

(19) 日本国特許庁(JP)

**再公表特許(A1)**

(11) 国際公開番号

**WO2006/008886**

発行日 平成20年5月1日(2008.5.1)

(43) 国際公開日 **平成18年1月26日(2006.1.26)**

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C12N 15/09 (2006.01)</b>	C12N 15/00 ZNAA	4B024
<b>C12N 5/10 (2006.01)</b>	C12N 5/00 A	4B063
<b>C12N 5/06 (2006.01)</b>	C12N 5/00 B	4B064
<b>C12P 21/00 (2006.01)</b>	C12N 5/00 E	4B065
<b>C12P 21/08 (2006.01)</b>	C12P 21/00 C	4C084
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求		(全 59 頁) 最終頁に続く

出願番号	特願2006-528454 (P2006-528454)	(71) 出願人	507206192 SBIバイオテック株式会社
(21) 国際出願番号	PCT/JP2005/010561		東京都港区白金台4-7-4 白金台STビル8階
(22) 国際出願日	平成17年6月9日(2005.6.9)	(74) 代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(31) 優先権主張番号	特願2004-173767 (P2004-173767)	(74) 代理人	100128048 弁理士 新見 浩一
(32) 優先日	平成16年6月11日(2004.6.11)	(72) 発明者	大川 淳 埼玉県草加市新栄町545 メルベーク3 02号
(33) 優先権主張国	日本国(JP)	(72) 発明者	鴨川 由美子 東京都渋谷区神泉町25-8-703
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 インターフェロン産生細胞の活性調節剤

## (57) 【要約】

BST2および/またはそのホモログに結合する抗体を有効成分とするインターフェロン産生細胞(IPC)の活性調節剤、あるいはこの抗体を利用するIPCの活性調節方法が提供された。本発明によって、IPCのインターフェロン(IFN)の産生能、並びに細胞数を直接制御することができる。また本発明は、BST2および/またはそのホモログの、IPC活性化マーカーとしての用途を提供する。IPC活性化マーカーによって、IPCの活性化を調節する化合物をスクリーニングすることができる。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体を有効成分として含有するインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

## 【請求項 2】

インターフェロン産生細胞の活性が、インターフェロン産生活性およびインターフェロン産生細胞の生存のいずれか、または両方である請求項 1 に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

## 【請求項 3】

インターフェロン産生細胞の活性が、インターフェロン産生活性であり、かつインターフェロンがタイプ 1 インターフェロンである請求項 2 に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。 10

## 【請求項 4】

BST2およびそのホモログが、配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質である請求項 1 に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

## 【請求項 5】

配列番号：4 に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質を認識する抗体を有効成分として含有する、請求項 4 に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

## 【請求項 6】

配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6 に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質の全てを認識する抗体を有効成分として含有する、請求項 4 に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。 20

## 【請求項 7】

BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体をインターフェロン産生細胞に接触させる工程を含む、インターフェロン産生細胞の活性抑制方法。

## 【請求項 8】

インターフェロン産生細胞の活性が、インターフェロン産生活性およびインターフェロン産生細胞の生存のいずれか、または両方である請求項 5 に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制方法。 30

## 【請求項 9】

次の工程を含む、インターフェロン産生細胞の活性を抑制する抗体の製造方法。

(1)BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方、もしくはその断片を免疫原として免疫動物に投与する工程

(2)(1)の免疫動物の抗体産生細胞から、BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体を産生する抗体産生細胞を選択する工程、

(3)(2)で選択された抗体産生細胞を培養するか、または当該抗体産生細胞が産生する抗体をコードする遺伝子を単離し、この遺伝子を発現可能に保持する細胞を培養する工程、および

(4)(3)の培養物からインターフェロン産生細胞の活性を抑制する抗体を回収する工程。 40

## 【請求項 10】

免疫原が、ヒトから採取されたインターフェロン産生細胞である請求項 9 に記載の方法。

## 【請求項 11】

次の(a)-(d)のいずれかに記載の指標物質を検出する工程を含む、活性化されたインターフェロン産生細胞の検出方法。

(a)配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列を含むポリヌクレオチド

(b)配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された連続する塩基配列を有するポリヌクレオチド 50

(c)配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質

(d)配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列から選択された連続するアミノ酸配列を有する蛋白質

【請求項12】

次の(a)-(d)のいずれかに記載の指標物質を有する細胞を単離する工程を含む、活性化されたインターフェロン産生細胞の分離方法。

(a)配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列を含むポリヌクレオチド

(b)配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された連続する塩基配列を有するポリヌクレオチド 10

(c)配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質

(d)配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列から選択された連続するアミノ酸配列を有する蛋白質

【請求項13】

配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質を認識する抗体を含む、活性化されたインターフェロン産生細胞検出用試薬。 20

【請求項14】

配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された少なくとも15塩基からなる連続した塩基配列を含むオリゴヌクレオチドを含む、活性化されたインターフェロン産生細胞検出用試薬。

【請求項15】

配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質を認識する抗体を含む、活性化されたインターフェロン産生細胞分離用試薬。

【請求項16】

次の工程を含む、生体のインターフェロン産生細胞の活性化のレベルを測定する方法。 30

(1)生体から採取された試料に含まれるインターフェロン産生細胞における、(a)-(d)のいずれかに記載の指標物質を発現している細胞、およびその発現レベルのいずれかまたは両方を検出する工程、および

(a)配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列を含むポリヌクレオチド

(b)配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された連続する塩基配列を有するポリヌクレオチド

(c)配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質 40

(d)配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列から選択された連続するアミノ酸配列を有する蛋白質

(2)(1)で測定された細胞の数、およびその発現レベルのいずれかまたは両方を、被検者のインターフェロン産生細胞の活性化のレベルに関連付ける工程

【請求項17】

生体から採取された試料が、体液、皮膚、滑膜組織、造血組織、膿、肺胞洗浄液、および血液細胞を含む可能性のある生検組織試料からなる群から選択されるいずれかの試料である請求項16に記載の方法。

【請求項18】

次の工程を含む、被験物質のインターフェロン産生細胞の活性化を調節する作用の検出方 50

法。

(1) インターフェロン産生細胞を被験物質とともに細胞刺激剤と接触させるか、またはインターフェロン産生細胞と被験物質の接触の前、若しくは後に細胞刺激剤と接触させる工程

(2) インターフェロン産生細胞における、(a)–(d)のいずれかに記載の指標物質の発現レベルを測定する工程、および

(a) 配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列を含むポリヌクレオチド

(b) 配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された連続する塩基配列を有するポリヌクレオチド 10

