

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5784754号
(P5784754)

(45) 発行日 平成27年9月24日 (2015. 9. 24)

(24) 登録日 平成27年7月31日 (2015. 7. 31)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 38/00 (2006. 01)

A 6 1 K 37/02 Z N A

A 6 1 P 25/08 (2006. 01)

A 6 1 P 25/08

A 6 1 P 25/16 (2006. 01)

A 6 1 P 25/16

A 6 1 P 25/28 (2006. 01)

A 6 1 P 25/28

A 6 1 P 43/00 (2006. 01)

A 6 1 P 43/00 1 1 1

請求項の数 6 (全 21 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-552462 (P2013-552462)
 (86) (22) 出願日 平成24年2月1日 (2012. 2. 1)
 (65) 公表番号 特表2014-508745 (P2014-508745A)
 (43) 公表日 平成26年4月10日 (2014. 4. 10)
 (86) 国際出願番号 PCT/KR2012/000788
 (87) 国際公開番号 W02012/105813
 (87) 国際公開日 平成24年8月9日 (2012. 8. 9)
 審査請求日 平成25年9月30日 (2013. 9. 30)
 (31) 優先権主張番号 61/438, 809
 (32) 優先日 平成23年2月2日 (2011. 2. 2)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/541, 487
 (32) 優先日 平成23年9月30日 (2011. 9. 30)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 504310412
 メディポスト・カンパニー・リミテッド
 MED I POST CO., LTD.
 大韓民国 137-874 ソウル, ソチ
 ヨグ, ソチョーデロ 50-ギル 18
 (74) 代理人 100081422
 弁理士 田中 光雄
 (74) 代理人 100084146
 弁理士 山崎 宏
 (74) 代理人 100122301
 弁理士 富田 憲史
 (74) 代理人 100157956
 弁理士 稲井 史生
 (74) 代理人 100170520
 弁理士 笹倉 真奈美

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 神経疾患の予防または処置のための I C A M - 1 の使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

I C A M - 1 (細胞接着分子 - 1) タンパク質を活性成分として含む、神経疾患の予防または処置のための医薬組成物であって、前記神経疾患がニューロンにおけるアミロイド - ベータ斑の形成、ニューロンにおけるネプリライシンの発現の低減、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも一つにより引き起こされる疾患である、医薬組成物。

【請求項 2】

I C A M - 1 タンパク質が配列番号 1 のアミノ酸配列、または 1 番目から 27 番目のアミノ酸残基に対応するシグナルペプチドが除去された前記アミノ酸配列を有する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

I C A M - 1 タンパク質が、アミロイド - ベータ (A β) の分解を促進するためにネプリライシン (N E P) の発現を誘導する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

神経疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病、てんかん、および軽度認知機能障害からなる群から選択される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

I C A M - 1 タンパク質をニューロンと共培養することを含む、インビトロでニューロンにおけるネプリライシンの発現を増加する方法。

【請求項 6】

ICAM-1タンパク質を活性成分として含む、ネプリライシンの発現を増加するための医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

この出願は、出典明示によりその全体が本明細書に組み込まれる、2011年2月2日に出願された米国仮特許出願第61/438,809号および2011年9月30日に出願された米国仮特許出願第61/541,487号の利益を主張する。

10

【背景技術】

【0002】

アルツハイマー病は、脳におけるアミロイド-ベータ($A\beta$)タンパク質の蓄積に部分的に起因する、脳細胞の破壊を呈する。アルツハイマー病は段階的に進行し、記憶、推論、判断およびスピーチの能力、並びに単純な作業を実行する能力を徐々に悪化させる。

【0003】

パーキンソン病は、ドパミン作動性ニューロンとして知られる、特定の脳細胞の破壊を呈する。ドパミン作動性ニューロンの喪失は、運動制御の喪失が挙げられるがこれに限定されない臨床症状を引き起こす。パーキンソン病の発病の原因は知られていない。

【0004】

20

抑鬱症または大鬱病性障害もまた脳の疾患である。診断は、気分の落ち込み、自分自身への低評価、および様々な活動への関心あるいは楽しみの喪失を含む、患者が自己報告する経験に基づく。

【0005】

てんかんは脳の神経障害である。てんかんの患者は頻繁かつ予測不能な発作を患う。てんかんの発症は、脳において異常に増加したニューロンの活動の特徴とする。

【0006】

多発性硬化症は、脳および脊髄の軸索のまわりの髄鞘の炎症を呈する。脱髄は、時間とともに、様々な身体機能および認識機能の喪失を引き起こす。

【0007】

30

躁病は、一週間以上続くことも多い、異常に高いあるいは過敏な気分の状態である。躁病の発症を患う患者は、神経伝達を標的とする薬剤で処置されている。

【0008】

筋萎縮性側索硬化症としても知られるルー・ゲーリッグ病は、脊髄におけるニューロンの変性を呈する、運動ニューロン疾患の一形態である。その疾患を患う患者は、筋萎縮、脱力感および呼吸困難を経験する。

【0009】

軽度認知機能障害(MCI、初期認知症(*incipient dementia*)またはアイソレイテッドメモリーインペアメント(*isolated memory impairment*)としても知られる)は、毎日の活動を妨げるほどは重大ではないが、個人の年齢および教育に基づき予想されるものを超える、認知機能障害の発症および進行に関する脳機能症候群である。それは正常な老化と認知症の間の推移段階でよく見られる。MCIは様々な症状を示し得るが、記憶障害(*memory loss*)が主症状である場合、「健忘性MCI」と称され、アルツハイマー病の前駆症状的段階として見られることが多い。研究から、これらの個人は1年当たりおよそ10%から15%の割合で、推定アルツハイマー病に進む傾向があることが示唆される。

40

【0010】

多発梗塞性認知症(*multi-infarct dementia*)は血管性認知症の一種である。血管性認知症は、高齢者におけるアルツハイマー病(AD)後の認知症の二番目に多い形態である。多発梗塞性認知症(MID)は認知症の不可逆的形態であると

50

考えられ、その発症は、多数の小卒中、また時には、他のより小さな卒中が先行する、もしくは続く、一つの大きな卒中により引き起こされる。この用語は、脳における血管病変をもたらす、全ての異なるメカニズムにより引き起こされる症候群の群を指す。血管性認知症が少なくとも部分的に予防可能であるように、早期発見および正確な診断が重要である。

【0011】

レビー小体認知症 (Lewy body dementia)、びまん性レビー小体病 (diffuse Lewy body disease)、皮質性レビー小体病 (cortical Lewy body disease)、およびレビー型老年性認知症 (senile dementia of Lewy type) を含む様々な他の名前でも知られる、レビー小体型認知症 (dementia with Lewy bodies) (DLB) は、アルツハイマー病およびパーキンソン病の両方に密接な関連がある認知症の一種である。それは、死後脳生検において検出可能な、レビー小体の存在、アルファ・シヌクレインの凝集およびニューロンにおけるユビキチンタンパク質により、解剖学的に特徴付けられる。レビー小体認知症は、アメリカ合衆国だけで130万人の人間に影響を及ぼす。

10

【0012】

ネプリライシンは、アミロイドペータペプチドを分解する酵素である。ネプリライシンの欠損は、アミロイドの細胞外蓄積を加速させる。ネプリライシン発現の増加は、 $A\beta$ ペプチドを低減させる。

20

【0013】

細胞内接着分子 - 1 (ICAM - 1) は、ICAM1 遺伝子によりコードされる膜糖タンパク質である。ICAM1 遺伝子の欠損マウスは正常に発生し、繁殖力があり、かつ中等度の顆粒球増加症を有していたが、化学的刺激および炎症反応における異常への好中球の遊出障害を示した。

【発明の概要】

【0014】

本明細書に記載されるのは、ICAM - 1 (細胞接着分子 - 1) タンパク質、またはそれらの断片もしくは変種 (variant) を活性成分として含む、神経疾患の予防または処置のための医薬組成物である。一実施形態では、該組成物の ICAM - 1 タンパク質は配列番号1のアミノ酸配列、または1番目から27番目のアミノ酸残基に対応するシグナルペプチドが除去された前記アミノ酸配列を有する。別の実施形態では、ICAM - 1 タンパク質の断片は、ICAM - 1 タンパク質のものと同等の生物活性を有する。別の実施形態では、ICAM - 1 タンパク質の変種は、一以上のアミノ酸が置換、欠失、挿入および/または付加されている配列番号1のアミノ酸配列を有し、かつ ICAM - 1 タンパク質のものと同等の生物活性を有する。別の実施形態では、ICAM - 1 タンパク質の変種は、配列番号1のアミノ酸配列を有する ICAM - 1 タンパク質の少なくとも約90%、93%、95%、96%、97%、98%または99%と同一であるアミノ酸配列を有し、かつ ICAM - 1 タンパク質のものと同等の生物活性を有する。別の実施形態では、ICAM - 1 タンパク質、またはそれらの断片もしくは変種は、アミロイド - ベータ ($A\beta$) の分解を促進するために、ネプリライシン (NEP) の発現を誘導する。別の実施形態では、神経疾患は、ニューロンにおけるアミロイド - ベータ斑 (plaque) の形成、ニューロンにおけるタウタンパク質の過剰リン酸化、神経突起の損傷、ニューロンにおけるネプリライシンの発現の低減、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも一つにより引き起こされる。別の実施形態では、神経疾患は、アルツハイマー病、パーキンソン病、抑鬱症、てんかん、多発性硬化症、躁病、ルー・ゲーリック病、軽度認知機能障害、多発梗塞性認知症、およびレビー小体型認知症からなる群から選択される。

30

40

【0015】

本明細書に記載されるのは、ICAM - 1 タンパク質、またはそれらの断片もしくは変

50

種を、必要とされる対象に投与することを含む、対象における神経疾患を予防または処置する方法である。

【 0 0 1 6 】

本明細書に記載されるのは、I C A M - 1 タンパク質、またはそれらの断片もしくは変種をニューロンと共培養することを含む、ニューロンにおけるネプリライシンの発現を増加する方法である。

【 0 0 1 7 】

本明細書に記載されるのは、I C A M - 1 (細胞接着分子 - 1) タンパク質、またはそれらの断片もしくは変種を対象に投与することを含む、対象におけるネプリライシンの発現を増加する方法である。

