(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2007-537197
(P2007-537197A)
(43)公表日　平成19年12月20日(2007.12.20)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 45/00	(2006.01)	A61K	45/00	ZNA	4B024
G01N 33/53	(2006.01)	G01N	33/53	M	4B063
G01N 33/574	(2006.01)	G01N	33/574	A	4B064
A61K 48/00	(2006.01)	A61K	48/00		4C076
A61K 31/7088	(2006.01)	A61K	31/7088		4C084

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 109 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2007-512091 (P2007-512091)
(86)(22)出願日　平成17年5月11日 (2005.5.11)
(85)翻訳文提出日　平成19年1月10日 (2007.1.10)
(86)国際出願番号　PCT/EP2005/005104
(87)国際公開番号　WO2005/110338
(87)国際公開日　平成17年11月24日 (2005.11.24)
(31)優先権主張番号　102004023187.7
(32)優先日　平成16年5月11日 (2004.5.11)
(33)優先権主張国　ドイツ(DE)

(71)出願人　505186821
ガニュメート・ファーマシューティカルズ・アクチェンゲゼルシャフト
GANYMED PHARMACEUTICALS AG
ドイツ連邦共和国デー－５５１３１マインツ、フライリグラートシュトラーセ１２番
(74)代理人　100088904
弁理士　庄司　隆
(74)代理人　100124453
弁理士　資延　由利子
(74)代理人　100135208
弁理士　大杉　卓也

最終頁に続く

(54)【発明の名称】腫瘍の診断と治療を目的とした表面会合抗原の同定

(57)【要約】
本発明は、腫瘍に関連する発現の結果、および同じものをコード化する核酸である遺伝子産物の同定に関する。本発明は、さらにこれらの遺伝子産物が異常な腫瘍に関連する発現の結果であることを特徴とする疾病の治療および診断に関する。本発明は、さらに腫瘍に関連する表現の結果であるタンパク質、ポリペプチドおよびペプチド、および同じものをコード化する核酸に関する。
【選択図】　なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
腫瘍会合抗原の発現または活性を阻害する作用物質を有する医薬品組成物であって、該腫瘍会合抗原が、
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくは誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、および
（ｄ）（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸によってコードされた配列を有する医薬品組成物。
【請求項２】
腫瘍会合抗原を発現しているかまたは異常に発現している細胞に選択的な腫瘍阻害活性を有する作用物質を含む医薬品組成物であって、該腫瘍会合抗原が、
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２，その一部もしくは誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、および
（ｄ）（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸によってコードされた配列を有する医薬品組成物。
【請求項３】
前記作用物質が細胞死、細胞成長の減退、細胞膜に対する損傷またはサイトカインの分泌を誘導する請求項２記載の医薬品組成物。
【請求項４】
前記作用物質が前記腫瘍会合抗原をコードしている前記核酸と選択的にハイブリダイズするアンチセンス核酸請求項１または２記載の医薬品組成物。
【請求項５】
前記作用物質が前記腫瘍会合抗原に選択的に結合する抗原である請求項１または２記載の医薬品組成物。
【請求項６】
前記作用物質が前記腫瘍会合抗原に選択的に結合する補体活性化抗体である請求項２記載の医薬品組成物。
【請求項７】
投与すると、ＨＬＡ分子と腫瘍会合抗原またはその一部との間の複合体の量を選択的に増加させる作用物質を含む医薬品組成物であって、前記腫瘍会合抗原が、
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくは誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、および
（ｄ）（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸によってコードされた配列を有する医薬品組成物。
【請求項８】
前記作用物質が、
（ｉ）前記腫瘍会合抗原またはその一部、
（ｉｉ）前記腫瘍会合抗原またはその一部をコードする核酸、

（ｉｉｉ）前記腫瘍会合抗原またはその一部を発現する宿主細胞、および、
（ｉｖ）前記腫瘍会合抗原またはその一部とＨＬＡ分子との間の単離複合体、
からなる群から選択された一つ以上の成分を有する請求項７記載の医薬品組成物。
【請求項９】
各事例で各種腫瘍会合抗原の発現または活性を選択的に阻害し、各事例で、各種腫瘍会合抗原を発現している細胞に対し選択的であるか、あるいはＨＬＡ分子と各種腫瘍会合抗原またはその一部との間の複合体の量を増加させる２つ以上の作用物質を前記作用物質が有し、前記腫瘍会合抗原の少なくともひとつが、
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくは誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、および
（ｄ）（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸によってコードされた配列を有する請求項１、２または７記載の医薬品組成物。
【請求項１０】
（ｉ）腫瘍会合抗原またはその一部、
（ｉｉ）腫瘍会合抗原またはその一部をコードする核酸、
（ｉｉｉ）腫瘍会合抗原またはその一部に結合する抗体、
（ｉｖ）腫瘍会合抗原をコードしている核酸と特異的にハイブリダイズするアンチセンス核酸、
（ｖ）腫瘍会合抗原またはその一部を発現する宿主細胞、および
（ｖｉ）腫瘍会合抗原またはその一部とＨＬＡ分子との間の単離複合体であって該腫瘍会合抗原が、
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくは誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、および
（ｄ）（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸によってコードされた配列を有する単離孤立複合体からなる群から選択された一つ以上の成分を有する医薬品組成物。
【請求項１１】
（ｉｉ）の前記核酸が発現ベクターに存在している請求項８または１０記載の医薬品組成物。
【請求項１２】
（ｉｉ）の前記核酸がプロモータに機能的に連携している請求項８または１０記載の医薬品組成物。
【請求項１３】
前記宿主細胞が前記腫瘍会合抗原もしくは前記その一部を分泌する請求項８または１０記載の医薬品組成物。
【請求項１４】
前記宿主細胞が前記腫瘍会合抗原もしくは前記その一部に結合するＨＬＡ分子をさらに発現する請求項８または１０記載の医薬品組成物。
【請求項１５】
前記宿主細胞が、前記ＨＬＡ分子および／または前記腫瘍会合抗原もしくは前記その一部を組換え工法により発現する請求項１４記載の医薬品組成物。

【請求項１６】
前記宿主細胞が、前記ＨＬＡ分子を内生的に発現する請求項１４記載の医薬品組成物。
【請求項１７】
前記宿主細胞が、抗原提示細胞である請求項８、１０、１４または１６記載の医薬品組成物。
【請求項１８】
前記抗原提示細胞が、樹状細胞またはマクロファージである請求項１７記載の医薬品組成物。
【請求項１９】
前記宿主細胞が非増殖性である請求項８、１０および１３〜１８のいずれかに記載の医薬品組成物。
【請求項２０】
前記抗体がモノクロナル抗体である請求項５または１０記載の医薬品組成物。
【請求項２１】
前記抗体が、キメラ抗体もしくはヒト化抗体である請求項５または１０記載の医薬品組成物。
【請求項２２】
前記抗体が、天然抗体のフラグメントである請求項５または１０記載の医薬品組成物。
【請求項２３】
前記抗体が、治療用作用物質もしくは診断用作用物質に結合する請求項５または１０記載の医薬品組成物。
【請求項２４】
前記アンチセンス核酸が、前記腫瘍会合抗原をコードする核酸の６〜５０の連続的ヌクレオチドからなる配列を有する請求項４または１０記載の医薬品組成物。
【請求項２５】
該医薬品組成物によって提供される前記腫瘍会合抗原または前記その一部が、異常な量の該腫瘍会合抗原またはその一部を発現する細胞の表面上でＭＨＣ分子と結合する請求項８および１０－１３のいずれかに記載の医薬品組成物。
【請求項２６】
前記結合により、細胞溶解性反応が生じる、および／またはサイトカイン放出を誘発する請求項２５記載の医薬品組成物。
【請求項２７】
製剤上受入れ可能な担体および／またはアジュバントをさらに有する請求項１〜２６のいずれかに記載の医薬品組成物。
【請求項２８】
前記アジュバントがサポニン、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣｐＧ、サイトカインまたはケモカインである請求項２７記載の医薬品組成物。
【請求項２９】
腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって疾患の治療に使用可能な、請求項１〜２８のいずれかに記載の医薬品組成物。
【請求項３０】
前記疾患ががんである請求項２９記載の医薬品組成物。
【請求項３１】
前記疾患が肺腫瘍、乳房腫瘍、前立腺腫瘍、メラノーマ、大腸腫瘍、大腸腫瘍の転移、腎細胞がん、子宮頚がん、大腸がんまたは乳がんである請求項２９記載の医薬品組成物。
【請求項３２】
前記腫瘍会合抗原が、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、６１〜６８、７０、７２、７４、７６、８１、８２、８６、８８、９６〜１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１、１１３，その一部または誘導体からなる群から選択されたアミノ酸配列を有する、請求項１〜

３１のいずれかに記載の医薬品組成物。
【請求項３３】
腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長付けられる疾患を診断するための方法であって、
（ｉ）前記腫瘍会合抗原もしくはその一部をコードする核酸の検出、および／あるいは
（ｉｉ）前記腫瘍会合抗原もしくはその一部の検出、および／あるいは
（ｉｉｉ）前記腫瘍会合抗原もしくはその一部に対する抗体の検出および／あるいは
（ｉｖ）患者から孤立させた生体標本における前記腫瘍会合抗原もしくはその一部に特異的である細胞毒性リンパ球またはＴヘルパーリンパ球の検出であって、前記腫瘍会合抗原が、
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくは誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、および
（ｄ）（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸によってコードされた配列を有する、方法。
【請求項３４】
前記検出プロセスが、
（ｉ）前記腫瘍会合抗原をコードする核酸もしくはその一部、前記腫瘍会合抗原もしくは前記その一部、前記抗体または細胞毒性リンパ球もしくはＴヘルパーリンパ球に特異的に結合する作用物質と生体標本を接触させるプロセスと、
（ｉｉ）前記作用物質と前記核酸もしくは前記その一部、前記腫瘍会合抗原もしくは前記その一部、前記抗体または前記細胞毒性リンパ球もしくはＴヘルパーリンパ球との間の複合体の形成を検出するプロセスとを有している、請求項３３記載の方法。
【請求項３５】
前記検出プロセスが、比較可能な正常生体標本における検出と比較される請求項３３または３４記載の方法。
【請求項３６】
前記疾患が二種類以上の腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長付けられ、検出プロセスが、該二種類以上の腫瘍会合抗原もしくはその一部をコードする二つ以上の核酸の検出プロセス、該二種類以上の腫瘍会合抗原もしくはその一部の検出プロセス、該二種類以上の腫瘍会合抗原もしくはその一部に結合している二つ以上の抗体の検出プロセス、または該二種類以上の腫瘍会合抗原に特異的な二種類以上の細胞毒性リンパ球もしくはＴヘルパーリンパ球の検出プロセスからなる、請求項３３～３５のいずれかに記載の方法。
【請求項３７】
前記核酸または前記その一部が、該核酸または該その一部に特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドプローブを用いて検出される、請求項３３～３６のいずれかに記載の方法。
【請求項３８】
前記腫瘍会合抗原をコードしている前記核酸の６～５０の連続的ヌクレオチドからなる配列を前記ポリヌクレオチドプローブが有している、請求項３７記載の方法。
【請求項３９】
前記核酸または前記その一部が、該核酸または該その一部を選択的に増幅することによって検出される、請求項３３－３６のいずれかに記載の方法。
【請求項４０】
前記検出の対象となる腫瘍会合抗原または前記その一部がＭＨＣ分子との複合体内にある、請求項３３～３６のいずれかに記載の方法。

【請求項４１】
前記ＭＨＣ分子がＨＬＡ分子である請求項４０記載の方法。
【請求項４２】
前記腫瘍会合抗原または前記その一部が、該腫瘍会合抗原または該その一部に特異的に結合している抗体を使用して検出される、請求項３３～３６および４０～４１のいずれかに記載の方法。
【請求項４３】
前記抗体が、該抗体に特異的に結合しているタンパクまたはペプチドを使用して検出される、請求項３３－３６のいずれかに記載の方法。
【請求項４４】
腫瘍会合抗原の発現もしくは異常な発現によって特長付けられる疾患の再発、進行または兆候を判定するための方法であって、該疾患に罹っている患者または該疾患を罹っていることが疑われる患者から得た標本を監視するプロセスを有しており、
（ｉ）前記腫瘍会合抗原またはその一部をコードする核酸の量、
（ｉｉ）前記腫瘍会合抗原またはその一部の量、
（ｉｉｉ）前記腫瘍会合抗原またはその一部に結合する抗体の量、および
（ｉｖ）前記腫瘍会合抗原もしくはその一部とＭＨＣ分子との間の複合体に特異的である細胞溶解性またはサイトカイン放出Ｔ細胞の量であって、該腫瘍会合抗原は、
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくは誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、および
（ｄ）（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸によってコードされた配列を有することを特長とするその量、からなる群から選択された一つ以上のパラメータに関して判定するための方法。
【請求項４５】
適時に、第一のポイントで第一の標本におけるパラメータ（複数もあり）、第二のポイントでさらに別の標本でのパラメータを判定するプロセスを有し、二個の標本間で比較を行うことによって疾患の進行状態を判定する、請求項４４記載の方法。
【請求項４６】
前記疾患が、二種類以上の腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長付けられ、観察プロセスが、
（ｉ）該２種類以上の腫瘍会合抗原またはその一部をコードする２種類以上の複数の核酸の量、
（ｉｉ）前記２種類以上の腫瘍会合抗原またはその一部の量、
（ｉｉｉ）該２種類以上の腫瘍会合抗原またはその一部に結合している２つ以上の抗体の量および／または
（ｉｖ）該２種類以上の腫瘍会合抗原もしくはその一部とＭＨＣ分子との間の複合体に特異的である、２つ以上の細胞溶解性またはサイトカイン放出Ｔ細胞の量
を観察するプロセスからなる、請求項４４または４５記載の方法。
【請求項４７】
前記核酸またはその一部の量が、該核酸または該その一部に特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドプローブを使用して監察される、請求項４４～４６のいずれかに記載の方法。
【請求項４８】
前記ポリヌクレオチドプローブが、前記腫瘍会合抗原をコードしている前記核酸の６～５０の連続的ヌクレオチド配列を有している、請求項４７記載の方法。
【請求項４９】

前記核酸またはその一部の前記量が、該核酸またはその一部を選択的に増幅することによって観察される、請求項４４～４６のいずれかに記載の方法。
【請求項５０】
前記腫瘍会合抗原またはその一部の前記量が、該腫瘍会合抗原またはその一部に特異的に結合している抗体を使用して観察される、請求項４４～４６のいずれかに記載の方法。
【請求項５１】
抗体の量が、前記抗体に特異的に結合しているタンパクまたはペプチドを使用して観察される、請求項４４～４６のいずれかに記載の方法。
【請求項５２】
細胞溶解性またはサイトカイン放出Ｔ細胞の量が、前記腫瘍会合抗原もしくはその一部とＭＨＣ分子との間の複合体を提示している細胞を使用して観察される、請求項４４～４６のいずれかに記載の方法。
【請求項５３】
前記ポリヌクレオチドプローブ、前記抗体、前記タンパクもしくはペプチド、または前記細胞に、検出可能な方法でラベル標識する、請求項３７～３８、４２～４３、４７～４８および５０～５２のいずれかに記載の方法。
【請求項５４】
前記検出可能なマーカが放射性マーカまたは酵素マーカである請求項５３記載の方法。
【請求項５５】
前記標本が体液および／または体組織を含んでいる請求項３３～５４のいずれかに記載の方法。
【請求項５６】
請求項１～３２のいずれかに記載の医薬品組成物を投与するプロセスを含み、
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくは誘導体からなる群から選択された核酸配列を含む核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で、前記（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）前記（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性した核酸、および
（ｄ）前記（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸によってコードされている配列を有する腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長付けられる疾患を治療するための方法。
【請求項５７】
腫瘍会合抗原の発現もしくは異常な発現によって特長付けられる疾患を治療、診断または観察するための方法であって、
（ａ）ＳＥＱＩＤＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくは誘導体からなる群から選択された核酸配列を含む核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で、前記（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）前記（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性した核酸、および
（ｄ）前記（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸によってコードされている配列を有する腫瘍会合抗原もしくはその一部に結合しており、治療用作用物質または診断用作用物質と共役する抗体を投与するプロセスを含む、方法。
【請求項５８】
前記抗体がモノクローナル抗体である請求項４２、５０または５７記載の方法。
【請求項５９】
前記抗体が、キメラ抗体もしくはヒト化抗体である請求項４２、５０または５７記載の方法。

