

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2006-89494

(P2006-89494A)

(43) 公開日 平成18年4月6日(2006.4.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 K 16/28 (2006.01)	C O 7 K 16/28 Z N A	4 B O 2 4
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	4 B O 6 4
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	4 B O 6 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/00 B	4 C O 8 5
C 1 2 N 15/02 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 C	4 H O 4 5
審査請求 有 請求項の数 27 O L (全 16 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2005-311761 (P2005-311761)	(71) 出願人	505360214
(22) 出願日	平成17年10月26日 (2005.10.26)		メディスアップ インターナショナル ナ
(62) 分割の表示	特願平5-517083の分割		ームロゼ フェンノートシャップ
原出願日	平成5年3月30日 (1993.3.30)		オランダ領アンチル、クラカオ、カヤ ダ
(31) 優先権主張番号	92400902.0		ブリュ、エフ、ジー、メンシング 14、
(32) 優先日	平成4年3月31日 (1992.3.31)		イング トラスト (アンチル) ナームロゼ
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		フェンノートシャップ内
		(74) 代理人	100077517
			弁理士 石田 敬
		(74) 代理人	100092624
			弁理士 鶴田 準一
		(74) 代理人	100087871
			弁理士 福本 積
		(74) 代理人	100082898
			弁理士 西山 雅也
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 I 型インターフェロンに対する中和活性を有するインターフェロン受容体に対するモノクローナル抗体

(57) 【要約】

【課題】 自己免疫疾患及び炎症性疾患の処置に有効なモノクローナル抗体の提供。

【解決手段】 本発明は、以下の特性：ヒト IFN-Rの細胞外ドメインを認識し、ヒト I 型 I FNの生物学的特性に対する中和能力を有するという特性を特徴とするヒト I 型インターフェロン受容体 (IFN-R) に対するモノクローナル抗体に関する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の：

(a) ヒト I 型インターフェロン受容体（ヒト I 型 IFN-R）のアミノ酸配列 27～427 上のエピトープを認識し、

(b) ヒト I 型インターフェロン（ヒト I 型 IFN）の抗増殖活性又は抗ウィルス活性に対する中和能力を有する、

という特性を特徴とするヒト I 型 IFN-R に対するモノクローナル抗体。

【請求項 2】

ヒト病態 I 型 IFN の IFN-R との結合を阻止する能力を特徴とする請求項 1 記載のヒト I 型 IFN-R に対するモノクローナル抗体。 10

【請求項 3】

骨髓腫細胞と可溶性形態のヒト IFN-R で予め免疫化した動物からの脾臓細胞との融合により調製されるハイブリドーマ細胞から得られる請求項 1 または 2 記載のモノクローナル抗体。

【請求項 4】

100 μ g/ml 以下の抗体濃度で hu-IFN-R を保有する細胞と同時インキュベートされる場合に、ヒト I 型 IFN のヒト細胞性 IFN-R との結合を *in vitro* で阻止することを特徴とする請求項 1～3 のいずれかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 5】

50 μ g/ml 以下の抗体濃度で hu-IFN-R を保有する細胞と同時インキュベートされる場合に、ヒト I 型 IFN のヒト細胞性 IFN-R との結合を *in vitro* で阻止することを特徴とする請求項 1～3 のいずれかに記載のモノクローナル抗体。 20

【請求項 6】

20 μ g/ml 以下の抗体濃度で hu-IFN-R を保有する細胞と同時インキュベートされる場合に、ヒト I 型 IFN のヒト細胞性 IFN-R との結合を *in vitro* で阻止することを特徴とする請求項 1～3 のいずれかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 7】

約 0.5～2 μ g/ml の抗体濃度で hu-IFN-R を保有する細胞と同時インキュベートされる場合に、ヒト I 型 IFN のヒト細胞性 IFN-R との結合を *in vitro* で阻止することを特徴とする請求項 1～3 のいずれかに記載のモノクローナル抗体。 30

【請求項 8】

ヒト I 型 IFN に対し反応性である細胞に対するヒト I 型 IFN の抗増殖活性を *in vitro* で中和することを特徴とする、請求項 1～7 のいずれかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 9】

前記細胞が Daudi 細胞であり、そして前記抗体の濃度が 1～10 μ g/ml である、請求項 8 記載のモノクローナル抗体。

【請求項 10】

前記細胞が Ly28 細胞であり、そして前記抗体の濃度が 50～100 μ g/ml である、請求項 1～9 のいずれかに記載のモノクローナル抗体。 40

【請求項 11】

IFN ガンマのヒト受容体と結合しないことを特徴とする請求項 1～10 のいずれかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 12】

ヒト I 型 IFN に対し反応性である細胞に対するヒト I 型 IFN の抗ウィルス活性を *in vitro* で中和することを特徴とする、請求項 1～11 のいずれかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 13】

前記細胞が Daudi 細胞であり、そして前記抗体の濃度が 1～10 μ g/ml である、請求項 12 記載のモノクローナル抗体。 50

【請求項 1 4】

前記細胞がLy28細胞であり、そして前記抗体の濃度が50～100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ である、請求項1～13のいずれかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 1 5】

n ' 92022605の下に1992年2月26日に ECACCに寄託された抗体 64G12であることを特徴とする請求項1～14のいずれかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 1 6】

ヒト化抗体であることを特徴とする請求項1～14のいずれかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 1 7】

抗体重鎖及び軽鎖の可変部又は相補的決定領域がヒト抗体のフレームワーク及び定常部にグラフトされることを特徴とする請求項16記載のモノクローナル抗体。

【請求項 1 8】

ヒト抗体であることを特徴とする請求項1～14のいずれかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 1 9】

IgG1抗体であることを特徴とする請求項1～14のいずれかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 2 0】

請求項1～16のいずれかに記載のモノクローナル抗体を産生することを特徴とするハイブリドーマ細胞。

【請求項 2 1】

請求項1～19のいずれかに記載のモノクローナル抗体を含有することを特徴とするI型IFNに対する拮抗剤特性を有する組成物。

【請求項 2 2】

適切な薬剤ビヒクルと一緒に請求項1～19のいずれかに記載のモノクローナル抗体を含有することを特徴とする、自己免疫疾患又は炎症性疾患の治療又は予防のための医薬組成物。

【請求項 2 3】

適切な薬剤ビヒクルと一緒に請求項1～19のいずれかに記載のモノクローナル抗体を含有することを特徴とする、増殖性細胞活性及び／又はウィルス細胞感染に関連した病態の治療又は予防のための医薬組成物。

【請求項 2 4】

ヒトIFN-Rの細胞外ドメインを認識する能力及びヒトI型IFNのIFN-Rとの結合を阻止する能力を有するモノクローナル抗体の選択方法であって、以下の：

(a)IFN-Rを保有できるヒト細胞を用いて確定濃度の請求項1～19のいずれかに記載の精製モノクローナル抗体又は当該モノクローナル抗体を含有するハイブリドーマ培養上清を予インキュベートし；

(b)確定濃度の標識化ヒトI型IFNを上記予インキュベーション中の培地に加え；

(c)ヒト細胞、モノクローナル抗体及び標識化I型IFNを含有する培地を細胞性IFN-Rを用いて一方ではモノクローナル抗体と他方ではI型IFNとの間に平衡を生じさせるのに十分な時間インキュベートし；

(d)細胞を洗浄し；

(e)付着標識化I型IFNの量を計数することによりヒト細胞とI型IFNとの間の結合複合体の生成を確定する；

工程を特徴とする方法。

【請求項 2 5】

ヒトIFN-Rの細胞外ドメインを認識する能力を有し、そしてヒト細胞に対するI型IFNの抗増殖活性を中和する能力を有するモノクローナル抗体の選択方法であって、以下の：

