

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-179371

(P2005-179371A)

(43) 公開日 平成17年7月7日(2005.7.7)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A61K 48/00	A61K 48/00	2G045
A61K 38/00	A61K 39/39	4B024
A61K 39/39	A61P 3/10	4B063
A61P 3/10	A61P 37/04	4B065
A61P 37/04	C12Q 1/68	4C084
	審査請求 有 請求項の数 22 O L	(全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2005-11425 (P2005-11425)
 (22) 出願日 平成17年1月19日 (2005.1.19)
 (62) 分割の表示 特願平5-503677の分割
 原出願日 平成4年7月28日 (1992.7.28)
 (31) 優先権主張番号 739, 878
 (32) 優先日 平成3年8月2日 (1991.8.2)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 810, 517
 (32) 優先日 平成3年12月19日 (1991.12.19)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 504466041
 デニス・エル・フォストマン
 アメリカ合衆国マサチューセッツ州021
 93, ウェストン, パインクロフト・ロー
 ド 74
 (74) 代理人 100089705
 弁理士 社本 一夫
 (74) 代理人 100076691
 弁理士 増井 忠武
 (74) 代理人 100075270
 弁理士 小林 泰
 (74) 代理人 100080137
 弁理士 千葉 昭男
 (74) 代理人 100096013
 弁理士 富田 博行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 自己免疫疾患の診断および治療

(57) 【要約】

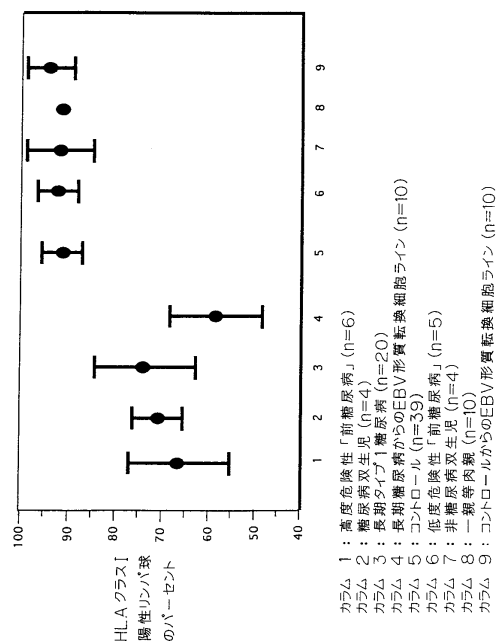
【課題】

欠陥のあるMHCクラスI抗原提示に関連する自己免疫疾患を治療するための医薬および哺乳類からの生物学上のサンプルを試験することにより該哺乳類が自己免疫疾患を発症する素因を有するか否かを決定する方法を提供する。

【解決手段】

欠陥のあるMHCクラスI抗原の提示に関連する自己免疫疾患を治療するための医薬であって、当該医薬はMHCクラスIの抗原提示を呈する細胞を含み、但し、上記MHCクラスIの抗原の提示が上記抗原に対する寛容を誘発できる複合体を提供する、上記医薬。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

欠陥のある M H C クラス I 抗原提示に関連する自己免疫疾患を治療するための医薬であって、但し、当該医薬は、M H C クラス I 遺伝子内の欠損または欠失あるいは M H C クラス I との複合のための自己抗原のプロセッシングまたは輸送に関与するかまたは提示のための細胞表面に対する複合体をプロセッシングすることに関与するタンパク質をコードする遺伝子の欠損または欠失を有する細胞を含み、欠損したかまたは欠失した該タンパク質の機能性タンパク質置換体をコードする遺伝子で細胞がトランスフェクトされていることにより機能性タンパク質がトランスフェクト細胞中で発現されるようになっており、そして上記トランスフェクト細胞が M H C クラス I との複合のための自己抗原をプロセスするかまたは輸送して、細胞表面上での上記抗原の提示のための複合体をプロセスすることにより、該複合体が上記抗原に寛容性を誘発することができるような、上記医薬。

10

【請求項 2】

上記遺伝子が A T P 依存性輸送タンパク質をコードすることをさらに特徴とする、請求項 1 記載の医薬。

【請求項 3】

上記遺伝子が、R I N G 3 , R I N G 4 , H A M 1 , M t p 1 , H A M 2 , または M A P 2 をコードすることをさらに特徴とする、請求項 2 記載の医薬。

【請求項 4】

上記遺伝子がプロテオゾームをコードすることをさらに特徴とする、請求項 1 記載の医薬

20

【請求項 5】

上記欠損または欠失がクラス I 遺伝子中である、請求項 1 記載の医薬。

【請求項 6】

照射されている、請求項 1 ないし 5 の何れか 1 項記載の医薬。

【請求項 7】

哺乳類の自己免疫疾患の治療用の医薬を製造するために使用される、請求項 1 記載の医薬

【請求項 8】

欠陥のある M H C クラス I 抗原の提示に関連する自己免疫疾患を治療するための医薬であって、当該医薬は M H C クラス I の抗原提示を呈する細胞を含み、但し、上記 M H C クラス I の抗原の提示が上記抗原に対する寛容を誘発できる複合体を提供する、上記医薬。

30

【請求項 9】

自己抗原ペプチドとは会合しない M H C クラス I 分子の不完全な表面発現を示す哺乳類細胞の表面上で M H C クラス I 分子を安定化させるためのインビトロの方法であって、上記細胞を、上記細胞により発現される M H C クラス I 分子と安定な複合体を形成する自己抗原ペプチドとインビトロにおいてインキュベートすることからなり、該複合体が自己抗原ペプチドに寛容を誘発できる、上記方法。

【請求項 10】

欠陥のある M H C クラス I 抗原提示に関連する自己免疫疾患を治療するための医薬であって、自己免疫疾患患者の細胞との接触に際し、クラス I を安定化して、上記抗原に寛容を誘発できる M H C クラス I 自己抗原複合体の形態で哺乳類の免疫系に対して上記抗原を提示するのに有効な自己抗原を含む、上記医薬。

40

【請求項 11】

自己抗原が 6 から 18 のアミノ酸のペプチドであることをさらに特徴とする、請求項 10 記載の医薬。

【請求項 12】

哺乳類からの生物学上のサンプルを試験することにより該哺乳類が自己免疫疾患を発症する素因を有するか否かを決定する方法であって、M H C クラス I 分子をコードする遺伝子、または M H C クラス I との複合のための小胞体への内在性タンパク質のプロセッシングま

50

たは輸送に關与するタンパク質、または細胞表面へのMHCクラスI自己抗原提示に必要なタンパク質に、欠損または欠失が存在するか否かにつき、上記哺乳類から得たサンプルをインビトロにて決定することからなり、MHCクラスI抗原提示に欠陥があると、欠陥のあるMHCクラスI抗原提示が素因の指標となる、上記方法。

【請求項13】

遺伝子がATP依存性輸送タンパク質をコードすることをさらに特徴とする、請求項12記載の方法。

【請求項14】

遺伝子が、RING 3, RING 4, HAM 1, Mtp 1, HAM 2, またはMAP 2をコードすることをさらに特徴とする、請求項12記載の方法。

10

【請求項15】

遺伝子がプロテオソームをコードすることをさらに特徴とする、請求項12記載の方法。

【請求項16】

上記決定の工程が、ウエスタンブロット分析、ノーザンブロット分析、RELP分析、及び上記細胞の細胞表面タンパク質の表現型の何れか一つにより実施されることをさらに特徴とする、請求項12記載の方法。

【請求項17】

欠陥のあるMHCクラスI抗原提示に關連する自己免疫疾患を治療するための医薬であって、当該医薬はMHCクラスI自己抗原複合体を含み、当該MHCクラスI自己抗原複合体は抗原を提示する、上記医薬。

