(19) Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 695 31 290 T2** 2004.05.13

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 743 856 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **695 31 290.1**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US95/02165**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **95 912 577.4**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 95/022977**
(86) PCT-Anmeldetag: **28.02.1995**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **31.08.1995**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **27.11.1996**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **16.07.2003**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **13.05.2004**

(51) Int Cl.[7]: **A61K 35/18**
A61K 39/00, A61K 39/395, A61K 39/44, C07H 21/02, C07H 21/04, C07K 16/00, C07K 16/18, C07K 16/28, C07K 16/44, C07K 19/00, A61P 37/00

(30) Unionspriorität:
202572 **28.02.1994** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:
The University of Virginia Patent Foundation, Charlottesville, Va., US

(74) Vertreter:
Patent- und Rechtsanwälte Kraus & Weisert, 80539 München

(72) Erfinder:
TAYLOR, Ronald P., Charlottesville, US; FERGUSON, Polly J., Charlottesville, US; MARTIN, Edward N., Charlottesville, US; SUTHERLAND, William S., Charlottesville, US; REIST, Craig J., Charlottesville, US; GREENE, Kirsten, Charlottesville, US; JOHNSON, Cyd, Charlottesville, US

(54) Bezeichnung: **ANTIGEN-BESIERENDE HETEROPOLYMERE ZUR BEHANDLUNG VON AUTOIMMUNKRANKHEITEN MITTELS DIESEN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Technisches Gebiet

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft auf einem Antigen basierende Heteropolymere, die sowohl für eine spezifische Rezeptorstelle an einem Primaten-Erythrozyten als auch für einen pathogenen Ziel-Autoantikörper spezifisch sind. Die vorliegende Erfindung betrifft ferner die Verwendung einer Zusammensetzung, die diese auf einem Antigen basierenden Heteropolymere umfasst, zur Herstellung eines Medikaments für die Behandlung von Autoimmunkrankheiten.

Stand der Technik

[0002] Zirkulierende Autoantikörper sind für einen Großteil der Pathogenese verantwortlich, die mit einer Reihe von Autoimmunerkrankungen, einschließlich, aber nicht beschränkt auf, systemischer Lupus erythematodes (SLE), Autoimmun-Myocarditis, Immunkomplex-vermittelte Nierenkrankheit, rheumatoide Arthritis, Myasthenia gravis, Autoimmunanämie, Sjogren'sches Syndrom, essentielle Thrombozytopenie, verschiedene Formen der Vaskulitis und mindestens eine gewisse zelluläre Zytotoxizität, die erworbenes Immundefektsyndrom (AIDS) begleitet, verbunden ist.

[0003] Anstrengungen, um durch Autoantikörper vermittelte Störungen zu behandeln, waren nur teilweise erfolgreich. Viele der in der Vergangenheit entwickelten Therapien basierten auf der Verwendung allgemeiner immun-supprimierender Maßnahmen durch Arzneimittel oder therapeutische monoklonale Antikörper, die entwickelt wurden, um die Antikörperproduktion vollständig aufzuheben. Allerdings wurde bis heute keine erfolgreiche Behandlung entwickelt, die auf spezifische Autoantikörper abzielt.

[0004] Plasmapherese, die entwickelt wurde, um alle zirkulierenden Antikörper zu entfernen, wurde ausprobiert, allerdings nur mit begrenztem Erfolg. In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl extrakorporaler Immunabsorptionsverfahren erprobt. Diese Verfahren sind spezifischer und versuchen nur die pathogenen Autoantikörper zu entfernen. Dies umfasst, dass das Blut oder -plasma über Matrizes außerhalb des Körpers fließen gelassen wird, wobei diese Matrizes das Autoantigen enthalten, das das natürliche Ziel der Autoantikörper ist. Diese Verfahren sind langsam, invasiv und teuer und sind mit bestimmten technischen Problemen behaftet, einschließlich der Notwendigkeit, die Verfahren infolge ihrer quantitativen Ineffizienz wiederholt durchzuführen. Es besteht die Komplikation einer Komplementaktivierung an den Matrizes. Insgesamt waren die Erfolge beim Test mäßig.

[0005] Ein anderer allgemeiner, nicht spezifischer Ansatz beinhaltet eine aggressive immunsupprimierende Therapie mit Corticosteroiden und zytotoxischen und nichtsteroidalen antünflammatorischen Arzneimitteln. Obgleich in vielen Fällen klinische Verbesserungen erzielt wurden, bestehen trotz dieser Medikationen deutliche Morbidität und Mortalität bei Autoimmunkreankheiten fort.

[0006] Ungeachtet dieser Fortschritte bei der Autoimmuntherapie besteht weiterhin Bedarf an einer internen Therapie, die für die pathogenen Ziel-Autoantikörper spezifisch ist und die schnell und quantitativ ist.

Offenbarung der Erfindung

[0007] Dem entsprechend besteht eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung in der Bereitstellung einer Autoimmuntherapie, die für pathogene Ziel-Autoantikörper hoch-spezifisch ist und die schnelle und quantitative Resultate liefert.

[0008] Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht in der Bereitstellung einer solchen Autoimmuntherapie für die Behandlung von Autoimmunkrankheiten beim Menschen und nicht-humanen Primaten.

[0009] Die obigen Aufgaben wurden durch die vorliegende Erfindung gelöst, wobei diese auf einem Antigen basierende Heteropolymere betrifft. Diese sind sowohl für eine Komplement-Rezeptorstelle (CR1) an einem Primaten-Erythrozyten als auch für einen pathogenen Ziel-Autoantikörper spezifisch. Spezifischer ausgedrückt, die obigen Aufgaben wurden durch die vorliegende Erfindung gelöst, die einen Komplex bereitstellt, der mindestens ein auf einem Antigen basierendes Heteropolymer umfasst, der einen monoklonalen Antikörper, der für eine Bindung an eine CR1-Stelle an einen Primaten-Erythrozyten spezifisch ist, umfasst, wobei der monoklonale Antikörper mit dem Antigen, das für einen pathogenen Ziel-Autoantikörper spezifisch ist, vernetzt ist.

[0010] Außerdem wurden die Aufgaben durch die vorliegende Erfindung gelöst, die ferner die Verwendung einer Zusammensetzung bereitstellt, umfassend eine wirksame Menge eines auf einem Antigen basierenden Heteropolymeren, das einen monoklonalen Antikörper umfasst, der für die CR1-Stelle an einem Primaten-Erythrozyten spezifisch ist, wobei der monoklonale Antikörper mit einem Antigen, das für einen pathogenen Ziel-Autoantikörper spezifisch ist, umfasst, zur Herstellung eines Medikaments für die Behandlung einer Autoimmunkrankheit bei einem Menschen oder nicht-humanen Primaten, bereit.

Kurze Beschreibung der Erfindung

[0011] **Fig.** 1 ist eine schematische Darstellung des auf einem Antigen basierenden Heteropolymerkomplexes, der aus einem monoklonalen Antikörper, gebunden an die CR1-Rezeptorstelle, an einem Primaten-Erythrozyten, besteht. Der monoklonale Antikörper ist auch mit einem Autoantigen (dsDNA) vernetzt, das wiederum an den pathogenen Ziel-Autoantikörper (anti-dsDNA-Antikörper) gebunden ist.
[0012] **Fig.** 2 ist ein Diagramm, das die Kinetik der durch ein auf einem Antigen basierenden Heteropolymer vermittelten Bindung von IgG-anti-dsDNA-Antikörpern an humane Erythrozytenzellen zeigt. Die Zählimpulse, gebunden, (bzw. von gebundenem Material) sind proportional zu der Menge an humanem IgG, gebunden, (siehe unten). Ma, Mo und Ha sind die Initialen des Nachnamens von SLE-Patienten, denen Plasma oder IgG-Fraktionen entnommen worden waren. Die ausgefüllten Symbole zeigen eine Inkubation mit Erythrozyten und einem auf Antigen basierenden Heteropolymer und den obigen entsprechenden Antikörpern an. Die offenen Symbole stellen eine Inkubation mit Erythrozyten und Antikörpern ohne ein auf einem Antigen basierenden Heteropolymer dar.
[0013] **Fig.** 3 ist ein Diagramm, das die Untersuchung von Erythrozyten, hergestellt und inkubiert wie in **Fig.** 2 beschrieben, und sondiert mit ^{125}I-markierten monoklonalen Antikörpern gegen humanes IgG und humanes IgM zeigt. Plasma Ma ist repräsentativ für Proben von Patienten mit schwerer Nephritis und enthält fast ausschließlich IgG-anti-dsDNA-Antikörper mit sehr hohem Titer. Plasma Va enthält sowohl IgG- als auch IgM-antidsDNA-Antikörper.
[0014] **Fig.** 4 ist ein Diagramm, das die Resultate von Kontrollexperimenten zur Demonstration der Bindungsspezifität zeigt. Humane Erythrozyten wurden mit einer Vierfachverdünnung des Plasmas Ma untersucht oder es wurde eine IgG-Fraktion aus Plasma Ma untersucht. P1 = Plasma; N1 = normal; SRBCS = Erythrozyten vom Schaf AHP = auf einem Antigen basierendes Heteropolymer; Na = Patient mit schwerer Nephritis.
[0015] **Fig.** 5 ist ein Diagramm, das die Resultate von Kontrollexperimenten zeigt, die angeben, dass eine Bindung in normalem humanen Serum möglich ist und bestätigt, dass die Erythrozyten nicht lysiert werden. Eine Zweifachverdünnung des Plasmas Ma (verdünnt in Rinderserumalbumin) wurde mit einer entsprechenden Verdünnung des Plasmas Ma in frischem normalen humanen Serum verglichen. PL = Plasma; NHSC = normales humanes Serumkomplement; AHP = auf einem Antigen basierendes Heteropolymer; IRR = irrelevanter monoklonaler Antikörper.
[0016] **Fig.** 6 ist ein Diagramm, das die Resultate von Dosis-Antwort-Experimenten zeigt, wobei der optimale Input an auf einem Antigen basierendem Heteropolymer zur Maximierung der Bindung von humanen IgG-anti-dsDNA-Antikörpern an 150 µl Erythrozyten (50 % Hämatocrit) in einer SLE-IgG-Probe erläutert wird. AHP3 wurde wie in Beispiel 1 hergestellt (siehe unten). AHP2 = enthält 1/2 so viel dsDNA wie AHP3; AHP 1 = enthält 1/4 so viel dsDNA wie AHP3.
[0017] **Fig.** 7 ist ein Diagramm, das die Bindung als Funktion der Konzentration der IgGanti-dsDNA-Antikörper zeigt. Eine 50%ige Dispersion von humanen Erythrozyten wurde in einem Gemisch aus Rinderserumalbumin und IgG Mo untersucht.
[0018] Die Daten (errechnete Linie) wurden durch die Analyse der kleinsten Quadrate an eine einfache geradlinige Gleichung angepasst.
[0019] **Fig.** 8 ist ein Diagramm, das die Bindung als Funktion der Konzentration an IgGanti-dsDNA-Antikörpern zeigt, wobei ein anti-dsDNA-Plasma mit sehr hohem Titer (Ma) verwendet wird.
[0020] **Fig.** 9 ist ein Diagramm, das die Bindung als Funktion der Konzentration an IgGanti-dsDNA-Antikörpern zeigt, wobei Plasma Ma verwendet wurde. (7G9 AHP und 1B4 kHP allein als Vergleich zu einem Cocktail, der 7G9 und 1B4 zusammen enthält.)