(a)ヒトI型IFNの存在下で、且つ確定濃度の請求項1～19のいずれかに記載のモノクロ

10

20

30

40

50

ーナル抗体の存在下で細胞を増殖させ；

(b)ヒト I 型 IFN の抗増殖作用の阻止を検出するために細胞を計数する；

工程を特徴とする方法。

【請求項 26】

ヒト IFN-R の細胞外ドメインを認識する能力を有し、そしてヒト細胞に対する非病態性又は病態性の I 型 IFN の抗ウイルス活性を中和する能力を有するモノクローナル抗体の選択方法であって、以下の：

(a) I 型 IFN 及び請求項 1～19 のいずれかに記載のモノクローナル抗体を確定濃度で用いてモノクローナル抗体とヒト細胞の IFN-R との間、及び／又は I 型 IFN とヒト細胞の IFN-R との間に複合体を生成させるのに十分な時間インキュベートし；

10

(b) 上記インキュベート細胞を確定濃度のウイルスに感染させ；

(c) 細胞を洗浄し；

(d) 細胞を培地中に再懸濁し；

(e) ウィルスを複製させるのに十分な時間インキュベートし；

(f) 細胞を溶解し；

(g) ウィルス複製を測定するか又は細胞変性作用の阻止を測定する；

工程を特徴とする方法。

【請求項 27】

64G12 の免役結合特性を有するモノクローナル抗体。

【発明の詳細な説明】

20

【発明の開示】

【0001】

発明の詳細な説明

インターフェロン (IFN) は広範な生物学的活性を示し、脊椎動物細胞中に抗ウイルス状態を誘発するその能力を特徴とする分泌蛋白質の一群を構成する (I. Gresser and M.G. Tovey, Biochem. Biophys. Acta 516 : 231, 1978)。IFN には 3 種類の抗原性種がある：即ちアルファ (α)、ベータ (β) 及びガンマである。IFN α 及び IFN β はともに I 型インターフェロンとして公知である。

天然 I 型ヒトインターフェロンは、高度の構造的相同性を有する別個の遺伝子によりコードされる 12 又はそれ以上の非常に関連した蛋白質から成る (Weissmann and Weber, Proc. Natl. Acad. Res. Mol. Biol. 33 : 251, 1986)。

30

【0002】

ヒト IFN α 遺伝子座は 2 つの亜科から成る。第一の亜科は、14 個の非対立遺伝子と 4 個の偽遺伝子から成り、少なくとも 80% の相同性を有する。第二の亜科、即ち α II 又はオメガ (ω) は、5 個の偽遺伝子及び 1 個の機能遺伝子を含有し、IFN α 遺伝子との 70% の相同性を示す (Weissmann and Weber, 1986)。

IFN α のサブタイプは異なる特異的活性を有するが、しかしそれらは同一の生物学的範囲を有し (Streuli et al., PNAS-USA 78 : 2848, 1981)、同一細胞受容体を有する (Agnat M. et al., in "Interferon 5" Ed. I. Gresser P.1-22, Academic Press, London 1983)。

インターフェロン β (IFN β) は、IFN α 遺伝子と約 50% の相同性を有する。

40

インターフェロン α サブタイプ及びインターフェロン β は、細胞表面の同一受容体と結合する。

【0003】

インターフェロン γ (IFN γ) も単一コピーによりコードされ、IFN α 及び IFN β の遺伝子とほとんど相同でない。IFN γ に対する受容体は α 及び β インターフェロンとは異なっている。

本発明のために、IFN の α 及び β 種の受容体を IFN-R と呼ぶ。これは天然 I 型受容体に相当する。天然インターフェロン α を構成する蛋白質群を IFN α と呼び、I 型 IFN は天然 IFN α 、IFN ω 及び IFN β に相当する。

インターフェロンが有効な抗ウイルス剤であるという事実にもかかわらず、上気道感染

50

のような急性ウイルス疾患の多数の特徴的症状はインターフェロンアルファの過剰産生によって引き起こされることを示唆するかなりの証拠がある。さらに、IFNアルファは実験動物におけるある種の慢性ウイルス感染の病因に関与することが示されており、有用な証拠は、これを麻疹ウイルスによるもののようなある種のヒト慢性ウイルス疾患に関する症例であることを示唆する。

【0004】

インターフェロン α はさらにポリクローナルB細胞活性化剤を刺激し、NK細胞細胞毒性を増強し、T細胞機能を阻害し、そして多数の組織適合性複合体(MHC) 1型抗原の発現を調節する有力な免疫調節分子であり、これらはすべて、自己免疫の誘発及び移植片拒否反応に関係する。インターフェロン α の異常産生は、多数の自己免疫疾患及び炎症性疾患を伴い、その例としては全身性エリテマトーデス(SLE)、I型糖尿病、乾癬、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、ベーチェット病、再生不良性貧血、後天性免疫不全症候群(AIDS)及び重傷複合型免疫不全が挙げられる。全身性エリテマトーデス患者の血清中のインターフェロン α の存在は、疾患活性増大の臨床的及び体液性徴候の両方に相関する。HIVウイルス陽性被験者におけるインターフェロン α の産生は疾患進展をも高度に予測する。

10

インターフェロン α の投与は、乾癬及び多発性硬化症患者における根本的疾患を悪化させ、自己免疫疾患の既往症のない患者にSLE様症状を誘発することが報告されている。インターフェロン α はさらに正常マウスに糸球体腎炎を誘発し、NZB/Wマウスの特発性自己免疫疾患の発症を促進することも示されている。

【0005】

20

インターフェロン α はまた、全身性移植片対宿主疾患(GVHD)の特徴であるNK細胞活性増強と平行してGVHDの経過中に産生される。インターフェロン α はNK細胞細胞毒性の主要モジュレーターであって、インターフェロン α の投与は正常マウスのGVHDの小腸で生じる結果を増強することが示されている。

本発明の目的は、ヒトI型IFNの生物学的活性に対する新規の拮抗薬を提供することである。これらの拮抗薬は、I型IFN(IFN α/β)が異常に産生され、この異常産生が病的症状を伴う場合の予防を含めた治療目的に用い得る。このような拮抗薬は種々の疾患の診断に、あるいはこのような疾患の進展の研究に用いることもできる。

このような拮抗薬を定義するために、本発明人は、ヒト天然I型IFNが実際インターフェロン(亜種)の混合物で構成され、そして異なるサブタイプのインターフェロンのこの集まりの組成が量質ともに変化するという事実を考慮した。

30

【0006】

Namalwa細胞から分泌されるもの(Namalwaインターフェロン)又は白血球から分泌されるもの(白血球インターフェロン)といったようないくつかの天然インターフェロンは詳細に研究されており(N.B. Finter and K.H. Fautes, Interferon 2, 1980, P.65-79 I. Gresser Editor Academic Press; K. Cantell et al., Interferon1, 1979 p.2-25, I. Gresser Academic Press)、天然I型インターフェロンを定義するために本発明人が用いた。

AIDSのようないくつかの病例において、何らかの特定の特性を有するインターフェロンが記載されている(O.T. Preble et al., Annals of New-York Academy of Science p.65-75)。このインターフェロンはAIDSのような病例に関与するが、にもかかわらず上記と同様の受容体と結合する。

40

【0007】

本発明の一目的はヒトI型IFNの生物学的特性を確定程度まで阻止又は中和し得る、言い換えれば α 、 β 、 ω 亜種の混合物をin vivoで中和し得るI型IFNの拮抗薬を提供することである。

したがって、本発明人はI型IFNに対する拮抗薬の有する特性を有する抗体、特にモノクローナル抗体を明確にした。これらの抗体はヒトI型IFN受容体に対するものである。