20

【請求項18】

自己抗原が6から18のアミノ酸のペプチドであることをさらに特徴とする、請求項17記載の医薬。

【請求項19】

欠陥のあるMHCクラスI抗原提示に關連する自己免疫疾患を治療するための医薬であって、MHCクラスI抗原提示を刺激する物質を含む、上記医薬。

【請求項20】

上記物質がベータインターフェロン、ガンマインターフェロン、インターロイキン、及びトキシソイドからなる群から選択される、請求項19記載の医薬。

【請求項21】

上記物質が百日咳トキシソイド、腫瘍壊死因子、及びジフテリアトキシソイドからなる群から選択される、請求項20記載の医薬。

30

【請求項22】

上記物質がMHCクラスI抗原提示を刺激するウイルス又はバクテリアである、請求項20記載の医薬。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

本発明はタイプI糖尿病のような自己免疫疾患の試験および治療に關する。本発明は、本発明者がタイプI糖尿病と主要組織適合性複合体(MHC)クラスI分子(別名は本明細書中で呼ぶHLAクラスI分子)との関連を見いだしたことによりなされた。

40

【0002】

T-リンパ球は、HLAの結合溝中で自己タンパク質と外来タンパク質を識別し、HLAに支配される免疫応答を生じる。HLAクラスIが結合したペプチドは、CD8+サブレッサーもしくは細胞障害性T-細胞により認識されるが、HLAクラスIIに結合したペプチドはCD4+ヘルパーT-細胞に認識される。細胞外コンパートメント中のペプチドは、エンドサイトーシスにより抗原提示細胞に取り込まれ、次いでHLAクラスI複合体と一緒にになったペプチドとして提示される。対照的に、内部で合成された抗原(おそらく「自己ペプチド」として合成される)は、小胞体中に輸送され、そこで優先的にHLAクラスIに結合する。HLAクラスIの発現は通常全ての細胞に普遍的に存在する。最近、

50

一連の実験により、原形質タンパク質を小胞体に輸送する過程に關与する経膜輸送遺伝子 (transmembrane transporter genes) が突き止められ、マッピング研究により、クロモソームにおけるそれらの遺伝子の存在部位はHLAクラスII領域であることが判明した。これらのペプチド供給因子遺伝子 (ATP依存性輸送タンパク質コード遺伝子としても知られている)、特にRING 4, HAM 1, Mtp 1, HAM 2, Mtp 2およびY3は、多剤耐性ファミリーの輸送因子のメンバーであり、種間で高度に保存されている。それらの同定は、内在性のペプチド輸送遺伝子内の削除により、表面HLAクラスIを欠失させた (即ち、HLAクラスIを提示しない) 誘導変異細胞ラインのシリーズにより可能であった。

【0003】

タイプI糖尿病は、ランゲルハンス氏島内のベータ細胞がT-細胞の介在により破壊され、種々の自己ペプチドに対する免疫応答を伴うことを特徴とする自己免疫疾患である。自己反応性のメカニズム、および既に突き止められていたこの病気とHLAクラスII遺伝子との関連に関して種々の提案がなされている。

【0004】

タイプI糖尿病の危険をもつヒトの同定は、高血糖症に何年も先立って、異常な自己抗体が、インシュリン、島細胞、グルタミン酸デカルボキシラーゼ、並びに他の多くの自己タンパク質に対して出現することにより可能である。自己抗体のパターンは、最終的な病気の移行および/または危険性を予知する。「前糖尿病」並びに一致しないタイプI糖尿病の一卵性双生児についての最近の分析は、自己抗原の異常な自己提示に支配されたT-細胞の発生上の欠陥を明らかにし、これは病気の進行を予測するものであった。

【発明の開示】

【0005】

発明の概要

本発明者は、ヒトおよびマウスにおけるタイプI糖尿病および他の自己免疫疾患は抗原提示の異常を伴うHLAクラスI分子の誤った発現を伴うことを見いだした。糖尿病のT-細胞は自己抗原に対してあたかも外来抗原であるかのごとく応答し、欠陥的自己寛容の発生を介在する。本発明者は、この欠陥はベータ細胞の自己免疫に存在すると提唱する (マウスにおいてベータミクログロブリン遺伝子を削除してHLAクラスI発現を阻止すると、リンパ球介在インシュリン炎のために高血糖症をひきおこすとしてもである)。本発明者の証拠によると、ヒトタイプI糖尿病におけるHLAクラスIの異常に低い発現は、クラスI分子との複合体形成により細胞表面上にタンパク質またはそのペプチドフラグメントを提示することに関与する一つもしくはそれ以上のタンパク質の変異遺伝子のためである。自己免疫疾患患者が寛容を誘導するために自己抗原を適切に提示しえないこの異常は、例えば、一もしくはそれ以上のペプチド輸送遺伝子中のクラスI遺伝子の変異、または自己タンパク質を細胞表面に輸送して複合体を形成させてHLAクラスIとともに提示するために、該自己タンパク質を切断 (「プロセッシング」) する役割をもつプロテオゾームの一もしくはそれ以上の遺伝子中の、クラスI遺伝子の変異による可能性がある。

【0006】

この発見は異常なHLAクラスI提示にもとづいた、自己免疫疾患の新規診断法の基礎を提供し、さらに、任意のタンパク質抗原に対する寛容を誘導する新規方法を提供し、これらの方法は全て該抗原をHLAクラスIに結合した抗原を投与することを基本とする。

【0007】

従って、本発明は第一の観点において、哺乳類、例えばヒト患者を、自己免疫疾患をひきおこす素因について試験する方法を提供し、該方法は該哺乳類の細胞、例えばBリンパ球上に提示されたHLAクラスIを測定して、発現レベルの低下をそのような素因の指標とすることからなる。自己免疫疾患は、好ましくはタイプI糖尿病であるが、しかし全身性紅斑性狼瘡 (SLE)、関節リウマチ、グレーブズ病、上皮小体機能低下症、甲状腺機能低下症、多発性硬化症、アジソン病、小児脂肪便症 (Celiac disease)、シッカ・シンドローム (Sicca syndrome)、アジソンズ重症筋無力症、特発性マントレニアス腎症 (Id

10

20

30

40

50

iopathic mantraneous nephropathy)、視神経炎、グッドパスチャーズ・シンドローム、天疱瘡、橋本甲状腺炎、悪性貧血、または強直性脊椎炎であってもよい。

【0008】

関連する観点において、本発明は哺乳類が自己免疫疾患を生じる素因を調べる方法を提供し、該方法は最初に該哺乳類から生物学的サンプルを得、次いで該サンプルについて、遺伝子の欠失または削除が存在するかの有無を調べることによりなり、そのような遺伝子がコードするものは、クラスIの成分または内在性タンパク質を小胞体に輸送もしくは加工してHLAクラスIを提示する過程に参与するタンパク質、またはクラスIの提示に必要な他の工程のいずれかに参与するタンパク質である。この方法の好ましい態様においては該哺乳類はヒトの胎児であり、そして該タンパク質はATP依存性輸送タンパク質(即ち、ペプチド供給因子タンパク質)またはプロテオソーム(proteosome)もしくはその成分である。欠損または削除遺伝子の測定は、任意の慣用手段で行うことができ、例えば、ウエスタンブロット分析、mRNAのノーザンブロット分析、細胞表面タンパク質のフェノタイプ決定、または制限酵素処理フラグメントの長さの多様性の分析(restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis)、またはポリメラーゼ・チェーン・リアクション(PCR)で行うことができる。

