肌痛症候群、嗜伊紅血球性筋膜炎、流行性角膜結膜炎、後天性大皰性表皮鬆懈(EBA)、鞏膜外層、鞏膜外層炎、埃-巴二氏病毒感染、持久性隆起性紅斑、多形紅斑、麻風結節性紅斑、結節性紅斑、胎兒紅血球母細胞增多症、食道運動功能障礙、原發性混合型冷球蛋白血症、篩骨、伊文氏症候群、實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE)、因子VIII缺乏症、農民肺、風濕熱、費爾提氏症候群、肌肉纖維疼痛、纖維化肺泡炎、絲蟲病、局部區段性絲球體硬化症(FSGS)、食物中毒、額葉萎縮、胃萎縮、巨細胞性動脈炎(顳動脈炎)、巨細胞性肝炎、巨細

胞性多肌痛、絲球體腎炎、伴有及不伴有腎病症候群之絲球體腎炎(GN)(諸如慢性或急性絲球體腎炎(例如原發性GN))、古德帕斯徹氏症候群、痛風性關節炎、顆粒球輸注相關症候群、肉芽腫病(包括淋巴瘤樣肉芽腫病)、伴有多血管炎之肉芽腫病(GPA)、肉芽腫性葡萄膜炎、格雷氏病、古立安-白瑞症候群、點狀牛皮癬、陣發性血紅素尿、黑-里二氏病、橋本氏病、橋本氏腦炎、橋本氏甲狀腺炎、血色病、溶血性貧血或免疫性溶血性貧血(包括自體免疫溶血性貧血(AIHA))、溶血性貧血、A型血友病、亨-舍二氏紫癍、妊娠疱疹、人類免疫缺乏病毒(HIV)感染、痛覺過敏、低 γ 球蛋白血症、性腺低能症、副甲狀腺低能症、特發性尿崩症、特發性面癱、特發性甲狀腺功能低下、特發性IgA腎病、特發性膜性GN或特發性膜性腎病、特發性腎病症候群、特發性肺纖維化、特發性口炎性腹瀉、特發性血小板減少性紫癍(ITP)、IgA腎病、IgE介導之疾病(例如全身性過敏反應以及過敏性及異位性鼻炎)、IgG4相關硬化性疾病、局部迴腸炎、免疫複合物腎炎、與由細胞激素及T-淋巴球介導之急性及遲發型過敏症有關之免疫反應、免疫介導之GN、免疫調節性脂蛋白(包括成人或急性呼吸窘迫症候群(ARDS))、包涵體肌炎、感染性關節炎、由抗精原細胞抗體所致之不孕症、全部或部分葡萄膜炎、發炎性腸病(IBD)、發炎性過度增殖性皮膚疾病、發炎性肌病、胰島素依賴型糖尿病(第1型)、胰島炎、間質性膀胱炎、間質性肺病、間質肺纖維化、虹膜炎、缺

血再灌注病症、關節炎症、青少年關節炎、青少年皮膚炎、青少年糖尿病、青少年發作型(第I型)糖尿病(包括兒童胰島素依賴型糖尿病(IDDM))、青少年發作型類風濕性關節炎、川崎氏症候群、乾燥性角膜結膜炎、錐蟲病、藍伯-伊頓症候群、利什曼體病、麻風病、白血球減少症、白血球黏附缺乏症、白血球破碎性血管炎、白血球減少症、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、線性IgA皮膚病、線性IgA疾病(LAD)、呂弗勒氏症候群、類狼瘡性肝炎、狼瘡(包括腎炎、大腦炎、兒童、非腎、腎外、盤狀、脫髮)、狼瘡(SLE)、播散性紅斑狼瘡、萊姆關節炎、萊姆病、淋巴間質性肺炎、瘧疾、男性及女性自體免疫不孕症、上頷骨病、中血管血管炎(包括川崎氏病及結節性多動脈炎)、膜狀增生性或膜增生性GN(MPGN)(包括第I型及第II型)及快速進行性GN、膜性GN(膜性腎病)、美尼爾氏病、腦膜炎、顯微性結腸炎、顯微性多血管炎、偏頭痛、微小腎病變、混合型結締組織病(MCTD)、感染性單核細胞增多症、莫倫氏潰瘍、穆-哈二氏病、多灶性運動神經病、多發性內分泌衰竭、多器官損傷症候群(諸如繼發於敗血症、創傷或出血之多器官損傷症候群)、多器官損傷症候群、多發性硬化症(MS)(諸如脊髓-眼MS)、多發性硬化症、流行性腮腺炎、肌肉病症、重症肌無力(諸如胸腺瘤相關重症肌無力)、重症肌無力、心肌炎、肌炎、發作性睡病、壞死性小腸結腸炎及透壁性結腸炎，及自體免疫發炎性腸病；壞死性、皮膚或過敏性血管炎；新生兒

狼瘡症候群(NLE)、腎病、腎病症候群、神經疾病、視神經脊髓炎(德維克氏)、視神經脊髓炎、神經性肌強直、嗜中性球減少症、非癌性淋巴球增多症、非肉芽腫性葡萄膜炎、非惡性胸腺瘤、眼部及眼眶發炎病症、眼部癥痕性類天疱瘡、卵巢炎、交感神經性眼炎、眼陣攣肌陣攣症候群(OMS)、眼陣攣或眼陣攣肌陣攣症候群(OMS)，及感覺神經病、視神經炎、肉芽腫性睪丸炎、骨關節炎、復發性風濕病、胰臟炎、全部血球減少症(pancytopenia)、PANDAS(與鏈球菌有關之兒童自體免疫神經精神病症)、腫瘤相關小腦退化、腫瘤相關症候群；腫瘤相關症候群，包括神經腫瘤相關症候群(例如藍伯-伊頓肌無力症候群或伊頓-藍伯症候群)；寄生物疾病，諸如利什曼原蟲病(Leshmania)；陣發性夜間血紅素尿(PNH)、帕-羅二氏症候群、睫狀體平坦部炎(周邊葡萄膜炎)、帕-特二氏症候群、小病毒感染；類天疱瘡，諸如大皰性類天疱瘡及皮膚類天疱瘡；天疱瘡(包括尋常天疱瘡)、紅斑性天疱瘡、落葉狀天疱瘡、天疱瘡黏膜類天疱瘡、天疱瘡、消化性潰瘍、週期性麻痹、周邊神經病、靜脈周邊性腦脊髓炎、惡性貧血(pernicious anemia/anemia perniosa)、惡性貧血、晶狀體抗原性葡萄膜炎、肺硬化、POEMS症候群；結節性多動脈炎，第I型、第II型及第III型；原發性慢性多發性關節炎、多軟骨炎(例如難治或復發性多軟骨炎)、多內分泌腺自體免疫疾病、多內分泌異常、多腺體症候群(例如自體免疫多腺體症候群(或多腺體內分泌病症候群))、風濕性

多肌痛、多發性肌炎、多發性肌炎/皮膚炎、多神經病、急性多神經根炎、心切開術後症候群、後葡萄膜炎、或自體免疫葡萄膜炎、心肌梗塞後症候群、心包切開術後症候群、鏈球菌感染後腎炎、疫苗接種後症候群、早老性癡呆、原發性膽汁性肝硬化、原發性甲狀腺功能低下、原發性特發性黏液水腫；原發性淋巴球增多症，其包括單株B細胞淋巴球增多症(例如良性單株 γ 球蛋白病及意義未明之單株 γ 球蛋白病MGUS)；原發性黏液水腫、原發性進行性MS(PPMS)及復發-緩解型MS(RRMS)、原發性硬化性膽管炎、孕酮皮炎、進行性全身性硬化、增生性關節炎；牛皮癬，諸如斑塊型牛皮癬；牛皮癬、牛皮癬性關節炎、肺泡蛋白沈積症、肺部浸潤性嗜伊紅血球增多、純紅血球貧血或再生不良(PRCA)、純紅血球再生不良、化膿性或非化膿性竇炎、膿皰性牛皮癬及指甲牛皮癬、腎盂炎、壞疽性膿皮病、奎汶氏甲狀腺炎、雷諾氏現象、反應性關節炎、反覆流產、血壓反應降低、反射性交感神經失養症、難治型口炎性腹瀉、萊特爾氏病或症候群、復發性多軟骨炎、心肌或其他組織再灌注損傷、再灌注損傷、呼吸窘迫症候群、腿不寧症候群、視網膜自體免疫、腹膜後纖維化、雷諾氏症候群、風濕性疾病、風濕熱、風濕病、類風濕性關節炎、類風濕性脊椎炎、風疹病毒感染、塞氏症候群、類肉瘤病、血吸蟲病、施密特症候群、SCID及埃-巴二氏病毒相關疾病、鞏膜、鞏膜炎、指硬皮病、硬皮病(包括全身性硬皮病)、硬化性膽管炎、播散性硬化；硬化，諸如

全身性硬化；感覺神經性聽力喪失、血清反應陰性脊椎關節炎、席漢氏症候群、夏爾曼氏症候群、矽肺病、休格連氏症候群、精子及睪丸自體免疫、蝶竇炎、斯-約二氏症候群、僵人症候群、亞急性細菌性心內膜炎(SBE)、亞急性皮膚紅斑狼瘡、突發性聽力喪失、蘇薩克氏症候群、西登哈姆氏舞蹈病、交感神經性眼炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)(例如皮膚SLE)、全身性壞死性血管炎及ANCA相關血管炎，諸如徹奇-斯全司血管炎或症候群(CSS)；脊髓癆、高安氏動脈炎、毛細血管擴張、顛動脈炎/巨細胞性動脈炎、血栓閉塞性脈管炎；血小板減少症(例如如由心肌梗塞患者所顯現)，包括血栓性血小板減少性紫癍(TTP)，及自體免疫或免疫介導之血小板減少症，諸如特發性血小板減少性紫癍(ITP)，包括慢性或急性ITP；血小板減少性紫癍(TTP)、甲狀腺中毒症、組織損傷、托-享二氏症候群、中毒性表皮壞死溶解、中毒性休克症候群、輸血反應、嬰兒期短暫性低 γ 球蛋白血症、橫貫性脊髓炎、熱帶肺性嗜伊紅血球增多、結核病、潰瘍性結腸炎、未分化型結締組織病(UCTD)、蕁麻疹(例如慢性過敏性蕁麻疹及慢性特發性蕁麻疹，包括慢性自體免疫蕁麻疹)、葡萄膜炎(例如前葡萄膜炎)、葡萄膜視網膜炎、瓣膜炎、血管功能障礙、血管炎、脊椎關節炎、水皰性皮膚病、白斑病、韋格納氏肉芽腫病(現稱作伴有多血管炎之肉芽腫病(GPA))、維斯科特-奧爾德里奇症候群或X性聯高IgM症候群。

在一個實施例中，發炎病症為風濕性疾病(例如類風濕性關節炎、骨關節炎、牛皮癬性關節炎)、脊椎關節病(例如僵直性脊椎炎、反應性關節炎、萊特爾氏症候群)、結晶性關節病(例如痛風、假性痛風、焦磷酸鈣沈積病)、多發性硬化症、萊姆病、風濕性多肌痛；結締組織疾病(例如全身性紅斑狼瘡、全身性硬化、多發性肌炎、皮肌炎、休格連氏症候群)；血管炎病(例如結節性多動脈炎、韋格納氏肉芽腫病、徹奇-斯全司症候群)；發炎病狀，包括創傷或缺血之後果、類肉瘤病；血管疾病，包括動脈粥樣硬化性血管疾病、動脈粥樣硬化及血管阻塞性疾病(例如動脈粥樣硬化、缺血性心臟病、心肌梗塞、中風、周邊血管疾病)、血管支架再狹窄；眼部疾病，包括葡萄膜炎、角膜病、虹膜炎、虹膜睫狀體炎、白內障；酸逆流/胃灼熱、痤瘡、尋常痤瘡、過敏及敏感、阿茲海默氏病、哮喘、動脈粥樣硬化及血管阻塞性疾病(例如動脈粥樣硬化、缺血性心臟病、心肌梗塞、中風、周邊血管疾病)及血管支架再狹窄、自體免疫疾病、支氣管炎、癌症、心臟炎、白內障、乳糜瀉、慢性疼痛、慢性前列腺炎、肝硬化、結腸炎、結締組織病(例如全身性紅斑狼瘡、全身性硬化、多發性肌炎、皮肌炎、休格連氏症候群)、角膜病、克羅恩氏病、結晶性關節病(例如痛風、假性痛風、焦磷酸鈣沈積病)、癡呆、皮炎、糖尿病、乾眼症、濕疹、水腫、氣腫、肌肉纖維疼痛、胃腸炎、齒齦炎、絲球體腎炎、心臟病、肝炎、高血壓、過敏、發炎性腸病；發

炎病狀，包括創傷或缺血之後果；胰島素抗性、間質性膀胱炎、虹膜睫狀體炎、虹膜炎、關節疼痛/關節炎/類風濕性關節炎、萊姆病、代謝症候群(症候群X)、多發性硬化症、肌炎、腎炎、肥胖症；眼部疾病，包括葡萄膜炎；骨質減少、骨質疏鬆症、帕金森氏症、骨盆發炎性疾病、牙周病、多動脈炎、多軟骨炎、風濕性多肌痛、牛皮癬、再灌注損傷、風濕性關節炎、風濕性疾病(例如類風濕性關節炎、骨關節炎、牛皮癬性關節炎)、類風濕性關節炎、類肉瘤病、硬皮病、竇炎、休格連氏症候群、結腸痙攣、脊椎關節病(例如僵直性脊椎炎、反應性關節炎、萊特爾氏症候群)、全身性念珠菌病、腱炎、移植排斥反應、UTI、陰道炎；血管疾病，包括動脈粥樣硬化性血管疾病；血管炎病(例如結節性多動脈炎、韋格納氏肉芽腫病、徹奇-斯全司症候群)及血管炎。

在一個實施例中，該化合物可為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。在一個實施例中，抗體可為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特异性抗體。

在一個實施例中，該抗體之輕鏈可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1、3或5。在一個實施例中，胺基酸序列SEQ ID NO: 3之殘基3、4、9、24、32、41、47、50、55、71及74分別為Q、L、S、R、A、G、L、D、E、F及A。在一個實施例中，胺基酸序列SEQ ID NO: 3之殘基3、4、9、24、32、41、47、50、55、71及74分別為R、M、F、W、Y、

A、F、Y、Q、Y及T。在一個實施例中，該抗體之重鏈可包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2、4或6。在一個實施例中，該抗體可包含對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 1之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 1之殘基50至56的輕鏈CDR2胺基酸序列；或對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 1之殘基89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體可包含對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 3之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 3之殘基50至56的輕鏈CDR2胺基酸序列；或對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 3之殘基89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列。

在一個實施例中，該抗體可包含對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 2之殘基31至35的重鏈CDR1胺基酸序列；對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 2之殘基50至65的重鏈CDR2胺基酸序列；或對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 2之殘基99至112的重鏈CDR3胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體可包含對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 4之殘基31至35的重鏈CDR1胺基酸序列；對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 4之殘基50至66的重鏈CDR2胺基酸序列；或對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 4之殘基99至113的重鏈CDR3胺基酸序列。

在一個實施例中，抗體可包含可分別包含SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2之可變輕鏈及可變重鏈序列。在一個實施例中，抗體可包含可分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3及SEQ ID NO: 4之可變輕鏈及可變重鏈序列。在一個實施例

中，抗體可包含可分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6之可變輕鏈及可變重鏈序列。在一個實施例中，抗體結合以下胺基酸序列內之抗原決定基：SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24。在一個實施例中，抗體可在由至少一個選自由以下組成之群的胺基酸殘基所界定之區域內結合KIR2DL1：105、106、107、108、109、110、111、127、129、130、131、132、133、134、135、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、181及192。在一個實施例中，抗體可在由至少一個選自由以下組成之群的胺基酸殘基所界定之區域內結合KIR2DL1及KIR2DL2/3：105、106、107、108、109、110、111、127、129、130、131、132、133、134、135、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、181及192。

在一個實施例中，抗體或片段可直接或間接結合至標記、細胞毒性劑、治療劑或免疫抑制劑。在一個實施例中，標記可為化學發光標記、順磁性標記、MRI對比劑、螢光標記、生物發光標記或放射性標記。在一個實施例中，順磁性標記可為鋁、錳、鉑、氧、鐳、鎳、鈦、鈮或鎘。在一個實施例中，細胞毒性劑可為抑制DNA、RNA或蛋白質合成之部分、放射性核種或核糖體抑制蛋白。在一個實施例中，細胞毒性劑可為²¹²Bi、¹³¹I、¹⁸⁸Re、⁹⁰Y、長春地辛、甲胺喋呤、阿黴素、順鉑、商陸抗病毒蛋白、假

單胞菌外毒素A、蓖麻毒素、白喉毒素、蓖麻毒素A鏈或細胞毒性磷脂酶。

在一個實施例中，抗體阻斷或中和NK抑制作用。在一個實施例中，抗體結合至KIR2DL1、KIR2DL2或KIR2DL3中之至少一者且中和KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3介導之對NK細胞之細胞毒性的抑制作用。在一個實施例中，抗體之中和可包含使得NK細胞介導之NK標靶細胞特异性溶解增加至少約20%。

● 在一個實施例中，抗體與單株抗體1-7F9、DF200及/或NKVSF1競爭結合相同抗原決定子區。在一個實施例中，抗體結合至NK細胞表面上之至少兩種抑制性KIR受體。在一個實施例中，抗體結合人類KIR2DL受體之共同抗原決定區。在一個實施例中，抗體結合至KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3受體。

● 在一個實施例中，抗體對KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之親和力為至少約 10^4 M^{-1} 至約 10^{10} M^{-1} 。在一個實施例中，抗體對KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之親和力為至少約 10^7 M^{-1} 至約 10^9 M^{-1} 。在一個實施例中，抗體結合KIR之解離常數可小於約100 nM。

在一個實施例中，抗體與KIR 2DL1加上2DL2/3、3DL1加上3DL2、2DL1(及2DL2/3)加上2DS4，以及2DL1(及2DL2/3)交叉反應，但不與2D24交叉反應。

在一個實施例中，抗體可為DF200、1-7F9或NKVSF1抗體。

在一個實施例中，抑制 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 多肽之化合物可以單療法形式投與。在一個實施例中，抑制 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 多肽之化合物可與第二治療劑組合投與。在一個實施例中，該第二治療劑可為減輕炎症之藥劑。在一個實施例中，該第二治療劑可為小分子化學劑。在一個實施例中，第二治療劑可為 DMARD，視情況為抗-TNF α 抗體、小分子酪胺酸激酶抑制劑或甲胺喋呤(MTX)。在一個實施例中，第二治療劑可為除具有 IgG1 或 IgG3 同型之抗體以外的藥劑。

在一個實施例中，抑制 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 之化合物可為能夠阻斷或中和由 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 介導之 NK 抑制作用且從而增強 NK 細胞針對以其他方式阻斷之標靶細胞的活性之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及 / 或抗-KIR2DL3 抗體。在一個實施例中，抗體可為結合 KIR2DL1 及 KIR2DL2/3 之抗-KIR 抗體。在一個實施例中，抗-KIR 抗體與 1-7F9 競爭結合至 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3。在一個實施例中，抗體可為 1-7F9。在一個實施例中，抗體可包含 1-7F9 之 VL 域及 VH 域。在一個實施例中，抗體可包含 1-7F9 之 VL CDR 及 VH CDR。

在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及 / 或抗-KIR2DL3 抗體可以醫藥學上可接受之組合物形式投與，該組合物可包含有效量之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及 / 或抗-KIR2DL3 抗體。在一個實施例中，該組合物可不含任

何其他醫藥活性劑。

在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以一定量投與以使得NK細胞上之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和達至少約1週之時段。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以一定量投與以使得NK細胞上之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和達至少約2週之時段。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以一定量投與以使得NK細胞上之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和達至少約1個月之時段。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以約每2週一次之給藥頻率多次投與。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以約每1個月一次之給藥頻率多次投與。在一個實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以約每2個月一次或每2個月以上之時段一次之給藥頻率多次投與。

本發明亦提供用於治療自體免疫病症之組合物，其可包含抗-KIR2DL1抗體。在另一實施例中，用於治療自體免疫病症之組合物可包含抗-KIR2DL2抗體。在另一實施例中，用於治療自體免疫病症之組合物可包含抗-KIR2DL3抗體。在另一實施例中，用於治療發炎病症之組合物可包含抗-KIR2DL1抗體。在另一實施例中，用於治療發炎病

症之組合物可包含抗-KIR2DL2抗體。在另一實施例中，用於治療發炎病症之組合物可包含抗-KIR2DL3抗體。

在另一實施例中，本發明提供抗-KIR2DL1抗體之用途，其用於製備治療自體免疫病症之藥物。在一個實施例中，本發明提供抗-KIR2DL2抗體之用途，其用於製備治療自體免疫病症之藥物。在一個實施例中，本發明提供抗-KIR2DL3抗體之用途，其用於製備治療自體免疫病症之藥物。在一個實施例中，本發明提供抗-KIR2DL1抗體之用途，其用於製備治療發炎病症之藥物。在一個實施例中，本發明提供抗-KIR2DL2抗體之用途，其用於製備治療發炎病症之藥物。在一個實施例中，本發明提供抗-KIR2DL3抗體之用途，其用於製備治療發炎病症之藥物。

在一個實施例中，本發明提供一種製備用於治療發炎或自體免疫病症之抗體的方法，該方法可包含以下步驟：(a) 用可包含KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之免疫原使非人類哺乳動物免疫；(b) 選擇來自該免疫之哺乳動物的抗體，其中該等抗體結合該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽；及(c) 選擇(b)中增強NK細胞對T細胞之消除作用的抗體。

在一個實施例中，本發明提供一種製備用於治療發炎或自體免疫病症之抗體的方法，該方法可包含藉由噬菌體呈現技術提供抗體庫，其中該等抗體結合該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽；及選擇增強NK細胞對T細胞之消除或消耗作用的抗體。

此等態樣更全面描述於本文提供之[實施方式]中，且根據本文提供之[實施方式]，本發明之其他態樣、特徵及優勢將為顯而易見的。

【實施方式】

為了可充分地瞭解本文所述之本發明，闡述以下詳細描述。詳細描述本發明之各種實施例且可藉由所提供之實例來進一步說明。

定義

除非另外定義，否則本文所用之所有技術及科學術語的含義與一般熟習本發明所屬技術之人員通常所瞭解之含義相同。儘管在本發明中或在試驗本發明時可使用類似或等同於本文所述方法及物質的方法及物質，但本文描述適合之方法及物質。該等物質、方法及實例僅用於說明，而不意欲具限制性。

除非上下文另外明確規定，否則如本文描述中及貫穿隨後之申請專利範圍中所用之「一(a)」、「一(an)」及「該」之含義包括複數個參考物。

如本文所用之「抗原呈現細胞」廣泛指專職性抗原呈現細胞(例如B淋巴球、單核細胞、樹突狀細胞及郎格罕氏細胞(Langerhans cell))以及其他抗原呈現細胞(例如角化細胞、內皮細胞、星形膠質細胞、纖維母細胞及寡樹突神經膠質細胞)。

如本文所用之「胺基酸」廣泛地指天然存在及合成的胺基酸，以及以類似於天然存在之胺基酸的方式發揮功能的

胺基酸類似物及胺基酸模擬物。天然存在之胺基酸為由遺傳密碼編碼之胺基酸，以及後來經修飾之胺基酸(例如羧脯胺酸、 γ -羧基麩胺酸及O-磷酸絲胺酸)。胺基酸類似物係指與天然存在之胺基酸具有相同基本化學結構(亦即結合至氫、羧基、胺基之碳)且具有R基團的化合物(例如高絲胺酸、正白胺酸、甲硫胺酸亞砷、甲硫胺酸甲基銻)。該等類似物具有經修飾之R基團(例如正白胺酸)或經修飾之肽主鏈，但保留與天然存在之胺基酸相同的基本化學結構。胺基酸模擬物係指具有與胺基酸之一般化學結構不同之結構，但以類似於天然存在之胺基酸的方式發揮功能的化合物。

如本文所用之「無因變性」或「耐受性」廣泛地指針對活化受體介導之刺激的耐性(refractivity)。該耐性一般具抗原特異性且在暴露於耐受性抗原之後持續存在。

如本文所用之「抗體」廣泛地指抗體之「抗原結合部分」(亦可與「抗體部分」、「抗原結合片段」、「抗體片段」互換使用)以及全抗體分子。如本文所用之術語「抗原結合部分」係指保留特異性結合至抗原(例如KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3)之能力之一或多個抗體片段。已顯示可由全長抗體之片段來發揮抗體之抗原結合功能。術語抗體之「抗原結合部分」所涵蓋之抗原結合片段的實例包括：(a)Fab片段，其為由VL、VH、CL及CH1域組成之單價片段；(b) $F(ab')_2$ 片段，其為包含由鉸鏈區之二硫橋鍵連接之兩個Fab片段的二價片段；(c)由VH及

CH1域組成之Fd片段；(d)由抗體單臂之VL及VH域組成之Fv片段；(e)dAb片段(Ward等人, (1989) *Nature* 341: 544-546), 其由VH域組成；及(f)分離之互補決定區(CDR)。此外, 儘管Fv片段之兩個域(即VL及VH)係由各別基因編碼, 但可使用重組方法藉由可使其成為單一蛋白質鏈之合成連接子將其連接, 其中VL與VH區配對而形成單價分子(稱作單鏈Fv(scFv); 參見例如Bird等人, (1988) *Science* 242: 423-426; Huston等人, (1988) *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 85: 5879-5883; 及Osbourn等人, (1998) *Nat. Biotechnol.* 16: 778)。術語抗體之「抗原結合部分」亦意欲涵蓋此等單鏈抗體。特定scFv之任何VH及VL序列可連接至人類免疫球蛋白恆定區cDNA或基因組序列, 以產生編碼完整IgG分子或其他同型之表現載體。亦可利用蛋白質化學或重組DNA技術使用VH及VL來產生Fab、Fv或免疫球蛋白之其他片段。亦涵蓋其他形式之單鏈抗體, 諸如雙功能抗體。雙功能抗體為二價雙特異性抗體, 其中VH及VL域表現於單一多肽鏈上, 但使用過短而不允許同一鏈上之兩個域配對的連接子, 從而迫使該等域與另一鏈之互補域配對且形成兩個抗原結合位點。參見例如Holliger等人, (1993) *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448; Poljak等人, (1994) *Structure* 2: 1121-1123。

此外, 抗體或其抗原結合部分(抗原結合片段、抗體片段、抗體部分)可為較大免疫黏附分子之一部分, 該較大免疫黏附分子由抗體或抗體部分與一或多種其他蛋白質或

肽共價或非共價締合而形成。該等免疫黏附分子之實例包括使用抗生蛋白鏈菌素核心區來形成四聚scFv分子(Kipriyanov等人, (1995) *Hum. Antibodies Hybridomas* 6: 93-101)及使用半胱胺酸殘基、標記肽及C端聚組胺酸標籤來形成二價且經生物素標記之scFv分子。Kipriyanov等人, (1994) *Mol Immunol.* 31: 1047-1058。可分別使用諸如對全抗體進行木瓜蛋白酶消化或胃蛋白酶消化之習知技術自全抗體來製備諸如Fab及F(ab')₂片段之抗體部分。此外，可使用如本文所述之標準重組DNA技術來獲得抗體、抗體部分及免疫黏附分子。

抗體可為多株、單株、異種、同種異體、同基因抗體，或其經修飾形式，例如人類化、嵌合抗體。較佳的是，本發明之抗體特異性或實質上特異性結合至KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽。如本文所用之術語「單株抗體」及「單株抗體組合物」指僅含有一種能夠與抗原之特定抗原決定基發生免疫反應之抗原結合位點的抗體分子群體，而術語「多株抗體」及「多株抗體組合物」指含有多種能夠與特定抗原相互作用之抗原結合位點的抗體分子群體。單株抗體組合物通常對與其發生免疫反應之特定抗原呈現單一結合親和力。

如本文所用之「抗原」廣泛地指能夠由抗體結合之分子或一部分分子，其另外能夠誘導動物產生能夠結合至彼抗原之抗原決定基的抗體。抗原可具有一個抗原決定基，或具有一個以上抗原決定基。本文所提及之特異性反應指示

抗原將以高選擇性方式與其相應抗體反應且不與可被其他抗原激發之多種其他抗體反應。在需要增強對相關特定抗原之免疫反應的狀況下，該等抗原包括(但不限於)可引起保護性免疫反應之感染性疾病抗原，該等抗原為例示性的。

如本文所用之「反義核酸分子」廣泛地指與編碼蛋白質之「有義」核酸互補(例如與雙股cDNA分子之編碼股互補)、與mRNA序列互補或與基因之編碼股互補的核苷酸序列。因此，反義核酸分子可以氫鍵鍵結至有義核酸分子。

如本文所用之「細胞凋亡」廣泛地指可使用此項技術中已知之技術表徵的漸進式細胞死亡。細胞凋亡性細胞死亡特徵在於細胞皺縮、胞膜空泡化(membrane blebbing)及染色質凝聚，最終導致細胞破碎。經歷凋亡之細胞亦呈現核小體間DNA裂解之特有模式。

如本文所用之「自體免疫」或「自體免疫疾病或病狀」廣泛地指由個體自身組織引起且針對個體自身組織之疾病或病症，或其共分離(co-segregate)或表現症狀或由此產生之病狀。

如本文所用之「嵌合抗體」廣泛地指一種抗體分子，其中恆定區或其部分經改變、置換或交換，從而使抗原結合位點(可變區)連接至不同或改變之類別、效應功能及/或物種之恆定區，或賦予嵌合抗體以新特性之完全不同之分子，例如酶、毒素、激素、生長因子、藥物，可變區或其部分用具有不同或改變之抗原特異性的可變區改變、置換

或交換。

如本文所用之「編碼區」廣泛地指核苷酸序列中包含轉譯成胺基酸殘基之密碼子的區域，而術語「非編碼區」係指核苷酸序列中不轉譯成胺基酸之區域(例如5'及3'非轉譯區)。

如本文所用之「經保守修飾之變異體」適用於胺基酸及核酸序列，且對於特定核酸序列，廣泛地指經保守修飾之變異體，其係指編碼相同或基本上相同的胺基酸序列之核酸，或其中核酸不將胺基酸序列編碼成基本上相同的序列。由於遺傳密碼簡併，所以大量功能相同之核酸編碼任何既定蛋白質。該等核酸變異為「沉默變異」，其為一種經保守修飾之變異。本文中每個編碼多肽之核酸序列亦描述核酸之每個可能之沉默變異。熟習此項技術者應瞭解，核酸中之各密碼子(例外為AUG，其通常為甲硫胺酸之唯一密碼子；及TGG，其通常為色胺酸之唯一密碼子)可經修飾而產生功能相同之分子。

如本文所用之「互補決定區」、「高變區」或「CDR」廣泛地指見於抗體輕鏈或重鏈之可變區中的一或多個高變區或互補決定區(CDR)。參見Kabat等人, (1987)「**Sequences of Proteins of Immunological Interest**」National Institutes of Health, Bethesda, MD。此等措辭包括如由Kabat等人, (1983)「**Sequences of Proteins of Immunological Interest**」U.S. Dept. of Health and Human Services所定義之高變區或抗體3維結構中之高變環。Chothia及Lesk (1987) **J Mol.**

Biol. 196: 901-917。各鏈中之CDR由構架區以緊密接近方式固持在一起且與另一鏈之CDR一起促使形成抗原結合位點。在CDR內存在選定胺基酸，其已被描述為選擇性決定區(SDR)，該等區域代表由CDR用於抗體-抗原相互作用之關鍵接觸殘基。Kashmiri (2005) **Methods** 36: 25-34。

如本文所用之「對照量」廣泛地指與標記之測試量相比較的標記之任何量或量之範圍。舉例而言，標記之對照量可為患有特定疾病或病狀之患者或未患該疾病或病狀之人員的標記之量。對照量可為絕對量(例如微克/毫升)或相對量(例如信號相對強度)。

如本文所用之「診斷」廣泛地指識別病理病狀之存在或性質。診斷方法在其靈敏度及特異性方面有所不同。診斷分析之「靈敏度」為測試呈陽性之患病個體的百分比(「真陽性」百分比)。未由分析偵測出之患病個體為「假陰性」。未患病及在分析中測試呈陰性之個體稱作「真陰性」。診斷分析之「特異性」為1減去假陽性率，其中「假陽性」率定義為未患疾病而測試呈陽性者的比例。雖然特定診斷方法可能不提供對病狀之明確診斷，但若該方法提供有助於診斷之陽性指示，則足矣。

如本文所用之「診斷」廣泛地指將疾病或症狀分類、確定疾病之嚴重度、監測疾病進展、預測疾病結果及/或恢復之希望。術語「偵測」亦可視情況涵蓋上述任一者。根據本發明診斷疾病在一些實施例中可藉由測定自個體獲得之生物樣品中本發明之聚核苷酸或多肽的含量來達成，其

中所測定之含量可能與疾病易感性或存在或不存在疾病有關。應注意，「自個體獲得之生物樣品」亦可視情況包含並非以物理方式自個體取得之樣品。

如本文所用之「有效量」廣泛地指化合物、抗體、抗原或細胞在投與患者以用於治療疾病時足以達成該對疾病之治療作用的量。有效量可為可有效防治之量及/或可有效預防之量。有效量可為可有效減輕體征/症狀之量、可有效預防體征/症狀出現、降低出現體征/症狀之嚴重度、消除體征/症狀出現、減緩體征/症狀出現之進展、預防體征/症狀出現之進展，及/或實現防治體征/症狀出現的量。

「有效量」可視疾病及其嚴重度以及所治療患者之年齡、體重、病史、敏感性及既有病狀而不同。出於本發明之目的，術語「有效量」與「治療有效量」同義。

如本文所用之「細胞外域」廣泛地指蛋白質自細胞表面擴展之部分。

如本文所用之「表現載體」廣泛地指用於達成活體外或活體內於任何細胞(包括原核、酵母、真菌、植物、昆蟲或哺乳動物細胞)中組成性或誘導性表現本發明核酸序列之目的的任何重組表現系統。該術語包括線性或環狀表現系統。該術語包括保持游離型或整合至宿主細胞基因組中之表現系統。該等表現系統能夠自行複製或不能夠自行複製，亦即僅促使短暫表現於細胞中。該術語包括重組表現卡匣，其僅含有重組核酸轉錄所需之最少元件。

如本文所用之「Fc受體」(FcR)廣泛地指免疫球蛋白分

子(Ig)之Fc部分的細胞表面受體。Fc受體見於參與免疫反應之許多細胞上。迄今已鑑別之人類FcR之中有識別IgG(命名為Fc γ R)、IgE(Fc ϵ R1)、IgA(Fc α R)及聚合IgM/A(Fc μ α R)的FcR。FcR見於以下細胞類型中：Fc ϵ R I(肥大細胞)、Fc ϵ R II(多種白血球)、Fc α R(嗜中性白血球)及Fc μ α R(腺上皮細胞、肝細胞)。Hogg (1988) *Immunol. Today* 9: 185-86。經廣泛研究之Fc γ R在細胞免疫防禦中為重要的，且負責刺激炎症之介體及與自體免疫疾病發病有關之水解酶釋放。Unkeless (1988) *Annu. Rev. Immunol.* 6: 251-87。Fc γ R為效應細胞與分泌Ig之淋巴球之間提供重要聯繫，因為巨噬細胞/單核細胞、多形核性白血球及自然殺手(NK)細胞Fc γ R賦予由IgG介導之特異性識別的元件。人類白血球具有至少三種不同之IgG受體：hFc γ R I(見於單核細胞/巨噬細胞上)、hFc γ R II(見於單核細胞、嗜中性白血球、嗜伊紅血球、血小板上，可能見於B細胞及K562細胞株上)及Fc γ III(見於NK細胞、嗜中性白血球、嗜伊紅血球及巨噬細胞上)。

對於T細胞，向T細胞傳遞共刺激信號涉及不由環孢素A(cyclosporin A)抑制之信號傳導路徑。另外，共刺激信號可誘導T細胞中細胞激素分泌(例如IL-2及/或IL-10)及/或可防止誘導對抗原之無反應性、誘導無因變性或誘導T細胞之細胞死亡。

如本文所用之「構架區」或「FR」廣泛地指抗體之輕鏈可變區及重鏈可變區內之一或多個構架區。參見Kabat等

人，(1987)「**Sequences of Proteins of Immunological Interest**」National Institutes of Health, Bethesda, MD。此等措辭包括在抗體之輕鏈可變區及重鏈可變區內插入CDR之間的胺基酸序列區域。

如本文所用之「異源」廣泛地指核酸之部分顯示核酸包含兩個或兩個以上在性質上未發現彼此存在相同關係的子序列。舉例而言，核酸通常為重組產生，由來自無關基因之兩個或兩個以上序列排列而產生新功能性核酸(例如啟動子來自一種來源而編碼區來自另一來源)。同樣，異源蛋白質顯示該蛋白質包含兩個或兩個以上在性質上未發現彼此存在相同關係的子序列(例如融合蛋白)。

如本文所用之「高親和力」廣泛地指抗體對目標抗原之KD為至少 10^{-8} M，更佳為至少 10^{-9} M且甚至更佳為至少 10^{-10} M。然而，其他抗體同型之「高親和力」結合可能不同。舉例而言，IgM同型之「高親和力」結合係指抗體之KD為至少 10^{-7} M，更佳為至少 10^{-8} M。

如本文所用之「同源性」廣泛地指核酸序列與參考核酸序列之間或多肽序列與參考多肽序列之間的相似度。同源性可為部分或完全同源性。完全同源性指示核酸或胺基酸序列相同。部分同源核酸或胺基酸序列為與參考核酸或胺基酸序列不同之核酸或胺基酸序列。同源度可藉由序列比較來確定。術語「序列一致性」可與「同源性」互換使用。

如本文所用之「宿主細胞」廣泛地指當中引入有本發明

之核酸分子(諸如本發明之重組表現載體)的細胞。宿主細胞可為原核細胞，諸如大腸桿菌；或真核細胞，諸如酵母、昆蟲(例如SF9)、兩棲動物或哺乳動物細胞，諸如CHO、HeLa、HEK-293，例如培養之細胞、外植體及活體內細胞。術語「宿主細胞」與「重組宿主細胞」在本文中可互換使用。應瞭解，該等術語不僅意指特定個體細胞，而且意指此種細胞之子代或潛在子代。由於某些修飾可能因突變或環境影響而在繼代中存在，所以該子代實際上可能不與母細胞相同，但其仍包括在如本文所用之該術語之範疇內。

如本文所用之「人類化抗體」廣泛地包括由非人類細胞產生之具有可變區及恆定區之抗體，其已經改變而更接近地類似於由人類細胞產生之抗體。舉例而言，藉由改變非人類抗體胺基酸序列以併入見於人類生殖系免疫球蛋白序列中之胺基酸。本發明之人類化抗體可包括不由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如，在活體外藉由隨機或定點突變誘發或在活體內藉由體細胞突變而引入之突變)，例如在CDR中。如本文所用之術語「人類化抗體」亦包括源自另一哺乳動物物種(諸如小鼠)之生殖系的CDR序列已移植於人類構架序列上的抗體。

如本文所用之「雜交」廣泛地指互補(包括部分互補)聚核苷酸股在將該等股彼此反向平行排列時由互補核苷酸之間形成氫鍵而產生的物理相互作用。

如本文所用之「免疫細胞」廣泛地指源於造血且在免疫

反應中起作用之細胞。免疫細胞包括淋巴球，諸如B細胞及T細胞；自然殺手細胞；及骨髓細胞，諸如單核細胞、巨噬細胞、嗜伊紅血球、肥大細胞、嗜鹼細胞及顆粒球。

如本文所用之「免疫分析」廣泛地指使用抗體來特異性結合抗原的分析。免疫分析特徵可在於利用特定抗體之特異性結合特性來分離、靶向及/或定量抗原。

如本文所用之「免疫反應」廣泛地指T細胞介導及/或B細胞介導之免疫反應，其受調節T細胞共刺激影響。例示性免疫反應包括B細胞反應(例如抗體產生)、T細胞反應(例如細胞激素產生及細胞之細胞毒性)及細胞激素反應性細胞(例如巨噬細胞)活化。如本文所用之術語「下調」就免疫反應而言包括任一或多種免疫反應減少，而術語「上調」就免疫反應而言包括任一或多種免疫反應增強。應瞭解，一類免疫反應上調會引起另一類型免疫反應相應下調。舉例而言，某些細胞激素(例如IL-10)之產生上調可能引起細胞免疫反應下調。

如本文所用之「發炎病狀或發炎疾病」廣泛地指慢性或急性發炎疾病。

如本文所用之「分離」廣泛地指將物質自其所天然存在之原始環境中獲取且因此自其天然環境經人為改變。分離之物質可為例如載體系統中所包括之外源核酸、宿主細胞內所含之外源核酸，或自原始環境中獲取且因此經人為改變之任何物質(例如「分離之抗體」)。舉例而言，如本文所用之「分離」或「純化」廣泛地指蛋白質、DNA、抗

體、RNA或其生物活性部分實質上不含細胞物質或來自生物物質所源於之細胞或組織來源的其他污染性蛋白質，或實質上不含在化學合成時存在之化學前驅體或其他化學物質。措辭「實質上不含細胞物質」包括蛋白質已與分離出其或重組產生其之細胞之細胞組分分離的KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3蛋白質製劑。

如本文所用之「K-assoc」或「Ka」廣泛地指特定抗體-抗原相互作用之締合速率，而如本文所用之術語「Kdiss」或「Kd」係指特定抗體-抗原相互作用之解離速率。如本文所用之術語「KD」意欲指解離常數，其係由 K_d 相對於Ka之比率(亦即 K_d/K_a)所獲得，且表示為莫耳濃度(M)。抗體之KD值可使用此項技術中公認之方法來測定。

如本文所用之「標記」或「可偵測部分」廣泛地指可由光譜、光化學、生物化學、免疫化學、化學或其他物理方式偵測的組合物。

如本文所用之「低嚴格度」、「中等嚴格度」、「高嚴格度」或「極高嚴格度條件」廣泛地指用於核酸雜交及洗滌之條件。關於進行雜交反應之指導可見於Ausubel等人，(2002) **Short Protocols in Molecular Biology** (第5版) John Wiley & Sons, NY中。例示性特異性雜交條件包括(但不限於)：(1)低嚴格度雜交條件為在約45°C下於6×氯化鈉/檸檬酸鈉(SSC)中，繼而至少在50°C下於0.2×SSC、0.1% SDS中洗滌兩次(對於低嚴格度條件而言，洗滌溫度可升高至

55°C)；(2)中等嚴格度雜交條件為在約45°C下於6×SSC中，繼而在60°C下於0.2×SSC、0.1% SDS中洗滌一或多次；(3)高嚴格度雜交條件為在約45°C下於6×SSC中，繼而在65°C下於0.2×SSC、0.1% SDS中洗滌一或多次；及(4)極高嚴格度雜交條件為在65°C下0.5 M磷酸鈉、7% SDS，繼而在65°C下於0.2×SSC、1% SDS中洗滌一或多次。

如本文所用之「哺乳動物」廣泛地指哺乳動物綱之任何及所有溫血脊椎動物，包括人類，其特徵在於皮膚上覆蓋有毛髮且雌性存在有用於養育幼仔之產生乳汁之乳腺。哺乳動物之實例包括(但不限於)羊駝、犛犛、水豚、貓、駱駝、黑猩猩、絨鼠、牛、狗、山羊、大猩猩、倉鼠、馬、人類、狐猴、美洲駝、小鼠、非人類靈長類動物、豬、大鼠、綿羊、鱧、松鼠及獾。哺乳動物包括(但不限於)牛、狗、馬、貓、鼠類、羊、豬、靈長類動物及齧齒動物物種。哺乳動物亦包括由華盛頓之史密森尼學會(Smithsonian Institution)之國家自然歷史博物館(National Museum of Natural History)所保存之世界哺乳動物物種(Mammal Species of the World)上所列出的任何及所有哺乳動物。

如本文所用之「天然存在之核酸分子」廣泛地指具有自然界中存在之核苷酸序列(例如編碼天然蛋白質)的RNA或DNA分子。

如本文所用之「核酸」或「核酸序列」廣泛地指呈單股或雙股形式之去氧核糖核苷酸或核糖核苷酸寡核苷酸。該

術語涵蓋含有天然核苷酸之已知類似物之核酸，亦即寡核苷酸。該術語亦涵蓋具有合成主鏈之核酸樣結構。除非另外指示，否則特定核酸序列亦隱含地涵蓋其經保守修飾之變異體(例如簡併密碼子取代)及互補序列以及明確指示之序列。術語核酸可與基因、cDNA、mRNA、寡核苷酸及聚核苷酸互換使用。

如本文所用之「可操作地連接」廣泛地指使兩個DNA片段接合以使由該兩個DNA片段編碼之胺基酸序列保持同框。

如本文所用之「互補位」廣泛地指抗體中識別抗原之部分(例如抗體之抗原結合位點)。互補位可為抗體Fv區中之小型區域(例如15至22個胺基酸)且可含有抗體重鏈及輕鏈之部分。參見Goldsby等人, *Antigens (第3章) Immunology (第5版)* New York: W.H. Freeman and Company, 第57-75頁。

如本文所用之「患者」廣泛地指任何需要治療以減輕疾病病況或防止疾病病況出現或復發的動物。並且，如本文所用之「患者」廣泛地指任何具有風險因素、疾病病史、敏感性、症狀、體征、先前經診斷、有患病風險或為疾病之患者群體成員的動物。患者可為臨床患者(諸如人類)或獸醫學患者，諸如伴侶動物、馴養動物、家畜、外來動物或動物園動物。術語「個體」可與術語「患者」互換使用。

「多肽」、「肽」及「蛋白質」可互換使用且廣泛地指

胺基酸殘基之聚合物。該等術語適用於一或多個胺基酸殘基為相應之天然存在的胺基酸之類似物或模擬物的胺基酸聚合物以及天然存在之胺基酸聚合物。該等術語適用於一或多個胺基酸殘基為相應之天然存在的胺基酸之人工化學模擬物的胺基酸聚合物以及天然存在之胺基酸聚合物及非天然存在之胺基酸聚合物。多肽可例如藉由添加碳水化合物殘基以形成醣蛋白來修飾。術語「多肽」、「肽」及「蛋白質」包括醣蛋白以及非醣蛋白。

如本文所用之「啟動子」廣泛地指導引核酸轉錄之一系列核酸序列。如本文所用之啟動子包括靠近起始轉錄位點之必需核酸序列，諸如在聚合酶II型啟動子的狀況下包括TATA元件。啟動子亦視情況包括遠側強化子或阻遏子元件，其位置距離起始轉錄位點可多達數千個鹼基對。「組成性」啟動子為在大部分環境及研發條件下具活性之啟動子。「誘導性」啟動子為在環境或研發調控下具活性之啟動子。

如本文所用之「防治有效量」廣泛地指化合物在投與患者以用於防治疾病或預防疾病復發時足以達成該對疾病或復發之防治的量。防治有效量可為有效預防體征及/或症狀出現之量。「防治有效量」可視疾病及其嚴重度以及所治療患者之年齡、體重、病史、病狀易感性、既有病狀而不同。

如本文所用之「防治」廣泛地指在患者不存在體征及/或症狀，體征及/或症狀有所緩解或患者先前存在體征及/

或症狀的情況下進行之治療過程。防治包括在患者中預防疾病在治療疾病之後出現。此外，預防包括治療可能潛在患上疾病之患者，尤其易患疾病之患者(例如患者群體之成員、具有風險因素者，或有患病風險者)。

如本文所用之「重組」對於產物(例如細胞或核酸、蛋白質或載體)而言廣泛地指示細胞、核酸、蛋白質或載體已藉由引入異源核酸或蛋白質或改變原生核酸或蛋白質而得到修飾，或細胞源自經如此修飾之細胞。因此，舉例而言，重組細胞表現並非見於原生(非重組)形式之細胞內之基因或表現以其他方式異常表現、低表現或根本不表現之原生基因。

如本文所用之「特異性(或選擇性)結合」至抗體或「特異性(或選擇性)免疫反應性」或「特異性相互作用或結合」廣泛地係關於蛋白質或肽(或其他抗原決定基)，在一些實施例中係關於決定異源蛋白質及其他生物製劑群體中該蛋白質之存在的結合反應。舉例而言，在指定免疫分析條件下，指定抗體與特定蛋白質之結合為背景(非特異性信號)之至少兩倍且指定抗體不實質上以顯著量結合至樣品中存在之其他蛋白質。通常，特異性或選擇性反應將為背景信號或雜訊的至少兩倍且更通常為背景的約10至100倍以上。

如本文所用之「可特異性雜交」及「互補」廣泛地指核酸可藉由傳統沃森-可瑞克(Watson-Crick)或其他非傳統類型與另一核酸序列形成氫鍵。核酸分子與其互補序列之結

合自由能足以允許發揮核酸之相關功能，例如 RNAi 活性。對核酸分子之結合自由能的測定在此項技術中為熟知的。參見例如 Turner 等人, (1987) *CSH Symp. Quant. Biol.* LII: 123-33 ; Frier 等人, (1986) *PNAS* 83: 9373-77 ; Turner 等人, (1987) *J. Am. Chem. Soc.* 109: 3783-85。互補百分比指示核酸分子中可與第二核酸序列形成氫鍵(例如沃森-可瑞克鹼基配對)的連續殘基之百分比(例如 10 個中有約至少 5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個為約至少 50%、60%、70%、80%、90% 及 100% 互補(包括正好為 50%、60%、70%、80%、90% 及 100%))。「完全互補」或 100% 互補廣泛地指核酸序列中所有連續殘基皆與第二核酸序列中之相同數目之連續殘基以氫鍵鍵結。「實質性互補」係指聚核苷酸股展現約至少 90% 互補性，排除聚核苷酸股中經選為非互補之區域(諸如突出物)。特異性結合需要足夠之互補度以避免寡聚化合物在需要特異性結合之條件下，亦即在活體內分析或治療性處理的狀況下於生理條件下，或在活體外分析的狀況下於進行分析之條件下非特異性結合至非目標序列。非目標序列通常有至少 5 個核苷酸不同。

如本文所用之疾病之「體征」廣泛地指可在檢查患者時發現的任何指示疾病之異常；客觀疾病跡象，其與症狀相反，症狀為疾病之主觀跡象。

如本文所用之「固體支撐物」、「支撐物」及「基質」廣泛地指提供可連接另一物質之固體或半固體結構的任何物質，包括(但不限於)平滑支撐物(例如金屬、玻璃、塑

膠、矽及陶瓷表面)以及刻花及多孔材料。

如本文所用之「個體」廣泛地指適於根據本發明加以治療的任一者，包括(但不限於)禽類及哺乳動物個體且較佳為哺乳動物。本發明之哺乳動物包括(但不限於)狗、貓、牛、公山羊、馬、綿羊、豬、齧齒動物(例如大鼠及小鼠)、兔類動物、靈長類動物、人類。任何需要根據本發明治療之哺乳動物個體為適合的。兩種性別及處於任何發育階段(亦即新生兒、嬰兒、青少年、青年期、成年)之人類個體可根據本發明來治療。亦可出於獸醫學目的及出於藥物篩選及藥物研發目的對動物個體，尤其哺乳動物個體，諸如小鼠、大鼠、狗、貓、牛、山羊、綿羊及馬實施本發明。「個體」可與「患者」互換使用。

如本文所用之疾病之「症狀」廣泛地指由患者所遭受且指示疾病的相對於正常結構、功能或感覺的任何病態現象或偏差。

如本文所用之「T細胞」廣泛地指CD4+ T細胞及CD8+ T細胞。術語T細胞亦包括第1型輔助T細胞及第2型輔助T細胞。

如本文所用之「療法」、「治療性」、「治療(treating)」或「治療(treatment)」廣泛地指治療疾病、阻止或減少疾病或其臨床症狀產生，及/或減輕疾病、使得疾病或其臨床症狀消退。療法涵蓋防治、治療、醫治、減少、減輕及/或緩解疾病、疾病之體征及/或症狀。療法涵蓋減輕具有進行性疾病體征及/或症狀(例如炎症、疼痛)之

患者的體征及/或症狀。療法亦涵蓋「防治」。術語「減少」出於療法之目的廣泛地指體征及/或症狀在臨床上顯著減少。療法包括治療復發或復發性體征及/或症狀(例如炎症、疼痛)。療法涵蓋(但不限於)防止體征及/或症狀在任何時候出現以及減少現有體征及/或症狀及減少或消除現有體征及/或症狀。療法包括治療慢性疾病(「維持」)及急性疾病。舉例而言，治療包括治療或預防體征及/或症狀(例如炎症、疼痛)復發或反覆。

如本文所用之「可變區」或「VR」廣泛地指抗體中各對輕鏈與重鏈內直接與抗體結合至抗原有關的域。各重鏈在一端具有可變域(V_H)，繼之以多個恆定域。各輕鏈在一端具有可變域(V_L)且在其另一端具有恆定域；輕鏈之恆定域與重鏈之第一恆定域對準，且輕鏈可變域與重鏈之可變域對準。

如本文所用之「載體」廣泛地指一種核酸分子能夠轉運其所連接之另一核酸分子。一類載體為「質體」，其係指當中可接合其他DNA段之環狀雙股DNA環。另一類載體為病毒載體，其中其他DNA段可接合至病毒基因組中。某些載體能夠在引入有其之宿主細胞中自主複製(例如，具有細菌複製起點之細菌載體及游離型哺乳動物載體)。其他載體(例如，非游離型哺乳動物載體)在引入宿主細胞中之後整合至宿主細胞之基因組中，且藉此與宿主基因組一起加以複製。此外，某些載體能夠導引其可操作地連接之基因表現。該等載體在本文中稱作「重組表現載體」或簡稱

為「表現載體」。一般而言，在重組DNA技術中具效用之表現載體通常呈質體形式。在本說明書中，「質體」與「載體」可互換使用，因為質體為載體之最常用形式。然而，本發明意欲包括發揮等同功能之其他形式之表現載體，諸如病毒載體(例如，複製缺陷反轉錄病毒、腺病毒及腺相關病毒)。技術及程序一般根據此項技術中熟知之習知方法且如貫穿本說明書所引用及論述之各種一般及更特定的參考文獻中所述來進行。參見例如 Sambrook 等人，(2001) **Molec. Cloning: Lab. Manual** [第3版] Cold Spring Harbor Laboratory Press。可對重組DNA、寡核苷酸合成及組織培養以及轉型(例如電穿孔、脂質體轉染)使用標準技術。可根據製造商說明書或如此項技術中通常所達成或如本文所述進行酶促反應及純化技術。關於本文所述之分析化學、合成有機化學以及醫學及醫藥化學所用之命名法以及上述方面之實驗室程序及技術為此項技術中熟知且通常使用者。可使用標準技術進行化學合成、化學分析、藥物製備、調配及傳遞以及治療患者。

NK細胞抑制性受體 KIR2DL1、KIR2DL2及 KIR2DL3

KIR為細胞表面醣蛋白，包含1至3個細胞外免疫球蛋白樣域，其由某些T細胞以及大部分人類NK細胞所表現。多種KIR經充分表徵(參見例如 Carrington及 Norman, The KIR Gene Cluster, 2003年5月28日，可經由國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)網站得到)。人類KIR包括KIR2DL及KIR3DL(KIR亦

可以各種其他名稱來提及，諸如 CD158e1、CD158k、CD158z、p58 KIR CD158e1(p70)、CD244)。參見例如美國專利申請公開案第 2004/0038894 號；Radaev 等人，*Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 32:93-114 (2003)；Cerweknka 等人，*Nat. Rev. Immunol.* 1:41-49 (2001)；Farag 等人，*Expert Opin. Biol. Ther.*, 3(2):237-250 (2003)；Biassoni 等人，*J. Cell. Mol. Med.*, 7(4):376-387 (2003)；及 Warren 等人，*British J. Haematology*, 121:793-804 (2003)，其各自據此以全文引用之方式併入本文中。多種 KIR 之結構已經闡明且揭示此等蛋白質之間有顯著結構相似性。參見例如 Radaev 等人(同上)。

KIR 可在結構上以及功能上進行分類。舉例而言，大部分 KIR 具有兩個 Ig 結構域 (58 kDa KIR2D KIR)，而其他者具有三個 Ig 結構域 (70 kDa KIR3D KIR)(有時分別稱為 p58 及 p70 分子)。KIR 之胞質尾區長度亦不同。通常，具有相對較長胞質尾區 (L) 之 KIR 傳遞抑制性信號，而具有短胞質尾區 (S) 之 KIR 可活化 NK 或 T 細胞反應。對 KIR 之命名因此可基於細胞外域數目 (KIR2D 或 KIR3D) 及胞質尾區是否長 (KIR2DL 或 KIR3DL) 抑或短 (KIR2DS 或 KIR3DS)。關於 KIR 之其他命名資訊提供於以下 [實施方式] 中。「KIR 家族」之一些成員為 NKCAR，或更尤其為「KAR」(例如 KIR2DS2 及 KIR2DS4)；其通常包含一或多個與具有免疫刺激基元 (ITAM) 之接附分子 (例如 DAP12) 締合之帶電荷跨膜殘基 (例如 Lys)。抑制性 KIR 之細胞質內部分通常包含一或

多個募集磷酸酶之ITIM。抑制性KIR結合至HLA分子之 $\alpha 1/\alpha 2$ 域。抑制性KIR看似並非通常需要與接附分子締合以具活性。除非另外說明，否則諸如「KIR」及其類似術語之術語指「KIR家族」之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3成員且諸如「KAR」及其類似術語之術語指「KIR家族」之NKCAR成員。

KIR可結合MHC-I分子(例如某些第I類HLA異型)，通常引起對抗且可能超過刺激活化信號之負信號傳遞至NK細胞，從而阻止NK細胞殺死相關潛在標靶細胞(顯然經由ITIM磷酸化及酪胺酸磷酸酶(例如含有SH2域之蛋白質酪胺酸磷酸酶，諸如SHP-1及SHP-2)募集，引起PTK(例如Syk、TcR及/或ZAP70)去磷酸化及/或LAT/PLC複合物形成，抑制及連帶破壞ITAM級聯)。由於病毒常抑制第I類MHC在其所感染之細胞中表現，所以該等受病毒感染之細胞變得易被NK細胞殺死。由於癌細胞之第I類MHC表現亦常有減少或無，所以此等細胞亦會變得易被NK細胞殺死。感染之細胞亦可在糖基化方面改變結合於MHC中之蛋白質。若此發生，則細胞表現之MHC-I:蛋白質複合物將被改變。若NK相關KIR不能結合至此等「外來」複合物，則不能產生抑制性信號，且將進行溶解。

所有確定之抑制性KIR看似與HLA/MHC抗原之不同子集相互作用，視KIR亞型而定。在人類中，具有兩個Ig結構域之KIR(KIR2D)識別HLA-C異型：KIR2DL2(原先稱作p58.2)且密切相關基因產物KIR2DL3皆識別第1組HLA-C異

型 (Cw1、Cw3、Cw7及Cw8)所共有之抗原決定基，而KIR2DL1(p58.1)識別相應第2組HLA-C異型(Cw2、Cw4、Cw5及Cw6)所共有之抗原決定基。KIR2DL1之特異性看似由第2組HLA-C對偶基因之位置80上之Lys殘基的存在所決定。KIR2DL2及KIR2DL3識別看似由位置80上Asn殘基之存在所決定。實質上大部分HLA-C對偶基因在位置80上具有Asn或Lys殘基。一種具有三個Ig結構域之KIR(KIR3DL1(p70))識別HLA-Bw4對偶基因所共有之抗原決定基。最終，具有三個Ig結構域之分子的均二聚體(KIR3DL2(p140))識別HLA-A3及HLA-A11。

任一類型(活化或抑制性)之個別MHC-I特異性NK細胞受體通常不與所有第I類MHC分子相互作用，但特異性結合至某些異型(由單個基因座之不同變異體編碼之蛋白質)。此外，個別NK細胞可表現彼此獨立地起作用之多種不同之抑制性及/或活化受體。舉例而言，在人類中，單個個體體內NK細胞間在存在或不存在既定KIR方面有所不同。在人類中亦存在相對高程度之KIR多形現象，其中某些KIR分子存在於一些而非所有個體體內。儘管KIR及其他識別MHC之抑制性受體可由NK細胞共同表現，但在任何既定個體之NK譜系中，通常存在表現單個KIR之細胞；因此，此後一類型之NK細胞之相應NK細胞活性僅被表現特異性MHC-I對偶基因群之細胞抑制。實際上，新近對群體內KIR基因型多樣性程度之評估表明<0.24%之無關個體預期具有相同基因型。最常見白種人單純型「A」單純型(約

47%至59%之出現率)僅含有一個活化KIR基因(KIR2DS4)及六個抑制性KIR基因座(KIR3DL3、KIR2DL3、KIR2DL1、KIR2DL4、KIR3DL1及KIR3DL2)。剩餘「B」單純型極為多樣化且含有2至5個活化KIR基因座(包括KIR2DS1、KIR2DS2、KIR2DS3及KIR2DS5)。

應注意，KIR可用若干別名來稱呼，如此處在表1及表2中所反映：

表1-KIR命名

KIR	全名	別名	寄存ID	SEQ ID NO
KIR2DL1	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，長胞質尾區，1	cl-42、nkat1、47.11、p58.1、CD158a	L41267	11
KIR2DL2	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，長胞質尾區，2	cl-43、nkat6、CD158b1	L76669	12
KIR2DL3	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，長胞質尾區，3	cl-6、nkat2、nkat2a、nkat2b、p58、CD158b2	L41268	13
KIR2DL4	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，長胞質尾區，4	103AS、15.212、CD158d	X97229	14
KIR2DL5A	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，長胞質尾區，5A	KIR2DL5.1、CD158f	AF217485	15
KIR2DL5B	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，長胞質尾區，5B	KIR2DL5.2、KIR2DL5.3、KIR2DL5.4	AF217486	
KIR2DS1	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，短胞質尾區，1	EB6ActI、EB6ActII、CD158h	X89892	16
KIR2DS2	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，短胞質尾區，2	cl-49、nkat5、183ActI、CD158j	L76667	17

KIR	全名	別名	寄存ID	SEQ ID NO
KIR2DS3	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，短胞質尾區，3	nkat7	L76670	18
KIR2DS4	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，短胞質尾區，4	cl-39、KKA3、nkat8、CD158i	L76671	19
KIR2DS5	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，短胞質尾區，5	nkat9、CD158g	L76672	20
KIR2DP1	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，兩個結構域，假基因1	KIRZ、KIRY、KIR15、KIR2DL6	AF204908	
KIR3DL1	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，三個結構域，長胞質尾區，1	cl-2、NKB1、cl-11、nkat3、NKB1B、AMB11、KIR、CD158e1	L41269	21
KIR3DL2	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，三個結構域，長胞質尾區，2	cl-5、nkat4、nkat4a、nkat4b、CD158k	L41270	22
KIR3DL3	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，三個結構域，長胞質尾區，3	KIRC1、KIR3DL7、KIR44、CD158z	AF352324	23
KIR3DS1	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，三個結構域，短胞質尾區，1	nkat10、CD158e2	L76661	24
KIR3DP1	殺手細胞免疫球蛋白樣受體，三個結構域，假基因1	KIRX、KIR48、KIR2DS6、KIR3DS2P、CD158c	AF204919、AF204915、AF204917	

獲自 HUGO 基因命名委員會 (Hugo Gene Nomenclature Committee) 網站。

表 2-KIR CD 命名

常用名稱1	常用名稱2	CD命名
KIR3DL7	KIRC1	CD158z
KIR2DL2/L3	p58.2/p58.3	CD158b1/b2
KIR2DL1	p58.1	CD158z

KIR2DS6	KIRX	CD158b1/b2
KIR2DL4	-	CD158c
KIR3DL1/S1	p70	CD158d
KIR2DL5	-	CD158e1/e2
KIR2DS5	-	CD158f
KIR2DS1	p50.1	CD158h
KIR2DS4	p50.3	CD158i
KIR2DS2	p50.2	CD158j
KIR3DL2	p140	Cd158k

Andre 等人, *Nature Immunol.* 2(8):661 (2001)。

例示性 KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3 及 KIR2DS4 分子包含以下各別胺基酸序列：