(c) 配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質

(d) 配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列から選択された連続するアミノ酸配列を有する蛋白質

(3) (2)で測定された指標物質の発現レベルを、対照と比較し、発現レベルが対照よりも有意に高い場合に被験物質のインターフェロン産生細胞の活性化を増強する作用が、また対照よりも有意に低い場合には被験物質のインターフェロン産生細胞の活性化を抑制する作用が検出される工程

【請求項 19】

20

細胞刺激剤がウイルス、ウイルスの構成要素、バクテリアのDNA、およびインターフェロンからなる群から選択される少なくとも1つの細胞刺激剤である請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

次の工程を含む、インターフェロン産生細胞の活性化を調節する作用を有する被験物質のスクリーニング方法。

(1) 請求項 18 に記載の方法によって、被験物質のインターフェロン産生細胞の活性化を調節する作用を測定する工程、および

(2) 対照と比較して前記活性化を調節する作用が大きい被験化合物を選択する工程

【請求項 21】

30

請求項 20 に記載の方法によって選択された被験物質を有効成分として含有する、インターフェロン産生細胞の活性を調節するための医薬組成物。

【請求項 22】

配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質を認識する抗体を含む、インターフェロン産生細胞の活性化を調節する作用を検出するための試薬。

【請求項 23】

配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された少なくとも15塩基からなる連続した塩基配列を含むオリゴヌクレオチドを含む、インターフェロン産生細胞の活性化を調節する作用を検出するための試薬。 40

【請求項 24】

次の i)–vi) のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

i) 配列番号：4、または配列番号：6 に記載のアミノ酸配列からなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

ii) 配列番号：3、または配列番号：5 に記載の塩基配列のコード領域を含むポリヌクレオチド；

iii) 配列番号：4、または配列番号：6 に記載のアミノ酸配列において1若しくは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および/または付加したアミノ酸配列を有し、配列番号：2 に記載のアミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等なタンパク質をコードするポリヌ 50

クレオチド；

iv)配列番号：3、または配列番号：5に記載の塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチド；および

v)配列番号：4に記載のアミノ酸配列において、N末端から139～158位のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド

vi)配列番号：6に記載のアミノ酸配列において、N末端から96～100位のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド

【請求項25】

請求項24に記載のポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸配列を含む蛋白質。

【請求項26】

請求項25に記載の蛋白質に対する抗体であって、配列番号：4に記載のアミノ酸配列のN末端から139～158位のアミノ酸配列を含む領域を認識する抗体。

【請求項27】

請求項25に記載の蛋白質に対する抗体であって、配列番号：6に記載のアミノ酸配列のN末端から96～100位のアミノ酸配列を含む領域を認識する抗体。

【請求項28】

モノクローナル抗体である請求項26または請求項27に記載の抗体。

【請求項29】

請求項24に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項30】

請求項24に記載のポリヌクレオチド、またはそのポリヌクレオチドを含むベクターを保持する形質転換細胞。

【請求項31】

請求項30に記載の形質転換細胞を培養し、培養物から請求項25に記載の蛋白質を採取する工程を含む、請求項25に記載の蛋白質の製造方法。

【請求項32】

FERM ABP-10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM ABP-10340として寄託されたハイブリドーマ3G7#6。

【請求項33】

FERM ABP-10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM ABP-10340として寄託されたハイブリドーマ3G7#6が産生するモノクローナル抗体、またはその抗原結合領域を含む断片。

【請求項34】

FERM ABP-10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM ABP-10340として寄託されたハイブリドーマ3G7#6を培養し、培養物に含まれるイムノグロブリンを回収する工程を含む、モノクローナル抗体またはその抗原結合領域を含む断片の製造方法。

【請求項35】

FERM ABP-10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM ABP-10340として寄託されたハイブリドーマ3G7#6が産生するモノクローナル抗体、またはその抗原結合領域を含む断片を有効成分として含有するインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、インターフェロン産生細胞(Interferon producing Cells;IPC)の活性調節剤、ならびに活性調節方法に関する。

【背景技術】

【0002】

インターフェロン $\alpha$  (IFN $\alpha$ 、以下「インターフェロン」をIFNと省略して記載する)、およびインターフェロン $\beta$  (IFN $\beta$ )は、抗ウイルス活性、あるいは抗腫瘍活性を有するtype 1 IFNとして知られている。一方で、IFN $\alpha$ は自己免疫疾患に関連していることも明ら

10

20

30

40

50

かにされている。たとえば、以下のような自己免疫疾患患者においてIFN $\alpha$ の異常産生が報告されている。そしてIFN $\alpha$ の中和によって自己免疫症状が緩和される可能性も示唆されている。

全身性エリテマトーデス(Shiozawa et al., Arthr. & Rheum. 35, 412, 1992)

慢性関節リウマチ(Hopkins et al., Clin. Exp. Immunol. 73, 88, 1988)

更に組み換えIFN $\alpha$  2の投与によって自己免疫疾患症状が発現あるいは悪化した症例が報告されている(Wada et al., Am. J. Gastroenterol. 90, 136, 1995; Perez et al., Am. J. Hematol. 49, 365, 1995)。

【0003】

またIFN $\alpha$ が、樹状細胞(dendritic cell)の分化を誘導していることも明らかにされている。樹状細胞(dendritic cell)は抗原提示細胞でもある。したがって樹状細胞の分化誘導は、自己免疫疾患における重要なメカニズムを構成していると考えられる。実際、IFN $\alpha$ の樹状細胞の分化誘導と、全身性エリテマトーデスの発症には、深い関連性があることが示唆されている(Blanco et al., Science, 16:294,1540-1543,2001)。このようにIFN $\alpha$ は、抗腫瘍活性とともに、自己免疫疾患との密接な関連性が指摘されている。 10

【0004】

さて、ウイルス感染に伴って、type 1 IFNを大量に産生する細胞として同定されたのがIPCである。IPCは血中にわずかしが存在していない。末梢血リンパ球に占めるIPCの割合は、1%以下と考えられている。しかしIPCは、きわめて高いIFNの産生能を有する。IPCのIFN産生能は、たとえば3000pg/mL/10<sup>6</sup> cellsに達する。つまり、細胞の数は少ないが、血 20  
中IFN $\alpha$ あるいはIFN $\beta$ の大部分は、IPCによってもたらされていると言って良い。