10

【0009】

本発明はまた、哺乳類、例えばヒト患者を治療して、自己免疫疾患の発生を抑制する方法の基礎も提供する;好ましくはそのような治療を初期段階の、最も容易に寛容状態を誘導できる時に実施する。この方法は哺乳類の血液循環細胞上に提示される自己抗原と複合体を形成するHLAクラスIの量を増加させることを含む。このことを達成する一つの方法は、哺乳類の循環細胞上に提示されるHLAクラスIの量を増加させることである。このHLAクラスIと複合体を形成した自己抗原の提示の増大は、該哺乳類の細胞上に適切な自己抗原の提示を可能とし、自己寛容を増加させそして自己免疫疾患を発生する傾向を減少させる。このようなHLAクラスIの提示の増大は種々の方法で達成できる。一つの好ましい態様においては、哺乳類をHLAクラスIを内在性タンパク質もしくはそのフラグメントと結合して提示させる細胞で処理することである。そのような細胞は自己細胞、例えば、患者のリンパ球(例えばB細胞またはマクロファージ)をDNAで形質転換したものであって、該DNAは一つもしくはそれ以上のタンパク質をコードするもので、該タンパク質は内在性タンパク質がHLAクラスI提示のために小胞体に加工もしくは輸送されることに参与するものまたは該複合体がうまく細胞表面に移動するための加工もしくは輸送に参与するものであってよく;そのようなタンパク質は好ましくは次のものを含むATP依存性輸送タンパク質:RING 3, RING 4, RING 11, HAM 1, HAM 2, Mtp 1, Mtp 2またはY3(これら輸送タンパク質の命名は種間により異なり、しかもいまだ全世界的に合意されていない;種間で命名が異なるものの、これまでの証拠はこれらのタンパク質の種間のホモロジーは極めて高い)、または内在性ペプチドをプロセシングする役を有する切断タンパク質(プロテオソーム複合体)である。プロテオソーム複合体は大型(分子量約250,000)の、酵素活性フラグメントの集合であり、自己タンパク質をプロセシングし、一般に長さ約6ないし14アミノ酸の断片に切断して、それらが小胞体内に入ってクラスIとの複合のための表面に輸送されるようにする。プロテオソーム遺伝子はHLAクラスIIに関連し、Kellyら(1991) Nature, 頁__に記載されている。別の例では、細胞は免疫刺激剤でクラスIの発現を増大するように刺激されたものでよい。

20

30

40

【0010】

HLAクラスIの患者循環細胞上への提示量を増大させるたの方法は、該患者または該患者の培養中の細胞にHLAクラスI発現を刺激する物質を投与することである;そのような物質には、インターフェロン、例えばベータおよびガンマインターフェロン、インターロイキン、およびトキソイド、例えばジフテリアのトキソイド、腫瘍壊死因子、BCG、および百日咳トキソイドが含まれる。採用できる他の方法は、HLAクラスIの提示を刺激するウイルスまたはバクテリアによる感染である。

50

【0011】

H L AクラスIの提示を患者細胞に増大させる他の方法は、他のヒト(好ましくはタイプが適合するヒト)からH L AクラスIを提示する細胞を得、該細胞を患者に投与することである。別の方法は、哺乳類に細胞表面上でクラスIと複合体を形成する自己抗原もしくはそのフラグメントを投与して、クラスIを安定化させ、かつ該哺乳類の免疫系に抗原を提供することである。好ましくは、抗原はタンパク質のペプチドフラグメントであり；好ましくは、該ペプチドの長さは6ないし14アミノ酸であり、この長さ範囲のペプチドフラグメントがクラスIと複合体を形成することが知られている。ペプチドは経口もしくは静注により投与してもよく、または哺乳類からの細胞をペプチドとインキュベートして、それから哺乳類に再注入してもよい。

10

【0012】

自己寛容の誘導におけるクラスIの役割の発見は、任意のタンパク質に対して、それが自己のものであれ、外来性のものであれ、患者の寛容の減少を生じることができる；寛容の誘導は、寛容を誘導すべきタンパク質がH L AクラスIと結合して提示されている細胞または抗原-クラスI複合体自体を患者に投与することにより達成される。この方法は、例えば患者が、例えば他の患者もしくは他の種からの心臓もしくは腎臓のようなアログラフトの受容者である場合に利用できる。採用できる一つの方法はH L AクラスIの提示されている細胞(好ましくは患者のB細胞のような自己細胞)を、寛容を誘導させるべきタンパク質をコードするDNAでトランスフェクトし、次いでこの細胞を患者に導入して、該タンパク質のH L AクラスIとの提示により自己寛容を誘導させることである。

20

【0013】

本発明の他の態様および利点は、好ましい態様の説明および請求の範囲の記載から明らかであろう。

詳細な説明

最初に図面の説明を行う。

図面

図1は糖尿病およびコントロール個体からのリンパ球上のH L AクラスIの比較を示すグラフである。

【0014】

図2はN O Dマウス(糖尿病のモデル)がH L AクラスI抗原の提示が顕著に減少した脾臓細胞を有することを示すグラフのセットである。

30

図3は₂マイクログロブリン欠乏マウスの島がリンパ球浸潤を生じていることを示す顕微鏡写真である。

【0015】

図4はF A C Sで得られたグラフのセットであり、正常および糖尿病マウスのリンパ球と、C D 4 5アイソフォームに対する抗体との反応性を示す。

図5は、糖尿病リンパ球がヒトコントロールの正常な発現に比較して、R I N G 4 A T P依存性輸送タンパク質の発現を欠失していることを示すノーザンプロットである。

【0016】

図6は、N O Dマウスのサザンプロットであり、正常および糖尿病患者からのリンパ球のA T P依存性輸送タンパク質をコードするDNAを比較している。図は糖尿病動物でのR I N G 4の大幅な削除を明確に示している。

40

【0017】

図7は、種々の自己免疫疾患を有する患者から採取した細胞上のクラスIの減少した発現を示す棒グラフである。

【実施例】

【0018】

最初に、前糖尿病および糖尿病のマウスおよびヒトのH L AクラスI発現が減少していることを証明する実験を記載する。

前糖尿病及び糖尿病のN O Dマウス及びヒトにおけるH L AクラスI発現減少

50

H L A クラス I 特異的モノクローナル抗体 (W 6 / 3 2) を用いた細胞表面フェノタイプ分析を利用して、インシュリンおよび島の両者に対する自己抗体を血清中に含む 6 人の危険性の高い前糖尿病者 ; 4 名の糖尿病双子 ; および 20 名の長期糖尿病患者 ; からの末梢血リンパ球を、H L A クラス I 発現に関してアッセイした。免疫蛍光分析のためのヒトリンパ球はフィコール勾配を用いた標準的技術で調製した。フローサイトメトリー (F A C S) は、赤血球および屑を排除し T 細胞、B 細胞およびマクロファージのみを含むようにセットしたゲートを用いて行った。H L A クラス I 発現は、長期のタイプ I 糖尿病患者および他のグループの何人かの患者から採取してエプシュタイン - バールウイルスで形質転換した 10 株の B 細胞においても測定した。

【 0 0 1 9 】

10

図 1 を参照すると、6 例の高度危険性糖尿病の全て、4 名の糖尿病双生児、および 20 名の長期糖尿病患者のうち 19 名において、H L A クラス I 発現は有意に減少しており、そして長期糖尿病からの E B V 形質転換した B 細胞株の全 10 株においても減少していた。

【 0 0 2 0 】

これと著しく対照的に、危険性の低い前糖尿病 (即ち、インシュリンに対する自己抗体を有するが、島に対する自己抗体を有しない者)、4 名の非糖尿病不一致タイプ I 糖尿病 I 双生児、10 名の一親等縁者、39 名のコントロール個体、および正常個体からの E B V 形質転換細胞 10 株では、正常レベルの H L A クラス I 抗原の発現を示し、そのレベルは他の群に比べて有意に高かった。双生児の結果は、クラス I の表面への発現は遺伝子型 (ジェノタイプ) とは独立している可能性を示す。