本発明はしたがってI型IFNの異常産生に伴う症状の治療に有用な製剤組成物の調製のためのモノクローナル抗体の使用に関する。これらのモノクローナル抗体は診断試薬の調

50

製にも適している。

本発明のモノクローナル抗体はヒト I 型インターフェロン受容体 (IFN-R) に対するものであり、以下の：

- －ヒト IFN-R の細胞外ドメインを認識し、
 - －ヒト I 型 IFN の生物学的特性に対する中和能力を有する
- という特性を特徴とする。

【0008】

I 型 IFN の生物学的特性を中和する能力は、I 型 IFN の抗ウイルス活性を中和するモノクローナル抗体の能力の関数として概算し得る。このような試験は、検定される抗体が本発明の範囲内に含まれるか否かを確定するためには意味があるが、しかし I 型 IFN の生物学的特性がその抗ウイルス特性に限定されるわけではないことは明らかである。抗ウイルス活性についてのこのような試験を実施できるようにするために、詳細な手順を実施例に示す。試験する細胞は有益には、I 型 IFN に対する親和性が十分公知の Daudi 細胞である。このような試験の主要工程は以下の：

- － 確定濃度のヒト I 型 IFN に反応するヒト細胞を、検定される確定濃度のモノクローナル抗体の存在下でヒト I 型 IFN を用いて、モノクローナル抗体とヒト細胞の IFN-R との間、及び／又は I 型 IFN とヒト細胞の IFN-R との間に複合体を生成させるのに十分な時間インキュベートし；
- － インキュベート化細胞を確定濃度の確定ウイルスに感染させ；
- － 細胞を洗浄し；
- － 細胞を培地中に再懸濁し；
- － ウイルスを複製させるのに十分な時間インキュベートし；
- － 細胞を溶解し；
- － ウイルス複製を測定するか又は細胞変性作用の阻止を測定する

工程から成る。

【0009】

ヒト I 型 IFN の生物学的特性を中和する本発明のモノクローナル抗体の能力は、使用する抗体容量の関数として調節し得る。したがって、生物学的特性の 100% 阻害又は部分阻害が得られる。

本発明の別の態様によれば、ヒト I 型 IFN 受容体に対するモノクローナル抗体はさらに、それらがヒト I 型 IFN のヒト IFN-R との結合を阻止し得るという事実を特徴とする。

【0010】

ヒト IFN-R の細胞外ドメインを認識する能力を有する、そしてヒト I 型 IFN のその受容体との結合を阻止し得るモノクローナル抗体は、以下の：

- － IFN-R を保有できるヒトを用いて確定濃度の精製モノクローナル抗体又は検定されるモノクローナル抗体を含有するハイブリドーマ培養上清を予インキュベートし；
- － 標識化ヒト I 型 IFN を確定濃度で上記予インキュベーション中培地に加え；
- － ヒト細胞、モノクローナル抗体及び標識化 I 型 IFN を含有する培地を細胞性 IFN-R を用いて一方ではモノクローナル抗体と他方では I 型 IFN との間に平衡を生じさせるのに十分な時間インキュベートし；
- － 細胞を洗浄し；
- － 付着標識化 I 型 IFN の量を計数することによりヒト細胞と標識化 I 型 IFN との間の結合複合体の生成を確定する

工程により選択し得る。

【0011】

本発明のいくつかのモノクローナル抗体は、ヒト I 型 IFN の抗増殖特性を中和する能力をも有する。この特性は、Daudi 細胞で以下の：

- － ヒト IFN の存在下で、且つ確定濃度の mAb の存在下で細胞を増殖させ；
- － ヒト I 型 IFN の抗増殖作用の阻止を検出するために細胞を計数する

工程を実行することにより検定し得る。

10

20

30

40

50

【0012】

本発明のモノクローナル抗体の一特性は、ヒト IFN受容体の細胞外ドメインを認識するその能力にある。モノクローナル抗体のこの特性は天然ヒト受容体を保有するヒト細胞で検定し得るが、しかし原核細胞、例えば大腸菌で発現されるような組換え体 IFN-R又は哺乳類細胞、例えば CHO細胞のような真核細胞で発現されるような組換え体 IFN-Rの細胞外ドメインでも検定し得る。

【0013】

この受容体は実際、それが原核又は真核細胞中に産生されるという事実によって、したがって翻訳後成熟が起きるか又は起きないという事実によって異なる特性を示し得る。本発明人はおもしろいことに、本発明のモノクローナル抗体の能力を評価するための、即ち細胞性 IFN-Rを認識するための関連した検定を哺乳類細胞で発現される組換え体受容体で実施し得るということを示した。実際、このような組換え体受容体は、その認識活性に関するかぎり、細胞性受容体と同様の特性を有する。

【0014】

本発明のモノクローナル抗体は、完全受容体、図4～5に示す受容体のアミノ酸配列を特徴とする特定のドメイン又はペプチドを含めた種々の形態の受容体に対して得られる。

本発明のモノクローナル抗体は、例えば可溶性形態の受容体に対して調製し得る。可溶性形態の IFN-Rに対する水溶性ポリペプチドを図2に説明する。本発明によれば、可溶性形態の IFN-Rは身体中を循環し得るペプチド又はポリペプチドに相応する。

【0015】

本発明の他のモノクローナル抗体は、図2～3に説明したような受容体の細胞外ドメインに含まれるペプチドに対して調製してもよい。有益なペプチドは、例えばアミノ酸1とアミノ酸229との間を構成するアミノ酸配列に相応する。本発明の別の態様によれば、IFN-Rの非修飾化細胞外ドメインに対する抗体が修飾ポリペプチド又はペプチドを認識するとすれば、抗体は1つ又はそれ以上のアミノ酸の置換により修飾されるポリペプチドに対して調製し得る。

【0016】

本発明の好ましいモノクローナル抗体は、IgG1型のものである。

本発明の抗体のうち、I型 IFNのその受容体との結合を阻止する能力を有する抗体は、100 μ g/ml以下、好ましくは50 μ g/ml以下、有益には20 μ g/ml以下、さらに好ましくは約 0.5～2 μ g/mlの抗体濃度でhu-IFN-Rを有する細胞と同時インキュベートされる場合、好ましくはヒト I型 IFNのヒト細胞性 IFN-Rとの結合をin vitro で阻止することを特徴とする。

本発明者は、モノクローナル抗体の高親和性結合能力が、この抗体がヒト I型 IFNの IFN-Rとの結合活性を阻害し得ることを保証するには十分でないことを示している。にもかかわらず、I型 IFNのその細胞性受容体との結合を阻止する抗体の能力をさらに調べるためには、モノクローナル抗体の高親和性結合能力が必要である。

別のモノクローナル抗体は、それが1～10 μ g/mlの範囲の濃度で、このヒト I型 IFNに高度に反応する細胞、例えば Daudi細胞におけるヒト I型 IFNの抗増殖活性をin vitro で中和することを特徴とする。

別の態様によれば、モノクローナル抗体はさらに、ヒト I型 IFNの抗増殖活性をこのヒト I型 IFNにあまり反応しない細胞、例えばLy28細胞上で50～100 μ g/mlの範囲の濃度でin vitroに中和することを特徴とする。

【0017】

本発明のモノクローナル抗体の特定の群は、ヒト I型 IFNの抗ウイルス活性を、このヒト I型 IFNに高度に反応する細胞、例えば Daudi 細胞において、国際標準 MRC69/19に関して1～1000単位の範囲の I型 IFNの濃度に対して1～50 μ g/ml、好ましくは1～20 μ g/mlの範囲の濃度で、in vitroに中和することを特徴とする。

有益には、本発明のモノクローナル抗体は、これらの抗体が IFN γ に対するヒト受容体と結合しないものである。

10

20

30

40

50

本発明の要件を満たすある特定の抗体は、図2に示すように、それがヒトIFN-Rの細胞外ドメインのアミノ酸27とアミノ酸427との間を構成するアミノ酸配列上のエピトープに対して向けられるようなものである。