Bester Modus zur Durchführung der Erfindung

[0021] Die vorliegende Erfindung basiert auf dem einzigartigen strukturellen und biophysikalischen Eigenschaften des Primaten-Erythrozyten-Komplement-Rezeptors (CR1). Die erfindungsgemäßen auf Antigen basierenden Heteropolymerkomplexe sind sowohl für die CR1-Stelle an einem Primaten-Erythrozyten wie auch für einen pathogenen Ziel-Autoantikörper spezifsch.
[0022] Die auf einem Antigen basierenden Heteropolymere der vorliegenden Erfindung werden aus monoklonalen Antikörpern hergestellt, die für die CR1-Rezeptorstelle an einem Primaten-Erythrozyten spezifisch sind. Die monoklonalen Antikörper müssen auch fähig sein, mit einem Autoantigen vernetzt zu werden, das für den pathogenen Ziel-Autoantikörper spezifisch ist.
[0023] Beispiele für solche monoklonale Antikörper, die in der vorliegenden Erfindung eingesetzt werden, umfassen 1B4, HB8592 und 7G9. HB8592 und 1B4 sind in Taylor et al., "Use of heteropolymeric monoclonal antibodies to attach antigens to the C3b receptor of human erythrocytes: A potential therapeutic treatment", Proc. Nat'l. Acad. Sci., 88: 3305– 3309 (April 1991); Reist et al., "Antigens pre-bound to the primate erythrocyte complement receptor via cross-linked bispecific monoclonal antibody heteropolymers are rapidly cleared from the

circulation", Eur. J. Immunol. 23: 3021–3027 (1993) offenbart. 7G9 ist ein mAb, der kürzlich im Labor der Erfinder entwickelt wurde und der nach bekannten Techniken hergestellt werden kann. Andere mAbs gegen CR1, die verfügbar und verwendbar sind, umfassen 3D9 und E-11 [früher von den Erfindern der vorliegenden Erfindung in Proc. Nat'l- Acad. Sci., Bd. 91 (Juli 1992)] verwendet und 57F und YZ1 (hergestellt und beschrieben von Nussenzweig bzw. Fearon). Es ist wahrscheinlich, dass ein beliebiger mAb für CR1 in dem Heteropolymersystem auf Antigenbasis der vorliegenden Erfindung erfolgreich wirken wird.

[0024] Der monoklonale Antikörper wird mit einem Antigen vernetzt, das für einen pathogenen Ziel-Autoantikörper spezifisch ist. Die Vernetzung kann durch ein beliebiges wirksames Vernetzungsverfahren durchgeführt werden. Beispielsweise können gereinigte monoklonale Antikörper zuerst biotinyliert werden. Typischerweise kann jeder monoklonale Antikörper 5 Biotine enthalten. Der biotinylierte gereinigte monoklonale Antikörper wird dann mit einem vorher biotinylierten Antigen oder Autoantigen durch Verwendung von Streptavidin vernetzt. Andere bekannte Verfahren, zum Beispiel die Verwendung von N-Succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)-propionat (SPDP) kann zur Vernetzung des monoklonalen Antikörpers mit dem Antigen verwendet werden, wenn das Antigen freie Aminogruppen hat. Die Details der Herstellung von Heteropolymeren, die nicht auf Antigen basieren, kann in Taylor et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. supra; Reist et al., supra; und Taylor et al., "In vitro binding and clearance of circulating antigen by bispecific heteropolymer-mediated Bindung to primate erythrocyte complement receptor", J. Immunol., 148(8): 2462–2468 (April 1992) gefunden werden.

[0025] Theoretisch können viele verschiedene Autoantikörper aus dem Blutkreislauf eines Primaten entfernt werden, indem die auf einem Antigen basierenden Heteropolymere der vorliegenden Erfindung eingesetzt werden. Es hat sich gezeigt, dass bestimmte Menschen mit Hämophilie spezifisch einen Mangel an Faktor VIII aufweisen. Ein Ersatz mit rekombinantem Faktor VIII behandelt diese Hämophilie. Allerdings entwickeln eventuell einige Patienten Antikörper gegen Faktor VIII, was diese Therapie stört. Das erfindungsgemäße Heteropolymer auf Antigenbasis, das mit Faktor VIII hergestellt wird, liefert eine therapeutische Lösung für dieses Problem.

[0026] Ein auf einem Antigen basierendes Heteropolymer, das Faktor VIII mit einem mAb gegen CR1 umfaßt, bindet spezifisch zirkulierende anti-Faktor VIII-Autoantikörper an Erythrozyten-CR1 und erleichtert die Clearance (Eliminierung) dieser Autoantikörper. Faktor VIII wird zirkulieren gelassen und erleichtert die Blutgerinnung.

[0027] Andere Autoantikörper, die durch den erfindungsgemäßen auf einem Antigen basierenden Heteropolymerkomplex eliminiert werden können, umfassen, sind aber nicht beschränkt auf, Autoantikörper auf die folgenden Antigene: Muskelacetylcholinrezeptor (die Antikörper sind mit der Krankheit Myasthenia gravis verbunden); Cardiolipin (assoziiert mit der Krankheit Lupus); Blutplättchen-assoziierte Proteine (assoziiert mit der Krankheit essentielle idiopathische Purpura); mehrere Antigene, die mit dem Sjogren'schen Syndrom verbunden sind; die Antigene, die im Fall von Gewebetransplantations-Autoimmunreaktionen involviert sind; die Antigene, die im Herzmuskel gefunden werden (assoziiert mit der Krankheit Autoimmunmyokarditis); die Antigene, die mit einer Immunkomplex-vermittelten Nierenerkrankung assoziiert sind; die dsDNA- und ssDNA-Antigene (assoziiert mit Lupusnephritis); Desmogleine und Desmoplakine (assoziiert mit Pemphigus und Pemphigoid); oder ein beliebiges anderes Antigen, das gut charakterisiert ist, an einen anti-CR1-mAb gebunden werden kann und mit einer Krankheitspathogenese verbunden ist.

[0028] Wenn die oben beschriebenen auf einem Antigen basierenden Heteropolymerkomplexe in den Blutkreislauf eines Menschen oder nicht-humanen Primaten injiziert werden, wird das auf einem Antigen basierende Heteropolymer in hohem prozentualen Anteil und entsprechend der Zahl der CR1-Stellen an den Erythrozyten über den monoklonalen Antikörper an die Erythrozyten binden. In annähernd derselben Rate wird das auf einem Antigen basierende Heteropolymer dann über das Antigen, das mit dem monoklonalen Antikörper vernetzt ist, an den Autoantikörper binden. Die Erythrozyten, die den gebundenen auf einem Antigen basierenden Heteropolymer-Autoantikörper-Komplex enthalten, können dann therapeutisch wirken, indem sie die Neutralisierung und die Clearance des gebundenen pathogenen Autoantikörpers aus dem Blutkreislauf erleichtern. In der vorliegenden Erfindung erleichtern die auf einem Antigen basierenden Heteropolymere eine Bindung an die Erythrozyten und eliminieren anschließend den Autoantikörper aus dem Blutkreislauf von humanen und nicht-humanen Primaten, ohne dass die Erythrozyten selbst ausgeschieden werden.

[0029] Die Erfinder der vorliegenden Erfindung haben erstmals gefunden, dass es durch Vernetzung von monoklonalen Anti-CR1-Antikörpern mit einem Autoantigen, wodurch die auf einem Antigen basierenden Heteropolymere der vorliegenden Erfindung gebildet werden, möglich ist, die überwiegende Mehrzahl (etwa 80% bis 95%, Tabelle 1 und **Fig.** 9) der Autoantikörper (spezifisch für ein Antigen), die in Plasma von Patienten mit einer spezifischen Autoimmunkrankheit gefunden werden, spezifisch an Erythrozyten zu binden. Die Beispiele beweisen ganz spezifisch, dass es möglich ist, die überwiegende Zahl der Autoantikörper gegen das dsDNA-Antigen, die im Plasma von Patienten mit systemischen Lupus erythematodes (SLE) gefunden werden, an Erythrozyten zu binden.

[0030] Die vorliegende Erfindung nutzt die einzigartigen Eigenschaften des Primaten-Erythrozyten-CR1, der es ermöglicht, Komplement-opsonierte Immunkomplexe aus dem Blutkreislauf zu binden und einer Clearance

zu unterziehen. Die durch dieses System geklärten Immunkomplexe werden von der Leber und der Milz aufgenommen (Cornacoff, J. Clin. Invest. (1983)).

[0031] Die Spezifität der Bindung des AHP-Komplexes an die Autoantikörper oder Antikörper und den Erythrozyten-CR1 auf Antigen basierendes Heteropolymer-Komplex ist klar, da, wenn a) das auf einem Antigen basierende Heteropolymer weggelassen wird; b) Schaf-Erythozyten, denen die CR1-Stelle fehlt, für humane Erythrozyten eingesetzt werden; c) das biotinylierte Autoantigen bei der Herstellung des auf einem Antigen basierenden Heteropolymer weggelassen wird; und d) normale Sera oder normales IgG für SLE-Plasma eingesetzt wird, keine Bindung beobachtet wird (**Fig.** 4). Ein weiterer Beweis der Spezifität wird dadurch geliefert, dass keine Bindung beobachtet wird, wenn e) das auf einem Antigen basierende Heteropolymer ohne monoklonalen Antikörper hergestellt wird; f) das auf einem Antigen basierende Heteropolymer mit einem "irrelevanten" monoklonalen Antikörper hergestellt wird; und g) ein Überschuß an monomerem monoklonalen Antikörper anti-CR1 verwendet wird, um den auf einem Antigen basierenden Heteropolymerkomplex zu inhibieren (**Fig.** 5). Es wurde auch bestätigt, dass das Vorliegen von frischem Serum (als Komplementquelle, 25 Vol.-%) eine spezifische Bindung nicht inhibiert und die Erythrozyten nicht lysiert (**Fig.** 5).

