

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6253580号
(P6253580)

(45) 発行日 平成29年12月27日 (2017.12.27)

(24) 登録日 平成29年12月8日 (2017.12.8)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 K 45/00 (2006.01)
 A 6 1 K 38/04 (2006.01)
 A 6 1 K 47/64 (2017.01)
 A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 N
 A 6 1 K 45/00 Z N A
 A 6 1 K 38/04
 A 6 1 K 47/64
 A 6 1 P 29/00

請求項の数 14 (全 23 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-525142 (P2014-525142)
 (86) (22) 出願日 平成24年8月9日 (2012.8.9)
 (65) 公表番号 特表2014-529590 (P2014-529590A)
 (43) 公表日 平成26年11月13日 (2014.11.13)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/050146
 (87) 国際公開番号 W02013/023059
 (87) 国際公開日 平成25年2月14日 (2013.2.14)
 審査請求日 平成27年8月7日 (2015.8.7)
 (31) 優先権主張番号 61/522,009
 (32) 優先日 平成23年8月10日 (2011.8.10)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 510140663
 ランケナー インスティテュート フォー
 メディカル リサーチ
 アメリカ合衆国、19096 ペンシルバ
 ニア州、ウィンウッド、100 イースト
 ランカスター アベニュー
 (74) 代理人 100101454
 弁理士 山田 卓二
 (74) 代理人 100062144
 弁理士 青山 篠
 (74) 代理人 100106518
 弁理士 松谷 道子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 自己免疫および炎症性疾患の治療のための方法および組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

該抗-RhoB抗体またはそのRhoBに結合する断片が、
 抗-RhoB抗体 7F7の六つのCDRドメイン：
配列番号10のアミノ酸26-41からなる軽鎖のCDR1；
配列番号10のアミノ酸57-63からなる軽鎖のCDR2；
配列番号10のアミノ酸96-114からなる軽鎖のCDR3；
配列番号12のアミノ酸24-28からなる重鎖のCDR1；
配列番号12のアミノ酸43-59からなる重鎖のCDR2；および
配列番号12のアミノ酸91-105からなる重鎖のCDR3

を全て含むか、または

抗-RhoB抗体 9G5の六つのCDRドメイン：

配列番号14のアミノ酸26-35からなる軽鎖のCDR1；
配列番号14のアミノ酸51-57からなる軽鎖のCDR2；
配列番号14のアミノ酸90-109からなる軽鎖のCDR3；
配列番号16のアミノ酸31-35からなる重鎖のCDR1；
配列番号16のアミノ酸50-68からなる重鎖のCDR2；および
配列番号16のアミノ酸101-118からなる重鎖のCDR3

を全て含む、抗体またはその断片。

【請求項 2】

該抗-RhoB抗体またはそのRhoBに結合する断片が、配列番号10および12を含むモノクローナル抗体であるか、または配列番号14および16を含むモノクローナル抗体である、請求項1記載の抗体またはその断片。

【請求項3】

請求項1または2記載の抗-RhoB抗体またはそのRhoBに結合する断片と、少なくとも一つの医薬上許容される担体を含む組成物。

【請求項4】

炎症性または自己免疫疾患を処置するための組成物である、請求項3記載の組成物。

【請求項5】

該自己免疫または炎症性疾患が関節リウマチである、請求項4記載の組成物。

10

【請求項6】

該自己免疫または炎症性疾患が、1型糖尿病、ループス、または重症筋無力症である、請求項4記載の組成物。

【請求項7】

さらに少なくとも一つの抗炎症剤を含む、請求項4記載の組成物。

【請求項8】

さらに少なくとも一つの免疫抑制剤を含む、請求項4記載の組成物。

【請求項9】

該炎症性または自己免疫疾患が少なくとも部分的に自己抗体に媒介される、請求項4記載の組成物。

20

【請求項10】

配列番号1の配列からなる単離ペプチド。

【請求項11】

担体タンパク質に作動可能に連結した請求項10記載のペプチドを含む接合体。

【請求項12】

少なくとも一つの請求項10記載のペプチドまたは請求項11記載の接合体と、少なくとも一つの医薬上許容される担体を含む組成物。

【請求項13】

血清中の免疫グロブリンの上昇したレベルと関連する状態または障害を治療するための請求項3記載の組成物。

30

【請求項14】

状態または障害が高ガンマグロブリン血症または良性単クローン性 グロブリン血症である請求項13記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

Lisa Laury-Kleintop、Laura Mandik-Nayak、George C. Prendergast、James B. DuHadawayによる。

【0002】

本出願は、35 U.S.C. § 119(e)の下で2011年8月10日出願の米国仮特許出願第61/522,009号からの優先権を主張する。前記出願を引用により本明細書に含める。

40

【0003】

発明の分野

本発明は一般に自己免疫および炎症性疾患の分野に関する。具体的には、本発明は、これらの病理において自己免疫および/または炎症性成分を有する疾患の治療のための新規な組成物および方法を提供する。

【背景技術】

【0004】

発明の背景

自己免疫疾患は、生物がその独自の構成部分を「自己」として認識できず、それにより

50

その独自の細胞および組織に対する免疫応答が生じる場合に起こる。言い換えると、身体が実際にその独自の細胞を攻撃する。免疫系は身体の内蔵の一部分を病原体であるとして間違え、それを攻撃する。現在の自己免疫疾患のための治療は、典型的には、異常な免疫応答の損傷を低下させるために、免疫抑制および/または非-疾患改変抗炎症薬による対症療法を含む。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

しかしながら、自己免疫障害と関連する病理の発症(onset)を阻害する、および/または遅延させるための方法および組成物について当該技術分野において必要性が存在する。

10

【課題を解決するための手段】

【0006】

発明の概要

本発明の一つの側面によると、それを必要とする患者における、自己免疫および/または炎症性疾患および/またはそれらの病理において自己免疫および/または炎症性成分を有する疾患の発症を、阻害する、治療する、および/または予防するための方法が提供される。該方法は、少なくとも一つのRhoB 阻害剤の投与を含む。特定の態様において、RhoB 阻害剤は、RhoB またはそのペプチド断片に対して免疫学的に特異的な抗体または抗体断片である。特定の態様において、RhoB 阻害剤は、抗体、抗体断片、ペプチド断片または抗体のCDR 領域の化学的または生物学的模倣物(mimetic)およびCDRによって認識されるエピトープの構造的に関連または由来する小分子(small molecule)である。特定の態様において、RhoB 阻害剤はRhoB ペプチドである。特定の態様において、該方法は、少なくとも一つのRhoB ペプチドおよび/またはRhoB またはそのペプチド断片に対して免疫学的に特異的な抗体または抗体断片および少なくとも一つの医薬上許容される担体を含む組成物の投与を含む。特定の態様において、該方法はさらに、少なくとも一つのRhoB 阻害剤 (例えば、RhoB またはそのペプチド断片に対して免疫学的に特異的な抗体または抗体断片)と同時におよび/または少なくとも一つのRhoB 阻害剤と順次に、少なくとも一つの抗炎症剤および/または免疫抑制剤の投与を含む。

20

【0007】

炎症性または自己免疫疾患の阻害、治療、および/または予防のための組成物もまた提供される。該組成物は、少なくとも一つのRhoB 阻害剤および少なくとも一つの医薬上許容される担体を含む。特定の態様において、RhoB 阻害剤は、RhoB またはそのペプチド断片に対して免疫学的に特異的な抗体または抗体断片である。特定の態様において、RhoB 阻害剤は、RhoB ペプチドである。別の態様において、該組成物はさらに、少なくとも一つの抗-炎症性化合物および/または少なくとも一つの免疫抑制剤を含む。

30

【0008】

本発明はまた、抗-RhoB 抗体、RhoB ペプチド (例えば、抗体の生成のため)、または、抗体、抗体断片、ペプチド断片または抗体のCDR 領域の化学的または生物学的模倣物およびCDRによって認識されるエピトープの構造的に関連または由来する小分子、およびそれを含む組成物を提供する。

40

【0009】

本発明の一つの側面によると、それを必要とする患者における、血清中の免疫グロブリンの上昇したレベルと関連する状態(condition)または障害(例えば、高ガンマグロブリン血症または良性単クローン性 グロブリン血症(monoclonal gammopathy of undetermined significance))を、阻害する、治療する、および/または、予防するための方法が提供される。該方法は、本明細書に記載される少なくとも一つのRhoB 阻害剤の投与を含む。

【図面の簡単な説明】

【0010】

図面の簡単な説明

【0011】

50

【図 1】図 1は、抗-RhoB-ペプチド血清、抗-KLH 血清、または担体単独で処理されたK/BxN マウスの経時的な平均足首厚さ (mean ankle thickness) のグラフである。

【図 2】図 2Aは、抗-RhoB-ペプチド血清、抗-KLH 血清、または担体単独で処理されたK/BxN マウスからの血清抗-グルコース-6-リン酸異性化酵素 (GPI) Igの力価のグラフである。図 2Bは、抗-RhoB-ペプチド血清、抗-KLH 血清、または担体単独で処理されたK/BxN マウスの 10^5 細胞あたりの抗-GPI 分泌細胞の数のグラフである。

【図 3】図 3は、ヒト RhoBのアミノ酸配列(配列番号3)を提供する。下線を引いた配列は、ペプチド 1 (配列番号1)である。

【図 4】図 4は、ハイブリドーマまたはそのサブクローンからの対照抗体または抗-RhoB 抗体の存在下または非存在下でのリポ多糖 (LPS) 刺激の有りまたは無しでのIgM 分泌のグラフを提供する。

10

【図 5】図 5は、RhoA (配列番号4)およびRhoB (配列番号3)の配列アラインメントを提供する。下線を引いた配列および四角で囲まれた配列は、RhoB 抗体についての抗原を表す。

【図 6】図 6Aは、関節炎の発症前に (21 日齢)、抗-RhoB モノクローナル抗体 9G5 または7F7 または対照 Igで処理されたK/BxN マウスの後ろ足首厚さ \pm SEMのグラフを提供する。図 6Bおよび6Cは、それぞれ、マウスにおける抗-GPI 自己抗体力価および抗-GPI 抗体分泌細胞 (ASC) の数のグラフを提供する。

【図 7】図 7Aは、4 週齢にて関節炎の発症後に抗-RhoB モノクローナル抗体 9G5または対照 Igで処理された長時間の経過にわたるK/BxN マウスの後ろ足首厚さ \pm SEMのグラフを提供する。図 7Bは、4 週齢にて関節炎の発症後に抗-RhoB モノクローナル抗体 9G5または7F7 または対照 Igで処理されたK/BxN マウスのより短い時間経過にわたる後ろ足首厚さ \pm SEMのグラフを提供する。