【請求項６０】
前記抗体が、天然抗体のフラグメントである請求項４２、５０または５７記載の方法。
【請求項６１】
腫瘍会合抗原が発現または異常に発現していることによって特長付けられる疾患のある患者を治療するための方法であって、
（ｉ）患者から免疫反応細胞を含む標本を切除するプロセスと、
（ｉｉ）該腫瘍会合抗原またその一部に対する細胞毒性またはサイトカイン放出Ｔ細胞の産生を促進する条件下で、該腫瘍会合抗原もしくはその一部を発現する宿主細胞と該標本を接触させるプロセスと、
（ｉｉｉ）
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部または誘導体からなる群から選択された核酸配列を含む核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で、前記（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）前記（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性した核酸、および
（ｄ）前記（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸によってコードされている配列を有する前記腫瘍会合抗原もしくはその一部を発現している細胞を溶解するのに好適な量で、前記患者に前記細胞溶解性またはサイトカイン放出Ｔ細胞を導入するプロセスと、からなる方法。
【請求項６２】
前記宿主細胞が、前記腫瘍会合抗原またはその一部に結合しているＨＬＡ分子を組替えにより発現している請求項６１記載の方法。
【請求項６３】
前記宿主細胞が、前記腫瘍会合抗原またはその一部に結合しているＨＬＡ分子を内生的に発現している請求項６２記載の方法。
【請求項６４】
腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長付けられる疾患のある患者を治療するための方法であって、
（ｉ）該疾患と関連のある細胞によって発現しており
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくは誘導体からなる群から選択された核酸配列を含む核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で、前記（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）前記（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性した核酸、および
（ｄ）前記（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸を特定するプロセスと、
（ｉｉ）該核酸またはその一部で宿主細胞をトランスフェクトするプロセスと、
（ｉｉｉ）該核酸を発現させるため、トランスフェクトされた宿主細胞を培養するプロセスと、
（ｉｖ）前記疾患に関連する前記患者の細胞に対する免疫反応を増大させるのに好適な量で、前記患者に前記宿主細胞またはその抽出物質を導入するプロセスと、
からなる方法。
【請求項６５】
前記腫瘍会合抗原またはその一部を提示しているＭＨＣ分子を特定するプロセスをさらに含み、前記特定されたＭＨＣ分子を発現し前記腫瘍会合抗原またはその一部を提示する前記宿主細胞を使用する、請求項６４記載の方法。
【請求項６６】
免疫反応に、Ｂ細胞反応もしくはＴ細胞反応が含まれる請求項６４または６５記載の方法

。
【請求項６７】
前記免疫反応が、前記腫瘍会合抗原もしくはその一部を提示する宿主細胞に特異的か、または前記腫瘍会合抗原もしくはその一部を発現する前記患者の細胞に特異的である、細胞溶解性またはサイトカイン放出Ｔ細胞の産生プロセスを含むＴ細胞反応である、請求項６６記載の方法。
【請求項６８】
前記宿主細胞が非増殖性である請求項６１～６７のいずれかに記載の方法。
【請求項６９】
腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長付けられる疾患を治療するための方法であって、
（ｉ）異常な量の腫瘍会合抗原を発現している細胞を患者から特定するプロセスと、
（ｉｉ）該細胞の標本を単離させるプロセスと、
（ｉｉｉ）該細胞を培養するプロセスと、
（ｉｖ）前記細胞を
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくは誘導体からなる群から選択された核酸配列を含む核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で、前記（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）前記（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性した核酸、および
（ｄ）前記（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択された核酸にコードされた配列を持つ前記腫瘍会合抗原、への免疫反応をトリガーするために好適な量で、患者に前記細胞を導入するプロセスと、を含む方法。
【請求項７０】
前記疾患ががんである請求項３３～６９のいずれかに記載の方法。
【請求項７１】
請求項１～３２のいずれかに記載の、効果的量の医薬品組成物を投与するプロセスを含む、患者におけるがん発症を抑止する方法。
【請求項７２】
前記腫瘍会合抗原が、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、６１～６８、７０、７２、７４、７６、８１、８２、８６、８８、９６～１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１、１１３、その一部またはその誘導体からなる群から選択されたアミノ酸配列を含む、請求項３３～７１のいずれかに記載の方法。
【請求項７３】
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６９、７１、７３、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部またはその誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で、前記（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）（ａ）または（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、および
（ｄ）前記（ａ）、（ｂ）または（ｃ）の核酸に相補的な核酸
からなる群から選択された核酸。
【請求項７４】
ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６１～６８、７０、７２、７４、８１、８２、８６、８８、９６～１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１、１１３、その一部もしくはその誘導体からなる群から選択されたアミノ酸配列を有するタンパクまたはポリペプチドをコードする核酸。
【請求項７５】

請求項７３、７４、８５もしくは８７に記載の核酸を有する、組替えＤＮＡまたはＲＮＡ分子。
【請求項７６】
ベクターである、請求項７５記載の組替えＤＮＡ分子。
【請求項７７】
前記ベクターが、ウイルスベクターまたはバクテリオファージである、請求項７６記載の組替えＤＮＡ分子。
【請求項７８】
前記核酸の発現を制御する発現制御配列をさらに有する、請求項７５～７７のいずれかに記載の組換えＤＮＡ分子。
【請求項７９】
前記発現制御配列が、前記核酸と同種または異種である請求項７８記載の組換えＤＮＡ分子。
【請求項８０】
請求項７３もしくは７４記載の核酸、または請求項７５～７９のいずれかに記載の組換えＤＮＡ分子を含む宿主細胞。
【請求項８１】
ＨＬＡ分子をコードしている核酸をさらに含む請求項８０記載の宿主細胞。
【請求項８２】
請求項７３記載の核酸によってコードされているタンパクまたはポリペプチド。
【請求項８３】
ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６１～６８、７０、７２、７４、８１、８２、８６、８８、９６～１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１、１１３、その一部もしくはその誘導体からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むタンパクまたはポリペプチド。
【請求項８４】
請求項８２もしくは８３記載の前記タンパクまたはポリペプチドの免疫原フラグメント。
【請求項８５】
ヒトＨＬＡ受容体もしくはヒト抗体に結合する、請求項８２もしくは８３記載の前記タンパクまたはポリペプチドのフラグメント。
【請求項８６】
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部またはその誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で、前記（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）（ａ）または（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、および
（ｄ）前記（ａ）、（ｂ）または（ｃ）の核酸に相補的な核酸
からなる群から選択された核酸によってコードされているタンパクもしくはポリペプチドまたはその一部に特異的に結合する作用物質。
【請求項８７】
前記タンパクまたはポリペプチドが、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、６１～６８、７０、７２、７４、７６、８１、８２、８６、８８、９６～１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１、１１３、その一部またはその誘導体からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むことを特長とする、請求項８６記載の作用物質。
【請求項８８】
抗体である、請求項８６または８７記載の作用物質。
【請求項８９】
前記抗体が、モノクローナル抗体、キメラ抗体もしくはヒト化抗体、または抗体のフラグメントである、請求項８８記載の作用物質。

【請求項９０】
（ｉ）タンパクもしくはポリペプチド、またはその一部、および
（ｉｉ）該タンパクもしくはポリペプチド、またはその一部が結合しているＭＨＣ分子であり、前記抗体は、（ｉ）または（ｉｉ）に単独で結合しておらず、該タンパクもしくはポリペプチドは、
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくはその誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で、前記（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）（ａ）もしくは（ｂ）の核酸から変性している核酸、および
（ｄ）前記（ａ）、（ｂ）もしくは（ｃ）の核酸、
からなる群から選択された核酸によってコードされている、ＭＨＣ分子、
の複合体に選択的に結合する抗体。
【請求項９１】
前記タンパクまたはポリペプチドが、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、６１～６８、７０、７２、７４、７６、８１、８２、８６、８８、９６～１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１、１１３、その一部もしくはその誘導体からなる群から選択されたアミノ酸配列を有する、請求項９０記載の抗体。
【請求項９２】
モノクローナル抗体、キメラ抗体もしくはヒト化抗体、または抗体のフラグメントである、請求項９０または９１記載の抗体。
【請求項９３】
請求項８６～８９のいずれかに記載の作用物質または請求項９０～９２のいずれかに記載の抗体と、治療用作用物質または診断用作用物質との間の接合体。
【請求項９４】
治療用作用物質または診断用作用物質がトキシンである、請求項９３記載の接合体。
【請求項９５】
腫瘍会合抗原の発現または異常な発現を検出するためのキットであって、
（ｉ）腫瘍会合抗原またはその一部をコードする核酸、
（ｉｉ）前記腫瘍会合抗原またはその一部、
（ｉｉｉ）前記腫瘍会合抗原またはその一部に結合する抗体、および／または
（ｉｖ）前記腫瘍会合抗原またはその一部とＭＨＣ分子との間の複合体に特異的なＴ細胞であり、前記腫瘍会合抗原が、
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部もしくはその誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、
（ｂ）ストリンジェントな条件下で、前記（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、
（ｃ）（ａ）もしくは（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、および
（ｄ）前記（ａ）、（ｂ）または（ｃ）の核酸に相補的な核酸、
からなる群から選択される核酸によってコードされている配列を有する、Ｔ細胞、
を検出するための作用物質を含む、キット。
【請求項９６】
前記腫瘍会合抗原またはその一部をコードしている核酸を検出するための作用物質が、該核酸を選択的に増幅させるための核酸分子である、請求項９５記載のキット。
【請求項９７】
前記核酸を選択的に増幅させるための核酸分子が、前記腫瘍会合抗原をコードする前記核酸の６～５０の連続的ヌクレオチドからなる配列を有している、請求項９６記載のキット

。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【０００１】

従来の治療処置のための学際的アプローチや、その全般的利用にもかかわらず、がんは今だ上位死因の一つに数えられている。ごく最近の治療に関する概念は、組換え腫瘍ワクチンや抗体治療などのその他の特定の手段を用いて、患者の免疫系を全般的治療の概念に取り込むことを目指している。このような治療計画を成功させるのに必要不可欠な条件が、エフェクタ機能がインターベンション技術により拡張される、患者の免疫系による腫瘍特異的もしくは腫瘍会合型抗原またはエピトープの認識である。腫瘍細胞は、生物学的には、由来源の非悪性細胞とは、非常に異なっている。このような差異は、腫瘍の発生時に獲得された遺伝子改変に起因し、そして特に、がん細胞における定性的および定量的に改変された分子構造の形成にまた帰結する。腫瘍付着宿主の特異的免疫系によって認識されるこの種の腫瘍会合構造体を、腫瘍会合抗原と称する。

【０００２】

腫瘍会合抗原の特異的認識には、機能的に相互に連携した２つのユニットである、細胞機序と体液機序が関与する。ＣＤ４$^{+}$とＣＤ８$^{+}$の両Ｔリンパ球が、ＭＨＣ（主要組織適合性複合体）クラスＩＩおよびクラスＩそれぞれの分子上に存在する処理抗原を認識し、そのいっぽうで、Ｂリンパ球が未処理抗原に直接結合する循環抗体分子を産生する。

【０００３】

腫瘍会合抗原に関する将来見込まれる臨床治療の重要性は、免疫系によって新生細胞上の抗原が認識されると、細胞毒性エフェクタ機序が始動し、ヘルパーＴ細胞の存在下で、がん細胞を除去させることが可能となるという事実が根源となっている（Pardoll, Nat. Med. 4:525-31, 1998(非特許文献１)）。したがって、腫瘍免疫学の主要目的は、これらの構造体を分子レベルで明確にすることにある。これら抗原の分子レベルの特性は、長い間不可解とされてきた。適切なクローニング技術が開発されて初めて、細胞毒性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）（van der Bruggen et al., Science 254:1643-7, 1991(非特許文献２)）の標的構造体を分析するか、循環自己抗体（Sahin et al., Curr. Opin. Immunol. 9:709-16, 1997(非特許文献３)）をプローブとして使用することにより、腫瘍会合抗原に関する、腫瘍のｃＤＮＡ発現ライブラリを系統的にスクリーニングすることが可能となった。このため、ｃＤＮＡ発現ライブラリは、未使用の腫瘍組織から調製し、好適な系で組換えを行うことによりタンパクとして発現させてきた。患者から単離した免疫エフェクタ、すなわち腫瘍特異的溶解パターンをもつＣＴＬクローンか循環自己抗体が、個々の抗原のクローン産生に利用されてきた。

【０００４】

近年、このようなアプローチによって各種新生組織形成で、複数の抗原が明確化されてきた。がん／精巣抗原（ＣＴＡ）クラスがここでは、最も大きな関心事となっている。ＣＴＡとこれらをコードする遺伝子（がん／精巣遺伝子、すなわちＣＴＧ）は、それらの特長的発現パターンによって定義されている（Tureci et al., Mol Med Today. 3:342-9, 1997(非特許文献４)）。これらは、精巣細胞と生殖細胞を除き、正常な組織には認められないが、多数のヒト悪性腫瘍で、腫瘍の型に特異的ではなく、由来がまったく異なる腫瘍でさまざまな頻度で発現する（Chen & Old, Cancer J. Sci. Am. 5:16-7, 1999(非特許文献５)）。ＣＴＡに対する抗体は、健常な個体ではなく腫瘍患者に認められる。特に、その組織分布により、このクラスの抗原は免疫療法プロジェクトにとって非常に役立ち、最近の臨床患者研究で試験の対象となっている（Marchand et al., Int. J. Cancer 80:219-30, 1999(非特許文献６); Knuth et al., Cancer Chemother. Pharmacol. 46:p46-51, 2000(非特許文献７)）。

【非特許文献１】Pardoll, Nat. Med. 4:525-31, 1998

【非特許文献２】van der Bruggen et al., Science 254:1643-7, 1991

【非特許文献３】Sahin et al., Curr. Opin. Immunol. 9:709-16, 1997

【非特許文献４】Tureci et al., Mol Med Today. 3:342-9, 1997
【非特許文献５】Chen & Old, Cancer J. Sci. Am. 5:16-7, 1999
【非特許文献６】Marchand et al., Int. J. Cancer 80:219-30, 1999
【非特許文献７】Knuth et al., Cancer Chemother. Pharmacol. 46:p46-51, 2000

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【０００５】

しかしながら、上記のような従来の方法で抗原の特定に利用されているプローブは、通常すでに進行がんを発症している患者から取得した免疫エフェクタ（循環自己抗体すなわちＣＴＬクローン）である。多数のデータが、腫瘍から、例えばＴ細胞の寛容化や活動消失化が導かれ、疾患の経過中、特に、効果的免疫認識を行わせうる特異性が免疫エフェクタのレパートリーから消失するということを指摘している。最近の患者研究からはまだ、今までに発見され、利用されている腫瘍会合抗原の実際の作用に関する確たる証拠が提示されていない。したがって、自発免疫反応を誘起させるタンパクは、誤ったターゲット構造体であるという見解を無視することはできない。

【０００６】

本発明の目的は、がんの診断と治療のための標的構造体を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【０００７】

本発明によれば、この目的は、請求項の内容によって達成される。

【０００８】

本発明によれば、腫瘍と会合して発現する抗原およびそれらをコードする核酸を特定および提供するための技法が求められていた。この技法は、細胞表面で入手可能な潜在的がん特異的抗原に関する、ヒトタンパクおよび核酸の各データベースの評価結果に基づいている。可能であるなら、全タンパクを分析するための高速大量処理手法とともに、これに必要とされるフィルタ基準の定義は、本発明の中心要素を構成する。はじめに、データ検索により、一つ以上の膜貫通領域の有無が、「遺伝子からｍＲＮＡへ、ｍＲＮＡからパンパクへ」という基本原理に従って、検査される対象となる既知の遺伝子すべてを、可能な限り完全に網羅したリストが生成される。続いて、ホモロジー検索、組織特異的群（とりわけ、腫瘍組織）におけるヒット項目の分類および、ｍＲＮＡが実際に存在しているかの検査が行われる。最後に、この方法で特定されたタンパクについて、腫瘍における異常活性化の有無が、例えば発現分析やタンパクの化学的処置によって評価される。

【０００９】

データ検索は、腫瘍会合遺伝子を特定するための既知の方法である。しかし、従来の技法では、残存遺伝子は腫瘍特異的であるという仮定の下に、通常、正常組織ライブラリのトランスクリプトームは、腫瘍組織ライブラリから電子媒体によって削除されている(Schmitt et al., Nucleic Acids Res. 27:4251-60, 1999; Vasmatzis et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95:300-4, 1998; Scheurle et al., Cancer Res. 60:4037-43, 2000)。

