

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-507995

(P2012-507995A)

(43) 公表日 平成24年4月5日(2012. 4. 5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
C O 7 K 14/47 (2006.01)	C O 7 K 14/47	4 B O 6 4
C O 7 K 19/00 (2006.01)	C O 7 K 19/00	4 B O 6 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C O 7 6
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 C O 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 21 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2011-535102 (P2011-535102)	(71) 出願人	511110577
(86) (22) 出願日	平成21年11月4日 (2009. 11. 4)		エイチエルエイジー・テクノロジーズ
(85) 翻訳文提出日	平成23年6月30日 (2011. 6. 30)		H L A - G T E C H N O L O G I E S
(86) 国際出願番号	PCT/EP2009/064577		フランス国、エフー69005 リヨン、
(87) 国際公開番号	W02010/052229		ケ・フルシロン 40/41
(87) 国際公開日	平成22年5月14日 (2010. 5. 14)	(71) 出願人	502124444
(31) 優先権主張番号	08168677.6		コミッサリア ア レネルジー アトミー
(32) 優先日	平成20年11月7日 (2008. 11. 7)		ク エ オ ゼネルジ ザルタナティヴ
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		フランス国 エフー75015 パリ、
(31) 優先権主張番号	61/112, 816		バテイマン 「 ル ポナン デー 」 ,
(32) 優先日	平成20年11月10日 (2008. 11. 10)		リュ ルブラン 25
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100078662
			弁理士 津国 肇
		(74) 代理人	100116919
			弁理士 齋藤 房幸
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 H L A - G ポリペプチドおよびその医薬的使用

(57) 【要約】

本発明は、新規タンパク質およびその医薬的使用に関する。より具体的には、本発明は、b 2 ミクログロブリンの配列に融合されたH L A - 5 抗原の配列を含む新規タンパク質に関する。本発明はまた、そのようなポリペプチドを生産する方法、それを含む医薬組成物、および臓器／組織拒絶反応を含む様々な疾患を処置するためのその使用に関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

N 端から C 端の向きに、 β 2 ミクログロブリンのアミノ酸配列、スパーサーグループおよび H L A - G 5 抗原のアミノ酸配列を含むポリペプチド。

【請求項 2】

β 2 ミクログロブリンが、ヒト β 2 ミクログロブリンである、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 3】

β 2 ミクログロブリンが、配列番号 2 のアミノ酸残基 2 1 - 1 1 9 を含む、請求項 1 または 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 4】

H L A - G 5 抗原が、ヒト H L A - G 5 抗原である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドであって、ここで H L A - G 5 抗原が、下記より選択される：

a) H L A - G 抗原の α 1、 α 2 および α 3 ドメインのアミノ酸配列；

b) H L A - G 抗原のイントロン 4 によってコードされる 2 1 アミノ酸残基のアミノ酸配列ならびに α 1、 α 2 および α 3 ドメインのアミノ酸配列；

c) 配列番号 2 のアミノ酸残基 1 3 5 - 末端；および

d) a) から c) のいずれか一つによって定義されるアミノ酸配列であって、1 ~ 5 個のアミノ酸欠失、置換または挿入を有するアミノ酸配列

【請求項 6】

スパーサーグループが、8 から 2 0 アミノ酸残基、好ましくは (G 4 S) n 配列のペプチドであって、ここで n は 2 または 3 である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

【請求項 7】

配列番号 2 またはそのアミノ酸残基 2 1 - 末端を含む、ポリペプチド H L A - G 5 - B 2 M。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードする核酸分子。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 10】

請求項 8 に記載の核酸分子または請求項 9 に記載のベクターを含む、リコンビナント宿主細胞。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドを生産する方法であって、ここで前記核酸分子の発現を可能にする条件下で請求項 10 に記載のリコンビナント宿主細胞を培養すること、そして生産された前記ポリペプチドを回収すること、を含む、前記ポリペプチドを生産する方法。

【請求項 12】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドの二量体。

【請求項 13】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドを含む医薬組成物。

【請求項 14】

臓器または組織拒絶反応を処置するための、請求項 13 に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

炎症性疾患または自己免疫疾患を処置するための、請求項 14 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

10

20

30

40

50

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規タンパク質およびその医薬的使用に関する。より具体的には、本発明は、B2ミクログロブリンに融合されたHLA-G5抗原のドメインを含む新規融合タンパク質に関する。本発明はまた、そのようなタンパク質を生産する方法、それを含む医薬組成物、および臓器／組織拒絶反応を含む様々な疾患を処置するためのその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

主要組織適合性複合体(MHC)抗原は、3つの主要なクラス、すなわちクラスI抗原、クラスII抗原(HLA-DP、HLA-DQ、およびHLA-DR)、およびクラスIII抗原に分けられる。

10

【0003】

クラスI抗原は、3つの球状ドメイン([アルファ]1、[アルファ]2および[アルファ]3)を示す従来型抗原HLA-A、HLA-B、およびHLA-Cを含み、ならびに非従来型抗原HLA-E、HLA-F、HLA-Gを含む。

【0004】

HLA-Gは、正常ヒト胎盤の絨毛外トロホブラストおよび胸線上皮細胞によって発現されている非古典的HLAクラスI分子である。HLA-G抗原は、本質的に、胎盤のサイトトロホブラスト細胞によって発現されており、母性免疫系から胎児を防御する免疫調節剤として機能する(母親による拒絶反応の欠如)。HLA-G遺伝子の配列は、すでに記載されており(例えば、Geraghty et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1987, 84, 9145-9149; Ellis; et al., J. Immunol., 1990, 144, 731-735)そして4396塩基対を含む。この遺伝子は、8つのエクソン、7つのイントロンおよび3'非翻訳末端から成り、各々が以下のドメインに対応している: エクソン1: シグナル配列、エクソン2: アルファ1細胞外ドメイン、エクソン3: アルファ2細胞外ドメイン、エクソン4: アルファ3細胞外ドメイン、エクソン5: 膜貫通領域、エクソン6: 細胞質ドメインI、エクソン7: 細胞質ドメインII(非翻訳)、エクソン8: 細胞質ドメインIII(非翻訳)および3'非翻訳領域。

20

【0005】

7つのHLA-Gのアイソフォームが、同定されており、そのなかで4つは、膜結合性であり(HLA-G1、HLA-G2、HLA-G3およびHLA-G4)そして3つは、可溶性である(HLA-G5、HLA-G6およびHLA-G7)(例えば、Carosella et al., Blood 2008, vol. 111, p 4862を参照)。

30

【0006】

成熟G1タンパク質アイソフォームは、3つの外部ドメイン($\alpha 1-\alpha 3$)、膜貫通領域および細胞質ドメインを含む。

G2タンパク質アイソフォームは、 $\alpha 2$ を含まず、すなわち、 $\alpha 1$ および $\alpha 3$ ドメインが、直接連結され、その後に膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインが続く。