[0032] Der Input-Bereich des auf einem Antigen basierenden Heteropolymers wird auf der Basis der Erythrozytenkonzentration und der Anzahl der CR1-Epitopstellen pro Erythrozyt, die von den monoklonalen anti-CR1-Antikörpern erkannt werden, bestimmt. Wenn der auf einem Antigen basierende Heteropolymerkomplex im Überschuss zugesetzt wird, wird eine Fraktion des auf einem Antigen basierenden Heteropolymer nicht an Erythrozyten binden, sondern wird statt dessen die Aufnahme der Autoantikörper durch den Erythrozyten inhibieren. Der Grund dafür ist, dass, wenn das auf einem freien Antigen basierende Heteropolymer in Lösung ist, es in einfacher Weise mit einem auf einem Antigen basierenden Heteropolymer, das an Erythrozyten gebunden ist, um einen verfügbaren Autoantikörper in Wettbewerb treten wird. Somit folgt die Bindung der Autoantikörper an humane Erythrozyten, die durch ein auf einem Antigen basierenden Heteropolymer vermittelt wird, einer glockenförmigen Kurve, wenn die Bindung als Funktion der Input-Konzentration des auf einem Antigen basierenden Heteropolymer untersucht wird (**Fig.** 6).

[0033] Die quantitative Wirksamkeit der auf einem Antigen basierenden Heteropolymere der vorliegenden Erfindung bei der Erleichterung der Bindung von Autoantikörpern an Erythrozyten wird in den Resultaten von Farr-Assays bewiesen.

[0034] Die Resultate der Farr-Assays beweisen, dass die Autoantikörper tatsächlich in Gegenwart des auf einem Antigen basierenden Heteropolymerkomplexes der vorliegenden Erfindung in hohen prozentualen Anteilen (> 90% in Tabelle 1) an Erythrozyten absorbiert werden.

[0035] Es wurde weiter bewiesen, dass eine lineare Beziehung zwischen dem Input an Autoantikörpern und der Konzentration an Autoantikörpern, die infolge der Bindung, die durch ein auf einem Antigen basierenden Heteropolymer vermittelt wird, vorliegt, besteht (**Fig.** 7). In einigen Fällen zeigt das System eine Sättigung, da die Konzentration der Autoantikörper im Plasma so hoch ist, dass, selbst bei optimalem Input an auf Antigen basierenden Heteropolymeren nicht alle Autoantikörper unter Standardbedingungen an die Erythrozyten gebunden werden können (**Fig.** 8). Dies wird auch in den Farr-Assays gezeigt. Für Seren mit sehr hohem Titer beispielsweise wird eine Fraktion der Autoantikörperbindenden Aktivität infolge ihrer hohen Konzentration nicht an Erythrozyten gebunden (Tabelle 1). Diese Fälle sind die Ausnahme und für die Mehrzahl der Proben von Patienten mit Lupusnephritis (die pathogene Spiegel an anti-dsDNA-Antikörpern haben), entfernt das erfindungsgemäße Verfahren > 90% der anti-dsDNA-Antikörper.

[0036] Allerdings kann das Sättigungsproblem durch Verwendung von Kombinationen aus auf einem Antigen basierenden Heteropolymer, die monoklonale Antikörper enthalten, die an unterschiedliche Stelle am CR1 binden, gelöst werden. Die monoklonalen Antikörper 7G9 und 1 B4 binden an getrennten und nicht-konkurrierenden Stellen am Erythrozyten-CR1. Daher führt ein "Cocktail", der ein Gemisch aus zwei auf Antigen basierenden Heteropolymeren, hergestellt mit den entsprechenden monoklonalen Antikörpern, enthält, zu einer höheren Bindung von Autoantikörpern an Erythrozyten. Plasma Ma ist eines der SLE-IgG-anti-dsDNA-Plasma mit höchstem Titer, die untersucht wurden. Das einzelne, auf einem Antigen basierende Heteropolymer, das entweder mit dem monoklonalen anti-CR1-Antikörper 7G9 oder 1B4 allein hergestellt wurde, kann nicht alle anti-dsDNA-Antikörper im unverdünnten Plasma an Erythrozyten binden. Wenn allerdings der "Cocktail" verwendet wird, werden mehr als 90% der IgG-anti-dsDNA im Plasma Ma an Erythrozyten absorbiert (**Fig.** 9). Auch die Resultate des Farr-Assays (Tabelle 1) der Plasmaüberstände zeigen, dass mehr als 90% der anti-dsDNA-Antikörper-Bindungsaktivität im Plasma Ma entfernt wird, wenn es mit dem auf Antigen basierenden Heteropolymer-Cocktail und Erythrozytenzellen behandelt wird.

[0037] Die vorliegende Erfindung umfasst ferner die Verwendung einer Zusammensetzung, die eine wirksame Menge eines auf einem Antigen basierenden Heteropolymerkomplexes der Erfindung umfasst, zur Herstellung eines Medikaments für die Behandlung einer Autoimmunkrankheit bei einem Primaten. Der Verabreichungsweg wird wahrscheinlich eine intravenöse Injektion in das Blut eines humanen oder nicht-humanen Primaten sein.

[0038] Eine wirksame Menge des auf einem Antigen basierenden Heteropolymerkomplexes der vorliegenden

Erfindung ist 1 bis 10 mg, vorzugsweise 5 mg, die auf einmal verabreicht werden. Diese Dosierung sollte bis zu 2 µg/m1 des Autoantikörpers aus dem Blutkreislauf eines Primaten klären. In einer therapeutischen Umgebung sollte die Verabreichung bis zur vollständigen Clearance des pathogenen Autoantikörpers wiederholt werden. Die auf einem Antigen basierenden Heteropolymere der Erfindung können in Kombination mit bestimmten Flüssigkeiten, die für intravenöse Infusionen verwendet werden, eingesetzt werden.

[0039] Obgleich die hierin offenbarten Prototypstudien unter Verwendung von MausmAbs durchgeführt werden, sollte eine derzeit verfügbare Technologie einer "Humanisierung" dieser Maus-mAbs erlauben. Dies wird die Chance verringern, dass eine Immun-Antwort auf das auf einem Antigen basierenden Heteropolymer seine Wirksamkeit in wiederholten Dosen aufhebt.

[0040] Erythrozytenzellen, die entfernt und isoliert wurden, können auch als therapeutische Mittel eingesetzt werden. Sobald sie mit dem auf einem Antigen basierenden Heteropolymer verbunden sind, können diese Erythrozyten wieder in den Patienten eingeführt werden, wo sie im Blutstrom freie Autoantikörper binden werden und an dem Erythrozyten immobilisiert werden und anschließend nach dem Erythrozyten-Clearance-Mechanismus des Körpers eliminiert werden.

[0041] Wie oben ausgeführt wurde, werden in einer alternativen Ausführungsform Erythrozyten mit einem "Cocktail" aus mindestens zwei auf Antigen basierenden Heteropolymeren "frankiert" (bzw. beladen), welche außer der Bindung an den Ziel-Autoantikörper auch eine Bindung zu verschiedenen unterschiedlichen und nicht-überlappenden Stellen am CR1 des Primaten-Erythrozyten eingehen. Wie einige der folgenden Experimente zeigen, wird die Zahl der Heteropolymerkomplexe durch Verwendung von mindestens zwei nichtüberlappenden monoklonalen Antikörpern zur Bindung an CR1 auf den Erythrozyten von Primaten auf einen hohen prozentualen Anteil und in gute Übereinstimmung mit der Zahl der verfügbaren Bindungsstellen erhöht. Dies wiederum ermöglicht es, dass mehr Autoantikörper an die Heteropolymerkomplexe der vorliegenden Erfindung binden. Dies erhöht die Fähigkeit, eine relativ kleine Anzahl an Erythrozyten an eine relativ größere Menge Autoantikörper zu binden; außerdem kann die Entfernung des Autoantikörpers durch das normale Immun-Clearance-Systems des Primaten erleichtert werden.

[0042] Der AHP der vorliegenden Erfindung kann außerdem im Fall einer Clearance von exogen verabreichten Antikörpern, die pathogen werden, verwendet werden.

BEISPIELE

BEISPIEL 1

[0043] Monoklonale Antikörper und vernetzte AHP-anti-CR1/dsDNA-Komplexe Drei monoklonale Antikörper, die für Primaten-CR1 spezifisch sind, d. h. 1B4, HB8592 und 7G9, wurden nach bekannten Verfahren, wie sie bei Reist et al., supra, ausgeführt sind, gereinigt. Die gereinigten monoklonalen Antikörper wurden dann durch bekannte Verfahren biotinyliert. Typischerweise wird jeder monoklonale Antikörper 5 Biotine enthalten. Eine Menge von 24 µg biotinyliertem 7G9 wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur mit 30 µg Streptavidin (SA) in einem Volumen von 48 µl Borat-Kochsalzlösung (BS-Puffer) inkubiert.

[0044] Die resultierende Probe wurde dann mit 33 µg biotinylierter dsDNA, die von Dr. W. Emlen vom University of Colorado Medical Center (1 Biotin pro 30 Basenpaare in 1 ml BS-Puffer) bezogen worden war, inkubiert, um 7G9 mit der biotinylierten dsDNA zu vernetzen. Das Verfahren wurde unter Verwendung von 1B4 oder HB8592 wiederholt. Die anti-CR1/dsDNA-Komplexe, die gebildet worden waren, wurden ohne jede weitere Reinigung verwendet.

BEISPIEL 2

Bindungs-Assays

[0045] SLE-Plasma oder IgG-Fraktionen von 3 verschiedenen Patienten, die mit den Initialen des Nachnamens (d. h. Ma, Mo und Ha) gekennzeichnet sind, wurden nach allgemeinen Verfahren (Taylor et al., "The Interaction of Antibody/DNA Immune Complexes with Complement", Arthritis and Rheumatism, 30(2): 176–185 (Februar 1987)) mit Erythrozyten und AHP (10 µl AHP3 pro 150 µl 50% Erythrozyten) (ausgefüllte Symbole in **Fig.** 2) und ohne AHP (offene Symbole in **Fig.** 2) für den angegebenen Zeitraum bei 37°C wie folgt inkubiert: Typ 0 Erythrozyten wurden gewaschen und dann in einem der obigen Plasma auf 50% Hämatocrit rekonstituiert. Das AHP wurde mit einer "Äquivalenz" von 0,6 bis 1,2 µg anti-CR1-mAb pro ml Blut, basierend auf 500 bis 1000 CR1-Rezeptoren pro Erythrozyt, zugesetzt. Nach einer kurzen Inkubation wurde die Probe zentrifugiert und der Überstand isoliert und für einen unabhängigen Assay (Farr-Assay) auf die anti-dsDNA-Antikörper gesichert. Die Erythrozytenpellets wurden dreimal gewaschen und dann wurde ein ^{125}I-markierter monoklonaler Antikörper gegen humanes IgG (HB43) den Erythrozyten zugesetzt, um die Aufnahme von humanem IgG zu messen (Taylor et al., 88: 3305–3309, Prob. Nat'l. Acad. Sci., supra). Der Pfeil am Boden der **Fig.** 2 unter-

streicht den niedrigen Level einer Hintergrundbindung aller 3 Proben nach insgesamt 15 minütiger Inkubation an Erythrozyten. Die gestrichelten Linien links am Boden der Figur sind Extrapolationen auf 0 Minuten Inkubation mit AHP.