20

【 0 0 2 1 】

N O D マウスはタイプ I 糖尿病の十分に確立されたモデルであり、明らかな高血糖の数週間前にインシュリンおよび/または島細胞に対する自己抗体の似たような生産、ならびに島破壊の前に島を取り囲む慢性的リンパ球浸潤を生じる。N O D マウスの H L A クラス I ハプロタイプ (H - 2 座) は H - 2 k^d および H - 2 D^b である。前糖尿病 N O D の脾細胞をフローサイトメトリーで分析した。脾臓細胞は、明らかな高血糖の 6 および 20 週間前にテストした。図 2 を参照すると、10 匹の N O D マウスにおいて脾臓細胞の 6 ± 2.3% が H - 2 k^d モノクローナル抗体クローン (31-3-45) と結合し、これと比較して陽性コントロールの B A L B / c マウスからの陽性脾臓細胞は 88 ± 15.8% であった。H - 2 k^d に関する平均抗原密度も、N O D の脾臓細胞において B A L B / c 脾臓細胞に比べて有意に減少していた (P=0.001)。N O D の脾臓細胞上で、H - 2 D^b 発現の同様な減少も存在した。H - 2 D^b に対する H141-31 モノクローナル抗体を用いて、N O D 脾臓細胞の 52 ± 15% が陽性であり、これと比較して C 5 7 B L / 6 マウス (H - 2^b) (n ± 10) からの陽性脾臓細胞は 94 ± 5.6% であった。H - 2^d ハプロタイプ B A L B / c マウス (n=10) は、この H - 2 D^b に対する抗体を用いて 38 ± 7.8% 陽性であり、N O D 脾臓細胞もまた、この H L A クラス I 抗原の発現が激しく減少していることを示した。従って、ヒトおよびマウスの両者共に H L A クラス I 発現の減少が、N O D マウスの脾臓細胞および糖尿病ヒトの末梢血リンパ球において観察された。

30

他の自己免疫疾患における H L A クラス I 発現の減少

H L A クラス I 特異的モノクローナル抗体を用いた上記作業を、次の自己免疫疾患患者からの末梢血リンパ球に対して行った: シェーグレン症候群; 関節リウマチ; タイプ I 多内分泌異常 (type I polyendocrine failure); 多発性硬化症; S L E ; 甲状腺機能低下症; 橋本病およびグレーブズ病。非自己免疫性タイプ II 糖尿病患者の M H C クラス I の発現が正常であったことと対照的に、自己免疫疾患患者から得たリンパ球では、全ての場合にクラス I 発現の減少が認められた。

40

自己免疫性タイプ I 糖尿病に対して in vivo での H L A クラス I 発現の人工的阻止は十分である

次に以下の実験を行って、H L A クラス I 発現の欠陥自体がタイプ I 糖尿病を生じること調べた。

【 0 0 2 2 】

50

β_2 -ミクログロブリン欠損に関して同型接合体であるマウスは、検出可能な β_2 -ミクログロブリンを発現せず、さらにその細胞表面にH-2K主要組織適合性抗原を殆ど完全に欠失しており、H-2D主要系臓適合性抗原を一部欠失している。年齢1年を越えた10匹のマウスの高血糖症および体重を調べた。いずれも1.5年以上の年齢の10匹の同型接合体性欠失マウスは高血糖を有し、さらに同じ年齢の正常同腹子と比べて体重が有意に少なかった(表1)。

【0023】

【表1】

表1

10

β_2 -ミクログロブリン欠損によりHLAクラスIを欠失したマウスの血糖値と体重

代々の遺伝子型			
-/-		+/-	
血糖値 (mg%)	体重 (グラム)	血糖値 (mg%)	体重 (グラム)
239	22	92	37
410	18	81	42
333	16	76	31
375	24	65	31
396	27	62	35
401	18	71	41
339	21	80	32
368	21	82	38
347	26	77	37
397	26	79	49

20

30

平均±S. D.

360±50 21.9±3.8 79±8.73 37.3±5.6

(+/+マウスは糖尿病ではなく正常な血糖値と体重を有する)

40

【0024】

ヘマトキシリンおよびエオシン染色を用いて、 β_2 ミクログロブリン欠失に関して同型接合体であるマウスの一匹の島細胞に対して組織学検査を行った。図3は、糖尿病のマウスおよびヒトの場合に典型的に見られるとおり、島がCD4+リンパ球浸潤で取り囲まれていることを示す。解剖時において、このマウスは血糖値が345mg%に増大し、そして残存する少ない島はリンパ球の巣に隠れていた。

【0025】

糖尿病マウスからの血清のテストは、リンパ球の浸潤を明らかにし、この病気の自己免疫的メカニズムのさらなる証拠を提供した。さらに、これらのホモロガスな組換えマウスはCD8細胞を有しないので、この新規自己免疫モデルは島の破壊がCD8細胞なしに行

50

われる可能があり、従ってCD4もしくはナチュラルキラー細胞の介在による島の攻撃が中心的そして恐らく独占的役割を有することを示唆している。血糖値の上昇開始はNODマウスにおける高血糖よりも遅い時点の1年経過後に生じるようであるが、このデータは自己に対する寛容の確立に関するHLAクラスIの機能的な重要性を明らかにしている；しかも、HLAクラスI上の自己ペプチドの提示の全般的欠陥の存在は、臨床的に検出可能な自己免疫の非常に中心的形態であるタイプI糖尿病の出現に十分である。

HLAクラスIの低下はin vitroにおける自己に対する細胞障害性と関連を有する：不一致タイプI糖尿病双生児によるレッスン

糖尿病細胞上に減少して発現されるHLAクラスI分子の表現型が、内在性抗原を提示する機能の点で正常であるかまたは障害をもっているかを調べるため、次の実験を行った。従来、非糖尿病の一卵性双生児のマクロファージおよびB細胞を先天性糖尿病双生児からのT細胞と一緒に培養すると、自己成分を用いて行った同様のインキュベーション(即ち、オートロガス・ミクスト・リンホサイト・リアクション:AMLR)と比べて、増殖の増大を生じることが知られていた。対照的に、糖尿病双生児の非T細胞による非糖尿病双生児T細胞への刺激の誘発は、非糖尿病者の抗原提示細胞による刺激より少なかった。さらに、HLAが同一である非糖尿病双生児からの刺激因子による糖尿病双生児T細胞の増殖は、上記の糖尿病者の抑制されたAMLRを実質的に上回り、そしてコントロールT細胞の自己への増殖も若干上回ることも知られていた。

【0026】

上記観察を、自己免疫におけるHLAクラスIの役割の発見と一致させる説明は、上記において非糖尿病者の抗原提示細胞と糖尿病者のT細胞との間で観察されたいくぶん過剰応答的しかし「同系の」ミクスト・リンホサイト・リアクションは、それまで認識されなかった内在性ペプチドの適切な提示が、非糖尿病者の刺激細胞上でHLAクラスIにより提示されたことによって、該リアクション(MLR)中において実際にアロ抗原応答が弱められたことを示しているということである。従って、糖尿病双生児T細胞は、正常に提示された非糖尿病双生児ペプチドを、以前の暴露および寛容誘導がなかったため、初めて外来性のものであるとして認識したのであろう。

【0027】

AMLRでは観察されないMLRの特徴的結果は、細胞障害性エフェクター細胞の発生である。非糖尿病抗原提示細胞と糖尿病T細胞の間の同系MLRが、細胞障害性エフェクター細胞を発生させたか否かを調べるため、次のアッセイを行った。糖尿病不一致双生児対の間で、刺激細胞を交換したAMLRを設定した。代表的アッセイを表2に示す。AMLR増殖を7日行った後、応答しているT細胞を収穫し、クロム標識した自己および双生児標的に対して自己反応性である可能性のあるT細胞として用い、第二の細胞障害性Tリンパ球アッセイを行った。表2は、非糖尿病双生児刺激因子に対するAMLRにおいて、過剰増殖した糖尿病双生児T細胞が、「同系」双生児標的は溶解したが自己標的は溶解しなかったことを示す。予想したとおり、糖尿病双生児T細胞は糖尿病標的に対する自己細胞障害性を生産できず、そして自己刺激した非糖尿病双生児T細胞は自己を溶解しなかった。これらの結果は、以前に観察された、照射された非糖尿病双生児刺激因子と一緒に培養したときの、糖尿病双生児T細胞の過剰増殖は、それまで認識されなかった自己ペプチドの提示に対して二次的に生じることを示唆している。最も重要なことは、ポリクローン性のHLAクラスI抗体により標的HLAクラスIを遮蔽すると自己CTL生産を阻止できたことで、このことは糖尿病双生児T細胞の障害性はHLAクラスIエピトープに対して示唆していることを示唆する。対照的に、コントロールCTLアッセイはこのポリクローン性の抗体により有意に阻止されなかった。これらのデータは、糖尿病双生児T細胞に自己抗原に対する自己反応性が存在し、HLAクラスI陽性の自己細胞上に正しく提示された自己ペプチドとの関係で説明されたことを示している。

