(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第5738333号
(P5738333)
(45)発行日　平成27年6月24日(2015.6.24)　(24)登録日　平成27年5月1日(2015.5.1)

| (51)Int.Cl. | | F I | | |
|---|---|---|---|---|
| C07K 7/08 | (2006.01) | C07K | 7/08 | ZNA |
| C07K 7/06 | (2006.01) | C07K | 7/06 | |
| C12N 15/09 | (2006.01) | C12N | 15/00 | A |
| A61K 38/00 | (2006.01) | A61K | 37/02 | |
| A61P 3/10 | (2006.01) | A61P | 3/10 | |

請求項の数 22　(全 100 頁)　最終頁に続く

| | |
|---|---|
| (21)出願番号 | 特願2013-24857(P2013-24857) |
| (22)出願日 | 平成25年2月12日(2013.2.12) |
| (62)分割の表示 | 特願2008-525635(P2008-525635)の分割 |
| 原出願日 | 平成18年8月9日(2006.8.9) |
| (65)公開番号 | 特開2013-163673(P2013-163673A) |
| (43)公開日 | 平成25年8月22日(2013.8.22) |
| 審査請求日 | 平成25年2月12日(2013.2.12) |
| (31)優先権主張番号 | 0516527.9 |
| (32)優先日 | 平成17年8月11日(2005.8.11) |
| (33)優先権主張国 | 英国(GB) |
| (31)優先権主張番号 | 0609920.4 |
| (32)優先日 | 平成18年5月18日(2006.5.18) |
| (33)優先権主張国 | 英国(GB) |

(73)特許権者　508043844
マトシアン　－　ロジャーズ、アルピ
イギリス国、ロンドン、フィンチレイ　ロード　３７６
(74)代理人　110000855
特許業務法人浅村特許事務所
(72)発明者　マトシアン　－　ロジャーズ、アルピ
イギリス国、ロンドン、フィンチレイ　ロード　３７６
審査官　木原　啓一郎

(56)参考文献　特表２００２－５１１７６５（ＪＰ，Ａ）

最終頁に続く

(54)【発明の名称】自己免疫疾患の治療及び診断のためのＴＣＲ－Ｖベータ関連ペプチド

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体に結合することができるペプチドであって、前記ペプチドが、
（ａ）下記のアミノ酸配列からなるか、
ＮＩＹＰＳＤＳＹＴＮＹＮＱＫＦＫＤ（配列番号８）
（式中、前記ペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の向きで示される）
（ｂ）（ａ）のペプチドの伸長改変体であってＣ末端及び／又はＮ末端で２個までの追加のアミノ酸残基を含む上記ペプチドの伸長改変体であるか、あるいは
（ｃ）（ａ）又は（ｂ）のペプチドのホモダイマー又はホモマルチマーである、
上記ペプチド。
【請求項２】
前記ペプチドが、配列番号８に記載のアミノ酸配列を含むか又はからなるか、あるいは配列番号１５９に記載のアミノ酸配列を含むか又はからなる、請求項１に記載のペプチド。
【請求項３】
抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体に結合することができるペプチドであって、前記ペプチドが、
（ａ）下記のアミノ酸配列からなるか、
ＬＲＧＬＬＰＤＹ（配列番号１０）
（式中、前記ペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の向きで示される）
（ｂ）（ａ）のペプチドの伸長改変体であってＣ末端及び／又はＮ末端で２個までの追

加のアミノ酸残基を含む上記ペプチドの伸長改変体であるか、あるいは
（ｃ）（ａ）又は（ｂ）のペプチドのホモダイマー又はホモマルチマーである、
上記ペプチド。
【請求項４】
前記ペプチドが、配列番号１０に記載のアミノ酸配列を含むか又はからなるか、あるいは配列番号１６０に記載のアミノ酸配列を含むか又はからなる、請求項３に記載のペプチド。
【請求項５】
抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体に結合することができるペプチドであって、前記ペプチドが、
（ａ）下記のアミノ酸配列からなるか、
ＱＱＹＮＳＹＰＬＴ（配列番号１６）
（式中、前記ペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の向きで示される）
（ｂ）（ａ）のペプチドの伸長改変体であってＣ末端及び／又はＮ末端で２個までの追加のアミノ酸残基を含む上記ペプチドの伸長改変体であるか、あるいは
（ｃ）（ａ）又は（ｂ）のペプチドのホモダイマー又はホモマルチマーである、
上記ペプチド。
【請求項６】
前記ペプチドが、配列番号１６に記載のアミノ酸配列を含むか又はからなるか、あるいは配列番号１６１に記載のアミノ酸配列を含むか又はからなる、請求項５に記載のペプチド。
【請求項７】
一緒に連結された、アミノ酸配列ＮＩＹＰＳＤＳＹＴＮＹＮＱＫＦＫＤ（配列番号８）を含む２つ以上のペプチドを含むか又はからなる、請求項１に記載のペプチド。
【請求項８】
一緒に連結された、アミノ酸配列ＬＲＧＬＬＰＤＹ（配列番号１０）を含む２つ以上のペプチドを含むか又はからなる、請求項３に記載のペプチド。
【請求項９】
一緒に連結された、アミノ酸配列ＱＱＹＮＳＹＰＬＴ（配列番号１６）を含む２つ以上のペプチドを含むか又はからなる、請求項５に記載のペプチド。
【請求項１０】
前記モノマーペプチドが、追加のシステイン残基によって一緒に連結されているか又は各ペプチドのＮ末端及び／又はＣ末端で追加のシステイン残基によって一緒に連結されている、請求項１～９のいずれか一項に記載のペプチド。
【請求項１１】
モノマーペプチドのホモダイマーである、請求項７に記載のペプチドであって、前記モノマーペプチドが、アミノ酸配列ＣＮＩＹＰＳＤＳＹＴＮＹＮＱＫＦＫＤ（配列番号１５９）からなる、上記ペプチド。
【請求項１２】
モノマーペプチドのホモダイマーである、請求項８に記載のペプチドであって、前記モノマーペプチドが、アミノ酸配列ＣＬＲＧＬＬＰＤＹ（配列番号１６０）からなる、上記ペプチド。
【請求項１３】
モノマーペプチドのホモダイマーである、請求項９に記載のペプチドであって、前記モノマーペプチドが、アミノ酸配列ＣＱＱＹＮＳＹＰＬＴ（配列番号１６１）からなる、上記ペプチド。
【請求項１４】
化学的に修飾されて生物学的物質若しくは合成物質に結合した、又は酵素、指標化合物、薬物、毒素、若しくは放射性標識に抱合された、請求項１～１３のいずれか一項に記載のペプチド。
【請求項１５】

請求項１～１３のいずれか一項に記載のペプチドをコードする核酸分子。
【請求項１６】
請求項１５に記載の核酸分子を取り込んだ宿主細胞。
【請求項１７】
請求項１１に記載のペプチドを、医薬的に許容可能なキャリアとともに含む、医薬組成物。
【請求項１８】
少なくとも１つの追加のペプチドと混合されて又は２つの追加のペプチドと混合された請求項１１に記載のペプチド、及び医薬的に許容可能なキャリアを含む医薬組成物。
【請求項１９】
以下：
（ｉ）請求項１１に記載のペプチド、及び
（ｉｉ）請求項１２に記載のペプチド、及び
（ｉｉｉ）請求項１３に記載のペプチド
の組合せを、医薬的に許容可能なキャリアとともに含む、医薬組成物。
【請求項２０】
請求項１１に記載のペプチド、又は請求項１７～１９のいずれか一項に記載の組成物を含む、高インスリン血症、高グルカゴン血症、インスリン抵抗性及び／若しくはグルコース不耐性、インスリン依存性真性糖尿病（ＩＤＤＭ）又はインスリン非依存性真性糖尿病（ＮＩＤＤＭ）を治療することにおける使用のための医薬組成物。
【請求項２１】
自己免疫抗体の存在又はレベルについて個体から得られた血液試料、血漿試料、若しくは血清試料、又は他の体液を試験する方法であって、前記血液試料、血漿試料、若しくは血清試料、又は他の体液を、請求項１～１４のいずれか一項に記載のペプチドと、前記自己免疫抗体に対する標的の存在下で接触させること、及び特異的に標的に結合する前記自然発生の自己抗体の量を検出することを含む方法。
【請求項２２】
前記標的は、Ｔ細胞受容体Ｖβ鎖上の少なくとも１つのエピトープを同定する抗ＴＣＲ　Ｖβポリクローナル免疫グロブリン分子若しくは抗ＴＣＲ　Ｖβモノクローナル免疫グロブリン分子又はその任意の一部であり、
前記ペプチド、抗体、及び／又は標的は標識されるか又はされない、
請求項２１に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、ＧＰＩ連結エピトープに対する反応性を有する抗体に由来するペプチド及び機能的に等価なリガンドを提供する。これらのペプチドは、様々な疾患の療法及び診断において使用することができ、これら疾患はすべて、ＧＰＩ連結エピトープと反応性である自己抗体の体内における不適切な存在により引き起こされると考えられる。本発明は、さらに、生体を危険にさらして疾患を引き起こすこれらの自己抗体の作用機構を記載し、且つ疾患の予防及び上記自己抗体の検出の方法を記載する。
【０００２】
本明細書中に援用される刊行物、特許、及び特許出願はすべて、参照により全体が援用される。
【背景技術】
【０００３】
本発明は、自己免疫疾患及び自己免疫であると現在考えられていない他の疾患の原因に関する新しい概念に関する。この概念は、国際特許出願ＷＯ９９／０５１７５に初めに記載され、特異的な反応性を有する自然発生の自己抗体の発生が糖尿病等の様々な自己免疫疾患に関連づけられた。その概念は、感染性若しくは非感染性の起源の、遺伝的素因を有

する若しくは有していないほとんどの疾患又は老化過程と関連する状態が多特異性自己抗体の発生により顕性になる又は悪化するというものである。母集団のうちの多くがこの自己抗体を産生し、この自己抗体は、インスリン及び／若しくはＧＰＩ連結型分子、自己抗体により認識された他の調節分子、並びにリン脂質により制御される又はこれらに影響を与える血中グルコースレベル、インスリンレベル、他のホルモンレベルにより影響を与えられるすべての組織並びに器官を危険にさらす。これらの自己抗体は、老化関連疾患及び年齢関連疾患を速め、癌を促進し、遺伝的素因に基づくにせよ基づかないにせよ疾患の顕性化を媒介し、且つ感染作用物質に対する第一線の防御を妨害する可能性を有している。すなわち、個々の敏感性に依存して、１つ又は複数の問題の状態又は疾患につながる自己抗体の生産となる根底にある病原性の問題がある。類似するものとしては、任意の所定の医薬品に対するものであろう。１つ又は複数の副作用がある可能性があり、その医薬品の非存在下では副作用は存在しないであろう。したがって、これらの抗体は、同一の機構を介して顕性化された多数の異なる障害の原因となると考えられる。

【０００４】

病原性自己抗体は、抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体、シグナリング能力を有する分子、ホスファチジルイノシトールを含むリン脂質、インスリン作用についてのセカンドメッセンジャー、一本鎖ＤＮＡ及び二本鎖ＤＮＡ、並びにＧＰＩ連結の要素を認識するモノクローナル抗体により代表される。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００５】

ある種の療法が、本明細書中に述べられる疾患及び状態のために存在しているが、これらの疾患のほとんどが問題で残っており、罹患及び死亡の重要な原因となっている。したがって、これらの状態の予防、治療、及び診断に有効である導き出されるべき新規な療法に対する多大な必要性が残っている。もちろん、本明細書中に述べられる種類の種々様々な疾患を考慮し、これらのすべての疾患に有効となるであろう単一の療法を導き出すことが可能になれば多大な利益となるであろう。

【０００６】

出願人は、ペプチド中和抗体と称するある種のペプチド又は抗体が、種々様々な疾患及び状態の予防、療法、及び診断において使用されてもよいことをここで確立した。

【課題を解決するための手段】

【０００７】

本発明によれば、ＧＰＩ連結エピトープに対する反応性を有する抗体に由来するペプチド又は機能的に等価なリガンドが提供される。

【０００８】

出願人の調査から明らかになった概念は、多くの疾患が、ある種の自己抗体の発生により顕性になる又は悪化するというものである。この抗体は、ＧＰＩ連結エピトープに対する反応性を有するが、この抗体が抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体、シグナリング能力を有する分子、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルセリン、及びカルジオリピン（ジアシルグリセロール）を含むリン脂質、リン脂質グリカン、インスリン作用のセカンドメッセンジャー、一本鎖ＤＮＡ及び二本鎖ＤＮＡ、並びにＧＰＩ連結の要素、におけるエピトープに対する反応性を示すという意味で多特異性である。この発見の要素は、国際特許出願ＷＯ９９／０５１７５（Ａ．Ｍａｔｏｓｓｉａｎ－Ｒｏｇｅｒｓ）中に最初に報告され、その全体の内容が参照により本明細書中に援用される。

【０００９】

これらの自己抗体の存在に関連づけられた障害の１つは糖尿病である。糖尿病の因果関係に関する現在の考えは、感染及び自己免疫Ｔ細胞によるβ細胞の破壊の理論（後に、多くの知られている自己抗体の発生につながる）の間のいかなる機構的リンクをも成していない。糖尿病患者における初期のインスリン産出量における増加及びグルカゴン分泌の調節不全についての重要な観察もまた現在の理論により説明されていない。

【００１０】
本発明が基づく概念を糖尿病の特異的な症例に適用させると、感染は、モノクローナルＴ細胞又はポリクローナルＴ細胞の増殖及びその後恒常的に調節されるＴ細胞数の増加をもたらす。これは、異なるＴ細胞を同定する抗体（抗ＴＣＲ　Ｖβ）を産生させるＴ細胞受容体（ＴＣＲ）断片を放出するＴ細胞の死に関わる（１）。上記抗体は、順番に、抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体の発達を刺激し得る。これらのモノクローナル抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ研究において、抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体だけではなくヒト膵臓α細胞にも結合する（ＷＯ９９／０５１７５を参照されたい）。これらの抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体は、カルジオリピン、ホスファチジルセリン、及びホスファチジルイノシトール等のリン脂質に対しても反応性である。

【００１１】
抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体は、ＧＰＩ連結の要素の１つであるホスファチジルイノシトールを抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体の交差反応性で認識することによりα細胞上のＧＰＩ連結型分子を認識すると考えられる。ホスファチジルイノシトールは、ＧＰＩ連結型標的分子に対する抗ＧＰＩ抗体の結合を著しく阻害することが実証された（２）。ＧＰＩ連結は、インスリンに活性化されたホスホリパーゼを介したインスリン作用に感受性である（３，４）。ＧＰＩ連結型分子は、ホスホリパーゼにより速やかに加水分解されるが、培養下垂体プロラクチン分泌細胞においてセカンドメッセンジャーを産生させることが示された（５）。したがって、α細胞上のＧＰＩ連結型分子に結合する抗体が、どのようにして、これらの細胞によるグルカゴン分泌の際のインスリンによる正常な負のフィードバックを破壊し、その結果として、グルカゴン産出量を増加させるかを想定することは可能である。

【００１２】
グルカゴンは、島のβ細胞におけるｃＡＭＰ生産を刺激することにより栄養素誘発性のインスリン分泌に関与する；精製β細胞からのインスリン生産は、グルカゴン又はα細胞の追加後に著しく増加する（６）。グルカゴンはまた、グルコースに応じたパルス状インスリン放出の振幅を増強することも示された（７）。したがって、膵島細胞に対する上記抗体の影響によりインスリンの過剰生産となるはずである。

【００１３】
これが、実際に、ＷＯ９９／０５１７５に提示された症例及びデータであることが示されたことは、この主張を支持する。死体ドナーから単離されたヒト膵島細胞をモノクローナル抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体に暴露させると、インスリン分泌は、対照細胞と比較して調節不全となることがわかった。したがって、膵臓α細胞に対する抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体のｉｎ　ｖｉｔｒｏでの結合は、インスリン分泌の調節不全につながる。さらに、新たに診断された糖尿病患者の子供において、自己抗体が、モノクローナル抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体に結合することがわかった（表２を参照されたい）。これらの自己抗体は、抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体に類似している。これらの自己抗体は、高血糖及び逆調節欠陥を生じさせる、糖尿病患者における正常な生理的な刺激に対するα細胞の応答性の欠如の原因である可能性がある。モノクローナル抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体は、おそらく標的分子がその自己抗体によりダウンレギュレートされている又はすでに飽和されているといった理由で慢性Ｉ型糖尿病患者の島に結合しない、という事実により、確かにこれらの分子についての役割が示唆される。

【発明を実施するための形態】
【００１４】
ペプチド
上記に記載される多重特異性自己抗体を代表するモノクローナル抗体の構造に基づくペプチドが今すでに考案されている。上記ペプチドは、ウサギにおいて免疫原性であり且つヒト血清の広域スペクトルと反応した抗体の産生をもたらすことが示された。上記ペプチドは、ヒト患者における有用な治療効果を提供することがさらに示された。したがって、これらのペプチド又は等価なリガンドに対して産生されたポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体並びにペプチド及び等価なリガンドそれら自体は、治療上及び分析技術にお

いての両方で、自己抗体又は自己抗体に対して作製された中和抗体の存在を定性的に又は定量的に検出するために使用されてもよいことが提唱される。

【００１５】

本明細書中に使用されるように、用語「ペプチド」は、ペプチド結合又は修飾されたペプチド結合（つまりペプチドアイソスター）によりお互いに結合したアミノ酸を含む任意の部分を含む。この用語は、短鎖（５～２０個のアミノ酸）及びより長鎖のオリゴペプチド（２０～５００個のアミノ酸）の両方を言う。好ましくは、ペプチドは、ペプチド結合又は修飾されたペプチド結合によりお互いに結合した、少なくとも５個、少なくとも１０個、少なくとも１５個、少なくとも２０個、少なくとも２５個、少なくとも３０個、少なくとも３５個、又は少なくとも４５個のアミノ酸を含む。

【００１６】

好ましくは、本発明によるペプチドは、ＧＰＩ連結エピトープ及び１つ又は複数の以下の部分に対する反応性を有する抗体のアミノ酸配列を含む：抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体、シグナリング能力を有する分子、リン脂質（ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルセリン、カルジオリピン（ジアシルグリセロール）、又はリン脂質グリカンを含む）、インスリン作用のセカンドメッセンジャー、及び一本鎖ＤＮＡ又は二本鎖ＤＮＡ。抗体は、非網羅的な記載から例として与えられたヒト膵臓α細胞、甲状腺の濾胞細胞、副腎髄質、胃及び腸管、唾液腺、卵巣、横紋筋、並びに結合組織の細胞を含む１つ又は複数の細胞型に対する反応性をさらに示してもよい。用語「反応性」は、抗体が、特異的結合が示されない他の抗原に対する抗体の親和性よりも実質的に高い親和性を、記載された抗原に対して有することを意味する。好ましくは、この実質的により高い親和性は、少なくとも１．５倍、より好ましくは少なくとも２倍、より好ましくは５倍、１０倍、１００倍、１０００倍、１０，０００倍、１００，０００倍、$10^6$倍、又はそれ以上である。抗体は高度に特異的であるけれども、特定の抗体は、１つを超える抗原に対して高度に特異的である可能性があることは当業者により理解されるだろう。用語「交差反応性」を含む様々な用語はこの現象を説明するために当技術分野で使用されている。抗体が交差反応する抗原は、構造的に類似していてもよく、又は構造的に類似していなくてもよい。上記に記載されたＧＰＩ連結エピトープ及び１つ若しくは複数の部分又は細胞型に対する反応性を有するこれらの抗体は、上記「交差反応性」の例である。

【００１７】

したがって、本発明によるペプチドは、上記に記載された特性を有する抗体の断片であってもよい。たとえば、上記断片は適切な抗体の可変領域に由来してもよい－Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、及びＳｃＦｖ部分は、有利な特性を有する抗体断片の例である。上記抗体断片を構築する方法は、当技術分野で十分に文書化されている（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｈａｍｅｓ，Ｂ．Ｄ．及びＧｌｏｖｅｒ　Ｄ．Ｍ．編，ＩＲＬ　Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，１９９６、Ｐｒａｃｔｉｃａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｈａｙ，Ｆ．及びＷｅｓｔｗｏｏｄ，Ｏ．Ｂｌａｃｋｗｅｌｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｌｔｄ．，２００２）。上記断片が由来する好ましい抗体は、国際特許出願ＷＯ９９／０５１７５に記載される。

【００１８】

いくつかの実施形態では、ＷＯ９９／０５１７５に開示された抗体、等価なリガンド、及びそれらの使用は、本発明の範囲から明確に除外される。

【００１９】

本発明によるペプチドが由来してもよい特に好ましい可変領域は、配列が、配列番号２（重鎖）及び４（軽鎖）として本明細書中に提示される可変領域である。これらの可変領域をコードする遺伝子は、抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体を認識する抗体を分泌するネズミモノクローナル細胞から単離された。対応するＤＮＡ配列は配列番号１及び３において提示される。

【００２０】

本発明によるペプチドが由来してもよい他の好ましい可変領域は、配列が、配列番号１

８、２０、３４、３６、５０、５２、６６、６８、８２、及び８４として本明細書中に提示される可変領域である。これらの可変領域をコードする遺伝子もまた、抗ＴＣＲ Ｖβ抗体を認識する抗体を分泌するネズミモノクローナル細胞から単離された。対応するＤＮＡ配列は、配列番号１７、１９、３３、３５、４９、５１、６５、６７、８１、及び８３において提示される。

【００２１】

本発明によるペプチドは、好ましくは、上記に記載された特性を有する抗体の超可変領域の断片であってもよい。抗体の超可変領域は、抗原の表面の部分と直接接触する領域である。この理由で、超可変領域はまた、相補性決定領域又はＣＤＲと時に呼ばれる。重鎖及び軽鎖のそれぞれは、本明細書中でＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、ＣＤＲ－Ｈ３、ＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、及びＣＤＲ－Ｌ３と名付けられた３つのＣＤＲを有している。

【００２２】

本発明によるペプチドが由来してもよい特に好ましい超可変領域は、配列が、配列番号６、８、１０、１２、１４、及び１６として本明細書中に提示される超可変領域である。

【００２３】

これらの超可変領域の配列に一致するある種のペプチドを構築し、且つ抗ＴＣＲ Ｖβ抗体に結合することができる抗原としての効力について試験した。これらのペプチドは、配列番号８、１０、及び１６において記載されるアミノ酸配列を有しており、且つ本発明による特に好ましいペプチドである。

【００２４】

本発明によるペプチドが由来してもよい他の好ましい超可変領域は、配列が、配列番号２２、２４、２６、２８、３０、３２、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５４、５６、５８、６０、６２、６４、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６として本明細書中に提示される超可変領域である。

【００２５】

本発明はまた、上記ペプチドが共に連結して、二量体又は多量体を形成してもよいことを規定する。二量体又は多量体は、ホモ二量体又はホモ多量体であってもよく、或いはヘテロ二量体又はヘテロ多量体であってもよい。提示されたエピトープの結合部位及び／又は範囲の利用能がより高くなるために結合効力が増加する可能性があるので、上記の連結した分子は、単一のペプチドを別個に使用するよりも効果的である可能性がある。ペプチドは直接連結してもよく、又はアミノ酸（特にグリシン）、ペプチド、若しくは化学連結基等のリンカー分子により共に連結してもよい。好ましい多量体は、配列番号８、配列番号１０、又は配列番号１６において提示されるアミノ酸配列を含むホモ二量体を含む。配列番号８、配列番号１０、又は配列番号１６において提示されるアミノ酸配列を含むホモ二量体及び付加的なＮ末端システイン残基は、ヒト患者における有用な治療効果を提供することが示された（本明細書中の実施例６及び７を参照されたい）。これらのペプチドは、アミノ酸配列が、配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５４、５６、５８、６０、６２、６４、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６において記載されるペプチドの組合せをさらに含んでいてもよい。ペプチドの好ましい組合せは、アミノ酸配列が配列番号８、１０、及び１６において記載されるペプチドを含む組合せを含む（たとえば、配列番号８及び１０、配列番号８及び１６、配列番号１０及び１６、並びに配列番号８、１０、及び１６）。

【００２６】

本発明の上記態様によるペプチドは、翻訳後プロセシング等の自然のプロセスにより又は当技術分野でよく知られている化学的修飾技術により修飾された、２０種の遺伝子コード化アミノ酸以外のアミノ酸を含んでいてもよい。本発明のポリペプチド中に通常存在していてもよい知られている修飾の中には、グリコシル化、脂質付加、硫酸化、たとえばグルタミン酸残基のガンマーカルボキシル化、、ヒドロキシル化、及びＡＤＰリボシル化がある。他の可能性のある修飾は、アセチル化、アシル化、アミド化、フラビンの共有結合

的付加、ヘム部分の共有結合的付加、ヌクレオチド又はヌクレオチド誘導体の共有結合的付加、脂質誘導体の共有結合的付加、ホスファチジルイノシトールの共有結合的付加、架橋連結（たとえばシステイン残基間）、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有結合的架橋連結の形成、システインの形成、ピログルタミン酸の形成、フォルミル化、ＧＰＩアンカー形成、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質分解性のプロセシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、アルギニン化等の、アミノ酸のタンパク質への転移ＲＮＡ媒介性の追加、及びユビキチン化が挙げられる。修飾は、ペプチド主鎖、アミノ酸側鎖、及びアミノ終端又はカルボキシル終端を含む、ペプチド中のいかなる場所においても生じ得る。

【００２７】

本発明によるペプチドは、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６において上記に明確に同定されたペプチドに相同であってもよい。一方のポリペプチドの配列が、他方のポリペプチドの配列に対して、高度に十分な程度の同一性又は類似性を有している場合、２つのポリペプチドは「相同である」と、その用語が本明細書中に使用されるように表現される。「同一性」は、整列した配列における任意の特定の位置でアミノ酸残基が配列間で同一であることを示す。「類似性」は、整列した配列における任意の特定の位置でアミノ酸残基が配列間で類似する種類であることを示す。同一性及び類似性の程度は容易に算出することができる（Ｃｏｍｐｕｔａｔｉｏｎａｌ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｌｅｓｋ，Ａ．Ｍ．編，Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８８、Ｂｉｏｃｏｍｐｕｔｉｎｇ．Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ ａｎｄ Ｇｅｎｏｍｅ Ｐｒｏｊｅｃｔｓ，Ｓｍｉｔｈ，Ｄ．Ｗ．編，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９３、Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ｄａｔａ，Ｐａｒｔ１，Ｇｒｉｆｆｉｎ，Ａ．Ｍ．及びＧｒｉｆｆｉｎ，Ｈ．Ｇ．編，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｊｅｒｓｅｙ，１９９４、Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，ｖｏｎ Ｈｅｉｎｊｅ，Ｇ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９８７、並びにＳｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｐｒｉｍｅｒ，Ｇｒｉｂｓｋｏｖ，Ｍ．及びＤｅｖｅｒｅｕｘ，Ｊ．編，Ｍ Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９１）。

【００２８】

通常、２つのペプチド（好ましくは、超可変領域等の特定の領域に関して）間の２５％を超える同一性が機能的等価の指標であると考えられる。好ましくは、本発明の第１の態様の機能的に等価なポリペプチドは、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６のうちの任意の１つに記載されるペプチドと又はそれらの活性断片と、２５％を超える配列同一性の程度を有している。より好ましいポリペプチドは、これらのペプチドと又はそれらの活性断片と、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％、又は９９％を超える同一性の程度をそれぞれ有している。

【００２９】

同一性の割合は、本明細書中で言及されるように、ＮＣＢＩにより指定されたデフォルトパラメーターを使用したＢＬＡＳＴバージョン２．１．３を使用して決定される（米国バイオテクノロジー情報センター（ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ）；ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／）［Ｂｌｏｓｕｍ ６２ ｍａｔｒｉｘ；ｇａｐ ｏｐｅｎ ｐｅｎａｌｔｙ＝１１及びｇａｐ ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ ｐｅｎａｌｔｙ＝１］。

【００３０】

したがって、相同ペプチドは、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６において上記に明確に同定されるペプチドの自然の生物学的変異体（たとえば対立遺伝子変異体又はペプチドが由来する種内の地理的変異）及び突然変異体（アミノ酸の置換、挿入、修飾、又は欠失を含む突然変異体等）を含む。上記突然変異体は、１つ又は複数のアミノ酸残基が、保存アミノ酸残基又は非保存アミノ酸残基（好ましくは保存アミノ酸残基）により置換されるペプチドを含んでいてもよく、上記置換されたアミノ酸残基は、遺伝子コードによりコード化されたアミノ酸残基であってもよく又はなくてもよい。典型的な上記置換は、基Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、及びＩｌｅの間、Ｓｅｒ及びＴｈｒの間、酸性残基Ａｓｐ及びＧｌｕの間、Ａｓｎ及びＧｌｎの間、塩基性残基Ｌｙｓ及びＡｒｇの間、又は芳香族残基Ｐｈｅ及びＴｙｒの間とする。いくつかの、すなわち、１～５個、１～３個、１～２個の間又はただ１つのアミノ酸が、任意の組合せで置換される、欠失する、又は追加される変異体が特に好ましい。タンパク質の特性及び活性を変化させないサイレント置換、追加、及び欠失が特に好ましい。上記突然変異体は、１つ又は複数のアミノ酸残基が上記に記載される置換基を含むペプチドをさらに含む。

【００３１】

上記変異体は、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６において本明細書中に明確に同定されたペプチドの拡張バージョン又は切断バージョンを含む。拡張変異体については、配列のＣ末端及び／又はＮ末端での付加的な残基がペプチド断片に含まれる場合、これらのペプチドの抗原領域が正確に折り重なり、且つ抗原活性を示すだろうということが大いに考えられる。たとえば、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６において本明細書中に明確に同定されたペプチドからの又は相同配列からの付加的な５、１０、２０、３０、４０、５０、１００個、又は２００個もの数のアミノ酸残基が、ポリペプチド断片が正確に折り重なる能力を害することなく、ペプチドの境界域のＣ末端及び／又はＮ末端のいずれか又は両方において含まれていてもよい。

【００３２】

これらのペプチドの切断変異体については、１つ又は複数のアミノ酸残基が、これらのペプチドが正確に折り重なる能力を損なうことなく、ペプチドのＣ終端又はＮ終端のいずれか又は両方において通常欠失していてもよい。

【００３３】

修飾した、変異した、又は置換したペプチドを使用する理由は、たとえば、野性型ペプチドの治療的及び／又は薬物動態学的特性に対して類似する又は改善された治療的及び／又は薬物動態学的特性を有するペプチドを産生するためであってもよい。上記ペプチドは、たとえばその生物学的標的に対する結合において、野性型ペプチドの効力を保有しているはずである。たとえば、対象への注射後のペプチダーゼによる開裂に対するペプチドの敏感性が問題となる場合、特に感受性のペプチド結合を非開裂のペプチドミメティックと交換することにより、より安定した、したがって、治療に、より有用なペプチドを提供することができる。同様に、Ｌ－アミノ酸残基の交換は、タンパク質分解に対してペプチドの感受性をより小さくし、最終的に、ペプチド以外の有機化合物に、より類似させる標準的な方法である。ｔ－ブチルオキシカルボニル、アセチル、テイル（ｔｈｅｙｌ）、スクシニル、メトキシスクシニル、スベリル（ｓｕｂｅｒｙｌ）、アジピル、アゼライル（ａｚｅｌａｙｌ）、ダンシル、ベンジルオキシカルボニル、フルオレニルメトキシカルボニ

ル、メトキシアゼライル（ｍｅｔｈｏｘｙａｚｅｌａｙｌ）、メトキシアジピル、メトキシスベリル（ｍｅｔｈｏｘｙｓｕｂｅｒｙｌ）、及び２，４，－ジニトロフェニル等のアミノ末端ブロッキング基もまた有用である。ペプチドの荷電したＮ終端及びＣ終端のブロッキングは、疎水性細胞性膜を介した及び細胞中へのペプチドの通過を高める付加的な有益性を有するであろう。ペプチドミメティック及び他の非ペプチドミメティックの合成及び開発のための技術は当技術分野でよく知られている（たとえば、Ｈｒｕｂｙ　ＶＪ及びＢａｌｓｅ　ＰＭ，Ｃｕｒｒ　Ｍｅｄ　Ｃｈｅｍ　２０００，７：９４５－７０、Ｇｏｌｅｂｉｏｗｓｋｉ　Ａら，Ｃｕｒｒ　Ｏｐｉｎ　Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖ　Ｄｅｖｅｌ　２００１，４：４２８－３４、Ｋｉｍ　ＨＯ及びＫａｈｎ　Ｍ，Ｃｏｍｂ　Ｃｈｅｍ　Ｈｉｇｈ　Ｔｈｒｏｕｇｈｐｕｔ　Ｓｃｒｅｅｎ　２０００；３：１６７－８を参照されたい）。たとえば、タンパク質間相互作用を崩壊させ、タンパク質複合体形成を阻害することができるミニタンパク質及び合成ミミックが記載された（Ｃｏｃｈｒａｎ　ＡＧ，Ｃｕｒｒ　Ｏｐｉｎ　Ｃｈｅｍ　Ｂｉｏｌ　２００１，５（６）：６５４－６５９）。ｉｎ　ｖｉｔｒｏ翻訳系及びｉｎ　ｖｉｖｏ翻訳系の両方を使用した、タンパク質の構造及び機能を探索する及び／又は改善するための、人為的なアミノ酸をタンパク質に取り込むための様々な方法論が文献中にさらに開示される（たとえば、Ｄｏｕｇｈｅｒｔｙ　ＤＡ，Ｃｕｒｒ　Ｏｐｉｎ　Ｃｈｅｍ　Ｂｉｏｌ　２０００，４：６４５－５２を参照されたい）。

【００３４】

この文献は、保存的アミノ酸の置換の選択が、自然のタンパク質の配列及び／又は構造についての統計学的及び物理化学的研究に基づいて実行され得る多くのモデルを提供する（たとえば、Ｂｏｒｄｏ及びＡｒｇｏｓ，Ｊ　Ｍｏｔ　Ｂｉｏｌ　１９９１，２１７：７２１－９、Ｒｏｇｏｖ及びＮｅｋｒａｓｏｖ，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ　２００１，１４：４５９－４６３を参照されたい）。タンパク質設計実験は、アミノ酸の特異的なサブセットの使用により、折り重なることができる活性タンパク質を生産することができることを示し、より容易にタンパク質構造に適用することができ且つ機能的な及び構造的なホモログ及びパラログを検出するために使用することができるアミノ酸置換の分類に役立つ（Ｍｕｒｐｈｙ　ＬＲら，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．２０００，１３：１４９－５２）。

【００３５】

本発明のペプチドは、融合タンパク質の一部を形成してもよい。たとえば組換え生産の間に、たとえば分泌配列若しくはリーダー配列、プロ配列、精製を援助する配列、又はより高度なタンパク質安定性を付与する配列を含んでいてもよい１つ又は複数の付加的なアミノ酸配列を含むことは有利であることが多い。或いは又はさらに、成熟ペプチドは、ポリペプチドの半減期を増加させるための化合物（たとえばポリエチレングリコール）等の他の化合物と融合してもよい。ペプチドはまた、生物学的物質又は合成物質に融合してもよく、酵素、指標化合物、薬物、毒素、又は標識（放射性、蛍光性他）等の部分に抱合してもよい。

【００３６】

本発明のペプチドは任意の適した方法で調製することができる。特に、調製の上記方法は、組換え生産、合成的生産、又はこれらの方法の組合せを含む。合成的生産については、ｔ－Ｂｏｃ又はＦＭＯＣベースの化学反応を固相ペプチド合成方法において使用してもよい（Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍ．Ｃｏから入手可能な“Ｓｏｌｉｄ　Ｐｈａｓｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ”，Ｓｔｅｗａｒｔ＆Ｙｏｕｎｇ編を参照されたい）。或いは、液相合成を適用してもよい（“Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ａｐｐｒｏａｃｈｅｓ　ｔｏ　ｔｈｅ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ　ｏｆ　Ｐｅｐｔｉｄｅｓ　ａｎｄ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ”，Ｌｌｏｙｄ－Ｗｉｌｌｉａｍｓ，Ｐ．，Ａｌｂｅｒｉｃｉｏ，Ｆ．，及びＧｉｒａｌｔ，Ｅ．，ＣＲＣ　Ｐｒｅｓｓ，１９９７を参照されたい）。

【００３７】

本発明によるペプチドは、配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５４、５６、５８、６０

、６２、６４、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６において上記に明確に同定されたペプチドと著しい構造上の相同性を共有していてもよい。特に、本発明によるペプチドは、配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５４、５６、５８、６０、６２、６４、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６において同定された超可変配列を有するある種の重要な超可変領域残基を共有していてもよい。配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５４、５６、５８、６０、６２、６４、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６に存在する重要な超可変領域残基は超可変領域配列の比較により同定された。

【００３８】

６つの交差反応性のネズミ抗抗ＴＣＲ　ＶβＩｇＭ及びＩｇＧモノクローナル抗体の超可変領域をクローニングし、配列決定した（本明細書中の実施例１及び５を参照されたい）。それらの抗体の超可変領域配列の分析は、交差反応性の抗ＴＣＲ　Ｖβ結合に必要な残基に関する重要な情報を明らかにする（つまり、本明細書中に記載されるような、ＧＰＩ連結エピトープに対する多特異性反応性）。

【００３９】

第１に、配列の分析は、特異的なアミノ酸が、各ＣＤＲ内のある種の位置で必須である可能性があることを示唆する（実施例５を参照されたい）。したがって、本発明のペプチドは、以下の配列のうちの１つを含んでいてもよく又はから成ってもよく、ただし、「ｘ」は任意のアミノ酸残基を示し、ただし、「－」はペプチド結合を示し、ただし、ペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の向きで示される：

【化１】

コンセンサス１ G-Y-x-F-T-x-x-x-x-x-W （ 配列番号：162）

コンセンサス２ x-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x （ 配列番号：163）

コンセンサス３ x-A-S-x-x-x-x-x-x-x-x （ 配列番号：164）

コンセンサス４ x-x-S-x-x-x-S （ 配列番号：165）

コンセンサス５ Q-Q-x-x-x-x-P-x-x （ 配列番号：166）

【００４０】

第２に、配列の分析は、クローニングされた配列に基づいた各ＣＤＲに対する「一般式」の生成を可能にした（実施例５を参照されたい）。したがって、本発明のペプチドは、以下の「一般式」のうちの１つの必要を満たすアミノ酸配列を含んでいてもよく又はから成ってもよく、ただし、括弧中に示されるアミノ酸のうちの１つは各位置で関連する場合に選択され、ただし、「－」はペプチド結合を示し、ただし、ペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の向きで示される：

【化２】

式１　G-Y-[TA]-F-T-[RNS]-[YN]-[WGN]-[IM]-[NF]-W

式２　[NWY]-I-[YND]-[PT]-[SY]-[DNT]-[SG]-[YDE]-[TP]-[NRT]-Y-[NSA]-[QD]-[KD]-F-K-[DG]

式３　[LKE]-[RG]-[GML]-[LTY]-[LTG]-[PGN]-[DY]-[YAF]

式４　[KR]-A-S-[QS]-[NDS]-[VI]-[DSG]-[TNS]-[NY]-[VLY]-[ANL]

式５　[SYR]-[AT]-S-[YRI]-[RL]-[YHA]-S

式６　Q-Q-[YG]-[NS]-[TS]-[YFS]-P-[LTP]-[TF]

【００４１】

上記「一般式」は、発明者によりクローニングされ、配列決定された交差反応性の抗体のＣＤＲ配列をすべて包含する。

【００４２】
第３に、配列の分析は、完全保存アミノ酸だけではなく、ＣＤＲの各位置で最も共通した（主要な）アミノ酸（複数可）も考慮に入れたアミノ酸式を各ＣＤＲについて生成することを可能にした（実施例５を参照されたい）。したがって、本発明のペプチドは、以下の式のうちの１つの必要を満たすアミノ酸配列を含んでいてもよく又はから成ってもよく、ただし、括弧中に示されるアミノ酸のうちの１つは各位置で関連する場合に選択され、ただし、「－」はペプチド結合を示し、ただし、ペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の向きで示される：
【化３】

式７　G-Y-T-F-T-R-[YN]-W-[IM]-N-W
式８　N-I-Y-P-[SY]-D-[SG]-Y-T-N-Y-N-Q-K-F-K-[DG]
式９　L-[RG]-G-L-L-P-[DY]-Y
式１０　K-A-S-Q-N-V-[DSG]-T-N-V-A
式１１　S-A-S-Y-R-Y-S
式１２　Q-Q-Y-N-S-Y-P-L-T

【００４３】
１つ又は複数の上記のコンセンサス配列及び式の必要を満たすアミノ酸配列を含む又はから成るペプチドは、本明細書中の実施例６及び７においてｉｎ　ｖｉｖｏで試験されたペプチドに対して等価な生物活性を有しているだろう、そして本発明に従って有用となるであろうということが考えられる。
【００４４】
実施例１及び５において同定された超可変領域配列はまた、発明者により同定された配列に対して高度なレベルの配列同一性を有し且つ関連する結合特性を有する知られている超可変領域配列を同定するためにも使用された（本明細書中の実施例８及び図１２Ａ～１２Ｅを参照されたい）。知られている超可変領域配列は、交差反応性の抗ＴＣＲ　Ｖβ結合にとって重要な超可変領域残基をさらに分析するために、実施例１及び５において同定された超可変領域配列と比較した（つまり、本明細書中に記載されるような、ＧＰＩ連結エピトープに対する多特異性反応性）。さらなる一連のコンセンサス配列及び式は、実施例５において用いられる同一の種類の分析を使用して同定された（図１２Ａ～１２Ｅを参照されたい）。
【００４５】
したがって、本発明のペプチドは、以下の配列のうちの１つを含んでいてもよく又はから成ってもよく、ただし、「ｘ」は任意のアミノ酸残基を示し、「－」はペプチド結合を示し、ペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の向きで示される：

【化４】

コンセンサス 6　G-Y-T-F-T-x-x-x-x-x-W（配列番号：167）

コンセンサス 7　G-Y-x-F-x-x-Y-x-M-x-W（配列番号：168）

コンセンサス 8　x-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x（配列番号：169）

コンセンサス 9　x-I-x-P-x-x-x-x-T-x-Y-x-x-K-F-x-G（配列番号：170）

コンセンサス 10　x-A-S-x-x-x-x-x-x-x-x（配列番号：171）

コンセンサス 11　x-A-S-x-x-x-x-x-x-L-x（配列番号：172）

コンセンサス 12　x-x-S-x-x-x-S（配列番号：173）

コンセンサス 13　x-T-S-x-L-x-x（配列番号：174）

コンセンサス 14　Q-Q-x-x-S-x-P-x-T（配列番号：175）

コンセンサス 15　Q-Q-x-N-x-x-P-x-x（配列番号：176）

【００４６】

本発明のペプチドはまた、以下の「一般式」のうちの１つの必要を満たすアミノ酸配列を含んでいてもよく又はから成ってもよく、ただし、括弧中に示されるアミノ酸のうちの１つは各位置で関連する場合に選択され、「－」はペプチド結合を示し、ペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の向きで示される：

【化５】

式 13　G-Y-T-F-T-[RNYSTDEG]-[NYF]-[WGAY]-[IMV]-[NGQH]-W

式 14　G-Y-[ATS]-F-[T/S]-[SDG]-Y-[NWV]-M-[FQHN]-W

式 15　[NWEAY]-I-[YND]-[PT]-[SYG]-[DTGY]-[SGD]-[YEGS]-[TP]-[NTYGS]-Y-[NAI]-[QDE]-[KD]-F-K-[DGN]