[0046] **Fig.** 2 demonstriert die Resultate der Kinetik einer AHP-vermittelten Bindung von IgG-anti-dsDNA-Antikörpern an humane Erythrozyten. Diese Resultate zeigen, dass die erfindungsgemäßen Komplexe an Erythrozyten binden. Die Resultate zeigen weiter, dass durch die eingebaute dsDNA die AHP-Komplexe die spezifische und schnelle Bindung (etwa 80% in etwa 5 Minuten bei 37°C, wie es in **Fig.** 2 gezeigt ist) von Hochaviditäts-IgG- und/oder -IgM/anti-dsDNA-Antikörpern, die in SLE-Plasma gefunden werden, an Erythrozyten erleichtert. Die Spezifität der Bindung für anti-dsDNA-Antikörper und den anti-CR1/dsDNA-AHP-Komplex wird durch die Tatsache klar, dass die gesamte Bindung aufgehoben ist, wenn das AHP weggelassen ist (offene Symbole in **Fig.** 2).

BEISPIEL 3

[0047] Zwei SLE-Proben wurden wie in Beispiel 2 oben hergestellt. Allerdings wurden die Proben für 15 Minuten bei 37°C mit AHP inkubiert.

[0048] Plasma Ma, wie es in **Fig.** 3 dargestellt ist, ist für Proben von Patienten mit schwerer Nephritis typisch und hat, wie es vorher beschrieben wurde, fast ausschließlich IgGanti-dsDNA-Antikörper mit sehr hohem Titer [Taylor et al., Arthritis and Rheumatism (1987)]. Das Plasma Va hatte nach Taylor et al. sowohl IgG- wie auch IgM-anti-dsDNA-Antikörper.

[0049] Die Erythrozyten wurden mit ^{125}I-markierten monoklonalen Antikörpern sowohl gegen humaes IgG (HB43) als auch IgM (HB57) sondiert.

BEISPIEL 4

Kontrollexperimente, um die Spezifität der Bindung zu beweisen

[0050] Plasma Ma oder eine IgG-Fraktion aus Plasma Ma wurde wie oben beschrieben hergestellt. Das Plasma Ma und die IgG-Fraktion aus Plasma Ma wurden vierfach verdünnt. In diesem Experiment wurden humane Erythrozytenzellen wie oben verwendet. Es wurden fünf verschiedene Proben wie folgt hergestellt: a) AHP weggelassen; b) Schaf-Erythrozyten (SRBCS), denen die CR1-Stelle fehlt, wurden anstelle der humanen Erythrozyten eingesetzt; c) die biotinylierte dsDNA wurde bei der Herstellung des AHP weggelassen; und d) normales Plasma oder normales IgG wurde für das SLE-Plasma eingesetzt (**Fig.** 4).

[0051] Die in **Fig.** 4 gezeigten Resultate beweisen, dass eine Bindung nur in Gegenwart des AHP und humaner Erythrozyten (erste 2 Gruppen von **Fig.** 4 auf der linken Seite) auftritt. Wenn AHP weggelassen wird oder das dsDNA-Antigen aus dem AHP weggelassen wird, ist keine Bindung zu sehen. Wenn außerdem Schaf-Erythrozyten mit Ma verwendet werden oder normales humanes IgG anstelle von Ma verwendet wird, wird die Bindung auf Hintergrundlevel reduziert.

BEISPIEL 5

[0052] In diesem Beispiel wurde eine Zweifachverdünnung von Plasma Ma (verdünnt in Rinderserumalbumin) mit derselben Verdünnung von Plasma Ma in frischem normalen humanen Serum verglichen. Es wurden die folgenden vier Proben hergestellt: a) das AHP wurde ohne monoklonalen Antikörper hergestellt; b) AHP wurde mit einem monoklonalen Antikörper gegen die Dinitrophenolgruppe (23D1, ein irrelevanter (IRR) Antikörper) hergestellt; c) ein Überschuss an monomerem 7G9-anti-CR1 wurde verwendet, um 7G9/dsDNA-AHP zu inhibieren; und d) Serum, präpariert mit AHP.

[0053] Der Spezifitätsbeweis wird in **Fig.** 5 gezeigt, indem gezeigt wurde, dass keine Bindung beobachtet wird, wenn AHP ohne monoklonalen Antikörper hergestellt wird, AHP mit einem irrelevanten monoklonalen Antikörper hergestellt wird, oder wenn ein Überschuss an monomerem 7G9-anti-CR1 verwendet wird, um den 7G9/dsDNA-AHP zu inhibieren. Die Spezifität des AHP, der biotinylierten monoklonalen Antikörper 7G9 enthält, wird demonstriert, da ein Überschuss an monoklonalem Antikörper 7G9 fähig ist, um Stellen am CR1 in Wettbewerb zu treten und die gesamte Bindung aufzuheben. Es wurde auch bestätigt, dass das Vorliegen von frischem Serum (als Komplementquelle, 25 Vol.-%) die spezifische Bindung nicht inhibiert und die Erythrozyten nicht lysiert (**Fig.** 5).

BEISPIEL 6

[0054] Farr-Assay, der die quantitative Wirksamkeit der auf Antigen basierenden Heteropolymere zeigt

[0055] Die quantitative Wirksamkeit der auf einem Antigen basierenden Heteropolymerkomplexe der Erfin-

dung bei der Erleichterung der Bindung von Ziel-Autoantikörpern an Erythrozyten wird in Tabelle 1 bewiesen, die die Resultate von Farr-Assays zeigt. Der Farr-Assay wurde durchgeführt, wie es von Taylor et al., Arthritis and Rheumatism, supra, beschrieben ist. Diese Assays sind für anti-dsDNA-Antikörper spezifisch. Die Überstandproben enthalten die Plasmaproteine und die überwiegende Menge an IgG, das für dsDNA nicht spezifisch ist, die nicht an Erythrozyten binden. Diese Assays zeigen, dass die antidsDNA-Bindungsaktivität in den Überständen sowohl bei den meisten SLE-Plasma- als auch IgG-Fraktionen beträchtlich reduziert ist (in Tabelle 1 mehr als 90%). Das heißt, die IgG-anti-dsDNA-Antikörper werden in Gegenwart des AHP-Komplexes tatsächlich spezifisch an den Erythrozyten absorbiert.

Tabelle 1

Tabelle 1 Wirksamkeit einer Entfernung von anti-dsDNA-Antikörper-Bindungsaktivität aus SLE-Plasma durch Adsorption an Erythrozyten in Gegenwart eines spezifischen AHP. Analyse einer Bindung von ^{3}H-dsDNA im Farr-Assay

^{3}H-dsDNA (DPM) im Überstand
(Impulse von ungebundenem Material)

SLE-Plasma[a]	Verdünnung[b] untersucht im Farr-Assay	adsorbiert nur mit Erythrozyten	adsorbiert mit Erythrozyten + AHP	% adsorbiert[c]
Ma/2	5 25 100	58 270 NL IgG[d]: (1000)	710 950 970	95
Va/1	10 25 100	680 1040 1420 NL IgG[d]: (1800)	1400	90
Co/1	4 20 40	730 1280 1550 NL IgG[d]: (2600)	1250 1830 2300	80
Ha/2	5 20 80 320	30 90 270 390 NL IgG[d]: (1200)	120 360 630 680	85, 95
Ma/1	4 8 16 32	370 470 970 1700 NL IgG[d]: (3000)	1760	90[e]

a) Verdünnung von SLE-Plasma, inkubiert mit den Erythrozyten (± AHP).
b) Verdünnungen von nicht an Erythrozyten gebundenem Material, getestet im Farr-Assay.

c) Prozentualer Anteil des adsorbierten Materials, berechnet auf der Grundlage der relativen Verdünnung der "+ AHP"-probe, die notwendig ist, um denselben Bindungslevel wie bei der Probe, der AHP fehlt, zu erreichen. Wenn nichts anderes angegeben ist, wurde 7G9 zur Bildung des AHP verwendet.
d) In Farr-Assays werden IgG-Antikörper mit gesättigtem Ammoniumsulfat präzipitiert und dann wird dsDNA, die nicht an die anti-dsDNA-Antikörper gebunden ist, im Überstand (SN) gemessen. Der Hintergrundbindungslevel für normales IgG ist für jeden Assay angegeben. Es wurden eine Reihe von dsDNA-Präparationen mit unterschiedlichem Input und unterschiedlicher spezifischer Aktivität getestet.
e) Ein "Cocktail" des AEP, hergestellt mit 7G9 und 1 B4 wurde getestet. Wenn die zwei AHP jeweils getrennt untersucht wurden, wurde nur 70% der anti-dsDNA-Bindungsaktivität adsorbiert.

[0056] Die obigen Resultate beweisen, dass die Autoantikörper tatsächlich spezifisch und mit hohem prozentualen Anteil (> 90%) in Gegenwart des auf einem Antigen basierenden Heteropolymerkomplexes der vorliegenden Erfindung an Erythrozyten absorbiert werden.

BEISPIEL 7

Dosis-Antwort-Experimente

[0057] AHP1, AHP2 und AHP3 wurden wie folgt hergestellt. AHP3 wurde nach den in Beispiel 1 beschriebenen Arbeitsgängen unter Verwendung von 10 µl AHP3 pro 150 µl 50 % Erythrozyten hergestellt. AHP1 und AHP2 wurden entsprechend hergestellt, außer dass AHP2 1/2 so viel dsDNA wie AHP3 enthält, und AHP1 1/4 so viel dsDNA wie AHP3 enthält.
[0058] Es wurden Dosis-Antwort-Experimente durchgeführt, um den optimalen Input von AHP herauszufinden, um eine Bindung von humanen IgG-anti-dsDNA-Antikörpern an 150 µl an humanen Erythrozyten (50% Hämatocrit) in einer SLE-IgG-Probe zu maximieren.
[0059] Die AHP-vermittelte Bindung von IgG-anti-dsDNA-Antikörpern an humane Erythrozyten folgt einer glockenförmigen Kurve, wenn die Bindung als Funktion der Input-AHP-Konzentration untersucht wird (**Fig.** 6).
[0060] AHP3 wurde als Beispiel für AHP ausgewählt, da es die höchsten Bindungslevel von IgG-anti-dsDNA an Erythrozyten ermöglicht.
[0061] Diese Daten zeigen, dass der Input-Bereich von AHP auf der Basis der Erythrozytenkonzentration und der Zahl der CR1-Epitopstellen (erkannt durch monoklonale anti-CR1-Antikörper) pro Erythrozyt bestimmt wird. Es ist klar, dass, wenn AHP im Überschuss zugesetzt wird, eine Fraktion des AHP nicht an die Erythrozyten binden wird und statt dessen eine Aufnahme der Autoantikörper durch die Erythrozyten inhibieren wird. Der Grund ist, dass der freie AHP in Lösung einfach um verfügbare Autoantikörper mit AHP, der Erythrozyten-gebunden ist, konkurriert.