【0028】

【表 2】

表 2

A M L R アッセイ		標的からの特異的 C r 放出%				
応答側	刺激側	標的	エフェクターと標的細胞の比率			
T細胞	非 T細胞		1:1	5:1	10:1	40:1
H L A クラス I 抗体による標的細胞の処理						
B. 糖尿病双子	非糖尿病双子	非糖尿病双子	1.3±0.1	2.9±0.6	4.2±1.7	17.1±1.2

10

20

【 0 0 2 9 】

糖尿病および非糖尿病双生児 T 細胞は、自己または一卵性双生児からの同系照射非 T 細胞と 1 : 1 の比率で既に報告されたようにして (#978) 7 日間刺激した。7 日目に、A M L R で応答した T 細胞をフィコール上に収穫して、C T L アッセイを行った。標的リンパ球は、ドナーからの凍結リンパ球をアッセイの 24 時間前に解凍したものをを用いた。標的の標識は、 1×10^6 細胞あたり $50-150 \mu C i$ の濃度の $^{51} C r$ の $N a_2 C r O_4$ で、緩やかに振とうしながら、37 で 1 時間行った。標的細胞を 2 回穏やかに洗浄してから、同系の刺激された T 細胞と上記比率で、10 時間一緒に培養した。アッセイの最後に培養上清 100 ラムダを採取してガンマ線カウンターでカウントした。上記の実験は 3 連で行った。B 部においては、標的細胞を 1 : 100 希釈の無菌のポリクロームマウス抗ヒト H L A クラス I 血清 (#978) で、室温にて 30 分間処理し、洗浄し、そして培養プレートに添加して細胞障害性アッセイを行った。

30

糖尿病における欠失 T 細胞発生は、H L A クラス I 発現および内在性ペプチドの提示の変化の二次的結果である

糖尿病のヒトにおいては、T 細胞発生の欠陥があり、糖尿病リンパ球は C D 4 5、L F A - 3、L F A - 1、I C A M、C D 2 等の多くの表面マーカーを低い平均抗原密度で発現したリンパ球の数を不釣り合いに増加して発現し、明るい蛍光を発する細胞の正常な第二ピークの欠失もしくは減少をもたらすことが報告されている。ヒトにおいては、暗いピークのリンパ球様細胞の亜集団は、共通してナイーブ細胞もしくはサプレッサーインデューサー細胞とよばれ、これに対して明るく蛍光を発する細胞はメモリー細胞もしくはヘルパーインデューサー細胞と呼ばれている。より最近明らかにされたところでは、糖尿病において暗い細胞が明るい細胞より増加することは、病気の程度を示すだけでなく、自己免疫発生にともないナイーブ細胞からメモリー T 細胞への正常な転移が阻止されたことに付随するものであることが明らかになった。

40

【 0 0 3 0 】

最近、異なる C D 4 5 のアイソフォームを識別するネズミモノクローナル抗体により、マウス白血球共通抗原が規定された。抗体 C D 4 5 R - 1 (Y C D 4 5 R - 1) は、エクソン A およびエクソン B を含むがエクソン C は含まない C D 4 5 の高分子量アイソフォー

50

ムに特異的である。C D 4 5 R - 1で染めたマウスの正常B A L B / cの末梢血リンパ球は発現の不均一さ (heterogeneity) を示し、予測された蛍光強度の2モード性分布(暗いピークと明るいピーク)を生じる(図4 A)。これと明らかに対照的に、N O Dの末梢血からのリンパ球は、殆ど全く高密度のC D 4 5 Rを含んでいない。H L AクラスIの発現を欠いている₂-ミクログロブリン欠損マウスは、専ら低密度のC D 4 5 R集団を発現し、従って、H L AクラスIの提示がリンパ球の成熟に中心的役割を有することを示唆している(図4 C)。さらに、N O DマウスおよびH L AクラスI₂-ミクログロブリン欠損マウスの分析は、全ての末梢血リンパ球に関してI C A Mおよび他の二つのC D 4 5抗体による高密度ピークを欠いていることを明らかにし、従って、適切に提示されたH L AクラスIが末梢血リンパ球の発達を促す可能性のあるリガンドとして、中心的役割をもつことが示唆された。

10

A T P依存性輸送タンパク質をコードするm R N Aのアッセイ

図5を参照すると、標準的m R N Aのノーザンプロットアッセイを行って、A T P依存性輸送タンパク質の一つ、R I N G 4の発現を、ヒト腫瘍細胞ライン、長期間糖尿病からの末梢血リンパ球、および正常コントロールについて検出した。ヒト腫瘍細胞ラインにおいて、多量のm R N Aが検出された(レーン1)。長期糖尿病の末梢血リンパ球中のR I N G 4 m R N Aは、有意に欠損していた(レーン2, 3, 5および6)。正常コントロール個体からのリンパ球中には、R I N G 4 m R N Aは存在した(レーン4)。

R F L P分析

図6を参照すると、R I N G 4 D N Aをプローブとして、N O DマウスD N AについてR F L P分析を実施し、結果をB A L B / cおよびC 5 7 B L / 6コントロールD N Aと比較した。N O D (H - 2 K^d I - A^d)、B A L B / c (H - 2^d)およびC 5 7 B L / 6 (H - 2^b)マウスから調製した脾細胞からのD N Aを、種々の酵素で切断し、レーンあたり5 μ gのD N Aをアガロースゲルにのせた。サザン転写を行い、遺伝子のスクリーニングとR I N G 4によるフィルターの探査(プロービング)を行った。レーン1、2、3、4、5、6、7のD N Aは泳動した(レーン8のD N Aはアガロースゲル中で適切に泳動せず、ゲル上端の溝に止まった)。レーン1、4および7はB A L B / cを；レーン2および5はC 5 7 B L / 6を；そしてレーン3、6および9はN O Dを示す。写真により、レーン1、2、3または4、6、7において、B s t E I IまたはB a m H Iにより、同じようにプローブされたバンドが観察された。レーン9はN O DのA T P依存性輸送因子の大幅な削除を示し、即ち、レーン7のB A L B / c D N Aに比べると、X b a Iで切断したN O D D N Aのレーン9においてプローブされたバンドのサイズは有意に小さかった。

20

30

治療

上記のとおり、本発明の発見は自己免疫疾患の治療を可能にし、特定のタンパク質抗原に対する寛容が望まれる治療、例えば、同種移植拒絶反応の防止を可能にする。これらの治療のあるものをさらに詳細に説明する。

遺伝子治療

患者が、自己抗原のクラスIとの複合体形成のための輸送もしくは加工またはそのような複合体(M H CクラスI；内在性ペプチドおよびベータ2ミクログロブリン)の細胞表面への成功的加工に関与するタンパク質の一つの欠失または削除、またはクラスI遺伝子それ自体の欠失または削除のため、タイプI糖尿病のような自己免疫疾患を患いまたはそのような疾患の傾向を有する場合、治療の一つの様子は細胞を消失もしくは欠失している遺伝子で形質転換し、それらの細胞を患者に再導入することである。それらの細胞の機能的タンパク質は、内在性の細胞質タンパク質を小胞体に加工もしくは輸送して、H L AクラスIと複合体を形成させ、細胞表面に提示させるであろう；これは自己寛容を誘導し自己免疫疾患の発生を抑制するであろう。この治療方法は、理想的には疾患の進行段階の前に実施され、例えば、好ましくはタイプI糖尿病の場合は、抗インシュリン抗体および抗-島抗体を有して危険度が高いが、未だ島細胞の破壊が生じていない患者において、実施される。