KIR2DL1 細胞外域：

HEGVHRKPSLLAHPGXLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLHREGMFNDTLRL
IGEHDGVS KANFSISRMTQDLAGTYRCYGSVTHSPYQVSAPSDPLDIVIIGLYEKPSL
SAQXGPTVLAGENVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRLPAGPKVNGTFQADFPLG
PATHGGTYRCFGSFHDSPEYWSKSSDPLLVSVTGNPSNSWPSPTPESSKTGNPRHLH

(SEQ ID NO:7)，其中位置 16 之「X」為 P 或 R，且其中位置 114 之「X」為 P 或 L，表示對偶基因變異體。

KIR2DL2 細胞外域：

HEGVHRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQCWSDVRFHFLHREGKFKDTLHLI
GEHDGVS KANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVITGLYEKPS
LSAQPGPTVLAGESVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHECRFSAGPKVNGTFQADFPL
GPATHGGTYRCFGSFRDSPYEWNSSDPLLVS VIGNPSNSWPSPTPESSKTGNPRHLH
(SEQ ID NO:8)。

KIR2DL3 細胞外域：

HEGVHRKPSLLAHPGPLVKSEETVILQCWSDVRFQHFLHREGKFKDTLHLI
GEHDGVS KANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVITGLYEKPS
LSAQPGPTVLAGESVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRFSAAGPKVNGTFQADFPL
GPATHGGTYRCFGSFRDSPYEWNSSDPLLVS VIGNPSNSWPSPTPESSKTGNPRHLH
(SEQ ID NO:9)。

KIR2DS4細胞外域：

QEGVHRKPSFLALPGHLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLFHREGKFNNTLHLI
GEHHDGVSKANFSIGPMMPVLAGTYRCYGSVPHSPYQLSAPSDPLDMV (SEQ ID
NO: 10)。

中和 KIR2DL1、KIR2DL2及/或 KIR2DL3 相關 NK 細胞抑制作用

抗 -KIR2DL1、抗 -KIR2DL2 及 / 或 抗 -KIR2DL3 抗體可基於其阻斷或中和 NK 抑制作用且從而增強 NK 細胞針對以其他方式阻斷之標靶細胞(例如 T 細胞、CD4+ T 細胞)之活性的能力來表徵。如上所示，在本發明上下文中可使用結合至至少一種 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 足夠長時間以中和 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 介導之對 NK 細胞之 NK 細胞毒性之抑制作用的抗 -KIR2DL1、抗 -KIR2DL2 及 / 或 抗 -KIR2DL3 抗體。該等抗 -KIR2DL1、抗 -KIR2DL2 及 / 或 抗 -KIR2DL3 抗體可以原生形式直接用作治療劑。本發明之更尤其有利之特徵為與兩種或兩種以上 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 交叉反應且中和與該等相關 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 中之一些或所有(通常較佳所有) KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 有關之抑制性活性的抗 -KIR2DL1、抗 -KIR2DL2 及 / 或 抗 -KIR2DL3 抗體。

中和性抗 -KIR2DL1、抗 -KIR2DL2 及 / 或 抗 -KIR2DL3 抗體可部分或完全中和 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 介導之對 NK 細胞之細胞毒性之抑制作用。中和係指對以其他方式存在之抑制信號的任何實質阻斷。可藉由任何適合

方法量測中和作用。在一個態樣中，對抑制作用之中和反映在中和性抗-KIR抗體使NK與NK標靶細胞之特定混合物中之NK細胞介導之特異性溶解相較於通常在實質上相同之情形但不存在抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之情況下出現的特異性溶解之量增加至少約20%、較佳至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約75%或75%以上(例如約25%至100%)。當藉由例如與由NK標靶細胞(例如T細胞、任何適合之細胞株)與未阻斷相關KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之NK細胞之混合物(100%)及NK細胞與NK標靶細胞之混合物(其中NK標靶細胞呈現KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之配體)(0%)獲得之銻釋放毒性測試分析法結果比較來研究抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體或其他抗體時可測定此態樣中之增加百分比。在抗-KIR抗體之狀況下，可與由NK標靶細胞與未阻斷相關KIR之NK細胞之混合物(100%)及NK細胞與NK標靶細胞之混合物(其中NK標靶細胞呈現NK細胞上之抑制性KIR的同源第I類MHC分子)(0%)獲得之銻釋放毒性測試分析法結果進行比較。在一有利態樣中，本發明提供抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體，其誘導在不存在該抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體的情況下不會有效溶解之細胞溶解。或者，中和KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3抑制性活性可由例如銻分析法結果來指示，該銻分析法使用表現一種或若干種抑制性KIR2DL1、KIR2DL2及/或

KIR2DL3(例如 KIR、NKG2、NKG2A、LIR(例如 LILRB1、LILRB5))之NK細胞純系或轉染物及僅表現一種由NK細胞上之一種KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3所識別之配體(例如HLA多肽或對偶基因、HLA-E)的標靶細胞，其中在抗體存在下獲得之細胞毒性度為在針對KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之配體的已知阻斷性抗體存在下所觀測到之細胞毒性的至少約20%，諸如至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%或70%以上(例如約25%至100%)。舉例而言，當測試抗-KIR抗體時，在實質上相同情形下投與抗第I類MHC分子抗體，諸如W6/32抗第I類MHC抗體(其當前可自例如Research Diagnostics, Flanders, NJ, USA得到及描述於例如Shields等人, *Tissue Antigens*. 1998年5月;51(5):567-70中)。

評估NK細胞之細胞溶解活性之鉻釋放分析法及其他方法在此項技術中已知。適用於該等分析法之條件亦為熟知的。藉由以下進行典型鉻釋放分析法：用 $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ 標記標靶細胞(例如Cw3及/或Cw4陽性細胞株，微量滴定盤中約例如每孔5000個細胞)(以使 ^{51}Cr 溶解且由活標靶細胞保留)，洗滌以移除過量放射性，隨後在抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體存在或不存在下以適合之效應物：標靶比率(例如約4:1)暴露於NK細胞達約4小時之時間，及量測後續 ^{51}Cr 含量，從而反映標靶細胞死亡及溶解。該分析法之實例描述於例如Moretta等人(1993) *J Exp Med* 178: 597-604中。在相似分析法中，可用 ^3H -胸苷標記

增殖之標靶細胞，³H-胸苷可併入複製之DNA中。在NK細胞發揮細胞溶解作用後，標靶細胞之DNA快速斷裂且保留於濾液中，而未斷裂之大DNA可收集於過濾器上，因此可量測此等片段之釋放量或³H-胸苷於細胞DNA中之保留量。關於該等分析法之其他實例及相關論述可見於例如WO 2006/072625中。

在另一態樣中，本發明提供抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體，其特徵在於能夠與交叉反應性及/或中和性抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體競爭結合至同源KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3及/或能夠與該等已知抗體結合至同一抗原決定子區/抗原決定基。短語「與.....競爭」在提及特定單株抗體(例如1-7F9)時意謂在使用重組KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3分子或表面表現之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3分子的結合分析法中抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體與參考抗體或其他分子競爭。舉例而言，若抗-KIR抗體在結合分析法中可偵測地抑制1-7F9結合至通常由1-7F9結合之KIR分子，則該抗-KIR抗體可稱為與1-7F9「競爭」。與1-7F9「競爭」之抗-KIR抗體可與1-7F9競爭結合至KIR2DL1人類受體、KIR2DL2/3人類受體，或KIR2DL1及KIR2DL2/3人類受體兩者。

儘管常相關，但在與參考結合蛋白競爭方面相較於蛋白質與參考蛋白結合至同一或實質上相似抗原決定基之能力描述蛋白質在一些狀況下表示顯著不同之生物學及物理化

學特性。結合蛋白之間的競爭表示測試抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體結合至與抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體所結合之抗原決定基至少部分重疊或位於與該抗原決定基足夠近的位置上以使該抗-KIR抗體因位阻而與已知抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體競爭的抗原決定基。抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可在不結合至相同或相似抗原決定基之情況下因抗體尺寸較大而與參考抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體競爭。該種競爭性抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體即使結合不同抗原決定子亦可適用於阻斷與同參考抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體相同的抗原決定區有關之相互作用。

在另一例示性態樣中，本發明提供一種抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體，其與可用之抗-KIR抗體(諸如1-7F9、DF200及/或NKVSF1)結合至實質上相同之抗原決定子區。參見例如WO 2006/003179。

競爭係指在結合於結合搭配物之另一分子存在下特定分子結合特定結合搭配物之傾向的任何顯著降低。通常，競爭意謂在競爭性分子(例如抗-KIR抗體)存在下例如抗-KIR抗體與至少一種KIR之間的結合減少至少約15%，諸如結合減少至少約20%(例如結合減少約25%或25%以上、約30%或30%以上、約15%至35%)。在某些情形下，諸如在屬於競爭性抗體之抗原決定基緊密地位於抗原中的狀況

下，競爭可由以下來指示：受體(例如KIR)結合約40%以上相對抑制、至少約50%抑制、至少約55%抑制、至少約60%抑制、至少約75%抑制或更高程度之抑制(諸如約45%至95%之抑制程度)。

評估競爭通常涉及使用第一量之第一分子(例如抗-KIR抗體)；第二量之第二分子(例如已知抗-KIR抗體)；及第三量之第三分子(例如KIR)評估相對抑制性結合，其中第一量、第二量及第三量皆足以使得比較得以進行以提供關於相關分子相對於提供之其他分子之選擇性及/或特異性的資訊。通常，對於ELISA競爭分析法，使用約5 μg至50 μg(例如約10 μg至50 μg、約20 μg至50 μg、約5 μg至20 μg、約10 μg至20 μg)之抗-KIR抗體、已知抗-KIR抗體及至少一種KIR評估是否存在競爭。條件亦應適於使競爭性分子結合至其假定/已知標靶。生理條件或接近生理條件(例如約20°C至40°C之溫度、約7至8之pH值)可通常適用於抗-KIR抗體：KIR。

可藉由使用免疫分析法來測定兩個或兩個以上分子之間的競爭(或相對結合抑制)，在該等免疫分析法中，將對照KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3結合分子(例如抗體1-7F9)與測試抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體混合(或預先吸附)且施加於含有相關KIR(諸如KIR2DL1及KIR2DL2/3兩者)之樣品中(該等KIR各自己知由DF200結合)。基於ELISA、放射免疫分析法、西方墨點法及其類似分析法之方案適用於該等競爭研究中。通常在適於分子結

合之條件(例如，生理條件，尤其在抗體結合構形/非線性抗原決定基之狀況下)下進行競爭ELISA。競爭亦可藉由例如流動式細胞量測測試、SPR分析及其他技術來評估，該等技術見於例如 Harlow 等人，Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988)；Colligan 等人編，Current Protocols in Immunology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1992, 1993)；Ausubel 等人編，Short Protocols in Molecular Biology, (第5版), John Wiley & Sons (2002)；及 Muller, Meth. Enzymol. 92:589-601 (1983) 中。

可由多種已知技術鑑別抗原決定子區或抗原決定基。舉例而言，可藉由「足跡(foot printing)」分析法，諸如經由化學修飾標靶 KIR2DL1、KIR2DL2 及/或 KIR2DL3 蛋白質中暴露之胺/羧基快速鑑別抗原決定區。該足跡技術之一個特定實例為使用 HXMS(藉由質譜偵測之氫-氘交換)，其中受體與配體蛋白質醯胺質子進行氫/氘交換，結合且進行反向交換(back exchange)，其中參與蛋白結合之主鏈醯胺基受保護而免於反向交換且因此保持氘化。此時可藉由胃蛋白酶蛋白質溶解、快速微孔高效液相層析分離及/或電噴霧電離質譜鑑別相關區域。參見例如 Ehring H, Analytical Biochemistry, 第 267(2)卷, 第 252-259 頁 (1999) 及/或 Engen, J.R. 及 Smith, D.L. (2001) Anal. Chem. 73, 256A-265A。

適合抗原決定基鑑別技術之另一實例為核磁共振(NMR)

抗原決定基定位，其中通常比較游離抗原及與抗原結合肽(諸如抗體)複合之抗原的二維NMR譜中信號之位置。通常用¹⁵N選擇性同位素標記抗原，以使在NMR譜中僅可見到對應於抗原之信號而不可見來自抗原結合肽之信號。源自涉及與抗原結合肽相互作用之胺基酸的抗原信號在複合物之譜中通常相較於在游離抗原之譜中移動位置，且涉及結合之胺基酸可以彼方式鑑別。參見例如Ernst Schering Res Found Workshop. 2004;(44):149-67；Huang等人，**Journal of Molecular Biology** 281(1): 61-67 (1998)；以及Saito及Patterson, *Methods*. 1996年6月；9(3):516-24。

亦可使用質譜法進行抗原決定基定位/表徵。參見例如Downward, *J Mass Spectrom*. 2000年4月；35(4):493-503；以及Kiselar及Downard, *Anal Chem*. 1999年5月1日；71(9):1792-801。

蛋白酶消化技術在抗原決定基定位及鑑別之背景下亦可適用。可藉由蛋白酶消化，例如藉由在37°C及pH 7-8下以約1:50之比率使用胰蛋白酶對KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3進行隔夜消化，繼而進行質譜(MS)分析以用於肽鑑別來確定抗原決定子相關區域/序列。隨後可藉由比較進行胰蛋白酶消化之樣品與連同抗體一起培育且接著由例如胰蛋白酶進行消化(從而揭露結合子之足跡)之樣品來鑑別由抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3結合子保護而免於胰蛋白酶裂解之肽。其他酶(如胰凝乳酶、胃蛋白酶)或者或此外可用於相似抗原決定基表徵方法中。

此外，酶促消化可提供在未表面暴露且因此在抗原性方面很可能不相關之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3多肽的情況下分析潛在抗原決定子序列是否處於KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之區域內的快速方法。關於對相似技術之論述，參見例如Manca, *Ann Ist Super Sanita*. 1991; 27(1):15-9。

各種噬菌體呈現技術亦可用於鑑別抗原決定基。參見例如Wang及Yu, *Curr Drug Targets*. 2004年1月; 5(1):1-15; Burton, *Immunotechnology*. 1995年8月; 1(2):87-94; Cortese等人, *Immunotechnology*. 1995年8月; 1(2):87-94; 及Irving等人, *Curr Opin Chem Biol*. 2001年6月; 5(3):314-24。共同抗原決定基亦可經由改良之噬菌體呈現相關技術來鑑別(參見Mumey等人, *J. Comput. Biol.* 10:555-567; 及Mumey, *Proceedings of the Sixth Annual International Conference on Computational Molecular Biology (RECOMB-02)*, 第233-240頁(ACM Press, New York))(關於論述, 亦參見Bailey等人, *Protein Science* (2003), 12:2453-2475; Dromey等人, *J Immunol*. 2004年4月1日; 172(7):4084-90; Parker等人, *Mol Biotechnol*. 2002年1月; 20(1):49-62; 及Czompoly等人, *Biochem Biophys Res Commun*. 2003年8月8日; 307(4):791-6)。

藉由兩種KIR結合分子(其中一者經結合生物素(例如已知抗-KIR抗體)或以其他方式經類似標記)競爭性結合至KIR來進行抗原決定基定位為另一種鑑別相關抗原決定子

區之方法。

其他可能有助於定位抗原決定基之方法包括結晶學技術、X射線繞射技術(諸如由Poljak及他人在二十世紀70年代至80年代研發之X射線繞射/序列研究技術),及應用多針肽合成技術(Multipin Peptide Synthesis Technology)。

基於電腦之方法(諸如序列分析以及三維結構分析及對接)亦可用於鑑別抗原決定子。舉例而言,亦可藉由使用KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3或其部分之結構在對接個別mAb之Fab片段之結構的情況下進行分子模型化來確定抗原決定基。必要時,可藉由使用程式(諸如MOE(分子操作環境)(Molecular Operating Environment),其可自Chemical Computing Group(Montreal, Quebec, Canada-www.chemcomp.com)獲得)以經結構表徵之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3進行同源性模型化來得到KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之模型。此等及其他定位方法論述於Epitope Mapping A Practical Approach (Westwood及Hay編) 2001 Oxford University Press中(亦參見Cason (1994) *J Virol Methods*. 49(2): 209-19)。

抗-KIR抗體之特徵

有利之抗-KIR抗體可基於功能特徵,尤其針對其交叉反應或交叉結合一種以上KIR(諸如一種以上類型之抑制性KIR)之能力及/或有效中和NK抑制信號之能力進行分類。

有效結合至一種以上類型之KIR的抗-KIR抗體為本發明之尤其有利之特徵。在一特定例示性態樣中,本發明提供

結合至NK細胞表面上之至少兩種抑制性KIR受體的抗-KIR抗體。在一個更特定的說明性態樣中，本發明提供結合人類KIR2DL受體之共同抗原決定子區的抗-KIR抗體。在另一更特定的態樣中，本發明提供結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3受體之抗-KIR抗體。

術語「KIR2DL2/3」可用於指KIR2DL2及KIR2DL3受體中之任一者或兩者。此兩種受體具有極高同源性，為同一基因之對偶基因形式，且被此項技術視作在許多方面可互換。因此，KIR2DL2/3在某些方面可視作單個抑制性KIR分子。雖然與KIR2DL2/3交叉反應之抗-KIR抗體處於本發明範圍內，但KIR結合型態僅包括KIR2DL2及KIR2DL3之抗-KIR抗體不視作具「交叉反應性」。

由於KIR2DL1或KIR2DL2/3中之至少一者存在於至少約90%之人類群體中，所以KIR2DL1-KIR2DL2/3交叉反應性抗-KIR抗體可促進或增強NK針對大部分HLA-C異型相關細胞(分別為第2組HLA-C異型及第1組HLA-C異型)的活性。在治療及/或診斷大部分人類個體中可使用包含具有該交叉反應性之單個交叉反應性KIR抗體的組合物，從而不需要對患者進行遺傳識別且減少投與至患者以確保有效結果所需之不同抗體之量。

交叉反應性抗-KIR抗體可具有任何適合之組成且可藉由多種適合技術獲得。舉例而言，交叉反應性抗-KIR抗體可包含結合至不同KIR之多種KIR配體及/或抗-KIR抗體序列，其可藉由結合、多聚化或(在肽配體之狀況下)藉由包

含於融合蛋白中而締合於一起。在另一態樣中，提供抗-KIR抗體，其包含來自交叉反應性抗-KIR抗體之抗-KIR抗體序列。

可獲得或產生KIR結合序列之交叉反應性抗-KIR抗體為已知的。該抗體之實例為抗體NKVSF1(亦稱為pan2D mAb；識別CD158a(KIR2DL1)、CD158b(KIR2DL2)及p50.3(KIR2DS4)之共同抗原決定基)，其具有展示於例如WO 2006/003179(Innate Pharma; Novo Nordisk; University of Genoa)之圖15中之可變區及CDR序列。與KIR家族之各種成員(包括KIR2DL1及KIR2DL2/3)反應的單株抗體DF200為該交叉反應性抗體之另一實例。產生DF200之融合瘤已以標識號「DF200」、註冊號CNCM I-3224(在2004年6月10日註冊)寄存於CNCM菌種中心(Collection Nationale de Cultures de Microorganismes, Institut Pasteur, 25, Rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex 15, France)。可產生若干其他單株抗體且證明為交叉反應性抗-KIR抗體。其他實例為WO 2006/003179中所述之抗體1-7F9及1-4F1。

交叉反應性抗-KIR抗體可對其所結合之兩種或兩種以上KIR具有任何適合之親和力及/或親合力。親和力係指抗-KIR抗體或其他抗原結合蛋白結合至抗原決定基或抗原決定子之強度。通常，親和力係以解離常數 K_d 來量度，該解離常數 K_d 定義為 $[Ab] \times [Ag] / [Ab-Ag]$ ，其中 $[Ab-Ag]$ 為抗體-抗原複合物之莫耳濃度， $[Ab]$ 為未結合之抗體的莫耳濃度且 $[Ag]$ 為未結合抗原之莫耳濃度。親和常數 K_a 係由 $1/K_d$ 定

義。適用於藉由競爭抑制、平衡透析及其類似方法確定結合肽特異性及親和力的方法可見於例如 Harlow 等人, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988) ; Colligan 等人編, *Current Protocols in Immunology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1992, 1993) ; 及 Muller, *Meth. Enzymol.* 92:589-601 (1983) 中。

通常，本發明提供之抗-KIR 抗體對至少一種 KIR 具有約 10^4 M^{-1} 至約 10^{10} M^{-1} (例如約 10^7 M^{-1} 至約 10^9 M^{-1}) 範圍內的親和力。本文中之術語免疫反應通常係指抗-KIR 抗體以低於約 10^{-4} M 之解離常數 K_d 結合至 KIR。舉例而言，在一特定態樣中，本發明提供抗-KIR 抗體，其對於 KIR2DL1 及 KIR2DL2/3 之平均解離常數 (K_D) 為約 $7 \times 10^{-9} \text{ M}$ 或 $7 \times 10^{-9} \text{ M}$ 以上，如由例如表面電漿共振 (SPR) 篩選 (諸如藉由以 BIAcore® SPR 分析裝置進行分析) 所測定。在一更特定例示性態樣中，本發明提供抗-KIR 抗體，其對於 KIR2DL2/3 之 K_D 為約 $2 \times 10^{-9} \text{ M}$ (例如約 $0.1-4 \times 10^{-9} \text{ M}$) 或 $2 \times 10^{-9} \text{ M}$ 以上且對於 KIR2DL1 之 K_D 為約 $11 \times 10^{-9} \text{ M}$ (例如約 $7-15 \times 10^{-9} \text{ M}$) 或 $11 \times 10^{-9} \text{ M}$ 以上。

可藉由本文別處所述之任何方法或其在此項技術中之已知等效方法來測定親和力。可用於測定親和力之一種方法的實例係提供於 Munson 及 Pollard, *Anal. Biochem.* 107:220 (1980) 之斯卡查德分析 (Scatchard analysis) 中。結合親和力亦可藉由平衡法 (例如酶聯結免疫吸附劑分析法 (ELISA) 或

放射免疫分析(RIA))或動力學分析(例如BIAcore®分析)來測定。

此外或或者，抗-KIR抗體特徵可在於展現KIR結合之解離常數如下：小於約100 nM、小於約50 nM、小於約10 nM、約5 nM或5 nM以下、約1 nM或1 nM以下、約0.5 nM或0.5 nM以下、約0.1 nM或0.1 nM以下、約0.01 nM或0.01 nM以下，或甚至約0.001 nM或0.001 nM以下。

親合力係指結合蛋白與抗原之間總相互作用的總強度(例如抗-KIR抗體與KIR之間相互作用之總強度)。親和力為抗體或其他結合肽上之單個抗原結合位點與單個抗原決定基或抗原決定子之間總的非共價相互作用的強度。親合力通常取決於三個主要因素：結合蛋白對其所結合之抗原決定基或抗原決定子之固有親和力、抗體或結合蛋白及抗原之價數(例如價數為3、4或4以上之抗-KIR抗體相較於二價抗體對抗原通常展現較高程度之親合力，且二價抗體相較於單價抗體對抗原具有較高親合力，尤其在抗原中存在重複之抗原決定基的情況下)及/或相互作用組分之幾何排列。親合力通常由與用於評估親和力之技術相同類型之技術來量測。

在另一態樣中，本發明提供與來自兩種或兩種以上物種之KIR交叉反應的抗-KIR抗體。舉例而言，在一個態樣中，本發明提供與人類及食蟹獼猴之KIR交叉反應的抗-KIR抗體。在一特定態樣中，本發明提供與至少兩種人類KIR交叉反應且亦結合至食蟹獼猴之NK細胞的抗-KIR抗

體。該種抗-KIR抗體可包含來自或源自展現該種交叉反應性型態之抗體NKVSF1的序列。必要時，可在食蟹獼猴中對該等抗-KIR抗體進行毒性測試及其他適用之研究。

可與多種KIR交叉反應之抗體可用於本發明之組合組合物及方法中。該等抗體之例示性交叉反應性型態包括抗體與KIR 2DL1加上2DL2/3交叉反應、與3DL1加上3DL2交叉反應、與2DL1(及2DL2/3)加上2DS4交叉反應，以及與2DL1(及2DL2/3)交叉反應，但不與2DS4交叉反應。

由此，例如，本發明方法或組合物可包含如例如WO 2005003168中所述結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3且抑制或阻斷KIR介導之對NK細胞之細胞毒性的抑制作用之抗-KIR抗體。

適用於本發明組合方法及組合物中之例示性抗-KIR抗體包括如下抗-KIR抗體，其包含對應於抗-KIR抗體DF200之VL區或基本上由該VL區組成(為實質上相似的且保持相似之結合型態及親和力)的VL區，或與DF200之VL序列高度相似(例如至少約90%一致或95%一致)之VL序列/域。DF200之VL序列展示於WO 2006/3179中。該等抗-KIR抗體亦可或者定義為包含DF200之輕鏈可變區CDR之集合(亦展示於WO 2006/3179中)。該種抗體通常亦將包含DF200之VH域或高度相似之序列(例如，與DF200 VH域具有高度一致性或者基本上由該種序列組成之序列)或至少DF200之重鏈可變區CDR(展示於WO 2006/3179中)。

在另一例示性態樣中，本發明之組合組合物或方法包括

如下抗-KIR抗體，其包含對應於抗體1-7F9之VH及VL序列(展示於WO 2006/3179中)或與抗體1-7F9之VH及VL序列高度相似(例如基本上由其組成)或至少包含1-7F9之VL及VH CDR的VH及VL序列。

與交叉反應性及/或中和性抗-KIR抗體競爭

在另一態樣中，本發明方法或組合物特徵在於包含與此等抗體中之一者或併入本文中之參考文獻中所述之其他抗-KIR抗體中之一者(例如1-7F9)競爭的抗-KIR抗體。

與例示性抗-KIR抗體(諸如DF200、1-7F9及/或NKVSF1)競爭之抗體可使用已知篩選分析法來鑑別。多種該等分析法按常規實踐且在此項技術中為熟知的(參見例如美國專利第5,660,827號，其以引用方式特定併入本文中)。基於例如ELISA、放射免疫分析法、西方墨點法及使用BIACORE分析之方案適用於該等競爭研究中。

可例如預先混合對照抗體(例如DF200、NKVSF1或1-7F9)與不同量之測試抗體(例如以約1:1、1:2、1:10或約1:100之比率)持續一段時間，然後施加於KIR抗原樣品中。或者，可在暴露於KIR抗原樣品期間簡單地單獨添加且混合對照物及不同量之測試抗體。只要可區分結合抗體與游離抗體(例如藉由使用分離或洗滌技術以消除未結合之抗體)以及對照抗體與測試抗體(例如藉由使用物種特異性或同型特異性二次抗體或藉由以可偵測標記特異性標記對照抗體)，即能夠確定測試抗體是否降低對照抗體與不同KIR2DL抗原之結合，指示測試抗體與對照物識別實質

上相同之抗原決定基。(經標記)對照抗體在完全無關抗體(其不結合KIR)存在下之結合可用作對照高值。對照低值可藉由將經標記之對照抗體與相同但未標記之對照抗體一起培育而獲得，其中將出現競爭且減少經標記抗體之結合。在測試分析法中，經標記抗體反應性在測試抗體存在下顯著降低則指示測試抗體識別實質上相同之抗原決定基，亦即其與經標記之對照抗體競爭。舉例而言，任何在對照抗體:測試抗體之任何比率介於約1:1或1:10與約1:100之間下使對照抗體與KIR2DL1及KIR2DL3抗原中之一者或兩者的結合減少至少約50%、諸如至少約60%、或更佳至少約70%(例如約65%至100%)的測試抗體即視為與對照物競爭之抗體。

亦可藉由例如流動式細胞量測術評估競爭。在該測試中，可首先將帶有既定KIR之細胞與對照抗體一起培育，且接著與經螢光染料或生物素標記之測試抗體一起培育。若在與飽和量之對照抗體一起預培育後所獲得之結合為在未與對照抗體一起預培育下由測試抗體所獲得之結合(如藉助於螢光所量測)的約80%、較佳約50%、約40%或40%以下(例如約30%)，則稱抗體與對照抗體競爭。或者，若由經標記對照抗體(藉由螢光染料或生物素標記)對與飽和量之測試抗體一起預培育之細胞所獲得的結合為在未與測試抗體一起預培育的情況下所獲得之結合的約80%、較佳約50%、約40%或40%以下(例如約30%)，則稱抗體與對照抗體競爭。

亦可有利地使用簡易競爭分析法，其中預先吸附測試抗體且以飽和濃度施加於上面固定有KIR2DL1或KIR2DL2/3或兩者的表面上。簡易競爭分析法中之表面較佳為BIACORE晶片(或其他適用於表面電漿共振分析之介質)。量測對照抗體與塗有KIR之表面的結合。將此單獨對照抗體與含有KIR之表面的結合與對照抗體在測試抗體存在下之結合相比較。在測試抗體存在下，對照抗體與含有KIR2DL1及KIR2DL2/3之表面的結合顯著減少指示測試抗體與對照抗體識別實質上相同之抗原決定基，因此測試抗體與對照抗體「競爭」。任何使對照抗體與KIR2DL1及KIR2DL2/3抗原兩者之結合減少至少約20%或20%以上、至少約40%、至少約50%、至少約70%或70%以上的測試抗體即可視為與對照抗體競爭之抗體。較佳地，該測試抗體將使對照抗體與至少KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3抗原中之每一者的結合減少至少約50%(例如至少約60%、至少約70%或70%以上)。應瞭解，可顛倒對照抗體與測試抗體之次序；亦即，在競爭分析法中可首先使對照抗體結合至表面且接著之後使測試抗體與表面接觸。較佳地，首先使對KIR2DL1及KIR2DL2/3抗原具有較高親和力之抗體結合至含有KIR2DL1及KIR2DL2/3之表面，因為對於第二抗體所觀測到之結合減少(假定該等抗體互相競爭)預期將有較大值。該等分析法之其他實例提供於本文實例及例如Saunal及Regenmortel, (1995) J. Immunol. Methods 183: 33-41中，該文獻之揭示內容以引用方式併入本文中。

在另一態樣中，本發明方法或組合物特徵在於僅包括不與一種以上 KIR 交叉反應的抗體。舉例而言，僅對 KIR2DL1 具特異性之單株抗體已經展示可阻斷 KIR2DL1 與 HLA-Cw4 異型以及與 Cw4 屬於同一組之相似 HLA-C 異型之間的相互作用 (Moretta 等人, J Exp Med. 1993;178(2):597-604; 其揭示內容以引用方式併入本文中)。在另一實例中，針對 KIR2DL2/3 之單株抗體亦已經描述可阻斷 KIR2DL2/3 與 HLACw3 (或其類似物) 異型之間的相互作用 (Moretta 等人, 1993, 同上)。視情況而定，抗體可選自由以下組成之群：GL183 (KIR2DL2/3/S2 特異性，可自 Immunotech, France 及 Beckton Dickinson, USA 獲得)；EB6 (KIR2DL1/s1 特異性，可自 Immunotech, France 及 Beckton Dickinson, USA 獲得)。

抗原決定基

在其他態樣中，本發明提供針對各種 KIR 上存在之特定抗原區及/或抗原決定基的抗-KIR 抗體。在一個例示性態樣中，本發明提供在由選自以下之一或多個(或所有)胺基酸殘基所界定之區域內特異性結合 KIR2DL1 的抗-KIR 抗體：胺基酸殘基 105、106、107、108、109、110、111、127、129、130、131、132、133、134、135、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、181 及 192。在另一實施例中，本發明提供在由以下一或多個(或所有)胺基酸殘基所界定之區域中特異性結合至 KIR2DL1 及 KIR 2DL2/3 的抗-KIR 抗體：胺基酸殘基 105、

106、107、108、109、110、111、127、129、130、131、132、133、134、135、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、181及192。

在另一態樣中，本發明提供抗-KIR抗體，其結合至KIR2DL1，但以相對顯著降低之結合親和力(為對KIR2DL1所展現之親和力的約20%或20%以下、約30%或30%以下、約40%或40%以下、約50%或50%以下、約60%或60%以下、約70%或70%以下)結合至R131為Ala之KIR2DL1突變體。在另一態樣中，本發明提供抗-KIR抗體，其結合至KIR2DL1，但以相對降低之結合親和力(為對KIR2DL1所展現之親和力的約20%或20%以下、約30%或30%以下、約40%或40%以下、約50%或50%以下、約60%或60%以下、約70%或70%以下)結合至R157為Ala之KIR2DL1突變體。在另一態樣中，本發明提供抗-KIR抗體，其結合至KIR2DL1，且以相對降低之結合親和力(為對KIR2DL1所展現之親和力的約20%或20%以下、約30%或30%以下、約40%或40%以下、約50%或50%以下、約60%或60%以下、約70%或70%以下)結合R158為Ala之KIR2DL1突變體。

本發明提供結合至KIR2DL1殘基131、157及158之抗-KIR抗體。

本發明提供結合至KIR2DS3(R131W)但不結合至野生型KIR2DS3之抗-KIR抗體。在另一態樣中，本發明提供結合至KIR2DL1及KIR2DL2/3以及KIR2DS4之抗-KIR抗體。在

另一態樣中，本發明提供結合至KIR2DL1及KIR2DL2/3兩者，但不結合至KIR2DS4之抗-KIR抗體。

為說明抗-KIR抗體序列在抗-KIR抗體之組成及建構中之用途，此處將描述例示性抗-KIR抗體序列及抗體序列變異體。例示性KIR抗體DF200及1-7F9之可變區及CDR之胺基酸及核酸序列亦揭示於WO 2006/003179中。

例示性抗-KIR mAb包括mAb 1-7F9及1-4F1，其相較於其他抗-KIR抗體具有若干優勢。舉例而言，1-7F9及1-4F1為完全人類抗體，因此在投與個體時可減少或最小化針對抗體之任何免疫反應。此外，如下文所述，1-7F9及1-4F1皆具有適用於治療性抗-KIR抗體之同型(分別為IgG4及IgG2)。1-7F9在誘導表現KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之NK細胞產生之殺死作用時相較於鼠類mAb EB6、GL183、DF200及NKVSF1(Pan2D)亦更為有效。此外，1-7F9對KIR之親和力高於先前已知之抗-KIR mAb。舉例而言，1-7F9結合至KIR2DL1及KIR2DL3之解離常數(K_d)分別為0.43 nM及0.025 nM，表示其對兩種抗原之親和力高於例如DF200。本發明之尤其較佳之抗體因此與1-7F9及/或1-4F1具有相同或相似之抗原特異性。舉例而言，與1-7F9包含相同或相似VH及VL區之抗體可與1-7F9具有相同或相似之抗原結合及/或NK刺激特性；且與1-4F1包含相同或相似之VH及VL區之抗體可與1-4F1具有相同或相似之抗原結合特性。

抗體可包含如下1-7F9之VL區及/或VH區之胺基酸序

列：

1-7F9 VL區 (SEQ ID NO: 1)：

EIVLTQSPVTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN
RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWMYTFGQGTKLEIKRT

1-7F9 VH區 (SEQ ID NO: 2)：

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSFYAISWVRQAPGQGLEWMGG
FIPIFGAANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSDDTAVYYCARIPSGSYYYDY
DMDVWGQGTITVTVSS。

1-4F1 VL區及VH區之胺基酸序列分別提供於SEQ ID NO: 3及4中。在一特定實施例中，SEQ ID NO: 3之殘基3、4、9、24、32、41、47、50、55、71及74分別為Q、L、S、R、A、G、L、D、E、F及A。在另一特定實施例中，SEQ ID NO: 3之殘基3、4、9、24、32、41、47、50、55、71及74分別為R、M、F、W、Y、A、F、Y、Q、Y及T。

1-7F9 CDR之胺基酸序列如下：對應於SEQ ID NO: 1之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 1之殘基50至56的輕鏈CDR2胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 1之殘基89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 2之殘基31至35的重鏈CDR1胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 2之殘基50至65的重鏈CDR2胺基酸序列；及對應於SEQ ID NO: 2之殘基99至112的重鏈CDR3胺基酸序列。1-4F1 CDR之胺基酸序列已鑑別如下：對應於SEQ ID NO: 3之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 3之殘基50至56的輕鏈CDR2胺基酸序列；對應於

SEQ ID NO: 3之殘基89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 4之殘基31至35的重鏈CDR1胺基酸序列；對應於SEQ ID NO: 4之殘基50至66的重鏈CDR2胺基酸序列；及對應於SEQ ID NO: 4之殘基99至113的重鏈CDR3胺基酸序列。

完整1-7F9輕鏈及重鏈之胺基酸序列分別提供於SEQ ID NO: 5及6中。

因此，例如各種人類抗體子類之其他抗體；抗體片段、抗體衍生物及其他KIR結合肽可容易地基於此資訊藉由例如重組技術來製備。舉例而言，在一個態樣中，本發明提供具有分別基本上由SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2組成之VL及VH序列的抗體，及/或具有分別基本上由SEQ ID NO: 3及SEQ ID NO: 4組成之VL及VH序列的抗體。在另一態樣中，本發明提供包含基本上由上文所述之1-7F9或1-4F1 VH CDR1-3及VL CDR1-3組成之CDR區的抗體，或具有分別基本上由SEQ ID NO: 5及6之1-7F9輕鏈及重鏈組成之輕鏈及重鏈的抗體。在另一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含如下CDR區：大致對應於SEQ ID NO: 1之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 1之殘基50至56的輕鏈CDR2胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 1之殘基89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 2之殘基31至35的重鏈CDR1胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 2之殘基50至65的重鏈CDR2胺基酸序列；及大致對應於SEQ ID NO: 2之殘基99至112的重鏈

CDR3胺基酸序列。在另一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含如下CDR區：大致對應於SEQ ID NO: 3之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 3之殘基50至56的輕鏈CDR2胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 3之殘基89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 4之殘基31至35的重鏈CDR1胺基酸序列；大致對應於SEQ ID NO: 4之殘基50至66的重鏈CDR2胺基酸序列；及大致對應於SEQ ID NO: 4之殘基99至113的重鏈CDR3胺基酸序列。在另一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含基本上由SEQ ID NO: 1之殘基24至34組成的輕鏈CDR1胺基酸序列；基本上由SEQ ID NO: 1之殘基50至56組成的輕鏈CDR2胺基酸序列；基本上由SEQ ID NO: 1之殘基89至97組成的輕鏈CDR3胺基酸序列；基本上由SEQ ID NO: 2之殘基31至35組成的重鏈CDR1胺基酸序列；基本上由SEQ ID NO: 2之殘基50至65組成的重鏈CDR2胺基酸序列；及基本上由SEQ ID NO: 2之殘基99至112組成的重鏈CDR3胺基酸序列。在另一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含如下CDR區：基本上由SEQ ID NO: 3之殘基24至34組成的輕鏈CDR1胺基酸序列；基本上由SEQ ID NO: 3之殘基50至56組成的輕鏈CDR2胺基酸序列；基本上由SEQ ID NO: 3之殘基89至97組成的輕鏈CDR3胺基酸序列；基本上由SEQ ID NO: 4之殘基31至35組成的重鏈CDR1胺基酸序列；基本上由SEQ ID NO: 4之殘基50至66組成的重鏈CDR2胺基酸序列；及基本上由

SEQ ID NO: 4之殘基99至113組成的重鏈CDR3胺基酸序列。

本發明亦涵蓋抗-KIR抗體、抗體片段或抗體衍生物或KIR結合多肽之用途，其包含至少一個與1-7F9或1-4F1 VH或VL序列或與其中CDR區實質上一致之變異胺基酸序列。變異胺基酸序列可包含以下或基本上由以下組成：與1-7F9或1-4F1 CDR、VH或VL區或重鏈或輕鏈序列具有至少約50%、80%、90%、95%、98%或99%(例如約50%至99%、約65%至99%、約75%至99%或約85%至99%)一致性之胺基酸序列。抗體可例如包含各自具有分別與SEQ ID NO: 5及6具有至少約50%、80%、90%、95%、98%或99%(例如約50%至99%、約65%至99%、約75%至99%或約85%至99%)一致性之序列的1-7F9輕鏈及重鏈。變異胺基酸序列可例如包含1、2或3個包含與1-7F9或1-4F1 CDR具有至少約80%、至少約90%或至少約95%一致性之胺基酸序列或由該等胺基酸序列組成的CDR。變異胺基酸序列或者或亦可包含1、2或3個包含與1-7F9或1-4F1 CDR具有至少約80%、至少約90%或至少約95%一致性之胺基酸序列或由該等胺基酸序列組成的CDR。因此，在一個態樣中，本發明提供一種人類抗體，其包含與SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3之殘基24至34具有至少約80%、至少約90%或至少約95%一致性的輕鏈CDR1胺基酸序列；與SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3之殘基50至56具有至少約80%、至少約90%或至少約95%一致性的輕鏈CDR2胺基酸序列；與SEQ

ID NO: 1或SEQ ID NO: 3之殘基89至97具有至少約80%、至少約90%或至少約95%一致性的輕鏈CDR3胺基酸序列；與SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 4之殘基31至35具有至少約80%、至少約90%或至少約95%一致性的重鏈CDR1胺基酸序列；與SEQ ID NO: 2之殘基50至65或與SEQ ID NO: 4之殘基50至66具有至少約80%、至少約90%或至少約95%一致性的重鏈CDR2胺基酸序列；及與SEQ ID NO: 2之殘基99至112或與SEQ ID NO: 4之殘基99至113具有至少約80%、至少約90%或至少約95%一致性的重鏈CDR3胺基酸序列。保留於該等變異胺基酸序列中之源自1-7F9或1-4F1之KIR結合性胺基酸序列的基本特性合乎需要地包括1-7F9或1-4F1序列對一或多種KIR之特異性及/或親合力，且或者或亦可包括1-7F9阻斷KIR/HLA-C相互作用及增強NK細胞之溶解活性的能力。

在另一態樣中，本發明提供抗-KIR抗體、抗體片段或抗體衍生物或KIR結合多肽之用途，其包含藉助於一或多個殘基插入、缺失及/或取代而與1-7F9或1-4F1 KIR結合序列有一或多個胺基酸殘基(例如至少2個、3個、5個、至少約10個、至少約15個、至少約20個、至少約25個、至少約30個、至少約35個、至少約40個、至少約50個或50個以上胺基酸殘基)不同的KIR結合性胺基酸序列。該變異KIR結合序列使得親和力較大；特異性較大或不同；免疫原性較小(就宿主對序列之反應而言)；活體內穩定性較大；及/或變異序列相較於包含原生1-7F9或1-4F1序列之基本上一致之

胺基酸序列的其他有益特性。適合之序列變異體進一步描述於本文別處。抗-KIR抗體、抗體片段或抗體衍生物或KIR結合多肽之KIR結合部分亦可包含任何適合數目之非胺基酸組分或取代基，諸如非胺基酸有機部分，以促成KIR結合及/或提供其他有利之物理化學或免疫學特性。

如已提及，抗原結合性抗體序列(諸如抗-KIR抗體序列)之適合序列變異體可併入本發明之抗體中。在大部分類型之抗體序列中進行變異可為適合的。由此，例如，抗-KIR抗體可包含變異型恆定序列及/或變異型構架序列。

本發明提供一種抗-KIR抗體，其包含一或多個變異型CDR序列(亦即，與類似野生型CDR序列不同之處在於一或多處相對於野生型相關序列影響序列之生物學及/或物理化學特性之胺基酸插入、缺失、添加及/或取代的CDR序列)。參見例如WO 2006/072625中揭示之技術。CDR、VH及VL序列變異體可分別與一或多個「親本」CDR、VH及VL序列(諸如抗-KIR mAb DF200及/或抗-KIR mAb NKVSF1之CDR、VH及VL序列)展現任何適合程度之一致性。通常，結合至與親本序列基本上相同的抗原決定子區之變異序列將與親本序列保持至少約40%胺基酸序列一致性，諸如與親本序列保持約50%或50%以上、約60%或60%以上、約70%或70%以上、約75%或75%以上、約80%或80%以上、約85%或85%以上、約90%或90%以上或至少約95%(例如約45%至99%、約55%至99%或約65%至99%)一致性。然而，在一些狀況下，尤其對於靶向基本上相同之抗

原決定基的CDR序列，具有較低程度之一致性的變異體可為適合的。

結合至不同抗原決定子區或不同抗原決定子區集合(或「型態」)之CDR、VH及VL序列變異體亦可藉由本文別處所述之任何技術(合理設計、突變誘發、定向進化)而產生。在該等情況下，與親本序列之胺基酸序列一致性程度預期顯著較低。舉例而言，在CDR-L1、CDR-H1、CDR-H2或CDR H3變異體與親本序列具有不同抗原決定基結合型態的情況下，促進NKCAMR(諸如KIR)結合之變異體與親本CDR序列可能僅僅展現約20%至30%胺基酸序列一致性。

WO 2006/072625進一步提供抗-KIR抗體序列之變異體，其包括CDR及可變區序列之特定結構式，該案之揭示內容以引用方式併入本文中。

通常，變異體主要因保守性取代而與「親本」序列有所不同；變異體中例如至少約35%、約50%或50%以上、約60%或60%以上、約70%或70%以上、約75%或75%以上、約80%或80%以上、約85%或85%以上、約90%或90%以上、約95%或95%以上(例如約65%至99%)之取代為保守性胺基酸殘基置換。在本發明之上下文中，保守性取代可由WO 2006/072625(Novo Nordisk AS及Innate Pharma SA)之表4、表5及表6中之一或多者中所反映之胺基酸類別內的取代所限定。WO 2006/072625亦描述其他保守性取代分組；藉由選擇保守性較低之取代使功能實質改變；適用於

設計及選擇肽變異體之原理；在親水/親水性特性方面保守；使變異型肽之結構維持實質上類似於親本肽之結構，包括在保守性取代、親水特性、重量守恆、二級結構比較或相似性得分(如藉由使用BLAST程式所測定)方面評估肽之相似性的方法；變異體與親本之間的其他變異點/分異點為可接受的；CDR之有利序列變化；引起糖基化改變之序列變異；高變區插入及產生變異型抗體及更一般產生CDR變異體。

在本發明之胺基酸序列的情況下一致性可藉由任何適合技術，通常藉由尼德曼-溫思科比對分析(Needleman-Wunsch alignment analysis)來測定(參見Needleman及Wunsch, *J. Mol. Biol.* (1970) 48:443-453)，諸如經由以ALIGN 2.0使用BLOSUM50評分矩陣(起始間隙罰分為-12且擴展罰分為-2)進行分析而提供(關於對併入ALIGN程式中之整體比對技術之論述，參見Myers及Miller, *CABIOS* (1989) 4:11-17)。ALIGN 2.0程式之複本可例如經由San Diego Supercomputer(SDSC)生物學工作台(Biology Workbench)得到。由於尼德曼-溫思科比對提供兩個序列之間的總體或整體一致性量測結果，故應瞭解可以類似於完全序列之方式使用可為較大肽序列之部分或子序列的目標序列，或者，可使用如由例如史密斯-沃特曼比對(Smith-Waterman alignment)(*J. Mol. Biol.* (1981) 147:195-197)所測定之局部比對值來評估子序列之間的關係，該等局部比對值可經由可用程式獲得(可適用於分析一致性之

其他局部比對方法包括應用試誤式局部比對演算法之程式，諸如FastA及BLAST程式)。用於評估一致性之其他相關方法描述於例如國際專利申請案WO 2003/048185中。設法對尼德曼-溫思科演算法進行改良之高氏演算法(Gotoh algorithm)或者可用於整體序列比對。參見例如Gotoh, J. Mol. Biol. 162: 705-708 (1982)。

抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物(包括抗體)能夠增強對可能有力促成炎症之T細胞的消除作用，使得包括抗體之此等化合物適用於慢性情形及急性炎症中，以及與用於發炎情形之第二治療劑組合使用。特定而言，在類風濕性關節炎及其他可使用第二治療劑之病狀的狀況下，該第二治療劑減輕炎症，例如用於慢性及急性情形之藥劑，諸如疾病改善性抗風濕藥(DMARD)，諸如抗-TNF α 及MTX。由於促成炎症(尤其急性及慢性炎症)之機制常咸信為複雜的，所以本發明抗體尤其適於與作用於除直接殺死(例如經由ADCC)T細胞以外的炎症機制，但具有相似之生物學目標(諸如減少促發炎細胞激素產生或作用，尤其減少或抑制TNF α)之藥劑組合使用。

抗體產生

單株抗體尤其可使用由Kohler等人，Nature, 256:495 (1975)首先描述之融合瘤方法或藉由其他熟知之隨後研發之方法(參見例如Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 第59-103頁 (Academic Press, 1986))來製備。可藉由化學融合、電融合或任何其他適合技術，用任

何適合類型之骨髓瘤、異源骨髓瘤、淋巴母細胞樣細胞 (phoblastoid cell)、漿細胞瘤或類似永生化細胞及任何適合類型之抗體表現細胞形成融合瘤及其他融合細胞。

轉型之永生化B細胞亦可用於高效地產生抗體。轉型之B細胞可藉由標準技術，諸如用艾伯斯坦-巴爾病毒 (Epstein Barr Virus) 或轉型基因轉型而產生。(參見例如「Continuously Proliferating Human Cell Lines Synthesizing Antibody of Predetermined Specificity,」 Zurawaki, V. R. 等人, Monoclonal Antibodies, Kennett R. H. 等人編, Plenum Press, N.Y. 1980, 第19-33頁)。由此，穩定且持續及/或永生化的表現抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之細胞及細胞株為本發明之另一特徵。產生抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之方法的步驟可包括例如以下步驟：產生可產生抗體之永生化B細胞，使其與適當搭配物融合以產生抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體，或對其進行定序且使用該等序列產生重組抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

可用作用於重組蛋白質表現之宿主的細胞株在此項技術中為熟知的且包括多種可自美國菌種中心 (American Type Culture Collection, ATCC) 獲得的永生化細胞株。此等細胞株尤其包括中國倉鼠卵巢 (CHO) 細胞、NSO細胞、SP2細胞、HeLa細胞、幼倉鼠腎 (BHK) 細胞、猴腎細胞 (COS)、人類肝細胞癌細胞 (例如 Hep G2)、A549細胞及多種其他細

胞株。其他可使用之細胞株為昆蟲細胞株，諸如 Sf9 細胞。當將編碼抗體基因之核酸(或含有核酸之載體)引入哺乳動物宿主細胞中時，可藉由培養宿主細胞足以允許抗體在宿主細胞中表現或更佳使抗體分泌至培養宿主細胞之培養基中的一段時間以產生抗體。可使用標準蛋白質純化方法自培養基中回收抗體。抗體在直接表現而無分泌信號時亦可自宿主細胞溶胞物中回收。

可藉由應用多種此項技術中已知之適合技術(包括例如免疫親和管柱純化；硫酸鹽沈澱；層析聚焦；製備型 SDS-PAGE 及其類似技術)純化來自細胞培養物、細胞溶胞物及轉殖基因動物或由其獲得之生物材料(例如，來自產生抗體之轉殖基因動物之腹水)的抗體。

抗 -KIR2DL1、抗 -KIR2DL2 及 / 或抗 -KIR2DL3 抗體亦可在細菌細胞及真核單細胞微生物(諸如酵母)中產生。細菌細胞產生之抗體缺乏正常糖基化且因此就 ADCC 功能及可能另外與在哺乳動物細胞及 / 或動物中產生之基本上相同抗體有關之免疫反應的其他態樣而言可能有缺陷。

可使用適用於純化、篩選及選擇抗體之方法，包括 WO 2006/072625 中所述之方法。可藉由任何適合技術或技術組合篩選及選擇抗 -KIR2DL1、抗 -KIR2DL2 及 / 或抗 -KIR2DL3 抗體。舉例而言，可使用多種免疫分析形式來選擇與特定蛋白質、變異體或片段選擇性結合的抗體。舉例而言，常規使用固相 ELISA 免疫分析來選擇對蛋白質、蛋白質變異體或其片段具選擇性免疫反應性的抗體。參見

Harlow及Lane(同上)。單株抗體之結合親和力可例如藉由Munson等人, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980)之斯卡查德分析來測定。

通常針對諸如藉由抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3介導之信號，促進NK細胞經由NK活化受體介導之信號活化來調節NK細胞活性的能力來篩選抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。已研發多種適用於該等情況之NK細胞分析法，包括例如流動式細胞量測術篩選法。參見例如McGinnes等人, (1984) *J Immunol Methods* 80 1984: 70-85。與培養NK細胞、評估NK細胞及其類似方面有關之方法在此項技術中為已知的。參見例如Campbell及Colonna, *Natural Killer Cell Protocols (Methods in Molecular Biology Series 第121卷)*(2000)。

在抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之情況下，NK細胞中和活性可藉由抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體復原由KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3陽性NK細胞引起之標靶細胞溶解的能力來表明。亦可藉由各種基於細胞之細胞毒性分析法來評估抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體相關NK細胞調節(例如KIR抑制)。重導向殺傷實驗(Redirected killing)為一種用於確定NK細胞受體誘導細胞毒性之能力的實驗系統。評估塗佈有對候選受體具特異性之抗體的NK細胞殺死表現抗體所結合之Fc受體之標靶細

胞的能力。在另一變體中，可在細胞激素釋放分析法中評估與抗-KIR抗體有關之NK細胞活性調節作用。亦可使用與各種抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體有關之其他生物活性來評估抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

通常以實質上純之形式使用及提供抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。實質上純分子為在發現其之組合物中相對於其所屬之分子類別為主要物質的分子(例如，實質上純抗體為發現其之組合物中之主要蛋白質物質)。實質上純物質佔組合物中之此類型分子的至少約50%且通常構成組合物中至少約70重量%、至少約80重量%、至少約85重量%、至少約90重量%、至少約95重量%或95重量%以上百分比之物質。通常，包含抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之組合物在組合物中之所有存在之肽物質的情況下或至少相對於建議使用之情況下的實質上活性肽物質展現至少約98%、98%或99%抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體均質性。舉例而言，肽穩定劑/緩衝劑(諸如白蛋白)可在不妨礙抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之活性的情況下有意包括於最終醫藥調配物中，且因此可自該等純度計算中排除。在實質上純組合物之情況下亦可接受不干擾基本活性之雜質的存在。可藉由適於既定化合物之方法(例如層析法；瓊脂糖及/或聚丙烯醯胺凝膠電泳；HPLC分析等)量測純度。

分離之分子係指不與顯著含量(例如約1%以上、約2%以上、約3%以上或約5%以上)之任何外來及不合需要之生物分子(諸如產生抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之細胞、細胞培養物、化學培養基或動物內所含之非抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體生物分子)締合的分子。分離之分子亦指已因人類干預(自動、手動或兩者)通過該純度階段顯著長時間(例如至少約10分鐘、至少約20分鐘、至少約1小時或更長時間)的任何分子。在本發明提供之許多各種組合物中，諸如在包含一或多種醫藥學上可接受之載劑之組合物中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可以組合物中之全部分子物質之數目計相對較小之量存在(例如，在組合物包含大量醫藥學上可接受之載劑、穩定劑及/或防腐劑的狀況下)。在一些狀況下，諸如BSA之其他肽可包括於該含先前純化之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之組合物中。然而，假如組合物之該等其他組分可為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之預期應用所接受，則仍可將該組合物描述為包含分離之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。換言之，術語「分離」不意欲排除與其他化合物或物質之人工或合成混合物，諸如可形成醫藥學上可接受之製劑的一部分。

醫藥學上可接受之載劑

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可與

一或多種適於一或多種預期投藥途徑之載劑(稀釋劑、賦形劑及其類似物)及/或佐劑組合以提供醫藥學上可接受之組合物。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可例如與以下混合：乳糖、蔗糖、粉末(例如澱粉粉末)、烷酸之纖維素酯、硬脂酸、滑石、硬脂酸鎂、氧化鎂、磷酸及硫酸之鈉鹽及鈣鹽、阿拉伯膠、明膠、海藻酸鈉、聚乙烯吡咯啉及/或聚乙烯醇，且視情況進一步製錠或囊封以用於習知投藥。或者，可將抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體溶解於生理食鹽水、水、聚乙二醇、丙二醇、羧甲基纖維素膠體溶液、乙醇、玉米油、花生油、棉籽油、芝麻油、黃耆膠及/或各種緩衝劑中。其他載劑、佐劑及投藥方式在醫藥技術中為熟知的。載劑或稀釋劑可包括時間延遲物質，諸如單獨單硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯或連同蠟，或其他功能上相似之物質。

醫藥學上可接受之載劑一般包括生理學上與抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體相容之任何及所有適合之溶劑、分散介質、塗佈劑、抗細菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑及其類似物。醫藥學上可接受之載劑之實例包括水、生理食鹽水、磷酸鹽緩衝生理食鹽水、右旋糖、甘油、乙醇及其類似物，以及其任何組合。在多種狀況下，在該組合物中可能需要包括例如糖、多元醇(諸如甘露糖醇、山梨糖醇)或氯化鈉之等張劑。醫藥學上可接受之物質(諸如濕潤劑)或少量之助劑物質(諸如濕潤

劑或乳化劑、防腐劑或緩衝劑)可合乎需要地延長抗-KIR抗體、相關組合物或組合之存放期或增強其有效性。載劑及醫藥組合物之其他組分的適合性係根據對抗體之所需生物學特性無顯著負面影響來確定。

本發明之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體組合物、相關組合物及組合可呈多種適合形式。該等形式包括例如液體、半固體及固體劑型，諸如液體溶液(例如可注射及可輸注溶液)、分散液或懸浮液、乳液、微乳液、錠劑、丸劑、散劑、脂質體、樹狀體及其他奈米粒子(參見例如Baek等人, *Methods Enzymol.* 2003;362:240-9; Nigavekar等人, *Pharm Res.* 2004年3月; 21(3):476-83)、微粒及栓劑。調配物、鹽進一步描述於WO 2006/072625中。

通常，呈可注射或可輸注溶液形式之組合物，諸如類似於用於以其他抗體使人類被動免疫之組合物的組合物可用於傳遞本發明之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。傳遞抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體組合物之典型模式為非經腸投藥(例如靜脈內、皮下、腹膜內及/或肌肉內投藥)。在一個態樣中，藉由靜脈內輸注或注射向人類患者投與抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

用於醫藥用途之組合物亦可包括各種稀釋劑、填充劑、鹽、緩衝劑、清潔劑(例如非離子型清潔劑，諸如Tween-80)、穩定劑(例如糖或無蛋白質胺基酸)、防腐劑、組織固

定劑、增溶劑及/或其他適於包括於用於醫藥用途之組合物中之物質。適合組分之實例亦描述於例如 Berge 等人, J. Pharm. Sci., 6661), 1-19 (1977) ; Wang 及 Hanson, J. Parenteral. Sci. Tech: 42, S4-S6 (1988) ; 美國專利第 6,165,779 號及第 6,225,289 號。該醫藥組合物亦可包括防腐劑、抗氧化劑或其他為熟習此項技術者所知之添加劑。其他醫藥學上可接受之載劑在此項技術中已知。參見例如 WO 2006/072625 中之參考文獻。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽

本發明提供 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽及含有抑制該等多肽之化合物的用於治療或預防自體免疫及發炎病症的組合物。例示性 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽闡述於胺基酸序列 SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 及 24 中。參見表 1。

編碼 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之核酸可使用標準分子生物技術進行修飾以產生包含至少一種 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 並在胺基酸序列中包括(但不限於)缺失、添加及取代且保留 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 之特異性抗原性(例如 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽可由抗 -KIR2DL1、抗 -KIR2DL2 及抗 -KIR2DL3 抗體結合)的變異多肽。另外, 包含至少一種 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之變異多肽亦可保留 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之抗原性(例如, 在個

體體內免疫後分別提高針對 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽以及變異 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽的特異性免疫反應)。KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽可用醫藥載劑調配以製造適用作「癌症疫苗」之抗原組合物(例如引起針對 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3(例如胺基酸序列 SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 及 24)之特異性免疫反應且在於個體體內免疫後產生抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及/或抗-KIR2DL3 抗體的醫藥組合物)。

多肽衍生物及類似物

應瞭解，本文所述之多肽可為降解產物、合成肽或重組肽以及肽模擬物、合成肽、類肽及半類肽(例如肽類似物，其可具有例如修飾以使得肽在體內同時更穩定或滲入細胞中之能力更高)。本文所述之 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之修飾包括(但不限於)N端修飾、C端修飾、肽鍵修飾(例如 $\text{CH}_2\text{-NH}$ 、 $\text{CH}_2\text{-S}$ 、 $\text{CH}_2\text{-S=O}$ 、 O=C-NH 、 $\text{CH}_2\text{-O}$ 、 $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ 、 S=C-NH 、 CH=CH 或 CF=CH)、主鏈修飾及殘基修飾。用於製備肽模擬化合物之方法在此項技術中為熟知的。Martin, (2010) **Quantitative Drug Design: A Critical Introduction** [第2版] CRC Press。

肽內之肽鍵(-CO-NH-)可經例如以下取代： N 上經甲基化之鍵($\text{-N(CH}_3\text{)-CO-}$)、酯鍵($\text{-C(R)H-C-O-O-C(R)-N-}$)、酮亞甲基鍵($\text{-CO-CH}_2\text{-}$)、 α -氮雜鍵(-NH-N(R)-CO-)(其中 R 為任何烷基，例如甲基)、碳橋鍵(carba bond)($\text{-CH}_2\text{-NH-}$)、羥

基伸乙基鍵(-CH(OH)-CH₂-)、硫醯胺鍵(-CS-NH-)、烯烴雙鍵(-CH=CH-)、逆醯胺鍵(retro amide bond)(-NH-CO-)、肽衍生物(-N(R)-CH₂-CO-)，其中R為天然存在於碳原子上之「正」側鏈。此等修飾沿肽鏈可存在於任何鍵處且甚至可同時存在於多處(2至3處)。

天然芳族胺基酸 Trp、Tyr 及 Phe 可經合成非天然酸取代，諸如苯基甘胺酸、TIC、萘基丙胺酸(Nol)、苯丙胺酸之環甲基化衍生物、苯丙胺酸之鹵化衍生物或鄰甲基-酪胺酸。除上述之外，本發明多肽亦可包括一或多個經修飾胺基酸或一或多個非胺基酸單體(例如脂肪酸、複合碳水化合物)，例如羥脯胺酸、磷酸絲胺酸及磷酸蘇胺酸；及其他特殊胺基酸，包括(但不限於)2-胺基己二酸、羥基離胺酸、異鎖鏈素(isodesmosine)、正纈胺酸、正白胺酸及鳥胺酸。此外，術語「胺基酸」包括D-胺基酸及L-胺基酸。

由於本發明之多肽較佳用於需要肽呈可溶形式之治療劑中，所以本發明多肽可包含一或多個非天然或天然極性胺基酸，包括(但不限於)絲胺酸及蘇胺酸，其能夠因其含有羥基之側鏈而提高肽溶解度。

本發明之多肽可呈線性形式，但應瞭解在有些狀況下亦可使用其他形式。

本文所述之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽可自己經改變而表現其(例如重組)之細胞中純化。可將編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之DNA序列插入表現載體中且接著轉型(或轉染)於適當宿主細胞中及/或表現於

轉殖基因動物中。可接著藉由此項技術中已知之方法分離由此所表現之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽(例如胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24)。參見例如Maniatis等人, (2001) **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** [第3版] Cold Spring Harbor Laboratory Press。

本發明之多肽可諸如藉由使用標準固相技術而以生物化學方式合成。此等方法包括單獨固相合成、部分固相合成法、片段縮合、經典溶液合成。在肽相對較短(亦即10 kDa)時及/或在其不可由重組技術產生(亦即並非由核酸序列所編碼)且因此涉及不同化學時較佳使用此等方法。固相肽合成程序在此項技術中為熟知的且進一步由Stewart (1984) **Solid Phase Peptide Syntheses** [第2版] Pierce Chemical Company 以及 Benoiton (2005) **Chemistry of Peptide Synthesis** CRC Press描述。合成肽可藉由製備型高效液相層析純化且其組成可經由胺基酸定序來確定。參見 Creighton (1992)[第2版] **Proteins, Structures and Molecular Principles** W.H. Freeman and Company; Aguilar (2004)[編] **HPLC of Peptides and Proteins: Methods and Protocols** Humana Press; Simpson (2002) **Protein Sequencing Protocols** [第2版] Humana Press。

在需要大量本發明多肽的狀況下,可使用諸如由以下文獻所述之重組技術產生本發明多肽: Invitrogen (2002) 「**Guide to Baculovirus Expression Vector Systems**

