

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

WO2006/054748

発行日 平成20年6月5日 (2008.6.5)

(43) 国際公開日 **平成18年5月26日 (2006.5.26)**

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00 Z N A	2 G 0 4 5
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	4 B 0 2 4
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5	4 B 0 6 3
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 G	4 C 0 8 4
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 U	4 C 0 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求		(全 48 頁) 最終頁に続く

出願番号	特願2006-545196 (P2006-545196)	(71) 出願人	507206192
(21) 国際出願番号	PCT/JP2005/021383		S B I バイオテック株式会社
(22) 国際出願日	平成17年11月21日 (2005.11.21)		東京都港区白金台4-7-4 白金台S Tビル8階
(31) 優先権主張番号	特願2004-337365 (P2004-337365)	(74) 代理人	100102978
(32) 優先日	平成16年11月22日 (2004.11.22)		弁理士 清水 初志
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(74) 代理人	100128048
			弁理士 新見 浩一
		(72) 発明者	鴨川 由美子
			東京都港区白金台4-7-4 白金台S Tビル8階
		(72) 発明者	並木 佐穂理
			東京都港区白金台4-7-4 白金台S Tビル8階
		Fターム(参考)	2G045 AA34 CB01 DA36 FB03
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 腎炎の治療剤

(57) 【要約】

本発明は、インターフェロン産生細胞(Interferon Producing Cell;IPC)の活性抑制物質を有効成分として含有する、腎炎の治療剤を提供する。IPC活性抑制物質には、たとえばIPCの細胞表面抗原を認識する抗体が用いられる。たとえばBST2またはそのホモログを認識する抗体は、本発明に有用である。また本発明は、IPCの活性を調節する作用を有する物質を選択する工程を含む、腎炎の治療剤をスクリーニングするための方法を提供する。

本発明によって、IPCの活性を抑制することで、腎炎患者の免疫バランスを調節できることが明らかにされた。すなわち本発明は、腎炎の新たな治療戦略を提供した。本発明は、特に、SLEに付随するループス腎炎の治療に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

インターフェロン産生細胞の活性抑制物質を有効成分として含有する腎炎の治療剤。

【請求項 2】

インターフェロン産生細胞の活性抑制物質が、インターフェロン産生細胞のインターフェロン産生および細胞の生存のいずれか、または両方を抑制する作用を有する物質である請求項 1 に記載の治療剤。

【請求項 3】

インターフェロン産生細胞の活性抑制物質が、インターフェロン産生細胞のインターフェロン産生および細胞の生存のいずれか、または両方を抑制する作用を有する抗体である請求項 2 に記載の治療剤。

10

【請求項 4】

抗体が、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、またはその少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片である請求項 3 に記載の治療剤。

【請求項 5】

抗体が、FERM BP 10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM BP 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の、少なくとも抗原結合領域を含む抗体である請求項 4 に記載の治療剤。

【請求項 6】

インターフェロン産生細胞の活性を抑制する工程を含む、腎炎の治療方法。

20

【請求項 7】

抑制すべき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細胞のインターフェロン産生および細胞の生存のいずれか、または両方である請求項 6 に記載の治療方法。

【請求項 8】

インターフェロン産生細胞の活性を抑制する工程が、インターフェロン産生細胞のインターフェロン産生および細胞の生存のいずれか、または両方を抑制する作用を有する抗体を投与する工程を含む、請求項 7 に記載の治療方法。

【請求項 9】

抗体が、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、またはその少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片である、請求項 8 に記載の治療方法。

30

【請求項 10】

抗体が、FERM BP 10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM BP 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の、少なくとも抗原結合領域を含む抗体である請求項 9 に記載の治療方法。

【請求項 11】

次の工程を含む、被験化合物の腎炎の治療効果の検出方法。

(1) インターフェロン産生細胞とインターフェロン産生細胞のインターフェロン産生誘導物質を、以下のi) iii)のいずれかの順序で接触させる工程、

i) 被験化合物とインターフェロン産生細胞を接触後に、インターフェロン産生を誘導する細胞刺激剤をインターフェロン産生細胞に接触させる、

40

ii)被験化合物とインターフェロン産生を誘導する細胞刺激剤を同時にインターフェロン産生細胞に接触させる、または

iii)インターフェロン産生を誘導する細胞刺激剤をインターフェロン産生細胞に接触させた後に、被験化合物とインターフェロン産生細胞を接触させる

(2) インターフェロン産生細胞の活性を測定する工程、および

(3) 対照と比較して、インターフェロン産生細胞の活性が抑制されたとき、被験化合物の腎炎の治療効果が検出される工程

【請求項 12】

細胞刺激剤がウイルス、ウイルスの構成要素、およびバクテリアのDNA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 11 に記載の方法。

50

【請求項 13】

被験化合物が、インターフェロン産生細胞を認識する抗体またはその少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片である請求項 11 に記載の方法。

【請求項 14】

請求項 11 に記載の方法によって腎炎の治療効果が検出された被験化合物を選択する工程を含む、腎炎の治療効果を有する化合物のスクリーニング方法。

【請求項 15】

請求項 14 に記載のスクリーニング方法によって選択された化合物を有効成分として含有する腎炎の治療剤。

【請求項 16】

インターフェロン産生細胞の活性抑制物質の、腎炎の治療剤の製造における使用。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、腎炎の治療に関する。

【背景技術】**【0002】**

腎炎は腎臓による尿のろ過機能の障害によってもたらされる疾患である。ろ過機能の低下によって、蛋白質や血液の尿への漏出が見られる。一方、本来尿中に排泄されるべき代謝産物の排出機能が低下し体内に蓄積するようになる。腎機能の低下により、たとえば尿素、尿酸、クレアチニンなどの含窒素化合物が体内に蓄積する。また腎炎患者にはしばしば高血圧が見られる。

【0003】

腎炎については、多くの原因が指摘されている。たとえば、自己免疫応答によって糸球体が障害される。リウマチなどの自己免疫性の疾患には、しばしば腎炎がともなうことから、自己免疫は腎炎の主要な原因の一つと考えられている。あるいは感染に対する正常な免疫応答が腎炎を引き起こす例も知られている。たとえば溶血性連鎖球菌の感染後に見られる急性腎炎は、次のようなメカニズムが原因の一つと考えられている。すなわち、溶血性連鎖球菌の感染に対する正常な免疫応答として、抗体が産生される。そして生体内には、溶血性連鎖球菌の抗原とその抗体からなる免疫複合体が生じる。この免疫複合体が糸球体基底膜に蓄積し、補体の細胞障害作用を活性化して炎症の原因となる。

【0004】

現在のところ、腎炎の治療の主体は、食塩や蛋白質の制限を目的とする食事療法である。食事療法には症状の進行を遅らせる効果は期待できるが、腎炎の原因を取り除くことはできない。また腎炎の治療に、様々な種類のステロイド剤が用いられることもある。しかしステロイド剤による治療効果は主にその抗炎症作用に依存している。あるいは自己免疫性疾患に伴う腎炎においては、免疫機能の調節によって腎炎症状が抑制される。いずれにせよ、ステロイド剤によって疾患の原因は除去できないので、腎炎の症状が進行した場合には人工透析が必要になることもある。人工透析は、身体的にも、また社会的にも、患者の負担が大きい治療方法である。またステロイド剤の免疫抑制作用は、感染症のリスクを高める可能性がある。

【0005】

腎炎の例としては、全身性エリテマトーデス (Systemic Lupus Erythematosus、以下 SLE と記載する) が原因で起こるループス腎炎 (lupus nephritis) が挙げられる。SLE は 1942 年に Klemperer により提唱された膠原病の代表的な病気で、自己抗体や免疫複合体の出現等に基づく多臓器障害を主徴とする疾患である。本疾患に特徴的な顔面の蝶形紅斑が、狼 (lupus) による傷 (狼瘡) に似ているため、全身性紅斑性狼瘡 (Systemic Lupus Erythematosus) と名づけられた。SLE の臨床症状は皮疹にとどまらず、実に多彩である。たとえば、発熱、多関節痛および多関節炎、漿膜炎、貧血、血小板減少、腎症状、あるいは神経症状などが見られる。SLE は圧倒的に女性、特に 20 ~ 30 歳代の女性に好発し、発症の男女比

10

20

30

40

50

は1対10とされている。日本には7,000～9,000人の患者が存在し、有病率は人口10万人あたり66～85人と推定される。

【0006】

腎臓はSLEにおいて侵されやすい臓器の1つである。実際、患者の70～80%に腎障害が起こる。SLE患者に見られる腎障害は、特にループス腎炎と呼ばれる。ループス腎炎は、糸球体への障害と進行性の腎機能低下を特徴とする。ループス腎炎の糸球体障害は、免疫系が自己抗原に対する抗体（自己抗体）を作るために起こる自己免疫プロセスと関係がある。すなわち、糸球体などの腎臓組織に結合した自己抗体と補体の複合体が腎臓に蓄積し、炎症反応を起こすと考えられている。

【0007】

ループス腎炎には、血尿、発熱、顔や手足の赤い斑点、あるいはむくみといった多彩な症状がみられる。ループス腎炎患者は、しばしばネフローゼ症候群（蛋白質の排出過剰）や急速進行性糸球体腎炎を起こし、急性腎不全や慢性腎不全に移行する場合がある。ループス腎炎は遺伝的素因があると考えられている。慢性関節リウマチや強皮症など他の自己免疫疾患と関連している可能性もある。また妊娠によって誘発されるケースも知られている。

【0008】

ループス腎炎の治療は、原因疾患であるSLEの治療と同様に、ステロイド剤による薬物療法が中心となっている。通常、2～3年はステロイド剤が継続的に投与される。症状が軽快した後も再発しやすいので、薬物治療は長期間にわたることが多い。病気の活動性の強い重症の場合、大量のステロイド剤を点滴で静脈内に投与する「パルス療法」を行うこともある。その結果、ステロイド剤の副作用が問題となる場合がある(非特許文献1 / Saag K.G. et al., AM.J.Med.,96, 115, 1994)。たとえばステロイド剤によって患者の免疫機能が抑制され、患者が感染症に罹患する可能性が高まる恐れがあることが指摘されている。

【0009】

ステロイド剤だけで効果が現れないときは、さらに免疫抑制剤を併用する。急に腎臓の機能が低下する「急速進行性腎炎」の症状があるときなどには、抗凝血剤を投与することもある。

薬物治療の他に、自己抗体などの自己免疫症状の原因物質を除去する治療法も知られている。1つは「血漿交換」という方法で、透析と同じように血液を体外へ導き出して原因物質を除いてから体内に戻す。所要時間は3～4時間で週に1回程度行う。もう1つは「血液吸着」といい、血液を体外へ導き出し原因物質をトリプトファンを固定化した膜に吸着させて除去するという方法である。しかし薬物療法と同様に治療効果には個人差がある。

【0010】

SLEのような自己免疫疾患患者の血中IFN濃度が高いことが報告されている(非特許文献2 / Science, 16 Nov. 2001 Vol.294)。このような疾患に対して、IFNの作用を抑制すれば、症状をコントロールできる可能性がある。このようなアプローチを実現するためのサイトカイン拮抗剤として、タイプ1インターフェロンに対する抗体が用いられた(特許文献1 / WO 01/054721)。すなわち、IFN に対する抗体によるSLEの治療が提案された。しかしIFN に対する抗体の腎炎症状に及ぼす影響については明らかでない。

【0011】

更に重要なことは、SLEのような自己免疫性の疾患に付随する腎炎においては、自己免疫疾患の治療が主体となっていることである。自己免疫疾患が腎炎の原因となっている以上、その原因を取り除くための治療が重要であることは言うまでもない。しかし腎炎は患者の生活の質(QOL)に大きな影響を与える障害の一つである。したがって、患者のQOLの維持のためには、腎炎に対する積極的な治療、あるいは予防も重要な課題と言って良い。

【0012】

【特許文献1】WO 01/054721

10

20

30

40

50

【非特許文献1】Saag K.G. et al., AM.J.Med.,96, 115, 1994

【非特許文献2】Science, 16 Nov. 2001 Vol.294

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

腎炎の治療において重要なことは、自己免疫症状のコントロールのみならず、腎炎症状の緩和である。すなわち本発明は、腎炎の治療ならびに予防のための技術の提供を課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0014】

ヒトにおいて、免疫システムのバランスが偏る原因の一つは、タイプ1インターフェロンの作用である。タイプ1インターフェロンには、インターフェロン(IFN α)およびインターフェロン(IFN β)が含まれる。IFN α あるいはIFN β は、抗ウイルス活性、あるいは抗腫瘍活性を有するインターフェロンとして知られている。ウイルス感染に伴って、これらのインターフェロンを大量に産生する細胞として同定されたのがインターフェロン産生細胞(以下、IPCと省略する場合がある)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、きわめて高いインターフェロンの産生能を有する。IPCのIFN α 産生能は、たとえば3000pg/mL/10⁶cellsに達する。つまり、細胞の数は少ないが、血中IFN α あるいはIFN β の大部分は、IPCによってもたらされていると言って良い。

【0015】

したがって、IPCのインターフェロン産生、あるいはIPCの細胞数そのものを抑制することができれば、生体内のタイプ1インターフェロンの量を制御することができる。その結果、偏った免疫バランスを調節し、SLEのような自己免疫性疾患のより本質的な治療を実現できる可能性がある。

【0016】

本発明者らは、生体内においてIPCの活性を調節することができれば、自己免疫疾患の症状を改善できると考えた。そして本発明者らは、IPCの細胞表面抗原を認識する数多くの抗体を作製し、IPCの活性に及ぼす影響を解析した。その結果、特定の抗原を認識する抗体は、IPCの活性を調節する作用を有することを明らかにした。更に、その自己免疫疾患の治療効果を解析した。そしてIPCの活性を抑制する抗体によって、特に腎炎の治療効果が得られることを確認して本発明を完成した。すなわち本発明は、以下の腎炎治療剤あるいは予防剤、治療方法、予防方法、並びに治療剤あるいは予防剤のスクリーニング方法に関する。

〔1〕インターフェロン産生細胞の活性抑制物質を有効成分として含有する腎炎の治療剤。

〔2〕インターフェロン産生細胞の活性抑制物質が、インターフェロン産生細胞のインターフェロン産生および細胞の生存のいずれか、または両方を抑制する作用を有する物質である〔1〕に記載の治療剤。

〔3〕インターフェロン産生細胞の活性抑制物質が、インターフェロン産生細胞のインターフェロン産生および細胞の生存のいずれか、または両方を抑制する作用を有する抗体である〔2〕に記載の治療剤。

〔4〕抗体が、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、またはその少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片である〔3〕に記載の治療剤。

〔5〕抗体が、FERM BP 10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM BP 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の、少なくとも抗原結合領域を含む抗体である〔4〕に記載の治療剤。

〔6〕インターフェロン産生細胞の活性を抑制する工程を含む、腎炎の治療方法。

〔7〕抑制すべき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細胞のインターフェロン産生および細胞の生存のいずれか、または両方である〔6〕に記載の治療方

10

20

30

40

50

法。

〔 8 〕 インターフェロン産生細胞の活性を抑制する工程が、インターフェロン産生細胞のインターフェロン産生および細胞の生存のいずれか、または両方を抑制する作用を有する抗体を投与する工程を含む、〔 7 〕に記載の治療方法。

〔 9 〕 抗体が、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、またはその少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片である、〔 8 〕に記載の治療方法。

〔 10 〕 抗体が、FERM BP 10339として寄託されたハイブリドーマ3D3#7、またはFERM BP 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の、少なくとも抗原結合領域を含む抗体である〔 9 〕に記載の治療方法。

〔 11 〕 次の工程を含む、被験化合物の腎炎の治療効果の検出方法。

10

(1) インターフェロン産生細胞とインターフェロン産生細胞のインターフェロン産生誘導物質を、以下のi) iii)のいずれかの順序で接触させる工程、

i) 被験化合物とインターフェロン産生細胞を接触後に、インターフェロン産生を誘導する細胞刺激剤をインターフェロン産生細胞に接触させる、

ii) 被験化合物とインターフェロン産生を誘導する細胞刺激剤を同時にインターフェロン産生細胞に接触させる、または

iii) インターフェロン産生を誘導する細胞刺激剤をインターフェロン産生細胞に接触させた後に、被験化合物とインターフェロン産生細胞を接触させる

(2) インターフェロン産生細胞の活性を測定する工程、および

(3) 対照と比較して、インターフェロン産生細胞の活性が抑制されたとき、被験化合物の腎炎の治療効果が検出される工程

20

〔 12 〕 細胞刺激剤がウイルス、ウイルスの構成要素、およびバクテリアのDNA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〔 11 〕に記載の方法。

〔 13 〕 被験化合物が、インターフェロン産生細胞を認識する抗体またはその少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片である〔 11 〕に記載の方法。

〔 14 〕 〔 11 〕に記載の方法によって腎炎の治療効果が検出された被験化合物を選択する工程を含む、腎炎の治療効果を有する化合物のスクリーニング方法。

〔 15 〕 〔 14 〕に記載のスクリーニング方法によって選択された化合物を有効成分として含有する腎炎の治療剤。

〔 16 〕 インターフェロン産生細胞の活性抑制物質の、腎炎の治療剤の製造における使用。

30

【 0 0 1 7 】

あるいは本発明は、上記スクリーニング方法によって選択された化合物の、腎炎の治療剤の製造における使用に関する。更に本発明は、インターフェロン産生細胞の活性抑制物質の、腎炎の治療における使用に関する。加えて本発明は、腎炎の治療に利用されることを表示したインターフェロン産生細胞の活性抑制物質を有効成分として含有する医薬組成物を含む、腎炎の治療用の医薬パッケージを提供する。

ところで、IPCを認識する既知のモノクローナル抗体である抗BDCA 2モノクローナル抗体(Dzionic, A. et al. J.Immunol. 165: 6037 6046, 2000.)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)。しかしこれらの抗体の腎炎に対する治療効果は未知である。

40

【 発明の効果 】

【 0 0 1 8 】

本発明により、IPCを標的とする腎炎の治療剤が提供された。すなわちIPCの活性抑制剤によって、腎炎を治療しうることが明らかとなった。IPCは、たとえばIPCの細胞表面抗原を認識する抗体などの投与によってその活性が抑制される。たとえば、BST2並びにそのホ