BEISPIEL 8

Dosis-Antwort-Experiment als Funktion der Autoantikörperkonzentration

[0062] Eine 50%ige Dispersion von humanen Erythrozyten wurde in Gemischen aus Rinderserumalbumin und IgG Mo untersucht. **Fig.** 7 zeigt die Resultate dieses Bindungsexperiments. Die Resultate geben an, dass es eine lineare Beziehung zwischen den Zählimpulsen von gebundenem Material (Level von gebundenem IgG) und dem Input-Level von SLE-IgG-anti-dsDNA-Antikörpern infolge einer AHP-vermittelten Bindung gibt. Die Daten wurden durch eine Analyse der kleinsten Quadrate so berechnet, dass sie eine Gerade liefern.

BEISPIEL 9

[0063] Es wurde ein ähnliches Experiment wie Experiment 8 durchgeführt, allerdings wurde in diesem Fall ein anti-dsDNA-Plasma mit sehr hohem Titer (Ma) untersucht. Als die Probe verwendet und verdünnt wurde, war klar, dass die endogene IgG-anti-dsDNA nicht vollständig durch die Erythrozyten gebunden wird. Daher zeigt das System in einigen Fällen Sättigung, denn die Konzentration an IgG-anti-dsDNA-Antikörpern im SLE-Plasma ist so hoch, dass unter Standardbedingungen selbst bei optimalem Input an AHP nicht alle IgGanti-dsDNA-Antikörper an Erythrozyten gebunden werden können (**Fig.** 8). Dies wird auch im Farr-Assay (unten) gezeigt, in dem festgestellt wurde, dass bei Plasma mit sehr hohem Titer eine wesentliche Fraktion der anti-dsDNA-Antikörper-Bindungsaktivität nicht an Erythrozyten gebunden wird (Tabelle 1). Glücklicherweise sind diese Fälle Ausnahmen. Für das meiste SLE-Plasma aus Patienten mit Lupusnephritis (und pathogenen Level an anti-dsDNA-Antikörpern), die untersucht wurden, entfernt das Verfahren mehr als 90% der anti-dsDNA-Antikörper.

BEISPIEL 10

Bindung als eine Funktion der Konzentration von IgG-anti-dsDNA-Antikörpern unter Verwendung eines AHP-"Cocktails"

[0064] Es wurden AHP-Kombinationen hergestellt, die monoklonale Antikörper enthalten, welche an unterschiedlichen Stellen am CR1 binden. Die monoklonalen Antikörper 7G9 und 1B4 binden an getrennten und nicht-konkurrierenden Stellen an der CR1-Stelle des Erythrozyten. Diese produzierten Cocktails enthalten ein Gemisch aus den zwei AHPs, die mit diesen jeweiligen monoklonalen Antikörpern hergestellt wurden. Die Resultate, wie sie in **Fig.** 9 gezeigt sind, zeigen, dass eine Verwendung eines "Cocktails" sogar noch eine größere Bindung von IgG-anti-dsDNA-Antikörpern an Erythrozyten liefert.
[0065] Wie oben ausgeführt wurde, ist Plasma Ma eines der SLE-IgG-anti-dsDNA-Plasmen mit den höchsten Titern, die untersucht wurden. Der einzelne AHP, entweder mit monoklonalem anti-CR1-Antikörper 7G9 oder 1B4 allein hergestellt, kann nicht alle antidsDNA-Antikörper im unverdünnten Plasma an Erythrozyten absorbieren. Wenn allerdings der "Cocktail" verwendet wird, legt die fortgesetzte Linearität bei der Bindung (selbst im unverdünnten Plasma) nahe, dass es möglich ist, mehr als 90% der IgG-anti-dsDNA in Plasma Ma an Erythrozyten zu absorbieren (**Fig.** 9). Dies wurde in dem Farr-Assay (siehe Tabelle 1) der Plasmaüberstände bestätigt, was anzeigt, dass mehr als 90% der antidsDNA-Antikörper-Bindungsaktivität im Plasma Ma entfernt wird, wenn es mit dem AHP"Cocktail" und humanen Erythrozyten behandelt wird.
[0066] AHP, der mit dem monoklonalen anti-CR1-Antikörper 1B4 hergestellt wurde, zeigte eine etwas bessere Bindung als der AHP, der mit monoklonalem Antikörper 7G9 hergestellt war. Allerdings wurde in beiden Fällen eine Sättigung beim höchsten Input von Ma gesehen. Als der Cocktail, der beide AHPs enthielt, verwendet wurde, wurde dagegen die Bindung beträchtlich verstärkt, was nahe legt, dass die gesamte IgG-anti-dsDNA an Erythrozyten gebunden werden kann (**Fig.** 9).

Patentansprüche

1. Auf einem Antigen-basierender Heteropolymer(AHP)-Komplex, der einen monoklonalen Antikörper, der für eine Bindung an eine Complement-Rezeptor(CR1)-Stelle an einem Primaten-Erythrocyten spezifisch ist, umfasst, wobei der monoklonale Antikörper mit einem Antigen, das für einen pathogenen Ziel-Antikörper oder -Autoantikörper spezifisch ist, vernetzt ist.

2. AHP nach Anspruch 1, wobei der monoklonale Antikörper durch das Hybridom produziert wird, das bei der ATCC hinterlegt ist und dem die Hinterlegungsnummer HB8592 zugeordnet ist.

3. AHP nach Anspruch 1, wobei der Ziel-Antikörper oder -Autoantikörper aus der Gruppe, bestehend aus Antikörpern oder Autoantikörpern auf die folgenden Antigene, ausgewählt ist: Faktor VIII, Muskel-Acetylcholinrezeptor, Cardiolipin, Blutplättchenassozüerte Proteine, Antigene, die mit Sjogren-Syndrom assoziiert sind, doppelsträngige Desoxyribonukleinsäure (dsDNA) und einzelsträngige DNA (ssDNA).

4. AHP nach Anspruch 1, wobei das Antigen aus der Gruppe, bestehend aus Faktor VIII, Muskel-Acetylcholin-Rezeptor, Cardiolipin, Blutplättchen-assoziierten Proteinen, Antigenen, die mit Sjogren-Syndrom assoziiert sind, doppelsträngiger Desoxyribonukleinsäure (dsDNA) und einzelsträngiger DNA (dsDNA), ausgewählt ist.

5. AHP nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei der AHP an einen humanen oder nichthumanen Primaten-Erythrocyten gebunden (franked) ist.

6. AHP-Cocktail, umfassend mindestens zwei AHPs nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei jeder AHP einen mono-klonalen Antikörper, der für eine Bindung an mindestens zwei getrennte und nichtüberlappende Stellen an Complement-Rezeptor (CR1) an einem Primaten-Erythrocyten spezifisch ist, umfasst, wobei der monoklonale Antikörper mit einem Antigen, das für einen pathogenen Ziel-Antikörper oder -Autoantikörper spezifisch ist, vernetzt ist.

7. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet,
dass sie einen AHP oder einen AHP-Cocktail nach einem der Ansprüche 1 bis 6 umfasst.

8. Verwendung einer Zusammensetzung, die den AHP oder den AHP-Cocktail nach einem der Ansprüche 1 bis 6 umfasst, zur Herstellung eines Medikaments für die Behandlung einer Autoimmunkrankheit.