式 16　[YWKNLR]-I-[DN]-P-[YAEFS]-[NYS]-[GD]-[DSG]-T-[RESKN]-Y-[SAN]-[QSEP]-K-F-[KQT]-G

式 17　[KR]-A-S-[QS]-[NSDT]-[VI]-[DGSR]-[TSYNK]-[NADY]-[VYGL]-[ALD]

式 18　[RK]-A-S-[QR]-[DSG]-[IV]-[SN]-[NSG]-[YW]-L-[NHA]

式 19　[SRW]-[AT]-S-[YIT]-[RL]-[YAE]-S

式 20　[YLDTK]-T-S-[RNKV]-L-[HAG]-[SP]

式 21　Q-Q-[YGWR]-[NSAG]-S-[YSDW]-P-[LPYI]-T

式 22　Q-Q-[GNSTY]-N-[TES]-[FDWY]-P-[TYRF]-[FT]

【００４７】

本発明のペプチドはまた、以下の式のうちの１つの必要を満たすアミノ酸配列を含んでいてもよく又はから成ってもよく、ただし、括弧中に示されるアミノ酸のうちの１つは各位置で関連する場合に選択され、「－」はペプチド結合を示し、ペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の向きで示される：

【化６】

式 23 G-Y-T-F-T-[RNS]-Y-W-[IM]-N-W

式 24 G-Y-T-F-T-S-Y-W-M-H-W

式 25 N-I-Y-P-S-D-S-Y-T-N-Y-N-Q-K-F-K-G

式 26 [YW]-I-N-P-Y-N-G-D-T-[ES]-Y-N-Q-K-F-K-G

式 27 K-A-S-Q-N-V-S-T-N-V-A

式 28 R-A-S-Q-S-I-S-N-Y-L-[NA]

式 29 S-A-S-Y-R-Y-S

式 30 Y-T-S-N-L-A-S

式 31 Q-Q-Y-N-S-Y-P-L-T

式 32 Q-Q-N-N-E-D-P-[YR]-T

【００４８】

本発明のペプチドはまた、以下の式のうちの１つの必要を満たすアミノ酸配列を含んでいてもよく又はから成ってもよく、ただし、括弧中に示されるアミノ酸のうちの１つは各位置で関連する場合に選択され、「ｘ」は任意のアミノ酸残基を示し、「－」はペプチド結合を示し、ただし、ペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の向きで示される：

【化７】

式 33 [EYWSL]-I-[YSND]-[PSH]-[SGNY]-[GSNTD]-[SGD]-[YTGS]-[TIA]-[NY]-[YN]-[NAP]-[QDSEP]-[KSL]-[FVK]-[KQS]-[GR]

式 34 E-I-[YSN]-[PS]-[SGN]-[GS]-[SG]-[TGS]-T-[NY]-Y-[NAP]-[QDS]-[KS]-[FVK]-[KQ]-[GR]

式 35 x-I-x-P-S-G-G-x-T-Y-x-A-D-[KS]-[FV]-K-G

【００４９】

１つ又は複数の上記のコンセンサス配列及び式の必要を満たすアミノ酸配列を含む又はから成るペプチドはまた、上記の実施例６及び７においてｉｎ　ｖｉｖｏで試験されたペプチドに対して等価な生物活性を有しているだろう、そして本発明で用いるのに有用となるであろうということが考えられる。

【００５０】

本明細書中の他のところで述べられるように、本発明のペプチドはともに連結させて二量体又は多量体を形成してもよい。したがって、本発明は、１つ又は複数の上記のコンセンサス配列及び式の必要を満たすアミノ酸配列を含む又はから成るペプチドの二量体又は多量体をさらに提供する。たとえば、本発明は、本明細書中に記載される２つの異なるコンセンサス配列又は式の必要を満たすアミノ酸配列を含む２つのペプチドのヘテロ二量体を提供する。たとえば、本発明は、同一のコンセンサス配列又は式の必要を満たすアミノ酸配列を含む２つのペプチドのホモ二量体を提供する。

【００５１】

本発明は、本明細書中に開示されるコンセンサス配列又は式の必要を満たすアミノ酸配列を含む又はから成るペプチドであって、アミノ酸配列は、配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５４、５６、５８、６０、６２、６４、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６のうちの任意の１つと２５％を超える配列同一性の程度をさらに有するペプチドをさらに提供する。好ましくは、上記ペプチドは、配列番

号６、８、１０、１２、１４、１６、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５４、５６、５８、６０、６２、６４、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６のうちの任意の１つと、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％、又は９９％を超える同一性の程度をそれぞれ有している。

【００５２】

本発明のペプチドは、上記のコンセンサス配列のうちの１つの必要を満たすアミノ酸配列を含む又はから成るペプチドをさらに含み、ペプチドは、１つ又は複数の可変位置（つまり完全に保存されていない「ｘ」位置）で、本明細書中の対応するただし（つまり、同一のＣＤＲに対応するただし）のその位置において開示されたアミノ酸のうちの任意の１つを含む。

【００５３】

たとえば、クローニングされたＣＤＲ－Ｈ２配列（実施例５を参照されたい）から本明細書中において同定されたコンセンサス配列及び「一般式」は次のとおりである：

【化８】

コンセンサス 2　x-I-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x

式 2　[NWY]-I-[YND]-[PT]-[SY]-[DNT]-[SG]-[YDE]-[TP]-[NRT]-Y-[NSA]-[QD]-[KD]-F-K-[DG]

【００５４】

したがって、本発明のペプチドは、以下の配列を含む又はから成るペプチド等のペプチドの配列の組合せを含む：

【化９】

組合せ 1　[NWY]-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x

組合せ 2　x-I-[YND]-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x

組合せ 3　x-I-x-[PT]-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x

組合せ 4　x-I-x-x-[SY]-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x

組合せ 5　x-I-x-x-x-[DNT]-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x

組合せ 6　x-I-x-x-x-x-[SG]-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x

組合せ 7　x-I-x-x-x-x-x-[YDE]-x-x-Y-x-x-x-F-K-x

組合せ 8　x-I-x-x-x-x-x-x-[TP]-x-Y-x-x-x-F-K-x

組合せ 9　x-I-x-x-x-x-x-x-x-[NRT]-Y-x-x-x-F-K-x

組合せ 10　x-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-[NSA]-x-x-F-K-x

組合せ 11　x-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-[QD]-x-F-K-x

組合せ 12　x-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-[KD]-F-K-x

組合せ 13　x-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-[DG]

【００５５】

本発明のペプチドは、本明細書中に開示されるコンセンサス配列及び式のより複雑な組合せをさらに含む。したがって、たとえば、本発明は、以下の配列を含む又はから成るペプチドをさらに提供する：

【化１０】

組合せ 14 [NWY]-I-[YND]-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x
組合せ 15 [NWY]-I-x-[PT]-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x
組合せ 16 [NWY]-I-x-x-[SY]-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x
組合せ 17 [NWY]-I-x-x-x-[DNT]-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x
組合せ 18 [NWY]-I-x-x-x-x-[SG]-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x
組合せ 19 [NWY]-I-x-x-x-x-x-[YDE]-x-x-Y-x-x-x-F-K-x
組合せ 20 [NWY]-I-x-x-x-x-x-x-[TP]-x-Y-x-x-x-F-K-x
組合せ 21 [NWY]-I-x-x-x-x-x-x-x-[NRT]-Y-x-x-x-F-K-x
組合せ 22 [NWY]-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-[NSA]-x-x-F-K-x
組合せ 23 [NWY]-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-[QD]-x-F-K-x
組合せ 24 [NWY]-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-[KD]-F-K-x
組合せ 25 [NWY]-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-[DG]

【００５６】

本明細書中の実施例８及び９は、関連する結合特異性についての知られている超可変領域配列の分析を記載する。その分析は、公共データベースで入手可能な重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列に基づいた。いくつかの実施形態では、アクセッション番号

【化１１】

1921302A, 1921302B, A39276, B39276,
AAA20444.1, AAA20447.1, AAB32203.1, AAB32202.1, AAB46758.1, AAB46763.1,
AAB46759.1, AAB46764.1, AAB46760.1, AAB46765.1, AAB46761.1, AAB46766.1,
AAB46762.1, AAB46767.1, AAB58061.1, AAB58062.1, AAC53642.1, AAC53642.1,
AAD00604.1, AAD00605.1, AAD00606.1, AAD00607.1, AAE72083.1, AAE72082.1,
AAG30427.1, AAG30432.1, AAG30428.1, AAG30433.1, AAG30429.1, AAG30434.1,
AAG30430.1, AAG30435.1, AAG33839.1, AAG40815.1, AAK11244.1, AAL59364.1,
AAL59381.1, AAL59365.1, AAL59380.1, AAL59366.1, AAL59379.1, AAL59367.1,
AAL59378.1, AAL59368.1, AAL59377.1, AAL59369.1, AAL59376.1, AAL59370.1,
AAL59375.1, AAL59371.1, AAL59374.1, AAL59372.1, AAL59373.1, AAL67507.1,
AAL67508.1, AAL67509.1, AAL67510.1, AAL67511.1, AAP19642.1, AAP19641.1,
AAR90997.1, AAS01840.1, AAR90998.1, AAS01841.1, AAR90999.1, AAR91002.1,
AAS01843.1, AAR91003.1, AAS01844.1, AAR91004.1, AAR91005.1, AAR91007.1,
AAS01847.1, AAT68292.1, AAT76236.1, AAT76271.1, AAT76245.1, AAT76280.1,
AAT76246.1, AAT76281.1, B30502, C30502, CAA46142.1, CAA51998.1, CAA52929.1,
CAA56180.1, CAA52930.1, CAA56181.1, CAA52931.1, CAA56178.1, CAA52932.1,
CAA56179.1, CAA63586.1, CAA63587.1, CAA63589.1, CAA63590.1, CAA84376.1,
CAA84375.1, CAB45250.1, CAB45251.1, CAB45252.1, CAB45253.1, CAB46481.1,
CAB46447.1, CAB46482.1, CAB46448.1, CAC22102.1, CAC22102.1, F30502, G30502,
PC4280, PC4283, PC4281, PC4282, S67941, S67940, S69897 及び S69898

の下で保管された１つ又は複数の配列は、本発明の範囲から明確に除外される。

【００５７】

本発明の第１の態様は、本明細書中において明確に同定されるペプチドと機能的に等価であるリガンドをさらに含む。機能的に等価なリガンドは、生物学的に由来する構造であってもよく又はライブラリ（化学化合物のランダムライブラリ若しくはコンビナトリアルライブラリ等）から合成若しくは選択してもよく、機能的に等価なリガンドは、同一の機能を果たすことができ又は自己抗体若しくはその代表的なモノクローナル抗体及びそれらの誘導体と同一の標的構造に結合することができる。たとえば、上記化合物は、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６において本明細書中に明確に同定されるペプチド配列と著しい構造上の相同性を共有していてもよい。上記化合物は、スレッディング等の技術により同定されてもよい（たとえば、Ｊｏｎｅｓ，Ｄ．Ｔ．（１９９７）．Ｐｒｏｇｒｅｓｓ ｉｎ ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ｐｒｅｄｉｃｔｉｏｎ．Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．７（３），３７７－３８７を参照されたい）。上記化合物はまた、本発明の第１の態様のペプチド中和抗体又は機能的に等価なリガンドを利用するスクリーニング方法において同定されてもよい。

【００５８】

抗原に結合するために必要な位置にこれらのペプチドのアミノ酸側鎖を保有することができる任意の分子フレームワークは、本発明に従って使用するのに適しているだろうということが企図される。環状ペプチドの連結基及び結合により的確なフレームワーク中に保持された環状ペプチドがこの点で特に適合している可能性がある。このアミノ酸側鎖は、野性型ペプチドにおけるアミノ酸側鎖の位置と実質的に同一の位置に保持されていてもよい。好ましくは、環状ペプチドは、５～３０個のアミノ酸、好ましくは７～２０個のアミノ酸を含む。

【００５９】

本発明による抗原結合部位を模倣する抗原結合部位を有する生物活性ペプチドがファージライブラリを使用して産生されてもよい。抗原部位における仲間として同定されたアミノ酸残基をコードする核酸は、周囲のフレームワーク残基をコードする核酸と共に、融合させて、１０～１０００残基、好ましくは２５～１００残基のポリペプチドユニットを生じさせてもよい。この核酸断片と、ファージタンパク質、たとえばバクテリオファージｆｄのｐＩＩＩをコードする核酸断片との融合により、融合分子がファージの表面上に提示されてもよい。次いで、抗原を用いたファージライブラリのスクリーニングにより興味のあるそれらのクローンを同定することとなる。次いで、これらのクローンは、反復の一連の変異誘発及びスクリーニングにかけて、産生された分子の抗原に対する親和性を改善することができる。

【００６０】

ペプチドベースの化合物に加えて、合成分子又は有機分子は、本明細書中において明確に同定されるペプチドと機能的に等価であってもよい。コンビナトリアルケミストリーについての見解及びコンビナトリアルライブラリの生成は近年非常な速度で発展し、且つ所望の特性を有する分子の合理的な設計及び改善を容易にした。これらの技術は、本明細書中において同定されたペプチドの結合部位と同一である又は類似する結合部位を所有する分子を生成するために使用することができる。

【００６１】

上記化合物は、たとえば分子モデリングプログラム及びコンピュータ視覚化プログラムを組み合わせた標準的な合成技術を使用して、合理的な設計により生成されてもよい。これらの技術の下で、主ペプチドに類似するフレームワークを有する「リード」化合物は、様々な骨格及び成分置換基を組み合わせることにより最適化される。

【００６２】

或いは又は分子的実体の構造先導型設計における１つのステップとして、コンビナトリアルケミストリーは、フレームワーク骨格のあたりの同属のコンビナトリアルアレイの生産により、これらのペプチドの抗原部位を模倣する化合物の構造を生成する又は洗練するために使用されてもよい。これらのステップは、固相の分離及び再結合のプロセスを有する標準的なペプチド合成若しくは有機分子合成又は固相技術若しくは溶液技術を使用するパラレルコンビナトリアルユニット合成を含む可能性がある（たとえば、Ｈｏｇａｎ，１９９７及びそこに引用される参考文献を参照されたい）。

【００６３】

ペプチドを含む抗体

本発明の第１の態様のさらなる実施形態によれば、配列番号２、１８、３４、５０、６６、又は８２に提示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む抗体が提供される。配列番号４、２０、３６、５２、６８、又は８４に提示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む抗体がさらに提供される。

【００６４】

したがって、本発明は、配列番号２に提示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及び配列番号４に提示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む抗体を提供する。本発明は、配列番号１８に提示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及び配列番号２０に提示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む抗体をさらに提供する。本発明は、配列番号３４に提示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及び配列番号３６に提示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む抗体をさらに提供する。本発明は、配列番号５２に提示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及び配列番号５４に提示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む抗体をさらに提供する。本発明は、配列番号６６に提示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及び配列番号６８に提示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む抗体をさらに提供する。本発明は、配列番号８２に提示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及び配列番号８４に提示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む抗体をさらに提供する。

【００６５】

本発明は、配列番号６、８、１０、１２、１４、及び１６に提示された１、２、３、４、５、又は６つのＣＤＲ配列を含む抗体をさらに提供する。本発明は、配列番号２２、２４、２６、２８、３０、及び３２に提示された１、２、３、４、５、又は６つのＣＤＲ配列を含む抗体をさらに提供する。本発明は、配列番号３８、４０、４２、４４、４６、及び４８に提示された１、２、３、４、５、又は６つのＣＤＲ配列を含む抗体をさらに提供する。本発明は、配列番号５４、５６、５８、６０、６２、及び６４に提示された１、２、３、４、５、又は６つのＣＤＲ配列を含む抗体をさらに提供する。本発明は、配列番号７０、７２、７４、７６、７８、及び８０に提示された１、２、３、４、５、又は６つのＣＤＲ配列を含む抗体をさらに提供する。本発明は、配列番号８６、８８、９０、９２、９４、及び９６に提示された１、２、３、４、５、又は６つのＣＤＲ配列を含む抗体をさらに提供する。

【００６６】

本発明は、配列番号２、１８、３４、５０、６６、又は８２に提示されるアミノ酸配列に対して、２５％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％、又は９９％を超える同一性を有する重鎖可変領域配列を含む抗体をさらに提供する。本発明は、配列番号４、２０、３６、５２、６８、又は８４に提示されるアミノ酸配列に対して、２５％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％、又は９９％を超える同一性を有する軽鎖可変領域配列を含む抗体をさらに提供する。

【００６７】

本発明は、配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５４、５６、５８、６０、６２、６４、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８６、８８、９０、９２、９４、及び９６に提示

されるアミノ酸配列に対して、２５％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％、又は９９％を超える同一性を有する１、２、３、４、５、又は６つのＣＤＲを含む抗体をさらに提供する。

【００６８】

本発明は、本明細書中に開示されるコンセンサス配列及び式の必要を満たす１、２、３、４、５、又は６つのアミノ酸配列を含む抗体をさらに提供する。

【００６９】

本発明は、本明細書中の他のところで述べられるように、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、及びＳｃＦｖの断片等のこれらの抗体の断片をさらに提供する。

【００７０】

ペプチド中和抗体

本発明の第１の態様のさらなる実施形態によれば、本発明の第１の態様のペプチドに対する反応性を示す抗体又は機能的に等価なリガンドが提供される。上記抗体又は機能的に等価なリガンドは、特に、受身移入により治療上使用することができるので、疾患の治療及び診断に有用である。

【００７１】

ポリクローナル抗体が所望される場合、マウス、ウサギ、ヤギ、又はウマ等の選択された哺乳動物は、本発明の第１の態様のペプチドで免疫化されてもよい。動物を免疫化するために使用されるペプチドは、組換えＤＮＡ技術により誘導することができる又は化学的に合成することができる。所望される場合、ペプチドは、担体タンパク質に抱合することができる。ペプチドが化学的にカップルされてもよい通常使用される担体は、ウシ血清アルブミン、サイログロブリン、及びキーホールカサガイヘモシアニンを含む。次いで、カップルしたペプチドは動物を免疫化するために使用される。免疫化された動物からの血清は収集され、たとえば免疫親和性クロマトグラフィーによる知られている手順に従って処理される。

【００７２】

本発明の第１の態様のペプチドに対するモノクローナル抗体はまた、当業者により容易に生産することができる。ハイブリドーマ技術を使用する、モノクローナル抗体を作製するための一般的な方法論はよく知られている（たとえば、Ｋｏｈｌｅｒ，Ｇ．及びＭｉｌｓｔｅｉｎ，Ｃ．，Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５－４９７（１９７５）、Ｋｏｚｂｏｒら，Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｔｏｄａｙ ４：７２（１９８３）、Ｃｏｌｅら，７７－９６ ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．（１９８５）。

【００７３】

本発明の第１の態様のペプチドに対して生産されたモノクローナル抗体のパネルは、様々な特性について、すなわち、アイソタイプ、エピトープ、親和性等についてスクリーニングすることができる。モノクローナル抗体は、それらモノクローナル抗体が指向性の個々のペプチドの精製に特に有用である。或いは、興味のあるモノクローナル抗体をコードする遺伝子は、たとえば当技術分野で知られているＰＣＲ技術により、ハイブリドーマから単離し、適切なベクターにおいてクローニングし、発現させてもよい。

【００７４】

非ヒト可変領域がヒト定常領域に結合される又は融合されるキメラ抗体もまた（たとえばＬｉｕら，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８４，３４３９（１９８７）を参照されたい）使用されてもよい。

【００７５】

抗体は、個体における免疫原性を小さくするために、たとえばヒト化により修飾されてもよい（Ｊｏｎｅｓら，Ｎａｔｕｒｅ，３２１，５２２（１９８６）、Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎら，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３９：１５３４（１９８８）、Ｋａｂａｔら，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７：１７０９（１９９１）、Ｑｕｅｅｎら，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８６，１００２９（１９８９）、Ｇｏｒｍａｎら，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ

ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８８：３４１８１（１９９１）、及びＨｏｄｇｓｏｎら，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：４２１（１９９１））。用語「ヒト化抗体」は、本明細書中に使用されるように、ヒト抗体における等価なアミノ酸の代わりに、非ヒトドナー抗体の重鎖及び／又は軽鎖の可変ドメインにおけるＣＤＲアミノ酸及び選択された他のアミノ酸で置換した抗体分子のことを言う。したがって、ヒト化抗体は、ヒト抗体に非常によく似ているが、ドナー抗体の結合能力を有している。

【００７６】

さらなる代替では、抗体は、「二特異性」抗体であってもよく、「二特異性」抗体は、２つの異なる抗原結合ドメインを有する抗体であり、各ドメインは、異なるエピトープに対して指向性である。

【００７７】

関連する抗体の所有についてスクリーニングされたヒトからのリンパ球のＰＣＲ増幅Ｖ遺伝子のレパートリーから又はナイーブライブラリから本発明のペプチドに対する結合活性を有する抗体をコードする遺伝子を選択するためにファージディスプレイ技術は利用されてもよい（ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ，Ｊ．ら，（１９９０），Ｎａｔｕｒｅ ３４８，５５２－５５４、Ｍａｒｋｓ，Ｊ．ら，（１９９２）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０，７７９－７８３）。これらの抗体の親和性はまたチェインシャフリングにより改善することもできる（Ｃｌａｃｋｓｏｎ，Ｔ．ら，（１９９１）Ｎａｔｕｒｅ ３５２，６２４－６２８）。

【００７８】

上記の技術により生成された抗体は、ポリクローナル又はモノクローナルのいずれにせよ、免疫アッセイ、放射免疫アッセイ（ＲＩＡ）、又は酵素連結免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）における試薬として用いられてもよいという点で、付加的な有用性を有している。これらの用途において、抗体は、放射性同位体、蛍光性分子、又は酵素等の分析的に検出可能な試薬で標識することができる。

【００７９】

核酸分子

本発明の第２の態様によれば、上記に記載した本発明の実施形態のいずれか１つによるペプチド、抗体、又は機能的に等価なリガンドをコードする核酸分子が提供される。上記ペプチドをコードする核酸分子は、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、５９、６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１、８３、８５、８７、８９、９１、９３、又は９５のうちの任意の１つに記載される核酸分子のコード配列と同一であってもよい。これらの分子は、遺伝子コードの縮重の結果として、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、又は９６にそれぞれに記載されるペプチドをコードする異なる配列をさらに有していてもよい。好ましくは、精製核酸分子は、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、５９、６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１、８３、８５、８７、８９、９１、９３、又は９５のうちの任意の１つに記載される核酸配列を有する又はこれらの配列のうちの任意の１つの縮退等価物又は断片である。

【００８０】

本発明の核酸分子は、ｍＲＮＡ等のＲＮＡの形態又はたとえばｃＤＮＡ、合成ＤＮＡ、若しくはゲノムＤＮＡを含むＤＮＡの形態をしていてもよい。上記核酸分子は、クローニングにより、化学合成技術により、又はそれらの組合せにより得られてもよい。核酸分子は、たとえば、固相ホスホラミダイト化学合成等の技術を使用する化学合成により、ゲノ

ムライブラリ若しくはｃＤＮＡライブラリから、又は生体からの分取により、調製することができる。ＲＮＡ分子は、ＤＮＡ配列のｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写又はｉｎ　ｖｉｖｏ転写により通常生成されてもよい。核酸分子は、二本鎖であってもよく又は一本鎖であってもよい。一本鎖ＤＮＡは、センス鎖としても知られているコード鎖であってもよく、又は一本鎖ＤＮＡは、アンチセンス鎖とも呼ばれる非コード鎖であってもよい。

【００８１】

用語「核酸分子」は、修飾された主鎖を含む類似体等のＤＮＡ及びＲＮＡの類似体並びにペプチド核酸（ＰＮＡ）をさらに含む。用語「ＰＮＡ」は、本明細書中に使用されるように、リシンで好ましくは終わるアミノ酸残基のペプチド主鎖に連結した長さが少なくとも５つのヌクレオチドのオリゴヌクレオチドを含むアンチセンス分子又は抗遺伝子作用物質のことを言う。末端のリシンは、組成物に対して溶解性を付与する。ＰＮＡは、細胞中でのＰＮＡの寿命を延長するためにペグ化されてもよく、ＰＮＡは、相補的な一本鎖ＤＮＡ及びＲＮＡに優先的に結合し、転写伸長を停止させる（Ｎｉｅｌｓｅｎ，Ｐ．Ｅ．ら（１９９３）Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ　Ｄｒｕｇ　Ｄｅｓ．８：５３－６３）。

【００８２】

本発明の核酸分子は、成熟ペプチド又は抗体それ自体に対するコード配列；成熟ペプチド又は抗体に対するコード配列及びプロポリペプチド配列、プレポリペプチド配列、又はプレプロポリペプチド配列等のリーダー配列又は分泌配列をコードするコード配列等の付加的なコード配列；転写（終結シグナルを含む）、リボソーム結合、及びｍＲＮＡの安定性に役割を果たす転写された、翻訳されない配列等の非コード５’配列及び非コード３’配列を含むさらに付加的な非コード配列と共に、前述の付加的なコード配列を有している又は有していない、成熟ペプチド又は抗体のコード配列、を含んでいてもよいが、これらに限定されない。核酸分子は、付加的な官能基を提供するアミノ酸等の付加的なアミノ酸をコードする付加的な配列をさらに含んでいてもよい。

【００８３】

上記に記載される変異体ペプチドをコードする変異体核酸分子は、本発明の範囲内に含まれる。この点における変異体の中には、ヌクレオチドの置換、欠失、又は挿入により、本明細書中において明確に同定された核酸分子と異なる変異体がある。置換、欠失、又は挿入は、１つ又は複数のヌクレオチドに関わっていてもよい。変異体は、コード領域若しくは非コード領域又は両方において変更されてもよい。コード領域における変更により、保存的又は非保存的アミノ酸の置換、欠失、又は挿入を生じさせてもよい。

【００８４】

本発明の核酸分子はまた、様々な理由で、遺伝子産物（ポリペプチド）のクローニング、プロセシング、及び／又は発現を修飾することを含む、当技術分野で通常知られている方法を使用して、操作することもできる。遺伝子断片及び合成オリゴヌクレオチドのランダムな断片化及びＰＣＲ再構築によるＤＮＡシャフリングは、ヌクレオチド配列を操作するために使用されてもよい特異的な技術として述べられる。部位特異的変異誘発は、新しい制限部位を挿入する、グリコシル化パターンを変更する、コドン優先度を変化させる、スプライス変異体を生産する、変異を導入する等のために使用されてもよい。

【００８５】

本発明のこの態様の好ましい実施形態は、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、５９、６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１、８３、８５、８７、８９、９１、９３、又は９５のうちの任意の１つに記載される核酸分子に対してそれらの全体の長さにわたり少なくとも２５％同一である核酸分子である。好ましくは、本発明のこの態様による核酸分子は、これらの配列のうちの任意の１つを有する核酸分子に対して、その全体の長さにわたり少なくとも３０％同一である、より好ましくは、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、９９％、又はそれ以上同一である領域を含む。

【００８６】
本発明の第３の態様によれば、本発明の第２の態様の核酸分子と高ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズする精製核酸分子が提供される。本発明の第２の態様の核酸分子に部分的に又は完全に相補的である上記分子は、アンチセンスの目的又は探索目的に有用であってもよい。オリゴヌクレオチド等の上記アンチセンス分子は、当業者により知られているように、本発明のポリペプチドをコードする標的核酸を認識し、特異的に結合し、且つその標的核酸の転写を予防するために設計することができる。（たとえば、Ｃｏｈｅｎ，Ｊ．Ｓ．，Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．，１０，４３５（１９８９）、Ｏｋａｎｏ，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ．５６，５６０（１９９１）、Ｏ’Ｃｏｎｎｏｒ，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ ５６，５６０（１９９１）、Ｌｅｅら，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ ６，３０７３（１９７９）、Ｃｏｏｎｅｙら，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４１，４５６（１９８８）、Ｄｅｒｖａｎら，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５１，１３６０（１９９１）を参照されたい。用語「ハイブリダイゼーション」は、本明細書中に使用されるように、２つの核酸分子の水素結合による互いのつながりのことを言う。通常、一方の分子は固体担体に固定されることとなり、他方は溶液中に遊離することとなる。次いで、２つの分子は、水素結合に好都合である条件下で互いに接触して配置される可能性がある。標的分子に対する完全に相補的な分子のハイブリダイゼーションの阻害は、当技術分野で知られているハイブリダイゼーションアッセイを使用して検査されてもよい。（たとえば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら［前掲］を参照されたい）。次いで、実質的に相同の分子は、Ｗａｈｌ，Ｇ．Ｍ．及びＳ．Ｌ．Ｂｅｒｇｅｒ（１９８７；Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．１５２：３９９－４０７）並びにＫｉｍｍｅｌ，Ａ．Ｒ．（１９８７；Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．１５２：５０７－５１１）に教示されるように、様々なストリンジェンシー条件下での標的分子に対する完全に相同の分子の結合に競合して、阻害するだろう。

【００８７】
「ストリンジェンシー」は、異なる分子のつながりに対して非常に類似する分子のつながりに好都合である、ハイブリダイゼーション反応における条件のことを言う。高ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件は、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（１５０ｍＭ ＮａＣｌ、１５ｍＭクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５×デンハルト溶液、１０％硫酸デキストラン、及び変性させ、剪断した２０マイクログラム／ｍｌサケ精子ＤＮＡを含む溶液中での４２℃での一晩のインキュベーション、続く約６５℃での０．１×ＳＳＣ中でのフィルターの洗浄として定義される。低ストリンジェンシー条件は、３５℃で行われるハイブリダイゼーション反応に関わる（Ｓａｍｂｒｏｏｋらを参照されたい［前掲］）。好ましくは、ハイブリダイゼーションに使用される条件は高ストリンジェンシーの条件である。

【００８８】
ベクター
第４の態様では、本発明は、本発明の第２又は第３の態様の核酸分子を取り込んだ発現ベクター等のベクターを提供する。本発明のベクターは、本発明の核酸分子を含み、クローニングベクター又は発現ベクターであってもよい。したがって、本発明のペプチドは、宿主細胞内に含まれるベクター中のペプチドのコード化核酸分子の発現により組換えの形態で調製されてもよい。上記発現方法は当業者によく知られており、多数がＳａｍｂｒｏｏｋら（前掲）及びＦｅｒｎａｎｄｅｚ＆Ｈｏｅｆｆｌｅｒ（１９９８年版“Ｇｅｎｅ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｓｙｓｔｅｍｓ．Ｕｓｉｎｇ ｎａｔｕｒｅ ｆｏｒ ｔｈｅ ａｒｔ ｏｆ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ”．Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｌｏｎｄｏｎ，Ｂｏｓｔｏｎ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｓｙｄｎｅｙ，Ｔｏｋｙｏ，Ｔｏｒｏｎｔｏ）により詳細に記載される。

【００８９】
通常、所要の宿主中でポリペプチドを生産するための核酸分子を維持する、増殖させる、又は発現させるのに適している任意の系又はベクターを使用してもよい。適切なヌクレオチド配列は、たとえば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（前掲）に記載される技術等の、任意の様

々なよく知られているルーチン的な技術により発現系に挿入してもよい。通常、コード遺伝子は、プロモーター、リボソーム結合部位（細菌の発現のための）、及び任意選択でオペレーター等の制御要素の制御下に配置することができ、所望のポリペプチドをコードするＤＮＡ配列は形質転換宿主細胞においてＲＮＡに転写される。

【００９０】

特に適した発現系は、組換えのバクテリオファージ、プラスミド、若しくはコスミドのＤＮＡ発現ベクターで形質転換した細菌等の微生物；酵母発現ベクターで形質転換した酵母；ウイルス発現ベクター（たとえばバキュロウイルス）に感染させた昆虫細胞系；ウイルス発現ベクター（たとえば、カリフラワーモザイクウイルス、ＣａＭＶ；タバコモザイクウイルス、ＴＭＶ）又は細菌発現ベクター（たとえばＴｉプラスミド若しくはｐＢＲ３２２プラスミド）で形質転換した植物細胞系；或いは動物細胞系を含む。無細胞翻訳系もまた、本発明のペプチドを生産するために用いることができる。

【００９１】

本発明のペプチドをコードする核酸分子の宿主細胞中への導入は、Ｄａｖｉｓら，Ｂａｓｉｃ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（１９８６）及びＳａｍｂｒｏｏｋら，［前掲］等の多くの標準的な実験室マニュアルに記載される方法により達成することができる。真核細胞では、発現系は、系の必要性に従って、一過性（たとえばエピソーム）又は持続性（染色体組込み）であってもよい。

【００９２】

コード化ベクターは、たとえば、小胞体の内腔への、細胞膜周辺腔への、又は細胞外環境への翻訳されたポリペプチドの分泌のための、シグナルペプチド又はリーダー配列等の制御配列をコードする配列を所望のとおりに含んでいてもよい。これらのシグナルは、ペプチドに対して内在性であってもよく、又はシグナルは異種のシグナルであってもよい。リーダー配列は、細菌宿主により、翻訳後プロセシングにおいて除去することができる。

【００９３】

制御配列の他に、宿主細胞の成長に関連するポリペプチドの発現の調節を可能にする調節配列を追加することは望ましいかもしれない。調節配列は、エンハンサー、プロモーター、並びに５’非翻訳領域及び３’非翻訳領域等の、それらのベクターの翻訳されない領域である。これらは、転写及び翻訳を行うために宿主細胞タンパク質と相互作用する。調節配列の例は、調節化合物の存在を含む化学的若しくは物理的刺激又は様々な温度若しくは代謝の条件に応じて、遺伝子の発現を増加させる又は減少させる調節配列である。制御配列及び他の調節配列は、ベクターへの挿入前に、核酸コード配列にライゲーションしてもよい。或いは、コード配列は、制御配列及び適切な制限部位をすでに含んでいる発現ベクター中に直接クローニングすることができる。

【００９４】

本発明による核酸分子はまた、形質転換動物、特にげっ歯類動物を作り出すために使用されてもよい。上記形質転換動物は本発明のさらなる態様を形成する。これは、体細胞の修飾により又は遺伝的修飾を取り込むための生殖細胞系療法により局所的に行われてもよい。上記形質転換動物は、本発明のペプチドの修飾因子として有効な薬物分子のための動物モデルの産生に特に有用であるかもしれない。

【００９５】

宿主細胞

第５の態様では、本発明は、本発明の第４の態様のベクターで形質転換された宿主細胞を提供する。本発明の宿主細胞は、本発明のベクターで形質転換、形質移入、又は形質導入されてもよいが、原核生物又は真核生物であってもよい。

【００９６】

組換えペプチドの長期的で高収量の生産については、安定した発現が好ましいかもしれない。発現のための宿主として入手可能な適した哺乳動物細胞系の例は、当技術分野で知られており、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）、ＨｅＬａ、ベビーハムスター腎臓（ＢＨＫ）、サル腎臓（ＣＯＳ）、Ｃ１２７、３Ｔ３、ＢＨＫ、ＨＥＫ２９３、ボウズ黒

色腫（Ｂｏｗｅｓ　ｍｅｌａｎｏｍａ）、及びヒト肝細胞癌（たとえばＨｅｐ　Ｇ２）の細胞を含むが、これらに限定されない、米国菌培養収集所（ｔｈｅ　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ）（ＡＴＣＣ）から入手可能な多くの不死化細胞系を含む。

【００９７】

さらなる好ましい系はバキュロウイルス系である（とりわけ、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ社、サンディエゴ　ＣＡからキット形態で市販されている）。これらの技術は、当業者に一般に知られており、Ｓｕｍｍｅｒｓ及びＳｍｉｔｈ，Ｔｅｘａｓ　Ａｇｒｉｃｕｌｔｕｒａｌ　Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔ　Ｓｔａｔｉｏｎ　Ｂｕｌｌｅｔｉｎ　Ｎｏ．１５５５（１９８７）に十分に記載される。この系での使用のための特に適した宿主細胞は、ショウジョウバエＳ２細胞及びスポドプテラＳｆ９細胞等の昆虫細胞を含む。

【００９８】

当技術分野で知られている多くの植物細胞培養系及び全植物遺伝子発現系がある。適した植物細胞遺伝子発現系の例は、ＵＳ５，６９３，５０６、ＵＳ５，６５９，１２２、及びＵＳ５，６０８，１４３に記載される発現系を含む。植物細胞培養における遺伝子発現の付加的な例はＺｅｎｋ，（１９９１）Ｐｈｙｔｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　３０，３８６１－３８６３により記載された。

【００９９】

特に好ましい細菌宿主細胞の例は、連鎖球菌、ブドウ球菌、大腸菌、放線菌、及び枯草菌の細胞を含む。菌類の発現に特に適した宿主細胞の例は、酵母細胞（たとえばＳ．セレビシエ）及びコウジカビ細胞を含む。

【０１００】

発現の方法

本発明の第６の態様によれば、本発明の第１の態様の実施形態のうちの任意の１つによるペプチド、抗体、又は等価なリガンドを発現させる方法であって、本発明の第２又は第３の態様による核酸分子又は本発明の第４の態様によるベクターを宿主細胞中で発現させることを含む方法が提供される。

【０１０１】

疾患の治療

第７の態様では、本発明は、患者における疾患を治療する方法であって、本発明の第１の態様のペプチド、抗体、若しくは等価なリガンド又は本発明の第２若しくは第３の態様の核酸分子又は本発明の第４の態様のベクター又は本発明の第５の態様の宿主細胞を患者に投与することを含む方法を提供する。本発明のこの態様は、疾患の療法又は診断で使用するための、本発明の第１の態様のペプチド、抗体、又は等価なリガンド又は本発明の第２若しくは第３の態様の核酸分子又は本発明の第４の態様のベクター又は本発明の第５の態様の宿主細胞をさらに提供する。

【０１０２】

このように治療又は診断に適した疾患は、ＧＰＩ連結エピトープに対する反応性を有する自己抗体の存在により特徴づけられ、これら抗体はまた、好ましくは、抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体、シグナリング能力を有する分子、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルセリン、及びカルジオリピン（ジアシルグリセロール）、並びにリン脂質グリカンを含むリン脂質、インスリン作用のセカンドメッセンジャー、一本鎖ＤＮＡ及び二本鎖ＤＮＡ、並びにＧＰＩ連結の要素におけるエピトープに対しても反応性である。これらの自己抗体は本出願人により同定されており、体内における上記抗体の存在は、老化関連疾患及び年齢関連疾患を速め、癌を促進し、遺伝的素因に基づくにせよ基づかないにせよ疾患の顕性化を媒介し、且つ感染作用物質に対する第一線の防御を妨害すると考えられる。したがって、上記抗体の存在は、本発明による治療又は診断に適しているすべての疾患に共通した因子である。これらの状態の多くは、インスリン依存性真性糖尿病（ＩＤＤＭ）、インスリン非依存性真性糖尿病（ＮＩＤＤＭ）、器官特異的若しくは器官非特異的自己免疫疾患、心血管疾患、癌性悪液質、並びに癌、又は抗リン脂質抗体及び／若しくは高インスリン血

症及び／若しくは高グルカゴン血症及び／若しくはグルコース不耐性及び／若しくはインスリン抵抗性が存在する他の疾患の一般的な定義下に入る。これらの状態のいくつかは以下に記載される；しかしながら、これらの疾患は例として記載され、この記載は網羅的ではないことに注目すべきである。

【０１０３】

このように治療又は診断に適した疾患は、Ｉ型真性糖尿病、ＩＩ型真性糖尿病、乾癬、湿疹、白斑、黒色表皮腫、円形脱毛症、アルツハイマー病、統合失調症、うつ病、パーキンソン病、片頭痛、多発性硬化症、重症筋無力症、筋萎縮性側索硬化症及び他の運動ニューロン障害、進行性核上性麻痺、ピック病及び他の神経変性疾患、甲状腺疾患、多発性内分泌腫瘍症２Ａ型及び２Ｂ型、クッシング症候群、アジソン病、多嚢胞性卵巣症候群、性腺機能低下症、男性の早発性の禿頭症、肥満、Ｘ症候群、再発性の胎児の衰え、再発性の自然流産、再発性の血栓症、全身性エリテマトーデス、セリアック病、自己免疫胃疾患、炎症性腸疾患、関節リウマチ、強直性脊椎炎、喘息、嚢胞性線維症、骨粗鬆症及び骨減少症、扁平苔癬、白板症、再生不良性及び他の貧血、発作性夜間血色素尿症、睡眠時無呼吸、不眠、癌、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）、感染、並びに免疫調節疾患を含むが、これらに限定されない。

【０１０４】

ヒト患者についての実験は、本発明によるペプチドが、経口グルコース耐性（実施例６を参照されたい）及び糖尿病患者における自己血糖調節（実施例７を参照されたい）を改善するためにうまく使用することができることを示した。したがって、本発明による治療又は診断に適した疾患は、グルコース不耐性に関連する疾患（つまり、経口グルコース耐性試験における異常な応答に関連する）及び自己血糖調節の低下又は悪化に関連する疾患を含むが、これらに限定されない。

【０１０５】

治療の適した機構は、能動的に又は受動的に、問題の自己抗体を除去する又は自己抗体産生細胞を破壊のために標的にすることができる上記に記載されるペプチド又は同一の立体配置若しくは三次元構造を有する機能的に等価なリガンドの使用を含んでいてもよい。本発明のこの態様によれば、ペプチドは、１つずつ又は組み合わせて、単独で又はそれらペプチドの効力を促進するよう設計された作用物質と共に、リンカー要素及び担体を有する又は有していない一本鎖、二本鎖、又は複数鎖で使用されてもよい。治療の１つの機構は、これらの自己抗体に対する中和抗体を産生することによるものであって、産生された抗体が自己抗体に結合し、したがって、それら自己抗体の標的細胞又は標的分子の認識を予防する又は自己抗体と複合体を形成し、したがってそれら自己抗体の除去を支援する又はこれらの自己抗体の生産をオフにするためのものである。

【０１０６】

或いは、中和抗体又は等価なリガンドは受動的治療に使用されてもよく、そして、ポリクローナルの生産若しくはモノクローナル抗体の誘導をもたらす動物免疫化から又はヒトＢ細胞、ヒトモノクローナル抗体の不死化から又はライブラリのスクリーニングにより誘導することができる。上記抗体及び等価なリガンドの産生は上記に記載される。

【０１０７】

治療の他の方法は、クローン除去、アネルギー、サプレッサー細胞又はｖｅｔｏ細胞の生成等の耐性誘発の原理を利用して、サプレッサー細胞、ｖｅｔｏ細胞、クローン除去、クローンアネルギー、又は関連する自己抗体の予防若しくは形成若しくは放出をもたらす他の機構を生成することとなる様式で自己抗体と反応する本発明のペプチド又は上記ペプチドの最小の反応性のユニット又はペプチド中和抗体を使用して、自己抗体が作製される及び／又は分泌されるのを予防してもよい。これらの方法は、自己抗体により又はこれらの自己抗体及びそれらの配列を代表するモノクローナル抗体及びそれらの断片により認識されるペプチドの使用を含んでいてもよい。自己抗体はまた、本発明のペプチドを含む競合的又は非競合的阻害因子により、自己抗体の標的に結合することが予防され得る。さらに、標的分子又は上記分子の最小の反応性のユニットは、プラスマフェレーシス型の手順

において関連する自己抗体を選択的に除去するために、マトリックスに連結するために使用されてもよい。

【０１０８】

自己抗体はまた、細胞又は分子上の関連する標的部位に対する本発明のペプチド又は等価なリガンドの結合を予防するよう設計された競合的又は非競合的阻害因子により自己抗体の標的に結合することを予防され得る。

【０１０９】

ペプチド又はそれらのＲＮＡ誘導体及びｃＤＮＡ誘導体又は効力を保有する変更体又は産物が本明細書中に記載される同一の作用機構を利用する他の配列は本明細書中において教示される状況において使用されてもよく、ワクチンとして適したベクターでパッケージ化されてもよい。

