

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4229703号
(P4229703)

(45) 発行日 平成21年2月25日(2009.2.25)

(24) 登録日 平成20年12月12日(2008.12.12)

| | | | |
|----------------|---------------|------------------|-----------------------|
| (51) Int.Cl. | | F 1 | |
| C 1 2 N | 15/09 | (2006.01) | C 1 2 N 15/00 Z N A A |
| C O 7 K | 14/435 | (2006.01) | C O 7 K 14/435 |
| C O 7 K | 16/18 | (2006.01) | C O 7 K 16/18 |
| C O 7 K | 1/18 | (2006.01) | C O 7 K 1/18 |
| C O 7 K | 1/22 | (2006.01) | C O 7 K 1/22 |

請求項の数 24 (全 14 頁) 最終頁に続く

| | |
|---------------|-------------------------------|
| (21) 出願番号 | 特願2002-583456 (P2002-583456) |
| (86) (22) 出願日 | 平成14年3月1日(2002.3.1) |
| (65) 公表番号 | 特表2004-535172 (P2004-535172A) |
| (43) 公表日 | 平成16年11月25日(2004.11.25) |
| (86) 国際出願番号 | PCT/EP2002/002228 |
| (87) 国際公開番号 | W02002/085930 |
| (87) 国際公開日 | 平成14年10月31日(2002.10.31) |
| 審査請求日 | 平成17年2月24日(2005.2.24) |
| (31) 優先権主張番号 | 101 09 844.8 |
| (32) 優先日 | 平成13年3月1日(2001.3.1) |
| (33) 優先権主張国 | ドイツ (DE) |

前置審査

| | |
|-----------|--|
| (73) 特許権者 | 503317212 |
| | フォルシュングスツェントルム・ホルステル・ライプニッツ-ツェントルム・フューア・メディツィーン・ウント・ビオヴィッセンシャフテン |
| | Forschungszentrum Borstel Leibniz-Zentrum fuer Medizin und Biowissenschaften |
| | ドイツ連邦共和国デー-23845ボルステル、パルクアレー1-40番 |

| | |
|----------|-----------|
| (74) 代理人 | 100068526 |
| | 弁理士 田村 恭生 |

| | |
|----------|-----------|
| (74) 代理人 | 100100158 |
| | 弁理士 鮫島 睦 |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 寄生虫由来の免疫調節物質およびその単離方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号：2に示されるアミノ酸配列を有するタンパク質。

【請求項 2】

グリコシル化されていることを特徴とする請求項 1 記載のタンパク質。

【請求項 3】

ヒト好塩基性顆粒球においてIL-4及び/またはIL-13の産生を刺激する活性を有し、配列番号：2のアミノ酸配列からなるタンパク質において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加したアミノ酸配列からなるタンパク質。

【請求項 4】

請求項 1 から 3 のいずれかに記載のタンパク質をコードする核酸配列を有することを特徴とする核酸分子。

【請求項 5】

配列番号：1に示される核酸配列を有する請求項 4 記載の核酸分子。

【請求項 6】

請求項 4 または 5 記載の核酸分子が組み込まれていることを特徴とする発現ベクター。

【請求項 7】

請求項 1 から 3 のいずれかに記載のタンパク質に特異的であることを特徴とする抗体。

【請求項 8】

モノクローナル抗体であることを特徴とする請求項 7 記載の抗体。

10

20

【請求項 9】

ヒト好塩基性顆粒球、B細胞、T細胞、NK細胞、内皮細胞および繊維芽細胞および免疫系の他の細胞より成る群から選ばれる細胞を、請求項 1 から 3 記載のタンパク質とインキュベートすることを特徴とする、インビトロにおけるIL-4、IL-13および/またはIgE産生を誘導または増強するための請求項 1 から 3 のいずれかに記載のタンパク質の使用。

【請求項 10】

イムノグロブリンまたはその断片FcまたはFabを検出するための請求項 1 から 3 のいずれかに記載のタンパク質の使用。

【請求項 11】

イムノグロブリンまたはその断片FcまたはFabを精製するための請求項 1 から 3 のいずれかに記載のタンパク質の使用。

10

【請求項 12】

イムノグロブリンがIgEおよびIgGであり、断片がFcおよび/またはFab断片であることを特徴とする請求項 10 記載の使用。

【請求項 13】

イムノグロブリンがIgEおよびIgGであり、断片がFcおよび/またはFab断片であることを特徴とする請求項 11 記載の使用。

【請求項 14】

ELISAを用いて検出する請求項 10 記載の使用。

【請求項 15】

アフィニティークロマトグラフィーを用いて精製する請求項 11 記載の使用。

20

【請求項 16】

タンパク質のインビトロ発現のための請求項 4 または 5 記載の核酸分子の使用。

【請求項 17】

核酸分子が適した発現ベクターに組み込まれかつタンパク質が組換え手法により適した宿主細胞において過剰発現されていることを特徴とする請求項 16 記載の使用。

【請求項 18】

宿主細胞が大腸菌、バキュロウィルスまたは真核細胞であることを特徴とする請求項 17 記載の使用。

【請求項 19】

ヒト好塩基性顆粒球、B細胞、T細胞、NK細胞、内皮細胞および繊維芽細胞および免疫系の他の細胞より成る群から選ばれる細胞を、請求項 1 から 3 のいずれかに記載のタンパク質とインキュベートし、IL-4および/またはIL-13を培養上清から単離することを特徴とする、IL-4および/またはIL-13のインビトロにおける産生方法。

30

【請求項 20】

寄生虫のTh2またはIgE誘導段階からの抽出物(EX)を水に対して透析し凍結乾燥して、凍結乾燥EAまたはEXを陽イオン交換クロマトグラフィーによって分画し、ヒト好塩基性顆粒球とのインキュベーションにおいてIL-4誘導をもたらす画分を貯蔵し、濃縮し、*Aleuria aurantia*アグルチニンまたは請求項 1 から 3 記載のタンパク質に対するモノクローナル抗体を連結したNHS-活性化セファロースを用いてアフィニティークロマトグラフィーを行い、ヒト好塩基性顆粒球とのインキュベーションにおいてIL-4誘導をもたらす画分を貯蔵し、濃縮することを特徴とする、寄生虫からの、請求項 1 - 3 のいずれかに記載のタンパク質の単離方法。

40

【請求項 21】

寄生虫が、*Schistosoma mansoni*、*Schistosoma japonicum*、*Schistosoma haematobium*、*Fasciola hepatica*、*Dicrocoelium lanceolatum*、*Echinococcus multilocularis*、*Ascaris lumbricoides*、*Ascaris suum*、*Ankylostoma duodenale*、*Necator americanus*、*Trichuris trichiura*、*Brugia malayi*、*Onchocerca volvulus*、*Wuchereria bancrofti*、*Taenia solium*、*Taenia bovis*および同類種より成る群から選択されることを特徴とする請求項 20 記載の方法。