【００１０】

しかし、本発明の概念は、細胞表面で入手可能ながん特異的抗原をコードするすべての遺伝子を電子媒体によって抽出し、次いで、該遺伝子に関して、腫瘍中における異所性発現の有無を評価する、データ検索を利用するという原理に基づいている。

【００１１】

したがって、本発明は、その１つの態様においては、腫瘍中に分化して発現した遺伝子を特定するための技法に関する。該技法は、("in silico（コンピューター内格納）")公開配列ライブラリのデータ検索を、その後の室内実験（「ウエットベンチ」）研究と組み合わせている。

【発明の効果】

【００１２】

本発明により、各種バイオインフォマチックスクリプトを基盤とした組み合わせ技法によ

り、細胞表面で入手可能ながん特異的抗原をコードする新しい遺伝子を特定することが可能となった。本発明により、これらの腫瘍会合遺伝子および、これら遺伝子によりコードされた遺伝子産物が、免疫原作用とは関係なく特定され、提供された。

【発明を実施するための最良の形態】

【００１３】

本発明によって特定された腫瘍会合抗原は、（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２およびそれらの一部または誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、（ｂ）ストリンジェントな条件下で（ａ）の核酸とハイブリダイズさせた核酸、（ｃ）（ａ）または（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、および（ｄ）（ａ）、（ｂ）または（ｃ）の核酸に相補的な核酸からなる群から選択された、核酸によってコードされたアミノ酸配列を有する。好適な実施形態では、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、６９、７１、７３、７５、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０および１１２からなる群から選択された、核酸によってコードされているアミノ酸配列を有する。さらに好適な実施形態では、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、６１～６８、７０、７２、７４、７６、８１、８２、８６、８８、９６～１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１、１１３およびそれらの一部または誘導体からなる群から選択されたアミノ酸配列を有する。

【００１４】

本発明は、一般に、治療および診断のための、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原もしくは、それらの一部または、それらをコードしている核酸または、該コード核酸に対向している核酸または、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原に対向している抗体またはその一部、の使用に関する。ひとつの実施形態において、さらに診断、治療および進行抑制のための他の主要会合遺伝子および抗原との併用による組み合わせにおいて、この使用は、個々の抗原、機能フラグメント、核酸、抗体などに関し、さらには、これら抗原、機能フラグメント、核酸、抗体の２つ以上の組み合わせに関する。

【００１５】

本発明に従って特定された、細胞表面上または細胞中に局在しているという特性により、腫瘍会合抗原は、治療および診断に好適な標的もしくは手段して適格である。治療および診断に特に好適であるのが、非膜貫通部、特に抗原の細胞外部に一致するか、またはそれらからなる、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原の一部である。したがって、本発明によれば、抗原の非膜貫通部に一致するか、またはそれらからなる、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原の一部、または本発明に従って特定された抗原をコードしている核酸の一致する部分が、治療もしくは診断にとって好適である。同様に、抗原の非膜貫通部に一致するか、またはそれらからなる、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原の一部に対向している抗体の使用も好適である。

【００１６】

治療および／または診断に好適な疾患は、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原の一つ以上が、選択的にまたは異常に発現している疾患である。

【００１７】

本発明は、腫瘍細胞と会合して発現し、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原の核酸の変性スプライシング（スプライス変異体）によって、または別のオープンリーディングフレームを利用した変性翻訳によって産生される核酸および遺伝子産物にも関する。本発明によれば、本発明のスプライス変異体を腫瘍性疾患の診断と治療の標的として使用することができる。

【００１８】

スプライス変異体を産生させるメカニズムは、例えば

－可変転写開始部位の利用、
－追加エキソンの利用、
－単一、もしくは２つ以上のエキソンからの、完全なまたは不完全なスプライシング、
－突然変異により変性したスプライス調節配列（新しい供与体／受容体配列の欠失または生成）、
－イントロン配列の不完全な除去
などきわめて多岐にわたる。

【００１９】
遺伝子の変性スプライシングの結果、変性転写産物配列（スプライス変異体）が生じる。その変性配列の領域内でスプライス変異体が翻訳されると、本来のタンパクとは構造および機能が明らかに異なりうる、変性タンパクが産生される。腫瘍会合スプライス変異体は、腫瘍会合転写産物と、腫瘍会合タンパク／抗原を産生しうる。これらは、腫瘍細胞の検出と腫瘍の治療標的化の目的で、分子マーカとして利用可能である。例えば、血中、血清、骨髄、唾液、気管支洗浄液、分泌液および組織検査における、腫瘍細胞の検出を、例えば、スプライス変異体特異的オリゴヌクレオチドを用いたＰＣＲ増幅による核酸抽出後など、本発明に従って実施することができる。本発明によれば、配列依存検出システムはすべて、検出に好適である。ＰＣＲは別として、これらには、例えば、遺伝子チップ／マイクロアレイシステム、ノーザンブロット、RNAse保護検査（ＲＤＡ）などがある。検出システムはすべて、検出法が少なくともひとつのスプライス変異体特異的核酸配列との特異的ハイブリダイゼーションに基づいているという点で共通している。ただし、本発明によれば、腫瘍細胞は、スプライス変異体によってコードされた特異的エピトープを認識する抗体によっても検出可能である。該抗体は、該スプライス変異体に特異的な免疫獲得用ペプチドに使用することで、調製可能となる。免疫獲得には、好ましくは健全な細胞で産生された遺伝子産物の変異体（複数もあり）とはエピトープが明らかに異なるアミノ酸が特に好適である。ここでは抗体による腫瘍細胞の検出は、患者から単離させた標本で行うことも、また抗体を静脈内投与して撮像し、画像で目視により実施することもできる。

【００２０】
診断における利用可能性に加え、新しいエピトープまたは変性エピトープを有するスプライス変異体は、免疫療法にとっても魅力的な標的である。本発明のエピトープは、活性モノクローナル抗体またはＴリンパ球を治療のための標的とする目的で利用できる。消極的免疫療法では、スプライス変異体特異的エピトープを認識する抗体またはＴリンパ球が、この場合、養子免疫的に移入される。他の抗原の場合のように、抗体は、これらのエピトープを含むポリペプチドを利用するとともに、標準的技術（動物の免疫法、組換え抗体を単離させるためのパニング法）を用いることによっても生成されうる。あるいは、該エピトープを含むオリゴペプチドまたはポリペプチドをコードする免疫獲得用核酸に利用することが可能である。エピトープ特異的Ｔリンパ球をｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｉｎ　ｖｉｖｏで生成するための各種技術が知られており、詳細な記述（例えば、Kessler JH, et al. 2001, Sahin et al., 1997）があるが、同様に、スプライス変異体特異的エピトープまたはオリゴペプチドもしくはポリペプチドをコードする核酸を含む、該オリゴペプチドまたはポリペプチドを利用する方法に基づいている。スプライス変異体特異的エピトープを含むオリゴペプチドもしくはポリペプチド、または該ポリペプチドをコードする核酸もまた、積極的な免疫療法（予防接種、ワクチン療法）における薬学的活性物質として、利用することもできる。

【００２１】
さらにひとつの態様では、本発明は、グリコシル化やミリスチン化などの翻訳後修飾タンパク領域にも関する。この種の修飾により、例えば、抗体によって、抗原の分化認識パターンが生じ、疾患に関係があると考えられる各種病態が認識されうる。特に、抗体を使用することによって、抗原のこのような分化は、治療のみならず診断にも利用できる。腫瘍会合細胞変性からは、変性翻訳後修飾が生じうるという、腫瘍細胞に関する報告がある（Durand & Seta. 2000. Clin Chem 46: 795-805; Granovsky et al. 2000. Nat Med 6: 30

6-312）。特に、グリコシル化パターンは、腫瘍細胞上では、強く変性される。本発明に従うと、これらの特殊なエピトープは、診断に際して、腫瘍細胞を非発癌性細胞から判別可能である。翻訳後に修飾可能なエピトープが正常な非変性細胞でグリコシル化し、腫瘍細胞では糖鎖除去する場合には、本発明の意図する範囲内で、腫瘍特異的治療抗体の発現が可能となる。

【００２２】

ひとつの態様では、本発明は、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原を認識し、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原が発現または異常に発現している細胞に対する選択性を有することが好ましい作用物質を有する医薬品組成物に関する。特定の実施形態では、該作用物質は、細胞死の誘発、細胞の成長減退、細胞膜の損傷、またはサイトカインの分泌を生じさせ、さらに腫瘍阻害活性を有することが好ましい。ひとつの実施形態では、作用物質は、腫瘍会合抗原をコードする核酸と選択的にハイブリダイズするアンチセンス核酸である。さらなる実施形態では、作用物質は、腫瘍会合抗原に選択的に結合する抗体、特に、腫瘍会合抗原に選択的に結合する補体活性化抗体である。さらなる実施形態では、作用物質は、少なくともひとつが本発明に従って特定された腫瘍会合抗原であるような、各種腫瘍会合抗原を、それぞれが選択的に認識する２つ以上の作用物質を含んでいる。認識直後に、抗原の活性または発現が阻害される必要はない。本発明のこの態様では、腫瘍に選択的に限定される抗原は、この特異的場所にエフェクタ機構を漸加するためのラベルとしての役割を果たすことが好ましい。好ましい実施形態では、作用物質は、ＨＬＡ分子上の抗原を認識し、このようにしてラベル標識された細胞を溶解させる細胞毒性Tリンパ球である。さらなる実施形態では、作用物質は、腫瘍会合抗原に選択的に結合し、したがって、該細胞に天然のまたは人工のエフェクタ機構を漸加する抗体である。さらなる実施形態では、作用物質は、該抗原を特異的に認識する他の細胞のエフェクタ機能を向上させる、Tヘルパーリンパ球である。

【００２３】

ひとつの態様では、本発明は、本発明に従って特定された腫瘍会合抗原の発現または活性を阻害する作用物質を有する医薬品組成物に関する。好ましい実施形態では、作用物質は、腫瘍会合抗原をコードする核酸と選択的にハイブリダイズするアンチセンス核酸である。さらなる実施形態では、作用物質は、腫瘍会合抗原に選択的に結合する抗体である。さらなる実施形態では、作用物質は、少なくともひとつが本発明に従って特定された腫瘍会合抗原である、各種腫瘍会合抗原の発現または活性を、それぞれが選択的に阻害する２種類以上の作用物質を含んでいる。

【００２４】

本発明に従って特定された腫瘍会合抗原の活性は、タンパクまたはペプチドの任意の活性とすることができる。したがって、本発明による治療法および診断法は、この活性を抑止もしくは緩和、またはこの活性を検査することをも目的とすることができる。

【００２５】

さらに本発明は、投与したときにＨＬＡ分子とペプチドエピトープとの間の複合体の量を本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原から選択的に増加させる作用物質を有する医薬品組成物に関する。１つの実施形態では作用物質は、（ｉ）腫瘍会合抗原またはその一部、（ｉｉ）該腫瘍会合抗原をコードする核酸またはその一部、（ｉｉｉ）該腫瘍会合抗原を発現する宿主細胞またはその一部、および（ｉｖ）該腫瘍会合抗原から得たペプチドエピトープとＭＨＣ分子との間の単離複合体からなる群から選択された一種以上の成分を有している。ひとつの実施形態では、作用物質は、ＭＨＣ分子と、少なくともそれらのひとつが本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原である、各種腫瘍会合抗原のペプチドエピトープとの間の複合体の量を、それぞれ選択的に増加させる２つ以上の作用物質を有している。

【００２６】

さらに本発明は、（ｉ）本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原またはその一部、（ｉｉ）本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原またはその一部をコードする核酸、（

ｉｉｉ）本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原またはその一部に結合する抗体、（ｉｖ）本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原をコードする核酸と特異的にハイブリダイズするアンチセンス核酸、（ｖ）本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原を発現する宿主細胞またはその一部、（ｖｉ）本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原またはその一部とＨＬＡ分子との間の単離複合体からなる群から選択された一つ以上の成分を有する医薬品組成物に関する。

【００２７】

本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原またはその一部をコードする核酸は、発現ベクター内の医薬品組成物に存在しており、機能的にはプロモータと連携している。

【００２８】

本発明の医薬品組成物に存在している宿主細胞は腫瘍会合抗原もしくはその一部を分泌し、表面上にこれを発現するかまたは該腫瘍会合抗原もしくは該その一部に結合するＨＬＡ分子をさらに発現する可能性がある。１つの実施形態では、宿主細胞はＨＬＡ分子を内生的に発現する。別の実施形態では、宿主細胞はＨＬＡ分子および／または該腫瘍会合抗原もしくは該その一部を組換え法において発現する。宿主細胞は非増殖性であることが望ましい。好ましい実施形態では、宿主細胞は抗原提示細胞、特に樹状細胞、モノサイトまたはマクロファージである。

【００２９】

本発明の医薬品組成物に存在する抗体は、モノクローナル抗体であってもよい。さらなる実施形態では、抗体は、キメラ抗体またはヒト化抗体、天然抗体のフラグメントまたは合成抗体のフラグメントであるが、それらすべて組合せ技術によって産生しうる。抗体は、治療上または診断上効果を有する作用物質に結合しうる。

【００３０】

本発明の医薬品組成物に存在するアンチセンス核酸は、本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原をコードする核酸の連続的ヌクレオチド、６－５０、特に１０－３０、１５－３０、および２０－３０からなる配列を有していてもよい。

【００３１】

さらなる実施形態では、本発明の医薬品組成物によって提供される腫瘍会合抗原は、直接的にまたは核酸の発現もしくはその一部の発現を介して、好ましくは細胞毒性反応を起こし、サイトカイン放出を誘発させるかまたはそのいずれかを行うことが好ましい結合形態で、細胞表面上のＭＨＣ分子に結合する。

【００３２】

本発明の医薬品組成物は、薬学的に適合性のある担体および／またはアジュバントを有していてもよい。アジュバントはサポニン、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣｐＧオリゴヌクレオチド、ＲＮＡ、サイトカインまたはケモカインから選択できる。本発明の医薬品組成物は、腫瘍会合抗原の選択的発現または異常な発現によって特長づけられる疾患の治療に使用されることが好ましい。好ましい実施形態では、疾患はがんである。

【００３３】

さらに本発明は、一種以上の腫瘍会合抗原の発現もしくは異常な発現によって特長づけられる疾患を治療または診断する方法に関する。ひとつの実施形態では、治療には、本発明の医薬品組成物を投与するプロセスが含まれる。

【００３４】

ひとつの態様では、本発明は、本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長づけられる疾患を診断する方法に関する。この方法には、（ｉ）腫瘍会合抗原またはその一部をコードする核酸の検出プロセスおよび／あるいは（ｉｉ）腫瘍会合抗原またはその一部を検出プロセスおよび／あるいは（ｉｉｉ）腫瘍会合抗原またはその一部に対する抗体の検出プロセスおよび／あるいは（ｉｖ）腫瘍会合抗原またはその一部に患者から単離させた生体標本内で特異的であるような細胞毒性リンパ球またはＴヘルパーリンパ球の検出プロセスが含まれる。特定の実施形態では、検出プロセスは（ｉ）腫瘍会合抗原またはその一部をコードする核酸、該腫瘍会合抗原または該その一部、

抗体または腫瘍会合抗原に特異的な抗体または細胞毒性リンパ球もしくはＴヘルパーリンパ球に特異的に結合する作用物質と生体標本と接触させるプロセス、および（ｉｉ）作用物質と核酸またはその一部との間の複合体、腫瘍会合抗原またはその一部、抗体または細胞毒性リンパ球もしくはＴヘルパーリンパ球、の形成を検出するプロセスを有する。ひとつの実施形態では、疾患は、２つ以上の異なる腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長づけられ、検出は、該２種類以上の腫瘍会合抗原またはその一部をコードする２種類以上の核酸の検出プロセス、２種類以上の腫瘍会合抗原またはその一部の検出プロセス、該２種類以上の腫瘍会合抗原またはそれらの一部に結合している２種類以上の抗体の検出プロセス、または該２種類以上の腫瘍会合抗原に特異的２種類以上の細胞毒性リンパ球もしくはＴヘルパーリンパ球の検出各プロセスからなる。さらなる実施形態では、患者から単離させた生体標本を比較可能な正常生体標本と比較する。