【０１１０】

本発明による治療又は診断に適した疾患は、より詳細に以下に記載される。

【０１１１】

Ｉ型及びＩＩ型真性糖尿病

Ｉ型糖尿病は、ヒト白血球抗原ＨＬＡ　ＤＱ座に位置する強く関連する遺伝的素因を有している。９０％を超えるＩ型糖尿病を有する患者は、素因になるようなＤＱ８及び／又はＤＱ２対立遺伝子を持つが、（８，９）少数の敏感性の個体のみが臨床的な疾患に進行する。一卵性双生児においてでさえ、合致率はわずか５０％である。（１０）環境因子はＩ型糖尿病の病原性において重要な役割を果たす。（１１）

【０１１２】

症状発現前の期間中の膵島におけるβ細胞に対する損傷は、糖尿病に関連する自己抗体の発生により特徴づけられる。最も研究された抗体は、インスリン（ＩＡＡ）、（１２）グルタミン酸デカルボキシラーゼ（ＧＡＤＡ）に対するもの、（１３）タンパク質チロシンホスファターゼ関連ＩＡ－２分子に対する抗体（１４）、及び細胞質内島細胞抗体である。（１５）

【０１１３】

遺伝的敏感性を有する年齢が３か月から２歳までの小児における上記に命名された糖尿病関連抗体の出現に関する最近報告されたフィンランドの研究は、セロコンバージョンが６か月の年齢から着実に増加し、セロコンバージョンが秋及び冬の月に春及び夏と比較して著しくより高度な比率で出現したことを明らかにした。自己抗体の上昇及び糖尿病の診断におけるこの季節変動は、これらの月の間の圧倒的多数の感染に起因すると考えられた。（９）この研究において小児で検出された第１の自己抗体はインスリン（ＩＡＡ）に対するものであり、これは、著者に、インスリンが自己免疫性Ｉ型糖尿病のほとんどの症例における主要な自己抗原である可能性があると結論づけるよう導いた。この仮説のために提示された知見は、インスリンは、唯一の知られている真のβ細胞特異的自己抗原であること、第２に、ＩＡＡは、新たに診断されたＩ型糖尿病を有する小児に非常に共通していること、及び、第３に、Ｉ型糖尿病は、インスリン反応性Ｔ細胞により実験的に転移させることができるということである。（１６，１７）

【０１１４】

抗インスリン反応性の発達は抗原模倣によるためであると仮定された；しかしながら、感染作用物質及びインスリン反応性を抗原性的に関連づける実験データは現在までない。Ｉ型糖尿病の診断に先行する又は新たに診断されたＩ型糖尿病患者において注目される重要な知見は、この疾患の因果関係に関する概念の明確化という点で無視された。上記知見は、診断に先立つ、β細胞に対するストレスを示す、免疫反応性インスリンに対するプロインスリンの比の増加並びに新たに診断されたＩ型糖尿病患者における末梢インスリン抵抗性及びグルカゴン等の逆調節ホルモンの分泌における機能不全である。（１８－２０）これらの知見は、ついにはＩ型糖尿病患者におけるβ細胞の死となる進行中の疾患プロセスを実証する。インスリンに対するプロインスリン比の上昇、インスリン抵抗性、及びグルカゴン分泌の障害性プロファイルといった同一の異常はまたＩＩ型糖尿病にも当てはま

る。（２１，２２）さらに、両疾患は、合併症についての類似するプロファイルを有している。

【０１１５】

前糖尿病性及び後糖尿病性の現象を包含する、Ｉ型及びＩＩ型糖尿病の両方の誘発についての統一された仮説は、広域スペクトルの交差反応性特異性を有する新たに同定された自己抗体に基づき提示された。この自己抗体の重要な特異性は、その誘導を示すが、ＴＣＲ　Ｖβ鎖に対する抗体に対して反応性である。モノクローナル抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体に対して生産されたモノクローナル抗体は、類似する特異性の自己抗体の可能性として考えられる影響の指標として使用された。抗ＴＣＲ　Ｖβ試薬に対して産生された上記モノクローナルは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでヒト膵島からのインスリン分泌を調節不全にする能力を有し、分泌減退が後に続く分泌過多のサイクルを島細胞が分泌を停止するまで引き起こした。

【０１１６】

抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体に対して産生されたモノクローナルは、ヒトλｇｔ１１　ｃＤＮＡライブラリ及びＧＰ－２タンパク質（グリコシルホスファチジルイノシトール（ＧＰＩ）連結分子）、セクレトグラニンＩ（接着性タンパク質、Ｎ末端ジスルフィド結合ループペプチドを介して膜に結合するセリンリン酸化チロシン硫酸化Ｏ－グリコシル化ダブレット）、ラミニン結合タンパク質（転移に関連する６７ｋＤの脂肪酸アシル化接着性タンパク質）、特にＥＳＲＰＩ（新たに同定された、Ｎ末端ジスルフィド結合分子）をコードした同定されたクローンをスクリーニングするために使用された。これらの分子はシグナリング特性を有している。

【０１１７】

モノクローナル抗体により、ヒト島α細胞、甲状腺、副腎、胃、消化管、並びに筋肉及び結合組織等の他の組織を含む多くの他の内分泌器官における細胞が強度に染色された。モノクローナル抗体生産クローンは、抗ＴＣＲ　Ｖβモノクローナル試薬及びリン脂質の指標として使用されたカルジオリピンに対するスクリーニングにより選択された。上記交差反応性特異性を有するクローンからの上澄液もまた、ホスファチジルイノシトール及びホスファチジルセリン等の他の陰イオン性リン脂質と反応することが示された；上澄液はまた、一本鎖ＤＮＡ及び二本鎖ＤＮＡとも反応した。

【０１１８】

抗ＴＣＲＶβ試薬と反応する自己抗体は上記のような同一の交差反応性をさらに有しており、したがって、類似する特異性のモノクローナル抗体について実証されるように調節不全インスリン分泌の原因となることが仮定される。これらの抗体がインスリン分泌を調節不全にする機構は、グルカゴン分泌の増加をもたらすα細胞の調節不全により引き起こされた、インスリンを分泌するようβ細胞にかけられる圧力の増加によるものと仮定される。インスリン分泌に対するグルカゴンの影響の強化はよく知られている。分離β細胞によるインスリンの分泌は、グルカゴン、α細胞、又はｃＡＭＰの追加により増幅する。（６）自己抗体は、ＧＰＩ連結のイノシトールホスホグリカン部分に結合することにより、インスリン活性化ホスホリパーゼによるそれら部分の開裂を予防し、その結果として、それら部分のシグナリング特性に影響を与え得る。上記分子のシグナリング特性は十分に記載された。（５，２３）ホスホイノシトールグリカンに結合する同一の能力により、自己抗体は、インスリン作用の媒介物を掃討し、その結果として、インスリン抵抗性又は障害性インスリン作用を引き起こし得る。イノシトールホスホグリカンの不適当な産生／放出はインスリン抵抗性のヒトにおいて実証された。（２４）

【０１１９】

乾癬

乾癬は糖尿病に関連する疾患である；（２５，２６）標準体重又は過体重を有する、遺伝性糖尿病の素因を有していない乾癬患者はインスリン抵抗性である。（２７）正常な血漿グルコースを有する乾癬対象は、２時間ＯＧＴＴの間、対照と比較して著しく高度なインスリンレベルを有していた。（２８）同一の研究では、１５分間静脈インスリン耐性試

験の間のグルコース消失率により、対照と比較した乾癬のインスリン抵抗性の状況が実証された。高度な値のコレステロール、トリグリセリド、及びＨＤＬコレステロールの低下は、高インスリン血症及びインスリン抵抗性に関連する異脂肪血症に付きものの乾癬において実証された。（２９）ホスホリパーゼＣ／タンパク質キナーゼシグナル伝達系の活性化過剰もまた乾癬において報告され、乾癬皮膚におけるＧＰＩ連結型分子の予想された低減及び乾癬病変におけるそれら分子の事実上の消失をもたらした。（３０）

【０１２０】

湿疹

グルコース耐性は湿疹を有する患者において障害性である。著しいレベルのグルコース不耐性を実証する静脈グルコース耐性試験により３９人の患者を研究した。（３１）

【０１２１】

白斑

白斑は、大多数の症例においてメラニン形成細胞の低下に対応する後天性メラニン減少症である。表皮の基底層中に位置するメラニン形成細胞は、メラニンを生産し、メラノソームと呼ばれる細胞器官を含むが、ケラチン生成細胞はまた、メラニン形成細胞に対する抗酸化分子及びメラニンの合成における補因子を提供することにより関わっている。（３２）

【０１２２】

白斑は、母集団の１％に生じるが、ＩＤＤＭ患者の９％に生じる。（３３）白斑はまた、自己免疫性甲状腺炎、悪性貧血、血小板減少症等のような他の自己免疫障害と共存する。

【０１２３】

皮膚色素沈着に影響を与える因子の１つは、アルファメラニン細胞刺激ホルモン（α－ＭＳＨ）である。α－ＭＳＨのその受容体に対する結合はチロシナーゼ活性及び真正メラニン生産を増加させる。（３４）α－ＭＳＨの生産はインスリンレベルにより影響され、インスリン抵抗性、空腹時インスリンレベル、及び肥満度指数と直接相互に関連する。（３５）α－ＭＳＨの影響下でのメラノソームはメラニン形成細胞からエキソサイトーシスにより放出され、ケラチン生成細胞中に糸状仮足によって転移される。（３６，３７）しかしながら、白斑の皮膚中に生存するメラニン形成細胞はプレメラノソームを異所的に脱落させることが示され（３８）、これは、メラノソーム成熟及びエキソサイトーシスの調節が白斑において異常であることを示す。プレメラノソームの脱落は、前ＩＤＤＭ（１８）及び前ＮＩＤＤＭ（２１）の高プロインスリン血症（ｈｙｐｅｒ　ｐｒｏ－ｉｎｓｕｌｉｎａｅｍｉａ）と並列し、糖尿病におけるβ－細胞ストレスと類似している。

【０１２４】

形質転換成長因子β１（ＴＧＦβ１）はまた、チロシナーゼをダウンレギュレートすることによるメラニン形成における役割を有し、その結果として、色素沈着低下を引き起こす。（３９）ＴＧＦβはまた、メラノソームの数におけるα－ＭＳＨ誘発性の増加をブロッキングする。ＴＧＦβは、糖尿病誘発性の状況において蔓延している高グルコース状態においてアップレギュレートされる（４０）。ＴＧＦβ１はまた、メラニン形成細胞に対して補因子を提供するケラチン生成細胞に対して深刻な影響を与える。ケラチン生成細胞は、それらの表面上にＴＧＦβ結合受容体を有しており、ＴＧＦβ結合タンパク質は１５０ｋＤａのＧＰＩ連結型分子である。この分子に対する抗体は、すべてのＴＧＦβ結合タンパク質と複合体を形成することが示され、これは、１５０ｋＤａ　ＧＰＩ連結型受容体が他のＴＧＦβ受容体とヘテロマー複合体を形成することを実証する。ケラチン生成細胞は、それらの受容体をダウンレギュレートし、ＤＮＡ合成を阻害することにより、ＴＧＦベータに応答する。（４１）したがって、上記シグナリング分子のＧＰＩ連結に対する自己抗体は、ケラチン生成細胞が正常に機能するのに必要なシグナリング事象を崩壊し得る。

【０１２５】

白斑の病変及び病変周囲の両方の皮膚の表皮では、膜補因子タンパク質及び解離促進因

子ＣＤ５９の発現は、非病変の皮膚においてよりも低度である。ＣＤ５９は、自己補体溶解を防止するＧＰＩ連結型分子であり、ＣＤ５９の非存在又はダウンレギュレーション（本明細書中に記載される自己抗体による）は、白斑における抗メラニン形成細胞及び補体媒介性のメラニン形成細胞の破壊と関連する可能性がある。（４２）

【０１２６】

黒色表皮腫

白斑及び黒色表皮腫はＩＤＤＭ及びＮＩＤＤＭと類似しており、黒色表皮腫は色素沈着過剰の状況であり（ＮＩＤＤＭの高インスリン血症と類似）、白斑は色素沈着低下の状況である（ＩＤＤＭの低インスリン血症と類似）。遺伝因子により、高インスリン血症及びインスリン抵抗性を引き起こす基本的な因子により両方とも引き起こされる両方のこれらの症状の状況が説明される。インスリンの増加によるα－ＭＳＨの増加等のストレス因子に遺伝的に敏感性のメラニン形成細胞は死に得る又はメラニン形成を低減し得るが、敏感性の遺伝的欠如は色素沈着過剰を引き起こし得る。

【０１２７】

黒色表皮腫を有する患者は、高度な有病率で、異常なグルコース耐性及び高インスリン血症を有している。（４３）肥満の青年における黒色表皮腫もまた、頻繁に、高インスリン血症及びインスリン抵抗性に関連する。（４４－４６）８～１５歳の１０２，７３３人のスクリーニングされた小児について報告されたデータは、１４．４％が黒色表皮腫を有していることを示した。インスリン抵抗性及び高インスリン血症を低減するための手段は、この状態を改善するために重要と考えられる。（４７）

【０１２８】

皮膚

老化する皮膚は、エラスターゼ活性の増加、マトリックスメタロプロテイナーゼの発現の増加、及びコレステラーゼ合成における異常と相互に関連する。（４８－５０）ＧＰＩ連結型プロテオグリカングリピカンは、ケラチン生成細胞の細胞周囲の領域に存在し、増殖因子利用能を調節し、マトリックス受容体として作用する。（５１）ＧＰＩ連結型ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子受容体、ｕＰＡＲもまた、ケラチン生成細胞上に存在し、ケラチン生成細胞により分泌されたｕＰＡに結合する。ウロキナーゼ系の活性化は、創傷治癒の間及び自己免疫性の水疱形成皮膚病である天疱瘡において観察された。紫外線Ｂはこの系を活性化し、その結果は３６時間まで延長される。（５２）ｕＰＡＲが、ＧＰＩ連結の要素に対する抗体により危険にさらされる場合に引き起こされ得る損傷は、関節炎及び関連する疾患の下で記載された。エラスターゼ及びマトリックスメタロプロテイナーゼ発現に対するインスリンの影響はよく知られている。（５３，５４）本発明の抗体は、年齢、ＵＶ、及び自己免疫に関連する皮膚状態の促進において並びに遅延性創傷治癒においても役割を有すると考えられる。

【０１２９】

円形脱毛症

これは、５０歳までの母集団の約１％に影響を与える、疑われる自己免疫性の状態である。最大の発生は小児及び若年成人においてである。（５５）円形脱毛症は、様々なアトピー性の及び自己免疫性の状態と関連する。真性糖尿病は、患者の間では増加しないが、親類の間で非常に増加する。（５６－５８）早期発病の脱毛症の男性における研究によりインスリン抵抗性との関連が明らかにされた。（５９）

【０１３０】

その様々な形態における脱毛症は遺伝的に敏感性の個体におけるインスリン抵抗性の他の顕性化であり、本発明が含む疾患のスペクトルの一部であると提唱される。

【０１３１】

アルツハイマー病

アルツハイマー病は、インスリン抵抗性及び異常なグルコース耐性の特徴と関連する。アポリポタンパク質Ｅ４対立遺伝子を有していない５３２人の非糖尿病対象では、アルツハイマー病の罹患率は、正常インスリン性の（ｎｏｒｍｏｉｎｓｕｌｉｎａｅｍｉｃ）対

象における１．４％と比較して、高インスリン性の対象では７．５％であった。（６０）

【０１３２】

遊離アミノ基に対する還元糖の非酵素的共有結合的付加により形成された進行性糖化最終産物（ＡＧＥ）は、老化の間に且つ真性糖尿病において加速度的な速度で生じる。ＡＧＥは、影響を与えられた分子の物理化学的特性を変化させ、糖尿病合併症及びアルツハイマー病の一因となる細胞シグナリング及び遺伝子発現を誘発する。（６１）

【０１３３】

アルツハイマー病及びＩＩ型糖尿病の両方は、アミロイドタンパク質；膵島中の島アミロイドポリペプチド（アミリン）及びアルツハイマー病における脳中のアミロイドベータタンパク質の沈着と関連する。アミリン及びアミロイドベータタンパク質の両方はインスリン分解酵素（ＩＤＥ）により正常に分解される。ＩＤＥによるこれらの両方のアミロイドタンパク質の不完全な分解は共通の病原性機構を示す。（６２，６３）ＧＰＩ連結によって連結したタンパク質はまた、アルツハイマー病における神経変性の一因となる可能性がある。補体防御タンパク質ＣＤ５９は、アルツハイマー病患者の前頭皮質及び海馬において、非痴呆高齢患者と比較して著しく減少する。ＰＩＰＬＣにより、アルツハイマー病大脳皮質の切片から放出されたＣＤ５９は、非痴呆患者から放出されるよりも著しく少ない。アミロイドベータタンパク質は、ＣＤ５９をダウンレギュレートすることがわかった。（６４）ＧＰＩ連結に対する自己抗体は、ダウンレギュレーションを引き起こし、補体溶解に対するニューロンの敏感性を増加する可能性がある。

【０１３４】

他のＧＰＩ連結型タンパク質は、辺縁系構造と関連する脳中の成人ニューロンの部分母集団の細胞体及び樹状突起中に発現する辺縁系関連膜タンパク質（ＬＡＭＰ）である。大脳皮質内では、ｌａｍｐ転写物は、学習及び記憶に関連するエリアにおいてより豊富であり、古典的に辺縁系であると考えられた前脳及び間脳のエリアにおいて極度に発現し、非辺縁系、中央、及び後脳の領域においては低密度に発現する。ｌａｍｐ転写物は、ｉｎｓｉｔｕハイブリダイゼーション技術により成人脳中に存在することが示された。（６５）抗ＧＰＩ自己抗体によるこれらのＬＡＭＰ分子のダウンレギュレーション又は調節不全は、アルツハイマー病又は学習及び記憶に関わる他の年齢関連精神的無能力における認知機能の低下と関連し得る。

【０１３５】

ＧＰＩ連結型（アスパラギン酸プロテイナーゼ）リソソーム酵素であるカテプシンＤ（６６）もまた、アルツハイマー病における役割を有している可能性がある。カテプシンＤは、アルツハイマー病患者の前頭皮質において、非アルツハイマー病対照と比較してダウンレギュレートされるように思われる。（６７）この酵素が欠乏したマウスにおけるカテプシンＤの欠乏のいくつかの影響は、ニューロンのセロイドリポフスチンの深刻な蓄積、腸管粘膜及びリンパ器官の萎縮であることがわかり、これは、カテプシンＤが組織恒常性に必須であることを示唆する。（６８）

【０１３６】

ＧＰＩ連結型分子であるヘパラン硫酸プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）は、基底膜及び細胞膜上に遍在的に存在し、アルツハイマー病に関わることが示された。上記ＨＳＰＧの１つ、グリピカン－１は、脳アミロイド血管症及びアルツハイマー病において豊富に発現する。（６９）ＨＳＰＧは、アルツハイマー病患者の脳における神経炎斑及びコンゴ好染血管障害において存在するアミロイド線維に局在した。ＨＳＰＧはまた初期斑においても実証され、これは、ＨＳＰＧが、斑発達の早期の段階において役割を有していることを示唆する。（７０）ＨＳＰＧは、脳中の血管の完全性に寄与する、脳からの過剰コレステロールの除去の際にＨＤＬ及びＡｐｏ　Ｅと相互作用する（７１）。老人斑は、毛細血管の近傍において頻繁に見られ、血液脳関門の破綻が斑形成の前提条件である可能性があることを示唆する。（７２）血管損傷は、アルツハイマー病における重要な病原性因子であり、本発明に記載される病原性の抗体の役割と一致する。

【０１３７】

最終的に、老化する脳において変化したグルコース／エネルギー代謝並びにＩＩ型糖尿病におけるようなニューロンのインスリン受容体の脱感作（インスリン抵抗性）並びにシグナリング分子及び神経向性分子の調節不全はともに、アルツハイマー病において影響を与えられたニューロンにおけるアミロイド形成的カスケード並びに高リン酸化タウタンパク質並びに神経原線維変化の発達の一因となる。

【０１３８】

統合失調症とうつ病

統合失調症は、インスリン抵抗性に関連する脳中のグルコース代謝における異常による「セレブロース尿症」として記載された。（７３，７４）グルコース不耐性及びＩＩ型糖尿病の両方は、この群において、正常な母集団においてよりも共通している（Ｔｈｅ Ｂｒｉｔｉｓｈ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｐｓｙｃｈｉａｔｒｙ（２００４）１８４：ｓ１１２－Ｓ１１４）（Ｄｉａｂｅｔｅｓ Ｃａｒｅ ２８：１０６３－１０６７，２００５）。そう病及び陽性統合失調症は、高血糖、高ドーパミン失調（ｈｙｐｅｒｄｏｐａｍｉｎｅｒｇｉａ）、及び高セロトニン失調（ｈｙｐｅｒｓｅｒｏｔｏｎｅｒｇｉａ）と関連し、一方、うつ病及び陰性統合失調症は、低血糖、低ドーパミン失調（ｈｙｐｏｄｏｐａｍｉｎｅｒｇｉａ）、及び低セロトニン失調（ｈｙｐｏｓｅｒｏｔｏｎｅｒｇｉａ）と関連する。これらの２つの状況は疾患のスペクトルの両端にある。（７４）内因性うつ病を有する患者の約５０％において、インスリン抵抗性及び疾病の期間の間に正の相関がある。上記患者はまた、コルチゾールを過剰に分泌する。（７５）

【０１３９】

パーキンソン病

パーキンソン病（ＰＤ）は、黒質におけるドーパミン作動性ニューロンの７０～８０％の進行性の低下により特徴づけられる。（７６）ニューロンの変性は、高度なレベルのドーパミンによる酸化ストレスによるものと考えられる。（７６）ＰＤ患者からの死後の脳組織の研究により、ニューロン集団における酸化ストレスの増加及び障害性グルコース取込みの証拠が提供された。（７７）

【０１４０】

５０％～８０％のＰＤ患者は異常なグルコース耐性を有していることが報告された。（７８）この結果として高血糖となり、結果的に高インスリン血症となる。インスリンは、ニューロン代謝及びシグナル伝導における高度な調節の役割を有していることで知られている。ラットにインスリンの量を増加しながら注射するとドーパミン分泌の増加がもたらされることが示された。（７９）さらに、インスリンはドーパミン輸送体の合成及び活性を調節することが実証され、（８０）インスリンβ鎖のＣ終端からのノナペプチドは、ラットドーパミン輸送体によるドーパミン取込みを強く阻害することがわかった。（８１）上記輸送体分子は、シナプス間隙から神経伝達物質を一掃することによりドーパミン作動性シグナリングを終結させる。ドーパミン自体は、肝細胞から直接グルコースを放出することにより高血糖を生じさせることで知られている。（８２）これは、ＰＤ患者における異常なグルコース耐性の一因となり得る。

【０１４１】

脳由来の及びグリア細胞系由来の神経栄養因子は、ＰＤにおいて変性するドーパミン作動性ニューロン並びに筋萎縮性側索硬化症、睡眠障害、統合失調症、及びアルツハイマー病を含む他の神経学的障害において変性する他の交感ニューロン、感覚ニューロン及び中枢神経系ニューロンに対する強力な生存因子であることが示された。ｉｎ ｖｉｔｒｏ系では、グリア細胞由来の神経栄養因子（ＧＤＮＦ）は、ドーパミン誘発性の細胞死を６０－７０％低減した。（８３）

【０１４２】

ニュールツリン（ＮＴＮ）と呼ばれる構造的に関連するポリペプチドもまた、ドーパミン作動性ニューロン、運動ニューロン、交感ニューロン、及び感覚ニューロンに対する強力な生存因子であることが示された。ＧＤＮＦに対する受容体（ＧＤＮＦＲ－α）及びＮＴＮに対する受容体（ＮＴＮＲ－α）の両方は、膜貫通型チロシンキナーゼ受容体Ｒｅｔ

を共有するＧＰＩ連結型タンパク質である。（８４）これらの受容体タンパク質のＧＰＩ連結要素に対する自己抗体は、受容体タンパク質のシグナリング活性を不活性化し、その結果として、それらの神経栄養能力を排除し得る。

【０１４３】

片頭痛

抗リン脂質抗体及び異常なグルコース調節は片頭痛において注目された。（８５，８６）

【０１４４】

多発性硬化症

他の自己免疫障害とのＭＳの関連を決定するための、ＭＳ診療からの３５７人の続発性ＭＳ患者の研究では、１５．４％の患者は、ＭＳ及び他の自己免疫疾患を有する第１親等の親類を有することがわかった。グレーブス病、関節リウマチ、白斑、１型インスリン依存性真性糖尿病、及びブドウ膜炎は、ＭＳと関連する最も共通の自己免疫障害であった。（８７）

【０１４５】

糖尿病患者及びＭＳ患者からの自己反応性Ｔ細胞は、古典的な島及びＣＮＳ自己抗原の両方に応答した。３８人のＭＳ患者の約９０％は、Ｔ細胞増殖アッセイにおいてミエリン塩基性タンパク質（ＭＰＢ）に応答した。プロインスリン及びＩＡ－２島細胞自己抗原に対する応答は糖尿病とほぼ同じくらい共通しており、ＭＰＢ応答と同一の大きさを有していた。（８８）これらの応答は対照ではまれであった。５４人の新たに診断された糖尿病小児のＴ細胞応答の研究により、５３％がＭＰＢに応答することが示された。（８８）これらの重複するＴ細胞応答は、臨床的な第２の疾患を示さなかったが、両方の疾患に対する共通の機構を非常に示唆するものである。

【０１４６】

ＭＳ患者は、空腹時低血糖に対する敏感性が増加しており、これは、グルカゴン及びコルチゾールに関わるグルコース逆調節応答が損なわれたことを示す。（８９）高プロインスリン血症の機構はすでに記載されており、ＭＳ患者がプロインスリンに対するＴ細胞応答を有するという事実は、無症状のβ細胞損傷がＭＳ患者において蔓延していることを示す。抗ＴＣＲ　Ｖβ及びＧＰＩ連結型分子を認識する同一の自己抗体は、膵臓α細胞の調節不全を介したβ細胞損傷及び希突起膠細胞成熟の間にミエリン鞘に局在化するＧＰＩアンカータンパク質を介したミエリン鞘に対する損傷を引き起こし得る。（９０）

【０１４７】

重症筋無力症

重症筋無力症（ＭＧ）は、自己免疫性多腺性症候群Ｉ型及びＩＩ型の構成疾患であることが報告された。（９１，９２）アセチルコリン受容体（ＡＣＨＲ）及びアセチルコリンエステラーゼに対する抗体は、ＭＧの病原性における役割を有すると考えられる。（９３，９４）しかしながら、これらの抗体に対して血清陰性である、全身性ＭＧを有する患者がおり、その他の自己抗体又は因子が疾患誘発に関わることを示す。全身性ＭＧでは、ＤＮＡ自己抗体のレベルの増加が報告され（９５）、高度なレベルのループス抗凝固因子抗体もまたＭＧ患者において注目された。（９６）

【０１４８】

ＭＧは、ＡＣＨＲに対するアセチルコリン（ＡＣＭ）の結合に関わる神経筋接合部の疾患である。アセチルコリンエステラーゼはアセチルコリンを分解し、したがって、新たな作業及びシグナル伝導のために受容体を遊離する。ＡＣＨ及びアセチルコリンエステラーゼの両方は、インスリン及びグルコースのレベルによる調節に敏感性である。インスリン誘発性の低血糖は、ラット脳におけるアセチルコリンエステラーゼ活性の著しい減少を引き起こすことが報告された。（９７）高血糖性ラット脳では、アセチルコリンレベルは低減した；インスリンはこれらのレベルを増加させた。（９８）糖尿病ラットでは、アセチルコリン受容体の脱感作もまた増強される。（９９）

【０１４９】

本発明の見解から、シグナリング分子、ＤＮＡ、及びリン脂質を認識する自己抗体は、グルコース代謝及びシグナリング分子の調節不全による、ＭＧにおける神経筋異常の原因である。アセチルコリンエステラーゼは、ＧＰＩ連結型であり（１００）、これらの分子により調節不全となって、ＡＣＨのレベルの増加をもたらし、したがって、ＡＣＨ受容体を損傷する可能性がある。線毛神経栄養因子受容体（ＧＰＩ連結型でもある）の発現は、糖尿病性ニューロパシーに関わることが示された。（１０１）この受容体は、血清陽性ＭＧ患者の筋肉において減少し（１０２）、ＭＧ及び糖尿病性ニューロパシーの間の原因の類似性を示す。

【０１５０】

筋萎縮性側索硬化症、運動性ニューロン、及び関連疾患

かなりの割合の、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を有するの患者はグルコース不耐性である。しかしながら、これは、一次的代謝異常又は筋萎縮に対する二次的なものかどうかという論議があった。ＡＬＳ患者及び疾患に対する２つの対照群における正常血糖インスリンクランプ研究並びに体重により、インスリン感受性が、ＡＬＳにおいて、両対照群と比較して小さくなることが明らかにされた（１０３）。異常な血漿グルカゴンレベルもまたＡＬＳ患者において対照と比較して実証された。２つの試験食を１週間ずらして与えられた患者は、対照と比較して、空腹時並びに食後の１／２時間及び２時間で高グルカゴン性（ｈｙｐｅｒｇｌｕｃａｇｏｎａｅｍｉｃ）であることが示された。（１０４）多くのＡＬＳ患者は、ＩＩ型真性糖尿病の特徴を有することが報告された。（１０５）

【０１５１】

糖尿病の慢性的な合併症に関係する進行性糖化最終産物（ＡＧＥ）はまた、進行性核上性麻痺、ピック病、グアム島の筋萎縮性側索硬化症／パーキンソン認知症複合等の神経変性疾患の病原性に役割を果たすことが報告された。（１０６）運動ニューロンの生存及び成長は神経栄養因子に依存することで知られている。インスリン様成長因子１（ＩＧＦ－１）及びグリア細胞由来の神経栄養因子（ＧＤＮＦ）は運動ニューロンのための強力な神経栄養／生存因子である。（１０７）栄養因子の欠如は、成人ニューロンの変性をもたらすと思われる。ＡＬＳ患者においていくつかのＩＧＦ結合タンパク質の増加は見つかったが、血清ＩＧＦ－１及びインスリンレベルは著しく低減した（１０８）。したがって、グルコース／インスリン／グルカゴン代謝の改善は、運動ニューロンの生存及び成長に対してかなりの価値となるであろう。

【０１５２】

インスリン及びＩＧＦ－１以外に、ＧＤＮＦ及びニュールツリンもまた、ニューロンの生存に強力な影響を有している。ＧＤＮＦは、ｉｎ　ｖｉｖｏ及びｉｎ　ｖｉｔｒｏでの運動ニューロンの生存を促進し、細胞死からそれら運動ニューロンを救出する。ＧＤＮＦは、ヒトの骨格筋、特に神経筋接合部において最も高度に発現する。ＧＤＮＦはまた、末梢神経の軸索及び周囲のシュワン細胞内に検出された。（１０９）ＧＤＮＦ受容体、ＧＦＲα－１は、免疫組織学により有髄末梢神経及び神経筋接合部に局在した。ＲＴ－ＰＣＲによる分析もまた、ＧＦＲα－１のｍＲＮＡが骨格筋中ではなく脊髄の前角中に存在したことを示したが、これは、この分子が神経筋接合部でのＧＤＮＦの取込み及び内部移行に主要な役割を果たすことを示唆する。（１１０）ＧＤＮＦに関連する神経栄養因子であるニュールツリンはその受容体ＧＦＲα－２に結合し、ニューロンの生存も支持する。（１１１）ＧＤＮＦファミリーのリガンドに結合する、これまで同定されたすべてのＧＦＲα１～α４の受容体は、ＧＰＩ連結型であり、Ｓｒｃファミリーキナーゼのメンバーとの Ｒｅｔ相互作用を介するシグナルであり、これは、神経突起の生長及び生存に必要である。（１１２）

【０１５３】

遺伝因子は神経変性に関わり、非ＭＨＣ遺伝子が関係した。（１１３）したがって、遺伝的に危険にさらされた個体では、抗ＧＰＩ連結要素抗体は、神経細胞生存を予防するためにＧＰＩ連結型分子のシグナリングを十分に変化させ得ることが予想される。

【０１５４】

甲状腺疾患

甲状腺疾患は、グレーブス病で見つかるような分泌過多から橋本甲状腺炎における分泌減退までの状態のスペクトルを含む。甲状腺疾患の発生は、糖尿病患者間で著しく増加する。１３１０人の糖尿病成人のランダムに選択された群では、甲状腺疾患は、遊離チロキシン及び甲状腺刺激ホルモン（ＴＳＨ）の濃度の測定により評価された。最大有病率は１３．４％であり、最高レベルはＩ型糖尿病女性における３１．４％であった。（１１４）

【０１５５】

甲状腺ホルモンの合成及び分泌におけるステップはＴＳＨにより調節される。この調節機能は、イノシトールホスホグリカン（ＩＰＧ）セカンドメッセンジャーを介するシグナリングに関わる。ＴＳＨは、ＩＰＧの極性頭部の遊離を刺激する。この可溶性ＩＰＧは、甲状腺細胞におけるヨウ素代謝を調節することが示された。（１１５）ブタ甲状腺細胞から単離されたＩＰＧは、線維芽細胞及びブタ甲状腺細胞の増殖を誘発する。（１１６）

【０１５６】

甲状腺細胞は、頂端及び側底の両方に分布するＧＰＩ連結型分子に富む。（１１７）ＨＳＰＧ等のいくつかのＧＰＩ連結型分子は、甲状腺細胞の濾胞腔から側底膜までのサイログロブリン（Ｔｇ）の輸送に関わり、側底膜からＴｇは血流へ放出される。サイログロブリンは、メガリン結合部位と機能的に関連する部位を介して表面ＨＳＰＧと相互作用する。メガリンは、ＨＳＰＧ結合Ｔｇを上皮細胞を介して輸送する低密度リポタンパク質エンドサイトーシス受容体である。（１１８，１１９）

【０１５７】

ＨＳＰＧ及び他の基底膜構成要素に関わる免疫組織化学的研究は、橋本甲状腺炎において、硝子化索状腺腫、乳頭癌及び未分化癌、並びに甲状腺疾患の他の組織病理学的変異体において病理学的な基底膜変化を明らかにした。（１２０）ＧＰＩ連結型分子（ＧＦＲα１～４）のファミリーは、グリア細胞系由来の神経栄養因子（ＧＤＮＦ）に対する受容体である。これらの分子は、正常な腫瘍及び甲状腺腫瘍中、多発性内分泌腫瘍症２Ａ型及び２Ｂ型として集合的に知られている甲状腺髄様癌（ＧＦＲα４）、褐色細胞種、副甲状腺過形成、腸神経節細胞腫症、骨格異常、及び粘膜神経腫中に存在する。（１２１）

【０１５８】

クッシング症候群とアジソン病

クッシング病は、グルコース不耐性、糖尿病、中心性肥満、多毛、及び動脈血圧の上昇と通常関連する。主な診断の特徴は、２０～４０％の患者における長年のＡＣＴＨ分泌過多に起因する可能性がある高コルチゾール血症である；（１２２）これは、下垂体腺腫の非存在下で生じ得、コルチゾール分泌の増加は、自律的に分泌する微小結節又は巨大結節を伴う又は伴わない、片側の又は両側の副腎過形成によるものとすることができる。（１２３）

【０１５９】

肥満及び糖尿病を有する９０人の患者についての最近の横断的研究では、クッシング症候群の有病率は３．３％であることが報告された。（１２４）制御不良の糖尿病として存在する、クッシングの症状発現前の及び無症状の症例は、この数値をかなり増大させる。類似したやり方で、軽度の慢性的な高コルチゾール血症は、空腹時コルチゾール及び尿中遊離コルチゾールの上昇並びにヒツジコルチコトロピン放出ホルモンに対する応答の増加により反映されたＩ型糖尿病において報告された。（１２５）

【０１６０】

ＡＣＴＨ分泌過多は、下垂体腺腫非存在下では生じ得るが、高コルチゾール血症（ｈｙｐｅｒｃｏｒｔｉｓｏｌａｅｍｉａ）存在下では生じ得て、（１２６）これは、正常な負のフィードバック制御の調節不全を示唆する。いくつかの報告は、ＧＰＩ連結型分子及びホスホリパーゼＣの活性化により放出されたイノシトールホスホグリカンの、下垂体ホルモン分泌及びイノシトールホスホグリカンが刺激する、副腎、甲状腺、性腺等からのホルモンの分泌の両方の調節における役割を示す。（１２７－１２９）したがって、本明細書中に記載される自己抗体は、ＧＰＩ連結型分子に対する抗体が活性化シグナルに対する阻

害入力の低下を引き起こすことにより細胞増殖を誘発することも示されたように、ホルモンのパルス状分泌の破壊から分泌の阻害又は悪化及び腫瘍の形成までの病原性の影響を有しているだろうということが予想される。（１３０，１３１）

【０１６１】

アジソン病もまた、インスリン依存性真性糖尿病、白斑、脱毛症、悪性貧血、セリアック病、重症筋無力症、及び原発性性腺機能低下症を発症する危険性が増加した自己免疫性多腺性症候群ＩＩの構成疾患である。（９１）クッシング症候群及びアジソン病は、ともに、自己抗体に起因する内分泌過剰刺激の予後の他の例を提供する。頑強な内分泌腺は過剰分泌し続けるだろうが、遺伝的に損なわれた腺は衰えて、分泌減退が予後となるだろう。

【０１６２】

ＰＣＯＳ、性腺機能低下症、及び男性における早発性禿頭症

多嚢胞性卵巣症候群（ＰＣＯＳ）は、女性における高アンドロゲン症の９５％を占め、多毛、座瘡、中心性肥満、男性型禿頭症、及び他の物理的な男性化する変化により通常顕性となる。ＰＣＯＳ以外の鑑別診断は、クッシング症候群並びにアンドロゲン生産性の卵巣新生物及び副腎新生物を含む。アンドロゲンの障害は最も共通した内分泌病であり、１０～２０％の女性に影響を与えている。（１３２）

【０１６３】

高アンドロゲン症は、卵巣又は副腎が起源となり得るステロイド合成の全身性調節不全から起こる。この調節不全は、ホルモン作用を制御する中枢因子及び末梢因子の両方の調節から起こると思われる。ＧｎＲＨ及びＬＨの増加並びに不十分なＦＳＨは、ＰＣＯＳにおける慢性的な無排卵につながる誘起因子である。（１３３）しかしながら、高インスリン血症は、遺伝的に損なわれた個体におけるステロイド合成の調節において潜伏性の異常の引き金となることに重要な役割を有していると思われる。男性型禿頭症では、損なわれた女性及び男性の両方において、インスリンは、アンドロゲンと相互作用し、毛包及び関連する皮脂腺の発達を調節する。（１３４）

【０１６４】

ＰＣＯＳを有する対象の男性及び女性の家族のメンバーにおいてインスリン分泌の障害を検査するための５つの家族についての研究では、高インスリン血症は、２４人の女性の家族のメンバーの６９％において見つかり、そのうちの７９％はＰＣＯＳを有していた。８人の男性メンバーの中で、８８％は早発性禿頭症を有していた。（１３５）

【０１６５】

ＰＣＯＳにおける高インスリン血症は、グルコース不耐性、空腹時インスリンレベルの増加、及びインスリン抵抗性と関連する。アテローム生成脂質プロファイルもまた存在する可能性がある。ＰＣＯＳ患者は、ＩＩ型糖尿病及び心血管疾患の発生の増加を示す。（１３６）

【０１６６】

インスリン抵抗性の女性における高アンドロゲン症は、卵巣ステロイドホルモン生産に対するインスリンの刺激性の影響によるものと思われる。インスリン及びインスリン様成長因子１（ＩＧＦ－１）は、卵巣細胞における重要なステロール調節遺伝子の発現の増強により、性腺刺激ホルモン刺激性のステロイド合成を増幅することができる。（１３７）インスリン及びＩＧＦ－１はまた黄体形成ホルモンとも相乗的に作用して、副腎におけるシトクロムＰ４５０ｃ１７の活性を増加させる。インスリンは、培養ヒト顆粒膜細胞からのＩＧＦ－１結合タンパク質（ＩＧＦＢＰ－１）生産の阻害を誘発する。（１３８）ＩＧＦ－１レベル及び顆粒膜細胞上のＩＧＦ－１受容体の低下はステロイド芳香化を低減する。（１３９）高インスリン血症による莢膜細胞におけるステロイド合成の増加を含む他の因子の中でも、アンドロステンジオン及びテストステロンのエストロン及びエストラジオールへの非効率的な芳香化は循環における過剰な遊離アンドロゲンホルモンにつながる。さらに、インスリンで培養した卵巣細胞では、プロゲステロン濃度は、対照と比較して、２．５±０．２ｎｇ／ｍｌから５．４±０．３ｍｇ／ｍｌまで劇的に増加した。このホル

モンは、下垂体前葉からのＬＨ及びＦＳＨの分泌を刺激する性腺刺激ホルモン放出ホルモン（ＧｎＲＨ）のための視床下部パルス発生装置とのフィードバック関係を有している。逆に、低性腺刺激ホルモン性性腺機能低下症を有する患者は障害性インスリン感受性を有している。（１４０）

【０１６７】

インスリンがその調節の役割を発揮する多数の過程以外に、ＧＰＩ連結型分子もまた排卵プロセスに関わる。顆粒膜細胞は、ＧＰＩ連結型であるヘパラン硫酸プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）に富んでいる。標識実験は、細胞表面上のヘパラン硫酸プロテオグリカンの２０～３０％がＧＰＩ連結型であり、ホスファチジルイノシトール特異的ホスホリラーゼＣにより除去されたことを実証した。（１４１）濾胞刺激ホルモン（ＦＳＨ）及びヒト絨毛性性腺刺激ホルモンはＧＰＩ濃度における変化を誘発したが、これは、これらの分子がホルモン感受性であることを示す。（１４２）

【０１６８】

プロラクチン存在下での顆粒膜細胞上のプロラクチン受容体のシグナル伝達効果もまた、可溶性グリコシルホスファチジルイノシトール部分の産生を介するものであることが示された。ＦＳＨで初回刺激された顆粒膜細胞では、プロラクチン及びＧＰＩ部分の両方は、性腺刺激ホルモン刺激性の３β－ＨＳＤ活性を予防した。（１４３）３β－ＨＳＤはコレステロールをテストステロン経路に転換し、したがって、負のフィードバック機構はＧＰＩ部分により制御される。

【０１６９】

ＨＳＰＧはまた、抗凝固効果も有しており、濾胞において排卵前に発現し、排卵後の濾胞において一過性に減少する。ＨＳＰＧはプロテアーゼ阻害因子と相互作用し、これは、濾胞における線維素沈着の制御へのＨＳＰＧの関与を示唆する。（１４４）組織リモデリング及びタンパク質分解は排卵にとって必要とされるので、ＨＳＰＧの破壊は無排卵と関連し得る。

【０１７０】

ＨＳＰＧはまた濾胞の発達における役割も有している可能性がある。肝臓癌細胞系について行われた研究は、外因的に追加されたＨＳＰＧが内部移行され、遊離鎖が核中に出現したことを実証した。これは、Ｇ１期における細胞の停止をもたらした。（１４５）成長発達の類似する調節不全は上記ＧＰＩ連結型分子に対する抗体により濾胞細胞において生じる可能性がある。