50

【請求項 2 2】

Schistosoma mansoni 卵抗原 (SmEA)を水に対して透析し凍結乾燥して、凍結乾燥SmEAを陽イオン交換クロマトグラフィーによって分画し、ヒト好塩基性顆粒球とのインキュベーションにおいてIL-4誘導をもたらす画分を貯蔵し、濃縮し、Aleuria aurantiaアグルチニンまたは請求項 1 から 3 のいずれかに記載のタンパク質に対するモノクローナル抗体を連結したNHS-活性化セファロースを用いてアフィニティークロマトグラフィーを行い、ヒト好塩基性顆粒球のインキュベーションにおいてIL-4誘導をもたらす画分を貯蔵し、濃縮することを特徴とする、請求項 1 記載のタンパク質の単離方法。

【請求項 2 3】

得られたタンパク質を単離することを特徴とする請求項 2 0 から 2 2 のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 2 4】

単離されたタンパク質をその後凍結乾燥することを特徴とする請求項 2 3 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0 0 0 1】

本発明は、寄生虫、特にSchistosoma mansoniおよびSchistosoma japonicum由来の、T-ヘルパータイプ2応答 (Th2免疫応答) を誘導する活性物質に関する。

【0 0 0 2】

20

発明の背景

多くの疾患において、病的なTh1応答または減弱したTh2応答が原因として証明されているか、またはこれらの反応が議論の主題となっている。Th2に向かう免疫反応の変化は、これらの疾患において保護作用を有することが動物実験からの知見より推測される。以下のような臓器特異的自己免疫疾患が、本文中に挙げられるであろう：多発性硬化症 [Shevach, E.M. et al., Springer Semin. Immunopathol. 21 (1999) 249-262; Leonard, J.P. et al., Crit. Rev. Immunol. 17 (1997) 545-553]、自己免疫性ブドウ膜炎 [Singh, V. K. et al., Immunol. Res. 20 (1999) 147-161; Sun, B. et al., Int. Immunol. 11 (1999) 1307-1312; Egwuagu, C.E. et al., J. Immunol. 162 (1999) 510-517]、インシュリン依存型糖尿病 [Rabinovitch, A. et al., Biochem. Pharmacol. 55 (1998) 1139-1149; Cooke, A. et al., Parasite Immunol. 21 (1999) 169-176]、慢性関節リウマチ [Muller, B. et al., Springer Semin. Immunopathol. 20 (1998) 181-196]、ベーチェット症候群 [Frassanito, M.A. et al., Arthritis Rheum. 42 (1999) 1967-1974] およびさらにヘリコバクターピロリ感染 (胃潰瘍および萎縮性胃炎の原因の一つ) [Smythies, L.E. et al., J. Immunol. 165 (2000) 1022-1029; Fox, J.G. et al., Nat. Med. 6 (2000) 536-542; Mattapallil, J.J. et al., Gastroenterology 118 (2000) 307-315]、クローン病その他のような炎症性腸疾患 [Romagnani, P. et al., Curr. Opin. Immunol. 9 (1997) 793-799; MacDonald, T.T., Curr. Top. Microbiol. Immunol. 236 (1999) 113-135]、急性臓器移植拒絶反応 [Morelli, A.E. et al., Transplantation 69 (2000) 2647-2657] および再発性流産 (Jenkins, C. et al., Fertil. Steril. 73 (2000) 1206-1208)。

30

40

【0 0 0 3】

Th1およびTh2応答の開始に関して、サイトカインが重要な因子と見なされており [Paul, W.E. et al., Cell 76 (1994) 241-251]、IL-4がおそらくナイーブT-ヘルパー細胞をTh2細胞へ分化させる決定的なサイトカインである。一方Th1応答の開始は基本的にIL-12およびIFN- γ により制御されており、それらは樹状細胞および他の補助細胞より産生される。サイトカインとは別に、他の因子もまたT細胞分化に影響し得る [Constant, S.L. et al., Annu. Rev. Immunol. 15 (1997) 297-322]。開始にあたっては、IL-4またはIL-12がプライミングの時までに、すなわち免疫反応の初期に、存在しなければならない (図1参照)。

【0 0 0 4】

50

IL-4またはIL-12の初期産生、従ってT細胞分化は、外因性および内因性因子によって制御される。外因性因子の中で、病原体の性質が特に重要である。多くの病原体が優先的にTh1応答を刺激し、他はTh2応答を刺激する[Scott, P. et al., Immunol. Today 12 (1991) 346-348]。これにより、対応する病原体の分子特性が問題の作用に参与していることが推測される。病原体の性質が決定的に初期サイトカイン産生に影響することから、初期IL-4または初期IL-12を誘導する分子誘発因子は何か、およびこれらのサイトカインを提供する細胞源は何か、に関して基本的な疑問が生じる。

【 0 0 0 5 】

初期IL-4の細胞源は、議論の主題である[Coffman, R.L. et al., J. Exp. Med. 185 (1997) 373-375]。原則として、いくつかの細胞種が適切に刺激されればIL-4を産生できる：タイプ2T細胞、マウスNK1.1⁺T細胞、好酸球、マスト細胞、および好塩基球。一次免疫応答の間、初期IL-4は先天性免疫の細胞に由来する可能性が高く、なぜなら成熟した抗原特異的T細胞は免疫原と初めて接触する時にはまだ準備されていないからである。既存の交差反応性Th2細胞の場合でも、それらが発達すると何の構造体を産生するのかについて疑問が残る。タイプ2T細胞はそれゆえ初期IL-4の供給源からは除外されよう。マウスにおいてNK1.1⁺T細胞が初期IL-4の唯一の供給者と仮定されていたが、遺伝子欠損動物を用いた実験によりそれは疑問視されている[Coffman, R.L. et al., J. Exp. Med. 185 (1997) 373-375]。

【 0 0 0 6 】

様々な著者が、好塩基球がTh2応答の発達に参与すると推測している[Paul, W.E. et al., Cell 76 (1994) 241-251; Romagnani, S., Immunol. Today 13 (1992) 379-381; Dahinden, C.A., Int. Arch. Allergy Immunol. 113 (1997) 134-137]。ヒト好塩基球が、抗原特異的および非特異的刺激の数時間以内に相当量のIL-4を放出する、という事実はこの推測を支持する[Brunner, T. et al., J. Exp. Med. 177 (1993) 605-611; Kasaian, M.T. et al., Int. Immunol. 8 (1996) 1287-1297]。さらに好塩基球は、末梢血中の可動性細胞として、病原体との争いの場所に速やかに集まることができる。遊走および集積は多くのケモカインによって制御される。好塩基球、好酸球およびTh2細胞のケモカイン受容体CCR3に結合することによりそれらを誘引する、エオタキシンが特に強調されるべきである。興味深いことに、IL-4はヒト皮膚繊維芽細胞および内皮細胞からのエオタキシンの放出をもたらすが、これはおそらく好塩基球を補充するための増幅機構であろう。その走化作用に加えて、エオタキシンは好塩基球からの抗原誘発IL-4放出を明らかに増強する。好塩基球と比較して、マスト細胞および好酸球によるIL-4産生は低く、このことは好塩基球の役割をTh2誘導と関係づけさせる。よって要約すれば、好塩基球が基本的に初期IL-4の産生細胞と考えられる。