20

【図 8】図 8Aは、関節炎 RhoB KO マウス (RhoB KO KRN.g7)における後ろ足首厚さ \pm SEMのグラフを提供する。図 8Bは、0日目にKRN B6.g7またはRhoB KO KRN B6.g7 マウスから血清移入 (transfer)を受けた未処理 (naive) C57BL/6 マウスにおける後ろ足首厚さ \pm SEMのグラフを提供する。図 8Cは、0日目に関節炎 K/BxN マウスから血清移入を受けた未処理野生型またはRhoB KO C57BL/6 マウスにおける後ろ足首厚さ \pm SEMのグラフを提供する。

【図 9】図 9Aは、7F7の軽鎖のヌクレオチド (配列番号9)およびアミノ酸 (配列番号10) 配列を提供する。図 9Bは、7F7の重鎖のヌクレオチド (配列番号11)およびアミノ酸 (配列番号12) 配列を提供する。鉛直線は、ドメインの間の境界を表す。太字 - 可変領域 (V); 下線部 - 連結領域 (J); イタリック体 - 多様性 (diversity) 領域 (D); FWR - フレームワーク領域; CDR - 相補性決定領域。

30

【図 10】図 10Aは、9G5の軽鎖のヌクレオチド (配列番号13)およびアミノ酸 (配列番号14) 配列を提供する。図 10Bは、9G5の重鎖のヌクレオチド (配列番号15)およびアミノ酸 (配列番号16) 配列を提供する。鉛直線はドメインの間の境界を表す。太字 - 可変領域 (V); 下線部 - 連結領域 (J); イタリック体 - 多様性領域 (D); FWR - フレームワーク領域; CDR - 相補性決定領域。

【発明を実施するための形態】

40

【0012】

発明の詳細な説明

RhoBに対するモノクローナル抗体を産生する安定なハイブリドーマを作成し、維持することは困難であった。ハイブリドーマを得る試みにおいて、もっとも関連ある (relevant) ハイブリドーマは、死ぬかまたは抗-RhoB 抗体の分泌を停止することが観察されている。この観察は、RhoBに対する抗体がB 細胞における抗体産生を阻害している可能性があるという仮説を導いた。本明細書において、RhoBに対する抗体が刺激されたマウス B 細胞からの免疫グロブリンの分泌を阻害しうることが示される。さらに、本明細書において、RhoBに対する抗体が、自己抗体-駆動 (driven) 関節リウマチ (RA) の動物モデルにおける関節炎の発症を遅延させ、その経過を減弱することが示される。自己抗体産生の結果である疾

50

患または疾患症候(symptom)は、抗体産生をブロックする、または減弱する治療(therapy)から利益を得るであろう。

【0013】

抗-RhoB 抗体の投与は、疾患治療についてのそれらの非標的化側面にもかかわらず、容認できるその他の抗体に基づく治療に類似している可能性がある。例としては、限定されないが、抗体治療抗-TNF (インフリキシマブ、アダリムマブ、エタネルセプト)、抗-CD20 (リツキシマブ)、および抗-BLyS (ベリムマブ) が挙げられる。これらの治療は一般に、炎症を鈍らせるかまたは B 細胞または B 細胞機能を根絶する。これらの治療に不十分に耐容性を示す患者のために、抗-RhoB 抗体はさらなる治療上の選択肢を提供する。

【0014】

RhoB 抗体の投与はおそらく毒性または副作用が低いかまたは有さないであろう。特に、RhoBについて遺伝的に欠損した(genetically deficient) マウスは、正常であり、明らかな免疫欠損を示さない。かかる免疫欠損としては、抗原刺激に対する B 細胞応答または IgG 記憶形成の欠損が挙げられる。RhoB 欠損マウスは、正常な IgG 抗体応答を生じるが、それらは穏やかに低下した IgM 二次応答を示した。したがって、抗-RhoB 技術は、自己免疫抗体の産生において異常 B 細胞機能を遅らせるようであるが、それは、古典的(canonical)抗原負荷(challenge)の後の正常 B 細胞機能を破壊しない。特に、RhoBは半減期が短いストレス応答タンパク質であるので、それはおそらく特異的抗体遮断によって急速に枯渇し、機能的に障害される。

【0015】

RhoBは、細胞内タンパク質である。理論に拘束されず、抗-RhoB 抗体は細胞にFc 受容体を介して入る可能性がある。それ自体、これは低下した毒性または副作用をもたらすであろう。というのはFc 受容体を発現する細胞のみが抗-RhoB 抗体治療に感受性でありうるからである。同様に、臨床にて現在用いられている非標的化(non-targeted)免疫調節薬、例えば、デキサメタゾン、プレドニゾン、またはサリドマイドと比較して、毒性もまた低いはずである。

【0016】

本発明は、抗-RhoB 抗体治療を開示するが、RhoB (例えば、RhoB 活性および/または発現)のその他の阻害剤を、抗-RhoB 抗体の代わりにまたは抗-RhoB 抗体と協力して用いることができる。例えば、RhoB 発現を阻害する核酸分子を使用することができ、例えば、siRNAおよびアンチセンス分子が挙げられる。マイクロ-RNA-21は、RhoB 発現を低下させることが示されている (Sabatell et al. PLoS One (2011) 6:e16979)。そのうえ、本明細書において同定されるRhoB ペプチド配列またはRhoB上の対応するエピトープと相互作用するペプチド配列またはCDRに基づく構造的に関連する小分子もまた、特に適当な送達系と連動した場合、RhoB 活性の阻害剤として役立ち得る。

【0017】

RhoBの抗体-媒介性破壊は、B 細胞を伴う炎症性細胞性応答を、遅らせる、阻害する、および/または鈍らせる。上記のように、RhoBに対する抗体は、自己抗体産生および/または分泌の結果である疾患または疾患症候を軽減するために使用することができる。しかしながら、特異的 RhoB 標的化治療(targeted therapeutics)(例えば、巨大分子 (例えば、IgG 分子の可変領域)のための細胞内送達系を介して送達される)を、B 細胞によって組織化される細胞内炎症シグナルを停止させるまたは再指示するように設計することができる。このようにして、抗-RhoB 治療は、慢性炎症に寄与する細胞型、例えば、炎症組織環境によって直接的または間接的に支持されている可能性がある、心血管疾患 (CVD)、癌、糖尿病またはその他の主要な疾患の発達に寄与すると考えられる、間葉系細胞 (内皮細胞、筋線維芽細胞、平滑筋細胞、単球/マクロファージ) において作動するであろう。

【0018】

CVDにおいて、前臨床研究により、RhoBはスタチンにより制御され、スタチンの「非-コレステロール低下」効果は抗-炎症性作用に起因するという臨床的証拠が存在することが示された。したがって、抗-RhoB 治療は、粥状動脈硬化を制限するために用いることが

10

20

30

40

50

でき、あるいはスタチンまたはその他の抗炎症治療と、新しい治療上の選択肢として組み合わせることができる。その他の炎症組織設定において、抗-RhoB はまた、線維芽細胞の炎症応答を阻害することができる。それ自体、抗-RhoB 治療は、例えば、皮膚、肝臓または心臓における、組織瘢痕に寄与する線維性応答を鈍らせることができる。

【0019】

糖尿病に関して、自己抗体が、疾患を引き起こすT細胞の活性化のために要求されたということが示されている(Harbers et al. (2007) J. Clin. Invest., 117:1361-1369)。したがって、自己抗体がT細胞を活性化(activating)することを(例えば、自己抗体を低下させる、または、阻害することにより)防ぐためのアプローチの開発は、自己免疫疾患を予防または治療するであろう。特に、CD20に特異的な抗体がB細胞のサブセットを枯渇させることにより糖尿病の発症を低下させることができることが実証されている(Hu et al. (2007) J. Clin. Invest., 117:3857-3867)。糖尿病に加えて、その他の自己免疫疾患の抗体-媒介性治療が実証されている。例えば、スフィンゴシン-1-リン酸受容体に対する抗体は、マウスモデルにおいて大腸炎を低下させたことが示されている(Liao et al. (2009) FASEB J., 23:1786-96)。

【0020】

本明細書において上記するように、本発明は、自己免疫疾患および/または炎症性疾患の阻害、治療、および/または予防のための組成物および方法を提供する。特定の態様において、本発明の方法により治療すべき自己免疫疾患または炎症性疾患は、B-細胞が、疾患の病態生理および/または症候に関係しているものである。かかる自己免疫疾患および炎症性疾患はまた、B-細胞媒介性(mediated)自己免疫疾患または炎症性疾患としても称されることがある。B-細胞は、様々な自己免疫または炎症性疾患の病態生理において役割を果たすことにおいて関係している(例えば、Browning, J.L. (2006) Nat. Rev. Drug Discov., 5:564-576を参照されたい)。

【0021】

本明細書において用いる場合、「自己免疫疾患」という用語は、対象における自己免疫応答(自己(auto-)または自己(self-)抗原に対する免疫応答)の存在をいう。自己免疫疾患には、獲得免疫系が自己抗原に应答し、細胞および組織損傷を媒介するような、自己免疫寛容の崩壊によって引き起こされる疾患が含まれる。特定の態様において、自己免疫疾患は、少なくとも部分的には体液性免疫応答の結果であるとして特徴づけられる。

【0022】

自己免疫疾患の例としては、限定されないが、急性散在性脳脊髄炎(ADEM)、急性壊死性出血性白質脳炎、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、円形脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、抗体-媒介性(mediated)移植拒絶反応、抗-GBM/抗-TBM腎炎、抗リン脂質抗体症候群(APS)、自己免疫血管浮腫、自己免疫再生不良性貧血、自己免疫自律神経障害、自己免疫肝炎、自己免疫高脂血症、自己免疫免疫不全症、自己免疫内耳疾患(AIED)、自己免疫心筋炎、自己免疫脾炎、自己免疫網膜症、自己免疫血小板減少性紫斑病(ATP)、自己免疫甲状腺疾患、自己免疫蕁麻疹、軸索&神経細胞神経障害、Balo病(同心円硬化症)、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、キャスルマン病、セリアック病、シャーガス病、慢性疲労症候群、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー(CIDP)、慢性再発性多巣性骨髄炎(multifocal osteomyelitis)(CRM0)、チャグ・ストラウス症候群、瘢痕性類天疱瘡/良性粘膜類天疱瘡、クローン病、コーガン症候群、寒冷凝集素症、先天性心ブロック、コクサッキー心筋炎、CREST疾患、本態性混合性クリオグロブリン血症、脱髄性多発ニューロパチー、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、デビック病(視神経脊髄炎)、円板状ループス(lupus)、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、実験的アレルギー性脳脊髄炎、エヴァンス症候群、線維筋痛症、線維性肺炎、巨細胞性動脈炎(側頭動脈炎)、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、多発血管炎性肉芽腫症(GPA)、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本脳炎、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、妊娠性疱疹、低ガンマグロブリン血症、高ガンマグロブリン血症、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、IgA腎症