10

【 0 0 1 8 】

本明細書に記載されるのは、I C A M - 1 タンパク質、またはそれらの断片もしくは変種を含む組成物であって、該タンパク質、それらの断片または変種は、アミロイド - ベータペプチド、認知症の原因、を除去するために、ニューロンにおけるネプリライシンの発現を増加することができ、かつ、それゆえにアルツハイマー病を含む神経疾患を予防または処置するのに有用である、組成物である。

【 0 0 1 9 】

出典明示による組み込み

本明細書において言及されるすべての刊行物、特許および特許出願は、各個の刊公物、特許または特許出願が出典明示により具体的かつ個別に組み込まれることが示される場合と同じ程度に、出典明示により本明細書に組み込まれる。

20

【図面の簡単な説明】

【 0 0 2 0 】

本発明の新規な特徴が、添付の特許請求の範囲に具体的に記載されている。本発明の特徴および利点をより良く理解するには、本発明の原理が利用されている例示的な実施形態を説明する以下の詳細な説明、および以下の添付図面を参照するとよい：

【図 1】図 1 はミクログリア細胞におけるネプリライシンの発現への I C A M - 1 の影響を説明する。

【図 2】図 2 は海馬におけるネプリライシンの発現への I C A M - 1 の影響を説明する。

【図 3】図 3 はアミロイド - ベータ 4 2 への I C A M - 1 の影響を説明する。

30

【図 4】図 4 A は I C A M - 1 タンパク質の構造を説明する。図 4 B は実施例 4 で調製された 4 種の I C A M - 1 断片を説明する。

【図 5】図 5 は実施例 4 で調製された I C A M - 1 断片をコードする 4 種の I C A M - 1 遺伝子を説明する。

【図 6】図 6 は I C A M - 1 遺伝子を含有するプラスミドで形質転換された大腸菌 (E . c o l i) 株から取得された核酸を説明する。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 1 】

発明の詳細な説明

本発明の好ましい実施形態を本明細書で示し、記載しているが、このような実施形態は例示によってのみ提供されることは当業者には自明であろう。多数のバリエーション、変更、および置換が本発明から逸脱しないかぎり当業者に起こるであろう。本明細書に記載される本発明の実施形態の様々な置換が本発明を実施するにあたって使用されてもよいと、理解されるべきである。以下の特許請求の範囲が本発明の範囲を定義し、かつこれらの請求項の範囲内の方法および構造ならびにそれらの均等物がそれによって含まれる。

40

【 0 0 2 2 】

他に特徴付けられない限り、本明細書中で用いられる専門用語および科学技術用語は、本発明の属する分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。

【 0 0 2 3 】

参照数値との関連で、用語「約」は、その数値からプラスまたはマイナス 1 5 % の値の

50

範囲を含む。例えば、量「約 10」は、8.5 から 11.5 の量を含む。

【0024】

用語「アミロイド - ベータ ($A\beta$)」は、アルツハイマー病を有する患者の脳に見られるアミロイド斑の主成分を指す。 $A\beta$ は、膜貫通糖タンパク質であるアミロイド前駆体タンパク質 (APP) の C 末端に由来するアミノ酸を含むペプチドとすることができる。 $A\beta$ は β -セクレターゼおよび γ -セクレターゼの連続作用 (continuous operation) により、APP から産生させることができる。 $A\beta$ は、39 から 43 アミノ酸、または 40 から 42 アミノ酸であり得る。 $A\beta$ は、NCBI 登録番号: NP_000475 のアミノ酸配列の 672 - 713 残基 ($A\beta_{42}$) あるいは 672 - 711 残基 ($A\beta_{40}$) を含み得る。 $A\beta$ はヒトアミロイド - ベータ A4 タンパク質アイソフォーム前駆体であり得る。 $A\beta$ は哺乳動物に由来し得る。 $A\beta$ はヒトまたはマウスに由来し得る。 $A\beta$ は遺伝子組換えにより産生できる。

10

【0025】

用語「タウタンパク質」は、中枢神経系のニューロンで見られる微小管結合タンパク質を指す。タウタンパク質は、チューブリンと相互作用して、微少管を安定化し、微少管のチューブリン会合を促進する。脳組織は 6 種の異なるタウアイソフォームを含み得る。タウタンパク質の過剰リン酸化はアルツハイマー病の発症 (development) に関連している。タウタンパク質は高可溶性であり得る。ヒトにおいて、タウタンパク質は非神経細胞よりも神経細胞において見られ得る。タンパク質は軸索微少管の安定化に関与し得る。タウタンパク質は NCBI 登録番号: NP_005901 のアミノ酸配列を有する微少管結合タンパク質タウアイソフォーム 2 であり得る。タウタンパク質は哺乳動物に由来し得る。タウタンパク質はヒトまたはマウスに由来し得る。タウタンパク質は遺伝子組換えにより産生できる。

20

【0026】

用語「ネプリライシン」は、多数の小さな分泌ペプチドを分解する亜鉛依存性メタロプロテアーゼ酵素を指す。ネプリライシンは、アミロイド - ベータが神経組織において異常にフォールディングされ凝集する場合に、アルツハイマー病を引き起こすアミロイド - ベータを分解することができる。ネプリライシンは NCBI 登録番号: NP_000893 のアミノ酸配列を有するペプチドであり得る。ネプリライシンは哺乳動物に由来し得る。ネプリライシンはヒトまたはマウスに由来し得る。ネプリライシンは遺伝子組換えにより産生できる。

30

【0027】

ICAM - 1

本明細書に記載されるのは、活性成分として ICAM - 1 (細胞内接着分子 - 1) タンパク質、またはそれらの断片もしくは変種を含む、医薬組成物である。

【0028】

一実施態様では、本明細書に記載される組成物および方法のために有用な ICAM - 1 は、天然に存在する (naturally occurring) ICAM - 1 を含む。一実施形態では、天然に存在する ICAM - 1 には、動物と通常関連する ICAM - 1 の野生型アミノ酸配列を有する ICAM - 1 が挙げられるが、それらに限定されない。別の実施形態では、天然に存在する ICAM - 1 には、ICAM - 1 の天然に存在する変種が挙げられるが、それらに限定されない。一実施形態では、天然に存在する変種は対立遺伝子バリエーション (allelic variant) である。別の実施形態では、天然に存在する変種は多型バリエーション (polymorphic variant) である。別の実施態様では、本明細書に記載される組成物および方法のために有用な ICAM - 1 は、ICAM - 1 の変異体 (mutant) を含む。一実施形態では、変異体は天然に見られる変異を有する ICAM - 1 であり得る。別の実施形態では、変異体は ICAM - 1 に人工的に導入された変異であり得る。一実施形態では、ICAM - 1 をコードする核酸配列 (nucleic sequence) に一以上のアミノ酸を置換、欠失または挿入する影響を及ぼすまたは及ぼさない、ICAM - 1 の核酸配列に導入された変異であり得る。

40

50

【 0 0 2 9 】

一実施態様では、本明細書に記載される組成物および方法のために有用な I C A M - 1 は、動物の I C A M - 1 をコードするポリペプチド配列を含む。I C A M - 1 をコードする動物には、ヒト (Homo sapiens)、マウス (Mus musculus)、ラット (Rattus norvegicus)、ウシ (Bos taurus)、チンパンジー (Pan troglodytes)、イエイヌ (Canis lupus familiaris)、イノシシ (Sus scrofa)、ウサギ (Oryctolagus cuniculus)、アカゲザル (Macaca mulatta)、ホオジロテナガザル (Nomascus leucogenys)、チャイニーズハムスター (Cricetulus griseus)、ゴリラ (Gorilla gorilla)、スマトラオランウータン (Pongo abelii)、コモンマーモセット (Callithrix jacchus)、およびジャイアントパンダ (Ailuropoda melanoleuca) が挙げられるが、それらに限定されない。これらの動物で発見された様々な I C A M - 1 ペプチド配列が、国立生物工学情報センター (National Center for Biotechnology Information) (NCBI) を含む公開データベースで入手可能である。一実施形態では、本明細書に記載される組成物および方法のために有用な I C A M - 1 は、GenBank 登録番号に対応する配列を備える、動物の I C A M - 1 である。本明細書に記載される組成物および方法のために有用な I C A M - 1 の GenBank 登録番号には、P13597.1、Q00238.1、CAA41977.1、AAB19978.1、P05362.2、NP_037099.1、NP_000192.2、NP_776773.1、NP_001009946.1、P33729.2、Q5NKV4.1、Q28806.2、Q95132.1、NP_001040600.1、DAA28002.1、Q5NKV9.1、Q5NKV6.1、AAA92551.1、NP_034623.1、NP_998981.1、AAA37875.1、AAF80287.1、NP_001003291.1、AAD13617.1、NP_001009731.1、ACJ49146.1、AB51145.1、BAD04920.1、1IAM_A、1MQ8_C、1MQ8_A、3TCX_b、3TCX_a、3TCX_Z、3TCX_Y、3TCX_X、3TCX_W、3TCX_V、3TCX_U、3TCX_T、3TCX_S、3TCX_R、3TCX_Q、3TCX_P、3TCX_O、3TCX_N、3TCX_M、3TCX_L、3TCX_K、3TCX_J、3TCX_I、3TCX_H、3TCX_G、3TCX_F、3TCX_E、3TCX_D、3TCX_C、3TCX_B、3TCX_A、2OZ4_H、2OZ4_L、2OZ4_A、1P53_B、1P53_A、1MQ8_D、1MQ8_B、1IC1_B、1IC1_A、CAA30051.1、1D3E_I、1D3E_4、1D3E_3、1D3E_2、1D3E_1、1D3L_A、NP_037021.1、1DGI_4、1DGI_3、1DGI_2、1DGI_1、1DGI_R、NP_034624.1、NP_001032869.2、NP_001186763.1、NP_542413.1、NP_001069.1、P90489.1、NP_579840.1、3EO9_H、3EO9_L、3EOB_J、3EOB_B、3EOB_A、3EOB_I、3EOB_H、3EOB_L、3EOA_J、3EOA_B、3EOA_A、3EOA_I、3EOA_H、3EOA_L、BAA00759.1、CAA36507.1、NP_999056.1、NP_036843.1、AAA84866.1、3HI6_Y、3HI6_X、3HI6_L、3HI6_H、3HI6_B、3HI6_A、3HI5_L、3HI5_H、AAA37876.1、1MJN_A、AAA35415.1、1MQA_A、1MQ9_A、NP_001139280.1、NP_000623.2、NP_000425.1、EAW72950.1、EAW72949.1、NP_938033.1、NP_005408.1、NP_002219.1、P29533.1、P19320.1、Q9UMF0.3、P13598.2、NP_035823.3、NP_937882.1、NP_003871.1、NP_001107852.1、NP_002200.2、NP_001093259.1、NP_0010