【 0 0 0 7 】

初期IL-4の誘発因子についての疑問は、現在までのところ完全には明らかになっていない。一方初期IL-12については、誘発因子が既に知られている。例えば、リポポリサッカライドやCpGオリゴデスオキシヌクレオチドのような細菌産物により、マクロファージまたは樹状細胞はIL-12を速やかに放出し、インビボでTh1誘導をもたらす[Paul, W.E. et al., Cell 76 (1994) 241-251; Bohle, B. et al., Eur. J. Immunol. 29 (1999) 2344-2353]。Th2を誘導する因子の同定は現在進行中である。しかしながら、インビトロで好塩基球からのIL-4の速やかな放出を誘導する誘発因子として可能性があるものがすでに記載されている：B細胞スーパー抗原タンパク質 Fv [Patella, V. et al., J. Immunol. 161 (1998) 5647-5655]およびHIVグリコプロテイン120 [Patella, V. et al., J. Immunol. 164 (2000) 589-595] (これはIgEのVH3セグメントに結合することにより活性になる) およびレクチン[Haas, H. et al., Eur. J. Immunol. 29 (1999) 918-927] (これはIgEの炭水化物側鎖またはIgE受容体に結合する)。

【 0 0 0 8 】

ある疾患の治療のためには、免疫応答をタイプ2ヘルパー細胞応答(Th2応答)に向かわせることが望ましいであろう。現在のところこれについて満足のいく手法はなく、また

10

20

30

40

50

そのようにIL-4を投与することはあまりに費用がかかり高価であるので、通常の使用には実際的ではない。

本発明の目的はそれゆえ、効き目の強いTh2誘導物質および免疫調節のための医薬品を利用可能にすることである。

【0009】

この目的は、寄生虫より単離される新規のタンパク質により本発明に従って達成される。

寄生虫は基本的に、蠕虫の三つの主要な分類学上の群（ゼストーデ、トレマトーデおよびネマトーデ）に分類でき、脊椎動物および/または無脊椎動物中で生存する際の寄生様式によって特徴付けられる。後者では、それらは特定の臓器/組織：腸管腔（腸管ネマトーデ）、上皮（肺虫）、血管（住血吸虫）、リンパ管および皮膚（フィラリア）および様々な体内組織（幼生期のサナダムシ）を攻撃し、これに関連して種々の免疫学的状態に関係する。

世界中で、約35億人が寄生虫に感染している。直接の死亡率は低いが、感染した人々は重度の成長障害、発達および臓器障害、およびしばしば慢性疾患を経験する場合がある。

【0010】

ヒトにおいて最も重要な代表的寄生虫は以下である：腸大回虫（*Ascaris lumbricoides*；約10億人が感染）、鉤虫（ズビニ鉤虫およびアメリカ鉤虫；10億人近く）、鞭虫（*Trichuris trichiura*；約8億人）、住血吸虫（約2億人）、フィラリア（ブルギア、オンコセルカ、およびブケレリア、約1億人）およびサナダムシ種（タエニア；約5千万人）。

動物においては、寄生虫（非常に多くの異なるタイプがあるが）の感染はヒトにおいてよりもはるかにひどい。家畜が相当な経済的打撃を負うことがある。

【0011】

本発明は、上記すべての寄生虫が確実にTh2応答を誘導するという知見に基づく。この状況で、Th2を誘導する性質は特定の発生段階に限定される場合がある。従って、マウスに対するトレマトーデ*Schistosoma mansoni*感染の場合には、卵段階がTh2タイプ免疫応答を誘導し、シストソーミュラ（幼生）段階はTh1タイプ免疫応答を誘導する[Pearce, E.J. et al., J. Exp. Med. 173 (1991) 159-166]。住血吸虫の卵のIL-4誘導能力はかなり顕著なので、ナイーブマウスでさえ住血吸虫の卵の投与に反応し、一過性のTh0応答に続いて7-10日以内にTh2応答およびIgE合成がおこる[Vella, A.T. et al., J. Immunol. 148 (1992) 2283-2290]。S. mansoniの卵抽出物の鼻腔内投与の後でも、マウスモデルで全身性IgE産生がおこる[Okano, M. et al., J. Immunol. 163 (1999) 6712-6717]。しかしながら今までのところ、S. mansoniの卵のこの顕著なIL-4誘導能力を担う活性物質は同定または単離されていない。

【0012】

本発明の詳しい説明

本発明に関して、IL-4誘導物質をS. mansoniの卵および他の寄生虫の卵から単離する方法が今初めて利用可能となる。

【0013】

本発明の目的は、それゆえ、IL-4誘導タンパク質を寄生虫から単離する方法であり、ここでは卵抗原（EA）または寄生虫のTh2誘導またはIgE誘導段階からの抽出物（EX）を水で透析しかつ凍結乾燥し、凍結乾燥EAまたはEXを陽イオン交換クロマトグラフィーにより分画し、培養ヒト好塩基性顆粒球においてIL-4を誘導する分画を貯蔵し濃縮し、*Aleuria aurantia*アグルチニンを連結したNHS-活性化セファロースを用いてアフィニティークロマトグラフィーを行い、ヒト好塩基性顆粒球とのインキュベーションにおいてIL-4誘導をもたらす画分を貯蔵し、濃縮する。得られたタンパク質はその後凍結乾燥されることが好ましい。

【0014】

本発明の好ましい態様に従い、*Schistosoma mansoni*、*Schistosoma japonicum*、*Schistosoma haematobium*、*Fasciola hepatica*、*Dicrocoelium lanceolatum*、*Echinococcus mul*

10

20

30

40

50

tilocularis、Ascaris lumbricoides、Ascaris suum、Ankylostoma duodenale、Necator americanus、Trichuris trichiura、Brugia malayi、Onchocerca volvulus、Wuchereria bancrofti、Taenia solium、Taenia bovisおよび同類種からのEAが使用される。