【００３５】

本発明による診断法では、例えば細胞の遊走行動の実験を通じて転移、それにより悪化した疾患の経過を予測するために、予後マーカとして本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原の使用にも関することができ、それにより特に、より積極的治療法のプランニングが可能となる。

【００３６】

さらなる態様では、本発明は、本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原の発現もしくは異常な発現によって特長づけられる疾患の再発、進行または兆候を判定する方法に関するが、この方法には、該疾患にかかっているかまたは該疾患にかかっていることが疑われる患者から採取した標本について、（ｉ）腫瘍会合抗原をコードする核酸またはその一部の量、（ｉｉ）腫瘍会合抗原またはその一部の量、（ｉｉｉ）腫瘍会合抗原またはその一部に結合する抗体の量、（ｉｖ）腫瘍会合抗原もしくはその一部とＭＨＣ分子との間の複合体に特異的である細胞毒性Ｔ細胞またはＴヘルパー細胞の量からなる群から選択した、一つ以上のパラメータに関して観察を行うプロセスが含まれている。この方法は、適時の第１点で最初の標本におけるパラメータ（単数および複数）、さらには適時の第２点で別の標本におけるパラメータを判定し、その判定プロセスで疾患の進行状況を２種類の標本を比較することによって判定することを含む。特定の実施形態では、疾患は、２種類以上の腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長づけられ、観察プロセスには、（ｉ）該２種類以上の腫瘍会合抗原またはその一部をコードする２種類以上の核酸の量、および／あるいは（ｉｉ）該２種類以上の腫瘍会合抗原またはその一部の量、および／あるいは（ｉｉｉ）該２種類以上の腫瘍会合抗原またはその一部に結合する２種類以上の抗原の量、および／あるいは（ｉｖ）該２種類以上の腫瘍会合抗原もしくはその一部とＭＨＣ分子との間の複合体に特異的である２種類以上の細胞毒性Ｔ細胞またはＴヘルパー細胞の量を観察するプロセスが含まれる。

【００３７】

本発明によれば、核酸もしくはその一部の検出または核酸もしくはその一部の量の観察は、該核酸もしくは該その一部に特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドプローブを用いて実施するか、または該核酸もしくは該その一部の選択的増幅により実施してもよい。１つの実施形態では、ポリヌクレオチドプローブは、該核酸の連続的ヌクレオチド、６－５０、特に１０－３０、１５－３０および２０－３０からなる配列を有している。

【００３８】

本発明によれば、腫瘍会合抗原もしくはその一部の検出、または、腫瘍会合抗原もしくはその一部の量の観察は、該腫瘍会合抗原もしくは該その一部に特異的に結合している抗体を用いて実施してもよい。

【００３９】

特定の実施形態では、検出する腫瘍会合抗原またはその一部は、ＭＨＣ分子、特にＨＬＡ分子との複合体内に存在している。

【００４０】

本発明によれば、抗体の検出または抗体の量の観察は、前記抗体に特異的に結合している

タンパクもしくはペプチドを用いて実施してもよい。

【００４１】

本発明によれば、細胞毒性Ｔ細胞もしくはＴヘルパー細胞の検出または、抗原もしくはその一部とＭＨＣ分子との間の複合体に特異的な細胞毒性Ｔ細胞もしくはＴヘルパー細胞の量の観察は、該抗原もしくはその一部とＭＨＣ分子との間の複合体を含んでいる細胞を用いて実施してもよい。

【００４２】

検出または観察に使用されるポリヌクレオチドプローブ、抗体、タンパクもしくはペプチドまたは細胞は、検出可能な方法でラベル標識することが好ましい。特定の実施形態では、検出可能なマーカは、放射性マーカまたは酵素マーカである。さらにＴリンパ球は、それらの増殖、それらのサイトカイン産生およびＭＨＣと腫瘍会合抗原またはその一部の複合体による特異的刺激によってトリガーされたそれらの細胞活性によって検出してもよい。Ｔリンパ球は、組換えＭＨＣ分子あるいは一種以上の腫瘍会合抗原の特定の免疫原性フラグメントで読み込まれた二種以上のＭＨＣ分子の複合体を介して、そして特異的Ｔリンパ球を特定できる特異的Ｔ細胞受容体を接触することによって、検出してもよい。

【００４３】

さらなる態様では、本発明は、本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原の発現もしくは異常な発現によって特長づけられる疾患を治療、診断または観察する方法に関するが、この方法は、該腫瘍会合抗原またはその一部に結合し、治療作用物質または診断作用物質にも結合する抗体を投与するプロセスを含む。抗体は、モノクローナル抗体であってよい。さらなる実施形態では、抗体は、キメラ抗体もしくはヒト化抗体または天然抗体のフラグメントである。

【００４４】

本発明は、本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長づけられる疾患を持つ患者を治療するための方法に関するが、この方法は（ｉ）該患者からの免疫反応細胞を有する検体の除去、（ｉｉ）該腫瘍会合抗原またはその一部を発現している宿主細胞と該標本の、該腫瘍会合抗原またはその一部に対する細胞溶解性Ｔ細胞の産生を促進する種々の条件下での接触、および（ｉｉｉ）腫瘍会合抗原またはその一部を発現する細胞を溶解させるのに好適な量での患者への細胞溶解性Ｔ細胞の導入の各プロセスを有している。同様に本発明は、腫瘍会合抗原に対する細胞溶解性Ｔ細胞のＴ細胞受容体のクローニングに関する。該受容体は、所望の特異性をこのように受け入れる他のＴ細胞に移入し、（ｉｉｉ）の場合のように、患者に導入してもよい。

【００４５】

ひとつの実施形態では、宿主細胞は、ＨＬＡ分子を内生的に発現させる。さらなる実施形態では、宿主細胞は、ＨＬＡ分子および／または腫瘍会合抗原またはその一部を組換え法により発現させる。宿主細胞は非増殖性であることが好ましい。好ましい実施形態では、宿主細胞は、抗原提示細胞で、特に樹状細胞、モノサイトまたはマクロファージである。

【００４６】

さらなる態様では、本発明は、腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長づけられる疾患を持つ患者を治療するための方法に関するが、この方法には、（ｉ）本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原をコードし、該疾患と関連づけられる細胞によって発現している核酸の特定、（ｉｉ）該核酸またはその一部で宿主細胞の組み込み、（ｉｉｉ）該核酸の発現のためトランスフェクトされた宿主細胞の培養（これは高率のトランスフェクションが実現したときには必ずしも必要ではない）、および（ｉｖ）疾患と関連のある患者の細胞に対する免疫反応を高めるのに好適な量での宿主細胞またはその抽出物の患者への導入の各プロセスが含まれる。この方法は、特定されたＭＨＣ分子を発現し、該腫瘍会合抗原またはその一部を含んでいる宿主細胞で、腫瘍会合抗原またはその一部を含んでいるＭＨＣ分子を特定するプロセスをさらに有していてもよい。免疫反応は、Ｂ細胞反応またはＴ細胞反応を有していてもよい。さらに、Ｔ細胞反応は、腫瘍会合抗原もしくはその一部を含む宿主細胞に特異的であるか／または該腫瘍会合抗原もしくはその一部を発現

する患者の細胞に特異的である細胞溶解性Ｔ細胞および／またはＴヘルパー細胞の産生プロセスを有する。

【００４７】

本発明は、本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長づけられる疾患を治療するための方法に関するが、この方法は、（ｉ）異常な量の腫瘍会合抗原を発現する患者からの細胞の特定、（ｉｉ）該細胞の標本の単離、（ｉｉｉ）該細胞の培養、および（ｉｖ）細胞に対する免疫反応をトリガーするのに好適な量の該細胞の患者への導入の各プロセスを有する。

【００４８】

好ましくは、本発明にしたがって使用する宿主細胞は、非増殖型であるかまたは非増殖型化するものである。腫瘍会合抗原の発現または異常な発現によって特長づけられる疾患は、特にがんである。

【００４９】

さらに本発明は、（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６９、７１、７３、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、それらの一部またはそれらの誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、（ｂ）ストリンジェントな条件下で（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、（ｃ）（ａ）または（ｂ）の核酸に関して変性している核酸、（ｄ）（ａ）、（ｂ）または（ｃ）の核酸に相補的な核酸から成る群から選択された核酸に関する。さらに本発明は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６１－６８、７０、７２、７４、８１、８２、８６、８８、９６－１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１、１１３、それらの一部もしくはそれらの誘導体からなる群から選択されたアミノ酸配列を有するタンパクまたはポリペプチドをコードする核酸に関する。

【００５０】

さらなる態様では、本発明は、組換え核酸分子、特に本発明の核酸を有するＤＮＡまたはＲＮＡ分子に関する。

【００５１】

本発明はさらに、本発明の核酸を含む宿主細胞または本発明の核酸を有する組換え核酸分子に関する。

【００５２】

宿主細胞は、ＨＬＡ分子をコードしている核酸を含んでいてもよい。ひとつの実施形態では、宿主細胞はＨＬＡ分子を内生的に発現する。さらなる実施形態では、宿主細胞は、ＨＬＡ細胞および／または本発明の核酸もしくはその一部を組み換え法により発現する。宿主細胞は非増殖性であることが好ましい。好ましい実施形態では、宿主細胞は、抗原提示細胞、特に樹状細胞、モノサイトまたはマクロファージである。

【００５３】

さらなる実施形態では、本発明は、本発明にしたがって特定された核酸とハイブリダイズし、遺伝子プローブとしてまたは「アンチセンス分子」として使用することのできるオリゴヌクレオチドに関する。本発明にしたがって特定された核酸またはその一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプライマーまたは的確な標本の形態における核酸分子は、本発明により特定された該核酸と相同性のある核酸を発見するのに使用してもよい。ＰＣＲ増幅、サザーンおよびノーザンハイブリダイゼーションを相同性のある核酸の発見に採用してもよい。ハイブリダイゼーションは、あまり厳密でない条件下で行えるが、より好ましくは中程度の厳密さで実施し、最も好ましくは非常にストリンジェントな条件下で実施するのが好ましい。本発明による「ストリンジェントな条件」という用語は、ポリヌクレオチド間における特異的ハイブリダイゼーションを可能にする条件を表す。

【００５４】

さらなる態様では、本発明は、（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６９、７１、７３、７９、８０、８５、８７、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、その一部またはその誘導体からなる群から選択された核酸配列を有する核酸、（ｂ）ストリンジェントな条件下で、（ａ）の核酸とハイブリダイズする核酸、（ｃ）（ａ）または（ｂ）の核酸に関

して変性している核酸、および（ｄ）（ａ）、（ｂ）または（ｃ）の核酸に相補的である核酸からなる群から選択された核酸によってコードされているタンパクまたはポリペプチドに関する。好ましい実施形態では、本発明は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６１－６８、７０、７２、７４、８１、８２、８６、８８、９６－１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１、１１３、その一部または誘導体からなる群から選択されたアミノ酸配列を有するタンパクまたはポリペプチドに関する。

【００５５】

さらなる態様では、本発明は、本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原の免疫原フラグメントに関する。該フラグメントは、ヒトＨＬＡ受容体またはヒト抗体に結合することが好ましい。本発明のフラグメントは、少なくとも６個、特には少なくとも８個、少なくとも１０個、少なくとも１２個、少なくとも１５個、少なくとも２０個、少なくとも３０個または少なくとも５０個のアミノ酸からなる配列を有していることが好ましい。特に、本発明にしたがった免疫原フラグメントは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６１－６８、８１、８２および９６－１０１、その一部またはその誘導体からなる群から選択されたアミノ酸配列を有している。

【００５６】

さらなる態様では、本発明は、本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原またはその一部に結合する作用物質に関する。好ましい実施形態では、作用物質は抗体である。さらなる実施形態では、抗体はキメラ抗体、ヒト化抗体、または併用技術によって産生された抗体であるかもしくは抗体のフラグメントである。さらに、本発明は、（ｉ）本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原またはその一部と、（ｉｉ）本発明にしたがって特定された該腫瘍会合抗原または該その一部が結合するＭＨＣ分子との複合体に選択的に結合する抗体に関するが、該抗体は、（ｉ）または（ｉｉ）には単独で結合しない。本発明の抗体はモノクローナル抗体であってもよい。さらなる実施形態では、抗体はキメラ抗体もしくはヒト化抗体または天然抗体のフラグメントである。

【００５７】

さらに、本発明は、本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原もしくはその一部、または本発明の抗体に結合する、本発明の作用物質と治療用もしくは診断用作用物質との間の接合体に関する。ひとつの実施形態では、治療用作用物質または診断用作用物質はトキシンである。

【００５８】

さらなる態様では、本発明は、本発明にしたがって特定された腫瘍会合抗原の発現または異常な発現を検出するためのキットに関するが、上記キットは、（ｉ）腫瘍会合抗原もしくはその一部をコードする核酸、（ｉｉ）前記腫瘍会合抗原もしくはその一部、（ｉｉｉ）前記腫瘍会合抗原もしくはその一部に結合する抗体、および／または（ｉｖ）前記腫瘍会合抗原もしくはその一部とＭＨＣ分子との間の複合体に特異的なＴ細胞、の各検出用作用物質を有している。ひとつの実施形態では、核酸もしくはその一部を検出するための作用物質は、特に、配列６－５０、特に１０－３０、１５－３０および２０－３０の該核酸の連続的ヌクレオチドを有する、該核酸を選択的に増幅させるための核酸分子である。

【００５９】

発明の詳細な説明

本発明に従い、腫瘍細胞中に選択的にまたは異常に発現し、腫瘍会合抗原であるような遺伝子について以下に述べる。

【００６０】

本発明によれば、これらの遺伝子またはそれらの誘導体は、治療法にとって好ましい標的構造体である。概念的には、該治療法は、選択的に発現した腫瘍会合遺伝子産物の活性を阻害することを目的としていると考えられる。これは、もし該異常な個々の選択的発現が腫瘍の病原性において重要であり、その連結反応後に、対応する細胞が選択的に損傷を受ける場合には、有用である。他の治療に関する概念として、腫瘍会合抗原は、腫瘍細胞に対し選択的腫瘍損傷能を有するエフェクタ機構を漸加するラベルと考えられている。ここ

では、標的分子そのものの機能およびその腫瘍発現における役割は、全体として重要ではない。

【００６１】

本発明によれば、核酸の「誘導体」は、ひとつもしくは複数のヌクレオチドの置換、欠失および／または付加が該核酸に存在していることを意味する。さらに、「誘導体」という用語は、ヌクレオチドの塩基上、糖上またはリン酸塩上の核酸の化学的誘導体をも含む。「誘導体」という用語は、天然には発生しないヌクレオチドとヌクレオチド類似体を有する核酸も含む。

【００６２】

本発明によれば、核酸は、デオキリボ核酸（ＤＮＡ）またはリボ核酸（ＲＮＡ）であることが好ましい。核酸は、本発明によれば、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ｍＲＮＡ、組換え技術により産生された分子および化学的に合成された分子を有している。本発明によれば、核酸は、単鎖または二重鎖として、さらには線形または共有結合的におよび円形に閉鎖分子として存在しうる。

【００６３】

本発明にしたがって記述した核酸は、単離していることが好ましい。「単離核酸」という用語は、本発明に従って、核酸が、（ｉ）例えばポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）などによってｉｎ　ｖｉｔｒｏで増幅されたか、（ｉｉ）クローニングによって組換え技術により産生されたか、（ｉｉｉ）例えば開裂およびゲル電気泳動分画により精製されたかまたは（ｉｖ）例えば化学合成によって合成されたことを意味する。単離核酸は組換えＤＮＡ技術によって操作するのに利用可能な核酸である。

【００６４】

核酸は、２つの配列が相互にハイブリダイズし、安定した二重鎖を形成することができ、そのハイブリダイゼーションがポリヌクレオチド間で（ストリンジェントな条件の下に）特異的ハイブリダイゼーションを可能にする条件下で実施されていることが好ましい場合には、別の核酸にとって「相補的」であるという。ストリンジェントな条件は、例えばMolecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook et al., Editors, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory press, Cold Spring Harbor, New York, 1989 or Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel et al., Editors, John Wiley & Sons, Inc., New Yorkなどに記載があり、例えば、ハイブリダイゼーション緩衝液(3.5 x SSC, 0.02% Ficoll, 0.02% ポリビニルピロリドン、 0.02% ウシ血清アルブミン, 2.5 mM NaH2PO4 (pH 7), 0.5% SDS, 2 mM EDTA)でのハイブリダイゼーションを引用する。ＳＳＣは、０．１５Ｍ塩化ナトリウム／０．１５Ｍクエン酸ナトリウム（ｐＨ７）である。ハイブリダイズ後に、ＤＮＡが導入された膜を、例えば室温で２×ＳＳＣを用いて洗浄してから、６８℃までの温度で０．１－０．５×ＳＳＣ／０．１×ＳＤＳで洗浄する。