50

モログに対する抗体は、IPCに結合してそのIFN産生および細胞の生存そのものに対して抑制的に作用する。そしてBST2に結合する抗体は、生体内に投与した場合に、実際に腎炎に対する治療効果が確認された。

【0019】

本発明においては、IPCの機能調節によって腎炎の治療効果を達成した。ところで、IFNの産生を抑制する抗体として抗BDCA 2抗体、および抗BDCA 4抗体が知られている。そしてこれらの抗体がSLE患者の自己免疫症状に対する治療効果を示す可能性が示唆されている(Blomberg S. et al. Arthritis Rheum. 48. 2524, 2003)。しかしこれらの抗体の腎炎に対する影響は明らかでない。一方本発明は、IFNの機能調節ではなく、IFNを産生する細胞を標的とする腎炎の治療戦略を提供した。つまり本発明のアプローチは、より本質的な腎炎治療を可能とする。より具体的には、たとえば、本発明においては次のようなメリットが期待できる。

【0020】

まず、IPCの活性抑制剤は、少量でも高度な治療効果を達成することができる。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。抗体あるいは可溶性受容体などによってIFNの機能を調節する場合、IFNの濃度に応じた治療剤が必要となる。一方、IPCの活性調節剤は、きわめて多量のIFNを産生しているIPCに直接作用する。そのため、IFNの産生を効率的に抑制することができる。一般的に、抗体医薬の製造コストは高い。現在のところ、製造コストの大幅な抑制を実現できる方法は確立されていない。したがって、治療に必要な抗体の投与量が少ないことは、経済的な大きな利点である。また投与量が少ないことは、経済的に有利なだけでなく、副作用の危険性を小さくすることにもつながる。

【0021】

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。IFNに結合した抗体は免疫複合体を形成し、貪食細胞などの作用によって速やかに除去される。そして、抗体のIFN活性中和作用は失われる。IPCは高度なIFN産生機能を有する細胞である。したがって、抗IFN抗体の作用によって一時的にIFN濃度を低下させたとしても、IFNは再び速やかに補充されてしまう可能性が高い。

一方、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。つまり、新たなIPCが供給されるまでは、IFN産生の抑制効果が持続する。またIPCが産生し得る他の炎症性サイトカインの産生も直接的あるいは間接的に抑制されることになる。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。その結果、腎炎の高度な治療効果が達成される。特に腎炎のような慢性の疾患の治療方法においては、治療効果の持続性が大きな利点となる。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【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、SNK03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濃

10

20

30

40

50

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に対する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($\mu\text{g/mL}$)を、縦軸は培養上清中のIFN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SNK03のインターフェロン産生能に対する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($\mu\text{g/mL}$)を、縦軸は培養上清中のIFN濃度(pg/mL)を示す。CTLはコントロール抗体で処理した横軸の場合の結果を示す。SNK03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6】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 mBST2D His、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。

【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)はエキ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)はエキソンマッピングを示す。

【図9】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に対する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。

【図10】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に対する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濃度(pg/mL)を示す。

【図11】抗体を投与したマウスから採取した細胞の解析結果を示す図である。(a)は投与のスケジュールを示す。(b)は骨髓細胞を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し、IgGはコントロール抗体を示す。

【図12】ウイルスを感染させたマウスにおける、抗マウスBST2抗体SNK01の投与の効果を示す。(a)は投与のスケジュールを示す。(b)は血清中のINF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の割合を示し、横軸が投与した抗体を、縦軸がIPCの割合を示す。「抗体なし」は抗体のかわりにPBSのみを投与した群を示す。

【図13】各種マウスにおけるIPCの細胞数を解析した結果の図である。縦軸は各種臓器でのIPCの割合(%)を示す。横軸はマウスの系統を示し、F1はNZBとNZWを掛け合わせたマウスを示す。

【図14】各種マウス由来の骨髓細胞を用いて、抗体のIFN産生に及ぼす影響を示す図である。骨髓細胞をインフルエンザウイルスPR8(上段)あるいはCpG(下段)で刺激した際に産生したIFNの濃度を測定した結果であり、縦軸がIFN濃度(pg/mL)を、横軸は由来のマウスを、各カラムは処理に用いた抗体を示す。

【図15 a b】ループス腎炎発症モデルを用いて抗体の効果を検討した結果を示す図である(n=10)。(a)は抗体投与のスケジュールを示す。(b)は抗体を投与したマウス群の蛋白尿頻度の経時変化を示す。

【図15 c】ループス腎炎発症モデルを用いて抗体の効果を検討した結果を示す図である(n=10)。(c)は個々のマウスの尿中の蛋白量を示す。縦軸の蛋白尿度は1: ~37mg/dl、2: ~74mg/dl、3: ~111mg/dl、4: ~333mg/dl、5: ~1000mg/dl、6: ~3000mg/dlの蛋白量

10

20

30

40

50

を示す。 が生存マウスの、 は死亡マウスの値である。

【図16】ループス腎炎発症モデルを用いて抗体の効果を検討した結果を示す図である (n=10)。横軸は投与した抗体、縦軸は抗体を投与したマウスの5ヶ月齢での血清中サイトカインの濃度を示す。図中の数字は平均値を示す。

【図17】ループス腎炎発症モデルを用いて、発症後に抗体を投与し、その治療効果を検討した結果を示す図である (n=6)。横軸は投与した薬剤を示し、PDは水溶性プレドニン (塩野義製薬社)を示す。縦軸の蛋白尿度は図15cと同様に、1: ~37mg/dl、2: ~74mg/dl、3: ~111mg/dl、4: ~333mg/dl、5: ~1000mg/dl、6: ~3000mg/dlの尿中蛋白量を示す。 は生存マウスの、 は死亡マウスの値である。図中の数字は平均値を示す。

【発明を実施するための最良の形態】

【0023】

本発明は、インターフェロン産生細胞の活性抑制物質を有効成分として含有する腎炎の治療剤に関する。

本発明において、腎炎とは腎臓による尿のろ過機能の阻害によってもたらされる疾患をいい、その原因は限定されない。腎臓のろ過機能の低下は、蛋白質や血液の尿への漏出を指標として診断される。

【0024】

本発明において、免疫応答を発症メカニズムに含む腎炎は、治療対象として好ましい。免疫応答を発症メカニズムに含む腎炎には、自己免疫疾患に伴う腎炎が含まれる。たとえば免疫複合体の糸球体への沈着をともなう腎炎を、本発明における治療対象として示すことができる。このような腎炎は、免疫複合体性腎炎 (immune complex nephritis) と呼ばれる。免疫複合体を構成する抗原あるいは抗体は、自己のものであっても外来性抗原であっても良い。このような腎炎として、ループス腎炎を示すことができる。あるいは、自己免疫疾患に伴う腎炎としては、たとえば糸球体に対する自己抗体によってもたらされる腎炎、または糸球体基底膜に対する自己抗体によってもたらされる抗基底膜抗体性腎炎 (anti basement membrane nephritis) を示すことができる。

【0025】

本発明において、自己免疫疾患とは、免疫機能によって組織の障害や炎症がもたらされていることを言う。免疫機能には、抗体による液性免疫と、免疫担当細胞による細胞性免疫が含まれる。本発明における自己免疫疾患は、自己抗原に対する免疫機構の発動によって定義することもできる。ここでいう自己抗原には、健常者の組織に存在する抗原に加えて、宿主に何らかの手段によって導入された外来性の抗原も含まれる。たとえば、感染、移植、あるいは接触などによって生体に導入された外来性の抗原に対する免疫機能の攻撃が細胞あるいは組織を障害することがある。このような障害は、本発明における自己免疫疾患に含まれる。生体が自己免疫疾患を有していることは、自己抗原に対する免疫機構の反応性を指標として検出することができる。自己免疫疾患の指標とすることができる自己抗原としてIgGなどが知られている。

【0026】

本発明において、自己免疫疾患に伴う腎炎とは、自己免疫機構による細胞または組織の障害が観察され、かつ腎臓における炎症が見られる状態とすることができる。本発明における腎炎は、自己免疫機構による直接的な障害のみならず、間接的な障害も含まれる。たとえば、免疫担当細胞の機能亢進による炎症性サイトカインの産生過剰に起因する腎炎は、自己免疫疾患を伴う腎炎の代表的な病態である。更に、自己免疫疾患を含む、複合的なメカニズムによってもたらされる腎炎は、本発明における治療の対象である腎炎に含まれる。たとえばループス腎炎は、本発明における自己免疫疾患を伴う腎炎の代表的な疾患である。

【0027】

本発明において、ループス腎炎とは、全身性エリトマトーデス (SLE) が原因で起こる腎炎をいう。より具体的には、自己免疫性疾患の症状と、腎炎を伴う疾患が、ループス腎炎に含まれる。自己免疫性疾患の症状は、たとえば、抗2本鎖DNA (dsDNA) 抗体などの自己

10

20

30

40

50

抗体を指標として、確認することができる。ループス腎炎は本発明における自己免疫疾患を伴う腎炎として好ましい。

【0028】

以上のような自己免疫疾患は、いずれもIPCによって自己免疫機構の亢進がもたらされていると考えられる。したがって、IPCの機能抑制に基づく自己免疫疾患の調節によって治療効果が期待できる。したがって、本発明においては、これらの疾患を、IPCの機能亢進による自己免疫疾患を有する腎炎と言うこともできる。

【0029】

本発明において、腎炎の治療とは、腎炎症状を抑制することに加え、その進行を遅らせること、あるいは腎炎症状への進行を防ぐことを含む。より具体的には、たとえば次に示すような腎炎に特徴的な症状の少なくとも一つの症状を抑制、その進行の防止、あるいは症状の発生そのものを防ぐことによって、腎炎の治療効果が達成される。

- 蛋白尿、
- 血尿、
- 血液のろ過機能低下に伴う窒素化合物の血中濃度の上昇
- 糸球体における免疫複合体の沈着、あるいは
- 腎臓組織に対する自己抗体の沈着等

したがって、本発明は、腎炎の予防を含む。すなわち本発明は、IPCの活性抑制物質を有効成分として含む、腎炎の治療剤および予防剤の、いずれかまたは両方を提供する。あるいは本発明は、IPCの機能を抑制する工程を含む、腎炎の治療方法および予防方法の、いずれかまたは両方を提供する。

【0030】

上記の腎炎に特徴的な症状の進行状態を評価する方法は公知である。たとえば尿中のアルブミン濃度は、一般に、生化学的な反応に基づく尿試験紙による方法、あるいはイムノアッセイによって測定することができる。同様に、尿中の血液の検出には、ヘモグロビンを検出するための尿試験紙が用いられている。また腎機能の指標となる血中の含窒素化合物としては、尿素、尿酸、およびクレアチンを示すことができる。中でもクレアチンは、代表的な腎機能マーカーである。クレアチンは、ヤッフエ法や酵素的な測定方法によって測定することができる。更に腎臓組織における免疫複合体あるいは自己抗体の沈着は、腎臓組織の顕微鏡観察により検出することができる。検査に必要な腎臓組織は、腎生検(renal biopsy)によって生体から採取することができる。

【0031】

また、本発明におけるインターフェロン産生細胞(IPC)とは、IFN産生能を有する細胞をいう。たとえば、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の発現が検出される細胞をIPCとして同定することができる。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産生能を有する細胞を言う。中でも細胞表面に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は、IPCとして好ましい。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(Dzionic, A. et al. J. Immunol. 165: 6037-6046, 2000.)。したがって、BDCA 2陽性細胞は、本発明におけるIPCとして好ましい。

[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

【0032】

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

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

10

【 0 0 3 3 】

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。すなわち、IPCの活性抑制剤には、IPCが有する機能の少なくとも一つを抑制する任意の物質が含まれる。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。そして、これらの機能の両方あるいはいずれかを抑制する物質を、IPCの活性抑制剤として利用することができる。

20

【 0 0 3 4 】

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 の関連性が指摘されている。IFN 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 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 は重要である。

【 0 0 3 5 】

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 によってもたらされる病態を緩和することができる。

30

【 0 0 3 6 】

本発明において、好ましいIPCの活性抑制剤は、IPCの細胞表面抗原を認識し、その活性を抑制する抗体である。具体的には、IPCのインターフェロン産生能、およびIPCの細胞数のいずれか、または両方を抑制する抗体である。ある抗体が、IPCの活性を抑制することは、たとえば後に述べる腎炎の治療効果の検出方法などによって確認することができる。たとえば本発明者らは、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が、IPCの活性を抑制することを確認した。

40

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、またはその少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片を有効成分として含有する腎炎の治療剤に関する。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、またはその少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片を投与する工程を含む、腎炎の治療方法に関する。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、またはその少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片の、腎炎の治療剤の製造における使用に関する。

【 0 0 3 7 】

本発明においてIPCは、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

50

、およびマウスにおいては、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細胞群は、高度なIFN産生能を有することが確認された（以下、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細胞群をBST2陽性細胞と記載する場合がある）。したがって、ヒト、およびマウスのBST2陽性細胞は、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。

【 0 0 3 8 】

本発明者らは、BST2あるいはそのホモログに対する抗体が、IPCの活性を抑制することを明らかにした。そして、IPCの活性抑制を通じて、腎炎の症状を緩和しうることを確認した。すなわち本発明者らは、IPCの活性を抑制する方法を見出し、そして実際にその方法によってIPCの活性を抑制することによって腎炎の治療を実現できることを確認した。これらの知見に基づいて、IPCの機能の抑制が、腎炎の治療戦略として有用であることが明らかにされた。

【 0 0 3 9 】

その他、BDCA 2に対する抗体(Dzionic, A. et al. J.Immunol. 165: 6037 6046, 2000.)も、IPCの機能を抑制することが明らかにされている(Dzionic, A. et al. J. Exp. Med. 194:1823 34. 2001.)。したがって、BDCA 2に結合する抗体も、本発明における「IPC活性抑制物質」として利用することができる。

【 0 0 4 0 】

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HM1.24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HM1.24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; ; W098/14580)。ヒト化抗HM1.24抗体は、造血組織の癌に対する治療効果を有している(W002/064159)。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。また、ヒトBST2に特異的に結合する抗体が、T細胞やB細胞の活性化を抑制し、自己免疫疾患などの治療薬となりうることが示唆されている(特開平10 298106)。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。

【 0 0 4 1 】

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。

【 0 0 4 2 】

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ーションの存在を明らかにした。このスプライシングバリエーションは、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。

【0043】

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。しかしここで言う多型は、異なる塩基配列が見出される割合（分布率）とは無関係である。

10

【0044】

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ェント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。

【0045】

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ーションである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。

20

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：18	配列番号：19	(105)

30

【0046】

なおストリンジェントな条件とは、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示すことができる。ストリンジェンシーは、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ェンシーを得られるように適宜調節することができる。

40

【0047】

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の単離が可能である。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。

【0048】

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

50

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、PSI 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)]。

10

【0049】

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)。

20

【0050】

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、インシリコクローニングによって、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。

30

【0051】

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、本発明における抗体として利用することができる。具体的には、パパインあるいはペプシンによる消化によって、FabあるいはF(ab')₂などの抗体断片を得ることができる。これらの抗体断片は、抗原との結合親和性を有する抗体分子として利用することは周知である。あるいは、必要な抗原結合活性を維持している限り、遺伝子組み換えによって構築された抗体を用いることもできる。遺伝子組み換えによって構築された抗体とは、たとえばキメラ抗体、CDR移植抗体、あるいはシングルチェーンFv等を示すことができる。任意の免疫原を利用してこれらの抗体を得る方法は公知である。

40

【0052】

本発明において、抗体は、必要に応じて修飾することができる。本発明によれば、BST2または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の細胞数を抑制する作用を有する。すなわち、抗体そのものがIPCに対する細胞傷害性を有していると考えられた。強いエフェクター作用を示す抗体のサブクラスは公知である。あるいは、抗体を細胞傷害物質(cytotoxic agent)によって修飾することによって、IPCの活性抑制効果を更に増

50

強することができる。細胞傷害物質としては、以下のような物質を示すことができる。

トキシン類：緑膿菌毒素(Pseudomonas Endotoxin; PE)、ジフテリアトキシン、リシン

放射性同位元素：Tc^{99m}、Sr⁸⁹、I¹³¹、Y⁹⁰

抗癌剤：カリキアマイシン、マイトマイシン、パクリタキセル

蛋白質からなるトキシン類は、2官能性試薬によって抗体あるいはその断片などに結合することができる。あるいは、抗体をコードする遺伝子にトキシン類をコードする遺伝子を接合し、両者の融合蛋白質を得ることもできる。放射性同位元素を抗体に結合する方法も公知である。たとえば、キレート剤を利用して、抗体を放射性同位元素で標識する方法が公知である。更に抗癌剤は、糖鎖あるいは2官能性試薬などの利用により、抗体に結合することができる。

10

【0053】

本発明において用いられる抗体は、人為的に構造を改変された抗体であっても良い。たとえば、抗体の細胞傷害作用や安定性を改善するための様々な修飾方法が公知である。具体的には、重鎖の糖鎖が改変されたイムノグロブリンが知られている(Shinkawa, T. et al. J. Biol. Chem.278:3466 3473. 2003.)。糖鎖の改変によって、イムノグロブリンのADCC(抗体依存性の細胞傷害;Antibody Dependent Cell mediated Cytotoxicity)活性が増強された。あるいは、Fc領域のアミノ酸配列を改変されたイムノグロブリンも公知である。すなわち、イムノグロブリンのFc受容体との結合活性を人為的に高めることによって、ADCC活性が増強された(Shield,RL.et al. J.Biol.Chem. 276;6591 6604, 2001.)。

【0054】

また、Fc受容体に結合したIgGは、細胞内にいったん取り込まれる。その後、エンドソームに発現したFc受容体と結合して、再び血中に放出される現象が明らかにされている。Fc受容体との結合活性が高いIgGは、細胞に取り込まれた後に再び血中に放出される可能性が高まる。その結果、IgGの血中における滞留期間が延長される(Hinton,PR. et al. J Biol Chem. 279:6213 6216. 2004)。その他、Fc領域のアミノ酸配列の改変は、CDC(補体依存性の細胞傷害作用;Complement Dependent Cytotoxicity)活性の変化をもたらすとも言われている。これらの改変を施した抗体を本発明における抗体として用いることができる。