A. aurantiaアグルチニンの代わりとして、本発明に係るタンパク質およびポリペプチド（タンパク質および炭水化物成分）に対するモノクローナル抗体が生産され、それは他の種の虫の同類分子を精製するのに用いられる。

【0015】

モノクローナル抗体はまた、免疫組織学的研究に、例えば本発明に係るタンパク質ならびにポリペプチドおよびそれらに由来する分子の、寄生虫における局在に、またはこれらのタンパク質、ポリペプチドまたは由来分子と宿主細胞との相互作用を特徴づけるために使用される。さらに、これらの抗体は（おそらくヒト化型で）、該タンパク質、ポリペプチドおよびそれら由来の分子またはそれらと同類の分子（例えば抗原）の作用を、インビトロおよびインビボで（後者は望ましくないTh2/IgE免疫応答の状態において）生物学的に中和するのに使用できる。

【0016】

本発明の具体的態様に従い、凍結乾燥EAまたはEXは、陽イオン交換クロマトグラフィーのためpH5.0の20mMリン酸カリウム緩衝液に取り込まれる。本発明の別の具体的態様に従い、陽イオン交換クロマトグラフィーにより得られた活性画分の緩衝液は、貯蔵され濃縮された後、アフィニティークロマトグラフィーを行う前にpH7.0の50mMリン酸ナトリウム緩衝液に交換される。

【0017】

Schistosoma mansoni 卵抗原（SmEA）が使用される場合、IPSEと呼ばれるタンパク質はこの様にして得られ、配列番号：2に示されるアミノ酸配列を有する。タンパク質はグリコシル化されていることが好ましいが、非グリコシル化型でも著しいIL-4誘導性質を有する。

「配列番号」は本目的については、WIPOスタンダードST.25で使用される数字リファレンス<400>に従う番号付けを意味するものと解される。

【0018】

本発明はさらに、タンパク質およびポリペプチド、ヒト好塩基性顆粒球において同様にIL-4および/またはIL-13の産生を刺激する活性を有する本発明にかかるタンパク質およびポリペプチド、特にIPSE、のホモログ、誘導体または断片に関する。「ホモログ」なる用語は本目的においては、配列番号：2に示される配列に関して一つまたはそれ以上のアミノ酸交換を示すようなタンパク質またはポリペプチドを意味すると解されるべきであり、「誘導体」なる用語は、個々のアミノ酸が例えば非天然（人工）アミノ酸またはD型アミノ酸により置換されている分子を意味すると解されるべきである。

【0019】

Okanoらにより、S. mansoni 卵抗原（SmEA）の炭水化物成分が、Th1応答を減少させ、かつSmEA刺激Th2誘導にもまた必要であることが提唱されている（Velupillai, P. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91 (1994) 18-22, Okano et al., J. Immunol. 163 (1999) 6712-6717参照）。著者らは、（過ヨウ素酸塩処置）脱グリコシル化SmEA（天然の卵抗原とは異なりIL-4、IL-5、IL-10およびSmEA特異的IgE産生を誘導できない）による鼻腔内感作に関しマウスモデルから得られた証拠を挙げている。Lewis^x（LE^x）を含むSmEAの主要なグリカン成分であるラクト-N-フコペンタオース IIIは、ヒト血清アルブミンに共有結合した場合マウスにおいてTh2誘導アジュバントとして働くことが、さらに確立されている（M. Okano et al., J. Immunol. 167 (2001) 442-450）。

【0020】

本発明に関して、本発明に係るタンパク質およびポリペプチド、特にIPSEは炭水化物の非存在下、即ち非グリコシル化型においてもまた機能的に効果があることが立証された。特に、非グリコシル化組換えIPSEは強いIL-4誘導作用を示す。しかしながら本発明に関して得られた結果は、炭水化物がTh2偏向に貢献する可能性を排除するものではなく、それ

10

20

30

40

50

は、フコペンタオース III 結合ヒト血清アルブミンによっては活性化されない好塩基球以外のタイプの細胞を含むのかもしれない。

それゆえ、グリコシル化されていない前述のタンパク質またはポリペプチドが本発明に従ってさらに含まれ、なぜならこれらはそれらのグリコシル化アナログと等しく有効な IL-4 誘導作用を示すことが立証されているからである。

【 0 0 2 1 】

本発明はさらに、上記のタンパク質またはポリペプチドをコードする核酸配列を示す核酸分子に関する。本発明の具体的態様に従い、核酸分子は配列番号：1 に示される核酸配列を有する。

【 0 0 2 2 】

本発明の利点：

本発明に係るタンパク質およびポリペプチドは非常に低い濃度でも、未感作健常血液提供者の好塩基性顆粒球（白血球）から、細胞伝達物質インターロイキン-4（IL-4）およびインターロイキン-13（IL-13）を放出させる。IL-4 および IL-13 は、イムノグロブリン E 仲介（IgE 仲介）アレルギーの発達において重要な因子である。本発明に係るタンパク質は、タイプ 2 T-ヘルパー細胞応答（Th2 応答）の開始、および寄生虫に典型的な IgE の合成において中心的な役割を果たす。Th2 誘導因子は Th1 応答（細胞免疫応答）の発達を阻害するので、本発明の強力な分子は、免疫薬理学的に、例えば病的な Th1 応答を伴う多発性硬化症のような疾患において、使用可能である。

【 0 0 2 3 】

本発明の目的はそれゆえ、本発明に係るタンパク質およびポリペプチドを、免疫調節のための医薬組成物の調製、好ましくは IL-4 および/または IL-13 産生を刺激するための医薬組成物の調製または IgE 産生を刺激するための医薬組成物の調製、に使用することである。

Th2 強調免疫応答の誘導または増強は、ある種のワクチンの開発の点からみてもまた望ましい。従って、Th2 応答はある種の寄生虫感染（例えば、ネマトーデ感染または住血吸虫症）において保護的であり、一方 Th1 強調免疫応答はここでは反対の作用を有する。このことは、駆虫性その他のワクチンの調製において留意すべきである。

【 0 0 2 4 】

作用機構に関する研究は、IPSE による好塩基球活性化（脱顆粒、ヒスタミン、IL-4 および IL-13 放出）には、好塩基球の表面に IgE が存在することが必要であることを示している。これは、いわゆる IgE ストリッピングおよび IgE 再感作実験により示され、そこでは、好塩基球を短時間低 pH で処置して受容体結合 IgE を置き換え、細胞をその後再び IgE をロードする。IL-4 誘導の IgE 依存性より、IPSE は受容体結合 IgE の結合および架橋の結果、作用を発揮することが推測される。