10

20

30

40

50

9 3 2 5 8 . 1、NP__0 0 1 0 9 3 2 5 7 . 1、NP__0 0 0 8 6 4 . 2、NP__0 0
1 0 9 3 2 5 6 . 1、NP__0 3 8 9 0 0 . 1、NP__0 5 8 5 7 7 . 1、NP__0 0 1
1 2 6 2 0 0 . 1、NP__0 0 1 0 9 5 1 2 0 . 1、NP__0 0 1 0 9 4 6 2 8 . 1、N
P__0 0 1 0 9 4 5 0 1 . 1、NP__7 7 6 9 0 9 . 1、NP__6 1 2 4 0 5 . 2、EH
H 5 0 1 0 8 . 1、EHH 1 4 9 9 0 . 1、NP__0 0 1 0 7 5 6 2 1 . 1、EHB 0 2
1 6 5 . 1、XP__0 0 3 4 7 9 2 2 3 . 1、XP__0 0 3 4 0 9 4 2 1 . 1、AEH 1
7 9 2 9 . 1、NP__0 0 1 0 0 3 2 9 8 . 1、ADS 8 7 9 0 7 . 1、ADS 8 7 8 2
1 . 1、ADS 1 1 2 3 5 . 1、XP__0 0 2 9 2 8 1 9 9 . 1、XP__0 0 1 1 3 5 5
2 7 . 2、XP__0 0 3 2 6 0 1 6 8 . 1、XP__0 0 3 2 6 0 1 6 7 . 1、XP__0 0
3 2 6 0 1 6 6 . 1、AED 7 0 9 1 6 . 1、1YO 4__A、1Z 7 Z__I、1VCA__
B、1VCA__A、BAE 2 5 3 6 4 . 1、BAE 3 7 1 3 2 . 1、BAJ 2 0 7 6 4 .
1、AAA 6 1 2 6 9 . 1、AAA 5 2 7 0 9 . 1、AAA 4 2 3 3 2 . 1、AAA 4 0
5 4 5 . 1、AAA 5 1 9 1 7 . 1、XP__0 0 2 8 0 1 7 1 6 . 1、XP__0 0 1 1 0
7 8 6 0 . 1、XP__0 0 1 1 0 7 9 2 4 . 1、DAA 3 1 4 7 7 . 1、DAA 3 1 4 3
9 . 1、XP__0 0 2 7 5 1 1 8 6 . 1、XP__0 0 2 7 5 1 1 8 5 . 1、XP__0 0 2
7 5 1 1 8 4 . 1、AAO 5 2 7 4 2 . 1、AAG 3 0 2 8 0 . 1、AAC 9 7 9 3 1 .
1、AAH 8 9 8 1 2 . 1、AAH 8 1 8 3 7 . 1、EFB 1 7 3 4 3 . 1、AAH 1 1
1 5 9 . 2、AAH 2 9 8 2 3 . 1、AAA 6 1 2 7 0 . 1、AA Y 9 9 6 2 2 . 1、A
AI 5 1 4 6 0 . 1、AAM 9 6 1 9 0 . 1、AAH 8 5 0 0 3 . 1、AAH 6 8 4 9 0
. 2、AAH 1 7 2 7 6 . 3、AAA 1 6 9 2 1 . 1、1D 3 I__I、ACP 5 9 4 5 4
. 1、CAJ 1 8 5 8 0 . 1、ACE 8 7 4 3 0 . 1、ACE 8 6 7 4 4 . 1、CAH 9
2 0 6 3 . 1、ABS 8 5 1 9 2 . 1、BAF 8 4 4 2 1 . 1、BAD 9 6 9 8 6 . 1、
EDL 8 2 0 2 3 . 1、EDL 7 8 3 3 4 . 1、EDL 1 2 3 8 9 . 1、EDL 1 2 3 8
8 . 1、CAA 3 4 6 2 1 . 1、CAA 4 5 2 5 4 . 1、CAA 4 7 9 8 9 . 1、AAX
0 4 6 6 3 . 1、AAQ 8 0 6 6 6 . 1、AAE 8 4 8 0 9 . 1、AAE 8 4 8 0 8 . 1
、BAB 1 9 7 8 2 . 1、BAB 1 9 6 5 0 . 1、2 2 6 3 4 7、CAA 3 7 2 1 8 . 1
、CAA 3 3 6 3 0 . 1、Q 2 8 2 6 0 . 1、NP__7 7 6 9 7 5 . 1、NP__0 0 0 9
4 6 . 2、P 2 9 5 3 4 . 1、AAB 4 6 8 6 3 . 1、NP__9 9 7 4 0 4 . 1、NP__
9 9 7 4 0 3 . 1、NP__0 6 5 3 9 3 . 1、NP__7 2 2 5 5 0 . 1、NP__0 0 8 9
3 9 . 1、NP__9 9 9 5 6 4 . 1、EAW 9 4 2 2 0 . 1、EAW 9 4 2 1 9 . 1、E
AW 9 4 2 1 8 . 1、EAW 9 4 2 1 7 . 1、EAW 9 4 2 1 6 . 1、NP__0 3 5 0 1
2 . 2、NP__0 0 1 1 7 1 7 4 4 . 1、NP__0 5 9 4 3 0 . 2、NP__0 0 1 0 2 0
0 8 3 . 1、NP__0 0 0 5 6 6 . 3、NP__0 0 1 7 0 3 . 2、NP__0 0 6 5 2 4 .
1、NP__0 0 4 7 5 3 . 1、P 1 5 9 4 1 . 3、P 2 0 7 0 1 . 3、Q 8 6 Y J 5 . 2
、P 0 9 4 5 0 . 1、NP__0 6 5 1 0 9 . 1、NP__0 3 2 2 2 3 . 2、NP__0 0 4
0 4 5 . 1、Q 8 2 1 2 2 . 4、NP__0 0 1 1 9 2 2 7 3 . 1、NP__0 0 1 1 7 1 7
4 5 . 1、NP__0 0 1 1 7 1 7 4 2 . 1、NP__0 0 1 5 3 5 . 1、XP__5 4 2 0 7
4 . 2、NP__0 0 3 2 5 0 . 3、NP__0 0 4 1 9 3 . 1、NP__0 0 1 0 2 5 4 5 9
. 1、NP__0 0 1 0 0 3 3 0 1 . 1、NP__9 9 9 0 1 1 . 1、NP__0 7 1 6 1 4 .
1、NP__0 0 3 1 1 4 . 1、NP__0 0 1 1 6 4 6 2 1 . 1、NP__0 0 1 1 1 7 1 9
6 . 1、NP__0 0 1 1 1 7 1 9 5 . 1、NP__0 0 1 0 9 1 7 3 1 . 1、NP__0 3 1
6 4 5 . 2、NP__0 0 1 0 0 7 7 2 6 . 1、NP__9 9 9 1 8 7 . 1、NP__6 2 0 2
3 4 . 1、NP__0 3 2 4 4 2 . 1、EHH 5 9 1 8 9 . 1、EHH 2 9 6 1 8 . 1、N
P__0 0 1 0 7 5 9 0 2 . 1、NP__0 0 1 0 3 4 2 2 1 . 1、NP__4 4 6 3 1 0 . 1
、Q 2 8 7 3 0 . 1、NP__0 7 1 7 7 2 . 1、NP__0 0 1 0 0 9 1 6 6 . 1、NP__
0 0 1 1 8 9 4 8 2 . 1、Q 6 0 6 2 5 . 1、NP__0 7 6 3 8 1 . 1、XP__0 0 3 5
1 4 8 2 8 . 1、XP__0 0 3 5 1 2 8 4 0 . 1、EHB 0 3 3 4 1 . 1、XP__0 0 3
1 2 3 2 6 8 . 1、XP__0 0 3 1 2 3 2 9 2 . 3、NP__0 0 1 7 2 7 . 1、NP__0
3 2 3 4 5 . 2、NP__0 0 4 2 1 9 . 3、NP__0 5 9 4 3 1 . 1、P 1 0 9 2 2 . 4
、AEN 3 4 0 9 9 . 1、AEN 3 4 0 9 8 . 1、EGW 0 2 5 9 8 . 1、ADT 4 6 9