【0005】

一方IPCは、樹状細胞(dendritic cell)の前駆細胞に位置付けられる未分化のリンパ球系樹状細胞である。IPCは、プラズマ細胞様樹状細胞(Plasmacytoid dendritic cell)と呼ばれることもある。IPCは、ウイルス刺激によって樹状細胞に分化し、T細胞によるIFN $\gamma$ とIL-10の産生を誘導する。またIPCは、IL-3刺激によっても樹状細胞に分化する。IL-3刺激によって分化した樹状細胞は、T細胞によるTh2サイトカイン(IL-4、IL-5、IL-10)の産生を誘導する。このようにIPCは、刺激の違いによって異なる樹状細胞に分化する性質を有している。 30

【0006】

したがってIPCは、IFN産生細胞としての側面と、樹状細胞の前駆細胞としての2つの側面を有する細胞である。いずれの細胞も、免疫システムにおいて重要な役割を担っている。つまりIPCは、様々な面で免疫システムを支える重要な細胞の一つである。

【非特許文献1】 Shiozawa et al., Arthr. & Rheum. 35, 412, 1992

【非特許文献2】 Hopkins et al., Clin. Exp. Immunol. 73, 88, 1988

【非特許文献3】 Wada et al., Am. J. Gastroenterol. 90, 136, 1995

【非特許文献4】 Perez et al., Am. J. Hematol. 49, 365, 1995

【非特許文献5】 Blanco et al., Science, 16:294,1540-1543,2001

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】 40

【0007】

本発明は、IPCの活性を調節するための調節剤および調節方法の提供を課題とする。あるいは本発明は、IPCの活性化の指標とすることができるマーカーの提供を課題とする。更に本発明は、IPCの活性化マーカーを用いたスクリーニング方法、並びに活性化IPCの単離あるいは検出のための方法の提供を課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

IFNのような液性因子の活性調節には、当該因子を認識する抗体の投与が有効である。たとえばインターロイキン(IL)-1、あるいはIL-4に対する抗体によって自己免疫疾患を治療する試みが実用化された(Guler et al., Arthritis Rheum., 44, S307, 2001)。また 50

インターフェロンにおいても同様に、中和抗体が自己免疫疾患の治療薬となりうるとされている(Stewart, TA. Cytokine Growth Factor Rev. 14; 139-154, 2003)。IPCが産生するIFNに対しても同様のアプローチが有効であろうことは予想できる。しかしこのようなアプローチは、産生された後の液性因子の作用の阻害に基づいている。目的とする液性因子の産生を直接的に制御することができれば、より本質的な治療効果を達成することができる。

#### 【0009】

ヒトIPCを認識する抗体が報告されている。たとえば、抗BDCA-2モノクローナル抗体、あるいは抗BDCA-4モノクローナル抗体(Dzionic A. et al. J. Immunol. 165:6037-6046, 2000)は、ヒトIPC特異モノクローナル抗体である。このうち抗BDCA-2モノクローナル抗体は、ヒトIPCのIFN産生を抑制する作用を有することが明らかにされている。その他にもマウスのインターフェロン産生細胞を認識するモノクローナル抗体が、インターフェロンの産生を抑制することも報告されている(Blood 2004 Jun 1;103/11:4201-4206. Epub 2003 Dec)。マウスのプラズマ細胞様樹状細胞(Plasmacytoid Dendritic Cell)に対するモノクローナル抗体による樹状細胞数の減少が報告された(J. Immunol. 2003, 171:6466-6477)。

BDCA2は、IPC特異抗原として同定された。IPCにおけるBDCA2の発現は恒常的である。つまりBDCA2を認識する抗体は、IPCの活性化のレベルとは無関係に、IPCに結合する。ところがIFNは活性化されたIPCによって産生される。したがって、活性化されたIPCに選択的に作用する抗体を得ることができれば理想的である。またBDCAを認識するモノクローナル抗体以外の報告においては、モノクローナル抗体が認識する抗原分子やその発現パターンは同定されていない。

#### 【0010】

活性化IPCへの選択的な作用によって、治療効率の向上が期待できる。具体的には、より少量の抗体によって目的とする治療効果を得ることができる。また、目的とする細胞への選択的な作用によって、予期できない副作用の可能性を小さくすることができる。このような考え方に基づいて、活性化IPCに特異的に作用し、その活性を調節することができる方法について本発明者らは研究を重ねた。その結果、BST2およびそのホモログのいずれかあるいは両方に結合する抗体が、活性化IPCに作用してその活性を調節することを明らかにして本発明を完成した。先に述べたようにBDCA-2に対する抗体もIFN産生を抑制する。しかしBDCA-2がIPCの活性化レベルに関わらず、恒常的にIPCにおいて発現している点で、BST2とは相違する。更に、BDCA-2に対する抗体は、IL-12の産生を上昇させることが報告されている(Dzionic, A. et al. Hum Immunol. 63; 1133-1348.2002)。

更に本発明者らは、BST2およびそのホモログがIPCの活性化の指標として利用できることを見出し本発明を完成した。すなわち本発明は、以下のIPC活性の調節剤、調節方法、その製造方法、活性化IPCの検出と分離方法、IPCの活性化レベルの測定方法、あるいはIPCの活性化を調節する作用の検出方法、そして当該作用を有する物質のスクリーニング方法に関する。

〔1〕BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体を有効成分として含有するインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

〔2〕インターフェロン産生細胞の活性が、インターフェロン産生活性およびインターフェロン産生細胞の生存のいずれか、または両方である〔1〕に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

〔3〕インターフェロン産生細胞の活性が、インターフェロン産生活性であり、かつインターフェロンがタイプ1インターフェロンである〔2〕に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

〔4〕BST2およびそのホモログが、配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質である〔1〕に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

〔5〕配列番号：4に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質を認識する抗体を有効成分として

含有する、〔4〕に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

〔6〕配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質の全てを認識する抗体を有効成分として含有する、〔4〕に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

〔7〕BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体をインターフェロン産生細胞に接触させる工程を含む、インターフェロン産生細胞の活性抑制方法。

〔8〕インターフェロン産生細胞の活性が、インターフェロン産生活性およびインターフェロン産生細胞の生存のいずれか、または両方である〔5〕に記載のインターフェロン産生細胞の活性抑制方法。

〔9〕次の工程を含む、インターフェロン産生細胞の活性を抑制する抗体の製造方法。 10

(1)BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方、もしくはその断片を免疫原として免疫動物に投与する工程

(2)(1)の免疫動物の抗体産生細胞から、BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体を産生する抗体産生細胞を選択する工程、

(3)(2)で選択された抗体産生細胞を培養するか、または当該抗体産生細胞が産生する抗体をコードする遺伝子を単離し、この遺伝子を発現可能に保持する細胞を培養する工程、および