【 0 0 2 5 】

IPSE がイムノグロブリン結合因子であるかを調べるため、IPSE または IgE をニトロセルロース膜にプロットすることにより固定し、かつ IPSE または IgE をそれぞれ可溶相に加えるウェスタンおよびドットプロット技術が用いられた。両条件化において、IgE と IPSE の間で結合が起こった。Biacore 方法（Surface Plasmon resonance ; Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg, Germany）による最初の研究によりこの知見は確認され、IPSE と IgE の間の高い結合親和性が示された。IPSE のイムノグロブリン結合活性が IgE アイソタイプに限定されるのか、または他のイムノグロブリンクラスにも同様に影響するのかを調べるため、健常北欧人血液提供者由来の血清から得られた IgG 用いてウェスタンプロットング研究を行った。これに関して、IPSE はヒト IgG サブクラス 1-4 にもまた結合することが明らかになった。興味深いことに、競合的阻害実験により、IPSE は IgE に対し、IgG に対してより約 100 倍以上の親和性で結合することが明らかになった。

【 0 0 2 6 】

加えて、IPSE はパイン消化後の IgG のすべての断片、すなわち Fab および Fc フラグメントの両者、とりわけ Fc フラグメント、に結合する。

イムノグロブリン結合因子としてのその性質より、それゆえ、本発明に係るポリペプチド、特にIPSEは、例えばELISA (enzyme linked immunosorbent assay) の実行においてまたはアフィニティークロマトグラフィーの一部として、イムノグロブリン、特にIgEおよびIgGまたはそれらの断片 (例えばFcおよび/またはFabフラグメント) の検出および精製に用いることができる。

【0027】

本発明のタンパク質およびポリペプチドの免疫学的性質より、これらは特にTh2免疫応答の誘導および増強のための医薬組成物の調製、特にTh1免疫応答を伴う疾患を処置するための医薬組成物の調製に適する。これらの疾患は好ましくは、多発性硬化症、自己免疫性ブドウ膜炎、インシュリン依存型糖尿病、慢性関節リウマチ、ベーチェット症候群、ヘリコバクターピロリ感染、炎症性腸疾患 (特にクローン病)、急性臓器移植拒絶反応および再発性流産より成る群中の疾患である。

【0028】

本発明の目的は特に、本発明に係るポリペプチド (しかしとりわけIPSE) を免疫調節のための (例えばアレルギー反応における) 医薬組成物の調製に使用することである。そのイムノグロブリン結合性によって、本発明に係るペプチドはさらに、血清IgEレベルの上昇および/またはインターフェロンガンマ産生の増加により特徴付けられる疾患、例えばアレルギー性鼻結膜炎およびアレルギー性気管支喘息、の治療に適している。

【0029】

本発明に係るタンパク質およびポリペプチドを製薬的に許容される補助物質または担体とともに含有する医薬組成物もまた含まれる。

本発明のタンパク質およびポリペプチドはさらに、インビトロにおけるIL-4、IL-13および/またはIgEの産生を誘導または増強し、これは、特にヒト好塩基性顆粒球、B細胞、T細胞またはナチュラルキラー (NK) 細胞 (但し、免疫系その他の組織の他の細胞、例えば上皮細胞や繊維芽細胞、も含む) およびそれら由来のセルラインを前述のタンパク質またはポリペプチドとインキュベートすることを伴う。従って、該タンパク質およびポリペプチドは、インビトロにおけるIL-4および/またはIL-13の産生に適している。この方法においては、前述の細胞を該タンパク質またはポリペプチドとインキュベートし、IL-4および/またはIL-13をその後培養上清から単離する。

【0030】

本発明に係るタンパク質およびポリペプチドのさらなる用途は、(ヒトおよび動物の) 末梢血由来単核細胞によるインビトロにおけるTh1サイトカイン産生/Th1応答の阻害にある。

前述の核酸分子は本発明に係るタンパク質およびポリペプチドをコードするので、それらは該タンパク質およびポリペプチドのインビトロ産生、すなわちインビトロ発現の母体に適している。このために、該DNAは例えば発現ベクターに組み込まれ、対応するタンパク質は組換え手法により適した宿主細胞、例えば大腸菌において過剰発現する。グリコシル化がタンパク質またはポリペプチドの機能的活性に重要であるならばバキュロウィルスまたは他の真核生物系で発現させる。

【0031】

それゆえ、本発明の目的はさらに、はめ込まれた核酸分子を組み込む発現ベクターである。

核酸分子はさらに、インビボ発現 (例えばDNAワクチン接種) のための医薬組成物の調製にさらに適している。前述のタンパク質およびポリペプチドはそれゆえ、インビボでもまた、詳細には免疫応答の変化に照らし、調製することができる。この目的のため、対応するDNAは遺伝子移入ベクター (例えばアデノウィルスベクター) に組み込まれる。従って、例えばアデノウィルス発現系は一過性に非常に多くのタンパク質を産生し、また臓器特異的発現も可能である。ベクターの筋肉内注射の結果、タンパク質またはポリペプチドの局所産生が (初めは実験動物において) 誘導可能である。適した発現系 (特にヒトでの使用について) は当業者には周知であり、使用上の安全性について継続的に改良されてい

10

20

30

40

50

る。

それゆえ、本発明にかかる核酸分子が組み込まれている遺伝子移入ベクター、およびそのような遺伝子移入ベクターを製薬的に許容される補助物質および/または担体とともに含む医薬組成物もまた、本発明の目的である。

【実施例】

【0032】

本発明を、いくつかの態様を用いて以下により詳しく説明する。

【0033】

実施例 1

Schistosoma mansoni 卵抗原 (SmEA) の抽出方法

10

IPSE精製の出発原料はごく限られた量しか利用できないSchistosoma mansoniの卵より成り、それらの抽出は費用がかかり高価である。全抽出物、いわゆるSchistosoma mansoni 卵抗原 (SmEA)を、住血吸虫の卵よりリン酸緩衝生理食塩水中で抽出することにより得た(Boros DL et al., J. Exp. Med. 132 (1970) 488-507; Carter CE et al., J. Parasitol. 64 (1978) 285-290)。蒸留水に対する透析に続いて、さらに加工するため凍結乾燥形態で保存した。IPSEはSmEA中に非常に低濃度しか存在しないので、全抽出物をSDS-PAGEおよび銀染色によって示しても、非常に多くの構成成分のうちのIPSEを検出できない。

【0034】

実施例 2

SmEAからのIPSE精製方法

20

A. 陽イオン交換クロマトグラフィー :

他のタンパク質精製方法、例えば排除クロマトグラフィー (Superdex 200 PC、SMART system、Pharmacia)、疎水性相互作用クロマトグラフィー (HIC)、逆相HPLCおよび調製用等電点電気泳動法 (Rotofor、Bio-Rad Laboratories、Munich、Germany)では、我々の所では全量が相当減少し、かつ/またはIL-4誘導活性本体を十分に濃縮できなかったが、それらとは異なり、我々は陽イオン交換クロマトグラフィーの技術により、IPSEをきれいに濃縮することに成功した。