(BEVs) and Insect Culture Techniques」 Instruction Manual；Hatti-Kaul及Mattiasson (2003)[編] Isolation and Purification of Proteins；Ahmed (2004) Principles and Reactions of Protein Extraction, Purification and Characterization CRC Press。其他重組技術諸如由例如以下文獻所述：Bitter等人，(1987) *Methods in Enzymol.* 153: 516-544；Studier等人，(1990) *Methods in Enzymol.* 185: 60-89；Brisson等人，(1984) *Nature* 310: 511-514；Takamatsu等人，(1987) *EMBO J.* 6: 307-311；Coruzzi等人，(1984) *EMBO J.* 3: 1671-1680；及Brogli等人，(1984) *Science* 224: 838-843；Gurley等人，(1986) *Mol. Cell. Biol.* 6: 559-565；以及Weissbach及Weissbach (1988) *Methods for Plant Molecular Biology*, Academic Press, NY, Section VIII, 第421-463頁。

多肽序列變異體

對於胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之任何KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列，可藉由系統地添加或移除胺基酸殘基以產生較長或較短肽，且測試彼等肽以及藉由將具有較長或較短尺寸之窗口自該點沿抗原向上或向下移動所產生之序列來進一步表徵或最佳化。將此產生新候選標靶之方法與如此項技術中已知或如本文所述在免疫原性分析中測試基於彼等序列之抗原分子之有效性聯用可對抗原進行進一步操控。此外，該等最佳化序列可如

此項技術中已知及/或如本文所述藉由例如添加、缺失或其他突變而得到調節以進一步最佳化KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3(例如增強血清穩定性或循環半衰期、增強熱穩定性、增強傳遞性、增強免疫原性、提高溶解度、靶向特定活體內位置或細胞類型)。

本文所述之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽可包含保守性取代突變(亦即一或多個胺基酸由相似胺基酸取代)。舉例而言，保守性取代係指胺基酸經同一一般類別中之另一胺基酸取代，例如一個酸性胺基酸經另一酸性胺基酸取代、一個鹼性胺基酸經另一鹼性胺基酸取代，或一個中性胺基酸經另一中性胺基酸取代。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽序列可與胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24中之任一或多者具有至少約60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同源性。更佳，本發明涵蓋與胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽序列中之任一或多個多肽序列具有至少約95%序列同源性，甚至更佳具有至少約98%序列同源性，且更佳具有至少約99%序列同源性的多肽序列。測定胺基酸序列以及核酸序列之間的同源性之方法為一般技術者所熟知。參見例如

Nedelkov及Nelson (2006) **New and Emerging Proteomic Techniques** Humana Press。

因此，KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽可與多肽序列具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同源性。舉例而言，KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽可與胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同源性。

術語同源性或一致性應理解為意謂與其他蛋白質相同之胺基酸的數目(一致性)，以百分比表示。較佳藉助於電腦程式比較既定序列與其他蛋白質來測定一致性。若彼此進行比較之序列的長度不同，則以將短序列與較長序列所共有之胺基酸數目測定為一致性百分比的方式測定一致性。一致性可常規地藉助於已知電腦程式來測定，該等電腦程式可公開得到，諸如ClustalW。Thompson等人，(1994) **Nucleic Acids Research** 22: 4673-4680。ClustalW可自歐洲分子生物學實驗室(European Molecular Biology Laboratory)公開得到且可自各種網際網路頁面下載，尤其自IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire)以及EBI及所有鏡像EBI網際網路頁面(歐洲生物

資訊學會(European Bioinformatics Institute))下載。若使用ClustalW電腦程式版本1.8測定例如本申請案之參考蛋白與其他蛋白質之間的一致性，則設定以下參數：KTUPLE=1；TOPDIAG=5；WINDOW=5；PAIRGAP=3；GAPOPEN=10；GAPEXTEND=0.05；GAPDIST=8；MAXDIV=40；MATRIX=GONNET；ENDGAPS(OFF)；NOPGAP；NOHGAP。亦參見線上可得到之歐洲生物資訊學會(EBI)工具箱以及Smith (2002) **Protein Sequencing Protocols** [第2版] Humana Press。

一種發現相似序列之可能情況為進行序列資料庫研究。此處，可輸入一或多個序列，正如所知，作為一次查詢。接著使用統計學電腦程式將此查詢序列與所選資料庫中存在之序列相比較。該等資料庫查詢(blast搜尋)為熟練技術人員所知且可在不同供應者處進行。若例如在NCBI(國家生物技術資訊中心)處進行該資料庫查詢，則應使用各別比較查詢之標準設置。對於蛋白質序列比較(blastp)，此等設置為entrez限制條件=未活化；過濾=低複雜性活化；預期值=10；字長=3；矩陣=BLOSUM62；空隙罰分：存在=11，擴展=1。該查詢之結果為查詢序列與見於資料庫中之相似序列之間的一致度以及其他參數。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽包括該等多肽之功能性片段。該多肽之「功能性片段」包括編碼該KIR2DL1、該KIR2DL2及該KIR2DL3之基因或cDNA片段，該片段能夠引起免疫反應(例如體液或細胞免疫反

應)。因此，舉例而言，本發明之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之片段對應於促進抗原之免疫原性之胺基酸殘基且該等片段可用以充當抗原以引起免疫反應(例如體液或細胞免疫反應)。本發明之此態樣亦包括本發明多肽之經差異剪接之同功異型物及轉錄起點。本發明之多肽亦可包含KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之片段、衍生物及對偶基因變異體。製備KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之片段的方法及材料在此項技術中為熟知的。參見例如 Maniatis 等人, (2001) **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** [第3版] Cold Spring Harbor Laboratory Press。

變異KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽可保留其結合其各別抗體之抗原特異性(例如變異KIR2DL1、KIR2DL2或KIR2DL3多肽應由抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2或抗-KIR2DL3抗體結合)。完全抗原性變異體可僅含有保守性變異或非關鍵殘基或非關鍵區中之變異。抗原性變異體亦可含有相似胺基酸之取代，其不引起抗原性出現變化或出現顯著變化。或者，該等取代可在某種程度上正向或負向地影響抗原性。非抗原性變異體通常含有一或多處非保守性胺基酸取代、缺失、插入、倒位(inversions)或截短，或抗原決定基之關鍵殘基或關鍵區中之取代、插入、倒位或缺失。用於修飾KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽，同時保持多肽對其各別抗體之特異性抗原性的分子生物學及生物化學技術在此項技術中為熟知的。參見例如Ho等人, (1989) **Gene** 77(1): 51-59; Landt等人, (1990) **Gene** 96(1):

125-128 ; Hopp及 Woods (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78(6): 3824-3828 ; Kolaskar及 Tongaonkar (1990) *FEBS Letters* 276(1-2): 172-174 ; 及 Welling等人, (1985) *FEBS Letters* 188(2): 215-218 。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之變異體可充當KIR2DL1、KIR2DL2或KIR2DL3促效劑(模擬物)或KIR2DL1、KIR2DL2或KIR2DL3拮抗劑。KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之變異體可藉由對KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽進行突變誘發,例如個別點突變或截短而產生。KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之促效劑可保留與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之天然存在形式實質上相同之生物活性或其生物活性之子集。KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之拮抗劑可藉由例如競爭性調節KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3介導之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之活性來抑制KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之天然存在形式之一或多種活性。因此,特定生物學效應可由用具有有限功能之變異體進行治療來達成。舉例而言,可用具有多肽之天然存在形式之生物活性之子集的變異體治療個體,此相對於用KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之天然存在形式治療而言對個體之副作用較少。

充當KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3促效劑(模擬物)或KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3拮抗劑的KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽變異體可藉由針對KIR2DL1、

KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽促效劑或拮抗劑活性篩選 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之突變體(例如截短型突變體)之組合庫來鑑別。

肽模擬物

除僅由天然存在之胺基酸組成的 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之外，亦提供 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 肽模擬物。肽類似物通常在醫藥行業中用作特性類似於模板肽之特性的非肽藥物。此等類型之非肽化合物稱作「肽模擬物 (peptide mimetic)」或「肽模擬物 (peptidomimetic)」(Fauchere (1986) *Adv. Drug Res.* 15: 29; *Advances in Amino Acid Mimetics and Peptidomimetics* (第2卷) Andrew Abell (編)(1999) JAI Press, Inc.; 及 Evans 等人(1987) *J. Med. Chem* 30: 1229)且通常藉助於電腦化分子模型化來產生。結構上類似於治療適用肽之肽模擬物可用於產生等效之治療性或防治性作用。一般而言，肽模擬物在結構上類似於模式多肽(亦即具有生物學或藥理學活性之多肽)(諸如人類或小鼠 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3)，但其一或多個肽鍵視情況經選自由以下組成之群的鍵置換： $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{S}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ (順式及反式)、 $-\text{COCH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 及 $-\text{CH}_2\text{SO}-$ ，該置換係藉由此項技術中已知且進一步描述於以下參考文獻中之方法來達成：Spatola, *Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides, and Proteins* Weinstein, B. 編, Marcel Dekker, New York, 第 267 頁(1983); Spatola, Vega

Data (1983年3月), 第1卷, 第3期, 「Peptide Backbone Modifications」; Morley (1980) *Trends. Pharm. Sci.* 第463-468頁; Hudson等人, (1979) *Int. J. Pept. Prot. Res.* 14:177-185(-CH₂NH-、CH₂CH₂-); Spatola等人, (1986) *Life. Sci.* 38:1243-1249(-CH₂-S); Hann, (1982) *J. Chem. Soc Perkin. Trans. I* 307-314(-CH-CH-, 順式及反式); Almquist等人, (1980) *J. Med. Chem.* 23:1392-1398(-COCH₂-); Jennings-White等人, (1982) *Tetrahedron Lett.* 23:2533 (-COCH₂-); (-CH(OH)CH₂-); Holladay等人, (1983) *Tetrahedron. Lett.* 24:4401-4404(-C(OH)CH₂-); 及 Hruby (1982) *Life Sci.* 31:189-199(-CH₂-S-)。尤其較佳之非肽鍵為 -CH₂NH-。該等肽模擬物相較於多肽實施例可具有顯著優勢, 包括例如: 製備成本較低、化學穩定性較大、藥理學特性(半衰期、吸收、效能、功效)增強、特異性改變(例如廣泛之生物活性)、抗原性降低及其他優勢。標記肽模擬物通常涉及使一或多個標記直接或經由間隔基(例如醯胺基)共價連接至肽模擬物上無干擾的位置, 該等位置可藉由定量結構活性資料及/或分子模型化來預測。該等無干擾之位置一般為不與和肽模擬物結合以產生治療作用之巨分子形成直接接觸之位置。衍生化(例如標記)肽模擬物不應實質上干擾肽模擬物之所需生物學或藥理學活性。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3胺基酸序列之一或多個胺基酸經相同類型之D-胺基酸系統性取代(例如D-離胺酸替代L-離胺酸)可用於產生較穩定之肽。另外, 包含

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3胺基酸序列或實質上一致之序列變異體的限制性肽可藉由此項技術中已知之方法產生(Rizo及Gierasch (1992) *Annu. Rev. Biochem.* 61:387); 例如, 藉由添加能夠形成分子內二硫橋鍵以使肽環化的內部半胱胺酸殘基。本文所鑑別之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之胺基酸序列將使得熟習此項技術者能夠產生對應於KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3肽序列及其序列變異體的多肽。該等多肽可在原核或真核宿主細胞中藉由表現編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3肽序列之聚核苷酸而產生(常作為較大多肽之一部分)。或者, 該等肽可藉由化學方法合成。用於在重組宿主中表現異源多肽、化學合成多肽及活體外轉譯之方法在此項技術中為熟知的。核心序列之某些胺基端及/或羧基端修飾及/或肽延伸可提供有利之物理、化學、生物化學及藥理學特性, 諸如: 穩定性增強、效能及/或功效增強、對血清蛋白酶具抗性、藥物動力學特性合乎需要, 及其他特性。肽可治療性用於治療患者疾病, 例如藉由改變共刺激來達成。

對功能而言必需之胺基酸可藉由此項技術中已知之方法來鑑別, 諸如定點突變誘發或丙胺酸掃描突變誘發。Cunningham等人, (1989) *Sci.* 244: 1081-85。後一程序在分子中之每個殘基上引入單個丙胺酸突變。接著測試所得突變體分子之生物活性, 諸如抗原決定基結合或活體外ADCC活性。對於配體-受體結合關鍵之位點亦可藉由結構分析(諸如結晶學、核磁共振或光親和標記)來測定。Smith

等人, (1992) *J. Mol. Biol.* 224: 899-904 ; de Vos 等人, (1992) *Sci.* 255: 306-12。

舉例而言, 一類取代為保守性胺基酸取代。該等取代為 KIR2DL1、KIR2DL2及 KIR2DL3 多肽中之既定胺基酸經另一具有類似特徵之胺基酸取代的取代。通常視作保守性取代者為脂族胺基酸 Ala、Val、Leu及 Ile 間的置換(一個胺基酸置換為另一胺基酸); 羥基殘基 Ser 與 Thr 互換; 酸性殘基 Asp 與 Glu 交換; 醯胺殘基 Asn 與 Gln 之間的取代; 鹼性殘基 Lys 與 Arg 交換; 芳族殘基 Phe、Tyr 間的置換。關於何種胺基酸改變有可能為表型沉默性胺基酸改變的指導見於例如 Bowie 等人, (1990) *Sci.* 247: 1306-10 中。因此, 一般技術者應瞭解, 本發明者擁有肽變異體而未描繪所有特異性變異體。對於胺基酸序列, 熟習此項技術者應瞭解, 對核酸、肽、多肽或蛋白質序列進行的改變、添加或缺失所編碼序列中單個胺基酸或小百分比胺基酸的個別取代、缺失或添加為「經保守修飾之變異體」, 其中該改變使得胺基酸經化學上相似之胺基酸取代。提供功能上相似之胺基酸的保守性取代表在此項技術中為熟知的。該等經保守修飾之變異體另外為且不排除本發明之多形變異體、種間同源物及對偶基因。參見例如 Creighton (1992) **Proteins: Structures and Molecular Properties** [第 2 版] W.H. Freeman。

此外, 多肽常含有除 20 種「天然存在」胺基酸以外的胺基酸。此外, 許多胺基酸(包括末端胺基酸)可藉由天然方

法(諸如加工及其他轉譯後修飾)或藉由此項技術中熟知之化學修飾技術來修飾。已知修飾包括(但不限於)乙醯化、醯化、ADP-核糖基化、醯胺化、共價連接黃素、共價連接血紅素部分、共價連接核苷酸或核苷酸衍生物、共價連接脂質或脂質衍生物、共價連接磷脂醯肌醇、交聯、環化、形成二硫鍵、去甲基、形成共價交聯、形成胱胺酸、形成焦麩胺酸鹽、甲醯化、 γ -羧化、糖基化、形成GPI錨定、羥基化、碘化、甲基化、肉豆蔻醯基化、氧化、蛋白水解加工、磷酸化、異戊二烯化、外消旋化、硒磺基化(selenoylation)、硫酸化、轉移RNA介導之向蛋白質中添加胺基酸(諸如精胺醯基化)及泛素化。參見 Creighton (1992) **Proteins: Structure and Molecular Properties** [第2版]; 及 Lundblad (1995) **Techniques in Protein Modification** [第1版]。關於此主題之許多詳細評述為可得到的。參見例如 Wold (1983) **Posttranslational Covalent Modification of Proteins** Acad. Press, NY; Seifter 等人, (1990) **Meth. Enzymol.** 182: 626-46; 及 Rattan 等人, (1992) **Ann. NY Acad. Sci.** 663: 48-62。

片段

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之生物活性部分包括KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之參與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3分子與非KIR2DL1、非KIR2DL2及非KIR2DL3分子(例如KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之天然配體)之間的相互作用之片段。KIR2DL1、KIR2DL2及

KIR2DL3 多肽之生物活性部分包括包含與 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之胺基酸序列(例如展示於 SEQ ID NO: 2、4 或 5 中之胺基酸序列)具有足夠之一致性或源自 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之胺基酸序列的胺基酸序列之肽，其所包括之胺基酸少於全長 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽且展現 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之至少一種活性。通常，生物活性部分包含具有 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之至少一種活性的結構域或基元，該至少一種活性為例如調節(抑制)CD4 T 細胞對抗-CD3 之增殖反應、以抗原特異性方式抑制同源 CD4 T 細胞之增殖反應、對特定細胞激素表現之影響。KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之生物活性部分可為胺基酸序列 SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 或 24 之長度為例如 25 個、50 個、75 個、100 個、125 個、150 個、175 個、200 個、225 個或 225 個以上胺基酸的多肽。KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之生物活性部分可作為標靶用於研發可調節 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 介導之活性(例如免疫細胞活化)之藥劑。

KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之生物活性部分可包含至少一部分細胞外域。KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之生物活性部分可含有至少一部分細胞外域及一或多個以下結構域：信號肽域、跨膜域及細胞質域。此外，多肽之其他區缺失的其他生物活性部分可藉由重組

技術來製備且針對原生 KIR2DL1、KIR2DL2及 KIR2DL3 多肽之一或多種功能活性對其進行評估。

KIR2DL1、KIR2DL2及 KIR2DL3 多肽可具有展示於胺基酸序列 SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及 24 中之胺基酸序列。KIR2DL1、KIR2DL2及 KIR2DL3 多肽可與胺基酸序列 SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及 24 實質上一致，且保留胺基酸序列 SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及 24 之多肽的功能活性，而胺基酸序列因天然對偶基因變異或突變誘發而有所不同，如本文所述。

融合蛋白

包含 KIR2DL1、KIR2DL2及 KIR2DL3 多肽之融合體亦處於本發明範疇內。舉例而言，融合蛋白可與 GST 融合蛋白有關，其中 KIR2DL1、KIR2DL2及 KIR2DL3 多肽序列融合至 GST 序列之 C 端。該等融合蛋白可有助於純化重組 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽。或者，可使 KIR2DL1、KIR2DL2及 KIR2DL3 多肽與結合 B 細胞濾泡之蛋白質融合，從而引發體液免疫反應及 T 細胞活化。Berney 等人, (1999) *J. Exp. Med.* 190: 851-60。或者，舉例而言，KIR2DL1、KIR2DL2及 KIR2DL3 多肽可以基因方式與抗樹突狀細胞抗體偶合以將抗原傳遞至免疫系統且刺激細胞免疫反應。He 等人, (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:

1920-27。本發明之嵌合或融合蛋白可藉由標準重組DNA技術產生。舉例而言，根據習知技術，例如藉由使用用於接合之鈍端或交錯端端點、提供適當端點之限制酶消化、酌情填入黏性末端、避免不合需要之連接的鹼性磷酸酶處理及酶促接合將編碼不同多肽序列之DNA片段同框接合於一起。融合基因可藉由習知技術(包括自動DNA合成器)來合成。

融合蛋白可包括C端或N端易位序列。此外，融合蛋白可包含例如用於蛋白質偵測、純化或其他應用之其他元件。有助於偵測及純化之結構域包括(但不限於)金屬螯合肽，諸如聚組胺酸束、組胺酸-色胺酸模組或其他允許在固定金屬上純化的結構域；麥芽糖結合蛋白；蛋白質A結構域，其允許在固定之免疫球蛋白上純化；或用於FLAG延伸/親和純化系統(Sigma-Aldrich, St. Louis MO.)中之結構域。

融合蛋白可由本發明之蛋白質藉由與包含免疫球蛋白之恆定區的一部分免疫球蛋白融合來製備。更佳，免疫球蛋白之該部分包含視情況且更佳為人類重鏈恆定區之重鏈恆定區。重鏈恆定區最佳為IgG重鏈恆定區，且視情況且最佳為Fc鏈，最佳為包含CH₂及CH₃域之IgG Fc片段。雖然可視情況使用任何IgG亞型，但IgG1亞型較佳。Fc鏈可視情況為已知或「野生型」Fc鏈，或者可為突變Fc鏈。參見例如美國專利申請公開案第2006/0034852號。術語「Fc鏈」亦視情況包含任何類型之Fc片段。IgG子類中多種涉

及抗體恆定區介導之活性的特定胺基酸殘基已經鑑別。包括、取代或排除此等特定胺基酸從而會允許包括或排除特定免疫球蛋白恆定區介導之活性。此外，特定改變可引起Fc鏈之例如去糖基化及/或其他所需改變。可視情況作出至少某些改變以阻斷Fc之被視作不合需要之功能，諸如不合需要之免疫系統作用。參見McCafferty等人，(2002) **Antibody Engineering: A Practical Approach** (編) Oxford University Press。

● 在易位結構域(用於高效質膜表現)與新轉譯之多肽的其餘部分之間包括可裂解連接子序列，諸如因子Xa(參見例如Ottavi, (1998) **Biochimie** 80: 289-93)、枯草桿菌蛋白酶識別基元(參見例如Polyak (1997) **Protein Eng.** 10: 615-19)；腸激酶(Invitrogen, San Diego, CA.)可用於促成純化。舉例而言，一種構築體可包括編碼多肽之核酸序列，其連接至6個組胺酸殘基，繼而為硫氧還原蛋白、腸激酶裂解位點(參見例如Williams (1995) **Biochemistry** 34: 1787-97)及C端易位結構域。組胺酸殘基有助於偵測及純化，而腸激酶裂解位點提供自融合蛋白之其餘部分純化所需蛋白質的方式。關於編碼融合蛋白之載體的技術以及融合蛋白之應用充分描述於科學及專利文獻中。參見例如Kroll (1993) **DNA Cell. Biol.** 12: 441-53。

● 融合蛋白可為GST-KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3融合蛋白，其中KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列融合至GST序列之C端。該等融合蛋白可有助於純化重組

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3。在另一實施例中，融合蛋白為在N端含有異源信號序列之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽。在某些宿主細胞(例如哺乳動物宿主細胞)中，KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之表現及/或分泌可經由使用異源信號序列而得到增強。在一實施例中，融合蛋白為Ig-KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3融合蛋白，其中KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列融合至Ig分子之一部分。融合蛋白之Ig部分可包括免疫球蛋白恆定區，例如人類C γ 1域或C γ 4域(例如人類IgC γ 1或人類IgC γ 4之鉸鏈、CH2及CH3區)(參見例如美國專利第5,116,964號；第5,580,756號；第5,844,095號)。所得融合蛋白的KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3溶解度、結合親和力、穩定性及/或價數(亦即每個分子結合位點之數目)可有所改變且其可提高蛋白質純化之效率。

尤其較佳之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 Ig融合蛋白包括偶合至免疫球蛋白恆定區(例如Fc區)的KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之細胞外域。免疫球蛋白恆定區可含有減少或消除為免疫球蛋白結構所固有之效應活性的遺傳修飾。舉例而言，可將編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之細胞外部分的DNA連接至由定點突變誘發所修飾之編碼人類IgG γ 1及/或IgG γ 4之鉸鏈、CH2及CH3區的DNA，例如如WO 97/28267中所教示。可將本發明之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3融合蛋白併入醫藥組合物中且活體內投與個體。KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3融

合蛋白可用於影響KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物之生物可用率。KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3融合蛋白可治療性用於治療將受益於調節免疫反應之病狀或病症。此外，本發明之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3融合蛋白可用作免疫原以在個體體內產生抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體，可用於純化KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合蛋白，且可用於篩選分析中以鑑別抑制KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3與其天然結合搭配物相互作用的分子。

結合物

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽可結合至其他部分。該等結合物常用於製備疫苗。KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽可結合至碳水化合物(例如甘露糖、岩藻糖、葡萄糖、GlcNA、麥芽糖)，該碳水化合物可由樹突狀細胞及巨噬細胞上存在之甘露糖受體所識別。隨後之結合、聚集及受體介導之內飲及吞噬功能使得先天及應變性免疫得到增強。參見Mahnke等人, (2000) *J. Cell Biol.* 151: 673-84; Dong等人, (1999) *J. Immunol.* 163: 5427-34。其他適於結合以引起免疫反應之部分包括(但不限於)匙孔螺血氫蛋白(KLH)、白喉類毒素、霍亂類毒素、假單胞菌外蛋白A及微生物外膜蛋白(OMPS)。

多肽分離

本發明亦提供分離KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽(例如胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、

13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24)之方法。舉例而言，相關細胞株可自患有自體免疫或發炎病症之患者獲得。在均質化且於清潔劑中溶解之後，以層析方式對抗原進行純化。尺寸排阻或親和層析可用於此目的，且可連同抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體一起使用。舉例而言，可將抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體固定於固體支撐物(例如偶合至樹脂、磁性珠粒)上以進行簡單抗原吸附、洗滌且自固體支撐物溶離。接著針對抗原存在、表徵及鑑別進一步研究溶離之蛋白質。參見Walker (2002) **Protein Protocols Handbook** [第2版] Humana Press及Culture (2003)[編] **Protein Purification Protocols** Humana Press。

以此方式分離之抗原可用於使用習知醫藥賦形劑及載劑物質來製備藥物。舉例而言，活體內投與於生理NaCl溶液中之經純化抗原。

另外，本發明之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽在作為高通量篩選之一部分的活性鑑別中可用作抗原。高通量篩選法為熟習此項技術者所知。Wells (2002) **High Throughout Bioanalytical Sample Preparation** Elsevier Health Sciences。

編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之聚核苷酸

本發明亦提供編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之核苷酸。本發明亦提供編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、

21、22、23及24之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽的聚核苷酸。本發明亦提供本文所述之聚核苷酸序列之片段、可與本文所述之聚核苷酸序列雜交之序列以及與本文所述之聚核苷酸序列至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源之序列。

本發明亦提供包含至少一種KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列之編碼類似多肽之聚核苷酸，其使用不同密碼子，具有特徵在於天然存在或以隨機或靶向方式人工誘導之突變的改變之序列，諸如一或多個核苷酸缺失、插入或取代。本發明亦涵蓋同源核酸序列(例如，其形成本發明聚核苷酸序列之一部分)，其包括本發明聚核苷酸獨特之序列區域。

本發明亦涵蓋編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之同源物的核酸，該等同源物與本文所述之胺基酸序列具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致同源性，如可使用國家生物技術資訊中心(NCBI)之BlastP軟體使用預設參數所測定。本發明亦涵蓋上述聚核苷酸之片段以及具有天然存在或以隨機或靶向方式人工誘導之突變(諸如一或多個核苷酸缺失、插入或取代)的多肽。

核酸分子可編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3，或該

核酸分子之功能性片段。該核酸之「功能性片段」包括編碼該KIR2DL1、該KIR2DL2及該KIR2DL3之基因或cDNA片段，該片段能夠經表現而產生能夠引起免疫反應(例如選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體)的KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3。因此，舉例而言，對應於促進抗原之免疫原性之胺基酸殘基的本發明之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之片段且該等片段可用以充當抗原以引起免疫反應(例如體液或細胞免疫反應)。本發明之此態樣亦包括本發明核酸之經差異剪接之同功異型物及轉錄起點。本發明之核酸分子亦包含上文所述之編碼本發明之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3的核酸分子之片段、衍生物及對偶基因變異體。製備編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之片段之核酸的方法及材料在此項技術中為熟知的。參見例如Maniatis等人，(2001) **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** [第3版] Cold Spring Harbor Laboratory Press。

涵蓋編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸之全部或一部分的核酸分子或直系同源物或變異體可藉由聚合酶鏈反應(PCR)使用基於編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸的序列所設計之合成寡核苷酸引子而分離。

本發明之核酸分子可使用cDNA、mRNA，或者使用基因

組DNA作為模板且使用適當寡核苷酸引子根據標準PCR擴增技術來擴增。可將由此擴增之核酸分子選殖至適當載體中且由DNA序列分析表徵。此外，對應於KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核苷酸序列之寡核苷酸可藉由標準合成技術，例如使用自動DNA合成器來製備。

在一實施例中，本發明之分離之編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之核酸分子包含展示於SEQ ID NO: 1或3中之核苷酸序列或其片段。在另一實施例中，本發明之核酸分子包含為展示於SEQ ID NO: 1或3中之核苷酸序列或此等任何核苷酸序列之一部分之互補序列的核酸分子。與編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸互補的核酸分子為如下核酸分子，其與編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸的核苷酸序列足夠互補以使其可與分別編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸的核苷酸序列雜交，從而形成穩定雙螺旋體。

在另一實施例中，本發明之分離之核酸分子包含與編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之完全長度之聚核苷酸至少約70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%

一致的核苷酸序列，或此等任何核苷酸序列之一部分。

此外，本發明之核酸分子可僅包含編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸的一部分，例如可用作探針或引子之片段或編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之一部分，例如KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之生物活性部分的片段。由選殖人類PD-L2基因所測定之核苷酸序列允許產生設計用於鑑別及/或選殖其他PD-L2家族成員以及其他物種之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3同源物的探針及引子。探針/引子通常包含實質上純化之寡核苷酸。該寡核苷酸通常包含在嚴格條件下與有義序列SEQ ID NO: 1或3之至少約12或15個，較佳約20或25個，更佳約30、35、40、45、50、55、60、65或75個連續核苷酸雜交之核苷酸序列的區域；編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸或編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸之天然存在之對偶基因變異體或突變體的反義序列的區域。

在一個實施例中，本發明之核酸分子包含長度大於約50-100個、100-150個、150-200個、200-250個、250-300個、300-350個、350-400個、400-450個、450-500個、500-550個、550-600個、600-650個、650-700個、700-750個、750-800個、800-850個、850-900個、900-950個或950

個以上核苷酸且在嚴格雜交條件下與編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸或其互補序列雜交的核苷酸序列。在另一實施例中，本發明之核酸分子包含長度大於約880-900個、900-950個、950-1000個、1000-1050個、1050-1100個、1100-1150個或1150個以上核苷酸且在嚴格雜交條件下與編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸或其互補序列雜交的核苷酸序列。在另一實施例中，本發明之核酸分子包含長度大於50-100個、100-150個、150-200個、200-250個、250-300個或300個以上核苷酸且在嚴格雜交條件下與包含編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸之編碼區之核酸分子或其互補序列雜交的核苷酸序列。在另一實施例中，本發明之核酸分子包含如下核苷酸序列，該核苷酸序列的長度大於約50-100個、100-150個、150-200個、200-250個、250-300個、300-350個、350-400個、400-450個、450-500個、500-550個、550-600個、600-650個、650-700個、700-750個、750-800個、850-900個、900-950或950個以上核苷酸，包括包含編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸之編碼區之序列或其互補序列的至少約15個(亦即15個連續)核苷酸，

且在嚴格條件下與包含編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸的核酸分子或其互補序列雜交。

基於KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核苷酸序列之探針可用於偵測編碼相同或同源多肽之轉錄物或基因組序列。在實施例中，探針進一步包含與其連接之標記基團，例如標記基團可為放射性同位素、螢光化合物、酶或酶輔因子。該等探針可作為診斷性測試套組之一部分用於諸如藉由量測來自個體之細胞樣品中編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之核酸的含量，例如偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA含量或確定基因組KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3基因是否已突變抑或缺失來鑑別誤表現(misexpress)KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之細胞或組織。

除編碼胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23及24之聚核苷酸的KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核苷酸序列之外，熟習此項技術者應瞭解，在群體(例如人類群體)內可能存在DNA序列多形現象而使得KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之胺基酸序列發生改變。在群體內個體間可能因天然對偶基因變異而存在KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3基因之該遺傳多形現象。如本文所用之術語「基因」及「重組基因」指包括編碼KIR2DL1、KIR2DL2及

KIR2DL3 多肽，較佳哺乳動物 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之開放閱讀框架且可進一步包括非編碼調節序列及內含子的核酸分子。

人類或小鼠 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 之對偶基因變異體包括功能性及非功能性 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽。功能性對偶基因變異體為人類或小鼠 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之天然存在胺基酸序列變異體，其保持結合天然 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 結合搭配物及/或調節 CD4+ 及 CD8+ T 細胞增殖及細胞激素產生以及淋巴球活化的能力。功能性對偶基因變異體通常僅含有胺基酸序列 SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 及 24 中一或多個胺基酸之保守性取代，或多肽之非關鍵區中之非關鍵殘基的取代、缺失或插入。

非功能性對偶基因變異體為人類或小鼠 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之天然存在胺基酸序列變異體，其不能夠結合天然 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 結合搭配物及/或調節本文所述之 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 活性中之任一者。非功能性對偶基因變異體通常含有胺基酸序列 SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 及 24 之非保守性取代、缺失或插入或提前截短，或多肽之關鍵殘基或關鍵區之取代、插入或缺失。

本發明進一步提供人類或小鼠 KIR2DL1、KIR2DL2 及

KIR2DL3 多肽之非人類、非小鼠直系同源物。人類 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之直系同源物為自非人類、非小鼠生物體分離且與本文所揭示之人類及鼠類 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽具有相同之結合活性及/或淋巴球活化調節活性以及調節CD4+及CD8+ T細胞增殖及細胞激素產生之能力的多肽。

可分析突變型KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽結合天然KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物及/或調節天然KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物之活性、調節細胞內或細胞間信號傳導、調節T淋巴球活化及/或調節生物體之免疫反應的能力。

分離之核酸分子編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3或KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3融合蛋白。包含至少一種編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3或KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3蛋白質、多肽或肽之第一核苷酸序列可操作地連接至編碼非KIR2DL1、非KIR2DL2及非KIR2DL3蛋白質、多肽或肽之第二核苷酸序列的該等核酸分子可藉由標準重組DNA技術製備。

此外，一致性廣泛地指相關核酸分子或由其編碼之蛋白質之間存在功能性及/或結構等效性。與上文所述之分子同源且構成此等分子之衍生物的核酸分子一般為此等分子之變異體，其構成修飾物且發揮相同生物功能。同時，變異體可天然存在，例如其可為來自其他物種之序列，或其可為突變體，其中此等突變體可能以天然方式存在，或藉

由目標性突變誘發而引入。變異體亦可為以合成方式製備之序列。對偶基因變異體可為天然存在之變異體且亦可為以合成方式製備之變異體或由重組DNA技術產生之變異體。因遺傳密碼簡併而與本發明核酸分子不同之核酸分子構成特殊形式之衍生物。

在本發明範疇內亦包括任何編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之胺基酸序列的核苷酸序列。由於遺傳密碼簡併，一個以上密碼子可用於編碼特定胺基酸。使用遺傳密碼，可鑑別一或多個不同核苷酸，其各自應能夠編碼胺基酸。特定核苷酸實際上構成實際密碼子編碼序列之機率可藉由考慮異常鹼基配對關係及在表現KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之真核或原核細胞中實際上使用特定密碼子(用於編碼特定胺基酸)的頻率來估算。該等「密碼子使用規則」係由Lathe等人，(1985) *J. Molec. Biol.* 183: 1-12揭示。

經修飾之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3聚核苷酸

本發明之核苷酸可為經修飾之聚核苷酸。未經修飾之核苷酸在某些應用中常並非最佳，例如傾向於由細胞核酸酶降解。對寡核苷酸之一或多個次單位進行化學修飾可賦予改良之特性，例如可使得聚核苷酸之核酸酶穩定性較大。典型寡核苷酸修飾在此項技術中為熟知的且可包括以下一或多者：(i)一或兩個非鍵聯磷酸酯氧及/或磷酸二酯糖間鍵聯中一或多個鍵聯磷酸酯氧之改變，例如置換；(ii)核糖之組分的改變，例如置換，例如核糖上之2'羥基的修飾

或置換；(iii)磷酸酯部分全部置換；(iv)天然存在之鹼基經非天然鹼基修飾或置換；(v)核糖-磷酸酯主鏈例如經肽核酸(PNA)置換或修飾；(vi)寡核苷酸之3'端或5'端之修飾；及(vii)糖之修飾，例如六員環。根據本發明使用之聚核苷酸可藉由此項技術中熟知之多種方式合成，或購自多種商業供應商(LC Sciences, Houston, TX；Promega, Madison, WI；Invitrogen, Carlsbad, CA)。

反義序列

除上文所述之編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之核酸分子之外，本發明之另一態樣關於為其反義序列的分離之核酸分子。「反義」核酸包含與編碼多肽之「有義」核酸互補，例如與雙股cDNA分子之編碼股互補或與mRNA序列互補的核苷酸序列。因此，反義核酸可以氫鍵鍵結至有義核酸。反義核酸可與整個KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3編碼股互補，或僅與其一部分互補。在一個實施例中，反義核酸分子為編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之核苷酸序列之編碼股之「編碼區」的反義序列。術語「編碼區」係指核苷酸序列中包含可轉譯成胺基酸殘基之密碼子的區域。在另一實施例中，反義核酸分子為編碼PD-L之核苷酸序列之編碼股之「非編碼區」的反義序列。術語「非編碼區」係指側接編碼區之不轉譯成胺基酸之5'及3'序列(亦稱為5'及3'非轉譯區)。在編碼本文所揭示之人類或小鼠KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3的編碼股序列之情況下，可根據沃森-可瑞克鹼基配對規則來設計

本發明之反義核酸。反義核酸分子可與 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA之整個編碼區互補，但更佳為僅為KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA之一部分編碼區或非編碼區之反義序列的寡核苷酸。舉例而言，反義寡核苷酸可與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3或KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA之轉譯起始位點附近之區域互補。反義寡核苷酸之長度可為例如約5個、10個、15個、20個、25個、30個、35個、40個、45個或50個核苷酸。本發明之反義核酸分子可使用化學合成及酶促接合反應，使用此項技術中已知之程序來建構。舉例而言，反義核酸分子(例如反義寡核苷酸)可使用天然存在之核苷酸或經設計以增強分子之生物穩定性或增強反義核酸與有義核酸之間形成的雙螺旋體之物理穩定性的經不同修飾之核苷酸來化學合成，例如可使用硫代磷酸酯衍生物及吡啶取代之核苷酸。可用於產生反義核酸之經修飾核苷酸的實例包括5-氟尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-氯尿嘧啶、5-碘尿嘧啶、次黃嘌呤、黃嘌呤、4-乙酰胞嘧啶、5-(羧基羥甲基)尿嘧啶、5-羧甲基氨基甲基-2-硫尿苷、5-羧甲基氨基甲基尿嘧啶、二氫尿嘧啶、 β -D-半乳糖苷基Q核苷、肌苷、N6-異戊烯基腺嘌呤、1-甲基鳥嘌呤、1-甲基肌苷、2,2-二甲基鳥嘌呤、2-甲基腺嘌呤、2-甲基鳥嘌呤、3-甲基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、N6-腺嘌呤、7-甲基鳥嘌呤、5-甲氨基甲基尿嘧啶、5-甲氧基氨基甲基-2-硫尿嘧啶、 β -D-甘露糖基Q核苷、5'-甲氧基羧甲基尿嘧啶、5-甲氧基尿嘧啶、2-甲硫基-

N6-異戊烯基腺嘌呤、尿嘧啶-5-氧基乙酸(v)、氧丁氧苷(oxybutoxosine)、假尿嘧啶、Q核苷、2-硫胞嘧啶、5-甲基-2-硫尿嘧啶、2-硫尿嘧啶、4-硫尿嘧啶、5-甲基尿嘧啶、尿嘧啶-5-氧基乙酸甲酯、尿嘧啶-5-氧基乙酸(v)、5-甲基-2-硫尿嘧啶、3-(3-胺基-3-N-2-羧丙基)尿嘧啶、(acp3)w及2,6-二胺基嘌呤。或者，反義核酸可使用當中以反義定向(亦即，自插入之核酸轉錄之RNA將具有以下子部分中所進一步描述之相關目標核酸之反義定向)次選殖有核酸的表現載體來以生物方式產生。

本發明之反義核酸分子通常投與個體或就地產生以使其與編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之細胞mRNA及/或基因組DNA雜交或結合，從而例如藉由抑制轉錄及/或轉譯來抑制多肽表現。雜交可藉由習知核苷酸互補性以形成穩定雙螺旋體，或例如在結合至DNA雙螺旋體之反義核酸分子的狀況下，經由雙螺旋之大溝(major groove)中的特定相互作用來達成。本發明之反義核酸分子之投藥途徑的實例包括直接注射於組織部位處。或者，反義核酸分子可經修飾以靶向所選細胞且接著全身投與。舉例而言，對於全身投與，可例如藉由將反義核酸分子連接至可結合至細胞表面受體或抗原之肽或抗體來修飾反義分子以使其特异性結合至所選細胞表面上表現之受體或抗原。亦可使用本文所述之載體將反義核酸分子傳遞至細胞。為達成足夠之反義分子細胞內濃度，在強pol II或pol III啟動子控制下置放有反義核酸分子的載體構築體為較佳的。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3反義核酸分子可為 α -變旋異構核酸分子。 α -變旋異構核酸分子與互補RNA形成特定雙股雜交物，其中與常見 β -單位相反，各股彼此平行。Gaultier等人，(1987) *Nucleic Acids Res.* 15: 6625-6641。反義核酸分子亦可包含2'-O-甲基核糖核苷酸(Inoue等人，(1987) *Nucleic Acids Res.* 15: 6131-6148)或嵌合RNA-DNA類似物(Inoue等人，(1987) *FEBS Lett.* 215: 327-330)。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3反義核酸可為核糖核酸酶。核糖核酸酶為具有核糖核酸酶活性之能夠裂解與其具有互補區之單股核酸(諸如mRNA)的催化性RNA分子。因此，核糖核酸酶(例如錘頭型核糖核酸酶(描述於Haseloff及Gerlach (1988) *Nature* 334:585-591中))可用於催化裂解KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA轉錄物，從而抑制KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA轉譯。對編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之核酸具有特異性之核糖核酸酶可基於本文揭示之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 cDNA之核苷酸序列來設計。舉例而言，可建構眼原蟲屬(*Tetrahymena*)L-19 IVS RNA之衍生物，其中活性位點之核苷酸序列與編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之mRNA中欲裂解之核苷酸序列互補。參見例如美國專利第4,987,071號及美國專利第5,116,742號。或者，KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA可用於自RNA分子池中選擇具有特異性核糖核酸酶活性之催化性RNA。參見例如Bartel及Szostak (1993) *Science* 261:1411-1418。

或者，KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3基因表現可藉由靶向與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之調節區(例如KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3啟動子及/或強化子)互補的核苷酸序列，以形成參螺旋結構，從而防止KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3基因在標靶細胞中轉錄來抑制。一般參見Helene (1991) *Anticancer Drug Des.* 6(6):569-84；Helene等人，(1992) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 660:27-36；及Maher, L. J. (1992) *Bioessays* 14(12):807-15。

肽核酸

在另一實施例中，本發明之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核酸分子可在鹼基部分、糖部分或磷酸酯主鏈上得到修飾以改良例如分子之穩定性、雜交性或溶解度。舉例而言，核酸分子之磷酸去氧核糖主鏈可經修飾以產生肽核酸。參見Hyrup及Nielsen (1996) *Bioorg. Med. Chem.* 4(1): 5-23。如本文所用之術語「肽核酸」或「PNA」指核酸模擬物，例如DNA模擬物，其中磷酸去氧核糖主鏈經假肽主鏈置換且僅保留四個天然核鹼基。PNA之中性主鏈已經展示可允許DNA與RNA在低離子濃度之條件下特異性雜交。可使用標準固相肽合成方案合成PNA寡聚物，如Hyrup及Nielsen (1996)(同上)以及Perry-O'Keefe等人，(1996) *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 93:14670-675中所述。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核酸分子之PNA可用於治療性及診斷性應用。舉例而言，PNA可用作反義或反基因(antigene)藥劑以藉由例如誘導轉錄或轉譯停滯或抑制複

製來對基因表現進行序列特異性調節。KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核酸分子之PNA亦可用於分析基因中之單鹼基對突變(例如藉由PNA導引之PCR鎖止技術(PCR clamping)); 在與其他酶(例如S1核酸酶(Hyrup及Nielsen (1996)(同上)))組合使用時用作『人工限制酶』; 或用作DNA定序或雜交之探針或引子(Hyrup及Nielsen (1996)(同上)); Perry-O'Keefe等人(1996)(同上)。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之PNA可藉由將親脂性或其他輔助基團連接至PNA、藉由形成PNA-DNA嵌合體或藉由使用脂質體或此項技術中已知之其他藥物傳遞技術來修飾(例如以增強其穩定性或細胞吸收)。舉例而言，KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核酸分子之PNA-DNA嵌合體可經產生而可組合PNA及DNA之有利特性。該等嵌合體允許DNA識別酶(例如RNAse H及DNA聚合酶)與DNA部分相互作用，同時PNA部分提供高結合親和力及特異性。PNA-DNA嵌合體可使用根據鹼基堆積、核鹼基之間鍵的數目及定向所選之適當長度之連接子來連接(Hyrup及Nielsen (1996)(同上))。可如Hyrup及Nielsen (1996)(同上)以及Finn P. J.等人(1996) *Nucleic Acids Res.* 24 (17):3357-63中所述合成PNA-DNA嵌合體。舉例而言，DNA鏈可在固體支撐物上，使用標準胺基磷酸酯偶合化學法及經修飾之核苷類似物來合成，例如5'-(4-甲氧基三苯甲基)胺基-5'-去氧-胸苷胺基磷酸酯可用作PNA與DNA之5'端之間的橋(Mag, M.等人(1989) *Nucleic Acids Res.* 17:5973-88)。接

著以逐步方式偶合PNA單體，產生具有5' PNA段及3' DNA段之嵌合分子(Finn P. J.等人(1996)(同上))。或者，嵌合分子可經合成而具有5' DNA段及3' PNA段(Peterser等人，(1975) **Bioorganic Med. Chem. Lett.** 5:1119-11124)。

寡核苷酸

寡核苷酸可包括其他附加之基團，諸如肽(例如用於活體內靶向宿主細胞受體)或促成跨細胞膜(參見例如 Letsinger等人(1989) **Proc Natl. Acad. Sci. USA** 86:6553-6556；Lemaitre等人(1987) **Proc Natl. Acad. Sci. USA** 84:648-652；PCT公開案第WO 88/09810號)或血腦障壁(參見例如PCT公開案第WO 89/10134號)轉運之藥劑。另外，寡核苷酸可用雜交引發之裂解劑(參見例如Krol等人(1988) **Biotechniques** 6:958-976)或嵌入劑(參見例如Zon (1988) **Pharm. Res.** 5:539-549)修飾。為此目的，寡核苷酸可結合至另一分子(例如肽、雜交引發之交聯劑、轉運劑或雜交引發之裂解劑)。

表現

本發明之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之分離及表現可藉由公認選殖程序，使用基於本申請案中所揭示之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核酸序列所建構之探針或引子來達成。相關KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列亦可自人類或其他物種基因組資料庫中使用本文揭示之序列及已知之基於電腦之搜尋技術(例如BLAST序列搜尋)來鑑別。本文揭示之假基因可用於鑑別功能性對偶基因或相關

基因。

接著可使用表現載體來感染或轉染宿主細胞以使此等序列進行功能性表現。可製備此等基因及載體且使其活體外或活體內表現。熟習此項技術者應瞭解，改變及控制核酸表現所需之表型可藉由調節本發明載體內基因及核酸(例如啟動子、強化子)之表現或活性來獲得。可使用所述之任何用於增加或降低表現或活性之已知方法。

在另一實施例中，重組哺乳動物表現載體能夠導引核酸優先表現於特定細胞類型中(例如使用組織特異性調節元件來使核酸表現)。組織特異性調節元件在此項技術中為已知的。適合之組織特異性啟動子之非限制性實例包括白蛋白啟動子(肝特異性；Pinkert等人(1987) *Genes Dev.* 1:268-277)、淋巴特異性啟動子(Calame及Eaton (1988) *Adv. Immunol.* 43:235-275)、特定T細胞受體啟動子(Winoto及Baltimore (1989) *EMBO J.* 8:729-733)及特定免疫球蛋白啟動子(Banerji等人(1983) *Cell* 33:729-740；Queen及Baltimore (1983) *Cell* 33:741-748)、神經元特異性啟動子(例如神經絲啟動子；Byrne及Ruddle (1989) *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 86:5473-5477)、胰臟特異性啟動子(Edlund等人(1985) *Science* 230:912-916)，及乳腺特異性啟動子(例如乳清啟動子；美國專利第4,873,316號及歐洲申請公開案第264,166號)。發育調節啟動子亦例如由鼠類hox啟動子(Kessel及Gruss (1990) *Science* 249:374-379)及 α -胎蛋白啟動子(Campes及Tilghman (1989) *Genes Dev.* 3:

537-546)所涵蓋。

本文所提供之聚核苷酸序列可根據此項技術中已知之任何寡核苷酸合成法(諸如酶促合成或固相合成)來產生。進行固相合成之設備及試劑可自例如 Applied Biosystems 購得。亦可使用用於該合成之任何其他方式；聚核苷酸之實際合成完全處於熟習此項技術者的能力範圍之內。參見例如 Maniatis 等人, (2001) **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** [第3版] Cold Spring Harbor Laboratory Press； Swamy (2008) **Laboratory Manual on Biotechnology** Rastogi Publications； Herdewijn (2005)[編] **Methods in Molecular Biology: Oligonucleotide Synthesis: Methods and Applications**, 第 288 卷, Humana Press； 及 Rapley (2000)[編] **The Nucleic Acid Protocols Handbook** Humana Press。接著可藉由合成互補股且在適當條件下將各股黏接於一起，或藉由使用 DNA 聚合酶及適當引子序列添加互補股來獲得雙股 DNA 片段。

用於操作核酸，諸如在序列中產生突變、次選殖、標記探針、定序、雜交之技術充分描述於科學及專利文獻中。參見例如 Sambrook 等人, (2001)(編) **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** (第3版) Cold Spring Harbor Laboratory； Ausubel 等人, (2011)編, **Current Protocols in Molecular Biology**, John Wiley & Sons, Inc., New York； Tijssen (1993)[編] **Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology: Hybridization With Nucleic Acid**

Probes, Part I, Theory and Nucleic Acid Preparation, Elsevier, NY。

雜交及雜交強度(例如聚核苷酸間締合之強度)受此項技術中熟知之多種因素影響，包括聚核苷酸之間的互補度，及所涉及之條件的嚴格度，其受諸如以下之條件影響：鹽濃度、其他組分之存在(例如聚乙二醇存在或不存在)、雜交股之莫耳濃度及聚核苷酸股之G+C含量，所有該等條件皆產生所形成雜交物的特徵性熔融溫度(T_m)。核酸雜交之技術由以下參考文獻所揭示：Sambrook等人，(2001)(編) **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** [第3版] Cold Spring Harbor Laboratory；及 Hayrnes 等人，(1985) **Nucleic Acid Hybridization, a Practical Approach** (IRL Press, DC)。雜交洗滌條件可包括 $0.2\times\text{SSC}/0.1\%$ SDS之洗滌溶液及在室溫下在旋轉下培育10分鐘(低嚴格度洗滌)；預先升溫(42°C)之 $0.2\times\text{SSC}/0.1\%$ SDS之洗滌溶液及在 42°C 下在旋轉下培育15分鐘(中等嚴格度洗滌)；及預先升溫(68°C)之 $0.1\times\text{SSC}/0.1\%$ SDS之洗滌溶液及在 68°C 下在旋轉下培育15分鐘(高嚴格度洗滌)。參見 Ausubel 等人，(2011)[編] **Current Protocols in Molecular Biology** John Wiley & Sons, Inc。

可使用寡核苷酸引子來擴增編碼 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 之核酸。亦可使用擴增技術定量地選殖或量測本文所述之核酸。擴增方法在此項技術中亦為熟知的，且包括例如聚合酶鏈反應(PCR)(Innis (1990)[編] PCR

Protocols, a Guide to Methods and Applications, Academic Press, NY. ; Innis (1995)[編] **PCR Strategies**, Academic Press, Inc., NY.) ; 連接酶鏈反應 (LCR)(Wu (1989) **Genomics** 4: 560 ; Landegren (1988) **Science** 241: 1077 ; Barringer (1990) **Gene** 89: 117) ; 轉錄擴增 (Kwoh (1989) **PNAS** 86: 1173) ; 自我持續序列複製 (Guatelli (1990) **PNAS** 87: 1874) ; Q β 複製酶擴增 (Smith (1997) **J. Clin. Microbiol.** 35: 1477-91) ; 自動Q- β 複製酶擴增分析 (Burg (1996) **Mol. Cell. Probes** 10: 257-71) ; 及其他RNA聚合酶介導之技術(例如NASBA, Cangene, Mississauga, Ontario) 。亦參見 Berger (1987) **Methods Enzymol.** 152: 307-16 ; Sambrook等人, (2001)(編) **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** (第3版) Cold Spring Harbor Laboratory ; Ausubel等人, (2011)[編] **Current Protocols in Molecular Biology**, John Wiley & Sons, Inc., New York ; Maniatis等人, (2001) **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** [第3版] Cold Spring Harbor Laboratory Press ; 美國專利第4,683,195號及第4,683,202號 ; Sooknanan (1995) **Biotechnology** 13: 563-64 。

設計簡併引子對之模式在此項技術中為熟知的。舉例而言，共同-簡併雜交寡核苷酸引子 (CONsensus-DEgenerate Hybrid Oligonucleotide Primer, CODEHOP) 策略電腦程式為易得的且由BlockMaker多序列比對位點直接連接以自一組相關蛋白質序列(諸如本文提供之KIR2DL1、KIR2DL2

及KIR2DL3序列)開始進行雜交引子預測。參見例如Rose (1998) *Nucleic Acids Res.* 26: 1628-35 ; Singh (1998) *Biotechniques* 24: 318-19。

可使用上文所述之核酸探針分離與本文所揭示之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3實質上一致的多形變異體、對偶基因及種間同源物。或者，可使用表現庫以藉由用針對KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3產生且亦識別並選擇性結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3同源物之抗血清或純化抗體以免疫方式偵測所表現之同源物來選殖KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3以及其多形變異體、對偶基因及種間同源物。

編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之核酸可藉由使用適當(完整或簡併)引子對擴增(例如PCR)適當核酸序列來產生。所擴增之核酸可為來自任何細胞或組織之基因組DNA或源自表現KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之細胞的mRNA或cDNA。在宿主細胞中表現異源序列之方法在此項技術中為熟知的。參見例如 Maniatis 等人, (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* [第3版] Cold Spring Harbor Laboratory Press。

包含KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之融合蛋白

可建構包含編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之核酸融合至易位序列的雜交蛋白編碼序列。亦提供包含基元及抗原區之雜交KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3。此等核酸序列可操作地連接至轉錄或轉譯控制元件，例如轉錄及轉

譯起始序列、啟動子及強化子、轉錄及轉譯終止子、聚腺苷酸化序列及其他適用於使DNA轉錄成RNA之序列。在建構重組表現卡匣、載體及轉殖基因時，可使用啟動子片段來導引所需核酸在所有所需細胞或組織中表現。

融合蛋白可包含C端或N端易位序列。此外，融合蛋白可包含例如用於蛋白質偵測、純化或其他應用之其他元件。有助於偵測及純化之結構域包括例如金屬螯合肽，諸如聚組胺酸束、組胺酸-色胺酸模組或其他允許在固定金屬上純化的結構域；麥芽糖結合蛋白；蛋白質A結構域，其允許在固定之免疫球蛋白上純化；或用於FLAGS延伸/親和純化系統(Sigma-Aldrich)中之結構域。

在易位結構域(用於高效質膜表現)與新轉譯之多肽的其餘部分之間包括可裂解連接子序列，諸如因子Xa(參見例如 Ottavi, (1998) *Biochimie* 80: 289-93)、枯草桿菌蛋白酶識別基元(參見例如 Polyak (1997) *Protein Eng.* 10: 615-19)；腸激酶(Invitrogen, San Diego, CA.)可用於促成純化。舉例而言，一種構築體可包括編碼多肽之核酸序列，其連接至6個組胺酸殘基，繼而為硫氧還原蛋白、腸激酶裂解位點(參見例如 Williams (1995) *Biochemistry* 34: 1787-97)及C端易位結構域。組胺酸殘基有助於偵測及純化，而腸激酶裂解位點提供自融合蛋白之其餘部分純化所需蛋白質的方式。關於編碼融合蛋白之載體的技術以及融合蛋白之應用充分描述於科學及專利文獻中。參見例如 Kroll (1993) *DNA Cell. Biol.* 12: 441-53。

重組表現 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽以及抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及抗-KIR2DL3 抗體的系統

可藉由科學及專利文獻中充分描述之多種習知技術將包含配體結合區編碼序列之表現載體(呈個別表現載體形式或呈表現載體庫形式)引入基因組中或引入細胞質或細胞核中且使其表現。參見例如 Sambrook 等人, (2001)[編] **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** (第3版) Cold Spring Harbor Laboratory; Ausubel 等人, (2011)[編] **Current Protocols in Molecular Biology** John Wiley & Sons, Inc。

核酸可在可穩定或短暫表現於細胞中之表現卡匣、載體或病毒(例如游離型表現系統)中表現。可將選擇標記併入表現卡匣及載體中以賦予轉型之細胞及序列以可選表型。舉例而言, 選擇標記可編碼用於游離型維持及複製, 從而不需要整合至宿主基因組中。舉例而言, 標記可編碼抗生素抗性(例如氯黴素(chloramphenicol)、卡那黴素(kanamycin)、G418、博萊黴素(bleomycin)、潮黴素(hygromycin))或除草劑抗性(例如氯磺隆(chlorosulfurone)或巴斯特(Basta))以允許選擇彼等經所需 DNA 序列轉型之細胞。參見例如 Ausubel 等人, (2011)[編] **Current Protocols in Molecular Biology** John Wiley & Sons, Inc.; 以及 Walker 及 Papley (2009) **Molecular Biology and Biotechnology** [第5版] Royal Society of Chemistry。由於賦予對基質(如新黴素(neomycin)或潮黴素)之抗性的可選標記基因僅可用於組織培養物中, 所以亦在活體外及活體內使用化學抗性基因作

為可選標記。

為了可實現本發明聚核苷酸之細胞表現，可使用本發明之核酸構築體，其至少包括上述核酸序列之一的編碼區且進一步包括至少一個順式作用調節元件。較佳的是，由本發明之核酸構築體利用之啟動子在轉型之特定細胞群體中具有活性。細胞類型特異性及/或組織特異性啟動子之實例在此項技術中為熟知的。參見Bernardi (2003)[編] Gene Transfer and Expression in Mammalian Cells, 第38卷Elsevier Science B.V。本發明之核酸構築體可進一步包括強化子，其可鄰近或遠離啟動子序列且可發揮上調自啟動子序列轉錄之程度的功能。

本發明之核酸構築體較佳進一步包括適當之可選標記及/或複製起點。較佳，所用之核酸構築體為轉運載體(shuttle vector)，其可在大腸桿菌中繁殖(其中構築體包含適當之可選標記及複製起點)且對於在細胞中繁殖或整合於所選基因及組織中而言為相容的。本發明之構築體可為例如質體、穿梭載體、噬菌粒、黏質體、噬菌體、病毒或人工染色體。

適合構築體之實例包括(但不限於)pcDNA3、pcDNA3.1(+/-)、pGL3、PzeoSV2(+/-)、pDisplay、pEF/myc/cyto、pCMV/myc/cyto，其各自可購自Invitrogen Co.(Carlsbad, CA)。反轉錄病毒載體及封裝系統之實例為由Clontech(San Diego, CA.)出售者，包括Retro-X載體pLNCX及pLXSN，其允許選殖至多個選殖位點中且轉殖基

因自 CMV 啟動子轉錄。亦包括源自 Mo-MuLV 之載體，諸如 pBabe，其中轉殖基因將自 5' LTR 啟動子轉錄。

本發明之重組表現載體包含呈適於核酸在宿主細胞中表現之形式的本發明核酸，此意謂重組表現載體包括一或多個調節序列，其基於用於表現之宿主細胞來選擇且可操作地連接至欲表現之核酸序列。在重組表現載體內，「可操作地連接」意欲意謂相關核苷酸序列以一定方式連接至調節序列以允許核苷酸序列表現(例如，在活體外轉錄/轉譯系統中或當將載體引入宿主細胞中時在宿主細胞中)。

術語「調節序列」意欲包括啟動子、強化子及其他表現控制元件(例如聚腺苷酸化信號)。該等調節序列描述於例如 Goeddel (1990) **Gene Expression Technology: Methods in Enzymology** 185, Academic Press, San Diego, CA 中。調節序列包括導引核苷酸序列在多種類型之宿主細胞中進行組成性表現的調節序列以及導引核苷酸序列僅在某些宿主細胞中表現的調節序列(例如組織特異性調節序列)。熟習此項技術者應瞭解，表現載體之設計可視諸如待轉型宿主細胞之選擇、所需蛋白質之表現量之因素而定。本發明之表現載體可引入宿主細胞中，從而產生由如本文所述之核酸所編碼的蛋白質或肽，包括融合蛋白或肽。

本發明之重組表現載體可經設計以在原核或真核細胞中產生變異蛋白質。舉例而言，本發明之蛋白質可在細菌細胞(諸如大腸桿菌)、昆蟲細胞(例如使用桿狀病毒表現載體)、酵母細胞或哺乳動物細胞中表現。適合之宿主細胞

進一步論述於 Goeddel (1990) **Gene Expression Technology: Methods in Enzymology** 185, Academic Press, San Diego, CA 中。或者，重組表現載體可在活體外例如使用 T7 啟動子調節序列及 T7 聚合酶來轉錄及轉譯。

最常在大腸桿菌中用含有導引融合蛋白或非融合蛋白表現之組成性或誘導性啟動子之載體使蛋白質在原核生物中表現。融合載體將多種胺基酸添加至其中所編碼之蛋白質中，添加至重組蛋白之胺基端或 C 端。該等融合載體通常用於以下三個目的：(i) 提高重組蛋白表現；(ii) 增加重組蛋白之溶解度；及 (iii) 藉由在親和純化中充當配體而有助於純化重組蛋白。通常，在融合表現載體中，可在融合部分與重組蛋白之接合點處引入蛋白水解裂解位點以在純化融合蛋白之後能夠自融合部分分離重組蛋白。該等酶及其同源識別序列包括因子 Xa、凝血酶、PreScission、TEV 及腸激酶。典型融合表現載體包括 pGEX (Pharmacia Biotech Inc；Smith 及 Johnson (1988) **Gene** 67: 31-40)、pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA.) 及 pRIT5 (Pharmacia, Piscataway, N.J.)，其分別使麩胱甘肽 S-轉移酶 (GST)、麥芽糖 E 結合蛋白或蛋白質 A 融合至目標重組蛋白。

重組哺乳動物表現載體能夠導引核酸表現於特定細胞類型中 (例如使用組織特異性調節元件來使核酸表現)。組織特異性調節元件在此項技術中為已知的。為高效產生蛋白質，較佳在針對在所需宿主中表現而最佳化之表現控制序列的控制下置放編碼本發明蛋白質之核苷酸序列。舉例而

言，該等序列可包括最佳化之轉錄及/或轉譯調節序列(例如改變之Kozak序列)。

一種最大化重組蛋白在大腸桿菌中之表現的策略為使蛋白質在蛋白水解裂解重組蛋白之能力受損之宿主細菌中表現。參見例如Gottesman (1990) **Gene Expression Technology: Methods in Enzymology** Academic Press, San Diego, CA. 185: 119-128。另一策略為改變欲插入表現載體中之核酸之核酸序列以使得各胺基酸之個別密碼子為大腸桿菌中優先使用之密碼子。參見例如Wada等人, (1992) **Nucl. Acids Res.** 20: 2111-2118。該改變本發明之核酸序列可藉由標準DNA合成技術來進行。另一解決密碼子偏性之策略為使用BL21-codon plus細菌菌株(Invitrogen)或Rosetta細菌菌株(Novagen)，此等菌株含有稀有大腸桿菌tRNA基因之額外複本。

編碼本發明蛋白質之表現載體可為酵母表現載體。用於在酵母釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中表現之載體的實例包括pYepSec1(Baldari等人, (1987) **EMBO J.** 6: 229-234)、pMFa(Kurjan及 Herskowitz (1982) **Cell** 30: 933-943)、pJRY88(Schultz等人, (1987) **Gene** 54: 113-123)、pYES2(Invitrogen Corporation, San Diego, CA.)及picZ(Invitrogen Corp, San Diego, CA.)。

或者，本發明之多肽可在昆蟲細胞中使用桿狀病毒表現載體產生。可用於在培養之昆蟲細胞(例如SF9細胞)中表現蛋白質之桿狀病毒載體包括pAc系列(Smith等人, (1983)