、IgG4-関連(related)硬化性疾患、免疫調節性リポタンパク(lipoproteins)、封入体筋炎、炎症性腸疾患、インスリン依存性糖尿病(1型)、間質性膀胱炎、若年性関節炎、若年性糖尿病、川崎症候群、ランバート・イートン症候群、白血球破壊性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、線状IgA病(LAD)、ループス(lupus)(SLE)、ライム病、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎、混合性結合組織疾患(MCTD)、良性単クローン性グロブリン血症(MGUS)、モーレン潰瘍、ムッハ・ハーベルマン病、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎(デビック病(Devic's))、好中球減少症、眼(ocular)癒痕性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ、PANDAS(連鎖球菌と関連する小児自己免疫精神神経障害(Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorder Associated with Streptococcus))、傍腫瘍性小脳変性症、発作性夜間血色素尿症(PNH)、ペイリー-ロンベルグ(Parry Romberg)症候群、パーソネージ・ターナー症候群、毛様体扁平部炎(周辺性ブドウ膜炎)、天疱瘡、末梢神経障害、静脈周囲脳脊髄炎、悪性貧血、POEMS症候群、結節性多発動脈炎、I、II、& III型自己免疫多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、プロゲステロン皮膚炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、乾癬、乾癬性関節炎、特発性肺線維症、壊疽性膿皮症、赤芽球癆、レイノー現象、反射性交感神経性ジストロフィー、ライター症候群、再発性多発性軟骨炎、下肢静止不能症候群、後腹膜線維症、リウマチ熱、関節リウマチ、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子&精巣自己免疫、全身硬直症候群、亜急性細菌性心内膜炎(SBE)、スザック症候群、交感性眼炎、高安動脈炎、側頭動脈炎/巨細胞性動脈炎、血小板減少性紫斑病(TTP)、トロサ・ハント症候群、横断性脊髄炎、潰瘍性大腸炎、未分化結合組織疾患(UCTD)、ぶどう膜炎、血管炎、小水疱水疱性皮膚病、白斑、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症(WM)、およびウェゲナー肉芽腫症(多発血管炎性肉芽腫症(GPA))が挙げられる。

【0023】

特定の態様において、自己免疫疾患は、関節リウマチ、1型糖尿病、全身性エリテマトーデス(ループス(lupus)またはSLE)、重症筋無力症、多発性硬化症、強皮症、アジソン病、水疱性類天疱瘡、尋常性天疱瘡、ギラン・バレー症候群、シェーグレン症候群、皮膚筋炎、血栓性血小板減少性紫斑病、高ガンマグロブリン血症、良性単クローン性グロブリン血症(MGUS)、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症(WM)、慢性炎症性脱髄性多発神経根筋障害(CIDP)、橋本脳症(HE)、橋本甲状腺炎、グレーブス病、ウェゲナー肉芽腫症、および抗体-媒介性移植拒絶反応(例えば、組織移植、例えば、腎臓移植のためのもの)からなる群から選択される。特定の態様において、自己免疫疾患は、1型糖尿病、ループス(lupus)、または関節リウマチである。

【0024】

本明細書において用いる場合、「炎症性疾患」は、炎症によって引き起こされるかまたは炎症に起因するかまたは炎症をもたらす疾患をいう。「炎症性疾患」という用語はまた、異常組織損傷および細胞死を導く、マクロファージ、顆粒球、および/またはT-リンパ球による過剰(exaggerated)応答を引き起こす調節不全の炎症反応もいいうる。特定の態様において、炎症性疾患は、抗体-媒介性炎症性プロセスを含む。「炎症性疾患」は急性または慢性炎症性状態(condition)であり得、感染または非-感染性の原因に起因しうる。炎症性疾患としては、限定されないが、粥状動脈硬化、動脈硬化症、自己免疫障害、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、リウマチ性多発筋痛症(PMR)、痛風関節炎、変形性関節症、腱炎、滑液包炎、乾癬、嚢胞性線維症、骨関節炎、関節リウマチ、炎症性関節炎、シェーグレン症候群、巨細胞性動脈炎、進行性全身性硬化症(強皮症)、強直性脊椎炎、多発性筋炎、皮膚筋炎、天疱瘡、類天疱瘡、糖尿病(例えば、1型)、重症筋無力症、橋本甲状腺炎、グレーブス病、グッドパスチャー病、混合性結合組織疾患、硬化性胆管炎、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、悪性貧血、炎症性皮膚疾患、通常型間質性肺炎(UIP)、石綿肺、珪肺症、気管支拡張症、ベリリウム症、滑石肺、じん肺症、サルコイドーシス、剥離性間質性肺炎、リンパ球様間質性肺炎、巨細胞間質性肺炎、細胞性間質性肺炎、外因性アレルギー性肺炎、ウェゲナー肉芽腫症および関連形態の血管炎(側頭

動脈炎および結節性多発動脈炎)、炎症性皮膚疾患、肝炎、遅延型過敏症反応(例えば、ポイズンアイビー皮膚炎)、肺炎、気道炎症、成人呼吸促迫症候群(ARDS)、脳炎、即時型過敏反応、喘息、枯草熱、アレルギー、急性アナフィラキシー、リウマチ熱、糸球体腎炎、腎盂腎炎、蜂巣炎、膀胱炎、慢性胆嚢炎、虚血(虚血傷害)、同種移植片拒絶、宿主対移植片反応、虫垂炎、動脈炎、眼瞼炎、細気管支炎、気管支炎、子宮頸管炎、胆管炎、絨毛羊膜炎、結膜炎、涙腺炎、皮膚筋炎、心内膜炎、子宮内膜炎、腸炎、小腸結腸炎、上顎炎、精巣上体炎、筋膜炎、結合織炎、胃炎、胃腸炎、歯肉炎、回腸炎、虹彩炎、喉頭炎、脊髄炎、心筋炎、腎炎、膈炎、卵巣炎、精巣炎、骨炎、耳炎、腭炎、耳下腺炎、心膜炎、咽頭炎、胸膜炎、静脈炎、間質性肺炎、直腸炎、前立腺炎、鼻炎、卵管炎、副鼻腔炎、口内炎、滑膜炎、精巣炎(testitis)、扁桃炎、尿道炎、膀胱炎(urocystitis)、ぶどう膜炎、腔炎、血管炎、外陰炎、および外陰腔炎、血管炎(angitis)、慢性気管支炎、骨髄炎(osteomyelitis)、視神経炎、側頭動脈炎、横断性脊髄炎、壊疽性筋膜炎(fasciitis)、および壊死性小腸結腸炎が挙げられる。特定の態様において、炎症性疾患は、粥状動脈硬化、動脈硬化症、自己免疫障害、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、関節リウマチ、炎症性関節炎、および心筋炎からなる群から選択される。

【0025】

本発明はまた、血清中の特定の免疫グロブリンの上昇したレベルと関連する状態(condition)または障害、例えば、高ガンマグロブリン血症または良性単クローン性 グロブリン血症の阻害、治療、および/または予防のための組成物および方法も包含する。

【0026】

本発明の別の態様において、Rho B 阻害剤、例えば、抗-RhoB 抗体は、抗体分泌によって維持される癌を治療するために対象に投与される。特定の態様において、癌は、血腫、例えば、多発性骨髄腫である。別の態様において、癌は、固形腫瘍である。理論に拘束されず、抗体分泌は、支持的(supportive)炎症性プロセスに寄与しうる。前臨床研究により、RhoBは、悪性化のために必須の腫瘍血管新生およびリンパ管新生を支持することが示され、これは、炎症性腫瘍微小環境における抗体沈着に依存することが実証された。したがって、抗-RhoBは、再発を予防するため、および寛解を延長するための、治療の後の原発腫瘍の進行を制限するために用いることができる。抗-RhoB 治療はまた、特定のタイプの癌と関連する抗体-媒介性腫瘍随伴症候群を治療するために対象に投与され得る。例としては、限定されないが、全身硬直症候群、オブソクローヌス・ミオクローヌス(例えば、乳癌におけるもの)、末梢性脳脊髄炎、および網膜症(例えば、肺癌におけるもの)が挙げられる。

【0027】

本発明の方法はまた、自己免疫および/または炎症性疾患の治療のための少なくとも一つのその他の剤(agent)の投与も包含する。理論に拘束されず、抗-RhoB 抗体の投与は、自己免疫抗体の産生を鈍らせる。それ自体、この技術は、自己免疫疾患の治療のための疾患-特異的アプローチに代わるものではない。

【0028】

特定の態様において、該方法は少なくとも一つの免疫抑制剤を投与することを含む。「免疫抑制剤(immunosuppressant)」および「免疫抑制剤(immunosuppressive agent)」という用語は、本明細書において用いる場合、免疫応答またはそれに関連する症候を抑制する化合物または組成物を含む。免疫抑制剤としては、限定されないが、プリン類似体(例えば、アザチオプリン)、メトトレキサート、シクロスポリン(例えば、シクロスポリン A)、シクロホスファミド、レフルノミド、ミコフェノラート(mycophenolate)(ミコフェノール酸モフェチル)、ステロイド(例えば、グルココルチコイド、副腎皮質ステロイド)、メチルプレドニゾン(methylprednisone)、プレドニゾン、非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、クロロキン、ヒドロキシクロロキン(hydroxycloquine)、クロラムブシル、CD20 アンタゴニスト(例えば、リツキシマブ、オクレリズマブ、ベルツズマブまたはオフアツムマブ)、アパタセプト、TNF アンタゴニスト(例えば、インフリキシマブ、アダリムマブ、エタネルセプト)、マクロライド系薬(例えば、ピメクロリムス、タクロリムス(FK506))

、およびシロリムス)、デヒドロエピアンドロステロン、レナリドマイド、CD40 アンタゴニスト (例えば、抗-CD40L 抗体)、アベチムスナトリウム(abetimus sodium)、BLys アンタゴニスト(例えば、抗-BLyS (例えば、ベリムマブ)、ダクチノマイシン、プシラミン、ペニシラミン、レフルノミド、メルカプトプリン、ピリミジン類似体(例えば、シトシンアラビノシド)、ミゾリピン、アルキル化剤(例えば、ナイトロジェンマスタード、フェニルアラニンマスタード、ブスルファン(busulfan)、およびシクロホスファミド)、葉酸拮抗剤(folic acid antagonists)(例えば、アミノプテリンおよびメトトレキサート)、抗生物質 (例えば、ラパマイシン、アクチノマイシンD、マイトマイシンC、ピユーロマイシン(puramycin)、およびクロラムフェニコール)、ヒト IgG、抗リンパ球グロブリン (ALG)、抗体 (例えば、抗-CD3 (OKT3)、抗-CD4 (OKT4)、抗-CD5、抗-CD7、抗-IL-2 受容体 (例えば、ダクリズマブおよびバシリキシマブ)、抗-アルファ/ベータ TCR、抗-ICAM-1、ムロモナブ-CD3、抗-IL-12、アレムツズマブおよび免疫毒素に対する抗体)、1-メチルトリプトファン、およびそれらの誘導体および類似体が挙げられる。特定の態様において、免疫抑制剤は、メトトレキサート、ヒドロキシクロロキン(hydroxycloquine)、CD20 アンタゴニスト (例えば、リツキシマブ、オクレリズマブ、ベルツズマブまたはオフアツムマブ)、アバタセプト、TNF アンタゴニスト (例えば、インフリキシマブ、アダリムマブ、エタネルセプト)、シロリムス、およびBLyS アンタゴニスト(例えば、抗-BLyS (例えば、ベリムマブ)) からなる群から選択される。特定の態様において、免疫抑制剤は、CD20 アンタゴニスト、TNF アンタゴニスト、またはBLyS アンタゴニストである。