20

【0055】

たとえばモノクローナル抗体は、当該モノクローナル抗体を産生する抗体産生細胞から採取することができる。本発明に用いることができるモノクローナル抗体の産生細胞は、たとえばBST2またはそのホモログ、その断片、あるいはそれらを産生する細胞またはその細胞膜分画を免疫原として免疫動物に投与し、その抗体産生細胞をクローニングすることによって取得することができる。より具体的には、本発明に用いる抗体は、たとえば次の工程を含む方法によって得ることができる。

30

(1)BST2またはそのホモログ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

40

(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。

【0056】

一般的なモノクローナル抗体の製造方法においては、免疫細胞と腫瘍細胞との細胞融合によって得られるハイブリドーマが抗体産生細胞として利用される。本発明における免疫原には、BST2またはそのホモログ、あるいはその断片を用いることができる。免疫原は、それをコードする遺伝子で形質転換した細胞から精製することができる。更に、BST2またはそのホモログを発現している細胞を免疫原として利用することができる。このような細胞としては、具体的には以下のような細胞を示すことができる。これらの細胞の細胞膜分画を免疫原とすることもできる。

50

- 生体から採取されたIPC
- 造血幹細胞などから分化誘導されたIPC
- 外来性のBST2またはそのホモログ遺伝子を発現可能に保持する細胞

生体からIPCを採取するためには、たとえば先に述べたような細胞表面マーカーの発現プロファイルに基づいて、目的とする細胞を採取すればよい。複数の細胞表面マーカーを指標として特定の細胞を集めるための方法は公知である。たとえば免疫染色とセルソーターを利用することによって、目的とする発現プロファイルに適合する細胞を容易に分取することができる。たとえばヒトのIPCは、BDCA 2陽性細胞を選択することにより、IPCが濃縮される。ヒトから採取されたIPCは、必要に応じて活性化された後に免疫原として利用される。

10

IPCは、生体の末梢血あるいは造血組織以外に、培養細胞として得ることもできる。たとえばヒトおよびマウスの造血幹細胞を培養し、IPCに分化させることによって大量に得ることができる。ヒトおよびマウス造血幹細胞をin vitroでIPCに分化させるための条件は公知である。

【0057】

たとえば、in vitroにおける造血幹細胞からのヒト(Blom, B. et al. J. Exp. Med. 192: 1785-1796, 2000.; Chen, W. et al. Blood 103: 2547-2553, 2004.)、およびマウス(Gil liert et al 2002, J. Exp. Med. 958-953)のIPCの誘導が報告されている。あるいはin vivoでのマウスIPCの誘導も公知である(Bjorck らのBlood 2001, 3520-3526)。ただし、これらの方法によって誘導されたIPCを免疫原に用いた報告は無い。しかし本発明者らは、in vitroで分化させたIPCが、IPCを認識するモノクローナル抗体を得るための免疫原として有利であることを見出した。特に、この免疫原の使用によって、マウスIPCのIFN産生能を調節するモノクローナル抗体が得られることは、まったく予想されなかった。

20

【0058】

具体的には、造血幹細胞を含む細胞集団をIPC誘導剤の存在下で培養することにより、IPCへの分化が誘導される。造血幹細胞を含む細胞集団としては、たとえば骨髄細胞を用いることができる。またIPC誘導剤には、FLT 3リガンド、あるいはFLT 3リガンドとトロンボポエチン(TPO)の組み合わせを用いることができる。培地中のFLT 3リガンドの濃度は、通常1 ~ 100 ng/mLとすることができる。その他の培養条件は、一般的な血液細胞の培養条件を応用すればよい。すなわち基礎培地としては、RPMI1640等を用い、更に10%程度の牛胎児血清を加えることができる。あるいはヒトIPCの誘導においては、Yssel's Mediumが用いられた。in vitroにおけるIPCへの分化は、ヒトでは、たとえば25日前後にピークを迎える。

30

【0059】

培養された造血幹細胞から、IPCに分化した細胞を取得すれば、免疫原のためのIPCを得ることができる。実際には、いくつかの細胞表面マーカーを利用して、IPCに特徴的な細胞表面抗原を有する細胞を分取する。すなわち、たとえばBDCA 2陽性細胞をヒトIPCとして取得することができる。あるいは、CD11c陽性、CD11b陰性、およびB220陽性の細胞分画をセルソーターで分取しマウスIPCを得ることができる。

40

あるいは、既にIPC特異的であることが明らかな抗体を利用して、当該抗体陽性の細胞をIPCとして分取することもできる。本発明者らが樹立した、マウスIPC特異抗原を認識するモノクローナル抗体産生細胞2E6(WO 2004/013325, FERM BP 8445)が産生するモノクローナル抗体を、マウスIPCの分取に利用することができる。

【0060】

IPCは、末梢血から分取することもできる。しかし先に述べたようにIPCの末梢血におけるポピュレーションは極めて低いので、末梢血からIPCを採集するには多量の血液が必要となる。したがって、免疫原とするIPCには、造血幹細胞から分化させた細胞を利用するのが有利である。

【0061】

本発明に用いるモノクローナル抗体の調製においては、IPCのみならず、配列番号：2

50

、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、またはその断片を免疫原として利用することもできる。本発明のモノクローナル抗体は、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を抗原として認識していることが明らかにされた。したがって、これらの蛋白質を免疫原として用いることによって、本発明のモノクローナル抗体を得ることができる。

【0062】

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は、組み換え体として得ることができる。たとえば配列番号：1に記載の塩基配列は、配列番号：2に記載のアミノ酸配列をコードしている。また配列番号：3に記載の塩基配列は配列番号：4に記載のアミノ酸配列をコードしている。したがって、これらの塩基配列からなるDNAを適当な宿主-ベクターを使って発現させれば、目的とする蛋白質を得ることができる。

10

【0063】

あるいは、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からなるオリゴペプチドを免疫原とすることもできる。免疫原として選択すべきアミノ酸配列は、たとえば5-50、好ましくは7-20程度のアミノ酸からなる。任意のアミノ酸配列を有するオリゴペプチドを得る方法は公知である。たとえば、化学的にアミノ酸を結合させて、目的とするアミノ酸配列を有するオリゴペプチドを得ることができる。あるいは、上記組み換え体として得られた全長アミノ酸配列を有する蛋白質を切断することによって、所定のアミノ酸配列を有する断片を得ることができる。得られたオリゴペプチドは、適当なキャリア-蛋白質と結合することによって、より免疫原性を高めることができる。キャリア-蛋白質には、キーホールリンペットヘモシアニンやウシ血清アルブミンなどが用いられる。

20

【0064】

配列番号：2と、配列番号：4および配列番号：6のアミノ酸配列の大部分は一致している。したがって、共通のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列を利用することによって、これらの蛋白質の全てを認識するモノクローナル抗体を得ることができる。また3種類の蛋白質のそれぞれについて、2種類が共有するアミノ酸配列を利用することによって、特定の2つの蛋白質を、他の1つと識別することができる。あるいは各アミノ酸配列に固有のアミノ酸配列を利用することによって、各蛋白質を特異的に識別するモノクローナル抗体を取得することもできる。たとえば、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のアミノ酸配列は、配列番号：4に固有のアミノ酸配列である。同様に、配列番号：6に記載のアミノ酸配列においては、N末端から96~100のアミノ酸配列が、配列番号：6に固有のアミノ酸配列である。

30

【0065】

続いて免疫原を、適当な免疫動物に免疫する。IPCは適当なアジュバントとともに免疫動物へ投与することができる。あるいは、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蛋白質、若しくはその部分アミノ酸配列からなるペプチドを、アジュバントとともに免疫動物に投与することができる。

40

【0066】

更に、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コードするDNAを発現可能に保持した形質転換細胞を免疫原として利用することができる。たとえば配列番号：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のコード領域を構成する塩基配列を含むDNAは、上記DNAとして好ましい。これらのDNAを適当な発現ベクターに組み込み、宿主細胞を形質転換すれば免疫原として有用な形質転換細胞を得ることができる。

50

【0067】

免疫原とするための宿主細胞は、免疫動物と同じ種に由来する細胞とすることができる。同種の細胞を用いることにより、外来性の蛋白質に対する特異的な免疫応答を誘導することができる。たとえば、免疫動物にラットを用いるのであれば、ラットに由来する宿主細胞を用いるのが有利である。上記蛋白質を含む形質転換細胞の分画を免疫原として用いることもできる。実施例に示したように、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には、膜貫通ドメインが見られた（図8の膜貫通領域；transmembrane region）。したがって、これらのアミノ酸配列を有する蛋白質は、細胞膜に発現する可能性がある。実際にCOS細胞に発現させた場合には、配列番号：8および配列番号：10に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質は、形質転換体培養物の沈殿分画においてより多くの蛋白質が検出された。したがって、上記蛋白質を発現する細胞の、細胞膜分画を免疫原として利用できる。

10

【0068】

本発明における免疫動物は、IPCを異物と認識するあらゆる非ヒト脊椎動物を利用することができる。モノクローナル抗体を得るためには、ハイブリドーマとするための融合パートナーの入手が容易な動物が有利である。たとえば、マウス、ラット、ラビット、ウシ、ヤギなどの細胞に由来するハイブリドーマの樹立が確立されている。これらの免疫動物を、本発明に用いることができる。一方アジュバントには、フロイントの完全アジュバントやフロイントの不完全アジュバント等が用いられる。

【0069】

免疫動物は、3～10日間隔で複数回免疫される。1回の免疫に用いられるIPCの数は、任意である。通常、 $10^3 \sim 10^8$ 、たとえば 10^6 のIPCが免疫される。また蛋白質やペプチドによる免疫においては、一般に $1 \sim 100 \mu\text{g}$ が免疫される。複数回の免疫を経た免疫動物から免疫担当細胞を回収し、目的とする抗体を産生する細胞をクローニングすることにより、本発明のモノクローナル抗体を得ることができる。免疫担当細胞とは、免疫動物において抗体産生能を有する細胞を言う。

20

【0070】

免疫担当細胞は、たとえばハイブリドーマ法によってクローニングすることができる。免疫担当細胞は、1つの細胞が1種類の抗体を産生している。したがって、1つの細胞に由来する細胞集団を確立すること（すなわちクローニング）ができれば、モノクローナル抗体を得ることができる。ハイブリドーマ法とは、免疫担当細胞を適当な細胞株と融合させ、不死化する（immortalize）した後にクローニングする方法を言う。ハイブリドーマ法に有用な多くの細胞株が知られている。これらの細胞株は、リンパ球系細胞の不死化効率に優れ、かつ細胞融合に成功した細胞の選択に必要な各種の遺伝マーカーを有している。更に抗体産生細胞の取得を目的とする場合には、抗体産生能を欠落した細胞株を用いることもできる。

30

【0071】

たとえばマウスミエローマP3x63Ag8.653(ATCC CRL 1580)は、マウスやラットの細胞融合に有用な細胞株として広く用いられている。ヒトのIPCを免疫原に用いるのであれば、マウスやラットを免疫動物として利用することができる。一方、後に述べる実施例においては、マウスのIPCを免疫原としているので、免疫動物はマウス以外の動物（たとえばラット）となる。一般にハイブリドーマは、同種の細胞の融合によって作成されるが、近縁の異種間でのヘテロハイブリドーマからモノクローナル抗体を取得することもできる。

40

【0072】

細胞融合の具体的なプロトコルは公知である。すなわち、免疫動物の免疫担当細胞を適当な融合パートナーと混合し、細胞融合させる。免疫担当細胞には、脾細胞や末梢血B細胞などが用いられる。融合パートナーとしては、先に述べた各種の細胞株を利用することができる。細胞融合には、ポリエチレングリコール法や、電気融合法が用いられる。

次に、融合細胞が有する選択マーカーに基づいて、細胞融合に成功した細胞が選択される。たとえばHAT感受性の細胞株を細胞融合に用いた場合には、HAT培地において成育する

50

細胞を選択することによって、細胞融合に成功した細胞が選択される。更に選択された細胞が産生する抗体が、目的とする反応性を有していることを確認する。

【0073】

各ハイブリドーマは、抗体の反応性に基づいて、スクリーニングされる。すなわち、BS T2およびそのホモログのいずれかまたは両方に結合する抗体を産生するハイブリドーマが選択される。好ましくは、選択されたハイブリドーマをサブクロニングし、最終的に目的とする抗体の産生が確認された場合に、本発明のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマとして選択する。

【0074】

具体的には、たとえば配列番号：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なる蛋白質や、その部分アミノ酸配列からなるペプチドを抗原としてスクリーニングすることができる。抗原を適当な固相に結合し、抗原に結合するモノクローナル抗体を、免疫動物のイムノグロブリンを認識する標識抗体によって検出することができる。マイクロプレートの内壁に抗原を結合させ、酵素標識抗体を使ったELISA法を利用すれば、モノクローナル抗体を迅速にスクリーニングすることができる。抗原に対する結合活性が確認されたモノクローナル抗体は、必要に応じて実際にIPCの活性に与える影響が確認される。IPCに対する影響は、たとえば後に述べるような方法によって確認することができる。

【0075】

このようなモノクローナル抗体は、当該ハイブリドーマから抗体の抗原結合領域をコードするcDNAを取得し、これを適当な発現ベクターに挿入することによって発現させることができる。抗体の可変領域をコードするcDNAを取得し、適当な宿主細胞に発現させる技術は公知である。また抗原結合領域を含む可変領域を、定常領域と結合させることによってキメラ抗体とする手法も公知である。

【0076】

更に、モノクローナル抗体の抗原結合活性を他のイムノグロブリンに移植することでもできる。イムノグロブリンの可変領域は、相補性決定領域(CDR)と、フレーム領域で構成されている。各イムノグロブリンの抗原結合特性はCDRによって決定されており、フレームは抗原結合領域の構造を維持している。CDRのアミノ酸配列がきわめて多様性に富むのに対して、フレーム部分のアミノ酸配列は高度に保存されている。CDRを構成するアミノ酸配列を他のイムノグロブリン分子のフレーム領域に組み込むことによって、抗原結合活性も移植できることが知られている。この方法を利用して、異種のイムノグロブリンが有する抗原結合特性をヒト・イムノグロブリンに移植する方法が確立されている。本発明において、抗原結合領域とは、フレームに移植(graft)されたCDRを含みうる。したがって、あるモノクローナル抗体の「抗原結合領域を含む断片」とは、当該モノクローナル抗体のCDRを移植された可変領域を含むヒトイムノグロブリンの断片を含む。

【0077】

このようにして作成されたモノクローナル抗体はいずれも本発明に利用することができる。すなわち、当該モノクローナル抗体の抗原結合領域をコードするcDNAに由来するポリヌクレオチドによってコードされた抗原結合領域を含むイムノグロブリンからなるモノクローナル抗体、あるいはその抗原結合領域を含む抗体断片を本発明に利用することができる。

本発明に利用することができるモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマとして、たとえば、ハイブリドーマ3D3#7あるいは3G7#6を示すことができる。ハイブリドーマ3D3#7およびハイブリドーマ3G7#6は、2005年5月27日付けで独立行政法人産業技術総合研究所内特許生物寄託センターに対して、受託番号FERM BP 10339および受託番号FERM BP 10340として寄託されている。以下に、寄託を特定する内容を記載する。

(a)寄託機関の名称・あて名

名称：独立行政法人 産業技術総合研究所 特許生物寄託センター

あて名：日本国茨城県つくば市東1丁目1番1号中央第6(郵便番号305 8566)

10

20

30

40

50

(b)寄託日：2005年5月27日

(c)受託番号：BP 10339 (ハイブリドーマ3D3#7)

(c)受託番号：BP 10340 (ハイブリドーマ3G7#6)

【0078】

本発明に利用するためのモノクローナル抗体は、それを産生するハイブリドーマを培養しその培養物から回収することができる。ハイブリドーマは、*in vitro*または*in vivo*で培養することができる。*in vitro*においては、RPMI1640などの公知の培地を用いて、ハイブリドーマを培養することができる。培養上清には当該ハイブリドーマが分泌したイムノグロブリンが蓄積される。したがって、培養上清を採取し、必要に応じて精製することにより、本発明のモノクローナル抗体を得ることができる。培地には、血清を添加しない方が、イムノグロブリンの精製が容易である。しかし、ハイブリドーマのより迅速な増殖と、抗体産生の促進を目的として、10%程度のウシ胎児血清を培地に加えることもできる。

10

【0079】

ハイブリドーマは、*in vivo*において培養することもできる。具体的には、ヌードマウスの腹腔にハイブリドーマを接種することにより、腹腔内でハイブリドーマを培養することができる。モノクローナル抗体は、腹水中に蓄積する。したがって、腹水を採取し、必要に応じて精製すれば、必要なモノクローナル抗体を得ることができる。得られたモノクローナル抗体は、目的に応じて適宜、修飾、あるいは加工することができる。

【0080】

BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方に結合する抗体は、IPCに接触させるとその活性を抑制する。したがってこれらの抗体を、本発明におけるIPCの活性抑制剤に利用することができる。すなわち本発明は、下記(a)(c)からなる群から選択される少なくとも1種類の成分を有効成分として含む、腎炎の治療剤を提供する。あるいは本発明は、下記(a)(c)からなる群から選択される少なくとも1種類の成分を投与する工程を含む腎炎の治療方法に関する。更に本発明は、下記(a)(c)からなる群から選択される少なくとも1種類の成分の腎炎の治療剤の製造における使用に関する。

20

(a)BST2およびそのホモログのいずれかまたは両方に結合する抗体、またはその抗原結合領域を含む断片

(b)(a)の抗体の相補性決定領域を移植したイムノグロブリン、またはその抗原結合領域を含む断片、および

30

(c)(a)または(b)に記載の成分をコードするポリヌクレオチド

本発明において、IPCの活性を抑制するモノクローナル抗体としては、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モノクローナル抗体を利用することができる。