【0035】

この目的のため、凍結乾燥SmEA (2mg) をpH5.0の20mMリン酸カリウム緩衝液0.5mlに取り込み、陽イオン交換クロマトグラフィー (SP-セファロース; プレパッケージ 1 ml HiTrap (登録商標) カラム、Amersham Pharmacia、Freiburg、Germany)により分画した。試料を加え開始緩衝液 (20mMKリン酸緩衝液、pH5.0) で洗浄後、結合した物質を開始緩衝液中で1M KClまでの比例塩勾配にて溶出した。分画はAktaprime システム (Amersham Pharmacia、Freiburg、Germany)にて、溶媒1ml/minの移動溶媒流速で行った。0.5 mlの画分を回収した。高いpH値 (pH6.0) ではIPSEの大部分がタンパク質豊富な溶出液とともにカラムを離れてしまい、そえゆえ活性本体を濃縮できないので、pH5.0であることは重要である。機能的に活性ある画分 (好塩基球テストにおけるIL-4誘導を測定して検出、以下参照) をその後貯蔵し、Centricon Plus20 (Millipore、Eschborn、Germany) で濃縮し、緩衝液をpH7.0の50mMリン酸ナトリウム緩衝液に交換した。濃縮にCentricon Plus20を使用したことがIPSEの収率に重要であって、なぜならCentriconやCentriprepのような他の濃縮ユニットを用いると90%以上活性本体が減少したためである。Centricon Plus20による濃縮において減少をさらに少なくするため、該ユニットをさらに5% Tween20で一晩プレインキュベートした。その後、Tweenが機能的アッセイ系に移行し、そのため好塩基球に障害を与えて誤った否定的結果をもたらすのを避けるため、使用前にそれらを大量の二重蒸留水で十分にすすいだ。この手順により、蒸発手順に付随するIL-4誘導活性の減少を50%以下に保つことが可能となった。

30

40

【0036】

試料の濃縮 (少なくとも5倍) に続き、活性画分において、無関係な成分に加えて約40kDの分子量範囲に二つの隣接するバンドを、銀染色したSDS-PAGEゲル中に検出できた。しかしながらこれら二つのバンドを検出するのに、銀染色の現像に長時間 (すくなくとも30

50

分)を要した。非活性画分にはこの二つのバンドは検出されなかった。

二つのバンドのうち一つまたは両方が求めていた活性本体であるという推測は、以下の実験結果により支持された：SDS-PAGEによるSmEA分画およびゲルの分画電気溶出の結果、IL-4誘導活性は約40kDの分子量範囲、すなわち両バンドが検出された範囲、にあった。

【0037】

B. *Aleuria aurantia*アグルチニンセファロースによるアフィニティークロマトグラフィー：

住血吸虫の卵がある場合においては異常にグリコシル化された糖タンパク質および糖脂質を大量に含むという事実を、さらなる精製に利用した。即ち、アフィノプロット解析により、住血吸虫の卵の全抽出物の成分は、SDS-PAGEによる分離およびニトロセルロース膜への移行に続き、多くの標識レクチン (*Aleuria aurantia*アグルチニン、コンカナバリンA、*Datura stramonium*アグルチニン、*Galanthus nivalis*アグルチニン、*Maackia amurensis*アグルチニン、ピーナツアグルチニン、*Ricinus communis*アグルチニン、*Sambucus nigra*アグルチニン、麦芽アグルチニンを含む)により別々に検出されることが示された。一方、陽イオン交換クロマトグラフィー後の活性画分とは、三つのレクチンしか反応しなかった。これらのうち、*Aleuria aurantia*アグルチニン(これは1-6-グリコシル化フコースに結合する)のみが、40kD付近の二つの隣接するバンドと選択的に相互作用した。一方、他の二つのレクチン(ピーナツアグルチニンおよび*Ricinus communis*アグルチニン)は、非活性画分でも検出できるものも含む他のバンドともつばらまたはさらに反応した。

【0038】

それゆえ、その二重バンドはIPSEに対応するという作業仮説を立て、次の段階として*Aleuria aurantia*アグルチニン(Vector Laboratories、Alexis-Deutschland GmbH、Grunberg、Germany)を用いてアフィニティークロマトグラフィーを行った。この目的のため、このレクチンをNHS-活性化セファロース(HiTrap column; Amersham Pharmacia)に結合した。結合は製造者の推薦に従い行った。アフィニティークロマトグラフィーのため、陽イオン交換クロマトグラフィーで得られた機能的に活性ある画分をカラムに移し、開始緩衝液(50mMリン酸ナトリウム緩衝液、pH7.0)で洗浄し、溶出緩衝液(開始緩衝液+0.1Mフコース(Sigma、Taufkirchem、Germany))で溶出した。該画分をその後再びCentricon Plus20(Millipore GmbH、Eschborn、Germany)を用いて上記のように濃縮し、生成した原料の特性を、SDS-PAGEおよび続いて銀染色により、または標識*A. aurantia*アグルチニンによるアフィノプロットにより再び調べた。IL-4誘導活性は、*Aleuria aurantia*アグルチニン結合二重バンドとともに、もつばらその画分に存在した。ポジティブ画分を貯蔵し、分割し、二重蒸留水で透析して凍結乾燥した。保存は-80で行った。

【0039】

実施例3

IPSEの完全ヌクレオチドおよびアミノ酸配列の決定

A. IPSEのN末部分配列の決定：

N末配列決定に十分な量のIPSEを抽出するために、10回の陽イオン交換クロマトグラフィー実行により得られた活性画分を貯蔵し、さらに*Aleuria aurantia*アグルチニンアフィニティークロマトグラフィーを用いて精製した。それにより得られた原料(IPSE)は、SDS-PAGE(銀染色またはレクチンプロット)において、さらなる混成なく40kDに二重バンドとして示された。両バンドのN末部分配列決定により(さらに分画することなく)、20N末アミノ酸のうち18が同定できた。タンパク質データベースの検索では既存の相同タンパク質は明らかにならなかった。ESTデータベースの検索では、*Schistosoma mansoni*卵cDNAバンクからのExpressed Sequence Tag(EST)が一番目に現れた。11の連続するアミノ酸がN末IPSE配列と同一であるアミノ酸配列が、このESTの三つの読み枠のうちの一つに由来した。

【0040】

B. IPSEに対するcDNAの*Schistosoma mansoni*卵cDNAバンクからの単離

前述の節で説明した配列情報により、Schistosoma mansoni 卵 cDNAバンクにおいてIPSEのヌクレオチド配列を検索するための具体的な（未変性の）DNAプローブが生産可能となった。我々の作成したS. mansoni 卵 cDNAバンクおよびG. Oliveiraの作成したもの（どちらも zap ベクターに入っている）は、このプローブと反応するクローンを含んでいた。これらのクローンの配列決定により、それらの全N末配列はIPSEのN末配列と同一であることが明らかになり、いずれも当初未知のアミノ酸（システイン）を有していた（アミノ酸システインは、N末配列決定ではほとんど検出できない）。本発明に関し見出された配列を上記のESTと比較すると、おそらく配列決定のエラーおよびESTの読み枠中の変更の結果と考えられる相当な相違が明らかになった。図2は、IPSEの完全配列をDNAレベルで、かつタンパク質レベル（20アミノ酸のリーダー配列を含む）でもまた図解する。