【 0 0 2 9 】

特定の態様において、本発明の方法は、少なくとも一つの抗炎症剤を投与することを含む。本明細書において用いる場合、「抗炎症剤」は、炎症性疾患またはそれに関連する症候の治療のための化合物をいう。抗炎症剤としては、限定されないが、非ステロイド性抗炎症薬(NSAID; 例えば、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセン、サリチル酸メチル、ジフルニサル、インドメタシン、スリンダク、ジクロフェナク、ケトプロフェン、ケトロラク、カプロフェン、フェノプロフェン、メフェナム酸、ピロキシカム、メロキシカム、メトトレキサート、セレコキシブ、バルデコキシブ、パレコキシブ、エトリコキシブ、およびニメスリド)、副腎皮質ステロイド(例えば、プレドニゾン、ベタメタゾン、ブデソニド、コルチゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、トリアムシノロン(tramcinolone)、およびフルチカゾン)、ラパマイシン (例えば、Migita et al., Clin. Exp. Immunol. (1997) 108:199-203; Migita et al., Clin. Exp. Immunol. (1996) 104:86-91; Foronczewicz et al., Transpl. Int. (2005) 18:366-368を参照されたい)、高密度リポタンパク質 (HDL) およびHDL-コレステロール上昇(elevating)化合物 (例えば、Birjmohun et al. (2007) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 27:1153-1158; Nieland et al. (2007) J. Lipid Res., 48:1832-1845; ロシグリタゾンの抗-炎症薬としての使用を開示するBloedon et al. (2008) J. Lipid Res., Samaha et al. (2006) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 26:1413-1414、Duffy et al. (2005) Curr. Opin. Cardiol., 20:301-306を参照されたい)、rho-キナーゼ阻害剤 (例えば、Hu, E. (2006) Rec. Patents Cardiovasc. Drug Discov., 1:249-263を参照されたい)、抗マラリア薬(例えば、ヒドロキシクロロキンおよびクロロキン)、アセトアミノフェン、グルココルチコイド、ステロイド、刺激薬、抗コリン薬、メチルキサンチン、金注射液(gold injection) (例えば、金チオリンゴ酸ナトリウム)、スルファサラジン、ペニシラミン、抗血管新生薬、ダブソン、ソラレン、抗ウイルス薬、スタチン系薬剤 (例えば、Paraskevas et al. (2007) Curr. Pharm. Des., 13:3622-36; Paraskevas, K.I. (2008) Clin. Rheumatol. 27:281-287を参照されたい)、および抗生物質 (例えば、テトラサイクリン)が挙げられる。特定の態様において、抗-炎症剤(anti-inflammatory) は、スタチンまたは高密度リポタンパク質 (HDL)およびHDL-コレステロール上昇(elevating) 化合物である。

【 0 0 3 0 】

本発明の別の側面によると、RhoB ペプチドが提供される。特定の態様において、RhoB

ペプチドは、配列番号3の少なくとも 10の連続アミノ酸を含む。特定の態様において、RhoB ペプチドは、RhoBのC-末端半分 (98 アミノ酸)を含む。特定の態様において、RhoB ペプチドは、VANKKDLRSDEHVRTELARMKQEPVRTDDGRAMAVRIQAYDYLECSAKTKEGVREVFETATRAALQKRYG SQNGCINCKVL (配列番号5)、KDLRSDEHVRTELARMKQEPVRTDDGRAMAVRIQAYDYLECSAKTKEGVREVFETATRAAL (配列番号6)、SDEHVRTELARMKQEPVRTDDGRAMAVRIQAYDYLECSAKTKEGVREVFETATRAALQK RYGSQNGCINCKVL (配列番号7)、DDGRAMAVRIQAY (配列番号2)、RTDDGRAMAVRIQAYDYLE (配列番号1)、および AVRIQAYDYLE (配列番号8) からなる群から選択される (例えば、図 5 を参照されたい)。RhoB ペプチドは、上記に同定される配列よりも、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超えるアミノ酸、特に 1、2、3、4、または5 アミノ酸、ペプチドのN-終端および/またはC-終端にて長くても短くてもよい。別の態様において、本発明のペプチドは、配列番号3 (または配列番号1、2、5-8)と、少なくとも 90%、95%、97%、99%、または100%の相同性または同一性を有する。

10

【0031】

本発明のペプチドは、公知の方法にしたがって様々な様式で調製され得る。本発明のペプチドは、化学ペプチド合成 (例えば、固相合成)によって製造することができる。ペプチドをコードする核酸分子が入手可能なことはまた、当該技術分野において公知のインビトロ発現方法および無細胞発現系を用いるタンパク質の産生も可能にする。インビトロ転写および翻訳系は、例えば、Promega Biotech (Madison, WI)または Gibco-BRL (Gaithersburg, MD)から市販されている。ペプチドはまた、好適な原核生物または真核生物系における発現によっても産生することができる。例えば、ペプチドをコードするDNA 分子の一部または全部を、細菌細胞、例えば、大腸菌(E. coli)における発現に適したプラスミドベクターに挿入するとよい。かかるベクターは、宿主細胞におけるDNAの発現を可能にするように配置された宿主細胞におけるDNAの発現に必要な調節エレメントを含む。発現のために要求されるかかる調節エレメントとしては、プロモーター配列、転写開始配列および、所望により、エンハンサー配列が挙げられる。組換え原核生物または真核生物系における遺伝子発現によって産生されたペプチドは、当該技術分野において公知の方法にしたがって精製することができる。

20

【0032】

上記方法によって調製された本発明のペプチドは、標準的手順にしたがって分析することができる。例えば、かかるタンパク質は、公知の方法にしたがって、アミノ酸配列分析に供することができる。

30

【0033】

本発明のペプチドは、担体タンパク質 (例えば、巨大分子担体)に接合(conjugated)させてもよい。例えば、ペプチドは、インビボ免疫化目的のために使用され得る。動物を遊離ペプチドによって免疫することができるが、抗-ペプチド抗体価は、ペプチドを担体に結合させることによってブーストされうる。担体の例としては、限定されないが、KLH (キーホールリンペットヘモシアニン)、GST (グルタチオンS-転移酵素)、BSA (ウシ血清アルブミン)、cBSA (カチオン化ウシ血清アルブミン)、OVA (卵白アルブミン)、LPH (カブトガニ(Limulus polyphenus)ヘモシアニン)、およびTT (破傷風トキソイド)が挙げられる。

40

【0034】

本発明はまた、RhoB(例えば、配列番号3)に対して免疫学的に特異的な抗体または抗体断片も包含する。本発明はまた、上記に示すアミノ酸配列に対して免疫学的に特異的な抗体または抗体断片も包含する。特定の態様において、ペプチドは、配列番号1、2、5、6、7、または8と、少なくとも 90%、95%、97%、99%、または100%の相同性または同一性を有する。ペプチドは、上記に同定される配列よりも、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超えるアミノ酸、特に 1、2、3、4、または5 アミノ酸、ペプチドのN-終端および/またはC-終端において、長くても短くてもよい。別の態様において、本発明のペプチドは、配列番号3と少なくとも 90%、95%、97%、99%、または100%の相同性または同一性を有する。

50

【0035】

本発明の抗体分子は、当該技術分野において公知の様々な方法を用いて調製され得る。ポリクローナルおよびモノクローナル抗体は、Current Protocols in Molecular Biology、Ausubel et al. eds.に記載されているようにして調製することができる。抗体は、化学架橋結合、雑種(hybrid)ハイブリドーマ技術によって、および、宿主細胞、例えば、細菌または酵母細胞において発現される組換え抗体断片の発現によって、調製することができる。

【0036】

特定の態様において、抗体または抗体断片は、配列番号1または配列番号8に対して免疫学的に特異的なものである。特定の態様において、抗体は、モノクローナル抗体、一対の抗体、または一群の抗体である。特定の態様において、抗体は、配列番号10 および12を含むモノクローナル抗体である。特定の態様において、抗体は、配列番号14および16を含むモノクローナル抗体である。

10

【0037】

抗体は、天然起源抗体であってもよいし、あるいは、合成または修飾抗体（例えば、組換えにより作成した抗体；キメラ抗体；二重特異性抗体；ヒト化抗体；ラクダ科動物(camelid)抗体；等）であってもよい。抗体は、少なくとも一つの精製タグを含んでいてもよい。特定の態様において、フレームワーク抗体は、抗体断片である。抗体断片としては、限定されないが、免疫グロブリン断片が挙げられ、例えば、限定されないが：単ドメイン(Da b；例えば、単一可変軽鎖または重鎖ドメイン)、Fab、Fab'、F(ab')₂、およびF(v)；およびこれら免疫グロブリン断片、例えば、限定されないが：scFv、scFv₂、scFv-Fc、小型抗体(minibody)、二重特異性抗体、三重特異性抗体(triobody)、および四重特異性抗体(tet rabody)の融合物(例えば、リンカーを介するもの)が挙げられる。抗体はまた、少なくとも一つの抗体または抗体断片を含むタンパク質(例えば、融合タンパク質)であってもよい。本発明の特定の態様において、抗体はFc領域を含む。

20

【0038】

本発明の抗体および抗体断片は、抗-RhoB モノクローナル抗体 7F7および9G5からの少なくとも一つのドメインを含みうる。例えば、抗体または抗体断片は、抗-RhoB モノクローナル抗体 7F7および9G5の少なくとも1、2、3、4、5、またはすべての6のCDR ドメインを含みうる(図9および10を参照されたい)。特定の態様において、抗体または抗体断片は、CDR3 ドメインの少なくとも一つまたは両方を含む。特定の態様において、抗体または抗体断片のドメインは、抗-RhoB モノクローナル抗体 7F7または9G5に存在するドメインと、少なくとも90%、95%、97%、99%、または100%の相同性または同一性を有する。ドメインは、図9および10に示すドメインよりも、約1、2、3、4、または5アミノ酸、特に1または2アミノ酸、ドメインのN-終端および/またはC-終端において、長くても短くてもよい。