【0018】

本発明の特に興味深い一モノクローナル抗体は、n°92022605の下に1992年2月26日にECACC (European Collection of Animal Cell Cultures Porton Down Salisbury, Wiltshire SP4 056, United Kingdom)に寄託された64G12と呼ばれる抗体である。

これらの抗体は、抗体が生成される抗原がIFN-Rの細胞外ドメインあるいはこのドメインのあらゆるポリペプチド又はペプチドで構成されるような条件で、骨髄腫細胞とペプチド抗原で予め免疫化した動物の脾臓細胞との融合によるハイブリドーマ細胞の調製を包含する慣用的方法により調製し得る。 10

ハイブリドーマは、KohlerとMilstein (Nature, 1974, 256 : 495-497)のプロトコールに従って構築する。例えば、ハイブリドーマは、上記の脾臓細胞と骨髄腫細胞としてNS1マウス (BalbC)HGPRTとの融合から得られる。

【0019】

本発明のモノクローナル抗体の産生のための第二の手法は、Epstein/Barrウイルスで不滅化した血液のB細胞と、モノクローナル抗体を生成することを決定するIFN-Rの細胞外ドメイン又はその断片に予め接触させておいたヒトB型リンパ球との間の融合を実行することから成る。モノクローナル抗体を生成することを決定するIFN-Rの細胞外ドメイン又はその断片に予め接触させておいたB細胞は、抗原に接触させたin vitro培養により得られ、1回又は何サイクルかの刺激の後にこれらの抗原にコートされたB細胞の回収がなされる。 20

したがって本発明は、上記の特性を有する上記の手法を実行することにより得られるようなヒト抗体に関する。

本発明はさらに、そのH及び／又はL鎖の可変部又は相補的決定領域がヒト抗体のフレームワーク又は不変部に移植されることを特徴とするモノクローナル抗体を提供することを目的とする。

本発明はさらに、上記のようなモノクローナル抗体を含有することを特徴とするヒトI型IFNの生物学的特性に対する拮抗剤特性を有する組成物を提供する。

したがって、本発明は、上記のようなモノクローナル抗体を適切な製剤ビヒクルとともに含有することを特徴とする製剤組成物を提供する。 30

【0020】

本発明はさらに、I型IFNの過剰産生に伴う病的状態及び症状の治療又は予防のための薬剤の製造のための上記のモノクローナル抗体の使用に関する。

第一の実施例によれば、抗体は同種移植片拒否反応の治療のために製剤組成物中に用い得る。

別の実施例によれば、本発明の抗体は自己免疫及び炎症性疾患の治療のための製剤組成物中の活性成分として用いられる。このような疾患の例としては、全身性エリテマトーデス、1型糖尿病、乾癬、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、ベーチェット病、再生不良性貧血、後天性免疫不全症候群 (AIDS) 及び重傷複合型免疫不全が挙げられる。 40

急性ウイルス疾患の治療も本発明の抗体を用いて実施し得る。上気道感染の例として、麻疹ウイルスによるもののような慢性ウイルス感染が挙げられる。

本発明の抗体は、ヒトI型IFN受容体又は細胞の存在のin vitro診断にも用い得る。

以下の実施例及び図の説明により本発明をさらに詳細に説明する。

【実施例】

【0021】

実施例1：

可溶性受容体の合成

大腸菌における合成

5個のヒスチジル残基をコードするエキストラシーケンスが終止コドン直前に導入され 50

たヒト IFN-Rの細胞外ドメイン（アミノ酸27～427）をコードする配列を含有する DNAの断片（図2～3）を、発現ベクターPkk233-2中でクローン化した。ポリメラーゼ鎖反応(PCR)によりこの断片を生成し、その結果生じたプラスミドをシーケンシングしてShine-Dalgarno配列によるインフレーム挿入及び受容体をコードする適切な配列を確証した。

【0022】

組換え体蛋白質に導入されるポリヒスチジル尾部は、前に記載されているように（Hochuli E. et al, Bio/technology, 1988, 1321-1325）、キレート化ニッケル支持体(NTAカラム)上でのアフィニティークロマトグラフィーにより迅速にそれを精製させる。

プラスミドを大腸菌 JM105株に導入し、培地にIPTGをふかして蛋白質合成を誘発した（pKK233-2, tac プロモーター）。

10

細菌ペレットから蛋白質を抽出し、後述のようなアフィニティークロマトグラフィーにより可溶性受容体を均質に精製した。この手法は、還元条件下で 50kDa辺りに2つの帯として、そして非還元条件下では3つの帯として移動する蛋白質を生成した。異なる手法により得られた蛋白質の最大濃度は約20 μ g/mlであった。

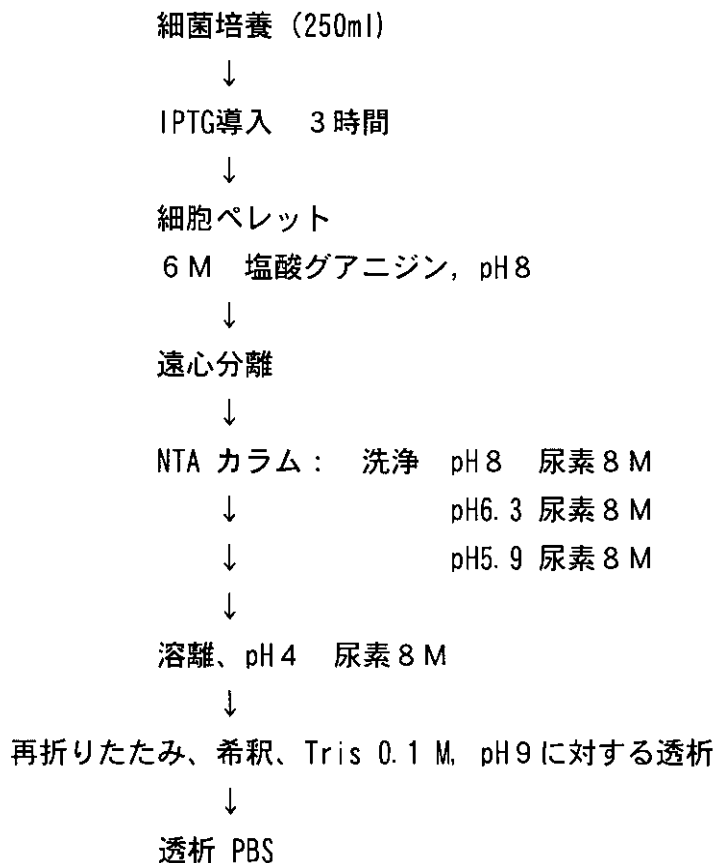
ゲル電気泳動により検出された2つの蛋白質のN末端配列は、両蛋白質が受容体の予測断片であることを示した。

【0023】

【表1】

非グリコシル化可溶性受容体の合成及び精製：

20



30

40

【0024】

同一 PCRアプローチを用いて、我々は、発現ベクターpXMTに挿入されたC末端に付加的5-ヒスチジル残基を有する IFN-Rアミノ酸配列1～427 をコードする発現ベクターをも構築した。挿入物の正確なヌクレオチド配列も確証した。

【0025】

50

その結果生じたプラスミドを一過性発現のために電気穿孔によりCos 7細胞に導入し、アフィニティークロマトグラフィーにより、その後後述するようなモノQ (Pharmacia) 上でのイオン交換クロマトグラフィーにより組換え体蛋白質を精製して均質にした。

【0026】

【表2】

Cos 7からの可溶性 IFN-Rの精製

Cos 細胞の予備的電気穿孔

↓ 18時間

↓

血清無含有培地

↓

48, 72, 96時間後に採取した上清

↓

濃縮

↓

NTA カラム

↓

↓ 洗浄 PBS

溶離 0.1 M NaOAc pH 5.5

↓

↓ 中和

濃縮 30,000 切り離し

↓

モノQ (0~0.5 M NaCl)