【００６５】

本発明によれば、相補的核酸は、少なくとも４０％、特に少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％および、好ましくは少なくとも９５％、少なくとも９８％または少なくとも９９％の同一ヌクレオチドを有している。

【００６６】

腫瘍会合抗原をコードしている核酸は、本発明によれば、単独でまたは他の核酸、特には異種核酸との組合せで存在していてもよい。好ましい実施形態では、核酸は、該核酸に関して同種もしくは異種であるような発現制御配列または調節配列と機能的に連携している。コード配列と調節配列は、これらが該コード配列の発現または転写が該調節配列の制御下もしくは影響下で行われるような方法で、相互に共有結合的により連携している場合には、「機能的」にも相互に連携している。コード配列が機能タンパクに翻訳され、調節配列に機能的に該コード配列が連携している場合には、該調節配列の誘導により、コード配列内で、または所望のタンパクもしくはペプチドに転写される能力を持たない該コード配列内で、フレームシフトが発生せずに、該コード配列の転写が行われる。

【００６７】
発現制御配列または調節配列という用語は、本発明によれば、遺伝子の発現を調節するプロモーター、エンハンサおよび他の制御要素を含む。本発明の特定の実施形態では、発現制御配列は調節可能である。調節配列の正確な構造は、種または細胞の型の機能に応じて変化していてもよいが、一般には、ＴＡＴＡボックス、キャッピング配列、ＣＡＡＴ配列などのようにそれぞれ転写および翻訳の開始に関与する５'非転写および５'非翻訳配列を有している。さらに詳細には、５'非転写調節配列は、機能的に連携した遺伝子の転写制御のためのプロモータ配列を含むプロモータ領域を有している。調節配列はエンハンサ配列または上流アクチベータ配列も有していてもよい。

【００６８】
このようにいっぽうで、ここに説明されている腫瘍会合抗原は、発現制御配列およびプロモータと組み合わさっていてもよい。しかし他方では、ここに説明した腫瘍会合遺伝子産物のプロモータは、本発明によれば、他のどの遺伝子と組み合わせてもよい。したがって、これらプロモータの選択的活性が利用可能となる。

【００６９】
本発明によれば、核酸は、宿主細胞から該核酸によってコードされたタンパクまたはポリヌクレオチドの分泌を制御するポリペプチドをコードする別の核酸との組合せで存在していてもよい。本発明によれば、核酸は、コード化されたタンパクもしくはポリペプチドを宿主細胞の細胞膜に固定させるか、または該細胞の特定の小器官に細分化させるポリペプチドをコードする別の核酸との組合せで存在していてもよい。

【００７０】
好ましい実施形態では、組換えＤＮＡ分子は、本発明によれば、例えば本発明の腫瘍会合抗原をコードしている核酸などの、核酸の発現を制御する、必要に応じてプロモーターを有するベクターである。「ベクター」という用語は、ここでは、最も一般的な意味で使用されており、該核酸を例えば原核細胞および／または真核細胞に導入し、必要であれば、ゲノムにも統合することができる核酸の介在媒体を有している。この種のベクターは、細胞内に複製および／または発現することが好ましい。介在媒体は、例えば、エレクトロポレーション、マイクロプロジェクタイルでの衝撃、リポソーム投与、アグロバクテリア介在下での導入、またはＤＮＡもしくはＲＮＡウイルス介在による挿入に使用できるように適合してもよい。ベクターは、プラスミド、ファゲミド、バクテリオファージまたはウイルスゲノムを有する。

【００７１】
本発明によって特定された腫瘍会合抗原をコードする核酸は、宿主細胞のトランスフェクションに使用してもよい。ここで核酸は、組換えＤＮＡとＲＮＡ両方を意味する。組換えＲＮＡは、ＤＮＡテンプレートのｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写によって調整してもよい。さらに、利用する前に、配列を安定化、キャッピングおよびポリアデニル化することによって組換えＲＮＡを修飾することができる。本発明によれば、「宿主細胞」という用語は、外生的核酸により形質転換またはトランスフェクト可能なあらゆる細胞に関する。「宿主細胞」という用語は、本発明によれば、原核細胞（例えばＥ．ｃｏｌｉ）または真核細胞（例えば樹状細胞、Ｂ細胞、ＣＨＯ細胞、ＣＯＳ細胞、Ｋ５６２細胞、酵母細胞および昆虫細胞など）を含む。ただし、ヒト、マウス、ハムスター、ブタ、ヤギ、霊長類から取得した細胞など、哺乳動物の細胞が特に優先する。細胞は、多数の種類の組織に由来し、一次細胞および細胞株を有していてもよい。特別な例として、ケラチノサイト、末梢血白血球、骨髄の幹細胞および胎児幹細胞などが挙げられる。さらなる実施形態では、宿主細胞は、抗原提示細胞であり、特に樹状細胞、モノサイトまたはマクロファージである。核酸は、単一の複写または２つ以上の複写の形態で宿主細胞に存在し、さらにひとつの実施形態では、宿主細胞内に発現する。

【００７２】
本発明によれば、「発現」という用語は、最も一般的な意味で使用されており、ＲＮＡまたはＲＮＡとタンパクの産生を含む。これはさらに、核酸の部分的発現も含む。さらに、

発現は、過渡的にまたは安定的に実施可能である。哺乳動物細胞における好ましい発現系は、Ｇ４１８に対する遺伝子損傷抵抗（および安定的トランスフェクト細胞株を選択可能にする）およびサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）のエンハンサ／プロモータ配列など、選択的マーカを含むｐｃＤＮＡ３．１およびｐＲｃ／ＣＭＶ（Invitrogen, Carlsbad, CA）を有する。

【００７３】

ＨＬＡ分子が、腫瘍会合抗原またはその一部を提示する本発明の事例では、発現ベクターは、該ＨＬＡ分子をコードする核酸配列も有する。ＨＬＡ分子をコードする核酸配列は、腫瘍会合抗原またはその一部をコードする核酸と同じ発現ベクター上に存在していてもよいし、あるいは両核酸が、異なる発現ベクター上に存在していてもよい。後者の場合、２つの発現ベクターが細胞内にコトランスフェクトされうる。宿主細胞で、腫瘍会合抗原もしくはその一部またはＨＬＡ分子のいずれも発現しない場合には、それらをコードする両核酸が同じ発現ベクターまたは異なる発現ベクター上のいずれかで細胞にトランスフェクトされる。細胞がすでにＨＬＡ分子を発現している場合には、腫瘍会合抗原またはその一部をコードしている核酸配列だけしか、細胞にトランスフェクトすることができない。

【００７４】

本発明は、さらに、腫瘍会合抗原をコードしている核酸の増幅用キットも対象としている。このようなキットは、例えば、腫瘍会合抗原をコードしている核酸にハイブリダイズする、一組の増幅プライマーを有している。プライマーは、好ましくは、６－５０の配列、特に１０－３０、１５－３０および２０－３０の核酸の連続的ヌクレオチドを有しており、プライマーダイマーの形成が回避されるように重複していない。プライマーのひとつは、腫瘍会合抗原をコードしている核酸の一方の鎖とハイブリダイズし、もう一方のプライマーは、腫瘍会合抗原をコードしている核酸の増幅を可能にする配列における相補鎖とハイブリダイズする。

【００７５】

「アンチセンス」分子または「アンチセンス」核酸は、核酸発現の調節、特に還元使用することができる。「アンチセンス分子」または「アンチセンス核酸」という用語は、本発明によれば、オリゴヌクレオチド、オリゴデオキシリボヌクレオチド、修飾オリゴリボヌクレオチドもしくは修飾オリゴデオキシリボヌクレオチドであり、生理的条件下で特定の遺伝子を有するＤＮＡまたは該遺伝子のｍＲＮＡにハイブリダイズし、それによって該遺伝子の転写および／または該ｍＲＮＡの翻訳を阻害するオリゴヌクレオチドを表わす。本発明によれば、「アンチセンス分子」は、その天然プロモータに関して逆方向で核酸またはその一部を含んでいる構造も有している。核酸またはその一部のアンチセンスの転写は、酵素を特異化している自然発生ｍＲＮＡと二重鎖を形成し、したがって、活性酵素へのｍＲＮＡの蓄積または翻訳を抑止することができる。もうひとつ考えられるのが、核酸を不活性化するためのリボザイムの利用である。本発明にしたがった好ましいアンチセンスオリゴヌクレオチドは、６－５０の配列、特には１０－３０、１５－３０および２０－３０の標的核酸の連続的ヌクレオチドからなる配列を有し、好ましくは標的核酸またはその一部に完全に相補的である。

【００７６】

好ましい実施形態では、翻訳開始部位、転写開始部位、もしくはプロモータ部位などの、Ｎ末端部位、または５'上流部位とアンチセンスオリゴヌクレオチドがハイブリダイズする。さらなる実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、３'非翻訳領域またはｍＲＮＡスプライシング部位とハイブリダイズする。

【００７７】

ひとつの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチドまたはその複合体から成り、ひとつのヌクレオチドの５'端と別のヌクレオチドの３'端は、ホスホジエステル結合によって互いに結合する。これらのオリゴヌクレオチドは、従来方式で合成してもよいし、または組換え技術により産生してもよい。

【００７８】

好ましい実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、「修飾された」オリゴヌクレオチドである。ここで、例えばその安定性や治療上の効能を高めるために、その標的と結合する能力を損なうことなくオリゴヌクレオチドは、さまざまな方法で修飾可能である。本発明によれば、「修飾オリゴヌクレオチド」という用語は、（ｉ）そのヌクレオチドのうちの少なくとも２個が合成ヌクレオチド間結合によって相互に結合（すなわちホスホジエステル結合ではないヌクレオチド間結合）および／または（ｉｉ）通常核酸には認められない化学基がオリゴヌクレオチドに共有結合により結合しているようなオリゴヌクレオチドを意味する。好ましい合成ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート、アルキルホスホネート、ホスホロジチオエート、リン酸エステル、アルキルホスホノチオエート、ホスホラミデート、カルボメート、カルボネート、リン酸トリエステル、アセトアミデート、カルボキシメチルエステルおよびペプチドである。

【００７９】

「修飾オリゴヌクレオチド」という用語には、さらに、共有結合により修飾された塩基および／または糖を有するオリゴヌクレオチドが含まれる。「修飾オリゴヌクレオチド」には、例えば、３'の位置のヒドロキシル基および５'の位置のリン酸基以外の低分子量の有機基にそれぞれ共有結合により結合している糖残基を持つオリゴヌクレオチドが含まれる。修飾ヌクレオチドには、例えば、２'-Ｏ-アルキル化リボース残基またはアラビノースなど、リボースではなく別の糖を含んでいてもよい。

【００８０】

好ましくは、本発明に従って記述されているタンパクおよびポリヌクレオチドは単離されている。「単離タンパク」または「単離ポリペプチド」という用語は自然の環境から、タンパクやポリペプチドが分離されていることを意味する。単離タンパクまたは単離ポリペプチドは、基本的に精製された状態にしておくことができる。「基本的に精製された」という用語は、タンパクまたはポリペプチドが、天然またはｉｎ ｖｉｖｏでそれを会合せしめる他の物質を基本的に持たないことを意味する。

【００８１】

このようなタンパクおよびポリペプチドは、例えば、抗体の産生および免疫学的検査、または診断のための検査、あるいは治療薬として使用することができる。本発明に従って記載されているタンパクおよびポリペプチドは、組織や細胞のホモジェネートなどの生体標本から単離させ、さらに多種多様な原核細胞または真核細胞の発現系で組換えにより発現することも可能である。

【００８２】

本発明の目的のため、タンパクもしくはポリペプチドまたはアミノ酸配列の「誘導体」は、アミノ酸挿入変異体、アミノ酸欠失変異体および／またはアミノ酸置換変異体を有している。

【００８３】

アミノ酸挿入変異体は、アミノ末端融合部および／またはカルボキシ末端融合部を含み、さらに特定のアミノ酸配列内の単一または２個以上のアミノ酸の挿入部も含む。挿入部を有するアミノ酸配列変異体の場合、一つ以上のアミノ酸残基が、アミノ酸配列内の特定部位に挿入されているが、生じた産物の適切なスクリーニングによるランダムインサーションも可能である。アミノ酸欠失変異体は、配列から一つ以上のアミノ酸が除去されることによって特長づけられる。アミノ酸置換変異体は、配列内の少なくとも一つの残基が除去され、別の残基がその場に挿入されていることを特長とする。同種タンパクまたはポリペプチド間で保存されないアミノ酸配列内の位置での修飾が優先される。側鎖などの疎水性、親水性、電気陰性度、体積などといった類似した特性を持つ他のアミノ酸との交換が優先する（保存置換）。例えば保存置換は、置換すべきアミノ酸と同じ基における、下記に列挙した別のアミノ酸との交換に関する。

１．小さな脂肪族、非極性もしくは弱極性残基：Ａｌａ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ（Ｐｒｏ、Ｇｌｙ）

２．負荷電残基およびそれらのアミド：Ａｓｎ、Ａｓｐ、Ｇｌｕ、Ｇｌｎ

３．正荷電残基：Ｈｉｓ、Ａｒｇ、Ｌｙｓ
４．大きな脂肪族、非極性残基：Ｍｅｔ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、Ｖａｌ（Ｃｙｓ）
５．大きな芳香族残基：Ｐｈｅ、Ｔｙｒ、Ｔｒｐ。

【００８４】
タンパク構造における特定の部分のため、括弧で三つの残基をくくって示してある。Ｇｌｙは、側鎖がない唯一の残基で、側鎖に可塑性を与える。Ｐｒｏは、側鎖を大きく制限する異常な形状を有している。Ｃｙｓは、ジスルフィド架橋を形成することができる。

【００８５】
上記のアミノ酸変異体は、例えば、固相合成（Merrifield, 1964）および類似の方法または組換えＤＮＡ操作によってなど、既知のペプチド合成技術を活用してすぐに調整可能である。既知の配列または部分的に既知の配列を有するＤＮＡに規定の部位の置換突然変異を導入するための技術はよく知られており、例えばＭ１３突然変異誘発を有する。置換、挿入または欠失を含むタンパクを調整するためのＤＮＡ配列の操作については、例えば、Sambrookら(1989)に詳細な説明がある。

【００８６】
本発明によれば、タンパクまたはポリペプチドの「誘導体」は、炭水化物、脂質および／またはタンパクもしくはポリペプチドなどの酵素と会合するいずれかの分子の単一または複数の置換部、欠失部および／または追加部も含む。「誘導体」という用語は、該タンパクまたはポリペプチドの機能的化学的同等物すべてにまで適応可能である。

【００８７】
本発明によれば、腫瘍会合抗原の一部またはフラグメントは、由来元のポリペプチドの機能的特性を有している。このような機能的特性には、抗体との相互作用、他のポリペプチドまたはタンパクとの相互作用、核酸の選択的結合および酵素活性などがある。特定の特性として、ＨＬＡとの複合体を形成する能力があるが、適切な場合には免疫反応も生じる。この免疫反応は、細胞毒性細胞またはＴヘルパー細胞の刺激を利用することができる。本発明の腫瘍会合抗原の一部またはフラグメントは、少なくとも６個の、特には少なくとも８個の、少なくとも１０個の、少なくとも１２個の、少なくとも１５個の、少なくとも２０個の、少なくとも３０個のもしくは少なくとも５０個の腫瘍会合抗原の連続したアミノ酸からなる配列を有することが望ましい。腫瘍会合抗原の一部またはフラグメントは、非透過膜部分、特には抗原の細胞外部分に一致する腫瘍会合抗原の一部であるかまたはそれらで構成されていることが好ましい。

【００８８】
本発明によれば、腫瘍会合抗原をコードしている核酸の一部もしくはフラグメントは、少なくとも腫瘍会合抗原および／または上記のように該腫瘍会合抗原の一部もしくはフラグメントをコードしている核酸の一部に関する。好ましくは、腫瘍会合抗原をコードしている核酸の一部もしくはフラグメントは、特に配列リストに示されているような、オープンリーディングフレームに一致する部分である。