(4)(3)の培養物からインターフェロン産生細胞の活性を抑制する抗体を回収する工程。

〔10〕免疫原が、ヒトから採取されたインターフェロン産生細胞である〔9〕に記載の方法。 20

〔11〕次の(a)-(d)のいずれかに記載の指標物質を検出する工程を含む、活性化されたインターフェロン産生細胞の検出方法。

(a)配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列を含むポリヌクレオチド

(b)配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された連続する塩基配列を有するポリヌクレオチド

(c)配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質

(d)配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列から選択された連続するアミノ酸配列を有する蛋白質 30

〔12〕次の(a)-(d)のいずれかに記載の指標物質を有する細胞を単離する工程を含む、活性化されたインターフェロン産生細胞の分離方法。

(a)配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列を含むポリヌクレオチド

(b)配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された連続する塩基配列を有するポリヌクレオチド

(c)配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質 40

(d)配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列から選択された連続するアミノ酸配列を有する蛋白質

〔13〕配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質を認識する抗体を含む、活性化されたインターフェロン産生細胞検出用試薬。

〔14〕配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された少なくとも15塩基からなる連続した塩基配列を含むオリゴヌクレオチドを含む、活性化されたインターフェロン産生細胞検出用試薬。

〔15〕配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるい 50

いずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質を認識する抗体を含む、活性化されたインターフェロン産生細胞分離用試薬。

〔16〕 次の工程を含む、生体のインターフェロン産生細胞の活性化のレベルを測定する方法。

(1) 生体から採取された試料に含まれるインターフェロン産生細胞における、(a)-(d)のいずれかに記載の指標物質を発現している細胞、およびその発現レベルのいずれかまたは両方を検出する工程、および

(a) 配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列を含むポリヌクレオチド

(b) 配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された連続する塩基配列を有するポリヌクレオチド 10

(c) 配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質

(d) 配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列から選択された連続するアミノ酸配列を有する蛋白質

(2) (1)で測定された細胞の数、およびその発現レベルのいずれかまたは両方を、被検者のインターフェロン産生細胞の活性化のレベルに関連付ける工程

〔17〕 生体から採取された試料が、体液、皮膚、滑膜組織、造血組織、膿、肺胞洗浄液、および血液細胞を含む可能性のある生検組織試料からなる群から選択されるいずれかの試料である〔16〕に記載の方法。 20

〔18〕 次の工程を含む、被験物質のインターフェロン産生細胞の活性化を調節する作用の検出方法。

(1) インターフェロン産生細胞を被験物質とともに細胞刺激剤と接触させるか、またはインターフェロン産生細胞と被験物質の接触の前、若しくは後に細胞刺激剤と接触させる工程

(2) インターフェロン産生細胞における、(a)-(d)のいずれかに記載の指標物質の発現レベルを測定する工程、および

(a) 配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列を含むポリヌクレオチド 30

(b) 配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された連続する塩基配列を有するポリヌクレオチド

(c) 配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を含む蛋白質

(d) 配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6 からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列から選択された連続するアミノ酸配列を有する蛋白質

(3) (2)で測定された指標物質の発現レベルを、対照と比較し、発現レベルが対照よりも有意に高い場合に被験物質のインターフェロン産生細胞の活性化を増強する作用が、また対照よりも有意に低い場合には被験物質のインターフェロン産生細胞の活性化を抑制する作用が検出される工程 40

〔19〕 細胞刺激剤がウイルス、ウイルスの構成要素、バクテリアのDNA、およびインターフェロンからなる群から選択される少なくとも1つの細胞刺激剤である〔18〕に記載の方法。

〔20〕 次の工程を含む、インターフェロン産生細胞の活性化を調節する作用を有する被験物質のスクリーニング方法。

(1) 〔18〕に記載の方法によって、被験物質のインターフェロン産生細胞の活性化を調節する作用を測定する工程、および

(2) 対照と比較して前記活性化を調節する作用が大きい被験化合物を選択する工程

〔21〕 〔20〕に記載の方法によって選択された被験物質を有効成分として含有する、 50

インターフェロン産生細胞の活性を調節するための医薬組成物。

〔22〕配列番号：2、配列番号：4、および配列番号：6からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質を認識する抗体を含む、インターフェロン産生細胞の活性化を調節する作用を検出するための試薬。

〔23〕配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列から選択された少なくとも15塩基からなる連続した塩基配列を含むオリゴヌクレオチドを含む、インターフェロン産生細胞の活性化を調節する作用を検出するための試薬。

〔24〕次のi)-vi)のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

i)配列番号：4、または配列番号：6に記載のアミノ酸配列からなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド； 10

ii)配列番号：3、または配列番号：5に記載の塩基配列のコード領域を含むポリヌクレオチド；

iii)配列番号：4、または配列番号：6に記載のアミノ酸配列において1若しくは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および/または付加したアミノ酸配列を有し、配列番号：2に記載のアミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等なタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

iv)配列番号：3、または配列番号：5に記載の塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチド；および

v)配列番号：4に記載のアミノ酸配列において、N末端から139～158位のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド 20

vi)配列番号：6に記載のアミノ酸配列において、N末端から96～100位のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド

〔25〕〔24〕に記載のポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸配列を含む蛋白質。

〔26〕〔25〕に記載の蛋白質に対する抗体であって、配列番号：4に記載のアミノ酸配列のN末端から139～158位のアミノ酸配列を含む領域を認識する抗体。

〔27〕〔25〕に記載の蛋白質に対する抗体であって、配列番号：6に記載のアミノ酸配列のN末端から96～100位のアミノ酸配列を含む領域を認識する抗体。

〔28〕モノクローナル抗体である〔26〕または〔27〕に記載の抗体。 30

〔29〕〔24〕に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

〔30〕〔24〕に記載のポリヌクレオチド、またはそのポリヌクレオチドを含むベクターを保持する形質転換細胞。

〔31〕〔30〕に記載の形質転換細胞を培養し、培養物から〔25〕に記載の蛋白質を採取する工程を含む、〔25〕に記載の蛋白質の製造方法。

〔32〕FERM ABP-10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM ABP-10340として寄託されたハイブリドーマ3G7#6。

〔33〕FERM ABP-10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM ABP-10340として寄託されたハイブリドーマ3G7#6が産生するモノクローナル抗体、またはその抗原結合領域を含む断片。 40

〔34〕FERM ABP-10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM ABP-10340として寄託されたハイブリドーマ3G7#6を培養し、培養物に含まれるイムノグロブリンを回収する工程を含む、モノクローナル抗体またはその抗原結合領域を含む断片の製造方法。

〔35〕FERM ABP-10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM ABP-10340として寄託されたハイブリドーマ3G7#6が産生するモノクローナル抗体、またはその抗原結合領域を含む断片を有効成分として含有するインターフェロン産生細胞の活性抑制剤。