10

20

30

【0027】

この精製により、N末端配列がリーダー配列のプロセッシングにおいて何らかの異質を伴う予測受容体配列に相応する 76kDa蛋白質が生じた。

【0028】

実施例2:

I型インターフェロン受容体に対するモノクローナル抗体の産生

1) モノクローナル抗体の産生

大腸菌から又はCos 7細胞の培養上清から精製した組換え体可溶性インターフェロン (r sIFN-R) の注入によりマウスを免疫化した。先ずマウスに完全フロイントアジュバントに溶解した精製蛋白質を腹腔内及び皮下注射した。次いで、緩衝食塩溶液で希釈した精製蛋白質をマウスに週1回腹腔内注射した。組換え体蛋白質10 μ gを毎回注射した。

4回目の注射の後、血液を採取し、特異的血清抗体の存在を組換え体受容体に対するELISA及びウエスタンブロットにより調べた。次に最も強い反応体を計10 μ gの抗体で二次免疫注射して、その半分を静脈内にそして半分を腹腔内に注入した。

【0029】

2) 細胞融合

追加免疫後4日目に、免疫化動物からの脾臓細胞を採取し、S. Fazekas 等 (J. Immuno

40

50

1. Methods 35 : 1-32, 1980)が記載の方法に従ってNS1 (マウス)(Balbc) HGPRT骨髓腫細胞と融合させた。手短に言えば、 5×10^7 個の脾臓細胞をポリエチレングリコール溶液 1 mlに溶解した 3×10^7 個の骨髓腫細胞と融合させて、HAT (ヒポキサンチン、アミノプロテイン及びチミジン) 中の腹膜マクロファージ支持細胞層上の5つの96ウェルプレート中に分布させた。この手順を4回繰り返して、免疫化マウスから 20×10^7 個の脾臓細胞を得た。大型コロニーが培養ウェル中に検出された場合は、特異的ハイブリドーマに対するスクリーニングを試みた。

【0030】

スクリーニングのためには、特異的抗体の存在を直接 ELISA法により測定した：

a) ELISA プレートを PBSに希釈した精製大腸菌発現性又はCos 7 発現性sIFN-Rを用いて4℃で一夜コーティングした。BSAでコーティングしたプレートを用いて非特異的結合を検出した。

10

b) PBS に溶解した3% BSAを用いて37℃で1時間インキュベートすることによりプレートを飽和させた。

c) PBS-0.05% Tween 20 を用いて4対1に希釈したハイブリドーマ上清を用いて室温で4時間プレートをインキュベートした。

d) 先ずヤギ抗マウスビオチニル化イムノグロブリンを用いて、その後ストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ複合体 (両方ともにAmershamより入手。PBS-0.05% Tween 20 で1/1000に希釈) を用いてインキュベートすることから成る2工程手法により結合抗体を検出した。

20

陽性抗体分泌ハイブリドーマを脾臓細胞支持細胞層上で24ウェルプレート中で継代接種して、それらの反応性を ELISA及びウエスタンブロットで再び点検した。

【0031】

3) 天然I型インターフェロン受容体に対する反応性の同定組換え体sIFN-Rを認識するモノクローナル抗体 (mAbs) の反応性を、膜蛍光抗体法により Daudi細胞の表面に発現される天然I種受容体に対して調べた。手短に言えば、 5×10^5 個の Daudi細胞を選択したハイブリドーマの培養上清 100 μ l 中で4℃で30分インキュベートした。次に1% BSAを含有するRPMI培地中で細胞を4回洗浄し、希釈FITC標識化ヤギ抗マウスF(ab')₂を用いて4℃で30分間さらにインキュベートした。洗浄後、流動細胞計測法により細胞を最後に分析した。大腸菌組換え体受容体に対して産生された35の試験抗体のうちの1つ、並びに Cos組換え体受容体に対して産生された6つの試験抗体のうち5つは、Daudi細胞上の天然受容体を認識することが判明した。

30

次に、希釈を限定することにより、これらのハイブリドーマのクローニングを実行した。イソタイプ特異的抗体を用いた ELISA法により、これらのmAbsのイソタイプを確定した。6つのmAbsのすべてがカップラーL鎖を有する IgG1であることが分かった。これら6つのmAbsの反応性の要約を表1に示す。

モノクローナル抗体は蛋白質Gクロマトグラフィーにより培養上清から精製した。

【0032】

【表 3】

表 1 :

抗 IFN-Rモノクローナル抗体の反応性

組換え体受容体に対する反応性			細胞性受容体に対する反応性		
大腸菌			Cos		
ELISA	ウエスタン		ELISA	ウエスタン	蛍光抗体法
34F10	+	+	+	+	+
64G12	+	+	+	+	+
63F6					
64G2	-	-	+	+	+
64D10					
65D8					

*Daudi 細胞に関して測定。

10

20

【0033】

実施例 3 :

インターフェロンのヒト細胞株との結合の阻止

ヒト細胞と結合するインターフェロンの阻害を以下のように検定した。10⁶ 個の細胞を、ハイブリドーマ培養上清又は精製 mAbs の種々の希釈液を用いて、又は培地のみを用いて 4℃で30分予インキュベートした。¹²⁵I 標識化 IFNアルファ 8 又はアルファ 2 を 100pM の濃度で加えて、細胞を 4℃でさらに 2 時間インキュベートした。これらのインキュベーションは、20mM HEPES, pH7.4 及び10%ウシ胎仔血清(FCS) を含有するRPMI培地中で実施した。最後に細胞をRPMI-1% FCSで4回洗浄し、計数して結合放射能を確定した。

30

ハイブリドーマ 64G12株が分泌したmAb (mAb 64G12) は、用量依存的に標識化 IFNの細胞との結合を阻止することが本検定において示された。Daudi細胞との結合の50%阻止 (Burkitt リンパ腫細胞; Klein et al., Cancer Research, 28 : 1300-1310, 1968)は、0.4μg/mlの mAb濃度で得られた。同一の阻止はK562 細胞で得られた (慢性骨髄性白血病, Lozzio and Lozzio, Cell, 45 : 321-334, 1975)が、しかし50%阻止はHL60細胞 (前骨髄細胞性白血病, Collins S.J. et al., Nature, 270 : 347-349, 1977) に関して11μg/mlで、Ly28細胞 (Klein G. et al., Int. J. Cancer, 10 : 44-57, 1972) に関しては60μg/mlで得られた。

【0034】

40

【表 4】

表 2 :

mAb 64G12 による標識化 IFNアルファ 2 の種々の細胞株との結合阻止

細胞株	結合の50%阻止を生じる mAbの濃度
Daudi	0.4 μ g/ml
K562	
HL60	11 μ g/ml
Hy28	60 μ g/ml

10

【0035】

¹²⁵I 標識化 mAb 64G12 及び 34F10の同一細胞株との直接結合、並びにその結果のスキヤッチャードプロット分析により、IFNの結合の50%阻止が得られる mAb濃度の差異を直接調べた。0.1~1.5 μ g/mlの濃度範囲では、mAb 34F10 の高親和性結合が全細胞株で観察されたが、一方mAb 64G12 の高親和性結合は Daudi細胞及び K562 細胞で検出された

20

【0036】

実施例 4 :

I 型インターフェロンの機能の阻止

組換え体 IFNアルファ 2、IFNベータ及び IFNオメガ、又は精製 Namalwa及び白血球インターフェロンを用いた Daudi細胞に関する抗ウイルス検定で、そして組換え体 IFNアルファを用いた抗増殖検定で、精製mAb 64G12 による I 型インターフェロンの機能的阻止を立証した。