10

20

30

40

50

52.1、ADS73661.1、ADS58865.1、ADS30919.1、NP
 _001165550.1、ADT46951.1、ADS58866.1、ADS11
 236.1、AAC50959.1、NP_987103.1、AEL21381.1、
 AEH21939.1、AEH17956.1、AEH17955.1、AEH1795
 4.1、AEH17953.1、AEH17952.1、AEH17951.1、AEH
 17950.1、AEH17949.1、AEH17948.1、AEH17947.1
 、AEH17946.1、AEH17945.1、AEH17944.1、AEH179
 43.1、AEH17942.1、AEH17941.1、AEH17940.1、AE
 H17939.1、AEH17938.1、AEH17937.1、AEH17936.
 1、AEH17935.1、AEH17934.1、AEH17933.1、AEH17
 932.1、AEH17931.1、AEH17930.1、AEF79448.1、A
 EF79447.1、AEF79446.1、AEF79445.1、AEF79444
 .1、AEF79443.1、AEF75643.1、XP_002921422.1、
 XP_003262690.1、XP_003262689.1、XP_0032626
 88.1、XP_001922015.3、XP_002661307.2、XP_69
 4556.3、1RMF_L、1Z7Z_5、1Z7Z_4、1Z7Z_3、1Z7Z_
 2、1Z7Z_1、1RMF_H、3BN3_B、2P28_B、2P28_A、2P2
 6_A、1ZXQ_A、1UOT_P、1VSC_B、1VSC_A、BAE31310
 .1、BAE31287.1、BAE31286.1、BAE30990.1、BAE4
 0221.1、BAE29272.1、BAE29266.1、BAE29079.1、
 BAE29059.1、BAE42944.1、BAE30219.1、BAE2239
 4.1、BAE42504.1、BAE42493.1、BAC26834.1、BAJ
 20559.1、AAA64832.1、AAA83030.1、AAA67204.1
 、AAA18478.1、AAA52708.1、AAA40546.1、XP_002
 828698.1、XP_002827759.1、XP_002807841.1、A
 AA67349.1、XP_233737.5、XP_001077293.2、AAB
 36305.1、AAQ14910.1、AAQ14909.1、AAQ14908.1
 、AAQ14907.1、AAQ14906.1、AAQ14901.1、AAQ148
 98.1、AAQ14897.1、AAQ14896.1、AAF18980.1、AA
 H
 15969.1、EFB12989.1、AAI13141.1、AAH30132.2
 、AAH08626.1、ADA18203.1、ADA18202.1、AAP362
 34.1、AAP35500.1、AAO30128.1、AAH26338.1、AA
 S89259.1、AAH03097.1、AAF81280.1、AAB17532.
 1、AAA69862.1、AAA80011.1、AAB60661.1、AAA16
 920.1、AAA36035.1、EAW84091.1、EAW84086.1、1
 H2Q_P、1H2P_P、1H03_Q、1H03_P、1IJ9_A、1D3I_4
 、1D3I_3、1D3I_2、1D3I_1、1A5F_H、1A5F_L、1A6T
 _D、1A6T_C、1A6T_B、1A6T_A、ACQ15346.1、ACQ15
 344.1、ACP57322.1、CAY39147.1、CAY39146.1、C
 AY39145.1、CAX14828.1、CAX14826.1、CAQ14148
 .1、CAQ14147.1、CAQ14145.1、CAG46633.1、CAG4
 6611.1、BAG73299.1、CAJ18510.1、CAJ18454.1、
 1Z7S_4、1Z7S_3、1Z7S_2、1Z7S_1、BAG60348.1、B
 AG35520.1、ABM85957.1、ABM84711.1、DAA06142
 .1、DAA06141.1、CAP72055.1、BAF85799.1、BAD9
 6939.1、BAD93115.1、ABU37676.1、ABU37675.1、
 ABU37674.1、EDL78332.1、EDL25153.1、EDL2515
 1.1、CAM73181.1、ABM92232.1、ABM82769.1、AAQ
 14922.1、AAQ14905.1、AAQ14904.1、AAQ14902.1

10

20

30

40

50

、 A B L 3 0 0 3 1 . 1、 A B L 1 3 8 7 6 . 1、 C A A 4 0 4 4 1 . 1、 C A L 4 7 7
 3 0 . 1、 C A E 8 4 0 9 4 . 1、 C A E 8 4 0 9 1 . 1、 C A A 3 4 6 2 2 . 1、 A A
 X 4 2 1 8 2 . 1、 A A X 4 2 1 8 1 . 1、 A A X 2 9 6 4 1 . 1、 A A X 2 9 6 4 0 .
 1、 A A X 3 7 0 8 7 . 1、 A A X 3 6 6 3 6 . 1、 A A X 0 4 6 6 1 . 1、 A A Q 8 0
 6 6 4 . 1、 A A Q 7 1 9 3 6 . 1、 A A Q 7 0 9 8 7 . 1、 A A Q 5 3 6 5 1 . 1、 A
 A Q 5 3 6 5 0 . 1、 A A Q 5 3 6 4 9 . 1、 A A Q 5 3 6 4 8 . 1、 A A Q 5 3 6 4 7
 . 1、 A A Q 5 3 6 4 6 . 1、 C A D 9 7 5 6 2 . 1、 C A D 9 7 5 6 5 . 1、 A A E 2
 2 2 0 4 . 1、 A A E 2 2 2 0 2 . 1、 A A E 2 0 9 2 1 . 1、 A A E 2 0 9 2 0 . 1、
 A A E 2 0 9 1 9 . 1、 A A E 1 0 1 3 9 . 1、 A A C 8 9 9 8 4 . 1、 A A C 8 9 9 8
 2 . 1、 A A C 8 7 7 9 6 . 1、 A A C 8 7 7 9 4 . 1、 A A C 1 9 9 0 5 . 1、 A A C
 1 9 9 0 3 . 1、 A A C 1 9 6 6 0 . 1、 2 2 5 9 3 8、 A A A 5 5 7 4 4 . 1、 N P _
 5 7 0 1 1 6 . 2、 Q 5 N K V 2 . 1、 Q 5 N K V 1 . 1、 N P _ 5 7 0 1 1 8 . 1、 P
 4 1 3 2 3 . 1、 N P _ 0 0 1 0 2 9 1 7 0 . 1、 2 V 7 D _ S、 2 V 7 D _ R、 2 V 7
 D _ Q、 2 V 7 D _ P、 2 V 7 D _ D、 2 V 7 D _ C、 2 V 7 D _ B、 2 V 7 D _ A、 2
 J F 1 _ T、 2 J F 1 _ A、 A A E 1 8 9 3 3 . 1、 A A E 1 8 9 3 2 . 1、 A A E 1 8
 9 3 1 . 1、 A A E 1 8 9 3 0 . 1、 A A E 1 8 9 2 9 . 1、 A A E 1 8 9 2 8 . 1、 A
 A E 1 8 9 2 7 . 1、 A A E 1 8 9 2 6 . 1、 A A E 1 8 9 2 5 . 1、 A A E 1 8 9 2 4
 . 1、 A A E 1 8 9 2 3 . 1、 A A E 1 8 9 2 2 . 1、 A A E 1 8 9 2 1 . 1、 A A E 1
 8 9 2 0 . 1、 A A E 1 8 9 1 9 . 1、 A A E 1 8 9 1 8 . 1、 A A E 1 8 9 1 7 . 1、
 A A E 1 8 9 1 6 . 1、 A A E 1 8 9 1 5 . 1、 3 M 6 F _ A、 A A A 6 0 3 9 3 . 1、
 および A A A 6 0 3 9 2 . 1 が挙げられるが、それらに限定されない。

10

20

【 0 0 3 0 】

一実施態様では、本明細書に記載される組成物および方法のために有用な I C A M - 1
 は、グリコシル化されている。別の実施態様では、本明細書に記載される組成物および方
 法のために有用な I C A M - 1 は、非グリコシル化されている。一実施形態では、グリコ
 シル化は天然に起こり得る。別の実施形態では、グリコシル化は、当技術分野において一
 般に知られている組換え D N A 技術によって、I C A M - 1 に人工的に導入できる。

【 0 0 3 1 】

一実施態様では、本明細書に記載される組成物および方法のために有用な I C A M - 1
 は、天然に修飾 (m o d i f y) されている。一実施形態では、天然の修飾は翻訳後修飾
 である。一実施形態では、I C A M - 1 は I C A M - 1 のシグナルペプチド部分を含有す
 るポリペプチドを含む。別の実施形態では、I C A M - 1 は I C A M - 1 のシグナルペプ
 チド部分を欠くポリペプチドを含む。

30

【 0 0 3 2 】

一実施態様では、本明細書に記載される組成物および方法のために有用な I C A M - 1
 は、配列番号 1 (G e n b a n k 登録番号 A A Q 1 4 9 0 1) : M A P S S P R P A L P
 A L L V L L G A L F P G P G N A Q T S V S P S K V I L P R G G S V L V T C S T S
 C D Q P K L L G I E T P L P K K E L L L P G N N R K V Y E L S N V Q E D S Q P M
 C Y S N C P D G Q S T A K T F L T V Y W T P E R V E L A P L P S W Q P V G K N L
 T L R C Q V E G G A P R A N L T V V L L R G E K E L K R E P A V G E P A E V T T
 T V L V R R D H H G A N F S C R T E L D L R P Q G L E L F E N T S A P Y Q L Q T
 F V L P A T P P Q L V S P R V L E V D T Q G T V V C S L D X L F P V S E A Q V H
 L A L G D Q R L N P T V T Y G N D S F S A K A S V S V T A E D E G T Q R L T C A
 V I L G N Q S Q E T L Q T V T I Y S F P A P N V I L T K P E V S E G T E V T V K
 C E A H P R A K V T L N G V P A Q P L G P R A Q L L L K A T P E D N G R S F S C
 S A T L E V A G Q L I H K N Q T R E L R V L Y G P R L D E R D C P G N W T W P E
 N S Q Q T P M C Q A W G N P L P E L K C L K D G T F P L P I G E S V T V T R D L
 E G T Y L C R A R S T Q G E V T R E V T V N V L S P R Y E I V I I T V V A A A V
 I M G T A G L S T Y L Y N R Q R K I K K Y R L Q Q A Q K G T P M K P N T Q A T P
 P (配列番号 1) のアミノ酸配列を有する。別の実施形態では、I C A M - 1 は、アミノ

40

50

酸配列 A A Q 1 4 9 0 1 に対応するが、配列番号 1 の 1 番目から 2 7 番目のアミノ酸残基に対応するシグナルペプチドを欠く、ペプチドである。別の実施形態では、I C A M - 1 はチンパンジーの I C A M - 1 タンパク質である。別の実施形態では I C A M - 1 は配列番号 1 0 (G e n b a n k 登録番号 A A Q 1 4 8 9 6) のアミノ酸配列を有する。

【 0 0 3 3 】

一実施形態では、本明細書に記載される組成物および方法のために有用な I C A M - 1 は、I C A M - 1 タンパク質の断片である。一実施形態では、I C A M - 1 タンパク質の断片は、I C A M - 1 タンパク質のものと同等の生物活性を有する。別の実施形態では、I C A M - 1 タンパク質の断片は、I C A M - 1 タンパク質のものと同等の生物活性を有さない。別の実施形態では、I C A M - 1 タンパク質の断片は生物学的に不活性である。