【0081】

抗体がIPCのIFN産生活性の抑制作用を有することは次のようにして確認することができる。IPCはウイルスの刺激によってIFNを大量に産生する。IPCに対するウイルス刺激の前、後、あるいはウイルス刺激と同時に抗体を与え、抗体を与えないIPCを対照として、IFNの産生能を比較する。IFN産生能は、IPCの培養上清中に含まれるIFN α やIFN β を測定することによって評価することができる。比較の結果、抗体の添加によって、上清中のIFNの量が有意に低下すれば、試験された抗体は、IFN産生能を抑制する作用を有することが確認できる。これらIFNの測定方法は公知である。IPCは、生体におけるIFNの大部分を産生する細胞である。したがって、IPCのIFN産生能の抑制によって、生体のIFNの産生状態を調節することができる。

40

【0082】

本発明において、IPC活性にはIPCの細胞数の維持が含まれる。したがって本発明におけるIPCの活性の抑制は、IPCの細胞数の抑制を含む。IFN産生と同様に、感染性のウイルスなどの刺激によってIPCの活性化が誘導される。活性化されたIPCの細胞数が、抗体の存在下で抑制されることを確認すれば、当該抗体がIPCの活性を抑制していることがわかる。

50

比較対照としては、IFN産生と同様に、活性を確認すべき抗体と同じ動物種に由来する不活性なイムノグロブリンを用いることができる。IPCの細胞数は、細胞の計数によって定量的に比較することができる。細胞数は、FACSや顕微鏡によって計数することができる。

【0083】

本発明において、好ましいIPCの活性抑制剤は、IPCの細胞表面抗原を認識し、その活性を抑制する抗体である。たとえば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、本発明におけるIPC活性抑制剤として好ましい。抗体を、その抗体が由来する生物種とは異なる宿主に投与する場合には、当該宿主にとって異物と認識されにくい形に加工するのが望ましい。たとえば、次のような分子に加工することにより、イムノグロブリンを異物として認識されにくくすることができる。イムノグロブリン分子を以下のように加工する手法は公知である。

- 定常領域を欠失した抗原結合領域を含む断片(Monoclonal Antibodies : Principles and Practice, third edition, Academic Press Limited. 1995; Antibody Engineering, A Practical Approach, IRL PRESS, 1996)

- モノクローナル抗体の抗原結合領域と宿主のイムノグロブリンの定常領域とで構成されるキメラ抗体(遺伝子発現実験マニュアル 講談社 1994年 (石田 功、安東 民衛 編))

- 宿主のイムノグロブリンにおける相補性決定領域(CDR)をモノクローナル抗体のCDRに置換したCDR置換抗体(遺伝子発現実験マニュアル 講談社 1994年 (石田 功、安東 民衛 編))

【0084】

あるいはヒト抗体遺伝子を組み込まれた非ヒト動物を免疫動物として用いることにより、非ヒト動物を用いながら、ヒト抗体を得ることができる。たとえば、ヒト抗体遺伝子を組み込んだトランスジェニックマウスが、ヒト抗体を製造するための免疫動物として実用化されている(Ishida et al., Cloning and Stem Cells, 4:85 95,2002)。このような動物を用いることにより、ヒトのBST2を抗原として、BST2を認識するヒト抗体を得ることができる。ヒト抗体は、ヒトに投与する抗体として好ましい抗体である。

【0085】

あるいは、ファージディスプレイ法(McCafferty J. et al., Nature 348:552 554,1990 ; Kretzschmar T et.al., Curr Opin Biotechnol. 2002 Dec;13(6):598 602.)によって、ヒトのイムノグロブリン可変領域遺伝子を取得することもできる。ファージディスプレイ法においては、ヒトイムノグロブリン可変領域をコードする遺伝子がファージ遺伝子に組み込まれる。多様なイムノグロブリン遺伝子をソースとして、ファージライブラリーを作成することもできる。ファージは自身を構成する蛋白質の融合蛋白質として、当該可変領域を発現する。ファージによって発現されたファージ表面の可変領域は、抗原との結合活性を維持している。したがって、抗原あるいは抗原を発現した細胞などに結合するファージを選択することによって、ファージライブラリーから、目的とする結合活性を有する可変領域を発現したファージをスクリーニングすることができる。更に、こうして選択されたファージ粒子の中には、目的とする結合活性を有する可変領域をコードする遺伝子が保持されている。すなわち、ファージディスプレイ法においては、可変領域の結合活性を指標として、目的とする結合活性を有する可変領域をコードしている遺伝子を取得することができる。

【0086】

本発明による腎炎の治療剤、または治療方法において、抗体、またはその少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片は、蛋白質として、あるいはそれをコードするポリヌクレオチドとして、投与することができる。ポリヌクレオチドを投与するには、目的とする蛋白質を発現できるように、適当なプロモーターの制御下に目的とする蛋白質をコードするポリヌクレオチドを配置したベクターを利用するのが望ましい。ベクターには、エンハンサーやターミネーターを配置することもできる。イムノグロブリンを構成する重鎖と軽鎖の遺伝子を保持し、イムノグロブリン分子を発現することができるベクターが公知である。

イムノグロブリンを発現することができるベクターは、細胞に導入することにより投与することができる。生体への投与にあたっては、生体への投与によって細胞に感染させることができるものはそのまま投与することができる。あるいは、いったん生体から分離したリンパ球にベクターを導入して再び生体に戻すこともできる(ex vivo)。

【0087】

本発明に基づく腎炎の治療剤、または治療方法において、生体に投与されるモノクローナル抗体の量は、イムノグロブリンとして体重1kgあたり、通常0.5mg~100mg、たとえば1mg~50mg、好ましくは2mg~10mgである。生体への抗体の投与間隔は、治療期間中の生体内におけるイムノグロブリンの有効濃度が維持できるように適宜調節することができる。具体的には、たとえば、1~2週間間隔で投与することができる。投与経路は、任意である。当業者は、治療に際して効果的な投与経路を適宜選択することができる。具体的には、経口的に、あるいは非経口的な投与を示すことができる。たとえば、静脈内注射、筋肉内注射、腹腔内注射、あるいは皮下注射等により、全身あるいは局所に抗体を投与することができる。本発明における非経口投与に適切な製剤として、注射剤、座剤、噴霧剤などがあげられる。また細胞に与える場合には、培養液中に通常1μg/mL、好ましくは10μg/mL以上、より好ましくは50μg/mL以上、更に好ましくは0.5mg/mL以上のイムノグロブリンを与える。

【0088】

本発明の腎炎の治療剤、または治療方法において、モノクローナル抗体は、任意の方法により生体に投与することができる。通常モノクローナル抗体は、薬学的に許容される担体と配合される。モノクローナル抗体には、必要に応じて増粘剤、安定剤、防腐剤および可溶化剤などの添加剤を配合することができる。このような担体または添加剤としては、ラクトース、クエン酸、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、スクロース、デンプン、タルク、ジェラチン、寒天、植物油、エチレングリコールなどが挙げられる。「薬学的に許容される」という用語は、各国政府の監督当局により承認されているか、または各国の薬局方もしくは一般的に認知されている薬局方に動物、哺乳動物、および特にヒトへの使用に関して列記されていることを言う。本発明の腎炎の治療剤は、1回または複数回の用量の凍結乾燥粉末または錠剤の形態で供給することもできる。凍結乾燥粉末または錠剤には、更に、投与の前に該組成物を所望の濃度となるように溶解するための注射用の滅菌済みの水、生理的食塩水または緩衝液を組み合わせることもできる。

【0089】

更に、イムノグロブリンを発現するベクターとして投与する場合には、重鎖と軽鎖を別のプラスミドとしてコトランスフェクトするとして、体重1kgあたり各プラスミドを0.1~10mg、たとえば1~5mgを投与することができる。またin vitroにおいて細胞に導入するためには、1~5μg/10⁶ cellのベクターが用いられる。

【0090】

更に本発明は、次の工程を含む被験化合物の腎炎の治療効果の検出方法に関する。

(1) インターフェロン産生細胞とインターフェロン産生細胞のインターフェロン産生誘導物質を、以下のi) iii)のいずれかの順序で接触させる工程、

i) 被験化合物とインターフェロン産生細胞を接触後に、インターフェロン産生を誘導する細胞刺激剤をインターフェロン産生細胞に接触させる、

ii) 被験化合物とインターフェロン産生を誘導する細胞刺激剤を同時にインターフェロン産生細胞に接触させる、または

iii) インターフェロン産生を誘導する細胞刺激剤をインターフェロン産生細胞に接触させた後に、被験化合物とインターフェロン産生細胞を接触させる

(2) インターフェロン産生細胞の活性を測定する工程、および

(3) 対照と比較して、インターフェロン産生細胞の活性が抑制されたとき、被験化合物の腎炎の治療効果が検出される工程

【0091】

本発明の方法において、細胞刺激剤とはIPCの活性化およびインターフェロン産生を誘

導しうる物質を言う。たとえば、ウイルスやウイルスの構成成分を、細胞刺激剤として示すことができる。具体的には、単純ヘルペスウイルス(Herpes simplex virus;HSV)、あるいはインフルエンザウイルス(Influenza virus)などのウイルスの投与によりIPCが活性化することが知られている。その他、バクテリア中のDNAであるCpGのIPC活性化作用も公知である。これらの細胞刺激剤は、単独で用いても良いし、異なる細胞刺激剤を組み合わせることもできる。細胞刺激剤と被験化合物とは、同時にIPCに接触させても良いし、細胞刺激剤との接触の前あるいは後にIPCと被験化合物を接触させることもできる。

【0092】

本発明において、細胞刺激剤、IPC、および被験化合物は、生体外(in vitro)、生体内(in vivo)、あるいはex vivoにおいて接触させることができる。生体外(in vitro)においては、IPCを培養可能な条件下で、先に述べたような任意の順番で細胞刺激剤および被験化合物をIPCと接触させることができる。また生体内(in vivo)においては、生体内のIPCに対して、被験化合物あるいは細胞刺激剤を投与した後に、IPCを採取する。採取されたIPCを生体外において細胞刺激剤あるいは被験化合物に接触させた後、細胞の活性化のレベルを評価することができる。細胞の活性化のレベルは、細胞が産生するIFNの濃度の変化などによって評価することができる。

10

更にex vivoでの評価においては、生体外で調製されたIPCに対して、細胞刺激剤または被験化合物を接触させる。接触後のIPCを生体に投与し、更に被験化合物または細胞刺激剤を投与する。生体内におけるIPCの活性化のレベルを評価し、被験化合物の作用が評価される。IPCの活性化のレベルは、たとえば血中のIFNのレベルを指標として評価することができる。なお生体外におけるIPCの調製とは、生体からIPCを採取すること、あるいはIPCの前駆細胞の分化誘導によって人工的にIPCを調製することを言う。

20

【0093】

なお本発明の方法における対照としては、被験化合物に代えて腎炎の治療効果が予め知られている物質を用いることができる。たとえば、生理食塩水は治療効果の無い物質である。あるいは腎炎の治療効果を有することが確認されている物質を対象として用い、その物質との相対的な比較によって被験化合物の作用を評価することもできる。

【0094】

本発明による腎炎の治療効果の検出方法において、IPCの活性とは、たとえばIFNの産生レベル、およびIPCの数の、いずれか、または両方を言う。特に好ましい活性は、IPCによるIFNの産生能である。IPCのIFN産生能は、細胞の培養物中に含まれるIFNの量、あるいは濃度を決定することによって比較することができる。各種のIFNを測定するための試薬、あるいはキットが市販されている。あるいは、IPCの細胞数は、IPCの培養物中に存在する細胞数を計数することによって比較することができる。細胞数は、IPCの細胞表面抗原を認識する抗体を使ったFACSによって明らかにすることができる。IPCの細胞表面抗原には、たとえばBST2やBDCA 2などを利用することができる。その他、CD4並びにCD123を、IPCを計数するためのマーカーとすることもできる。

30

【0095】

本発明において、腎炎の治療効果を検出するために必要な試薬には、更にIPCを活性化するための細胞刺激剤、IPCの培養のための培地や培養容器などを組み合わせることもできる。また、IPCの活性化作用に与える影響が明らかな物質を対照として組み合わせることもできる。

40

【0096】

更に本発明の腎炎の治療効果を測定する方法を利用して、腎炎の治療剤の候補化合物のスクリーニング方法が提供される。すなわち本発明は、次の工程を含む、腎炎の治療効果を有する被験化合物のスクリーニング方法に関する。

(1)本発明の腎炎の治療効果を測定する方法によって、被験化合物が有している腎炎の治療効果を測定する工程、および

(2)対照と比較して前記効果が大きい被験化合物を選択する工程

本発明のスクリーニング方法に用いる被験化合物としては、IPCの細胞表面抗原を認識

50

する抗体、その少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片、あるいはその可変領域を含む断片を用いることができる。抗体として、可変領域を発現させたファージライブラリーを用いることもできる。あるいは、コンビナトリアルケミストリーにより合成された化合物標品のほか、動・植物組織の抽出物もしくは微生物培養物等の複数の化合物を含む混合物、またそれらから精製された標品などを候補化合物として用いることもできる。

【0097】

本発明に基づいて、IPC表面抗原を認識する抗体の、腎炎の治療効果を見出すためには、たとえば次の工程を含む検出方法を実施することができる。

(1) インターフェロン産生細胞とインターフェロン産生細胞のインターフェロン産生誘導物質を、以下のi) iii)のいずれかの順序で接触させる工程、

10

i) 抗体とIPCを接触後に、IFN産生を誘導する細胞刺激剤をIPCに接触させる、

ii)抗体とIFN産生を誘導する細胞刺激剤を同時にIPCに接触させる、または

iii)IFN産生を誘導する細胞刺激剤をIPCに接触させた後に、抗体とIPCを接触させる

(2) IPCの活性を測定する工程、および

(3) 対照と比較して、IPCの活性が抑制されたとき、抗体の腎炎の治療効果が検出される工程

本発明に基づく、抗体の腎炎の治療効果の検出方法は、更に当該活性を有する抗体のスクリーニング方法を可能とする。すなわち本発明は、以下の工程を含む、腎炎の治療効果を有する抗体のスクリーニング方法に関する。

(1)本発明の腎炎の治療効果を測定する方法によって、抗体が有している腎炎の治療効果を測定する工程、および

20

(2)対照と比較して前記効果が大きい抗体を選択する工程

本発明の検出方法並びにスクリーニング方法において、抗体とは、天然のイムノグロブリン分子、その抗原結合領域を含む断片、アミノ酸配列や糖鎖が修飾された変異体、および化学的な修飾を施した誘導体が含まれる。抗体の抗原結合領域を含む断片は、イムノグロブリンを酵素的に消化することによって得ることができる。あるいは、当該領域をコードする遺伝子を単離し、適当な発現系において発現させることにより、遺伝子工学的に得ることもできる。このようなイムノグロブリンの組み換え体として、たとえばファージ抗体ライブラリーを示すことができる。一方、IPCおよび細胞刺激剤は、先に示したようなものを利用することができる。

30

【0098】

IPCに対する刺激はIFNの産生を誘導することから、その活性化の調節によってIFN産生を調節することができる。そして本発明者らは、IPCの活性の抑制を通じて、腎炎の治療効果を得られることを明らかにした。したがって、IPCの活性を抑制することができる物質は腎炎の治療剤として用いることができる。すなわち、本発明のスクリーニング方法によって選択することができる化合物は、腎炎の治療剤として有用である。

【0099】

本発明のスクリーニング方法において、腎炎の治療効果を有することが明らかな物質を接触させたIPCを対照として用いれば、この物質よりも治療効果の大きい物質を見出すことができる。IPCは生体中のIFNの大部分を産生する重要な細胞である。したがって、本発明のスクリーニング方法によって得ることができる化合物は、免疫バランスの調節による腎炎の治療剤として重要である。あるいは、本発明のスクリーニング方法によって得ることができる化合物は、免疫バランスの調節による腎炎の治療剤の製造に使用することができる。

40

【0100】

本発明のスクリーニングによって選択された化合物を、必要に応じて、IPC以外の様々な細胞に接触させることにより、他の細胞に対する作用を確認することができる。IPC以外の細胞に対して顕著な増殖抑制や細胞障害作用が検出されなければ、その化合物は安全な治療薬として使用できる可能性が高まる。あるいは、特定の細胞に対する障害作用が確認された場合であっても、局所投与など、投与形態を選択することにより、治療薬として

50

利用できる可能性はある。更に、SLEモデル動物などに投与して、より詳細に腎炎の治療効果を評価することができる。

なお、本明細書において引用された全ての先行技術文献は、参照として本明細書に組み入れられる。

以下、実施例に基づいて本発明を更に詳細に説明する。

【実施例 1】

【0101】

モノクローナル抗体作製プロトコール

免疫原とする細胞は以下のようにして調製した。Balb/cマウス雌(4~6週令)の骨髓細胞を、10ng/mlのFLT 3リガンド(R&D Systems社製)を添加した10%FCS RPMI1640培地〔10%牛胎児血清(FCS)、およびペニシリン、ストレプトマイシンを含むRPMI1640培地〕にて10日間培養した。10日後、IPC(Interferon producing cell)を、CD11c陽性、CD11b陰性、B220陽性分画としてセルソーター(FACSVantage, Becton Dickinson社製)で分離した。抗体はBecton Dickinson社製のものをを用いた。

10

上記の分離した細胞を、0、4、11日目に、片足あたり 1×10^6 個ずつ、完全フロインドアジュバント(CFA:ヤトロン社製)と共にラットのフットパッド(foot pad)へ注入した。12日目に免疫ラットのリンパ節を分離し、リンパ球を採取した。マウスのミエローム細胞P3x63Ag8.653とラットのリンパ球を4:5の割合で混合し、ポリエチレングリコール(PEG)を加えて細胞を融合した。融合後の細胞を十分に洗浄してHAT培地に分散させ、1ウェルあたり 5×10^4 個の細胞を含むように96 well plateにまいた。