【0037】

*抗ウイルス活性

記載 (M. Dron and M.G. Tovey, J. Gen. Virol. 64 : 2641-2647,1983) 通りに Daudi細胞での抗ウイルス検定を実行した。細胞 (0.5×10^6 /ml) をインターフェロン及び抗体の存在下で24時間インキュベートした。次に1ml中 10^6 個の細胞を水疱性口内炎ウイルス (VSV) に37℃で1時間感染させた後、3回洗浄して、培地に再懸濁し、37℃で18時間インキュベートした。次に凍結融解により細胞を溶解させて、L929 細胞での上清の滴定によりウイルス複製を測定した。I 型 IFNの種々の垂型の抗ウイルス活性の用量依存性阻止を、精製mAb 64G12 に関して立証した。

30

Wish細胞を用いた抗ウイルス検定に関しては、mAbの存在下で種々の濃度のインターフェロンを用いて細胞を24時間インキュベートした後、VSVで試験した。この検定では、mAb 64G12 は白血球 IFN (50U/ml)、組換え体 IFNアルファ 2 (50U/ml) 及びAIDS患者の血清からのインターフェロン (50, 75及び 150U/ml) の抗ウイルス活性を完全に遮断することが立証された。

40

【0038】

*抗増殖活性

抗増殖検定に関しては、インターフェロン及び精製阻止又は制御抗体の存在下で96ウェルプレート中の1ml当り細胞 10^5 個という濃度で Daudi細胞を植えた。次いで、24, 48及び72時間後に Coulter計数器を用いて細胞を計数し、トリパンブルー排除試験により生存能力を点検した。精製mAb 64G12 は、インターフェロンアルファ 2 の抗増殖活性の用量依存性阻止を立証した。

【図面の簡単な説明】

50

【0039】

【図1】¹²⁶I 標識化モノクローナル抗体 34F10及び 64G12の下記のものと結合： —

A：Daudi 細胞 — B：Ly28細胞。 手短に言えば、 10^6 個の細胞を10%ウシ胎仔血清(FCS)を含有するRPMI培地中に希釈した種々の量の標識化抗体の存在下で4℃で2時間インキュベートした。次に細胞をRPMI-1% FCSで4回洗浄し、結合放射能を計数した。100倍過剰の冷却抗体を用いてインキュベートし、総計数から消去することにより非特異的結合を測定した。

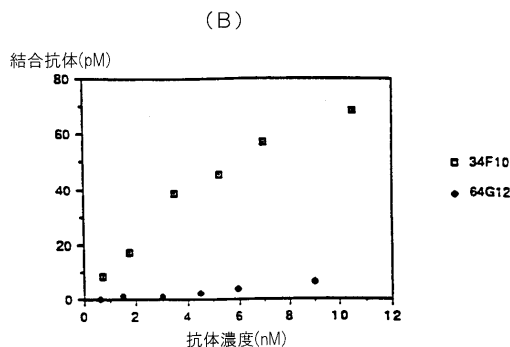
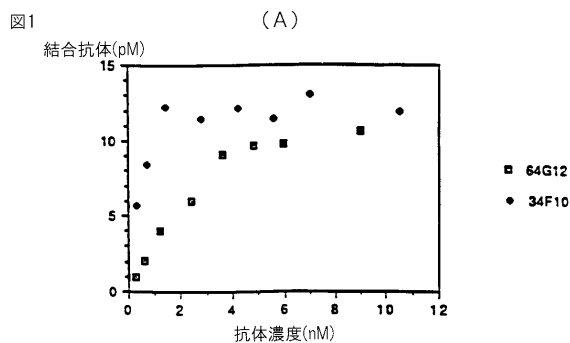
【図2】ヒト IFN-Rの細胞外ドメインのヌクレオチド及び対応するアミノ酸配列。モノクローナル抗体は、原核細胞（大腸菌）又は哺乳類細胞系（Cos 細胞）で合成されるヒトインターフェロン α - β 受容体の組換え対可溶性形態に対して産生された。これらの可溶性形態は、図2に記載した DNA配列を基礎にしていた。 10

【図3】図2の続き。

【図4】ヒト IFN-Rのヌクレオチド及び対応するアミノ酸配列。

【図5】図4の続き。

【図1】



【図2】

図2

CTGCAGGCGATTTGCGGGGCGTCCAC

ATG ATG GTC GTC CTC CTG GCG GCG ACG ACC CTA GTG CTC GTC GCC GTG GGC CCA
Met Met Val Val Leu Leu Gly Ala Thr Thr Leu Val Leu Val Ala Val Gly Pro

TGG GTG TTG TCC GCA GCC GCA GGT GGA AAA AAT CTA AAA TCT CCT CAA AAA GTA
Trp Val Leu Ser Ala Ala Ala Gly Gly Lys Asn Leu Lys Ser Pro Gln Lys Val

GAG GTC GAC ATC ATA GAT GAC AAC TTT ATC CTG AGG TGG AAC AGG AGC GAT GAG
Glu Val Asp Ile Ile Asp Asp Asn Phe Ile Leu Arg Trp Asn Arg Ser Asp Glu

TCT GTC GGG AAT GTG ACT TTT TCA TTC GAT TAT CAA AAA ACT GGG ATG GAT AAT
Ser Val Gly Asn Val Thr Phe Ser Phe Asp Tyr Gln Lys Thr Gly Met Asp Asn

TGG ATA AAA TTG TCT GGG TGT CAG AAT ATT ACT AGT ACC AAA TGC AAC TTT TCT
Trp Ile Lys Leu Ser Gly Cys Gln Asn Ile Thr Ser Thr Lys Cys Asn Phe Ser

TCA CTC AAG CTG AAT GTT TAT GAA GAA ATT AAA TTG CGT ATA AGA GCA GAA AAA
Ser Leu Lys Leu Asn Val Tyr Glu Glu Ile Lys Leu Arg Ile Arg Ala Glu Lys

GAA AAC ACT TCT TCA TGG TAT GAG GTT GAC TCA TTT ACA CCA TTT CGC AAA GCT
Glu Asn Thr Ser Ser Trp Tyr Glu Val Asp Ser Phe Thr Pro Phe Arg Lys Ala

CAG ATT GGT CCT CCA GAA GTA CAT TTA GAA GCT GAA GAT AAG GCA ATA GTG ATA
Gln Ile Gly Pro Pro Glu Val His Leu Glu Ala Glu Asp Lys Ala Ile Val Ile

CAC ATC TCT CCT GGA ACA AAA GAT AGT GTT ATG TGG GCT TTG GAT GGT TTA AGC
His Ile Ser Pro Gly Thr Lys Asp Ser Val Met Trp Ala Leu Asp Gly Leu Ser

TTT ACA TAT AGC TTA CTT ATC TGG AAA AAC TCT TCA GGT GTA GAA GAA AGG ATT
Phe Thr Tyr Ser Leu Leu Ile Trp Lys Asn Ser Ser Gly Val Glu Glu Arg Ile

GAA AAT ATT TAT TCC AGA CAT AAA ATT TAT AAA CTC TCA CCA GAG ACT ACT TAT
Glu Asn Ile Tyr Ser Arg His Lys Ile Tyr Lys Leu Ser Pro Glu Thr Thr Tyr

TGT CTA AAA GTT AAA GCA GCA CTA CTT ACG TCA TGG AAA ATT GGT GTC TAT AGT
Cys Leu Lys Val Lys Ala Ala Leu Leu Thr Ser Trp Lys Ile Gly Val Tyr Ser

CCA GTA CAT TGT ATA AAG ACC ACA GTT GAA AAT GAA CTA CCT CCA CCA GAA AAT
Pro Val His Cys Ile Lys Thr Thr Val Glu Asn Glu Leu Pro Pro Pro Glu Asn

ATA GAA GTC AGT GTC CAA AAT CAG AAC TAT GTT CTT AAA TGG GAT TAT ACA TAT
Ile Glu Val Ser Val Gln Asn Gln Asn Tyr Val Leu Lys Trp Asp Tyr Thr Tyr