10

【 0 0 4 1 】

実施例 4

IPSEの検出系

A. ヒト好塩基球形顆粒球の精製および刺激：

ヒト好塩基球形顆粒球の単離および刺激は、K. Haischら(J. Immunol. Methods 226 (1999) 129-137)の方法により行った。このため、単核細胞を健常血液提供者の静脈血からFicoll-Percollグラジエントにより得て、そこから、好塩基球に富む画分を逆流エルトリエーションにより単離した。そこから好塩基球を免疫磁気ビーズ（MACS system）を用いて高純度に（通常純度98%以上）単離した。精製された好塩基球をSmEAまたはその画分で4時間（IL-4）または18時間（IL-13）インキュベートし、サイトカイン測定のため上清を回収して、解析まで-70 で保存した。

20

B. IL-4およびIL-13ELISA

培養上清中のサイトカインIL-4およびIL-13の濃度は、サンドイッチELISA（特に市販のもの）を用いて測定した。

【 0 0 4 2 】

実施例 5

IPSEに対するポリクローナルおよびモノクローナル抗体の産生

ポリクローナル抗体を産生するため、IPSEをウサギ両腿にTiterMaxアジュバントの存在下で筋肉内注射する。IPSE特異的抗体の形成はウェスタンブロッティングにより調べる。追加免疫注射は4週間隔で行う。

30

モノクローナル抗体の産生は、Kohler and Milstein(Nature 256 (1975) 495-497)により開発された方法を、Current Protocols of Immunology (Editors: J.E. Coligan et al., publisher: John Wiley & Sons, Inc. (1997); ISBN: 0-471-522767)に従って修正して行う。このために、IPSEをアジュバントの存在下で二匹のマウスに腹腔内注射する。追加免疫注射（アジュバントなし）は10-14日後に行う。3日後、マウスの脾臓細胞を骨髓腫セルラインSP2/0-Ag14と融合する。次の日、ヒポキサンチン-アミノプテリン-チミジン（HAT）培地をハイブリドーマ細胞の選択のため添加する。10-14日後、ウェスタンブロット法により、IPSEに対する抗体反応性について一次ハイブリドーマ上清をスクリーニングする。候補ハイブリドーマラインを増殖させ、Limiting Dilutionにより（再び）クローン化する。

40

【 0 0 4 3 】

実施例 6

非グリコシル化IPSEの有効性

ラクト-N-フコペンタオースIII（LNFPIII）は、S. mansoni 卵抗原抽出物における糖タンパク質の主要なグリカン成分である。本発明に係るポリペプチド、特にIPSE、のヒト好塩基球を活性化する性質を考慮して、それゆえ、ヒト血清アルブミンに結合したラクト-N-フコペンタオースIII（LNFPIII-HSA）(Biocarb Chemicals, Lund, Sweden)もまた好塩基球を活性化できるかを検討した。実験方法は、実施例 4 Aに述べられている方法に従った。

ポジティブコントロールとして使用したS. mansoni 卵抗原とは異なり、LNFPIII-HASは

50

広い濃度範囲(0.03-30 µg/ml)にわたっても、好塩基球の脱顆粒、メディエーターの放出、またはIL-4またはIL-13の発現を誘導しなかった。

【0044】

実施例7

IPSEのイムノグロブリン結合性の検討

ウェスタンおよびドットプロット技術を、本発明に係るポリペプチド、特にIPSE、のイムノグロブリン結合性の検討に使用した。

ドットプロット：ポリクローナルIgE(BA1004; DPC Biermann, Bad Nauheim, Germany)を様々な量(1000-30 ng/dot)でニトロセルロース膜にアプライした。その後、メンブ
10
ランの自由結合部位を0.05% (v/v) Tween 20を添加したpH 7.4の0.1 M Tris緩衝生理食
塩水(Tris-Tween)中でインキュベートしてブロックし、そのメンブ
ランをビオチン化組換えIPSE (Hisタグ融合タンパク質; 1 µg/ml)と室温で一晩インキュベートした。洗浄後、
該プロットをストレプトアビジン-アルカリフォスファターゼ(1:5000)と2時間イン
キュベートした。新たに洗浄した後、基質色素原混合物(ニトロブルーテトラゾリウム-
プロモクロロインドリルフォスフェート)を添加することによりプロットを現像した。

平行して、様々な量のHisタグIPSE融合タンパク質(1000-30 ng/dot)をニトロセルロー
ス膜にアプライした。自由結合部位のブロッキング(前述の段落参照)に続き、メンブ
ランをビオチン化ポリクローナルIgE(1 µg/ml)と室温で一晩インキュベートした。前の段
20
落にあるように、ストレプトアビジン-アルカリフォスファターゼによりさらに現像した
。

【0045】

ウェスタンプロット：このために、天然IPSEまたは組換えHisタグIPSE融合タン
パク質を、SDS-PAGE(12% T、4% C)を用いて非還元条件下で標準的方法(Lamli, U.K., Na
30
ture 227 (1970) 680-685)により分画し、セミドライプロット(30 minutes、0.8 mA/
cm)によりニトロセルロース膜(Schleicher & Schull, Dassel, Germany)に移した。自由
タンパク質結合部位は、メンブ
ランをTris-Tween中でインキュベートすることでブロック
した。メンブ
ラン片をその後、健常未感作血液提供者の血清(Tris-Tween中1:20および1
:100)と室温で一晩インキュベートした。洗浄に続き、該片をアルカリフォスファター
ゼ標識抗ヒトIgE(Tris-Tween中1:2000; Allergopharma, Reinbek, Germany)または抗ヒト
IgE(1:40 000; Dianova, Hamburg, Germany)と室温で2時間インキュベートした。新たに
40
洗浄した後、基質色素原混合物(ニトロブルーテトラゾリウム-プロモクロロインドリル
フォスフェート)を添加することによりプロットを現像した。

【0046】

IPSEのIgEまたはIgGに対する相互の結合親和性を比較するため、HisタグIPSEのウェ
スタンプロット(0.5 µg/cm)をヒトIgE(100-100,000 ng/ml)とインキュベートした。IgEのH
isタグIPSEに対する結合は、アルカリフォスファターゼ標識抗ヒトIgE(1:2000; Allergop
40
harma, Reinbek, Germany)とインキュベートして検出した。