10

【 0 0 3 4 】

一実施形態では、ネプリライシン発現に対する I C A M - 1 の効果を用いて、I C A M - 1 の生物活性を測定する。一実施形態では、効果はネプリライシン発現の増加レベルである。別の実施形態では、効果はネプリライシン発現の減少である。一実施形態では、I C A M - 1 断片の生物活性が、比較のための標準としての役割を果たす別の I C A M - 1 の活性のパーセンテージとして測定される。比較のための I C A M - 1 標準は、完全長 I C A M - 1、切断型 I C A M - 1、変異型 I C A M - 1、翻訳後修飾型 I C A M - 1、または比較される I C A M - 1 とは異なる I C A M - 1 の断片とすることができる。本明細書に記載される任意の I C A M - 1 タンパク質またはポリペプチドが、比較でのタンパク質として用いることができる。生物活性における相違のパーセンテージは、約 5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、1 0 0 %、1 0 5 %、1 1 0 %、1 1 5 %、1 2 0 %、1 2 5 %、1 3 0 %、1 3 5 %、1 4 0 %、1 4 5 %、1 5 0 %、1 5 5 %、1 6 0 %、1 6 5 %、1 7 0 %、1 7 5 %、1 8 0 %、1 8 5 %、1 9 0 %、1 9 5 %、または 2 0 0 % とすることができる。一実施形態では、I C A M - 1 断片の生物活性が、比較のための標準としての役割を果たす別の I C A M - 1 の活性の倍 - 増加または減少として測定される。倍 - 増加または減少は、約 2 倍、2 . 5 倍、3 倍、4 倍、5 倍、7 倍、倍、1 0 倍、2 0 倍、3 0 倍、5 0 倍、1 0 0 倍、2 0 0 倍、5 0 0 倍、8 0 0 倍、または 1 0 0 0 倍とすることができる。

20

【 0 0 3 5 】

一実施形態では、I C A M - 1 断片は、配列番号 1 の 2 8 番目から 4 8 3 番目のアミノ酸を含む。別の実施形態では、配列番号 1 の 2 8 番目から 3 8 0 番目のアミノ酸を含む。別の実施形態では、配列番号 1 の 2 8 番目から 3 0 0 番目のアミノ酸を含む。別の実施形態では、配列番号 1 の 2 8 番目から 2 0 0 番目のアミノ酸を含む。

30

【 0 0 3 6 】

本明細書に記載されるのは、神経障害の処置のために有用な配列番号 1 の I C A M - 1 変種である。一実施形態では、配列番号 1 の変種は、置換、欠失または挿入された一以上のアミノ酸を有するポリペプチドである。別の実施形態では、変種の配列番号 1 との配列同一性は、少なくとも 8 0 %、8 2 %、8 5 %、8 7 %、8 9 %、9 0 %、9 3 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % である。別の実施形態では、変種の細胞外ドメインの、配列番号 1 のものとの配列同一性は、少なくとも 8 0 %、8 2 %、8 5 %、8 7 %、8 9 %、9 0 %、9 3 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % である。別の実施形態では、変種の細胞内ドメインの、配列番号 1 のものとの配列同一性は、少なくとも 8 0 %、8 2 %、8 5 %、8 7 %、8 9 %、9 0 %、9 3 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % である。別の実施形態では、変種の膜貫通ドメインの、配列番号 1 のものとの配列同一性は、少なくとも 8 0 %、8 2 %、8 5 %、8 7 %、8 9 %、9 0 %、9 3 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % である。

40

【 0 0 3 7 】

一実施形態では、本明細書に記載される組成物および方法は、I C A M - 1 の一以上の単離されたポリペプチドを含む。一実施形態では、I C A M - 1 の一以上の単離されたポ

50

リペプチドは、異なるアミノ酸配列の I C A M - 1 である。別の実施形態では、I C A M - 1 の一以上の単離されたポリペプチドは、翻訳後修飾過程により、異なるプロセッシングを受けた I C A M - 1 である。

【 0 0 3 8 】

別の実施態様では、本明細書に記載される組成物および方法は、細胞に結合している一以上の I C A M - 1 ポリペプチドを含む。一実施形態では、一以上の I C A M - 1 ポリペプチドは細胞に共有結合している。別の実施形態では、前記ポリペプチドは細胞膜に埋め込まれている。細胞には、ほ乳類細胞、細菌細胞、真菌細胞または昆虫細胞が挙げられるが、それらに限定されない。一実施形態では、細胞はヒト細胞である。別の実施形態では、細胞はヒト幹細胞である。別の実施態様では、細胞はヒト間葉系幹細胞である。別の実施態様では、細胞はヒト間質細胞である。別の実施態様では、細胞は臍帯血細胞である。本明細書に記載される組成物および方法のために有用な臍帯血細胞には、臍帯、臍帯血、羊膜囊および胎盤で通常見られる細胞、または通常見られる細胞から培養された細胞が挙げられるが、それらに限定されない。

10

【 0 0 3 9 】

別の実施態様では、本明細書に記載される組成物および方法は、一以上の I C A M - 1 ポリペプチドおよび I C A M - 1 ポリペプチドを分泌する細胞を含む。

【 0 0 4 0 】

別の実施態様では、本明細書に記載される組成物および方法は、別の生体物質とコンジュゲートされた一以上の I C A M - 1 を含む。生体物質には、コンジュゲートされたポリペプチドを単離または同定するために有用な、（当分野において「タグ」として知られている）様々な小ペプチド、別のタンパク質、化学的手段が挙げられるが、それらに限定されない。

20

【 0 0 4 1 】

一実施態様では、本明細書に記載される I C A M - 1 ポリペプチドは、生物、組織または細胞から単離される。一実施形態では、I C A M - 1 は間葉系幹細胞（M S C）またはそれらの培養物から単離される。間葉系幹細胞の源の例には、胚卵黄囊（e m b r y o n i c y o l k s a c）、胎盤、臍帯、臍帯血、皮膚、末梢血、骨髓、脂肪組織、筋肉、肝臓、神経組織、骨膜、胎膜、滑膜、滑液、羊膜、半月板、前十字靱帯、関節軟骨細胞、乳歯、周皮細胞、骨梁、膝蓋下脂肪体、脾臓および胸腺が挙げられるが、それらに限定されない。一実施形態では、M S C の源は、臍帯血由来 M S C または骨髓由来 M S C である。

30

【 0 0 4 2 】

本明細書に記載されるのは、臍帯血から M S C を単離する方法である。一実施形態では、I C A M - 1 は臍帯血由来 M S C を回収することにより単離される。一実施形態では、臍帯血由来 M S C は遠心分離により単離される。別の実施形態では、臍帯血由来 M S C は蛍光活性化細胞選別により単離される。別の実施形態では、臍帯血由来 M S C は磁性ビーズを含む様々なタグを用いることにより単離される。別の実施形態では、臍帯血由来 M S C は M S C 特異的抗体を用いて単離される。いくつかの態様では、細胞分離および単離の他の方法を用いることができる。当分野において周知である、これらの方法には、細胞の大きさ、重量または形、細胞表面分子の種類の相違、化学薬品、タンパク質または他の細胞への耐性または誘引（a t t r a c t i o n）、および非 M S C から M S C を分別するために有用な他の物理学的または化学的特性により分離することが挙げられるが、それらに限定されない。

40

【 0 0 4 3 】

一実施態様では、I C A M - 1 は組換え D N A 技術により産生される。一実施形態では、I C A M - 1 またはそれらの断片をコードする核酸は、適切な組換え発現系にクローニングされる。一実施形態では、組換え発現系は微生物発現系である。別の実施形態では、組換え発現系は昆虫細胞発現系である。別の実施形態では、組換え発現系はほ乳類発現系である。一実施形態では、微生物組換え系は p E T ベクター発現系である。一実施形態で