GCA AAC ATG ACC TTT CAA GTT CAG TGG CTC CAC GCC TTT TTA AAA AGG AAT CCT
Ala Asn Met Thr Phe Gln Val Gln Trp Leu His Ala Phe Leu Lys Arg Asn Pro

GGA AAC CAT TTG TAT AAA TGG AAA CAA ATA CCT GAC TGT GAA AAT GTC AAA ACT
Gly Asn His Leu Tyr Lys Trp Lys Gln Ile Pro Asp Cys Glu Asn Val Lys Thr

ACC CAG TGT GTC TTT CCT CAA AAC GTT TTC CAA AAA GGA ATT TAC CTT CTC CGC
Thr Gln Cys Val Phe Pro Gln Asn Val Phe Gln Lys Gly Ile Tyr Leu Leu Arg

GTA CAA GCA TCT GAT GGA AAT AAC ACA TCT TTT TGG TCT GAA GAG ATA AAG TTT
Val Gln Ala Ser Asp Gly Asn Asn Thr Ser Phe Trp Ser Glu Glu Ile Lys Phe

GAT ACT GAA ATA CAA GCT TTG CTA CTT CCT CCA GTC TTT AAC ATT AGA TCC CTT
Asp Thr Glu Ile Gln Ala Phe Leu Leu Pro Pro Val Phe Asn Ile Arg Ser Leu

【図 3】

図3

AGT GAT TCA TTC CAT ATC TAT ATC GGT GCT CCA AAA CAG TCT GGA AAC ACG CCT
Ser Asp Ser Phe His Ile Tyr Ile Gly Ala Pro Lys Gln Ser Gly Asn Thr Pro

GTG ATC CAG GAT TAT CCA CTG ATT TAT GAA ATT ATT TTT TGG GAA AAC ACT TCA
Val Ile Gln Asp Tyr Pro Leu Ile Tyr Glu Ile Ile Phe Trp Glu Asn Thr Ser

AAT GCT GAG AGA AAA ATT ATC GAG AAA AAA ACT GAT GTT ACA GTT CCT AAT TTG
Asn Ala Glu Arg Lys Ile Ile Glu Lys Lys Thr Asp Val Thr Val Pro Asn Leu

AAA CCA CTG ACT GTA TAT TGT GTG AAA GCC AGA GCA CAC ACC ATG GAT GAA AAG
Lys Pro Leu Thr Val Tyr Cys Val Lys Ala Arg Ala His Thr Met Asp Glu Lys

CTG AAT AAA AGC AGT GTT TTT AGT GAC GCT GTA TGT GAG AAA ACA AAA CCA GGA
Leu Asn Lys Ser Ser Val Phe Ser Asp Ala Val Cys Glu Lys Thr Lys Pro Gly

AAT ACC TCT AAA TGA GGT ACC
Asn Thr Ser Lys

【図 4】

図4

CTGCAGGCATCTGCTGCGCTCCGAG

ATG ATG GTC GTC CTC CTG GGC GCG ACG ACC CTA GTC GTC GTC GGC GGC CCA
Met Met Val Val Leu Leu Gly Ala Thr Thr Leu Val Leu Val Ala Val Gly Pro

TGG GTG TTG TCC GCA GCC GCA GGT GGA AAA AAT CTA AAA TCT CCT CAA AAA GTA
Trp Val Leu Ser Ala Ala Ala Gly Gly Lys Asn Leu Lys Ser Pro Gln Lys Val

GAG GTC GAC ATC ATA GAT CAC AAC TTT ATC CTG AGG TGG AAC AGG AGC GAT GAG
Glu Val Asp Ile Ile Asp Asp Asn Phe Ile Leu Arg Trp Asn Arg Ser Asp Glu

TCT GTC GGG AAT GTG ACT TTT TCA TTC GAT TAT CAA AAA ACT GGG ATG GAT AAT
Ser Val Gly Asn Val Thr Phe Ser Phe Asp Tyr Gln Lys Thr Gly Met Asp Asn

TGG ATA AAA TTG TCT GGG TGT CAG AAT ATT ACT AGT ACC AAA TGC AAC TTT TCT
Trp Ile Lys Leu Ser Gly Cys Gln Asn Ile Thr Ser Thr Lys Cys Asn Phe Ser

TCA CTC AAG CTG AAT GTT TAT GAA GAA ATT AAA TGT CGT ATA AGA GCA GAA AAA
Ser Leu Lys Leu Asn Val Tyr Glu Glu Ile Lys Leu Arg Ile Arg Ala Glu Lys

GAA AAC ACT TCT TCA TGG TAT GAG GTT GAC TCA TTT ACA CCA TTT CGC AAA GCT
Glu Asn Thr Ser Ser Trp Tyr Glu Val Asp Ser Phe Thr Pro Phe Arg Lys Ala

CAG ATT GGT COT CCA GAA GTA CAT TTA GAA GCT GAA GAT AAG GCA ATA GTG ATA
Gln Ile Gly Pro Pro Glu Val His Leu Glu Ala Glu Asp Lys Ala Ile Val Ile

CAC ATC TCT COT GGA ACA AAA GAT AGT GTT ATG TGG GCT TTG GAT GGT TTA AGC
His Ile Ser Pro Gly Thr Lys Asp Ser Val Met Trp Ala Leu Asp Gly Leu Ser

TTT ACA TAT AGC TTA CTT ATC TGG AAA AAC TCT TCA GGT GTA GAA GAA AGG ATT
Phe Thr Tyr Ser Leu Leu Ile Trp Lys Asn Ser Ser Gly Val Glu Glu Arg Ile

GAA AAT ATT TAT TCC AGA CAT AAA ATT TAT AAA CTC TCA CCA GAG ACT ACT TAT
Glu Asn Ile Tyr Ser Arg His Lys Ile Tyr Lys Leu Ser Pro Glu Thr Thr Tyr

TGT CTA AAA GTT AAA GCA GCA CTA CTT ACG TCA TGG AAA ATT GGT GTC TAT AGT
Cys Leu Lys Val Lys Ala Ala Leu Leu Thr Ser Trp Lys Ile Gly Val Tyr Ser

CCA GTA CAT TGT ATA AAG ACC ACA GTT GAA AAT GAA CTA CCT CCA CCA GAA AAT
Pro Val His Cys Ile Lys Thr Thr Val Glu Asn Glu Leu Pro Pro Pro Glu Asn

ATA GAA CTC AGT GTC CAA AAT CAG AAC TAT GTT CTT AAA TGG GAT TAT ACA TAT
Ile Glu Val Ser Val Gln Asn Gln Asn Tyr Val Leu Lys Trp Asp Tyr Thr Tyr

GCA AAC ATG ACC TTT CAA GTT CAG TGG CTC CAC GCC TTT TTA AAA AGG AAT CCT
Ala Asn Met Thr Phe Gln Val Gln Trp Leu His Ala Phe Leu Lys Arg Asn Pro

GGA AAC CAT TTG TAT AAA TGG AAA CAA ATA CCT GAC TGT GAA AAT GTC AAA ACT
Gly Asn His Leu Tyr Lys Trp Lys Gln Ile Pro Asp Cys Glu Asn Val Lys Thr

ACC CAG TGT GTC TTT CCT CAA AAC GTT TTC CAA AAA GGA ATT TAC CTT CTC CGC
Thr Gln Cys Val Phe Pro Gln Asn Val Phe Gln Lys Gly Ile Tyr Leu Leu Arg

GTA CAA GCA TCT GAT GGA AAT AAC ACA TCT TTT TGG TCT GAA GAG ATA AAG TTT
Val Gln Ala Ser Asp Gly Asn Asn Thr Ser Phe Trp Ser Glu Glu Ile Lys Phe

GAT ACT GAA ATA CAA GCT TTC CTA CTT CCT CCA GTC TTT AAC ATT AGA TCC CTT
Asp Thr Glu Ile Gln Ala Phe Leu Leu Pro Pro Val Phe Asn Ile Arg Ser Leu