【０１７１】

肥満

インスリン及びレプチンは、エネルギーバランス及び体重を調節する、視床下部に対する協調シグナルを提供する。インスリンレベルを増加させるとレプチン生産が刺激されることが示された。（１４６）レプチン受容体は、神経ペプチドＹ（ＮＰＹ）及びプロオピオメラノコルチン（ＰＯＭＣ）をさらに発現する視床下部ニューロン上にある。血漿レプチンを増加させるとＮＰＹ生産が阻害され、食物摂取の低減につながることが示された。（１４７）レプチンはまた、α－メラニン細胞刺激ホルモン（αＭＳＨ）のＰＯＭＣ前駆体の発現を増加させる。（１４８）アルファ－ＭＳＨは視床下部において作用し、食物摂取を減少させて、満腹を媒介する。（１４９）

【０１７２】

肥満では、高インスリン血症及び高レプチン血症はインスリン抵抗性及びレプチン抵抗性と共存する。（１５０）レプチン生産に対するインスリンの影響はインスリン抵抗性が増加するにつれて低減する。（１５１）インスリンでの３日間の前治療はレプチン誘発性の応答を無効にしたことが動物研究においても実証された。（１５０）高インスリン血症及びインスリン抵抗性が、食物摂取及び体重のレプチン誘発性の制御の調節における決定的な因子であることは明らかである。さらに、遊離脂肪酸の血漿レベルは生理的高インスリン血症の間、抑制される。（１５２）したがって、本発明によるこの状態の治療は、インスリン抵抗性の状況に関連する肥満の問題を寛解させるはずである。

【０１７３】
Ｘ症候群
これは、高インスリン血症、高コレステロール血症、高血圧症、及び冠動脈疾患により特徴づけられる代謝障害である。（１５３）アテローム硬化性病変では、Ｔカドヘリン等のＧＰＩ連結型分子が関係した。（１５４）主要な欠陥は、関連する異常を引き起こすインスリン抵抗性に伴う高インスリン血症であると考えられる。（１５５）この症候群についての原文の記載から、疾患のスペクトルは、当初認識されたよりも広いことが明らかになった。アンギナを有し冠動脈疾患を有していない男性の非肥満患者は、インスリン抵抗性で高インスリン性であることがわかり、健常対照よりも高度なトリグリセリド及び低度な高密度リポタンパク質を有していた；したがって、心筋虚血もまたＸ症候群の一部である。（１５６）高尿酸血症（１５７）及び原発性非アルコール性脂肪性肝炎（１５８）は高インスリン血症及びインスリン抵抗性と相互に関連すると思われ、したがって、代謝症候群の構成要素と考えられ得る。
【０１７４】
インスリン抵抗性及び高インスリン血症は、先天性高血圧症を有する非肥満の非糖尿病対象の７０％において観察された。血圧は、食塩感受性及びアンジオテンシンＩＩとも相互に関連するインスリン抵抗性と相互に関連している。（１５９）ｉｎ　ｖｉｔｒｏ実験でのインスリン濃度及びｉｎ　ｖｉｖｏでのインスリン感受性における変化は、$Li^+$／$Na^+$及び$Na^+$／$H^+$対向輸送（ＣＴ）に影響を与えることが示された。高度なＣＴは、高血圧症、ＩＤＤＭ、及び肥大性心筋症における心臓及び血管のリモデリングと関連する。（１６０）一般に良性の一過性の肥大性心筋症は糖尿病の母親の乳児において認識される。この状態による胎児の死が報告された。（１６１）一般に、Ｘ症候群に関連する事象は年齢に関連するが、この状態は小児期及び青年期に開始し得るという証拠がある。（１６２－１６４）
【０１７５】
抗リン脂質抗体及びループス抗凝固因子抗体に関連する疾患
抗リン脂質抗体及びループス抗凝固因子抗体は、再発性の胎児の衰え、自然流産、及び血栓症と関連する。抗リン脂質抗体を有する５１人の患者での研究では、５３回の妊娠が遂行された。３３回の妊娠における集中的な療法は、９０．０％の成功成績をもたらした；しかしながら、これらの成功事例の４８．６％では妊娠真性糖尿病が発症した。（１６５）これは、抗リン脂質抗体が、継続的な妊娠のストレス追加により明らかにされた糖尿病敏感性に対する素因になるような因子である可能性があることを示す。妊娠期間１６～３７の間の非選択性の妊娠の１６９８回の検査では、正常範囲より上の抗カルジオリピンレベルが、妊娠誘発高血圧症、子癇前症、妊娠糖尿病、真性糖尿病Ｉ型、静脈血栓症、血小板減少症、及びリウマチ学的疾患を有する患者において見つかった。（１６６）
【０１７６】
２９人の糖尿病の小児及び青年についての研究では、抗カルジオリピン抗体が、ＩＤＤＭ患者において、対照においてよりも頻繁に見つかった。抗体は、診断６か月未満の患者において、５年よりも長く糖尿病であった群においてよりも蔓延していた。これは、真性糖尿病の早期段階における異常な免疫学的応答と見なされた。（１６７）他の糖尿病研究では、カルジオリピン抗体の蔓延は、合併症を伴う糖尿病患者において、合併症を伴わない群においてよりも高度であり、（１６８）これは、糖尿病合併症におけるこれらの抗体の可能性のある役割を示唆する。
【０１７７】
血管内皮の機能不全は糖尿病合併症の発達における早期ステップであることが知られている。臨床的に明白な血管合併症を有していない４５人のＩＤＤＭ患者の研究では、３分の１は、エンドセリン１のレベルと直接相互に関連する抗カルジオリピン抗体を対照レベルよりも高度に有していた。（１６９）
【０１７８】
カルジオリピンは、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスフ

ァチジルイノシトール、ホスファチジン酸、及びホスファチジルコリン等の様々な関連するリン脂質の存在を示す標的として一般に使用される。７０個の試料についての研究では、カルジオリピン反応性は個々の実在となることが実証された。抗カルジオリピンも抗凝固因子も、他のリン脂質についてのレベルと相互に関連しなかった。（１７０）病理学的な妊娠からの大量の血清において、抗カルジオリピンについて陽性の妊娠の２８．６％は抗ホスファチジルセリン及び抗ホスファチジルイノシトールについて陽性であり、２３．８％は抗ホスファチジルコリンについて陽性であり、１９％は抗ホスファチジルエタノールアミンについて陽性であった。割合は、ＩｇＭ抗カルジオリピン抗体を有していた人々について、より高度であった。（１７１）

【０１７９】

ＳＬＥ患者での類似する研究では、患者の最も高度な反応性％はカルジオリピンに対するものであり、抗ホスファチジルセリン、ホスファチジン酸、抗ホスファチジルイノシトールが後に続いた。（１７２）最後のリン脂質つまりホスファチジルイノシトールに対する反応性は、未確定の病因の脳血管疾患を有する５１歳未満の７７人の非ＳＬＥ患者の群において最も高度に蔓延していることがわかった。（１７３）

【０１８０】

ＳＬＥ又は他の結合組織障害を有していない原発性抗リン脂質抗体症候群を有する３９人の患者の１０年間にわたる研究は、１０年の追跡後に１５人の患者が器官損傷を示したことを明らかにした。８人は半側不全麻痺を発症し、一方、３人は認知症を示した；四肢麻痺、拡張型心筋症、心筋梗塞、肺梗塞、及び末期腎疾患は、それぞれ１人の患者に存在した。（１７４）

【０１８１】

セリアック病

臨床症状を有する及び有していないセリアック病はＩ型糖尿病と通常関連する。最近の研究では、糖尿病患者中のセリアック病の有病率は５．７％であることがわかり、親類中では１．９％であった。（１７５）

【０１８２】

高度なレベルの無症状の又は無症候性のセリアック病は、胃腸科診療に関する未解明又は非応答性の疾患を有する患者中で注目された；１０８人の上記患者の４２．８％は、無症状の／無症候性のセリアック病を有していることが示された。（１７６）無症状のセリアック病の腸外マーカーは、鉄欠乏性貧血（２７％）、脱毛症及び疱疹状皮膚炎（１１．３％）、並びにＩＤＤＭ（２０％）であった。セリアック病に関連する抗体は、糖尿病患者又は彼らの第１親等の親類において発生頻度が増加することが報告された。（１７７）セリアック病の非存在下では、グルタミン転移酵素抗体の蔓延は、糖尿病患者において１３．４％、彼らの非糖尿病性の親類において７％であった；９１３人の親類の３．５％はＩｇＧグルタミン転移酵素抗体を有しており、これらのうちの４４％はＩｇＡ筋内膜抗体を有していた。（１７７）同様に、糖尿病関連抗体は、セリアック患者中で増加した。抗インスリン抗体は、診断時にセリアック病を有する１５人の小児の２７％において及び無グルテン食後のセリアック病を有する１５人の小児の２０％において存在した。（１７８）グルタミン酸デカルボキシラーゼに対する抗体もまたセリアック病患者の２３％において存在した。（１７９）

【０１８３】

吸収不良はセリアック病の共通の特徴である。セリアック病における鉄分欠乏の原因となり得る分子は、トランスフェリンに対して４０％の相同性を有する鉄結合膜糖タンパク質であるメラノトランスフェリン（ｐ９７）である。この分子はＧＰＩ連結型であり、腸管上皮細胞における頂端の分布を有している。（１８０）他のＧＰＩ連結型分子であるムチン結合タンパク質は、保護的関門を構成する胃腸粘膜の頂端の上皮の不可欠な構成要素である。（１８１）ＧＰＩ連結エピトープを認識する抗体による、この分子及び類似する分子の調節不全は、ムチンの結合及び保護的関門の侵害に影響を与え、遺伝的に敏感性の個体における胃腸粘膜に対する損傷及びグリアジンペプチドに対する不耐性をもたらし得

る。

【０１８４】

胃炎

Ｉ型糖尿病において胃壁細胞抗体（ＰＣＡ）が高度に蔓延しており、自己免疫胃疾患を伴い得る。（１８２，１８３）壁細胞は、それらの表面上にＧＰＩ連結型分子を有しており（１８４）、したがって、ＧＰＩ連結エピトープを認識する抗体はこの状態に関連し得る。

【０１８５】

炎症性腸疾患

慢性的な炎症性腸疾患は、障害性分泌ではなく、過剰な成長ホルモンの貯蔵に直面する、腹部症状に数年先行する可能性がある成長障害を有する奇異な状態である。（１８５）空腹時及び食後の脂質酸化は、活性クローン病を有する患者において、不活性疾患においてよりも著しく高度である。（１８６）ケトン体生産もまた患者において著しく多量である。（１８７）全身グルコース取込みもまた、クローン病患者において、正常対照においてよりも高度であることが示され、これは、正常血糖高インスリン性クランプ研究により評価された。（１８８）しかしながら、グルコース酸化のように、動脈のグルコース濃度は患者において対照と比較して１０％低かった。（１８６，１８７）

【０１８６】

脂肪酸化及びケトン体生産の増加の代謝像は、グルカゴン駆動性のものと思われる。低度の血漿ＬＤＬコレステロール及び高度のトリグリセリドに関わる異脂肪血症もまた十分に文書化されており（１８９）、高インスリン血症及びインスリン抵抗性の状況との類似性を有している。ＢＢラットにおける糖尿病の動物モデル及びセリアック病のイヌモデルの両方において、腸管の透過性の増加もまた、疾患の発病前に存在している。（１９０）腸管の透過性の増加はまた、クローン病患者及び彼らの冒されていない親類においても存在する。（１９１）クローン病を発症する危険性が高度な個体はまた、ベースライン透過性も増加しており、又は損傷を与える作用物質に対する消化管透過性応答も悪化している。（１９２）

【０１８７】

組織の完全性及び構造を維持する機能を有するＧＰＩ連結型分子は胃腸組織において豊富である。これは、抗抗ＴＣＲ　Ｖβモノクローナル抗体での消化管薄片の非常に強度な染色により実証される。腸管上皮細胞（１９３）及び平滑筋細胞中のＧＰＩ連結型分子は、ＬＤＬ結合接着分子であるＴカドヘリンである。（１９４）Ｔカドヘリンはまた、平滑筋細胞成長の負の調節因子でもある。（１９５）Ｔカドヘリン遺伝子を含む染色体セグメントの損失は癌の発達と相互に関連し、ＴカドヘリンｃＤＮＡでの腫瘍細胞の形質移入は増殖活性減少及び増殖因子に対する細胞感受性の低下をもたらす。（１９６）他のＧＰＩ連結型分子ＯＣＩ－５は、グリピカン及びセレブログリカンに関連するヘパラン硫酸プロテオグリカンである。（１９７）ヘパラン硫酸プロテオグリカンはラミニンに結合する。セレブログリカンの部分的なタンパク質分解は、ラミニン結合親和性の４００倍を超える低下をもたらした。（１９８）上記分子のＧＰＩ要素に対する自己抗体の結合は、予知可能に上皮関門を崩壊し、腸管の透過性を増加させ得るが、これは、おそらく、疾患発達に対する前提条件となるだろう。

【０１８８】

特に粘膜筋板の腸壁の肥厚はクローン病における疾患活性の徴候である。（１９９）消化管において発現する上記に特に述べられたＧＰＩ連結型分子の調節不全は、透過性の増加、平滑筋増殖、及び腸壁肥厚、並びに平滑筋細胞によるコラーゲン合成の増加について説明することができる。（２００）

【０１８９】

炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、及びクローン病は、静脈血栓症及び動脈血栓症の危険性の増加と関連している。潰瘍性大腸炎を有する８３人の患者及びクローン病を有する４５人についての、１００人の対照と比較した研究では、抗カルジオリピン抗体のより高度な

蔓延が健常対照と比較して患者において観察された。（２０１）１３７人の患者及び１３７人の対照での類似する研究では、抗カルジオリピン力価は、対照と比較してクローン病及び潰瘍性大腸炎において著しく上昇した。（２０２）

【０１９０】

関節炎及び関連疾患

関節リウマチ（ＲＡ）は滑膜関節に影響を与える慢性的な進行性の炎症性疾患であり、関節破壊につながる。マクロファージ及び線維芽細胞、通常わずか２～３の細胞層から成る滑膜内層は、随伴性の血管形成と共に過形成になり、軟骨及び骨との滑膜の接触部分での局所的な浸潤性の能力を獲得する。ＲＡ患者における死亡の増加は、加速度的なアテローム性動脈硬化及び心血管疾患と関連する。多くの感染作用物質はＲＡの原因となる作用物質として関係した。（５４）

【０１９１】

ＲＡ並びに全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、及び痛風等の関連疾患を有する患者はインスリン抵抗性であり、異常なグルコース耐性を有している。（２０３，２０４）正常な体重の、以前未治療の関節炎患者は、正常血糖クランプ研究において、対照と比較して、インスリン応答の増強及びグルコース利用速度の低減を示した。（２０５）したがって、高インスリン血症及びインスリン抵抗性はこの疾患群の病原性の特徴である。

【０１９２】

活性ＲＡを有する４５人の未治療患者では、血漿グルカゴンレベルは、静脈グルコース耐性試験の間、対照におけるよりも著しく低度であったが、これは、逆調節ホルモンの異常を示す。（２０６）

【０１９３】

活性強直性脊椎炎（ＡＳ）を有する１４人の患者についての経口グルコース耐性試験（ＯＧＴＴ）は、患者が、対照と比較して、ＯＧＴＴの曲線の下で測定された著しく増加したインスリンレベルを有していたことを明らかにした。（２０７）ＲＡ及び脊椎関節症の両方において、インスリン抵抗性は異脂肪血症と相互に関連した。（２０８）

【０１９４】

ＲＡ及び他の自己免疫障害の共通の原因となる機構の存在はまた、健常な血液ドナーにおける６％と比較した、ＲＡ患者の３１％における島細胞抗原６９（ＩＣＡ６９）に対する抗体（２０９）並びに若年性慢性関節炎及びＳＬＥを有する多くの小児における抗サイログロブリン抗体の存在により実証される。（２１０）

【０１９５】

血管形成が伴う滑膜内層細胞の増殖は、パンヌス形成及び関節炎での骨侵食における重要な因子である。ウロキナーゼプラスミノーゲン活性化因子（ｕＰＡ）及びその表面に結合したｕＰＡ受容体ｕＰＡＲは、マトリックス分解及び組織リモデリングにおける重要な役割を有している。その受容体ｕＰＡＲに結合したｕＰＡは、プラスミノーゲンからのタンパク質分解酵素プラスミンの形成を触媒し、細胞表面にプラスミンを集中させる。（２１１）プラスミノーゲンは、細胞外マトリックスタンパク質のタンパク質分解を媒介し、細胞浸潤を促進する。ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子受容体はＧＰＩ連結型分子であり、インテグリンに対するリガンドである。ｕＰＡＲ－インテグリン相互作用により、ｕＰＡの結合の際に、増殖シグナル又は遊走シグナルを細胞に伝達する。（２１２）ウロキナーゼは、その受容体を開裂する能力を有しており、その結果として、ｕＰＡ及びビトロネクチン両方に対する受容体の結合ポテンシャルを不活性化する。しかしながら、この開裂は、開裂部位が分子の第１及び第２のドメインの間にあり、ＧＰＩ連結が第３のドメイン上にあるのに、ｕＰＡＲのＧＰＩ連結が無傷である場合に生じるのみである。（２１３）無傷のウロキナーゼ受容体はまた、インテグリンビトロネクチンに対する効率的な結合に必要とされる。（２１４）αｖβ３及びビトロネクチンの他の受容体は血管形成、細胞の接着、及び遊走に、したがってパンヌス形成に関わる。（２１５）通常の環境下で、ｕＰＡによるｕＰＡＲの開裂は、ｕＰＡのその受容体に対する結合並びにｕＰＡＲのビトロネクチン及びＰＡＩ－１に対する結合を調節不全にし、その結果として、ｕＰＡ

によるプラスミンの産生並びにビトロネクチン受容体及びＰＡＩ－１を介する増殖シグナル及び血管形成シグナルを低減するであろう。ｕＰＡＲに対するｕＰＡ親和性のこれらの変化は、ＧＰＩアンカーの脱脂によりもたらすことができる。ＧＰＩアンカーのリンカー領域におけるｕＰＡＲペプチドに対する抗体はＧＰＩ連結型を認識するのみで、可溶性ｕＰＡＲを認識しない。この変化並びにＴｈｙ－１、Ｌｙ－６、及び癌胎児性抗原等の他のＧＰＩ連結型分子の抗原特性における類似する変化は、立体構造変化に帰する。（２１３）本発明は、ＧＰＩ連結型要素に対する抗体は、上記分子の立体構造を十分に変化させ、ｕＰＡ及びビトロネクチンとのｕＰＡＲ相互作用について示されたように、シスでもトランスでも作用する特異的なリガンドとのそれら分子の反応性を変化させ、その結果として、自己免疫疾患、癌、及び子宮内膜症等の血管形成疾患を引き起こし得るということを提唱する。

【０１９６】

ｕＰＡＲは、ビトロネクチンとの相互作用を介して細胞接着を促進し、細胞表面にｕＰＡを局在させることにより細胞の遊走及び浸潤を促進する。（２１３）接着及び遊走の間のバランスは、ビトロネクチン上のｕＰＡＲと同一の部位に結合するＰＡＩ－１により制御される。（２１６）プロテアーゼ阻害因子としてのその機能以外に、ＰＡＩ－１は、血管形成の間の毛細血管発芽において必須の役割を有している。（２１７）

【０１９７】

高インスリン血症及び高血糖は、インスリン抵抗性及びグルコース不耐性の状況におけるように、この系において役割を果たし、インスリン及び高血糖の両方はＰＡＩ－１遺伝子転写を増加させることが示された；インスリンはまた、ＭＭＰ－１等のマトリックスメタロプロテイナーゼも刺激する。これらは線維芽細胞様滑膜細胞により生産され、細胞外マトリックスのリモデリング及び破壊に関わる。（５４）

【０１９８】

喘息

最近のフィンランドの研究では、セリアック病、関節リウマチ（ＲＡ）、及びＩＤＤＭを有する小児における喘息の累積発生を生まれてからの最初の７年間比較した。喘息は、セリアック病、ＲＡ、及びＩＤＤＭを有する小児において、これらの疾患を有していない小児においてよりも著しく共通する傾向があった。（２１８）自己免疫性又は免疫媒介性の研究の２３の公開されたゲノム研究からの発見を整理する最近公開された研究は、疾患関連遺伝子の正の連鎖の約６５％が１８の別々のクラスターに非ランダムに位置することを実証する。（２１９）多くの喘息、ＩＤＤＭ、及びセリアック病の遺伝子は、他の自己免疫疾患遺伝子も含む小さなクラスター中に並ぶ。（２２０）

【０１９９】

喘息を有する患者は、環境刺激に対して悪化した気管支収縮に罹患し、安静時の気道緊張度は喘息対象において正常対照よりも高度である。安静時の気道緊張度及び気管支収縮は、気道平滑筋細胞上のムスカリンＭ３受容体の刺激及び続く収縮を引き起こす、肺迷走神経から放出されるアセチルコリンにより制御される。アセチルコリンはまた、節後神経上のＭ２ムスカリン受容体を介する負のフィードバックループも刺激し、さらなるアセチルコリン放出を予防する。（２２１）

【０２００】

喘息患者における迷走神経により媒介された気管支収縮の増加は、Ｍ２ムスカリン受容体の機能の障害によるものであることが実証された。この障害を引き起こす際のインスリンの役割は、糖尿病動物及びインスリン治療糖尿病動物における気管支収縮応答を検査することにより、厳格に調査された。（２２２）気管支収縮性の刺激に対して低応答性の未治療糖尿病動物は、インスリンでの治療の際に応答性亢進になった。低応答性は、気管支中の炎症細胞（好酸球）の蓄積のレベルの低減と関連し、糖尿病動物の神経と関連した。インスリンでの治療は好酸球の流入を回復させ、応答性亢進を引き起こした。ニューロンのＭ２ムスカリン受容体機能の低下は、静電的相互作用を介してＭ２受容体に結合する好酸球主要塩基性タンパク質によるものである。したがって、インスリンは、気道炎症の発

達に重要な役割を果たすと思われる。高インスリン血症はまた、ラットの脳に注射されたインスリンがアセチルコリンレベルの著しい増加を引き起こしたようにより高度な安静時のアセチルコリンレベルによるものとなり得る、喘息個体におけるより高度な安静時の気道緊張度の説明となり得る。（９８）

【０２０１】

気道平滑筋過形成は、慢性的な喘息における重要な組織病理学的所見である。（２２３）これは、平滑筋細胞により分泌されたコラーゲンの過形成が伴い、そして、クローン病における平滑筋細胞過形成及び腸壁肥厚に非常に類似する。（２００）したがって、平滑筋細胞上で発見されたＧＰＩ連結型接着分子及び細胞増殖阻害分子であるＴカドヘリンは、クローン病について述べられた同一の過程において関係する。

【０２０２】

ＩＧＦ軸及びＩＧＦＢＰ軸は、クローン病においてのように関わり、ＩＧＦＢＰのダウンレギュレーションに関わる。インスリンは、培養ヒト卵巣細胞におけるＩＧＦＢＰ－１生産の阻害を誘発する。（１３８）したがって、インスリン分泌の調節不全は、同様に、気道平滑筋細胞におけるＩＧＦＢＰレベルをダウンレギュレートし、その結果として、平滑筋細胞増殖を促進するであろう遊離ＩＧＦの生物学的利用能を増加させ得る。

【０２０３】

嚢胞性線維症

嚢胞性線維症（ＣＦ）は、呼吸系、消化系、内分泌系、及び生殖系に影響を与える疾患である。多くの可能性として考えられる変異は、慢性閉塞性肺疾患、肝臓繊維症、真性糖尿病、胆石症、及び関節炎を主に含む疾患顕性化の一因となる。原発性ＣＦ欠陥は、分泌上皮の頂端膜におけるサイクリックＡＭＰ媒介性塩化物経上皮輸送タンパク質である嚢胞性線維症膜貫通型コンダクタンス調節因子（ＣＦＴＲ）を介するイオン輸送の調節不全である。（２２４）ＣＦにおけるＣＦＴＲ機能不全は、ＣＦＴＲチャネルをＭＵＣ１遺伝子過剰発現と結びつけるチロシンキナーゼＳｒｃ経路を介してムチンの過剰発現をもたらす。（２２５）塩化物の障害性放出は、呼吸器（及び腸管粘膜）内層の脱水をもたらし、気道をふさぐ粘着性の粘液をもたらす。

【０２０４】

アクチン細胞骨格の構成はＣＦＴＲ分子の機能にとって重大である。サイトカラシンＤでのアクチン細胞骨格の部分的な破壊はＣＦＴＲ活性化を誘発した（２２６）。原子間力顕微鏡により、アクチンフィラメントは、ＣＦＴＲ分子と直接関連することが示された。（２２７）

【０２０５】

細胞運動及び細胞接着の両方に関してのアクチン細胞骨格の生理学的調節は、ウロキナーゼプラスミノーゲン活性化因子受容体（ｕＰＡＲ）発現により強く影響されると思われる。これは、ｐ１３０Ｃａｓ／Ｒａｃ依存性シグナリング経路を開始するために、ビトロネクチンに対するｕＰＡＲ結合を必要とする。（２２８）インテグリン並びにＲｈｏファミリーＲｈｏ、Ｒａｃ、及びＣｄｃ４ｚの小さなＧＴＰａｓｅ等の細胞骨格関連性構造物とのｕＰＡＲの相互作用は、張力線維、膜状仮足、ひだ（ｒｕｆｆｌｅ）、及び糸状仮足の組み立てのためのアクチン細胞骨格の調節に関わる。

【０２０６】

ｕＰＡ及びビトロネクチンに対するｕＰＡＲの結合は、ビトロネクチンに対する結合はｕＰＡＲのＤ１ドメインを介するものであるが、完全長受容体の完全性、特にｕＰＡＲのＧＰＩ連結を必要とする。（２１３）

【０２０７】

ｕＰＡＲ及びアクチン網様構造と関連することが示された他のＧＰＩ連結型分子は（２２９）、最適なＣＦＴＲ機能のために細胞骨格の維持を担っている可能性がある。ＧＰＩ連結エピトープに対する本発明の抗体の結合は、細胞骨格を十分に混乱させ、遺伝的に損なわれたＣＦＴＲ分子のさらなる機能的悪化を引き起こす可能性がある。

【０２０８】

肺上皮細胞におけるｕＰＡＲの発現及びｕＰＡによるｕＰＡＲのアップレギュレーション及び傷害の後での肺炎症組織リモデリング又は肺新形成におけるこの系の関与が報告された。（２３０）さらに、ｕＰＡＲは、緑膿菌に応じた好中球の補充における役割を有すると思われる。緑膿菌は、慢性的にＣＦにおける肺にコロニー形成し、肺機能の低下を引き起こし、死をもたらす。ｕＰＡＲが欠損したマウス（ｕＰＡＲ－／－）は、野性型マウスと比較して、緑膿菌に応じた好中球補充が極めて減少することが最近実証された。野性型マウスにおける好中球補充は、β２インテグリン依存性の機構に依存している。（２３１）したがって、抗ＧＰＩ抗体修飾性ｕＰＡＲは、β２インテグリン依存性の好中球補充のこの機能が十分に損なわれるであろうということが考えられる。

【０２０９】

嚢胞性線維症における肺の病状は、アポトーシス性炎症細胞の非効率的な除去により悪化する。ＣＦ及び非ＣＦ気管支拡張症患者からの痰は、豊富なアポトーシス細胞を含み、これは、正常なアポトーシス細胞除去機構が障害性であることを示唆する。（２３２）

【０２１０】

マクロファージの表面上のＧＰＩ連結型糖タンパク質ＣＤ１４は、アポトーシス細胞の認識及び排除を媒介する。（２３３）炎症の消炎をもたらすアポトーシス細胞の除去は、正常な組織の構造及び機能に重大である。アポトーシス細胞は表面変化を受けて、ホスファチジルセリンの露出をもたらし、これは、食細胞のマクロファージにより認識される決定的な表面マーカーとなる。（２３４）アポトーシス細胞上のホスファチジルセリン及びホスファチジルイノシトールの認識は、ＣＤ１４のＧＰＩ連結を介するアポトーシス細胞の内部移行をもたらす。細菌リポ多糖（ＬＰＳ）もまた、リン脂質結合部位と同一又は隣接する部位に結合する。（２３５）マクロファージはそれら自体アポトーシスを受けることができ、ＣＤ１４のダウンレギュレーションがこれに先行する。（２３６）したがって、ＧＰＩ連結の要素に対する抗体は、認識部位のブロッキングを介するアポトーシス細胞の食作用及びアポトーシス細胞の内部移行を調節不全にする可能性がありＣＤ１４のダウンレギュレーションを引き起こす可能性もある。これらの機構は、食細胞系の非常に重要な構成要素にひどく損害を与え得る。好中球もまた食作用に関わり、走化刺激に応じて炎症の部位に移動する。ＧＰＩ連結型分子であるモノＡＤＰリボシルトランスフェラーゼは好中球の表面上で同定されたが、シグナリング経路に関わっている。この分子は、走化性の間の細胞骨格の再アラインメントに関わる。（２３７）ＧＰＩ連結は、アクチンとのＧＰＩ連結型分子の関連に関わる。したがって、抗体により損なわれたＧＰＩ連結型分子は、走化性の調節因子として効率的に機能しない可能性がある。

【０２１１】

嚢胞性線維症は、膵臓の外分泌及び内分泌の機能不全の両方と関連する。ＣＦＴＲ（－／－）マウスにおける外分泌腺房細胞機能不全は、膵臓腺房細胞の頂端形質膜での障害性エンドサイトーシスと関連する。これは、内腔中への管の炭酸水素塩分泌につながる。エンドサイトーシスは、エンドサイトーシスの活性化と密接に関連する腺房細胞上のＧＰＩアンカータンパク質であるＧＰ－２の開裂と関連する。ＧＰ－２の開裂はＣＦＴＲ（－／－）マウスにおいて減少する。（２３８）これは、抗ＧＰＩ抗体による及び／又は抗体によるＧＰＩ開裂部位の妨害のためのＧＰ－２のダウンレギュレーションが、嚢胞性線維症において見られるように、エンドサイトーシスを害し得ることを示す。

【０２１２】

静脈内に投与されたグルコースに対する第１期Ｃ－ペプチド応答は、外分泌が不十分なＣＦ患者において著しく障害性であった。低血糖に応じた最大グルカゴン分泌として測定されたアルファ細胞機能もまたこれらの患者において減少した。（２３９）障害性及び糖尿病のグルコース耐性を有するＣＦ患者におけるインスリン感受性もまた対照対象においてよりも低度である。（２４０）

【０２１３】

肺疾患は、ＣＦにおける罹患及び死亡の主な原因であるが、疾患の重症度は、ＣＦＴＲ表現型から常に予測することができるものではない。遺伝的及び臨床的データを肺機能の

減退の率と相互に関連させるための、７歳を超える全スウェーデン人のＣＦ母集団の縦断的研究において、ＣＦ患者の随伴性の真性糖尿病は、シュードモナス属コロニー形成及び膵不全と比較して、肺機能の急速な悪化と最も著しく相互に関連したことが観察された。（２４１）ｎｕｌｌ変異又は重篤な変異は、膵臓外分泌不全と相互に関連するが、肺病の重症度とそれほど強く関連しない、ＣＦＴＲの生産の欠如をもたらすことも観察された。一部のＣＦ患者は、１０～１５歳まで診断されない。気管支拡張症を含む軽度の肺疾患を有する高齢患者は、ＣＦ型症状を示さない可能性があるが、調査上、ＣＦＴＲ変異を有することがわかった。（２４２）呼吸器の症状及び炎症は、必ずしも肺感染と相互に関連しないこともまた明らかになってきている。（２４３）肺機能と相互に関連する、高解像度コンピュータ断層撮影により視覚化されたＣＦの気管支病状は、喀痰細胞診及び炎症マーカーと相互に関連しないことが示された。（２４４）

【０２１４】

これらの所見は、肺病状が、ＣＦにおいて進行性であり、肺感染により悪化するが、肺感染に依存していないことを実証する。膵臓病状、特に真性糖尿病は、肺機能悪化の重症度の最も重大な予測因子である。関節症もまたＣＦにおける随伴性疾患であり、そこでは、肺機能及び肺感染は関節炎の存在と相互に関連しない。（２４５）本発明は、ＣＦＴＲ変異が、ＣＦ患者を、ＣＦにおいて共通する肺炎症及び真性糖尿病を含む他の器官の病状を引き起こす抗ＧＰＩ連結エピトープ抗体の影響に対して特に感受性にすることを提唱する。

【０２１５】

骨粗鬆症及び骨減少症

インスリン及びインスリン様成長因子は骨代謝に影響がある。糖尿病において骨形成が減少する；これは骨減少症について説明するものである可能性があるが、骨組織における微小血管症も関与する可能性がある。（２４６，２４７）破骨細胞活性の増加は、骨粗鬆症、パジェット病、骨転移、及び悪性腫瘍の高カルシウム血症における骨破壊の増強の原因となる。破骨細胞様多核細胞から単離された、ＧＰＩ連結型分子である破骨細胞阻害ペプチド－１（ＯＩＰ－１）は破骨細胞活性を阻害することが示された。（２４８）本発明の抗体はインスリン分泌を調節不全にし、ＯＩＰ－１又は類似する分子の作用をブロッキングし、したがって、骨形成を減少させて破骨細胞活性を増加させることが提唱される。

【０２１６】

扁平苔癬及び白板症

いくつかの研究では、活性扁平苔癬を有し且つ糖尿病の家族歴のない４２％までの患者が異常なグルコース耐性を有することが示された。グルコースに対するインスリン応答は軽度の２型糖尿病で典型的であった。（２４９，２５０）

【０２１７】

口腔白板症もまた異常なグルコース代謝と関連する。対照におけるよりも糖尿病患者において高度に蔓延している。（２５１）以前診断未確定の糖尿病を有する患者においてそれほど共通していない口腔の顕性化は、血糖制御を改善するための治療で通常改善した口腔灼熱症候群、菌類及び細菌の感染、味覚、唾液分泌、及び流涎の変化を含んだ。（２５２）

【０２１８】

貧血

再生不良性貧血は、高インスリン血症及びインスリン抵抗性と関連する。検査した２９人の患者のうち、１４人は、正常なグルコース耐性を有する以前治療された症例であり、８人は、異常なグルコース耐性を有する治療された症例であり、そのうちの６人は糖尿病を有しており、７人は、正常なグルコース耐性を有する新たに診断された症例であった。すべてインスリン抵抗性であり、高インスリン性であった。異常なグルコース耐性を有する患者は、インスリン分泌の遅延を有したが、これは、β細胞中のインスリン貯蔵の悪化を示す。（２５３）

【０２１９】

再生不良性貧血を有する２６人の患者のうちで、５人は彼らの血小板及び赤血球上でＧＰＩアンカータンパク質が欠陥していたが、１０人の患者では、ＧＰＩ欠陥は、単核細胞及び多形核細胞上で検出された。（２５４）

【０２２０】

他の種類の貧血は顕性糖尿病と関連する。重大な合併症、つまり腎症、ニューロパシー、体位性低血圧症等を有する１５人のＩ型糖尿病患者は、重大な合併症を有していない糖尿病患者と比較して、貧血性であった。エリトロポイエチン減損以外に貧血に対して実証できる原因がなかった。（２５５）重大な腎症を有していない糖尿病患者では、貧血に対するエリトロポイエチンの応答性の類似する低減が、同定可能な原因を有していない貧血を有する２８人の対象において注目された。（２５６）

【０２２１】

インスリン抵抗性の個体又は糖尿病患者における同定不可能な起源の貧血に関連する可能性があるＧＰＩ連結型分子は、葉酸受容体である。葉酸受容体は、葉酸輸送の間に内部移行され、再利用される。（２５７）しかしながら、そのＧＰＩ連結要素に対する抗体は葉酸輸送を重大に妨げ得る。葉酸は、コバラミンと共に、赤血球生成に必要なＤＮＡ合成におけるデオキシウリジル酸のデオキシチミジル酸への変換に必要とされるメチル基を利用可能にする共役反応に参加する。　これらの反応は、赤血球の発達において葉酸の供給が不十分なために障害性である可能性がある。

【０２２２】

発作性夜間血色素尿症

発作性夜間血色素尿症（ＰＮＨ）は、ＧＰＩ連結型補体阻害因子ＣＤ５５及びＣＤ５９における欠損に起因することで知られており、赤血球の溶解の素因になる。赤血球及び白血球上並びに血小板の実質的な集団上に存在する欠損は（２５８）、産物であるグリコシルトランスフェラーゼがＧＰＩアンカー生合成の第１ステップに参加する遺伝子変異（ＰＩＧ－Ａ）により引き起こされる。（２５９）ＧＰＩ欠損クローンが成長優位を獲得する理由はまだ未解決である。

【０２２３】

Ｃａｍｐａｔｈ－１Ｈは、ＧＰＩ連結型ＣＤ５２分子が欠損している細胞を選択することが実証された。（２６０）ＧＰＩ連結要素に対する抗体の存在により、ＰＮＨ中のＧＰＩ欠損クローンを類似したやり方で選択できることを本明細書中において提唱する。しかしながら、ＰＩＧ－Ａ遺伝子欠損は後天性体細胞変異である。（２６１）実際、多くのＰＩＧ－Ａ遺伝子異常は３人のＰＮＨ患者において検出され、顆粒球及び赤芽球における異常は患者の２人において異なっていた。（２６２）したがって、ＧＰＩ連結要素に対する自己抗体の継続的な存在は、造血幹細胞レベルでの体細胞変異を引き起こすことが可能性として考えられる。

【０２２４】

３８歳の男性の症例は、急速に進行する溶血性貧血及び血小板減少症を有する病歴１２年のＮＩＤＤＭと報告された。糖尿病を除いて微小血管症性貧血の原因がなかった。患者はまた、ループス抗凝固因子抗体及び抗リン脂質ＩｇＧ抗体も有していた。血液透析は、溶血及び血小板減少症の両方の自発的な改善をもたらした。（２６２）血液透析は、おそらく、研究において報告された抗ＧＰＩ抗体だけでなく、その病原性抗ＧＰＩ抗体も除去したのだろう。

【０２２５】

睡眠時無呼吸

睡眠の間の乱れた呼吸は、個体の昼間機能の障害及び代謝異常の素因になる可能性がある共通した状態である。糖尿病又は心肺疾患を有していない１５０人の健常な男性の研究では、睡眠時無呼吸の有病率の範囲は、無呼吸－寡呼吸指数（ＡＨＩ）カットオフに依存して、４０～６０％であった。状態の重症度は、障害性又は糖尿病のグルコース耐性と相互に関連した。増加するＡＨＩもまた、肥満と無関係に、悪化するインスリン抵抗性と関連した。（２６３）知られている真性糖尿病を有していない２７０人の対象の他の研究で

は、１８５人は睡眠時無呼吸を有すると考えられた。肥満及び非肥満の対象においてインスリン抵抗性とのこれらの症例の著しい関連があった。これらの対象におけるインスリン抵抗性及び高血圧症の関係のさらなる分析は状態が著しく関連することを確認した。（２６４）

【０２２６】

不眠

睡眠不規則は、若い人たち及び老人たちの両方で共通している。これらは、入眠困難、頻繁な夜間中途覚醒、及び早朝覚醒を含む。ヒトにおいて夜間にのみ分泌される松果体ホルモン及びメラトニンは、夜間に生じる用量を与えられた場合、昼間睡眠を誘発することが示された。メラトニンは、高齢な人々において減少することが知られており、生理的なレベルへの補正は睡眠を回復することが示された。（２６５）

【０２２７】

メラトニンの分泌は、松果腺とシナプス連絡を成し且つ小胞からノルアドレナリンを放出する上頚神経節ニューロンから来るシグナルにより制御される。ノルアドレナリンは、ｃＡＭＰ形成を介してメラトニン合成を刺激する。（２６６）ｃＡＭＰは、メラトニン合成における最後から２番目の酵素、アリルアルキルアミンＮ－アセチルトランスフェラーゼ（ＮＡＴ）に作用する。（２６７）これは多型酵素であり、その変異パターンは、薬物代謝に影響があり、ある種の癌、食物アレルギー、及び他の状態に感受性の増加を与える。（２６８－２７１）

【０２２８】

ノルアドレナリン分泌は、血漿インスリン濃度により影響を与えられる。健常なボランティアにおける脂質注入による基礎の高インスリン血症及びグルコースに対するインスリン応答の悪化の誘発は、対照と比較して、著しく低減した血漿ノルアドレナリンレベルをもたらした。（２７２）

【０２２９】

したがって、インスリン抵抗性等の生理的原因による高インスリン血症の状況は、低減した血漿ノルアドレナリンレベルと相互に関連することが予期されるであろう。糖尿病患者は、心不全代償不全の間、非糖尿病患者と比較して、より低度なノルアドレナリンレベルを有している。（２７３）Ｉ型糖尿病患者はまた、診断の１年目において、低血糖に対するノルアドレナリン応答が５０％低減している。（２７４）

【０２３０】

上記の観察は、メラトニン分泌における年齢関連性の低減は、健常な老年母集団における、増加するグルコース不耐性及びインスリン抵抗性による高インスリン血症に関係する可能性があることを示唆する。（２７５）松果体メラトニン生産の年齢関連性の減退は、松果体組織の変性ではなく、松果腺に神経を分布させるセロトニン作動性ニューロン及びノルアドレナリン作動性ニューロンの変性変化によるものと考えられる。（２７６）これは、老年母集団におけるグルコース代謝の変化によるノルアドレナリン欠乏と一致している。

【０２３１】

睡眠調節を制御する他の因子はプリオンタンパク質（ＰｒＰ）である。ＰｒＰはＧＰＩ連結型糖タンパク質である。（２７７）ＰｒＰは、大脳及び非大脳組織に存在し、ニューロンの機能における重要な役割を示す高度なレベルのシナプス分布を有し、且つ細長い軸索の表面上に見つけられる。（２７８，２７９）正常なプリオンタンパク質は銅と結合し、結果としての複合体は抗酸化剤活性を有している。（２８０）プリオンタンパク質は、睡眠及び多くのホルモンの日周リズムにおける深刻な変化がある、致死性家族性不眠症を含む神経変性疾患に関わることで知られている。（２８１）プリオンタンパク質ノックアウトマウスは、メラトニンレベルの変化及び睡眠断片化の両方を示し、短い、目が覚めている発作の量がほぼ２倍になり、睡眠調節におけるこのタンパク質の役割を示す。（２８２，２８３）

【０２３２】

本発明の抗体は、グルコース代謝の変化及びノルアドレナリン分泌及びメラトニン分泌に対するその影響により並びにさらにＧＰＩアンカー結合ポテンシャルを介してプリオンタンパク質に影響を与えることにより良性の睡眠異常及び病的なプリオン誘発性の状態に影響を与え得る。さらに、抗体は、ノルアドレナリンを含む小胞の成分であるセクレトグラニン１又はクロモグラニンＢを認識する。（２８４）これはまた、ノルアドレナリン分泌を調節不全にする可能性がある。

【０２３３】

癌

乳房、結腸直腸、胃腸、肉腫、子宮内膜、前立腺、頭、首、及び肺を含む多くの癌は高インスリン血症、グルコース不耐性、インスリン抵抗性、及び肝臓グルコース生産の速度の増加と関連することで知られている。（２８５－２８９）１期又は２期乳癌を有する２２３人の女性についての１９９２年の研究では、彼女らが、４４１人の対照対象よりも著しく高度なＣ－ペプチドの血清レベルを有していたことを実証した。乳癌の対数相対危険度は、肥満度指数又はウエスト対ヒップ比と無関係に、対数Ｃ－ペプチドレベルと直線的に関係した。（２９０）組織学的に確認された乳癌の症例を有する２５６９人の女性についての、２５８８人の対照女性と比較した、より最近の研究は、遅発性糖尿病との乳癌の関連に注目しており、（２９１）証拠により、インスリンが腫瘍形成のための成長因子であることが示唆される。（２９２）