30

【0039】

抗体はまた、免疫グロブリンを模倣する合成タンパク質であってもよい。例としては、限定されないが、Affibody(登録商標)分子(Affibody、Bromma、Sweden)、darpin(設計アンキリン反復タンパク質；Kawe et al. (2006) J. Biol. Chem.、281:40252-40263)、およびペプタボディ(peptabody)(Tersikh et al. (1997) PNAS 94:1663-1668)が挙げられる。

40

【0040】

本発明の抗体はさらに修飾されていてもよい。例えば、抗体は、ヒト化されていてもよい。特定の態様において、ハイブリッド抗体(またはその一部)は、抗体または抗体断片コンストラクトのバックボーンに挿入されている。例えば、本発明の抗体の可変軽ドメインおよび/または可変重ドメインを別の抗体コンストラクトに挿入することができる。抗体を組換えにより産生する方法は、当該技術分野において周知である。実際、特定の抗体および抗体断片コンストラクトのための市販のベクターが入手可能である。

【0041】

50

本発明の抗体はまたその他の成分と接合/連結させてもよい。例えば、抗体は、少なくとも一つの検出可能剤、造影剤、コントラスト剤、免疫抑制剤、または抗炎症剤に作動可能に連結（例えば、所望により、リンカーを介して、共有結合）させてもよい。本発明の抗体はまた、少なくとも一つの精製タグ（例えば、His-タグ）を含みうる。

【0042】

RhoB 阻害剤または抗体を含む組成物もまた、本発明に包含される。特定の態様において、組成物は、少なくとも一つの本発明の抗体または抗体断片および少なくとも一つの医薬上許容される担体を含む。

【0043】

本発明の抗体分子は、当該技術分野において公知の様々な方法を用いて調製されうる。抗体は、化学架橋結合、雑種ハイブリドーマ技術によって、および、宿主細胞、例えば、哺乳類細胞、細菌または酵母細胞において発現される組換え抗体または抗体断片の発現によって調製され得る。本発明の一つの態様において、抗体分子は、宿主細胞における組換え抗体または抗体断片の発現によって産生される。抗体をコードする核酸分子は、発現ベクターに挿入し、宿主細胞に導入することができる。結果として得られた抗体分子を次いで、発現系から単離し、精製する。抗体は所望により、抗体がそれによって精製される精製タグを含む。

【0044】

本発明の抗体分子の純度は、当業者に公知の標準的方法、例えば、これらに限定されないが、ELISA、免疫組織化学、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、固定化金属アフィニティークロマトグラフィー（IMAC）、分子ふるいクロマトグラフィー、ポリアクリルアミドゲル電気泳動（PAGE）、ウエスタンブロット法、表面プラズモン共鳴法および質量分析法を用いて評価することができる。

【0045】

本発明はまた、モノクローナル RhoB 抗体を分泌するハイブリドーマも包含する。現在、RhoB ハイブリドーマは、平均して、その他のハイブリドーマと比較して、増殖が遅く、より低い量の抗体を産生する。いくつかのアプローチをこのありうる制限を回避するために採ることができる。例えば、抗-RhoB 抗体のヌクレオチド配列をハイブリドーマからクローン化することができ、次いで抗-RhoB 抗体を分子生物学的アプローチによって産生することができる。別の態様において、RhoB-非依存性分泌ハイブリドーマを開発することができ、あるいは、ハイブリドーマ培養条件を抗体産生を最大にするように改変することができる。

【0046】

本発明はまた、RhoB 阻害剤である、小分子またはその他の分子実体、例えば、小核酸、ペプチド、炭水化物等を同定するための方法を包含する。特定の態様において、本発明のRhoB 抗体またはその断片（特に、CDR 領域）または対応するエピトープを用いて類似の生物活性を有するRhoB 阻害剤を設計することができる。

【0047】

定義

化合物または医薬組成物の「治療上有効量」とは、特定の障害または疾患の症候を予防する、阻害する、治療する、または和らげるために有効な量をいう。本明細書において炎症性障害の治療とは、炎症性障害、その症候またはそれに対する素因を治癒させる、軽減する、および/または予防することをいいうる。

【0048】

「医薬上許容される」とは、連邦政府または州政府の規制当局による、または、動物における使用、およびより具体的にはヒトにおける使用のために米国薬局方またはその他の一般に認識されている薬局方に列挙されている承認を示す。

【0049】

「担体」は、本発明の活性剤がともに投与される、例えば、希釈剤、補助剤(adjuvant)、賦形剤、補助剤(auxiliary agent)または媒体をいう。医薬上許容される担体は、無菌

10

20

30

40

50

液体、例えば、水および油であり得、石油、動物、植物または合成起源のもの、例えば、ピーナッツ油、ダイズ油、鉱物油、ゴマ油等が挙げられる。水または水性生理食塩水溶液および水性ブドウ糖(dextrose)およびグリセロール溶液が、好ましくは特に注射用溶液のための、担体として用いられる。好適な医薬用担体は、例えば、E.W. Martin.による「Remington's Pharmaceutical Sciences」に記載されている。

【0050】

「抗体」または「抗体分子」はいずれかの免疫グロブリンであり、特定の抗原に結合する抗体およびその断片が含まれる。本明細書において用いる場合、抗体または抗体分子は、インタクトな免疫グロブリン分子、免疫グロブリン分子の免疫学的に活性の部分、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性の部分の融合物を考慮する。

10

【0051】

本明細書において用いる場合、「免疫学的に特異的」という用語は、対象のタンパク質または化合物の一以上のエピトープに結合するが、抗原性生物学的分子の混合集団を含有するサンプルにおけるその他の分子を実質的に認識せず、結合しない、タンパク質/ポリペプチド、特に、抗体をいう。

【0052】

本明細書において用いる場合、「予防する」という用語は、対象が状態を発症する可能性の低下をもたらす、状態を発症する危険にある対象の予防的処置をいう。

【0053】

「治療する」という用語は、本明細書において用いる場合、疾患を患う患者に対する利益、例えば、患者の状態における改善(例えば、一以上の症候におけるもの)、状態の進行における遅延等を与えるあらゆるタイプの処置をいう。

20

【0054】

本明細書において用いる場合、「宿主」「対象」および「患者」という用語は、ヒトを含むあらゆる動物をいう。

【0055】

「低分子干渉RNA (siRNA)」という表現は、短い(典型的には、30ヌクレオチド長未満、特に、12-30または20-25ヌクレオチド長)二本鎖RNA分子をいう。典型的には、siRNAは、siRNAが標的にする遺伝子の発現を調節する。siRNA分子を同定および合成する方法は当該技術分野において公知である(例えば、Ausubel et al. (2006) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Incを参照されたい)。本明細書において用いる場合、siRNAという用語は、短いヘアピン(short hairpin) RNA分子(shRNA)を含む。典型的には、shRNA分子は、小さいループ配列によって分けられる短い相補的配列からなり、ここで、配列の一方は遺伝子標的に相補的である。shRNA分子は典型的には、エンドヌクレアーゼによって細胞内でsiRNAへとプロセッシングされる。例示的なsiRNA分子に対する修飾は、米国特許出願公開第20050032733号に提供されている。siRNA分子の発現のための発現ベクターは、好ましくは、構成的であっても調節性(regulated)であってもよい強いプロモーターを用いる。かかるプロモーターは当該技術分野において周知であり、これらに限定されないが、RNAポリメラーゼIIプロモーター、T7 RNAポリメラーゼプロモーター、およびRNAポリメラーゼIIIプロモーター-U6およびH1が含まれる(例えば、Myslinski et al. (2001) Nucl. Acids Res., 29:2502-09を参照されたい)。

30

40

【0056】

「アンチセンス核酸分子」または「アンチセンスオリゴヌクレオチド」には、目的のタンパク質の発現を阻害するために選択された配列(例えば、翻訳開始点および/またはスプライス部位)を標的にする(相補的な)核酸分子(例えば、一本鎖分子)が含まれる。かかるアンチセンス分子は典型的には約15から約50ヌクレオチド長であり、より具体的には約15から約30ヌクレオチドであり、しばしばmRNA分子の翻訳開始部位に及ぶ(span)。アンチセンスコンストラクトはまた、逆方向にて標的核酸分子の全配列を含有するよう作成されうる。あらゆる公知のヌクレオチド配列を標的にするアンチセンスオリゴヌクレオチドが、標準的方法にしたがってオリゴヌクレオチド合成により調製することができ

50

る。

【0057】

自己免疫および炎症性疾患の治療のための治療法(Therapies)および組成物

本明細書において上記するように、本発明は、少なくとも一つの抗-RhoB抗体(その断片を含む)および少なくとも一つの医薬上許容される担体を含む組成物を包含する。組成物はさらに、少なくとも一つのその他の抗炎症剤および/または少なくとも一つの免疫抑制剤を含みうる。あるいは、少なくとも一つのその他の抗炎症剤および/または少なくとも一つの免疫抑制剤は、少なくとも一つの医薬上許容される担体とともに別々の組成物中に含まれていてもよい。少なくとも一つの抗-RhoB抗体を含む組成物および少なくとも一つのその他の抗炎症剤および/または少なくとも一つの免疫抑制剤を含む組成物は、キット中に含まれていてもよい。かかる組成物は、炎症性または自己免疫疾患の治療のためにそれを必要とする患者に治療上有効量にて投与されうる。特定の態様において、患者は、炎症性または自己免疫疾患の治療をモニターするために本発明の組成物の投与後に炎症性または自己免疫疾患について少なくとも一回モニターされる(例えば、関節リウマチの場合、関節(例えば、手関節)痛および/または硬直; リウマトイド結節の存在; および/または血液中のリウマトイド因子またはリウマトイド因子抗体の存在)。

10

【0058】

本発明の組成物は、あらゆる好適な経路により、例えば、注射により(例えば、局所または全身的投与について)、静脈内、経口的、肺、経鼻またはその他の投与様式により投与され得る。一般に、組成物の医薬上許容される担体は、希釈剤、保存料、可溶化剤、乳化剤、補助剤および/または担体の群から選択される。かかる組成物は、様々なバッファー内容物(例えば、Tris-HCl、アセテート、ホスフェート)、pH およびイオン強度の希釈剤; および、添加剤、例えば、界面活性剤および可溶化剤(例えば、Tween 80、ポリソルベート 80)、抗酸化剤(例えば、アスコルビン酸、二亜硫酸ナトリウム)、保存料(例えば、チメロソール(Thimersol)、ベンジルアルコール)および増量(bulking)物質(例えば、ラクトース、マンニトール)を含みうる。組成物はまた、重合体化合物、例えば、ポリ乳酸、ポリグリコール酸等の粒状調製物に、またはリポソームまたはナノ粒子に組み込まれうる。かかる組成物は、本発明の医薬組成物の成分の、物理的状態、安定性、インビボ放出速度、およびインビボ除去速度に影響しうる。例えば、引用により本明細書に含める、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. (1990, Mack Publishing Co., Easton, PA 18042) pages 1435 - 1712 を参照されたい。本発明の医薬組成物は、例えば、液体形態において調製することができるし、あるいは乾燥粉末形態(例えば、凍結乾燥されている)におけるものであってもよい。