Mol. Cell. Biol. 3: 2156-2165) 及 pVL 系列 (Lucklow 及 Summers (1989) **Virology** 170: 31-39)。在另一實施例中，本發明之核酸在哺乳動物細胞中使用哺乳動物表現載體來表現。哺乳動物表現載體之實例包括 pCDM8(Seed (1987) **Nature** 329: 840) 及 pMT2PC(Kaufman 等人, (1987) **EMBO J.** 6: 187-195)、pIRESpuro(Clontech)、pUB6(Invitrogen)、pCEP4(Invitrogen)、pREP4(Invitrogen)、pcDNA3(Invitrogen)。當用於哺乳動物細胞中時，表現載體之控制功能常由病毒調節元件提供。舉例而言，常用之啟動子源自多形瘤、腺病毒 2、細胞巨大病毒、勞氏肉瘤病毒 (Rous Sarcoma Virus) 及猿猴病毒 40。對於其他適用於原核及真核細胞之表現系統，參見例如 Sambrook 等人, (2001)(編) **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** (第 3 版) Cold Spring Harbor Laboratory。

宿主細胞可為任何原核或真核細胞。舉例而言，本發明蛋白質可在細菌細胞(諸如大腸桿菌)、昆蟲細胞、酵母、植物或哺乳動物細胞(例如中國倉鼠卵巢細胞(CHO)、COS、HEK293細胞)中產生。其他適合之宿主細胞為熟習此項技術者所知。

載體 DNA 可經由習知轉型或轉染技術引入原核或真核細胞中。如本文所用之術語「轉型」及「轉染」意欲指多種此項技術中公認之用於將外來核酸(例如 DNA) 引入宿主細胞中之技術，包括磷酸鈣或氯化鈣共同沈澱、DEAE-聚葡萄糖介導之轉染、脂質體轉染或電穿孔。適用於轉型或轉

染宿主細胞之方法可見於 Sambrook 等人, (2001)[編] **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** (第3版) Cold Spring Harbor Laboratory及其他實驗室手冊中。

可使用任何熟知的用於將外來核苷酸序列引入宿主細胞中之程序。此等程序包括使用磷酸鈣轉染、凝聚胺、原生質體融合、電穿孔、脂質體、顯微注射、質體載體、病毒載體及任何其他熟知用於將選殖之基因組DNA、cDNA、合成DNA或其他外來遺傳物質引入宿主細胞中的方法。參見例如 Sambrook 等人, (2001)(編) **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** (第3版) Cold Spring Harbor Laboratory; 以及 Walker 及 Papley (2009) **Molecular Biology and Biotechnology** [第5版] Royal Society of Chemistry。僅需要使用能夠成功地將至少一種核酸分子引入能夠表現 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3、相關片段或變異體之宿主細胞中的特定基因工程改造程序。

對於穩定轉染哺乳動物細胞, 已知視所用表現載體及轉染技術而定, 僅一小部分細胞可將外來DNA整合至其基因組中。為鑑別且選擇此等整合體, 一般將編碼可選標記(例如抗生素抗性)之基因連同相關基因一起引入宿主細胞中。各種可選標記包括賦予抗藥性之標記, 諸如G418、潮黴素、嘌呤黴素(puromycin)、殺稻瘟菌素(blasticidin)及甲胺喋呤。可將編碼可選標記之核酸於與編碼本發明蛋白質之載體相同之載體上引入宿主細胞中或可於單獨載體上引入。經引入之核酸穩定轉染之細胞可藉由藥物選擇來鑑

別(例如，併有可選標記基因之細胞將存活，而其他細胞死亡)。

本發明之宿主細胞(諸如培養物中之原核或真核宿主細胞)可用於產生(亦即表現)本發明之蛋白質。因此，本發明進一步提供使用本發明之宿主細胞產生本發明之蛋白質的方法。在一個實施例中，該方法包含在適合培養基中培養本發明之宿主細胞(其中引入有編碼本發明蛋白質之重組表現載體)，從而產生本發明蛋白質。在另一實施例中，該方法進一步包含自培養基或宿主細胞分離本發明蛋白質。

在將表現載體引入細胞中之後，在有利於相關受體、片段或變異體表現的條件下培養轉染之細胞，接著使用標準技術自培養物中回收該相關受體、片段或變異體。該等技術之實例在此項技術中為熟知的。參見例如 WO 00/06593。

舉例而言，可使用允許插入重鏈及輕鏈基因之載體來製備本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3單株抗體，其中可利用對CHO細胞之轉染以最佳化製備。吾人使用之質體載體pRc/CMV經設計而意欲達成吾人之嵌合單株抗體之高表現。載體具有接受重鏈及輕鏈基因(將其插入於人類CMV下游)之選殖位點。該載體允許在生物反應器培養基中產生超過1000 mg/L之量的抗體，因此可傳遞250 mg至500 mg之治療劑量。

每兩週一次靜脈內傳遞200 mg至400 mg劑量之展現極小

HAMA之單株抗體可有效控制轉移性癌症。目前，吾人已選擇允許重鏈及輕鏈基因以類似方式插入，但具有在生物反應器流體中產生超過1000 mg/L之潛能的新載體。兩種質體載體帶有由強化子缺乏性SV40早期啟動子驅動之dhfr表現單位。載體可在補充有1.0 µg/ml甲胺喋呤(MTX)之幾乎無血清之培養基中插入CHO-D-SFM(二氫葉酸還原酶(dhfr)缺乏性中國倉鼠卵巢)細胞中。在製備結束時，可在最終純化抗體之前使細胞適應於無血清培養基。

● 結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體

本發明亦提供選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體，其包括(但不限於)單株及人類化單株抗體。選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體可在組合物中與醫藥載劑及其他藥劑(例如一種消炎劑、鎮痛劑或疾病改善性抗風濕藥(DMARD))混合。

● 分離之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或其部分或片段可用作免疫原以使用製備多株及單株抗體之標準技術產生結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體。可使用全長KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽，或者，本發明提供用作免疫原之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗原性肽片段。在一個實施例中，KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗原性肽包含SEQ ID NO: 7至24中任一者中所示之胺基酸序列的至少8個胺基酸殘基，且涵蓋KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗原決定基，從而針對該肽產生之抗體與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽形

成特異性免疫複合物。較佳，抗原性肽包含至少10個胺基酸殘基，更佳包含至少15個胺基酸殘基，甚至更佳包含至少20個胺基酸殘基，且最佳包含至少30個胺基酸殘基。由抗原性肽涵蓋之較佳抗原決定基為KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3中位於多肽之細胞外域中的區域，例如親水性區域，以及具有高抗原性之區域。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3免疫原通常用於藉由用免疫原使適合個體(例如家兔、山羊、小鼠或其他哺乳動物)免疫來製備抗體。適當免疫原性製劑可含有例如重組表現之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或化學合成之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽。例如，其可包含KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽(例如胺基酸序列SEQ ID NO: 7至24)之細胞外域。製劑可進一步包括佐劑，諸如弗氏(Freund's)完全或不完全佐劑或類似免疫刺激劑。用免疫原性KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3製劑使適合個體免疫可誘導多株抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體反應。

抗體可包含分子量為約23,000道爾頓(「輕鏈」)之兩條相同多肽輕鏈及分子量為53,000至70,000(「重鏈」)之兩條相同重鏈。參見Edelman (1971) *Ann. NY. Acad. Sci.* 190: 5。四條鏈由二硫鍵連接成「Y」組態，其中輕鏈自「Y」組態口開始支托重鏈。「Y」組態之「分支」部分命名為F_{ab}區；「Y」組態之主幹部分命名為F_c區。胺基酸序列定向為自「Y」組態頂部之N端末端至各鏈底部之C端

末端。N端末端具有對產生其之抗原具有特異性的可變區，且長度為約100個胺基酸，輕鏈與重鏈之間且各抗體間存在輕微變異。

可變區在各鏈中連接至恆定區，恆定區延伸鏈之剩餘長度且在特定抗體類別內不隨抗體特異性(亦即產生抗體之抗原)而變。存在五種已知之主要恆定區類別，其決定免疫球蛋白分子之類別(例如IgG、IgM、IgA、IgD及IgE對應於 γ 、 μ 、 α 、 δ 及 ϵ 重鏈恆定區)。恆定區或類別決定抗體之後繼效應功能，包括補體活化(Kabat (1976) **Structural Concepts in Immunology and Immunochemistry** [第2版] 第413-436頁；Holt, Rinehart, Winston)及其他細胞反應(Andrews等人, (1980) **Clinical Immunobiology** 1-18；Kohl等人, (1983) **Immunology** 48: 187)，而可變區決定將與其反應之抗原。輕鏈分類為 κ 或 λ 。各重鏈類別可用 κ 或 λ 輕鏈製備。當由融合瘤或由B細胞產生免疫球蛋白時，輕鏈與重鏈彼此共價鍵結，且兩條重鏈之「尾區」部分彼此藉由共價二硫鍵鍵結。

在該等條件下特異性結合至抗體可能需要針對對特定蛋白質之特異性而選擇的抗體。舉例而言，針對來自特定物種(諸如大鼠、小鼠或人類)之精子鹼性蛋白產生的多株抗體可經選擇以僅獲得對精子鹼性蛋白具特異性免疫反應性而對除精子鹼性蛋白之多形變異體及對偶基因以外的其他蛋白質不具特異性免疫反應性的多株抗體。此選擇可藉由除去與來自其他物種之精子鹼性蛋白分子交叉反應的抗體

來達成。可使用多種免疫分析形式來選擇對特定蛋白質具特異性免疫反應性的抗體。舉例而言，常規使用固相ELISA免疫分析來選擇對蛋白質具有特異性免疫反應性的抗體。對於可用於確定特異性免疫反應性之免疫分析形式及條件的描述，參見例如 Harlow 及 Lane (1998) **USING ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL** Cold Spring Harbor Laboratory。通常，特異性或選擇性反應將為背景信號或雜訊的至少兩倍且更通常為背景的約10至100倍以上。

在另一實施例中，重組哺乳動物表現載體能夠導引核酸優先表現於特定細胞類型中(例如使用組織特異性調節元件來使核酸表現)。組織特異性調節元件在此項技術中為已知的。適合之組織特異性啟動子之非限制性實例包括白蛋白啟動子(肝特異性；Pinkert等人(1987) *Genes Dev.* 1:268-277)、淋巴特異性啟動子(Calame及Eaton (1988) *Adv. Immunol.* 43:235-275)、特定T細胞受體啟動子(Winoto及Baltimore (1989) **EMBO J.** 8:729-733)及特定免疫球蛋白啟動子(Banerji等人(1983) *Cell* 33:729-740；Queen及Baltimore (1983) *Cell* 33:741-748)、神經元特異性啟動子(例如神經絲啟動子；Byrne及Ruddle (1989) **Proc Natl. Acad. Sci. USA** 86:5473-5477)、胰臟特異性啟動子(Edlund等人(1985) **Science** 230:912-916)，及乳腺特異性啟動子(例如乳清啟動子；美國專利第4,873,316號及歐洲申請公開案第264,166號)。發育調節啟動子亦例如由鼠類

hox啟動子(Kessel及Gruss (1990) *Science* 249:374-379)及 α -胎蛋白啟動子(Campes及Tilghman (1989) *Genes Dev.* 3: 537-546)所涵蓋。

多株抗體

多株抗體為由經抗原免疫之動物之血清獲得的異源抗體分子群體。選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之多株抗體可藉由此項技術中熟知之方法製得。參見例如Howard及Kaser (2007) **Making and Using Antibodies: A Practical Handbook** CRC Press。

單株抗體

單株抗體含有對抗原具特異性之實質上均質之抗體群體，該群體含有實質上相似之抗原決定基結合位點。單株抗體可藉由為熟習此項技術者所知之方法獲得。參見例如Kohler及Milstein (1975) *Nature* 256: 495-497；美國專利第4,376,110號；Ausubel等人，[編](2011) **CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY**, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, NY.；以及Harlow及Lane (1998) **USING ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL** Cold Spring Harbor Laboratory；Colligan等人，(2005)[編] **Current Protocols in Immunology** Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, NY。該等抗體可具有任何免疫球蛋白類別，包括IgG、IgM、IgE、IgA、GILD及其任何子類。可在活體外、原位或活體內培養產生本發明抗體之融合瘤。

嵌合抗體

嵌合抗體為不同部分源自不同動物物種的分子，諸如具有源自鼠類抗體之可變區及人類免疫球蛋白恆定區者，其主要用於在應用中降低免疫原性且在製備中提高產率，例如，其中鼠類單株抗體由融合瘤產生之產率較高，但對人類之免疫原性較高，因此使用人類鼠類嵌合單株抗體。嵌合抗體及其製備方法在此項技術中為已知的。參見Cabilly等人，(1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 3273-3277；Morrison等人，(1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 6851-6855；Boulianne等人，(1984) *Nature* 312: 643-646；Neuberger等人，(1985) *Nature* 314: 268-270；歐洲專利申請案173494(1986)；WO 86/01533(1986)；歐洲專利申請案184187(1986)；歐洲專利申請案73494(1986)；Sahagan等人，(1986) *J. Immunol.* 137: 1066-1074；Liu等人，(1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 3439-3443；Sun等人，(1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 214-218；Better等人，(1988) *Science* 240: 1041-1043；以及Harlow及Lane (1998) *USING ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL* Cold Spring Harbor Laboratory；美國專利第5,624,659號。

人類化抗體

人類化抗體經工程改造而含有甚至更類似於人類之免疫球蛋白結構域，且僅併入源自動物之抗體的互補決定區。此可藉由研究單株抗體可變區之高變環序列且使其適於人類抗體鏈之結構來達成。參見例如美國專利第6,187,287

號。同樣，產生人類化抗體之其他方法現在此項技術中為熟知的。參見例如美國專利第5,225,539號；第5,530,101號；第5,585,089號；第5,693,762號；第6,054,297號；第6,180,370號；第6,407,213號；第6,548,640號；第6,632,927號；及第6,639,055號；Jones等人，(1986) *Nature* 321: 522-525；Reichmann等人，(1988) *Nature* 332: 323-327；Verhoeyen等人，(1988) *Science* 239: 1534-36；及Zhiqiang An (2009)[編] *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic* John Wiley & Sons, Inc。

抗體片段

除完整免疫球蛋白(或其重組對應物)之外，亦可合成包含抗原決定基結合位點之免疫球蛋白片段(例如Fab'、F(ab')₂或其他片段)。「片段」或最小免疫球蛋白可使用重組免疫球蛋白技術來設計。舉例而言，用於本發明中之「Fv」免疫球蛋白可藉由合成融合之輕鏈可變區及重鏈可變區而產生。抗體之組合亦相關，例如雙功能抗體，其包含兩種不同之Fv特異性。免疫球蛋白之抗原結合片段包括(但不限於)SMIP(小分子免疫藥物)、駱駝抗體(camelbody)、奈米抗體及IgNAR。

抗個體基因型抗體

抗個體基因型(抗-Id)抗體為識別一般與抗體之抗原結合位點有關之獨特決定子的抗體。Id抗體可藉由用產生抗-Id抗體之抗體使與抗體之來源相同之物種及遺傳類型(例如小鼠品系)的動物免疫來製備。免疫之動物將藉由產生針

對致免疫抗體之個體基因型決定子之抗體(抗-Id抗體)而識別此等個體基因型決定子且對其有反應。參見例如美國專利第4,699,880號。抗-Id抗體亦可用作「免疫原」以在另一動物體內誘導免疫反應，產生所謂之抗-抗-Id抗體。抗-抗-Id抗體與誘導抗-Id抗體之原始抗體具有抗原決定基一致性。因此，藉由使用針對抗體之個體基因型決定子的抗體，有可能鑑別表現具有相同特異性之抗體的其他純系。

經工程改造及修飾之抗體

本發明之抗體可進一步使用具有一或多個源自抗體起始物質之VH及/或VL序列的抗體以工程改造經修飾之抗體來製備，該經修飾之抗體之特性相較於起始抗體可已有改變。抗體可藉由修飾一或兩個可變區(亦即VH及/或VL)內，例如一或多個CDR區及/或一或多個構架區內之一或多個殘基來工程改造。或者或另外，抗體可藉由修飾恆定區內之殘基以例如改變抗體之效應功能來工程改造。

可執行之一類可變區工程改造為CDR移植。抗體主要經由位於6個重鏈及輕鏈互補決定區(CDR)中之胺基酸殘基與目標抗原相互作用。出於此原因，個別抗體之間CDR內之胺基酸序列的相異性比CDR以外之序列大。由於CDR序列負責大部分抗體-抗原相互作用，所以有可能表現模擬天然存在之特異性抗體之特性的重組抗體，此係藉由建構包括來自天然存在之特異性抗體且移植至來自具有不同特性之不同抗體之構架序列上的CDR序列之表現載體來達成。參見例如 Riechmann 等人，(1998) *Nature* 332: 323-327；

Jones 等人, (1986) *Nature* 321: 522-525 ; Queen 等人, (1989) *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 86: 10029-10033 ; 美國專利第 5,225,539 號 ; 第 5,530,101 號 ; 第 5,585,089 號 ; 第 5,693,762 號 ; 及第 6,180,370 號。

適合之構架序列可自包括生殖系抗體基因序列的公開之 DNA 資料庫或發表之參考文獻獲得。舉例而言, 人類重鏈及輕鏈可變區基因之生殖系 DNA 序列可見於「VBase」人類生殖系序列資料庫(可在網際網路上得到)以及 Kabat, E. A. 等人, (1991) **Sequences of Proteins of Immunological Interest** [第 5 版] U.S. Department of Health and Human Services, NIH 出版物編號 91-3242 ; Tomlinson 等人, (1992) 「**The Repertoire of Human Germline VH Sequences Reveals about Fifty Groups of VH Segments with Different Hypervariable Loops**」 *J. Mol. Biol.* 227: 776-798 ; 及 Cox 等人, (1994) *Eur. J Immunol.* 24: 827-836 中。

另一類可變區修飾為使 VH 及 / 或 VL CDR1、CDR2 及 / 或 CDR3 區內之胺基酸殘基突變, 從而改良相關抗體之一或多種結合特性(例如親和力)。可進行定點突變誘發或 PCR 介導之突變誘發以引入突變, 且可在適當活體外或活體內分析中評估對抗體結合或其他相關功能特性的影響。較佳可引入保守性修飾(如本文所論述)。突變可為胺基酸取代、添加或缺失, 但較佳為取代。此外, 通常改變 CDR 區內至多一個、兩個、三個、四個或五個殘基。

本發明之經工程改造之抗體包括已對 VH 及 / 或 VL 內之構

架殘基進行修飾以例如改良抗體特性的抗體。通常，進行該等構架修飾以降低抗體之免疫原性。舉例而言，一種方法為使一或多個構架殘基「回復突變」成相應生殖系序列。更特定而言，已進行體細胞突變之抗體可含有不同於產生抗體之生殖系序列的構架殘基。該等殘基可藉由比較抗體構架序列與抗體所源自之生殖系序列來鑑別。

除在構架或CDR區內進行修飾之外或替代在構架或CDR區內進行修飾，本發明之抗體可經工程改造以在Fc區內包括修飾，通常以改變抗體之一或多種功能特性，諸如血清半衰期、補體固定、Fc受體結合及/或抗原依賴性細胞毒性。此外，本發明之抗體可經化學修飾(例如可將一或多個化學部分連接至抗體)或經修飾以改變其糖基化，再次改變抗體之一或多種功能特性。該等實施例進一步描述於下文中。Fc區中殘基之編號為Kabat之EU索引之編號。

CH1之絞鏈區可經修飾以使絞鏈區中半胱胺酸殘基之數目有所改變，例如增加或減少。參見美國專利第5,677,425號。CH1之絞鏈區中半胱胺酸殘基之數目可經改變以例如有助於輕鏈與重鏈組裝或增加或降低抗體之穩定性。

抗體之Fc絞鏈區可經突變以縮短抗體之生物半衰期。更特定而言，可將一或多處胺基酸突變引入Fc絞鏈片段之CH2-CH3域界面區中，以使抗體對葡萄球菌蛋白A(SpA)之結合性相對於原生Fc絞鏈域對SpA之結合性有所削弱。參見例如美國專利第6,165,745號。

抗體可經修飾以延長其生物半衰期。各種方法為可能

的。舉例而言，可引入以下一或多處突變：T252L、T254S、T256F。參見美國專利第6,277,375號。或者，為延長生物半衰期，抗體可在CH1或CL區內經改變以含有獲自IgG之Fc區之CH2域之兩個環的救助受體結合抗原決定基。參見美國專利第5,869,046號及第6,121,022號。

Fc區可藉由用不同胺基酸殘基置換至少一個胺基酸殘基以改變抗體之效應功能來改變。舉例而言，選自胺基酸殘基234、235、236、237、297、318、320及322之一或多個胺基酸可經不同胺基酸殘基置換，以使抗體對效應配體之親和力改變，但保留親本抗體之抗原結合能力。親和力可能有所改變之效應配體可為例如Fc受體或補體之C1組分。參見美國專利第5,624,821號及第5,648,260號。

抗體之糖基化可經修飾。舉例而言，可產生去糖基化抗體(亦即抗體缺乏糖基化)。糖基化可經改變以例如增強抗體對抗原之親和力。該等碳水化合物修飾可藉由例如改變抗體序列內一或多個糖基化位點來達成。舉例而言，可進行一或多處胺基酸取代以消除一或多個可變區構架糖基化位點，從而消除彼位點處之糖基化。該去糖基化可增強抗體對抗原之親和力。參見例如美國專利第5,714,350號及第6,350,861號。

或者或另外，可製備糖基化類型有改變的抗體，諸如岩藻糖基殘基之量有所降低之低岩藻糖基化抗體或平分型GlcNac結構有所增加之抗體。該等改變之糖基化型態已經表明可增強抗體之ADCC能力。該等碳水化合物修飾可藉

由例如使抗體在糖基化機構有所改變之宿主細胞中表現來達成。糖基化機構有所改變之細胞已在此項技術中加以描述且可用作宿主細胞以表現本發明之重組抗體，從而產生糖基化有所改變之抗體。參見美國專利申請公開案第2004/0110704號及Yamane-Ohnuki等人，(2004) **Biotechnol Bioeng.** 87: 614-22；EP 1,176,195；WO 2003/035835；Shields等人，(2002) **J. Biol. Chem.** 277: 26733-26740；WO 99/54342；Umana等人，(1999) **Nat. Biotech.** 17: 176-180；及Tarentino等人，(1975) **Biochem.** 14: 5516-23。

抗體可經聚乙二醇化以例如延長抗體之生物(例如血清)半衰期。為聚乙二醇化抗體，通常使抗體或其片段與聚乙二醇(PEG)(諸如PEG之反應性酯或醛衍生物)在可使一或多個PEG基團連接至抗體或抗體片段的條件下反應。較佳的是，以反應性PEG分子(或類似反應性水溶性聚合物)經由醯化反應或烷基化反應進行聚乙二醇化。

本發明亦提供實質上與本文所述之抗體、抗體片段、雙功能抗體、SMIP、駱駝抗體、奈米抗體、IgNAR、多肽、可變區及CDR同源的變異體及等效物。此等變異體及等效物可含有例如保守性取代突變(亦即一或多個胺基酸經相似胺基酸取代)。舉例而言，保守性取代係指胺基酸經同一一般類別中之另一胺基酸取代，例如一個酸性胺基酸經另一酸性胺基酸取代、一個鹼性胺基酸經另一鹼性胺基酸取代，或一個中性胺基酸經另一中性胺基酸取代。

抗體產生

單株抗體尤其可使用首先由Kohler等人, Nature, 256:495 (1975)描述之融合瘤方法, 或藉由其他熟知之隨後研發之方法(參見例如Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 第59-103頁 (Academic Press, 1986))來製備。可藉由化學融合、電融合或任何其他適合技術, 用任何適合類型之骨髓瘤、異源骨髓瘤、淋巴母細胞樣細胞(phoblastoid cell)、漿細胞瘤或類似永生化細胞及任何適合類型之抗體表現細胞形成融合瘤及其他融合細胞。

轉型之永生化B細胞亦可用於高效地產生抗體。轉型之B細胞可藉由標準技術, 諸如用艾伯斯坦-巴爾病毒(Epstein Barr Virus)或轉型基因轉型而產生。(參見例如「Continuously Proliferating Human Cell Lines Synthesizing Antibody of Predetermined Specificity,」 Zurawaki, V. R. 等人, Monoclonal Antibodies, Kennett R. H. 等人編, Plenum Press, N.Y. 1980, 第19-33頁)。由此, 穩定且持續及/或永生化的表現抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之細胞及細胞株為本發明之另一特徵。產生抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之方法的步驟可包括例如以下步驟: 產生可產生抗體之永生化B細胞, 使其與適當搭配物融合以產生抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體, 或對其進行定序且使用該等序列產生重組抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

可用作用於重組蛋白質表現之宿主的細胞株在此項技術

中為熟知的且包括多種可自美國菌種中心(American Type Culture Collection, ATCC)獲得的永生化細胞株。此等細胞株尤其包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、NSO細胞、SP2細胞、HeLa細胞、幼倉鼠腎(BHK)細胞、猴腎細胞(COS)、人類肝細胞癌細胞(例如Hep G2)、A549細胞及多種其他細胞株。其他可使用之細胞株為昆蟲細胞株，諸如Sf9細胞。當將編碼抗體基因之核酸(或含有核酸之載體)引入哺乳動物宿主細胞中時，可藉由培養宿主細胞足以允許抗體在宿主細胞中表現或更佳使抗體分泌至培養宿主細胞之培養基中的一段時間以產生抗體。可使用標準蛋白質純化方法自培養基中回收抗體。抗體在被直接表現而無分泌信號時亦可自宿主細胞溶胞物中回收。

可藉由應用多種此項技術中已知之適合技術(包括例如免疫親和管柱純化；硫酸鹽沈澱；層析聚焦；製備型SDS-PAGE及其類似技術)純化來自細胞培養物、細胞溶胞物及轉殖基因動物或由其獲得之生物材料(例如，來自產生抗體之轉殖基因動物之腹水)的抗體。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體亦可在細菌細胞及真核單細胞微生物(諸如酵母)中產生。細菌細胞產生之抗體缺乏正常糖基化且因此就ADCC功能及可能另外與在哺乳動物細胞及/或動物中產生之基本上相同抗體有關之免疫反應的其他態樣而言可能有缺陷。

可使用適用於純化、篩選及選擇抗體之方法，包括WO 2006/072625中所述之方法。可藉由任何適合技術或技術

組合篩選及選擇抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。舉例而言，可使用多種免疫分析形式來選擇與特定蛋白質、變異體或片段選擇性結合的抗體。舉例而言，常規使用固相ELISA免疫分析來選擇對蛋白質、蛋白質變異體或其片段具選擇性免疫反應性的抗體。參見Harlow及Lane(同上)。單株抗體之結合親和力可例如藉由Munson等人, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980)之斯卡查德分析來測定。

● 通常針對諸如藉由抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3介導之信號，促進NK細胞經由NK活化受體介導之信號活化來調節NK細胞活性的能力來篩選抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。已研發多種適用於該等情況之NK細胞分析法，包括例如流動式細胞量測術篩選法。參見例如McGinnes等人, (1984) *J Immunol Methods* 80 1984: 70-85。與培養NK細胞、評估NK細胞及其類似方面有關之方法在此項技術中為已知的。參見例如Campbell及Colonna, *Natural Killer Cell Protocols (Methods in Molecular Biology Series 第121卷)*(2000)。

● 在抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之情況下，NK細胞中和活性可藉由抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體復原由KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3陽性NK細胞引起之標靶細胞溶解的能力來表明。亦可藉由各種基於細胞之細胞毒性分析法

來評估抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體相關NK細胞調節(例如KIR抑制)。重導向殺傷實驗(Redirected killing)為一種用於確定NK細胞受體誘導細胞毒性之能力的實驗系統。評估塗佈有對候選受體具特異性之抗體的NK細胞殺死表現抗體所結合之Fc受體之標靶細胞的能力。在另一變體中,可在細胞激素釋放分析法中評估與抗-KIR抗體有關之NK細胞活性調節作用。亦可使用與各種抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體有關之其他生物活性來評估抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

抗體結合物

抗體(或其片段)可結合至治療性部分,諸如細胞毒素、治療劑或放射性金屬離子。細胞毒素或細胞毒性劑包括任何有害於細胞之藥劑。實例包括(但不限於)紫杉醇(taxol)、細胞遲緩素B、短桿菌素D、溴化乙錠、吐根素、絲裂黴素(mitomycin)、依託泊苷(etoposide)、特諾波賽(tenoposide)、長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、秋水仙鹼、小紅莓(doxorubicin)、道諾黴素(daunorubicin)、二氫基炭疽菌素二酮、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神黴素(mithramycin)、放線菌素D(actinomycin D)、1-去氫鞣固酮、糖皮質激素、普魯卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛爾(propranolol)及嘌呤黴素以及其類似物或同源物。治療劑包括(但不限於)抗代謝物(例如甲胺喋呤、6-巰基嘌呤、6-硫鳥嘌呤、阿糖胞苷

(cytarabine)、5-氟尿嘧啶、胺烯咪胺(decarbazine)、烷基化劑(例如氮芥(mechlorethamine)、硫替派(thioepa)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、美法侖(melphalan)、卡莫司汀(carmustine, BSNU)及洛莫司汀(lomustine, CCNU)、環硫磷醯胺(cyclophosphamide)、白消安(busulfan)、二溴甘露醇、鏈脲菌素(streptozotocin)、絲裂黴素C及順二氯二胺鉑(II)(DDP)、順鉑)、蒽環黴素(anthracycline)(例如道諾黴素(原先為柔紅黴素(daunomycin))及小紅莓)、抗生素(例如更生黴素(dactinomycin)(原先為放線菌素)、博萊黴素、光神黴素以及安麩黴素(anthramycin, AMC))，以及抗有絲分裂劑(例如長春新鹼及長春鹼)。

工程改造抗體之方法

具有本文揭示之VH及VL序列的抗體可用於藉由修飾VH及/或VL序列或其所連接之恆定區來形成新變異型抗體。因此，使用本發明之變異型抗體之結構特徵來形成保留本發明抗體之至少一種功能特性(諸如結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3)的結構相關變異型抗體。舉例而言，一種抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3變異型抗體或其突變體之一或多個CDR區可與已知構架區及/或其他CDR以重組方式組合，從而形成本發明之其他經重組工程改造之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體(例如結合KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之抗體)，如本文所論述。工程改造方法之起始物質可為本文提供之一或多個VH及/或VK序列或其一或多個CDR區。為形成經工

程改造之抗體，不需要實際製備(亦即表現成蛋白質)具有本文提供之一或多個VH及/或VK序列或其一或多個CDR區的抗體。而是，使用序列中所含之資訊作為起始物質來形成源自原始序列之「第二代」序列且接著製備「第二代」序列且使其表現成蛋白質。可使用標準分子生物學技術來製備及表現改變之抗體序列。

由改變之抗體序列編碼之抗體可保留由本文提供之方法及序列產生之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體之一種、一些或所有功能特性，該等功能特性包括以特定KD值或更低之值結合至變異KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3或變異KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合物及/或調節免疫細胞活性及/或選擇性結合至所需標靶細胞，諸如結腸直腸癌、肺癌、前列腺癌、胰臟癌、卵巢癌、胃癌及肝癌。改變之抗體的功能特性可使用此項技術中可利用及/或本文所述之標準分析來評定。

可沿整個或部分抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體編碼序列隨機或選擇性引入突變且可針對結合活性及/或其他所需功能特性來篩選所得到之經修飾抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體。參見WO 2011/120013。

編碼選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體的核酸

本發明之另一態樣關於編碼結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之本發明抗體的核酸分子。核酸可存在於全細胞

中、細胞溶胞物中或以部分純化或實質上純形式存在。核酸可藉由標準技術純化分離而遠離其他細胞組分或其他污染物(例如其他細胞核酸或蛋白質)，該等標準技術包括鹼/SDS處理、CsCl條帶法、管柱層析、瓊脂糖凝膠電泳及此項技術中熟知之其他技術。參見 Ausubel 等人, (2011) **Current Protocols in Molecular Biology** John Wiley & Sons, Inc。本發明之核酸可為例如DNA或RNA且可能含有或可能不含內含子序列。核酸可為cDNA分子。

● 本發明之核酸可使用標準分子生物學技術獲得。對於藉由融合瘤(例如如下文所進一步描述由帶有人類免疫球蛋白基因之轉殖基因小鼠製備之融合瘤)表現之抗體，編碼由融合瘤產生之抗體之輕鏈及重鏈的cDNA可藉由標準PCR擴增或cDNA選殖技術獲得。對於自免疫球蛋白基因庫(例如使用噬菌體呈現技術)獲得之抗體，編碼該抗體之核酸可自庫回收。

● 特定而言，簡併密碼子取代可藉由產生例如一或多個所選密碼子之第三個位置經混合鹼基及/或去氧肌苷殘基取代的序列來達成。Batzer等人, (1991) **Nucleic Acid Res.** 19: 5081; Ohtsuka等人, (1985) **J. Biol. Chem.** 260: 2605-08; Rossolini等人, (1994) **Mol. Cell. Probes** 8: 91-98。

一旦獲得編碼VH及VL段之DNA片段，即可進一步藉由標準重組DNA技術操作該等DNA片段，以例如使該等可變區基因轉化為全長抗體鏈基因、轉化為Fab片段基因或scFv基因。在此等操作中，使編碼VL或VH之DNA片段可

操作地連接至另一編碼另一蛋白質(諸如抗體恆定區或可撓性連接子)之DNA片段。

編碼VH區的分離之DNA可藉由使該編碼VH之DNA可操作地連接至另一編碼重鏈恆定區(CH1、CH2及CH3)之DNA分子而轉化成全長重鏈基因。人類重鏈恆定區基因之序列在此項技術中已知(參見例如Kabat等人, (1991) **Sequences of Proteins of Immunological Interest**, 第5版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH出版物編號91-3242)且涵蓋此等區域之DNA片段可藉由標準PCR擴增獲得。重鏈恆定區可為IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恆定區, 但最佳為IgG1或IgG4恆定區。對於Fab片段重鏈基因而言, 可使編碼VH之DNA可操作地連接至另一僅編碼重鏈CH1恆定區之DNA分子。

分離之編碼VL區之DNA可藉由使該編碼VL之DNA可操作地連接至另一編碼輕鏈恆定區CL之DNA分子而轉化為全長輕鏈基因(以及Fab輕鏈基因)。人類輕鏈恆定區基因之序列在此項技術中已知(參見例如Kabat等人, (1991) **Sequences of Proteins of Immunological Interest**, 第5版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH出版物編號91-3242)且涵蓋此等區域之DNA片段可藉由標準PCR擴增獲得。輕鏈恆定區可為 κ 或 λ 恆定區, 但最佳為 κ 恆定區。

為形成scFv基因, 使編碼VH之DNA片段及編碼VL之DNA片段可操作地連接至另一編碼可撓性連接子(例如編

碼胺基酸序列(Gly4-Ser)₃)之片段，以使VH序列及VL序列可表現為相鄰單鏈蛋白質，其中VL與VH區藉由可撓性連接子連接。參見例如Bird等人，(1988) **Science** 242: 423-426；Huston等人，(1988) **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 85: 5879-5883；McCafferty等人，(1990) **Nature** 348: 552-554。

產生抗體及其片段的方法

本發明亦提供產生抗體及其片段之方法。產生抗體之方法為一般技術者所熟知。舉例而言，產生嵌合抗體之方法現在此項技術中為熟知的。參見例如美國專利第4,816,567號；Morrison等人，(1984) **PNAS USA** 81: 8651-55；Neuberger等人，(1985) **Nature** 314: 268-270；Boulianne等人，(1984) **Nature** 312: 643-46。

舉例而言，抗體或抗原結合片段可藉由基因工程改造而產生。在此技術中，如同其他方法，使抗體產生細胞對所需抗原或免疫原敏感。使用自抗體產生細胞分離之信使RNA作為模板以使用PCR擴增製得cDNA。藉由將擴增之免疫球蛋白cDNA之適當部分插入表現載體中產生各自含有保留初始抗原特異性之一個重鏈基因及一個輕鏈基因的載體之庫。藉由將重鏈基因庫與輕鏈基因庫組合來建構組合庫。此得到共表現重鏈及輕鏈(類似於抗體分子之Fab片段或抗原結合片段)之純系的庫。將帶有此等基因之載體共轉染至宿主細胞中。當在轉染之宿主中誘導抗體基因合成時，重鏈與輕鏈蛋白質自行組裝，從而產生活性抗體，

其可藉由用抗原或免疫原篩選而偵測。

本發明之抗體及其片段亦可藉由使用為一般技術者所熟知之習知技術建構含有操縱子及編碼抗體重鏈之DNA序列的表現載體來製備，其中編碼抗體特異性所需之CDR的DNA序列源自非人類細胞來源，而編碼抗體鏈之其餘部分的DNA序列源自人類細胞來源。此外，本發明係關於載體，尤其質體、黏質體、病毒、噬菌體及其他在基因工程改造中常見之載體，其含有本發明之上述核酸分子。載體中所含之核酸分子可連接至調節元件，其確保在原核及真核細胞中進行轉錄。

載體含有有助於操作之元件以使外來蛋白質表現在目標宿主細胞中。宜首先在細菌宿主(例如大腸桿菌)中操作序列及產生用於轉型之DNA，且載體通常包括有助於該等操作之序列，包括細菌複製起點及適當之細菌選擇標記。選擇標記編碼為選擇性培養基中培育的轉型之宿主細胞存活或生長所需的蛋白質。未經含有選擇基因之載體轉型的宿主細胞不會在培養基中存活。典型選擇基因編碼賦予對抗生素或其他毒素之抗性，補充營養缺陷性缺乏或提供不可自複合培養基得到之關鍵營養素的蛋白質。用於轉型酵母之例示性載體及方法在此項技術中有所描述。參見例如 Burke等人, (2000) **Methods in Yeast Genetics** Cold Spring Harbor Laboratory Press。

相關多肽編碼序列可操作地連接至使得多肽在酵母細胞中表現之轉錄及轉譯調節序列。此等載體組分可包括(但

不限於)以下一或多者：強化子元件、啟動子及轉錄終止序列。亦可包括使多肽分泌之序列(例如信號序列)。

核酸在經置放而與另一核酸序列呈功能關係時為「可操作地連接的」。舉例而言，若信號序列之DNA表現成參與多肽分泌之蛋白質前體，則其可操作地連接至多肽之DNA；若啟動子或強化子影響序列轉錄，則其可操作地連接至編碼序列。一般而言，「可操作地連接」廣泛地指連續連接之DNA序列，且在分泌性前導序列的狀況下，指連續且處於閱讀框架中之DNA序列。然而，強化子未必為連續的。

啟動子為位於結構基因之起始密碼子上游(5')(一般在約100 bp至1000 bp範圍內)且控制其可操作地連接之特定核酸序列轉錄及轉譯的非轉譯序列。該等啟動子屬於多種類別：誘導性、組成性及阻遏型啟動子(例如，其回應於不存在阻遏子而提高轉錄量)。誘導性啟動子可回應於培養條件之某種改變(例如存在或不存在營養素或溫度改變)而引起DNA在其控制下之轉錄量有所提高。

第二表現載體可使用為一般技術者所熟知之相同習知方式產生，該表現載體含有操縱子及編碼抗體輕鏈之DNA序列，其中編碼為抗體特異性所需之CDR的DNA序列源自非人類細胞來源，較佳源自家兔B細胞來源，而編碼抗體鏈之其餘部分的DNA序列源自人類細胞來源。

藉由為一般技術者所熟知之習知技術將表現載體轉染至宿主細胞中，產生轉染之宿主細胞，藉由為一般技術者所

熟知之習知技術培養該轉染之宿主細胞，產生該等抗體多肽。

可用上文所述之兩種表現載體共轉染宿主細胞，第一表現載體含有編碼操縱子及源自輕鏈之多肽的DNA且第二載體含有編碼操縱子及源自重鏈之多肽的DNA。兩種載體含有不同之可選標記，但較佳使得重鏈與輕鏈多肽達成實質上相等之表現。或者，可使用單個載體，該載體包括編碼重鏈及輕鏈多肽之DNA。重鏈及輕鏈之編碼序列可包含cDNA、基因組DNA或兩者。

用於表現抗體及其片段之宿主細胞可為細菌細胞(諸如大腸桿菌)或真核細胞。可使用用於此目的之明確類型之哺乳動物細胞，諸如骨髓瘤細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)、NSO或HEK293細胞株。

可建構載體之一般方法、產生宿主細胞所需之轉染方法以及由該等宿主細胞產生抗體及其片段所需之培養方法皆包括習知技術。雖然用於產生抗體之細胞株較佳為哺乳動物細胞株，但可使用任何其他適合之細胞株，諸如細菌細胞株，諸如源自大腸桿菌之細菌菌株，或酵母細胞株。

同樣，在產生後，可根據此項技術中之標準程序，諸如交叉流過濾、硫酸銨沈澱及親和管柱層析來純化抗體。

使用動物產生抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體

本發明之選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體可為人類單株抗體。該等針對KIR2DL1、KIR2DL2及

KIR2DL3之人類單株抗體可使用帶有人類免疫系統而非小鼠系統之部分的轉殖基因或轉染色體小鼠來產生。此等轉殖基因及轉染色體小鼠包括本文中分別稱作HuMAb Mouse®及KM Mouse®之小鼠，且在本文中統稱為「人類Ig小鼠」。HuMAb Mouse®(Medarex, Inc.)含有人類免疫球蛋白基因微衛星基因座(miniloci)，其編碼非重排人類重鏈(μ 及 γ)以及 κ 輕鏈免疫球蛋白序列以及使內源 μ 及 κ 鏈基因座不活化的目標突變。參見例如 Lonberg 等人, (1994) **Nature** 368(6474): 856-859。因此，小鼠的小鼠IgM或 κ 之表現減少，且回應於免疫，引入之人類重鏈及輕鏈轉殖基因進行類別轉換及體細胞突變而產生高親和力人類IgG κ 單株抗體。Lonberg (1994) **Handbook of Experimental Pharmacology** 113: 49-101；Lonberg 及 Huszar (1995) **Intern. Rev. Immunol.** 13: 65-93；以及Harding及Lonberg (1995) **Ann. NY. Acad. Sci.** 764: 536-546。HuMAb Mouse®之製備及使用以及該等小鼠所帶有之基因組修飾進一步描述於Taylor等人, (1992) **Nucleic Acids Research** 20: 6287-6295；Chen等人, (1993) **International Immunology** 5: 647-656；Tuailon等人, (1993) **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 90: 3720-3724；Choi等人, (1993) **Nature Genetics** 4: 117-123；Chen等人, (1993) **EMBO J.** 12: 821-830；Tuailon等人, (1994) **J. Immunol.** 152: 2912-2920；Taylor等人, (1994) **International Immunology** 6: 579-591；及Fishwild等人, (1996) **Nature Biotechnology** 14: 845-851中。進一

步參見美國專利第5,545,806號；第5,569,825號；第5,625,126號；第5,633,425號；第5,789,650號；第5,877,397號；第5,661,016號；第5,814,318號；第5,874,299號；第5,770,429號；及第5,545,807號；第WO 92/03918號；第WO 93/12227號；第WO 94/25585號；第WO 97/13852號；第WO 98/24884號；第WO 99/45962號；及第WO 01/14424號。

本發明之人類抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體(例如選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2或KIR2DL3之抗體)可使用在轉殖基因及轉染色體上帶有人類免疫球蛋白序列的小鼠(諸如帶有人類重鏈轉殖基因及人類輕鏈轉染色體之小鼠)產生。該等在本文中稱作「KM mice®」之小鼠詳細描述於WO 02/43478中。

此外，表現人類免疫球蛋白基因之替代轉殖基因動物系統可用於此項技術中且可用於產生本發明之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體。舉例而言，可使用稱為Xenomouse(Abgenix, Inc.)之替代轉殖基因系統；該等小鼠描述於例如美國專利第5,939,598號；第6,075,181號；第6,114,598號；第6,150,584；及第6,162,963號中。

此外，表現人類免疫球蛋白基因之替代轉染色體動物系統可用於此項技術中且可用於產生本發明之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體。舉例而言，可使用帶有人類重鏈轉染色體及人類輕鏈轉染色體之稱為

「TC小鼠」之小鼠。參見Tomizuka等人，(2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97: 722-727。此外，帶有人類重鏈及輕鏈轉染色體之牛已在此項技術中有所描述(Kuroiwa等人，(2002) **Nature Biotechnology** 20: 889-894)且可用於產生本發明之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

本發明之人類單株抗體亦可使用噬菌體呈現方法篩選人類免疫球蛋白基因庫來製備。該等用於分離人類抗體之噬菌體呈現方法在此項技術中已確立。參見例如美國專利第5,223,409號；第5,403,484號；第5,571,698號；第5,427,908號；第5,580,717號；第5,969,108號；第6,172,197號；第5,885,793號；第6,521,404號；第6,544,731號；第6,555,313號；第6,582,915號；及第6,593,081號。

本發明之人類單株抗體亦可使用SCID小鼠製備，在該等SCID小鼠中，人類免疫細胞已經復原，從而在免疫後可產生人類抗體反應。參見例如美國專利第5,476,996號及第5,698,767號。

當使用人類Ig小鼠產生本發明之人類抗體時，可用純化或增濃之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽製劑使該等小鼠免疫，如由Lonberg等人，(1994) *Nature* 368(6474): 856-859；Fishwild等人，(1996) **Nature Biotechnology** 14: 845-851；WO 98/24884及WO 01/14424所述。較佳，小鼠在首次輸注時為6至16週大。舉例而言，可使用純化或重組KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3製劑(5至50 µg)以腹膜

內方式使人類Ig小鼠免疫。

其他人在使用各種抗原方面的先前經驗已展示，當最初用於完全弗氏佐劑中之抗原進行腹膜內(IP)免疫，繼而每隔一週用於不完全弗氏佐劑中之抗原進行IP免疫一次(達總共6次)時，轉殖基因小鼠起反應。然而，亦發現除弗氏佐劑以外的佐劑為有效的。另外，發現全細胞在不存在佐劑下具高免疫原性。可在免疫方案過程期間藉由由後眼眶取血獲得血漿樣品來監測免疫反應。可藉由ELISA(如下文所述)篩選血漿，且可將具有足夠力價之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3人類免疫球蛋白的小鼠用於融合。可在處死且移出脾前3天用抗原以靜脈內方式使小鼠增強免疫。預期各次免疫可能需要進行2-3次融合。對於各抗原，通常使6至24隻小鼠免疫。通常使用HCo7及HCo12品系。另外，HCo7及HCo12轉殖基因可在具有兩種不同人類重鏈轉殖基因(HCo7/HCo12)之單個小鼠體內共同繁殖。或者或另外，可使用KM Mouse®品系。

產生可產生本發明之人類單株抗體的融合瘤

為產生可產生本發明之人類單株抗體的融合瘤，可分離來自免疫之小鼠的脾細胞及/或淋巴結細胞且使其融合至適當之永生化細胞株，諸如小鼠骨髓瘤細胞株。可針對抗原特異性抗體之產生篩選所得之融合瘤。舉例而言，可用50% PEG使來自免疫之小鼠的脾淋巴球之單細胞懸浮液融合至六分之一數目之P3X63-Ag8.653非分泌型小鼠骨髓瘤細胞(ATCC, CRL 1580)。可將約 2×10^{-5} 個細胞接種於平底

微量滴定盤中，繼而在含有以下之選擇性培養基中培育兩週：20%胎牛血清、18%「653」條件培養基、5% origen(IGEN)、4 mM L-麩醯胺酸、1 mM丙酮酸鈉、5 mM HEPES、0.055 mM 2-巰基乙醇、50單位/毫升青黴素 (penicillin)、50 mg/ml鏈黴素 (streptomycin)、50 mg/ml慶大黴素 (gentamycin)及1×HAT(Sigma；HAT在融合後24小時添加)。在約兩週後，可在用HT替換HAT之培養基中培養細胞。接著可藉由ELISA針對人類單株IgM及IgG抗體篩選個別孔。在出現廣泛融合瘤生長後，通常可在10至14天後觀測培養基。可重接種分泌抗體之融合瘤，再篩選，且若針對人類IgG仍呈陽性，則可藉由限制稀釋法次選殖單株抗體至少兩次。接著可在活體外培養穩定之次純系以在組織培養基中產生少量抗體以供表徵。

為純化人類單株抗體，可在兩公升旋轉燒瓶中培養所選融合瘤以純化單株抗體。可過濾上清液且濃縮，隨後用蛋白質A-瓊脂糖 (Pharmacia, Piscataway, N.J.)進行親和層析。可藉由凝膠電泳及高效液相層析檢驗溶離之IgG以確保純度。可將緩衝溶液交換成PBS，且可使用1.43消光係數藉由OD280測定濃度。可等分單株抗體且儲存於-80°C下。

標記

本文所述之抗原、抗體及其片段可經轉譯後修飾以添加效應部分，諸如化學連接子；可偵測部分，諸如螢光染料；酶；基質；生物發光物質；放射性物質；化學發光部

分；細胞毒性劑；放射性物質；或功能性部分。

多種實體(例如配體)如此項技術中所知可偶合至寡核苷酸。配體可包括天然存在之分子抑或重組或合成分子。例示性配體包括(但不限於)親合素(avidin)、生物素、肽、肽模擬物、聚離胺酸(PLL)、聚乙二醇(PEG)、mPEG、陽離子基、精胺、亞精胺、聚胺、促甲狀腺素、促黑素、凝集素、醣蛋白、界面活性蛋白A、黏蛋白、糖基化聚胺基酸、轉鐵蛋白、適體、免疫球蛋白(例如抗體)、胰島素、轉鐵蛋白、白蛋白、糖、親脂性分子(例如類固醇、膽汁酸、膽固醇、膽酸及脂肪酸)、維生素A、維生素E、維生素K、維生素B、葉酸、B12、核黃素、生物素、吡哆醛、維生素輔因子、脂多醣、激素及激素受體、凝集素、碳水化合物、多價碳水化合物、放射性標記之標記、螢光染料及其衍生物。參見例如美國專利第6,153,737號；第6,172,208號；第6,300,319號；第6,335,434號；第6,335,437號；第6,395,437號；第6,444,806號；第6,486,308號；第6,525,031號；第6,528,631號；及第6,559,279號。

另外，可將部分添加至抗原或抗原決定基以延長活體內半衰期(例如，藉由延長自血流清除之時間)。該等技術包括例如添加PEG部分(亦稱作聚乙二醇化)，且在此項技術中為熟知的。參見美國專利申請公開案第2003/0031671號。

本文所述之抗原、抗體或其抗原結合片段在其經由非隨機化學或物理相互作用與固體標記締合時可「連接」至基

質。可經由共價鍵連接。然而，連接無須為共價或永久性連接。物質可經由「間隔分子」或「連接基團」連接至標記。該等間隔分子為具有連接至生物物質之第一部分以及連接至標記之第二部分的分子。因此，當連接至標記時，間隔分子分離標記與生物物質，但連接至兩者。將生物物質(例如標記)連接至標記的方法在此項技術中為熟知的，且包括(但不限於)化學偶合。

可偵測標記

本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可經轉譯後修飾以添加效應標記，諸如化學連接子；可偵測標記，諸如螢光染料；酶；基質；生物發光物質；放射性物質；及化學發光標記；或功能標記，諸如抗生蛋白鏈菌素、抗生物素蛋白、生物素、細胞毒素、細胞毒性劑及放射性物質。其他例示性酶包括(但不限於)辣根過氧化酶、乙醯膽鹼酯酶、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶及螢光素酶。其他例示性螢光物質包括(但不限於)若丹明(rhodamine)、螢光素、異硫氰酸螢光素、繖酮、二氯三嗪基胺、藻紅素及丹醯氣。其他例示性化學發光標記包括(但不限於)魯米諾(luminol)。其他例示性生物發光物質包括(但不限於)發光素、螢光素酶及水母發光蛋白。其他例示性放射性物質包括(但不限於)銻-213(^{213}Bs)、碳-14(^{14}C)、碳-11(^{11}C)、氯-18(Cl^{18})、鉻-51(^{51}Cr)、鈷-57(^{57}Co)、鈷-60(^{60}Co)、銅-64(^{64}Cu)、銅-67(^{67}Cu)、鐳-165(^{165}Dy)、鉬-169(^{169}Er)、氟-18(^{18}F)、鎵-67(^{67}Ga)、鎵-68(^{68}Ga)、鍺-

68(^{68}Ge)、鈦-166(^{166}Ho)、銦-111(^{111}In)、碘-125(^{125}I)、碘-123(^{124}I)、碘-124(^{124}I)、碘-131(^{131}I)、銥-192(^{192}Ir)、鐵-59(^{59}Fe)、氬-81(^{81}Kr)、鉛-212(^{212}Pb)、鐳-177(^{177}Lu)、鉬-99(^{99}Mo)、氮-13(^{13}N)、氧-15(^{15}O)、鈀-103(^{103}Pd)、磷-32(^{32}P)、鉀-42(^{42}K)、銑-186(^{186}Re)、銑-188(^{188}Re)、銣-81(^{81}Rb)、銣-82(^{82}Rb)、釷-153(^{153}Sm)、金西-75(^{75}Se)、鈉-24(^{24}Na)、銣-82(^{82}Sr)、銣-89(^{89}Sr)、硫35(^{35}S)、鎔-99m(^{99}Tc)、鉍-201(^{201}Tl)、氫(^3H)、氙-133(^{133}Xe)、鐳-169(^{169}Yb)、鐳-177(^{177}Yb)及釷-90(^{90}Y)。

細胞毒性劑

本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可結合至細胞毒性劑，包括(但不限於)甲胺喋呤、胺基喋呤、6-巰基喋呤、6-硫鳥喋呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶、胺烯咪胺；烷基化劑，諸如氮芥、硫替派、苯丁酸氮芥、美法倫、卡莫司汀(BSNU)、絲裂黴素C、洛莫司汀(CCNU)、1-甲基亞硝基脲、環硫磷醯胺、氮芥、白消安、二溴甘露醇、鏈脲菌素、絲裂黴素C、順-二氯二胺鉑(II)(DDP)、順鉑及卡鉑(carboplatin)(伯爾定(paraplatin))；蒽環黴素，包括道諾黴素(原先為柔紅黴素)、小紅莓(阿黴素)、地托比星(detorubicin)、洋紅黴素(carminomycin)、黃膽素(idarubicin)、表柔比星(epirubicin)、米托蒽醌及比生群(bisantrene)；抗生素，包括更生黴素(放線菌素D)、博萊黴素、刺孢黴素(calicheamicin)、光神黴素及安麩黴素(AMC)；及抗有絲分裂劑，諸如長春花生物鹼、長春新

鹼及長春鹼。其他細胞毒性劑包括太平洋紫杉醇 (paclitaxel)(TAXOL[®])、蓖麻毒素、假單胞菌外毒素、吉西他濱 (gemcitabine)、細胞遲緩素B、短桿菌素D、溴化乙錠、吐根素、依託泊苷、特諾波賽、秋水仙鹼、二羥基炭疽菌素二酮、1-去氫鞣固酮、糖皮質激素、普魯卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛爾、嘌呤黴素、丙卡巴肼 (procarbazine)、羥脲、天冬醯胺酶、皮質類固醇、米托坦 (mytotane)(O,P'-(DDD))、干擾素及此等細胞毒性劑之混合物。

其他細胞毒性劑包括(但不限於)化學治療劑，諸如卡鉑、順鉑、太平洋紫杉醇、吉西他濱、刺孢黴素、小紅莓、5-氟尿嘧啶、絲裂黴素C、放線菌素D、環磷醯胺、長春新鹼、博萊黴素、VEGF拮抗劑、EGFR拮抗劑、鉑類、紫杉醇、伊立替康 (irinotecan)、5-氟尿嘧啶、吉西他濱、甲醯四氫葉酸 (leucovorine)、類固醇、環磷醯胺、美法倫、長春花生物鹼(例如長春鹼、長春新鹼、長春地辛及長春瑞濱 (vinorelbine))、氮芥類 (mustine)、酪胺酸激酶抑制劑、放射療法、性激素拮抗劑、選擇性雄激素受體調節劑、選擇性雌激素受體調節劑、PDGF拮抗劑、TNF拮抗劑、IL-1拮抗劑、介白素(例如IL-12或IL-2)、IL-12R拮抗劑、Erbix[®]、Avastin[®]、帕妥珠單抗 (Pertuzumab)、抗-CD20抗體、Rituxan[®]、奧克麗珠單抗 (ocrelizumab)、奧法木單抗 (ofatumumab)、DXL625、Herceptin[®]或其任何組合。來自植物及細菌之毒性酶(諸如蓖麻毒素、白喉毒素

及假單胞菌毒素)可結合至人類化抗體或其結合片段以產生細胞類型特異性殺死試劑。Youle等人, (1980) **Proc. Nat'l Acad. Sci. USA** 77: 5483 ; Gilliland等人, (1980) **Proc. Nat'l Acad. Sci. USA** 77: 4539 ; Krolick等人, (1980) **Proc. Nat'l Acad. Sci. USA** 77: 5419。其他細胞毒性劑包括細胞毒性核糖核酸酶。參見美國專利第6,653,104號。

本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可結合至發射 α 或 β 粒子之放射性核種(例如放射性免疫結合物)。該等放射性同位素包括(但不限於) β -發射體, 諸如磷-32(^{32}P)、釷-47(^{47}Sc)、銅-67(^{67}Cu)、鎳-67(^{67}Ga)、釷-88(^{88}Y)、釷-90(^{90}Y)、碘-125(^{125}I)、碘-131(^{131}I)、釷-153(^{153}Sm)、鐳-177(^{177}Lu)、銩-186(^{186}Re)、銩-188(^{188}Re) ; 及 α -發射體, 諸如砒-211(^{211}At)、鉛-212(^{212}Pb)、鉍-212(^{212}Bi)、鉍-213(^{213}Bi)或銻-225(^{225}Ac)。

使本文所述之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合至標記的方法在此項技術中為已知的, 諸如由Hunter等人, (1962) **Nature** 144: 945 ; David等人, (1974) **Biochemistry** 13: 1014 ; Pain等人, (1981) **J. Immunol. Meth.** 40: 219 ; 及Nygren (1982) **Histochem and Cytochem**, 30: 407所述之方法。

基質

本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可連接至基質。此項技術中已知之多種基質(例如固體支撐物)適用於本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及

抗-KIR2DL3 抗體。該基質可經改質而含有通道或其他組態。參見 Fung (2004)[編] **Protein Arrays: Methods and Protocols** Humana Press ; 及 Kambhampati (2004)[編] **Protein Microarray Technology** John Wiley & Sons。

基質材料包括(但不限於)丙烯酸系物質、瓊脂糖、硼矽酸鹽玻璃、碳(例如碳奈米纖維薄片或小球)、乙酸纖維素、纖維素、陶瓷、凝膠、玻璃(例如無機、受控微孔、經改質、鈉鈣或官能化玻璃)、乳膠、磁性珠粒、膜、金屬、類金屬、硝化纖維、NYLON[®]、光學纖維束、有機聚合物、紙、塑膠、聚丙烯醯基嗎啉、聚(4-甲基丁烯)、聚(對苯二甲酸伸乙酯)、聚(丁酸乙烯酯)、聚丙烯醯胺、聚丁烯、聚碳酸酯、聚乙烯、聚對苯二甲酸乙二醇酯、聚甲醛、聚甲基丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸甲酯、聚丙烯、多醣、聚苯乙烯、聚胺基甲酸酯、聚乙酸乙烯酯、聚氯乙炔、聚偏二氟乙炔(PVDF)、聚乙炔基吡咯啉酮、人造絲、樹脂、橡膠、半導體材料、sepharose[®]、二氧化矽、矽、苯乙烯共聚物、TEFLON[®]及多種其他聚合物。

基質無須為平坦的且可包括任何類型之形狀，包括球形形狀(例如珠粒)或圓柱形形狀(例如纖維)。連接至固體支撐物之物質可連接至固體支撐物之任何部分(例如，可連接至多孔固體支撐物材料之內部部分)。

基質主體可呈珠粒、盒、管柱、圓柱體、圓盤、器皿(例如玻璃皿、皮氏培養皿(PETRI dish))、纖維、膜、過濾器、微量滴定盤(例如96孔微量滴定盤)、多刃棒狀物、網

狀物、小球、培養盤、環、桿狀物、圓筒、薄片、載片、條狀物、托盤、管或小瓶形式。基質可為單一個別主體(例如單個管、單個珠粒)、大量複數個基質主體(例如具有10個管之試管架、若干珠粒)，或其組合(例如包含複數個微量滴定盤的托盤、經珠粒填充之管柱、經珠粒填充之微量滴定盤)。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體在其經由非隨機化學或物理相互作用與固體基質締合時可「連接」至基質。可經由共價鍵連接。然而，連接無須為共價或永久性連接。物質可經由「間隔分子」或「連接基團」連接至基質。該等間隔分子為具有連接至生物物質之第一部分以及連接至基質之第二部分的分子。因此，當連接至基質時，間隔分子分離基質與生物物質，但連接至兩者。將生物物質(例如標記)連接至基質的方法在此項技術中為熟知的，且包括(但不限於)化學偶合。

可使用支撐且含有用於固相合成反應之固相的培養盤(諸如微量滴定盤)。微量滴定盤可容納用作固相之珠粒。「粒子」或「微粒」或「奈米粒子」或「珠粒」或「微珠粒」或「微球體」在本文中意謂具有任何多種形狀或尺寸之微粒物質。形狀一般可為球形，但並非必需為球形，可為例如圓柱形或多面體。如由熟習此項技術者所瞭解，粒子可包含多種材料，視其用途而定，包括(但不限於)交聯澱粉；聚葡萄糖；纖維素；蛋白質；有機聚合物，包括聚乙烯聚合物，諸如聚苯乙烯及甲基苯乙烯以及其他苯乙烯

共聚物；塑膠；玻璃；陶瓷；丙烯酸聚合物；磁性反應性材料；膠體；(梭立亞索)thoriasol；碳石墨；二氧化鈦；耐綸；乳膠；及 TEFLON[®]。參見例如「Microsphere Detection Guide」, Bangs Laboratories, Fishers, IN。

本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可連接至本文所述之任何形式之基質上(例如珠粒、盒、管柱、圓柱體、圓盤、器皿(例如玻璃皿、皮氏培養皿)、纖維、膜、過濾器、微量滴定盤(例如96孔微量滴定盤)、多刃棒狀物、網狀物、小球、培養盤、環、桿狀物、圓筒、薄片、載片、條狀物、托盤、管或小瓶)。特定而言，粒子或珠粒可為膠凝材料之組分或可為各別組分，諸如由多種合成塑膠(例如聚苯乙烯)製成之乳膠珠粒。標記(例如抗生素蛋白鏈菌素)可結合至基質(例如珠粒)。

醫藥組合物

「醫藥組合物」係指適於投與哺乳動物之化學或生物組合物。該等組合物可經特定調配以經由多種途徑中之一或多種途徑投與，該等途徑包括(但不限於)經頰、表皮、硬膜外、吸入、動脈內、心內、腦室內、皮內、肌肉內、鼻內、眼內、腹膜內、脊柱內、鞘內腔、靜脈內、經口、非經腸、經由灌腸劑或栓劑經直腸、皮下、真皮下、舌下、經皮及經黏膜。另外，可藉助於注射劑、粉末、液體、凝膠、滴劑或其他投藥方式進行投藥。

「醫藥賦形劑」或「醫藥學上可接受之賦形劑」為當中

調配有活性治療劑之載劑，通常為液體。在本發明之一個實施例中，活性治療劑為本文所述之人類化抗體或其一或多個片段。賦形劑一般不向調配物提供任何藥理學活性，但其可提供化學及/或生物穩定性及釋放特徵。例示性調配物可見於例如 Grennaro (2005)[編] **Remington: The Science and Practice of Pharmacy** [第21版]中。

醫藥組合物在製造及儲存條件下通常須為無菌且穩定的。本發明預期醫藥組合物以凍乾形式存在。組合物可調配成溶液、微乳液、脂質體或適於高藥物濃度之其他有序結構。載劑可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇及液體聚乙二醇)及其適合混合物之溶劑或分散介質。本發明進一步涵蓋在醫藥組合物中包括穩定劑。