50

は、本明細書に記載される I C A M - 1 を発現するために有用な p E T ベクター発現系は、p E T - 2 8 a プラスミド DNA である。別の実施形態では、本明細書に記載される組成物のために有用な微生物発現系は、配列番号 2 (G e n B a n k 登録番号 N M _ 0 0 0 2 0 1) のヌクレオチド配列、またはそれらの断片を有する I C A M - 1 をコードする核酸を含有する p E T ベクターである：

```

c a a g c t t a g c c t g g c c g g g a a a c
g g g a g g c g t g g a g g c c g g g a g c a g c c c c g g g g t c a t c g c
c c t g c c a c c g c c g c c c g a t t g c t t t a g c t t g g a a a t t c c g
g a g c t g a a g c g g c c a g c g a g g g a g g a t g a c c c t c t c g g c c
c g g g c a c c c t g t c a g t c c g g a a a t a a c t g c a g c a t t t g t t
c c g g a g g g g a a g g c g c g a g g t t t c c g g g a a a g c a g c a c c g
c c c c t t g g c c c c a g g t g g c t a g c g c t a t a a a g g a t c a c g
c g c c c c a g t c g a c g c t g a g c t c c t c t g c t a c t c a g a g t t g
c a a c c t c a g c c t c g c t a t g g c t c c c a g c a g c c c c c g g c c c
g c g c t g c c c g c a c t c c t g g t c c t g c t c g g g g c t c t g t t c c
c a g g a c c t g g c a a t g c c c a g a c a t c t g t g t c c c c c t c a a a
a g t c a t c c t g c c c c g g g g a g g c t c c g t g c t g g t g a c a t g c
a g c a c c t c c t g t g a c c a g c c c a a g t t g t t g g g c a t a g a g a
c c c c g t t g c c t a a a a a g g a g t t g c t c c t g c c t g g g a a c a a
c c g g a a g g t g t a t g a a c t g a g c a a t g t g c a a g a a g a t a g c
c a a c c a a t g t g c t a t t c a a a c t g c c c t g a t g g g c a g t c a a
c a g c t a a a a c c t t c c t c a c c g t g t a c t g g a c t c c a g a a c g
g g t g g a a c t g g c a c c c c t c c c c t c t t g g c a g c c a g t g g g c
a a g a a c c t t a c c c t a c g c t g c c a g g t g g a g g g t g g g g c a c
c c c g g g c c a a c c t c a c c g t g g t g c t g c t c c g t g g g g a g a a
g g a g c t g a a a c g g g a g c c a g c t g t g g g g a g c c c g c t g a g
g t c a c g a c c a c g g t g c t g g t g a g g a g a g a t c a c c a t g g a g
c c a a t t t c t c g t g c c g c a c t g a a c t g g a c c t g c g g c c c c a
a g g g c t g g a g c t g t t t g a g a a c a c c t c g g c c c c c t a c c a g
c t c c a g a c c t t t g t c c t g c c a g c g a c t c c c c c a c a a c t t g
t c a g c c c c c g g g t c c t a g a g g t g g a c a c g c a g g g g a c c g t
g g t c t g t t c c c t g g a c g g g c t g t t c c c a g t c t c g g a g g c c
c a g g t c c a c c t g g c a c t g g g g g a c c a g a g g t t g a a c c c c a
c a g t c a c c t a t g g c a a c g a c t c c t t c t c g g c c a a g g c c t c
a g t c a g t g t g a c c g c a g a g g a c g a g g g c a c c c a g c g g c t g
a c g t g t g c a g t a a t a c t g g g g a a c c a g a g c c a g g a g a c a c
t g c a g a c a g t g a c c a t c t a c a g c t t t c c g g c g c c c a a c g t
g a t t c t g a c g a a g c c a g a g g t c t c a g a a g g g a c c g a g g t g
a c a g t g a a g t g t g a g g c c c a c c c t a g a g c c a a g g t g a c g c
t g a a t g g g g t t c c a g c c c a g c c a c t g g g c c c g a g g g c c c a
g c t c c t g c t g a a g g c c a c c c c a g a g g a c a a c g g g c g c a g c
t t c t c c t g c t c t g c a a c c c t g g a g g t g g c c g g c c a g c t t a
t a c a c a a g a a c c a g a c c c g g g a g c t t c g t g t c c t g t a t g g
c c c c c g a c t g g a c g a g a g g g a t t g t c c g g g a a a c t g g a c g
t g g c c a g a a a a t t c c c a g c a g a c t c c a a t g t g c c a g g c t t
g g g g a a c c c a t t g c c c g a g c t c a a g t g t c t a a a g g a t g g
c a c t t t c c c a c t g c c c a t c g g g g a a t c a g t g a c t g t c a c t
c g a g a t c t t g a g g g c a c c t a c c t c t g t c g g g c c a g g a g c a
c t c a a g g g g a g g t c a c c c g c a a g g t g a c c g t g a a t g t g c t
c t c c c c c g g t a t g a g a t t g t c a t c a t c a c t g t g g t a g c a
g c c g c a g t c a t a a t g g g c a c t g c a g g c c t c a g c a c g t a c c

```

t c t a t a a c c g c c a g c g g a a g a t c a a g a a a t a c a g a c t a c a
a c a g g c c c a a a a a g g g a c c c c c a t g a a a c c g a a c a c a c a a
g c c a c g c c t c c c t g a a c c t a t c c c g g g a c a g g g c c t c t t c
c t c g g c c t t c c c a t a t t g g t g g c a g t g g t g c c a c a c t g a a
c a g a g t g g a a g a c a t a t g c c a t g c a g c t a c a c c t a c c g g c
c c t g g g a c g c c g g a g g a c a g g g c a t t g t c c t c a g t c a g a t
a c a a c a g c a t t t g g g g c c a t g g t a c c t g c a c a c c t a a a a c
a c t a g g c c a c g c a t c t g a t c t g t a g t c a c a t g a c t a a g c c
a a g a g g a a g g a g c a a g a c t c a a g a c a t g a t t g a t g g a t g t
t a a a g t c t a g c c t g a t g a g a g g g a a g t g g t g g g g g a g a c
a t a g c c c c a c c a t g a g g a c a t a c a a c t g g g a a a t a c t g a a
a c t t g c t g c c t a t t g g g t a t g c t g a g g c c c c a c a g a c t t a
c a g a a g a a g t g g c c c t c c a t a g a c a t g t g t a g c a t c a a a a
c a c a a a g g c c c a c a c t t c c t g a c g g a t g c c a g c t t g g g c a
c t g c t g t c t a c t g a c c c c a a c c c t t g a t g a t a t g t a t t t a
t t c a t t t g t t a t t t t a c c a g c t a t t t a t t g a g t g t c t t t t
a t g t a g g c t a a a t g a a c a t a g g t c t c t g g c c t c a c g g a g c
t c c c a g t c c t a a t c a c a t t c a a g g t c a c c a g g t a c a g t t g
t a c a g g t t g t a c a c t g c a g g a g a g t g c c t g g c a a a a a g a t
c a a a t g g g g c t g g g a c t t c t c a t t g g c c a a c c t g c c t t t c
c c c a g a a g g a g t g a t t t t t c t a t c g g c a c a a a a g c a c t a t
a t g g a c t g g t a a t g g t t a c a g g t t c a g a g a t t a c c c a g t g
a g g c c t t a t t c c t c c c t t c c c c c c a a a a c t g a c a c c t t t g
t t a g c c a c c t c c c c a c c c a c a t a c a t t t c t g c c a g t g t t c
a c a a t g a c a c t c a g c g g t c a t g t c t g g a c a t g a g t g c c c a
g g g a a t a t g c c c a a g c t a t g c c t t g t c c t c t t g t c c t g t t
t g c a t t t c a c t g g g a g c t t g c a c t a t g c a g c t c c a g t t t c
c t g c a g t g a t c a g g g t c c t g c a a g c a g t g g g g a a g g g g g c
c a a g g t a t t g g a g g a c t c c c t c c c a g c t t t g g a a g c c t c a
t c c g c g t g t g t g t g t g t g t a t g t g t a g a c a a g c t c t c g
c t c t g t c a c c c a g g c t g g a g t g c a g t g g t g c a a t c a t g g t
t c a c t g c a g t c t t g a c c t t t t g g g c t c a a g t g a t c c t c c c
a c c t c a g c c t c c t g a g t a g c t g g g a c c a t a g g c t c a c a a c
a c c a c a c c t g g c a a a t t t g a t t t t t t t t t t t t t t t t c c a g a g
a c g g g g t c t c g c a a c a t t g c c c a g a c t t c c t t t g t g t t a g
t t a a t a a a g c t t t c t c a a c t g c c a a a (配列番号2)。一実施形態で

10

20

30

は、ICAM-1を発現するために有用な微生物細胞は、大腸菌(E.coli)BL21変種である。一実施形態では、変種は、大腸菌(E.coli)BL21(DE3)である。一実施形態では、組換えICAM-1の微生物発現は、形質転換された微生物細胞をIPTGで処置することにより誘導される。

40

【0044】

本明細書に記載されるのは、神経障害の予防または処置のために有用な医薬組成物である。一実施形態では、神経障害は、ニューロンにおけるアミロイド-ベータ斑の形成、ニューロンにおけるタウタンパク質の過剰リン酸化、神経突起の損傷、ニューロンにおけるネプリライシンの発現の減少、およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるいずれか一つにより引き起こされる疾患である。別の実施形態では、神経障害は、アルツハイマー病、パーキンソン病、抑鬱症、てんかん、多発性硬化症、躁病、ルー・ゲーリック病、軽度認知機能障害、多発梗塞性認知症、およびレビー小体型認知症からなる群から選択される。

【0045】

50

一実施態様では、本明細書に記載される I C A M - 1 ポリペプチドは、神経障害の進行に介入する (i n t e r v e n e) ために、対象に投与される。一実施形態では、本明細書に記載される I C A M - 1 ポリペプチドは、アルツハイマー病の進行を遅らせる、または停止させる、または解消 (r e v e r s e) するために、アルツハイマー病を患っている対象に投与される。一実施形態では、一用量の I C A M - 1 ポリペプチドは、一度に対象に投与される。別の実施形態では、一用量の I C A M - 1 ポリペプチドは、長期間一定の間隔で対象に投与される。間隔は、数日、数週、数ヶ月、または数年とすることができる。別の実施形態では、初回量 (i n i t i a l d o s e) の I C A M - 1 ポリペプチドが対象に投与され、その後、対象の臨床転帰に応じて、後続量 (f o l l o w u p d o s e) が低減あるいは増加される。臨床転帰は、自己評価、臨床認知症スコアリング (c l i n i c a l d e m e n t i a s c o r i n g) などの臨床アンケート (c l i n i c a l q u e s t i o n n a i r e s) 、またはメンタルステート検査 (m e n t a l s t a t e e x a m i n a t i o n) が挙げられるが、それらに限定されない、神経心理検査により測定される。

10

【 0 0 4 6 】

本明細書に記載される組成物は、局所投与または全身投与を介して送達することができる。一実施形態では、本明細書に記載される組成物は、神経障害を予防または処置するために有効な量で投与される。一実施形態では、有効量 (e f f e c t i v e a m o u n t) は臨床試験により決定される。有効量 (e f f e c t i v e d o s e) は、神経学的状態の種類、製造工程、製剤、投与経路、および賦形剤の種類が挙げられるが、それら

20

【 0 0 4 7 】

軽度認知機能障害を示す前認知症症候群 (p r e - d e m e n t i a s y n d r o m e) は、神経心理検査を用いて診断され得る。1年に軽度認知機能障害患者の約12%が、アルツハイマー病に進行することが報告されている。驚くべきことに、何らかの処置が無い場合、6年後、軽度認知機能障害患者の約80%がアルツハイマー病に進行する。そのため、本発明による I C A M - 1 タンパク質、またはそれらの断片もしくは変種が軽度認知機能障害患者に投与された場合、アルツハイマー病への進行は防がれる、または遅延するだろう。

【 0 0 4 8 】

一実施態様では、本明細書に記載される組成物は、アルツハイマー病、パーキンソン病、抑鬱症、てんかん、多発性硬化症、躁病、ルー・ゲーリック病、軽度認知機能障害、多発梗塞性認知症、およびレビー小体型認知症の予防または処置に有効な、他の治療薬 (r e m e d i e s) または治療 (t h e r a p i e s) と組み合わせて、投与される。一実施形態では、本明細書に記載される組成物は、他の治療薬または治療と同時に投与される。別の実施形態では、本明細書に記載される組成物は、アルツハイマー病、パーキンソン病、抑鬱症、てんかん、多発性硬化症、躁病、ルー・ゲーリック病、軽度認知機能障害、多発梗塞性認知症、およびレビー小体型認知症の予防または処置に有効であると知られている、他の治療組成物 (r e m e d i a l c o m p o s i t i o n) を含有するように製剤化される。