G3タンパク質アイソフォームは、 $\alpha 3$ および $\alpha 3$ ドメインの両方を欠いており、すなわち、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインに直接連結されている $\alpha 1$ ドメインを含む。

40

G4タンパク質アイソフォームは、 $\alpha 3$ ドメインを欠いており、すなわち、 $\alpha 1$ ドメイン、 $\alpha 2$ ドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを含む。

【0007】

可溶性HLA-Gアイソフォームは、全て膜貫通および細胞質ドメインを欠いている。より具体的には:

G5タンパク質アイソフォームは $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ および $\alpha 3$ ドメイン、ならびにイントロン4によりコードされている21アミノ酸残基の外C末端ペプチド配列(転写スプライシングおよびRNA成熟後のイントロン4の保持の結果である)を含有する。

G6タンパク質アイソフォームは、 $\alpha 2$ を含有しないG5に対応し、すなわち、HLA-G6は $\alpha 1$ および $\alpha 3$ ドメイン、ならびにイントロン4によりコードされている21ア

50

ミノ酸残基の外C末端ペプチド配列（転写スプライシングおよびRNA成熟後のイントロン4の保持の結果である）を含有する。

G7タンパク質アイソフォームは、 α 1ドメインのみ、およびイントロン2にコードされている2つの付加的なC末端アミノ酸残基（転写スプライシングおよびRNA成熟後のイントロン2の保持の結果である）を含有する。

【0008】

これらのアイソフォームは全て、例えば、Kirszenbaum M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, 91, 4209-4213; 欧州出願EP 0 677 582; Kirszenbaum M. et al., Human Immunol., 1995, 43, 237-241; Moreau P. et al., Human Immunol., 1995, 43, 231-236)に記載されている。

10

【0009】

以前の研究により、HLA-Gタンパク質は、同種異系免疫反応、例えば増殖性Tリンパ球細胞反応、細胞障害性Tリンパ球を介した細胞溶解、およびNK細胞を介した細胞溶解を抑制することができることが示されている(Rouas-Freiss N. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 1997, 94, 5249-5254; Semin Cancer Biol 1999, vol 9, p. 3)。その結果、HLA-Gタンパク質は、同種異系間または異種間の臓器／組織移植における移植片拒絶反応を処置するために提案されている。HLA-Gタンパク質はまた、がん(EP1 054 688)、炎症性疾患(EP1 189 627)および、より一般的には、免疫と関連する疾患の処置のために提案されている。HLA-Gが特定の細胞または組織を標的とするようにHLA-Gタンパク質を特異的なリガンドに融合することもまた、提案されている(WO2007091078)。しかしながら、そのような標的化融合が活性であるということを示す結果や実験データは、いまだ提供されていないということに、留意しなければならない。

20

【0010】

現在、医薬的目的のためにどのようなコンフォメーションが最も活性であるのか、どのようにHLA-Gの可溶型を用いることができるのか、そしてHLA-Gのどのドメインが最も効果的な療法に必要なものは、明らかになっていない。

【発明の概要】

【0011】

本発明は、新規タンパク質またはポリペプチド、それを含む医薬組成物、およびその使用に関する。より具体的には、本発明は、B2ミクログロブリンの配列に融合したHLA-G 5抗原の配列を含む、新規ポリペプチドに関する。実施例の節において示すように、このポリペプチドは、*in vivo*において生物学的に活性であり、二量体を形成することができる。このポリペプチドは従って、そのような障害、および他の免疫に関する疾患を処置するための薬剤候補を示す。

30

【0012】

本発明の目的は従って、HLA-G 5抗原配列に融合した β 2ミクログロブリン配列を含む融合ポリペプチドに属する。より好ましい実施態様においては、HLA-G 5抗原は、ヒトHLA-G 5抗原である。さらに、より好ましい実施態様においては、 β 2ミクログロブリン配列は、スパーサーグループを通じてHLA-G 5抗原配列に融合し、そして／または該ポリペプチドのN末端部分に位置する。

40

【0013】

本発明の好ましい目的は、以下の構造を含むポリペプチドである：

B 2 M — S P A C E R — H L A — G 5

ここで、B2Mは、 β 2ミクログロブリンの配列であり；SPACERは、好ましくは5～20アミノ酸残基を含むスパーサーグループの配列であり；そしてHLA-G 5は、HLA-G 5抗原の配列である。

【0014】

本発明のさらなる目的は、本発明のポリペプチドをコードする核酸分子に属する。

【0015】

50

本発明はまた、上記で定義した核酸分子を含むベクターに関する。

【0016】

本発明の別の目的は、上記で定義した核酸分子またはベクターを含むリコンビナント宿主細胞である。

【0017】

本発明のさらなる目的は、上記で定義したポリペプチドを生産する方法であって、ここで、該方法は、該核酸分子の発現を可能にする条件下で本発明のリコンビナント宿主細胞を培養すること、そして生産された該ポリペプチドを回収すること、を含む。

【0018】

本発明はさらに、本発明のポリペプチドの二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）に関する。

10

【0019】

本発明はまた、本発明の融合ポリペプチドまたはその二量体に特異的に結合する抗体に関する。

【0020】

本発明はまた、上記で定義したポリペプチドを、単量体としてまたは多量体として含む医薬組成物に関する。

【0021】

本発明はまた、上記で定義したポリペプチドをコードする核酸を含む医薬組成物、またはそのようなポリペプチドを発現するリコンビナント細胞に関する。

20

【0022】

本発明はさらに、臓器または組織拒絶反応、炎症性疾患もしくは自己免疫疾患を処置するためのそのようなポリペプチドまたは医薬組成物に関する。

【0023】

本発明のさらなる目的はまた、臓器／組織拒絶反応を処置する方法であって、有効量の本発明のポリペプチドまたは組成物をそれらを必要とする対象に投与することを含む方法に関する。より具体的には、該方法は、組織／臓器移植の前に、最中におよび／またはその後、該ポリペプチドまたは組成物を該対象に投与することを含む。

【0024】

本発明のさらなる目的は、対象における移植片に対する寛容を促進する方法であって、それらを必要とする対象に有効量の上記で定義したようなポリペプチドまたは組成物を投与することを含む方法である。

30

【0025】

本発明を、任意の哺乳類の対象に、好ましくはヒト対象に使用してもよい。以下にさらに開示されるように、本発明のポリペプチドは、*in vivo*での同種異系または異種移植の後の組織拒絶反応を実質的に抑制することができる。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】図1：HLA-G5-B2Mは、二量体を形成することができる。