【０２３４】

癌性悪液質もまた、グルコース取込み及び利用の減少をもたらすグルコース不耐性、全身グルコース代謝回転速度の増加、グルコース新生の増加、並びにインスリン抵抗性により特徴づけられる。（２９３）ラットモデルにおいて、ホルモン療法によりインスリン／グルカゴン比を増加させることにより宿主同化を選択的に支持し、腫瘍成長動態を阻害した。（２９４）したがって、代謝混乱の糖尿病誘発性の複合の発達を予防することは、癌の発生を低減し、癌性悪液質の症状を緩和するだろう。

【０２３５】

血管形成、転移、癌進行、及び癌阻害におけるＧＰＩ連結型分子の関与が認識されるようになってきている。上記分子の１つは、ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子受容体ｕＰＡＲである。ｕＰＡＲ発現及び浸潤癌細胞表現型の間に強力な相関がある。（２９５）そのリガンドｕＰＡで占められた非開裂ＧＰＩ連結型ｕＰＡＲのヘパラン硫酸プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）との及びインテグリンビトロネクチンとの関連は、タンパク質分解を誘発するプラスミンを細胞表面に及び血管形成を促進するその受容体αｖβ３に対するビトロネクチンのライゲーションに集中させる。（２１１－２１７）ｕＰＡＲはまた、アクチン細胞骨格と相互作用し、膜状仮足、ひだ、及び糸状仮足の形成並びにその結果として細胞運動を引き起こす。（２２８）

【０２３６】

ｕＰＡＲの正常な生理機能は、無傷のＧＰＩ連結を必要とする、ｕＰＡによるｕＰＡＲの開裂を介して調節される。（２１３）疾患を引き起こすｕＰＡＲの特性は、本発明の抗体によるＧＰＩ連結のブロックによるものである可能性があることはすでに提唱された。

【０２３７】

高インスリン血症は、細胞関連ＨＳＰＧ（２９６）及びプラスミノーゲン活性化因子阻害因子－１（ＰＡＩ－１）の発現の増強によりｕＰＡＲ駆動性の機構を強める役割を有している。（２９７）ｕＰＡに対する結合の他に、ＰＡＩ－１はビトロネクチンに結合し、腫瘍遊走及び浸潤を促進する。（２９８）ｕＰＡＲ－ｕＰＡ－ＰＡＩ－１複合体はまた、低密度リポタンパク質関連タンパク質（ＬＲＰ）にも結合し、全複合体は遊走する癌細胞中に内部移行される。ＰＡＩ－１は、糸状仮足形成及び癌細胞の遊走の両方を増加させることが示された。（２９９）ＰＡＩ－１はまた血管形成にも関わる。血管形成は、ＰＡＩ－１－／－マウスの大動脈輪において完全に非存在であり、精製組換えＰＡＩ－１の追加により回復することができた。（３００）

【０２３８】

高度なレベルのｕＰＡ及びｕＰＡＲは、乳癌患者における再発の危険性の増加と関連する。（３０１）ｕＰＡＲはまた、甲状腺癌（３０２）及び卵巣癌（３０３）においても強く発現する。ＨＳＰＧ、特に、ＧＰＩ連結型グリピカンのアップレギュレーションはある種の癌と関連した。グリピカン１は、膵癌及び乳癌においてアップレギュレートされる。（３０４，３０５）グリピカン３は、ウィルムス腫瘍、神経芽細胞腫、及び肝芽腫において発現する。（３０６，３０７）グリピカンは、ヘパリン結合成長因子の可能性のある調節因子であると考えられ、ＩＧＦ－Ｉ及びＩＧＦ－ＩＩにより刺激される。（３０８）インスリンは、ＩＧＦ結合タンパク質を抑制し、ＩＧＦをより利用可能にする。（３０９）ＩＧＦは、様々な癌の進行に関わる。（３１０）ＧＰＩ連結型分子もまた、腫瘍成長の負の調節因子として腫瘍形成の病態生理に関わる。ＧＰＩ連結型Ｔカドヘリンは、ＩＧＦを含む成長因子によりダウンモジュレートされる。（３１１）Ｔカドヘリン遺伝子の損失は、膵臓、肺、胃、及び卵巣の癌の発達と相互に関連し、一方、ＴカドヘリンｃＤＮＡを用いた腫瘍細胞の形質移入は、炎症性腸疾患の増殖活性及び浸潤活性の減少をもたらす。（３０８）本発明の抗ＧＰＩ抗体を介するＴカドヘリンのダウンレギュレーション又は調節不全により、Ｔカドヘリン及び腫瘍成長に好都合である類似する分子の負の成長調節の役割を損なう可能性がある。

【０２３９】

ＧＰＩ連結型分子は、ナチュラルキラー細胞による腫瘍細胞の認識に関わる可能性がある。ＵＬ１６結合タンパク質（ＵＬＢＰ）は、熱ショック、ウイルス、腫瘍形質転換、発癌物質、ＵＶ等により引き起こされる細胞障害の際に誘発される又はアップレギュレートされるＧＰＩ連結型分子である。これらの分子は、ＮＫ細胞、ＮＫＴ細胞、γδＴ細胞、及びＣＤ８＋Ｔ細胞上のＮＫＧ２－Ｄ受容体に対するリガンドである。これらのＧＰＩ連結型ＵＬＢＰのマスキングは、ＮＫ細胞又はＴ細胞媒介性の認識からの形質転換細胞の回避を引き起こす可能性がある。（３１２）

【０２４０】

ＨＩＶ

ヒト免疫不全ウイルス１型（ＨＩＶ－１）は、感染初期の間、優先的に、単核細胞／マクロファージ向性及び非シンシチウム誘発（ＮＳＩ）となる。（３１３）ＮＳＩウイルスは、β－ケモカイン受容体５（ＣＣＲ５）を補助受容体として使用し、ＣＣＲ５$^{+}$Ｔ細胞のみに感染する。（３１３）症例の５０％において、疾患進行は、シンシチウム誘発（ＳＩ）であり、ナイーブＴ細胞を含むＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞すべてに感染し、欠失させる変異体の発生と関連する。（３１３）これは、ＳＩウイルスが、Ｔ細胞前駆体及び未熟な胸腺細胞上で高度に発現するＣＣＲ５及びＣＸＣＲ４の受容体を利用する性能に基づく。（３１４）ＮＳＩ表現型ウイルスは、ＣＣＲ５結合β－ケモカインであるＲＡＮＴＥＳ、ＭＩＰ－１α、及びＭＩＰ－１βにより阻害されることが示された；ＮＳＩ株による感染は、これらのβ－ケモカインの生産の増加と相互に関連する。（３１５）主要なＨＩＶ補助受容体ＣＣＲ５及びＣＸＣＲ４に結合するケモカインは、ＨＩＶの強力な自然の阻害因子である。最近のデータは、ケモカインがＨＩＶ感染をブロッキングする性能は、それらの受容体結合能力から切り離すことができることを示す。（３１６）

【０２４１】

ケモカインは、内皮細胞及び他の細胞の表面上並びに組織マトリックス中に見つけられる、ヘパラン硫酸プロテオグリカン等のグリコサミノグリカンの領域へのライゲーション及び中での重合により、細胞外マトリックスにわたってグラジエントを確立する。（３１７，３１８）ヘパラン硫酸プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）はまた、ＨＩＶ糖タンパク質ｇｐ４１$_{FD}$の細胞膜融合ドメインとも相互作用する。この相互作用は、Ｔ細胞表面上の特異的なヘパラン硫酸プロテオグリカン結合ドメインとのものであり、空間的に異質であり、膜上の好ましい部位に局在する。（３１９）物理的な除去又はＩＬ－８でのブロッキングによるヘパラン硫酸結合部位の除去は、Ｔ細胞膜とのｇｐ４１$_{FD}$の相互作用を抑止した。可溶性ヘパラン硫酸は、ｇｐ４１$_{FD}$に結合したが、膜局在を増強しなかった。したがって、膜に結合したＨＳＰＧは、細胞膜へのｇｐ４１$_{FD}$の結合に必要とされる。細胞

活性化はウイルス複製に必要とされ、膜相互作用は局所的な部位にあるので、ＧＰＩ連結型グリピカンは、ｇｐ４１$_{ＦＤ}$－ＨＳＰＧ相互作用の最も有望な候補者である。

【０２４２】

ＨＳＰＧに対するＨＩＶ及びケモカインの優先的な結合はウイルス粒子蓄積の部位へのケモカインの阻害効果を集中するに違いない。本発明はＧＰＩ連結要素に対する抗体の結合は、ＧＰＩ連結型ＨＳＰＧの立体構造を十分に変化させ、阻害性ケモカインのライゲーション及びウイルスに対するケモカイン影響の集中においてＧＰＩ連結ＨＳＰＧを無効にすることができることを提唱する。さらに、ＧＰＩ連結型ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子受容体（ｕＰＡＲ）及びそのリガンド（ｕＰＡ）は、ＨＩＶ進行に著しく関わる。高度なレベルの血清ｕＰＡＲ（ｓｕＰＡＲ）は、ＡＩＤＳ患者における乏しい生存の指標であることが示された。（３２０）ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子ｕＰＡは、ＨＩＶ－１ｇｐ１２０に結合し、マクロファージのＨＩＶ－１感染を促進することが示された。（３２１）ｕＰＡ及びｇｐ１２０の相互作用は、ｇｐ１２０の機能的に重要なＶ－３ループ及びｕＰＡの触媒ドメインを含み、ｕＰＡＲとの相互作用に利用可能なｕＰＡのリガンド結合ドメインを放置している。（３２１）ＵＰＡを介するｕＰＡＲに対するｇｐ１２０の架橋はｕＰＡＲに対するＨＩＶ補助受容体機能に帰する可能性がある。

【０２４３】

ｇｐ１２０に対する細胞受容体はＣＤ４であり（３２２）、ｇｐ１２０及びＣＤ４の両方は、ヘパラン硫酸プロテオグリカンとの相互作用を介してビトロネクチンに結合する。（３２３）ｕＰＡＲもまたビトロネクチンに結合する。（２１４）ビトロネクチンに対するαｖβ３受容体は、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）会合の結末を決定する同時刺激分子である。αｖβ３へのビトロネクチン結合は、Ｔ細胞のアポトーシスを効率的に誘発する。（３２４）これは、その受容体ｕＰＡＲに結合したｕＰＡにｇｐ１２０を介してＨＩＶウイルスが会合することにより、インテグリンαｖβ３を介してアポトーシスシグナルをＴ細胞に送ることができる機構を提供する。

【０２４４】

前に記載したように、ｕＰＡは、ｕＰＡＲに会合するとすぐにｕＰＡＲを切断する性能を有している。切断されたｕＰＡＲは、ビトロネクチンに結合しない。（２１４）次いで、非結合ビトロネクチンはその受容体αｖβ３に会合しないであろう。しかしながら、ｕＰＡは、無傷のｕＰＡＲ分子を切断するのみだろう、そして、たとえ切断部位がＧＰＩアンカーに対して遠位にあっても、無傷のアンカーがこのプロセスに必要とされる。ホスホリパーゼＣ処理ｕＰＡＲは、ｕＰＡによる開裂に対して抵抗性があることが示された。（３２３）したがって、本発明は、ＧＰＩ連結要素に対する抗体は立体構造的にｕＰＡＲを変更させ、ｕＰＡ開裂に対する抵抗性を誘発するであろうということを提唱する。ｕＰＡＲに対するｕＰＡの結合はｕＰＡＲ発現を正に調節し、これは、特異的なｕＰＡＲ　ｍＲＮＡの増加と相互に関連している。（３２５）

【０２４５】

立体構造的に変化したｕＰＡＲをｕＰＡが切断することができないことにより、ビトロネクチンに結合することができるｕＰＡＲのアップレギュレーションを引き起こすのみならず、ＨＩＶウイルス付加のための結合部位及びアポトーシス誘発性αｖβ３受容体を介するシグナリングを提供することができる。Ｔ細胞アポトーシスの増加は、認識されており、ＨＩＶ感染のほとんど未解明の特徴である。（３２６）

【０２４６】

ＨＩＶ感染におけるＧＰＩ連結型分子の関与の他の側面はウイルス粒子の放出のレベルにある。感染Ｔ細胞により優先的に生産されたＨＩＶウイルスは、Ｔ細胞の表面上に、細胞膜上の脂質ラフト中に隔絶されていることで知られているＧＰＩ連結型タンパク質を獲得することが実証された。（３２７）ＣＤ５５及びＣＤ５９他等のこれらの分子は、ｉｎｖｉｔｒｏ試験において、補体媒介性の破壊に対する抵抗性を与える（３２８，３２９）。感染Ｔ細胞の表面上でＧＰＩ被覆ウイルスは、抗体と相互作用し、他の感染Ｔ細胞と連結し、したがって、ＳＩウイルスによるシンシチウム形成を支援する。

【０２４７】
最終的に、ＨＩＶ－１による感染は、異脂肪血症、グルコースレベルの上昇、及びインスリン感受性の低減と関連する。これらの代謝の混乱は、高活性抗レトロウイルス剤療法（ＨＡＡＲＴ）により増悪する。（３３０）ＨＩＶ患者において高度なレベルの抗リン脂質抗体があるということは意外ではないかもしれない。（３３１）

【０２４８】
感染
細菌、菌類、及び原生動物を含む感染性生物はそれらの表面上にＧＰＩ連結型分子を発現する。これらは、マイコバクテリウム属、カンジダ属、リーシュマニア属、住血吸虫属、ジアルジア属、トキソプラズマ属、トリパノソーマ属、プラスモディウム属他を含む。（３３２－３３９）

【０２４９】
クルーズ トリパノソーマ トリポマスチゴートＧＰＩムチンは、ｉｎ ｖｉｔｒｏでマクロファージを活性化し、サイトカイン、ケモカイン、及び一酸化窒素を生産することが最近実証された。（３３７）

【０２５０】
外来性のβケモカインであるＭＩＰ－１α、ＭＩＰ－１β、ＲＡＮＴＥＳの追加は、Ｔ．クルーズ取込みの増加を誘発し、用量依存的にＮＯ生産の増強及び寄生生物複製の制御をもたらした。（３４０）

【０２５１】
ケモカインは、ウイルス、マイコプラズマ、菌類、及び蠕虫等の他の微生物病原体に対する宿主抵抗性に重要な役割を果たしている。（３４１－３４５）ケモカインは、細胞の表面で及び組織マトリックス中で利用能を増強するために、ヘパラン硫酸プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）へのライゲーション及び重合により細胞外マトリックスにわたってグラジエントを確立する。（３１７，３１８）ＨＳＰＧは、膜貫通型たとえばシンデカン又はＧＰＩアンカーたとえばグリピカンである。感染作用物質の表面タンパク質は、感染を制御するために炎症性ケモカイン及び炎症性サイトカインを集結させることにより防御の第一線を提供する宿主ＨＳＰＧと相互作用する。（３４６，３４７）

【０２５２】
感染作用物質は、脂質ラフト中のＧＰＩ連結型分子に対する付加を介して、非オプソニン的に内部移行され得るといった考慮すべき一連の証拠がある。大腸菌の病原性株は、腸管上皮細胞上のＧＰＩ連結型ＣＤ５５分子に接着し、細胞骨格の再配列及び細胞感染を誘発することが示された。（３４８）これは、ＧＰＩアンカーを切断することで知られているホスホリパーゼＣで細胞を処理することによりブロッキングされるだろう。（３４７）大腸菌による結合及び感染による張力線維再配列により、腸管細胞の融合性単層からの細胞剥離が引き起こされるのを見ることができる。

【０２５３】
本発明は、ＨＳＰＧの上のＧＰＩ連結要素を認識する抗体が、感染作用物質上へのケモカインの集中を調節不全にし、その結果として、宿主の第一線の防御を減弱し得ることを提唱する。生物の非オプソニン内部移行はまた第一線の防御の構成要素であり、それによって、生物は、内部移行され、分解され得る又は、感染細胞は、ＧＰＩシグナリングにより達成されたアクチン再配列を介して管腔表面から分離し得る。ＧＰＩのブロックは、生物の上記の取込み及び排泄を予防するであろう。

【０２５４】
感染作用物質からの毒素もまたＧＰＩ連結型分子に結合する。ＧＰＩアンカータンパク質に結合することで知られている、アエロモナス種からのチャネル形成タンパク質であるアエロリジンは、構造的に及び機能的に悪性水腫菌のアルファ毒素に関連する。ＧＰＩアンカーを合成することができない変異体細胞系は、アエロリジン及びアルファ毒素の両方に対して非感受性である。（３４９）ヘリコバクターピロリｖａｃＡ毒素及び破傷風菌により生産される破傷風神経毒（ＴｅＮＴ）はクラスリン依存性であるＧＰＩアンカー不活

性化エンドサイトーシス経路に結びつき、この経路により内部移行される。（３５０，３５１）

【０２５５】

ＧＰＩ連結型分子は、エンドサイトーシス経路に関わるだけでなく、ＧＰＩ連結分子は、たとえば胆管の肝細胞において、エンドサイトーシス小胞の一部を形成する。（３５２）ホスファチジルイノシトール３－リン酸は、エンドソームの成熟に関わるＧＴＰａｓｅと相互作用する早期エンドソーム自己抗原ＥＥＡ１の結合を達成するエンドソーム膜の一部であることが報告されている。結核菌を含むファゴソームは、ファゴリソソームに成熟せず、カテプシンＤの未熟な中間形を有している。（３５３）

【０２５６】

本明細書において、ＧＰＩ連結を介する毒素の取込みは、血液及び組織間隙から毒素を除去するために設計された防御機構であるということ及び本発明の抗体はこのプロセスを妨害し、毒素が標的器官に到達することを可能にする可能性があるということが提唱される。さらに、抗体被覆ＧＰＩ部分の内部移行は、ファゴソーム成熟及びエンドサイトーシス経路といった細胞内機構に抗体を接触させ、その結果として、生体の細胞内制御及び毒素の解毒を妨害し得る。

【０２５７】

感染に応じた又は生体の表面上のＧＰＩ連結型分子に直接応じたポリクローナル又はモノクローナルＴ細胞の増殖により抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体及び抗ＧＰＩ要素抗体が発生するという仮説は、特にＧＰＩを有する寄生虫感染において、宿主のグルコース代謝が障害性であるという事実により確証される可能性がある。合併症を伴わない熱帯熱マラリア原虫マラリアを有する以前未治療の男性では、空腹時血漿グルコース及びインスリンレベルは、急性疾病の間、回復期よりも高度であった。２時間グルコース注入研究の間、血漿グルコース及びインスリンの濃度は、疾病の間、回復期においてよりも著しく高度であった。（３５４）住血吸虫症を有する小児では、糖尿病患者の同胞と比較して、ＩＣＡ抗体がより高度に蔓延しており、第１期インスリン応答は、ｉ．ｖ．グルコース耐性試験の間、抑制される。（３５５）空腹時血漿インスリン及びグルコース注入後６０分でのインスリンレベルもまた、健常対照においてよりも高度であった。障害性グルコース耐性があった。（３５６）

【０２５８】

高血糖及び糖尿病は、シャガス病を有する患者において、対照におけるよりも蔓延している。（３５７）

【０２５９】

血糖障害は、カンジダ属に関連する口内炎において蔓延している。５０歳を超えるのすべての視診された患者の３５パーセントは、以前診断未確定の２型糖尿病を有し、３６％は障害性グルコース耐性を有していた。（３５８）

【０２６０】

マイコバクテリウム結核感染では、長期的な疾患中の、インスリン分泌の増強、持続性高血糖、及び重篤な真性糖尿病の発達が注目された。（３５９）同様に、２年を超える期間のハンセン病では、糖尿病グルコース耐性曲線が共通して観察される。（３６０）

【０２６１】

免疫調節

多くのＧＰＩ連結型分子は免疫応答の調節に関わる。これらは、中でも、好中球及び単核細胞上のＧＰＩ－８０、（３６１）好中球上のＣＤ１６、（３６２）腸上皮間リンパ球及びＮＫ細胞を含む循環性リンパ球のサブセット上のＣＤ１６０、（３６３）リンパ球機能抗原であるＬＦＡ－３、（３６４）ＩＬ－２誘発性シグナルを調節するＣＤ４８（３６５）、及び血管内皮細胞上のＣＤｗ１０９（３６６）を含む。免疫応答は、老化とともに障害性となり（３６７）、ＧＰＩ連結の要素に対する抗体はこれの一因となり得る。

【０２６２】

結論

上記の開示から、明らかになった統一概念は、感染性若しくは非感染性の起源の、遺伝的素因を有する若しくは有していないほとんどの疾患又は老化過程と関連する状態が上記に記載した多特異性自己抗体の発生により顕性になる又は悪化するというものである。母集団のうちの多くがこの自己抗体を産生し、この自己抗体は、インスリン及び／若しくはＧＰＩ連結型分子、自己抗体により認識された他の調節分子、並びにリン脂質により制御された又はこれらに影響を与える血中グルコースレベル、インスリンレベル、他のホルモンレベルにより影響を与えられるすべての組織並びに器官を危険にさらす。これらの自己抗体は、潜在的に、老化関連疾患及び年齢関連疾患を速め、癌を促進し、遺伝的素因に基づくにせよ基づかないにせよ疾患の顕性化を媒介し、且つ感染作用物質に対する第一線の防御を妨害する。すなわち、個々の敏感性に依存して、いくつかを上記に記載した１つ又は複数の問題の状態につながる自己抗体の生産となる、根底にある病原性の問題がある。類似するものとしては、任意の所定の医薬品に対するものであろう。１つ又は複数の副作用がある可能性があり、その医薬品の非存在下では副作用は存在しないであろう。

【０２６３】

以下の表は、本発明による治療又は診断に適している疾患を要約し、本明細書中並びにＷＯ９９／０５１７５に開示された各疾患及び一元化された疾患機構の間のリンクの指標をさらに提供する。表において、Ａ桁のスコア（＋）は、疾患が、異常な経口グルコース耐性と関連することを示し（ＯＧＴＴにおいて）、Ｂ桁のスコアは、疾患が、抗リン脂質抗体が存在する疾患であることを示し、Ｃ桁のスコアは、疾患が、ＧＰＩ連結型分子に関わる疾患であることを示し、Ｄ桁のスコアは、疾患が、異常なインスリンレベル又はインスリン抵抗性と関連する疾患であることを示し、Ｅ桁のスコアは、疾患が糖尿病患者においてより共通していることを示し、Ｆ桁のスコアは、疾患が、糖尿病１型又は２型を発症する危険性の増加と関連することを示す。

【０２６４】

以下の表中のスコア（＋）の非存在は、関連するリンクが報告されていない又は存在しないことを示すものではなく、単に発明者が文献の上記リンクのいずれの報告にも現在気づいていないだけであることを示すということに注目すべきである。

【０２６５】

【表１－１】

| 疾患 | A | B | C | D | E | F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 乾癬 | + | | + | + | | + |
| 湿疹 | + | | | | | |
| 白斑 | | | + | + | + | |
| 黒色表皮腫 | + | | | + | | |
| 円形脱毛症 | | | | + | | |
| アルツハイマー | + | | + | + | | |
| 統合失調症 | + | | | + | | + |

【表１－２】

| 疾患 | A | B | C | D | E | F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| うつ病 | | | | + | | + |
| パーキンソン病 | + | | + | + | | |
| 片頭痛 | + | + | | | | |
| 多発性硬化症 | + | + | + | | + | |
| 重症筋無力症 | | + | + | + | | |
| 筋萎縮性側索硬化症及び他の運動ニューロン障害 | + | | + | + | | + |
| 進行性核上性麻痺、ピック病、及び他の神経変性疾患 | | | + | | | |
| 甲状腺疾患 | | | + | | + | + |
| 多発性内分泌腫瘍症2A型及び2B型 | | | + | | | |
| クッシング症候群 | + | | + | | | + |
| アジソン病 | | | + | | | + |
| PCOS性腺機能低下症 | + | | + | + | | + |
| 男性における早発性禿頭症 | | | | + | | |
| 肥満 | | | | + | | |
| X症候群 | | | + | + | | |
| 再発性の胎児の衰え | | + | | | + | + |
| 再発性自然流産 | | + | | | + | + |
| 再発性血栓症 | | + | | | + | |
| 全身性エリテマトーデス | | + | | | | + |
| セリアック病 | | | + | | + | + |
| 自己免疫胃疾患 | | | + | | + | |
| 炎症性腸疾患 | | + | + | | | |
| 関節リウマチ | + | | + | + | | |
| 強直性脊椎炎 | + | | | + | | |
| 喘息 | | | + | + | + | |
| 嚢胞性腺維症 | | | + | | | + |
| 骨粗鬆症及び骨減少症 | | | + | | + | |
| 扁平苔癬 | + | | | + | | |
| 白板症 | + | | | | + | |
| 再生不良性及び他の貧血 | + | | + | + | + | |
| 発作性夜間血色素尿症 | | | + | | | |
| 睡眠時無呼吸 | + | | | + | | |
| 不眠 | + | | + | + | | + |
| 癌 | + | | + | + | + | + |
| HIV | + | + | + | + | | |

【表１－３】

| 疾患 | A | B | C | D | E | F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 感染 | | | + | | + | |
| 色疫調節疾患 | | | + | | | |

【０２６６】

医薬組成物

第８の態様では、本発明は、本発明の第１の態様のペプチド、抗体、若しくは等価なリガンド又は本発明の第２若しくは第３の態様の核酸分子又は本発明の第４の態様のベクター又は本発明の第５の態様の宿主細胞を薬学的に許容し得る担体と共に含む医薬組成物を提供する。以下に詳細に概説されるように、これらの組成物は、治療試薬若しくは診断試薬として、ワクチンとして、又は他の免疫原性組成物として適していてもよい。

【０２６７】

医薬組成物は、本発明によるペプチドの組合せを含んでいてもよい（たとえば、本明細書中の実施例６及び７を参照されたい）。上記ペプチドは、単量体実体として組成物に取り込まれてもよく、二重鎖又は複数鎖を形成するよう連結されてもよい。上記鎖は、単量体成分分子間にリンカー要素を含んでいてもよく又は含んでいなくてもよい。

【０２６８】

医薬組成物は、好ましくは、治療上有効量の本発明のペプチド、抗体、若しくは等価なリガンド、核酸分子、ベクター、又は宿主細胞を含むべきである。本明細書中に使用される用語「治療上有効量」は、標的の疾患若しくは状態を治療する、寛解させる、若しくは予防するために又は検出可能な治療の若しくは予防の効果を示すために必要な治療剤の量のことを言う。任意の化合物について、治療上有効な用量は、たとえば新生細胞の細胞培養アッセイにおいて又は動物モデル、通常、マウス、ウサギ、イヌ、若しくはブタにおいて最初に見積もることができる。動物モデルはまた、適切な濃度範囲及び投与経路を決定するために使用されてもよい。次いで、上記情報は、ヒトへの投与のための有用な用量及び経路を決定するために使用することができる。

【０２６９】

ヒト対象に対する的確な有効量は、疾患状況の重症度、対象の全般的な健康、対象の年齢、体重、及び性別、食餌、投与の時間及び頻度、薬物の組合せ（複数可）、反応感受性、及び療法に対する耐性／応答に依存していてもよい。この量は、ルーチン的な実験法により決定することができ、臨床医の判断の範囲内にある。通常、有効な用量は０．０００１ｍｇ／ｋｇ～５０ｍｇ／ｋｇ、好ましくは０．００１ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ、より好ましくは０．０５ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ、さらにより好ましくは０．１ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇだろう。組成物は、患者に個々に投与してもよく、又は他の作用物質、薬物、若しくはホルモンと組み合わせて投与されてもよい。

【０２７０】

０．００５ｍｇ／ｋｇ～０．０５ｍｇ／ｋｇの用量での本発明によるペプチドを含む組成物は、著しい望ましくない副作用を伴うことなく、ヒト患者における有用な治療効果を提供することが示された（本明細書中の実施例６及び７を参照されたい）。したがって、より少量の用量、等価な用量、又はより多量の用量のペプチドが本発明の組成物中に使用することができることは発明者により想定される。したがって、好ましい用量は、少なくとも０．００１ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．００２ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．００３ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．００４ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．００５ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．００６ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．００７ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．００８ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．００９ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．０１ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．０１５ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．０２ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．０３ｍｇ／ｋｇ、少なくとも０．０４ｍｇ／ｋｇ、又は少なくとも０．０５ｍｇ／ｋｇの本発明によるペプチドを含んでいてもよい。好ましい用量は、１ｍｇ／ｋｇ未満、０．９ｍｇ／ｋｇ未

満、０．０８ｍｇ／ｋｇ未満、０．０７ｍｇ／ｋｇ未満、０．０６ｍｇ／ｋｇ未満、又は０．０５ｍｇ／ｋｇ未満の本発明によるペプチドをさらに含んでいてもよい。好ましい用量は、０．００１ｍｇ／ｋｇ～１．０ｍｇ／ｋｇ、０．００２５ｍｇ／ｋｇ～０．０７５ｍｇ／ｋｇ、又は０．００５ｍｇ／ｋｇ～０．０５ｍｇ／ｋｇの本発明によるペプチドを含んでいてもよい。

【０２７１】

医薬組成物は、治療剤の投与のための、薬学的に許容し得る担体をさらに含んでいてもよい。上記担体は、担体自体が、組成物を受ける個体に対して有害な抗体の生産を誘発しないという条件で、抗体及び他のポリペプチド、遺伝子、並びにリポソーム等の他の治療剤を含み、担体は、過度の毒性がなければ投与されてもよい。適した担体は、タンパク質、多糖、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリマーのアミノ酸、アミノ酸コポリマー、及び不活性ウイルス粒子等の大きな、ゆっくり代謝される巨大分子であってもよい。

【０２７２】

薬学的に許容し得る塩、たとえば、塩酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩、硫酸塩等のような無機酸塩及び酢酸塩、プロピオン酸塩、マロン酸塩、安息香酸塩等のような有機酸の塩はその中に使用することができる。薬学的に許容し得る担体の完全な解説はＲｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（Ｍａｃｋ　Ｐｕｂ．Ｃｏ．，Ｎ．Ｊ．１９９１）において入手可能である。

【０２７３】

治療組成物における薬学的に許容し得る担体は、水、食塩水、グリセロール、及びエタノール等の液剤をさらに含んでいてもよい。さらに、湿潤剤又は乳化剤、ｐＨ緩衝物質等のような補助物質は、上記組成物中に存在してもよい。上記担体は、医薬組成物が患者による摂取のための錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル剤、液剤、ゲル、シロップ剤、スラリー、懸濁剤等として処方されるのを可能にする。

【０２７４】

処方されるとすぐに、本発明の組成物は対象に直接投与することができる。治療される対象は動物とすることができる；特に、ヒト対象を治療することができる。

【０２７５】

本発明に利用される医薬組成物は、経口手段、静脈内手段、筋肉内手段、動脈内手段、髄内手段、鞘内手段、脳室内手段、経皮手段、経皮的手段、皮下手段、腹腔内手段、鼻腔内手段、腸内手段、局所的手段、舌下手段、膣内手段、又は直腸手段を含むが、これらに限定されない任意の数の経路により投与されてもよい。遺伝子銃又はハイポスプレーもまた、本発明の医薬組成物を投与するために使用されてもよい（たとえば、ｗｗｗ．ｐｏｗｄｅｒｊｅｃｔ．ｃｏｍを参照されたい）。通常、治療組成物は、液体溶剤又は懸濁剤として、注射剤として調製されてもよい；注射前の液体媒体中の溶剤に又は懸濁剤に適した固体形態もまた調製されてもよい。

【０２７６】

組成物の直接的な送達は、皮下に、腹腔内に、静脈内に、若しくは筋肉内に注射により通常達成されるだろう、又は、組織の間質空間に送達されるだろう。投薬治療は、単一用量スケジュール又は複数用量スケジュールとしてもよい。

【０２７７】

１つのアプローチでは、上記に記載された問題の自己抗体をコードする遺伝子の発現は、内部的に産生された又は個別に投与されたアンチセンス核酸分子（上記に記載）の使用等の発現ブロッキング技術を使用して阻害することができる。遺伝子発現の修飾は、自己抗体をコードする遺伝子の制御領域、５’領域、又は調節領域（シグナル配列、プロモーター、エンハンサー、及びイントロン）に対する相補的配列又はアンチセンス分子（ＤＮＡ、ＲＮＡ、又はＰＮＡ）の設計により得ることができる。同様に、阻害は、「三重らせん」塩基対合方法論を使用して達成することができる（Ｈｕｂｅｒ，Ｂ．Ｅ．及びＢ．Ｉ．Ｃａｒｒ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ａｎｄ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃ　Ａｐｐｒｏａｃｈｅｓ，Ｆｕｔｕｒａ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏ．，Ｍｔ．Ｋｉｓｃｏ，ＮＹ中のＧｅ

ｅ，Ｊ．Ｅ．ら（１９９４）を参照されたい）。相補的配列又はアンチセンス分子はまた、転写物がリボソームに結合するのを予防することによりｍＲＮＡの翻訳をブロッキングするよう設計されてもよい。上記オリゴヌクレオチドは投与されてもよく又はｉｎ　ｖｉｖｏでの発現からｉｎ　ｓｉｔｕで産生されてもよい。

【０２７８】

遺伝子治療は、対象における関連する細胞による本発明のペプチドの内在的な生産を達成するために用いられてもよい。遺伝子治療は、ｉｎ　ｖｉｖｏ又はｅｘ　ｖｉｖｏで行うことができる。ｅｘ　ｖｉｖｏ遺伝子治療は、患者細胞の単離及び精製、治療遺伝子の導入、並びに患者において遺伝的に変化した細胞を戻す導入を必要とする。対照的に、ｉｎ　ｖｉｖｏ遺伝子治療は、患者の細胞の単離及び精製を必要としない。

【０２７９】

治療遺伝子は、患者に対する投与のために通常「パッケージ化される」。遺伝子送達媒体は、リポソーム等の非ウイルス性又はアデノウイルス等の複製欠損ウイルス（Ｂｅｒｋｎｅｒ，Ｋ．Ｌ．，ｉｎ　Ｃｕｒｒ．Ｔｏｐ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５８，３９－６６（１９９２）を参照されたい）又はアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクター（Ｍｕｚｙｃｚｋａ，Ｎ．，ｉｎ　Ｃｕｒｒ　Ｔｏｐ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５８，９７－１２９（１９９２）及び米国特許第５，２５２，４７９号を参照されたい）であってもよい。たとえば、本発明のペプチドをコードする核酸分子は、複製欠陥レトロウイルスベクターにおける発現のために操作されてもよい。次いで、この発現構築物は、単離され、ペプチドをコードするＲＮＡを含むレトロウイルスプラスミドベクターで形質導入されたパッケージング細胞に導入されてもよく、パッケージング細胞は、それから、興味のある遺伝子を含む感染性ウイルス粒子を生産する。これらの生産細胞は、ｉｎ　ｖｉｖｏでの細胞の操作及びｉｎ　ｖｉｖｏでのポリペプチドの発現のために対象に投与されてもよい（Ｈｕｍａｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ（１９９６），Ｔ　Ｓｔｒａｃｈａｎ及びＡ　Ｐ　Ｒｅａｄ，ＢＩＯＳ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ　Ｌｔｄ中のＣｈａｐｔｅｒ　２０，Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒａｐｙ　ａｎｄ　ｏｔｈｅｒ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｇｅｎｅｔｉｃ－ｂａｓｅｄ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ　Ａｐｐｒｏａｃｈｅｓ（及び記載される参考文献）を参照されたい）。

【０２８０】

他のアプローチは、治療遺伝子が血流又は筋組織に直接注射される、「裸のＤＮＡ」の投与である。

【０２８１】

本発明は、本発明のペプチド、核酸分子、ベクター、及び宿主細胞が自己抗体を引き起こす疾患に対する抗体を産生するようワクチン中に使用することができることをさらに規定する。したがって、本発明のこの態様は、上記に記載した本発明の実施形態の任意の１つによるペプチド、核酸分子、ベクター、又は宿主細胞を含むワクチン組成物を提供する。本発明によるワクチンは、予防的（つまり疾患を予防すること）又は治療的（つまり疾患の発生後に疾患を治療すること）であってもよい。上記ワクチンは、上記に記載された薬学的に許容し得る担体と通常組み合わせた免疫化するペプチド又は核酸を含み、担体は、それ自体、組成物を受ける個体に対して有害である抗体の生産を誘発しない任意の担体を含む。上記担体は免疫刺激剤（「アジュバント」）として機能してもよい。本発明のワクチン組成物中に使用されてもよいアジュバントは、無機物を含むアジュバント（水酸化物、リン酸塩、硫酸塩等を含んでいてもよい、アルミニウム塩及びカルシウム塩等の無機塩を含む）、油乳剤、サポニン製剤、ビロソーム及びウイルス様粒子、細菌誘導体及び微生物誘導体、ヒト免疫修飾因子、バイオ接着剤及びムコ接着剤（ｍｕｃｏａｄｈｅｓｉｖｅ）、微小粒子、リポソーム、ポリオキシエチレンエーテル製剤及びポリオキシエチレンエステル製剤、ポリホスファゼン（ＰＣＰＰ）、ムラミルペプチド、イミダゾキノロン化合物、チオセミカルバゾン化合物、並びにトリプタントリン化合物、又はそれらの組合せを含むがこれらに限定されない。

【０２８２】

さらに、ペプチドは、ジフテリア、破傷風、コレラ、Ｈ．ピロリ、及び他の病原体からのトキソイド等の細菌トキソイドに抱合してもよい。本発明によるペプチドは、１つずつ又は組み合わせて、単独で又はそれらペプチドの効力を促進するよう設計された作用物質と共に、リンカー要素及び担体を有する又は有していない一本鎖、二本鎖、又は複数鎖で使用されてもよい。

【０２８３】

ペプチドは胃中で分解される可能性があるので、ペプチドを含むワクチンは好ましくは非経口的に投与される（たとえば皮下注射、筋肉内注射、静脈内注射、又は皮内注射）。非経口投与に適した製剤は、抗酸化剤、緩衝液、静菌剤、及び製剤をレシピエントの血液と等張にする溶質を含んでいてもよい水性の及び非水性の滅菌注射溶剤並びに懸濁化剤又は増粘剤を含んでいてもよい水性の及び非水性の滅菌懸濁剤を含む。

【０２８４】

本発明のワクチン製剤は、単位用量容器又は複数用量容器中に提供されてもよい。たとえば、密閉されたアンプル及びバイアルは、使用直前に滅菌液体担体の追加のみを必要とする凍結乾燥状態で保管されてもよい。投薬は、ワクチンの特異的な活性に依存するだろう、そしてルーチン的な実験法により容易に決定することができる。

【０２８５】

本発明のこの態様は、疾患又は障害に対して個体にワクチン接種する方法であって、上記に記載した本発明の実施形態の任意の１つによるペプチド又はワクチン組成物を個体に投与することを含む方法を含む。

【０２８６】

単一の投与から長期間にわたり、たとえば、１日を超える間、１週間を超える間、１か月を超える間、数か月を超える間、患者に本発明の組成物を送達することは望ましいかもしれない。様々な徐放性剤形、持効性剤形、又は移植片剤形は発明者により想定される。たとえば、剤形は、薬学的に許容し得る無毒性の、体液における低度の溶解性を有するペプチドの塩を含むことができる。さらに、ペプチドはゲル、たとえばモノステアリン酸アルミニウムゲル中に、注射に適したたとえばゴマ油と共に処方することができる。注射のための他の種類の徐放性持効性製剤は、たとえばＵＳ３，７７３，９１９に記載されるように、ポリ乳酸／ポリグリコール酸ポリマー等の遅分解性、無毒性、非抗原性のポリマー中でのカプセル化のために分散したペプチド又は塩を含むであろう。適した徐放性製剤、持効性製剤、又は移植片製剤は当業者により特定することができる。

【０２８７】

本発明の他の態様によれば、自己免疫抗体の存在又はレベルについて個体を診断する方法が提供され、方法は、血液試料、血漿試料、若しくは血清試料、又は他の体液を、上記に記載した本発明の実施形態の任意の１つによるペプチドと、自己免疫抗体に対する標的の存在下で接触させること及び特異的に標的に結合する自然発生の自己抗体の量を評価することを含む。上記方法は、自己免疫抗体に結合することができる標的分子がペプチドと結合について特異的に競合する競合結合アッセイを含む。このように、ペプチドは、個体中に存在する自己免疫抗体の存在及び含量を検出するために使用することができる。上記アッセイは、放射免疫アッセイ、ウエスタンブロット分析、蛍光活性化細胞分類（ＦＡＣＳ）、又はＥＬＩＳＡ技術に基づくものであってもよい）。対象、生検を行った組織からの対照試料及び疾患試料中で発現した自己抗体の含量は、このように、標準値と比較することができる。標準値及び対象値の間の偏差は疾患を診断するためのパラメーターを確立する。診断アッセイは、自己免疫抗体の非存在、存在、及び過剰発現を区別するために及び治療的処置の間のポリペプチドレベルの調節を監視するために使用されてもよい。上記アッセイはまた、動物研究において、臨床治験において、又は個々の患者の治療の監視において、特定の治療的治療投与計画の効力を評価するために使用されてもよい。

【０２８８】

上記の方法は、標識ペプチドが複合体を形成するために自己抗体と標的分子について競合するように標識されたペプチドを利用してもよい。上記アッセイでは、複合体中で結合

した標識の量は試料中に存在する自己抗体の濃度に反比例する。ペプチドは、複合体の形成が酵素の活性を阻害する又は不活性化するように、酵素で標識されてもよい。或いは、ペプチドは、放射性又は蛍光性標識されてもよい。代替シナリオでは、標的分子は、標的分子への自己免疫抗体の結合が酵素を活性化し、分光光度計で測定可能な色変化を引き起こすよう、基質に連結された酵素に結合していてもよい。標的分子は、基質に連結された酵素に結合され、試料と接触することができる計量棒上に存在してもよい。

【０２８９】

すべてのこれらの方法論では、標的分子は、好ましくは、ヒト又は任意の動物種におけるＴ細胞受容体Ｖβ鎖上の少なくとも１つのエピトープを同定する抗ＴＣＲ　Ｖβポリクローナル免疫グロブリン分子若しくは抗ＴＣＲ　Ｖβモノクローナル免疫グロブリン分子又はその任意の一部であってもよい。

【０２９０】

自己抗体の検出を容易にするために、本発明は、上記に記載された本発明の実施形態の任意の１つによるペプチド；Ｔ細胞受容体Ｖβ鎖上の少なくとも１つのエピトープを同定する抗ＴＣＲ　Ｖβポリクローナル標的免疫グロブリン分子若しくは抗ＴＣＲ　Ｖβモノクローナル標的免疫グロブリン分子又はその任意の一部；並びに自己免疫抗体及び標的免疫グロブリン分子の間の結合反応の検出に有用な試薬を含む診断キットを提供する。上記キットは、疾患又は疾患に対する感受性の診断において相当に役に立つだろう。

【０２９１】

本発明のさらなる態様によれば、本発明の第１の態様による１つ又は複数のペプチドを取り込んだアレイが提供される。上記アレイは、疾患又は疾患に対する感受性の診断に有用である。ペプチドアレイ、タンパク質アレイ、及び抗体アレイの分野における最近の開発により多くのポリペプチドの同時検出が可能になっている。全般的タンパク質アレイシステム（ｕｎｉｖｅｒｓａｌ　ｐｒｏｔｅｉｎ　ａｒｒａｙ　ｓｙｓｔｅｍ）（Ｇｅ　Ｈ，（２０００）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２８（２），ｅ３）等のフィルター膜上の低密度タンパク質アレイは、標準的なＥＬＩＳＡ技術及び９６個のウェルを含む光学板ガラスプレート上の走査型電荷結合素子（ＣＣＤ）検出器を使用して整列した抗原の画像化を可能にする。臨床分析物の同時検出を可能にする免疫センサーアレイもまた開発された。上記タンパク質アレイを使用することにより、健常対象又は病気の対象の血清における並びに薬物治療前及び後の患者における等の体液においてタンパク質発現（自己抗体等）をプロファイリングすることができる。