20

【0102】

細胞が増殖したウェルの細胞を回収して希釈して、その培養上清をマウス脾臓細胞、及び培養骨髓細胞に対する反応性を指標としてスクリーニングした。スクリーニング方法の詳細は実施例2のとおりである。陽性反応を示したウェルの細胞を限外希釈によりクローニングし、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマクローンを確立した。更に、ハイブリドーマの培養上清、あるいはハイブリドーマをマウスの腹腔内に移植して得られた腹水より精製された抗体の反応性を解析した。

【実施例 2】

【0103】

培養上清のスクリーニング

Balb/cマウス雌(4~6週令)の骨髓細胞を、10ng/mlのFLT 3リガンドを添加した10%FCS RPMI1640培地にて10日間培養した。10日目には約40%の細胞がIPCになった。この細胞を用い、ハイブリドーマ培養上清を1次抗体とし、2次抗体にFITC標識抗ラットIg抗体(BD Pharmingen社製)を用いて染色した。その後、各種抗体(CD11b、CD11c、CD3、CD19、CD45RB、B220、Ly6C;いずれもBecton Dickinson社製)により二重染色し、フローサイトメトリー法により解析(FACS解析)した。

30

【0104】

培養上清陽性分画、陰性分画をそれぞれR2、R3とし各々のGate内での各種抗原の発現をヒストグラムで示した(図1)。作製した数種類の抗体によって染色される細胞群は、文献上で定義されているマウスIPC(Nature Immunol., 2001; 2, 1144 1150.)の細胞表面抗原プロファイルが一致した。したがって、これらの抗体はマウスIPCに特異的に結合する抗体であると考えられた。

40

【実施例 3】

【0105】

抗体で分離した細胞の形態

実施例2と同様に培養した骨髓細胞を、培養上清を1次抗体とし、2次抗体にFITC標識抗ラットIg抗体を用いて染色した。その後、セルソーター(FACSVantage, Becton Dickinson社製)を用いて陽性細胞を分離した。サイトスピン後、ギムザ染色し、顕微鏡下にて観察したところ、IPCに特異的な形態を示した(図2a)。すなわち、この細胞の形は丸く、大きな核を有していた。

50

【 0 1 0 6 】

1x10⁵個の細胞を96 well 丸底プレートにてインフルエンザウイルスPR8と共に24時間37にて培養し、同様にギムザ染色した後、顕微鏡下にて観察したところ、形態的に典型的な樹状細胞に分化した(図2b)。この結果から、上記抗体によって分離された細胞は、ウイルス感染によって樹状細胞に分化するというマウスIPCの特徴を有していることが確認された。このようなマウスIPC特異的なモノクローナル抗体およびその抗体を産生するハイブリドーマのうち、SNK01、SNK03を選択して以降の実験に用いた。

【実施例4】

【 0 1 0 7 】

抗体で分離した細胞のインターフェロン産生能

10

実施例2と同様に培養した骨髄細胞をSNK01、SNK03培養上清および2次抗体で染色後、セルソーターにて陽性、陰性細胞を分離した。各々の分画の細胞、1x10⁵個ずつを96 well 丸底プレートに分注し(100 μl/well)、インフルエンザウイルスPR8を感染させ、24時間後の培養上清中のIFN の濃度を以下のようなELISA法にて測定した。

【 0 1 0 8 】

まずラット抗マウスIFN 抗体(PBL Biomedical Laboratory社製)を96 wellプレートに4 で一晩反応させ、プレートコートした。プレートを洗浄後、培養上清100 μlを添加し、4 で一晩反応させた。プレートを洗浄後、IFN とIFN を認識する標識化抗インターフェロン抗体を添加し、1時間反応させて、検出を行った。それぞれの反応は3連で行い、平均値を求めた。検量線を作成することにより、培養上清中のIFN 濃度を算出した。

20

抗体陽性細胞では、陰性細胞に比べて、高いインターフェロンの産生が認められた。すなわち、モノクローナル抗体SNK01、SNK03が認識する抗原はIPCに特異的な表面抗原であることが確認できた(図3)。

【実施例5】

【 0 1 0 9 】

抗体のマウスインターフェロン産生能への影響

実施例2と同様に培養したマウス骨髄細胞を1x10⁵個ずつ、96 well丸底プレートに分注した。これに抗体、またはコントロール抗体であるラットIgGを添加し、37にて30分間培養後、インフルエンザウイルスPR8を添加し、37にて24時間培養し、培養上清中のIFN を上記実施例4に示したELISAにより測定した(図4)。その結果、SNK01は濃度依存的にIFN の産生を抑制した。また、SNK03抗体も同様に濃度依存的にIFN の産生を抑制した(図5)。

30

【実施例6】

【 0 1 1 0 】

抗体が認識する分子のクローニング

1) IPC cDNAライブラリーの作製

実施例2と同様にFLT 3リガンドで骨髄細胞から誘導したIPCより全RNAをフェノールグアニジン法により抽出し、oligo dTカラムによりmRNAを精製した。精製したmRNAからGubler Hoffman法によりcDNAを合成し、両端にEcoRI NotIアダプター(インビトロジェン社製)を結合後、スパンカラム(クロマスピン400、クロンテック社製)により未反応のEcoRIアダプターおよび500塩基以下の短いcDNAを除去した。得られた両端にEcoRIサイトを有するcDNAを動物細胞用発現用ベクターpME18s(XhoI断片を除いたもの)のEcoRIサイトにT4リガーゼにより結合し、大腸菌DH10(インビトロジェン社製)にエレクトロポレーション法により形質転換した。これを100 μg/mlのカルベニシリンを含むLB培地(LB・カルベニシリン)500mlで30 で一晩培養し、QIA filter plasmid maxi kit(Qiagen社製)により同キットのプロトコールに従ってplasmidを抽出、精製し、IPC cDNAライブラリーを得た。

40

【 0 1 1 1 】

2) COS7細胞による発現クローニング

COS7細胞を6cmディッシュに5x10⁵個ずつ10枚まき、37、5%CO₂存在下で20時間培養後、Effectene transfection Reagent(Qiagen社製)により同製品のプロトコールに従い、上記

50

1) で取得したIPC cDNAライブラリーをtransfectionした。48時間、37℃、5% CO₂下で培養後、PBS (Phosphate Buffered Saline) で洗浄、PBS/5mM EDTAで細胞をディッシュから剥離し、さらにPBSで洗浄後、セルストレーナー (70 μm, ファルコン社製) を通した。遠心後 (1300rpm, 5分) 上清を除去し、PBS/ 0.5%BSA/2mM EDTAを1 ml添加して懸濁し、Fc block (ファージン社製) 40 μlを加え4℃で20分間置いた。これにビオチン化したSNK01抗体30~50 μgを加え、氷上で30分間保持した。PBSで洗浄後、100 μlのPBSに懸濁し、ストレプトアビジンマイクロビーズ (Miltenyi Biotec社製) 10 20 μlを加え10℃で15分静置した。PBS/ 0.5%BSA/2mM EDTAで洗浄することにより過剰なストレプトアビジンマイクロビーズを除去し、1 mlのPBS/ 0.5%BSA/2mM EDTAに懸濁した。AutoMACS (Miltenyi Biotec社製) でposseidsの条件で細胞を分取した。改良Hirt法 (BioTechniques Vol.24,760-762,1998) によりplasmidを抽出、精製した。得られたplasmidを大腸菌DH10にエレクトロポレーション法により形質転換し、LB・カルベニシリン100mlで30℃で一晩培養し、QIA filter plasmid midi kit (Qiagen社製)により同キットのプロトコールに従ってplasmidを抽出、精製した。

10

【0112】

以上の操作を1クールとして、この後同じ操作を4回繰り返し、SNK01抗体に反応する抗原をコードするplasmidを濃縮した。最後に、AutoMACSのかわりにセルソーター (FACS Vantage, Becton Dickinson社製) により陽性細胞を分取し、これらより抽出したplasmidを形質転換した大腸菌DH10を適量LB・カルベニシリンプレートに塗布した。30℃で一晩培養し、現れたコロニーを30個ピックアップし、それぞれよりplasmidを抽出、COS7細胞にtransfectionし、SNK01抗体を用いてFACS解析することにより陽性plasmidを選抜した。

20

【0113】

得られたplasmid上にクローン化されているcDNAの塩基配列を決定し、マウス遺伝子データベースに登録されている塩基配列情報とblastサーチすることにより、その遺伝子を決定した。また、同時にヒト遺伝子データベースをサーチすることによりそのカウンターパートを同定した。

その結果モノクローナル抗体SNK01が結合したクローンは、配列番号：7および、配列番号：9に記載の塩基配列を有していた。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、配列番号：8および配列番号：10に示した。

【0114】

配列番号：9に記載の塩基配列は、マウスBST2として既知の塩基配列であった (GenBank Acc#.BC027328)。一方、配列番号：7に記載の塩基配列は、配列番号：9の塩基配列と部分的に同一の塩基配列を有していたが、3'末端側に異なる塩基配列が見られ、異なるアミノ酸配列をコードしていた。すなわち、配列番号：8に記載のアミノ酸配列のうち、N末端から139位までのアミノ酸配列は、配列番号：10に記載されたアミノ酸配列と一致した。そして配列番号：8に記載のアミノ酸配列において、N末端から140~178番目のアミノ酸は、配列番号：8に記載のアミノ酸配列に固有の配列であった。両者はオータナティブスプライシングによって生じたバリエーションであると考えられた。これらの知見に基づいて、配列番号：7に記載の塩基配列によってコードされるアミノ酸配列 (配列番号：8) からなるタンパク質は、マウスBST2の新規なスプライシングバリエーションであると考えられた。以下、配列番号：7に記載の塩基配列からなる遺伝子をmBST2H、配列番号：9に記載の塩基配列からなる遺伝子をmBST2Dとも称する。(図7(a))

30

40

【0115】

3) FACSによる確認

上記発現クローニング法により得られたプラスミドをQIA filter plasmid midi kit (Qiagen社製)により再度大腸菌より高度に精製し、もう一度COS7細胞にtransfectionした。48時間後、定法に従って、SNK01抗体およびFITC標識抗ラットIg抗体で反応させ、FACS解析を行うことで、plasmid上にクローン化されているcDNAが、抗原をコードしているかどうかを確認した。

その結果、上記モノクローナル抗体SNK01は、プラスミドを導入したCOS7細胞に対する

50

結合が観察された。したがって、プラスミド上にクローン化されているcDNAは、いずれもこのモノクローナル抗体によって認識された抗原をコードしていることが確認された。

【実施例 7】

【0116】

ウエスタンブロッティング法による抗体の反応性の確認

前記モノクローナル抗体が、配列番号：8または配列番号：10に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質を認識し結合することを、ウエスタンブロッティング法によって確認した。配列番号：8または配列番号：10に記載のアミノ酸配列を遺伝子組み換え体として発現させ、本発明のモノクローナル抗体との反応性を確認した。具体的な操作は次のとおりである。

10

【0117】

1) pcDNA3.1 mBST2DおよびpcDNA3.1 mBST2Hの構築

クローニングしたmBST2DおよびmBST2Hをコードするplasmid(1 μg)を鋳型として、PCRにより配列番号：7または配列番号：9に記載の塩基配列を有するDNAを増幅した。PCRに用いたプライマーの塩基配列は次のとおりである。

forward primer (配列番号：11) :

5' tttttgctagcgcgacgatcacatggcgccctcttctatcactatctgcccgtgcccatggatgagatgggggggaa
gcaagga 3'

reverse primer (配列番号：12)

5' ttttttctcgagtcctcaaaagacaggaacagtgc 3'

20

また反応液の組成は以下のとおりである。

1X GC bufferI,

dNTP mix (0.25 mM),

LA Taq DNA polymerase 5U(以上タカラバイオ製)/100 μL

forward primer (1 pmol):

reverse primer (1 pmol)

【0118】

95 °Cで1分インキュベート後、[95 °C 30秒 / 55 °C 30秒 / 72 °C 1分30秒]を1サイクルとして、25回の条件でPCRを行った。アガロースゲル電気泳動にて目的の大きさのDNA断片が増幅されていることを確認後、フェノールクロロフォルム抽出、エタノール沈殿後、回収した増幅産物をTE buffer 10 μLに溶解した。これを制限酵素Nhe IおよびXho I (タカラバイオ製)で切断後、QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN社製)を用いてアガロースゲル電気泳動により精製し、エタノール沈殿後、TE buffer 4 μLに溶解した。

30

【0119】

一方、哺乳動物細胞発現plasmid pcDNA3.1 (インビトロジェン社製) 5 μgを制限酵素Nhe IおよびXho Iで消化、CIAP (タカラバイオ製)処理後、アガロースゲル電気泳動により精製し、エタノール沈殿後、TE buffer 4 μLに溶解した。前述のDNA断片それぞれ2 μLと、このplasmid 0.5 μLをligation kit ver.II (タカラバイオ製)を用いて連結し、大腸菌DH5に形質転換した。

40

【0120】

LB培地 (100 μg/mlアンピシリン)にて37 °Cで一晩培養後、出現したコロニー数個を選び、QIAprep Spin miniprep kit(QIAGEN社製)を用いてplasmidを抽出した。抽出されたプラスミドに挿入されているDNA断片の塩基配列を定法に従って決定した。配列番号：8または配列番号：10に記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列を有するDNA断片が挿入されているプラスミドであることを確認し、目的の構築物pcDNA3.1 mBST2DおよびpcDNA3.1 mBST2Hを得た。

【0121】

2) pcDNA3.1 mBST2D HisおよびpcDNA3.1 mBST2H Hisの構築

pcDNA3.1 mBST2D (pcDNA3.1 mBST2D His構築の場合)あるいはpcDNA3.1 mBST2H (pcDNA

50

3.1 mBST2H His構築の場合) 1 μgを鋳型として、PCRによりHisタグをコードする塩基配列を付加した。PCRに用いたプライマーの塩基配列は次のとおりである。なおforward primer (配列番号: 13) は、pcDNA3.1 mBST2D HisとpcDNA3.1 mBST2H Hisに同じものを用いた。反応液の組成と温度サイクルの条件は1)と同様とした。

forward primer (配列番号: 13):

5' ccagctcaccgcacccaggacagtc 3'

reverse primer (pcDNA3.1 mBST2D His用、配列番号: 14):

5' ttttttctcgagtcaatgatgatgatgatgatgaaagagcagaaacagtgacacttga 3'

reverse primer (pcDNA3.1 mBST2H His用、配列番号: 15):

5' ttttttctcgagtcaatgatgatgatgatgatggaagtctccttttgatcctgagctg 3'

10

【0122】

アガロースゲル電気泳動にて目的の大きさのDNA断片が増幅されていることを確認後、フェノールクロロホルム抽出、エタノール沈殿後、TE buffer 10 μLに溶解した。これを制限酵素BamH IおよびXho I (タカラバイオ製)で切断後、QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN社製)を用いてアガロースゲル電気泳動により精製し、エタノール沈殿後、TE buffer 4 μLに溶解した。

【0123】

一方、pcDNA3.1 mBST2D およびpcDNA3.1 mBST2H 5 μgを制限酵素BamH IおよびXho Iで消化、CIAP (タカラバイオ製)処理後、アガロースゲル電気泳動により精製し、エタノール沈殿後、TE buffer 4 μLに溶解した。PCRで増幅されたDNA断片それぞれ2 μLとこれらのplasmid 0.5 μLをligation kit ver.II (タカラバイオ製)を用いて連結し、大腸菌DH 5に形質転換した。

20

【0124】

LB培地 (100 μg/mlアンピシリン)にて37°Cで一晩培養後、出現したコロニー数個を選び、QIAprep Spin miniprep kit(QIAGEN社製)を用いてこれらよりplasmidを抽出した。抽出されたプラスミドに挿入されているDNA断片の塩基配列を定法に従って決定した。Hisタグをコードする塩基配列が付加されたDNA断片が挿入されていることを確認し、目的の構築物pcDNA3.1 mBST2D HisおよびpcDNA3.1 mBST2H Hisを得た。

【0125】

3) Western blotting

30

6 cmディッシュにCOS7細胞を 5×10^5 で10枚まき、37°C、5% CO₂下で20時間培養した。培養後のCOS7細胞に、Effectene transfection Reagent(Qiagen社製)により、pcDNA3.1 mBST2D HisあるいはpcDNA3.1 mBST2H Hisを形質転換した。操作は、同製品のプロトコールに従った。37°C、5% CO₂下で48時間の培養後、PBSで洗浄、PBS/5mM EDTAで細胞をディッシュから剥離し回収した。回収した細胞は、さらにPBSで洗浄後、1xHalt Protease Inhibitor Coctail (PIERCE 社製)を含む2mlのRIPA bufferを加えて氷上で1時間溶解した。RIPA bufferの組成を以下に示す。

50 mM Tris HCl(pH7.4),

150 mM NaCl,

1% Triton x 100,

0.5% sodium deoxycholate,

0.1% SDS

40

【0126】

溶解後の細胞は、4°C、15000 rpm、5分間の遠心分離した。上清はMicrocon YM 10(MILLIPORE社製)にて50 μL以下まで濃縮し、ウエスタンブロッティングの試料とした。一方、沈殿物は、1xHalt Protease Inhibitor Coctail (PIERCE 社製)を含む1 mLのRIPA bufferでもう一度洗浄後に、ウエスタンブロッティングの試料とした。

沈殿には200 μLの1x変性bufferを、濃縮した上清には等量の2x変性bufferを加え100°Cにて10分間煮沸した後、それぞれ5 μLをNuPAGE4 12% Bis Tris Gel (インビトロジェン社製)にて電気泳動した。泳動後のゲルから試料をセミドライ方式のプロット

50

イング装置 (BIO CRAFT社製、MODEL BE 330) にて、PVDF膜 (MILLIPORE社製) にトランスファーした。

【 0 1 2 7 】

抗体による検出はイムノスターキット (和光純薬社製) を用いた。まず、1次抗体として、HRP標識抗His tag 抗体 (インビトロジェン社製) を5000倍希釈の濃度で用いて、イムノスターキットのプロトコールに従ってシグナルを検出した。シグナルの検出後、PVDF膜を変性溶液 (7 M 塩酸グアニジン、50 mM グリシン、0.05mM EDTA、0.1 M 塩化カリウム、20 mM 2メルカプトエタノール) で室温で1時間振とう処理することにより、標識抗His tag 抗体を除去した。次に、ビオチン標識したSNK01抗体を用いて、同様に、シグナルを検出した。結果を図6に示す。