【発明の効果】

【0011】

本発明により、活性化IPCに作用しその活性を抑制する技術が提供された。すなわちBST 50

2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体は、活性化IPCに結合してその活性を抑制する。BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体は、IPCの活性の抑制剤、あるいは抑制方法に利用することができる。BST2およびそのホモログは、活性化されたIPCにおいて発現が上昇しているため、本発明に基づくIPCの活性の抑制剤、あるいは抑制方法は、活性化IPCに特異的に作用する。

【0012】

IPCは、わずかな細胞が多量のIFNを産生する。IFNの中和には、IFNの分子数に応じた抗体が必要である。しかし本発明においては、産生細胞の活性が直接抑制される。その結果、抗IFN抗体による中和と比較して、より少量の抗体で強力なIFNの抑制効果を期待できる。更に、持続的にIFNが産生されている場合には、IFNの抗体による中和は、一過的な抑制に留まると予想される。本発明においては、IPCの活性を抑制することから、長期間にわたるIFN産生抑制効果が期待できる。特に、本発明の望ましい態様によれば、BST2あるいはそのホモログを認識する抗体は、IPCのIFN産生のみならず、細胞数をも抑制する。これらの効果が相乗的に作用し、IFNの産生は効果的に抑制される。

【0013】

更に本発明は、ヒト由来のBST2の新規なスプライシングバリエーションBST2HおよびBST2HSを単離した。本発明において特定された抗原分子は、ヒトIPCに特異的に発現しており、ヒトIPCのマーカーとして有用である。すなわち本発明において見出された配列番号：1、配列番号：3、および配列番号：5からなる群から選択されるいずれかの配列番号に記載の塩基配列を有するポリヌクレオチドは、IPCのマーカーとして有用である。あるいはこれらの塩基配列によってコードされるアミノ酸配列を有する蛋白質も、IPCのマーカーとして有用である。

また本発明において、マウスにおけるホモログである、マウスBST2HおよびマウスBST2HSも、新規分子として同定された。ヒトと同様に、これらの分子は既知分子であるマウスBST2Dと、スプライシングバリエーションの関係にあると考えられた。これらの分子は、マウスIPCのマーカーとして有用である。

【0014】

また本発明は、BST2およびそのホモログが、IPCの活性化に伴って発現レベルが上昇することを明らかにした。したがってこれらのマーカーを指標として、IPCの活性化のレベルを評価することができる。更に、これらのマーカーを指標として、IPCの活性化を調節する作用を評価することができる。様々な物質のIPCの活性化を調節する作用を評価し、当該作用を有する物質をスクリーニングすることもできる。このようなスクリーニングによって、IPCの活性化を調節する薬剤を見出すことができる。本発明に基づいて見出されたIPCの活性化を調節する作用を有する薬剤は、自己免疫疾患やアレルギー疾患の治療剤として有用である。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】 FLT-3リガンド添加後、10日間培養したマウスの骨髄細胞（IPCが濃縮されている）の細胞表面を、作製した抗体及び他のマーカーで染色したFACS解析像である。培養上清陽性分画、陰性分画をそれぞれR2、R3とした。グラフ内の、R1&R2は抗体陽性の細胞集団、R1&R3は抗体陰性の細胞集団を表わす。

【図2】 各モノクローナル抗体で抽出した細胞の形態を表わす顕微鏡写真（x400）である。(a)はインフルエンザウイルスPR8に感染させる前の形態、(b)はインフルエンザウイルスPR8と24時間培養した後の形態を示す。感染後の細胞は樹状突起を持ち、樹状細胞に典型的な形態を示した。

【図3】 モノクローナル抗体SNK01を用いて分離した細胞のインターフェロン産生能を示すグラフである。図中、横軸は細胞の処理の種類を、縦軸は培養上清中のIFN $\alpha$ 濃度(pg/mL)を示す。横軸のP(+)はモノクローナル抗体に結合した細胞にウイルスを感染させた場合、N(+)はモノクローナル抗体に結合しなかった細胞にウイルスを感染させた場合、そしてN(-)はモノクローナル抗体に結合しなかった細胞にウイルスを感染させなかった場

合の結果を示す。

【図4】モノクローナル抗体SNK01のインターフェロン産生能への影響を示すグラフである。図中、横軸は処理に用いた抗体の濃度( $\mu$ g/mL)を、縦軸は培養上清中のIFN $\alpha$ 濃度(pg/mL)を示す。横軸の(-)はウイルス処理していない場合の結果を示す。SNK01は濃度依存的にインターフェロン産生抑制活性を示した。

【図5】モノクローナル抗体SNK01によるウェスタンブロッティングアッセイの結果を示す写真である。写真上は抗Hisタグ抗体、下は本発明のモノクローナル抗体SNK01による結果を示す。写真左側がpcDNA3.1-mBST2DHis、右側がpcDNA3.1-mBST2H-Hisで形質転換したCOS7細胞の結果である。培養した細胞を溶解処理した際の沈殿物(P)と上清(S)についての結果を示した。

10

【図6】マウスBST2のmRNA発現レベルを組織、細胞間で比較した結果を示す写真である。レーンはそれぞれ解析した組織、細胞を示す。

【図7】マウスBST2及びそのホモログのアミノ酸配列とゲノム構造を示す図である。(a)は各アイソフォームのアミノ酸配列のアライメントを、(b)はエクソンマッピングを示す。

【図8】ヒトBST2及びそのホモログのアミノ酸配列とゲノム構造を示す図である。(a)は各アイソフォームのアミノ酸配列のアライメントを、(b)はエクソンマッピングを示す。

【図9】ヒトBST2のmRNA発現レベルを組織、細胞間で比較した結果を示す写真である。

【図10】作製したマウスBST2に対するモノクローナル抗体のインターフェロン産生能への影響を示すグラフである。図中、横軸は処理に用いたハイブリドーマ培養上清の種類を、縦軸は培養上清中のIFN $\alpha$ 濃度(pg/mL)を示す。CpGはCpGで処理した際、PR8はインフルエンザウイルスPR8を感染させた際の結果を示す。

20

【図11】作製したヒトBST2に対するモノクローナル抗体のインターフェロン産生能への影響を示すグラフである。(a)はインターフェロン産生能への影響を示したグラフであり、図中、横軸は処理に用いた抗体の種類と濃度、縦軸はヒトIPCをHSVで刺激した際の培養上清中のIFN $\alpha$ 濃度(pg/mL)を示す。(b)はクローン3D3#7と3G7#6のBST2サブタイプへの反応性を解析した結果である。