40

最初の工程は、失われもしくは欠失した遺伝子を同定することである。一旦、そのような遺伝子の同定が行われたなら、クラス I と複合体を形成した抗原を提示する能力を有する細胞を消失もしくは欠失している遺伝子で、標準的真核細胞のトランスフェクション技術を用いてトランスフェクションする。トランスフェクションされる細胞は好ましくは患者自身の細胞であり、そして好ましくは B 細胞もしくはマクロファージのようなリンパ球細胞であり、これらは抗原を提示する細胞である。B 細胞は永久細胞ラインの出現を避けるために一過的トランスフェクションすることができ、その場合、トランスフェクションされた自己の B 細胞の導入は、B 細胞の死滅に合わせて周期的に、例えば数カ月おきに行う必要がある。その代わりに、患者の B 細胞から不滅細胞ラインを、例えば EBV ウイルスによる感染により製造することができる。そのような細胞は、抗生物質に感受性にして

10

【0032】

他の個体からのリンパ球を、共通的自己抗原に対する寛容誘導のために用いることも可能である。好ましくは、リンパ球は標準的適合性試験を用いて HLA の適合を調べた個体から得られる。リンパ球を提供する個体は、その HLA クラス I 抗原の提示が正常であり、それによりクラス I 提示の欠陥のために患者の細胞上に提示されない該抗原が提供者の細胞上に提示されるものでなければならない。提供者の細胞は血液の精製フラクションとしてまたは全血として提供できる。もし、リンパ球フラクションを使用するなら、 1×10^8 程度の桁の細胞の月毎の注入が、自己寛容を誘導しそしてトランスフェクションもしくは他の自己免疫疾患の発生を防止するために十分であろう。さらに、これらの細胞は注入の前に照射して、移植片対宿主反応を防止しまたはいかなる感染症の感染を防止できる；なぜなら死滅細胞も依然として HLA クラス I 結合裂(binding cleft)中に既に加工された抗原を提示するからである。

20

【0033】

永久的および一時的 B 細胞のトランスフェクションを行う方法の例としては、次のように実施できる。

多剤耐性輸送因子による永久的トランスフェクション

最初のステップは、クラス I 遺伝子、プロテオゾーム遺伝子、または ATP 依存性輸送因子遺伝子の消失若しくは欠陥によって、クラス I を出現させることに欠陥を有するため、自己免疫疾患の素因を有しまたはそのような疾患を患っている患者からの B 細胞またはリンパ球の単離である。そのような患者からの mRNA を分析して、欠損または消失している遺伝子を突き止める。患者から単離した B 細胞を標準的方法により EBV で永久細胞化して、患者細胞を基礎とした腫瘍細胞ラインを得る。そのような細胞ラインの確立および永久化に続いて、抗生物質感受性を与える遺伝子を用いて、細胞を「自殺用」抗生物質に対して感受性になるようトランスフェクションする。

30

【0034】

次に、消失または欠失している輸送遺伝子の発現を可能にするための B 細胞ラインのトランスフェクションは、以下のように実施できる。トランスフェクションは、消失または欠失しているタンパク質をコードする cDNA 分子を用いて実施でき、そのような cDNA は翻訳開始コドンから上流に位置する 72 塩基対を含み、ポリアデニル化部位から 2 塩基対下流で停止する。この cDNA を pcDNA I / NEO (In Vitrogen) のようなベクター内に、サイトメガロウイルスプロモーターおよびエンハンサーによる転写支配下に挿入する。形質転換の 3 ないし 4 週間後、形質転換体を調べて、フローサイトメトリーにより、表面に HLA クラス I 抗原を発現しているものを同定する；このことは例えばヒトの全ての HLA クラス I を認識するモノクローナル抗体例えば W6 / 32 を用いて行うことができる。

40

【0035】

例えば、RSV . 5 [cDNA の転写がラウス肉腫ウイルスの 5' LTR (long-terminal repeat) によって誘導される] のような他の発現ベクターももちろん同様に使用できる

50

。このベクターでは、RSV-5 (DPT) グアニンホスフォリボシルトランスフェラーゼ遺伝子が、ミコフェノール酸に対する耐性を与える。

【0036】

有効なトランスフェクションおよびHLAクラスI抗原の発現に関するスクリーニングの後、患者に再融合させるための、そのような抗原を最大限に発現するサブラインが確立されるであろう。注入、および自己寛容が成立されたとの判断がなされた後、細胞が感受性となった抗生物質を患者に投与して細胞を殺す。

【0037】

上述したトランスフェクション工程は通常の技術であればどのようなものを用いても行うことができる。一般には、上述したどのベクターにおいても、輸送体遺伝子をコードするcDNAの挿入に、HindIIIおよびNotIおよびXbaIなどのフランキングポリリンカー制限酵素切断部位を利用することができる。トランスフェクションはエレクトロポレーション装置 (BIORAD) 用い、1250ボルト、3個のコンデンサー、最小時間および最大減衰時間で行うことができる。細胞を約 5×10^5 細胞/mlの濃度でエレクトロポレーションの前に2日間培養する。続いて、エレクトロポレーション用キュベット中の0.5ml培養液 (RPMI 11640 / 15%胎児ウシ血清) に 5×10^6 細胞/mlの濃度で細胞を懸濁し、氷水バス中に置く。エレクトロポレーション後、細胞を10分間室温で静置し、新鮮な培養液に再懸濁し、多孔プレートに分注する。キュベット当たりのDNA量は3-20 μ gとする。

【0038】

エレクトロポレーションから5日後に、pcDNA1に対してはG418 (Gibco)を、RSV-5に対してはNEOおよびキサンチン(10 μ g/ml)を直接含むミコフェノール酸 (Sigma) を使用して、正しくトランスフェクションされた細胞系の選択を開始する。選択を2週間行った後に、多くのウェルで増殖する薬剤耐性の細胞集団のそれぞれについて調べる。エレクトロポレーションから5週間後に、トランスフェクションされた細胞集団のフローサイトメトリーによる分析を開始する。その後2-3日間、細胞を $3-8 \times 10^5$ 細胞/mlに保ち、常法に従って間接蛍光によって染色する。HLAクラスIを多量に発現している細胞系をサブクローン化し、選択した細胞集団を患者に投与するためにサンプル化した。

【0039】

1×10^6 から 1×10^8 細胞/回の静脈内投与によって患者を弱く免疫化する；受容者由来のT細胞が適切なT細胞の増殖を行っているかについてサンプリングすることによって、自己寛容の再成立をモニターする。適切なT細胞の増殖とは、例えば、CD45またはICAMまたはその他の記憶細胞マーカーの高いピークの再生成、まだ不変的トランスフェクションをされていない自己抗原提示細胞に対する毒性T細胞の欠如をいう。

一過性トランスフェクション

自己寛容の再生成のためのまた別の方法は、新たに単離された、B細胞のような抗原提示細胞に一過性トランスフェクションを施す方法である。既に概要を示したように、新鮮な、ヘパリン処理した血液から新たに単離したB細胞を精製する；各患者から約70ccの血液を採集する。T細胞をロゼット形成させたヒツジ赤血球細胞のロゼット非形成画分からB細胞が得られ、これらのB細胞は、マクロファージを破壊することによって増える。一過性トランスフェクションは、不変的トランスフェクションに用いられる方法と同様に行われるが、より高い用量の細胞(例えば、IVドーズあたり 1×10^7 - 1×10^8 細胞)を同じ患者に直ちに(6時間以内)再融合させる点異なる。細胞は同一の患者由来のものなので外来治療で導入することができる。