10

【 0 1 2 8 】

モノクローナル抗体SNK01において、アミノ酸配列から予想される分子量 (約20 kD) の位置に明瞭なバンドが見られた。SNK01は、BST2D (配列番号 : 10) とBST2H (配列番号 : 8) の両方に対して強く反応した。20 kD以上の位置にも強い反応が検出された。これらの分子量の大きい蛋白質は、糖鎖の修飾を有していると予想された。BST2D (配列番号 : 10) は、上清よりも沈殿で強いシグナルが見られた。BST2H (配列番号 : 8) も沈殿でより強いシグナルが見られたが、上清に対しても抗体の強い反応が検出された。BST2D (配列番号 : 10) に対するHisタグ抗体のシグナルが検出されていないのは、C末端に付加したHisタグがプロセッシングによって除去されてしまったためと考えられた。

20

【 実施例 8 】

【 0 1 2 9 】

マウスBST2の新規スプライシングバリエーションのクローニング

セルソーター (FACSVantage, Becton Dickinson社製) により高度に分離したマウスIPCから抽出したRNAより合成したcDNAを鋳型として、定法に従ってPCRを行い、抗原遺伝子がIPCに特異的に発現していることを確認した。PCRに用いたプライマーの塩基配列は次の通りである。

配列番号 : 7 用 forward (配列番号 : 16) :

5' acatggcgccctctttctatcac 3'

reverse (配列番号 : 17) :

5' gagcccaggtttgaaggaagtg 3'

30

その結果、cDNAに該当する増幅断片の他に、短い増幅断片が観察された。本増幅断片を定法によりクローニングして塩基配列を確認したところ、配列番号 : 7 に示したmBST2Hの第2エクソン部分が欠失した塩基配列を有していた。すなわち、配列番号 : 18 に示した塩基配列を有する、マウスBST2の新規のスプライシングバリエーションであると考えられた。この遺伝子がコードするアミノ酸配列を配列番号 : 19 に示した。この配列番号 : 18 記載の遺伝子を、以下mBST2HSとも称する。

mBST2D、mBST2H、mBST2HSのアミノ酸配列のアライメントを図7(a)に、それぞれのゲノム構造を図7(b)に示す。

【 実施例 9 】

【 0 1 3 0 】

マウスBST2発現ベクターの作製

実施例6により得られたmBST2DおよびmBST2HのcDNAを鋳型とし、以下の塩基配列からなるプライマーを使って以下の条件でPCRを行った。

forward primer ;

tttttgctagcgacggatcacatggcgccctctttctatcactatctgcccgtgccatggatgagatgggggggaagcaagga (配列番号 : 11) および

reverse primer ; ttttttctcgagtcctcaaaagagcaggaacagtgc (配列番号 : 12)

DNAポリメラーゼ : LA Taq (タカラバイオ社)

[95 を30秒、55 を30秒、72 を2分] を25サイクル

【 0 1 3 1 】

50

増幅されたそれぞれの断片を制限酵素NheI及びXhoI(いずれもタカラバイオ社製)で処理して切断した後、同様にNheIとXhoIで処理した動物細胞発現用ベクターpcDNA3.1 Zeo(+)(インビトロジェン社)とligation kit ver.II(タカラバイオ社製)を用いて連結し、それぞれの発現ベクターとした。mBST2HSの発現ベクターについてはmBST2Hの第2エクソン部分をPCR法を用いて定法に従って除去することによって作製した。

【実施例10】

【0132】

ヒトオーソログcDNAのクローニングと発現ベクターの作製

本発明において同定されたマウスIPC特異抗原BST2のヒトオーソログを検索したところ、ヒトBST2として報告された既知の遺伝子であった(Ishikawa,J. et al. Genomics, 1995; 26, 527; GenBank Acc#. D28137)。更にマウスで見出された新規プライミングバリエーションのヒトオーソログも含めて以下のようにしてPCR法によりクローニングし、3種類の発現ベクターを作製した。

【0133】

下記の実施例に示した方法に従って、Herpes Simplex virus 刺激を行ったヒトIPCを調製し、RNAを抽出後、スーパースクリプトファーストストランドシステムキット(インビトロジェン社)を用いて、ファーストストランドcDNAを合成した。これを鋳型に、hBST2 primer F; aaaaaagctagctggatggcatctacttcgtatg(配列番号: 20)およびhBST2 primer R; aaaaaactcgagaccataacaacaggcagcacat(配列番号: 21)で、LA Taq(タカラバイオ)を酵素にもちいてPCR(95℃を30秒、55℃を30秒、72℃を2分、25 cycle)を行った。増幅された断片を、制限酵素NheIおよびXhoIで切断後、pcDNA3.1 Zeo(+)(インビトロジェン社)のNheI XhoIサイトに挿入し、ヒトBST2の発現プラスミドとした。

【0134】

マウスプライミングバリエーションのオーソログである遺伝子に関しては、IPCのcDNAライブラリーを鋳型として以下の塩基配列からなるプライマーで、LA Taq(タカラバイオ)を酵素に用いてPCR(95℃を30秒、55℃を30秒、72℃を2分、25 cycle)を行った。cDNAは、GeneRacer kit(インビトロジェン社)によって合成した。増幅された断片を、制限酵素NheIおよびXhoIで切断後、pcDNA3.1 Zeo(+)(インビトロジェン社)のNheI XhoIサイトに挿入し、発現プラスミドとした。

mBST2Hオーソログ用のプライマー

hBST2 primer F(配列番号: 20)および

primerhBHR; tttttctcgagctaggatgtgggggtgagaggaatgtggcaggtggagggtagcgggggaagggctatctctgacctcagctcaccctctgcagac(配列番号: 22)

mBST2HSオーソログ用のプライマー

hBST2 primer F(配列番号: 20)および

primerhBST2HSR1; aaaaaactcgagcttatggttaatgtagtgatctctccacagtgtggttcaggtggcgcct(配列番号: 23)

【0135】

既知遺伝子であるヒトBST2の塩基配列を配列番号: 1に、アミノ酸配列を配列番号: 2に示した。以下、この配列を有する遺伝子をhBST2Dとも称する。また、上記により得られたmBST2Hのヒトオーソログ(以下、hBST2Hとも称する)の塩基配列を配列番号: 3に、アミノ酸配列を配列番号: 4に、また、mBST2HSのヒトオーソログ(以下、hBST2HSとも称する)の塩基配列を配列番号: 5に、アミノ酸配列を配列番号: 6に示した。

hBST2D、hBST2H、hBST2HSのアミノ酸配列のアライメントを図8(a)に、それぞれのゲノム構造を図8(b)に示した。hBST2HおよびhBST2HSは新規プライミングバリエーションであることが示唆された。

【実施例11】

【0136】

マウスBST2を認識する抗体の作製と評価

1) 抗マウスBST2抗体の作製

マウスBST2の3種類のサブタイプD、H、HSのいずれか、あるいは複数を認識する抗体を以下のように作製した。

6cmディッシュ5枚に、1枚あたり 4×10^5 個のCOS7細胞を播種し、20時間培養後にEffectene transfection Reagent(Qiagen社製)を用いて同製品のプロトコールに従い、上記実施例10で作製したそれぞれのタイプのcDNAがクローニングされた3種類の発現ベクターを同量(ディッシュ1枚あたり $1 \mu\text{g}$)ずつ混合してトランスフェクションした。24時間後、新鮮な培地に交換し、更に24時間後、PBS/5mM EDTAで細胞を回収し、PBSで洗浄した後に、Wister rat(5~6週令)の両足のfoot padにアジュバンドCFAとともに注入した。

【0137】

このような操作を0、4、11日目に行って免疫したラットから、12日目にリンパ節を採取して、実施例1に示したのと同様の方法で、ハイブリドーマを作製した。ハイブリドーマの培養上清をCell ELISAによってスクリーニングし、3種類の発現ベクターをトランスフェクションしたCOS7細胞には反応し、宿主のCOS7細胞には反応しないクローンを選択した。更にFACS解析でも結合活性を確認して細胞のクローニングを行い、最終的には5つの陽性クローンを得た。

10

【0138】

2) マウスIFN産生能への影響

得られたクローンの培養上清を用いて、実施例5に示した方法に従って、IFN産生に与える影響を検討したところ、いずれもコントロール抗体と比較してIPCのIFN産生を抑制する活性があった。更に、 $0.1 \mu\text{M}$ のCpG ODN 1668(MWG Biotech社)を用いて刺激した際にも、IFN産生抑制活性を示した(図9)。このことから、SNK01以外のmBST2に対する抗体もIPCからのIFN産生を抑制する活性を示すことが確認された。

20

【実施例12】

【0139】

ヒトBST2(hBST2)を認識する抗体の作製と評価

1) ヒトBST2抗体の作製

ヒトBST2の3種類のサブタイプD、H、HSのいずれか、あるいは複数を認識する抗体を実施例11と同様の方法に従って作製した。実施例10で作製したそれぞれのタイプのヒトcDNAがクローニングされた3種類の発現ベクターを用い、培養上清をFACS解析することによってハイブリドーマをスクリーニングした。3D3#7、3E2#8、5C11#7、3G7#6など、複数のクローンが得られた。得られた複数のクローンの精製抗体を取得し、更に解析を行った。

30

【0140】

2) ヒトIFN産生能への影響

健常人より末梢血を採取し、PBL(末梢血リンパ球)を分離した。Lineage抗体(CD3、CD14、CD16、CD19、CD20、CD56抗体)にてMACSで種々の細胞を除去した後、CD4陽性、CD123陽性、Lineage陰性細胞群をIPCとしてセルソーターで分離した。このように取得したヒトIPCを 2×10^4 cells/wellで96 wellプレートに播種し、それぞれ3、10、 $30 \mu\text{g/mL}$ の濃度で抗BST2抗体を添加して 37°C で1時間培養した。1時間培養後にHerpes Simplex virus(20 pfu/cell)を添加し、 37°C で24時間培養し、培養上清中のIFNをELISA kit(Bender Med System社)により、測定した。その結果、抗ヒトBST2抗体は、既に報告のあるBDCA2抗体(Miltenyi社)と同様に、ヒトIFN産生抑制活性を示すことが明らかとなった(図10)。すなわち、ヒトBST2を認識する抗体は、その分子を発現する細胞のIFN産生活性に影響を与えることが明らかとなった。

40

【実施例13】

【0141】

抗体のin vivoにおける評価

1) 抗体投与マウスより採取した細胞の解析

Balb/cマウスの腹腔内にSNK01、SNK03、およびコントロールのラットIgGを1匹あたり $300 \mu\text{g}$ ずつ、一日おきに3回投与し(0.9 mg/マウス)、6日目に脾臓、骨髓を採取した。更に

50

、骨髄細胞を 1×10^6 /wellにて96wellプレートに播種し、CpG (0.5 μ M) あるいはインフルエンザウイルスPR8によって刺激し、24時間後の培養上清のサイトカイン値をELISAにより測定した(図11)。

その結果、SNK01、SNK03投与群において、IPCの各種刺激に対するIFNの産生能が低いことが明らかになった。すなわち、抗体の投与により、IPCの機能に変化を生じ、in vitroでの刺激によるIFN産生能が抑制されたことが示された。

【0142】

2) ウイルス感染マウスを用いた解析

抗体を前投与(1.5日前と0.5日前にそれぞれ一匹あたり500 μ g)したマウス(n=3)に 5×10^4 pfu/mouseのMCMV(マウスサイトメガロウイルス)を腹腔内に投与し、感染を起した。この感染後、1.5日後のマウスの血清中のIFNをELISAにより測定した。また、脾臓でのIPCの細胞数(cell population)をB220、CD11c、CD11bの染色によって解析した(図12)。

その結果、SNK01投与群において、血清中のIFN産生量は抑制されていた。すなわち、本抗体投与により、分子が発現している細胞の機能に変化を生じ、in vivoにおけるIFN産生能が抑制されたことが示された。

【実施例14】

【0143】

自己免疫疾患発症モデルマウスを用いた解析

自己免疫性溶血性貧血を自然発症するNZB(New Zealand Black)マウスと、一見正常に見えるNZW(New Zealand White)マウスのF1マウスは、ループス腎炎を自然発症する。(Helyer BJ et al. Nature 197;197,1963) これらのマウス(日本SLC)を用いて、解析を行った。まず、骨髄、脾臓、末梢血中のIPCの細胞数(cell population)をFACS解析によって測定した。その結果、コントロールとして用いた129マウスと比較して、自己免疫疾患を発症するNZB、NZB/W F1マウスでは、IPCの数が特に骨髄で増加していることが示された(図13)。

【0144】

また、それぞれのマウスから採取した骨髄細胞を 1×10^6 /wellにて96wellプレートに播種し、CpG (0.5 μ M) あるいはインフルエンザウイルスPR8によって刺激し、各種抗体を添加して、24時間後の培養上清のサイトカイン値を実施例5に示したような、ELISA法により測定した。その結果、コントロールIgG、あるいはW02004/013325記載の2E6抗体添加時とは異なり、SNK01抗体、SNK03抗体添加時には、IFN産生抑制活性が見られた(図14)。このことより、SNK01、SNK03抗体はモデルマウス由来IPCのIFN産生を抑制することが明らかになった。

【実施例15】

【0145】

ループス腎炎モデルマウスへの抗体投与試験

NZB/W F1マウス(日本SLC)を、SPF環境下で飼育し、2ヶ月齢から7ヶ月齢までの5ヶ月間、次のように抗体投与を行った。各群10匹のマウスに、SNK01、SNK03、およびコントロールのラットIgG (ICN Pharmaceuticals, Inc.)を1匹あたり250 μ gずつ、週2回腹腔内に投与した。

【0146】

2週間に1回、定期的に尿10 μ Lを濾紙にとり、アルコール固定後、BPB(Bromophenol Blue)で染色し、既知濃度の蛋白質(BSA; bovine serum albumin)溶液をスタンダードとして、含まれる蛋白質量を解析した(Knight et al. Clin. Exp. Immunol. 28; 352-358, 1977)。蛋白質量の指標として、1: ~37mg/dl、2: ~74mg/dl、3: ~111mg/dl、4: ~333mg/dl、5: ~1000mg/dl、6: ~3000mg/dlとし、3: 111mg/dl以上を陽性と判定して累積陽性率(蛋白尿頻度)を算定した。その結果、SNK01、SNK03抗体投与群では蛋白尿の抑制が見られ、腎炎が抑制されたことが示された(図15)。

5ヶ月齢の各マウスより血清を採取し、血清中のIFN濃度を実施例4に示した方法で、

また、TNF 濃度をELISA Development kit (Genzyme Techne社製) により測定した。その結果、SNK01、SNK03抗体投与群では、それぞれのサイトカイン産生量が抑制されていた (図 1 6) 。

【実施例 1 6】

【 0 1 4 7】

ループス腎炎モデルマウスへの抗体投与による治療効果の検討

NZB/W F1マウスを飼育し、腎炎が発症する5ヶ月齢より8ヶ月齢まで抗体を投与し、その効果を比較検討した。各群を6匹とし、以下に示す物質を週2回腹腔内に投与した。各群の尿中の蛋白質量を実施例15と同様に測定し、比較検討した。プレドニンは自己免疫疾患の治療に利用されるステロイドである。塩野義製薬社製のコハク酸プレドニゾロンナトリウムをプレドニン (以下プレドニンあるいはPDと称する) として用いた。

10

1) SNK01抗体250 μ g+プレドニン 0.5mg、

2) コントロールのラットIgG (ICN Pharmaceuticals, Inc.) 250 μ g +プレドニン0.5mg、

3) プレドニン0.5mgのみ

治療後8ヶ月齢のマウスでは、SNK01抗体とプレドニンを併用した群において、プレドニン単独もしくは、プレドニン+コントロール抗体の投与群に比較し、蛋白尿の程度の抑制が見られ、腎炎発症において治療効果があることが示唆された (図 1 7) 。なお図において、黒丸は死亡マウスで、死亡直前の蛋白尿の程度を示す。

【産業上の利用可能性】

20

【 0 1 4 8】

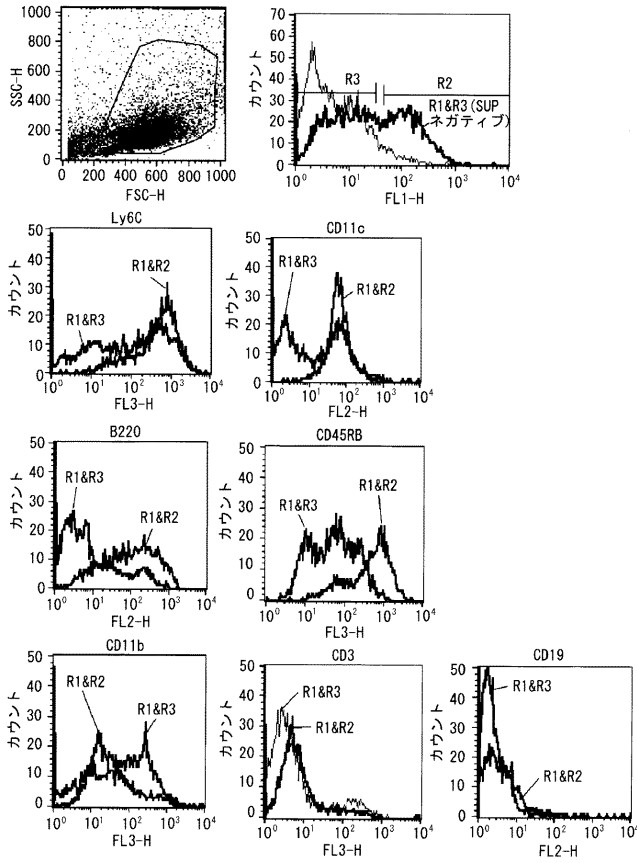
本発明によってIPCを治療標的とする腎炎の治療剤、並びに治療方法が提供された。IPCには他の細胞の数千倍ものIFNを産生する細胞が含まれる。したがって、そのIFN産生能、および細胞生存 (あるいは細胞数) のいずれかあるいは両方を抑制すれば、IFNの産生が効果的に抑制され、腎炎などの症状を緩和することができる。IPCに作用する本発明の治療剤は、腎炎症状の抑制のみではなく、腎炎患者の免疫バランスの改善を通じてより本質的な治療を実現する。