30

40

【 0 0 4 9 】

本明細書に記載される組成物は、有効成分に加え、医薬上許容される添加剤を含有できる。注射製剤 (i n j e c t i o n f o r m u l a t i o n) または局所投与製剤などの非経口投与のための製剤も用いることができる。例えば、非経口投与のための製剤は、必要であれば、水または他の医薬上許容される溶媒を採用し、無菌溶液または懸濁液の注射製剤の形態で用いることができる。例えば、単位用量製剤は、医薬上許容される担体または媒体 (m e d i u m) 、例えば滅菌水、生理食塩水、植物油、乳化剤、懸濁液、界面活性剤、安定剤、賦形剤、ビヒクル、保存剤、およびバインダーを用いて、調製され得る。非経口投与は、局所投与および全身投与を含むことができる。局所投与は、損傷領域または損傷領域の周辺領域、例えば、脳もしくは脊髄、それらの周辺領域、またはそれらの

50

反対の領域に、医薬製剤を直接投与することにより、実施できる。局所投与は、鼻腔内投与および動脈内投与を含むことができる。全身投与は、髄液 (spinal fluid)、静脈あるいは動脈内へ、医薬製剤を投与することにより、実施できる。髄液は、脳脊髄液 (cerebrospinal fluid) を含む。動脈は、損傷領域に血液を供給するための領域であり得る。一実施形態では、投与は、例えば、その全体が本明細書に組み込まれる、Douglas Kondziolka, Pittsburgh, Neurology, Vol. 55, pp. 565 - 569, 2000に開示される方法により、実施される。一実施形態では、対象の頭蓋骨を切開して約1cmの直径を有する穴が作られ、かつハックス平衡塩溶液 (HBSS) 中のICAM-1懸濁液が、標的領域内に懸濁液を注入するために用いられる、長針シリンジおよび定位フレーム (stereotactic frame) を用いて、穴を通して注入される。ICAM-1の用量は、一日当たり500から1000 ng/kg (体重) の範囲にわたってよく、単一用量または分割用量で投与することができる。

10

【0050】

本明細書に記載されるのは、ICAM-1 (細胞内接着分子-1) タンパク質、またはそれらの断片もしくは変種をニューロンと共培養することを含む、ニューロンにおけるネプリライシンの発現を増加する方法である。一実施形態では、ネプリライシン発現は、1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、または12日未満の間、ニューロンとICAM-1を培養することにより、増加される。別の実施形態では、ネプリライシン発現は、12日より長くニューロンと培養することにより、増加される。一実施形態では、ICAM-1がニューロンを含有する培地に添加され、かつ共培養される。別の実施形態では、ICAM-1発現細胞がニューロンを含有する培地に添加され、かつ共培養される。別の実施形態では、ICAM-1またはICAM-1発現細胞およびニューロンが、培養物中の細胞により分泌される、あるいは培養装置の各区画に添加される、タンパク質、リガンドまたは他の細胞生産物ではない、栄養の流れを可能にする、培養装置の分離した区画で共培養される。

20

【0051】

本明細書に記載されるのは、ICAM-1 (細胞内接着分子-1) タンパク質、またはそれらの断片もしくは変種を対象に投与することを含む、対象におけるネプリライシンの発現を増加する方法である。一実施形態では、投与は局所投与である。別の実施形態では、投与は全身投与である。一実施形態では、ネプリライシンの発現を増加するために有効な量が投与される。一実施形態では、有効量のICAM-1を含む製剤は、水、培養培地、バッファーおよび賦形剤からなる群から選択される添加剤をさらに含む。

30

【0052】

実施例

以下に、本発明をより詳細に記載する。以下の実施例は、例示のみを目的として与えられるものであり、本発明の範囲を限定することを意図するものではない。

【実施例1】

【0053】

実施例1：NEP発現に対するICAM-1タンパク質のインビトロ有効性

40

配列番号1のアミノ酸配列を有する組換えICAM-1タンパク質をR&D SYSTEMS (米国) から取得し、BV2細胞をソウル大学校 (韓国) から取得した。BV2細胞は、v-raf/v-myc組換えレトロウイルスでマウスのミクログリア細胞を感染させることにより調製される、不死化細胞であり、活性化したミクログリアの形質を表す。BV2細胞を無血清DMEM培地中で培養し、それぞれ5、10および50 ng/mLの濃度のICAM-1組換えタンパク質で処置し、その後24時間、細胞を培養した。各群の回収した細胞をソニケーター (Branson Ultrasonics Corp.) を用いて溶解し、バッファー (9.8M 尿素、4% CHAPS、130mM ジチオスレイトール、40mM トリス-HCl、および0.1% ドデシル硫酸ナトリウム (SDS)) を使用することにより、そこからタンパク質抽出物を取得した。抽出した

50

タンパク質をブラッドフォードアッセイキット (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) を用いて定量し、 $20\mu\text{g}$ のタンパク質抽出物を SDS-PAGE で分離して、ニトロセルロース膜上にエレクトロトランスファーした。各ニトロセルロース膜を、一次抗体 (抗-NEP 抗体; R&D Systems, Minneapolis, MN) で一晩インキュベートし、PBS で3回洗浄し、二次抗体 (抗-ヤギ IgG; Santa Cruz, 米国) でインキュベートした。次いで、タンパク質を ECL キット (Amersham) により視覚化した。ベータ-アクチンを定量的ための内因性コントロールとして用いた。

【0054】

結果を図1の左側に示す。図1の左側の上の写真は免疫プロットの結果であり、図1の左側の下グラフは、濃度計により測定した、対照 (無処置) と比べた各バンドの強度を示す ($n=3$, $P<0.05$)。

【0055】

結果に示されるように、NEP 発現は、対照 (無処置群) と比較して ICAM-1 処置群において増加した。さらに、NEP 発現量は ICAM-1 タンパク質の濃度に比例した。

【0056】

その一方で、処置時間の観点から ICAM-1 タンパク質の有効性を評価するために、BV2 細胞を、ICAM-1 タンパク質 (20ng/mL) で、それぞれ12、24および36時間処置し、次いでNEP 発現を上記のように解析した。

【0057】

結果を図1の右側に示す。結果に示されるように、NEP 発現は ICAM-1 タンパク質の処置時間に比例して増加した。

【実施例2】

【0058】

実施例2: NEP 発現に対する ICAM-1 タンパク質のインビボ有効性

NEP 発現に対する ICAM-1 の有効性を評価するために、 $5\mu\text{L}$ の PBS ($n=4$)、または PBS 中 500 もしくは 1000ng/kg の ICAM-1 タンパク質 ($5\mu\text{L}$) ($n=4$ /群) が、定位固定装置 (stereotaxic apparatus) を用いることにより、犠牲となる麻酔をかけられた正常マウス (B6C3F1/J、13週齢、 30g) それぞれの両方の海馬に投与された。7日後、マウスを犠牲させ、脳組織を回収した。脳組織を溶解してタンパク質抽出物を取得し、実施例1のように、その抽出物を NEP 発現に関して解析した。

【0059】

結果を図2に示す。図2に示されるように、NEP 発現は対照 (無処置群) と比較して ICAM-1 処置群において増加した。特に、 1000ng/kg の ICAM-1 で処置された群の NEP 発現量は、対照 (PBS) の2倍よりも多かった ($P=0.005$)。

【実施例3】

【0060】

実施例3: アミロイド-ベータ42に対する ICAM-1 の効果

アミロイド-ベータ42の分解に対する ICAM-1 の効果を調査するために、以下の実験が実行された。具体的には、無血清 DMEM 培地で培養された BV2 細胞を、ICAM-1 タンパク質 (5または 10ng/mL) およびアミロイド-ベータ42 ($10\mu\text{M}$) で同時に前処置し、さらに24時間培養した。培養培地中のアミロイド-ベータ42の濃度は、ELISA キット (Wako Pure Chemical Industries Ltd. 日本) を用いて測定した。結果を図3に示す。

【0061】

図3に示されるように、 $A\beta 42$ の濃度は、対照と比較して ICAM-1 タンパク質で処置された群において有意に減少した。特に、ICAM-1 処置群に関して、 $A\beta 42$ の低減は ICAM-1 タンパク質の濃度に比例した。結果は ICAM-1 タンパク質により

10

20

30

40

50

誘導されたNEPがAβ42を分解することを示す。

【実施例4】

【0062】

実施例4：ICAM-1断片の調製およびそれらの活性の評価

ICAM-1活性の原因となる活性ドメインを調査するために、シグナルペプチドを除去したICAM-1ドメインの位置に基づき、4種の断片が設計された(図4)。ICAM-1遺伝子の正確な増幅を誘導するための事前PCRにおいて、全長ICAM-1を増幅するためのプライマー、ならびに制限酵素NdeI(NEB, 米国)およびBamHI(NEB, 米国)のための認識部位が挿入された、各遺伝子断片を増幅するためのプライマーが合成された。

【0063】

Pfu-PCR条件は以下であった：94℃、30秒間；58～60℃、45秒間；72℃、40秒間を40サイクル。このようにして得られたICAM-1断片およびpET-28aプラスミドDNA(Novagen登録商標, 米国)を、NdeIおよびBamHIで消化した。プライマー配列、アニーリング温度、およびPCR産物サイズを表1に示す。