【図2】図2：HLA-G5-B2Mは、*in vivo*での移植片生存を促進する。

40

【0027】

発明の詳細な説明

本発明は、B2Mに融合したHLA-G5抗原を含む融合ポリペプチドに関する。本発明の融合ポリペプチドは、生物学的に活性であり、*in vivo*での移植片拒絶反応を効果的に抑制することが示されてきた。より具体的には、発明者らは、HLA-G5抗原をB2Mに融合することにより、高い免疫効果を示す生物学的に活性であるタンパク質が得られることを明らかにした。本願で提示される結果は、そのようなポリペプチドが、*in vivo*で非常に効果的に移植片寛容を促進することができ、そしてそれゆえに免疫に関する障害を処置するための、特に対象における望まれないまたは有害な免疫応答を低下させるための新規薬剤を代表することを示す。

50

【0028】

従って、本発明の第一の目的は、H L A－G 5 抗原のアミノ酸配列と融合された B 2 M のアミノ酸配列を含むポリペプチドに属する。

【0029】

本発明に関連して、用語「ポリペプチド」および「タンパク質」は、互換的に使用され、アミノ酸残基のポリマー（それらはアミノ結合を介してまたは改変された、ペプチド模倣の結合を通じて一緒に結合されていてもよい）を含む分子を指す。前記タンパク質またはポリペプチド中の該アミノ酸残基は、天然アミノ酸残基、もしくは非天然または改変されたアミノ酸残基のいずれであってもよい。それらはLおよび／またはD型であってもよい。また、該ポリペプチドまたはタンパク質は、例えば、末端に保護されておおよび／または改変されて（例えば、ラテラルファンクション（lateral functions）の化学的または物理的变化によって）いてもよい。

10

【0030】

本発明のポリペプチドにおいて、種々のポリペプチドドメインは、共有結合により一緒に結合されており、その結果それらを、最も好ましくは、リコンビナント技術によって単一分子として生産できる。つまり、それらは、アミン結合により融合されている。

【0031】

本発明のタンパク質において、B 2 M配列は、H L A－G 5 配列のN末に位置しており、そしてそれらは、スパーサーグループを介して一緒に結合されており、それは以下の構造で表わされる：

20

B 2 M — S P A C E R — H L A－G 5

ここで、B 2 Mは、 β 2 ミクログロブリンの配列であり；S P A C E Rは、スパーサーグループの配列であり、；そしてH L A－G 5は、H L A－G 5 抗原の配列である。

【0032】

B 2 ミクログロブリン（“B 2 M”）は、11.8 K D aの血清タンパク質であり、ほぼ全ての有核細胞の表面上で主要組織適合性複合体（M H C）クラス I 重鎖との会合がみられる。ベータ 2 ミクログロブリンは、H L A分子の細胞表面発現に必須である。

【0033】

B 2 Mの配列の具体的な例を、配列番号 2 中に開示する（アミノ酸残基 21－119を参照）。別のB 2 M配列を、genebankよりまたは他の刊行物より得てもよいことを理解されたい（例えば、Genebank番号NC_000015、GeneID：567、該配列の最初の刊行物：Gussow et al., 1987 [PubMed 3312414]を参照）。更に、B 2 Mの天然変異（例えば、ポリモルフィズムの結果として）が、存在し、それは、本願に含まれる。また、上記配列の変異体で、ある程度（例えば、1～10、好ましくは1～5、最も好ましくは1、2、3、4または5）のアミノ酸残基を欠き、そして／またはある程度（例えば、1～10、好ましくは1～5、最も好ましくは1、2、3、4または5）のアミノ酸置換または挿入を含有する変異体も、本発明に含まれる。

30

【0034】

スパーサーグループは、ポリペプチドの適切なリフォールディングを可能にする任意のグループ（例えば、ペプチド）を指す。該スパーサーは、可変の長さを有することができ、そして好ましくは生物学的に不活性であるべきである。典型的には該スパーサーは、8～20、より好ましくは8～15、さらにより好ましくは12～15の長さのアミノ酸残基のペプチドである。特定の実施態様において、該スパーサーグループは、（G 4 S）n配列（ここでnは、2または3である）を有する。

40

【0035】

該ポリペプチドに含まれるH L A－G 5ドメインは、H L A－G 5 抗原の、好ましくはヒトH L A－G 5 抗原のアミノ酸配列、またはその変異体を含む。前に示したように、H L A－G 5タンパク質アイソフォームは、 α 1、 α 2および α 3ドメイン、ならびに（リーディングフレームの改変の結果として）イントロン 4にコードされる21アミノ酸残基の外C末端ペプチド配列を含有する可溶性タンパク質である。H L A－G 5は、膜貫通ド

50

メインまたは細胞質ドメインは含有しない。

【0036】

本発明に関連して、用語「HLA-G 5 抗原」は従って、HLA-G 抗原の $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ および $\alpha 3$ ドメインの配列を含有し、そして膜貫通および細胞質ドメインを欠く、ポリペプチドを指す。より好ましい実施態様において、HLA-G 5 はさらに、HLA-G のイントロン 4 にコードされる 21 アミノ酸残基の付加的な C 末端ペプチド配列を含む。

【0037】

HLA-G 5 配列の具体的な例は、 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ および $\alpha 3$ ドメイン、ならびにイントロン 4 にコードされる 21 アミノ酸残基の C 末端ペプチド配列からなる配列である。

【0038】

ヒト HLA-G 5 抗原のアミノ酸配列の例を、配列番号 2 中に提供する（アミノ酸残基 135～末端を参照）。他の HLA-G 5 配列は、オンライン（例えば、Fujii, T et al, Journal of Immunology, 1994. PMID: 7989753 を参照）または例えば、米国特許番号 US 5, 856, 442 および US 6, 291, 659 中で入手可能である。

【0039】

当然のことながら、HLA-G 5 の天然変異体（例えば、ポリモルフィズムの結果として）が、存在し、それは、本願に含まれる。また、上記配列の変異体で、ある程度（例えば、1～10、好ましくは 1～5、最も好ましくは 1、2、3 または 4）のアミノ酸残基を欠き、そして／またはある程度（例えば、1～10、好ましくは 1～5、最も好ましくは 1、2、3 または 4）のアミノ酸置換または挿入を含有する変異体も、本発明に含まれる。

【0040】

本発明の融合ポリペプチドの具体的な例は、配列番号 2 の HLA-G 5-B2M である。HLA-G 5-B2M において、ヒト B2M アミノ酸配列は、該ポリペプチドの N 末端に位置しており、そして（G4S）3 スペーサーグループを介してヒト HLA-G 5 抗原の配列と結合している。HLA-G 5-B2M はさらに、該ポリペプチドの分泌を可能にする B2M のリーダーペプチド配列（アミノ酸残基 1～20）を含む。

【0041】

本発明のさらなる具体的なポリペプチドは、配列番号 2 のアミノ酸残基 21～末端（すなわち、リーダーペプチド配列を欠く）を含むポリペプチドである。

【0042】

実施例において言及するように、そのような B2M-HLA-G 5 ポリペプチドは、*in vivo* で移植片寛容を促進することができる。

【0043】

この点において、本発明は、はじめて、HLA-G 抗原を、特異的な分子配列を介して B2M 配列と融合し、十分に活性である生体分子を生産できることを実証する。従って本発明はまた、以下の構造を有するポリペプチドに属する：