【０２９２】

代替実施形態では、本発明の第１の態様の生物学的に発現した若しくは合成されたペプチドに対して産生されたポリクローナル抗体若しくはモノクローナル抗体又は等価なリガンドは、分析技術において、自己抗体又は自己抗体に対して作製された中和抗体の存在を定性的に又は定量的に検出するために使用されてもよい。

【０２９３】

ここでは、本発明の様々な態様及び実施形態を、例としてより詳細に、特異的なペプチドに特に関連して記載することとする。細部の修飾が本発明の範囲から逸脱することなく成されてもよいことは十分に理解されるだろう。

【図面の簡単な説明】

【０２９４】

【図１Ａ】クローニングした抗体ＶＨ領域及びＶＬ領域のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列の図である。

【図１Ｂ】クローニングした抗体ＶＨ領域及びＶＬ領域のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列の図である。

【図２】対照の関連がないモノクローナル抗体存在下でのヒト腫瘍細胞系の図である。

【図３Ａ】アクチン細胞骨格及び細胞突起の典型的な形態を示す、抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体存在下でのヒト腫瘍細胞系の図である。

【図３Ｂ】アクチン細胞骨格及び細胞突起の典型的な形態を示す、抗抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体

存在下でのヒト腫瘍細胞系の図である。
【図４Ａ】クローニングした抗体ＶＨ領域及びＶＬ領域のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列の図である。
【図４Ｂ】クローニングした抗体ＶＨ領域及びＶＬ領域のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列の図である。
【図４Ｃ】クローニングした抗体ＶＨ領域及びＶＬ領域のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列の図である。
【図４Ｄ】クローニングした抗体ＶＨ領域及びＶＬ領域のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列の図である。
【図４Ｅ】クローニングした抗体ＶＨ領域及びＶＬ領域のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列の図である。
【図５】ＮＤＸ－１治療群における０１日目及び４３日目の７５ｇグルコースの摂取前及び後の血清グルカゴン（平均値±ＳＤ）の図である。
【図６】抗糖尿病薬物の中止後の真性糖尿病２型患者におけるＨｂＡ１ｃレベルの図である。すべての対象からの平均データを示す；バーは平均値の標準誤差を示す。抗糖尿病薬物治療の復活後に対象から得られたデータは除外した。
【図７】抗糖尿病薬物の休止後の真性糖尿病２型患者における空腹時毛細血管グルコースレベルの図である。すべての対象からの平均データを示す；バーは平均値の標準誤差を示す。抗糖尿病薬物治療の復活後に対象から得られたデータは除外した。
【図８】抗糖尿病薬物の中止後の真性糖尿病２型患者における、アルブミンに対して補正した血清フルクトサミンレベルの図である。すべての対象からの平均データを示す；バーは平均値の標準誤差を示す。抗糖尿病薬物治療の復活後に対象から得られたデータは除外した。
【図９】抗糖尿病薬物の中止後の男性真性糖尿病２型患者におけるＨｂＡ１ｃレベルの図である。平均データの対象を示す；バーは平均値の標準誤差を示す。抗糖尿病薬物治療の復活後に対象から得られたデータは除外した。
【図１０】抗糖尿病薬物の中止後の男性真性糖尿病２型患者における空腹時毛細血管グルコースレベルの図である。平均データを示す；バーは平均値の標準誤差を示す。抗糖尿病薬物治療の復活後に対象から得られたデータは除外した。
【図１１】抗糖尿病薬物の中止後の男性真性糖尿病２型患者における、アルブミンに対して補正した血清フルクトサミンレベルの図である。平均データを示す；バーは平均値の標準誤差を示す。抗糖尿病薬物治療の復活後に対象から得られたデータは除外した。
【図１２Ａ】本明細書中で同定された超可変領域配列に対する、知られているＶＨ配列及びＶＬ配列からの超可変領域配列のアラインメントの図である。
【図１２Ｂ】本明細書中で同定された超可変領域配列に対する、知られているＶＨ配列及びＶＬ配列からの超可変領域配列のアラインメントの図である。
【図１２Ｃ】本明細書中で同定された超可変領域配列に対する、知られているＶＨ配列及びＶＬ配列からの超可変領域配列のアラインメントの図である。
【図１２Ｄ】本明細書中で同定された超可変領域配列に対する、知られているＶＨ配列及びＶＬ配列からの超可変領域配列のアラインメントの図である。
【図１２Ｅ】本明細書中で同定された超可変領域配列に対する、知られているＶＨ配列及びＶＬ配列からの超可変領域配列のアラインメントの図である。
【実施例】
【０２９５】
実施例１：抗体配列決定
方法
全ＲＮＡ単離
ポリＡ$^{+}$ｍＲＮＡを、抗抗ＴＣＲ　Ｖβ及びＧＰＩ連結の要素を認識する抗体を分泌した１０$^{9}$凍結モノクローナル細胞からグアニジンイソチオシアネート法を使用して抽出した。全ＲＮＡ単離は、Ａｍｂｉｏｎ社製ＲＮＡｑｅｏｕｓキット（カタログＮｏ．１９１

２、　ロットＮｏ．０１９Ｋ０１５８）を使用して行った。約０．３ｍｇの凍結ハイブリドーマ細胞を５ｍｌ溶解／結合溶液中に再懸濁した。溶解の後で、５ｍｌの６４％エタノールを追加して、混合し、溶解物／エタノール混合物をＲＮＡｑｅｏｕｓフィルターユニットに充て、ＲＮＡをフィルターマトリックスに結合させるために遠心分離した。次いで、フィルターを７００μｌ洗浄溶液Ｎｏ．１で１回、５００μｌ洗浄溶液２／３で２回洗浄し、そして、最終洗浄後の最終遠心分離ステップを伴って、各洗浄ステップ後に遠心分離した。ＲＮＡは、フィルターの中心に２×６０μｌの予熱した（９５℃）溶離溶液を充て、遠心分離をかけることによりフィルターから溶離した。溶離したＲＮＡは、一晩、－２０℃で０．５×体積　塩化リチウムで沈殿させた。７０％冷エタノール中での洗浄の後で、ＲＮＡペレットを風乾し、２０μｌ滅菌水中に再懸濁し、－７０℃で保管した。

【０２９６】

第１のｃＤＮＡ鎖へのＲＮＡの逆転写

相補的ＤＮＡ鎖は、上記で単離した１μｇのＲＮＡを使用して構築した。

【０２９７】

逆転写反応は、Ａｍｂｉｏｎ社製Ｒｅｔｒｏｓｃｒｉｐｔキット（カタログＮｏ．１７１０、ロットＮｏ．０７８Ｋ０２６２）を使用して以下のように設定した：

μｌ

１　ＲＮＡ（１μｇ）

４　混合ｄＮＴＰ（各２．５ｍＭ）

２　オリゴｄＴの第１のプライマー鎖

９　滅菌水

【０２９８】

この溶液を７５℃で３分間インキュベートし、次いで氷上に置いた。次いで次のものを追加した：

μｌ

２　１０×別のＲＴ－ＰＣＲ緩衝液

１　胎盤ＲＮＡａｓｅ阻害因子

１　Ｍ－ＭＬＶ逆転写酵素

【０２９９】

反応は、４２℃で９０分間進ませ、９２℃での１０分間のインキュベーションにより不活性化した。次いで、反応を－２０℃で保存する。

【０３００】

Ｉｇ重鎖断片及び軽鎖断片のポリメラーゼ連鎖反応

マウスＩｇプライマーセット（添付１、Ｎｏｖａｇｅｎ社、カタログＮｏ．６９８３１－３、ロットＮｏ．Ｎ１４７５４）をメーカーの使用説明書に従って、上記で調製した第１のｃＤＮＡ鎖を使用し、重鎖及び軽鎖Ｉｇ断片のＰＣＲに使用した。

【０３０１】

反応は、必要になるまで－２０℃で保存した。

【０３０２】

ＰＣＲ産物のクローニング

すべてのＰＣＲ産物は、配列決定を容易にするために平滑末端クローニングシステムにクローニングした。使用したシステムは、ｐＳＴＢｌｕｅ－１　Ｐｅｒｆｅｃｔｌｙ　Ｂｌｕｎｔ（商標）クローニング（Ｎｏｖａｇｅｎ社、カタログＮｏ．７０１９１－３）及びＺｅｒｏ　Ｂｌｕｎｔ（商標）ＰＣＲクローニングキット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ社、２５－０１６２）であった。次いで、ＰＣＲ産物を標準的な手順により配列決定した。

【０３０３】

結果

重鎖及び軽鎖可変領域について得られたヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図１Ａ及び１Ｂ（配列番号１～４）に示す。超可変領域を推定し、図１Ａ及び１Ｂ中で下線を引いた（配列番号６～１６）。

【０３０４】
実施例２：ホモ二量体ＣＤＲペプチド
Ｎ末端システインを、Ｆｍｏｃペプチド合成により合成し、二量体化してホモ二量体を形成した超可変領域配列（ＣＤＲ－Ｌ１～３及びＣＤＲ－Ｈ１～３、配列番号６～１６）のそれぞれに追加した。ホモ二量体のそれぞれのいくつかをビオチン化した；次いで、ビオチン化ホモ二量体を、蛍光顕微鏡により、ヒト膵臓α細胞（指標ヒト組織として使用）に結合するホモ二量体の性能について、第２のステップ試薬として蛍光化抗ビオチンを使用することにより試験した。ＣＤＲ－Ｈ２（配列番号８）、ＣＤＲ－Ｈ３（配列番号１０）、及びＣＤＲ－Ｌ３（配列番号１６）からのホモ二量体は、膵臓α細胞に結合することがわかった。次いで、非ビオチン化ホモ二量体ペプチドを、ＥＬＩＳＡにより、抗ＴＣＲ
Ｖβ抗体に及びリン脂質の指標としてのカルジオリピンに結合するペプチドの性能について試験した（表１）。
【０３０５】
表１．モノクローナル抗抗ＴＣＲ　Ｖ$_{\beta}$抗体又はホモ二量体ペプチドＣＤＲ－Ｈ２、ＣＤＲ－Ｈ３、及びＣＤＲ－Ｌ３の抗ＴＣＲ　Ｖ$_{\beta}$抗体に対する結合を示すＥＬＩＳＡの光学密度示度
【表２】

| 抗原 | α–α–TCR $V_{\beta}$ 抗体 | CDR-H2 | CDR-H3 | CDR-L3 |
|---|---|---|---|---|
| α–TCR$V_{\beta}$抗体 | 0.806 ± 0.056# | 0.307 ± 0.018* | 0.182 ± 0.009* | 0.243 ± 0.008* |
| 培地#/PBS* | 0.372 ± 0.037# | 0.168 ± 0.010* | 0.091 ± 0.020* | 0.140 ± 0.018* |
| 比試験／対照 | 2.17 | 1.83 | 2.00 | 1.74 |
| ｶﾙｼﾞｵﾘﾋﾟﾝ** | 0.142 ± 0.070 | 0.151 ± 0.020 | 0.132 ± 0.009 | 0.254 ± 0.012 |
| ｱﾙｺｰﾙ** | 0.038 ± 0.014 | 0.063 ± 0.012 | 0.061 ± 0.006 | 0.114 ± 0.021 |
| 比試験／対照 | 3.74 | 2.40 | 2.16 | 2.23 |

＃　マイクロタイタープレートをα－ＴＣＲ　Ｖ$_{\beta}$で被覆し、α－α－ＴＣＲ　Ｖ$_{\beta}$又は培地に対して試験した。
＊　マイクロタイタープレートをＣＤＲ－Ｈ２、ＣＤＲ－Ｈ３、及びＣＤＲ－Ｌ３で被覆し、α－ＴＣＲ　Ｖ$_{\beta}$又は培地に対して試験した。
＊＊　マイクロタイタープレートを、エチルアルコール中のカルジオリピン又はエチルアルコールで被覆し、α－α－ＴＣＲ　Ｖ$_{\beta}$又はＣＤＲ－Ｈ２、ＣＤＲ－Ｈ３、及びＣＤＲ－Ｌ３に対して試験した。
それぞれの平均値及び標準偏差は３つの観察についてのものである。
【０３０６】
実施例３：ｉｎ　ｖｉｖｏでの自己抗体の同定
抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体に結合する自己抗体（抗抗ＴＣＲ　Ｖβ及び本発明のペプチドにより代表される）のヒト血清における存在の証拠を表２に示す。自己抗体は、成人母集団内ではおそらく遍在性となるので、検出不可能なレベルは、小児において最も見つかりそうである。これは、ＩＣＡ陽性対照及びＩＣＡ陰性対照と比較した、新たに診断されたＩ型糖尿病小児において高度なレベルを示す、表２中のデータにより支持される。
【０３０７】
表２．新たに診断された糖尿病小児及び非糖尿病小児からの血清の、モノクローナル抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体に対する反応性。

【表３】

| 対象の種類 | 対象の総数 | 抗 TCR Vβに対して反応性の数 | 試験／対照指数範囲 * | 平均指数 |
|---|---|---|---|---|
| 新たに診断した糖尿病患者 | 8 | 7 | 1.8 - 3.8 | 2.7 ± 0.8 |
| 非糖尿病患者 ICA陽性 | 10 | 5 | 1.2 - 1.5 | 1.3 ± 0.1 |
| 非糖尿病患者 ICA陰性 | 10 | 3 | 1.2 – 2.1 | 1.6 ± 0.5 |

＊指数範囲は、１対３０に希釈した試験血清を希釈剤のみ（培地）と比較する、光学密度実測値の比を利用することにより導き出す。

・マイクロタイタープレートは抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体で被覆した。

・血清は培地中で１対３０に希釈した。

・結合は、抗ヒトＩｇペルオキシダーゼ及び適切な基質を使用して検出した。

【０３０８】

実施例４：癌転移

自己抗体はまた、細胞運動を引き起こすアクチン細胞骨格と相互作用するｕＰＡＲ等のＧＰＩ連結型分子に結合することにより癌転移にも関係する（５１ページを参照されたい）。ｕＰＡＲ又は類似する分子が細胞骨格の維持を担う可能性がある他の例は、嚢胞性線維症（５４ページを参照されたい）において又は上記分子を持つ滑膜細胞が軟骨及び骨に浸潤する関節炎において（５０ページを参照されたい）損なわれる最適なＣＦＴＲ機能についてのものである。

【０３０９】

図２は、関連がない抗体存在下でのヒト腫瘍細胞系を示すが、図３ａ及び３ｂは、同一の腫瘍細胞系に対する抗抗ＴＣＲ　Ｖβモノクローナル抗体の影響を示し、３０分間のインキュベーション後の運動を示す、アクチン細胞骨格及び細胞突起の変化を実証する。

【０３１０】

実施例５：さらなる抗体配列決定

５つのさらに交差反応性のネズミ抗抗ＴＣＲ　Ｖβモノクローナル抗体をコードする遺伝子を、上記実施例１に記載された方法を使用してクローニングし、配列決定した。モノクローナル抗体配列を得た細胞系は、本明細書中において名付けた細胞系１３．４２ａ、３２．１５、３２．１７、３２．７５、及び３２．２である。細胞系３２．１５、３２．１７、３２．７５、及び３２．２により生産された抗体は、ＩｇＭ抗体であり、実施例１においてクローニングされ配列決定された抗体と同様である。細胞系１３．４２ａにより生産された抗体はＩｇＧ抗体である。

【０３１１】

結果

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図４Ａ～４Ｅに示す。細胞系１３．４２ａ　ＶＨ及びＶＬヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図４Ａ（配列番号１７～２０）に示す。細胞系３２．１５　ＶＨ及びＶＬヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図４Ｂ（配列番号３３～３６）に示す。細胞系３２．１７　ＶＨ及びＶＬヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図４Ｃ（配列番号４９～５２）に示す。細胞系３２．７５　ＶＨ及びＶＬヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図４Ｄ（配列番号６５～６８）に示す。細胞系３２．２　ＶＨ及びＶＬヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図４Ｅ（配列番号８１～８４）に示す。

【０３１２】

超可変領域を推定し、図４Ａ～４Ｅで下線を引いた。細胞系１３．４２ａ超可変領域ヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図４Ａ（配列番号２１～３２）に示す。細胞系３２．１５超可変領域ヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図４Ｂ（配列番号３７～４８）に示す。細胞系３２．１７超可変領域ヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図４Ｃ（配列番号５３～６４）に示す。細胞系３２．７５超可変領域ヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図４Ｄ（配列番号６９～８０）に示す。細胞系３２．２超可変領域ヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図４Ｅ（配列番号８５～９６）に示す。

【０３１３】

細胞系１３．４２ａ、３２．１５、３２．１７、３２．７５、及び３２．２について決定した超可変領域配列を実施例１で同定した超可変領域配列と比較し、どの超可変領域残基が、交差反応性の抗ＴＣＲ　Ｖβ結合にとって重要かを確立した（つまり、ＧＰＩ連結エピトープ及び抗ＴＣＲ　Ｖβ抗体、シグナリング能力を有する分子、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルセリン、及びカルジオリピン（ジアシルグリセロール）を含むリン脂質、リン脂質グリカン、インスリン作用のセカンドメッセンジャー、一本鎖ＤＮＡ、又は二本鎖ＤＮＡに対する多特異性反応性にとって重要な超可変領域残基）。比較した超可変領域を表３及び４において以下に示す：

表３：重鎖超可変領域（ＣＤＲ）配列

【表４】

| | CDR-H1 | CDR-H2 | CDR-H3 |
|---|---|---|---|
| 実施例1 | GYTFTRNWINW | NIYPSDSYTNYNQKFKD | LRGLLPDY |
| 細胞系 13.42a | GYAFTSYNMFW | YIDPYNGDTRYSQKFKG | KGMTTGYA |
| 細胞系 32.15 | GYTFTNYGMNW | WINTYTGEPTYADDFKG | EGLYGNYF |
| 細胞系 32.17 | GYTFTRNWINW | NIYPSDSYTNYNQKFKD | LRGLLPDY |
| 細胞系 32.75 | GYTFTRNWINW | NIYPSDSYTNYNQKFKD | LRGLLPDY |
| 細胞系 32.2 | GYTFTNYGMNW | WINTYTGEPTYADDFKG | EGLYGNYF |
| 保存残基 | GY-FT-----W | -I--------Y---FK- | --------- |

表４：軽鎖超可変領域（ＣＤＲ）配列

【表５】

| | CDR-L1 | CDR-L2 | CDR-L3 |
|---|---|---|---|
| 実施例1 | KASQNVDTNVA | SASYRYS | QQYNSYPLT |
| 細胞系 13.42a | RASQDISNYLN | YTSRLHS | QQGNTFPTF |
| 細胞系 32.15 | KASQNVGTNVA | SASYRYS | QQYNSYPLT |
| 細胞系 32.17 | RASSSISSNYL | RTSILAS | QQGSSSPLT |
| 細胞系 32.75 | KASQNVDTNVA | SASYRYS | QQYNSYPPT |
| 細胞系 32.2 | KASQNVGTNVA | SASYRYS | QQYNSYPLT |
| 保存残基 | -AS-------- | --S---S | QQ----P-- |

【０３１４】

これらの超可変領域配列の分析は、交差反応性の抗ＴＣＲ　Ｖβ結合に必要な残基に関する重要な情報を明らかにする（つまり、本明細書中に記載されるような、ＧＰＩ連結エピトープに対する多特異性反応性）。

【０３１５】

第１に、配列の分析は、特異的なアミノ酸が、各ＣＤＲ内のある種の位置で必須である

可能性があることを示唆する。コンセンサス配列を各ＣＤＲについて生成した、コンセンサス配列は、発明者によりクローニングされ、配列決定されたすべての６つの抗体にわたって完全に保存されているアミノ酸を取り込む。以下のコンセンサス配列では、「ｘ」は任意のアミノ酸とすることができ、「－」はペプチド結合を示す。

【０３１６】

【化１２】

| | |
|---|---|
| CDR-H1 | G-Y-x-F-T-x-x-x-x-x-W |
| CDR-H2 | x-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x |
| CDR-H3 | 完全な保存残基なし |
| CDR-L1 | x-A-S-x-x-x-x-x-x-x-x |
| CDR-L2 | x-x-S-x-x-x-S |
| CDR-L3 | Q-Q-x-x-x-x-P-x-x |

【０３１７】

第２に、配列の分析は、各ＣＤＲに対する「一般式」の生成を可能にした。以下の式では、２つ以上のアミノ酸残基がＣＤＲ中の所定の位置に生じることがわかり、それらの残基は括弧で示す。

【０３１８】

【化１３】

| | |
|---|---|
| CDR-H1 | G-Y-[TA]-F-T-[RNS]-[YN]-[WGN]-[IM]-[NF]-W |
| CDR-H2 | [NWY]-I-[YND]-[PT]-[SY]-[DNT]-[SG]-[YDE]-[TP]-[NRT]-Y-[NSA]-[QD]-[KD]-F-K-[DG] |
| CDR-H3 | [LKE]-[RG]-[GML]-[LTY]-[LTG]-[PGN]-[DY]-[YAF] |
| CDR-L1 | [KR]-A-S-[QS]-[NDS]-[VI]-[DSG]-[TNS]-[NY]-[VLY]-[ANL] |
| CDR-L2 | [SYR]-[AT]-S-[YRI]-[RL]-[YHA]-S |
| CDR-L3 | Q-Q-[YG]-[NS]-[TS]-[YFS]-P-[LTP]-[TF] |

【０３１９】

したがって、上記の「一般式」は、発明者によりクローニングされ、配列決定された６つのＩｇＭ及びＩｇＧのモノクローナル抗体のＣＤＲ配列のそれぞれを包含する。

【０３２０】

第３に、配列の分析は、保存アミノ酸だけではなく、ＣＤＲの各位置で最も共通した（主要の）アミノ酸（複数可）も考慮に入れるアミノ酸式を各ＣＤＲについて生成することを可能にした。以下の式では、保存アミノ酸又は主要なアミノ酸は、アミノ酸が所定の位置で共に主要であるとわかった（すなわち、クローニングされ、配列決定されたＣＤＲにおいてアミノ酸が等回数生じるとわかった）場合を除いて、記載し、共に主要なアミノ酸は括弧で記載する。

【０３２１】

【化１４】

| | |
|---|---|
| CDR-H1 | G-Y-T-F-T-R-[YN]-W-[IM]-N-W |
| CDR-H2 | N-I-Y-P-[SY]-D-[SG]-Y-T-N-Y-N-Q-K-F-K-[DG] |
| CDR-H3 | L-[RG]-G-L-L-P-[DY]-Y |
| CDR-L1 | K-A-S-Q-N-V-[DSG]-T-N-V-A |
| CDR-L2 | S-A-S-Y-R-Y-S |
| CDR-L3 | Q-Q-Y-N-S-Y-P-L-T |

【０３２２】

１つ又は複数の上記のコンセンサス配列及び式の必要を満たすアミノ酸配列を含む又はから成るペプチドは、後述の実施例６及び７においてｉｎ　ｖｉｖｏで試験されたペプチドに対して等価な生物活性を有しているだろう、そして本発明に従って有用だろうということが考えられる。

【０３２３】

実施例６：Ｉ／ＩＩａ相治験

グルコース不耐性を有する１２人の男性対象が、ＮＤＸ－１の安全性及び耐用性を評価するためにＩ／ＩＩａ相二重盲検偽薬対照臨床治験に参加した。ＮＤＸ－１は、２：１：１の比率で混合した、本発明による３つのペプチド（Ｂ７１、Ｃ８０、及びＦ９０）の混合物である。Ｂ７１は、ＣＤＲ－Ｈ２由来の単量体ペプチドのホモ二量体であり、各単量体は、配列番号８に提示されるアミノ酸配列及びさらにＮ末端システイン残基を含む。Ｂ７１単量体ペプチドのアミノ酸配列は配列番号１５９に与えられる。Ｃ８０は、ＣＤＲ－Ｈ３由来の単量体ペプチドのホモ二量体であり、各単量体は、配列番号１０に提示されるアミノ酸配列及びさらにＮ末端システイン残基を含む。Ｃ８０単量体ペプチドのアミノ酸配列は配列番号１６０に与えられる。Ｆ９０は、ＣＤＲ－Ｌ３由来の単量体ペプチドのホモ二量体であり、各単量体は、配列番号１６に提示されたアミノ酸配列及びさらにＮ末端システイン残基を含む。Ｆ９０単量体ペプチドのアミノ酸配列は配列番号１６１に与えられる。患者は、試験物質、ＮＤＸ－１ペプチド混合物、又は偽薬の注射の０１日目から１週間間隔を置いた、合計４回の筋肉内（ＩＭ）注射を受けるためにランダム化された。３人の対象は、１．１ｍｌ食塩水中０．１％アルハイドロゲルから成る偽薬の注射を受けた。９人の対象は、０．１％アルハイドロゲルを含む１．１ｍｌ食塩水中０．９９ｍｇのＮＤＸ－１ペプチド混合物を受けた。偽薬及び試験の注射は見かけ上同一であった。

【０３２４】

ＮＤＸ－１ペプチド混合物は十分に耐性があった。治療対照では、グルコース、インスリン、及びグルカゴンの空腹時濃度はベースラインと比較して著しく変化しなかった。対象は、第１の注射前の０１日目及び４３日目に経口グルコース耐性試験（ＯＧＴＴ）を受けた。血液は、７５ｇグルコースの摂取前及び摂取後の３０、６０、９０、及び１２０分の両方の場合でサンプリングされた。

【０３２５】

ＮＤＸ－１ペプチド混合物を受けた対象は、偽薬群と比較して、２時間血清グルコース濃度において著しい減少を示した（ｐ＝０．０３）。グルカゴンがＮＤＸ－１群におけるその最低のレベルに到達するのに必要な時間は、０１日目で１１３．３±１３．２分であり、４３日目で６３．３±４１分に達した（ｐ＝０．００２７；図５を参照されたい）。治験の終了までの、ベースラインからの、血漿クレアチニン（ｐ＝０．０００９）、ナトリウム（ｐ＝０．０３４４）、塩化物（ｐ＝０．００４１）、及び血漿尿素（ｐ＝０．０１５６）における割合の変化にもＮＤＸ－１群及び偽薬群を比較して有意差があった。これらの変化は、治療群においてではなく偽薬群において疾患進行と一致していた。さらに、試験群におけるＯＧＴＴ研究の２時間のグルコース及びグルカゴンの結果は、自己血糖調節におけるＮＤＸ－１ペプチド混合物の効力を実証する。

【０３２６】

実施例７：２型糖尿病患者におけるＩＩｂ相治験

１回又は複数回の経口抗糖尿病薬物治療中の２型真性糖尿病を有する３１人の対象（男性２１人及び女性１０人）が、１６週間の期間のランダム化二重盲検研究に参加した。０１日目で、抗糖尿病薬物治療はすべて停止された。患者を、偽薬群（Ｃ群）又はＡ群、Ｂ群、若しくはＤ群として記載される３つの治療群のうちの１つにランダム化した。すべての群は、０１日目から開始して、１週間離して間隔を置いた合計４回のＩＭ注射を受けた。偽薬群（８人の対象）は、０．１％アルハイドロゲルを含む１．２ｍｌの食塩水を受けた。Ａ群（７人の対象）は、０．１％アルハイドロゲルを含む１．２ｍｌ食塩水中の本発明による１．５１ｍｇのペプチド（本明細書中においてＮＤＸ－７１と名付けられた）を受けた。Ｂ群（８人の対象）は、０．１％アルハイドロゲルを含む１．２ｍｌ食塩水中０

．８６ｍｇ　ＮＤＸ－７１を受けた。Ｄ群（８人の対象）は、０．１％アルハイドロゲルを含む１．２ｍｌ食塩水中の本発明の３つのペプチド（０．９２ｍｇ　ＮＤＸ－７１、０．６８ｍｇ　Ｃ８０、及び０．７１ｍｇ　Ｆ９０）の混合物を受けた。偽薬及び研究の薬物治療は見かけ上同一であった。この実施例で使用されたＮＤＸ－７１ペプチドは、実施例６で使用されたＢ７１ペプチドであった。この実施例で使用されたＣ８０及びＦ９０のペプチドは、実施例６で使用したＣ８０及びＦ９０のペプチドであった。

【０３２７】

研究期間を通じて一定の間隔で、患者は、臨床的な安全性パラメーター及び血糖効力パラメーターについての血液試験を受けた。試験物質は十分に耐性があった。すべての群における臨床的な安全性パラメーターはベースラインから不変であった。試験物質に起因する、研究において報告された有害事象はなかった。

【０３２８】

薬物休止後の４か月にわたり、ＨｂＡ１ｃ、空腹時血中グルコース、及びフルクトサミンで測定されたように、偽薬群において血糖制御の著しい悪化があった（図６～８を参照されたい）。ＨｂＡ１ｃの平均レベルは、ベースラインでの６．３％から１１３日目での８．３％まで増加した。しかしながら、高用量の治療群では、ＨｂＡ１ｃレベルは、ベースラインでの６．３から１１３日目での６．９まで、長い間にわたってほぼ一定のままであり、偽薬群と著しく異なった（ｐ＝０．０２；図６を参照されたい）。

【０３２９】

２１人の男性ボランティアのサブセット分析は、偽薬（Ｃ群）並びにＡ群、Ｂ群、及びＤ群の間で、研究したすべての血糖パラメーターについて併せ持って、全体的な有意性又は高度な有意差を示した、すなわち、ＨｂＡ１ｃ（ｐ＝０．００４；図９を参照されたい）、空腹時血中グルコース（ｐ＝０．０２４；図１０を参照されたい）、及び補正フルクトサミン（ｐ＝０．０１５；図１１を参照されたい）。様々なパラメーターについての、偽薬（Ｃ群）及び高用量群（Ａ群）の間の統計的に有意な治療の差異は次のとおりだった：ＨｂＡ１ｃ　ｐ＜０．００１、空腹時グルコースｐ＝０．００５、及び補正フルクトサミンｐ＝０．００１。偽薬と比較した、治療群における血糖制御は自己血糖調節の所望の効果を実証する。

【０３３０】

この実施例は、抗糖尿病薬物治療の休止後、１．５１ｍｇ用量のＮＤＸ－７１を受けた患者がＮＤＸ－７１の経口抗糖尿病薬物治療非存在下で良好な血糖制御を維持することができたことを実証する。さらに、ＮＤＸ－７１の効果は、効果がＮＤＸ－７１の最終投薬後のちょうど３か月観察されたという点で、長く持続した。より低用量の０．８６ｍｇＮＤＸ－７１及び３つのペプチドの混合物を受けた対象もまた偽薬と比較して改善を示し、これは、ＮＤＸ－７１が用量反応効果を有しており、より高用量又はより頻繁な注射がよりいっそうの好都合な結果をもたらす可能性があることを示す。

【０３３１】

実施例８：知られている配列の分析

実施例１及び５において同定された超可変領域配列を使用し、関連する結合特性を有する、知られているＶＨ領域及びＶＬ領域の超可変領域配列を同定した。次いで、知られているＶＨ領域及びＶＬ領域の超可変領域配列を、実施例１及び５において同定された超可変領域配列と比較し、交差反応性の抗ＴＣＲ　Ｖβ結合にとって重要な超可変領域残基を分析した（すなわち、本明細書中に記載されるＧＰＩ連結エピトープに対する多特異性反応性にとって重要な超可変領域残基）。実施例５に記載されたプロセスと同一の配列分析プロセスを適用することにより、図１２Ａ～１２Ｅに例示されるように、さらなる一連のコンセンサス配列及び式を同定した。

【０３３２】

先行技術の同定されたＶＨ領域及びＶＬ領域についてのアクセッション番号は、図１２Ａ～１２Ｅに記載する。それらのＶＨ領域及びＶＬ領域についての、先行技術において開示された結合特異性もまた、以下の略語を使用して図１２Ａ～１２Ｅに記載する：

【化１５】

| | |
|---|---|
| 抗-RF | 抗リウマチ因子 |
| 抗-CL | 抗カルジオリピン |
| 抗-RNA | 抗RNA |
| 抗-sDNA | 抗sDNA |
| 抗-NA | 抗一本鎖DNA |
| 抗-VA | 抗核抗体 |
| 抗-CD8 | 抗CD8 |
| 抗-TG | 抗サイクログロブリン |
| 抗-3H1 | 抗イディオタイプ抗体3HI |
| 抗-RO | 抗Ro |
| 抗-TRKA | 抗TrkA(高親和性NGF受容体) |

【０３３３】

実施例１及び５において同定されたＩｇＧ及びＩｇＭ超可変領域配列は、異なるコンセンサス配列及び式を同定することがわかったので、この実施例において個別に分析した。

【０３３４】

ＩｇＭ　ＣＤＲ－Ｈ１配列については、以下のコンセンサス配列及び式が同定された（図１２Ａを参照されたい）：

【化１６】

IgM CDR-H1 G-Y-T-F-T-x-x-x-x-x-W

IgM CDR-H1 G-Y-T-F-T-[RNYSTDEG]-[NYF]-[WGAY]-[IMV]-[NGQH]-W

IgM CDR-H1 G-Y-T-F-T-[RNS]-Y-W-[IM]-N-W

【０３３５】

ＩｇＧ　ＣＤＲ－Ｈ１配列については、以下のコンセンサス配列及び式が同定された（図１２Ａを参照されたい）：

【化１７】

IgG CDR-H1 G-Y-x-F-x-x-Y-x-M-x-W

IgG CDR-H1 G-Y-[ATS]-F-[T/S]-[SDG]-Y-[NWV]-M-[FQHN]-W

IgG CDR-H1 G-Y-T-F-T-S-Y-W-M-H-W

【０３３６】

ＩｇＭ　ＣＤＲ－Ｈ２配列については、以下のコンセンサス配列及び式が同定された（図１２Ｂを参照されたい）：

【化１８】

IgM CDR-H2 x-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x

IgM CDR-H2 [NWEAY]-I-[YND]-[PT]-[SYG]-[DTGY]-[SGD]-[YEGS]-[TP]-[NTYGS]-Y-[NAI]-[QDE]-[KD]-F-K-[DGN]

IgM CDR-H2 N-I-Y-P-S-D-S-Y-T-N-Y-N-Q-K-F-K-G

【０３３７】

ＩｇＧ　ＣＤＲ－Ｈ２配列については、以下のコンセンサス配列及び式が同定された（図１２Ｂを参照されたい）：

【化１９】

IgG CDR-H2 x-I-x-P-x-x-x-x-T-x-Y-x-x-K-F-x-G

IgG CDR-H2 [YWKNLR]-I-[DN]-P-[YAEFS]-[NYS]-[GD]-[DSG]-T-[RESKN]-Y-[SAN]-[QSEP]-K-F-[KQT]-G

IgG CDR-H2 [YW]-I-N-P-Y-N-G-D-T-[ES]-Y-N-Q-K-F-K-G

【０３３８】

ＣＤＲ－Ｈ３については、そのＣＤＲには、高度なレベルの配列及び長さの変化があることがわかったので、コンセンサス配列又は式は同定されなかった。

【０３３９】

ＩｇＭ　ＣＤＲ－Ｌ１配列については、以下のコンセンサス配列及び式が同定された（図１２Ｃ参照されたい）：

【化２０】

IgM CDR-L1 x-A-S-x-x-x-x-x-x-x-x

IgM CDR-L1 [KR]-A-S-[QS]-[NSDT]-[VI]-[DGSR]-[TSYNK]-[NADY]-[VYGL]-[ALD]

IgM CDR-L1 K-A-S-Q-N-V-S-T-N-V-A

【０３４０】

ＩｇＧ　ＣＤＲ－Ｌ１配列については、以下のコンセンサス配列及び式が同定された（図１２Ｃ参照されたい）：

【化２１】

IgG CDR-L1 x-A-S-x-x-x-x-x-x-L-x

IgG CDR-L1 [RK]-A-S-[QR]-[DSG]-[IV]-[SN]-[NSG]-[YW]-L-[NHA]

IgG CDR-L1 R-A-S-Q-S-I-S-N-Y-L-[NA]

【０３４１】

ＩｇＭ　ＣＤＲ－Ｌ２配列については、以下のコンセンサス配列及び式が同定された（図１２Ｄを参照されたい）：

【化２２】

IgM CDR-L2 x-x-S-x-x-x-S

IgM CDR-L2 [SRW]-[AT]-S-[YIT]-[RL]-[YAE]-S

IgM CDR-L2 S-A-S-Y-R-Y-S

【０３４２】

ＩｇＧ　ＣＤＲ－Ｌ２配列については、以下のコンセンサス配列及び式が同定された（図１２Ｄを参照されたい）：

【化２３】

IgG CDR-L2 x-T-S-x-L-x-x

IgG CDR-L2 [YLDTK]-T-S-[RNKV]-L-[HAG]-[SP]

IgG CDR-L2 Y-T-S-N-L-A-S

【０３４３】

ＩｇＭ　ＣＤＲ－Ｌ３配列については、以下のコンセンサス配列及び式が同定された（

図１２Ｅを参照されたい）：
【化２４】

**IgM CDR-L3 Q-Q-x-x-S-x-P-x-T**

**IgM CDR-L3 Q-Q-[YGWR]-[NSAG]-S-[YSDW]-P-[LPYI]-T**

**IgM CDR-L3 Q-Q-Y-N-S-Y-P-L-T**

【０３４４】
ＩｇＧ　ＣＤＲ－Ｌ３配列については、以下のコンセンサス配列及び式が同定された（図１２Ｅを参照されたい）：
【化２５】

**IgG CDR-L3 Q-Q-x-N-x-x-P-x-x**

**IgG CDR-L3 Q-Q-[GNSTY]-N-[TES]-[FDWY]-P-[TYRF]-[FT]**

**IgG CDR-L3 Q-Q-N-N-E-D-P-[YR]-T**

【０３４５】
この実施例で分析したＶＨ領域及びＶＬ領域配列はすべて、図１２Ａ～１２Ｅに例示されるように、本明細書中及びＷＯ９９／０５１７５に開示された一元化された疾患機構に関係する分子に結合することで知られている。さらに、分析された超可変領域配列は、実施例１及び５において発明者らにより同定された超可変領域配列と著しい構造上の相同性を共有する。したがって、上記のコンセンサス配列及び式のうちの１つの必要を満たすアミノ酸配列を含む又はから成るペプチドもまた、上記の実施例６及び７においてｉｎ　ｖｉｖｏで試験されたペプチドに対して等価な生物活性を有しているだろう、そして本発明で用いるのに有用であろうということが考えられる。
【０３４６】
実施例９：ＣＤＲ－Ｈ２配列のさらなる分析
知られているＶＨ領域及びＶＬ領域配列中のＣＤＲ－Ｈ２配列のさらなる分析を実行し、交差反応性の抗ＴＣＲ　Ｖβ結合に関わると考えられる付加的なアミノ酸残基を明らかにした。特に、関連する結合特異性を有する６７個の知られているＶＨ領域配列からのＣＤＲ－Ｈ２配列を発明者らにより同定されたＣＤＲ－Ｈ２配列と比較し、必要とされる結合特異性を有するＣＤＲ－Ｈ２の各位置で共通して生じる残基を決定した。
【０３４７】
以下の式を同定した、式は、ＣＤＲ－Ｈ２内の各位置で、６７個の分析したＣＤＲ－Ｈ２配列のうちの６個以上においてその位置で生じることがわかった任意の残基を含む：
【化２６】

**CDR-H2 [EYWSL]-I-[YSND]-[PSH]-[SGNY]-[GSNTD]-[SGD]-[YTGS]-[TIA]-[NY]-[YN]-[NAP]-[QDSEP]-[KSL]-[FVK]-[KQS]-[GR]**

【０３４８】
以下の式を同定した、式は、ＣＤＲ－Ｈ２内の各位置で、６７個の分析したＣＤＲ－Ｈ２配列のうちの１０個以上においてその位置で生じることがわかった任意の残基を含む：
【化２７】

**CDR-H2 E-I-[YSN]-[PS]-[SGN]-[GS]-[SG]-[TGS]-T-[NY]-Y-[NAP]-[QDS]-[KS]-[FVK]-[KQ]-[GR]**

【０３４９】
以下の式を同定した、式は、ＣＤＲ－Ｈ２内の各位置で、６７個の分析したＣＤＲ－Ｈ２配列のうちの２０個以上においてその位置で生じることがわかった任意の残基を含む：

どのアミノ酸も２０回以上生じないことがわかった位置は、分析された６７個のＣＤＲ－Ｈ２配列において「ｘ」と表示し、任意のアミノ酸がその位置に存在してもよいことを意味する：

【化２８】

CDR-H2　　x-I-x-P-S-G-G-x-T-Y-x-A-D-[KS]-[FV]-K-G

【０３５０】

１つ又は複数の上記式の必要を満たすアミノ酸配列を含む又はから成るペプチドもまた、上記の実施例６及び７においてｉｎ　ｖｉｖｏで試験されたペプチドに対して等価な生物活性を有しているだろう、そして本発明で用いるのに有用であろうということが考えられる。

【０３５１】

（参考文献）

1. Payne J., Huber B. T., Cannon N. A., Schneider R., Schilham M. W., Acha-Orbea H., MacDonald H. R. and Hengartner H. (1988). Proc. Natl. Acad. Sci., 85:7695-7698.

2. Hooper N. M., Broomfield S. J. and Turner A. J. (1991). Biochem. J. 273:301-306.

3. Saltiel A. R. (1990). Diabetes Care 13:244-256.

4. Romero G., Luttrell L., Rogol A., Zeller K., Hewlett E. and Larner J. (1988). Science 240:509-511.

5. Perez F. R., Casabiel X., Camina J. P., Zugaza J. L. and Casanueva F. F. (1997). Endocrinology 138:264-272.

6. Pipeleers D. G., Schuit F. C., in't Veld P. A., Hooghe-Peters E. L., Van de Winkel M. and Gepts W. (1985). Endocrinology 117:824-833.

7. Marchetti P., Scharp D. W., Mclear M., Gingerich R., Finke E., Olack B., Swanson C., Giannarelli R. and Laacy P. E. (1994). Diabetes 43:827-830.

8. Todd J., Bell J. and McDevitt H. O. (1989). Nature 329:599-604.

9. Kimpimaki T., Kupila A., Hamamainen A-M., Kukko M., Kulama P., Savola K., Simell T., Keskinen P., Ilonen J., Simell O. and Knip M. (2001). J. Clin. Endocrin. Metab. 86:4782-4788.

10. Barnett A. H., Eff C., Leslie R. D. G. and Pyke D. A. (1981). Diabetologia 20:404-409.

11. Tisch R. and McDevitt H. (1996). Review Cell 85:291-297.

12. Castano L. and Eisenbarth G. S. (1990). Ann. Rev. Immunol. 8:647-680.

13. Hagopian W. A., Karlsen A. E., Gottsater A., Landin-Olsson M., Grubin C. E., Sundkvist G., Petersen J. S., Boel E., Dysberg T. and Lernmark A. (1993). J. Clin. Invest. 91:368-374.

14. Passini N., Larigan J. D., Genovese S., Apella E., Sinigaglia F. and Rogge L. (1995). Proc. Natl. Acad. Sci. 92:9412-9416.

15. Rowe R. E., Leech N. J., Nepom G. T. and McCulloch D. K. (1994). Diabetes 43:87-94.

16. Eisenbarth G. S. (1994). Diabetes Care 17:605-607.

17. Daniel D., Gill R. G., Schloot N. and Vegmann D. (1995). Eur. J. Immunol. 25:1056-1062.

18. Roder M. E., Knip M., Hartling S. G., Karjalainen J., Akerblom H. K., Binder C. and the Childhood diabetes in Finland Study Group (1994). J. Clin. Endocrinol. Metab. 79:1570-1575.