Es folgen 9 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

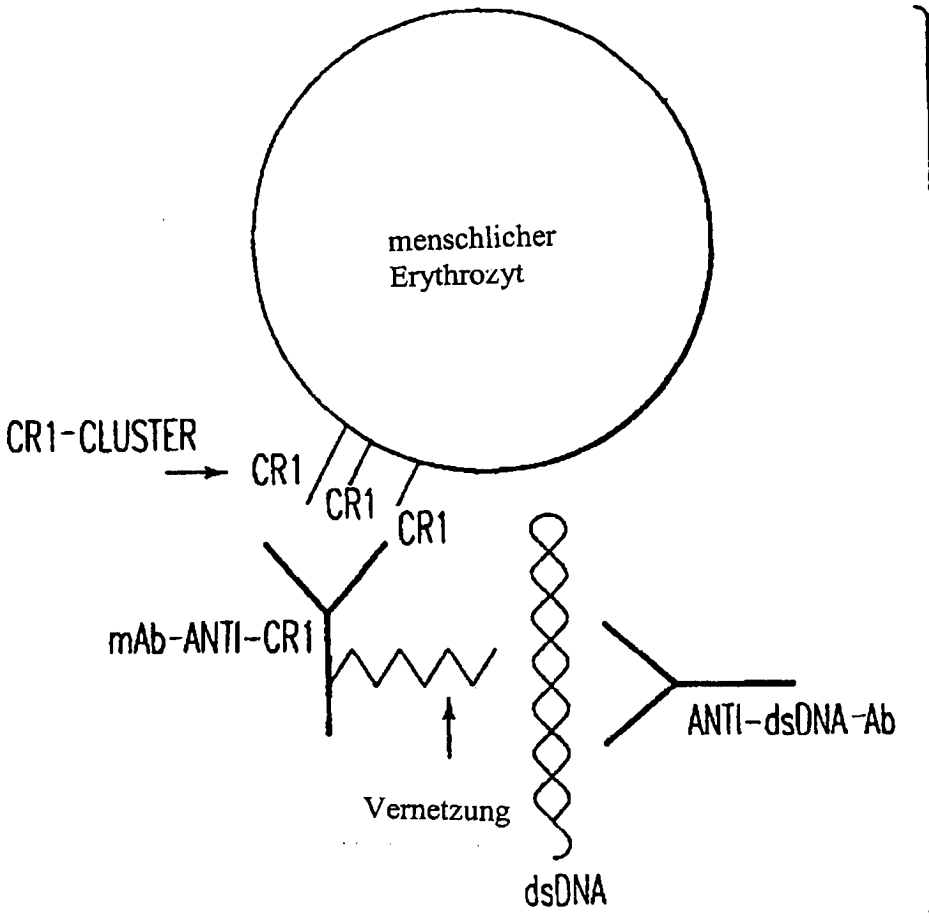
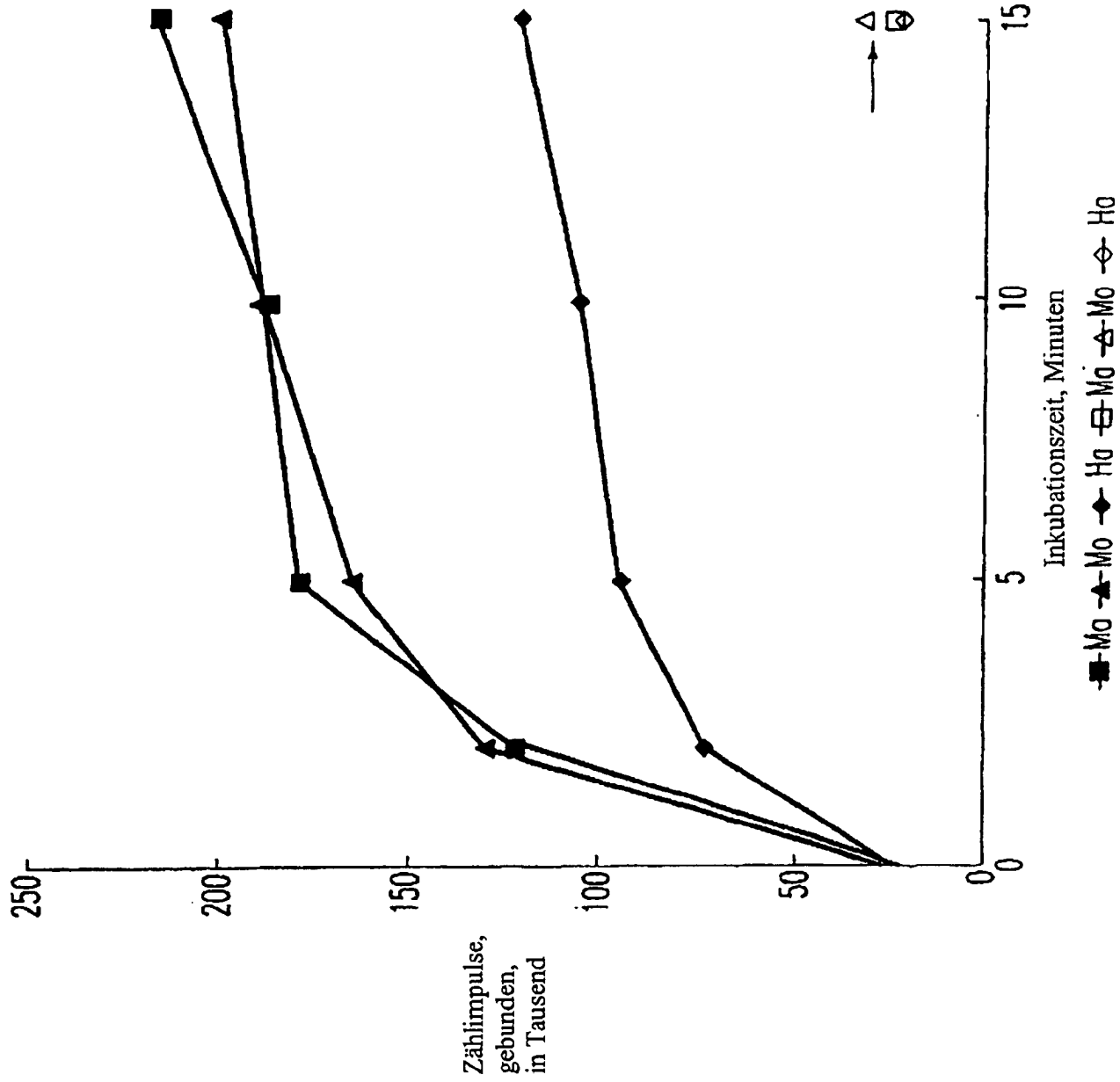


FIG. 1

FIG. 2


250
200
150
100
50
0
0
5
10
15
Zählimpulse, gebunden, in Tausend
Inkubationszeit, Minuten
Mo
Mo
Ho
Mo
Mo
Ho

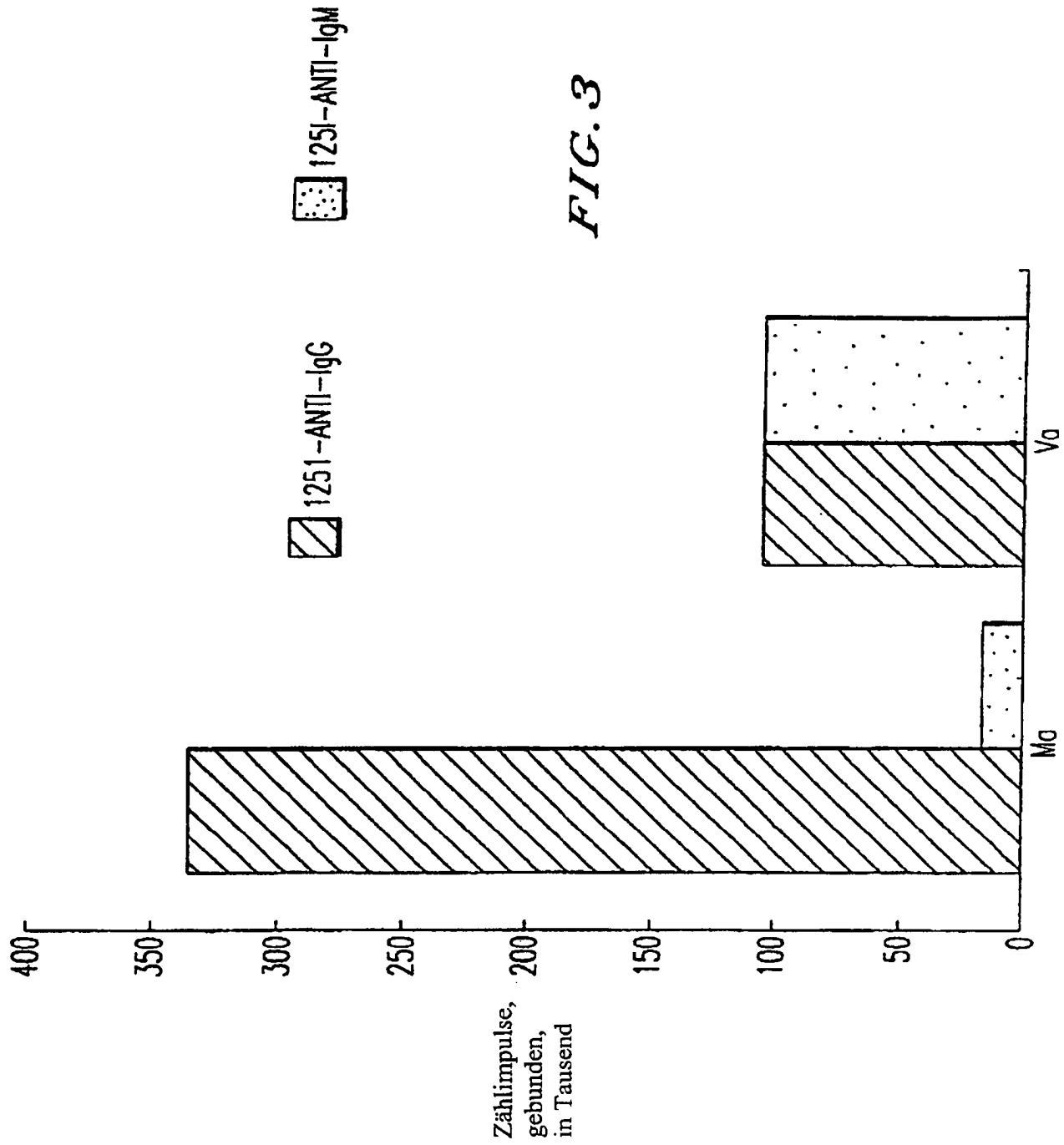
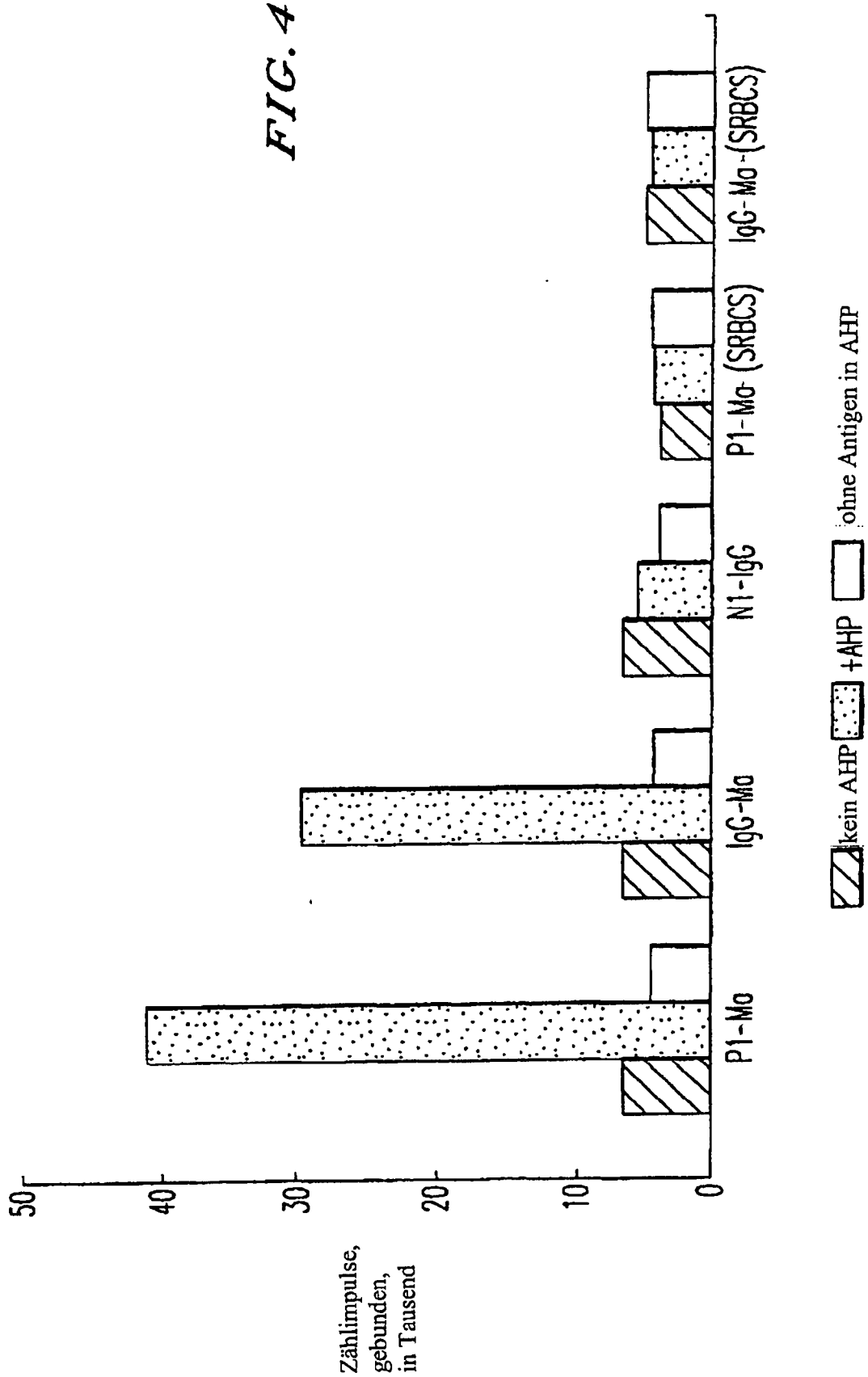