【００８９】
腫瘍会合抗原をコードしている遺伝子の単離と特定により、一つ以上の腫瘍会合抗原の発現により特長づけられる疾患の診断も可能になる。これらの方法には、腫瘍会合抗原をコードしている一つ以上の核酸の判定および／またはコードされた腫瘍会合抗原の判定および／または、それらに由来するペプチドの判定の各プロセスが含まれる。核酸は、ポリメラーゼ連鎖反応またはラベル標識したプローブとのハイブリダイゼーションなどによって、従来方式で判定することができる。腫瘍会合抗原またはそれらに由来するペプチドは、抗原および／またはペプチドの認識に関して、患者の抗血清のスクリーニングによって判定できる。これらはまた、対応する腫瘍会合抗原に対する特異性について患者のＴ細胞をスクリーニングすることによっても判定できる。

【００９０】
本発明は、本章に記載の腫瘍会合抗原に結合しているタンパクが、該腫瘍会合抗原の抗体や細胞結合パートナなど、本章に記載されている腫瘍会合抗原の単離を可能にする。

【００９１】
本発明によれば、特定の実施形態は腫瘍会合抗原に由来する「ドミナントネガティブ」なポリペプチドの提供に関わるはずである。ドミナントネガティブなポリペプチドは、不活性タンパク変異体であり、細胞装置と相互作用することにより細胞装置とのその相互作用から活性タンパクを置き換えるか、または活性タンパクと競合するそれによって該活性タンパクの効果を低下させる。例えば、リガンドに結合するが、リガンドに対する結合への反応として信号を生成しないドミナントネガティブ受容体は、該リガンドの生体効果を停滞させる。同様に、標的タンパクと通常相互作用するが、該標的タンパクをリン酸化しないようなドミナントネガティブな触媒作用非活性キナーゼは、細胞信号への反応として、該標的タンパクのリン酸化を停滞させる可能性がある。同様に、遺伝子の制御領域におけるプロモータ部位に結合しているが、該遺伝子の転写を増加させないドミナントネガティブ転写要因は、転写を増大させずに、プロモータ結合部位を占有することによって正常な転写要因の影響を低減する可能性がある。

【００９２】
細胞内におけるドミナントネガティブポリペプチドの発現の結果として、活性タンパクの機能が低下する。当業者は、例えば、従来の突然変異誘発法や変異体ポリペプチドのドミナントネガティブの影響を評価することによってタンパクのドミナントネガティブ変異体を調整することができる。

【００９３】
本発明には、腫瘍会合抗原に結合するポリペプチドなどの物質も含まれる。このような結合物質は、例えば、腫瘍会合抗原とその結合パートナとの複合体の検出を目的としたスクリーニング検定で、および該腫瘍会合抗原とその結合パートナとの複合体の精製で、使用することができる。このような物質は、例えばこのような抗原に結合することによって腫瘍会合抗原の活性を阻害するのに使用することもできる。

【００９４】
したがって、本発明には、例えば、腫瘍会合抗原に選択的に結合することができる抗体または抗体フラグメントなどの結合物質が含まれる。抗体には、従来方式で産生されるポリクローナルおよびモノクローナル抗体が含まれる。

【００９５】
抗体分子の小さな断片すなわちパラトープだけが、そのエピトープに対する抗体の結合に関与するということが知られている（Clark, W.R. (1986), The Experimental Foundations of Modern Immunology, Wiley & Sons, Inc., New York; Roitt, I. (1991), Essential Immunology, 7th Edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford参照）。ｐＦｃ'およびＦｃ領域は、例えば、相補的カスケードのエフェクタであるが、抗原結合には関与しない。ｐＦｃ'領域が酵素によって除去される元の抗体、または$F(ab')_2$フラグメントと呼ばれるｐＦｃ'領域を伴わずに産生される抗体は、完全な抗体の両抗原結合部位を担持する。同様に、Ｆｃ領域が酵素により削除される元の抗体、またはＦａｂフラグメントと呼ばれる該Ｆｃ領域なしで産生される抗体は、完全な抗体分子のひとつの抗原結合部位を担持する。さらに、Ｆａｂフラグメントは、抗体の共有結合Ｌ鎖およびＦｄと呼ばれる前記抗体のＨ鎖の一部からなっている。Ｆｄフラグメントは、抗体特異性の主要な決定要因であり、（ひとつのＦｄフラグメントが、抗体の特異性を変えずに、各種１０種類のＬ鎖までと会合することができる）および単離されたときにエピトープに結合する能力を維持するＦｄフラグメントである。

【００９６】
抗体の抗原結合部分内に局在化しているのがパラトープの三次構造を維持している抗原エピトープおよびフレームワーク領域（ＦＲ）と直接相互作用する相補的決定領域（ＣＤＲ）である。ＩｇＧ免疫グロブリンのＨ鎖とＬ鎖の両方のＦｄフラグメントは、それぞれ、３個の相補的決定領域（ＣＤＲ１～ＣＤＲ３）で分離される、４個のフレームワーク領域（ＦＲ１～ＦＲ４）を含んでいる。ＣＤＲおよび特にＣＤＲ３領域とさらに特にはＨ鎖のＣＤＲ３領域は、抗体特異性に関してかなりの程度まで関与している。

【００９７】
哺乳動物抗体の非ＣＤＲ領域は、同じ特異性または異なる特異性を持つ抗体の類似した領域によって置き換えられることが知られており、元の抗体のエピトープに対する特異性が保持されている。その結果、非ヒトＣＤＲが、機能的抗体を産生するためにヒトＦＲおよび／またはＦｃ／ｐＦｃ'領域に共有結合により結合している「ヒト化」抗体の開発が可能となった。
【００９８】
例えば、ＷＯ９２／０４３８１には、マウスＦＲ領域の少なくとも一部がヒト起源のＦＲ領域と置き換えられているヒト化マウスＲＳＶ抗体の産生および使用についての記載がある。抗体結合能を有する完全な抗体のフラグメントを含むこの種の抗体は、多くの場合「キメラ」抗体と呼ばれている。
【００９９】
本発明は、抗体のＦ（ａｂ'）$_2$、Ｆａｂ、Ｆｖ、およびＦｄの各フラグメント、Ｆｃおよび／またはＦＲおよび／またはＣＤＲ１および／またはＣＤＲ２および／またはＬ鎖ＣＤＲ３領域が、同種ヒトまたは非ヒト配列と置き換えられているキメラ抗体、ＦＲおよび／またはＣＤＲ１および／またはＣＤＲ２および／またはＬ鎖ＣＤＲ３領域が同種ヒトまたは非ヒト配列と置き換えられているキメラＦ（ａｂ'）$_2$フラグメント抗体、ＦＲおよび／またはＣＤＲ１および／またはＣＤＲ２および／またはＬ鎖ＣＤＲ３領域が同種ヒトまたは非ヒト配列と置き換えられているキメラＦａｂフラグメント抗体および、ＦＲおよび／またはＣＤＲ１および／またはＣＤＲ２領域が、同種ヒトまたは非ヒト配列と置き換えられているキメラＦｄフラグメント抗体も提供する。本発明は、単鎖抗体も含む。
【０１００】
好ましくは、本発明にしたがって使用される抗体は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、６１－６８、７０、７２、７４、７６、８１、８２、８６、８８、９６－１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１、１１３もしくはその一部またはその誘導体による配列の一つと対向し、さらには／あるいはこれらペプチドを使用した免疫化によって取得されうる。
【０１０１】
本発明は、腫瘍会合抗原に特異的に結合するポリペプチドも含んでいる。この種のポリペプチド結合物質は、例えば、固定形態またはファージ提示ライブラリとして溶液中に簡単に調整することができる変性ペプチドライブラリによって提供される。同様に、ひとつまたは複数のアミノ酸をと組み合わせたペプチドライブラリを調整することも可能である。ペプトイドおよび非ペプチド合成残基のライブラリも調整できる。
【０１０２】
ファージ提示は、本発明の結合ペプチドを特定する際に特に有効である。例えば、これに関しては（例えばＭ１３、ｆｄまたはラムダファージを使用して）、長さが４個～約８０個のアミノ酸残基からなる挿入部分を提示するファージライブラリが調整される。次に、腫瘍会合抗原に結合する挿入部分を担持するファージを選択する。このプロセスは、腫瘍会合抗原に結合するファージを再度選択する２回以上のサイクルを通じて繰り返される。このサイクルを繰り返すと、特定の配列を担持するファージを集中化させることができる。DNA配列の分析は、発現したポリペプチドの配列を特定する目的で実施することができる。腫瘍会合抗原に結合する結合する配列の最小の線形部分を判定できる。酵母の「二種ハイブリッド系」もまた腫瘍会合抗原に結合するポリペプチドを特定するのに使用することができる。本発明にしたがって記述されている腫瘍会合抗原またはそのフラグメントは、腫瘍会合抗原のペプチド結合パートナを特定および選択する目的で、ファージ提示ライブラリをはじめとするペプチドライブラリをスクリーニングするのに使用することができる。このような分子は、例えば、スクリーニング検査、精製プロトコル、腫瘍会合抗原の機能との相互作用および当業者に既知のその他の目的で使用することができる。
【０１０３】
上記の抗体および他の結合分子は、例えば、腫瘍会合抗原を発現している組織を特定する

のに使用できる。抗体は、腫瘍会合抗原を発現している細胞および組織を提示するため、特異的診断物質に共役させることもできる。これらは、治療上有効な物質に共役することが可能である。診断物質は、無制限に、硫酸バリウム、ヨーセタム酸、イオパン酸、カルシウムイポデート、ソジウムジアトリゾアート、メグルミンジアトリゾアート、メトリザミド、ソジウムチロパノエートおよびフロリン１８およびカーボン１１などのポジトロン放射体、イオジン１２３、テクネチウム９９ｍ、イオジン１３１およびインジウム１１１などのガンマ放射体を含む放射診断薬、フッ素およびガドリニウムなどの核磁気共鳴の核種を含んでいる。本発明によれば、「治療上有用な物質」という用語は、所望なら、抗がん剤、放射性ヨウ素標識化合物、トキシン、細胞増殖抑制剤または細胞溶解剤などをはじめとする、ひとつまたは複数の腫瘍会合抗原を発現する細胞に選択的に誘導される治療用分子を意味する。抗がん剤には例えば、アミノグルテチミド、アザチオプリン、ブレオマイシンスルフェート、ブスルファン、カルムスティン、クロラムブシル、シスプラチン、シクロフォスファミド、シクロスポリン、シタラビディン（cytarabidine）、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルビン（daunorubin）、ドキソルビシン、タクソール、エトポシド、フルオロウラシル、インターフェロン 、ロムスチン、メルカプトプリン、メトトレキサート、ミトーテン、プロカルバジン、ＨＣｌ、チオグアニン、ビンブラスチンスルフェートおよびビンクリスチンスルフェートなどが含まれる。例えば、Goodman やGilman "The Pharmacological Basis of Therapeutics", 8th Edition, 1990, McGraw-Hill, Inc., in particular Chapter 52 (Antineoplastic Agents (Paul Calabresi and Bruce A. Chabner)には、別の抗がん剤が記載されている。トキシンは、ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク、コレラ毒素、百日咳毒素、リシン、ゲロニン、アブリン、ジフテリアエキソトキシンまたは緑膿菌（Pseudomonas） エキソトキシンなどのタンパクであってよい。トキシン残基は、コバルト６０などの高エネルギー放出放射性核種であってもよい。

【０１０４】

「患者」という用語は、本発明によれば、ヒト、非ヒト霊長類またはその他の動物、特には、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコまたはマウスやラットなどのげっ歯目といった哺乳動物を意味する。特定の好ましい実施形態では、患者はヒトである。

【０１０５】

本発明によれば、「疾患」という用語は、腫瘍会合抗原が発現しているかまたは異常に発現している病的状態を表す。「異常発現」とは、本発明によれば、発現が変性され、好ましくは発現量が改変され、好ましくは、健常な個体に比べ増加していることを意味する。発現量の増加は、少なくとも１０％、特には少なくとも２０％、少なくとも５０％または少なくとも１００％の増加を表す。ひとつの実施形態では、腫瘍会合抗原は、疾患のある個体の組織内でのみ発現するが、その一方で、健常な個体における発現は抑制される。このような疾患のひとつの例ががん、それも特に、セミノーマ、メラノーマ、テラトーマ、グリオーマ、大腸がん、直腸がん、腎がん、乳がん、前立腺がん、子宮がん、卵巣がん、子宮内膜がん、食道がん、血液がん、肝がん、膵がん、皮膚がん、脳腫瘍および肺がん、リンパ腫および神経芽細胞種である。その例として肺腫瘍、乳房腫瘍、前立腺腫瘍、大腸腫瘍、腎細胞がん、子宮頸がん、大腸がん、および乳ガンまたは上記がん腫もしくは腫瘍の転移が挙げられる。

【０１０６】

本発明によれば、生体標本は、組織標本および／または細胞標本であってもよく、さらにパンチ生検をはじめとする組織生検および血液採取、気管支吸引、尿、大便またはその他の体液など本明細書記載の各種方法で使用するための採取など従来の方法で取得することができる。

【０１０７】

本発明によれば、「免疫反応細胞」という用語は、（Ｂ細胞、Ｔヘルパー細胞または細胞溶解性Ｔ細胞など）好適な刺激により、成熟して免疫細胞となることができる細胞を意味する。免疫反応細胞には、$CD34^{+}$造血性肝細胞、未成熟および成熟Ｔ細胞および未成熟および成熟Ｂ細胞などが含まれる。腫瘍会合抗原を認識する細胞溶解性細胞またはＴヘ

ルパー細胞の産生が望ましい場合には、免疫反応細胞を細胞溶解性Ｔ細胞およびＴヘルパー細胞の産生、分化および／または選択を促進する条件下で腫瘍会合抗原を発現する細胞と接触させる。抗原に暴露させたときに、細胞溶解性Ｔ細胞に対するＴ細胞前駆体の分化は、免疫系のクローン選択と同じである。

【０１０８】

一部の治療法は、一つまたは複数の腫瘍会合抗原を提示するガン細胞などの抗原提示細胞を結果的に溶解させる、患者の免疫系の反応に基づいている。これに関しては、例えば腫瘍会合抗原とＭＨＣ分子の複合体に特異的な自己細胞毒性Ｔリンパ球を細胞異常の患者に投与する。ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおけるこのような細胞毒性Ｔリンパ球の産生は、すでに知られている。Ｔ細胞を分化させる方法の例が、ＷＯ－Ａ－９６／３３２６５に記載されている。一般に、血液細胞などの細胞を含む標本を患者から採取し、採取した細胞を、複合体を提示し、細胞毒性Ｔリンパ球（例えば樹状細胞など）の増殖を生じさせる細胞と接触させる。標的細胞は、ＣＯＳ細胞などのトランスフェクト細胞であってよい。これらのトランスフェクト細胞は、表面に所望の複合体を提示し、細胞毒性Ｔリンパ球と接触させると、後者の増殖を刺激する。クローンにより拡張された自己細胞毒性Ｔリンパ球を次に患者に投与する。

【０１０９】

抗原特異的細胞毒性Ｔリンパ球を選択する別の方法では、ＭＨＣクラスＩ分子／ペプチド複合体の蛍光発生四量体が細胞毒性Ｔリンパ球の特異的クローンを検出するのに使用されている（Altman et al., Science 274:94-96, 1996; Dunbar et al., Curr. Biol. 8:413-416, 1998）。可溶性ＭＨＣクラスＩ分子は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏではβ_2マイクログロブリンと該クラスＩ分子に結合しているペプチド抗原下で折りたたまれている。ＭＨＣ／ペプチド複合体を精製し、次いでビオチンによってラベル標識する。四量体は、モル比４：１で、ラベル標識したアビジン（フィコエリスリンなど）と共に、ビオチン化ペプチド－ＭＨＣ複合体を混合することによって形成される。次に四量体を末梢血やリンパ節などの細胞毒性Ｔリンパ球と接触させる。四量体は、ペプチド抗原／ＭＨＣクラスＩ複合体を認識する細胞毒性Ｔリンパ球と結合する。四量体に結合している細胞を、反応性細胞毒性Ｔリンパ球を単離するため蛍光制御細胞分類法によって分類することができる。単離した細胞毒性Ｔリンパ球を次にｉｎ　ｖｉｔｒｏで増殖させてもよい。