19. Dinneen S., Alzaid A., Turk D. and Rizza R. (1995). Diabetologia 38:337-343.

20. Kleinbaum J. and Shamoon H. (1983). Diabetes 32:493-498.

21. Kahn S. and Halban P. (1997). Diabetes 46:1725-1731.

22. Bolli, G. B., Tsalikian E., Haymond M. W., Cryer P. E. and Gerich J. E. (1984). J. Clin. Invest., 73:1532-1541.

23. Low M. G. (1989). FASEB J. 3:1600-1608.

24. Shashkin P. N., Shashkina E. E., Fernquist-Forbes E., Zhou Y-P., Grill V. and Katz A. (1997). Diabetologia 40:557-563.

25. Lindegard B. (1986). Dermatologica 172:298-304.

26. Christophers E. (2001). Clin. Exp. Dermatol. 26:314-320.

27. Jucci A., Vignini M., Pelfini C., Criffo A. and Fratino P. (1977). Arch. Dermatol. Res. 257:239-246.

28. Brenelli S. L., Moraes A. M., Monte-Alegre S., Carvalho O. M. and Saad M. J. (1995). Braz. J. Med. Biol. Res. 28:297-301

29. Ena P., Madeddu P., Glorioso N., Cerimele D and Rappelli A. (1985). Acta Cardiol. 40:199-205.

30. Venneker G. T., Das P. K., Meinardi M. M., van Marle J., van Veen H. A., Bos J. D. and Asghar S. S. (1994). J. Pathol. 172: 189-197.

31. Hamza S. H., el-Mazny H. R. and Abdallah M. A. (1978). Br. J. Dermatol. 99:289-292.

32. Taieb A. (2000). Pigment Cell Res. 13 Suppl 8:41-47.

33. Romano G., Moretti G., Di Benedetto A., Giofre C., Di Cesare E., Russo G., Califano L and Cucinotta D. (1998) Diabetes Res. Clin. Pract. 39: 101-106.

34. Tsatmali M., Ancans J. and Thody A. J. (2002). J. Histochem. Cytochem. 50:125-134.

35. Katsuki A., Sumida Y., Murashima S., Furuta M., Araki-Sasaki R., Tsuchihashi K., Hori Y., Yano Y. and Adachi Y. (2000). Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 24:1260-1264.

36. Scott G., Leopardi S., Printup S. and Madden B.C. (2002). J. Cell Sci. 115:1441-1451.

37. Virador V. M., Muller J., Wu X., Abdel-Malek Z. A., Yu Z. X., Ferrans V. J., Kobayashi N., Wakamatsu K., Ito S., Hammer J. A. and Hearing V. J. (2002). FASEB J. 16:105-107.

38. Tobin D. J., Swanson N. N., Pittelkow M. R., Peters E. M. and Schallreuter K. U. (2000). J. Pathol. 191:407-416.

39. Martinez-Esparza M., Ferrer C., Castells M. T., Garcia-Borron J. C. and Zuasti A. (2001). Int. J. Biochem. Cell Biol. 33:971-983.

40. Grande J. P., Warner G. M., Walker H. J., Yusufi A. N., Cheng J., Gray C. E., Kopp J. B. and Nath K. A. (2002). Exp. Biol. Med. 227:171-181.

41. Tam B. Y., Germain L. and Philip A. (1998). J. Cell. Biochem. 70:573-586.

42. van den Wijngaard R. M., Asghar S. S., Pijnenborg A. C., Tigges A. J., Westerhof W. and Das P. K. (2002). Br. J. Dermatol. 146:80-87.

43. Bener A., Lestringant G. G., Nyomba B. L., Frossard P. and Saardi H. (2000). East. Mediterr. Health J. 6:416-424.

44. Hermanns-Le T., Hermanns J. F. and Pierard G. E. (2002). Pediatr. Dermatol. 19:12-14

45. Katz A. S., Goff D. C. and Feldman S. R. (2000). Dermatol. Online J. 6:1.

46. Nguven T. T. and Kell M. F. (2001). J. Pediatr. 138:453-454.

47. King-Tryce K., Garza L. and Ozias J. M. (2002). Texas Department of Health Disease Prevention News 62(2):1-3.

48. Bosset S., Barre P., Chalon A., Kurfurst R., Bonte F., Andre P., Perrier P., Disant F., Le Varlet B. and Nicolas J. F. (2002). Eur. J. Dermatol. 12:247-252.

49. Chung J. H., Seo J. Y., Choi H. R., Lee M. K., Youn C. S., Rhie G., Cho K. H., Kim K. H., Park K. C. and Eun H. C. (2001). J. Invest. Dermatol. 117:1218-1224.

50. Elias P. M. and Ghadially R. (2002). Clin. Geriatr. Med. 18:103-120.

51. Lundqvist K. and Schmidtchen A. (2001). Br. J. Dermatol. 144:254-259.

52. Marschall C., Lengyel E., Nobutoh T., Braungart E., Douwes K., Simon A., Magdolen V., Reuning U. and Degitz K. (1999). J. Invest. Dermatol. 113:69-76.

53. Ciaria M. V., Bocciarelli A., Di Gregorio S., Tordi A., Cotroneo P., Marra G., Ghirlanda G. and Strom R. (2001). Atherosclerosis 158:241-246.

54. Buch M. and Emery P. (2002). Hospital Pharmacist 9:5-10.

55. Sahn E. E. (1995). Semin. Dermatol. 14:9-14

56. Kumar B., Sharma V. K. and Sehgal S. (1995). Int. J. Dermatol. 34:542-545.

57. Shellow W. V., Edwards J. E. and Koo J. Y. (1992). Int. J. Dermatol. 31:186-189.

58. Wang S. J., Shohat T., Vadheim C., Shellow W., Edwards J. and Rotter J. L. (1994). Am. J. Med. Genet. 51:234-239.

59. Matilainen V., Koskela P. and Keinanen-Kiukaanniemi S. (2000). Lancet 356:1165-1166.

60. Kuusisto J., Koivisto K., Mykkanen L., Helkala E. l., Vanhanen M., Hanninen T., Kervinen K., Kesaniemi Y. A., Riekkinen P. J. and Laakso M. (1997). BMJ. 315:1045-1049.

61. Bierhaus A., Hofmann M. A., Ziegler R. and Nawroth P. P. (1998). Cardiovasc. Res. 37:586-600.

62. Bennett R. G., Duckworth W. C. and Hamel F. G. (2000). J. Biol. Chem. 275:36621-36625.

63. Vekrellis K., Ye Z., Qiu W. Q., Walsh D., Hartley D., Chesneau V., Rosner M. R. and Selkoe D. J. (2000). J. Neurosci. 20:1657-1665.

64. Yang L. B., Li R., Meri S., Rogers J and Shen Y. (2000). J. Neurosci. 20:7505-7509.

65. Reinoso B. S., Pimenta A. F. and Levitt P. (1996). J. Comp. Neurol. 375:274-288.

66. Ogier-Denis E., Bauvy C., Couvineau A., De Stefanis D., Isidoro C. and Codogno P. (1995). Biochem.Biophys. Res. Commun. 211:935-942.

67. Haas U and Sparks D. L. (1996). Mol. Chem. Neuropathol. 29:1-14.

68. Tsukuba T., Okamoto K., Yasuda y,m Morikawa W., Nakanishi H. and Yamamoto K. (2000). Mol. Cells 10:601-611.

69. van Horssen J., Otte-Holler I., David G., Maat-Schieman M. L., van den Heuvel L. P., Wesseling P., de Waal R. M. and Verbeek M. M. (2001). Acta Neuropathol. 102:604-614.

70. Snow A. D., Mar H., Nochlin D., Kimata K., Kato M., Suzuki S., Hassell J. and Wight T. N. (1988). Am. J. Pathol. 133:456-463.

71. Mulder M. and Terwel D. (1998). Haemostasis 28:174-194.

72. Donahue J. E., Berzin T. M., Rafii M. S., Glass D. J., Yancopoulos G. D., Fallon J. R. and Stopa E. G. (1999). Proc. Nat. Acad. Sci. 6468-6472.

73. Holden R. J. and Mooney P. A. (1994). Med. Hypotheses 43:420-435.

74. Holden R. J. (1995). Med. Hypotheses 44:379-391.

75. Nathan R. S., Sachar E. J., Asnis G. M., Halbreich U. and Halpern F. S. (1981). Psychiatry Res. 4:291-300.

76. Offen D., Shtaif B., Hadad D., Weizman A., Melamed E. and Gil-Ad I. (2001). Neurosci. Lett. 316:129-132.

77. Mattson M. P., Pedersen W. A., Duan W., Culmsee C. and Camandola S. (1999). Ann. N. Y. Acad. Sci. 893:154-175.

78. Sandyk R. (1993). Int. J. Neurosci. 69:125-130.

79. Potter G. M., Moshirfar A. and Castonguay T. W. (1999). Physiol. Behav. 65:811-816.

80. Figlewicz D. P., Patterson T. A., Zavosh A., Brot M. D., Roitman M. and Szot P. (1999). Horm. Metab. Res. 31:335-339.

81. Liu Z., Wang Y., Zhao W., Ding J., Mei Z., Guo L., Cui D. and Fei J. (2001). Neuropharmacology 41:464-471.

82. Shiroyama K., Moriwaki K. and Yuge O. (1998). *In vivo* 12:527-529.

83. Gong L., Wyatt R. J., Baker I. and Masserano J. M. (1999). Neurosci. Lett. 263:153-156.

84. Klein R. D., Sherman D., Ho W. H., Stone D., Bennett G. L., Moffat B., Vandlen R., Simmons L., Gu Q., Hongo J. A., Devaux B., Poulsen K., Armanini M., Nozaki C.,

Asai N., Goddard A., Phillips H., Henderson C. E., Takahashi M. and Rosenthal A. (1998). Nature 387:717-721.

85. Tietjen G. E., Day M., Norris L., Aurora S., Halvorsen A., Schultz L. R. and Levine S. R. (1998). Neurology 50:1433-1440.

86. Jacome D. E. (2001). Headache 41:895-898.

87. Heinzlef O., Alamowitch S., Sazdovitch V., Chillet P., Joutel A., Tournier- Lasserve E. and Roullet E. (2000). Acta Neurolog. Scand. 101:36-40.

88. Winer S., Astsaturov I., Cheung R. K., Gunaratnam L., Kubiak V., Cortez M. A., Moscarello M., O'Connor P. W., McKerlie C., Becker D. J. and Dosch H-M. (2001). J. Immunol. 166:2831-2841.

89. Procacci V., Altavilla R. A., Robert, M. G., Chicco D., Antonacci N., Vendemiale G. and Altomare E. (1990). Bollettino-Societa Italiana Biologia Sperimentale. 66:795-802.

90. Kramer E. M., Koch T., Niehaus A. and Trotter J. (1997). J. Biol. Chem. 272:8937-8945.

91. Siewert E., Silvestri A., Riehl J. and Mertens P. R. (2001). Eur. J. Med. Res. 6:21-26.

92. Green S. T., Ng J. P. and Chan-Lam D. (1988). Scott. Med. J. 33:213-214.

93. Hoch W., McConville J., Helms S., Newsom-Davis J., Melms A. and Vincent A. (2001). Nat. Med. 7:365-368.

94. Tang J., Yuan J. and Hao H. (1997). Chin. Med. J. (Engl.) 110:698-700.

95. Zhmurko V. A. (1999). Lik. Sprava Mar:67-69

96. Ishikawa S., Komiyama Y., Kobayashi H., Tsuyuzaki J., Tokunaga S., Miyazaki A., Hanyu N. and Ikeda S. (2001). Intern. Med. 40:952-955.

97. Kaur G. and Arora S. K. (1994). Mol. Chem. Neuropathol. 21:83-93.

98. Bhattacharya S. K. and Saraswati M. (1991). Indian J. Exp. Biol. 29:1095-1100.

99. Kiss G., Somogyi J., Csermely P., Szelenyi J. and Ver A. (2001). Diabetologia 44:220-223

100. Hooper N. M. (1997). Clin. Chim. Acta 266:3-12

101. Mizisin A. P., Calcutt N. A., DiStephano P. S., Acheson A. and Longo F. M. (1997). Diabetes 46:647-652.

102. Poca S., Guyon T., Levasseur P. and Berrih-Aknin S. (2001). J. Neuroimmunol. 120:180-189.

103. Reyes E. T., Perurena O. H., Feestoff B. W., Jorgensen R. and Moore W. V. (1984). J. Neurol. Sci. 63:317-324.

104. Hubbard R. W., Will A. D., Peterson G. W., Sanchez A., Gillan W. W. and Tan S. A. (1992). Neurology 42:1532-1534.

105. Festoff B. W., Yang S. X., Vaught J., Bryan C. and Ma J. Y. (1995). J. Neurol. Sci. 129 Suppl.114-121.

106. Sasaki N., Fukatsu R., Tsuzuki K., Hayashi Y., Yoshida T., Fujii N., Koike T., Wakayama I., Yanagihara R., Garruto R., Amano N. and Makita Z. (1998). Am. J. Path. 153:1149-1155.

107. Bilak M. M., Corse A. M. and Kuncl R. W. (2001). Amyotroph. Lateral Scler. Other Motor Disord. 2:83-91.

108. Torres-Aleman I., Barrios V. and Berciano J. (1998). Neurology 50:772-776.

109. Suzuki H., Hase A., Miyata Y., Arahata K. and Akazawa C. (1998). J. Comp. Neurol. 402:303-312.

110. Hase A., Suzuki H., Arahata K. and Akazawa C. (1999). Neurosci. Lett. 269:55-57.

111. Hongo J. A., Tsai S. P., Moffat B., Schroeder K. A., Jung C., Chuntharapai A., Lampe P. A., Johnson E. M. Jr., de Sauvage F. J., Armanini M., Phillips H. and Devaux B. (2000). Hybridoma 19:303-315.

112. Encinas M., Tansey M. G., Tsui-Pierchala B. A., Comella J. X., Milbrandt J. and Johnson E. M. Jr. (2001). J. Neurosci. 21:1464-1472.

113. Lundberg C., Lidman O., Holmdahl R., Olsson T. and Piehl F. (2001). J. Comp. Neurol. 431:75-87.

114. Perros P., McCrimmon R. J., Shaw G. and Frier B. M. (1995). Diabet. Med. 12:622-627.

115. Jacquemin C. (1991). Biochimie 73:37-40

116. Petitfrere E., Sartelet H., Vivien D., Varela-Nieto I., Elbtaouri H., Martiny L. and Haye B. (1998). Biochimie. 80:1106-1067.

117. Zurzolo C., Lisanti M. P., Caras I. W., Nitsch L. and Rodriguez-Boulan E. (1993). J. Cell Biol. 121:1031-9.

118. Marino M., Pichera A., McCluskey R. T and Chiovato L. (2001). Thyroid 11:47-56.

119. Marino M., Andrews D. and McCluskey R. T. (2000). Thyroid 10:551-559.

120. Katoh R., Muramatsu A., Kawaoi A., Komiyama A., Suzuki K., Hemmi A. and Katayama S. (1993). 423:417-424.

121. Lindahl M., Poteryaev D., Yu L., Arumae U., Timmusk T., Bongarzone I., Aiello A., Pierotti M. A., Airaksinen M. S. and Saarma M. (2001). J. Biol. Chem. 276:9344-9351.

122. Doppman J. L., Miller D. L., Dwyer A. J., Loughlin T., Nieman L., Cutler G. B., Chrousos G. P., Oldfield E. and Loriaux D. L. (1988). Radiology 166:347-352.

123. Hermus A. R., Pieters G. F., Smals A. G., Pesman G. J., Lamberts S. W., Benraad T. J., van Haelst U. J. and Kloppenborg P. W. (1988). N. Engl. J. Med. 318:966-970.

124. Leibowitz G., Tsur A., Chayen S. D., Salameh M., Raz I., Cerasi E. and Gross D. J. (1996). Clin. Endocrinol. 44:717-722.

125. Roy M. S., Roy A., Gallucci W. T., Collier B., Young K., Kamilaris T. C. and Chrousos G. P. (1993). Metabolism 42:696-700

126. Grant W. and Liddle M. D. (1960). J. Clin. Endocrinol. Metab. 20:1539-1560.

127. Fanjul L. F., Marrero I., Estevez F., Gonzalez J., Quintana J., Santana P. and Ruiz de Galarreta C. M. (1993). J. Cell Physiol. 155:273-281.

128. Shaver J. K., Tezelman S., Siperstein A. E., Duh Q. Y. and Clark O. H. (1993). Surgery 114:1064-1069.

129. Vila M. C., Cozza E. N., Lima C., Ramirez M. I. and De Lederkremer R. M. (1995). Cell. Signal. 7:331-339.

130. Robinson P. and Hederer R. (1994). Braz. J. Med. Biol. Res. 27:263-267.

131. Benitez L., Fanjul L. F., Ruiz de Galarreta C. M., Quintana Aguiar J., Gonzalez Reyes J., Hernandez I., Santana Delgado P., Cabrera Oliva J., Alonso Solis R. and Estevez Rosas F. (1995). Neurosci. Lett. 187:37-40.

132. Redmond G. P. (1998). Int. J. Fertil. Womens Med. 43:91-97.

133. Kalro B. N., Loucks T. L and Berga S. L. (2001). Obstet. Gynecol. Clin. North Am. 28:35-62.

134. Rosenfield R. L. (2001). J. Am. Acad. Dermatol. 45(3 Suppl.):S95-104.

135. Norman R. J., Masters S. and Hague W. (1996). Fertil. Steril. 66:942-947.

136. Pugeat M., Ducluzeau P. H. and Mallion-Donadieu M.(2000). Horm. Res. 54:322-326.

137. Sekar N. and Veldhuis J. D. (2001). Endocrinology 142:2921-2928.

138. Poretsky L., Seto-Young D., Shrestha A., Dhillon S., Mirjany M., Liu H. C., Yih M. C. and Rosenwaks Z. (2001). J. Clin. Endocrinol. Metab. 86:3115-3119.

139. Kreze A. Jr., Hrnciar J., Dobakova M. and Pekarova E. (1997). Bratisl. Lek. Listy 98:555-558.

140. Marsden P. J., Murdoch A. P. and Taylor R. (2000). Hum. Reprod. 15:1672-1678.

141. Yanagishita M. (1992). J. Biol. Chem. 267:9499-9504.

142. Fanjul L. F., Marrero I., Estevez F., Gonzalez J., Quintana J., Santana P. and Ruiz de Galarreta C.M. (1993). J. Cell. Physiol. 155:273-281.

143. Fanjul L. F., Marrero I., Gonzalez J., Quintana J., Santana P., Estevez F., Mato J. M. and Ruiz de Galarreta C.M. (1993). Eur. J. Biochem. 216:747-755.

144. Hasan S., Hosseini G., Princivalle M., Dong J. C., Birsan D., Cagide C. and de Agostini A. I. (2002). Biol. Reprod. 66:144-158.

145. Fedarko N. S., Ishihara M. and Conrad H. E. (1989). J. Cell. Physiol. 139:287-294.

146. Saad M. F., Khan A., Sharma A., Michael R., Riad-Gabriel M. G., Boyadjian R., Jingagouda S. D., Steil G. M. and Kamdar V. (1998). Diabetes 47:544-549.

147. Stephens T. W., Basinski M., Bristow P. K., Bue-Valleskey J. M., Burgett S. G., Craft L., Hale J., Hoffman J., Hsiung H. M. and Kriauciunas A. (1995). Nature 377: 530-532.

148. Baskin D. G., Figlewicz Lattemann D., Seeley R. J., Woods S. C., Porte D. Jr. and Schwartz M. W. (1999). Brain Res. 848:114-123.

149. Olszewski P. K., Wirth M. M., Shaw T. J., Grace M. K., Billington C. J., Giraudo S. Q. and Levine A. S. (2001). Am. J. Physiol. 281:R673-680.

150. Dunbar J. C. and Lu H. (2000). Brain Res. Bull. 52:123-126.

151. Maffei M., Halaas J., Ravussin E., Pratley R. E., Lee G. H., Zhang Y., Fei H., Kim S., Lallone R., Ranganathan S., Kern P. A. and Friedman J. M. (1995). Nat. Med. 1:1155-1161.

152. Fedarko N. S., Ishihara M. and Conrad H. E. (1989). J. Cell. Physiol. 139:287-294.

153. Reaven G. M. (1988). Diabetes Metab. Rev. 37:1595-1597.

154. Ivanov D., Philippova M., Antopova J., Gubaeva F., Iljinskaya O., Tararak E., Bochov V., Erne P., Resink T. and Tkachuk V. (2001). Histochem. Cell. Biol. 115:231-242.

155. Reaven G. M. (1991). Am. Heart J. 121:1283-1288.

156. Swan J. W., Walton C., Godsland I. F., Crook D., Oliver M. F. and Stevenson J. C. (1994). Br. Heart J. 71:41-44.

157. Vuorinen-Markkola H. and Yki-Jarvinen H. (1994). J. Clin. Endocrinol. Metab. 78:25-29.

158. Pagano G., Pacini G., Musso G., Gambino R., Mecca F., Depetris N., Cassader M., David E., Cavallo-Perin P. and Rizzetto M. (2002). Hepatology 35:367-372.

159. Harano Y., Suzuki M., Koyama Y., Kanda M., Yasuda S., Suzuki K. and Takamizawa I. (2002). J. Diabetes Complications 16:19-23.

160. Semplicini A., Ceolotto G., Massimino M., Valle R., Serena L., De Toni R., Pessina A. C. and Dal Palu C. (1994). Am. J. Med. Sci. 307 Suppl.1:S43-46.

161. Sardesai M. G., Gray A. A., McGrath M. M. and Ford S. E. (2001). Obstet. Gynecol. 98:925-927.

162. Hardin D. S., Hebert J. D., Bayden T., Dehart M. and Mazur L. (1997). Pediatrics 100(2):E5.

163. Bergstrom E., Hernell O., Persson L. A. and Vessby B. (1996). Metabolism 45:908-914.

164. Facchini F. S., Hua N., Abbasi F. and Reaven G. M. (2001). J. Clin. Endocrinol. Metab. 86:3574-3578.

165. Landy H. J., Kessler C., Kelly W. K. and Weingold A. B. (1992). Am. J. Perinatol. 9:146-151.

166. Andelova K., Sula K. and Velebil P. (1998). Ceska Gynekol. 63:446-449.

167. Lorini R., d'Annunzio G., Montecucco C., Caporali R., Vitali L., Pessino P. and Severi F. (1995). Eur J. Pediatr. 154:105-108.

168. Galtier-Dereure F., Biron C., Vies M., Bourgeois V., Schved J. F. and Bringer J. (1998). Lupus 7:469-474.

169. Ciarla M. V., Bocciarelli A., Di Gregorio S., Tordi A., Cotroneo P., Marra G., Ghirlanda G. and Strom R. (2001). Atherosclerosis 158:241-246.

170. de Maistre E., Gobert B., Bene M. C., Briquel M. E., Lecompte T. and Faure G. C. (1996). J. Clin. Lab. Anal. 10:6-12.

171. Fialova L., Mikulikova L., Matous-Malbohan I., Benesova O. and Zwinger A. (2000). Physiol. Res. 49:299-305.

172. Lopez-Soto A., Cervera R., Font J., Bove A., Reverter J. C., Munoz F. J., Miret C., Espinosa G., Ordinas A. and Ingelmo M. (1997). Clin. Exp. Rheumatol. 15:143-149.

173. Toschi V., Motta A., Castelli C., Paracchini M. L., Zerbi D. and Gibelli A. (1998). Stroke 29: 1759-1764.

174. Erkan D., Yazici Y., Sobel. R. and Lockshin M. D. (2000). J. Rheumatol. 27:2817-2821.

175. Not T., Tommasini A., Tonini G., Buratti E., Pocecco M., Tortul C., Valussi M., Crichiutti G., Berti I., Trevisiol C., Azzoni E., Neri E., Torre G., Martelossi S., Soban M., Lenhardt A., Cattin L. and Ventura A. (2001). Diabetologia. 44:151-155.

176. Tursi A., Giogetti G., Brandimarte G., Rubino E., Lombardi D. and Gasbarrini G. (2001). Hepato-Gastroenterol. 48:462-464

177. Williams A. J., Norcross A. J., Lock R. J., Unsworth D. J., Gale E. A. and Bingley P. J. (2001). Diabetes Care 24:504-509.

178. Di Mario U., Anastasi E., Mariani P., Ballati G., Perfetti R., Triglione P., Morellini M. and Bonamico M. (1992). Acta Pediatr. 81:593-597.

179. Galli-Tsinopoulo, A., Nousia-Arvanitakis S., Dracoulacos D., Xefteri M. and Karamouzis M. (1999). Hormone Res. 52:119-124.

180. Alemany R., Vila M. R., Franci C., Egea G., Real F. X. and Thomson T. M. (1993). J. Cell Sci. 104:1155-1162.

181. Slomiany A., Grabska M. and Slomiany B. L. (2001). Mol. Med. 7:1-10.

182. Riley W. J., Winer A. and Goldstein D. (1983). Diabetologia 24:418-421.

183. Landin-Olsson M., Karlsson F. A., Lernmark A. and Sundkvist G. (1992). Diabetes 41:1022-1027.

184. Koike S., Takeda Y., Hozumi Y., Okazaki S., Aoyagi M. and Sendo F. (2002). Cell Tissue Res. 307:91-99.

185. Tenore A., Berman W. F., Parks J. S. and Bongiovanni A. M. (1977). J. Clin. Endocrinol. Metab. 44:622-628.

186. Al-Jaouni R., Hebuterne X., Pouget I. and Rampal P. (2000). Nutrition 16:173-178.

187. Eriksson L. S. (1983). Gut 24:1161-1168.

188. Mingrone G., DeGaetano A., Pugeat M., Capristo E., Greco A. V. and Gasbarrini G. (1999). J. Investig. Med. 47:319-325.

189. Levy E., Rizwan Y., Thibault L., Lepage G., Brunet S., Bouthillier L. and Seidman E. (2000). Am. J. Clin. Nutr. 71:807-815.

190. Meddings J. B. Jarand J., Urbanski S. J., Hardin J. and Gall D. G. (1999). Am. J. Physiol. 276:G951-957.

191. Hollander D., Vadheim C.M., Brettholz E., Petersen G. M., Delahunty T. and Rotter J. I. (1986). Ann. Intern. Med. 105:883-885.

192. Hilsden R. J., Meddings J. B. and Sutherland L. R. (1996). Gastroenterology 110:1395-1403.

193. Koller E. and Ranscht B. (1996). J. Biol. Chem. 271:30061-30067.

194. Resink T. J., Kuzmenko Y. S., Kern F., Stambolsky D., Bochkov V. N., Tkachuk V. A., Erne P. and Niermann T. (1999). FEBS Lett. 463:29-34.

195. Kuzmeneko Y. S., Kern F., Bochkov V. N., Tkachuk V. A. and Resink T. J. (1998). FEBS Lett. 434:183-187.

196. Ivanov D. B., Philippova M. P. and Tkachuk V. A. (2001). Biochemistry (Mosc.) 66:1174-1186.

197. Filmus J., Shi W., Wong Z. M. and Wong M. J. (1995). Biochem. J. 311:561-565.

198. Herndon M. E., Stipp C. S. and Lander A. D. (1999). Glycobiology 9:143-155.

199. Koh D. M., Miao Y., Chinn R. J., Amin Z., Zeegen R., Westaby D. and Healy J. C. (2001). Am. J. Roentgenol. 177:1325-1332.

200. Graham M. F., Diegelmann R. F., Elson C. O., Lindblad W. J., Gotschalk N., Gay S. and Gay R. (1988). Gastroenterology 94:257-265.

201. Koutroubakis I. E., Petinaki E., Anagnostopoulou E., Kritikos h., Mouzas I. A., Kouroumalis E. A. and Manousos O. N. (1998). Dig. Dis. Sci. 43:2507-2512.

202. Aichbichler B. W., Petritisch W., Reicht G. A., Wenzl H. H., Eherer A. J., Hinterleitner T. A., Auer-Grumbach P. and Krejs G. J. (1999). Dig. Dis. Sci. 44:852-856.

203. Paolisso G., Valentini G., Giugliano D., Marrazzo G., Tirri R., Gallo M., Tirri G., Varricchio M. and D'Onofrio F. (1991). Metabolism 40:902-907.

204. Takahashi S., Moriwaki Y., Tsutsumi Z., Yamakita J., Yamamoto T. and Hada T. (2001). Metabolism 50:393-398.

205. Svenson K. L., Pollare T., Lithell H. and Hallgren R. (1988). Metabolism 37:125-130.

206. Svenson K. L., Lundqvist G., Wide L. and Hallgren R. (1987). Metabolism 36:940-943.

207. Jimenez-Balderas F. J., Solis J. L. and Mintz G. (1991). Arch. Invest. Med. (Mex.) 22:121-125.

208. Dessein P. H., Joffe B. I., Stanwix A., Botha A. S. and Moomal Z. (2002). J. Rheumatol. 29:462-466.

209. Martin S., Kardorf J., Schulte B., Lampeter E. F., Gries F. A., Melchers I., Wagner R., Bertrams J., Roep B. O. and Pfutzner A. (1995). Diabetologia 38:351-355.

210. Mihailova D., Grigorova R., Vassileva B., Mladenova G., Ivanova N., Stephanov S., Lissitchky K. and Dimova E. (1999). Adv. Exp. Med. Biol. 455:55-60.

211. Slot O., Brunner N., Locht H., Oxholm P. and Stephens R. W. (1999). Ann. Rheum. Dis. 58:488-492.

212. Tarui T., Mazar A. P., Cines D. B. and Takada Y. (2001). J. Biol. Chem. 276:3983-3990.

213. Hoyer-Hansen G., Pessara U., Holm A., Pass J., Weidle U., Dano K. and Behrendt N. (2001). Biochem. J. 358:673-679.

214. Hoyer-Hansen G., Behrendt N., Ploug M., Dano K. and Preissner K. T. (1997). FEBS Lett. 420:79-85.

215. McKeown-Longo P. J. and Panetti T. S. (1996). Trends Glycosci. Glycotechnol. 8:327-340.

216. Deng G., Curriden S. A., Wang s., Rosenberg S. and Loskutoff D. J. (1996). J. Cell Biol. 134:1563-1571.

217. Bajou K., Devy L., Masson V., Albert V., Frankenne F., Noel A. and Foidart J. M. (2001). Therapie. 56:465-472.

218. Kero J., Gisler M., Hemminki E. and Isolauri E. (2001). J. Allergy Clin. Immunol. 108:781-783.

219. Becker K. G., Simon R. M., Bailey-Wilson J. E., Freidlin B., Biddison W. E., McFarland H. F. and Trent J. M. (1998). Proc. Nat. Acad. Sci. 95:9979-9984.

220. Becker K. G. (1999). Diabetes 48:1353-1358.

221. Costello R. W., Jacoby D. B. and Fryer A. D. (1998). Thorax 53:613-618.

222. Belmonte K. E., Fryer A. D. and Costello R. W. (1998). J. Appl. Physiol. 85:1708-1718.

223. Rajah R., Nachajon R. V., Collins M. H., Hakonarson H., Grunstein M. M. and Cohen P. (1999). Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 20:199-208.

224. Bufi P. L. (1997). Alt. Med. Rev. 2:104-115.

225. Gonzaez-Guerrico A. M., Cafferata E. G., Radrizzani m., Marcucci F., Gruenert D., Pivetta O. H., Favaloro R. R., Laguens R., Perrone S. V., Gallo G. C. and Santa-Coloma T. A. (2002). J. Biol. Chem. 277:17239-17247.

226. Cantiello H. F. (2001). Pflugers Arch. 443:S75-80.

227. Chasan B., Geisse N. A., Pedatella K., Wooster D. G., Teintze M., Carattino M. D., Goldmann W. H. and Cantiello H. F. (2002). Eur. Biophys. J. 30:617-624.

228. Koller L. and Hall. A. (2001). J. Cell Biol. 152:1145-1157.

229. Suzuki K. and Sheetz M. P. (2001). Biophys. J. 81:2181-2189.

230. Shetty. S. and Idell S. (2001). J. Biol. Chem. 276:24549-24556.

231. Gyetko M. R., Sud S., Kendall T., Fuller J. A., Newstead M. W. and Standiford T. J. (2000). J. Immunol. 165:1513-1519.

232. Letham M. I., James S. L., Marriot C. and Burke J. F. (1990). Eur. Respir. J. 3:19-23

233. Devitt A., Moffatt O. D., Raykundalia C., Capra J. D., Simmons D. L. and Gregory C. D. (1998). Nature 392:442-443.

234. Fadok V. A., deCathelineau A., Daleke D. L., Henson P. M. and Bratton D. L. (2001). J. Biol. Chem. 276:1071-1077.

235. Wang P., Kitchens R. L. and Munford R. S. (1998). J. Biol. Chem. 273:24309-24313.

236. Heidenreich S. (1999). J. Leukoc. Biol. 65:737-743.

237. Allport J. R., Donnelly L. E., Kefalas P., Lo G., Nunn A., Yadollahi-Farsani M., Rendall N. B., Murray S., Taylor G. W. and MacDermot J. (1996). Br. J. Clin. Pharmacol. 42:99-106.

238. Freedman S. D., Kern H. F. and Scheele G. A. (2001). Gastroenterology 121:950-957.

239. Moran A., Diem P., Klein D. J., Levitt M. D. and Robertson R. P. (1991). J. Pediatr. 118:715-723.

240. Lanng S., Thorsteinsson B., Roder M. E., Orskov C., Holst J.J., Nerup J. and Koch C. (1993). Acta Endocrinol. (Copenh.) 128:207-214.

241. Schaedel C., De Monestrol I., Hjelte L., Johannesson M., Kornfalt R., Lindblad A., Strandvik B., Wahlgren L. and Holmberg L. (2002). Pediatr. Pulmonol. 33:483-491.

242. Noone P. G. and Knowles M. R. (2001). Respir. Res. 2:328-332.

243. Armstrong D. S., Grimwood K., Carzino R., Carlin J. B., Olinsky A. and Phelan P. D. (1995). BMJ 310:1571-1572.

244. Dakin C. J., Pereira J. K., Henry R. L., Wang H. and Morton J. R. (2002). Pediatr. Pulmonol. 33:475-482.

245. Wulffraat N. M., de Graeff-Meeder E. R., Rijkers G. T., van der Laag H. and Kuis W. (1994). J. Pediatr. 125:374-378.

246. Leidig-Bruckner G. and Ziegler R. (2001). Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes 109 Suppl. 2:S493-514.

247. Lopez-Ibarra P. J., Pastor M. M., Escobar-Jimenez F., Pardo M. D., Gonzalez A. G., Luna J. D., Requena M. E. and Diosdado M. A. (2001). Endocr. Pract. 7:346-351.

248. Choi S. J., Devlin R. D., Menaa C., Chung H., Roodman G. D. and Reddy S. V. (1998). J. Clin. Invest. 102:1360-1368.

249. Lowe N. J., Cudworth A. G., Clough S. A. and Bullen M. F. (1976). Br. J. Dermatol. 95:9-12.

250. Nigam P. K., Sharma L., Agrawal J. K., Singh G. and Khurana S. K. (1987). Dermatologica 175:284-289.

251. Albrecht M., Banoczy J., Dinya E. and Tamas G. Jr. (1992). J. Oral Pathol. Med. 21:364-366.

252. Gibson J., Lamey P. J., Lewis M. and Frier B. (1990). J. Oral Pathol. Med. 19:284-287.

253. Issaraagrisil S., Vannasaeng S. and Piakijagum A. (1989). Metabolism 38:204-207.

254. Vu T., Griscelli-Bennaceur A., Gluckman E., Sigaux F., Carosella E. D., Menier C., Scrobohaci M.L. and Socie G. (1996). Br. J. Haematol. 93:586-589.

255. Winkler A. S., Marsden J., Chaudhuri K. R., Hambley H. and Watkins P. J. (2000). Diabet. Med. 17:410.

256. Yun Y. S., Lee H. C., Yoo N. C., Song Y. D., Lim S. K., Kim K. R., Hahn J. S. and Huh K. B. (1999). Diabetes Res. Clin. Pract. 46:223-229.

257. Wu M., Fan J., Gunning W. and Ratnam M. (1997). J, Membr. Biol. 159:137-147.

258. Jarva H. and Meri S. (1999). Scand. J. Immunol. 49:119-125.

259. Maciejewski J. P., Young N. S., Yu M., Anderson S. M. and Sloand E. M. (1996). Thromb. Res. 83:433-447.

260. Rawstron A. C., Rollinson S. J., Richards S., Short M. A., English A., Morgan G. J., Hale G. and Hillmen P. (1999). Br. J. Haematol. 107:148-153.

261. Pakdeesuwan K., Muangsup W., Pratya Y. U., Issaragrisil S. and Wanachiwanawin W. (2001). Int. J. Haematol. 73:64-70.

262. Noji H., Shichishima T., Saitoh Y., Kai T., Yamamoto T., Ogawa K., Okamoto M., Ikeda K. and Maruyama Y. (2001). Exp. Hematol. 29:391-400.

263. Punjabi N. M., Sorkin J. D., Katzel L. I., Goldberg A. P., Schwartz A. R. and Smith P. L. (2002). Am. J. Respir. Crit. Care Med. 165:677-682.

264. Ip M. S., Lam B., Ng M. M., Lam W. K., Tsang K. W. and Lam K. S. (2002). Am. J. Respir. Crit. Care Med. 165:670-676.

265. Zhdanova I. V., Wurtman R. J., Regan M. M., Taylor J. A., Shi J. P. and Leclair O. U. (2001). J. Clin. Endocrinol. Metab. 86:4727-4730.

266. Bruls E., Crasson M. and Legros J. J. (2000). Rev. Med. Liege 55:785-792.

267. Ganguly S., Gastel J. A., Weller J. L., Schwartz C., Jaffe H., Namboodiri M. A. A., Coon S. L., Hickman A. B., Rollag M., Obsil T., Beauverger P., Ferry G., Boutin J. A. and Klein D. C. (2001). Proc. Natl. Acad. Sci. 98:8083-8088.

268. Meisel P., Arndt D., Scheuch E., Klebingat K. J. and Siegmund W. (2001). Ther. Drug Monit. 23:9-14

269. Ladero J. M., Agundez J. A., Olivera M., Lozano L., Rodriguez-Lescure A., Diaz-Rubio M. and Benitez J. (2002). Eur. J. Clin. Pharmacol. 58:115-118.

270. Varzim G., Monteiro E., Silva R., Pinheiro C. and Lopes C. (2002). J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec. 64:206-212.

271. Gawronska-Szklaarz B., Pawlik A., Czaja-Bulsa G., Gornik W., Luszawska-Kutrzeba T. and Wrzesniewska J. (2001). Clin. Pharmacol. Ther. 69:372-378.

272. Magnan C., Cruciani C., Clement L., Adnot P., Vincent M., Kergoat M., Girard A., Elghozi J. L., Velho G., Beressi N., Bresson J. L. and Ktorza A. (2001). J. Clin. Endocrinol. Metab. 86:4901-4907.

273. Burger A. J. and Aronson D. (2001). Int. J. Cardiol. 81:243-249.

274. Damholt M. B., Christensen N. J. and Hilsted J. (2001). Scand. J. Clin. Lab. Invest. (2001).61:531-537.

275. Elahi D. and Muller D. C. (2000). Eur. J. Clin. Nutr. 54 Suppl.3:S112-120.

276. Ruzsas C. and Mess B. (2000). Neuroendocrinol. Lett. 21:17-23.

277. Rudd P. M., Wormald M. R., Wing D. R., Prusiner S. B. and Dwek R. A. (2001). Biochemistry 40:3759-3766.

278. Moya K. L., Sales N., Hassig R., Creminon C., Grassi J. and Di Giamberardino L. (2000). Microsc. Res. Tech. 50:58-65.

279. Sales N., Hassig R., Rodolfo K., Di Giamberardino L., Traiffort E., Ruat M., Fretier P. and Moya K. L. (2002). Eur. J. Neurosci. 15:1163-1167.

280. Brown D. R. (2001). Trends Neurosci. 24:85-90.

281. Tobler I., Gaus S. E., Deboer T., Achermann P., Fischer M., Rulicke T., Moser M., Oesch B., McBride P. A. and Manson J. C. (1996). Nature 380:639-642.

282. Brown D. R., Nicholas R. S. and Canevari L. (2002). J. Neurosci. Res. 67:211-224.

283. Tobler I., Deboer T. and Fischer M. (1997). J. Neurosci. 17:1869-1879.

284. Bartlett S. F., Lagercrantz H. and Smith A. D. (1976). Neuroscience 1:339-344.

285. Tayek J. A. (1992). J. Am. Coll. Nutr. 11:445-456.

286. Copeland G. P., Leinster S. J., Davis J. C. and Hipkin L. J. (1987). Br. J. Surg. 74:1031-1035.

287. Copeland G. P., Al-Sumidaie A. M., Leinster S. J., Davis J. C. and Hipkin L. H. (1987). Eur. J. Surg. Oncol. 13:11-16.

288. Tayek J. A. (1995). J. Am. Coll. Nutr. 14:341-348.

289. Nagamani M., Hannigan E. V., Dinh T. V. and Stuart C. A. (1988). J. Clin. Endocrinol. Metab. 67:144-148.

290. Bruning P. F., Boonfrer J. M., van Noord P. A., Hart A. A., de Jong-Bakkar M. and Nooijen W. J. (1992). Int. J. Cancer 52:511-516.

291. Talamini R., Franceschi S., Favero A., Negri E., Parazzini F. and La Vecchia C. (1997). Br. J. Cancer 75:1699-1703.

292. Tran T. T., Medline a. and Bruce W. R. (1996). Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 5:1013-1015.

293. Heber D., Byerley L. O. and Tchekmedyian N. S. (1992). J. Parenter. Enteral Nutr. 16:60S-64S.

294. Bartlett D. L., Charland S. L. and Torosian M. H. (1995). Surgery 118:87-97.

295. Wang Y. (2001). Med. Res. Rev. 21:146-170.

296. Thogersen V. B., Heickendorff L. and Ledet T. (1996). Eur. J. Endocrinol. 134:326-330.

297. Anfosso F., Chomiki N., Alessi M. C., Vague P. and Juhan-Vague I. (1993). J. Clin. Invest. 91:2185-2193.

298. Arroyo De Prada N., Schroeck F., Sinner E. K., Muehlenweg B., Twellmeyer J., Sperl S., Wilhelm O. G., Schmitt M. and Magdolen V. (2002). Eur. J. Biochem. 269:184-192.

299. Chazaud B., Ricoux R., Christov C., Plonquet A., Gherardi R. K. and Barlovatz-Meimon G. (2002). Am. J. Pathol. 160:237-246.

300. Devy L., Blacher S., Grignet-Debrus C., Bajou K., Masson V., Gerard R. D., Gils A., Carmeliet P., Declerck P. J., Noel A. and Foidart J. M. (2002). FASEB J. 16:147-154.

301. Harbeck N., Kates R. E. and Schmitt M. (2002). J. Clin. Oncol. 20:1000-1007.

302. Kim S. J., Shiba E., Taguchi T., Tsukamoto F., Miyoshi Y., Tanji Y., Takai S. and Noguchi S. (2002).Anticancer Res. 22:387-393.

303. Wilhelm O.G., Wilhelm S., Escott G. M., Lutz V., Magdolen V., schmitt., M., Rifkin D. B., Wilson E. L., Graeff H. and Brunner G. (1999). J. Cell. Physiol. 180:225-235.

304. Kleeff J., Wildi S., Kumbasar A., Friess H., Lander A. D. and Korc M. (1999). Pancreas 19:281-288.

305. Matsuda K., Maruyama H., Guo F., Kleeff J., Itakura J., Matsumoto Y., Lander A. D. and Korc M. (2001). Cancer Res. 61:5562-5569.