IPSEは、ヒトIgGサブクラス1-4、およびパパイン消化後はFcおよびFab断片と結合し、
またIgGに対するより約100倍高い親和性でIgEと結合することが示された。

【図面の簡単な説明】

【0047】

(原文に記載なし)

10

20

30

40

【 図 1 】

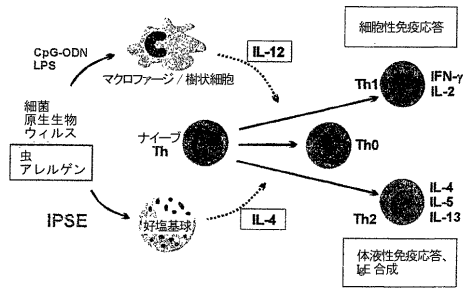


Fig. 1:

【 図 2 】

```

5' ATG TTT 9 18 27 36 45 54
   M F L I A V L S Y T L I S Q L G I T
   ---
   63 72 81 90 99 108
   ACA TCG GAT TCA TGC AAA TAT TGT CTA CAA TTG TAC GAT GAA ACG TAT GAG AGG
   T S D S C K Y C L Q L Y D E T Y E R
   ---
   117 126 135 144 153 162
   GGT TCA TAT ATT GAA GTC TAC AAA AGC GTT GGC TCA CTC TCA CCA CCA TGG ACA
   G S Y I E V Y K S V G S L S P P W T
   ---
   171 180 189 198 207 216
   CCT GGA TCT GTT TGT GTA CCC TTC GTA AAT GAC ACG AAG AGA GAG CGT CCA TAC
   P G S V C V P F V N D T K R E R E Y
   ---
   225 234 243 252 261 270
   TGG TAT TTA TTT GAC AAC GTC AAT TAC ACA GGT CGG ATT ACT GGT CTC GGA CAT
   W Y L F D N V N Y T G R I T G L G H
   ---
   279 288 297 306 315 324
   GGT ACC TGC ATT GAT GAC TTC ACG AAA TCC GGA TTC AAA GGC ATT TCC TCT ATT
   G T C I D D F T K S G F K G I S S I
   ---
   333 342 351 360 369 378
   AAA CGG TGT ATT CAA ACA AAG GAT GGA AAA GIT GAA TGT ATC AAT CAA CCG AAA
   K R C I Q T K D G K V E C I N Q P K
   ---
   387 396 405
   CGG AGA AGG ACA TAC TGT CGA TTC TAA 3'
   R R R T Y C R F *

```

Fig. 2:

【 配列表 】

0004229703000001.app

フロントページの続き

| | | | |
|----------------|--------------|------------------|-----------------|
| (51) Int.Cl. | | F I | |
| C 0 7 K | 1/36 | (2006.01) | C 0 7 K 1/36 |
| G 0 1 N | 33/53 | (2006.01) | G 0 1 N 33/53 D |
| C 1 2 P | 21/02 | (2006.01) | C 1 2 P 21/02 C |

(74)代理人 100098925

弁理士 上田 敏夫

(74)代理人 100126778

弁理士 品川 永敏

(74)代理人 100150500

弁理士 森本 靖

(72)発明者 ガブリエレ・シュラム

ドイツ連邦共和国デー - 2 3 8 6 7 ジュールフェルト、アーホルンヴェーク 1 0 番

(72)発明者 ヘルムート・ハース

ドイツ連邦共和国デー - 2 3 8 6 7 ジュールフェルト、アーホルンヴェーク 1 0 番

(72)発明者 フランコ・ファルコネ

ドイツ連邦共和国デー - 4 8 1 4 6 ミュンスター、アルトゥムシュトラッセ 5 番

(72)発明者 アヒム・グロノヴ

ドイツ連邦共和国デー - 2 3 8 6 7 ジュールフェルト、ニーエンヴォールダー・シュトラッセ 2 番

(72)発明者 カリン・ハイシュ

アメリカ合衆国 1 4 2 1 4 ニューヨーク州バッファロー、ファスベストール 1 3 8 番、ユニバーシ
ティ・アット・バッファロー

審査官 柴原 直司

(56)参考文献 Parasite Immunol., (2003), 23, [8], p.427-434

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C12N 15/00-15/90

C12N 1/00-7/08

| | | | |
|----------------|---|---------|------------|
| 专利名称(译) | 来自寄生虫的免疫调节物质及其分离方法 | | |
| 公开(公告)号 | JP4229703B2 | 公开(公告)日 | 2009-02-25 |
| 申请号 | JP2002583456 | 申请日 | 2002-03-01 |
| [标]申请(专利权)人(译) | FORSCHUNGSZENT BORSTEL ZENT FUER MEDIZIN & BIOWISSENSCHAFTEN | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 文件夹顺集团曾托时Borusuteru莱布尼茨 - 中枢, Fuyua-UND Meditsuin维托里奥·毕森沙夫十 | | |
| [标]发明人 | ガブリエシュラム ヘルムートハース フランコファルコネ アヒムグロノヴ カリンハイシュ | | |
| 发明人 | ガブリエシュラム ヘルムートハース フランコファルコネ アヒムグロノヴ カリンハイシュ | | |
| IPC分类号 | C12N15/09 C07K14/435 C07K16/18 C07K11/18 C07K11/22 C07K11/36 G01N33/53 C12P21/02 G01N30/06 A61K38/00 A61K38/17 A61P1/04 A61P3/10 A61P11/06 A61P15/06 A61P19/02 A61P19/08 A61P25/00 A61P27/02 A61P27/16 A61P29/00 A61P31/04 A61P37/00 A61P37/06 A61P37/08 B01J20/281 C12N11/15 C12N11/19 C12N11/21 C12N5/10 C12N7/00 C12P21/08 G01N30/46 G01N30/88 | | |
| CPC分类号 | A61K38/00 A61K48/00 A61K2039/57 A61P1/04 A61P3/10 A61P11/06 A61P15/06 A61P19/02 A61P19/08 A61P25/00 A61P27/02 A61P27/16 A61P29/00 A61P31/04 C07K14/43559 Y02A50/423 | | |
| FI分类号 | C12N15/00.ZNA.A C07K14/435 C07K16/18 C07K11/18 C07K11/22 C07K11/36 G01N33/53.D C12P21/02.C | | |
| 代理人(译) | 上田俊夫 品川EiSatoshi | | |
| 优先权 | 10109844 2001-03-01 DE | | |
| 其他公开文献 | JP2004535172A5 JP2004535172A | | |
| 外部链接 | Espacenet | | |

摘要(译)

本发明涉及寄生虫,特别是曼氏血吸虫(Schistosoma mansoni)的活性剂,其诱导T辅助细胞2型应答(Th2免疫应答)。