【０１１０】

養子免疫伝達と呼ばれている治療法では（Greenberg, J. Immunol. 136(5):1917, 1986; Riddel et al., Science 257:238, 1992; Lynch et al., Eur. J. Immunol. 21:1403-1410, 1991; Kast et al., Cell 59:603-614, 1989）、所望の複合体（例えば樹状細胞）提示している細胞は、治療する患者の細胞毒性Ｔリンパ球と組み合わさり、特異的細胞毒性Ｔリンパ球の増殖が生じる。増殖された細胞毒性Ｔリンパ球を次いで、特異的複合体を提示している特定の異常細胞によって特長づけられる細胞異常のある患者に投与する。次に細胞毒性Ｔリンパ球が異常細胞を溶解しこれにより所望の治療効果が達成される。

【０１１１】

多くの場合、患者のＴ細胞レパートリーのうち、この種の特異的複合体に低いアフィニティを有するＴ細胞だけしか増殖できない。というのは高アフィニティを有する細胞は、耐性の発生によって消滅しているからである。ここにおける代替法が、Ｔ細胞受容体そのものの転移である。この場合も、所望の複合体（例えば樹状細胞）を提示している細胞を健全な個体の細胞毒性Ｔリンパ球と組み合わせる。その結果、供与体がまだ特異的複合体と接触していない場合には高アフィニティを有する特異的細胞毒性Ｔリンパ球の増殖が生じる。これら増殖された特異的Ｔリンパ球のＴ細胞の高アフィニティ受容体をクローン化し、所望のように、他の患者のＴ細胞に、例えばレトロウイルスベクターなどを使用して遺伝子導入を通じて形質導入することができる。次に、これらの遺伝子改変されたＴリンパ球を用いて、養子免疫伝達を実施する（Stanislawski et al., Nat Immunol. 2:962-70, 2001; Kessels et al., Nat Immunol. 2:957-61, 2001）。

【０１１２】

上記の治療態様は、患者の異常細胞の少なくとも一部が腫瘍会合抗原とＨＬＡ分子の複合体を提示するという事実に根ざしている。このような細胞は、それ自体よく知られた方法で特定することができる。複合体を提示している細胞が特定されると同時に、これらは細胞毒性Ｔリンパ球を含む患者から得られた標本と組み合わすことができる。細胞毒性Ｔリンパ球が複合体を提示している細胞を溶解する場合には、腫瘍会合抗原が提示されていると想定することができる。

【０１１３】

養子免疫伝達は、本発明にしたがって適応可能な治療の唯一の形態というわけではない。細胞毒性Ｔリンパ球は、それ自体知られた方法でｉｎ　ｖｉｖｏで生成することも可能である。ひとつの方法では、複合体を発現している非増殖性細胞が用いられる。ここで使用する細胞は、照射腫瘍細胞などの通常複合体を発現している細胞または複合体（すなわち抗原性ペプチドと提示ＨＬＡ分子）の提示に必要なひとつの遺伝子または両遺伝子をトランスフェクトした細胞である。さまざまな型の細胞を使用できる。さらに、問題の遺伝子のひとつまたは両方を担持するベクターを使用することも可能である。ウイルス性ベクターおよびバクテリアベクターが特に優先される。例えば、腫瘍会合抗原もしくはその一部をコードする核酸は、該腫瘍会合抗原または特定の組織または細胞型におけるそのフラグメントの発現を制御するプロモータおよびエンハンサ配列に機能的に連携しうる。核酸は、発現ベクターに取り込んでもよい。発現ベクターは、外生的核酸が挿入される先の未修飾染色体外核酸、プラスミドまたはウイルスゲノムでよい。腫瘍会合抗原をコードしている核酸は、レトロウイルスゲノムにも挿入可能であり、したがって標的組織または標的細胞のゲノムに核酸を組み込むことが可能である。これらの系では、ワクチンウイルス、ポックスウイルス、単純ヘルペスウイルス、レトロウイルスまたはアデノウイルスなどの微生物が問題の遺伝子を担持し、事実上宿主細胞に「感染」する。もうひとつの好ましい形態は、例えば、リポソーム導入またはエレクトロポレーションによって細胞に導入することができる組み換えＲＮＡの形態での腫瘍会合抗原の導入である。生成された細胞は、問題の複合体を提示し、自己細胞毒性Ｔリンパ球によって認識され、これが次に増殖する。

【０１１４】

同様の効果が、ｉｎ　ｖｉｖｏにおける抗原提示細胞への取り込みを可能にするため、アジュバントと腫瘍会合抗原またはそのフラグメントとを結合させることによって達成することができる。腫瘍会合抗原またはそのフラグメントは、タンパク、ＤＮＡ（例えばベクター内で）もしくはＲＮＡとして提示可能である。腫瘍会合抗原が処理され、ＨＬＡ分子のペプチドパートナを産生する一方で、そのフラグメントはそれ以上処理を行わなくても提示することができる。後者は、特に、これらがＨＬＡ分子に結合できる場合には、該当する。完全な抗原が樹状細胞によってｉｎ　ｖｉｖｏで処理される投与形態が優先される。というのは、これはさらに、効果的免疫反応に必要なＴヘルパー細胞反応をも生み出すことができるからである（Ossendorp et al., Immunol Lett. 74:75-9, 2000; Ossendorp et al., J. Exp. Med. 187:693-702, 1998）。一般に、効果的量の腫瘍会合抗原を例えば皮内注射によって患者に投与することができる。ただし、注射は、リンパ節に節内注射によって実施することも可能である（Maloy et al., Proc Natl Acad Sci USA 98:3299-303, 2001）。これはまた、樹状細胞に対する取り込みを促進する試薬との組合せで行ってもよい。好ましい腫瘍会合抗原には、多くのがん患者の異質遺伝子型のがん抗血清またはＴ細胞と反応する抗原が含まれる。しかしながら、特に問題となるのは、この抗原に対する自然免疫反応が事前に存在していないことである。腫瘍を溶解可能なこれらの免疫反応に対して誘導できることが可能なのは明らかである（Keogh et al., J. Immunol. 167:787-96, 2001; Appella et al., Biomed Pept Proteins Nucleic Acids 1:177-84, 1995; Wentworth et al., Mol Immunol. 32:603-12, 1995）。

【０１１５】

本発明にしたがって記載されている医薬品組成物はまた、免疫化のためのワクチンとして使用することもできる。本発明によれば、「免疫化」または「ワクチン接種」という用語は、抗原に対する免疫反応の増強または活性化を意味している。腫瘍会合抗原またはそれ

をコードしている核酸を使用することによってがんに対する免疫効果を試験するための動物モデルを使用することもできる。例えば、ヒトがん細胞をマウスに導入して腫瘍を発生させ、腫瘍会合抗原をコードしている一つまたは複数の核酸を投与することもできる。がん細胞の影響（例えば腫瘍の大きさの縮小）を核酸の免疫化の効果の指標として測定することもできる。

【０１１６】

免疫化のための組成の一部として、一つ以上の腫瘍会合抗原またはその刺激性フラグメントを、免疫反応を誘発させたりあるいは増大させたりする目的で、一つ以上のアジュバントと一緒に投与する。アジュバントは、抗原に取り込むかまたは後者とともに投与し、免疫反応を増強させる物質である。アジュバントは、抗原リザーバ（細胞外またはマクロファージ内）を提供し、マクロファージを活性化し、さらには特定のリンパ球を刺激することによって免疫反応を増強させることができる。アジュバントは既知であり、無制限な方法でモノホスホリルリピドＡ（MPL, SmithKline Beecham）、ＱＳ２１などのサポニン（SmithKline Beecham）、DQS21（SmithKline Beecham; WO 96/33739）、QS7、QS17、QS18およびQS-L1（So et al., Mol. Cells 7:178-186, 1997）、不完全フロイントアジュバント、完全フロイントアジュバント、ビタミンＥ、モンタニド、ミョウバン、ＣｐＧオリゴヌクレオチド（Krieg ら, Nature 374:546-9, 1995を参照）およびスクアランおよび／またはトコフェロールなどといった生体分解性オイルから調整した各種油中水的エマルジョンを含んでいる。ペプチドをＤＱＳ２１／ＭＰＬと混合して投与することが好ましい。ＤＱＳ２１のＭＰＬ　比は、通常約１：１０～１０：１で、好ましくは約１：５～５：１および特には約１：１である。ヒトに対する投与の場合、ワクチン剤形には通常約１μｇ～約１００μｇの範囲のＤＱＳ２１とＭＰＬが含有されている。

【０１１７】

患者の免疫反応を刺激する他の物質を投与することもできる。例えば、リンパ球に対する調節特性により、ワクチン接種でサイトカインを用いることも可能である。このようなサイトカインは、例えば、ワクチンの予防活性を増大することが判明しているインターロイキン－１２（ＩＬ－１２）（Science 268:1432-1434, 1995を参照）、ＧＭ－ＣＳＦおよびＩＬ－１８などが含まれる。

【０１１８】

免疫反応を増強し、したがってワクチン接種に使用することができる化合物は多数存在している。該化合物には、タンパクや核酸の形態で提供される供刺激性分子が含まれる。このような供刺激性分子の例として、樹状細胞（ＤＣ）上に発現し、Ｔ細胞上に発現しているＣＤ２８分子と相互作用するＢ７－１およびＢ７－２（それぞれＣＤ８０およびＣＤ８６）がある。この相互作用は、抗原／ＭＨＣ／ＴＣＲで刺激（信号１）されたＴ細胞の供刺激（信号２）を提供するので、これによって該Ｔ細胞とエフェクタ機能の増殖が増強される。　Ｂ７は、Ｔ細胞上の　ＣＴＬＡ４　（ＣＤ１５２）とも相互作用し、ＣＴＬＡ４およびＢ７リガンドに関する研究結果からＢ７－ＣＴＬＡ４間の相互作用が、抗腫瘍免疫性およびＣＴＬ増殖を増強できることが明らかとなった（Zheng, P. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95(11):6284-6289 (1998)）。

【０１１９】

Ｂ７は通常は、腫瘍細胞上には発現しないので、これらはＴ細胞の効果的抗原提示細胞（ＡＰＣ）ではない。Ｂ７発現の誘発により、腫瘍細胞が細胞毒性Ｔリンパ球とエフェクタ機能のさらに効果的な増殖を刺激することができる。Ｂ７／ＩＬ－６／ＩＬ－１２の組合せによる供刺激が、Ｔ細胞集団でＩＦＮガンマおよびＴｈ１サイトカインプロファイルが誘発され、さらにＴ細胞活性を増強することを明らかにした（Gajewski et al., J. Immunol. 154:5637-5648 (1995)）。

【０１２０】

細胞毒性Ｔリンパ球および完全エフェクタ機能の完全な活性化には、該Ｔヘルパー細胞上のＣＤ４０リガンドと樹上細胞によって発現したＣＤ４０分子間の相互作用を通じたＴヘルパー細胞の関与が必要である（Rid et al., Nature 393:474 (1998), Bennett et al.,

Nature 393:478 (1998), Schonberger et al., Nature 393:480 (1998))。この供刺激信号のメカニズムはおそらく、該樹状細胞（抗原提示細胞）によるＢ７産生および会合したＩＬ－６／ＩＬ－１２産生における増加に関係があると思われる。ＣＤ４０－ＣＤ４０Ｌの相互作用はしたがって信号１（抗原／ＭＨＣ－ＴＣＲ）と信号２（Ｂ７－ＣＤ２８）の相互作用を補完している。

【０１２１】

樹状細胞を刺激するための抗ＣＤ４０抗体の使用は、通常炎症反応の範囲外であるかまたは非専門的な抗原提示細胞（腫瘍細胞）によって提示される腫瘍抗原に対する反応を直接増強させることが期待される。このような状況の下に、ＴヘルパーおよびＢ７供刺激信号は提供されていない。このメカニズムは、抗原パルス化樹状細胞に基づいた治療法と関連して、またはＴヘルパーエピトープが既知のＴＲＡ前駆体で定義されていないような状況下で使用することができる。

【０１２２】

本発明は、核酸、ポリペプチドまたはペプチドの投与も可能にする。ポリペプチドとペプチドは、それ自体既知の方法で投与することができる。ひとつの実施形態では、核酸はｅｘ　ｖｉｖｏ法によってすなわち患者から細胞を取り出すことによって、前記細胞を遺伝子修飾して腫瘍会合抗原を取り込むことによって、さらには変性した細胞を患者に再度導入することによって、投与されている。これは、概して、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで患者の細胞に遺伝子の機能的複写を導入するプロセスと患者に遺伝的に変性された細胞を再度導入するプロセスとが含まれる。遺伝子の機能的複写は、遺伝的に変性された細胞に遺伝子を発現させる調節要素の機能的な制御下で行われる。トランスフェクション法および形質導入法は、当業者によく知られている。本発明は、ウイルスや標的制御リポソームなどのベクターを用いることによりｉｎ　ｖｉｖｏで核酸を投与するのを可能にする。

【０１２３】

好ましい実施形態では、腫瘍会合抗原をコードする核酸を投与するためのウイルスベクターは、アデノウイルス、アデノ会合ウイルス、ワクチンウイルスや弱毒化ポックスウイルスなどを含むポックスウイルス、セムリキフォレストウイルス、レトロウイルス、シンドビスウイルスおよびTyウイルス様分子などから成る群から選択される。アデノウイルスとレトロウイルスが、特に優先される。レトロウイルスは通常、複製欠失型である（すなわちこれらは感染粒子を生成することが不可能である）。

【０１２４】

ｉｎ ｖｉｔｒｏまたはｉｎ ｖｉｖｏで細胞内に本発明により核酸を導入するためには各種方法を利用できる。この種の方法には、核酸$CaPO_4$沈殿物のトランスフェクション、ＤＥＡＥと会合した核酸のトランスフェクション、問題の核酸を担持する上記ウイルスのトランスフェクションまたはインフェクション、リポソーム介在トランスフェクションなどが含まれる。特定の実施形態では、特定の細胞への核酸の方向付けが優先する。このような実施形態では、細胞に核酸を投与するのに使用されている担体（例えば、レトロウイルスまたはリポソーム）が結合標的制御分子を備えることができる。例えば、標的細胞上の表面膜タンパクに特異的抗体または標的細胞上の受容体に特異的リガンドなどといった分子を、核酸担体に取り込んだりあるいは吸着させることができる。好ましい実施形態には、好ましい抗体として、腫瘍会合抗原と選択的に結合する抗体があげられる。リポソームを介した核酸の投与が必要な場合、エンドサイトーシスに関連付けられる表面膜タンパクに結合しているタンパクをリポソーム剤形に取り込んで標的制御および／または摂取を可能にすることができる。このようなタンパクには、特定の細胞型に特異的なキャプシドタンパクまたはそのフラグメント、内在化されているタンパクに対する抗体、細胞内部位を所在指定するタンパクなどが含まれる。

【０１２５】

本発明の医薬品組成物は、薬学に適合する製剤として投与可能である。このような製剤には一般に、薬学的に適合する濃度の塩、緩衝的物質、防腐剤、担体、アジュバント（例えば、ＣｐＧオリゴヌクレオチド）やサイトカインなどの補足免疫増強物質ならびに必要に

応じて、その他の治療的活性化合物が含まれる。

【０１２６】

本発明の治療的活性化合物は、注射や注入など、任意の従来の経路を介して投与することができる。例えば、経口、皮下注射、腹腔内注射、筋肉注射、皮下注射あるいは経皮投与などの投与を実施できる。好ましくは、抗体は、肺吸入エアロゾルによって治療の現場で投与されることが好ましい。アンチセンス核酸は、徐放静脈注射で投与することが好ましい。

【０１２７】

本発明の組成物は、効果的量で投与される。「効果的量」とは、所望の反応もしくは所望の効果単独または追加投与でその両方を達成できる量を表す。特定の疾患または一つ以上の腫瘍会合抗原の発現によって特長付けられる特定の病態を治療する場合、所望の反応は、疾患の進行の抑制に関連付けられる。これには、疾患の進行を低速化させること、さらには特に、疾患の進行を中断させることが含まれる。疾患の治療または病態の治療における所望の反応も、該疾患または該病態の兆候の遅滞または予防でもあり得る。

【０１２８】

本発明の組成物の効果的量は、治療する病態、疾患の重篤度、年齢、生理学的条件、身長と体重を含む患者の個々のパラメータ、治療継続期間、併用治療の種類（存在する場合）、治療の特異的投与経路および同様の要因によって異なる。