20

30

【0059】

さらに別の態様において、本発明の医薬組成物は、放出制御製剤において、例えば、静脈内注入、植え込み型浸透圧ポンプ、経皮パッチ、リポソーム、またはその他の投与様式を用いて送達され得る。特定の態様において、ポンプを使用することができる(Langer、前掲; Sefton、CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. (1987) 14:201; Buchwald et al.、Surgery (1980) 88:507; Saudek et al.、N. Engl. J. Med. (1989) 321:574を参照されたい))。別の態様において、重合体物質を用いることができる(Medical Applications of Controlled Release、Langer and Wise (eds.)、CRC Press: Boca Raton、Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability、Drug Product Design and Performance、Smolen and Ball (eds.)、Wiley: New York (1984); Ranger and Peppas、J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. (1983) 23:61を参照されたい; Levy et al.、Science (1985) 228:190; During et al.、Ann. Neurol. (1989) 25:351; Howard et al.、J. Neurosurg. (1989) 71:105もまた参照されたい)。さらに別の態様において、放出制御製剤は、動物の標的組織の近くに設置することができ、したがって、全身用量のほんの一部だけが必要とされる(例えば、Goodson、in Medical Applications of Controlled Release、前掲、(1984) vol. 2、pp. 115-138を参照されたい)。特に、放出制御デバイスは、不適当な炎症の部位のすぐ近くに動物へと導入することができる。その他の放出制御製剤は、Langerによる総

40

50

説において議論されている(Science (1990) 249:1527-1533)。

【 0 0 6 0 】

本発明の方法はさらに自己免疫疾患または炎症性疾患の治療のための少なくとも一つのその他の治療方法(therapeutic method)の投与を含みうる。例えば、自己免疫疾患の治療において、抗-RhoB 抗体は、対象のリンパ節の照射または血漿交換療法と共-投与される。

【 0 0 6 1 】

さらに別の態様において、本発明は、少なくとも一つの RhoB 配列ペプチド (その配列を含む)および少なくとも一つの医薬上許容される担体を含む組成物を包含する。該組成物はさらにその他の剤 (例えば、少なくとも一つのその他の抗炎症剤および/または少なくとも一つの免疫抑制剤)を含みうるかまたは、抗-RhoB 抗体について本明細書に上記されるように、別の組成物とともにキットに含まれ得る。組成物は抗-RhoB 抗体について本明細書に上記されるように、対象へと送達されうる (例えば、治療方法)。

【 0 0 6 2 】

以下の実施例は本発明の様々な態様を例示するために提供される。実施例はいかなるようにも本発明を限定する意図ではない。

【実施例】

【 0 0 6 3 】

実施例 1

RhoB- ノックアウトマウスを、RhoB- ペプチド-KLHまたはKLH (キーホールリンペットヘモシアニン)で免疫した。具体的には、0日目に、RhoB-KO マウスにフロイント完全アジュバント (CFA)中のRhoB- ペプチド-KLHまたはKLH を注射した。14日目に、フロイント不完全アジュバント (IFA)中のRhoB- ペプチド-KLHまたはKLHにより、ブースター注射を与えた。最後に、第二(second)ブースター注射を、リン酸緩衝食塩水 (PBS)中のRhoB- ペプチド-KLHまたはKLHにより29日目に投与した。10日目および24日目に出血させ、血清を32日目に収集した。

【 0 0 6 4 】

K/BxN TCR トランスジェニックマウスは、グルコース-6-リン酸異性化酵素 (GPI)に由来し、MHC クラス II 分子 A⁹⁷によって提示される、自己-ペプチドに対して反応性のTCRを発現する(Korganow et al. (1999) Immunity、10:451-461; Kouskoff et al. (1996) Cell、87:811-822; Matsumoto et al. (1999) Science、286:1732-1735)。K/BxN マウスは4から5 週齢にて自然発症的に非常に攻撃的な形態の関節炎を発症する。K/BxN マウスの関節炎は、それが、慢性、進行性、対称的であり、ヒト関節炎と同じ組織学的特徴を示すという点で、ヒトにおける関節炎を模倣する。K/BxN マウスによって経験される関節炎は、関節特異的であり、足首厚さのノギス測定による関節炎のスコアリングを可能とする(Korganow et al. (1999) Immunity、10:451-461; Ji et al. (2001) J. Exp. Med.、194:321-330)。

【 0 0 6 5 】

K/BxN マウス (5 マウス /群)を、1) 生理食塩水、2) 抗-KLH 血清、または3) 抗-RhoB-ペプチド血清で処理した。具体的には、血清 (200 μ l)を21 日齢マウスに腹腔内に投与した。平均足首厚さを指標(indicator)関節炎として経時的に測定した。図 1にみられるように、RhoB 抗-血清は関節炎を阻害する。

【 0 0 6 6 】

K/BxN マウスは、GPI-特異的免疫グロブリンを発現するB 細胞は、導入遺伝子にコードされるTCRを示すGPI-反応性 T 細胞から得る(receive from)という優先的な助け(prefere ntial help)のために、高力価にて生じるGPIに対する関節炎誘発性 Abを産生する。上記のように、K/BxN マウス (5 マウス /群)を、全部で200 μ l (100 μ l 生理食塩水と混合された100 μ lの血清)(腹腔内 (i.p.))の、1) 生理食塩水、2) 抗-KLH 血清、または3) 抗-RhoB-ペプチド血清で処理した。図 2Aおよび2Bにみられるように、RhoB 抗-血清を投与されたK/BxN マウスの血清では、KLH 抗-血清または担体単独を投与されたK/BxN マウ

スと比較して血清抗-GPI Igのレベルが低下しており(酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA)によって測定)、KLH 抗-血清または担体単独を投与されたK/BxN マウスと比較して抗-GPI 抗体分泌細胞の数が低下していた(酵素免疫スポット(enzyme-linked immunosorbent spot)(ELISPOT)により測定)。

【 0 0 6 7 】

上記に加えて、K/BxN マウスにおいてRhoB 抗-血清がその他のサイトカインに影響するか否かも決定した。RhoB 抗-血清のK/BxN マウスへの投与は、KLH 抗-血清 または担体単独を投与されたK/BxN マウスと比較して、IFN 、TNF 、IL-6、IL-10、MCP-1、MIP-1 、MIP-1 、またはRANTESのレベルを有意に調節しなかった。

【 0 0 6 8 】

脾細胞をマウスから単離し、B 細胞を不死化骨髓腫細胞 (Sp2/0)と融合させて、ハイブリドーマを作成した。48のサンプルを試験した。7つはペプチド 1 (RTDDGRAMAVRIQAYDY LE; 配列番号1;ヒト RhoB(GenBank 受入番号CAA29968)のアミノ酸140-158)に対して強い陽性を生じ、5つはペプチド 1およびペプチド 2 (DDGRAMAVRIQAY; 配列番号2;ヒト RhoB(GenBank 受入番号CAA29968)のアミノ酸142-154)に対して陽性を生じた。

【 0 0 6 9 】

図 3は、ヒト RhoBのアミノ酸配列を提供する。ペプチド 1は下線を引いている。この配列を包含するペプチド抗原をワクチン接種されたマウスを2セットの抗体に分けた。これらの2セットは、わずかに異なるがオーバーラップするエピトープによって規定される: 1セットの抗体の結合はY156 リン酸化によって影響され得るが、他方のセットの抗体はおそらく影響されないであろう (ペプチド 1および156でのチロシンを欠いているペプチド 2を識別する上記の結果を参照されたい)。両方のセットの抗体は全長 RhoB タンパク質を特異的に認識するが、一方のみが組織培養または動物におけるB 細胞による抗体分泌をブロックした。

【 0 0 7 0 】

図 4は、抗-RhoB ハイブリドーマ上清 (黒)がLPS-処理されたマウス B 細胞による抗体分泌を抑制することが実証されるELISA 実験の結果を提供する: ベースライン (非活性化; ダイヤモンド)、活性化赤線 (四角)、および抑制された(suppressed)線 (三角)を比較されたい。X線は、活性化を抑制しない非-特異的対照 (IDO 抗体)である。その他の線は、親ハイブリドーマからの抗-RhoB ハイブリドーマサブクローンから得られた上清を表し、中間のレベルの抑制を示している。ヨウ化プロピジウム (PI) 染色は、B 細胞はLPSに応答して増殖しないことを実証した。IL6 ビーズアレイ (bead array)を用いた分析は、抗-RhoB ハイブリドーマが IL6を分泌していないことを示した。

【 0 0 7 1 】

実施例 2

K/BxN マウスを関節炎の発症の前に(21 日齢)、500 μ gの抗-RhoB モノクローナル抗体 9G5または7F7 または対照 Igで処理した。図 6Aは、抗-RhoB モノクローナル抗体 9G5および7F7の両方が、後ろ足首厚さによって示されるように関節炎を阻害したことを示す。図 6Bおよび6Cは、抗-RhoB モノクローナル抗体はまた、抗-GPI 自己抗体力価が ELISAによって測定され (図6B)、抗-GPI 抗体分泌細胞 (ASC)がELISpot アッセイによって測定されるように(図6C)、自己抗体産生を阻害することを示す。

【 0 0 7 2 】

K/BxN マウスをまた、関節炎の発症後に(4 週齢) 500 μ g の抗-RhoB モノクローナル抗体 9G5または7F7 または対照 Igで処理した。図 7に示すように、抗-RhoB モノクローナル抗体 9G5および7F7は、後ろ足首厚さによって決定されるように、関節炎の進行を阻害した。

【 0 0 7 3 】

上記に加えて、抗-RhoB モノクローナル抗体がK/BxN マウスにおいてその他のサイトカインに影響するか否かも決定した。K/BxN マウスを21 日齢にて500 μ gの7F7 または対照 Igで処理した。関節流入領域リンパ節からの細胞を6 週齢にて収集し、一晚イオノマイ

10

20

30

40

50

シン (500 ng/ml)を含むPMA (50 ng/ml)中で培養した。サイトカインを培養上清中にて細胞数測定ビーズアレイにより測定した。抗-RhoB モノクローナル抗体 7F7のK/BxN マウスへの投与は、対照 Igを投与されたK/BxN マウスと比較して、炎症性サイトカインである、IFN、TNF、IL-17、IL-10、MCP-1、MIP-1、MIP-1、およびRANTES、または、B-細胞関連サイトカインである、IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10、および IL-13のレベルを有意に調節しなかった。