306. Saikali Z. and Sinnett D. (2000). Int. J. Cancer 89:418-422.

307. Toretsky J. A., Zitomersky N. L., Eskenazi A. E., Voigt R. W., Strauch E. D., Sun C. C., Huber R., Meltzer S. J. and Schlessinger D. (2001). J. Pediatr. Hematol. Oncol. 23:496-499.

308. Bar R. S., Dake B. L. and Stueck S. (1987). Am. J. Physiol. 253:E21-27.

309. Kaaks R. (2001). Gynecol. Obstet. Fertil. 29:185-191.

310. Yu H., Levesque M. A., Khosravi M. J., Papanastasiou-Diamandi A., Clark G. M. and Diamandis E. P. (1996). Br. J. Cancer 74:1242-1247.

311. Kuzmenko Y. S., Stambolsky D., Kern F., Bochkov V. N., Tkachuk V. A. and Resink T. J. (1998). Biochem. Biophys. Res. Commun. 246:489-494.

312. Vivier E., Tomasello E. and Paul P. (2002). Curr. Opin. Immunol. 14:306-311.

313. Kwa D., Vingerhoed J., Boeser-Nunnink B., Broersen S. and Schuttemaker H. (2001). J. Virol. 75:10455-10459.

314. Correa R. and Munoz-Fernandez M. A. (2001). AIDS 15:1959-1963.

315. Mackewicz C. E., Barker E., Greco G., Reyes-Teran G and Levy J. A. (1997). J. Clin. Invest. 100:921-930.

316. Lusso P. (2002). Vaccine 20:1964-1967.

317. Laurence J. S., Blanpain C., De Leener A., Parmentier M. and LiWang P. J. (2001). Biochemistry 40:4990-4999.

318. Hoogewerf A. J., Kuschert G. S., Proudfoot A. E., Borlat F., Clark-Lewis I., Power C. A. and Wells T. N. (1997). Biochemisty 36:13570-13578.

319. Cladera J., Martin I. and O'Shea P. (2001). EMBO J. 20:19-26.

320. Sidenius, N., Sier C. F. C., Ullum H., Pedersen B. K., Lepri A. C., Blasi F. and Eugen-Olsen J. (2000). Blood 96:4091-4095.

321. Handley M. A., Steigbigel R. T. and Morrison S. A. (1996). J. Virol. 70:4451-4456.

322. Schreier H., Moran P. and Caras I. W. (1994). J. Biol. Chem. 269:9090-9098.

323. Su H. R. and Boackle R. J. (1994). Int. Arch. Allergy Immunol. 105:238-244.

324. Adler B., Ashkar S., Cantor H. and Weber G. F. (2001). Cell. Immunol. 210:30-40.

325. Montouri N., Salzano S., Rossi G. and Ragno P. (2000). FEBS Lett. 476:166-170.

326. Pinto L. M., Lecoeur H., Ledru E., Rapp C., Patey O. and Gougeon M. L. (2002). AIDS 16:329-339.

327. Raulin J. (2002). Prog. Lipid Res. 41:27-65.

328. Nguyen D. H. and Hildreth J. E. (2000). J. Virol. 74:3264-3272.

329. Saifuddin M., Hedayati T., Atkinson J. P., Holguin M. H., Parker C. J. and Spear G. T. (1997). J. Gen. Virol. 78:1907-1911.

330. Ware L. J., Wooton S. A., Morlese J. M., Gazzard B. G. and Jackson A. A. (2002). Proc. Nutr. Soc. 61:131-136.

331. Constans J., Guerin V., Couchouron a., Seigneur M., Ryman A., Blann A. D., Amiral J., Amara A., Peuchant E., Moreau J. F., Pellegrin I., Pellegrin J. L., Fleury H., Leng B. and Conri C. (1998). Eur. J. Clin. Invest. 28:115-122.

332. Ilangumaran S., Arni S., Poincelet M., Theler J. M., Brennan P. J., Nasir-ud-Din and Hoessli D. C. (1995). J. Immunol. 155:1334-1342.

333. Richard M., Ibata-Ombetta S., dromer F., Bordon-Pallier F., Jouault T. and Gaillardin C. (2002). Mol. Microbiol. 44:841-853.

334. Ralton J. E., Mullin K. A. and McConville M. J. (2002). Biochem. J. 363:365-375.

335. Sauma S. Y., Tanaka T. M. and Strand M. (1991). Mol. Biochem. Parasitol. 46:73-80.

336. Das S., Traynor-Kaplan A., Kachintorn U., Aley S. B. and Gillin F. D. (1994). Braz. J. Med. Biol. Res. 27:463-469.

337. Tomavo S., Dubremetz J. F. and Schwarz R. T. (1992). J. Biol. Chem. 267:21446-21458.

338. Coelho P. S., Klein A., Talvani A., Coutinho S. F., Takeuchi O., Akira S., Silva J. S., Canizzaro H., Gazzinelli R. T. and Teixeira M. M. (2002). J. Leukoc. Biol. 71:837:844.

339. Black C. G., Barnwell J. W., Huber C. S., Galinsski M. R. and Coppel R. L. (2002). Mol. Biochem. Parasitol. 120:215-224

340. Aliberti J. C., Machado F. S., Souto J. P., Campanelli A. P., Teixeira M. M., Gazzinelli R. T. and Silva J. S. (1999). Infect. Immun. 67:4819-4826.

341. Noe K. H., Cenciarelli C., Moyer S. A., Rota P. A. and Shin M. L. (1999). J. Virol. 73:3117-3124.

342. Kazachkov M. Y., Hu P. C., Carson J. L., Murphy P. C., Henderson F. W. and Noah T. L. (2002). Exp. Biol. Med. 227:330-335.

343. Cook D. N., Beck M. A., Coffmann T. M., Kirby S. L., Sheridan J. F., Pragnell I. B. and Smithies O. (1995). Science 269:1583-1585.

344. Doyle H. A. and Murphy J. W. (1997). J. Leukoc Biol. 61:147-155.

345. Gao J.-L., Wynn T. A., Chang Y., Lee E. J., Broxmeyer H. E., Cooper S., Tiffany H. L., Westphal H., Kwon-Chung J. and Murphy P. M. (1997). J. Exp. Med. 185:1959-1968.

346. Wadstrom T and Ljungh A. (1999). J. Med. Microbiol. 48:223-233.

347. Guibinga G. H., Miyanohara A., Esko J. D. and Friedmann T. (2002). Mol. Ther. 5:538-546.

348. Peiffer I., Servin A. L. and Bernet-Camard M. F. (1998). Infect. Immun. 66:4036-4042.

349. Gordon V. M., Nelson K. L., Buckley J. T., Stevens V. L., Tweten R. K., Elwood P. C. and Leppla S. H. (1999). J. Biol. Chem. 274:27274-27280.

350. Ricci V., Galmiche A., Doye A., Necchi V., Solcia E. and Boquet P. (2000). Mol. Biol. Cell 11:3897-3909.

351. Munro P., Kojima H., Dupont J. L., Bossu J. L., Poulain B. and Boquet P. (2001). Biochem. Biophys. Res. Commun. 289:623-629.

352. Ali N. and Evans W. H. (1990). Biochem. J. 271:193-199.

353. Fratti R. A., Backer J. M., Gruenberg J., Corvera S. and Deretic V. (2001). J. Cell Biol. 154:631-644.

354. Davis T. M., Pukrittayakamee S., Supanaranond W., Looareesuwan S., Krishna S., Nagachinta B., Turner R. C. and White N. J. (1990). Clin. Endocrinol. 33:739-749.

355. Soliman A. T., El-Nawawy A. A., El-Azzouni O. F., Amer E. A., Demian S. R. and El-Sayed M. H. (1996). J. Trop. Pediatr. 42:46-49.

356. Zaki K., Kantoosh M., Hamam M. A., Shoheib S., Mikhail N., Nour H. and Zaki F. (1980). Hepatogastroenterology 27:417-422.

357. dos Santos V. M., da Cunha S. F., Teixeira V. de P., Monteiro J. P., dos Santos J. A., dos Santos T. A., dos Santos L. A. and da Cunha D. F. (1999). Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 32:489-496.

358. Vitkov L., Weitgasser R., Lugstein A., Noack M. J., Fuchs K. and Krautgartner W. D. (1999). J. Oral Pathol. Med. 28:406-409.

359. Karachunskii M. A., Balabolkin M. I. and Beglarian N. R. (1995). Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk. (7):18-21.

360. Garg R., Agrawal J. K., Bajpai H. S., Singh G. and Srivastava P. K. (1990). Indian J. Lepr. 62:50-54.

361. Yoshitake H., Takeda Y., Nitto T. and Sendo F. (2002). J. Leukoc. Biol. 71:205-211.

362. Middelhoven P. J., van Buul J. D., Kleijer M., Roos D. and Hordijk P. L. (1999). Biochem. Biophys. Res. Commun. 255:568-574.

363. Nikolova M., Marie-Cardine A., Boumsell L. and Bensussan A. (2002). Int. Immunol. 14:445-451.

364. Kirby A, C., Hill V., Olsen I. and Porter S. R. (1995). Biochem. Biophys. Res. Commun. 214:200-205.

365. Matko J., Bodnar A., Vereb G., Bene L., Vaamosi G., Szentesi G., Szollosi J., Gaspar R., Horejsi V., Waldmann T. A. and Damjanovich S. (2002). Eur. J. Biochem. 269:1199-1208.

366. Haregewoin A., Solomon K., Hom R. C., Soman G., Bergelson J. M., Bhan A. K. and Finberg R. W. (1994). Cell. Immunol. 156:357-370.

367. Schinowski K., Frohlich L., Maurer K., Muller W. E. and Eckert A. (2002). Mech. Ageing Dev. 123:375-390.

【図１Ａ】

重鎖

MuIgV$_H$5′-B　L V A T A T G V H

AATGGAGCTG GGTTATTCTC TTCTTGGTAG CAACAGCTAC AGGTGTCCAC

S Q V Q L Q Q P G A E L V R P G A

TCCCAGGTCC AACTGCAGCA GCCTGGGGCT GAGCTGGTGA GGCCTGGGGC

S V K L S C K A S G Y T F T R N

TTCAGTGAAG CTGTCCTGCA AGGCTTCTGG CTACACCTTC ACCAGGAACT

W I N W V K Q R P G Q G L E W I G

GGATAAACTG GGTGAAGCAG AGGCCTGGAC AAGGCCTTGA GTGGATCGGA

N I Y P S D S Y T N Y N Q K F K D

AATATTTATC CTTCTGATAG TTATACTAAC TACAATCAAA AGTTCAAGGA

K A T V T V D K S S S T A Y M Q

CAAGGCCACA GTGACTGTAG ACAAATCCTC CAGCACAGCC TACATGCAGC

L S S P T S E D S A V Y Y C T R L

TCAGCAGCCC GACATCTGAG GACTCTGCGG TCTATTATTG TACAAGATTG

R G L L P D Y W G Q G T I L T V S

AGGGGTTTAT TACCTGACTA CTGGGGCCAA GGCACCATTC TCACAGTCTC

S E S Q S　MuIgMV$_H$3′-1

CTCAGAGAGT CAGTCCTTCC CAAATGTCTT CCCCCTCGTA AGCTTGGG

【図１Ｂ】

軽鎖

MuIgκV$_L$5′-A　V Y M L L W

GGGAATTCAT GGAGTCACAG ACCCAGGTCT TTGTATACAT GTTGCTGTGG

L S G V D G D I V M T Q S Q K F M

TTGTCTGGTG TTGATGGAGA CATTGTGATG ACCCAGTCTC AAAAATTCAT

S T S V G D R V S V T C K A S Q

GTCCACATCA GTAGGAGACA GGGTCAGCGT CACCTGCAAG GCCAGTCAGA

N V D T N V A W Y Q Q K P G Q S P

ATGTGGATAC TAATGTAGCC TGGTATCAAC AGAAACCAGG GCAATCTCCT

K A L I Y S A S Y R Y S G V P D R

AAAGCACTGA TTTACTCGGC ATCCTACCGG TACAGTGGAG TCCCTGATCG

F T G S G S G T D F T L T I S N

CTTCACAGGC AGTGGATCTG GGACAGATTT CACTCTCACC ATCAGCAATG

V Q S E D L A E Y F C Q Q Y N S Y

TGCAGTCTGA AGACTTGGCA GAGTATTTCT GTCAGCAATA TAACAGCTAT

P L T F G A G T K L E L K R A D A

CCTCTCACGT TCGGTGCTGG GACCAAGCTG GAGCTGAAAC GGGCTGATGC

A P T V　MuIgκV$_L$3′-1

TGCACCAACT GTA TCCATCT TCCCACCATC CAGTAAGCTT

【図４Ａ】

細胞系 **13.42a VH-1 DNA** 配列（配列番号 **17**）

AGGTCAAGCTGCAGGAGTCAGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGGTATC
CTGCAAGGCTTCTGGTTATGCATTCACTAGCTACAACATGTTCTGGGTGAAGCAGAGCCAT
GGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGATATATTGATCCTTACAATGGTGATACTAGATACAGCC
AGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTTGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGCA
TCTCAACAGCCTGACATCTGAAGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAAAGGGGATGACG
ACGGGCTATGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

細胞系 **13.42a VH-1** アミノ酸配列（配列番号 **18**）

VKLQESGPELVKPGASVKVSCKAS**GYAFTSYNMFW**VKQSHGKSLEWIG**YIDPYNGDTRYSQ**
**KFKG**KATLTVDKSSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCAR**KGMTTGYA**MDYWGQGTTVTVSS

細胞系 **13.42a VL DNA** 配列（配列番号 **19**）

GACATCCAGATGACTCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCA
TCAGTTGTAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGA
TGGAACTGTTAAACTCCTGCTCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGG
TTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAACAAGAAG
ATGTTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGTTTCCGACGTTCGGTGGAGGCACCAA
GCTGGAAATCAAACGG

細胞系 **13.42a VL** アミノ酸配列（配列番号 **20**）

DIQMTQSPSSLSASLGDRVTISC**RASQDISNYLN**WYQQKPDGTVKLLLY**YTSRLHS**GVPSR
FSGSGSGTDYSLTISNLEQEDVATYFC**QQGNTFPTF**GGGTKLEIKR

【図４Ｂ】

細胞系 **32.15 VH DNA** 配列（配列番号 **33**）

AGGTGCAACTGCAGGAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTC
CTGCAAGGCTTCTGGGTATACCTTCACAAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCA
GGAAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTG
ATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCCTATTTGCA
GATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGGGAAGGGTTGTAT
GGTAACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

細胞系 **32.15 VH** アミノ酸配列（配列番号 **34**）

VQLQESGPELKKPGETVKISCKAS**GYTFTNYGMNW**VKQAPGKGLKWMG**WINTYTGEPTYAD**
**DFKG**RFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCAR**EGLYGNYF**DYWGQGTTVTVSS

細胞系 **32.15 VL DNA** 配列（配列番号 **35**）

GACATCCAGATGACACAGTCTCCAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCG
TCACCTGCAAGGCCAGTCAGAATGTGGGTACTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGG
GCAATCTCCTAAAGCACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGC
TTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAATGTGCAGTCTGAAG
ACTTGGCAGAGTATTTCTGTCAGCAATATAACAGCTATCCTCTCACGTTCGGTGCTGGGAC
CAAGCTGGAGCTGAAACGG

細胞系 **32.15 VL** アミノ酸配列（配列番号 **36**）

DIQMTQSPKFMSTSVGDRVSVTC**KASQNVGTNVA**WYQQKPGQSPKALIY**SASYRYS**GVPDR
FTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFC**QQYNSYPLT**FGAGTKLELKR

【図４Ｃ】

細胞系 **32.17 VH DNA** 配列（配列番号 **49**）

AGGTCAAACTGCAGGAGTCAGGGGCTGAGCTGGTGAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTC
CTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGGAACTGGATAAACTGGGTGAAGCAGAGGCCT
GGACAAGGCCTTGAGTGGATCGGAAATATTTATCCTTCTGATAGTTATACTAACTACAATC
AAAAGTTCAAGGACAAGGCCACAGTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCA
GCTCAGCAGCCCGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGTACAAGATTGAGGGGTTTA
TTACCTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

細胞系 **32.17 VH** アミノ酸配列（配列番号 **50**）

VKLQESGAELVRPGASVKLSCKAS**GYTFTRNWINW**VKQRPGQGLEWIG**NIYPSDSYTNYNQ**
**KFKD**KATVTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDSAVYYCTR**LRGLLPDY**WGQGTTVTVSS

細胞系 **32.17 VL DNA** 配列（配列番号 **51**）

GACATTGTGCTAACCCAATCTCCAGTATCCATAACTGCATCTCGAGGGGAGAAGGTCACCA
TCACCTGCCGTGCCAGCTCAAGTATAAGTTCCAATTACTTACACTGTTACCAGCAGAAGCC
AGGATCCTCCCCTAAACTTTTGATTTATAGGACATCCATCCTGGCATCTGGAGTCCTAGAC
AGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGAGAGCTCTTACACTCTGACAATCAGCTGCATGCAGGACG
AAGTTGCTGCCACTTACTATTGTCAGCAGGGGAGTAGTAGCCCCCTCACGTTCGGTGCTGG
GACCAAGCTGGAGCTGAAACGG

細胞系 **32.17 VL** アミノ酸配列（配列番号 **52**）

DIVLTQSPVSITASRGEKVTITC**RASSSISSNYL**HCYQQKPGSSPKLLIY**RTSILAS**GVLD
SFSGSGSESSYTLTISCMQDEVAATYYC**QQGSSSPLT**FGAGTKLELKR

【図４Ｄ】

細胞系 **32.75 VH DNA** 配列（配列番号 **65**）

AGGTCAAACTGCAGGAGTCAGGGGCTGAGCTGGTGAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTC
CTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGGAACTGGATAAACTGGGTGAAGCAGAGGCCT
GGACAAGGCCTTGAGTGGATCGGAAATATTTATCCTTCTGATAGTTATACTAACTACAATC
AAAAGTTCAAGGACAAGGCCACAGTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCA
GCTCAGCAGCCCGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGTACAAGATTGAGGGGTTTA
TTACCTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

細胞系 **32.75 VH** アミノ酸配列（配列番号 **66**）

VKLQESGAELVRPGASVKLSCKAS**GYTFTRNWINW**VKQRPGQGLEWIG**NIYPSDSYTNYNQ**
**KFKD**KATVTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDSAVYYCTR**LRGLLPDY**WGQGTTVTVSS

細胞系 **32.75 VL DNA** 配列（配列番号 **67**）

GACATCCAGATGACACAGTCTCCAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCG
TCACCTGCAAGGCCAGTCAGAATGTGGATACTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGG
GCAATCTCCTAAAGCACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGC
TTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAATGTGCAGTCTGAAG
ACTTGGCAGAGTATTTCTGTCAGCAATATAACAGCTATCCTCCTACGTTCGGTGCTGGGAC
CAAGCTGGAGCTGAAACGG

細胞系 **32.75 VL** アミノ酸配列（配列番号 **68**）

DIQMTQSPKFMSTSVGDRVSVTC**KASQNVDTNVA**WYQQKPGQSPKALIY**SASYRYS**GVPDR
FTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFC**QQYNSYPPT**FGAGTKLELKR

【図４Ｅ】

細胞系 **32.2 VH-1 DNA** 配列（配列番号 **81**）

AGGTGAAGCTGCAGGAGTCAGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTC
CTGCAAGGCTTCTGGGTATACCTTCACAAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCA
GGAAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTG
ATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCCTATTTGCA
GATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGGGAAGGGTTGTAT
GGTAACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

細胞系 **32.2 VH-1** アミノ酸配列（配列番号 **82**）

VKLQESGPELKKPGETVKISCKAS**GYTFTNYGMNW**VKQAPGKGLKWMG**WINTYTGEPTYAD**
**DFKG**RFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCAR**EGLYGNYF**DYWGQGTTVTVSS

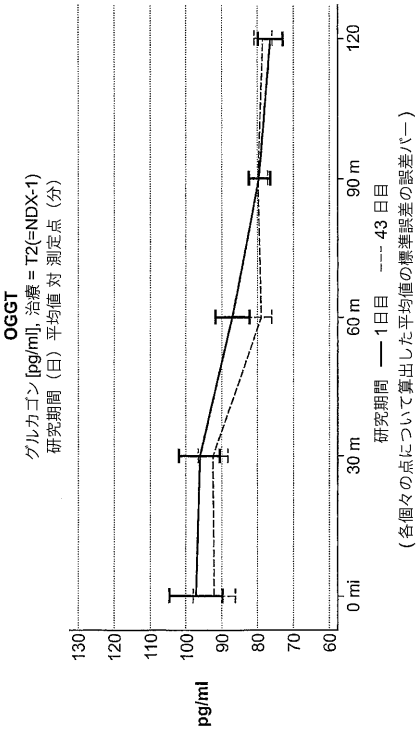
細胞系 **32.2 VL DNA** 配列（配列番号 **83**）

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCG
TCACCTGCAAGGCCAGTCAGAATGTGGGTACTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGG
GCAATCTCCTAAAGCACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGC
TTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAATGTGCAGTCTGAAG
ACTTGGCAGAGTATTTCTGTCAGCAATATAACAGCTATCCTCTCACGTTCGGTGCTGGGAC
CAAGCTGGAAATAAAACGG

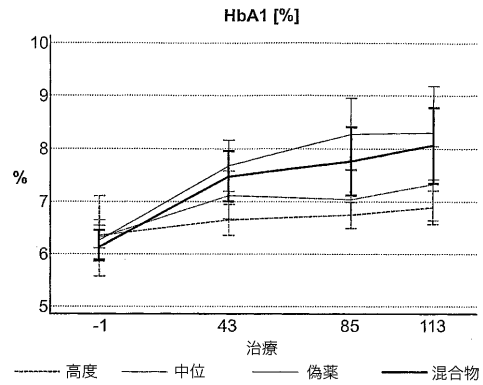
細胞系 **32.2 VL** アミノ酸配列（配列番号 **84**）

DIQMTQSPKFMSTSVGDRVSVTC**KASQNVGTNVA**WYQQKPGQSPKALIY**SASYRYS**GVPDR
FTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFC**QQYNSYPLT**FGAGTKLEIKR

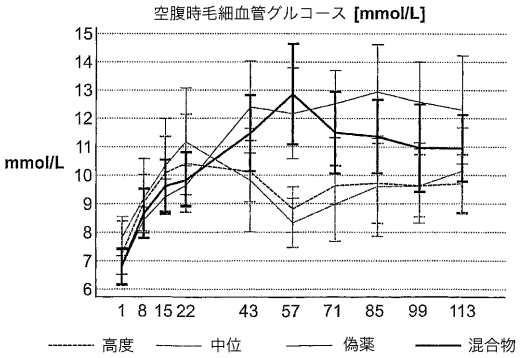
【図５】



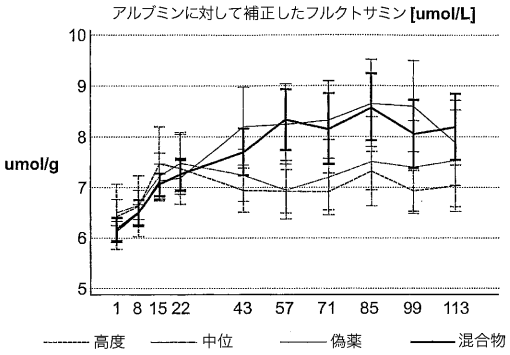
【図６】



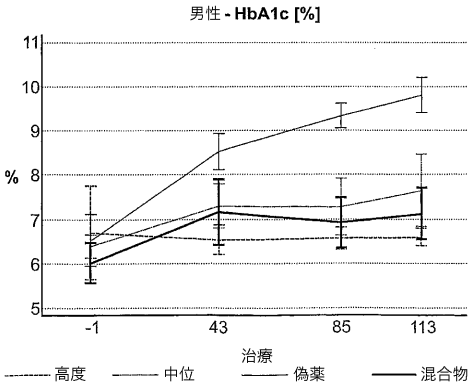

【図７】



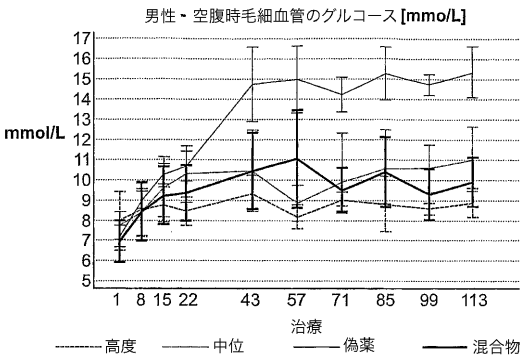

【図８】



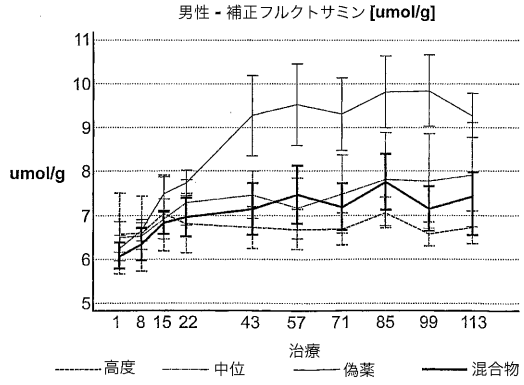

【図９】




【図１０】




【図１１】




【図１２Ａ】

| | | *IgM CDR-H1* | 反応性 |
|---|---|---|---|
| 配列番号 6 | (実施例1) | GYTFTRNWINW | - |
| 配列番号 31 | (実施例5) | GYTFTNYGMNW | - |
| 配列番号 41 | (実施例5) | GYTFTRNWINW | - |
| 配列番号 51 | (実施例5) | GYTFTRNWINW | - |
| 配列番号 61 | (実施例5) | GYTFTNYGMNW | - |
| 配列番号 97 | (A39276) | GYTFTNFWIGW | 抗 RF |
| 配列番号 98 | (AAL59371.1) | GYTFTYNAIQW | 抗 CL |
| 配列番号 99 | (AAB32203.1) | GYTFTSYWMQW | 抗 RNA |
| 配列番号 100 | (AAT76246.1) | GYTFTTYWMHW | 抗 sDNA |
| 配列番号 101 | (AAR90999.1) | GYTFTDYYMNW | 抗 NA |
| 配列番号 102 | (AAB46762.1) | GYTFTEYYVNW | 抗 VA |
| 配列番号 103 | (AAG33839.1) | GYTFTDYYIHW | 抗 RF |
| 配列番号 104 | (AAT76245.1) | GYTFTSYWMHW | 抗 sDNA |
| 配列番号 105 | (CAA84376.1) | GYTFTGYYIHW | 抗 RF |
| 配列番号 106 | (AAB46761.1) | GYTFTSYWMHW | 抗 VA |
| 保存残基 配列番号 162 | | GYTFT-----W | - |

コンセンサス配列

IgM CDR-H1 G-Y-T-F-T-x-x-x-x-x-W

一般式

IgM CDR-H1 G-Y-T-F-T-[RNYSTDEG]-[NYF]-[WGAY]-[IMV]-[NGQH]-W

保存された及び主要な残基

IgM CDR-H1 G-Y-T-F-T-[RNS]-Y-W-[IM]-N-W

| | | *IgG CDR-H1* | 反応性 |
|---|---|---|---|
| 配列番号 21 | (実施例5) | GYAFTSYNMFW | - |
| 配列番号 99 | (AAB32203.1) | GYTFTSYWMQW | 抗 RNA |
| 配列番号 107 | (AAB58061.1) | GYTFTDYNMHW | 抗 CD8 |
| 配列番号 108 | (P30502) | GYSFTGYNMNW | 抗 RNA |
| 配列番号 109 | (AAR91003.1) | GYAFSSYWMNW | 抗 NA |
| 配列番号 110 | (AAT76236.1) | GYTFTSYVMHW | 抗 sDNA |
| 配列番号 104 | (AAT76245.1) | GYTFTSYWMHW | 抗 sDNA |
| 配列番号 106 | (AAB46761.1) | GYTFTSYWMHW | 抗 VA |
| 保存残基 配列番号 163 | | GY-F--Y-M-W | - |

コンセンサス配列

IgG CDR-H1 G-Y-x-F-x-x-Y-x-M-x-W

一般式

IgG CDR-H1 G-Y-[ATS]-F-[T/S]-[SDG]-Y-[NWV]-M-[FQHN]-W

保存された及び主要な残基

IgG CDR-H1 G-Y-T-F-T-S-Y-W-M-H-W

【図１２Ｂ】

| | | *IgM CDR-H2* | 反応性 |
|---|---|---|---|
| 配列番号 8 | (実施例 1) | NIYPSDSYTNYNQKFKD | - |
| 配列番号 32 | (実施例 5) | WINTYTGEPTYADDFKG | - |
| 配列番号 42 | (実施例 5) | NIYPSDSYTNYNQKFKD | - |
| 配列番号 52 | (実施例 5) | NIYPSDSYTNYNQKFKD | - |
| 配列番号 62 | (実施例 5) | WINTYTGEPTYADDFKG | - |
| 配列番号 111 | (AAB32203.1) | EIDPSDSYTNYNQKFKG | 抗 RNA |
| 配列番号 112 | (AAT68292.1) | AIDTSDSYTYYNQKFKG | 抗 TG |
| 配列番号 113 | (A39276) | NIYPGGDYTNYIEKFKG | 抗 RF |
| 配列番号 114 | (AAB58061.1) | YIYPYTGGTGYNQKFKN | 抗 CD8 |
| 配列番号 115 | (1921302A) | NINPYYGSTSYNQKFKG | 抗 CL |
| 保存残基<br>配列番号 164 | | -I--------Y---FK- | - |

コンセンサス配列

**IgM CDR-H2** x-I-x-x-x-x-x-x-x-x-Y-x-x-x-F-K-x

一般式

**IgM CDR-H2** [NWEAY]-I-[YND]-[PT]-[SYG]-[DTGY]-[SGD]-[YEGS]-[TP]-[NTYGS]-Y-[NAI]-[QDE]-[KD]-F-K-[DGN]

保存された及び主要な残基

**IgM CDR-H2** N-I-Y-P-S-D-S-Y-T-N-Y-N-Q-K-F-K-G

| | | *IgG CDR-H2* | 反応性 |
|---|---|---|---|
| 配列番号 22 | (実施例 5) | YIDPYNGDTRYSQKFKG | - |
| 配列番号 116 | (AAR91004.1) | WIDPANGDTEYASKFQG | 抗 NA |
| 配列番号 117 | (P30502) | KINPYYGSTSYNQKFKG | 抗 RNA |
| 配列番号 118 | (AAT76236.1) | YINPYNDGTKYNEKFKG | 抗 sDNA |
| 配列番号 119 | (AAB46758.1) | WIDPENGDTEYAPKFQG | 抗 VA |
| 配列番号 115 | (1921302A) | NINPYYGSTSYNQKFKG | 抗 CL |
| 配列番号 120 | (AAE72083.1) | LINPFSGDTNYSQKFTG | 抗 3H1 |
| 配列番号 121 | (B30502) | YINPYNDGTKYNEKFKG | 抗 RNA |
| 配列番号 123 | (AAR91007.1) | WIDPENGDTEYASKFQG | 抗 NA |
| 保存残基<br>配列番号 165 | | -I-P----T-Y--KF-G | - |

コンセンサス配列

**IgG CDR-H2** x-I-x-P-x-x-x-x-T-x-Y-x-x-K-F-x-G

一般式

**IgG CDR-H2** [YWKNLR]-I-[DN]-P-[YAEFS]-[NYS]-[GD]-[DSG]-T-[RESKN]-Y-[SAN]-[QSEP]-K-F-[KQT]-G

保存された及び主要な残基

**IgG CDR-H2** [YW]-I-N-P-Y-N-G-D-T-[ES]-Y-N-Q-K-F-K-G

【図１２Ｃ】

| | | *IgM CDR-L1* | 反応性 |
|---|---|---|---|
| 配列番号 12 | (実施例 1) | KASQNVDTNVA | - |
| 配列番号 34 | (実施例 5) | KASQNVGTNVA | - |
| 配列番号 44 | (実施例 5) | RASSSISSNYL | - |
| 配列番号 54 | (実施例 5) | KASQNVDTNVA | - |
| 配列番号 64 | (実施例 5) | KASQNVGTNVA | - |
| 配列番号 124 | (AAS01840.1) | KASQNVGTNVA | 抗 NA |
| 配列番号 125 | (AAS01841.1) | KASQNVRTAVA | 抗 NA |
| 配列番号 126 | (AAT76271.1) | KASQDVSTAVA | 抗 sDNA |
| 配列番号 127 | (AAB46763.1) | KASQSVDYDGDSYMN | 抗 VA |
| 配列番号 128 | (AAA20447.1) | RASQSVSSYLA | 抗 RF |
| 配列番号 129 | (PC4282) | RASQSVSNYLA | 抗 RO |
| 配列番号 130 | (CAA56180.1) | RASQTVRKNYLA | 抗 TG |
| 保存残基<br>配列番号 166 | | -AS-------- | - |

コンセンサス配列

**IgM CDR-L1** x-A-S-x-x-x-x-x-x-x-x

一般式

**IgM CDR-L1** [KR]-A-S-[QS]-[NSDT]-[VI]-[DGSR]-[TSYNK]-[NADY]-[VYGL]-[ALD]

保存された及び主要な残基

**IgM CDR-L1** K-A-S-Q-N-V-S-T-N-V-A

| | | *IgG CDR-L1* | 反応性 |
|---|---|---|---|
| 配列番号 24 | (実施例 5) | RASQDISNYLN | - |
| 配列番号 131 | (1921302B) | RASQSISNYLH | 抗 CL |
| 配列番号 132 | (AAL59380.1) | RASQSISSYLN | 抗 CL |
| 配列番号 133 | (AAL59377.1) | RASQSISSYLN | 抗 CL |
| 配列番号 134 | (CAA63587.1) | RASQGISNWLA | 抗 TG |
| 配列番号 135 | (AAG30434.1) | RASQGISSYLA | 抗 CL |
| 配列番号 129 | (PC4282) | RASQSVSNYLA | 抗 RO |
| 配列番号 136 | (CAA56181.1) | RASRGISNYLA | 抗 TG |
| 配列番号 137 | (AAE72082.1) | KASQDINGYLN | 抗 3H1 |
| 保存残基<br>配列番号 167 | | -AS------L- | - |

コンセンサス配列

**IgG CDR-L1** x-A-S-x-x-x-x-x-x-L-x

一般式

**IgG CDR-L1** [RK]-A-S-[QR]-[DSG]-[IV]-[SN]-[NSG]-[YW]-L-[NHA]

保存された及び主要な残基

**IgG CDR-L1** R-A-S-Q-S-I-S-N-Y-L-[NA]

【図１２Ｄ】

| | | *IgM CDR-L2* | 反応性 |
|---|---|---|---|
| 配列番号 14 | (実施例 1) | SASYRYS | - |
| 配列番号 35 | (実施例 5) | SASYRYS | - |
| 配列番号 45 | (実施例 5) | RTSILAS | - |
| 配列番号 55 | (実施例 5) | SASYRYS | - |
| 配列番号 65 | (実施例 5) | SASYRYS | - |
| 配列番号 138 | (AAS01840.1) | SASYRYS | 抗 NA |
| 配列番号 139 | (G30502) | WASTRES | 抗 RNA |
| 配列番号 140 | (AAL59376.1) | WASTRES | 抗 CL |
| 配列番号 141 | (AAL59379.1) | WASTRES | 抗 CL |
| 保存残基<br>配列番号 168 | | --S---S | - |

コンセンサス配列

**IgM CDR-L2** x-x-S-x-x-x-S

一般式

**IgM CDR-L2** [SRW]-[AT]-S-[YIT]-[RL]-[YAE]-S

保存された及び主要な残基

**IgM CDR-L2** S-A-S-Y-R-Y-S

| | | *IgG CDR-L2* | 反応性 |
|---|---|---|---|
| 配列番号 25 | (実施例 5) | YTSRLHS | - |
| 配列番号 142 | (AAT76280.1) | LTSNLAS | 抗 sDNA |
| 配列番号 143 | (AAB46767.1) | DTSKLAS | 抗 VA |
| 配列番号 144 | (AAB46765.1) | DTSNLAS | 抗 VA |
| 配列番号 145 | (AAB46766.1) | YTSNLAP | 抗 VA |
| 配列番号 146 | (AAB46764.1) | YTSNLAP | 抗 VA |
| 配列番号 147 | (AAS01843.1) | TTSNLAS | 抗 NA |
| 配列番号 148 | (AAG30433.1) | KTSVLGS | 抗 CL |
| 配列番号 149 | (CAC22102.1) | TTSNLAS | 抗 TRKA |
| 保存残基<br>配列番号 169 | | -TS-L-- | - |

コンセンサス配列

**IgG CDR-L2** x-T-S-x-L-x-x

一般式

**IgG CDR-L2** [YLDTK]-T-S-[RNKV]-L-[HAG]-[SP]

保存された及び主要な残基

**IgG CDR-L2** Y-T-S-N-L-A-S

【図１２Ｅ】

| | | *IgM CDR-L3* | 反応性 |
|---|---|---|---|
| 配列番号 16 | (実施例 1) | QQYNSYPLT | - |
| 配列番号 36 | (実施例 5) | QQYNSYPLT | - |
| 配列番号 46 | (実施例 5) | QQGSSSPLT | - |
| 配列番号 56 | (実施例 5) | QQYNSYPPT | - |
| 配列番号 66 | (実施例 5) | QQYNSYPLT | - |
| 配列番号 150 | (AAS01840.1) | QQYNSYPYT | 抗 NA |
| 配列番号 151 | (AAB46766.1) | QQWSSDPLT | 抗 VA |
| 配列番号 152 | (PC4282) | QQRASWPLT | 抗 RO |
| 配列番号 153 | (S67940) | QQYGSSPYT | 抗 TG |
| 配列番号 154 | (CAA56180.1) | QQYGSSPIT | 抗 TG |
| 保存残基<br>配列番号 170 | | QQ--S-P-T | - |

コンセンサス配列

**IgM CDR-L3** Q-Q-x-x-S-x-P-x-T

一般式

**IgM CDR-L3** Q-Q-[YGWR]-[NSAG]-S-[YSDW]-P-[LPYI]-T

保存された及び主要な残基

**IgM CDR-L3** Q-Q-Y-N-S-Y-P-L-T

| | | *IgG CDR-L3* | 反応性 |
|---|---|---|---|
| 配列番号 26 | (実施例 5) | QQGNTFPTF | - |
| 配列番号 155 | (AAB58062.1) | QQNNEDPYT | 抗 CD8 |
| 配列番号 156 | (AAS01844.1) | QQSNEDPRT | 抗 NA |
| 配列番号 157 | (C30502) | QQTNSWPRT | 抗 RNA |
| 配列番号 158 | (AAB46763.1) | QQNNEDPFT | 抗 VA |
| 配列番号 150 | (AAS01840.1) | QQYNSYPYT | 抗 NA |
| 保存残基<br>配列番号 171 | | QQ-N--P-- | - |

コンセンサス配列

**IgG CDR-L3** Q-Q-x-N-x-x-P-x-x

一般式

**IgG CDR-L3** Q-Q-[GNSTY]-N-[TES]-[FDWY]-P-[TYRF]-[FT]

保存された及び主要な残基

**IgG CDR-L3** Q-Q-N-N-E-D-P-[YR]-T

【図２】

【図３Ａ】

【図３Ｂ】

【配列表】

0005738333000001.app

フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | | | FI | | |
|---|---|---|---|---|---|
| *C12N* | *1/15* | *(2006.01)* | C12N | 1/15 | |
| *C12N* | *1/19* | *(2006.01)* | C12N | 1/19 | |
| *C12N* | *1/21* | *(2006.01)* | C12N | 1/21 | |
| *C12N* | *5/10* | *(2006.01)* | C12N | 5/00 | 101 |
| *G01N* | *33/53* | *(2006.01)* | G01N | 33/53 | N |
| *C07K* | *16/42* | *(2006.01)* | C07K | 16/42 | |

(31)優先権主張番号 0609921.2
(32)優先日 平成18年5月18日(2006.5.18)
(33)優先権主張国 英国(GB)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07K
C12N 15/00
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS
(STN)

| | | | |
|---|---|---|---|
| 专利名称(译) | Tcr-vβ相关肽用于自身免疫性疾病的治疗和诊断 | | |
| 公开(公告)号 | JP5738333B2 | 公开(公告)日 | 2015-06-24 |
| 申请号 | JP2013024857 | 申请日 | 2013-02-12 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 阿皮·马托西安 - 罗杰斯 | | |
| 申请(专利权)人(译) | Matoshian - 罗杰斯，阿尔皮 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | Matoshian - 罗杰斯，阿尔皮 | | |
| [标]发明人 | マトシアンロジャーズアルピ | | |
| 发明人 | マトシアン - ロジャーズ、アルピ | | |
| IPC分类号 | C07K7/08 C07K7/06 C12N15/09 A61K38/00 A61P3/10 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 G01N33/53 C07K16/42 A61K39/00 | | |
| CPC分类号 | A61K2039/505 A61P1/00 A61P1/04 A61P3/04 A61P3/10 A61P5/48 A61P7/00 A61P7/06 A61P9/00 A61P11/00 A61P11/06 A61P15/08 A61P17/00 A61P17/06 A61P17/14 A61P19/02 A61P19/10 A61P25/16 A61P25/20 A61P25/24 A61P25/28 A61P31/04 A61P31/18 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/04 A61P37/06 C07K16/2809 C07K16/30 C07K2317/54 C07K2317/55 C07K2317/565 C07K2317/73 A61K38/08 A61K38/10 A61K39/39533 A61K39/39541 A61K39/39566 C07K7/06 C07K7/08 C07K16/18 C07K16/28 C07K16/4258 | | |
| FI分类号 | C07K7/08.ZNA C07K7/06 C12N15/00.A A61K37/02 A61P3/10 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 G01N33/53.N C07K16/42 A61K38/00 A61K38/02 A61K39/00.H A61P37/04 A61P37/06 C07K16/18.ZNA C07K16/28 C12N15/13 C12N5/10 C12P21/08 | | |
| F-TERM分类号 | 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA43 4B024/BA53 4B024/CA04 4B024/CA12 4B024/DA06 4B024/EA04 4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA94X 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4C084/AA07 4C084/BA02 4C084/NA14 4C084/ZB08 4C084/ZB09 4C085/AA03 4C085/CC21 4C085/DD62 4C085/DD88 4C085/EE01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG05 4H045/AA11 4H045/BA10 4H045/DA76 4H045/EA22 4H045/EA31 4H045/EA50 4H045/FA74 | | |
| 优先权 | 2005016527 2005-08-11 GB<br>2006009920 2006-05-18 GB<br>2006009921 2006-05-18 GB | | |
| 其他公开文献 | JP2013163673A<br>JP2013163673A5 | | |
| 外部链接 | Espacenet | | |


摘要(译)

要解决的问题：提供一种肽，可用于治疗和诊断因体内与GPI相关表位反应的自身抗体的不适当存在引起的疾病，以及那些自身抗体的作用机制，以及预防疾病和检测自身抗体的方法。 提供了衍生自对GPI连接的表位具有反应性的抗体的肽和功能等同的配体。【选择图】无

| 疾患 | A | B | C | D | E | F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 乾癬 | + | | + | + | | + |
| 湿疹 | + | | | | | |
| 白斑 | | | + | + | + | |
| 黒色表皮腫 | + | | | + | | |
| 円形脱毛症 | | | | + | | |
| アルツハイマー | + | | + | + | | |
| 統合失調症 | + | | | + | | + |