【図12-1】野生型マウス(WT)あるいはIFNレセプターノックアウトマウス(IFNR-KO)の各種細胞をCpGあるいはインフルエンザウイルスPR8で刺激した後、蛍光色素Alexa488で標識したSNK01抗体で染色した図である。横軸はSNK01の蛍光強度、すなわちBST2の発現強度を、縦軸は細胞数を示す。(a)は全脾臓細胞を解析した図、(b)は各細胞を分画して解析した図、(c)はIPCを分画して解析した図である。

30

【図12-2】図12-1の続きを示す図である。

【図13】ヒトIPCのマーカースとして抗BDCA-4、BDCA-2抗体を用いて、ヒトIPCをIFN $\alpha$ にて刺激した際のBST2の発現を検討した図である。横軸は5C11#7抗体の蛍光強度、すなわちBST2の発現強度を、縦軸は細胞数を示す。

【図14】ヒトIPCをCpGにて刺激した際のBST2の発現を検討した図である。横軸は、抗ヒトBST2抗体3E2#8、5C11#7の蛍光強度、すなわちBST2の発現強度を、縦軸は細胞数を示す。それぞれ太線はCpGで刺激した場合、点線は未刺激の場合のパターンを示す。

【図15】抗マウスBST2抗体SNK01を投与したマウスから採取した細胞を用いて解析した図である。(a)は投与のスケジュールを示す。(b)は各臓器中のIPC割合を示し、横軸が投与した抗体を、縦軸がIPCの割合を示す。(-)は抗体のかわりにPBSのみを投与した群を示す。(c)は骨髄細胞をCpGあるいはインフルエンザウイルスPR8で刺激した際に産生したIFNの濃度を示す。横軸が投与した抗体を示す。

40

【図16】抗マウスBST2抗体SNK01を投与し、ウイルス感染させたマウスを用いて解析した図である。(a)は投与のスケジュールを示す。(b)は血清中のIFN $\alpha$ の濃度を示し、横軸が投与した抗体を示す。(c)は脾臓中のIPC割合を示し、横軸が投与した抗体を、縦軸がIPCの割合を示す。(-)は抗体のかわりにPBSのみを投与した群を示す。

【図17】抗マウスBST2抗体SNK01およびクローン12、コントロール抗体であるラットIgG(IgGと表記)を投与したマウスから細胞を採取して解析した図である。(a)は各抗体を

50

投与したマウスのリンパ節細胞をFACSにて解析した結果の一例を示す。四角で示した細胞画分がIPCである。(b)は(a)の結果を元に、リンパ節中のIPCの割合をグラフに示したものである。同様に、(c)、(d)はそれぞれ脾臓、末梢血中のIPC割合を示し、横軸が投与した抗体を、縦軸がIPCの割合を示す。

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

本発明は、BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体を有効成分として含有するIPCの活性抑制剤に関する。また本発明は、BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体をIPCに接触させる工程を含む、IPCの活性抑制方法に関する。更に本発明は、BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体を投与する工程を含む、生体内においてIPCの活性を抑制する方法に関する。あるいは本発明は、BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体の、IPC活性抑制剤の製造における使用に関する。

【0017】

本発明において、IPCはヒトBST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を発現し、かつIFNを産生する細胞であれば特に限定されない。たとえば、ヒト、およびマウスにおいては、IPCがBST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を発現していることが確認された。したがって、ヒト、およびマウスのIPCは、本発明におけるIPCとして好ましい。特にヒトIPCにおいては、その活性化に伴ってBST2およびそのホモログの発現レベルが顕著に上昇する。そのため、BST2およびそのホモログを認識する抗体は、ヒトにおいては、活性化されたIPCに対して特異的に作用する。したがって、ヒトIPCは本発明のIPCとして特に好ましい。

【0018】

本発明において、BST2遺伝子は、配列番号：2に記載のアミノ酸配列によって定義されるヒト由来の蛋白質である。配列番号：2に記載のアミノ酸配列は配列番号：1に記載の塩基配列からなるcDNAによってコードされている。ヒトBST2のcDNAのクローニングと、モノクローナル抗体についての報告がある(Ishikawa J. et al. *Genomics* 26:527, 1995; GenBank Acc#.D28137)。BST2は、プレB細胞増殖支持能を有する膜蛋白質であるとされた(特開平7-196694)。BST2のゲノム遺伝子とプロモーターについての知見も得られている(WO 99/43803)。また、ヒトBST2は、ミエローマに対するモノクローナル抗体である抗HML.24抗体が認識している抗原であることが明らかにされている(Ohmoto T. et al. *B.B.R.C* 25 8: 583, 1999)。抗HML.24抗体は、ヒトプラズマセルラインを免疫原として樹立されたモノクローナル抗体である(Goto T. et al. *Blood* 84:1992, 1994)。

その後、抗HML.24抗体がミエローマを特異的に認識することが明らかにされ、ミエローマの治療を目的としてヒト化抗体が作成された(Ozaki S. et al. *Blood* 93: 3922, 1999; WO98/14580)。ヒト化抗HML.24抗体は、造血組織の癌に対する治療効果を有している(WO02/064159)。現在はその実用化を目指して臨床試験が進められている。以上のようにヒトBST2は、造血器系の腫瘍におけるマーカーとして利用されている。しかし現在のところBST2を認識する抗体とIPCの関連を示唆する報告は無い。

【0019】

本発明において、BST2はそのホモログを含む。BST2のホモログとは、配列番号：2に記載のアミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等な蛋白質と定義することができる。このような蛋白質は、天然に存在する蛋白質を含む。一般に真核生物の遺伝子は、IFN遺伝子等で知られているように、多型現象(polymorphism)を有する。この多型現象によって生じた塩基配列の変化によって、1または複数個のアミノ酸が、置換、欠失、挿入、および/または付加される場合がある。このようにヒトに由来する蛋白質であって、かつ配列番号：2に記載のアミノ酸配列において、1若しくは複数のアミノ酸が、置換、欠失、挿入、および/または付加したアミノ酸配列を有し、配列番号：2に記載のアミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等な蛋白質は、本発明のBST2ホモログに含まれる。

【0020】

具体的には、たとえばBST2のスプライシングバリエント、あるいは遺伝子多型によって生じる変異体は、BST2ホモログに含まれる。たとえば本発明者らは、配列番号：1の塩基配列からなるcDNAに対するスプライシングバリエントの存在を明らかにした。このスプライシングバリエントは、配列番号：3または配列番号：5に示す塩基配列からなり、配列番号：4または配列番号：6に記載のアミノ酸配列をコードしていた。