【表1】

標的 遺伝子	プライマー配列	アニー リング 温度 (°C)	PCR 産物 サイ ズ(bp)
ICAM-1	5'-CCCCCAGGTGGCTAGCGCTA-3' (配列番号3) 5'-GTGCCCCAAGCTGGCATCCGT-3' (配列番号4)	58	2153
A断片	5'-CCGCCGCATAATGCAGACATCTGTGTCCCC-3' (配列番号5) 5'-CCCCCCCCCGGGGATCCTCATCAGATGACAATCTC-3' (配列番号6)	60	1404
B断片	5'-CCGCCGCATAATGCAGACATCTGTGTCCCC-3' (配列番号5) 5'-CATTCGGGATCCTCATCACTGGCCGGCCACCTC-3' (配列番号7)	60	1089
C断片	5'-CCGCCGCATAATGCAGACATCTGTGTCCCC-3' (配列番号5) 5'-CGGGGATCCTCATCACTCCTGGCTCTGGTTCCC-3' (配列番号8)	60	846
D断片	5'-CCGCCGCATAATGCAGACATCTGTGTCCCC-3' (配列番号5) 5'-CGGCGGGGATCCTCATCAAAACAGCTCCAGCCC-3' (配列番号9)	60	549

【0064】

このようにして調製された断片Aは、ICAM-1タンパク質のアミノ酸配列における28番目から483番目のアミノ酸をコードする；断片B、28番目から380番目のアミノ酸；断片C、28番目から300番目のアミノ酸；および断片D、28番目から200番目のアミノ酸。

【0065】

調製されたICAM-1断片のサイズは、2%アガロースゲル(Invitrogen, 米国)での電気泳動により確認された。電気泳動の結果を図5に示す。図5に示されるように、4種の断片が正確なサイズを有することが確認された。

【0066】

断片は、Gel抽出キット(QIAGEN, 米国)を用いて精製し、NdeI/BamHIで処理されたpET-28aプラスミドDNA(Novagen登録商標, 米国)と混合した、続いてT4DNAリガーゼ(NEB, 米国)でライゲーションした。大腸菌(

E. coli) BL21 (DE3) (Sigma, 米国) をライゲーションしたプラスミドで形質転換し、形質転換体をLB寒天培地 (BD, 米国) で培養した。増殖したシングルコロニーをピックし、各PCRチューブ内に入れ、次いでPCR反応に供した。増幅したインサートを上述 (図6) のような電気泳動により確認し、コロニーを選択した。選ばれたコロニーをLBブロス (BD, 米国) で培養し、QIAGEN 登録商標 プラスミド精製キット (QIAGEN, 米国) を用いて精製し、DNAを取得した。精製されたDNAはNdeIおよびBamHIで消化され、次いで、所望の遺伝子を含むシングルコロニーを、E. coliで2%アガロースゲル上に確認した。DNAはPCR精製キット (QIAGEN, 米国) を用いて精製され、挿入された断片の正確な配列が確認された。DNA配列が確認されたコロニーを、IPTG (Promega, 米国) 存在下LBブロスにて培養した。結果として得られた培養物を遠心分離し、沈殿した細胞を8M尿素 (pH 8.0) で処理して、細胞を溶解した。組換えタンパク質のN末端に付着する6×HisとNi-NTAの間の結合に基づき、組換えタンパク質を、Ni-NTA (ニトリロ三酢酸ニッケル) アガロース (QIAGEN, 米国) を用いて分離し、SDS-PAGEおよびウェスタンブロットにより確認した。

10

【0067】

調製例1：注射用製剤

注射用製剤の調製のため、100mgのICAM-1タンパク質を水に溶解し、次いで、10mLの0.9%滅菌生理食塩水と混合した。混合物は注射に適した用量単位に組み込まれる。

20

【0068】

調製例2：吸入用製剤

吸入送達のための製剤を調製するために、20mgのICAM-1タンパク質を50mgの無水クエン酸および100mLの0.9%塩化ナトリウム溶液と混合した。混合物は、吸入投与に適している、ネブライザーなどの吸入送達単位 (inhalation delivery unit) に組み込まれる。

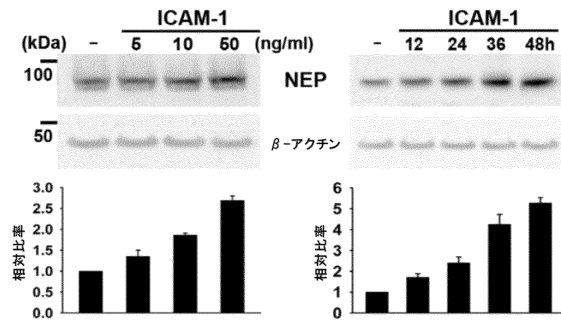
【0069】

調製例3：経鼻送達のための製剤

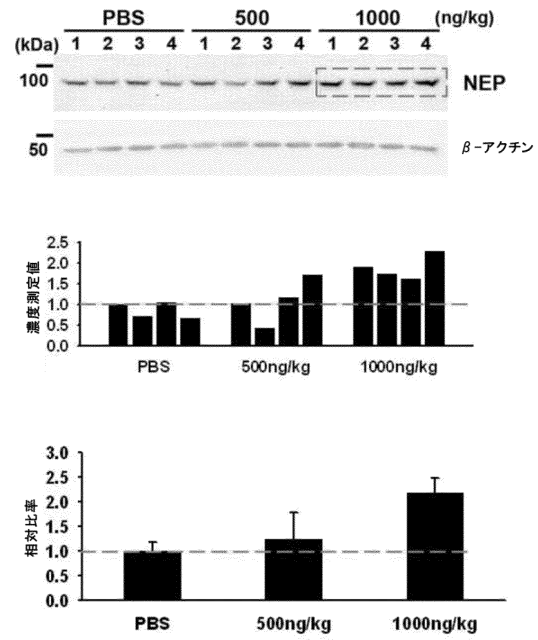
経鼻スプレー溶液を調製するため、10gのICAM-1タンパク質を30mLの0.05Mリン酸バッファー溶液 (pH 4.4) と混合した。溶液は、各適用のために100μLのスプレーを送達するように設計された経鼻投与器具 (administrator) 内に設置された。

30

【図 1】

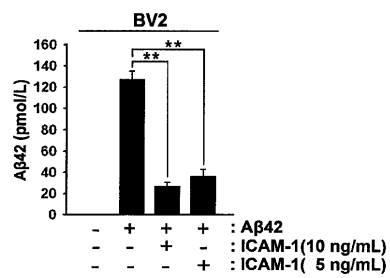


【図 2】

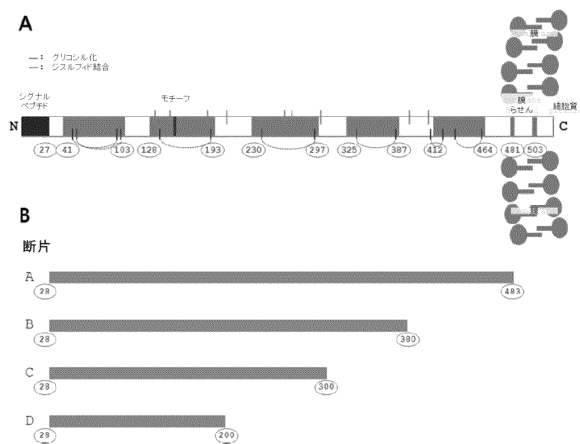


【図 3】

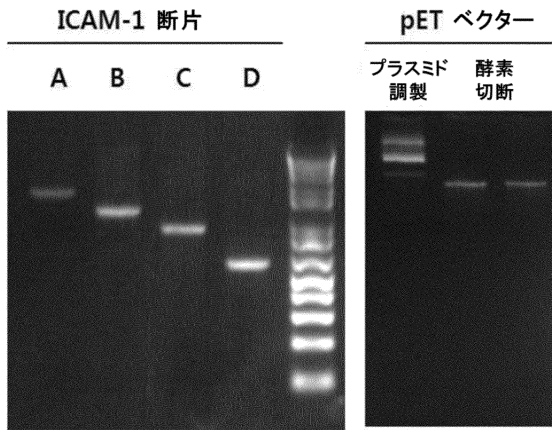
FIG. 3



【図 4】

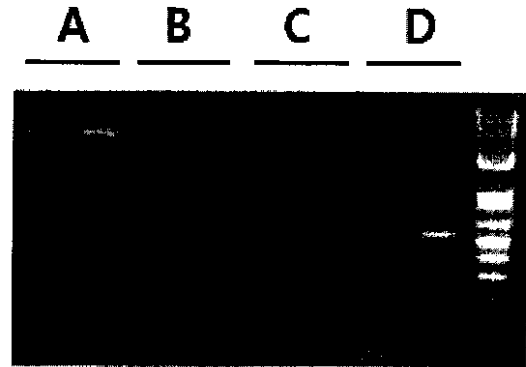


【図 5】



【図 6】

FIG. 6



【配列表】

0005784754000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
C 1 2 N	15/09 (2006.01)	C 1 2 N	15/00 A
C 0 7 K	14/47 (2006.01)	C 0 7 K	14/47

(72)発明者 ヤン・ユンソン
大韓民国 1 3 7 - 8 7 4 ソウル、ソチヨグ、ソチヨデロ 5 0 ギル、ナンバー 1 8

(72)発明者 オ・ウォンイル
大韓民国 1 3 7 - 8 7 4 ソウル、ソチヨグ、ソチヨデロ 5 0 ギル、ナンバー 1 8

(72)発明者 チャン・ジョンウク
大韓民国 1 3 7 - 8 7 4 ソウル、ソチヨグ、ソチヨデロ 5 0 ギル、ナンバー 1 8

(72)発明者 キム・ジヒョン
大韓民国 1 3 7 - 8 7 4 ソウル、ソチヨグ、ソチヨデロ 5 0 ギル、ナンバー 1 8

審査官 鳥居 福代

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 0 / 0 5 6 0 7 5 (W O , A 1)
米国特許出願公開第 2 0 0 8 / 0 2 4 9 1 5 7 (U S , A 1)
特表 2 0 0 8 - 5 4 4 2 2 5 (J P , A)
米国特許第 0 6 9 0 0 2 9 9 (U S , B 1)
米国特許出願公開第 2 0 0 9 / 0 1 9 2 1 0 5 (U S , A 1)
特表 2 0 0 4 - 5 0 5 0 2 9 (J P , A)
特開平 0 1 - 1 1 0 7 0 0 (J P , A)
生化学辞典 (第 3 版) , 東京化学同人 , 1 9 9 8 年 , p.2

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 8 / 5 8
C 0 7 K 1 4 / 4 7
C 1 2 N 1 5 / 0 9
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)