B2M — SPACER — HLA-G 抗原
N 末 C 末

ここで、B2M は、上記で定義した $\beta 2$ ミクログロブリン配列であり；SPACER は、上記で定義したスペーサーグループであり；そして HLA-G は、HLA-G 抗原の配列である。HLA-G 抗原の配列は典型的には、HLA-G 抗原の、好ましくはヒト HLA-G 抗原の少なくとも $\alpha 1$ ドメインの配列を含む。

【0044】

本発明のさらなる目的は、上記で定義したポリペプチドの二量体である。該二量体は、ホモ二量体、例えば、同一のポリペプチド間であってもよく、またはヘテロ二量体、例えば、少なくとも 1 つの本発明のポリペプチドを含む二量体であってもよい。

【0045】

本発明のポリペプチドを、当該技術分野でそれ自体公知の技術、例えば人工合成、リコンビナント技術、および／またはそれらの組み合わせを用いて得ることができる。典型的

10

20

30

40

50

な実施態様において、実施例中に例証するように、該ポリペプチドを、キメラコードポリヌクレオチドから開始して、リコンビナント技術によって生産する。

【0046】

この点において、本発明のさらなる目的は、上記で定義したポリペプチドをコードする核酸分子である。該核酸は、例えば、RNAまたはDNA、一本鎖または二本鎖であってもよい。それを、当該技術分野でそれ自体公知の技術、例えば遺伝子工学、化学合成または酵素的合成などを用いて生産してもよい。特定の実施態様において、該核酸はさらに、該ポリペプチドをコードする配列に作動可能に連結された、分泌のためのリーダーペプチドをコードする配列を含む。その結果、そのような核酸の発現は、選択された宿主細胞によるポリペプチドの分泌を導く。該リーダーペプチドは、ヒトまたは哺乳類の遺伝子から、例えば、B2M、インターロイキン、HLA-Gなどの種々の起原のリーダーペプチドであってもよい。本発明の核酸の具体的な例は、配列番号1（またはそのヌクレオチド残基61～末端、すなわちリーダー配列なし）を含む。

10

【0047】

本発明のさらなる目的はまた、上記で定義した核酸を含むベクターに属する。該ベクターは、クローニングおよび／または発現ベクター、例えばプラスミド、コスミド、ファージ、ウイルスベクター、人工染色体などであってもよい。そのようなベクターの具体的な例は、pFUSEプラスミド、pUCプラスミド、pcDNAプラスミド、pBRプラスミド、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、ラムダファージベクターなどを含む。該ベクターは制御配列、例えばプロモーター、ターミネーター、複製開始点などを含んでもよい。該ベクターを、*in vitro*でリコンビナント技術により、または*in vivo*で直接的に、遺伝子治療法において本発明のポリペプチドを生産するために用いてもよい。

20

【0048】

本発明のさらなる目的は、上記で定義した核酸またはベクターを含むリコンビナント宿主細胞である。該宿主細胞は、原核生物または真核生物であってもよい。原核生物宿主の例は、*E. coli*といった任意のバクテリアを含む。真核生物の例は、酵母、真菌、哺乳動物細胞、植物細胞、または昆虫細胞を含む。本発明のリコンビナント細胞を、当該技術分野においてそれ自体公知の形質転換技術、例えばトランスフェクション、リポフェクション、エレクトロポレーション、プロトプラスト形質転換などによって調製してもよい。これらの細胞を、任意の適切な培養培地によって維持および培養してもよい。

30

【0049】

本発明のリコンビナント細胞を使用して、例えば*in vitro*でまたは*ex vivo*で本発明のポリペプチドを生産してもよく、または細胞治療製品として、*in vivo*で該ポリペプチドを生産してもよい。

【0050】

この点において、本発明の目的はまた、上記で開示したポリペプチドを生産する方法であって、核酸分子の発現を可能にする条件下で本発明のリコンビナント宿主細胞を培養すること、および生産された該ポリペプチドを回収することを含む方法に属する。該ポリペプチドを、当該技術分野でそれ自体公知の技術、例えば遠心、濾過、クロマトグラフ法などを用いて回収および／または精製してもよい。

40

【0051】

生産において、本発明のポリペプチドを、改変して、それらの特性を改善してもよく、例えばそれらの薬物動態特性を改善してもよい。この点において、それらを、末端保護基（例えば、アミド、エステル）を付加することにより改変して、それらのプロテアーゼに対する安定性または抵抗性を向上させてもよい。それらをまた、キャリアサポート（carrier support）上にコートして、ポリペプチド密度を増加させてもよい。

【0052】

本発明のさらなる目的は、上記で定義したポリペプチドおよび、好ましくは医薬的に許容できる賦形剤または担体を含む医薬組成物である。

50

【0053】

本発明のさらなる目的は、上記で定義した核酸および、好ましくは医薬的に許容できる賦形剤または担体を含む医薬組成物である。

【0054】

本発明のさらなる目的は、上記に定義したリコンビナント細胞および、好ましくは医薬的に許容できる賦形剤または担体を含む医薬組成物である。

【0055】

適切な賦形剤または担体は、任意の医薬的に許容できるビヒクル、たとえば緩衝剤、安定化剤、希釈剤、塩、保存剤、乳化剤、甘味料などを含む。賦形剤は典型的には、等張の水溶液または非水溶液を含み、それらは公知の技術によって調製することができる。適切な溶液は、緩衝化溶質、例えばリン酸緩衝液、塩化物溶液、リンガー溶液などを含む。薬剤は典型的には、注射可能な組成物、好ましくは液体の注射可能な組成物の形態であるが、他の形態、例えば錠剤、カプセルゲル (gelules)、カプセル、シロップもまた、考慮してもよい。本発明の組成物を、複数の異なる経路によって、例えば全身性、非経口性、経口性、直腸性、経鼻性または腔性経路によって投与してもよい。それらを好ましくは、注射、例えば静脈内、動脈内、筋肉内、腹膜内、または皮下注射によって投与する。経皮性投与もまた、考慮する。具体的な投与量を、当業者によって調整してもよく（それは病態、対象、処置期間、他の活性成分の存在などに依存する）、典型的には、該組成物は、10 ng~1 mg、より好ましくは10 ng~100 mg、さらにより好ましくは10 µg~100 mgの単位用量の融合ポリペプチドを含む。

10

20

【0056】

本発明の組成物を、好ましくは有効量、すなわち、経時的に、疾患の進行を少なくとも遅らせ、または妨げるのに十分な量を投与する。これに関して、本発明の組成物を、好ましくは、対象における有害なまたは望まれない免疫応答の低下を可能にする量で使用する。

【0057】

上記で言及したように、本発明のポリペプチドは、強力な免疫制御活性を有し、よって異常なまたは望まれない免疫応答に関連する種々の疾患の状態を処置するのに使用してもよい。より具体的には、本発明のポリペプチドは、免疫に関連する障害、例えば特に、臓器または組織拒絶反応、炎症性疾患もしくは自己免疫疾患を処置することに適している。