本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可調配成各種劑型之醫藥組合物。為製備本發明之醫藥組合物，可根據為熟習醫藥調配技術者所熟知之技術將至少一種KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3作為活性成分與適當載劑及添加劑緊密混合。參見 Grennaro (2005)[編] **Remington: The Science and Practice of Pharmacy** [第21版]。舉例而言，可在磷酸鹽緩衝生理食鹽水(pH 7.2)中調配本文所述之抗體且以5.0 mg/mL澄清無色液體溶液形式提供。

同樣，液體製劑之組合物包括溶液、乳液、分散液、懸浮液、糖漿及醃劑，其中適合載劑及添加劑包括(但不限於)水、醇、油、二醇、防腐劑、調味劑、著色劑及懸浮

劑。非經腸投與之典型製劑包含活性成分，其中載劑為諸如無菌水或非經腸可接受之油，包括(但不限於)聚乙二醇、聚乙烯吡咯啉酮、卵磷脂、花生油或芝麻油，其中亦可包括其他有助於溶解或防腐之添加劑。在溶液之狀況下，可將其凍乾成粉末且接著在臨用前復原。對於分散液及懸浮液，適當載劑及添加劑包括水性樹膠、纖維素、矽酸鹽或油。

對於所述之各實施例，本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可藉由多種劑型投與。涵蓋任何為一般技術者所知之生物學上可接受之劑型及其組合。該等劑型之實例包括(不限於)可復原粉末、醃劑、液體、溶液、懸浮液、乳液、散劑、顆粒、粒子、微粒、可分散顆粒、扁膠劑、吸入劑、氣溶膠吸入劑、貼片、粒子吸入劑、植入物、儲槽式植入物、可注射劑(包括皮下、肌肉內、靜脈內及皮內)、輸注劑及其組合。

在多種狀況下，在組合物中較佳包括例如糖、多元醇(諸如甘露糖醇、山梨糖醇)或氯化鈉之等張劑。可藉由在組合物中包括延緩吸收劑(例如單硬脂酸鹽及明膠)來達成可注射組合物之延長吸收。此外，本文所述之化合物可調配成延時釋放調配物，例如包括緩慢釋放聚合物之組合物。本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可用針對快速釋放保護化合物之載劑來製備，諸如控制釋放調配物，包括植入物及微囊封傳遞系統。可使用生物可降解之生物相容性聚合物，諸如乙烯乙酸乙烯酯、聚

酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯、聚乳酸及聚乳酸系、聚乙醇酸共聚物(PLG)。許多製備該等調配物之方法為熟習此項技術者所知。

亦可在組合物中併入輔助性活性化合物。

如所指示，該等組合物可另外包含所需抗原，例如腫瘤抗原或另一免疫調節化合物，諸如Toll樣受體促效劑；第1型干擾素，諸如 α 及 β 干擾素；及CD40促效劑，諸如促效性CD40抗體及抗體片段，較佳抗-人類CD40促效抗體及抗體片段，或其他免疫增強劑或抑制劑，諸如PD-L1、PD-L2、CTLA4融合蛋白及對其具特異性之抗體。

包含本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體之組合物可進一步包含抗原或其他免疫促效劑。抗原可以與組合之其他組分組合可有效針對抗原產生免疫反應的量投與。舉例而言，抗原可以約100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約100 mg/kg 之量投與。在一些實施例中，抗原可以約10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約10 mg/kg 之量投與。在一些實施例中，抗原可以約1 mg/kg 至約5 mg/kg 之量投與。然而，構成有效產生免疫反應之量的抗原之特定量在某種程度上視某些因素而定，諸如所投與之特定抗原；所投與之特定促效劑及其量；所投與之特定促效劑及其量；免疫系統之狀態；投與促效劑及抗原之方法及次序；投與調配物之物種；及所需治療結果。因此，一般闡述構成抗原之有效量的量並非切實可行。然而，一般技術者可在適當考慮該等因素的情況下容易地確定適當量。

醫藥學上可接受之載劑

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可與一或多種適於一或多種預期投藥途徑之載劑(稀釋劑、賦形劑及其類似物)及/或佐劑組合以提供醫藥學上可接受之組合物。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可例如與以下混合：乳糖、蔗糖、粉末(例如澱粉粉末)、烷酸之纖維素酯、硬脂酸、滑石、硬脂酸鎂、氧化鎂、磷酸及硫酸之鈉鹽及鈣鹽、阿拉伯膠、明膠、海藻酸鈉、聚乙烯吡咯啶及/或聚乙烯醇，且視情況進一步製錠或囊封以用於習知投藥。或者，可將抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體溶解於生理食鹽水、水、聚乙二醇、丙二醇、羧甲基纖維素膠體溶液、乙醇、玉米油、花生油、棉籽油、芝麻油、黃耆膠及/或各種緩衝劑中。其他載劑、佐劑及投藥方式在醫藥技術中為熟知的。載劑或稀釋劑可包括時間延遲物質，諸如單獨單硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯或連同蠟，或其他功能上相似之物質。

醫藥學上可接受之載劑一般包括生理學上與抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體相容之任何及所有適合之溶劑、分散介質、塗佈劑、抗細菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑及其類似物。醫藥學上可接受之載劑之實例包括水、生理食鹽水、磷酸鹽緩衝生理食鹽水、右旋糖、甘油、乙醇及其類似物，以及其任何組合。在多種狀況下，在該種組合物中可能需要包括例如糖、多

元醇(諸如甘露糖醇、山梨糖醇)或氯化鈉之等張劑。醫藥學上可接受之物質(諸如濕潤劑)或少量之助劑物質(諸如濕潤劑或乳化劑、防腐劑或緩衝劑)可合乎需要地延長抗-KIR抗體、相關組合物或組合之存放期或增強其有效性。載劑及醫藥組合物之其他組分的適合性係基於對抗體之所需生物學特性無顯著負面影響來確定。

本發明之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體組合物、相關組合物及組合可呈多種適合形式。該等形式包括例如液體、半固體及固體劑型，諸如液體溶液(例如可注射及可輸注溶液)、分散液或懸浮液、乳液、微乳液、錠劑、丸劑、散劑、脂質體、樹狀體及其他奈米粒子(參見例如Baek等人, *Methods Enzymol.* 2003;362:240-9; Nigavekar等人, *Pharm Res.* 2004年3月;21(3):476-83)、微粒及栓劑。調配物、鹽進一步描述於WO 2006/072625中。

通常，呈可注射或可輸注溶液形式之組合物，諸如類似於用於以其他抗體使人類被動免疫之組合物的組合物可用於傳遞本發明之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。傳遞抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體組合物之典型模式為非經腸投藥(例如靜脈內、皮下、腹膜內及/或肌肉內投藥)。在一個態樣中，藉由靜脈內輸注或注射向人類患者投與抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

用於醫藥用途之組合物亦可包括各種稀釋劑、填充劑、

鹽、緩衝劑、清潔劑(例如非離子型清潔劑，諸如 Tween-80)、穩定劑(例如糖或無蛋白質胺基酸)、防腐劑、組織固定劑、增溶劑及/或其他適於包括於用於醫藥用途之組合物中之物質。適合組分之實例亦描述於例如 Berge 等人, J. Pharm. Sci., 6661), 1-19 (1977) ; Wang 及 Hanson, J. Parenteral. Sci. Tech: 42, S4-S6 (1988) ; 美國專利第 6,165,779 號及第 6,225,289 號中。該種醫藥組合物亦可包括防腐劑、抗氧化劑或其他為熟習此項技術者所知之添加劑。其他醫藥學上可接受之載劑在此項技術中為已知的。參見例如 WO 2006/072625 中之參考文獻。

熟習此項技術者將能經由例如由本文中之揭示內容及以下參考文獻中之教示所指導的常規實驗來確定有效劑量及投藥頻率：Goodman 等人, (2011) **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics** [第 12 版]；Howland 等人, (2005) **Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology** [第 2 版]；及 Golan, (2008) **Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy** [第 2 版]。亦參見 Grennaro (2005)[編] **Remington: The Science and Practice of Pharmacy** [第 21 版]。

投藥途徑

本文所述之組合物可以以下任何途徑投與：經頰、表皮、硬膜外、輸注、吸入、動脈內、心內、腦室內、皮內、肌肉內、鼻內、眼內、腹膜內、脊柱內、鞘內腔、靜脈內、經口、非經腸、肺部、經由灌腸劑或栓劑經直腸、

皮下、真皮下、舌下、經皮及經黏膜。較佳之投藥途徑為靜脈內注射或輸注。投藥可為局部投藥，其中組合物直接在接近於疾病部位處、在疾病部位局部、附近、疾病部位處、周圍或四周投與，例如局部化；或全身投藥，其中給與患者組合物且組合物廣泛地通過全身，從而達到疾病部位。局部投藥(例如注射)可藉由向患有疾病及/或受疾病影響及/或疾病體征及/或症狀具活動性或有可能出現(例如腫瘤部位)之細胞、組織、器官及/或器官系統投藥來達成。投藥可為表面投藥而具有局部作用，將組合物直接施與需要其作用處(例如炎症或疼痛部位)。

對於所述之各實施例，化合物可藉由如此項技術中所知之多種劑型投與。涵蓋任何為一般技術者所知之生物學上可接受之劑型及其組合。該等劑型之實例包括(不限於)可咀嚼錠劑、快速溶解錠劑、起泡錠劑、可復原粉末、醃劑、液體、溶液、懸浮液、乳液、錠劑、多層錠劑、雙層錠劑、膠囊、軟明膠膠囊、硬明膠膠囊、囊片、口含錠、可咀嚼口含錠、珠粒、散劑、膠狀物、顆粒、粒子、微粒、可分散顆粒、扁膠劑、灌洗劑、栓劑、乳膏劑、表面劑、吸入劑、氣溶膠吸入劑、貼片、粒子吸入劑、植入物、儲槽式植入物、可攝取劑、可注射劑(包括皮下、肌肉內、靜脈內及皮內)、輸注劑及其組合。

混合物可包括之其他化合物為例如醫藥惰性成分(例如固體及液體稀釋劑)，諸如乳糖、右旋糖、蔗糖、纖維素、澱粉或磷酸鈣(對於錠劑或膠囊)、橄欖油或油酸乙酯

(對於軟膠囊)及水或植物油(對於懸浮液或乳液);潤滑劑,諸如二氧化矽、滑石、硬脂酸、硬脂酸鎂或硬脂酸鈣及/或聚乙二醇;膠凝劑,諸如膠態黏土;增稠劑,諸如黃耆樹膠或海藻酸鈉;黏合劑,諸如澱粉、阿拉伯樹膠、明膠、甲基纖維素、羧甲基纖維素或聚乙烯吡咯啉酮;崩解劑,諸如澱粉、海藻酸、海藻酸鹽或羥基乙酸澱粉鈉;起泡混合物;染料;甜味劑;濕潤劑,諸如卵磷脂、聚山梨醇酯或硫酸月桂酯;及其他治療上可接受之輔助成分,諸如保濕劑、防腐劑、緩衝劑及抗氧化劑,其為已知用於該等調配物之添加劑。

用於經口投藥之液體分散液可為糖漿、乳液、溶液或懸浮液。糖漿可含有例如蔗糖或蔗糖以及甘油及/或甘露糖醇及/或山梨糖醇作為載劑。懸浮液及乳液可含有載劑,例如天然樹膠、瓊脂、海藻酸鈉、果膠、甲基纖維素、羧甲基纖維素或聚乙烯醇。

在其他實施例中,本發明提供套組,其包括一或多個包含藥物劑量單位之容器,該等藥物劑量單位包含有效量之一或多種本發明抗體及其片段。套組可包括說明書、用法說明書、標籤、銷售資訊、警告或資訊小冊子。

劑量

在根據本發明之任何實施例之治療組合物中本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體之量可視諸如以下之因素而變化:疾病病況、年齡、性別、體重、患者病史、風險因素、疾病易感性、投藥途徑、既有治療

程(例如可能與其他藥物相互作用)及個體體重。給藥方案可經調整以提供最佳治療反應。舉例而言，可投與單次快速給藥(bolus)，可隨時間推移投與若干分次劑量，或可按治療情況之緊急需要指示按比例減小或增加劑量。

出於投藥簡便性及劑量均一性考慮，將非經腸組合物調配成單位劑型尤其有利。如本文所用之單位劑型係指適合作為單一劑量用於所治療哺乳動物個體的物理個別單元；各單元含有經計算以產生所需治療作用之預定量的抗體及其片段以及所需醫藥載劑。本發明之單位劑型的規格由以下因素支配且直接視以下因素而定：抗體及其片段之獨特特徵及欲達成之特定治療作用，及混配該等抗體及其片段以治療個體之敏感性之技術內所固有之限制因素。在治療本發明之抗體及其片段或其適當醫藥組合物可具有效性之哺乳動物(例如人類)之病狀的治療性使用中，可投與有效量之本發明抗體及其片段。適用於本發明之劑量可為組合物、醫藥組合物或任何其他本文所述之組合物。

劑量可以單次劑量、兩次劑量、三次劑量、四次劑量及/或五次劑量投與。該等劑量可單獨、同時及依序投與。

劑型可為為一般技術者所知之任何釋放形式。本發明之組合物可經調配以提供活性成分之立即釋放或活性成分之持續或控制釋放。在持續釋放或控制釋放製劑中，活性成分可以一定速率進行釋放以使得血液含量在延長時段(例如4至24小時)內維持在治療範圍內，但低於毒性含量。較佳劑型包括立即釋放、延長釋放、脈衝式釋放、可變釋

放、控制釋放、定時釋放、持續釋放、延遲釋放、長效劑型及其組合，且在此項技術中為已知的。

如本文所定義，蛋白質或多肽之治療有效量(亦即有效劑量)處於每公斤體重約0.001至30 mg，較佳每公斤體重約0.01至25 mg，更佳每公斤體重約0.1至20 mg，及甚至更佳每公斤體重約1至10 mg、每公斤體重2至9 mg、每公斤體重3至8 mg、每公斤體重4至7 mg，或每公斤體重5至6 mg範圍內。熟練技術人員應瞭解，某些因素可能影響有效治療個體所需之劑量，包括(但不限於)疾病或病症之嚴重度、先前治療、個體一般健康狀況及/或年齡及存在之其他疾病。此外，用治療有效量之蛋白質、多肽或抗體治療個體可包括單一治療或較佳可包括一系列治療。

在一個較佳實例中，每週一次用每公斤體重約0.1至20 mg範圍內之抗體、蛋白質或多肽治療個體，持續約1至10週，較佳2至8週，更佳約3至7週，及甚至更佳約4、5或6週。亦應瞭解，用於治療之抗體、蛋白質或多肽之有效劑量在特定治療過程中可增加或降低。劑量改變可因如本文所述之診斷分析之結果而出現且變得顯而易見。

應瞭解，組合物之藥理學活性可使用此項技術中已知之標準藥理學模型來監測。此外，應瞭解包含抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體或其抗原結合片段之組合物可併入或囊封於適合聚合物基質或膜中以用於部位特異性傳遞，或可用能夠達成部位特異性傳遞之特定靶向劑官能化。此等技術以及其他藥物傳遞技術在此項技術中為熟

知的。確定特定情形之最佳劑量處於熟習此項技術者之能力範圍內。參見例如 Grennaro (2005)[編] **Remington: The Science and Practice of Pharmacy** [第21版]。

治療發炎及自體免疫病症

本發明提供治療或預防患有或易患發炎或自體免疫病症之個體之發炎或自體免疫病症的治療方法，其中治療涉及抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體組合物及/或相關組合物。

舉例而言，已報導在患有發炎性腸病(IBD)及克羅恩氏病之患者體內KIR2DL2表現量升高。參見Wilson等人，(2010) **Human Immunol.** 71(3): 293-7。

本文所述之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3抗體可用於治療T細胞介導之發炎及自體免疫病症之組合物、用途及方法中，該等病症為諸如全身性紅斑狼瘡、韋格納氏肉芽腫病、自體免疫肝炎、克羅恩氏病、硬皮病、潰瘍性結腸炎、休格連氏症候群、葡萄膜炎、第1型糖尿病、心肌炎、風濕熱、僵直性脊椎炎、類風濕性關節炎、多發性硬化症或牛皮癬。

本文所述之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3抗體可用於治療自體免疫疾病或病症之組合物、用途及方法中。自體免疫疾病或病症之實例包括(但不限於)後天免疫缺乏症候群(AIDS)、後天脾萎縮、急性前葡萄膜炎、急性播散性腦脊髓炎(ADEM)、急性痛風性關節炎、急性壞死性出血性腦白質炎、急性或慢性竇炎、急性化膿性腦膜炎(或其

他中樞神經系統發炎病症)、急性嚴重炎症、艾迪森氏病、腎上腺炎、成人發作型糖尿病(第II型糖尿病)、成人發作型特發性副甲狀腺低能症(AOIH)、無 γ 球蛋白血症、顆粒球缺乏症、血管炎病(包括血管炎(包括大血管血管炎(包括風濕性多肌痛及巨細胞性(高安氏)關節炎))、過敏病狀、過敏性接觸性皮炎、過敏性皮炎、過敏性肉芽腫性血管炎、過敏病症、過敏性神經炎、過敏反應、斑形脫髮、全禿、阿爾波特氏症候群、肺泡炎(例如過敏性肺泡炎及纖維化肺泡炎)、阿茲海默氏病、澱粉樣變性、肌萎縮性側索硬化(ALS; 葛雷克氏病)、嗜伊紅血球相關病症(例如嗜伊紅血球增多)、全身性過敏反應、僵直性脊椎炎、血管擴張、抗體介導之腎炎、抗-GBM/抗-TBM腎炎、抗原-抗體複合物介導之疾病、抗絲球體基底膜病、抗-磷脂抗體症候群、抗磷脂症候群(APS)、口瘡、口瘡性口炎、再生不能性貧血、心律不整、動脈硬化、動脈硬化病症、關節炎(例如類風濕性關節炎, 諸如急性關節炎、慢性類風濕性關節炎)、慢性漸進性關節炎、變形性關節炎、蛔蟲病、麴黴腫(或含有嗜伊紅血球之肉芽腫)、麴菌病、無精液症、哮喘(例如支氣管哮喘及自體免疫哮喘)、共濟失調毛細管擴張症、共濟失調硬化、動脈粥樣硬化、自閉症、自體免疫血管性水腫、自體免疫再生不能性貧血、自體免疫萎縮性胃炎、自體免疫糖尿病、睪丸及卵巢之自體免疫疾病(包括自體免疫睪丸炎及卵巢炎)、與膠原病有關之自體免疫病症、自體免疫自主神經障礙、自體免疫耳部疾病

(例如自體免疫內耳疾病(AGED))、自體免疫內分泌疾病(包括甲狀腺炎，諸如自體免疫甲狀腺炎)、自體免疫腸病症候群、自體免疫性腺衰竭、自體免疫聽力喪失、自體免疫溶血、自體免疫肝炎、自體免疫肝臟病症、自體免疫高脂質血症、自體免疫免疫缺乏症、自體免疫內耳疾病(AIED)、自體免疫心肌炎、自體免疫嗜中性球減少症、自體免疫胰臟炎、自體免疫多內分泌病、第I型自體免疫多腺體症候群、自體免疫視網膜病、自體免疫血小板減少性紫癜(ATP)、自體免疫甲狀腺病、自體免疫蕁麻疹、自體免疫介導之胃腸疾病、軸突及神經元神經病、巴婁病、白塞氏病、良性家族性及缺血再灌注損傷、良性淋巴球性血管炎、伯格氏病(IgA腎病)、養鳥者肺、失明、伯克氏病、阻塞性細支氣管炎(非移植)伴有NSIP、支氣管炎、支氣管肺炎麴菌病、布魯頓氏症候群、大皰性類天疱瘡、卡普蘭氏症候群、心肌病、心血管缺血、卡斯曼氏症候群、乳糜瀉、脂肪便症(麩質性腸病)、小腦退化、大腦缺血及伴有血管形成之疾病、恰加斯氏病、通道病(例如癲癇症)、CNS通道病、脈絡膜視網膜炎、脈絡膜炎、自體免疫血液學病症、慢性活動性肝炎或自體免疫慢性活動性肝炎、慢性接觸性皮炎、慢性嗜伊紅血球肺炎、慢性疲勞症候群、慢性肝炎、慢性過敏性肺炎、慢性發炎性關節炎、慢性發炎性髓鞘脫失多神經病(CIDP)、慢性難治炎症、慢性黏膜與皮膚性念珠菌病、慢性神經病(例如IgM多神經病或IgM介導之神經病)、慢性阻塞性氣管疾病、慢性肺部發

炎疾病、慢性復發性多灶性骨髓炎(CRMO)、慢性甲狀腺炎(橋本氏甲狀腺炎)或亞急性甲狀腺炎、徹奇-斯全司症候群、癥痕性類天疱瘡/良性黏膜類天疱瘡、CNS發炎病症、CNS血管炎、腹腔病、柯剛氏症候群、冷凝集素病、息肉狀結腸炎、結腸炎(諸如潰瘍性結腸炎、膠原性結腸炎)、涉及T細胞浸潤及慢性發炎反應之病狀、先天性心臟傳導阻滯、先天性風疹感染、庫姆氏陽性貧血、冠狀動脈疾病、科沙奇病毒性心肌炎、CREST症候群(鈣質沉著、雷諾氏現象)、克羅恩氏病、冷球蛋白血症、庫欣氏症候群、睫狀體炎(例如慢性睫狀體炎、異時性睫狀體炎、虹膜睫狀體炎或福斯氏睫狀體炎)、囊腫性纖維化、細胞激素誘發之毒性、聾症、退化性關節炎、髓鞘脫失疾病(例如自體免疫髓鞘脫失疾病)、髓鞘脫失神經病、登革熱、疱疹樣皮炎及異位性皮炎、皮炎(包括接觸性皮炎)、皮膚炎、具有急性發炎組分之皮膚病、德維克氏病(視神經脊髓炎)、糖尿病性大動脈病症、糖尿病性腎病、糖尿病性視網膜病、戴-布二氏貧血、彌漫性間質性肺纖維化、擴張型心肌病、盤狀狼瘡、涉及白血球滲出之疾病、卓斯勒症候群、杜普伊特倫氏攣縮、埃可病毒感染、濕疹(包括過敏性或異位性濕疹)、腦炎(諸如羅氏腦炎及邊緣葉及/或腦幹腦炎)、腦脊髓炎(例如過敏性腦脊髓炎及實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE))、動脈內膜增生、心內膜炎、內分泌性眼病、子宮內膜異位症、心內膜心肌纖維化、晶狀體過敏性眼內炎、眼內炎、過敏性腸炎、嗜伊紅血球增多-肌痛

症候群、嗜伊紅血球性筋膜炎、流行性角膜結膜炎、後天性大皰性表皮鬆懈(EBA)、鞏膜外層、鞏膜外層炎、埃-巴二氏病毒感染、持久性隆起性紅斑、多形紅斑、麻風結節性紅斑、結節性紅斑、胎兒紅血球母細胞增多症、食道運動功能障礙、原發性混合型冷球蛋白血症、篩骨、伊文氏症候群、實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE)、因子VIII缺乏症、農民肺、風濕熱、費爾提氏症候群、肌肉纖維疼痛、纖維化肺泡炎、絲蟲病、局部區段性絲球體硬化症(FSGS)、食物中毒、額葉萎縮、胃萎縮、巨細胞性關節炎(顛關節炎)、巨細胞性肝炎、巨細胞性多肌痛、絲球體腎炎、伴有及不伴有腎病症候群之絲球體腎炎(GN)(諸如慢性或急性絲球體腎炎(例如原發性GN))、古德帕斯徹氏症候群、痛風性關節炎、顆粒球輸注相關症候群、肉芽腫病(包括淋巴瘤樣肉芽腫病)、伴有多血管炎之肉芽腫病(GPA)、肉芽腫性葡萄膜炎、格雷氏病、古立安-白瑞症候群、點狀牛皮癬、陣發性血紅素尿、黑-里二氏病、橋本氏病、橋本氏腦炎、橋本氏甲狀腺炎、血色病、溶血性貧血或免疫性溶血性貧血(包括自體免疫溶血性貧血(AIHA))、溶血性貧血、A型血友病、亨-舍二氏紫癍、妊娠疱疹、人類免疫缺乏病毒(HIV)感染、痛覺過敏、低 γ 球蛋白血症、性腺低能症、副甲狀腺低能症、特發性尿崩症、特發性面癱、特發性甲狀腺功能低下、特發性IgA腎病、特發性膜性GN或特發性膜性腎病、特發性腎病症候群、特發性肺纖維化、特發性口炎性腹瀉、特發性血小板

減少性紫癍(ITP)、IgA腎病、IgE介導之疾病(例如全身性過敏反應以及過敏性及異位性鼻炎)、IgG4相關硬化性疾病、局部迴腸炎、免疫複合物腎炎、與由細胞激素及T-淋巴球介導之急性及遲發型過敏症有關之免疫反應、免疫介導之GN、免疫調節性脂蛋白(包括成人或急性呼吸窘迫症候群(ARDS))、包涵體肌炎、感染性關節炎、由抗精原細胞抗體所致之不孕症、全部或部分葡萄膜炎、發炎性腸病(IBD)、發炎性過度增殖性皮膚疾病、發炎性肌病、胰島素依賴型糖尿病(第1型)、胰島炎、間質性膀胱炎、間質性肺病、間質肺纖維化、虹膜炎、缺血再灌注病症、關節炎、青少年關節炎、青少年皮肌炎、青少年糖尿病、青少年發作型(第I型)糖尿病(包括兒童胰島素依賴型糖尿病(IDDM))、青少年發作型類風濕性關節炎、川崎氏症候群、乾燥性角膜結膜炎、錐蟲病、藍伯-伊頓症候群、利什曼體病、麻風病、白血球減少症、白血球黏附缺乏症、白血球破碎性血管炎、白血球減少症、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、線性IgA皮膚病、線性IgA疾病(LAD)、呂弗勒氏症候群、類狼瘡性肝炎、狼瘡(包括腎炎、大腦炎、兒童、非腎、腎外、盤狀、脫髮)、狼瘡(SLE)、播散性紅斑狼瘡、萊姆關節炎、萊姆病、淋巴間質性肺炎、瘧疾、男性及女性自體免疫不孕症、上頷骨病、中血管血管炎(包括川崎氏病及結節性多動脈炎)、膜狀增生性或膜增生性GN(MPGN)(包括第I型及第II型)及快速進行性GN、膜性GN(膜性腎病)、美尼爾氏病、腦膜

炎、顯微性結腸炎、顯微性多血管炎、偏頭痛、微小腎病變、混合型結締組織病(MCTD)、感染性單核細胞增多症、莫倫氏潰瘍、穆-哈二氏病、多灶性運動神經病、多發性內分泌衰竭、多器官損傷症候群(諸如繼發於敗血症、創傷或出血之多器官損傷症候群)、多器官損傷症候群、多發性硬化症(MS)(諸如脊髓-眼MS)、多發性硬化症、流行性腮腺炎、肌肉病症、重症肌無力(諸如胸腺瘤相關重症肌無力)、重症肌無力、心肌炎、肌炎、發作性睡病、壞死性小腸結腸炎及透壁性結腸炎，及自體免疫發炎性腸病；壞死性、皮膚或過敏性血管炎；新生兒狼瘡症候群(NLE)、腎病、腎病症候群、神經疾病、視神經脊髓炎(德維克氏)、視神經脊髓炎、神經性肌強直、嗜中性球減少症、非癌性淋巴球增多症、非肉芽腫性葡萄膜炎、非惡性胸腺瘤、眼部及眼眶發炎病症、眼部瘢痕性類天疱瘡、卵巢炎、交感神經性眼炎、眼陣攣肌陣攣症候群(OMS)、眼陣攣或眼陣攣肌陣攣症候群(OMS)，及感覺神經病、視神經炎、肉芽腫性睪丸炎、骨關節炎、復發性風濕病、胰臟炎、全部血球減少症、PANDAS(與鏈球菌有關之兒童自體免疫神經精神病症)、腫瘤相關小腦退化、腫瘤相關症候群；腫瘤相關症候群，包括神經腫瘤相關症候群(例如藍伯-伊頓肌無力症候群或伊頓-藍伯症候群)；寄生生物疾病，諸如利什曼原蟲屬；陣發性夜間血紅素尿(PNH)、帕-羅二氏症候群、睫狀體平坦部炎(周邊葡萄膜炎)、帕-特二氏症候群、小病毒感染；類天疱瘡，諸如大

皰性類天疱瘡及皮膚類天疱瘡；天疱瘡(包括尋常天疱瘡)、紅斑性天疱瘡、落葉狀天疱瘡、天疱瘡黏膜類天疱瘡、天疱瘡、消化性潰瘍、週期性麻痺、周邊神經病、靜脈周邊性腦脊髓炎、惡性貧血、惡性貧血、晶狀體抗原性葡萄膜炎、肺硬化、POEMS症候群；結節性多動脈炎，第I型、第II型及第III型；原發性慢性多發性關節炎、多軟骨炎(例如難治或復發性多軟骨炎)、多內分泌腺自體免疫疾病、多內分泌異常、多腺體症候群(例如自體免疫多腺體症候群(或多腺體內分泌病症候群))、風濕性多肌痛、多發性肌炎、多發性肌炎/皮膚炎、多神經病、急性多神經根炎、心切開術後症候群、後葡萄膜炎或自體免疫葡萄膜炎、心肌梗塞後症候群、心包切開術後症候群、鏈球菌感染後腎炎、疫苗接種後症候群、早老性癡呆、原發性膽汁性肝硬化、原發性甲狀腺功能低下、原發性特發性黏液水腫；原發性淋巴球增多症，其包括單株B細胞淋巴球增多症(例如良性單株 γ 球蛋白病及意義未明之單株 γ 球蛋白病MGUS)；原發性黏液水腫、原發性進行性MS(PPMS)及復發-緩解型MS(RRMS)、原發性硬化性膽管炎、孕酮皮炎、進行性全身性硬化、增生性關節炎；牛皮癬，諸如斑塊型牛皮癬；牛皮癬、牛皮癬性關節炎、肺泡蛋白沈積症、肺部浸潤性嗜伊紅血球增多、純紅血球貧血或再生不良(PRCA)、純紅血球再生不良、化膿性或非化膿性竇炎、膿皰性牛皮癬及指甲牛皮癬、腎盂炎、壞疽性膿皮病、奎汶氏甲狀腺炎、雷諾氏現象、反應性關節炎、反覆流產、血

壓反應降低、反射性交感神經失養症、難治型口炎性腹瀉、萊特爾氏病或症候群、復發性多軟骨炎、心肌或其他組織再灌注損傷、再灌注損傷、呼吸窘迫症候群、腿不寧症候群、視網膜自體免疫、腹膜後纖維化、雷諾氏症候群、風濕性疾病、風濕熱、風濕病、類風濕性關節炎、類風濕性脊椎炎、風疹病毒感染、塞氏症候群、類肉瘤病、血吸蟲病、施密特症候群、SCID及埃-巴二氏病毒相關疾病、鞏膜、鞏膜炎、指硬皮病、硬皮病(包括全身性硬皮病)、硬化性膽管炎、播散性硬化；硬化，諸如全身性硬化；感覺神經性聽力喪失、血清反應陰性脊椎關節炎、席漢氏症候群、夏爾曼氏症候群、矽肺病、休格連氏症候群、精子及睪丸自體免疫、蝶竇炎、斯-約二氏症候群、僵人症候群、亞急性細菌性心內膜炎(SBE)、亞急性皮膚紅斑狼瘡、突發性聽力喪失、蘇薩克氏症候群、西登哈姆氏舞蹈病、交感神經性眼炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)(例如皮膚SLE)、全身性壞死性血管炎及ANCA相關血管炎，諸如徹奇-斯全司血管炎或症候群(CSS)；脊髓癆、高安氏動脈炎、毛細血管擴張、顛動脈炎/巨細胞性動脈炎、血栓閉塞性脈管炎；血小板減少症(例如如由心肌梗塞患者所顯現)，包括血栓性血小板減少性紫癍(TTP)，及自體免疫或免疫介導之血小板減少症，諸如特發性血小板減少性紫癍(ITP)，包括慢性或急性ITP；血小板減少性紫癍(TTP)、甲狀腺中毒症、組織損傷、托-享二氏症候群、中毒性表皮壞死溶解、中毒性休克症候群、輸血反應、嬰兒期短暫

性低 γ 球蛋白血症、橫貫性脊髓炎、熱帶肺性嗜伊紅血球增多、結核病、潰瘍性結腸炎、未分化型結締組織病(UCTD)、蕁麻疹(例如慢性過敏性蕁麻疹及慢性特發性蕁麻疹，包括慢性自體免疫蕁麻疹)、葡萄膜炎(例如前葡萄膜炎)、葡萄膜視網膜炎、瓣膜炎、血管功能障礙、血管炎、脊椎關節炎、水皰性皮膚病、白斑病、韋格納氏肉芽腫病(現稱作伴有多血管炎之肉芽腫病(GPA))、維斯科特-奧爾德里奇症候群及X性聯高IgM症候群

● 本文所述之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3抗體可用於治療發炎病狀及發炎疾病之組合物、用途及方法中。

發炎病狀及發炎疾病包括(但不限於)風濕性疾病(例如類風濕性關節炎、骨關節炎、牛皮癬性關節炎)、脊椎關節病(例如僵直性脊椎炎、反應性關節炎、萊特爾氏症候群)、結晶性關節病(例如痛風、假性痛風、焦磷酸鈣沈積病)、多發性硬化症、萊姆病、風濕性多肌痛；結締組織疾病(例如全身性紅斑狼瘡、全身性硬化、多發性肌炎、● 皮膚炎、休格連氏症候群)；血管炎病(例如結節性多動脈炎、韋格納氏肉芽腫病、徹奇-斯全司症候群)；發炎病狀，包括創傷或缺血之後果、類肉瘤病；血管疾病，包括動脈粥樣硬化性血管疾病、動脈粥樣硬化及血管阻塞性疾病(例如動脈粥樣硬化、缺血性心臟病、心肌梗塞、中風、周邊血管疾病)及血管支架再狹窄；眼部疾病，包括葡萄膜炎、角膜病、虹膜炎、虹膜睫狀體炎及白內障。

發炎病狀亦包括(但不限於)酸逆流/胃灼熱、瘡瘡、尋常

瘡瘡、過敏及敏感、阿茲海默氏病、哮喘、動脈粥樣硬化及血管阻塞性疾病(例如動脈粥樣硬化、缺血性心臟病、心肌梗塞、中風、周邊血管疾病)及血管支架再狹窄、自體免疫疾病、支氣管炎、癌症、心臟炎、白內障、乳糜瀉、慢性疼痛、慢性前列腺炎、肝硬化、結腸炎、結締組織病(例如全身性紅斑狼瘡、全身性硬化、多發性肌炎、皮膚炎、休格連氏症候群)、角膜病、克羅恩氏病、結晶性關節病(例如痛風、假性痛風、焦磷酸鈣沈積病)、癡呆、皮炎、糖尿病、乾眼症、濕疹、水腫、氣腫、肌肉纖維疼痛、胃腸炎、齒齦炎、絲球體腎炎、心臟病、肝炎、高血壓、過敏、發炎性腸病；發炎病狀，包括創傷或缺血之後果；胰島素抗性、間質性膀胱炎、虹膜睫狀體炎、虹膜炎、關節疼痛/關節炎/類風濕性關節炎、萊姆病、代謝症候群(症候群X)、多發性硬化症、肌炎、腎炎、肥胖症；眼部疾病，包括葡萄膜炎；骨質減少、骨質疏鬆症、帕金森氏症、骨盆發炎性疾病、牙周病、多動脈炎、多軟骨炎、風濕性多肌痛、牛皮癬、再灌注損傷、風濕性關節炎、風濕性疾病(例如類風濕性關節炎、骨關節炎、牛皮癬性關節炎)、類風濕性關節炎、類肉瘤病、硬皮病、竇炎、休格連氏症候群、結腸痙攣、脊椎關節病(例如僵直性脊椎炎、反應性關節炎、萊特爾氏症候群)、全身性念珠菌病、腱炎、移植排斥反應、UTI、陰道炎；血管疾病，包括動脈粥樣硬化性血管疾病；血管炎病(例如結節性多動脈炎、韋格納氏肉芽腫病、徹奇-斯全司症候群)及

血管炎。

本文中之術語「治療」係指傳遞有效量之該種調配物以達成預防任何症狀或疾病病況顯現之目的或以達成預防(例如預防或延遲進展)、減輕、改善或消除(治癒)已顯現之該等症狀或疾病病況的目的。術語「治療」因此意欲包括治療例如已在首次治療後經歷治療反應之個體的輕微或不可偵測之疾病，或治療確診及/或急性期疾病。

向個體傳遞抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體(藉由直接投藥或由其中核酸表現，諸如由包含抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體編碼核酸序列之痘病毒基因轉移載體表現)及實施本發明之其他方法可用於達成預防(例如預防或延遲進展)、減輕、改善或消除(治癒)已顯現之該等症狀或疾病病況的目的。

本發明之方法尤其可適用於降低及/或改善T細胞活性、增殖或數目(例如循環中或炎症部位處之已活化的促發炎T細胞(例如CD4+ T細胞、HLA-cw3及/或HLA-cw4陽性T細胞)的數目)及與其相關之任何參數或症狀(例如炎症標記含量)。獨立地及共同地減輕、預防或以其他方式改善發炎或自體免疫病症之該等態樣的方法為本發明之有利特徵。如本文所用之「T細胞」係指淋巴球之子群，其在胸腺中成熟且在其表面上呈現T細胞受體以及其他分子。T細胞可因某些特徵及生物學特性而得以鑑別，諸如表現特異性表面抗原，包括TCR、CD4或CD8；某些T細胞殺死腫瘤或感染細胞之能力；某些T細胞活化免疫系統之其他細胞的能

力；及釋放稱為細胞激素之刺激或抑制免疫反應之蛋白質分子的能力。此等任何特徵及活性可用於使用此項技術中熟知之方法來鑑別T細胞。在本發明之上下文中，「活性」或「活化」T細胞指生物活性T細胞，更尤其指具有細胞溶解或藉由例如分泌細胞激素來刺激免疫反應之能力的T細胞。活性細胞可在任何多種熟知方法(包括功能分析及基於表現之分析，諸如細胞激素(諸如TNF- α)表現)中偵測。

治療患有自體免疫或發炎疾病之個體的方法可包含投與該個體抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。在一個實施例中，個體患有已確診之自體免疫或發炎疾病(例如已診斷出延長時段，例如一年以上)、有進行性或活動性炎症之體征、有疾病之身體體征(例如關節腫脹、病變、神經症狀)、患有慢性疾病、患有重度疾病(如由適當準則所評定，例如類風濕性關節炎之DAS或ACR準則)或患有進展性疾病。

治療確診有自體免疫或發炎疾病之個體的方法可包含投與該個體抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。本發明提供使用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體(或相關組合物)治療自體免疫或發炎疾病之急性期或發作、危象、惡化或突發的方法，較佳其中在急性期期間或在自體免疫或發炎疾病發作、危象、惡化或突發期間投與個體抗體。疾病可選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、青少年特發性關節炎、多發性硬化症、克羅

恩氏病或直腸結腸炎、紅斑狼瘡、僵直性脊椎炎及相關疾病。在一個實施例中，疾病特徵在於存在表現抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3配體(例如HLA-cw3或HLA-cw4)之細胞，較佳特徵在於存在表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之CD4+ T細胞。該疾病特徵在於存在可偵測含量之蛋白水解酶、發炎介體、進行性炎症標記或促發炎細胞激素(例如TNF- α 及/或介白素-1(IL-1))。

疾病診斷、進展及分級(或分期)可由針對特定類型之疾病的標準醫學準則來定義以確定個體是否確診有疾病、處於急性期之疾病、進展性疾病、慢性疾病、有身體症狀或某種嚴重度之疾病。同樣，發作、危象、惡化或突發可由任何適合之醫學準則來鑑別。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可有利地用於治療確診之疾病。「確診之疾病」係指已在延長之時段(例如超過一年)內診斷出有自體免疫或發炎疾病。視特定疾病而定，確診之疾病亦意謂未得到控制，例如仍有進展或患者在治療存在或不存在下未經歷緩解的疾病。在一個態樣中，本發明提供治療患者之自體免疫或發炎疾病之方法，其包含：(a)確定該患者是否確診有疾病；及(b)若該患者確診有疾病，則投與該患者有效劑量之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體亦可有利地用於治療慢性疾病。「慢性疾病」係指持續延長時段之疾病。舉例而言，慢性疾病可為持續3個月或3個月以

上之疾病，如由美國國家健康統計中心(U.S. National Center for Health Statistics)所定義。在一個態樣中，本發明提供治療患者之自體免疫或發炎疾病之方法，其包含：
(a)確定該患者是否患有慢性疾病；及(b)若該患者患有慢性疾病，則投與該患者有效劑量之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體亦可有利地用於治療有發作、危象、惡化或突發之個體。術語「發作」、「危象」、「惡化」及「突發」表示與發炎或自體免疫疾病有關之新症狀較快速地進展或先前症狀惡化。與疾病經數月及數年緩慢進展相反，該等階段持續數小時或數天時段。在該等發作期間，患者遭受發熱、疼痛、發炎症候群(流感樣症候群)。在RA中，患者之關節腫脹及疼痛。患者可能遭受流感樣症候群。危象可能持續幾小時至數週。在多發性硬化症中，突發特徵在於新症狀或現有症狀惡化，但須持續至少24小時以視為真正惡化，突發表示腦或脊髓中形成破壞神經傳遞之新病變。大部分突發持續幾天或幾週，但可持續數月。影響可為例如：運動困難或痙攣、平衡及協調問題；視力問題、不協調眼球運動、視覺模糊或複視(double vision)、在突發期間部分失明；膀胱及腸症狀；性功能問題、心理功能改變：記憶喪失、注意力不集中及判斷力不良或抑鬱症。在克羅恩氏病或直腸結腸炎中，突發主要為常見克羅恩氏病症狀惡化：腹瀉、腹部絞痛、發熱、缺乏食慾。在一個態樣中，本發

明提供治療患者之自體免疫或發炎疾病之方法，其包含：
(a)確定該患者是否正經歷發作、危象、惡化或突發；(b)
若該患者經歷發作、危象、惡化或突發，則投與該患者有效劑量之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體亦可有利地用於治療有復發之個體。術語「復發」係指患者症狀改善或穩定化。疾病在患者之健康狀況或病狀改善時復發。在一個態樣中，本發明提供治療患者之自體免疫或發炎疾病之方法，其包含：(a)確定該患者是否正經歷復發、危象、惡化或突發；(b)若該患者經歷復發，則投與該患者有效劑量之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。

視情況而定，可進行HLA-cw3及/或HLA-cw4偵測步驟，其包含在用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療之前偵測患者體內HLA-cw3及/或HLA-cw4之存在。一般而言，在此步驟中，自患者獲取生物樣品，例如患有類風濕性關節炎之患者的例如滑液樣品。評定生物樣品中HLA-cw3及/或HLA-cw4多肽或核酸之存在。若生物樣品對於HLA-cw3及/或HLA-cw4之存在呈陽性，則接著可有利地用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療該患者。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以單療法(單一治療劑)形式使用。本發明之治療方法可進一步

包含用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以及第二治療劑治療個體，該第二治療劑包括通常用於達成投與抗體所達成之特定治療目的之藥劑。抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體與第二治療劑可單獨、共同或依序投與，或以混合液形式投與。第二治療劑通常以該藥劑在單療法中用於所治療之特定疾病或病狀通常所用的量投與。在一個實施例中，投與劑量小於普遍接受之有效劑量的第二治療劑；例如，在各種實施例中，投與包含普遍接受之有效劑量之約10%至75%以下之劑量的組合物。較佳，第二治療劑為降低蛋白水解酶、發炎介體或促發炎細胞激素(諸如TNF- α 及/或介白素-1(IL-1))之藥劑。較佳，第二治療劑為DMARD或DMD，視情況進一步其中第二治療劑為甲胺喋呤(Rheumatrex®、Trexall®)、羥基氣喹(Plaquenil®)、柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)(Azulfidine®)、來氟米特(leflunomide)(Arava®)、腫瘤壞死因子抑制劑(例如可溶性TNF α 受體，諸如依那西普(etanercept)(Enbrel®)、中和性(較佳非消耗性)抗-TNF α 抗體，諸如阿達木單抗(adalimumab)(Humira®)或塞妥珠單抗(Certolizumab pegol)(Cimzia®)、T細胞共刺激阻斷劑(例如阿巴西普(abatacept)(Orencia®)、介白素-1(IL-1)受體拮抗劑療法(阿那白滯素(anakinra)(Kineret®)、抗-BlyS抗體(Benlysta®)、蛋白體抑制劑(例如波普單抗(bortezomib))、酪胺酸激酶抑制劑、肌肉內金劑或另一免疫調節性或細胞毒性劑(例如硫唑嘌呤(Imuran®)、環磷醯胺、環孢素

A(cyclosporine A)(Neoral®、Sandimmune®))，或激酶抑制劑(例如 SYK 激酶抑制劑，諸如 氟斯替尼(fostimatinib)(R788)或 JAK1、JAK2 抑制劑，諸如 INCB28050、坦組單抗(tanezumab)或塔索替尼(tasocitinib)(CP-690,550))。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體在投與第二治療劑之前投與。舉例而言，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可在投與第二治療劑之前約0至30天投與。在一些實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體在投與第二治療劑之前約30分鐘至約2週、約30分鐘至約1週、約1小時至約2小時、約2小時至約4小時、約4小時至約6小時、約6小時至約8小時、約8小時至1天或約1至5天投與。在一些實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體與投與治療劑並行投與。抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體在投與第二治療劑之後投與。舉例而言，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可在投與第二治療劑之後約0至30天投與。在一些實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體在投與第二治療劑之後約30分鐘至約2週、約30分鐘至約1週、約1小時至約2小時、約2小時至約4小時、約4小時至約6小時、約6小時至約8小時、約8小時至1天或約1至5天投與。

組合物可進一步包含至少一種消炎劑、鎮痛劑或疾病改善性抗風濕藥(DMARD)。

消炎劑可選自由以下組成之群：類固醇、皮質酮、糖皮

質激素、強的松、潑尼松龍(prednisolone)、氫化可的松(Hydrocortisone)(皮質醇)、醋酸皮質酮、甲潑尼龍(Methylprednisolone)、地塞米松(Dexamethasone)、倍他米松(Betamethasone)、曲安西龍(Triamcinolone)、倍氯米松(Beclometasone)及醋酸氟氫可的松(Fludrocortisone acetate)、非類固醇消炎藥(NSAID)、布洛芬(ibuprofen)、萘普生(naproxen)、美儂西康(meloxicam)、依託度酸(etodolac)、萘丁美酮(nabumetone)、舒林酸(sulindac)、托來美汀(tolemin) 、膽鹼、水楊酸鎂、雙氯芬酸(diclofenac)、地夫西納(diflusal)、吲哚美辛(indomethacin)、酮洛芬(Ketoprofen)、奧沙普嗪(Oxaprozin)、吡羅昔康(piroxicam)及尼美舒利(nimesulide)、水楊酸鹽、阿司匹靈(Aspirin)(乙醯水楊酸)、雙氯尼酸(Diflunisal)、雙水楊酯(Salsalate)、對氨基苯酚衍生物、撲熱息痛(Paracetamol)、非那西汀(phenacetin)、丙酸衍生物、布洛芬、萘普生、非諾洛芬(Fenoprofen)、酮洛芬、氟比洛芬(Flurbiprofen)、奧沙普嗪、洛索洛芬(Loxoprofen)、乙酸衍生物、吲哚美辛、舒林酸、依託度酸、酮咯酸(Ketorolac)、雙氯芬酸(Diclofenac)、萘丁美酮、烯醇酸(昔康(Oxicam))衍生物、吡羅昔康、美儂西康、替諾昔康(Tenoxicam)、屈噁昔康(Droxicam)、氯諾昔康(Lornoxicam)、伊索昔康(Isoxicam)、芬那酸(Fenamic acid)衍生物(芬那酸酯)、甲滅酸(Mefenamic acid)、甲氯滅酸(Meclofenamic acid)、氟滅酸(Flufenamic acid)、托芬那酸(Tolfenamic acid)、選擇性

COX-2抑制劑(考昔(Coxib))、賽利克西(Celecoxib)、羅非考昔(Rofecoxib)、伐地考昔(Valdecoxib)、帕瑞考昔(Parecoxib)、盧米羅可(Lumiracoxib)、依託考昔(Etoricoxib)、非羅考昔(Firocoxib)、磺醯替苯胺(Sulphonanilides)、尼美舒利及利克飛龍(Licofelone)。

類風濕性關節炎

類風濕性關節炎(RA)為一種慢性且通常為進行性的發炎疾病，其中滑膜為主要炎症部位。骨破壞在炎症進展同時出現，使得骨及軟骨變形或損傷。類風濕性關節炎(RA)分階段進展。第一階段為滑液內層腫脹，引起疼痛、變暖、僵硬、發紅及關節周圍腫脹。第二階段為細胞快速分裂及生長或血管翳，引起滑膜變厚。在第三階段中，發炎細胞釋放可消化骨及軟骨之酶，常引起所累及之關節喪失其形狀及對齊，更疼痛且喪失運動功能。受該疾病影響之患者可經歷無疼痛之緩解期，且接著經歷疼痛加重之類風濕性關節炎危象(亦稱為突發或發作)。本發明之方法建議治療該經歷危象之患者以協助其對付疼痛。

RA疾病之程度可使用不同準則來評估。最知名之準則已由ACR(美國風濕病學院(American College of Rheumatology))設立。ACR準則係以ACR 20、ACR 50及ACR 70指示。ACR準則衡量壓痛或腫脹關節計數之改善及以下五個參數中之三個參數的改善：急性期反應物(諸如沈降率)、患者評定、醫師評定、疼痛量表及功能障礙/功能問卷。

疾病嚴重度亦可用稱作DAS(疾病活動度得分)之得分來

量度。DAS 為由 EULAR(歐洲抗風濕病聯盟(European League Against Rheumatism))擬定之最初針對患有滑膜炎之關節數目為 44 個關節及 53 個里奇(Ritchie)指數部位而開發的 RA 活動度複合指數。DAS 係根據下式來計算：

$$\text{DAS}=[0.553938\sqrt{\text{里奇指數}}]+[0.06465\sqrt{(\text{患有滑膜炎之關節數目})}]+[0.330 \text{Ln}(\text{紅血球沈降率})]+0.024$$

里奇指數涉及 53 個關節：顛下頷、肩峰鎖骨、胸肋鎖骨、肩、肘、腕、掌指(MCP)、手指之近端指節間(PIP)、腕、膝、踝、距骨下、跗橫及蹠趾(MTP)關節。

三種活動度已根據 DAS 之值來定義：具有低活動度之 RA(DAS≤2.4)；中度活動性 RA(2.4 < DAS≤3.7)；活動性 RA(DAS > 3.7)。針對 DAS 定義之緩解臨限值為 < 1.6。

本發明之治療方法之主要目的為控制疾病之活動度，以及緩解、減輕疼痛、防止及控制關節破壞、防止日常活動及工作之功能喪失，及最佳化患者之生活品質。

當前治療可選方案

當前關於治療 RA 之推薦包括在確定診斷之後用疾病改善性抗風濕藥(DMARD)早期治療。非類固醇消炎藥(NSAID)且直至最近，COX-2 抑制劑已廣泛地在等待確定診斷同時或隨後在疾病過程中連同 DMARD 一起使用。甲胺喋呤為最廣泛使用之 DMARD，但亦可開立其他藥劑(包括羥基氯喹、柳氮磺胺吡啶、金劑、二甲胺四環素(minocycline)及來氟米特)。皮質類固醇可與 DMARD 組合使用，但一般僅使用低劑量以使不利事件減至最少

(O'Dell, New Engl. J. Med. 350:2591-2603, 2004)。近年來，靶向發炎細胞激素之抗細胞激素療法已受到關注，且已研發具有有效抗風濕作用之新穎生物藥物，諸如英利昔單抗(infliximab)、依那西普、阿那白滯素及阿利珠單抗(atlizumab)。然而，當前無完全有效之治療且仍需要有效治療疾病及改善患者之舒適感及減輕疼痛且需要替代療法來改善患者日常生活。一些主要治療評述於下文中。

非類固醇消炎劑(NSAID)。此等藥物藉由阻斷環加氧酶COX-1及COX-2來抑制前列腺素產生。前列腺素為炎症及疼痛之介體，而在維持正常身體功能方面亦具有重要作用，包括針對胃酸之保護作用、維持腎血流及促進血小板黏性及血管功能。COX-2選擇性抑制劑選擇性阻斷經由COX-2產生之在炎症中具有顯著作用之前列腺素。許多不同NSAIDS為可得到的，一些非處方藥包括阿司匹靈、布洛芬(Advil®、Motrin®、Nuprin®)及萘普生(Alleve®)，且多種其他藥物可藉由開立處方得到，包括美儂西康(Mobic®)、依託度酸(Lodine®)、萘丁美酮(Relafen®)、舒林酸(Clinoril®)、托來美汀(Tolectin®)、膽鹼、水楊酸鎂(Trilasate®)、雙氯芬酸(Cataflam®、Voltaren®、Arthrotec®)、地夫西納(Dolobid®)、吲哚美辛(Indocin®)、酮洛芬(Orudis®、Oruvail®)、奧沙普嗪(Daypro®)及吡羅昔康(Feldene®)。允許每天一次或每天兩次給藥之長效NSAID可改善順應性。NSAID類亦包括稱作COX-2抑制劑之藥物，其亦有效控制炎症(賽利克西，Celebrex®；依託考

昔，Arcoxia®；盧米羅可，Prexige®)。

皮質類固醇(強的松；甲潑尼龍，Medrol®)具有消炎及免疫調節活性。其可經口、靜脈內、肌肉內給與或可直接注射至關節中。皮質類固醇適於在等待DMARD發揮其消炎作用時作為臨時輔助療法用於早期疾病。皮質類固醇亦適用作長期輔助療法用於患有NSAID及DMARD未完全控制之重度疾病的患者。強的松之常用劑量為每天5至10 mg。雖然強的松可起始於較高劑量(每天15至20 mg)，但應試圖經數週逐漸減少劑量至每天10 mg以下。在開始後，皮質類固醇療法可能極難中止及甚至處於低劑量。一些患者對逐漸減少強的松極為敏感，該逐漸減少強的松一般經數週緩慢進行。

疾病改善性抗風濕藥(DMARD)：雖然NSAID及DMARD藥劑均改善活動性類風濕性關節炎之症狀，但僅DMARD藥劑已經展示可改變疾病過程且改善放射照相結果。相較於NSAID或皮質類固醇，DMARD對類風濕性關節炎之作用不同且可較大程度延遲發病。在大多數狀況下，當確定類風濕性關節炎之診斷時，應開始DMARD藥劑。所累及之關節的X射線照片上存在侵蝕或關節間隙變窄為進行DMARD療法之明確指示，然而不應等待X射線照片出現改變。當前可用之藥物包括：甲胺喋呤(Rheumatrex®、Trexall®)、羥基氯喹(Plaquenil®)、柳氮磺胺吡啶(Azulfidine®)、來氟米特(Arava®)、腫瘤壞死因子抑制劑-依那西普(Enbrel®)、阿達木單抗(Humira®)及英利昔單抗

(Remicade®)、T細胞共刺激阻斷劑-阿巴西普(Orencia®)、B細胞消耗劑-利妥昔單抗(rituximab)(Rituxan®)、介白素-1(IL-1)受體拮抗劑療法-阿那白滯素(Kineret®)、肌肉內金劑、其他免疫調節性及細胞毒性劑-硫唑嘌呤(Imuran®)、環磷醯胺及環孢素A(Neoral®、Sandimmune®)。

甲胺喋呤現在視作用於大部分RA患者之第一線DMARD藥劑。其在治療劑量下具有相對快速之起始作用時間(6至8週)、良好功效、有利毒性型態、投藥簡便且成本相對較低。甲胺喋呤有效減少RA之體征及症狀以及減緩或停止放射照相損傷。甲胺喋呤亦有效用於許多其他形式之發炎性關節炎，包括牛皮癬性關節炎及其他脊柱關節病，且用於許多其他自體免疫疾病。劑量：在對於早期RA比較甲胺喋呤與依那西普之研究中，甲胺喋呤起始於每週10 mg之劑量，且每週增加，到第8週時增加至20 mg。此起始於甚至更高之劑量(高達每週15 mg)且在前三個月內劑量逐步增加至20 mg的給藥方案現在臨床實踐中已完全接受。最大劑量通常為每週25 mg，但有時可進一步增加。甲胺喋呤可經口或藉由皮下注射給與。後者投藥途徑對於患有甲胺喋呤相關性噁心之患者為有利的。應針對腎機能不全、急性或慢性肝病、顯著酒精攝入或酒精濫用、白血球減少症(低白血球計數)、血小板減少症(低血小板計數)或未經治療之葉酸缺乏仔細評估開始甲胺喋呤之患者。NSAIDS與甲胺喋呤常規共同投與患有類風濕性關節炎之患者且由風濕病學家視作安全的，只要密切監測肝功能測

試即可。甲胺喋呤可安全地與幾乎所有其他經FDA批准用於RA之DMARD組合，包括柳氮磺胺吡啶、羥基氯喹、TNF抑制劑、阿巴西普、利妥昔單抗、阿那白滯素及來氟米特。在所有組合甲胺喋呤與此等DMARD中之一者的臨床試驗中，未觀測到意外之毒性或協同毒性，例外為在與來氟米特組合的情況下因其亦由肝臟代謝而使得肝臟毒性較高。

羥基氯喹及氯喹為抗瘧藥，其為用於治療類風濕性關節炎之相對安全且良好耐受之藥劑。由於此等藥物單獨防止關節損傷之能力有限，所有其有可能僅限用於具有極輕度及非侵蝕性疾病的患者。羥基氯喹有時與甲胺喋呤組合以提供針對體征及症狀之疊加益處，或作為與甲胺喋呤及柳氮磺胺吡啶之「三重療法」之方案的一部分。

柳氮磺胺吡啶 (Azulfidine®) 為可有效治療 RA 之 DMARD。其連同甲胺喋呤及羥基氯喹一起給與而作為「三重療法」之方案的一部分，該「三重療法」已經展示可向對單獨甲胺喋呤反應不足之患者提供益處。柳氮磺胺吡啶亦用於治療發炎性腸病及脊椎關節病。其對RA之作用機制尚未知。其一些作用可歸因於葉酸消耗。劑量：常用劑量為以每天兩次給藥方案每天2至3公克。劑量可起始於每天1公克且可根據耐受性增加。

來氟米特 (Arava®) 亦為有效之DMARD。其功效就體征及症狀而言類似於甲胺喋呤，且對於甲胺喋呤無效或不耐受之患者而言為可行之替代物。來氟米特已經表明可減緩

放射照相進展。研究已表明其亦可謹慎地與甲胺喋呤組合用於無既有肝臟疾病之患者，只要仔細監測肝功能測試即可。亦已針對牛皮癬性關節炎研究來氟米特，其中展現某種功效。劑量：來氟米特之活性代謝物之半衰期極長。來氟米特及其代謝物具廣泛蛋白質結合性且在排泄之前進行進一步代謝。在最初批准時，使用每天100 mg之起始劑量並維持三天，接著繼而每天20 mg來給與藥物。由於GI副作用及腹瀉之發病率顯著，所以大部分專業人員現使用較低劑量維持較短起始時段，或以每天10至20 mg開始治療而無起始劑量。若在20 mg劑量下不耐受，則劑量可減少至每天10 mg。

腫瘤壞死因子(TNF)抑制劑。發現有大量TNF存在於類風濕性關節中且在關節中由浸潤關節滑膜之滑液巨噬細胞及淋巴球局部產生。TNF為一種關鍵之細胞激素，其因對關節中之多種細胞的活性而介導關節損傷及破壞且介導對其他器官及身體系統之影響。TNF拮抗劑為首先批准用於治療RA之生物學DMARD且亦已稱為生物反應調節劑或「生物製劑」以將其與諸如甲胺喋呤、來氟米特或柳氮磺胺吡啶之其他DMARD相區分。三種TNF拮抗劑批准用於治療RA且其他藥劑正在研究中。此等藥物在其減少RA之體征及症狀、減緩或停止放射照相損傷及改善功能及生活品質方面的功效為相似的。此等藥劑現在亦批准用於治療其他形式之發炎性關節炎，包括牛皮癬性關節炎、青少年特發性關節炎及僵直性脊椎炎。當前存在三種TNF抑制劑

經FDA批准用於治療RA(按其批准用於RA之次序列出)：依那西普(Enbrel®)、英利昔單抗(Remicade®)及阿達木單抗(Humira®)。

依那西普(Enbrel®)當以單療法形式或與甲胺喋呤組合使用時可有效減少RA之體征及症狀，以及減緩或停止放射照相損傷。依那西普亦批准用於治療牛皮癬性關節炎及僵直性脊椎炎以及牛皮癬。依那西普為組合TNF受體之p75形式之兩個細胞外結合域與人類IgG1抗體分子之Fc部分的融合蛋白。蛋白質之組分為完全人類組分，且抗依那西普抗體相對罕見。劑量：當前使用之最常見劑量為每週一次藉由皮下注射自行投與50 mg。預裝藥品之注射器及自動注射系統(SureClick®)為可得到的。依那西普亦可以25 mg劑量使用，以此劑量每週兩次投與。未研究間歇或偶爾給藥。存在有限之關於每週超過50 mg劑量之安全性或功效的資訊。依那西普在25 mg劑量後之半衰期為70小時。

英利昔單抗(Remicade®)：與甲胺喋呤組合已批准用於治療RA，且用於治療牛皮癬性關節炎及僵直性脊椎炎以及牛皮癬及克羅恩氏病。英利昔單抗為以高親和力及特異性結合TNF之嵌合單株抗體。抗體之TNF結合位點源自小鼠，英利昔單抗抗體之其餘75%源自人類IgG1抗體序列。英利昔單抗作為單療法可有效減少RA之體征及症狀，但可能產生抗英利昔單抗抗體，隨後反應之耐久性可能降低。與甲胺喋呤共同治療可降低此等抗體之頻率且因此建議與英利昔單抗一起使用。英利昔單抗與甲胺喋呤之組合

在減少疾病之臨床表現以及減緩或停止RA疾病之放射照相進展方面極為有效。劑量：英利昔單抗經由靜脈內途徑投與。輸注通常花費2至3時間。所建議之英利昔單抗用於RA之起始劑量為3 mg/kg，以靜脈內輸注形式給與，繼而在第2週及第6週另外給藥，接著之後每8週一次給藥。英利昔單抗應與甲胺喋呤組合給與。若在起始劑量下臨床反應不足，則英利昔單抗可逐漸增加至10 mg/kg之最大劑量且輸注頻率增加至每4至6週一次。

● 阿達木單抗(Humira®)為對TNF具高特異性之完全人類抗-TNF單株抗體。如同其他TNF拮抗劑，其可作為單療法及與甲胺喋呤組合而有效減少RA之體征及症狀且減緩或停止疾病之放射照相進展。其係藉由皮下注射每兩週一次投與，但必要時可增加至每週一次投與。阿達木單抗有效用於RA、牛皮癬性關節炎及僵直性脊椎炎以及克羅恩氏病。劑量：阿達木單抗當前可以40 mg劑量使用，且藉由自行投與之皮下(SC)注射每隔一週給與一次。預裝藥品之注射器以及自動注射器系統(Humira Pen®)為可得到的。● 若對此劑量之反應不足，則注射頻率可增加至每週一次。阿達木單抗在標準40 mg劑量後之半衰期為約2週(處於10天至20天範圍內)。

T細胞共刺激阻斷：阿巴西普(Orencia®)：阿巴西普為稱作T細胞共刺激阻斷劑之第一類藥劑。此等藥劑干擾抗原呈現細胞與T淋巴球之間的相互作用且影響類風濕性關節炎中之事件之致病級聯之早期階段。T淋巴球因未知刺