ペプチド抗原の投与による治療

先に述べた通り、クラスIの欠陥またはクラスI提示に関与する蛋白質をコードする遺伝子の一つの欠陥が、細胞表面上におけるペプチド抗原の適切な提示を妨げるような場合、治療戦略の一つは該ペプチドを提供することである。そのような治療の第一段階は、クラスIとの複合体として提示されない単数または複数のペプチドを同定することである。これは、通常の技術に従って、患者から細胞、例えば末梢血液リンパ球を単離し、HLA

10

20

30

40

50

クラス I と複合体を形成しているペプチドを該リンパ球から抽出して抽出パターングラフを作成することによって行う。そのような方法については、例えば、Maddenら (1991), Nature, 353: 321; VanBleekら (1990), Nature, 348: 213; および Rudenskyら (1991) Nature, 353: 622に記載されている。

【0040】

次の段階は、この抽出パターンを正常なコントロールと比較し、患者から失われているペプチドを同定することである。コントロールには存在するが患者には存在しないこれらのピークの配列を決定し、標準的な技術に従ってペプチドを合成し、上述したように投与する。

非自己抗原に対する寛容

非自己抗原に対する寛容は、HLAクラス I 抗原提示細胞に寛容が誘導されるべき蛋白質をコードするDNAをトランスフェクションさせ、トランスフェクションされた細胞を患者に投与することによって引き起こすことができる。これによって、自己ペプチドのHLAクラス I 提示の寛容を誘導する経路に、導入された蛋白質が人工的に取り込まれる。細胞は外来性の蛋白質に対して、まるでそれが内因性の蛋白質であるかのようにクラス I 抗原を提示し、該抗原に対する寛容を誘導する。この技術は、同種移植を行う前に同種移植片抗原に対する寛容を誘導して拒絶反応を防ぐのに用いることができる。

【0041】

その他の態様も特許請求の範囲に含まれる。

【図面の簡単な説明】

【0042】

【図1】図1は糖尿病およびコントロール個体からのリンパ球上のHLAクラス I の比較を示すグラフである。

【図2】図2はNODマウス(糖尿病のモデル)がHLAクラス I 抗原の提示が顕著に減少した脾臓細胞を有することを示すグラフのセットである。

【図3】図3は α_2 ミクログロブリン欠乏マウスの島がリンパ球浸潤を生じていることを示す顕微鏡写真である。

【図4】図4はFACSで得られたグラフのセットであり、正常および糖尿病マウスのリンパ球と、CD45アイソフォームに対する抗体との反応性を示す。

【図5】図5は、糖尿病リンパ球がヒトコントロールの正常な発現に比較して、RING 4 ATP依存性輸送タンパク質の発現を欠失していることを示すノーザンブロットである。

【図6】図6は、NODマウスのRFLPサザンブロットであり、正常および糖尿病患者からのリンパ球のATP依存性輸送タンパク質をコードするDNAを比較している。図は糖尿病動物でのRING 4の大幅な削除を明確に示している。

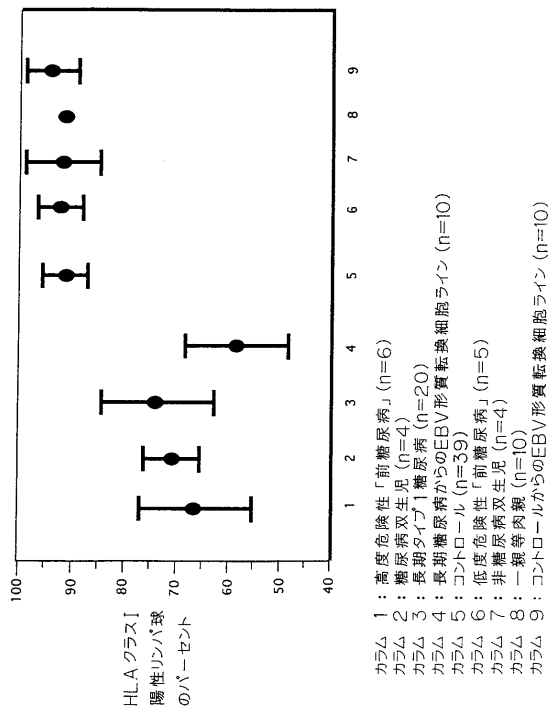
【図7】図7は、種々の自己免疫疾患を有する患者から採取した細胞上のクラス I の減少した発現を示す棒グラフである。