125I-ANTI-IgM
125I-ANTI-IgG
Zählimpulse, gebunden, in Tausend
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Mg
Va

FIG. 3

FIG. 4


Zählimpulse, gebunden, in Tausend
0
10
20
30
40
50
P1-Mo
IgG-Mo
N1-IgG
P1-Mo (SRBCS)
IgG-Mo-(SRBCS)
kein AHP
+AHP
ohne Antigen in AHP

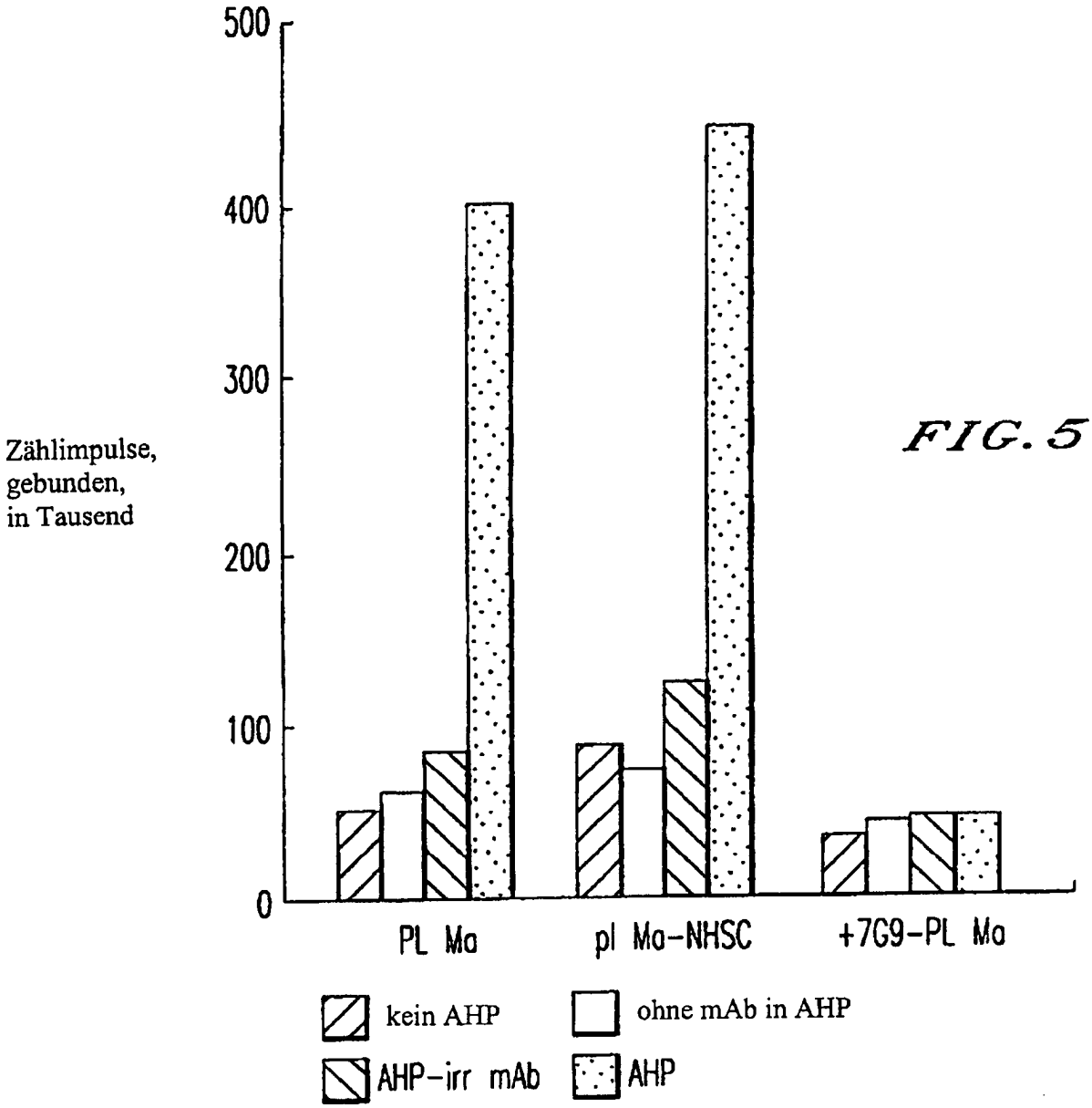

Zählimpulse,
gebunden,
in Tausend
500
400
300
200
100
0
PL Mo
pl Mo-NHSC
+7G9-PL Mo
kein AHP
ohne mAb in AHP
AHP-irr mAb
AHP

FIG. 5

FIG. 6

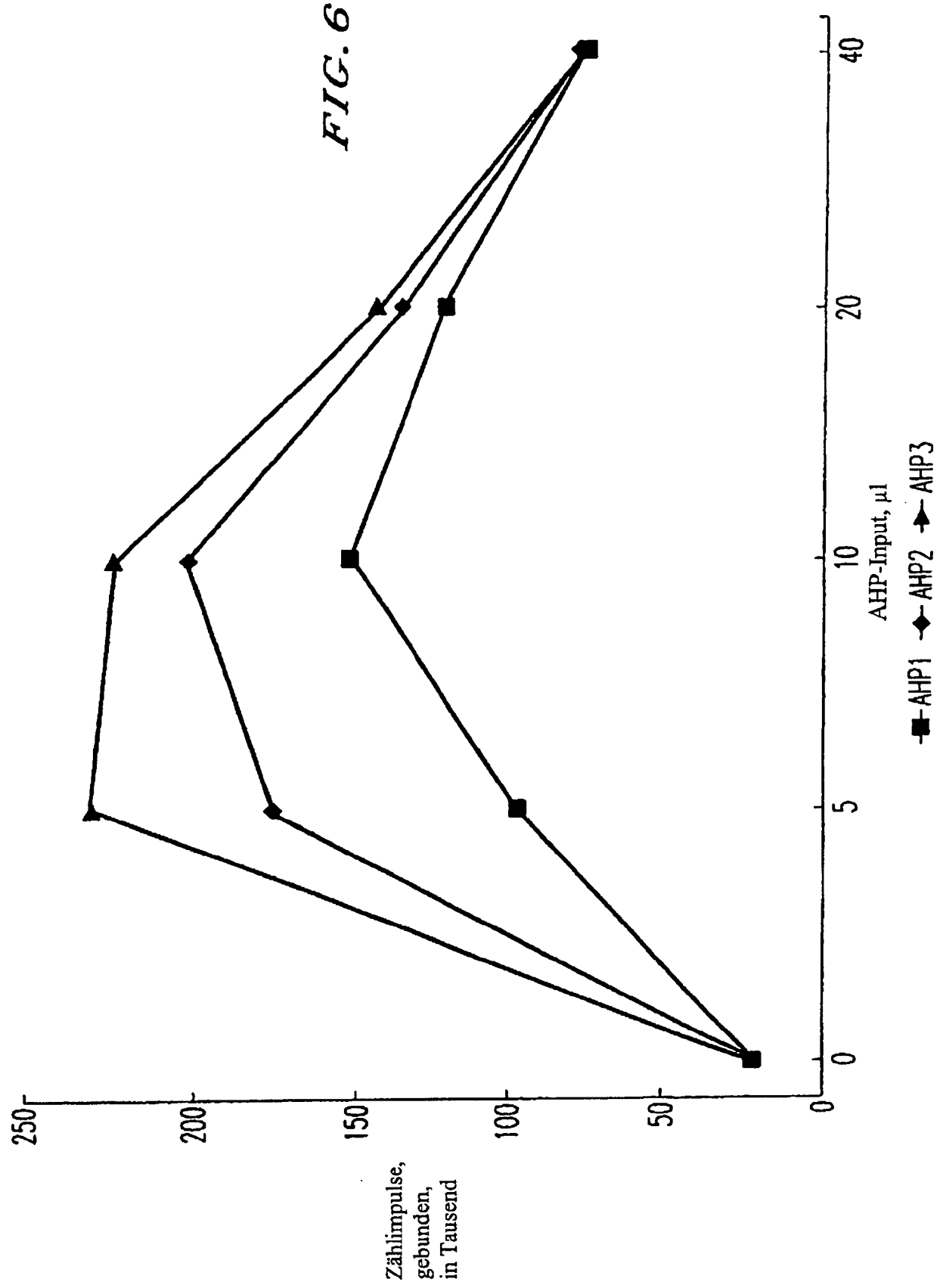
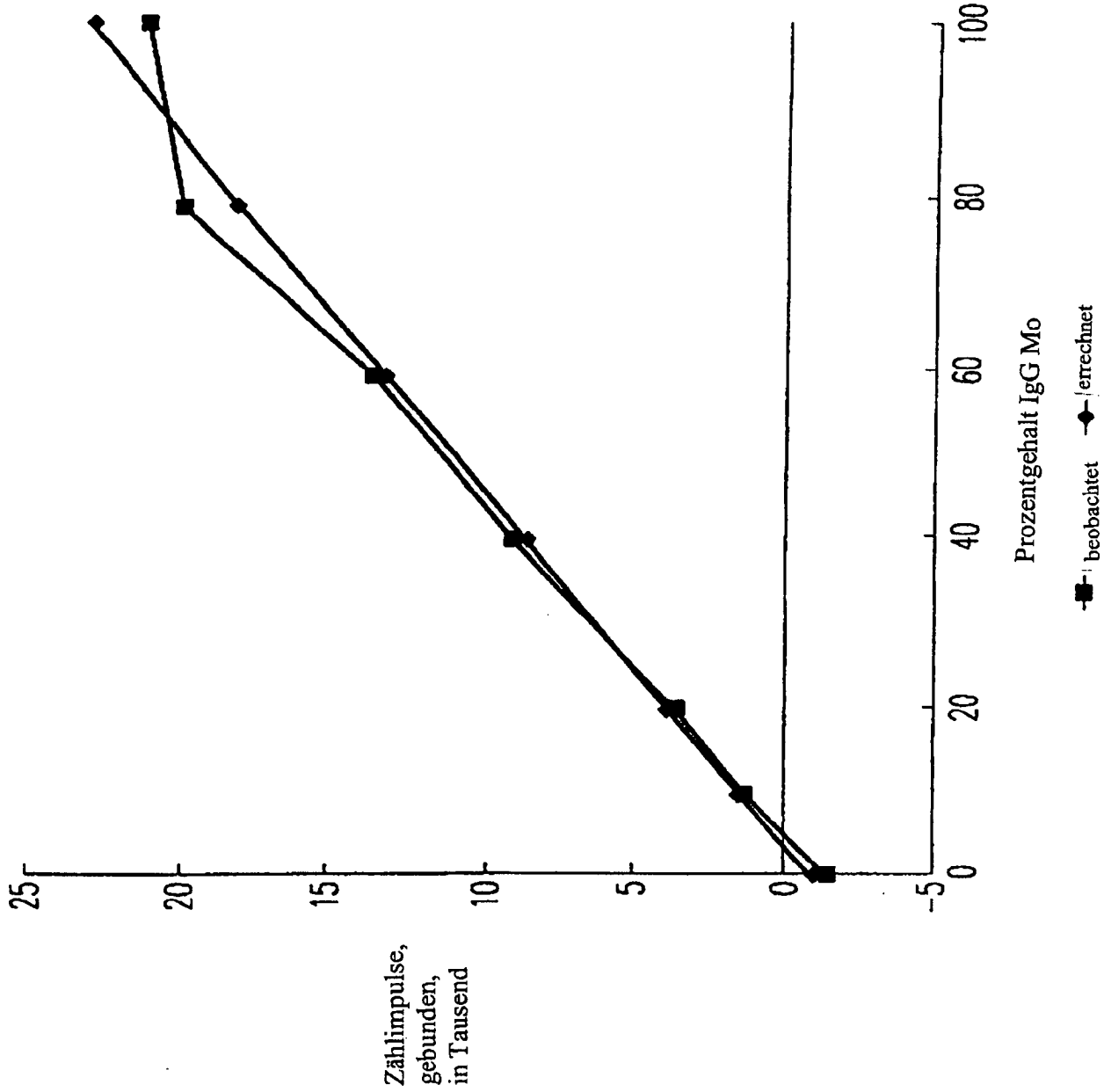