激物而活化，但可能涉及抗原呈現細胞表面上在第II類主要組織相容性複合物分子之情況下呈現之抗原之間的相互作用。T細胞將抗原識別為外來的，且若其接受第二刺激物，則變得具有活性、增殖、移行至發炎部位，且分泌促發炎細胞激素，包括TNF。一種對於T細胞活化重要之第二信號由抗原呈現細胞上存在之分子CD80及CD86以及T細胞表面上之CD28分子介導。劑量：阿巴西普經由靜脈內輸注在基線時、第2週及第4週投與初始劑量之後每月一次投與。劑量係基於體重，其中<60 kg之患者接受500 mg，60 kg至100 kg之患者接受750 mg，且>100 kg之患者接受1000 mg。經約30分鐘至1小時之時段投與藥物。

B細胞消耗：利妥昔單抗(Rituxan®)：B細胞為在免疫反應中具有多種功能之重要發炎性細胞。其用作抗原呈現細胞，可分泌細胞激素，且分化成抗體形成漿細胞。消耗B細胞已經展示可有效減少RA之體征及症狀且減緩放射照相進展。一種B細胞消耗劑利妥昔單抗當前可用於治療類風濕性關節炎。利妥昔單抗(Rituxan®)最初研發用於治療非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)且多年來已用於治療此淋巴球及淋巴結惡性病狀。對類風濕性關節炎患者之早期研究展示利妥昔單抗可使得循環中之循環B細胞快速及持續消耗，且許多患者得到臨床改善。其他臨床研究現已表明利妥昔單抗可有效減少其他DMARD療法無效之RA患者的體征及症狀且減緩其放射照相進展。然而，該藥劑當前在美國僅批准用於TNF拮抗劑無效之患

者。劑量：當前批准之劑量為1000 mg，經3至4小時靜脈內投與，兩次劑量相隔2週給與。患者通常在各次輸注時接受靜脈內皮質類固醇且接受苯海拉明(diphenhydramine)及乙醯胺苯酚(acetaminophen)之預先給藥。再投藥之最佳時間尚不明確。一些人主張每6個月一次之固定給藥方案，而其他人主張在再治療之前等待直至患者開始突發為止。評估再給藥時程之研究在進行中。B細胞消耗之程度及持續時間未明確地與功效有關。B細胞之正常含量的復原亦未與功效喪失充分相關。

介白素-1(IL-1)為另一與RA發病有關之促發炎細胞激素。IL-1受體拮抗劑(IL1ra)為該細胞激素之內源性阻斷劑。支持IL-1ra在活體內之消炎作用的證據由如下觀測結果表明：IL-1ra缺乏性小鼠自發地產生類似於類風濕性關節炎之自體免疫疾病以及血管炎。IL1對軟骨降解有影響，引起損傷以及抑制修復，且為破骨細胞之有效刺激物，從而引起骨骼侵蝕。一種IL1拮抗劑阿那白滯素(Kineret®)當前批准用於治療RA。其他藥劑亦已針對RA加以研究。

阿那白滯素(Kineret®)為人類重組IL-1受體拮抗劑(hu rIL-1ra)，其經批准用於治療RA。阿那白滯素可單獨使用或與除TNF阻斷劑(依那西普、英利昔單抗、阿達木單抗)以外的DMARD組合使用。阿那白滯素不建議與TNF抑制劑組合使用，因為研究已展示感染有所增加而無疊加臨床益處。劑量：阿那白滯素之建議劑量為100毫克/天，由皮

下注射每天一次投與。劑量應在每天大致相同時間投與。自動注射系統可用於該藥物。

肌肉內金劑可有效治療類風濕性關節炎。肌肉內金鹽直至20世紀90年代為止為最常使用之DMARD藥劑，但已由甲胺喋呤及其他DMARD替換為較佳治療RA之藥劑。兩種可注射化合物可得(Myochrysine®及Solganal®)。金化合物現在因其許多副作用及監測要求、其有限功效以及極緩慢起始作用時間而很少使用。口服金化合物(Auranofin®)亦可得到，但其功效甚至比可注射化合物更有限。劑量：金硫基代丁二酸鈉(Myochrysine)或硫代葡萄糖金(Solganal)療法起始於10 mg(肌肉內)，接著第二週給與25 mg，接著每週一次給與50 mg直至出現反應為止或直至給與總共1 g為止。若存在有利反應，則將療法逐漸減少至每2週一次50 mg並維持3個月，接著每3週一次並維持3個月且接著最終每月一次維持劑量。在總共1 g之後無反應則應考慮治療無效。應無限期持續每月一次金劑。

其他免疫調節性及細胞毒性劑：最常使用之細胞毒性藥物為硫唑嘌呤(Imuran®)、環孢素A(Sandimmune®、Neoral®)、環磷醯胺(Cytosan®)及d-青黴胺。由於存在高毒性之可能性，所以此等藥劑通常用於RA之危急生命之關節外表現症狀，諸如全身性血管炎或其他療法難治之重度關節疾病。

硫唑嘌呤(Imuran®)對類風濕性關節炎具有某種活性，但可能需花費8至12週才能看到作用。其為一種嘌呤類似

物，其尤其在患有腎機能不全之患者中或當與別嘌呤醇(allopurinol)或ACE抑制劑一起使用時可引起骨髓抑制且降低血球計數(白血球、紅血球及血小板)。因硫唑嘌呤引起繼發性惡性病之風險增加存在爭議。在用硫唑嘌呤開始療法之前建議針對酶硫代嘌呤甲基轉移酶(TPMT)之含量進行篩選。某些個體缺乏此代謝硫唑嘌呤之酶而隨之使得該藥物之毒性風險增加。副作用包括噁心及脫髮。需要對服用硫唑嘌呤之患者進行監測血球計數之血液測試及肝功能測試。

環孢素(Sandimmune®、Neoral®)對類風濕性關節炎具有作為疾病改善性療法之某種活性。研究已表明環孢素可與甲胺喋呤組合用於RA患者以獲得臨床反應。其為批准用於預防腎臟及肝臟移植排斥反應之免疫抑制劑且亦對牛皮癬及其他自體免疫疾病具有活性。環孢素藉由抑制介白素-2轉錄來抑制T細胞功能。主要毒性包括感染及腎機能不全。血壓升高為常見的且可能需要治療。在患者服用環孢素之整個時段內需要仔細監測腎臟功能及血壓。許多藥物相互作用可能影響環孢素之血液含量且引起較大毒性。藥品說明書含有關於此等藥物相互作用的重要資訊。環孢素增加感染風險且亦可能增加惡性病(包括淋巴瘤)風險。

環磷醯胺(Cytosan®)為備用於難治類風濕性關節炎之重度狀況以及具有諸如血管炎之表現症狀者的有效免疫抑制劑。其用於治療其他自體免疫病狀，包括狼瘡及血管炎。

環磷醯胺為烷基化劑，其具有嚴重毒性，包括骨髓抑制、出血性膀胱炎、卵巢早衰、感染及繼發性惡性病，尤其使膀胱癌之風險增加。在服用此藥物的情況下須仔細監測血球計數。

d-青黴胺(Cuprimine®、Depen®)在歷史上具有作為類風濕性關節炎之治療的某種活性。其主要指定用於不能用其他可用DMARD治療之患有持續侵襲性疾病的患者。如同金劑，其為具相對毒性之藥物，其因可耐受性及功效之問題而具有有限效用，其功效不如其他當前可用藥劑一般穩固。主要副作用包括重度皮疹及對腎臟功能之影響。在服用此藥物的情況下需要仔細監測腎功能。患者在服用d-青黴胺時可能產生狼瘡樣疾病或其他自體免疫疾病。

當前處於研發中之其他DMARD化合物亦適用於本發明之治療方法之組合中，諸如VX-702、奧克麗珠單抗、靶向SYK激酶之化合物(諸如氟斯替尼(R788))及JAK1、JAK2抑制劑(諸如INCB28050、坦組單抗或塔索替尼(CP-690,550))。

DMARD可選自由以下組成之群：黴酚酸嗎啉乙酯(mycophenolate mofetil)(CellCept)、鈣調神經磷酸酶抑制劑、環孢素、西羅莫司、依維莫司(everolimus)、口服類視黃素、硫唑嘌呤、反丁烯二酸酯、D-青黴胺、環磷醯胺、免疫吸附管柱、ProSORBA(r)管柱、金鹽、金諾芬、硫代蘋果酸鈉(硫代苯酸金鈉)、羥基氣喹、氣喹、來氟米特、甲胺喋呤(MTX)、二甲胺四環素、柳氮磺胺吡啶

(SSZ)、腫瘤壞死因子 α (TNF α)阻斷劑、依那西普(Enbrel)、英利昔單抗(Remicade)、阿達木單抗(Humira)、塞妥珠單抗(Cimzia)、戈利木單抗(Simponi)、介白素1(IL-1)阻斷劑(例如阿那白滯素(Kineret))、針對B細胞之單株抗體、利妥昔單抗(Rituxan)、T細胞共刺激阻斷劑、阿巴西普(Orencia)、介白素6(IL-6)阻斷劑、托珠單抗(tocilizumab)、羅埃克馬(RoActemra)及埃克馬(Actemra)。
 用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療

● 可評估患有RA之患者以評定疾病之存在、階段、進展或分級。視情況而定，獲得生物樣品(例如滑液)且評定促發炎介體或活動性炎症之其他標記的存在及/或T細胞(例如CD4+ T細胞)之存在。在一個實施例中，偵測自體抗體之存在，例如偵測類風濕因子(RhF)、抗-環狀瓜胺酸化肽抗體、抗-ssRNA、抗-dsRNA、抗-Smith、抗-磷脂、抗-核及/或抗-肌動蛋白抗體。在一個實施例中，該等方法包含評定蛋白水解酶、發炎介體、進行性炎症之標記或促發炎細胞激素之含量。在一個實施例中，該等方法包含測定c-反應蛋白(CRP)含量及/或紅血球沈降率。確定患者患有RA，或促發炎介體或活動性炎症之其他標記及/或T細胞(例如浸潤性T細胞、HLA-cw3及/或cw4陽性T細胞)存在(例如在發炎組織中)，疾病為急性、慢性，經歷突發或進展可指示患者可用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療。

患有RA，且視情況患有活動性炎症及/或確診或慢性RA

及/或經歷突發之患者可用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療。較佳，確診RA特徵為進展超過一年，或進展一年以下但對第一疾病改善性抗風濕藥(DMARD)無反應的RA。確診之RA亦可使用DAS或CAS準則來評定。「RA及相關疾病」係指可能引起或來源於類風濕性關節炎發作或進展的疾病，諸如例如鞏膜外層炎、氣胸、栓塞及缺血性皮膚潰瘍。

本發明之抗體與另一RA治療(諸如上列者)組合投與。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可經由皮下、靜脈內、肌肉內、關節內、滑液內、胸骨內、鞘內腔、肝內、病變內及顱內途徑注射或輸注。在一實施例中，抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體關節內投與，較佳投與炎症部位處。

多發性硬化

多發性硬化症(MS)為一種中樞神經系統(CNS)之慢性發炎疾病，其中腦及脊髓之軸突周圍之脂肪髓鞘損傷，引起髓鞘脫失及疤痕以及廣泛範圍之體征及症狀。病生理學原因仍未知，但不同理論歸罪於遺傳學或感染。亦已提出不同環境風險因素。臨床表現與中樞神經系統由免疫勝任細胞浸潤有關。針對神經抗原(諸如髓鞘鹼性蛋白)之特異性T細胞群體可展現於周邊中。幾乎任何神經症狀看似伴隨該疾病，且常進展而導致身體及認知功能障礙。MS以兩種形式進展：新症狀以各別發病形式出現(復發形式)或隨時間推移緩慢積聚(進行性形式)。在各次發病之間，可完

全無症狀，但尤其隨著疾病進展，常出現永久性神經問題。

疾病評估及分級

已描述若干亞型或進展模式。亞型使用既往疾病過程以試圖預測未來過程。其不僅對於預後為重要的且對於治療決策亦為重要的。在1996年，美國國家多發性硬化症學會(United States National Multiple Sclerosis Society)標準化四種亞型定義：復發緩解型、繼發進行性、原發進行性及進行性復發型。

復發-緩解亞型特徵在於不可預知之復發，繼而緩解數月至數年之時段而無新疾病活動體征。此描述80%患有MS之個體的初始過程。繼發進行性MS描述約65%患有初始復發-緩解型MS者，其接著開始在急性發作之間有進行性神經衰退而無任何明確的緩解時段。可能看似偶爾復發與較小程度緩解。疾病發作與自復發-緩解型向繼發進行性MS轉化之間的中值時間為19年。原發進行性亞型描述約10%至15%在其初始MS症狀之後從未有所緩解之個體。其特徵在於功能障礙自發作不斷進展而無或僅偶爾及較小程度緩解及改善。原發進行性亞型之發病年齡晚於復發-緩解型，但類似於復發-緩解型與繼發進行性亞型之間進展的平均年齡。在兩種狀況下，其約為40歲。進行性復發型MS描述自發病開始有穩定神經衰退且亦遭受顯然重疊發病之個體。此為所有亞型中最不常見之亞型。多發性硬化症因進行性神經衰退或因急性發作或因兩者之組合而進

展，視MS類型而定。MS之症狀包括：疲勞、視覺問題(諸如模糊或雙視)、麻刺感、麻木或燒灼感、肌肉虛弱、僵硬、震顫及痙攣、步行及步態問題、膀胱及腸功能障礙、性功能障礙、認知及記憶力問題、吞嚥及言語問題、疼痛或抑鬱症。彼等症狀在發病期間惡化，而患者之一般狀況衰退。具有非標準特性之MS的典型變體已經描述；此等包括德維克氏病、巴婁同心圓硬化、希爾逗氏彌漫性硬化症(Schilder's diffuse sclerosis)及馬堡多發性硬化症(Marburg multiple sclerosis)。

可使用不同準則確診多發性硬化症診斷。在歷史上，廣泛使用Schumacher及Poser準則。當前，由美國國家多發性硬化症學會(NMSS)使用IMR影像確立之McDonald準則趨於替代先前準則。(McDonald WI, Compston A, Edan G等人, (2001), Ann. Neurol. 50 (1): 121-7)。

當前治療可選方案

對於患者及醫師在治療多發性硬化症方面存在許多問題需要考慮。目標可包括：改善自發病恢復之速度(例如用類固醇藥物治療)；減少發病次數或MRI病變數；試圖減緩疾病進展(用疾病改善性藥物或DMD治療)，一個額外目標為減輕因受影響器官之功能喪失所致之併發症。

大部分神經病學家將考慮在確定復發-緩解型多發性硬化症之診斷後用DMD治療。許多人在首次多發性硬化症發病時開始治療，因為臨床試驗已表明延遲治療之患者所得的之益處不如早期治療之患者。

患者接受免疫抑制療法，包括硫唑嘌呤及皮質類固醇，以限制發炎過程之程度。然而，多發性硬化症之免疫抑制療法僅部分有效，且在大多數狀況下，雖然進行消炎及免疫抑制治療，但僅提供疾病進展之延遲。當前用於MS之疾病改善性治療尤其為：IFN β -1a(Avonex[®]、CinnoVex[®]、ReCiGen[®]、Rebif[®])、IFN β -1b(Betaseron[®]、Betaferon[®])、乙酸格拉替美(glatiramer acetate)(Copaxone[®])(其為一種非干擾素、非類固醇免疫調節劑)、米托蒽醌、免疫抑制劑、那他珠單抗(natalizumab)(Tysabri[®])、芬戈莫德(fingolimod)(Gilenia[®])。多種治療在研究中。湧現之在2期試驗中已展示希望之用於RRMS之藥劑包括阿來組單抗(alemtuzumab)(Campath[®])、達利珠單抗(daclizumab)(Zenapax[®])、利妥昔單抗、德芮寇德(dirucotide)、BHT-3009、克拉曲濱(cladribine)、反丁烯二酸二甲酯、雌三醇、芬戈莫德(fingolimod)、拉喹莫德(laquinimod)、二甲胺四環素、他汀(statin)、西羅莫司脂化物(temsirolimus)及特立氟胺(teriflunomide)。

用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療

視情況而定，在第一步驟中，可評估患者之疾病。接著以適當方式用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療患者。可評估患有MS之患者以評定疾病之存在、階段、進展或分級。在一個有利態樣中，確定患有活動性炎症及/或確診或慢性MS及/或經歷突發之患者可用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療。

較佳，確診之MS特徵在於有進行性神經衰退(諸如繼發進行性、原發進行性或進行復發型疾病)之MS，或者，「確診之MS」係指已進展超過一年，或已進展一年以下但對第一線治療無反應的MS。較佳，突發視情況定義為與多發性硬化症有關之症狀惡化；該突發引起患者一般狀況衰退。本發明之另一態樣提供能夠治療確診MS或減少或中止MS發病，從而引起患者健康及舒適感改善的組合物。

在一個實施例中，本發明之抗體與另一MS治療(諸如上列者)組合投與。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可經由皮下、靜脈內、肌肉內、關節內、滑液內、胸骨內、鞘內腔、肝內、病變內及顱內途徑注射或輸注。

慢性發炎腸病(CIDI)-克羅恩氏病-直腸結腸炎

慢性發炎腸病為影響胃腸道之一系列疾病。最常見CIDI為潰瘍性結腸炎、克羅恩氏病、發炎性腸病、局部迴腸炎、直腸結腸炎及肉芽腫性迴腸結腸炎。

疾病評估及分級

診斷測試包括：非侵入性實驗室測試(貧血及感染、篩選肝臟及膽管問題之肝功能測試及排除細菌性、病毒及寄生物感染之大便研究)、內窺鏡檢查、內窺鏡超音波(EUS)、膠囊內窺鏡檢查、放射學，諸如多相CT腸動描記法、MR腸動描記法(MRE)。

慢性發炎腸病相當難於評分。在直腸結腸炎中，結腸鏡可提供對結腸中之創口的相當完全概述，但在克羅恩氏病

中，由於傷口可能看似處於食道至直腸之任何處，所以獲得對患者之評估難得多。一種評分系統已經設立以評估克羅恩氏病：克羅恩氏病活動指數(CDAI，關於評述參見 Sandborn WJ等人，Gastroenterology 2002; 112 : 512)。得分處於0至600分範圍內。低於150分，患者評為「極好」。介於150分與219分之間，疾病具輕度活動性，介於220與449分之間，疾病具中等活動性。高於450分，疾病評為極重度。然而，該得分可能具患者依賴性且新近，另一評分系統(克羅恩氏病消化道損傷得分(CD₃S)或Lémann得分)已經確立以經由較準確之科學值對患者疾病進行評分，諸如由斷層密度量測術(tomodensitometry)確定之得分。(Pariente B.等人，Development of the Crohn's Disease Digestive Damage score, the Lémann score Inflamm Bowel Dis 2010年; 11月28日)。

克羅恩氏病進展而出現危象，亦稱為突發。突發可為輕度或重度，短暫或長期。該等突發或發病可能與超過150分、超過219分、超過449分之CDAI得分有關。重度突發可能引起強烈疼痛、脫水及失血。復發性炎症趨於出現於腸之相同區域，但其在手術去除患病段之後可能波及鄰接區。當克羅恩氏病引起胃腸道症狀突發時，人員亦可能遭受關節炎症(關節炎)、眼白炎症(鞏膜外層炎)、口瘡(口瘡性口炎)、手臂及腿上之發炎皮膚結節(結節性紅斑)及含膿之藍紅色皮膚瘡(壞疽性膿皮病)。即使在克羅恩氏病不引起胃腸道症狀突發時，人員仍可能遭受壞疽性膿皮病，同

時脊椎炎症(僵直性脊椎炎)、骨盆關節炎症(骶髂關節炎)、眼睛內部炎症(葡萄膜炎)或膽管炎症(原發性硬化性膽管炎)易於出現而與腸病之臨床活動度完全無關。

當前治療可選方案

當前治療可選方案限於控制症狀、維持緩解及預防復發。克羅恩氏病之治療涉及首先治療疾病之急性症狀，接著維持緩解。治療最初涉及使用消除感染之藥物(一般為抗生素)及減輕炎症之藥物(一般為胺基水楊酸鹽消炎藥及皮質類固醇)。諸如梗阻或膿腫之併發症或在疾病在相當長時間內對藥物無反應的情況下可能需要手術。

胺基水楊酸鹽消炎藥：美沙拉嗪(Mesalazine)或美沙拉明(mesalamine)(Lialda™、Asacol™、Pentasa™、Salofalk™、Dipentum™及Rowasa™)、柳氮磺胺吡啶，其由腸道細菌轉化成5-ASA及磺胺吡啶。磺胺吡啶對類風濕性關節炎可能具有某種治療作用。然而，磺胺吡啶組分常因高副作用型態而為治療克羅恩氏病之限制因素。5-ASA化合物已經展示適用於治療輕度至中度克羅恩氏病。其通常尤其因其相較於皮質類固醇較低之副作用型態而被視為用於迴腸及結腸右側之疾病的第一線療法。

皮質類固醇消炎藥：類固醇灌腸劑可用於治療直腸疾病症狀。皮質類固醇為主要用於治療中度至重度克羅恩氏病突發或發病之一類消炎藥。其因具有副作用較小之有效治療的可實現性而可較節制地使用。最常開立之口服類固醇為強的松，其通常以0.5 mg/kg給藥以誘導緩解。靜脈內類

固醇用於口服類固醇難治之狀況，或不能服用口服類固醇之狀況。由於皮質類固醇降低對抗感染之能力，所以在開始類固醇之前須注意確保不存在活動性感染，尤其腹腔內膿腫。布地奈德(budesonide)為吸收有限且首次通過代謝度高(意謂較少量類固醇進入血流)之口服皮質類固醇。其已經展示適用於治療輕度至中度克羅恩氏病且維持克羅恩氏病緩解。調配成Entocort®之布地奈德在迴腸及右結腸中釋放，且因此針對彼區域中之疾病具有表面作用。布地奈德在與抗生素組合使用時亦適用於活動性克羅恩氏病。

巯基嘌呤免疫抑制性藥物：此處以錠劑形式展示之硫唑嘌呤為第一線類固醇減量(steroid-sparing)免疫抑制劑。硫唑嘌呤及6-巯基嘌呤(6-MP)為最常用於克羅恩氏病之維持療法的免疫抑制劑。其為嘌呤抗代謝物，意謂其干擾發炎細胞所需之嘌呤合成。其具有數月之作用持續時間，使得難使用其誘導緩解。兩種藥物以1.5至2.5 mg/kg給藥，文獻支持使用較高劑量。硫唑嘌呤及6-MP已經發現適用於以下適應症：依賴於類固醇之人員的維持療法、瘻管性疾病、誘導類固醇難治疾病緩解、維持克羅恩氏病在手術後緩解。然而，硫唑嘌呤為特別危險之藥物，其引起大量潛在致命感染之可能性較大，且亦由FDA列為人類致癌劑。

以Remicade®出售之英利昔單抗為靶向腫瘤壞死因子(發炎反應中之一種細胞激素)的小鼠-人類嵌合抗體。其為抑制促發炎細胞激素腫瘤壞死因子 α 之單株抗體。其經靜脈內投與且以每公斤體重5 mg開始給藥且根據疾病特徵不斷

增加。英利昔單抗已發現有如下效用：維持克羅恩氏病患者緩解；誘使克羅恩氏病患者緩解；維持瘻管性克羅恩氏病；英利昔單抗之副作用如同TNF類別之其他免疫抑制劑一般可為嚴重的且可能致命，且英利昔單抗在標籤上帶有FDA黑盒警告。所列之副作用包括過敏性及過敏反應、結核病、血清病再活動之風險以及多發性硬化症之風險。

以Humira™出售之阿達木單抗如同英利昔單抗為靶向腫瘤壞死因子之抗體。阿達木單抗已顯示減少對習知治療反應不佳以及對英利昔單抗喪失反應或不能耐受英利昔單抗之成人的中度至重度克羅恩氏病(CD)之體征及症狀，且批准用於治療中度至重度克羅恩氏病。

以Tysabri®出售之那他珠單抗為抗整合素單株抗體，其已展示作為中度至重度克羅恩氏病之誘導及維持治療的效用。那他珠單抗對於對阻斷腫瘤壞死因子- α 之藥物(諸如英利昔單抗)無反應之患者可為適當的。

用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療

本發明之一個態樣提供能夠治療克羅恩氏病，視情況治療確診之克羅恩氏病的組合物。在本發明中，「確診之克羅恩氏病」係指已在超過一年內診斷出有克羅恩氏病。

本發明之另一態樣提供一種減少或中止克羅恩氏病發病，從而引起患者健康及舒適感改善之治療方法。疾病發病可能指CDAI得分超過150分、超過219分、超過449分之患者。因此，本發明亦提供治療患有慢性發炎腸病之患者的方法，其包含以下步驟：評定該患者是否正經歷突發或

發病，及若該患者正經歷發病，則用有效量之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療該患者。

本發明之另一態樣提供預防性治療患有克羅恩氏病之患者，從而避免突發之方法。

在一實施例中，本發明之抗體與另一克羅恩氏病治療(諸如上列者)組合投與。

紅斑狼瘡

存在四種主要類型之狼瘡-全身性紅斑狼瘡、盤狀紅斑狼瘡、藥物誘發之紅斑狼瘡及新生兒紅斑狼瘡。其中，全身性紅斑狼瘡為最常見且嚴重形式之狼瘡。

盤狀紅斑狼瘡(DLE)為一種慢性皮膚瘡病狀，其中炎症及疤痕偏向臉、耳部及頭皮，且有時處於其他身體區域上。此等病變以具有鱗屑及硬殼外形之紅色發炎斑塊形式產生。中心區域的顏色看似較淺，邊緣比正常皮膚深。

藥物誘發之紅斑狼瘡(DIL或DILE)為由長期使用某些藥物所引起之自體免疫病症。此等藥物引起產生類似於SLE之症狀的自身免疫反應。已知存在38種藥物會引起DIL，但有三種藥物被報導有最多數目之病例：肼苯噻嗪(hydralazine)、普魯卡因醃胺(procainamide)及異菸肼(isoniazid)。雖然診斷DIL之準則尚未完全確立，但DIL之症狀通常以肌痛及關節痛形式呈現。一般而言，在中止使用藥物後症狀消退。

新生兒紅斑狼瘡出現於嬰兒，最常出現於女孩，由攜帶

Ro/SSA抗體之母親所生。嬰兒在出生時無皮膚病變，但在生命第一週期間產生皮膚病變。

全身性紅斑狼瘡為可能影響身體任何部分之慢性全身性自體免疫疾病。隨著在其他自體免疫疾病中出現，免疫系統侵襲身體細胞及組織，引起炎症及組織損傷。SLE最常危害心臟、關節、皮膚、肺、血管、肝臟、腎及神經系統。疾病過程不可預知，疾病(突發)時段與緩解交替。疾病在女性中之發病率更經常為男性的九倍，尤其對於年齡15至35之育齡期女性，且亦在非歐洲血統者中較常見。SLE可經由主要用環磷醯胺、皮質類固醇及免疫抑制劑針對其症狀來治療；當前不存在治癒例子。SLE可為致命的，雖然隨著新近醫藥發展，死亡率逐漸變得日益罕見。SLE係視作不可治癒的，但高度可治療。在20世紀50年代，大多數經診斷患有SLE之人活不到五年。診斷及治療方面之發展使得存活率改善達以下程度：現在90%以上存活期超過十年，且許多人可相對無症狀地活著。

疾病評估及分級

類固醇應以最低劑量使用最短可能的時段以降低心血管問題之可能性，且只要有可能應使用可減少症狀之其他藥物。高血清肌酸酐、高血壓、腎病症候群、貧血及低清蛋白血為不良預後因素。ANA為用於評估之最靈敏的篩選測試，而抗-Sm(抗-Smith)最具特異性。dsDNA抗體亦相當具特異性且常隨疾病活動度波動；因而，dsDNA力價有時可用於監測疾病突發或治療反應。

某些醫師基於美國風濕病學院(ACR)分類準則作出診斷。然而，該等準則經確立而主要用於科學研究，包括用於需要較高信賴度之隨機化對照試驗，因此有些患有SLE之人可能不通過全部準則。

美國風濕病學院在1982年確立11條準則，在1997年修訂為分類工具以在臨床試驗中實施SLE之定義。為鑑別患者以供臨床研究之用的目的，若在兩個各別時刻同時或連續存在11種症狀中之任何4種症狀，則人員患有SLE：漿膜炎：胸膜炎或心包炎、口腔潰瘍、關節炎：兩個或兩個以上周邊關節之非侵蝕性關節炎，有壓痛、腫脹或滲出、光敏感性、血液(血液學病症、溶血性貧血(低紅血球計數)或白血球減少症(白血球計數<4000個/微升)，淋巴球減少症(<1500個/微升)或血小板減少症(<100000個/微升)，不存在損傷性藥物；腎臟病症；抗核抗體測試陽性；免疫學病症：陽性抗-Smith、抗-ds DNA、抗磷脂抗體及/或假陽性梅毒血清學測試；在70%病例中存在抗-ss DNA；神經病症：癲癇發作或精神病、頰皮疹、盤狀皮疹。

當前治療可選方案

SLE之治療涉及預防突發及降低其嚴重度及減少其出現時之持續時間。治療可包括皮質類固醇及抗瘡藥。某些類型之狼瘡腎炎(諸如彌漫性增殖性絲球體腎炎)需要多番細胞毒性藥物。此等藥物包括環磷醯胺及黴酚酸酯。

疾病改善性抗風濕藥(DMARD)預防性用於降低突發發生率、減緩疾病過程且降低類固醇使用之需要；在出現突發

時，其可用皮質類固醇治療。通常使用之DMARD為抗瘧藥，諸如必賴克癩(plaquenil)，及免疫抑制劑(例如甲胺喋呤及硫唑喋呤)。羥基氯喹(HCQ)為在1955年經FDA批准用於狼瘡之最後一種藥物。抗-BlyS抗體(Benlysta®， Human Genomce Science, Inc.)亦可用作DMARD。羥基氯喹為一種用於組成性、皮膚及關節表現之抗瘧劑。羥基氯喹副作用相對少，且有證據說明其改善患有SLE之人的存活率。環磷醯胺用於重度絲球體腎炎或其他器官損傷併發症。某些被批准用於其他疾病之藥物以『仿單核准適應症外』的方式用於SLE；免疫抑制藥物亦用於控制該疾病且防止症狀反覆(稱作突發)。視劑量而定，需要類固醇之人可能顯現庫欣氏症候群，其副作用可包括肥胖、浮腫圓臉、糖尿病、大食慾、睡眠困難及骨質疏鬆。若且在降低較大初始劑量時，彼等副作用可減退，但長期使用更低劑量會引起血壓升高及白內障。許多新免疫抑制藥物正有關治療SLE被積極地測試。不同於如皮質類固醇所顯示般非特異性抑制免疫系統，其靶向個體免疫細胞之反應；若非處方藥(主要為非類固醇消炎藥)未提供有效緩解，則可使用諸如吲哚美辛及雙氯芬酸之鎮痛劑。通常用處方藥治療疼痛。歸因於多種症狀及器官系統受SLE累及，其在個體中之嚴重度須被評定以成功地治療SLE。輕度或緩解性疾病有時可安全地保持不進行治療。

用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可用

於治療狼瘡，包括(但不限於)確診之狼瘡，或減少或中止狼瘡突發，從而引起患者健康及舒適度改善。「確診之狼瘡」係指已進展超過一年或已經診斷出超過一年的狼瘡疾病。在一個實施例中，本發明之抗體與另一狼瘡治療(諸如上列者)組合投與。

其他自體免疫及發炎病症

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可用於治療適合之自體免疫及發炎病症，較佳為涉及T細胞之病症。自體免疫及發炎疾病可為(但不限於)：胃酸缺乏、自體免疫活動性慢性肝炎、急性播散性腦脊髓炎、急性出血性白質腦炎、艾迪森氏病、無 γ 球蛋白血症、斑形脫髮、肌萎縮性側索硬化、僵直性脊椎炎、抗-GBM/TBM腎炎、抗磷脂症候群、抗合成酶症候群、關節炎、異位性過敏、異位性皮炎、自體免疫再生不能性貧血、自體免疫心肌病、自體免疫溶血性貧血、自體免疫肝炎、自體免疫內耳疾病、自體免疫淋巴組織增生症候群、自體免疫周邊神經病、自體免疫胰臟炎、自體免疫多內分泌腺症候群、未知或多發性自體免疫孕酮皮炎、自體免疫血小板減少性紫癜、自體免疫葡萄膜炎、巴婁病/巴婁同心圓硬化、白塞氏症候群、伯格氏病、畢氏腦炎(Bickerstaff's encephalitis)、布勞症候群(Blau syndrome)、大皰性類天疱瘡、卡斯曼氏症候群、恰加斯氏病、慢性疲勞免疫功能障礙症候群、慢性發炎髓鞘脫失多神經病、慢性復發性多灶骨髓炎、慢性萊姆病、慢性阻塞性肺病、徹奇-斯全司症候群、癩痕性

類天疱瘡、腹腔病、柯剛氏症候群、冷凝集素病、補體組分2缺乏症、顱動脈炎、CREST症候群、克羅恩氏病(兩類特發性發炎性腸病「IBD」中之一者)、庫欣氏症候群、皮膚白血球破碎性血管炎、德氏病(Dego's disease)、德爾肯氏病(Dercum's disease)、疱疹樣皮炎、皮炎、第1型糖尿病、彌漫性皮膚全身性硬化、卓斯勒症候群、盤狀紅斑狼瘡、濕疹、子宮內膜異位症、肌腱端炎相關關節炎、嗜伊紅血球性筋膜炎、後天性大皰性表皮鬆解、結節性紅斑、原發性混合型冷球蛋白血症、伊文氏症候群、進行性骨化性纖維發育不良、肌肉纖維疼痛、纖維肌炎、纖維化肺泡炎、胃炎、胃腸類天疱瘡、巨細胞性動脈炎、絲球體腎炎、古德帕斯徹氏症候群、格雷夫斯氏病、古立安-白瑞症候群(GBS)、橋本氏腦炎、橋本氏甲狀腺炎、溶血性貧血、亨-舍二氏紫癍、妊娠疱疹、化膿性汗腺炎、休斯氏症候群(Hughes syndrome)、低 γ 球蛋白血症、特發性發炎性髓鞘脫失疾病、特發性肺纖維化、特發性血小板減少性紫癍、IgA腎病、包涵體肌炎、發炎性髓鞘脫失多神經病、間質性膀胱炎、大腸急躁症候群(IBS)、青少年特發性關節炎、青少年類風濕性關節炎、川崎氏病、藍伯-伊頓肌無力症候群、白血球破碎性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、線性IgA病(LAD)、葛雷克氏病、類狼瘡性肝炎、紅斑狼瘡、馬氏症候群(Majeed syndrome)、梅尼埃病(Ménière's disease)、顯微性多血管炎、米勒-費雪氏症候群(Miller-Fisher syndrome)、混合型結締組織病、硬斑

病、穆-哈二氏病、馬克爾-維爾斯症候群(Muckle-Wells syndrome)、多發性骨髓瘤、多發性硬化症、重症肌無力、肌炎、發作性睡病、視神經脊髓炎、神經性肌強直、眼睛癍痕性類天庖瘡、眼陣攣肌陣攣症候群、Ord甲狀腺炎、復發性風濕病、PANDAS(與鏈球菌有關之兒童自體免疫神經精神病症)、腫瘤相關小腦退化、陣發性夜間血紅素尿(PNH)、帕-羅二氏症候群、帕-特二氏症候群、睫狀體平坦部炎、天庖瘡、尋常天庖瘡、惡性貧血、靜脈周邊性腦脊髓炎、POEMS症候群、結節性多動脈炎、風濕性多肌痛、多發性肌炎、原發性膽汁性肝硬化、原發性硬化性膽管炎、進行性發炎性神經病、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、壞疽性膿皮病、純紅血球再生不良、羅氏腦炎、雷諾氏現象、復發性多軟骨炎、萊特爾氏症候群、腿不寧徵候群、腹膜後纖維化、類風濕性關節炎、類風濕性發熱、類肉瘤病、精神分裂症、施密特症候群、施尼茨勒症候群(Schnitzler syndrome)、鞏膜炎、硬皮病、休格連氏症候群、脊椎關節病、黏性血液症候群、斯蒂爾氏病(Still's Disease)、僵人症候群、亞急性細菌性心內膜炎(SBE)、蘇薩克氏症候群、思維特症候群(Sweet syndrome)、席登罕氏舞蹈症、交感神經性眼炎、高安氏動脈炎、顛動脈炎、托-享二氏症候群、橫貫性脊髓炎、潰瘍性結腸炎、未分化型結締組織病、未分化型脊椎關節病、血管炎、白斑病、韋格納氏肉芽腫病、威爾遜氏症候群及維斯科特-奧爾德里奇症候群。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之給藥及給藥方案

在一個態樣中，本發明提供之治療方法包含投與個體包含治療有效量之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之組合物。治療有效量可為例如約0.0003 mg(抗體)/kg(患者體重)至約3 mg/kg之劑量(例如約0.003 mg/kg至約3 mg/kg，諸如約0.015 mg/kg至約3 mg/kg，例如約0.075 mg/kg至約3 mg/kg、約0.3 mg/kg至約3 mg/kg及約1 mg/kg至約3 mg/kg中之任一者，或約0.0003 mg/kg、約0.003 mg/kg、約0.015 mg/kg、約0.075 mg/kg、約0.3 mg/kg、約1 mg/kg及約3 mg/kg中之任一者)。抗-KIR抗體之劑量及調配物係描述於WO 2008/084106中，該申請案之揭示內容以引用方式併入本文中。在一個實施例中，該方法包含例如以每天3次至每2個月一次之範圍內的給藥頻率重複投藥至少一次。亦可投與劑量例如至少3次、至少6次或至少10次。在一個實施例中，靜脈內投與抗體。在另一實施例中，抗體結合至NK細胞表面上之抑制性KIR可增強NK細胞之細胞毒性活性。在另一實施例中，抗體為交叉反應性抗-KIR抗體。舉例而言，抗體可為如WO 2008/084106中所述的調配物中之抗體1-7F9。

在一個較佳實施例中，劑量經選擇以在人類患者體內提供完全飽和作用(所靶向之KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之至少90%佔有率)。該方法視情況包括評估患者之NK細胞增強及/或抗發炎(或抗T細胞)活性(其可藉由使

用任何適合技術進行，其中若干技術在此項技術中已知，包括例如 KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 佔有度、CD107a 標記，如本文所述)。通常藉由經合適時間(諸如約 1 小時)靜脈內投藥來投與調配物。

舉例而言，可以一定劑量及一定給藥頻率投與抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及 / 或抗-KIR2DL3 抗體以在血漿內達成 NK 細胞上至少約 90%、較佳至少約 95% KIR2DL1、KIR2DL2 及 / 或 KIR2DL3 佔有率達至少約一個月、兩個月、三個月或六個月，從而使飽和持續一段延長之時段(例如至少 3 個月、6 個月)。在各別實施例中，劑量處於約 0.1 mg/kg 至約 3 mg/kg、約 0.3 mg/kg 至約 3 mg/kg、約 0.1 mg/kg 至約 1 mg/kg 及約 1 mg/kg 至約 3 mg/kg 之範圍內，進一步較佳其中該抗體為抗-KIR 抗體，進一步較佳其中抗體為 1-7F9。給藥頻率可處於每天一次至每 2 個月一次、約每週一次至約每 2 個月一次之範圍內；或可為約每月一次。或者，給藥頻率可選自每天約三次、約兩次及約一次；每週約五次、約四次、約三次及約二次；及約每兩週、每四週及每六週一次。

在一個較佳實施例中，約每週 2 次至約每月一次、或約每月一次至約每 2 個月一次投與使得受體實質上完全飽和(例如至少約 90% 或 95% 受體佔有率)之劑量的抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及 / 或抗-KIR2DL3 抗體。劑量可例如投與至少 3 次、至少 6 次或 6 次以上。舉例而言，該方法可包含以一定劑量及一定給藥頻率投與抗-KIR2DL1、抗-

KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以達成NK細胞上至少約90%或95% KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3佔有率達至少約2週、1個月、6個月、9個月或12個月。

在一個較佳實施例中，方案引起持續性實質上完全的受體飽和。投與使得受體實質上完全飽和達至少約1週、2週或1個月之時間之劑量的抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。當劑量使得受體實質上完全飽和(例如至少約90%或95%受體佔有率)達約一週時，可例如每週一次至每兩週一次投與該劑量；當劑量使得受體實質上完全飽和達約兩週時，可例如每兩週一次至每月一次投與該劑量。當劑量使得受體實質上完全飽和達約兩週至約一個月時，可例如約每月一次投與該劑量。在各方案中，劑量可例如投與至少3次、至少6次或6次以上。舉例而言，該方法可包含以一定劑量及一定給藥頻率投與抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以達成NK細胞上至少約95% KIR佔有率達至少約6個月、9個月或12個月。

在另一較佳實施例中，方案引起間歇性實質上完全的受體飽和。投與使得受體實質上完全飽和(例如至少約90%或95%受體佔有率)達至少約1週、2週或1個月之時間之劑量的抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。當劑量使得受體實質上完全飽和約一週至兩週時，可例如約每月一次或每至少兩個月之時間一次(例如每兩個月一次)投與該劑量。當劑量使得受體實質上完全飽和約兩週至約一個月時，可例如約每至少兩個月之時間一次(例如每兩

個月一次)投與該劑量。在各別實施例中，劑量處於約0.1 mg/kg至約0.3 mg/kg範圍內，約每月一次投與；在一個實施例中，劑量處於約0.1 mg/kg至約3 mg/kg之範圍內，較佳處於1 mg/kg至約3 mg/kg之範圍內，約每約兩個月一次(或每兩個月以上之時間一次，即每兩個月之時間少於一次)投與，進一步較佳其中該抗體為抗-KIR抗體，進一步較佳其中該抗體為1-7F9。可重複治療，以使治療方案引起間歇性實質上完全的受體飽和達至少6個月、9個月或12個月之時間。

雖然通常經靜脈內投與抗體，但其他適合投藥方式為已知的且亦描述於例如WO 2008/084106中。

雖然抗-KIR抗體(1-7F9)或其S241P變異體為用於調節NK細胞活性及/或治療疾病之較佳抗體，但其他抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3及抗-KIR抗體亦可用於本發明方法中。然而，該等抗體應與抗-KIR抗體(1-7F9)具有相似之Kd值，在患者體內具有相似清除率，且具有相似之分佈體積，其中「相似」意謂在相應抗-KIR抗體(1-7F9)參數之約50%以內，較佳約30%以內。抗-KIR抗體(1-7F9)在達0.015 mg/kg之劑量下具有約4 ng/ml之高親和力Kd且具有約20 ng/ml之低親和力Kd；其清除率為約0.5 ml/h/kg，且分佈體積為約115 ml/kg(參見WO 2008/084106)。適用於一或多種本發明方法中之例示性抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體可具有以下特性：(a)減少或阻斷NK細胞上之抑制性KIR2DL1、

KIR2DL2及/或KIR2DL3之信號傳導；(b)高親和力Kd為約2 ng/ml至約6 ng/ml；(c)低親和力Kd為約10 ng/ml至約30 ng/ml；(d)清除率為約0.25 ml/h/kg至約0.75 ml/h/kg；(e)分佈體積為約50 ml/kg至約175 ml/kg。抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之受體佔有率可使用如本發明中所述適於由抗體結合之特定KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3的分析法來測定。參見例如實例2。抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之藥物動力學特性可使用如本發明中所述適於特定抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體的分析法來測定。參見例如實例1。

自體免疫疾病

本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可用於治療自體免疫疾病之組合物、用途及方法中。

自體免疫疾病或病症之實例包括(但不限於)後天免疫缺乏症候群(AIDS)、後天脾萎縮、急性前葡萄膜炎、急性播散性腦脊髓炎(ADEM)、急性痛風性關節炎、急性壞死性出血性腦白質炎、急性或慢性竇炎、急性化膿性腦膜炎(或其他中樞神經系統發炎病症)、急性嚴重炎症、艾迪森氏病、腎上腺炎、成人發作型糖尿病(第II型糖尿病)、成人發作型特發性副甲狀腺低能症(AOIH)、無 γ 球蛋白血症、顆粒球缺乏症、血管炎病(包括血管炎(包括大血管血管炎(包括風濕性多肌痛及巨細胞性(高安氏)關節炎))、過敏病狀、過敏性接觸性皮炎、過敏性皮炎、過敏性肉芽腫

性血管炎、過敏病症、過敏性神經炎、過敏反應、斑形脫髮、全禿、阿爾波特氏症候群、肺泡炎(例如過敏性肺泡炎及纖維化肺泡炎)、阿茲海默氏病、澱粉樣變性、肌萎縮性側索硬化(ALS；葛雷克氏病)、嗜伊紅血球相關病症(例如嗜伊紅血球增多)、全身性過敏反應、僵直性脊椎炎、血管擴張、抗體介導之腎炎、抗-GBM/抗-TBM腎炎、抗原-抗體複合物介導之疾病、抗絲球體基底膜病、抗-磷脂抗體症候群、抗磷脂症候群(APS)、口瘡、口瘡性口炎、再生不能性貧血、心律不整、動脈硬化、動脈硬化病症、關節炎(例如類風濕性關節炎，諸如急性關節炎、慢性類風濕性關節炎)、慢性漸進性關節炎、變形性關節炎、蛔蟲病、麩黴腫(或含有嗜伊紅血球之肉芽腫)、麩菌病、無精液症、哮喘(例如支氣管哮喘及自體免疫哮喘)、共濟失調毛細管擴張症、共濟失調硬化、動脈粥樣硬化、自閉症、自體免疫血管性水腫、自體免疫再生不能性貧血、自體免疫萎縮性胃炎、自體免疫糖尿病、睪丸及卵巢之自體免疫疾病(包括自體免疫睪丸炎及卵巢炎)、與膠原病有關之自體免疫病症、自體免疫自主神經障礙、自體免疫耳部疾病(例如自體免疫內耳疾病(AGED))、自體免疫內分泌疾病(包括甲狀腺炎，諸如自體免疫甲狀腺炎)、自體免疫腸病症候群、自體免疫性腺衰竭、自體免疫聽力喪失、自體免疫溶血、自體免疫肝炎、自體免疫肝臟病症、自體免疫高脂質血症、自體免疫免疫缺乏症、自體免疫內耳疾病(AIED)、自體免疫心肌炎、自體免疫嗜中性球減少

症、自體免疫胰臟炎、自體免疫多內分泌病、第I型自體免疫多腺體症候群、自體免疫視網膜病、自體免疫血小板減少性紫癍(ATP)、自體免疫甲狀腺病、自體免疫蕁麻疹、自體免疫介導之胃腸疾病、軸突及神經元神經病、巴婁病、白塞氏病、良性家族性及缺血再灌注損傷、良性淋巴瘤性血管炎、伯格氏病(IgA腎病)、養鳥者肺、失明、伯克氏病、阻塞性細支氣管炎(非移植)伴有NSIP、支氣管炎、支氣管肺炎麴菌病、布魯頓氏症候群、大皰性類天疱瘡、卡普蘭氏症候群、心肌病、心血管缺血、卡斯曼氏症候群、乳糜瀉、脂肪便症(麩質性腸病)、小腦退化、大腦缺血及伴有血管形成之疾病、恰加斯氏病、通道病(例如癲癇症)、CNS通道病、脈絡膜視網膜炎、脈絡膜炎、自體免疫血液學病症、慢性活動性肝炎或自體免疫慢性活動性肝炎、慢性接觸性皮炎、慢性嗜伊紅血球肺炎、慢性疲勞症候群、慢性肝炎、慢性過敏性肺炎、慢性發炎性關節炎、慢性發炎性髓鞘脫失多神經病(CIDP)、慢性難治炎症、慢性黏膜與皮膚性念珠菌病、慢性神經病(例如IgM多神經病或IgM介導之神經病)、慢性阻塞性氣管疾病、慢性肺部發炎疾病、慢性復發性多灶性骨髓炎(CRMO)、慢性甲狀腺炎(橋本氏甲狀腺炎)或亞急性甲狀腺炎、徹奇-斯全司症候群、癍痕性類天疱瘡/良性黏膜類天疱瘡、CNS發炎病症、CNS血管炎、腹腔病、柯剛氏症候群、冷凝集素病、息肉狀結腸炎、結腸炎(諸如潰瘍性結腸炎、膠原性結腸炎)、涉及T細胞浸潤及慢性發炎反應之病狀、先天性

心臟傳導阻滯、先天性風疹感染、庫姆氏陽性貧血、冠狀動脈疾病、科沙奇病毒性心肌炎、CREST症候群(鈣質沉著、雷諾氏現象)、克羅恩氏病、冷球蛋白血症、庫欣氏症候群、睫狀體炎(例如慢性睫狀體炎、異時性睫狀體炎、虹膜睫狀體炎或福斯氏睫狀體炎)、囊腫性纖維化、細胞激素誘發之毒性、聾症、退化性關節炎、髓鞘脫失疾病(例如自體免疫髓鞘脫失疾病)、髓鞘脫失神經病、登革熱、疱疹樣皮炎及異位性皮炎、皮炎(包括接觸性皮炎)、
● 皮膚炎、具有急性發炎組分之皮膚病、德維克氏病(視神經脊髓炎)、糖尿病性大動脈病症、糖尿病性腎病、糖尿病性視網膜病、戴-布二氏貧血、彌漫性間質性肺纖維化、擴張型心肌病、盤狀狼瘡、涉及白血球滲出之疾病、卓斯勒症候群、杜普伊特倫氏攣縮、埃可病毒感染、濕疹(包括過敏性或異位性濕疹)、腦炎(諸如羅氏腦炎及邊緣葉及/或腦幹腦炎)、腦脊髓炎(例如過敏性腦脊髓炎及實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE))、動脈內膜增生、心內膜炎、內分泌性眼病、子宮內膜異位症、心內膜心肌纖維化、晶狀體過敏性眼內炎、眼內炎、過敏性腸炎、嗜伊紅血球增多-
● 肌痛症候群、嗜伊紅血球性筋膜炎、流行性角膜結膜炎、後天性大皰性表皮鬆懈(EBA)、鞏膜外層、鞏膜外層炎、埃-巴二氏病毒感染、持久性隆起性紅斑、多形紅斑、麻風結節性紅斑、結節性紅斑、胎兒紅血球母細胞增多症、食道運動功能障礙、原發性混合型冷球蛋白血症、篩骨、伊文氏症候群、實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE)、因子VIII

缺乏症、農民肺、風濕熱、費爾提氏症候群、肌肉纖維疼痛、纖維化肺泡炎、絲蟲病、局部區段性絲球體硬化症(FSGS)、食物中毒、額葉萎縮、胃萎縮、巨細胞性關節炎(顛關節炎)、巨細胞性肝炎、巨細胞性多肌痛、絲球體腎炎、伴有及不伴有腎病症候群之絲球體腎炎(GN)(諸如慢性或急性絲球體腎炎(例如原發性GN))、古德帕斯徹氏症候群、痛風性關節炎、顆粒球輸注相關症候群、肉芽腫病(包括淋巴瘤樣肉芽腫病)、伴有多血管炎之肉芽腫病(GPA)、肉芽腫性葡萄膜炎、格雷氏病、古立安-白瑞症候群、點狀牛皮癬、陣發性血紅素尿、黑-里二氏病、橋本氏病、橋本氏腦炎、橋本氏甲狀腺炎、血色病、溶血性貧血或免疫性溶血性貧血(包括自體免疫溶血性貧血(AIHA))、溶血性貧血、A型血友病、亨-舍二氏紫癍、妊娠疱疹、人類免疫缺乏病毒(HIV)感染、痛覺過敏、低 γ 球蛋白血症、性腺低能症、副甲狀腺低能症、特發性尿崩症、特發性面癱、特發性甲狀腺功能低下、特發性IgA腎病、特發性膜性GN或特發性膜性腎病、特發性腎病症候群、特發性肺纖維化、特發性口炎性腹瀉、特發性血小板減少性紫癍(ITP)、IgA腎病、IgE介導之疾病(例如全身性過敏反應以及過敏性及異位性鼻炎)、IgG4相關硬化性疾病、局部迴腸炎、免疫複合物腎炎、與由細胞激素及T-淋巴球介導之急性及遲發型過敏症有關之免疫反應、免疫介導之GN、免疫調節性脂蛋白(包括成人或急性呼吸窘迫症候群(ARDS))、包涵體肌炎、感染性關節炎、由抗精原細

胞抗體所致之不孕症、全部或部分葡萄膜炎、發炎性腸病(IBD)、發炎性過度增殖性皮膚疾病、發炎性肌病、胰島素依賴型糖尿病(第1型)、胰島炎、間質性膀胱炎、間質性肺病、間質肺纖維化、虹膜炎、缺血再灌注病症、關節炎、青少年關節炎、青少年皮肌炎、青少年糖尿病、青少年發作型(第I型)糖尿病(包括兒童胰島素依賴型糖尿病(IDDM))、青少年發作型類風濕性關節炎、川崎氏症候群、乾燥性角膜結膜炎、錐蟲病、藍伯-伊頓症候群、利什曼體病、麻風病、白血球減少症、白血球黏附缺乏症、白血球破碎性血管炎、白血球減少症、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、線性IgA皮膚病、線性IgA疾病(LAD)、呂弗勒氏症候群、類狼瘡性肝炎、狼瘡(包括腎炎、大腦炎、兒童、非腎、腎外、盤狀、脫髮)、狼瘡(SLE)、播散性紅斑狼瘡、萊姆關節炎、萊姆病、淋巴間質性肺炎、瘧疾、男性及女性自體免疫不孕症、上頷骨病、中血管血管炎(包括川崎氏病及結節性多動脈炎)、膜狀增生性或膜增生性GN(MPGN)(包括第I型及第II型)及快速進行性GN、膜性GN(膜性腎病)、美尼爾氏病、腦膜炎、顯微性結腸炎、顯微性多血管炎、偏頭痛、微小腎病變、混合型結締組織病(MCTD)、感染性單核細胞增多症、莫倫氏潰瘍、穆-哈二氏病、多灶性運動神經病、多發性內分泌衰竭、多器官損傷症候群(諸如繼發於敗血症、創傷或出血之多器官損傷症候群)、多器官損傷症候群、多發性硬化症(MS)(諸如脊髓-眼MS)、多發性硬化

症、流行性腮腺炎、肌肉病症、重症肌無力(諸如胸腺瘤相關重症肌無力)、重症肌無力、心肌炎、肌炎、發作性睡病、壞死性小腸結腸炎及透壁性結腸炎，及自體免疫發炎性腸病；壞死性、皮膚或過敏性血管炎；新生兒狼瘡症候群(NLE)、腎病、腎病症候群、神經疾病、視神經脊髓炎(德維克氏)、視神經脊髓炎、神經性肌強直、嗜中性球減少症、非癌性淋巴球增多症、非肉芽腫性葡萄膜炎、非惡性胸腺瘤、眼部及眼眶發炎病症、眼部癍痕性類天疱瘡、卵巢炎、交感神經性眼炎、眼陣攣肌陣攣症候群(OMS)、眼陣攣或眼陣攣肌陣攣症候群(OMS)，及感覺神經病、視神經炎、肉芽腫性睪丸炎、骨關節炎、復發性風濕病、胰臟炎、全部血球減少症、PANDAS(與鏈球菌有關之兒童自體免疫神經精神病症)、腫瘤相關小腦退化、腫瘤相關症候群；腫瘤相關症候群，包括神經腫瘤相關症候群(例如藍伯-伊頓肌無力症候群或伊頓-藍伯症候群)；寄生生物疾病，諸如利什曼原蟲屬；陣發性夜間血紅素尿(PNH)、帕-羅二氏症候群、睫狀體平坦部炎(周邊葡萄膜炎)、帕-特二氏症候群、小病毒感染；類天疱瘡，諸如大皰性類天疱瘡及皮膚類天疱瘡；天疱瘡(包括尋常天疱瘡)、紅斑性天疱瘡、落葉狀天疱瘡、天疱瘡黏膜類天疱瘡、天疱瘡、消化性潰瘍、週期性麻痹、周邊神經病、靜脈周邊性腦脊髓炎、惡性貧血、惡性貧血、晶狀體抗原性葡萄膜炎、肺硬化、POEMS症候群；結節性多動脈炎，第I型、第II型及第III型；原發性慢性多發性關節炎、多軟骨

炎(例如難治或復發性多軟骨炎)、多內分泌腺自體免疫疾病、多內分泌異常、多腺體症候群(例如自體免疫多腺體症候群(或多腺體內分泌病症候群))、風濕性多肌痛、多發性肌炎、多發性肌炎/皮膚炎、多神經病、急性多神經根炎、心切開術後症候群、後葡萄膜炎或自體免疫葡萄膜炎、心肌梗塞後症候群、心包切開術後症候群、鏈球菌感染後腎炎、疫苗接種後症候群、早老性癡呆、原發性膽汁性肝硬化、原發性甲狀腺功能低下、原發性特發性黏液水腫；原發性淋巴球增多症，其包括單株B細胞淋巴球增多症(例如良性單株 γ 球蛋白病及意義未明之單株 γ 球蛋白病MGUS)；原發性黏液水腫、原發性進行性MS(PPMS)及復發-緩解型MS(RRMS)、原發性硬化性膽管炎、孕酮皮炎、進行性全身性硬化、增生性關節炎；牛皮癬，諸如斑塊型牛皮癬；牛皮癬、牛皮癬性關節炎、肺泡蛋白沈積症、肺部浸潤性嗜伊紅血球增多、純紅血球貧血或再生不良(PRCA)、純紅血球再生不良、化膿性或非化膿性竇炎、膿皰性牛皮癬及指甲牛皮癬、腎盂炎、壞疽性膿皮病、奎汶氏甲狀腺炎、雷諾氏現象、反應性關節炎、反覆流產、血壓反應降低、反射性交感神經失養症、難治型口炎性腹瀉、萊特爾氏病或症候群、復發性多軟骨炎、心肌或其他組織再灌注損傷、再灌注損傷、呼吸窘迫症候群、腿不寧症候群、視網膜自體免疫、腹膜後纖維化、雷諾氏症候群、風濕性疾病、風濕熱、風濕病、類風濕性關節炎、類風濕性脊椎炎、風疹病毒感染、塞氏症候群、類肉瘤病、

血吸蟲病、施密特症候群、SCID及埃-巴二氏病毒相關疾病、鞏膜、鞏膜炎、指硬皮病、硬皮病(包括全身性硬皮病)、硬化性膽管炎、播散性硬化；硬化，諸如全身性硬化；感覺神經性聽力喪失、血清反應陰性脊椎關節炎、席漢氏症候群、夏爾曼氏症候群、矽肺病、休格連氏症候群、精子及睪丸自體免疫、蝶竇炎、斯-約二氏症候群、僵人症候群、亞急性細菌性心內膜炎(SBE)、亞急性皮膚紅斑狼瘡、突發性聽力喪失、蘇薩克氏症候群、西登哈姆氏舞蹈病、交感神經性眼炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)(例如皮膚SLE)、全身性壞死性血管炎及ANCA相關血管炎，諸如徹奇-斯全司血管炎或症候群(CSS)；脊髓癆、高安氏動脈炎、毛細血管擴張、顛動脈炎/巨細胞性動脈炎、血栓閉塞性脈管炎；血小板減少症(例如如由心肌梗塞患者所顯現)，包括血栓性血小板減少性紫癍(TTP)，及自體免疫或免疫介導之血小板減少症，諸如特發性血小板減少性紫癍(ITP)，包括慢性或急性ITP；血小板減少性紫癍(TTP)、甲狀腺中毒症、組織損傷、托-享二氏症候群、中毒性表皮壞死溶解、中毒性休克症候群、輸血反應、嬰兒期短暫性低 γ 球蛋白血症、橫貫性脊髓炎、熱帶肺性嗜伊紅血球增多、結核病、潰瘍性結腸炎、未分化型結締組織病(UCTD)、蕁麻疹(例如慢性過敏性蕁麻疹及慢性特發性蕁麻疹，包括慢性自體免疫蕁麻疹)、葡萄膜炎(例如前葡萄膜炎)、葡萄膜視網膜炎、瓣膜炎、血管功能障礙、血管炎、脊椎關節炎、水皰性皮膚病、白斑病、韋格納氏肉芽

腫病(現稱作伴有多血管炎之肉芽腫病(GPA))、維斯科特-奧爾德里奇症候群及X性聯高IgM症候群。

治療癌症

本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可用於治療癌症(例如腫瘤)之組合物、用途及方法中。

癌症之實例包括(但不限於)癌瘤、淋巴瘤、母細胞瘤、肉瘤及白血病。該等癌症之更特定的實例包括鱗狀細胞癌、肺癌(包括小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌及肺鱗狀細胞癌)、腹膜癌、肝細胞癌、胃癌(包括胃腸癌)、胰臟癌、神經膠母細胞瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞瘤、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌或子宮癌、唾液腺癌、腎癌、肝癌、前列腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、肝癌及各種類型之頭頸癌，以及B細胞淋巴瘤(包括低級/濾泡性非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)；小淋巴球(SL)NHL；中級/濾泡性NHL；中級彌漫性NHL；高級免疫母細胞性NHL；高級淋巴母細胞NHL；高級小無核裂細胞NHL；巨大腫塊(bulky disease)NHL；套細胞淋巴瘤；AIDS相關淋巴瘤；及瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's Macroglobulinemia))；慢性淋巴球性白血病(CLL)；急性淋巴母細胞性白血病(ALL)；毛細胞白血病；慢性骨髓母細胞性白血病；多發性骨髓瘤及移植後淋巴組織增生病症(PTLD)。

術語可用本發明治療之癌症包括(但不限於)癌瘤、淋巴瘤、母細胞瘤、肉瘤及白血病或淋巴惡性病。該等癌症之

更特定的實例包括膀胱癌、卵巢癌、黑素瘤、鱗狀細胞癌、肺癌(包括小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌及肺鱗狀細胞癌)、腹膜癌、肝細胞癌、胃癌(包括胃腸癌)、胰臟癌、神經膠母細胞瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞瘤、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌或子宮癌、唾液腺癌、腎癌、肝癌、前列腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、肝癌及各種類型之頭頸癌，以及B細胞淋巴瘤(包括低級/濾泡性非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)；小淋巴球(SL)NHL；中級/濾泡性NHL；中級彌漫性NHL；高級免疫母細胞性NHL；高級淋巴母細胞NHL；高級小無核裂細胞NHL；巨大腫塊NHL；套細胞淋巴瘤；AIDS相關淋巴瘤；及瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症)；慢性淋巴球性白血病(CLL)；急性淋巴母細胞性白血病(ALL)；毛細胞白血病；慢性骨髓母細胞性白血病；及移植後淋巴組織增生病症(PTLD)，以及與母斑病有關之異常血管增生、水腫(諸如與腦腫瘤有關)及梅格斯氏症候群(Meigs' syndrome)。較佳的是，癌症選自由以下組成之群：乳癌、結腸直腸癌、直腸癌、非小細胞肺癌、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、腎細胞癌、前列腺癌、肝癌、胰臟癌、軟組織肉瘤、卡波西氏肉瘤(kaposi's sarcoma)、類癌瘤、頭頸癌、黑素瘤、卵巢癌、間皮瘤及多發性骨髓瘤。在一個例示性實施例(參見工作實例)中，癌症為早期進展型(包括轉移性)膀胱癌、卵巢癌或黑素瘤。在另一實施例中，癌症為結腸直腸癌。可用本發明治療之癌症病狀包括轉移性癌症，其中骨髓源性

抑制細胞表現KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3會抑制抗腫瘤反應及抗侵襲性免疫反應。本發明之方法尤其適用於治療已形成血管之腫瘤。

本發明亦適用於與化學療法或放射療法或其他生物製劑組合治療癌症且用於增強其活性，亦即，在骨髓源性抑制細胞表現KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3會抑制抗腫瘤反應及化學療法或放射療法或生物製劑之功效的個體中。根據本發明可使用展現抗癌活性之任何化學治療劑。較佳的是，化學治療劑可選自由以下組成之群：烷基化劑、抗代謝物、葉酸類似物、嘧啶類似物、嘌呤類似物及相關抑制劑、長春花生物鹼、表鬼臼毒素、抗生素、L-天冬醯胺酶、拓撲異構酶抑制劑、干擾素、鉑配位錯合物、經蔥二酮取代之脲、甲基胍衍生物、腎上腺皮質抑制劑、腎上腺類固醇、孕酮、雌激素、抗雌激素劑、雄激素、抗雄激素劑及促性腺激素釋放激素類似物。更佳的是，化學治療劑可選自由以下組成之群：5-氟尿嘧啶(5-FU)、甲醯四氫葉酸(LV)、伊立替康、奧賽力鉑(oxaliplatin)、卡培他濱(capecitabine)、太平洋紫杉醇及多烯紫杉醇(doxetaxel)。兩種或兩種以上化學治療劑可呈混合液形式用於與抗-VEGF抗體之投藥組合投與。一種較佳組合化學療法為基於氟尿嘧啶之組合化學療法，包含5-FU及一或多種其他化學治療劑。組合化學療法之適合給藥方案在此項技術中為已知的且描述於例如Saltz等人，(1999) **Proc ASCO** 18:233a及Douillard等人，(2000) **Lancet** 355: 1041-7中。生物製劑