【図 5】

図5

AGT GAT TCA TTC CAT ATC TAT ATC GGT GCT CCA AAA CAG TCT GGA APC ACG CCT
Ser Asp Ser Phe His Ile Tyr Ile Gly Ala Pro Lys Gln Ser Gly Asn Thr Pro

GTG ATC CAG GAT TAT CCA CTG ATT TAT GAA ATT ATT TTT TGG GAA AAC ACT TCA
Val Ile Gln Asp Tyr Pro Leu Ile Tyr Glu Ile Ile Phe Trp Glu Asn Thr Ser

AAT GCT GAG AGA AAA ATT ATC GAG AAA AAA ACT GAT GTT ACA GTT CCT AAT TTG
Asn Ala Glu Arg Lys Ile Ile Glu Lys Lys Thr Asp Val Thr Val Pro Asn Leu

AAA CCA CTG ACT GTA TAT TGT GTG AAA GCC AGA GCA CAC ACC ATG GAT GAA AAG
Lys Pro Leu Thr Val Tyr Cys Val Lys Ala Arg Ala His Thr Met Asp Glu Lys

CTG AAT AAA AGC AGT GTT TTT AGT GAC GCT GTA TGT GAG AAA ACA AAA CCA GGA
Leu Asn Lys Ser Ser Val Phe Ser Asp Ala Val Cys Glu Lys Thr Lys Pro Gly

AAT ACC TCT AAA ATT TGG CTT ATA GTT GGA ATT TGT ATT GCA TTA TTT GCT CTC
Asn Thr Ser Lys Ile Trp Leu Ile Val Gly Ile Cys Ile Ala Leu Phe Ala Leu

CCG TTT GTC ATT TAT GCT GCG AAA GTC TTC TTG AGA TGC ATC AAT TAT GTC TTC
Pro Phe Val Ile Tyr Ala Ala Lys Val Phe Leu Arg Cys Ile Asn Tyr Val Phe

TTT CCA TCA CTT AAA CCT TCT TCC AGT ATA GAT GAG TAT TTC TCT GAA CAG CCA
Phe Pro Ser Leu Lys Pro Ser Ser Ser Ile Asp Glu Tyr Phe Ser Glu Gln Pro

TTG AAG AAT CTT CTG CTT TCA ACT TCT GAG GAA CAA ATC GAA AAA TGT TTC ATA
Leu Lys Asn Leu Leu Leu Ser Thr Ser Glu Glu Gln Ile Glu Lys Cys Phe Ile

ATT GAA AAT ATA AGC ACA ATT GCT ACA GTA GAA GAA ACT AAT CAA ACT GAT GAA
Ile Glu Asn Ile Ser Thr Ile Ala Thr Val Glu Glu Thr Asn Gln Thr Asp Glu

GAT CAT AAA AAA TAC AGT TCC CAA ACT AGC CAA GAT TCA GGA AAT TAT TCT AAT
Asp His Lys Lys Tyr Ser Ser Gln Thr Ser Gln Asp Ser Gly Asn Tyr Ser Asn

GAA GAT GAA AGC GAA AGT AAA ACA AGT GAA GAA CTA CAG CAG GAC TTT GTA TGA
Glu Asp Glu Ser Glu Ser Lys Thr Ser Glu Glu Leu Gln Asp Phe Val

CCACGAAATGAACCTGTCTCAAGTATAGGTTTTTCAGCAGGAGTTACACTGGTACC

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)		A 6 1 K 39/395		N
A 6 1 P 29/00 (2006.01)		A 6 1 P 29/00		
A 6 1 P 37/06 (2006.01)		A 6 1 P 37/06		
A 6 1 P 35/00 (2006.01)		A 6 1 P 35/00		
A 6 1 P 31/12 (2006.01)		A 6 1 P 31/12		

(74)代理人 100081330

弁理士 樋口 外治

(72)発明者 ベノワ, パトリック

フランス国, エフー 7 5 0 1 4 パリ, リュ ジョンキュオイ, 2 4

(72)発明者 メイエール, フランソワ

フランス国, エフー 7 5 0 0 5 パリ, スケル アダンソン, 1 4

(72)発明者 マギール, デボラ

フランス国, エフー 7 5 0 0 5 パリ, リュ メートルーアルベール, 2 4

(72)発明者 プラベク, イバン

フランス国, エフー 9 2 2 6 0 フレスネ, アレウ デュ カピテーヌーデュポン, 1

(72)発明者 トーベイ, ミシェル ジェ.

フランス国, エフー 7 5 0 0 5 パリ, リュ デクアトレファジュ, 6

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA44 CA02 DA02 DA06 EA04 GA05 GA11 HA03 HA17

4B064 AG27 CA10 CA20 CE12 DA01 DA08

4B065 AA92X AB05 AC14 BA08 BD14 CA44

4C085 AA14 BB36 CC23

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA50 DA76 EA22 EA28 FA72

GA26

专利名称(译)	抗干扰素受体的单克隆抗体具有针对I型干扰素的中和活性		
公开(公告)号	JP2006089494A	公开(公告)日	2006-04-06
申请号	JP2005311761	申请日	2005-10-26
[标]申请(专利权)人(译)	Meddis认为国际最高玫瑰纳摩奋笔记本闭嘴		
申请(专利权)人(译)	Meddis认为国际最高奋Namuroze笔记本闭嘴		
[标]发明人	ベノワパトリック メイエルフランソワ マギールデボラ プラベクイバン トーベイミシエルジェ		
发明人	ベノワ,パトリック メイエル,フランソワ マギール,デボラ プラベク,イバン トーベイ,ミシエル ジェ.		
IPC分类号	C07K16/28 C12N15/09 C12P21/08 C12N5/10 C12N15/02 A61K39/395 A61P29/00 A61P37/06 A61P35/00 A61P31/12 G01N33/53 A61K38/00 A61K39/00 A61K39/42 C07K14/52 C07K14/555 C07K14/56 C07K14/565 C07K14/705 C07K14/715 C07K16/00 C07K16/24 C12N5/20 C12N15/06 G01N33/577		
CPC分类号	A61K38/00 A61K39/00 A61P11/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/12 A61P35/00 C07K14/715 C07K14/7156 C07K16/2866 C07K2317/76		
FI分类号	C07K16/28.ZNA C12N15/00.A C12P21/08 C12N5/00.B C12N15/00.C A61K39/395.N A61P29/00 A61P37/06 A61P35/00 A61P31/12 C12N5/00.102 C12N5/20		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA44 4B024/CA02 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA04 4B024/GA05 4B024/GA11 4B024/HA03 4B024/HA17 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CE12 4B064/DA01 4B064/DA08 4B065/AA92X 4B065/AB05 4B065/AC14 4B065/BA08 4B065/BD14 4B065/CA44 4C085/AA14 4C085/BB36 4C085/CC23 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/EA22 4H045/EA28 4H045/FA72 4H045/GA26		
代理人(译)	石田 敬 西山雅也		
优先权	1992400902 1992-03-31 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

需要解决的问题：提供有效治疗自身免疫性疾病和炎症性疾病的单克隆抗体。 解决方案：本发明涉及人I型干扰素受体（下文称为“人I型干扰素受体”），其特征在于以下特征：它识别人IFN-R的细胞外结构域并具有中和人I型IFN的生物学特性的能力。对抗针对身体的单克隆抗体（IFN-R）。【选择图】无

抗-IFN-Rモノクローナル抗体の反応性

組換え体受容体に対する反応性 細胞性受容体に対する反応性

	大腸菌		Cos		蛍光抗体法
	ELISA	ウェスタン	ELISA	ウェスタン	
34F10	+	+	+	+	+
64G12	+	+	+	+	+
63F6					
64G2	-	-	+	+	+
64D10					
65D8					

*Daudi 細胞に関して測定。