【 0 1 4 9】

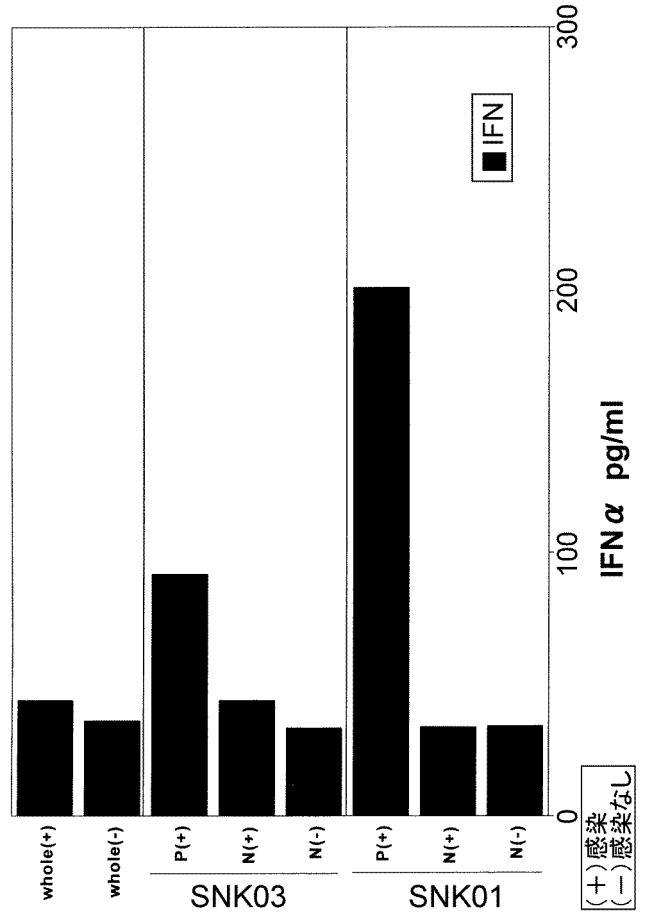
加えて本発明は、腎炎の治療活性の検出方法と、その方法を利用した治療に有用な候補化合物のスクリーニング方法を提供した。本発明によって、IPCの活性の調節が、腎炎の治療において重要な課題であることが明らかにされた。したがって、IPCの活性を調節する化合物を選択することによって、腎炎の治療に有用な化合物を選択することができる。すなわち本発明のスクリーニング方法に基づいて選択された化合物は、腎炎の治療に有用である。

30

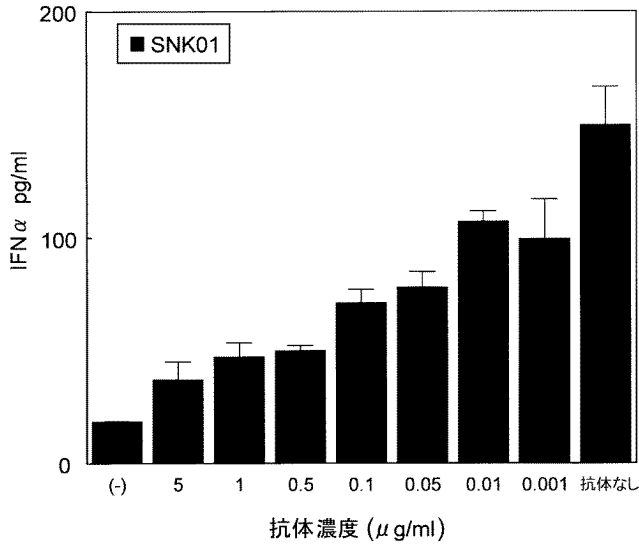
【図1】



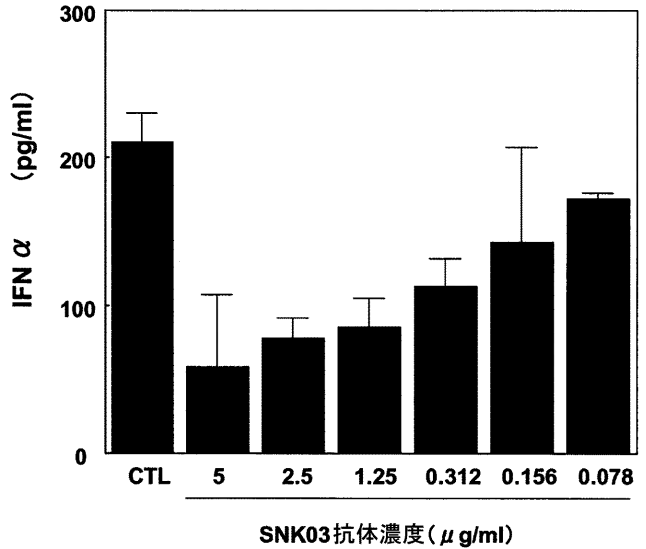
【図3】



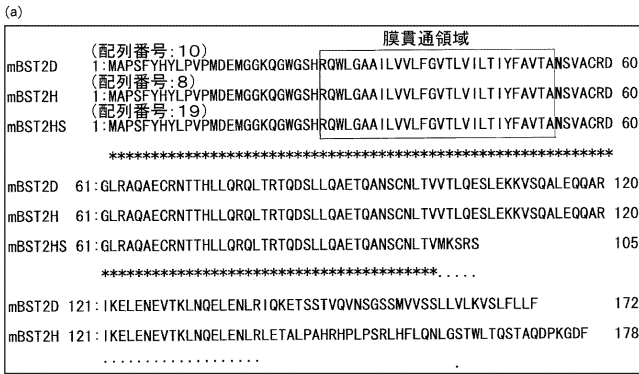
【図4】



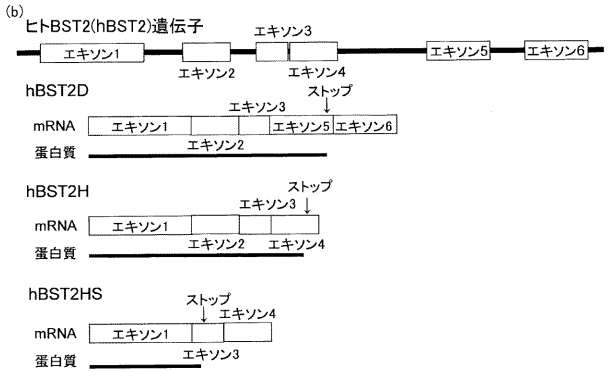
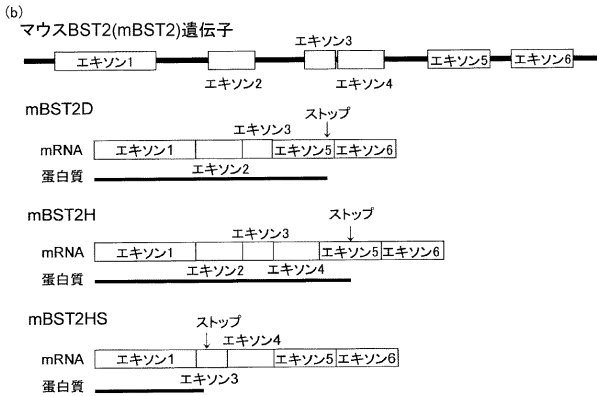
【図5】



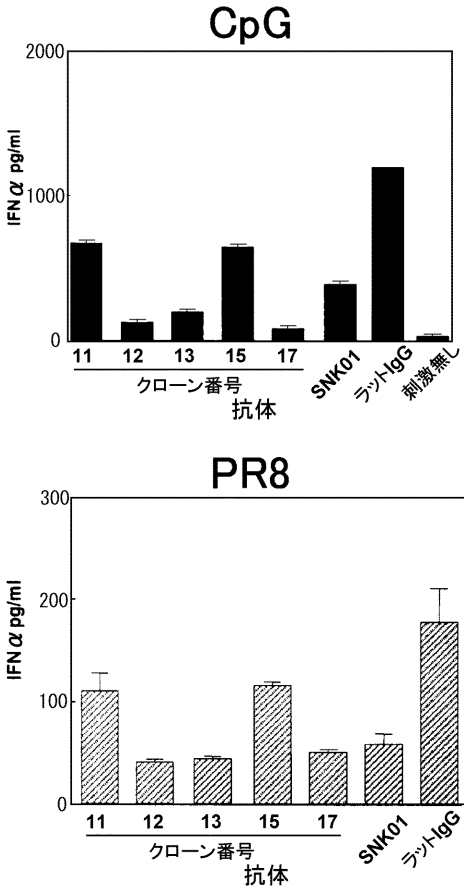
【 図 7 】



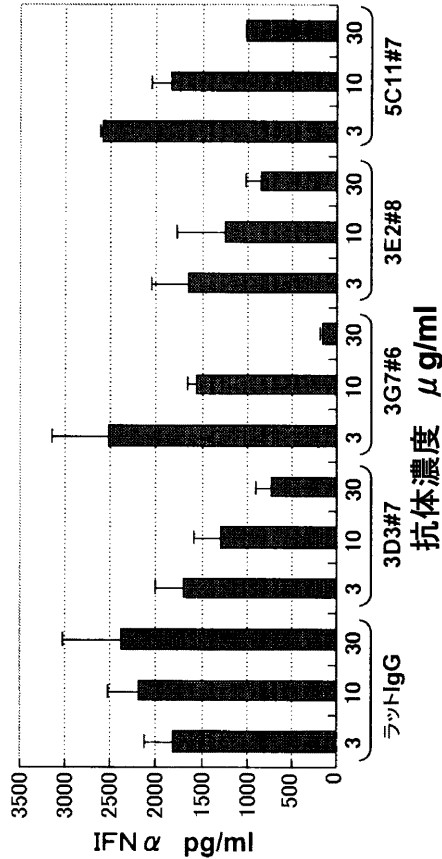
【 図 8 】



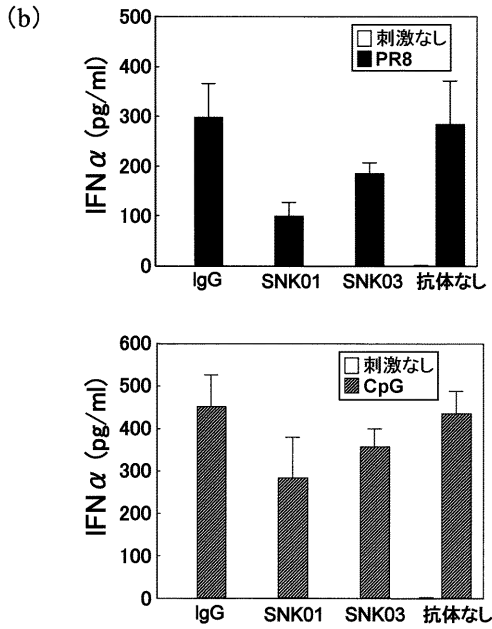
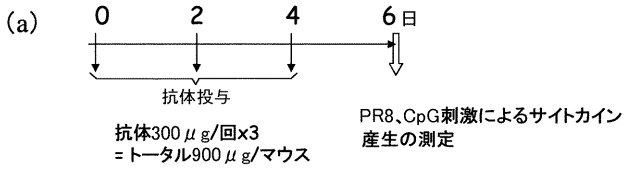
【 図 9 】



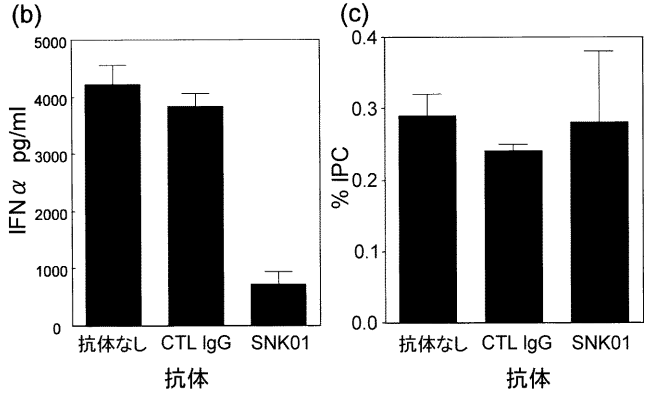
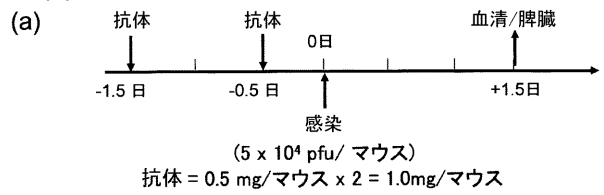
【 図 10 】