可為另一免疫增強劑，諸如PD-L1、PD-L2、CTLA-4及PD-L1、PD-L2、CTLA-4融合蛋白之抗體以及細胞激素、生長因子拮抗劑及促效劑、激素及抗細胞激素抗體。

過敏

本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可用於治療過敏(例如對過敏原之過敏性反應)之組合物、用途及方法中。

過敏原之實例包括蟎抗原及花粉抗原。

代表性過敏性疾病包括支氣管哮喘、過敏性鼻炎、異位性皮炎以及花粉及昆蟲過敏。過敏素質為可由過敏父母之子女遺傳之遺傳因子。家族性過敏性疾病亦稱為異位性疾病，且遺傳傳遞之病理性因素為異位性素質。「異位性皮炎」為異位性疾病之一般術語，尤其伴隨有皮炎症狀之疾病。較佳實例包括選自由以下組成之群的過敏性病狀：濕疹、過敏性鼻炎、枯草熱、蕁麻疹及食物過敏。過敏性病狀包括濕疹、過敏性鼻炎或鼻傷風、枯草熱、支氣管哮喘、蕁麻疹(麻疹)及食物過敏以及其他異位性病狀。

發炎病狀及發炎疾病

本文所述之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可用於治療發炎病狀及發炎疾病之組合物、用途及方法中。

發炎病狀及發炎疾病包括(但不限於)風濕性疾病(例如類風濕性關節炎、骨關節炎、牛皮癬性關節炎)、脊椎關節病(例如僵直性脊椎炎、反應性關節炎、萊特爾氏症候

群)、結晶性關節病(例如痛風、假性痛風、焦磷酸鈣沈積病)、多發性硬化症、萊姆病、風濕性多肌痛;結締組織疾病(例如全身性紅斑狼瘡、全身性硬化、多發性肌炎、皮膚炎、休格連氏症候群);血管炎病(例如結節性多動脈炎、韋格納氏肉芽腫病、徹奇-斯全司症候群);發炎病狀,包括創傷或缺血之後果、類肉瘤病;血管疾病,包括動脈粥樣硬化性血管疾病、動脈粥樣硬化及血管阻塞性疾病(例如動脈粥樣硬化、缺血性心臟病、心肌梗塞、中風、周邊血管疾病)及血管支架再狹窄;眼部疾病,包括葡萄膜炎、角膜病、虹膜炎、虹膜睫狀體炎及白內障。

發炎病狀亦包括(但不限於)酸逆流/胃灼熱、瘡瘡、尋常瘡瘡、過敏及敏感、阿茲海默氏病、哮喘、動脈粥樣硬化及血管阻塞性疾病(例如動脈粥樣硬化、缺血性心臟病、心肌梗塞、中風、周邊血管疾病)及血管支架再狹窄、自體免疫疾病、支氣管炎、癌症、心臟炎、白內障、乳糜瀉、慢性疼痛、慢性前列腺炎、肝硬化、結腸炎、結締組織病(例如全身性紅斑狼瘡、全身性硬化、多發性肌炎、皮膚炎、休格連氏症候群)、角膜病、克羅恩氏病、結晶性關節病(例如痛風、假性痛風、焦磷酸鈣沈積病)、癡呆、皮炎、糖尿病、乾眼症、濕疹、水腫、氣腫、肌肉纖維疼痛、胃腸炎、齒齦炎、絲球體腎炎、心臟病、肝炎、高血壓、過敏、發炎性腸病;發炎病狀,包括創傷或缺血之後果;胰島素抗性、間質性膀胱炎、虹膜睫狀體炎、虹膜炎、關節疼痛/關節炎/類風濕性關節炎、萊姆病、代謝

症候群(症候群X)、多發性硬化症、肌炎、腎炎、肥胖症；眼部疾病，包括葡萄膜炎；骨質減少、骨質疏鬆症、帕金森氏症、骨盆發炎性疾病、牙周病、多動脈炎、多軟骨炎、風濕性多肌痛、牛皮癬、再灌注損傷、風濕性關節炎、風濕性疾病(例如類風濕性關節炎、骨關節炎、牛皮癬性關節炎)、類風濕性關節炎、類肉瘤病、硬皮病、竇炎、休格連氏症候群、結腸痙攣、脊椎關節病(例如僵直性脊椎炎、反應性關節炎、萊特爾氏症候群)、全身性念珠菌病、腱炎、移植排斥反應、UTI、陰道炎；血管疾病，包括動脈粥樣硬化性血管疾病；血管炎病(例如結節性多動脈炎、韋格納氏肉芽腫病、徹奇-斯全司症候群)及血管炎。

診斷方法

選擇性結合 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及抗-KIR2DL3 以及抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及抗-KIR2DL3 抗體及其抗原結合片段可用於偵測 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽存在或不存在的診斷方法中。抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及抗-KIR2DL3 以及抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及抗-KIR2DL3 抗體可用於包含以下之方法中：(a)使測試樣品與結合 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 或 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 之抗體或其片段接觸，及(b)分析抗體-抗原決定基複合物。抗體-抗原決定基複合物可藉由西方墨點法、放射免疫分析、ELISA(酶聯結免疫吸附劑分析)、「夾心」免疫分

析、免測沈澱分析、沈澱反應、凝膠擴散沈澱反應、免疫擴散分析、凝集分析、補體固定分析、免疫組織化學分析、螢光免疫分析及蛋白質A免疫分析來偵測。樣品可為組織生物檢體、淋巴、尿、腦脊髓液、羊水、發炎性滲出物、血液、血清、大便或自結腸直腸道收集之液體。

選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體可為重組抗體。選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體片段可為Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、CDR、互補位或抗體能夠結合抗原之部分。選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體可為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特異性抗體。選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體或片段可結合至標記，包括(但不限於)化學發光標記、順磁性標記(例如鋁、錳、鉑、氧、釧、鎳、銦、釷或鐳)、MRI對比劑、螢光標記、生物發光標記或放射性標記。

另外，選擇性結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3抗體及其抗原結合片段可連接至固體支撐物(例如珠粒、試管、薄片、培養皿或試條)，諸如陣列。

方法可包含藉由正電子發射斷層攝影法(PET)、CCD微光監測系統、X射線、CT掃描、閃爍攝影術、光聲學成像、單光子放射電腦斷層攝影術(SPECT)、磁共振成像(MRI)、超音波、順磁性成像及內窺鏡光學相干斷層攝影術使KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽成像。

本發明可包含執行評估或測試步驟以評定疾病之存在、階段、進展或分級的步驟。因此，治療患者之自體免疫或發炎疾病之方法可包含：(a)對患者之疾病進行評估；及(b)若該患者患有適於用本發明之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體治療之疾病，則投與該患者有效劑量之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。視情況而定，該評估步驟可涉及自懷疑患有自體免疫或發炎疾病之患者獲得生物樣品。舉例而言，類風濕性關節炎患者之*KIR*及*HLA-C*基因型可提供有關對抗-TNF- α 療法之反應的預測性資訊。參見McGeough等人，(2011) **Rheumatology International**。並且，表現KIR2DL同功異型物與易患發炎性腸病有關。Zhang等人，(2008) **Life Science Journal** 5(4):17-22。評估疾病之方法(例如診斷、分期)可藉由此項技術中已知之任何適合技術，例如藉由進行基於實驗室之測試來達成。適合技術之實例包括進行基於PCR或RT-PCR之分析(例如以偵測常稱為「標記」或「生物標記」之疾病相關核酸或基因)、生檢、內窺鏡檢查、大便研究、任何非侵入性實驗室測試(例如貧血及感染、篩選肝臟及膽管問題之肝功能測試、細菌、病毒及寄生物感染之測試)、超音波、CT、MRE、MRI及其他成像技術、染色體分析、免疫分析/免疫細胞化學偵測技術(例如存在自體抗體)、組織學及/或組織病理學分析、血清蛋白電泳、流動式細胞量測術(例如偵測免疫細胞、T細胞)、動脈血氣(ABG)分析(在哮喘或COPD中)及身體檢

查技術(例如對於身體症狀、有滑膜炎之關節數)。

此外，具有活化 *KIR2DS1* 及/或 *KIR2DS2* 基因之個體易於患上牛皮癬性關節炎，但只有在其同源抑制性受體 *KIR2DL1* 及 *KIR2DL2/3* 之 HLA 配體缺少時。抑制性 KIR 之配體不存在可能潛在地降低經由活化受體介導之 NK(及/或 T) 細胞活化的臨限值，從而促進牛皮癬性關節炎發病。Martin 等人，(2002) *The Journal of Immunology* 169: 2818-2822。該等方法包含偵測自體抗體之存在，例如偵測類風濕因子 (RhF)、抗-環狀瓜胺酸化肽抗體、抗-ssRNA、抗-dsRNA、抗-Smith、抗-磷脂、抗-核及/或抗-肌動蛋白抗體。在一個實施例中，該等方法包含評定蛋白水解酶、發炎介體、進行性炎症之標記或促發炎細胞激素之含量。在一個實施例中，該等方法包含測定 c-反應蛋白 (CRP) 含量及/或紅血球沈降率。確定個體有異常結果(指示疾病、惡化、進行性炎症)，例如異常 ABG、自體抗體、CRP、任何蛋白水解酶、發炎介體或進行性炎症標記含量，指示該個體適於用抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及/或抗-KIR2DL3 抗體治療。評估來自患者之生物樣品中 T 細胞，較佳為 CD4+ T 細胞及/或活化及/或增殖 T 細胞之存在。

篩選分析

本發明提供鑑別調節劑之方法(「篩選分析」)，該等調節劑亦即候選或測試化合物或藥劑(例如肽、肽模擬物、小分子或其他藥物)，其結合至 *KIR2DL1*、*KIR2DL2* 及

KIR2DL3 多肽，對例如 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 表現或 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 活性具有刺激或抑制作用，或對 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 與其天然結合搭配物之間的相互作用具有刺激或抑制作用。

本發明提供篩選結合至 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 蛋白質或多肽或其生物活性部分，例如調節 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽與其天然結合搭配物相互作用之能力之候選或測試化合物的分析。在另一實施例中，本發明提供篩選結合至 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 蛋白質或多肽或其生物活性部分或調節其活性之候選或測試化合物的分析。在一實施例中，本發明提供篩選對由 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 負向調節之免疫功能(諸如本文中所鑑別者)具有刺激或抑制作用之候選或測試化合物或基於對 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 與其天然結合搭配物之間相互作用之影響來篩選候選或測試化合物的分析。此等 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 相關功能包括例如抑制 T 細胞產生細胞激素(例如 IL-2、 γ 干擾素)、抑制適度 CD28 共刺激、抑制 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 細胞增殖、抑制初始及記憶性 CD4⁺ T 細胞增殖及抑制 TCR 活化而不誘導細胞凋亡。本發明之測試化合物可使用此項技術中已知之組合庫方法中之多種途徑中之任一者獲得，包括：生物庫；可空間定址平行固相或溶液相庫；需要解迴旋之合成庫方法；「一珠粒一化合物」庫方法；及使用親和層析選擇之合成庫方法。生物庫途徑限於肽庫，而其他四種途徑適用於

肽、非肽寡聚物或化合物之小分子庫。Lam (1997) **Anticancer Drug Des.** 12: 145。

在一個實施例中，分析為基於細胞之分析，其中使表現 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或其生物活性部分之細胞與測試化合物接觸，且測定測試化合物調節 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3活性之能力。測定測試化合物調節 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3活性之能力可藉由監測例如 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合至其天然結合搭配物及調節免疫細胞活性之能力來達成。免疫細胞可為 T細胞、B細胞或骨髓細胞。測定測試化合物調節 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3與其反受體(counter-receptor)之結合的能力可例如藉由使 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3與放射性同位素或酶標記偶合以監測測試化合物調節 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3與表現 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3反受體之 T細胞之結合的能力來達成。測定測試化合物結合 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之能力可例如藉由使化合物與放射性同位素或酶標記偶合，從而可藉由偵測複合物中標記之 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3化合物來測定化合物與 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之結合來達成。

在未標記任何相互作用物的情況下測定化合物與 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3相互作用的能力亦處於本發明範疇內。舉例而言，微生理記錄儀(microphysiometer)可用於在未標記化合物或 KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3

的情況下偵測化合物與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之相互作用。McConnell, H. M.等人, (1992) *Science* 257:1906-1912。微生理記錄儀(例如細胞感應器(Cytosensor))為使用光可定址電位測定感測器(LAPS)量測細胞酸化其環境之速率的分析儀器。此酸化速率之改變可用作化合物與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之間相互作用的指標。

分析可為基於細胞之分析，其包含使表現KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物之T細胞與測試化合物接觸及測定測試化合物調節(例如刺激或抑制)KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物之活性的能力。測定測試化合物調節KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物之活性的能力可例如藉由測定KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物或與其相互作用之能力來達成。

測定KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或其生物活性片段結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物或與其相互作用之能力可藉由上文所述之用於測定直接結合之一種方法來達成。在一實施例中，測定KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物或與其相互作用之能力可藉由測定結合搭配物之活性來達成。舉例而言，結合搭配物之活性可藉由偵測細胞第二信使(例如酪胺酸激酶或磷酸酶活性)之誘導、偵測適當基質之催化/酶活性、偵測報導基因(包含可操作地連接至編碼可偵測標記(例如螢光素酶)之核酸的

標靶反應性調節元件)之誘導或偵測標靶調節細胞反應來測定。舉例而言，測定KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽結合至天然KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物或與其相互作用之能力可藉由量測化合物在增殖分析中調節免疫細胞共刺激或抑制之能力，或藉由干擾KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽結合至識別一部分KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之抗體的能力來達成。在一個實施例中，調節T細胞活化之化合物可藉由測定化合物調節T細胞增殖或細胞激素產生之能力來鑑別。在一實施例中，調節T細胞活化之化合物可藉由測定化合物在超過一種抗原濃度下調節T細胞增殖或細胞激素產生之能力來鑑別。

分析可為無細胞分析，其中使KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或其生物活性部分與測試化合物接觸，且測定測試化合物結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或其生物活性部分之能力。用於本發明分析中之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之較佳生物活性部分包括參與與非KIR2DL1、非KIR2DL2及非KIR2DL3分子相互作用之片段，例如結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物之至少一部分細胞外域。測試化合物與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之結合可如上文所述直接或間接測定。

分析可為無細胞分析，其中使KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或其生物活性部分與測試化合物接觸且測定測試化合物調節(例如刺激或抑制)KIR2DL1、KIR2DL2及

KIR2DL3多肽或其生物活性部分之活性的能力。測定測試化合物調節KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之活性的能力可例如藉由以上文所述之用於測定直接結合之一種方法測定KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物之能力來達成。本發明之無細胞分析可使用多肽之可溶性及/或膜結合形式(例如KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或其生物活性部分，或結合KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之結合搭配物)在使用膜結合形式之多肽(例如細胞表面KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3)之無細胞分析的狀況下，可能需要使用增溶劑，從而維持多肽之膜結合形式處於溶液中。該等增溶劑之實例包括非離子型清潔劑，諸如正辛基葡糖苷、正十二烷基葡糖苷、正十二烷基麥芽糖苷、辛醯基-N-甲基葡糖醯胺、癸醯基-N-甲基葡糖醯胺、Triton® X-100、Triton® X-114、Thesit、異十三烷基聚(乙二醇醚)_n、3-[(3-膽醯胺基丙基)二甲基銨基]-1-丙烷磺酸酯(CHAPS)、3-[(3-膽醯胺基丙基)二甲基銨基]-2-羥基-1-丙烷磺酸酯(CHAPSO)或N-十二烷基-dbd.N,N-二甲基-3-銨基-1-丙烷磺酸酯。

在分析方法中，可能需要固定KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3或其結合搭配物以有助於自一種或兩種多肽之未複合形式分離複合之形式，以及以提供分析自動化。測試化合物與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之結合，或KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽與其結合搭配物在候

選化合物存在及不存在下之相互作用可在任何適用於容納反應物之容器中達成。該等容器之實例包括微量滴定盤、試管及微量離心管。可提供添加有允許一種或兩種多肽結合至基質之結構域的融合蛋白。舉例而言，可將麩胱甘肽-S-轉移酶/KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3融合蛋白或麩胱甘肽-S-轉移酶/結合搭配物融合蛋白吸附至麩胱甘肽SEPHAROSE®珠粒(Sigma Chemical, St. Louis, Mo.)或麩胱甘肽衍生微量滴定盤上，接著與測試化合物或測試化合物及未吸附之結合搭配物多肽或KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽組合，且在有助於複合物形成之條件下培育混合物(例如在鹽及pH值之生理條件下)。在培育後，洗滌珠粒或微量滴定盤孔以移除任何未結合之組分，在珠粒之狀況下固定基質，且例如如上文所述直接或間接測定複合物形成。或者，可使複合物自基質解離，且使用標準技術測定KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合或活性水準。其他將多肽固定於基質上之技術亦可用於本發明之篩選分析中。在一替代實施例中，測定測試化合物調節KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之活性的能力可藉由測定測試化合物調節在KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3下游，例如藉由與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物之細胞質域相互作用而起作用之分子之活性的能力來達成。舉例而言，可如先前所述測定第二信使之含量、相互作用分子對適當標靶之活性或相互作用子與適當標靶之結合。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3表現之調節劑可用如下

5

一種方法鑑別，在該方法中，使細胞與候選化合物接觸且測定細胞中KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA或多肽之表現。將KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA或多肽在候選化合物存在下之表現量與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA或多肽在不存在候選化合物下之表現量相比較。接著若改變具統計顯著性，則可基於此比較將候選化合物鑑別為KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3表現之調節劑。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽可在雙雜交分析或三雜交分析中用作「誘餌蛋白」（參見例如美國專利第5,283,317號；Zervos等人，(1993) *Cell* 72:223-232；Madura等人，(1993) *J. Biol. Chem.* 268:12046-12054；Bartel等人，(1993) *Biotechniques* 14:920-924；Iwabuchi等人，(1993) *Oncogene* 8:1693-1696；及WO 94/10300），以鑑別結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3或與其相互作用（「KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合蛋白」、「KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合搭配物」或「KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3-bp」）且涉及KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3活性之其他多肽。該等KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合蛋白亦可能涉及由KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或作為例如KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3介導之信號傳導路徑之下游元件的KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3標靶進行信號傳播。或者，該等KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3結合多肽

可為 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 抑制劑。雙雜交系統係基於大部分轉錄因子之模組化性質，其由可分離 DNA 結合及活化域組成。簡言之，該分析使用兩種不同之 DNA 構築體。在一種構築體中，將編碼 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之基因融合至編碼已知轉錄因子(例如 GAL-4)之 DNA 結合域之基因。在另一構築體中，將來自 DNA 序列庫之編碼未鑑別多肽(「捕食物」或「樣品」)之 DNA 序列融合至編碼已知轉錄因子之活化域之基因。若「誘餌」多肽與「捕食」多肽能夠在活體內相互作用，形成 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 依賴性複合物，則使得轉錄因子之 DNA 結合域與活化域緊密接近。此接近允許可操作地連接至對轉錄因子有反應之轉錄調節位點之報導基因(例如 LacZ)轉錄。可偵測報導基因之表現且可分離含有功能轉錄因子之細胞群落且用於獲得編碼與 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽相互作用之多肽的選殖之基因。

兩種或兩種以上分析之組合描述於本文中。舉例而言，調節劑可使用基於細胞或無細胞分析來鑑別，且該調節劑調節 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽之活性的能力可在活體內，例如在動物(諸如細胞轉型及/或腫瘤形成之動物模型)中加以證實。

本發明進一步關於由上述篩選分析鑑別之新穎藥劑。如在本文所述之方法中於適當動物模型中所鑑別之藥劑。舉例而言，如本文所述鑑別之藥劑(例如 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 調節劑、反義 KIR2DL1、KIR2DL2 及

KIR2DL3 核酸分子、KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 特異性抗體或 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 結合搭配物) 可用於在動物模型中測定用該種藥劑治療之功效、毒性或副作用。或者，如本文所述鑑別之藥劑可用於在動物模型中確定該藥劑之作用機制。此外，本發明關於由上述篩選分析所鑑別之新穎藥劑的用途，其用於如本文所述之治療。

偵測分析

本文所鑑別之 cDNA 序列之部分或片段(及相應完全基因序列) 可以多種方式用作聚核苷酸試劑。舉例而言，此等序列可用於：(i) 定位染色體上之其各別基因；且因此定位與遺傳性疾病有關之基因區域；(ii) 自微小生物樣品鑑別個體(組織分型)；及(iii) 有助於法醫鑑別生物樣品。此等應用描述於以下子部分中。

染色體定位

在分離基因之序列(或部分序列)後，此序列可用於定位染色體上基因之位置。此方法稱為染色體定位。因此，本文所述之 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 核苷酸序列之部分或片段可用於定位染色體上 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 基因之位置。在染色體上定位 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 序列為使此等序列與與疾病有關之基因相關中重要之第一步驟。簡言之，可藉由自 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 核苷酸序列製備 PCR 引子(長度較佳為 15 至 25 bp) 將 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 基因定位至染色體。可利用電腦分析 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 序列以預

測不跨越基因組DNA中之一個以上外顯子，從而使擴增過程複雜的引子。此等引子接著可用於對含有個別人類染色體之體細胞雜交物進行PCR篩選。唯獨彼等含有對應於KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列之人類基因之雜交物將產生擴增片段。藉由融合來自不同哺乳動物之體細胞(例如人類及小鼠細胞)來製備體細胞雜交物。隨著人類及小鼠細胞之雜交物生長及分裂，其逐漸以隨機順序喪失人類染色體，但保留小鼠染色體。藉由使用因缺乏特定酶而不能培養小鼠細胞，但可培養人類細胞之培養基，將保留一種含有編碼該所需酶之基因的人類染色體。藉由使用各種培養基，可確立雜交細胞株組。一組中之各細胞株含有單個人類染色體或少數人類染色體及全組小鼠染色體，使得可容易地將個別基因定位至特定人類染色體。D'Eustachio等人，(1983) *Science* 220: 919-924。僅含有人類染色體片段之體細胞雜交物亦可藉由使用具有易位及缺失之人類染色體而產生。

體細胞雜交物之PCR定位為將特定序列指定至特定染色體之快速程序。每天可使用單個熱循環器指定三個或三個以上序列。使用KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核苷酸序列設計寡核苷酸引子，可在特定染色體之片段組中達成次定位(sublocalization)。可類似用於將KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列定位至其染色體之其他定位策略包括原位雜交(描述於Fan等人，(1990) *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 87:6223-27中)、用標記之流式分選染色體預篩選，及藉由

與染色體特異性cDNA庫雜交進行預先選擇。

DNA序列與中期染色體塗片(spread)之螢光原位雜交(FISH)可進一步用於以單步提供準確染色體位置。可使用分裂由化學物質(諸如破壞有絲分裂紡錘體之乙醯甲基秋水仙素(colcemid))在中期阻斷之細胞製成染色體塗片。可用胰蛋白酶短暫處理染色體，且接著用Giemsa染色。在各染色體上產生淺色及深色條帶之圖案，因此可個別地鑑別染色體。FISH技術可用於短達500或600個鹼基之DNA序列。然而，大於1,000個鹼基之純系以足以簡單偵測之信號強度結合至獨特染色體位置的可能性較大。較佳，1,000個鹼基，且更佳2,000個鹼基將足以在合理時間內獲得良好結果。關於對此技術之評述，參見Verma等人，*Human Chromosomes: A Manual of basic Techniques* (Pergamon Press, New York 1988)。可個別地使用用於染色體定位之試劑來標記彼染色體上之單個染色體或單個位點，或可使用試劑組以標記多個位點及/或多個染色體。對應於基因之非編碼區之試劑實際上較佳用於定位目的。編碼序列在基因家族內很可能為保守的，因此增加在染色體定位期間交叉雜交之可能性。

在將序列定位至準確染色體位置後，序列在染色體上之物理位置可與基因圖資料相關。最終，可對來自若干個體之基因進行完全定序以確定突變之存在及區分突變與多形現象。

組織分型

本發明之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列亦可用於自微小生物樣品鑑別個體。此外，本發明之序列可用於提供一種替代技術，該技術確定個體基因組之所選部分之實際逐個鹼基DNA序列。因此，本文所述之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核苷酸序列可用於製備序列之5'及3'端之兩個PCR引子。此等引子接著可用於擴增個體之DNA且隨後對其進行定序。

以此方式製備之個體之相應DNA序列組可提供獨特之個體鑑別，因為各個體因對偶基因差異而具有一組獨特之該等DNA序列。本發明之序列可用於自個體及組織獲得該等鑑別序列。本發明之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核苷酸序列獨特地代表人類基因組之部分。對偶基因變異以某種程度出現於此等序列之編碼區中，且以更大程度出現於非編碼區中。據估計個別人類之間對偶基因變異以每各500個鹼基約一次之頻率出現。本文所述之各序列在某種程度上可用作可出於達成鑑別目的與來自個體之DNA相比較之標準。由於在非編碼區中存在較大量之多形現象，所以需要較少序列來區分個體。SEQ ID NO: 1或4之非編碼序列可方便地以大概10至1,000個引子組提供陽性個體鑑別，該等引子各自產生具有100個鹼基之非編碼擴增序列。若使用預測之編碼序列，諸如SEQ ID NO: 3或6中之編碼序列，則用於陽性個體鑑別之引子之較適當數目為500至2000個。

若使用本文所述之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核苷

酸序列之試劑組產生個體之獨特鑑別資料庫，則該等相同試劑隨後可用於鑑別來自彼個體之組織。使用獨特鑑別資料庫，可由極小組織樣品對存活或死亡之個體進行陽性鑑別。

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列在法醫生物學中之用途

基於DNA之鑑別技術亦可用於法醫生物學中。本發明之序列可用於提供靶向人類基因組中之特定基因座之聚核苷酸試劑，例如PCR引子，其可藉由例如提供另一「鑑別標記」(亦即特定個體獨有之另一DNA序列)來增強基於DNA之法醫鑑別的可靠度。如上所述，實際鹼基序列資訊可用於鑑別而作為由限制酶產生之片段形成之圖案的準確替代形式。靶向SEQ ID NO: 1或3之非編碼區之序列尤其適於此用途，因為較大量之多形現象存在於非編碼區中，使得較易於使用此技術區分個體。聚核苷酸試劑之實例包括KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核苷酸序列或其部分，例如源自SEQ ID NO: 1或3之非編碼區且長度為至少20個鹼基，較佳為至少30個鹼基的片段。本文所述之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核苷酸序列可進一步用於提供聚核苷酸試劑，例如標記或可標記探針，其可用於例如原位雜交技術中以鑑別特定組織，例如淋巴球。此在向法醫病理學家提供未知起源之組織的狀況下極適用。該等KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3探針組可用於藉由物種及/或藉由器官類型鑑別組織。以類似方式，此等試劑(例如KIR2DL1、

KIR2DL2及KIR2DL3引子或探針)可用於針對污染篩選組織培養物(亦即,針對培養物中不同類型之細胞之混合物的存在進行篩選)。

診斷分析

偵測生物樣品中KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或核酸存在或不存在的例示性方法涉及自測試個體獲得生物樣品及使生物樣品與能夠偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之核酸(例如mRNA或基因組DNA)的化合物或試劑接觸,從而在生物樣品中偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或核酸之存在。較佳用於偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA或基因組DNA之試劑為能夠與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA或基因組DNA雜交之標記之核酸探針。核酸探針可為例如SEQ ID NO: 1或3中所述之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3核酸或其部分,諸如長度為至少15個、30個、50個、100個、250個或500個核苷酸且足以在嚴格條件下與KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA或基因組DNA特異性雜交的寡核苷酸。其他適用於本發明之診斷分析中之探針描述於本文中。較佳用於偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之試劑為能夠結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之抗體,較佳為具有可偵測標記之抗體。抗體可為多株抗體,或更佳為單株抗體。可使用完整抗體,或其片段(例如Fab或F(ab')₂)。術語「標記」對於探針或抗體而言意欲涵蓋藉由使可偵測物質

偶合(亦即物理連接)至探針或抗體來直接標記探針或抗體，以及藉由與直接標記之另一試劑的反應性間接標記探針或抗體。間接標記之實例包括使用螢光標記之二次抗體偵測一次抗體及用生物素末端標記DNA探針以使其可用螢光標記之抗生蛋白鏈菌素偵測。術語「生物樣品」意欲包括自個體分離之組織、細胞及生物體液以及個體體內存在之組織、細胞及體液。即，本發明之偵測方法可用於在活體外以及活體內偵測生物樣品中之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3 mRNA、多肽或基因組DNA。舉例而言，偵測PD-L2 mRNA之活體外技術包括北方雜交及原位雜交。偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之活體外技術包括酶聯結免疫吸附劑分析(ELISA)、西方墨點法、免測沈澱法及免疫螢光。偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3基因組DNA之活體外技術包括南方雜交。此外，偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之活體內技術包括將標記之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體引入個體。舉例而言，該抗體可用放射性標記來標記，該放射性標記在個體體內之存在及位置可藉由標準成像技術來偵測。生物樣品含有測試個體之多肽分子。或者，生物樣品可含有來自測試個體之mRNA分子或來自測試個體之基因組DNA分子。較佳之生物樣品為藉由習知方式自個體分離之血清樣品。在另一實施例中，該等方法進一步涉及自對照個體獲得對照生物樣品，使對照樣品與能夠偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽、mRNA或基因組

DNA之化合物或試劑接觸，從而偵測生物樣品中KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽、mRNA或基因組DNA之存在，及比較對照樣品中KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽、mRNA或基因組DNA之存在與測試樣品中KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽、mRNA或基因組DNA之存在。

本發明亦涵蓋用於偵測生物樣品中KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之存在的套組。舉例而言，該套組可包含能夠偵測生物樣品中之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或mRNA之標記化合物或試劑；測定樣品中KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之量的構件；及用於比較樣品中KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之量與標準量之構件。化合物或試劑可封裝於適合容器中。該套組可進一步包含關於使用該套組偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或核酸的說明書。

預後分析

本文所述之診斷方法此外可用於鑑別患有與異常或不想要的KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3表現或活性有關之疾病或病症或有產生該疾病或病症之風險的個體。如本文所用之術語「異常」包括KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3表現或活性與野生型KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3表現或活性不同。異常表現或活性包括表現或活性增加或降低，以及表現或活性不遵循野生型發育表現模式或次細胞表現模式。舉例而言，異常KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3表

現或活性意欲包括 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 基因中之突變引起 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 基因低表現或過度表現的狀況及該等突變產生無功能 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽或不以野生型方式起作用之多肽，例如不與 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 結合搭配物相互作用之多肽或與非 KIR2DL1、非 KIR2DL2 及非 KIR2DL3 結合搭配物相互作用之多肽的情況。如本文所用之術語「不想要」包括與生物反應(諸如免疫細胞活化)有關之不想要的現象。舉例而言，術語不想要包括 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 表現或活性在個體體內不合需要。

本文所述之分析(諸如前述診斷分析或以下分析)可用於鑑別患有與 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽活性或核酸表現失調有關之病症或有產生該病症之風險的個體，該病症為諸如自體免疫病症、免疫缺乏症、免疫系統病症，諸如自體免疫、過敏性或發炎病症或癌症。因此，本發明提供鑑別與異常或不想要的 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 表現或活性有關之疾病或病症的方法，其中自個體獲得測試樣品且偵測 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽或核酸(例如 mRNA 或基因組 DNA)，其中 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 多肽或核酸之存在可診斷個體患有與異常或不想要的 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 表現或活性有關之疾病或病症或有產生該疾病或病症之風險。如本文所用之「測試樣品」係指自相關個體獲得之生物樣品。舉例而

言，測試樣品可為生物體液(例如腦脊髓液或血清)、細胞樣品或組織。

此外，本文所述之預後分析可用於確定是否可投與個體藥劑(例如促效劑、拮抗劑、肽模擬物、多肽、肽、核酸、小分子或其他藥物候選者)來治療與異常或不想要的KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3表現或活性有關之疾病或病症。舉例而言，該等方法可用於確定個體是否可有效地用用於自體免疫病症、免疫缺乏症、免疫系統癌症或過敏性或發炎病症之藥劑治療。因此，本發明提供確定個體是否可有效地用用於與異常或不想要的KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3表現或活性有關之病症的藥劑治療的方法，其中獲得測試樣品且偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或核酸表現或活性(例如其中KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽或核酸表現或活性之量可診斷個體可投與治療與異常或不想要的KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3表現或活性有關之病症的藥劑)。本發明之方法亦可用於偵測KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3基因中之遺傳改變，從而確定具有改變之基因的個體是否有特徵在於KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽活性或核酸表現失調之病症的風險，諸如自體免疫病症、免疫缺乏症、免疫系統癌症、過敏性病症或發炎病症。本文所述之方法可例如藉由使用預先封裝之診斷套組來進行，該等套組包含本文所述之至少一種探針核酸或抗體試劑，其宜用於例如臨床配置中以診斷展現涉及KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3基因之疾病或

病患之症狀或家族史的患者。此外，表現 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 之任何細胞類型或組織可用於本文所述之預後分析中。

免疫分析

結合 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 之 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 抗體及抗原結合片段可用於免疫分析中以定性或定量偵測及分析樣品中之標記。此方法包含提供特異性結合至 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 之抗體；使樣品與抗體接觸；及偵測樣品中抗體結合至標記之複合物的存在。

KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 可使用多種公認之免疫結合分析中之任一者來偵測及/或定量。適用分析包括例如酶免疫分析 (EIA)，諸如酶聯結免疫吸附劑分析 (ELISA)、放射免疫分析 (RIA)、西方墨點分析或狹縫墨點分析 (slot blot assay)。參見例如美國專利第 4,366,241 號；第 4,376,110 號；第 4,517,288 號；及第 4,837,168 號。一般而言，可使自個體獲得之樣品與特異性結合 KIR2DL1、KIR2DL2 及 KIR2DL3 之抗體接觸。

視情況而定，在使抗體與樣品接觸之前可將抗體固定至固體支撐物以有助於洗滌及後繼分離複合物。固體支撐物之實例包括(但不限於)呈例如微量滴定盤、條狀物、珠粒或微珠粒形式之玻璃或塑膠。抗體可連接至固體支撐物。

在將樣品與抗體一起培育後，洗滌混合物且可偵測形成之抗體-標記複合物。此可藉由將洗滌之混合物與偵測試

劑一起培育來達成。或者，樣品中之標記可使用間接分析(其中例如使用二次標記抗體偵測結合之標記-特異性抗體)及/或競爭或抑制分析(其中例如將結合至標記之不同抗原決定基之單株抗體與混合物一起同時培育)來偵測。

在整個分析中，在試劑之各次組合後需要培育及/或洗滌步驟。培育步驟可自約5秒變化至幾小時，較佳自約5分鐘變化至約24小時。然而，培育時間將視分析形式、標記、溶液體積、濃度而定。通常，分析將在環境溫度下進行，但其可在一定範圍之溫度(例如10°C至40°C)下進行。

免疫分析可用於測定來自個體之樣品中標記之測試量。首先，可使用上文所述之免疫分析方法偵測樣品中標記之測試量。若樣品中存在標記，則其將與特異性結合標記之抗體在上文所述之適合培育條件下形成抗體-標記複合物。抗體-標記複合物之量可視情況藉由與標準比較來確定。如上文所述，標記之測試量無須以絕對單位量度，只要量度單位可與對照量及/或信號相比較即可。若干免疫分析在此項技術中為已知的且本文所述之KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽可用於該等免疫分析中，包括(但不限於)放射免疫分析(RIA)、酶聯結免疫吸附劑分析(ELISA)、磁性免疫分析、免疫墨點法、西方墨點法、免測沈澱分析、免疫組織化學分析及螢光活化細胞分選(FACS)。參見Wild, (2008)[編] **The Immunoassay Handbook** [第3版] Elsevier。

放射成像方法

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可用於放射成像方法中以診斷癌症(包括胰臟癌及結腸直腸癌)或監測腫瘤進展。此等方法包括(但不限於)正電子發射斷層攝影法(PET)、單光子放射電腦斷層攝影法(SPECT)。此等技術兩者皆為非侵襲性的，且可用於偵測及/或量測多種組織事件及/或功能，諸如偵測例如癌細胞。SPECT可視情況同時與兩種標記一起使用。參見美國專利第6,696,686號。

商業應用及方法

本發明進一步提供產生抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體以達到商業量之方法。抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體可大規模產生，必要時加以儲存，且向醫院、臨床醫師或其他健康照護設施供應。

抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體之製備、儲存及分佈方法可藉由本文所揭示之方法而產生。在產生後，在治療患者之前，可收集、純化且視情況儲存抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體。舉例而言，在患者呈現適應症，諸如癌症、自體免疫疾病或發炎病狀時，可定製抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體且以適時方式提供。因此，本發明係關於製備KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3而以商業規模獲得抗體的方法、包含選擇性結合至KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3之抗體及其抗原結合片段的醫藥組合物，以及向醫院及臨床醫師提供(亦即製備、視情況儲存及出售)抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體的方法。抗-KIR2DL1、抗-

KIR2DL2及抗-KIR2DL3抗體之製備可按比例擴大以達成商業用途。

本發明亦提供管理醫藥商業之方法，其包含建立分配出售之製劑的分配系統，或可包括建立出售醫藥製劑之銷售團隊。

核酸庫

KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3變異體之多樣化庫可藉由在核酸層面上組合突變誘發而產生且由多樣化基因庫編碼。KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3變異體之多樣化庫可藉由例如將合成寡核苷酸之混合物酶促接合至基因序列中以使可能性KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列之簡併集合可表現為個別多肽，或者可表現為當中含有KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列之集合的較大融合蛋白之集合(例如用於噬菌體呈現)而產生。存在多種可用於自簡併寡核苷酸序列產生可能性KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3變異體之庫的方法。簡併基因序列之化學合成可在自動DNA合成器中進行，且接著將合成基因接合至適當表現載體中。使用基因之簡併集合允許在一種混合物中提供編碼可能性KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3序列之所需集合的所有序列。合成簡併寡核苷酸之方法在此項技術中為已知的。參見例如Narang (1983) *Tetrahedron* 39:3；Itakura等人，(1984) *Annu. Rev. Biochem.* 53:323；Itakura等人，(1984) *Science* 198:1056；Ike等人，(1983) *Nucleic Acids Res.* 11:477。

另外，KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽編碼序列之片段的庫可用於產生KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3片段之多樣化群體以篩選及後繼選擇KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之變異體。編碼序列片段之庫可藉由用核酸酶在每個分子僅出現約一次切割的條件下處理KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3編碼序列之雙股PCR片段，使雙股DNA變性，使DNA復性形成可包括來自不同切割產物之有義/反義對的雙股DNA，藉由用S1核酸酶處理自重新形成之雙螺旋體移除單股部分，且將所得片段庫接合至表現載體中而產生。藉由此方法，可獲得編碼KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之各種尺寸之N端、C端及內部片段的表現庫。

若干技術在此項技術中已知用於篩選由點突變或截短所產生之組合庫之基因產物，及用於篩選具有所選特性之基因產物的cDNA庫。該等技術可適用於快速篩選由KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3多肽之組合突變誘發所產生之基因庫。用於篩選大型基因庫之可實現高通量分析之最廣泛使用的技術通常包括將基因庫選殖至可複製表現載體中，用所得載體庫使適當細胞轉型，及在偵測所需活性可有助於分離編碼基因(其產物得到偵測)之載體的條件下表現組合基因。遞歸式整體突變誘發(recursive ensemble mutagenesis, REM)為一種增加庫中功能性突變體之出現頻率的新技術，其可與篩選分析組合用於鑑別KIR2DL1、KIR2DL2及KIR2DL3變異體。Arkin及Youvan (1992) *Proc*

Natl. Acad. Sci. USA 89:7811-7815 ; Delagrave 等人(1993)
Protein Eng. 6(3):327-331。

本說明書中所提及之所有公開案(例如非專利文獻)、專利、專利申請公開案及專利申請案皆指示熟習本發明所屬技術者之技能水準。所有該等公開案(例如非專利文獻)、專利、專利申請公開案及專利申請案以引用方式併入本文中，其引用程度就如同特定且個別地指示各個別公開案、專利、專利申請公開案或專利申請案以引用方式併入本文中一般。

實例

現已大體地描述了本發明，藉由參考以下實例將更易於理解本發明，包括該等實例僅用於說明本發明之某些態樣及實施例的目的而不意欲限制本發明。

實例

實例 1

在患者體內之藥物動力學

藉由ELISA測定抗-KIR抗體(1-7F9)之血漿濃度，如下文所簡要描述。

用KIR2DL3塗佈溶液(100微升/孔)塗佈培養盤且在約+4°C下培育隔夜。接著使用自動培養盤洗滌器用洗滌緩衝液(400微升/孔)洗滌培養盤3次。添加阻斷緩衝液(200微升/孔)且在室溫下於培養盤震盪器上培育培養盤約2小時。此後，用洗滌緩衝液(400微升/孔)再次洗滌培養盤3次。

將標準物、品質對照物及樣品添加至培養盤中(100微升/

孔)，隨後在室溫下於培養盤震盪器上培育約2小時。再洗滌培養盤3次(如上)，隨後添加小鼠抗人類IgG4:過氧化酶工作溶液(100微升/孔)。接著在室溫下於培養盤震盪器上再培育培養盤約2小時，隨後再次將其洗滌。

將TMB添加至培養盤中(100微升/孔)，接著在室溫下於培養盤震盪器上將其培育約30分鐘。藉由添加停止溶液(50微升/孔)終止酶促反應。在450 nm下(基準濾波器650 nm)讀取吸光度。此研究之定量下限為5.000 ng/mL且此研究之定量上限為110.0 ng/mL。

實例2

KIR佔有率分析法

藉由四色螢光分析對人類全血樣品評估受體佔有率。簡言之，評估經EDTA抗凝之周邊血液中之T及NK淋巴球上游離及結合KIR2D受體量。游離位點分析法將藉由以結合PE之1-7F9(其結合至KIR2D分子)染色來評估未結合之KIR2D。結合位點分析法將藉由以結合PE之小鼠抗人類IgG4單株抗體(其識別結合至KIR2D受體之1-7F9)染色來評估由1-7F9佔有之KIR2D受體。游離及結合分析法將允許評估1-7F9-PE或抗hIgG4-PE之陽性染色百分比以及螢光強度[MESF]。在以下兩個分析法中使用以下結合抗體組合：

游離位點分析法：CD3/1-7F9/CD45/CD56

結合分析法：CD3/hIgG4/CD45/CD56

在Becton Dickinson FACScalibur上使用Becton Dickinson Cellquest軟體分析樣品。T細胞係定義為CD45+CD3+淋巴

球且NK細胞係定義為CD45+CD3-CD56+細胞。

實例3

臨床安全性及自體反應性

對年長急性骨髓白血病(AML)患者(>60歲)進行單一劑量遞增試驗，該等患者在誘導及鞏固化學療法之後最初完全緩解，但不適於骨髓移植。應用標準3+3設計，且總共研究7個劑量：0.0003 mg/kg至3 mg/kg之劑量範圍。在給藥之後，針對安全性、PK及KIR佔有率監測患者直至KIR佔有率不再可偵測為止。

亦進行擴展試驗。完成劑量遞增試驗且仍完全緩解之AML患者可參與擴展試驗，其中以每月計對患者進行給藥至多6次。以與患者在先前試驗中所接受之劑量相同之劑量對患者進行給藥。

患者、材料及方法

在兩個試驗中，首先完全緩解(CR)且不適於移植之年長AML患者(>60歲)適於該等研究。AML符合WHO準則。(Brunning RD, Matutes E, Harris NL等人: Acute myeloid leukaemia: Introduction. Jaffe ES, Harris NL, Stein H等人編: Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press, 2001. World Health Organization Classification of Tumors, 3, 第77-80頁)。緩解為根據NCI準則所定義之形態完全緩解(CR)(Cheson等人, *JCO*, 21(24): 4642-4649 (2003))，或僅在1或2個誘導化學療法循環及至少1個且最多6個鞏固化學

療法循環後血小板計數不完全恢復之CRi。

在劑量遞增試驗中篩選時，自最後一次施與化學療法起之時間為至少30天且至多120天。其他合格準則包括(但不限於)NK細胞上KIR2DL1及KIR2DL2/3之表現、ECOG(Oken等人, Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Clin Oncol 5:649-655, 1982)狀態0分至2分及來自先前治療之全部毒性皆已恢復。

在擴展試驗中，在可接受之安全性型態下完成劑量遞增試驗為另一合格準則。

其他準則包括絕對嗜中性白血球計數 $>1 \times 10^9$ 個/公升；血小板 $>80 \times 10^9$ 個/公升；無疾病症狀；所有先前抗白血病療法之急性毒性皆已恢復；患者NK細胞上表現KIR(能夠結合抗-KIR抗體(1-7F9))；如由研究者所判定無嚴重相關器官功能障礙；及臨床實驗室值如下：(a)血清肌酸酐 ≤ 2 mg/dL，(b)總膽紅素 $\leq 1.5 \times$ 正常值上限，及(c)AST $\leq 3 \times$ 正常值上限。

研究設計

劑量遞增試驗為一項多中心、開放標籤、單劑量遞增安全性及可耐受性試驗。研究七個劑量：0.0003 mg/kg、0.003 mg/kg、0.015 mg/kg、0.075 mg/kg、0.3 mg/kg、1 mg/kg及3 mg/kg。一般(3+3)設計係選用於此試驗。各患者分配一個劑量，且監測安全性、藥物動力學及藥效學直至患者NK細胞上之KIR佔有率不可偵測為止。持續不斷地分

析安全性、PK及KIR佔有率，且在給藥後前4週期間自各劑量組獲得之資料一般形成劑量遞增決策之基礎。

擴展試驗係設計為重複給藥、多中心、開放標籤、安全性及可耐受性試驗。給與個別患者之劑量與患者在單劑量試驗中所接受之劑量相同。患者可以4週時間間隔接受6次投藥，亦即6個給藥循環，最長持續6個月時間。各給藥循環由給藥訪視及安全性監測訪視組成。在最後一次給藥後，針對安全性監測患者直至患者NK細胞上之KIR佔有率不可偵測為止。此安全性追蹤期之持續時間可能視所接受之劑量而定，且預期最長為最後一次給藥後24週。

使用美國國家癌症學會不良事件常見術語準則 (US National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTCAE) 第3.0版評估抗-KIR抗體(1-7F9)投藥之安全性(亦即任何觀測到之毒性)。亦評估藥物動力學終點、KIR佔有率、NK及T細胞活化之標記、WT-1腫瘤標記、無進展存活期及總存活期。

結果

在劑量遞增試驗中在接受0.0003 mg/kg、0.003 mg/kg、0.015 mg/kg、0.075 mg/kg、0.3 mg/kg、1 mg/kg及3 mg/kg之各劑量之患者中評估受體飽和。總而言之，劑量0.0003 mg/kg使得KIR部分飽和(50%佔有率)達約2小時時間；劑量0.003 mg/kg使得KIR完全飽和(90%佔有率)達不到24小時之時間；劑量0.015 mg/kg使得KIR完全飽和達不到7天之時間；劑量0.075 mg/kg使得KIR完全飽和達將近7天時

間；劑量 0.3 mg/kg 使得 KIR 完全飽和達 7 天以上且不到 14 天之時間；劑量 1 mg/kg 使得 KIR 完全飽和達不到 3 週之時間(介於約 2 週與 3 週之間)；劑量 3 mg/kg 使得 KIR 完全飽和達超過 4 週之時間。

未出現與自體反應性(諸如皮疹及胃腸道症狀)、輸注(諸如皮疹、搔癢症、紅斑、疲勞、頭痛、發熱)或細胞激素釋放(諸如發熱、疲勞、不適及頭痛)有關之不利事件達引起任何安全性關注之程度。

實例 4

在轉殖基因小鼠模型中消除 CONA 母細胞之活體內功效

在接受抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及抗-KIR2DL3 抗體 1-7F9 之 KIR2DL3 轉殖基因小鼠中評估對 NK 介導之表現 cw3 之 conA 母細胞之活體內殺死作用的誘導作用。

材料及方法

抗體：完全人類抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2 及抗-KIR2DL3 單株抗體 1-7F9 係藉由如 WO 2006/003179 中所述用以 KIR2DL1 穩定轉染之 BW5417 細胞使帶有人類基因組 IgG 基因座之小鼠(Medarex, Inc.)免疫，繼而用在大腸桿菌中產生之 KIR2DL3 之可溶性細胞外部分 3 次增強免疫而產生。藉由酶聯結免疫吸附劑分析針對與重組可溶性 KIR 之結合篩選抗體，且藉由流動式細胞量測術針對與 YTS-KIR2DL1 細胞之結合測試陽性純系。次選殖所選融合瘤直至獲得穩定細胞株為止。

轉殖基因小鼠：使 Rag-/- 小鼠與 KIR2DL3 轉殖基因(tg)小

鼠交配，得到KIR2DL3tg, Rag-/-小鼠。使HLA-Cw3轉殖基因小鼠與KbDb -/-小鼠交配，得到Cw3tg, KbDb-/-小鼠。該等小鼠描述於Romagne等人，(2009) Blood 114: 2667-2677及Sola等人，(2009) P.N.A.S. U.S.A 106(31):12879-12884中。

基於螢光之排斥反應分析：根據K.Karr實驗室所述之方法(Oberg等人, Eur. J. Immunol (2004) 34: 1646；S. Johansson等人, J. Exp. Med (2005) 201: 1145)進行分析。注射CFSE標記之標靶細胞(標靶細胞測試物與同基因/對照標靶細胞比率1:1)，繼之以在1或2天後分析不同器官。標靶細胞為新鮮分離之脾細胞、腫瘤細胞或ConA母細胞(48小時，ConA 2 µg/ml)。

結果

實驗之目的在於測試1-7F9是否在KIR2DL3 tg小鼠中誘導NK殺死cw3-標靶ConA母細胞。簡言之，接受者小鼠及供體細胞如下：

- (1) 接受者小鼠：KIR2DL3tg B6、KIR2DL3 tg Rag-/-及C57/BL6小鼠。
- (2) 供體細胞：
 - (a) 來自KbDb KO小鼠、KbDb KO cw3 tg小鼠、C57/BL6小鼠之未處理脾細胞，及
 - (b) 來自KbDb KO小鼠、KbDb KO cw3 tg小鼠、C57/BL6小鼠之ConA母細胞。

用ConA(2微克/10⁷個細胞/毫升)刺激來自C57/BL6及

KbDb -/--cw3 tg 小鼠之脾細胞 2 天。用 0.5 μ M(B6)及 3 μ M(KbDb -/--cw3)CFSE 標記細胞，以 1:1 之比率混合，且接著注射於先前注射(或未注射)1-7F9 mAb(300 μ g)之 KIR2DL3tg B6 小鼠體內。因此在細胞注射前約 6 小時投與抗體 1-7F9 以誘導 cw3 標靶細胞溶解。在細胞注射前 24 小時投與之抗 -NK1.1 抗體 PK136(BD Biosciences)用作誘導 NK 細胞消耗之對照。

結果展示於圖 1A、1B 及 2 中。圖 1A 及 1B 研究在注射細胞後第 40 小時 CSFE 標記之細胞的百分比。獲得類似結果或注射後第 20 小時 CSFE 標記之細胞。圖 1A 展示相較於未經處理之 KIR2DL3tg B6 小鼠以及經處理及未經處理之 C57B16 小鼠，KIR2DL3tg B6 小鼠在用抗體 1-7F9 處理時 PBMC 中經 CSFE 標記之細胞的百分比顯著降低。圖 1B 展示相較於未經處理之 KIR2DL3tg B6 小鼠以及經處理及未經處理之 C57B16 小鼠，KIR2DL3tg B6 小鼠在用抗體 1-7F9 處理時脾中經 CSFE 標記之脾細胞的百分比顯著降低。圖 2 研究在注射細胞後第 40 小時 CSFE 標記之細胞的相對細胞存活率。圖 2 展示相較於未經處理之 KbDb KO cw3 tg 小鼠，KIR2DL3tg B6 小鼠在用抗體 1-7F9 處理時 PBMC 及脾臟中 KbDb-/- cw3 ConA 母細胞之存活率顯著降低。

NK 細胞一般已知具有確保自身耐受性之機制。參見 Raulet 及 Vance (2006) *Nature Immunol. Rev.* 6: 520-531。特定而言，所有 NK 細胞表現抑制性 KIR 或抑制性 CD94/NKG2A 分子。如在當前抗 -KIR 抗體 1-7F9 之腫瘤學 I

期臨床試驗中所觀測，阻斷KIR受體指示該抗體不會誘導除一般對於單株抗體所觀測到之炎症或自體免疫以外的特定炎症或自體免疫。然而，對於阻斷KIR2DL1、KIR2DL2或KIR2DL3對活體內消除活化或增殖性T細胞之影響一直沒有研究。本發明結果指示表現KIR2DL3之NK細胞在活體內能夠減少或消除已由HLA-cw3配體以其他方式阻斷之活化T細胞，只要阻斷KIR2DL3即可。因此，細胞KIR2DL1、2及/或細胞群體在活體內阻斷KIR時有消除自體性活化促發炎細胞的潛能。

本文引用之所有參考文獻(包括公開案、專利申請案及專利)以全文引用之方式併入本文中，其引用程度就如同個別且特定地指示將各參考文獻以引用方式併入本文中且闡述其全文一般(達法律允許之最大程度)，而與本文別處對特定文獻所作的任何各別提供之併入無關。

除非另外說明，否則本文所提供之所有精確值表示相應近似值(例如，關於特定因素或量測值所提供之所有例示性精確值可視為亦提供適當時用「約」修飾之相應近似量測值)。

除非另外說明或上下文明顯相矛盾，否則本文關於某一或某些要素使用諸如「包含」、「具有」、「包括」或「含有」之術語對本發明之任何態樣或實施例的描述意欲對「由」彼或彼等特定要素「組成」、「基本上由」彼或彼等特定要素「組成」或「實質上包含」彼或彼等特定要素的本發明之相似態樣或實施例提供支持(例如，除非另

外說明或上下文明顯相矛盾，否則本文描述組合物包含特定要素應理解為亦描述組合物由彼要素組成)。

除非另外主張，否則使用本文所提供之任何及所有實例或例示性語言(例如「諸如」)僅意欲較好地闡述本發明而不對本發明範疇構成限制。本說明書中之語言不應視作指示任何未主張之要素對於實踐本發明而言必不可少。

所有公開案、專利及專利申請案以全文引用方式併入本文中，其引用程度就如同特定且個別地指示各個別公開案、專利或專利申請案以全文引用方式併入本文中一般。

熟習此項技術者將認識到或能夠僅僅使用常規實驗來確定眾多本文中所述之本發明特定實施例的等效形式。該等效形式意欲由以下申請專利範圍涵蓋。

【圖式簡單說明】

圖1A展示相較於未經處理之KIR2DL3tg B6小鼠以及經處理及未經處理之C57B16小鼠，KIR2DL3tg B6小鼠在用抗體1-7F9處理時PBMC中經CSFE標記之細胞(Con A母細胞)的百分比降低。

圖1B展示相較於未經處理之KIR2DL3tg B6小鼠以及經處理及未經處理之C57B16小鼠，KIR2DL3tg B6小鼠在用抗體1-7F9處理時經CSFE標記之脾細胞的百分比降低。

圖2展示相較於未經處理之KbDb KO cw3 tg小鼠，KIR2DL3tg B6小鼠在用抗體1-7F9處理時PBMC及脾臟中KbDb-/- cw3 ConA母細胞之存活率降低。

序 列 表

<110> 法商天賜製藥公司

<120> 治療發炎及自體免疫疾病之抗-KIR 抗體

<130> 44292.118701

<140> 101118857

<141> 2012-05-25

<150> 61/489,806

<151> 2011-05-25

<160> 24

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 109

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Val Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Met Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 2

<211> 123

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Phe Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Phe Ile Pro Ile Phe Gly Ala Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Pro Ser Gly Ser Tyr Tyr Tyr Asp Tyr Asp Met Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 3
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> VARIANT
<222> (3)..(3)
<223> Xaa可為Gln或Arg

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> Xaa可為Leu或Met

<220>
<221> VARIANT
<222> (9)..(9)
<223> Xaa可為Ser或Phe

<220>
<221> VARIANT
<222> (24)..(24)
<223> Xaa可為Arg或Trp

<220>
<221> VARIANT
<222> (32)..(32)
<223> Xaa可為Ala或Tyr

<220>
<221> VARIANT
<222> (41)..(41)
<223> Xaa可為Gly或Ala

<220>
<221> VARIANT
<222> (47)..(47)
<223> Xaa可為Leu或Phe

<220>
<221> VARIANT
<222> (50)..(50)
<223> Xaa可為Asp或Tyr

<220>
<221> VARIANT
<222> (55)..(55)
<223> Xaa可為Glu或Gln

<220>
<221> VARIANT
<222> (71)..(71)
<223> Xaa 71可為Phe或Tyr

<220>
<221> VARIANT

<222> (74)..(74)

<223> Xaa 74可為Ala或Thr

<400> 3

Ala Ile Xaa Xaa Thr Gln Ser Pro Xaa Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15Asp Arg Val Thr Ile Thr Xaa Xaa Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Xaa
20 25 30Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Xaa Lys Ala Pro Lys Leu Xaa Ile
35 40 45Tyr Xaa Ala Ser Ser Leu Xaa Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60Ser Gly Ser Gly Thr Asp Xaa Thr Leu Xaa Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 4

<211> 124

<212> PRT

<213> 智人

<400> 4

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Ser Asn Ser Tyr
20 25 30Ser Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Glu Ser Thr Arg Thr Val Tyr
65 70 75 80Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95Ala Arg Gly Tyr Tyr Asp Ile Phe Lys Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 5

<211> 214

<212> PRT

<213> 智人

<400> 5

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Val Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Met Tyr
85 90 95Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 6

<211> 450

<212> PRT

<213> 智人

<400> 6

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Phe Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Phe Ile Pro Ile Phe Gly Ala Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Pro Ser Gly Ser Tyr Tyr Tyr Asp Tyr Asp Met Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
 435 440 445

Gly Lys
 450

<210> 7
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (114)..(114)
 <223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<400> 7

His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala His Pro Gly Xaa
 1 5 10 15

Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys Trp Ser Asp Val
 20 25 30

Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly Met Phe Asn Asp Thr
 35 40 45

Leu Arg Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe
 50 55 60

Ser Ile Ser Arg Met Thr Gln Asp Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr
 65 70 75 80

Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Val Ser Ala Pro Ser Asp Pro
 85 90 95

Leu Asp Ile Val Ile Ile Gly Leu Tyr Glu Lys Pro Ser Leu Ser Ala
 100 105 110
 Gln Xaa Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Asn Val Thr Leu Ser Cys
 115 120 125
 Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu Ser Arg Glu Gly Glu
 130 135 140
 Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Gly Pro Lys Val Asn Gly Thr Phe
 145 150 155 160
 Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly Gly Thr Tyr Arg
 165 170 175
 Cys Phe Gly Ser Phe His Asp Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Lys Ser Ser
 180 185 190
 Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser Asn Ser Trp Pro
 195 200 205
 Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His
 210 215 220
 <210> 8
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 8
 His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala His Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys Trp Ser Asp Val
 20 25 30
 Arg Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly Lys Phe Lys Asp Thr
 35 40 45
 Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe
 50 55 60
 Ser Ile Gly Pro Met Met Gln Asp Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr
 65 70 75 80
 Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser Ala Pro Ser Asp Pro
 85 90 95
 Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Pro Ser Leu Ser Ala
 100 105 110
 Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Ser Val Thr Leu Ser Cys
 115 120 125
 Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu Ser Arg Glu Gly Glu
 130 135 140

Ala His Glu Cys Arg Phe Ser Ala Gly Pro Lys Val Asn Gly Thr Phe
145 150 155 160

Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly Gly Thr Tyr Arg
165 170 175

Cys Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Asn Ser Ser
180 185 190

Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Ile Gly Asn Pro Ser Asn Ser Trp Pro
195 200 205

Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His
210 215 220

<210> 9
<211> 224
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9

His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala His Pro Gly Pro
1 5 10 15

Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys Trp Ser Asp Val
20 25 30

Arg Phe Gln His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly Lys Phe Lys Asp Thr
35 40 45

Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe
50 55 60

Ser Ile Gly Pro Met Met Gln Asp Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr
65 70 75 80

Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser Ala Pro Ser Asp Pro
85 90 95

Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Pro Ser Leu Ser Ala
100 105 110

Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Ser Val Thr Leu Ser Cys
115 120 125

Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu Ser Arg Glu Gly Glu
130 135 140

Ala His Glu Arg Arg Phe Ser Ala Gly Pro Lys Val Asn Gly Thr Phe
145 150 155 160

Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly Gly Thr Tyr Arg
165 170 175

Cys Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Asn Ser Ser
180 185 190

Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser Asn Ser Trp Pro
195 200 205

Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Glu Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His
210 215 220

<210> 10
<211> 100
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10

Gln Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Phe Leu Ala Leu Pro Gly His
1 5 10 15

Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys Trp Ser Asp Val
20 25 30

Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly Lys Phe Asn Asn Thr
35 40 45

Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe
50 55 60

Ser Ile Gly Pro Met Met Pro Val Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr
65 70 75 80

Gly Ser Val Pro His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser Ala Pro Ser Asp Pro
85 90 95

Leu Asp Met Val
100

<210> 11
<211> 348
<212> PRT
<213> 智人

<400> 11

Met Ser Leu Leu Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
1 5 10 15

Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu
20 25 30

Ala His Pro Gly Pro Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln
35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly
50 55 60

Met Phe Asn Asp Thr Leu Arg Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val
65 70 75 80

Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Ser Arg Met Thr Gln Asp Leu Ala Gly
85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Val Ser

100 105 110
 Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Ile Gly Leu Tyr Glu Lys
 115 120 125
 Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Asn
 130 135 140
 Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu
 145 150 155 160
 Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Gly Pro Lys
 165 170 175
 Val Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His
 180 185 190
 Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe His Asp Ser Pro Tyr Glu
 195 200 205
 Trp Ser Lys Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro
 210 215 220
 Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn
 225 230 235 240
 Pro Arg His Leu His Ile Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Ile Leu
 245 250 255
 Phe Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys
 260 265 270
 Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Ser Ala Gly Asn Arg Thr Ala Asn
 275 280 285
 Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Thr Gln
 290 295 300
 Leu Asn His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Arg Pro Ser Gln
 305 310 315
 Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Ile Ile Val Tyr Thr Glu Leu Pro
 325 330 335
 Asn Ala Glu Ser Arg Ser Lys Val Val Ser Cys Pro
 340 345
 <210> 12
 <211> 348
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 12
 Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
 1 5 10 15
 Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu

20 25 30
 Ala His Pro Gly Arg Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln
 35 40 45
 Cys Trp Ser Asp Val Arg Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly
 50 55 60
 Lys Phe Lys Asp Thr Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val
 65 70 75 80
 Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Met Met Gln Asp Leu Ala Gly
 85 90 95
 Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser
 100 105 110
 Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys
 115 120 125
 Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Ser
 130 135 140
 Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu
 145 150 155 160
 Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Cys Arg Phe Ser Ala Gly Pro Lys
 165 170 175
 Val Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His
 180 185 190
 Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ser Pro Tyr Glu
 195 200 205
 Trp Ser Asn Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Ile Gly Asn Pro
 210 215 220
 Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn
 225 230 235 240
 Pro Arg His Leu His Ile Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Ile Leu
 245 250 255
 Phe Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys
 260 265 270
 Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Ser Ala Gly Asn Arg Thr Ala Asn
 275 280 285
 Arg Gln Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Thr Gln
 290 295 300
 Leu Asn His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Arg Pro Ser Gln
 305 310 315 320

Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Ile Ile Val Tyr Ala Glu Leu Pro
 325 330 335