30

【0058】

実施例の節で開示されるように、本発明のポリペプチドは、*in vivo*での同種異系または異種移植片拒絶反応を実質的に抑制することができる。

【0059】

本発明の目的は従って、移植片拒絶反応を処置するための上記で開示されたポリペプチドまたは組成物に属する。

【0060】

本発明のさらなる目的は、対象における移植片拒絶反応を処置する方法であって、有効量の上記で開示された組成物をそれを必要とする対象に投与することを含む方法に属する。

40

【0061】

処置するという用語は、例えば（移植を）受けた対象での移植片寛容の促進を指す。該処置を、移植の前に、最中におよび／またはその後に、行うことができ、そして現存する免疫抑制剤の代替療法として、または実際の免疫抑制剤との併用療法として使用してもよい。本発明は、同種異系の、半同種異系の、または異種の移植にでさえ適用可能であり、そして移植された臓器または組織、それらは、限定せずに、固形組織、液体組織または細胞を含み、それらは心臓、皮膚、腎臓、肝臓、肺、肝腎などを含むが、その任意の型のために使用してもよい。

【0062】

本発明のさらなる目的は、対象における臓器または組織を移植するための改善された方

50

法であり、該改善は、有効量の上記で開示された組成物を、移植の前に、最中におよび／またはその後に、対象に投与することを含む。

【0063】

本発明のさらなる目的は、対象における移植片寛容を促進するための方法であって、有効量の上記で開示された組成物を移植の前に、最中におよび／またはその後に、対象に投与することを含む方法である。

【0064】

本発明のさらなる目的は、対象における移植片拒絶反応を低下させるための方法であって、有効量の上記で開示された組成物を移植の前に、最中におよび／またはその後に、対象に投与することを含む方法である。

10

【0065】

本発明のさらなる目的は、自己免疫疾患を処置するための上記で開示されたポリペプチドまたは組成物に属する。本発明はまた、対象における自己免疫疾患を処置する方法であって、有効量の上記で開示された組成物をそれを必要とする対象に投与することを含む方法に属する。自己免疫疾患は、関節リウマチ、クローン病または多発性硬化症であってもよい。そのような疾患の状態において、本発明は、病態の原因である有害な免疫応答を低下させることを可能にする。

【0066】

本発明の他の目的は、炎症性疾患を処置するための上記で開示されたポリペプチドまたは組成物に属する。

20

【0067】

本発明のさらなる目的は、対象における炎症性疾患を処置する方法であって、有効量の上記で開示された組成物をそれを必要とする対象に投与することを含む方法に属する。

【0068】

当然のことながら、実際に投与される該組成物の量を、関連する状況、処置される状態または状態群、投与された正確な組成物、年齢、体重、ならびに個々の患者の応答、患者の症状の重症度、および選択された投与経路を含む状況などを考慮して、医師によって決定しそして適応するべきである。従って、上記の用量の範囲は、本明細書における教示のための一般的なガイダンスおよびサポートを提供することを目的としており、本発明の範囲を限定することを目的としていない。

30

【0069】

本発明のさらなる局面および利点は、本願の範囲を限定せず例示としてみなされるべき、以下の実施例で開示されるであろう。

【実施例】

【0070】

材料および方法

P C Rによる増幅

P C Rを、D N A 2 0 ng、各プライマー 2 0 0 nM、d N T P 2 0 0 μ M (Invitrogen)、P C R緩衝液 1 0 X (Perkin Elmer) 2 . 5 μ l、T a qポリメラーゼ (Perkin Elmer) 2 . 5 ユニットおよび水 2 7 μ lを含有する最終容量 5 0 μ lでG e n e A m p P C R S y s t e m 9 6 0 0 (Perkin Elmer) により行った。

40

【0071】

使用されたプログラムは、以下：

9 4 ° Cで5分間のD N A変性の後に3 0サイクルの：

9 4 ° Cで3 0秒

5 8 ° Cで3 0秒

7 2 ° Cで1分

最後のサイクルの最後に7 2 ° Cで5分間ステップを行った。

【0072】

ベクター

50

p F U S E - h F c 1 および p F U S E - m F c 2 ベクターを、いずれも InvivoGen 社より購入した。

【0073】

酵素消化

酵素の制限消化を、製造業者 (invitrogen) が推奨する通りに行った。典型的には、消化を、DNA 1 μg および制限酵素 5 ユニットで適切な緩衝液中で 37 °C で 1 時間行った。

【0074】

ライゲーション

PCR 断片の発現ベクターへのライゲーションを、Promega の T 4 DNA リガーゼを用いて製造業者が推奨する通りに行った。HLA-G5-β2 ミクログロブリンのコンストラクションについては、PCR 断片の p c D N A 3 . 1 D / V . 5 - H i s - T o p o (Invitrogen) へのライゲーションを、3 . 1 D i r e c t i o n a l T O P O (登録商標) E x p r e s s i o n K i t (Invitrogen) を用いて直接的に行った。

【0075】

プラスミド精製

プラスミド精製を、GenElute (商標) Plasmid Midiprep (Sigma) を用いて製造業者が推奨する通りに行った。

【0076】

タンパク質生産

融合タンパク質の生産のために、HEK293細胞またはHELA細胞を、リポフェクトアミン法 (invitrogen) を用いて様々なコンストラクトでトランスフェクションし、10% ウシ胎仔血清および 0 . 3 M グルタミンを添加した DMEM (Dulbecco の改変 Eagle Medium) 中で 37 °C、5% CO₂ で維持した。48 時間後に、上清を、回収し、0 . 2 μM フィルターを通して濾過し、そして実験のためにまたはストックを調製するために使用した。

【0077】

実施例 1 : HLA-G5-B2M のクローニングおよび合成

α1、α2 および α3 ドメインと融合した β2 ミクログロブリンを、プラスミド p F U S E - h F c 1 - H L A G 1 - B 2 M を鋳型として (未発表)、プライマー << B 2 M s i g T O P O センス >> 5 ' C A C C A T G T C T C G C T C C G T G G C C (配列番号 3) および HLA-G5 からのイントロン 4 配列を含有するプライマー << アルファ 3 - i 4 - X h o - 終止 アンチセンス >> : 5 ' A T C T T A A C T C G A G A G G T C T T T C A G A G A G G C T C C T G C T T T C C C T A A C A G A C A T G A T G C C T C C A T C T C C C T C C T T A C T C C A T C T C A G C A T G A G 3 ' (配列番号 4) を用いて PCR により増幅した。該 PCR 断片を次に、3 . 1 D i r e c t i o n a l T O P O (登録商標) E x p r e s s i o n K i t (Invitrogen) を用いて p c D N A 3 . 1 D / V . 5 - H i s - T o p o ベクター (Invitrogen) にライゲーションした。