本発明において、BST2とはそのスプライシングバリエントを含む。したがって、これらのスプライシングバリエントは、いずれもヒトBST2あるいはマウスBST2に含まれる。以下スプライシングバリエントをサブタイプと記載することもある。

#### 【0021】

あるいは多型現象によって塩基配列に変化はあっても、アミノ酸配列が変わらない場合もある。このような塩基配列の変異は、サイレント変異と呼ばれる。サイレント変異を有する塩基配列からなる遺伝子も、本発明に含まれる。なおここで言う多型現象とは、集団内において、ある遺伝子が個体間で異なる塩基配列を有することを言う。一般に、遺伝学的には多型と変異は遺伝子型の分布率によって定義されている。しかし本発明においては、多型および変異は、特に断りが無ければ、いずれも、分布率にかかわらず、異なる塩基配列が存在していることを示す用語として用いられる。

#### 【0022】

BST2のホモログは、ヒト以外の種における機能的に同等な蛋白質を含む。BST2と機能的に同等な蛋白質は、たとえばハイブリダイゼーションを利用して同定することができる。すなわち、配列番号：1に示すようなBST2をコードするポリヌクレオチド、あるいはその断片をプローブとし、これとハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドを単離するのである。ハイブリダイゼーションをストリンジентな条件下で実施すれば、塩基配列としては相同性の高いポリヌクレオチドが選択され、その結果として単離される蛋白質にはBST2と機能的に同等なタンパク質が含まれる可能性が高まる。

#### 【0023】

本発明者らは、BST2のマウスにおけるホモログに対する抗体が、ヒトにおける抗体と同様にマウスIPCの活性を抑制することを確認した。マウスBST2は、配列番号：9に記載の塩基配列を有し配列番号：10に記載のアミノ酸配列をコードしていた。更に本発明者らは、BST2のスプライシングバリエントであるBST2Hについても同様に、マウスにおけるホモログの存在を確認した。マウスBST2Hの塩基配列は配列番号：7に、この塩基配列によってコードされるアミノ酸配列を配列番号：8に示した。マウスのBST2Hに対する抗体も、IPCの活性を抑制することが確認された。

本発明において明らかにされたヒトとマウスのBST2とそのホモログの塩基配列情報、およびアミノ酸配列情報を以下にまとめた。

	塩基配列	アミノ酸配列	アミノ酸配列の長さ
ヒトBST2D	配列番号：1	配列番号：2	(180)
ヒトBST2H	配列番号：3	配列番号：4	(158)
ヒトBST2HS	配列番号：5	配列番号：6	(100)
マウスBST2H	配列番号：7	配列番号：8	(178)
マウスBST2D	配列番号：9	配列番号：10	(172)
マウスBST2HS	配列番号：22	配列番号：23	(105)

#### 【0024】

なおストリンジентな条件とは、具体的には例えば6×SSC、40%ホルムアミド、25℃でのハイブリダイゼーションと、1×SSC、55℃での洗浄といった条件を含む。ストリンジエンシーは、塩濃度、ホルムアミドの濃度、あるいは温度といった条件に左右される。当業者は、これらの条件を必要なストリンジエンシーを得られるように適宜調節することができる。

#### 【0025】

ハイブリダイゼーションを利用することによって、たとえばヒト以外の動物種におけるBST2のホモログをコードするポリヌクレオチドを単離することができる。ヒト以外の動物

種、すなわちマウス、ラット、ウサギ、ブタ、あるいはヤギ等の動物種から得ることができるポリヌクレオチドがコードするBST2のホモログは、本発明における機能的に同等な蛋白質を構成する。

#### 【0026】

ハイブリダイゼーション技術等を利用して単離されるポリヌクレオチドがコードする蛋白質は、通常、ヒトBST2D（配列番号：2）とアミノ酸配列において高い相同性を有する。高い相同性とは、少なくとも30%以上、好ましくは50%以上、さらに好ましくは80%以上（例えば、95%以上、あるいは98%、更には99%以上）の配列の同一性を指す。塩基配列やアミノ酸配列の同一性は、インターネットを利用したホモロジー検索サイトを利用して調べることができる [例えば日本DNAデータバンク（DDBJ）において、FASTA、BLAST、P 10 SI-BLAST、および SSEARCH 等の相同性検索が利用できる [例えば日本DNAデータバンク（DDBJ）のウェブサイトの相同性検索（Search and Analysis）のページ；<http://www.ddbj.nig.ac.jp/E-mail/homology-j.html>]。また、National Center for Biotechnology Information (NCBI) において、BLASTを用いた検索を行うことができる（例えばNCBIのホームページのウェブサイトのBLASTのページ；<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>；Altschul, S.F. et al., J. Mol. Biol., 1990, 215(3):403-10；Altschul, S.F. & Gish, W., Meth. Enzymol., 1996, 266:460-480；Altschul, S.F. et al., Nucleic Acids Res., 1997, 25:3389-3402）。

#### 【0027】

例えば Advanced BLAST 2.1におけるアミノ酸配列の同一性の算出は、プログラムにblastp 20 stpを用い、Expect値を10、Filterは全てOFFにして、MatrixにBLOSUM62を用い、Gap existence cost、Per residue gap cost、および Lambda ratioをそれぞれ 11、1、0.85（デフォルト値）に設定して検索を行い、同一性（identity）の値（%）を得ることができる（Karlin, S. and S. F. Altschul (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68；Karlin, S. and S. F. Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-7）。

#### 【0028】

更に既に構造が明らかにされているcDNA、あるいはゲノムDNAの塩基配列情報の検索によって、他の種におけるBST2ホモログを見出すこともできる。すなわち、公知の塩基配列情報あるいはアミノ酸配列情報を蓄積したデータベースを対象として、ヒトBST2の塩基配列情報および/またはアミノ酸配列情報をクエリーとする相同性検索によって、類似の配列情報が検索される。もしも他の種に由来する相同性の高い既知の遺伝子並びに蛋白質がデータベース中に存在すれば、相同性検索によってそれを見出すことができる。遺伝子の全長が同定されていなくても、ESTなどの断片配列情報が得られれば、インシリコクロニングによって、遺伝子の全長配列を構成できる場合もある。こうして明らかにされた他の種に由来するホモログについて、実際に当該動物種のIPCにおける発現が確認できれば、本発明におけるBST2のホモログとして利用することができる。