【 0 0 7 4 】

関節炎 RhoB ノックアウト (KO) (RhoB KO KRN.g7) マウスを、KRN.g7 背景に対して交雑すること(crossing onto)により作成した。KRN B6.g7 マウスは、KRN T 細胞活性化に必要なKRN TCR tg およびIAg7 MHC クラス II 分子の両方を発現するが、残りのNOD-関連遺伝子を欠くC57BL/6 マウスである(Kouskoff et al. (1996) Cell 87:811-822)。図 8A は、後ろ足首厚さにより決定して、RhoB KO マウスがKRN.g7 マウスと比較して低下した関節炎を有していたことを示す。図 8Bは、RhoB KO KRN.g7 マウスからの血清はまた、未処理レシピエントに移された場合に関節炎を誘導することができなかったことを示す。具体的には、KRN B6.g7または RhoB KO KRN B6.g7 マウスからの血清を0日目に未処理 C57BL/6 マウスに養子移入した(adoptively transferred)。しかしながら、図 8Cは、関節炎誘発性 K/BxN 血清が養子移入された場合に、RhoB ko マウスにおいて関節炎が誘導されうること示す。関節炎 K/BxN マウスからの血清を0日目に未処理野生型(wt)またはRhoB KO C57BL/6 マウスに養子移入した。特に、観察された関節炎は、RhoB KO マウスについてより重篤であり、より長い持続時間であった。理論に拘束されず、RhoB KO マウスにおける関節炎において観察された上昇した重症度は、マウスが自己抗体を排除できないことに起因する可能性がある。実際、抗-GPI 自己抗体力価は、KRN.g7 マウスと比較してRhoB KO KRN.g7 マウスにおいて中程度に上昇していたが、抗-GPI 抗体分泌細胞(ASC) の数は2匹のマウスの間で類似していた。

【 0 0 7 5 】

さらに、サイトカインがRhoB KO マウスにおいて影響されていたか否かも決定した。関節流入領域リンパ節からの細胞を6 週齢に収集し、一晚イオノマイシン (500 ng/ml)を含むPMA (50 ng/ml)中で培養した。サイトカインを、培養上清中にて細胞数測定ビーズアレイにより測定した。KRN.g7 マウスと比較した場合、RhoB KO KRN.g7 マウスは、炎症性サイトカインである、IFN、TNF、IL-17、IL-10、および MCP-1 (RANTES、MIP-1、およびMIP-1 はRhoB KO KRN.g7 マウスにおいてわずかに低下する傾向があったが)、または、B-細胞関連サイトカインである、IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10、およびIL-13の有意に調節されたレベルを有さなかった。理論に拘束されず、抗-RhoB 抗体を投与されたマウスと比較してのRhoB KO マウスのマウス表現型における類似性は、抗-RhoB 抗体がそれらの活性をそれらのRhoBとの相互作用を介して発揮していることのさらなる証拠である。

【 0 0 7 6 】

RhoB KO C57BL/6 マウスはまた、正常リンパ系集団を有していた。具体的には、野生型およびRhoB KO C57BL/6 マウスからの骨髓、胸腺、脾臓、リンパ節、および腹腔腔におけるリンパ系集団のパーセンテージをフローサイトメトリーによって測定した。野生型およびRhoB KO C57BL/6 マウスからの血清 Ig レベルもまたELISAにより測定した。特に、リンパ系集団または血清 Ig レベル (IgM、IgG1、IgG2b、IgG2c、およびIgG3)における有意差は野生型とRhoB KO C57BL/6 マウスの間で観察されなかった。RhoB-/-、RhoB+/-、または RhoB+/+ C57BL/6 マウスもまた、0日目にミョウバン中の100 µg のNP-KLHによって免疫した。血清サンプルを0日目、5日目、14日目、および21日目に採取し、抗-NP IgM またはIgGについてELISAにより分析した。RhoB KO マウスは免疫化に対して正常な応答を示した。

【 0 0 7 7 】

いくつかの刊行物および特許文献が上記明細書において本発明が属する技術水準をより完全に説明するために引用される。それらの引用文献のそれぞれの開示は、本明細書に引用により組み込まれる。

10

20

30

40

50

【 0 0 7 8 】

本発明の特定の好ましい態様を上記に記載し、具体的に例証したが、本発明はかかる態様に限定される意図ではない。様々な改変を、以下の請求項に示すような、本発明の精神と枠を逸脱することなく行うことができる。

【 図 1 】

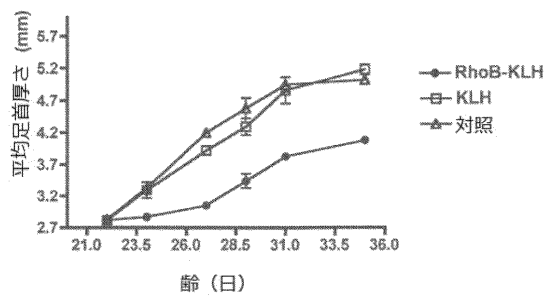


Figure 1

【 図 2 A 】

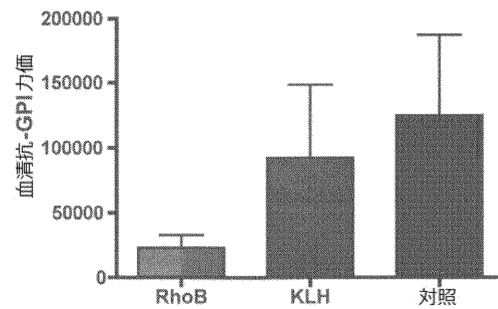


Figure 2A

【 図 2 B 】

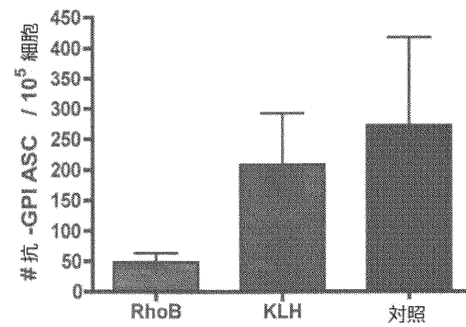


Figure 2B

【図 7 A】

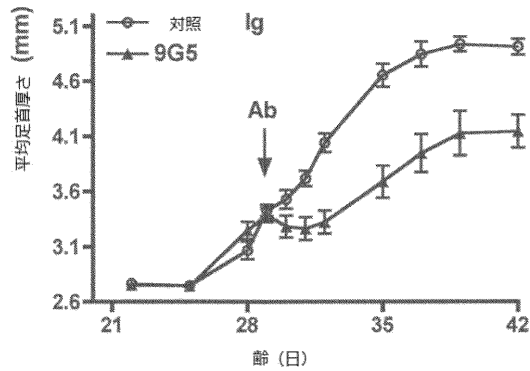


Figure 7A

【図 7 B】

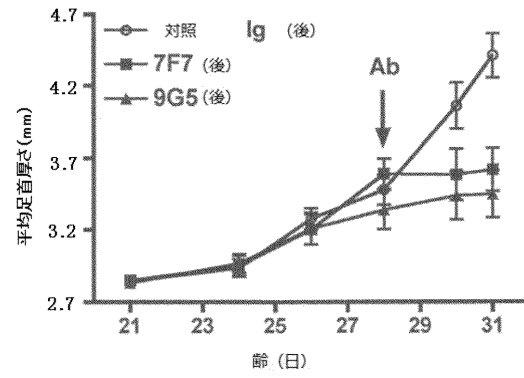


Figure 7B

【図 8 A】

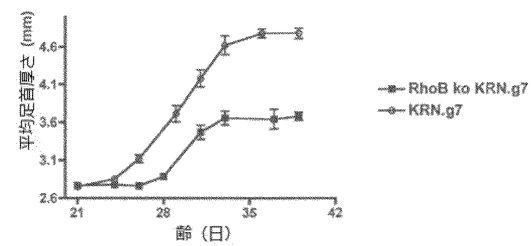


Figure 8A

【図 8 B】

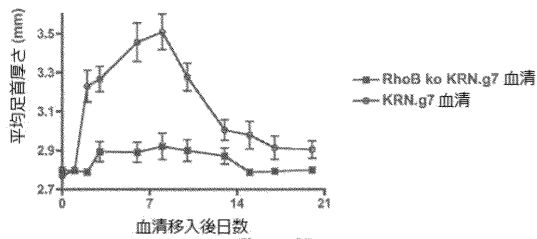


Figure 8B

【図 8 C】

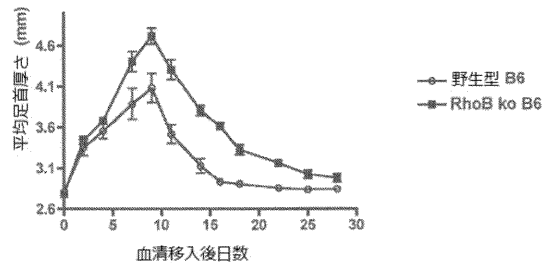


Figure 8C

【図 9 A】

```

CCAGTTCCGAGCTCCAGATGACCCAGACTCCACTCTCCCTGCTCAGTCTTGGAGATCAA
S S E L Q M T Q T P L S L F V S L G D Q
                                CDR1
GCCCCATCTCTTGCAGATCAAGTCAGAGCCCTTGTACACAGTAATGGAACACCTATTTA
A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y L
                                FWR2
CATGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAGATTTCCAAAC
H W Y L Q K P G Q S P K L L I Y K V S N
                                FWR3
CGATTTTCTGGGGTCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGACAGATTTCACACTC
R F S G V P D R F S G S G S G T D F T L
                                CDR3
AAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAGTACACAT
K I S R V E A E D L G V Y F C S Q S T H
GTTCGtacacgttcggagggggacccaagctggaaataaaaagggtgatgtgcacca
V P Y T F G G G T K L R I K R A D A A P
actgtatccatcttccaccatccagtgagcagttaaactctggaggtgcctcagtcgtg
T V S I F P P S S E Q L T S G G A S V V
tgcttcttgaacaacttctaccccaagacatcaatgtcaagtggaagattgatggcagt
C F L N N F Y P K D I N V K W K I D G S
gaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcaggacgacaagacagcacctac
E R Q N G V L N S W T D Q D S K D S T Y
agcatgagcagcaecctcacgttgaccaaggagagatgaacgacataacagctatacc
S M S S T L T L T K D E Y E R H N S Y T
tgtgaggccactcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggatgag
C E A T H K T S T S P I V R S F N R N E
tgt
C