結果として得られた c D N A 配列を、配列番号 1 に記載する。該タンパク質のアミノ酸配列を、配列番号 2 に記載する。

【0078】

該タンパク質を、材料および方法で開示した通りに生産した。

【0079】

実施例 2 : HLA-G5-B2M は、二量体を形成する

図 1 は、ポリアクリルアミド電気泳動による、HLA-G5-β2 ミクログロブリン二量体 (上側バンド) および単量体 (下側バンド) のタンパク質移動を表わす。上清に存在する HLA-G5 β2 ミクログロブリンタンパク質を、抗 HLA-G5 抗体 (M E M G / 0 9) によって前もってコートした Protein G sepharose

10

20

30

40

50

b e a d s (GE Healthcare) を用いて免疫沈降した。免疫沈降物を、 $1 \times \text{PBS}$ で三回洗浄した。タンパク質を次に非還元条件で試料緩衝液でインキュベーションすることにより溶出し、煮沸し、ポリアクリルアミドゲル上で電気泳動し、そしてHybond ECLニトロセルロースメンブレン (Amersham Pharmacia Biosciences) に転写した。 $1 \times \text{PBS}$ 中の5%脱脂乳でインキュベーションした後、該メンブレンを、抗HLA-G (4H84) 抗体で一晩インキュベーションし、そして西洋ワサビペルオキシダーゼをコンジュゲーションしたヤギ抗マウス二次抗体を用いて処理した。該メンブレンをECL detection system (Amersham Pharmacia Biosciences) を用いて処理した。

【0080】

示された結果から、本発明の融合タンパク質が、二量体を形成する能力を有することを
実証する。

【0081】

実施例3：HLA-G5-B2Mは、*in vivo*での同種異系皮膚移植片の生存を促進する

材料

硫酸ラテックスビーズ $4\% \text{ w/v}$ $5 \mu\text{m}$ (Invitrogen)

AffiniPure コート抗マウス IgG Fc 断片 1.8 mg/ml (Jackson ImmunoResearch)

AffiniPure コート抗ヒト IgG Fc 断片 1.3 mg/ml (Jackson ImmunoResearch)

HeLa ネガティブコントロール

HLA-G5-B2M $1.5 \mu\text{g/ml}$

【0082】

方法

全てのHLA-G/Fc融合タンパク質について、 10^8 硫酸ラテックスビーズを、 $20 \mu\text{g/ml}$ AffiniPure コート抗マウス (または抗ヒト) IgG Fc 断片を用いて 37°C で2時間コートし、その後BSA (2 mg/ml) をもちいて2時間インキュベーションした。洗浄後、該ビーズを $0.5 \mu\text{g/ml}$ のHLA-G/Fc融合タンパク質を用いて 4°C で16時間インキュベーションした。その後、該ビーズを、 $1 \times \text{PBS}$ で2回洗浄した。 5 ml のHLA-G/Fc融合タンパク質 ($1 \mu\text{g/ml}$) を、 5×10^6 硫酸ラテックスビーズに対して使用した。ネガティブコントロールとして、硫酸ラテックスビーズを、HLA-G/Fc融合タンパク質ではなく $1 \times \text{PBS}$ またはHeLa ネガティブコントロールを使用した以外は同様の方法で調製した。硫酸ラテックスビーズ (5×10^6) を、皮膚移植の前日に腹腔内 (i.p.) に注射した。

【0083】

特定病原体除去のC57BL/6 (H-2b) マウスおよびILT4-トランスジェニックマウス (H-2b) ($8 \sim 10$ 週齢) を、研究を通して皮膚移植レシピエントとして使用した。レシピエントマウスは、HLA-Gを結合したマイクロスフェアを投与され、ドナー皮膚は、MHCクラスIIの異なるB6.CH-2bm12 (bm12、H-2b) マウスからである。同種異系皮膚移植を、標準方法により行った。簡単に述べると、ドナーマウス ($12 \sim 14$ 週齢) の尾からの皮膚 (1.0 cm^2) を、レシピエントである麻酔されたマウスの側腹部に移植した。移植片を、ガーゼおよび絆創膏で覆い、10日目に取り除いた。移植片を、拒絶反応 (移植組織の80%が壊死し、サイズが小さくなると定義される) まで毎日記録した。全ての皮膚移植生存データを、Kaplan-Meier生存分析により試験した。

【0084】

結果

結果を、図2に示す。結果は、HLA-G5-B2Mが、*in vivo*での移植片寛容を実質的に改善することが出来たことを示している。該モデルにおける移植生存の各日は、ヒト対象における移植生存の少なくともほぼ一カ月に相当することに留意しなければ

ならない。

【 0 0 8 5 】

配列表

配列番号： 1 : c D N A

【 表 1 】

配列シグナル B2m/ベータ 2m/リンカー/Gα1/Gα2/Gα3/イントロン 4

ATG TCT CGC TCC GTG GCC TTA GCT GTG CTC GCG CTA CTC TCT CTT	
TCT GGC CTG GAG GCT ATC CAG CGT ACT CCA AAG ATT CAG GTT TAC	10
TCA CGT CAT CCA GCA GAG AAT GGA AAG TCA AAT TTC CTG AAT TGC	
TAT GTG TCT GGG TTT CAT CCA TCC GAC ATT GAA GTT GAC TTA CTG	
AAG AAT GGA GAG AGA ATT GAA AAA GTG GAG CAT TCA GAC TTG TCT	
TTC AGC AAG GAC TGG TCT TTC TAT CTC TTG TAC TAC ACT GAA TTC	
ACC CCC ACT GAA AAA GAT GAG TAT GCC TGC CGT GTG AAC CAT GTG	
ACC TTG TCA CAG CCC AAG ATA GTT AAG TGG GAT CGA GAC ATG GGA	
GGT GGC GGA TCC GGA GGT GGC GGA TCC GGA GGT GGC GGA TCC <u>GGC</u>	20
<u>TCC CAC TCC ATG AGG TAT TTC AGC GCC GCC GTG TCC CGG CCC GGC</u>	
<u>CGC GGG GAG CCC CGC TTC ATC GCC ATG GGC TAC GTG GAC GAC ACG</u>	
<u>CAG TTC GTG CGG TTC GAC AGC GAC TCG GCG TGT CCG AGG ATG GAG</u>	
<u>CCG CGG GCG CCG TGG GTG GAG GAG GAG GGG CCG GAG TAT TGG GAA</u>	
<u>GAG GAG ACA CGG AAC ACC AAG GCC CAC GCA CAG ACT GAC AGA ATG</u>	
<u>AAC CTG CAG ACC CTG CGC GGC TAC TAC AAC CAG AGC GAG GCC AGT</u>	
<u>TCT CAC ACC CTC CAG TGG ATG ATT GGC TGC GAC CTG GGG TCC GAC</u>	30
<u>GGA CGC CTC CTC CGC GGG TAT GAA CAG TAT GCC TAC GAT GGC AAG</u>	
<u>GAT TAC CTC GCC CTG AAC GAG GAC CTG CGC TCC TGG ACC GCA GCG</u>	
<u>GAC ACT GCG GCT CAG ATC TCC AAG CGC AAG TGT GAG GCG GCC AAT</u>	
<u>GTG GCT GAA CAA AGG AGA GCC TAC CTG GAG GGC ACG TGC GTG GAG</u>	
<u>TGG CTC CAC AGA TAC CTG GAG AAC GGG AAG GAG ATG CTG CAG CGC</u>	
<u>GCG GAC CCC CCC AAG ACA CAC GTG ACC CAC CAC CCT GTC TTT GAC</u>	
<u>TAT GAG GCC ACC CTG AGG TGC TGG GCC CTG GGC TTC TAC CCT GCG</u>	40
<u>GAG ATC ATA CTG ACC TGG CAG CGG GAT GGG GAG GAC CAG ACC CAG</u>	
<u>GAC GTG GAG CTC GTG GAG ACC AGG CCT GCA GGG GAT GGA ACC TTC</u>	
<u>CAG AAG TGG GCA GCT GTG GTG GTG CCT TCT GGA GAG GAG CAG AGA</u>	
<u>TAC ACG TGC CAT GTG CAG CAT GAG GGG CTG CCG GAG CCC CTC ATG</u>	
<u>CTG AGA TGG AGT AAG GAG GGA GAT GGA GGC ATC ATG TCT GTT AGG</u>	
<u>GAA AGC AGG AGC CTC TCT GAA GAC CTC</u>	