Asn Ala Glu Ser Arg Ser Lys Val Val Ser Cys Pro
 340 345

<210> 13
 <211> 341
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 13

Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Val Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
 1 5 10 15

Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu
 20 25 30

Ala His Pro Gly Pro Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln
 35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Arg Phe Gln His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly
 50 55 60

Lys Phe Lys Asp Thr Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val
 65 70 75 80

Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Met Met Gln Asp Leu Ala Gly
 85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser
 100 105 110

Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys
 115 120 125

Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Ser
 130 135 140

Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu
 145 150 155 160

Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Phe Ser Ala Gly Pro Lys
 165 170 175

Val Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His
 180 185 190

Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ser Pro Tyr Glu
 195 200 205

Trp Ser Asn Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro
 210 215 220

Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Glu Thr Gly Asn
 225 230 235 240

Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Ile Leu
 245 250 255
 Phe Ile Leu Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Cys Asn Lys
 260 265 270
 Lys Asn Ala Val Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val
 275 280 285
 Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala
 290 295 300
 Gln Leu Asn His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Arg Pro Ser
 305 310 315 320
 Gln Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Ile Ile Val Tyr Thr Glu Leu
 325 330 335
 Pro Asn Ala Glu Pro
 340
 <210> 14
 <211> 377
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 14
 Met Ser Met Ser Pro Thr Val Ile Ile Leu Ala Cys Leu Gly Phe Phe
 1 5 10 15
 Leu Asp Gln Ser Val Trp Ala His Val Gly Gly Gln Asp Lys Pro Phe
 20 25 30
 Cys Ser Ala Trp Pro Ser Ala Val Val Pro Gln Gly Gly His Val Thr
 35 40 45
 Leu Arg Cys His Tyr Arg Arg Gly Phe Asn Ile Phe Thr Leu Tyr Lys
 50 55 60
 Lys Asp Gly Val Pro Val Pro Glu Leu Tyr Asn Arg Ile Phe Trp Asn
 65 70 75 80
 Ser Phe Leu Ile Ser Pro Val Thr Pro Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg
 85 90 95
 Cys Arg Gly Phe His Pro His Ser Pro Thr Glu Trp Ser Ala Pro Ser
 100 105 110
 Asn Pro Leu Val Ile Met Val Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Pro Ser Leu
 115 120 125
 Thr Ala Arg Pro Gly Pro Thr Val Arg Ala Gly Glu Asn Val Thr Leu
 130 135 140
 Ser Cys Ser Ser Gln Ser Ser Phe Asp Ile Tyr His Leu Ser Arg Glu
 145 150 155 160

Gly Glu Ala His Glu Leu Arg Leu Pro Ala Val Pro Ser Ile Asn Gly
 165 170 175
 Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly Glu Thr
 180 185 190
 Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe His Gly Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Asp
 195 200 205
 Pro Ser Asp Pro Leu Pro Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser Ser Ser
 210 215 220
 Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Phe Lys Thr Gly Ile Ala Arg His
 225 230 235 240
 Leu His Ala Val Ile Arg Tyr Ser Val Ala Ile Ile Leu Phe Thr Ile
 245 250 255
 Leu Pro Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Lys Lys Lys Asn Ala
 260 265 270
 Ala Val Met Asn Gln Glu Pro Ala Gly His Arg Thr Val Asn Arg Glu
 275 280 285
 Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asp
 290 295 300
 His Cys Ile Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Gly Pro Ser Gln Arg Ser
 305 310 315 320
 Lys Arg Pro Ser Thr Asp Thr Ser Val Cys Ile Glu Leu Pro Asn Ala
 325 330 335
 Glu Pro Arg Ala Leu Ser Pro Ala His Glu His His Ser Gln Ala Leu
 340 345 350
 Met Gly Ser Ser Arg Glu Thr Thr Ala Leu Ser Gln Thr Gln Leu Ala
 355 360 365
 Ser Ser Asn Val Pro Ala Ala Gly Ile
 370 375

<210> 15
 <211> 375
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 15

Met Ser Leu Met Val Ile Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
 1 5 10 15
 Gln Gly Ala Trp Thr His Glu Gly Gly Gln Asp Lys Pro Leu Leu Ser
 20 25 30
 Ala Trp Pro Ser Ala Val Val Pro Arg Gly Gly His Val Thr Leu Leu
 35 40 45

Cys Arg Ser Arg Leu Gly Phe Thr Ile Phe Ser Leu Tyr Lys Glu Asp
 50 55 60

Gly Val Pro Val Pro Glu Leu Tyr Asn Lys Ile Phe Trp Lys Ser Ile
 65 70 75 80

Leu Met Gly Pro Val Thr Pro Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Arg
 85 90 95

Gly Ser His Pro Arg Ser Pro Ile Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asn Pro
 100 105 110

Leu Val Ile Val Val Thr Gly Leu Phe Gly Lys Pro Ser Leu Ser Ala
 115 120 125

Gln Pro Gly Pro Thr Val Arg Thr Gly Glu Asn Val Thr Leu Ser Cys
 130 135 140

Ser Ser Arg Ser Ser Phe Asp Met Tyr His Leu Ser Arg Glu Gly Arg
 145 150 155 160

Ala His Glu Pro Arg Leu Pro Ala Val Pro Ser Val Asn Gly Thr Phe
 165 170 175

Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly Gly Thr Tyr Thr
 180 185 190

Cys Phe Gly Ser Leu His Asp Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Asp Pro Ser
 195 200 205

Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Ser Ser Ser Ser Ser
 210 215 220

Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Ile Arg Arg His Leu His
 225 230 235 240

Ile Leu Ile Gly Thr Ser Val Ala Ile Ile Leu Phe Ile Ile Leu Phe
 245 250 255

Phe Phe Leu Leu His Cys Cys Cys Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val
 260 265 270

Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asp Arg Thr Val Asn Arg Glu Asp Ser
 275 280 285

Asp Asp Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His Cys
 290 295 300

Val Phe Thr Gln Thr Lys Ile Thr Ser Pro Ser Gln Arg Pro Lys Thr
 305 310 315 320

Pro Pro Thr Asp Thr Thr Met Tyr Met Glu Leu Pro Asn Ala Lys Pro
 325 330 335

Arg Ser Leu Ser Pro Ala His Lys His His Ser Gln Ala Leu Arg Gly
 340 345 350

Ser Ser Arg Glu Thr Thr Ala Leu Ser Gln Asn Arg Val Ala Ser Ser
355 360 365

His Val Pro Ala Ala Gly Ile
370 375

<210> 16
<211> 304
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16

Met Ser Leu Thr Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
1 5 10 15

Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu
20 25 30

Ala His Pro Gly Arg Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln
35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly
50 55 60

Met Phe Asn Asp Thr Leu Arg Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val
65 70 75 80

Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Ser Arg Met Arg Gln Asp Leu Ala Gly
85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser
100 105 110

Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Ile Gly Leu Tyr Glu Lys
115 120 125

Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Asn
130 135 140

Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu
145 150 155 160

Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Gly Thr Lys
165 170 175

Val Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asn Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His
180 185 190

Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ser Pro Tyr Glu
195 200 205

Trp Ser Lys Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro
210 215 220

Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Glu Thr Gly Asn
225 230 235 240

Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Ile Pro
 245 250 255
 Phe Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asp Lys
 260 265 270
 Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val
 275 280 285
 Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
 290 295 300
 <210> 17
 <211> 206
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 17
 Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
 1 5 10 15
 Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu
 20 25 30
 Ala His Pro Gly Pro Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln
 35 40 45
 Cys Trp Ser Asp Val Arg Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly
 50 55 60
 Lys Tyr Lys Asp Thr Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val
 65 70 75 80
 Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Met Met Gln Asp Leu Ala Gly
 85 90 95
 Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ser Pro Tyr Glu Trp Ser
 100 105 110
 Asn Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser Asn
 115 120 125
 Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg
 130 135 140
 His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Ile Pro Phe Thr
 145 150 155 160
 Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn
 165 170 175
 Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Ser
 180 185 190
 Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
 195 200 205

<210> 18
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 18

Met Ser Leu Met Val Ile Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Trp Leu
 1 5 10 15

Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Phe Arg Arg Lys Pro Ser Leu Leu
 20 25 30

Ala His Pro Gly Arg Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln
 35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly
 50 55 60

Thr Phe Asn Asp Thr Leu Arg Leu Ile Gly Glu His Ile Asp Gly Val
 65 70 75 80

Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Arg Met Arg Gln Asp Leu Ala Gly
 85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Pro His Ser Pro Tyr Gln Phe Ser
 100 105 110

Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys
 115 120 125

Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Ser
 130 135 140

Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Trp Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu
 145 150 155 160

Ser Thr Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Phe Ser Ala Gly Pro Lys
 165 170 175

Val Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr Gln
 180 185 190

Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe His Asp Ser Pro Tyr Glu
 195 200 205

Trp Ser Lys Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro
 210 215 220

Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn
 225 230 235 240

Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Leu Pro
 245 250 255

Phe Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asp Lys
 260 265 270

Lys Asn Ala Ser Val Met Asp Gln Gly Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val
 275 280 285
 Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
 290 295 300
 <210> 19
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 19
 Met Ser Leu Met Val Ile Ile Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
 1 5 10 15
 Gln Gly Ala Trp Pro Gln Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Phe Leu
 20 25 30
 Ala Leu Pro Gly His Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln
 35 40 45
 Cys Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly
 50 55 60
 Lys Phe Asn Asn Thr Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val
 65 70 75 80
 Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Met Met Pro Val Leu Ala Gly
 85 90 95
 Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Pro His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser
 100 105 110
 Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Met Val Ile Ile Gly Leu Tyr Glu Lys
 115 120 125
 Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Gln Ala Gly Glu Asn
 130 135 140
 Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu
 145 150 155 160
 Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Val Arg Ser
 165 170 175
 Ile Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His
 180 185 190
 Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ala Pro Tyr Glu
 195 200 205
 Trp Ser Asn Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro
 210 215 220
 Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn
 225 230 235 240

Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Ile Pro
 245 250 255

Phe Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asp Lys
 260 265 270

Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val
 275 280 285

Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
 290 295 300

<210> 20
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 20

Met Leu Leu Met Val Ile Ser Met Ala Cys Val Ala Phe Phe Leu Leu
 1 5 10 15

Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Phe Arg Arg Lys Pro Ser Leu Leu
 20 25 30

Ala His Pro Gly Pro Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln
 35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly
 50 55 60

Thr Phe Asn His Thr Leu Arg Leu Ile Gly Glu His Ile Asp Gly Val
 65 70 75 80

Ser Lys Gly Asn Phe Ser Ile Gly Arg Met Thr Gln Asp Leu Ala Gly
 85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser
 100 105 110

Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys
 115 120 125

Pro Ser Leu Pro Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Ser
 130 135 140

Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu
 145 150 155 160

Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Gly Pro Lys
 165 170 175

Val Asn Arg Thr Phe Gln Ala Asp Ser Pro Leu Asp Pro Ala Thr His
 180 185 190

Gly Gly Ala Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ser Pro Tyr Glu
 195 200 205

Trp Ser Lys Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Ser
210 215 220

Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Glu Thr Gly Asn
225 230 235 240

Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Leu Pro
245 250 255

Phe Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys
260 265 270

Lys Asn Ala Ser Val Met Asp Gln Gly Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val
275 280 285

Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
290 295 300

<210> 21
<211> 444
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Leu Phe Leu Val
1 5 10 15

Gln Arg Ala Gly Pro His Met Gly Gly Gln Asp Lys Pro Phe Leu Ser
20 25 30

Ala Trp Pro Ser Ala Val Val Pro Arg Gly Gly His Val Thr Leu Arg
35 40 45

Cys His Tyr Arg His Arg Phe Asn Asn Phe Met Leu Tyr Lys Glu Asp
50 55 60

Arg Ile His Ile Pro Ile Phe His Gly Arg Ile Phe Gln Glu Ser Phe
65 70 75 80

Asn Met Ser Pro Val Thr Thr Ala His Ala Gly Asn Tyr Thr Cys Arg
85 90 95

Gly Ser His Pro His Ser Pro Thr Gly Trp Ser Ala Pro Ser Asn Pro
100 105 110

Val Val Ile Met Val Thr Gly Asn His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala
115 120 125

His Pro Gly Pro Leu Val Lys Ser Gly Glu Arg Val Ile Leu Gln Cys
130 135 140

Trp Ser Asp Ile Met Phe Glu His Phe Phe Leu His Lys Glu Gly Ile
145 150 155 160

Ser Lys Asp Pro Ser Arg Leu Val Gly Gln Ile His Asp Gly Val Ser
165 170 175

Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Met Met Leu Ala Leu Ala Gly Thr
 180 185 190
 Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Thr Pro Tyr Gln Leu Ser Ala
 195 200 205
 Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Val Thr Gly Pro Tyr Glu Lys Pro
 210 215 220
 Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Lys Val Gln Ala Gly Glu Ser Val
 225 230 235 240
 Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu Ser
 245 250 255
 Arg Glu Gly Gly Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Val Arg Lys Val
 260 265 270
 Asn Arg Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly
 275 280 285
 Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg His Ser Pro Tyr Glu Trp
 290 295 300
 Ser Asp Pro Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser
 305 310 315 320
 Ser Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Ser Gly Asn Pro
 325 330 335
 Arg His Leu His Ile Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Ile Leu Phe
 340 345 350
 Ile Leu Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Leu Trp Cys Ser Asn Lys Lys
 355 360 365
 Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Ala Asn
 370 375 380
 Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Glu Glu Val Thr Tyr Ala Gln
 385 390 395 400
 Leu Asp His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Arg Pro Ser Gln
 405 410 415
 Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Thr Ile Leu Tyr Thr Glu Leu Pro
 420 425 430
 Asn Ala Lys Pro Arg Ser Lys Val Val Ser Cys Pro
 435 440

<210> 22
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 22

Met Ser Leu Thr Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
 1 5 10 15
 Gln Gly Ala Trp Pro Leu Met Gly Gly Gln Asp Lys Pro Phe Leu Ser
 20 25 30
 Ala Arg Pro Ser Thr Val Val Pro Arg Gly Gly His Val Ala Leu Gln
 35 40 45
 Cys His Tyr Arg Arg Gly Phe Asn Asn Phe Met Leu Tyr Lys Glu Asp
 50 55 60
 Arg Ser His Val Pro Ile Phe His Gly Arg Ile Phe Gln Glu Ser Phe
 65 70 75 80
 Ile Met Gly Pro Val Thr Pro Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Arg
 85 90 95
 Gly Ser Arg Pro His Ser Leu Thr Gly Trp Ser Ala Pro Ser Asn Pro
 100 105 110
 Leu Val Ile Met Val Thr Gly Asn His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala
 115 120 125
 His Pro Gly Pro Leu Leu Lys Ser Gly Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys
 130 135 140
 Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Phe Leu His Arg Glu Gly Ile
 145 150 155 160
 Ser Glu Asp Pro Ser Arg Leu Val Gly Gln Ile His Asp Gly Val Ser
 165 170 175
 Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Leu Met Pro Val Leu Ala Gly Thr
 180 185 190
 Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Pro His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser Ala
 195 200 205
 Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Pro
 210 215 220
 Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Gln Ala Gly Glu Asn Val
 225 230 235 240
 Thr Leu Ser Cys Ser Ser Trp Ser Ser Tyr Asp Ile Tyr His Leu Ser
 245 250 255
 Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Leu Arg Ala Val Pro Lys Val
 260 265 270
 Asn Arg Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly
 275 280 285
 Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Ala Leu Pro Cys Val Trp
 290 295 300

Ser Asn Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser
305 310 315 320

Ser Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Ser Gly Ile Cys
325 330 335

Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Phe Leu Phe
340 345 350

Ile Leu Leu Leu Phe Phe Leu Leu Tyr Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys
355 360 365

Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asp Arg Thr Val Asn
370 375 380

Arg Gln Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln
385 390 395 400

Leu Asp His Cys Val Phe Ile Gln Arg Lys Ile Ser Arg Pro Ser Gln
405 410 415

Arg Pro Lys Thr Pro Leu Thr Asp Thr Ser Val Tyr Thr Glu Leu Pro
420 425 430

Asn Ala Glu Pro Arg Ser Lys Val Val Ser Cys Pro Arg Ala Pro Gln
435 440 445

Ser Gly Leu Glu Gly Val Phe
450 455

<210> 23
<211> 410
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23

Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gly Pro Trp Pro His Val Gly Gly Gln Asp Lys Pro Phe Leu Ser
20 25 30

Ala Trp Pro Gly Thr Val Val Ser Glu Gly Gln His Val Thr Leu Gln
35 40 45

Cys Arg Ser His Leu Gly Phe Asn Glu Phe Ser Leu Ser Lys Glu Asp
50 55 60

Gly Met Pro Val Pro Glu Leu Tyr Asn Arg Ile Phe Arg Asn Ser Phe
65 70 75 80

Leu Met Gly Pro Val Thr Pro Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Cys
85 90 95

Ser Ser His Pro His Ser Pro Thr Gly Trp Ser Ala Pro Ser Asn Pro
100 105 110

Val Val Ile Met Val Thr Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala
115 120 125

His Pro Gly Pro Leu Val Lys Ser Gly Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys
130 135 140

Trp Ser Asp Val Arg Phe Glu Arg Phe Leu Leu His Arg Glu Gly Ile
145 150 155 160

Thr Glu Asp Pro Leu Arg Leu Val Gly Gln Leu His Asp Ala Gly Ser
165 170 175

Gln Val Asn Tyr Ser Met Gly Pro Met Thr Pro Ala Leu Ala Gly Thr
180 185 190

Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Val Thr His Leu Pro Tyr Glu Leu Ser Ala
195 200 205

Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Val Val Gly Leu Tyr Gly Lys Pro
210 215 220

Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Gln Ala Gly Glu Asn Val
225 230 235 240

Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Leu Phe Asp Ile Tyr His Leu Ser
245 250 255

Arg Glu Ala Glu Ala Gly Glu Leu Arg Leu Thr Ala Val Leu Arg Val
260 265 270

Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asn Phe Pro Leu Gly Pro Val Thr His Gly
275 280 285

Gly Asn Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Ala Leu Pro His Ala Trp
290 295 300

Ser Asp Pro Ser Asp Pro Leu Pro Val Ser Val Thr Gly Asn Ser Arg
305 310 315 320

Tyr Leu His Ala Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Ile Pro Phe Ala
325 330 335

Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ala Asn Lys Lys Asn
340 345 350

Ala Val Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Arg
355 360 365

Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu
370 375 380

Asn His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Arg Pro Ser Gln Arg
385 390 395 400

Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Thr Ser Val

405

410

<210> 24
 <211> 387
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 24

Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Leu Phe Leu Val
 1 5 10 15

Gln Arg Ala Gly Pro His Met Gly Gly Gln Asp Lys Pro Phe Leu Ser
 20 25 30

Ala Trp Pro Ser Ala Val Val Pro Arg Gly Gly His Val Thr Leu Arg
 35 40 45

Cys His Tyr Arg His Arg Phe Asn Asn Phe Met Leu Tyr Lys Glu Asp
 50 55 60

Arg Ile His Val Pro Ile Phe His Gly Arg Ile Phe Gln Glu Gly Phe
 65 70 75 80

Asn Met Ser Pro Val Thr Thr Ala His Ala Gly Asn Tyr Thr Cys Arg
 85 90 95

Gly Ser His Pro His Ser Pro Thr Gly Trp Ser Ala Pro Ser Asn Pro
 100 105 110

Met Val Ile Met Val Thr Gly Asn His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala
 115 120 125

His Pro Gly Pro Leu Val Lys Ser Gly Glu Arg Val Ile Leu Gln Cys
 130 135 140

Trp Ser Asp Ile Met Phe Glu His Phe Phe Leu His Lys Glu Trp Ile
 145 150 155 160

Ser Lys Asp Pro Ser Arg Leu Val Gly Gln Ile His Asp Gly Val Ser
 165 170 175

Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Ser Met Met Arg Ala Leu Ala Gly Thr
 180 185 190

Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Thr Pro Tyr Gln Leu Ser Ala
 195 200 205

Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Val Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Pro
 210 215 220

Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Lys Val Gln Ala Gly Glu Ser Val
 225 230 235 240

Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu Ser
 245 250 255

Arg Glu Gly Gly Ala His Glu Arg Arg Leu Pro Ala Val Arg Lys Val

260 265 270
Asn Arg Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly
275 280 285
Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg His Ser Pro Tyr Glu Trp
290 295 300
Ser Asp Pro Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser
305 310 315
Ser Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Ser Gly Asn Leu
325 330 335
Arg His Leu His Ile Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Ile Pro Phe
340 345 350
Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys
355 360 365
Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Ser Glu Gln
370 375 380
Arg Gly Phe
385

七、申請專利範圍：

1. 一種治療自體免疫病症之方法，其包含投與有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
2. 一種治療發炎病症之方法，其包含投與有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
3. 一種消除或減少與疾病病狀有關之T細胞數目的方法，其包含在表現KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之細胞存在下使該等T細胞與抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物接觸。
4. 如請求項3之方法，其中該等表現KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之細胞為NK細胞。
5. 如請求項3之方法，其係離體達成。
6. 如請求項3之方法，其在活體內達成。
7. 如請求項3之方法，其中該等T細胞包括促發炎、活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞中之一或多者。
8. 一種消除或減少與發炎病症病理有關之T細胞數目的方法，其包含投與患有發炎病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
9. 一種消除或減少與自體免疫病症病理有關之T細胞數目的方法，其包含投與患有自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。

10. 如請求項8或9之方法，其中該等T細胞包含活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、促發炎T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。
11. 如請求項8、9或10之方法，其中該等T細胞包括以下一或多者：循環中之T細胞；患病或發炎組織中所包含之T細胞；浸潤性T細胞；已浸潤於疾病組織中之T細胞；滑膜關節組織或滑液中所包含之T細胞；或中樞神經系統、結腸或皮膚組織中所包含之T細胞。
12. 如請求項8至11中任一項之方法，其中該個體患有至少部分由該等T細胞介導之疾病。
13. 一種活體內消除或減少與發炎或自體免疫病症病理有關之活化及/或增殖性T細胞數目的方法，其包含投與患有發炎或自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
14. 一種消除或減少與發炎或自體免疫病症病理有關之CD4+ T細胞數目的方法，其包含投與患有發炎或自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
15. 一種消除或減少促發炎T細胞數目的方法，其包含投與患有發炎或自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
16. 如請求項13、14或15中任一項之方法，其中該疾病至少

部分由該等T細胞介導。

17. 一種消除或減少浸潤性T細胞數目的方法，其包含投與患有發炎或自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
18. 如請求項17之方法，其中該疾病至少部分由該等T細胞介導。
19. 如請求項17之方法，其中該等浸潤性T細胞包括以下一或多者：已浸潤於疾病組織中之細胞、已浸潤於滑膜關節組織或滑液中之細胞，或已浸潤於中樞神經系統、結腸或皮膚組織中之細胞。
20. 一種消除或減少表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞數目的方法，其包含投與患有發炎或自體免疫病症之個體可有效減少該等T細胞數目之量的抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
21. 如請求項20之方法，其中該等T細胞至少部分介導該病症。
22. 一種治療發炎病症之方法，其包含：(a)確定個體是否患有發炎病症；及(b)若該個體患有發炎病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。
23. 一種治療自體免疫病症之方法，其包含：(a)確定個體是否患有自體免疫病症；及(b)若該個體患有自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3

多肽之化合物治療該個體。

24. 一種治療發炎病症之方法，其包含：(a)確定個體是否患有至少部分由T細胞介導之發炎病症，及(b)若該個體患有至少部分由該等T細胞介導之發炎病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。
25. 如請求項24之方法，其中該等T細胞包括以下一或多者：促發炎、活化及/或增殖性T細胞、循環中之T細胞或患病或發炎組織中之T細胞、CD4+ T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。
26. 一種治療自體免疫病症之方法，其包含：(a)確定個體是否患有至少部分由T細胞介導之自體免疫病症；及(b)若該個體患有至少部分由該等T細胞介導之自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。
27. 如請求項26之方法，其中該等T細胞包括以下一或多者：促發炎、活化及/或增殖性T細胞、循環中之T細胞或患病或發炎組織中之T細胞、CD4+ T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。
28. 一種治療個體之發炎疾病的方法，其包含：(a)評估個體之發炎疾病之存在、階段及/或進展；及(b)投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
29. 一種治療個體之自體免疫疾病的方法，其包含：(a)評估

個體之自體免疫疾病之存在、階段及/或進展；及(b)投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。

30. 如請求項28或29之方法，其中該方法包含評估個體之疾病的存在、階段及/或進展，其包含分析自體抗體、CRP、任何蛋白水解酶、發炎介體或進行性炎症之標記的含量。
31. 如請求項28或29之方法，其中若確定該個體適於用抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療，則投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
32. 一種治療個體之發炎疾病的方法，其包含：(a)確定該個體是否確診有發炎疾病；及(b)若該個體確診有發炎疾病，則投與該患者有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
33. 一種治療個體之自體免疫疾病的方法，其包含：(a)確定該個體是否確診有自體免疫疾病；及(b)若該個體確診有自體免疫疾病，則投與該患者有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
34. 一種治療個體之發炎疾病的方法，其包含(a)確定該個體是否正經歷發炎疾病之發作、危象、惡化或突發；及(b)若該個體經歷發炎疾病之發作、危象、惡化或突發，則投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。

35. 一種治療個體之自體免疫疾病的方法，其包含(a)確定該個體是否正經歷自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發；及(b)若該個體經歷自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發，則投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
36. 一種治療個體之發炎疾病的方法，其包含(a)確定該個體是否患有特徵在於存在T細胞之發炎疾病；及(b)若該個體患有特徵在於存在該等T細胞之發炎疾病，則投與該患者有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
37. 一種治療個體之自體免疫疾病的方法，其包含(a)確定該個體是否患有特徵在於存在T細胞之自體免疫疾病；及(b)若該個體患有特徵在於存在該等T細胞之自體免疫疾病，則投與該患者有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
38. 如請求項36或37之方法，其中該等T細胞可為活化及/或增殖性T細胞、CD4+ T細胞、促發炎T細胞、浸潤性T細胞及/或表現HLA-cw3及/或HLA-cw4之T細胞。
39. 一種治療正經歷發炎疾病之發作、危象、惡化或突發之個體的方法，其包含投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
40. 如請求項39之方法，其中該個體確診有發炎疾病。
41. 一種治療正經歷自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發之個體的方法，其包含投與該個體有效量之抑制

KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。

42. 如請求項41之方法，其中該個體患有自體免疫發炎疾病。
43. 一種治療個體之方法，其包含：(a)確定個體是否患有發炎或自體免疫病症；及(b)若該個體患有發炎或自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。
44. 一種治療個體之方法，其包含：(a)確定個體是否患有至少部分由T細胞介導之發炎或自體免疫病症；及(b)若該個體患有至少部分由該等T細胞介導之發炎或自體免疫病症，則用有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物治療該個體。
45. 一種治療個體之方法，其包含：(a)評估個體之發炎或自體免疫疾病之存在、階段及/或進展；及(b)投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
46. 一種治療個體之方法，其包含：(a)確定該個體是否確診有發炎或自體免疫疾病；及(b)若該個體確診有發炎或自體免疫疾病，則投與該患者有效量之抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。
47. 一種治療個體之方法，其包含：(a)確定該個體是否正經歷發炎或自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發；及(b)若該個體經歷發炎或自體免疫疾病之發作、危象、惡化或突發，則投與該個體有效量之抑制KIR2DL1、

KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物。

48. 如請求項1至47中任一項之方法，其中該化合物為抗體、抗體片段、肽、糖苷生物鹼、反義核酸、核糖核酸酶、類視黃素、高親和性多聚體(avemir)、小分子或其任何組合。
49. 如請求項1至47中任一項之方法，其中該個體患有由T細胞介導之發炎或自體免疫病症。
50. 如請求項1、9、13、14、15、17、20、23、26、29、33、35、37、41及43至47中任一項之方法，其中該自體免疫病症為後天免疫缺乏症候群(AIDS)、後天脾萎縮、急性前葡萄膜炎、急性播散性腦脊髓炎(ADEM)、急性痛風性關節炎、急性壞死性出血性腦白質炎、急性或慢性竇炎、急性化膿性腦膜炎(或其他中樞神經系統發炎病症)、急性嚴重炎症、艾迪森氏病(Addison's disease)、腎上腺炎、成人發作型糖尿病(第II型糖尿病)、成人發作型特發性副甲狀腺低能症(AOIH)、無 γ 球蛋白血症、顆粒球缺乏症、血管炎病(包括血管炎(包括大血管血管炎(包括風濕性多肌痛及巨細胞性(高安氏(Takayasu's))關節炎))、過敏病狀、過敏性接觸性皮炎、過敏性皮炎、過敏性肉芽腫性血管炎、過敏病症、過敏性神經炎、過敏反應、斑形脫髮、全禿、阿爾波特氏症候群(Alport's syndrome)、肺泡炎(例如過敏性肺泡炎及纖維化肺泡炎)、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)、澱粉樣變性、肌萎縮性側索硬化(ALS；葛雷克氏病(Lou Gehrig's

disease))、嗜伊紅血球相關病症(例如嗜伊紅血球增多)、全身性過敏反應、僵直性脊椎炎、血管擴張、抗體介導之腎炎、抗-GBM/抗-TBM腎炎、抗原-抗體複合物介導之疾病、抗絲球體基底膜病、抗-磷脂抗體症候群、抗磷脂症候群(APS)、口瘡、口瘡性口炎、再生不能性貧血、心律不整、動脈硬化、動脈硬化病症、關節炎(例如類風濕性關節炎，諸如急性關節炎、慢性類風濕性關節炎)、慢性漸進性關節炎、變形性關節炎、蛔蟲病、麩黴腫(或含有嗜伊紅血球之肉芽腫)、麩菌病、無精液症(aspermiogenesis)、哮喘(例如支氣管哮喘(asthma bronchiale/bronchial asthma)及自體免疫哮喘)、共濟失調毛細管擴張症、共濟失調硬化、動脈粥樣硬化、自閉症、自體免疫血管性水腫、自體免疫再生不能性貧血、自體免疫萎縮性胃炎、自體免疫糖尿病、睪丸及卵巢之自體免疫疾病(包括自體免疫睪丸炎及卵巢炎)、與膠原病有關之自體免疫病症、自體免疫自主神經障礙、自體免疫耳部疾病(例如自體免疫內耳疾病(AGED))、自體免疫內分泌疾病(包括甲狀腺炎，諸如自體免疫甲狀腺炎)、自體免疫腸病症候群、自體免疫性腺衰竭、自體免疫聽力喪失、自體免疫溶血、自體免疫肝炎、自體免疫肝臟病症、自體免疫高脂質血症、自體免疫免疫缺乏症、自體免疫內耳疾病(AIED)、自體免疫心肌炎、自體免疫嗜中性球減少症、自體免疫胰臟炎、自體免疫多內分泌病、第I型自體免疫多腺體症候群、自體免疫視網膜

病、自體免疫血小板減少性紫癍(ATP)、自體免疫甲狀腺病、自體免疫蕁麻疹、自體免疫介導之胃腸疾病、軸突及神經元神經病、巴婁病(Balo disease)、白塞氏病(Behcet's disease)、良性家族性及缺血再灌注損傷、良性淋巴球性血管炎、伯格氏病(Berger's disease)(IgA腎病)、養鳥者肺(bird-fancier's lung)、失明、伯克氏病(Boeck's disease)、阻塞性細支氣管炎(非移植)伴有NSIP(bronchiolitis obliterans (non-transplant) vs NSIP)、支氣管炎、支氣管肺炎麴菌病、布魯頓氏症候群(Bruton's syndrome)、大皰性類天疱瘡、卡普蘭氏症候群(Caplan's syndrome)、心肌病、心血管缺血、卡斯曼氏症候群(Castleman's syndrome)、乳糜瀉、脂肪便症(麩質性腸病)、小腦退化、大腦缺血及伴有血管形成之疾病、恰加斯氏病(Chagas disease)、通道病(例如癲癇症)、CNS通道病、脈絡膜視網膜炎、脈絡膜炎、自體免疫血液學病症、慢性活動性肝炎或自體免疫慢性活動性肝炎、慢性接觸性皮炎、慢性嗜伊紅血球肺炎、慢性疲勞症候群、慢性肝炎、慢性過敏性肺炎、慢性發炎性關節炎、慢性發炎性髓鞘脫失多神經病(CIDP)、慢性難治炎症、慢性黏膜與皮膚性念珠菌病、慢性神經病(例如IgM多神經病或IgM介導之神經病)、慢性阻塞性氣管疾病、慢性肺部發炎疾病、慢性復發性多灶性骨髓炎(CRMO)、慢性甲狀腺炎(橋本氏甲狀腺炎(Hashimoto's thyroiditis))或亞急性甲狀腺炎、徹奇-斯全司症候群

(Churg-Strauss syndrome)、癥痕性類天庖瘡/良性黏膜類天庖瘡、CNS發炎病症、CNS血管炎、腹腔病、柯剛氏症候群(Cogans syndrome)、冷凝集素病、息肉狀結腸炎、結腸炎(諸如潰瘍性結腸炎(ulcerative colitis/colitis ulcerosa)、膠原性結腸炎)、涉及T細胞浸潤及慢性發炎反應之病狀、先天性心臟傳導阻滯、先天性風疹感染、庫姆氏陽性貧血(Coombs positive anemia)、冠狀動脈疾病、科沙奇病毒性心肌炎(Coxsackie myocarditis)、CREST症候群(鈣質沉著、雷諾氏現象(Raynaud's phenomenon))、克羅恩氏病(Crohn's disease)、冷球蛋白血症、庫欣氏症候群(Cushing's syndrome)、睫狀體炎(例如慢性睫狀體炎、異時性睫狀體炎、虹膜睫狀體炎或福斯氏睫狀體炎(Fuch's cyclitis))、囊腫性纖維化、細胞激素誘發之毒性、聾症、退化性關節炎、髓鞘脫失疾病(例如自體免疫髓鞘脫失疾病)、髓鞘脫失神經病、登革熱(dengue)、庖疹樣皮炎及異位性皮炎、皮炎(包括接觸性皮炎)、皮肌炎、具有急性發炎組分之皮膚病、德維克氏病(Devic's disease)(視神經脊髓炎)、糖尿病性大動脈病症、糖尿病性腎病、糖尿病性視網膜病、戴-布二氏貧血(Diamond Blackfan anemia)、彌漫性間質性肺纖維化、擴張型心肌病、盤狀狼瘡、涉及白血球滲出之疾病、卓斯勒症候群(Dressler's syndrome)、杜普伊特倫氏攣縮(Dupuytren's contracture)、埃可病毒感染(echovirus infection)、濕疹(包括過敏性或異位性濕疹)、腦炎(諸如

羅氏腦炎(Rasmussen's encephalitis)及邊緣葉及/或腦幹腦炎)、腦脊髓炎(例如過敏性腦脊髓炎(allergic encephalomyelitis/encephalomyelitis allergica)及實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE))、動脈內膜增生、心內膜炎、內分泌性眼病、子宮內膜異位症、心內膜心肌纖維化、晶狀體過敏性眼內炎(endophthemia phacoanaphylactica)、眼內炎、過敏性腸炎、嗜伊紅血球增多-肌痛症候群、嗜伊紅血球性筋膜炎、流行性角膜結膜炎、後天性大皰性表皮鬆懈(EBA)、鞏膜外層、鞏膜外層炎、埃-巴二氏病毒感染(Epstein-Barr virus infection)、持久性隆起性紅斑、多形紅斑、麻風結節性紅斑、結節性紅斑、胎兒紅血球母細胞增多症、食道運動功能障礙(esophageal dysmotility)、原發性混合型冷球蛋白血症、篩骨、伊文氏症候群(Evan's syndrome)、實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE)、因子VIII缺乏症、農民肺(farmer's lung)、風濕熱、費爾提氏症候群(Felty's syndrome)、肌肉纖維疼痛、纖維化肺泡炎、絲蟲病、局部區段性絲球體硬化症(FSGS)、食物中毒、額葉萎縮、胃萎縮、巨細胞性關節炎(顛關節炎)、巨細胞性肝炎、巨細胞性多肌痛、絲球體腎炎、伴有及不伴有腎病症候群之絲球體腎炎(GN)(諸如慢性或急性絲球體腎炎(例如原發性GN))、古德帕斯徹氏症候群(Goodpasture's syndrome)、痛風性關節炎、顆粒球輸注相關症候群、肉芽腫病(包括淋巴瘤樣肉芽腫病)、伴有多血管炎之肉芽腫病(GPA)、肉芽腫性

葡萄膜炎、格雷氏病(Grave's disease)、古立安-白瑞症候群(Guillain-Barre syndrome)、點狀牛皮癬、陣發性血紅素尿、黑-里二氏病(Hamman-Rich's disease)、橋本氏病(Hashimoto's disease)、橋本氏腦炎、橋本氏甲狀腺炎、血色病、溶血性貧血或免疫性溶血性貧血(包括自體免疫溶血性貧血(AIHA))、溶血性貧血、A型血友病、亨-舍二氏紫癍(Henoch-Schonlein purpura)、妊娠疱疹、人類免疫缺乏病毒(HIV)感染、痛覺過敏、低 γ 球蛋白血症、性腺低能症、副甲狀腺低能症、特發性尿崩症、特發性面癱、特發性甲狀腺功能低下、特發性IgA腎病、特發性膜性GN或特發性膜性腎病、特發性腎病症候群、特發性肺纖維化、特發性口炎性腹瀉、特發性血小板減少性紫癍(ITP)、IgA腎病、IgE介導之疾病(例如全身性過敏反應以及過敏性及異位性鼻炎)、IgG4相關硬化性疾病、局部迴腸炎、免疫複合物腎炎、與由細胞激素及T-淋巴球介導之急性及遲發型過敏症有關之免疫反應、免疫介導之GN、免疫調節性脂蛋白(包括成人或急性呼吸窘迫症候群(ARDS))、包涵體肌炎、感染性關節炎、由抗精原細胞抗體所致之不孕症、全部或部分葡萄膜炎症、發炎性腸病(IBD)、發炎性過度增殖性皮膚疾病、發炎性肌病、胰島素依賴型糖尿病(第1型)、胰島炎、間質性膀胱炎、間質性肺病、間質肺纖維化、虹膜炎、缺血再灌注病症、關節炎症、青少年關節炎、青少年皮炎、青少年糖尿病、青少年發作型(第I型)糖尿病(包括

兒童胰島素依賴型糖尿病(IDDM))、青少年發作型類風濕性關節炎、川崎氏症候群(Kawasaki syndrome)、乾燥性角膜結膜炎、錐蟲病(kypanosomiasis)、藍伯-伊頓症候群(Lambert-Eaton syndrome)、利什曼體病(leishmaniasis)、麻風病、白血球減少症、白血球黏附缺乏症、白血球破碎性血管炎、白血球減少症、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、線性IgA皮膚病、線性IgA疾病(LAD)、呂弗勒氏症候群(Loffler's syndrome)、類狼瘡性肝炎、狼瘡(包括腎炎、大腦炎、兒童、非腎、腎外、盤狀、脫髮)、狼瘡(SLE)、播散性紅斑狼瘡、萊姆關節炎(Lyme arthritis)、萊姆病、淋巴間質性肺炎、瘧疾、男性及女性自體免疫不孕症、上頷骨病、中血管血管炎(包括川崎氏病及結節性多動脈炎)、膜狀增生性或膜增生性GN(MPGN)(包括第I型及第II型)及快速進行性GN、膜性GN(膜性腎病)、美尼爾氏病(Meniere's disease)、腦膜炎、顯微性結腸炎、顯微性多血管炎、偏頭痛、微小腎病變、混合型結締組織病(MCTD)、感染性單核細胞增多症、莫倫氏潰瘍(Mooren's ulcer)、穆-哈二氏病(Mucha-Habermann disease)、多灶性運動神經病、多發性內分泌衰竭、多器官損傷症候群(諸如繼發於敗血症、創傷或出血之多器官損傷症候群)、多器官損傷症候群、多發性硬化症(MS)(諸如脊髓-眼MS)、多發性硬化症、流行性腮腺炎、肌肉病症、重症肌無力(諸如胸腺瘤相關重症肌無力)、重症肌無力、心肌炎、肌炎、發作性睡

病、壞死性小腸結腸炎及透壁性結腸炎，及自體免疫發炎性腸病；壞死性、皮膚或過敏性血管炎；新生兒狼瘡症候群(NLE)、腎病、腎病症候群、神經疾病、視神經脊髓炎(德維克氏)、視神經脊髓炎、神經性肌強直、嗜中性球減少症、非癌性淋巴球增多症、非肉芽腫性葡萄膜炎、非惡性胸腺瘤、眼部及眼眶發炎病症、眼部癍痕性類天疱瘡、卵巢炎、交感神經性眼炎、眼陣攣肌陣攣症候群(OMS)、眼陣攣或眼陣攣肌陣攣症候群(OMS)，及感覺神經病、視神經炎、肉芽腫性睪丸炎、骨關節炎、復發性風濕病、胰臟炎、全部血球減少症、PANDAS(與鏈球菌(*Streptococcus*)有關之兒童自體免疫神經精神病症)、腫瘤相關小腦退化、腫瘤相關症候群；腫瘤相關症候群，包括神經腫瘤相關症候群(例如藍伯-伊頓肌無力症候群或伊頓-藍伯症候群)；寄生物疾病，諸如利什曼原蟲屬(*Leishmania*)；陣發性夜間血紅素尿(PNH)、帕-羅二氏症候群(Parry Romberg syndrome)、睫狀體平坦部炎(周邊葡萄膜炎)、帕-特二氏症候群(Parsonnage-Turner syndrome)、小病毒感染；類天疱瘡，諸如大皰性類天疱瘡及皮膚類天疱瘡；天疱瘡(包括尋常天疱瘡)、紅斑性天疱瘡、落葉狀天疱瘡、天疱瘡黏膜類天疱瘡、天疱瘡、消化性潰瘍、週期性麻痺、周邊神經病、靜脈周邊性腦脊髓炎、惡性貧血(pernicious anemia/anemia perniciososa)、惡性貧血、晶狀體抗原性葡萄膜炎、肺硬化、POEMS症候群；結節性多動脈炎，第

I型、第II型及第III型；原發性慢性多發性關節炎、多軟骨炎(例如難治或復發性多軟骨炎)、多內分泌腺自體免疫疾病、多內分泌異常(polyendocrine failure)、多腺體症候群(例如自體免疫多腺體症候群(或多腺體內分泌病症候群))、風濕性多肌痛、多發性肌炎、多發性肌炎/皮肌炎、多神經病、急性多神經根炎、心切開術後症候群、後葡萄膜炎、或自體免疫葡萄膜炎、心肌梗塞後症候群、心包切開術後症候群、鏈球菌感染後腎炎、疫苗接種後症候群、早老性癡呆、原發性膽汁性肝硬化、原發性甲狀腺功能低下、原發性特發性黏液水腫；原發性淋巴球增多症，其包括單株B細胞淋巴球增多症(例如良性單株 γ 球蛋白病及意義未明之單株 γ 球蛋白病MGUS)；原發性黏液水腫、原發性進行性MS(PPMS)及復發-緩解型MS(RRMS)、原發性硬化性膽管炎、孕酮皮炎、進行性全身性硬化、增生性關節炎；牛皮癬，諸如斑塊型牛皮癬；牛皮癬、牛皮癬性關節炎、肺泡蛋白沈積症、肺部浸潤性嗜伊紅血球增多、純紅血球貧血或再生不良(pure red cell anemia or aplasia, PRCA)、純紅血球再生不良、化膿性或非化膿性竇炎、膿皰性牛皮癬及指甲牛皮癬、腎盂炎、壞疽性膿皮病、奎汶氏甲狀腺炎(Quervain's thyroiditis)、雷諾氏現象、反應性關節炎、反覆流產、血壓反應降低、反射性交感神經失養症、難治型口炎性腹瀉、萊特爾氏病(Reiter's disease)或症候群、復發性多軟骨炎、心肌或其他組織再灌注損傷、再

灌注損傷、呼吸窘迫症候群、腿不寧症候群、視網膜自體免疫、腹膜後纖維化、雷諾氏症候群、風濕性疾病、風濕熱、風濕病、類風濕性關節炎、類風濕性脊椎炎、風疹病毒感染、塞氏症候群(Sampter's syndrome)、類肉瘤病、血吸蟲病、施密特症候群(Schmidt syndrome)、SCID及埃-巴二氏病毒相關疾病(Epstein-Barr virus-associated disease)、鞏膜、鞏膜炎、指硬皮病、硬皮病(包括全身性硬皮病)、硬化性膽管炎、播散性硬化；硬化，諸如全身性硬化；感覺神經性聽力喪失、血清反應陰性脊椎關節炎、席漢氏症候群(Sheehan's syndrome)、夏爾曼氏症候群(Shulman's syndrome)、矽肺病、休格連氏症候群、精子及睪丸自體免疫、蝶竇炎、斯-約二氏症候群(Stevens-Johnson syndrome)、僵人(stiff-man/stiff-person)症候群、亞急性細菌性心內膜炎(SBE)、亞急性皮膚紅斑狼瘡、突發性聽力喪失、蘇薩克氏症候群(Susac's syndrome)、西登哈姆氏舞蹈病(Sydenham's chorea)、交感神經性眼炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)(systemic lupus erythematosus/systemic lupus erythematoses)(例如皮膚SLE)、全身性壞死性血管炎及ANCA相關血管炎，諸如徹奇-斯全司血管炎或症候群(CSS)；脊髓癆、高安氏動脈炎、毛細血管擴張、顛動脈炎/巨細胞性動脈炎、血栓閉塞性脈管炎；血小板減少症(例如如由心肌梗塞患者所顯現)，包括血栓性血小板減少性紫癍(TTP)，及自體免疫或免疫介導之血小板減少症，諸如特發性血

小板減少性紫癍(ITP)，包括慢性或急性ITP；血小板減少性紫癍(TTP)、甲狀腺中毒症、組織損傷、托-亨二氏症候群(Tolosa-Hunt syndrome)、中毒性表皮壞死溶解、中毒性休克症候群、輸血反應、嬰兒期短暫性低 γ 球蛋白血症、橫貫性脊髓炎(transverse myelitis/traverse myelitis)、熱帶肺性嗜伊紅血球增多、結核病、潰瘍性結腸炎、未分化型結締組織病(UCTD)、蕁麻疹(例如慢性過敏性蕁麻疹及慢性特發性蕁麻疹，包括慢性自體免疫蕁麻疹)、葡萄膜炎(例如前葡萄膜炎)、葡萄膜視網膜炎(uveoretinitis)、瓣膜炎、血管功能障礙、血管炎、脊椎關節炎、水皰性皮膚病、白斑病、韋格納氏肉芽腫病(Wegener's granulomatosis)(現稱作伴有多血管炎之肉芽腫病(GPA))、維斯科特-奧爾德里奇症候群(Wiskott-Aldrich syndrome)或X性聯高IgM症候群。

51. 如請求項2、8、13、14、15、17、20、22、24、28、32、34、36、36、39及43至47中任一項之方法，其中該發炎病症為風濕性疾病(例如類風濕性關節炎、骨關節炎、牛皮癬性關節炎)、脊椎關節病(例如僵直性脊椎炎、反應性關節炎、萊特爾氏症候群)、結晶性關節病(例如痛風、假性痛風、焦磷酸鈣沈積病)、多發性硬化症、萊姆病、風濕性多肌痛；結締組織疾病(例如全身性紅斑狼瘡、全身性硬化、多發性肌炎、皮肌炎、休格連氏症候群)；血管炎病(例如結節性多動脈炎、韋格納氏肉芽腫病、徹奇-斯全司症候群)；發炎病狀，包括創傷

或缺血之後果、類肉瘤病；血管疾病，包括動脈粥樣硬化性血管疾病、動脈粥樣硬化及血管阻塞性疾病(例如動脈粥樣硬化、缺血性心臟病、心肌梗塞、中風、周邊血管疾病)、血管支架再狹窄；眼部疾病，包括葡萄膜炎、角膜炎、虹膜炎、虹膜睫狀體炎、白內障；酸逆流/胃灼熱、痤瘡、尋常痤瘡、過敏及敏感、阿茲海默氏病、哮喘、動脈粥樣硬化及血管阻塞性疾病(例如動脈粥樣硬化、缺血性心臟病、心肌梗塞、中風、周邊血管疾病)及血管支架再狹窄、自體免疫疾病、支氣管炎、癌症、心臟炎、白內障、乳糜瀉、慢性疼痛、慢性前列腺炎、肝硬化、結腸炎、結締組織病(例如全身性紅斑狼瘡、全身性硬化、多發性肌炎、皮肌炎、休格連氏症候群)、角膜炎、克羅恩氏病、結晶性關節病(例如痛風、假性痛風、焦磷酸鈣沈積病)、癡呆、皮炎、糖尿病、乾眼症、濕疹、水腫、氣腫、肌肉纖維疼痛、胃腸炎、齒齦炎、絲球體腎炎、心臟病、肝炎、高血壓、過敏、發炎性腸病；發炎病狀，包括創傷或缺血之後果；胰島素抗性、間質性膀胱炎、虹膜睫狀體炎、虹膜炎、關節疼痛/關節炎/類風濕性關節炎、萊姆病、代謝症候群(症候群X)、多發性硬化症、肌炎、腎炎、肥胖症；眼部疾病，包括葡萄膜炎；骨質減少、骨質疏鬆症、帕金森氏症(Parkinson's Disease)、骨盆發炎性疾病、牙周病、多動脈炎、多軟骨炎、風濕性多肌痛、牛皮癬、再灌注損傷、風濕性關節炎、風濕性疾病(例如類風濕性關節炎、

骨關節炎、牛皮癬性關節炎)、類風濕性關節炎、類肉瘤病、硬皮病、竇炎、休格連氏症候群、結腸痙攣、脊椎關節病(例如僵直性脊椎炎、反應性關節炎、萊特爾氏症候群)、全身性念珠菌病、腱炎、移植排斥反應、UTI、陰道炎；血管疾病，包括動脈粥樣硬化性血管疾病；血管炎病(例如結節性多動脈炎、韋格納氏肉芽腫病、徹奇-斯全司症候群)及血管炎。

52. 如請求項1至51中任一項之方法，其中該化合物為抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。
53. 如請求項52之方法，其中該抗體為嵌合、人類化、抗個體基因型、單鏈、雙功能或共特異性抗體。
54. 如請求項52之方法，其中該抗體之輕鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1、3或5。
55. 如請求項54之方法，其中該胺基酸序列SEQ ID NO: 3之殘基3、4、9、24、32、41、47、50、55、71及74分別為Q、L、S、R、A、G、L、D、E、F及A。
56. 如請求項54之方法，其中該胺基酸序列SEQ ID NO: 3之殘基3、4、9、24、32、41、47、50、55、71及74分別為R、M、F、W、Y、A、F、Y、Q、Y及T。
57. 如請求項52之方法，其中該抗體之重鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2、4或6。
58. 如請求項52之方法，其中該抗體包含對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 1之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 1之殘基50至56的輕鏈

- CDR2胺基酸序列；或對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 1之殘基89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列。
59. 如請求項52之方法，其中該抗體包含對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 3之殘基24至34的輕鏈CDR1胺基酸序列；對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 3之殘基50至56的輕鏈CDR2胺基酸序列；或對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 3之殘基89至97的輕鏈CDR3胺基酸序列。
60. 如請求項52之方法，其中該抗體包含對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 2之殘基31至35的重鏈CDR1胺基酸序列；對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 2之殘基50至65的重鏈CDR2胺基酸序列；或對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 2之殘基99至112的重鏈CDR3胺基酸序列。
61. 如請求項52之方法，其中該抗體包含對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 4之殘基31至35的重鏈CDR1胺基酸序列；對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 4之殘基50至66的重鏈CDR2胺基酸序列；或對應於該胺基酸序列SEQ ID NO: 4之殘基99至113的重鏈CDR3胺基酸序列。
62. 如請求項52之方法，其中該抗體包含分別包含SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2之可變輕鏈及可變重鏈序列。
63. 如請求項52之方法，其中該抗體包含分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3及SEQ ID NO: 4之可變輕鏈及可變重鏈序列。
64. 如請求項52之方法，其中該抗體包含分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6之可變輕鏈及可變重鏈

序列。

65. 如請求項52之方法，其中該抗體結合胺基酸序列SEQ ID NO: 7、8、9、10、11、12、13、14、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24內之抗原決定基。
66. 如請求項52之方法，其中該抗體在由至少一個選自由以下組成之群的胺基酸殘基所界定之區域內結合KIR2DL1：105、106、107、108、109、110、111、127、129、130、131、132、133、134、135、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、181及192。
67. 如請求項52之方法，其中該抗體在由至少一個選自由以下組成之群的胺基酸殘基所界定之區域內結合KIR2DL1及KIR2DL2/3：105、106、107、108、109、110、111、127、129、130、131、132、133、134、135、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、181及192。
68. 如請求項52之方法，其中該抗體或片段直接或間接結合至標記、細胞毒性劑、治療劑或免疫抑制劑。
69. 如請求項68之方法，其中該標記為化學發光標記、順磁性標記、MRI對比劑、螢光標記、生物發光標記或放射性標記。
70. 如請求項69之方法，其中該順磁性標記為鋁、錳、鉑、氧、鐳、鎳、鈦、鈳或鎳。
71. 如請求項68之方法，其中該細胞毒性劑為抑制DNA、

RNA或蛋白質合成之部分、放射性核種或核糖體抑制蛋白。

72. 如請求項71之方法，其中該細胞毒性劑為²¹²Bi、¹³¹I、¹⁸⁸Re、⁹⁰Y、長春地辛(vindesine)、甲胺喋呤(methotrexate)、阿黴素(adriamycin)、順鉑(cisplatin)、商陸抗病毒蛋白(pokeweed antiviral protein)、假單胞菌(*Pseudomonas*)外毒素A、蓖麻毒素、白喉(*diphtheria*)毒素、蓖麻毒素A鏈或細胞毒性磷脂酶。
73. 如請求項52之方法，其中該抗體阻斷或中和NK抑制作用。
74. 如請求項52之方法，其中該抗體結合至KIR2DL1、KIR2DL2或KIR2DL3中之至少一者且中和KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3介導之對NK細胞之細胞毒性的抑制作用。
75. 如請求項52之方法，其中該抗體之中和包含使得NK細胞介導之NK標靶細胞特異性溶解增加至少約20%。
76. 如請求項52之方法，其中該抗體與單株抗體1-7F9、DF200及/或NKVSF1競爭結合相同抗原決定子區。
77. 如請求項52之方法，其中該抗體結合至NK細胞表面上之至少兩種抑制性KIR受體。
78. 如請求項52之方法，其中該抗體結合人類KIR2DL受體之共同抗原決定子區。
79. 如請求項52之方法，其中該抗體結合至KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3受體。

80. 如請求項52之方法，其中該抗體對KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之親和力為至少約 10^4 至約 10^{10} M^{-1} 。
81. 如請求項52之方法，其中該抗體對KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之親和力為至少約 10^7 至約 10^9 M^{-1} 。
82. 如請求項52之方法，其中該抗體展現結合KIR之解離常數小於約100 nM。
83. 如請求項52之方法，其中該抗體與KIR 2DL1加上2DL2/3、3DL1加上3DL2、2DL1(及2DL2/3)加上2DS4，以及2DL1(及2DL2/3)交叉反應，但不與2D24交叉反應。
84. 如請求項52之方法，其中該抗體為DF200、1-7F9或NKVSF1抗體。
85. 如請求項1至84中任一項之方法，其中該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物以單療法形式投與。
86. 如請求項1至84中任一項之方法，其中該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之化合物與第二治療劑組合投與。
87. 如請求項86之方法，其中該第二治療劑為減輕炎症之藥劑。
88. 如請求項86之方法，其中該第二治療劑為小分子化學劑。
89. 如請求項86之方法，其中該第二治療劑為DMARD，視情況為抗-TNF α 抗體、小分子酪胺酸激酶抑制劑或甲胺喋呤(methotrexate, MTX)。

90. 如請求項86之方法，其中該第二治療劑為除具有IgG1或IgG3同型之抗體以外的藥劑。
91. 如請求項1至91中任一項之方法，其中該抑制KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3之化合物為能夠阻斷或中和由KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3介導之NK抑制作用且從而增強NK細胞針對以其他方式阻斷之標靶細胞的活性之抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體。
92. 如請求項91之方法，其中該抗體為結合KIR2DL1及KIR2DL2/3之抗-KIR抗體。
93. 如請求項92之方法，其中該抗-KIR抗體與1-7F9競爭結合至KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3。
94. 如請求項93之方法，其中該抗體為1-7F9。
95. 如請求項52至84中任一項之方法，其中該抗體包含1-7F9之VL域及VH域。
96. 如請求項52至84中任一項之方法，其中該抗體包含1-7F9之VL CDR及VH CDR。
97. 如請求項52至84中任一項之方法，其中該抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以包含有效量之該抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體之醫藥學上可接受之組合物形式投與。
98. 如請求項97之方法，其中該組合物不含任何其他醫藥活性劑。
99. 如請求項52至84中任一項之方法，其中該抗-KIR2DL1、

- 抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以一定量投與以使得NK細胞上之該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和達至少約1週之時段。
100. 如請求項52至84中任一項之方法，其中該抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以一定量投與以使得NK細胞上之該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和達至少約2週之時段。
101. 如請求項52至84中任一項之方法，其中該抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以一定量投與以使得NK細胞上之該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3實質上完全飽和達至少約1個月之時段。
102. 如請求項52至84中任一項之方法，其中該抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以約每2週一次之給藥頻率多次投與。
103. 如請求項52至84中任一項之方法，其中該抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以約每1個月一次之給藥頻率多次投與。
104. 如請求項52至84中任一項之方法，其中該抗-KIR2DL1、抗-KIR2DL2及/或抗-KIR2DL3抗體以約每2個月一次或每2個月以上之時段一次之給藥頻率多次投與。
105. 一種用於治療自體免疫病症之組合物，其包含抗-KIR2DL1抗體。
106. 一種用於治療自體免疫病症之組合物，其包含抗-KIR2DL2抗體。

107. 一種用於治療自體免疫病症之組合物，其包含抗-KIR2DL3抗體。
108. 一種用於治療發炎病症之組合物，其包含抗-KIR2DL1抗體。
109. 一種用於治療發炎病症之組合物，其包含抗-KIR2DL2抗體。
110. 一種用於治療發炎病症之組合物，其包含抗-KIR2DL3抗體。
111. 一種抗-KIR2DL1抗體之用途，其用於製備治療自體免疫病症之藥物。
112. 一種抗-KIR2DL2抗體之用途，其用於製備治療自體免疫病症之藥物。
113. 一種抗-KIR2DL3抗體之用途，其用於製備治療自體免疫病症之藥物。
114. 一種抗-KIR2DL1抗體之用途，其用於製備治療發炎病症之藥物。
115. 一種抗-KIR2DL2抗體之用途，其用於製備治療發炎病症之藥物。
116. 一種抗-KIR2DL3抗體之用途，其用於製備治療發炎病症之藥物。
117. 一種製備用於治療發炎或自體免疫病症之抗體的方法，該方法包含以下步驟：
- (a) 用包含KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽之免疫原使非人類哺乳動物免疫；

(b) 選擇來自該免疫之哺乳動物的抗體，其中該等抗體結合該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽；及

(c) 選擇(b)中增強NK細胞對T細胞之消除作用的抗體。

118. 一種製備用於治療發炎或自體免疫病症之抗體的方法，該方法包含藉由噬菌體呈現技術庫提供抗體庫，其中該等抗體結合該KIR2DL1、KIR2DL2及/或KIR2DL3多肽；及選擇增強NK細胞對T細胞之消除或消耗作用的抗體。

八、圖式：

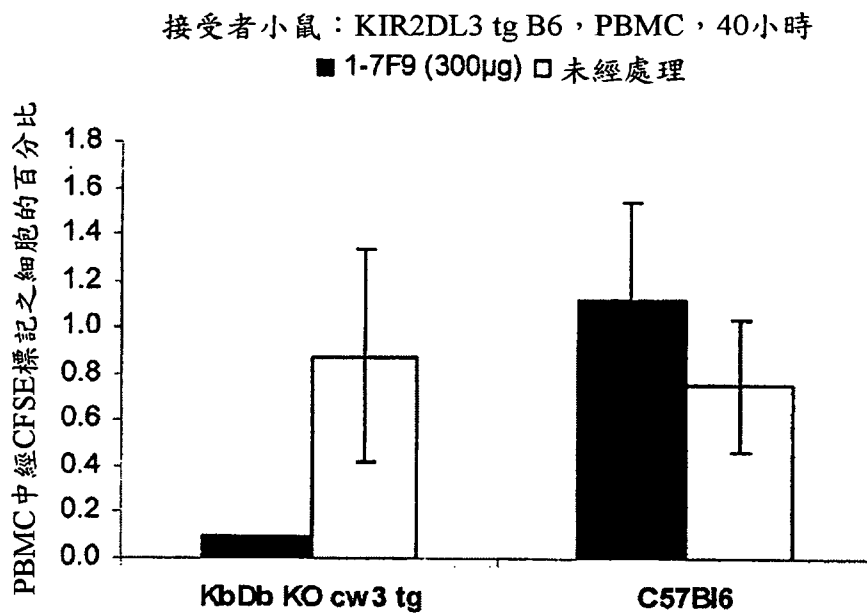


圖1A

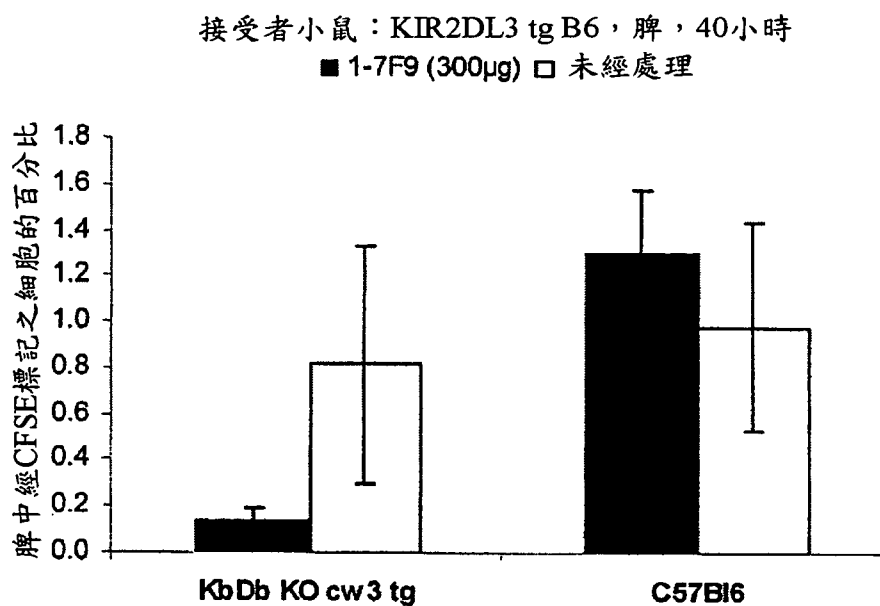


圖1B

注射300 μ g 1-7F9 mAb之KIR2DL3tg B6小鼠
體內KbDb^{-/-} cw3 ConA母細胞的排斥反應

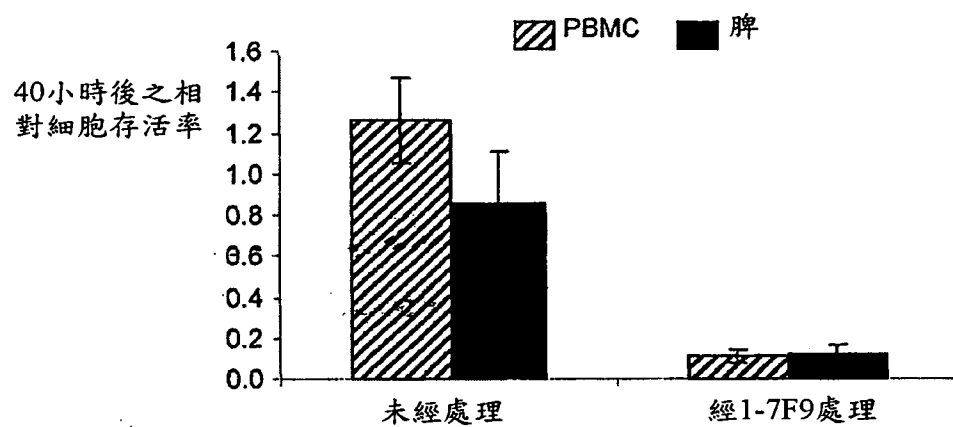


圖2