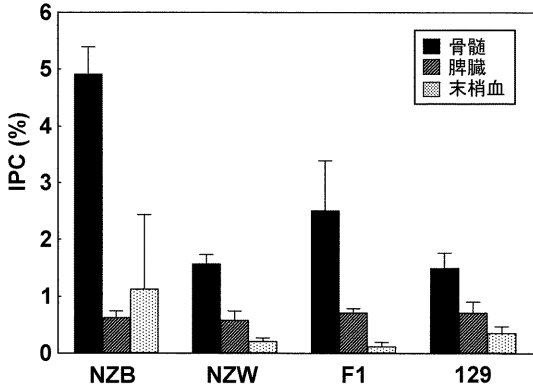
【図 1 1】



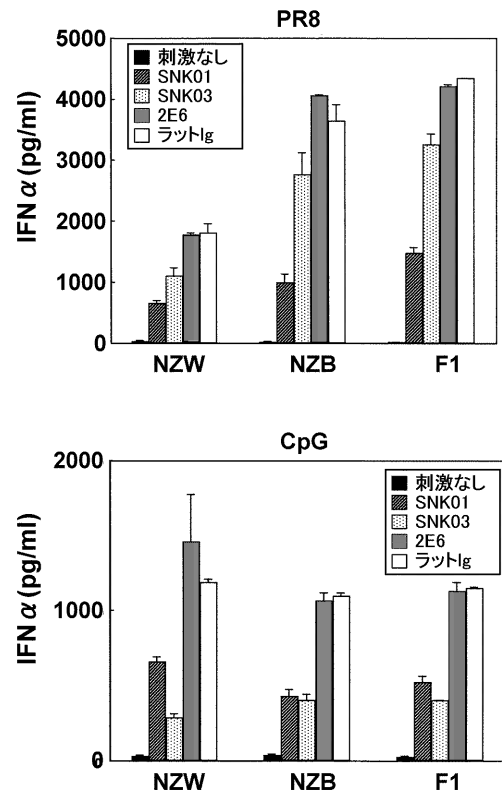
【図 1 2】



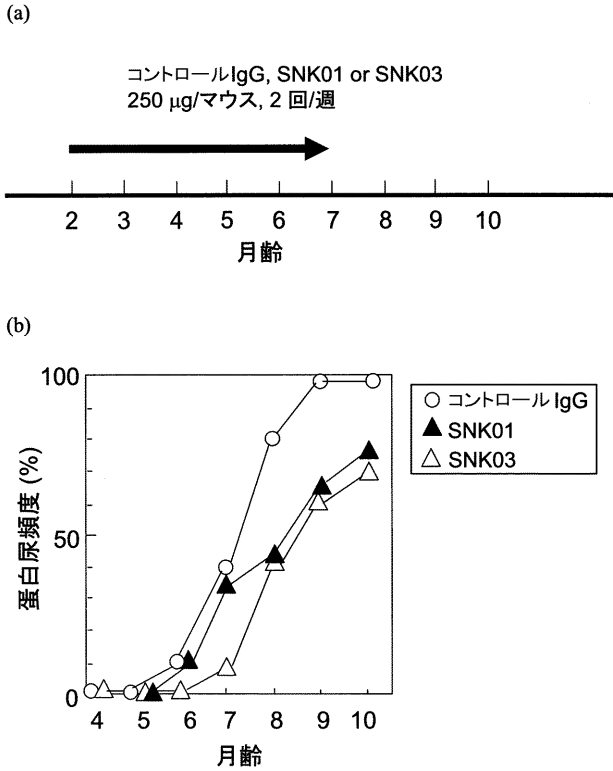
【図 1 3】



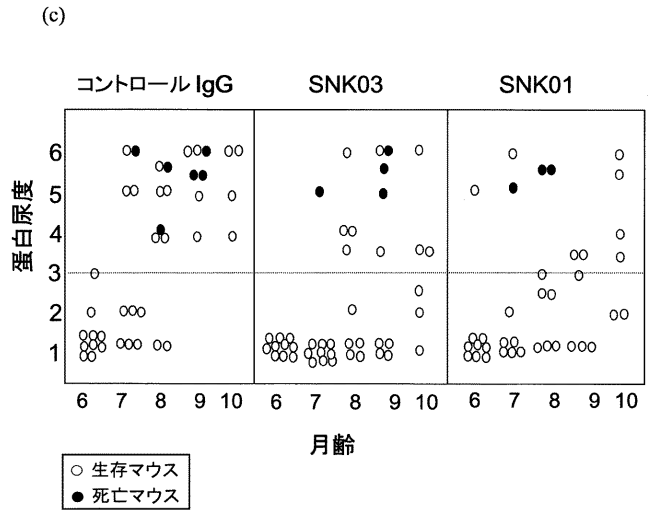
【図 1 4】



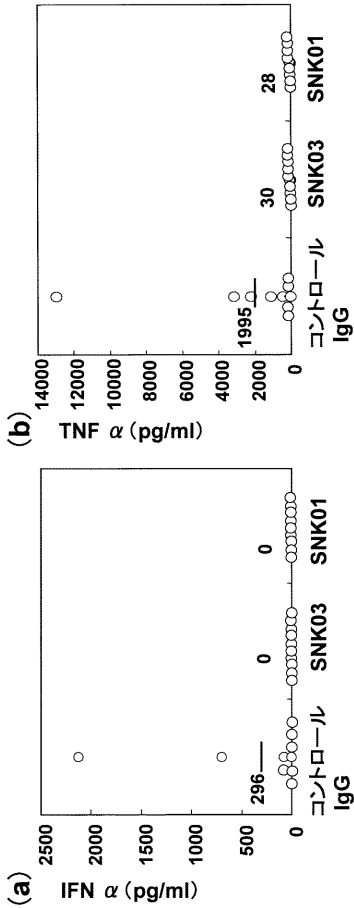
【 図 1 5 a b 】



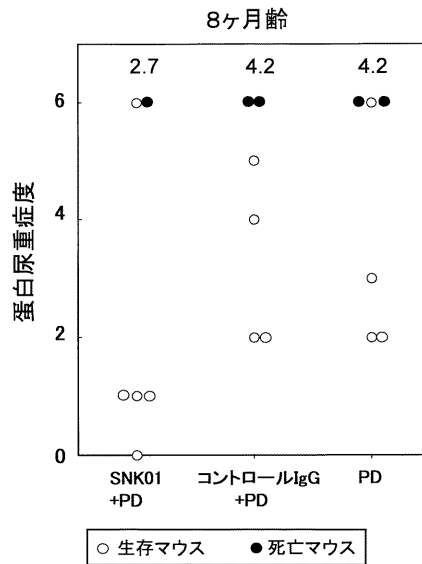
【 図 1 5 c 】



【 図 1 6 】

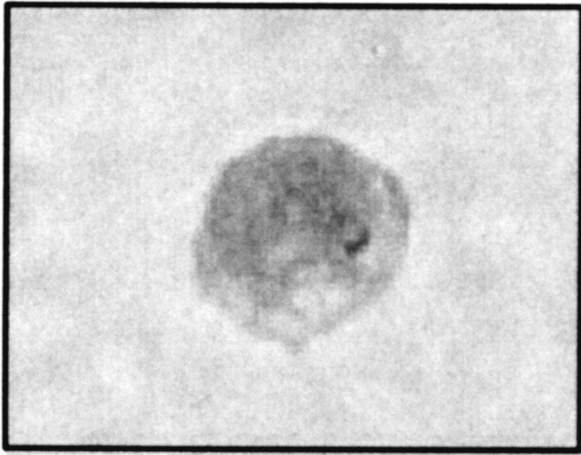


【 図 1 7 】

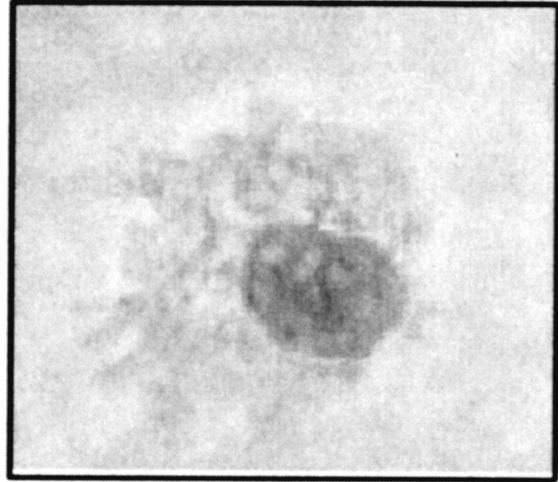


【図 2】

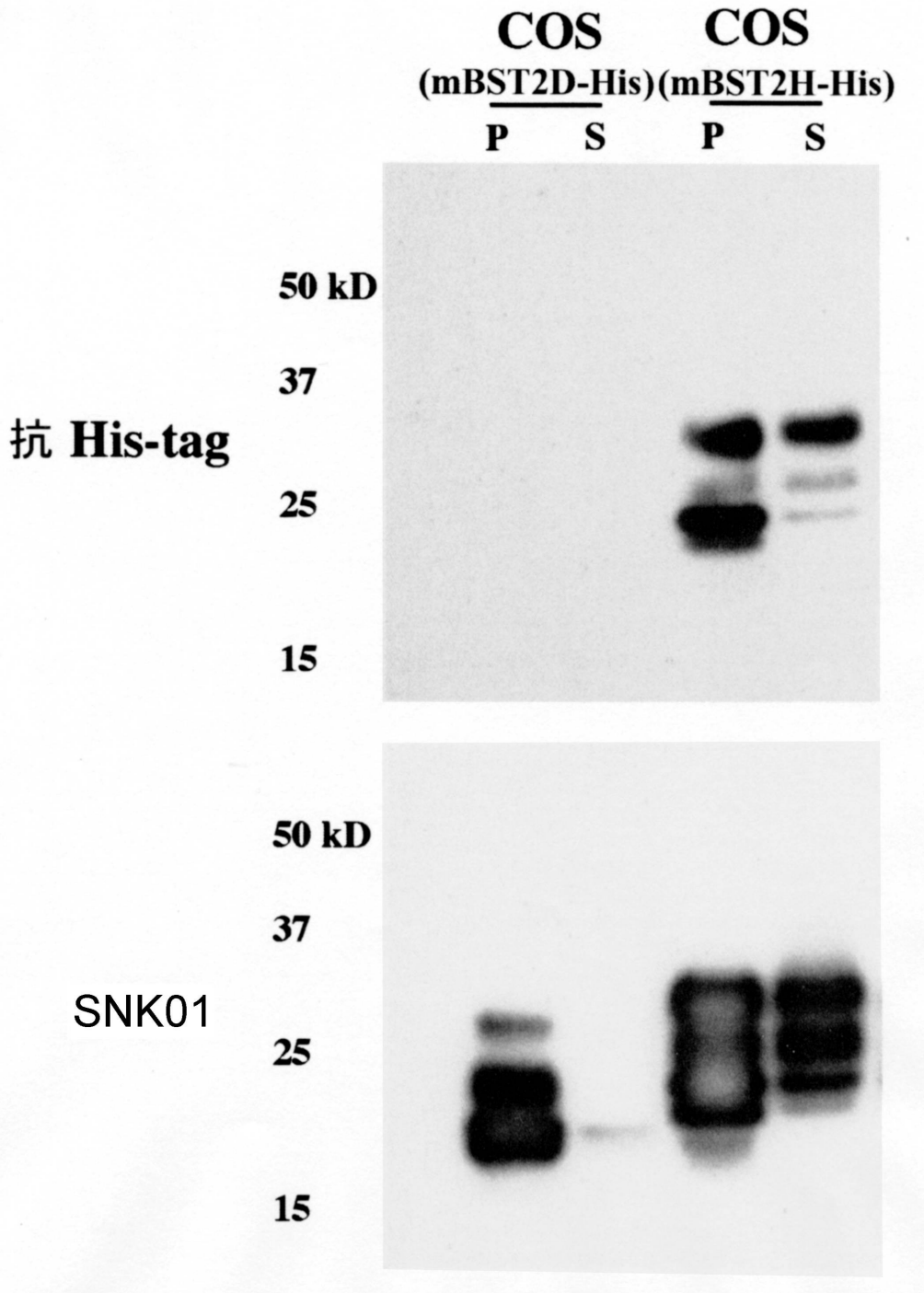
(a) 感染前細胞



(b) PR8感染後細胞



【 図 6 】



【 配列表 】

200605474800001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2005/021383
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K45/00 (2006.01), A61K39/395 (2006.01), A61P13/12 (2006.01), C12Q1/02 (2006.01), C12N15/00 (2006.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K45/00, A61K39/395, A61P13/12, C12Q1/02, C12N15/00 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2006 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2006 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2006 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) MEDLINE (STN), ENBASE (STN) BIOSIS (STN), CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DZIONEK, A. et al., BDCA-2, a Novel Plasmacytoid Dendritic Cell-Specific Type II C-Type Lectin, Mediates Antigen Capture and is a Potent Inhibitor of Interferon Alpha/Beta Induction, The Journal of Experimental Medicine, 2001, Vol.194, No.12, pages 1823 to 1834, full text, particularly, Fig. 2, page 1826, right column, lines 2 to 5, Fig. 3, page 1829, right column, line 4 to page 1830, left column, line 11, Fig. 9	1-3, 11-16
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 February, 2006 (14.02.06)		Date of mailing of the international search report 28 February, 2006 (28.02.06)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/021383

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Database MEDLINE on STN, U.S. National Library of Medicine (NLM), (Bethesda, MD, USA), Pubmed ID 13130472, abstract [retrieved on 10 February, 2006 (10.02.06)] & BLOMBERG, S. et al., Expression of the Markers BDCA-2 and BDCA-4 and Production of Interferon-Alpha by Plasmacytoid Dendritic Cells in Systemic Lupus Erythematosus, Arthritis and Rheumatism, 2003, Vol.48, No.9, pages 2524 to 2532	1-3, 11-16
Y	ASSELIN-PATUREL, C. et al., Mouse Strain Differences in Plasmacytoid Dendritic Cell Frequency and Function Revealed by a Novel Monoclonal Antibody, The Journal of Immunology, 2003, Vol.171, No.12, pages 6466 to 6477, full text, particularly, page 6469, lines 30 to 36, page 6469, lines 38 to 43, page 6469, lines 57 to 60, Fig. 3A	1-3, 11-16
Y	GRESSER, I. et al., Progressive Glomerulonephritis in Mice Treated with Interferon Preparations at Birth, Nature, 1976, Vol.263, No.5576, pages 420 to 422, full text, particularly, page 420, left column, lines 10 to 14, table 1, page 422, left column, lines 20 to 26	1-3, 11-16
E, X	WO 2006/002177 A2 (MEDAREX INC), 21 June, 2006 (21.06.06), Full text; particularly, page 2, lines 31 to 32; Claim 38 (Family: none)	1-3
A	ISHIKAWA, J. et al., Molecular Cloning and Chromosomal Mapping of a Bone Marrow Stromal Cell Surface Gene, BST2, That May Be Involved in Pre-B-cell Growth, Genomics, 1995, Vol.26, No.3, pages 527 to 534, full text, particularly, page 527, left column, lines 11 to 19, Fig. 4, table 2	4, 5
A	JP 10-298106 A (CHUGAI PHARM CO LTD), 10 November, 1998 (10.11.98), Full text; particularly, Par. Nos. [0010], [0071], [0074] & WO 98/37913 A1 & EP 972524 A1 & US 2002/034507 A1	4, 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/021383

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WATANABE, K. et al., Investigation of the Mechanism of Drug-Induced Autoimmune Hemolytic Anemia in Cynomolgus Monkeys Elicited by a Repeated-Dose of a Humanized Monoclonal Antibody Drug, The Journal of Toxicological Sciences, 2003, Vol.28, No.3, pages 123 to 138, full text, particularly, page 129, right column, line 13 to page 130, right column, line 9, Figs. 2, 3, tables 3, 4	4, 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/021383

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 6-10
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 6 to 10 relate to a method of treating human nephritis and, therefore, pertain to inventions of methods for treatment of the human body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
the

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2005/021383									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K45/00 (2006.01), A61K39/395 (2006.01), A61P13/12 (2006.01), C12Q1/02 (2006.01), C12N15/00 (2006.01)											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K45/00, A61K39/395, A61P13/12, C12Q1/02, C12N15/00											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2006年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2006年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2006年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2006年	日本国実用新案登録公報	1996-2006年	日本国登録実用新案公報	1994-2006年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2006年										
日本国実用新案登録公報	1996-2006年										
日本国登録実用新案公報	1994-2006年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) MEDLINE (STN), ENBASE (STN), BIOSIS (STN), CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号									
Y	DZIOONEK, A. <i>et al</i> , BDCA-2, a Novel Plasmacytoid Dendritic Cell-Specific Type II C-Type Lectin, Mediates Antigen Capture and is a Potent Inhibitor of Interferon Alpha/Beta Induction, The Journal of Experimental Medicine, 2001, Vol. 194, No. 12, pp. 1823-1834 全文, 特に, figure 2, 第 1826 頁右欄第 2-5 行, figure 3, 第 1829 頁右欄第 4 行-第 1830 頁左欄第 11 行, figure 9	1-3, 11-16									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献									
国際調査を完了した日 14. 02. 2006		国際調査報告の発送日 28. 02. 2006									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号		特許庁審査官 (権限のある職員) 小堀 麻子 電話番号 03-3581-1101 内線 3451	4 P 3645								

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 2005/021383

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	Database MEDLINE on STN, U.S. National Library of Medicine(NLM), (Bethesda, MD, USA), Pubmed ID 13130472, abstract[retrieved on 10 Feb 2006] & BLOMBERG, S. <i>et al</i> , Expression of the Markers BDCA-2 and BDCA-4 and Production of Interferon-Alpha by Plasmacytoid Dendritic Cells in Systemic Lupus Erythematosus, Arthritis and Rheumatism, 2003, Vol.48, No.9, pp.2524-2532	1-3, 11-16
Y	ASSELIN-PATUREL, C. <i>et al</i> , Mouse Strain Differences in Plasmacytoid Dendritic Cell Frequency and Function Revealed by a Novel Monoclonal Antibody, The Journal of Immunology, 2003, Vol.171, No.12, pp.6466-6477 全文, 特に, 第6469頁第30-36行, 第6469頁第38-43行, 第6469頁第57-60行, figure 3A	1-3, 11-16
Y	GRESSER, I. <i>et al</i> , Progressive Glomerulonephritis in Mice Treated with Interferon Preparations at Birth, Nature, 1976, Vol.263, No.5576, pp.420-422 全文, 特に, 第420頁左欄第10-14行, table 1, 第422頁左欄第20-26行	1-3, 11-16
EX	WO 2006/002177 A2 (MEDAREX INC) 2006.06.21, 全文, 特に, 第2頁第31-32行, 請求の範囲38 (ファミリーなし)	1-3
A	ISHIKAWA, J. <i>et al</i> , Molecular Cloning and Chromosomal Mapping of a Bone Marrow Stromal Cell Surface Gene, BST2, That May Be Involved in Pre-B-cell Growth, Genomics, 1995, Vol.26, No.3, pp.527-534 全文, 特に, 第527頁左欄第11-19行, figure 4, table 2	4, 5
A	JP 10-298106 A (CHUGAI PHARM CO LTD) 1998.11.10, 全文, 特に, 段落番号【0010】【0071】【0074】 & WO 98/37913 A1 & EP 972524 A1 & US 2002/034507 A1	4, 5
A	WATANABE, K. <i>et al</i> , Investigation of the Mechanism of Drug-Induced Autoimmune Hemolytic Anemia in Cynomolgus Monkeys Elicited by a Repeated-Dose of a Humanized Monoclonal Antibody Drug, The Journal of Toxicological Sciences, 2003, Vol.28, No.3, pp.123-138 全文, 特に, 第129頁右欄第13行-第130頁右欄第9行, figure 2, figure 3, table 3, table 4	4, 5

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2005/021383

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 6-10 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲6-10は、ヒトの腎炎の治療方法であり、人の身体の手術又は治療による処置及び診断方法の発明に該当する。
2. 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。

様式PCT/ISA/210 (第1ページの続葉(2)) (2005年4月)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I			テーマコード(参考)	
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	C 1 2 Q	1/02		4 H 0 4 5	
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N	33/50		Z	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N	33/15		Z	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	G 0 1 N	33/53		Y	
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	C 1 2 N	15/00		A	
	C 0 7 K	16/18			

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM), EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF, BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO, CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LC,LK,L R,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SY ,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA41 BA61 CA04 CA09 CA11 CA20 DA02 DA06
 EA04 GA05 HA01 HA11 HA17
 4B063 QA01 QA18 QA19 QQ08 QQ79 QR32 QR35 QR48 QR55 QR59
 QR62 QS25 QS32 QX01
 4C084 AA17 NA14 ZA812 ZB022 ZB212
 4C085 AA13 AA14 BB11 BB41 BB43 CC02 DD62 DD63 DD88 EE01
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA15 DA45 DA75 EA20 EA50
 FA74

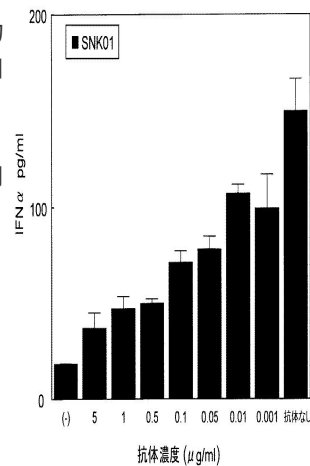
(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	肾炎的补救措施		
公开(公告)号	JPWO2006054748A1	公开(公告)日	2008-06-05
申请号	JP2006545196	申请日	2005-11-21
[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	鴨川由美子 並木佐穂理		
发明人	鴨川 由美子 並木 佐穂理		
IPC分类号	A61K45/00 A61P13/12 A61P43/00 A61K39/395 C12Q1/02 G01N33/50 G01N33/15 G01N33/53 C12N15/09 C07K16/18		
CPC分类号	A61P13/12 A61P43/00 C07K16/2896 C07K2317/76 G01N33/5008 G01N33/502 G01N33/5044 G01N33/6893 G01N2500/00		
FI分类号	A61K45/00.ZNA A61P13/12 A61P43/00.105 A61K39/395.G A61K39/395.U C12Q1/02 G01N33/50.Z G01N33/15.Z G01N33/53.Y C12N15/00.A C07K16/18		
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/CB01 2G045/DA36 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA41 4B024/BA61 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA04 4B024/GA05 4B024/HA01 4B024/HA11 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ79 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QR59 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS32 4B063/QX01 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA812 4C084/ZB022 4C084/ZB212 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/CC02 4C085/DD62 4C085/DD63 4C085/DD88 4C085/EE01 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA15 4H045/DA45 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	清水初衷		
优先权	2004337365 2004-11-22 JP		
其他公开文献	JPWO2006054748A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了用于肾炎的治疗剂，其包含抑制干扰素产生细胞（IPC）的活性的物质作为活性成分。作为IPC活性抑制剂，例如，使用识别IPC细胞表面抗原的抗体。例如，识别BST2或其同源物的抗体可用于本发明。本发明还提供了用于筛选肾炎治疗剂的方法，该方法包括选择具有调节IPC活性的作用的物质的步骤。本发明揭示了抑制IPC的活性可以调节肾炎患者的免疫平衡。也就是说，本发明提供了一种新的肾炎治疗策略。本发明对于治疗与SLE有关的狼疮性肾炎特别有用。

【图4】



【图5】