【 0 0 8 6 】

配列番号 2 : H L A - G 5 / β 2 m の ア ミ ノ 酸 配 列

10

20

30

40

50

【表 2】

配列シグナル B2m: 残基 1-20

ベータ 2m: 残基 21-119

リンカー: 残基 120-134

Ga1/Ga2/Ga3/イントロン 4: 残基 135-末端

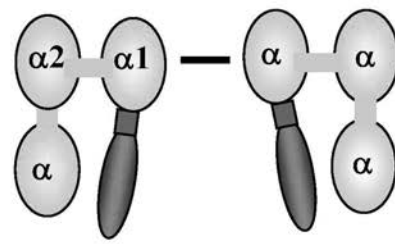
M S R S V A L A V L A L L S L S G L E A I Q R T P K I Q V Y
 S R H P A E N G K S N F L N C Y V S G F H P S D I E V D L L
 K N G E R I E K V E H S D L S F S K D W S F Y L L Y Y T E F
 T P T E K D E Y A C R V N H V T L S Q P K I V K W D R D M G
 G G G S G G G G S G G G G S G S H S M R Y F S A A V S R P G
 R G E P R F I A M G Y V D D T Q F V R F D S D S A C P R M E
 P R A P W V E E E G P E Y W E E E T R N T K A H A Q T D R M
 N L Q T L R G Y Y N Q S E A S S H T L Q W M I G C D L G S D
 G R L L R G Y E Q Y A Y D G K D Y L A L N E D L R S W T A A
 D T A A Q I S K R K C E A A N V A E Q R R A Y L E G T C V E
 W L H R Y L E N G K E M L Q R A D P P K T H V T H H P V F D
 Y E A T L R C W A L G F Y P A E I I L T W Q R D G E D Q T Q
 D V E L V E T R P A G D G T F Q K W A A V V V P S G E E Q R
 Y T C H V Q H E G L P E P L **M** L R W K A V A S K E G D G G I
M S V R E S R S L S E D L

10

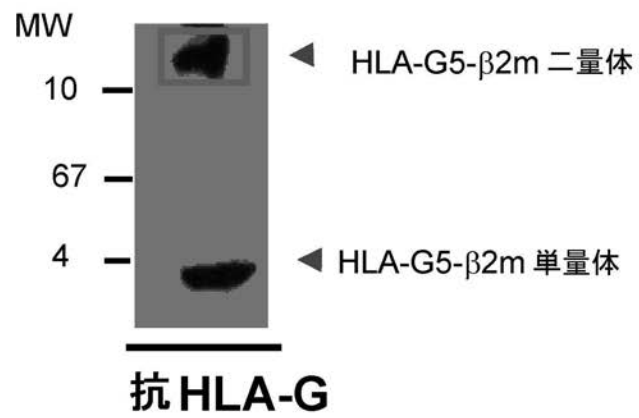
20

30

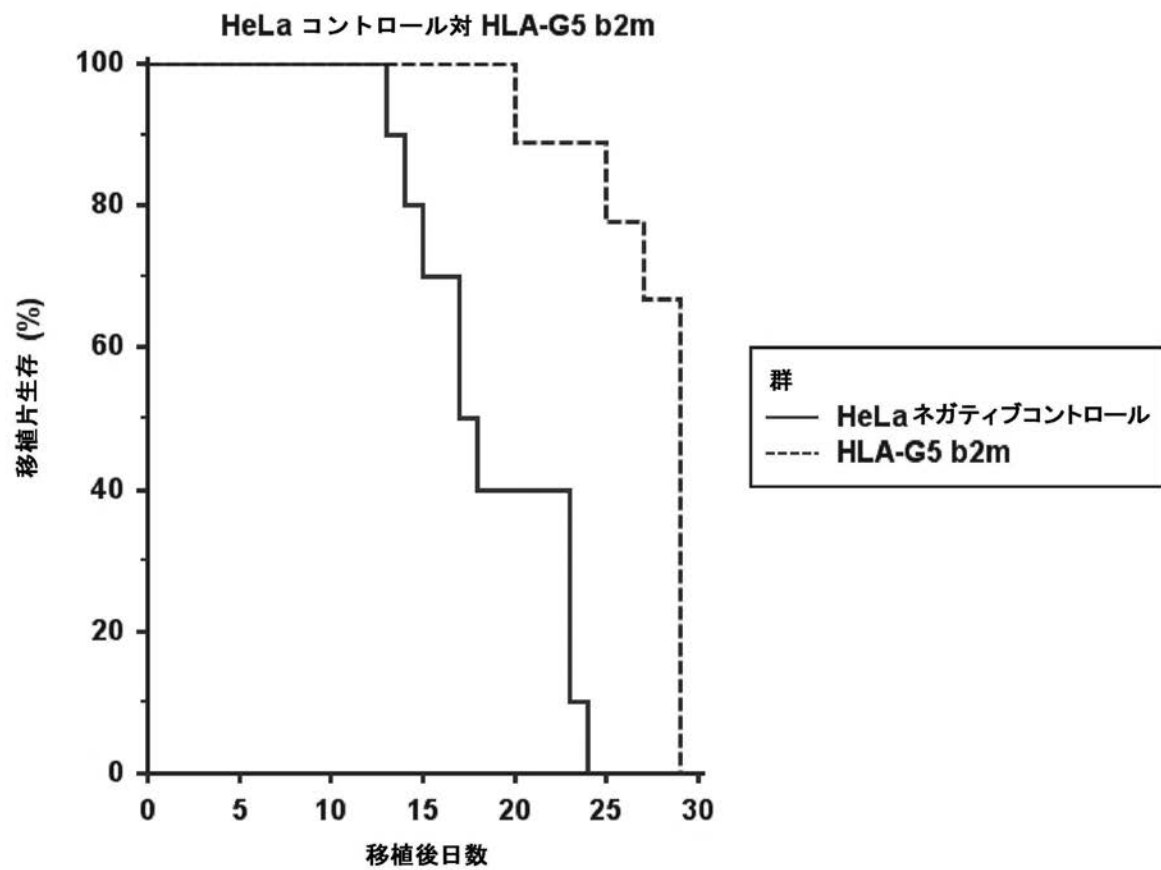
【図 1】



非還元型



【図 2】



【配列表】

[2012507995000001.app](#)