```

Figure 9A

【 9 B】

TGAGGTGAAGCTGGTGGAGACTGGGGCTTCAGTGAAGTTGTCTGCAAGGCTTCTGGCTAC
 E V K L V E T G A S V K L S C K A S G Y
 ACCCTTCAACAGCTACTATATGTTCTGGGTGAAGCAGAGCCCTGGACCTGGCCCTTGAAGTGG
 T F T S Y Y M F W V K Q R P G H G L E W
 ATTGGGGGGTTAATCTTACCAATGGTGTACTGACTTCAATGAGAAGTCAAGAGCAAG
 I G G F N P T N G G T D F N E K F K S K
 GCCACCTGACTGTAGACAAGTCTCCACCCAGCCCTACATACAACTCAGCAGCCCTGACA
 A T L T V D K S S T T A Y I Q L S S L T
 TCTGAGGACTCTGCGCTTATTACTGTACGgaiggttaacctctgggtcaagggaacctcg
 S E D S A V Y Y C T D G N L W G Q G T S
 gtcacgctctctcagcccaaacgacaccccatctgtctatccactgccccctggatct
 V T V S S A K T T P P S V Y P L A P G S
 gctgcccacaaactaacctccatgggtgacctgggtgctggtcaagggtctatttccctgag
 A A Q T N S M V T L G C L V K G Y P P E
 ccagtgcacgtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacaccttcccagct
 P V T V T W N S G S L S S G V H T F P A
 gtccctgcagctgtgacctctacactctgagcagctcagtgactgtccctccagcaccctgg
 V L Q S D L Y T L S S S V T V P S S T W
 cccagcgagacgctcacttgcacgttggccacccggcggcagcagcaccaggtggacaag
 P S E T V T C N V A H P A S S T K V D K
 aaaaattgtgccagggtgtgtgtgtgaagccttgcatatgtacagctccagagaagtatca
 K I V P R D C G C K P E V S
 tctgtcttcatcttcccccaaggcccaaggatgtgtccacattactctgactcttaag
 S V F I P P P K P K D V L T I T L T P K
 gtcaagctgtgtgtgtgtgtagacacagcaggaatgatcccgaggtccagttcagcgtgtt
 V T C V V V D I S R D P E V Q F S W F
 gtagatgtgtgtgaggtgtgcacagctcagacgcacccccgggaggagcagttcaacagc
 V D D V E V H T A Q T Q P R E E Q F N S
 accttccgctcagtcagtgaaacttccatcatgacacaggaactggctcaatggcaggag
 T F R S V S E L P I M H Q D W L N G K E
 ttcaaatgcagggtcagcagtgagcttccctgcccccatcgagaaacacatctccaaa
 F K C R V N S A A F P A P I E K T I S K
 accaaaggcagacagcaggtccacaggtgtacacattccacatcccaaggagcagatg
 T K G R P K A P Q V Y T I P P P K E Q M
 gccaaagataaagtcagctgtgacctgcatgataacagacttcttccctgaagacattact
 A K D K V S L T C M I T D F F P E D I T
 gtggagtgagcagtggaatggggcagcagcggagaaactacaagaacactcagcccatcag
 V E W Q W N G Q P A E N Y K N T Q P I M
 gacacagatggctcttacttctgtctacagcaagctcaatgtgcagaaagcagcagcagc
 D T D G S Y F V Y S K L N V Q K S N W E
 gcaggaaatcttccctgtctgtgtgtacatgagggcctgcacacacacatactgag
 A G N T F T C S V L H E G L H N H H T E
 aagagcctctccacatctcctggtaaa
 K S L S H S P G K

Figure 9B

【 10 A】

ccAGTTCGAGCTCCAGATGACCCAGACTCCAGCAATCATGCTTCAGGGGGAAG
 S S E L Q M T Q T P A I M S A S P G E K
 GTCACCATGACCTGAGTGCAGCTCAAGTGTAACTTACATGCACTGGTACCAGCAGAAG
 V T M T C S A S S S V S Y M H W Y Q Q K
 CCAGGATCTCGCCCAACCTGGATTATGACACATCCAACTGGCTTCGGATTCCCT
 P G S S P K P W I Y D T S N L A S G F P
 GCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGCTGGGACTCTTACTCTCTCATAATCAGCAGCATGGAG
 A R F S G S G S G T S Y S L I I S S M E
 GCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCATCAGCGAGTAGTACCCTGacacgttcggga
 A E D A A T Y Y C H Q R S S Y P Y T F G
 ggggggaccaaagctggaaataaaacagctgagctgctgacacacactgtatccatcttccca
 G G T K L E I K R A D A A P T V S I F P
 ccaccagtgagcagtaacatctggaggctgctcagctgtgtgtcttcttgaacaacttc
 P S S E Q L T S G G A S V V C F L N N F
 taccacaaagacatcaatgtcaagtggaagattgagcagtgaaacgacaaatggcgctc
 Y P K D I N V K W K I D G S E R Q N G V
 ctgaacagttggactgatcaggacagcaaaagacagcacctacagcatgagcagcaccttc
 L N S W T D Q D S K D S T Y S M S S T L
 acgttgaccaaaggacagatgaagacacataacagctatacctgtgagggcactcacaag
 T L T K D E Y E R H N S Y T C G E A T H K
 acatcaacttccacattgtcaagagcttcacaggaatgagtg
 T S T S P I V K S F N R N E C

Figure 10A

【 10 B】

GAGGTGAAGCTGGTGGAGACWGGTGGAGGATTGGTGCAGCCTAAAGGGTCATTGAAACTC
 E V K L V E X G G G L V Q P K G S L K L
 TCATGTGCAGCCTCTGGATTCAACTTCAATACCTACGCCATGAACCTGGGTCCCGCAGGCT
 S C A A S G F N F N T Y A M N W V R Q A
 CCAGGAAAGGGTTGGAAATGGGTTGCTCGCATAGAAGTAAAGTAAATATATGCAACA
 P G K G L E W V A R I R S K S N N Y A T
 TATTATGCCGATTCAGTGAAGAGATGATTCCACATCTCCAGAGATGATTGAGAAACATG
 Y Y A D S V K D R F T I S R D D S E N H
 CTCTATCTGCAAAATGAACAACCTTGAACCTGAGGACACAGCCATTATTACTGTGTGAGA
 L Y L Q M N N L K T E D T A I Y Y C V R
 ggggtgtgtaaccttgactactggggccaaggcaccactctcacagctctcctcagcccaaa
 G G G N L D Y W G Q G T T L T V S S A K
 acaacagccccatcggtctatccactggccctgtgtgtggaggtacaaactggctcctcg
 T T A P S V Y P L A P V C G G T T G S S
 gtgactctagagtgctgggtcaagggttatthtccctgagcagtgacctgacctggaac
 V T L G C L V K G Y F P E P V T L T W N
 tctggatccctgtccagtggtgtgcacaccttccagctctcctgagctgtggctctac
 S G S L S S G V H T F P A L L Q S G L Y
 accctcagcagctcagtgactgtaacctcgaacacctggccagccagcagcaccatcacctgc
 T L S S S V T V T S N T W P S Q T I T C
 aatgtggcccccacggcagcagcacaagtggacaaagaaattgagccagagtgccc
 N V A H P A S S T K V D R K I E P R V P
 ataacacagaacccctgtctctccactcaagagtggtcccccagtcgcagctccagacacct
 I T Q N P C F P L K E C F P P C A A P D L
 ttgggtggacacatcggtcttctctctccctccaaagatcaaggatgtactcatgatctcc
 L G G P S V F I F P P K I K D V L M I S
 ctgagccccatgggtcacatgtgtgtgtgtgagtgagcagagtgaccacagcagctccag
 L S P M V T C V V D V S E D D P D V Q
 atcagctgggtttgtgaacacagtggaagtaacacagctcagacacaaacccatagagag
 I S W F V N N V E V H T A Q T Q T H R E
 gattacaacagctactctccgggtggctcagtgccctccccatccagcaccagagctggatg
 D Y N S T L R V V S A L P I Q H Q D W H
 agtggcaaggagttcaatgcaagggtcaacaacagagccctccccctcccatcagagaaa
 S G K E F K C K V N N E A L P S P I E K
 accatctcaaaacccagagggccagtaagagctccacaggtatattgtcttgcctccacca
 T I S K P R G P V R A P Q V Y V L P P P
 ggaagagagatgactaagaaaggttccagctgtcagctgcatgatcacaggctcttctact
 A E E M T K K E F S L T C M I T G F L P
 gctgaattgtgtgactggaccagcaatgggtgtacagagcaaaactacaagaacacc
 A E I A V D W T S N G R T E Q N Y K N T
 gcaacagctcctggactgtgtgttcttactctcatgtacagcaagctcagagtaacaaag
 A T V L D S D G S Y F M Y S K L R V Q K
 agcacttgggaagagggaagctcttccctcctcagtggtccacaggggtctgtcacaat
 S T W E R G S L F A C S V V H E G L H N
 cacttaccagtaagaccttctccggactccgggtaaa
 H L T T K T F S R T P G K

Figure 10B

【配列表】

0006253580000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	29/00 1 0 1
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	37/02
A 6 1 P	21/04	(2006.01)	A 6 1 P	3/10
C 0 7 K	7/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/04
C 0 7 K	16/40	(2006.01)	C 0 7 K	7/00
C 1 2 N	9/16	(2006.01)	C 0 7 K	16/40
			C 1 2 N	9/16 B

- (72)発明者 リサ・ローリー - クライントップ
アメリカ合衆国 1 9 0 0 2 ペンシルベニア州アンブラー、ヘンドリックス・ストリート 2 3 2 番
- (72)発明者 ローラ・マンディック - ナヤック
アメリカ合衆国 1 9 4 6 2 ペンシルベニア州プリマス・ミーティング、ホリー・コート 9 0 7 番
- (72)発明者 ジョージ・シー・ブレンダーギャスト
アメリカ合衆国 1 9 0 7 2 ペンシルベニア州ペン・バレー、ライターズ・ミル・ロード 1 1 2 番
- (72)発明者 ジェイムズ・ドゥハダウェイ
アメリカ合衆国 1 9 8 0 9 デラウェア州ウィルミントン、ベルフォント・アベニュー 8 0 0 番

審査官 鳥居 福代

- (56)参考文献 特開 2 0 0 8 - 1 7 8 3 5 8 (J P , A)
国際公開第 2 0 0 6 / 1 1 2 4 0 1 (W O , A 1)
国際公開第 2 0 1 0 / 0 9 4 4 9 0 (W O , A 1)
米国特許第 0 5 9 6 2 6 7 2 (U S , A)
米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 1 4 2 1 0 3 (U S , A 1)
特表 2 0 0 1 - 5 1 9 3 8 7 (J P , A)
米国特許出願公開第 2 0 0 7 / 0 2 1 3 3 5 4 (U S , A 1)
FASEB J. , 2 0 0 3 年 , Vol.17, No.8, p.905-907
J. Comp. Neurol. , 2 0 0 6 年 , Vol.494, No.6, p.976-985
Am. J. Pathol. , 2 0 1 1 年 1 月 , Vol.178, No.1, p.245-252
Experimental cell research , 2 0 0 8 年 , Vol.314, p.2811-2821
Development , 1 9 9 8 年 , Vol.125, No.24, p.5055-5067

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 8 / 0 0
A 6 1 K 3 9 / 3 9 5
A 6 1 K 4 5 / 0 0
A 6 1 K 4 7 / 6 4
C 0 7 K 1 6 / 4 0
C 0 7 K 7 / 0 0
C 0 7 K 1 4 / 0 0
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)
U n i P r o t / G e n e S e q