250
200
150
100
50
0
Zählimpulse, gebunden, in Tausend
0
5
10
20
40
AHP-Input, µl
AHP1
AHP2
AHP3

FIG. 7


25
20
15
10
5
0
-5
0
20
40
60
80
100
Zählimpulse, gebunden, in Tausend
Prozentgehalt IgG Mo
beobachtet
errechnet

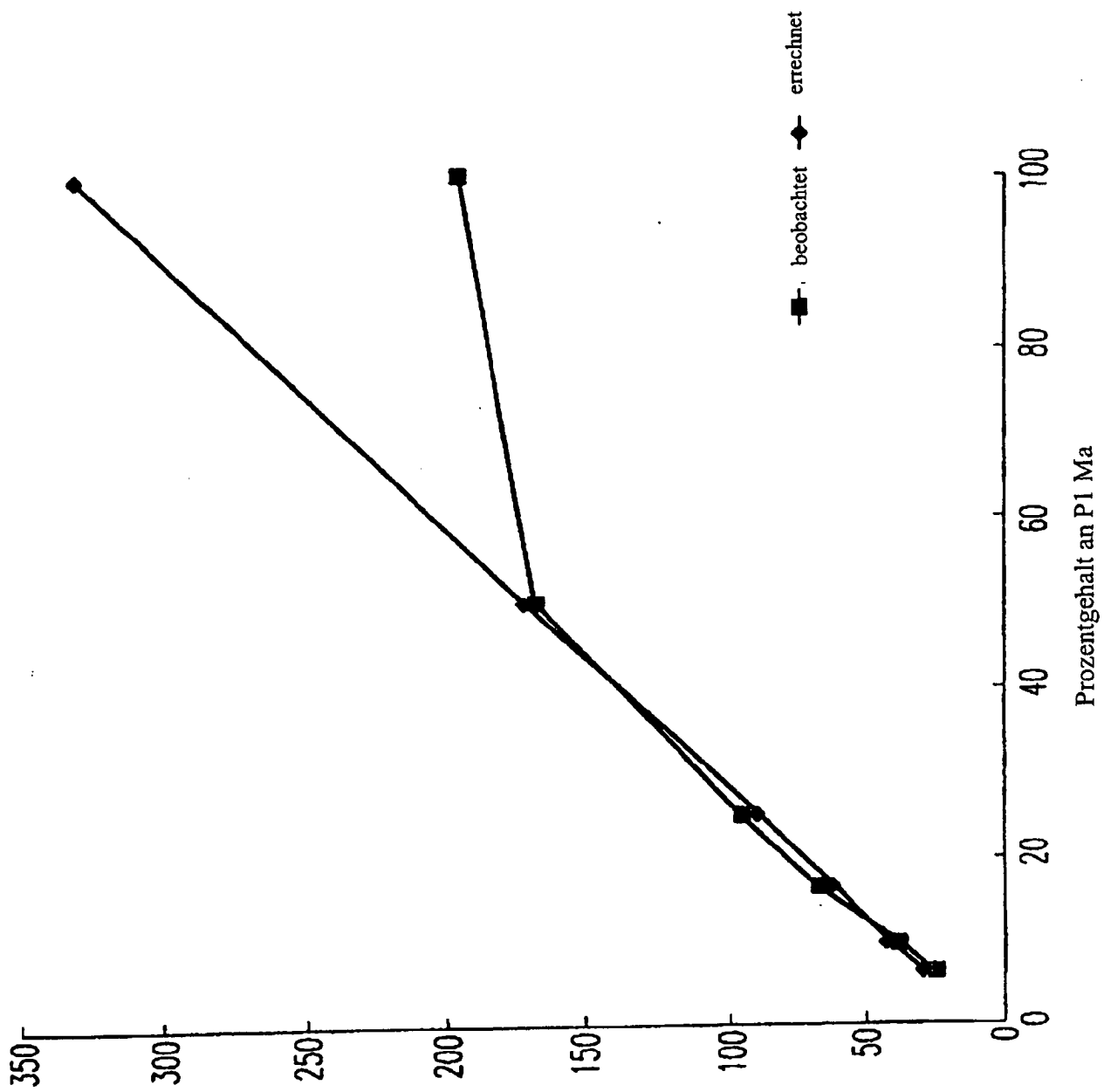

beobachtet
errechnet
Zählimpulse, gebunden, in Tausend
Prozentgehalt an P1 Ma
0
50
100
150
200
250
300
350
0
20
40
60
80
100

FIG. 8

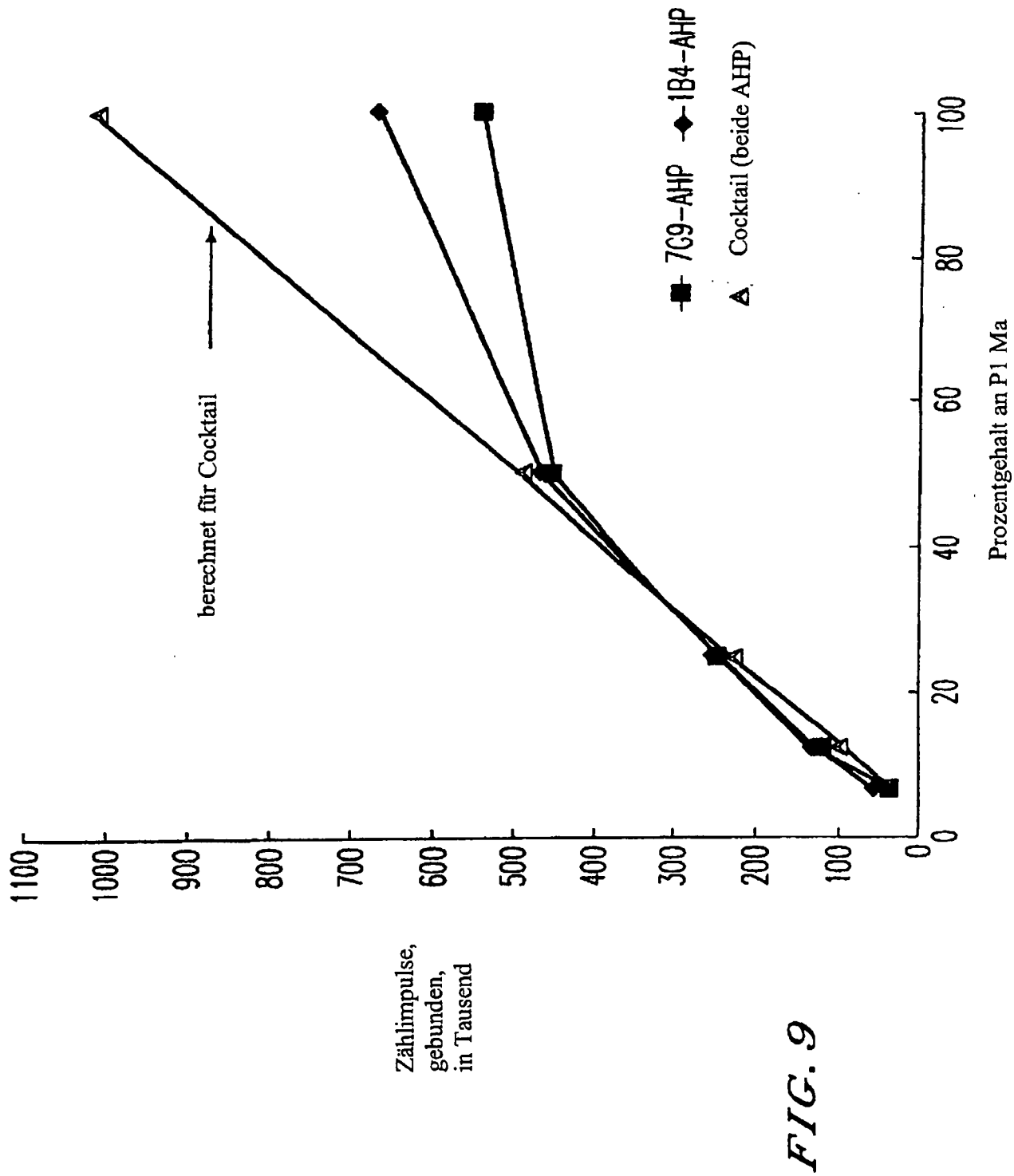

1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
20
40
60
80
100
Zählimpulse, gebunden, in Tausend
Prozentgehalt an P1 Ma
berechnet für Cocktail
709-AHP
1B4-AHP
Cocktail (beide AHP)

FIG. 9