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2009/064577

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. C07K14/705	C12N15/62	C12N5/10 A61K38/16
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) C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 01/72768 A (TECHNION RES & DEV FOUNDATION [IL]; REITER YORAM [IL]) 4 October 2001 (2001-10-04) the whole document	1-15
Y	WO 02/22784 A (UNIV KANSAS MEDICAL CT [US]; HUNT JOAN S [US]; MORALES PEDRO J [US]; P) 21 March 2002 (2002-03-21) the whole document especially page 32, second ?	1-15
Y	WO 00/78337 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]; ARACTINGI SELIM [FR]; CAROSELLA ED) 28 December 2000 (2000-12-28) cited in the application the whole document especially example 1 and 2	1-15
-/--		
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ 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 document 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 27 January 2010		Date of mailing of the international search report 04/02/2010
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Van der Schaal, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2009/064577

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GONEN-GROSS TSUFIT ET AL: "The CD85J/leukocyte inhibitory receptor-1 distinguishes between conformed and beta(2)-microglobulin-free HLA-G molecules" October 2005 (2005-10), JOURNAL OF IMMUNOLOGY, VOL. 175, NR. 8, PAGE(S) 4866-4874, XP002522099 ISSN: 0022-1767 the whole document	1-15
Y	LEE L ET AL: "Functional cell surface expression by a recombinant single-chain class I major histocompatibility complex molecule with a cis-active B2-microglobulin domain" EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, WILEY - V C H VERLAG GMBH & CO. KGAA, DE, vol. 24, 1 January 1994 (1994-01-01), pages 2633-2639, XP002955722 ISSN: 0014-2980 the whole document	1-15
Y	LIANG SIYUAN ET AL: "Modulation of dendritic cell differentiation by HLA-G and ILT4 requires the IL-6-STAT3 signaling pathway" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 105, no. 24, June 2008 (2008-06), pages 8357-8362, XP002522096 ISSN: 0027-8424 abstract	12
Y	LE ROND SOLENE ET AL: "Evidence to support the role of HLA-G5 in allograft acceptance through induction of immunosuppressive/regulatory T cells" JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 176, no. 5, March 2006 (2006-03), pages 3266-3276, XP002522097 ISSN: 0022-1767 the whole document	13-15
Y	ROUAS-FREISS N ET AL: "THE IMMUNOTOLERANCE ROLE OF HLA-G" SEMINARS IN CANCER BIOLOGY, SAUNDERS SCIENTIFIC PUBLICATIONS, PHILADELPHIA, PA, US, vol. 9, 1 January 1999 (1999-01-01), pages 3-12, XP002908345 ISSN: 1044-579X page 11, left-hand column, last paragraph	13-15

-/-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2009/064577

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CAROSELLA EDGARDO D ET AL: "Beyond the increasing complexity of the immunomodulatory HLA-G molecule" BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 111, no. 10, 15 May 2008 (2008-05-15), pages 4862-4870, XP008104444 ISSN: 0006-4971 [retrieved on 2008-03-11] cited in the application page 4863, right-hand column, paragraph 2 - page 4865	12-15
Y	ROUAS-FREISS NATHALIE ET AL: "HLA-G in transplantation: a relevant molecule for inhibition of graft rejection?" AMERICAN JOURNAL OF TRANSPLANTATION : OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF TRANSPLANTATION AND THE AMERICAN SOCIETY OF TRANSPLANT SURGEONS JAN 2003, vol. 3, no. 1, January 2003 (2003-01), pages 11-16, XP002522098 ISSN: 1600-6135 the whole document	13-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2009/064577

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0172768	A	04-10-2001	AU 785493 B2	03-01-2008
			AU 3953401 A	08-10-2001
			CA 2404489 A1	04-10-2001
			EP 1294748 A2	26-03-2003
			JP 2004503213 T	05-02-2004
			US 2003003535 A1	02-01-2003
			US 2004086960 A1	06-05-2004
			US 2009148925 A1	11-06-2009
			US 2009258393 A1	15-10-2009
			ZA 200207515 A	21-07-2004
WO 0222784	A	21-03-2002	AU 9277301 A	26-03-2002
			CA 2425186 A1	21-03-2002
			EP 1328290 A2	23-07-2003
WO 0078337	A	28-12-2000	AT 251911 T	15-11-2003
			CA 2377519 A1	28-12-2000
			DE 60005952 D1	20-11-2003
			DE 60005952 T2	29-07-2004
			DK 1189627 T3	16-02-2004
			EP 1189627 A1	27-03-2002
			ES 2206286 T3	16-05-2004
			FR 2794977 A1	22-12-2000
			JP 2003508351 T	04-03-2003

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 C 0 8 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/00 1 0 1	4 H 0 4 5
C 1 2 P 21/02 (2006.01)	C 1 2 P 21/02 C	
C 0 7 K 14/74 (2006.01)	C 0 7 K 14/74	
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00 H	
A 6 1 K 47/48 (2006.01)	A 6 1 K 47/48	
A 6 1 K 47/42 (2006.01)	A 6 1 K 47/42	
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 37/04	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	

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

(72)発明者 ファヴィエ, ブノア

フランス国、エフー 7 5 0 1 9 パリ、ビス・リュ・キュリアル 1 3、バティマン・ア

(72)発明者 カロゼッラ, エドガルド・ディ

フランス国、エフー 7 5 0 1 6 パリ、リュ・ドゥ・ラ・フザンドリー 1 1 6

(72)発明者 ルモー, ジョエル

フランス国、エフー 7 7 0 0 0 ムラン、リュ・ダジョ 4 7

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA31 BA80 CA02 CA07 DA02 EA04 GA13 HA01

4B064 AG20 AG31 CA19 CC24

4B065 AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA44

4C076 EE41 EE59

4C084 AA01 AA02 BA01 DA38 NA14 ZB07 ZB11

4C085 AA02 AA24 BB11 EE01

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA41 CA40 DA86 EA22 FA74