10

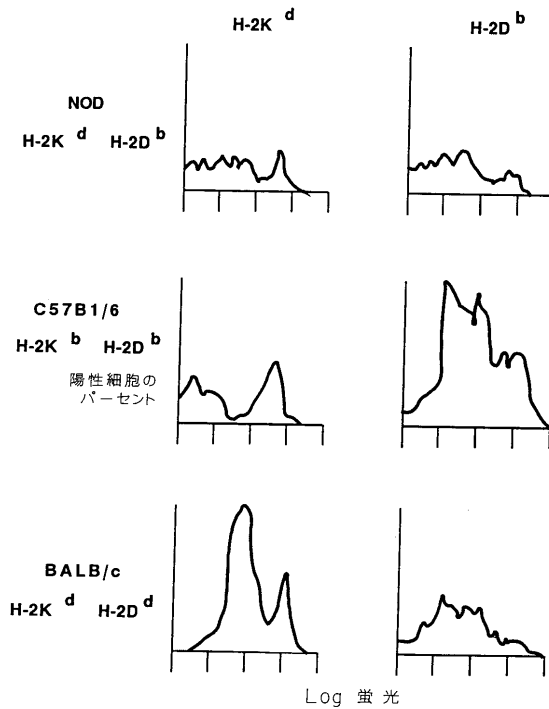
20

30

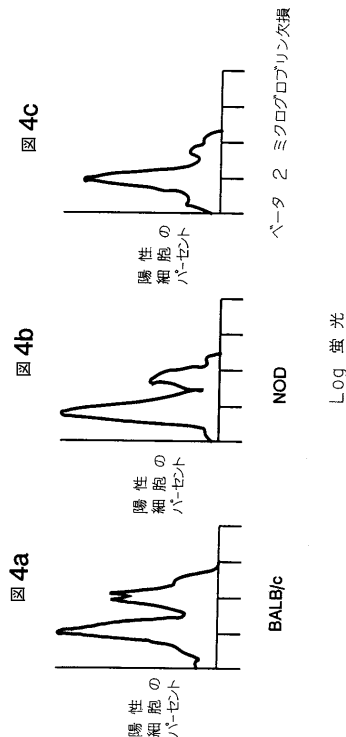
【 図 1 】



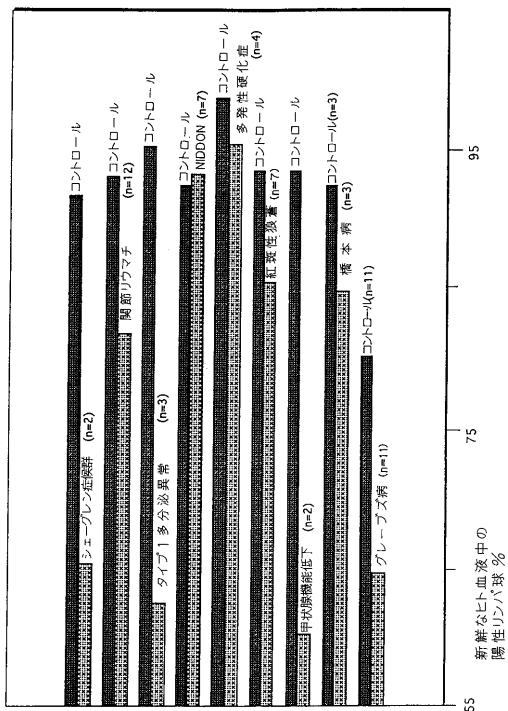
【 図 2 】



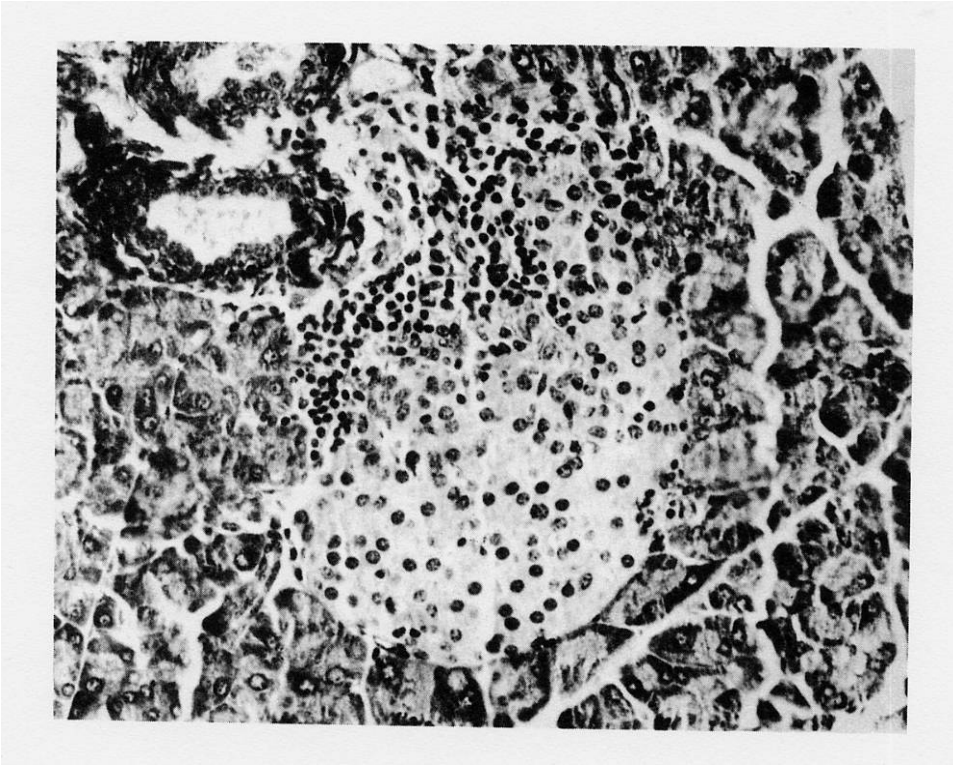
【 図 4 】



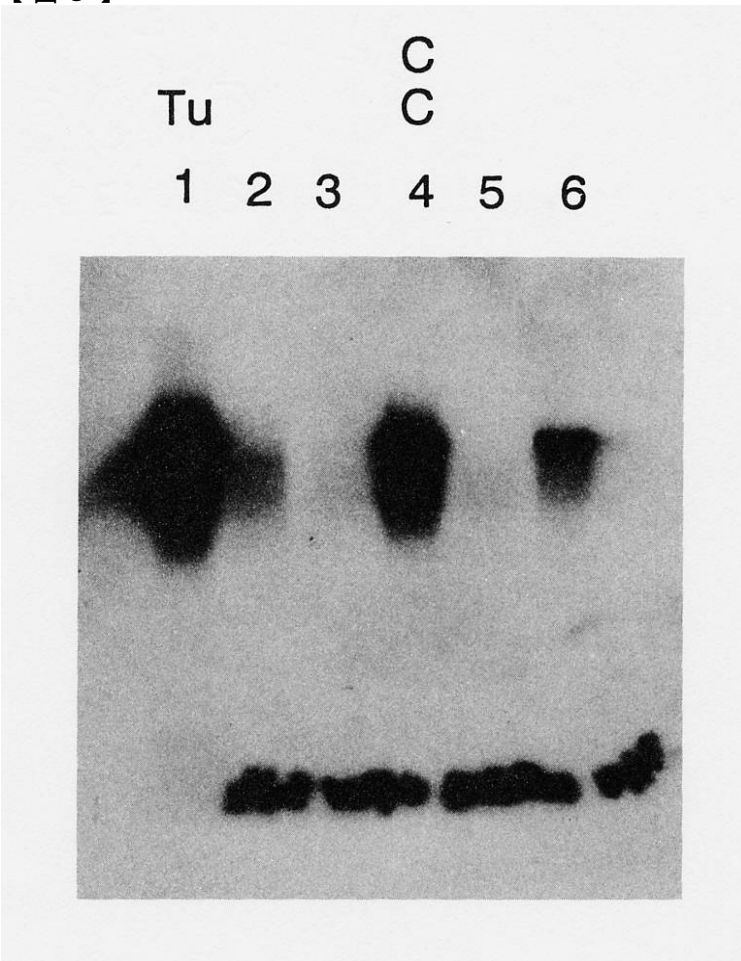
【 図 7 】



【 図 3 】



【 図 5 】



【 図 6 】

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
N	B	C	N	B	C	N	B	C	N
1	5	5	5	16	16	16	19	19	19
3	4	5	6	7	8	9	10	11	12



フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 5/06	G 0 1 N 33/15	Z 4 C 0 8 5
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/15	C 1 2 N 5/00	E
G 0 1 N 33/50	A 6 1 K 37/02	
// C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	A

(72)発明者 フォストマン, デニス

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02193, ウェストン, パインクロフト・ロード 74

Fターム(参考) 2G045 AA40 FB02 FB03 FB05
 4B024 AA01 AA11 CA04 DA02 EA04 GA14 HA17
 4B063 QA01 QA19 QQ08 QQ53 QR40 QR55 QS16
 4B065 AA90X AB01 BA02 BA03 BA30 BD39 CA44
 4C084 AA02 AA13 AA14 CA53 DC50 NA14 ZB091 ZB092 ZC351
 4C085 AA38 FF13 FF19

专利名称(译)	自身免疫性疾病的诊断和治疗		
公开(公告)号	JP2005179371A	公开(公告)日	2005-07-07
申请号	JP2005011425	申请日	2005-01-19
[标]申请(专利权)人(译)	丹尼斯·埃尔佛曼罢工		
申请(专利权)人(译)	丹尼斯·埃尔 Fosutoman		
[标]发明人	フォストマンデニス		
发明人	フォストマン,デニス		
IPC分类号	G01N33/50 A61K35/14 A61K38/00 A61K38/04 A61K38/16 A61K38/21 A61K39/00 A61K39/39 A61K48/00 A61P3/10 A61P37/04 A61P37/06 C07K14/47 C12N5/06 C12N15/09 C12Q1/68 C12R1/91 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/564 G01N33/569		
CPC分类号	C07K14/4713 A61K38/21 A61K39/0008 A61K39/001 A61K48/00 A61K2039/515 A61K2039/53 G01N33/564 G01N33/56977 G01N2800/042 G01N2800/24		
FI分类号	A61K48/00 A61K39/39 A61P3/10 A61P37/04 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z C12N5/00.E A61K37/02 C12N15/00.A A61K38/00 C12N5/00.202.K C12N5/00.202.L C12N5/0781 C12N5/0783		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB05 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA04 4B024/GA14 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ53 4B063/QR40 4B063/QR55 4B063/QS16 4B065/AA90X 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/BA03 4B065/BA30 4B065/BD39 4B065/CA44 4C084/AA02 4C084/AA13 4C084/AA14 4C084/CA53 4C084/DC50 4C084/NA14 4C084/ZB091 4C084/ZB092 4C084/ZC351 4C085/AA38 4C085/FF13 4C085/FF19		
代理人(译)	小林 泰 千叶昭夫		
优先权	07/739878 1991-08-02 US 07/810517 1991-12-19 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

[问题] 通过测试来自哺乳动物的药物和生物学样品以治疗与缺陷性MHC I类抗原呈递相关的自身免疫疾病，哺乳动物是否易患自身免疫疾病。提供一种决策的方式。[解决方案] 一种用于治疗与缺陷的MHC I类抗原呈递相关的自身免疫疾病的药物，所述药物包括表现出MHC I类抗原呈递的细胞，条件是所述MHC I类抗原呈递为 其中所述复合物提供了能够诱导对所述抗原的耐受性的复合物。[选型图]图1