#### 【0029】

本発明においてインターフェロン産生細胞(IPC)は、IFN産生能を有し、かつ細胞表面にBST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を発現する細胞を言う。BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方は、細胞の活性化に伴って発現する場合が含まれる。たとえばヒト並びにマウスにおいて、樹状細胞の前駆細胞であって、刺激によりIFNを産生する細胞は、IPCとして好ましい。以下、特に断りの無い場合には、IPCは、樹状細胞の前駆細胞である細胞のみならず、IFN産生能を有し、かつ細胞表面にBST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を発現する細胞を含む。このようなIPCの同定方法は公知である。たとえばいくつかの細胞表面マーカーを指標としてIPCを他の血液細胞と識別することができる。具体的には、ヒトIPCの細胞表面マーカーのプロファイルは次のとおりである(Shortman, K. and Liu, YJ. Nature Reviews 2: 151-161, 2002)。近年になって、BDCA-2陽性細胞をIPCと位置づける報告もある(Dzionek, A. et al. J. Immunol. 165: 6037-6046, 2000.)。

[ヒトIPCの細胞表面抗原のプロファイル]

CD4陽性、CD123陽性、  
Lineage(CD3、CD14、CD16、CD19、CD20、CD56)陰性、CD11c陰性

したがって、これらの公知のマーカーの発現プロファイルを持ち、IFN産生能を持つ細胞をIPCと言うこともできる。更に、これらのマーカーの発現プロファイルの発現パターンとは異なるプロファイルを持つ細胞群であっても、IFN産生能を有する生体中の細胞はIPCに含まれる。

【0030】

あるいはマウスIPCは、以下のプロファイルによって定義されている。

[マウスIPCの細胞表面抗原のプロファイル]

－CD11c、B220、Ly6C、およびCD45RBが陽性

－CD11b、CD3、CD19が陰性

10

更に、ヒトあるいはマウスのIPCに共通して見られる特徴として、以下のような特徴を示すことができる。

[細胞の形態上の特徴]

－プラズマ細胞に似ている

－細胞表面が平滑な丸い細胞

－核が比較的大きい

[細胞の機能的な特徴]

－ウイルス感染時に、短期間に大量のType-1 interferonを産生する

－ウイルス感染後、樹状細胞に分化する

20

【0031】

本発明において、IPCの活性抑制とは、IPCが有する機能の少なくとも一つを抑制することを言う。IPCの機能として、IFNの産生と細胞生存を示すことができる。細胞の生存は、細胞数と言い換えることもできる。したがって、これらの機能の両方あるいはいずれかを抑制する場合に、IPCの活性を抑制すると言う。IPCによって産生されるタイプ1 IFNが種々の疾患の原因となっていることが明らかにされている。したがってその産生を抑制することは、それらの疾患の治療戦略として有用である。

たとえば、自己免疫性の疾患の病態とIFN $\alpha$ の関連性が指摘されている。IFN $\alpha$ の大部分がIPCによって産生されている。したがってその産生を抑制すれば、IFN $\alpha$ によってもたらされる病態を緩和することができる。なお本発明において、IPCによるIFN産生抑制とは、IPCが産生するIFNの少なくとも1種類のIFN産生を抑制することを言う。本発明における好ましいIFNは、タイプ1 IFNである。中でもIFN $\alpha$ は重要である。

30

【0032】

すなわち本発明は、BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体を有効成分として含有する、IFN産生抑制剤に関する。あるいは本発明は、BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体を投与する工程を含む、IFNの産生抑制方法を提供する。更に本発明は、BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体の、IFNの産生を抑制するための医薬組成物の製造における使用に関する。

【0033】

IPCには、少数の細胞で大量のIFNを産生する細胞が含まれる。たとえば、ウイルスなどで刺激を受けた樹状細胞の前駆細胞は、生体が産生するIFNの大部分を産生する。大量のIFNを産生するIPCの細胞数を抑制することは、結果としてIFNの産生量を抑制することになる。したがって、IPCの細胞数の抑制によっても、IFN $\alpha$ によってもたらされる病態を緩和することができる。

40

【0034】

本発明に用いるBST2およびそのホモログのいずれかまたは両方を認識する抗体は、BST2およびそのホモログ、あるいはそれらの断片を免疫原として調製することができる。本発明における抗体は、任意のクラスであってよい。また抗体が由来する生物種も限定されない。更に、抗体の抗原結合領域を含む断片を抗体として用いることができる。たとえばIgGの酵素的な消化によって生成される、抗原結合部位を含む抗体断片も、本発明における

50

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	<a href="#">JPWO2006008886A5</a>	公开(公告)日	2008-07-24
申请号	JP2006528454	申请日	2005-06-09
[标]申请(专利权)人(译)	SBI生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	SBI生物科技有限公司		
[标]发明人	大川淳 鴨川由美子		
发明人	大川 淳 鴨川 由美子		
IPC分类号	C12N15/09 C12N5/10 C12N5/06 C12P21/00 C12P21/08 C07K14/47 C07K16/18 C12Q1/02 C12Q1/68 A61K39/395 A61P37/02 A61K45/00 A61P37/08 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/5047 C07K16/2896 C07K2317/34		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A C12N5/00.B C12N5/00.E C12P21/00.C C12P21/08 C07K14/47 C07K16/18 C12Q1/02 C12Q1/68.A A61K39/395.U A61K39/395.F A61P37/02 A61K45/00 A61P37/08 G01N33/53.D		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA44 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA07 4B024/CA12 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA04 4B024/GA03 4B024/GA08 4B024/GA09 4B024/GA11 4B024/GA13 4B024/GA18 4B024/GA27 4B024/HA11 4B024/HA15 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QQ02 4B063/QQ09 4B063/QQ21 4B063/QQ41 4B063/QQ53 4B063/QQ61 4B063/QQ79 4B063/QQ89 4B063/QQ91 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR42 4B063/QR51 4B063/QR55 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QR79 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX01 4B063/QX02 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA01 4B064/CA02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC01 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA26X 4B065/AA58X 4B065/AA72X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA91X 4B065/AA91Y 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AB05 4B065/BA02 4B065/BA05 4B065/BA08 4B065/BA24 4B065/BA30 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA43 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZB072 4C084/ZB132 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/BB17 4C085/CC02 4C085/DD62 4C085/DD88 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA71 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	清水初衷		
优先权	2004173767 2004-06-11 JP		
其他公开文献	JPWO2006008886A1 JP4915919B2		

#### 摘要(译)

产生干扰素的细胞 ( IPC ) 的活性调节剂, 其含有与BST2和/或其同源物结合的抗体作为活性成分, 或使用该抗体调节IPC活性的方法。根据本发明, 可以直接控制IPC产生干扰素 ( IFN ) 的能力和细胞数量。本发明还提供BST2和/或其同源物作为IPC活化标记物的用途。可以通过IPC活化标记筛选调节IPC活化的化合物。