【０１２９】

本発明の医薬品組成物は、滅菌されていることが好ましく、所望の反応または効果を生み出すために効果的量の治療上活性のある物質を含むことが好ましい。

【０１３０】

本発明の組成物の投与量は、投与の方式、患者の病態、所望の投与期間などの各種パラメータにより決まる。患者における反応が初期投与量では不十分な場合、さらに高い投与量（あるいは別のさらに局在化した投与経路によって達成される効果的に高い投与量）を使用できる。

【０１３１】

一般に、１ｎｇ～１ｍｇ、好ましくは１０ｎｇ～１００μｇの腫瘍会合抗原の投与量を剤形化し、治療もしくは免疫反応の誘発や増強のために投与する。腫瘍会合抗原をコードする核酸（ＤＮＡおよびＲＮＡ）の投与が望ましい場合には、１ｎｇ～０．１ｍｇの投与量を剤形化し、投与する。

【０１３２】

本発明の医薬品組成物は、一般には、薬学的に適合可能な量および薬学的に適合可能な組成で投与する。「薬学的に適合可能」という用語は、その医薬品組成物の活性成分の作用と相互作用しない非毒性物質を表す。この種の製剤には通常、塩、緩衝物質、防腐剤、担体および必要に応じて、その他の治療上の活性化合物が含まれる。薬剤で使用するときには塩は、薬学的に適合していなくてはならない。ただし、薬学的に適合しない塩は、薬学的に適合する塩の調製に使用することができるので本発明の対象となっている。この種の薬理学的ならびに薬学的に適合する塩には、無制限で、以下の酸から調製される塩が含まれる。すなわち、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、マレイン酸、酢酸、サリチル酸、クエン酸、ギ酸、マロン酸、琥珀酸などである。また、薬学的に適合可能な塩は、アルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩例えばナトリウム塩、カリウム塩またはカルシウム塩などとして調製可能である。

【０１３３】

本発明の医薬品組成物は、薬学的に適合可能な担体を含むことができる。本発明によれば、用語「薬学的に適合可能な担体」は、一つ以上の適合可能な、ヒトに投与するのに好適な固体または液体の充填剤、希釈剤または封入物質を表す。「担体」という用語は、適用を促進するために活性成分を結合する、天然もしくは合成の有機または無機成分を表す。本発明の医薬品組成物の成分は、一般には、所望の製剤の効能を実質的に阻害する相互作用は発生しないような成分である。

【０１３４】
本発明の医薬品組成物は、塩中の酢酸、塩中のクエン酸、塩中のホウ酸および塩中のリン酸など、好適な緩衝物質を含んでもよい。
【０１３５】
該医薬品組成物製剤組成は、必要に応じてさらに、塩化ベンザルコニウム、クロロブタノール、パラベンおよびチメロサールなどの好適な防腐剤を含んでもよい。
【０１３６】
該医薬品組成物は通常、均一の投与形態で提供され、それ自体既知の方法で調製可能である。本発明の医薬品組成物は、カプセル、錠剤、トローチ、液体、懸濁液、シロップ、エリキシル剤の形態で、または例えば乳濁液のような形態で剤形可能である。
【０１３７】
非経口投与に好適な組成物は、一般に、被投与者の血液と等浸透圧であることが好ましい活性化合物の滅菌水性調剤または非水性調剤を含む。適合可能な担体および溶剤の例として、リンガー溶液および生理食塩液があげられる。さらに、一般に、滅菌した不揮発性油が溶液や懸濁液の媒質として使用されている。
【０１３８】
本発明は、図示することだけを目的として、制限することを意図していない以下の図および例を参照して詳細に説明する。記述内容と例により、本発明に同様に含まれているさらなる実施形態を、当業者は利用することができる。
【０１３９】
（実施例）
材料と方法
「コンピュータ内（ｉｎ　ｓｉｌｉｃｏ）」および「電子」という用語は、室内実験プロセスをシミュレートするのにも使用可能な、データベースに基づいた方法の利用だけを表している。
【０１４０】
特に明確に定義していないかぎり、その他の用語および表現はすべて、当業者によって理解されるように使用されている。記載されている技術および方法は、それ自体既知の方法で実施されるが、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition (1989), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.に記載されている。キットや試薬の使用などすべての方法は、製造元の情報に従って実施する。
【０１４１】
Ａ．腫瘍会合抗原を特定するためのデータ検索ベースの技法
本発明によれば、公開ヒトタンパクおよび核酸データベースを、細胞表面上で入手可能ながん特異的抗原についてスクリーニングを行った。可能な場合すべてのタンパクを分析するためのハイスループット法とともに、それらにとって必要なスクリーニング基準の定義が、本技法の中心的要素をなしていた。
【０１４２】
妥当性評価したタンパクエントリ（ＮＰ）と、National Center for Biotechnology Information（ＮＣＢＩ）のRefSeq database (Pruitt et al., Trends Genet. Jan; 16(1):44-47, 2000)に蓄積されてきた、対応するｍＲＮＡ（ＮＭ）で開始点は構成されていた。遺伝子 ｍＲＮＡ タンパクという基本的原理に従い、はじめにタンパクを、一つまたは複数の膜貫通領域の存在について検討した。この目的のため、タンパク分析プログラムＴＭＨＭＭサーバ　Ｖ．２．０(Krogh et al., Journal of Molecular Biology 305(3):567-580, 2001)を用い、次にその結果をプログラムＡＬＯＭ２(Nakai et al., Genomics 14:897-911, 1992)を用いて再び比較検証した。タンパクの細胞内極在性に影響を与えていたさらなる信号配列の予測を、プログラムＰＳＯＲＴ　ＩＩ(Horton et al., Intelligent Systems for Molecular Biology 4:109-115, 1996)およびｉＰＳＯＲＴ (Bannai et al., Bioinformatics, 18(2):298-305, 2002)を用いて実施した。合計１９１１０のエントリを有

するヒトＮＰ画分が、フィルタにかけられた４６３４のタンパクを提供した。

【０１４３】

その後、これら４６３４個のタンパクのそれぞれの対応するｍＲＮＡを個々に、ＢＬＡＳＴアルゴリズム(Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997)の助けを借りてＮＣＢＩのＥＳＴデータベース (Boguski et al., Nat. Genet. 4(4):332-333, 1993)において、相同性検索した。この検索におけるスクリーニング基準を、ｅ－値＜１０ｅ－２０と最小配列同一性９３％に、高い確率でのそれらからのヒットは、個々のｍＲＮＡに由来するものに限り、同類転写産物からではないように設定した。ほとんどすべてのｍＲＮＡが、一部の例ではヒット数が４０００を越えるＥＳＴデータベースにおける少なくとも一つのヒットを可能とした。

【０１４４】

次いで、基本となるｃＤＮＡライブラリの組織特異的起源ならびにライブラリの名称を、これら有効なヒットのそれぞれで判定した。それらから生じている組織を可欠器官（グループ３）から必須器官（グループ０）の範囲にわたる４種類の群に分割した。別のグループすなわちグループ４は、がん組織から入手した任意の標本で構成されていた。５つの群に対するヒット数の分布を、群３および４の合計の、群０～２の合計に対する最適な比に従って分類されている表に記録した。ＥＳＴヒット数ががん組織だけから生じているこれらのｍＲＮＡは、第一位となり、その次に、群３の可欠な器官の組織内にもさらに発見されうるｍＲＮＡが続いていた。この分布の有意性に関するさらなる基準は、ＥＳＴを取得し、表の別の欄に記録した独立したｃＤＮＡライブラリの数であった。

【０１４５】

第一のアプローチで判定された転写産物および対応するタンパクは、はじめ仮説による構造であったので、ｍＲＮＡさらにはその結果タンパクも実際に存在することを実証することを目的としてさらなるスクリーニング基準を用いた。したがって各ｍＲＮＡを、プログラム「Ｓｐｉｄｅｙ」(Wheelan et al., Genome Res. 11(11): 1952-1957, 2001)を用いて、予測された遺伝子座と比較した。すくなくともひとつのスプライシングプロセスを含む、すなわちすくなくとも２個のエキソン上に拡散している転写産物のみを詳細な分析に用いた。

【０１４６】

記載されているフィルタすべてを順次適用して、予測された膜貫通領域とそれに関連するトポロジーによって、細胞外で入手可能と見なすことができる本発明の腫瘍会合抗原を得るに至った。ＥＳＴデータ由来の発現プロファイルは、すべての事例で、せいぜい可欠器官にのみしか該当しないようながん特異的発現を示している。

【０１４７】

Ｂ．コンピュータ内分析によって特定された、腫瘍会合抗原を妥当性評価する技法

がん治療さらには診断の問題に免疫治療の目的で標的を利用するため（モノクロナル抗体、ワクチン接種、Ｔ細胞受容体介在治療技法による抗体治療； EP B 0 879 282を参照）、診断目的のみならず、がん治療において、本発明に従って特定された標的の妥当性評価が最も重要である。したがって、ＲＮＡとタンパク両レベルで、発現分析によって妥当性評価を実施する。

【０１４８】

１．ＲＮＡ発現の試験

特定された腫瘍抗原をはじめに、各種組織または組織特異的細胞株から取得したＲＮＡを用いて妥当性評価を行う。腫瘍組織に比べ健常組織の示差発現パターンが、以後の治療目的での用途で決定的に重要であるため、標的遺伝子は、これらの組織標本を活用して特長付けすることが好ましい。

【０１４９】

ＲＮＡ全体を、天然組織標本または腫瘍細胞株から分子生物学の標準的方法によって単離させる。該単離は、例えば製造元の指示に従って、ＲＮｅａｓｙ Ｍａｘｉキット（Qiagen, Cat. No. 75162）を利用して実施してもよい。この孤立法は、カオトロピック試薬グ

アニジニウムイソチオシアネートの使用に基づいている。あるいは、酸性フェノールを用いて単離することも可能である（Chomczynski & Sacchi, Anal. Biochem. 162: 156-159, 1987）。グアニジニウムイソチオシアネートを用いて組織の処理を行った後に、ＲＮＡを酸性フェノールで抽出し、引き続いてイソプロパノールで沈殿させ、ＤＥＰＣ処理水に取り込む。

【０１５０】

このようにして単離させた２ ４μｇのＲＮＡを続いて、例えば、製造元のプロトコルに従ってＳｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔＩＩ (Invitrogen) によりｃＤＮＡ中に転写させる。ｃＤＮＡ合成は、関連する製造元の標準のプロトコルに従って、ランダムな六量体（例えばRoche Diagnostics）を活用して予備刺激を行う。品質管理を目的として、ゆっくりにしか発現しないｐ５３遺伝子に特異的なプライマーを用いて３０サイクル以上でｃＤＮＡを増幅させる。以後の反応プロセスでは、ｐ５３陽性ｃＤＮＡ標本だけを用いる。

【０１５１】

各種正常組織および腫瘍組織ならびに腫瘍細胞株から単離させた、ｃＤＮＡアーカイブに基づいて、ＰＣＲまたは定量的ＰＣＲ（ｑＰＣＲ）により、発現分析を実施することで抗原を詳細に分析する。したがって、０．５μｌの上記反応混合物のｃＤＮＡを、特定の製造元のプロトコルに従ってＤＮＡポリメラーゼ（例えば１ＵのＨｏｔＳｔａｒＴａｑ ＤＮＡ ポリメラーゼ、Ｑｉａｇｅｎ）により増幅する（反応混合液の総体積：２５?５０μｌ）。該ポリメラーゼとは別に、増幅混合物は、０．３ ｍＭのｄＮＴＰ、反応緩衝液（ＤＮＡポリメラーゼの製造元により、最終濃度１×）および各事例で、０．３ ｍＭ遺伝子特異的順方向プライマーおよび逆方向プライマーを有している。

【０１５２】

標的遺伝子の特異的プライマーは、可能なかぎり、ゲノム汚染により擬陽性の結果が生じないように、二種類のエキソンに配置されるような方法で選択した。非定量的終点ＰＣＲでは、ｃＤＮＡを通常、１５分間９５°Ｃでインキュベートし、ＤＮＡを変性させ、ホットスタート酵素を活性化させる。次に、３５サイクル以上ＤＮＡを増幅させる（９５°Ｃで１分間、プライマー特異的ハイブリダイゼーション温度（約５５－６５°Ｃ）で１分間、７２°Ｃで１分間で単位複製配列を伸長させる）。次に、１０μｌのＰＣＲ混合物をアガロースゲルにアプライし、電場で分画した。エチジウムブロマイドで染色することによってゲル内でＤＮＡが可視状態となり、ＰＣＲの結果は、写真によって証明される。

【０１５３】

従来方式のＰＣＲに対する代案として、標的遺伝子の発現を、定量的リアルタイムＰＣＲによって分析してもよい。この分析には各種分析システムを利用できる一方で、それらのなかで最もよく知られているシステムが、ＡＢＩ ７９００ ＨＴ配列検出システム（Applied Biosystems）、ｉＣｙｃｌｅｒ（Ｂｉｏｒａｄ）およびＬｉｇｈｔ ｃｙｃｌｅｒ （Ｒｏｃｈｅ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ）である。上記のように、特異的ＰＣＲ混合物を、リアルタイム装置の工程に供した。ＤＮＡ挿入色素（例えばエチディウムブロマイド、ＣｙｂｒＧｒｅｅｎ）を添加することによって、新しく合成されたＤＮＡを特異的軽度励起によって可視化する（色素製造元の情報に従って）。増幅中の測定ポイントが複数あることにより、プロセス全体を観察し、標的遺伝子の核酸濃度を定量的に判定することが可能である。ＰＣＲ混合物を、ハウスキーピング遺伝子を測定することによって正規化する（例えば１８Ｓ ＲＮＡ、β－ａｃｔｉｎ、ＧＡＰＤＨ）。蛍光ラベル標識付きＤＮＡプローブを介した別の技法も同様に、特異的組織標本の標的遺伝子の定量的判定を可能にする（Applied Biosystems提供のTaqManアプリケーションを参照）。

【０１５４】

２．クローニング

腫瘍抗原のさらなる特長付けに必要とされる完全標的遺伝子を、一般的分子生物学的方法（例えば、"Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley & Sons Ltd., Wiley InterScience）に従ってクローン化する。標的遺伝子のクローニングまたはその配列の分析のため、該遺伝子を、校正機能を備えたＤＮＡポリメラーゼ（例えば、pfu, Roche D

iagnostics）によってはじめに増幅する。次に単位複製配列を、クローニングベクター中に標準の方法で連結させる。配列分析によって陽性のクローンを特定し、続いて、予測プログラムと既知のアルゴリズムにより特長付けを行う。

【０１５５】

３．抗体の産生

本発明に従って特定された腫瘍会合抗原は、例えば、抗体を用いて特長付けする。本発明にはさらに、抗体の診断のための使用または治療のための使用が含まれる。抗体は、天然および／または変性された状態のタンパクを認識することができる（Anderson et al., J. Immunol. 143: 1899-1904, 1989; Gardsvoll, J. Immunol. Methods 234: 107-116, 2000; Kayyem et al., Eur. J. Biochem. 208: 1-8, 1992; Spiller et al., J. Immunol. Methods 224: 51 60, 1999）。

【０１５６】

標的タンパクに特異的に結合する特異的抗体を含む抗血清は、各種標準の方法によって調製可能である。例えば、下記を参照されたい"Monoclonal Antibodies: A Practical Approach" by Phillip Shepherd, Christopher Dean ISBN 0 19 963722 9, "Antibodies: A Laboratory Manual" by Ed Harlow, David Lane ISBN: 0879693142 および "Using Antibodies: A Laboratory Manual: Portable Protocol NO" by Edward Harlow, David Lane, Ed Harlow ISBN: 0879695447。ここでは、それらの天然形態における複合膜タンパクを認識する擬似および特異的抗体を生成することも可能である（Azorsa et al., J. Immunol. Methods 229: 35-48, 1999; Anderson et al., J. Immunol. 143: 1899-1904, 1989; Gardsvoll, J. Immunol. Methods. 234: 107-116, 2000）。これは、特に、治療に使用するだけでなく、多くの診断の用途にも使用することを目的とした、抗体の調製で重要である。したがって、完全なタンパク配列と細胞外の部分的配列をともに免疫化に使用することができる。

【０１５７】

ポリクロナル抗体の免疫化と産生

複数の免疫化プロトコルが公開されている。種（例えばウサギ、マウス）を、所望の標的タンパクを最初に注入することにより免疫化する。免疫原に対する動物の免疫反応は、規定の期間内に第二第三の免疫化を実施することによって増強させることができる（前の免疫化後約２－４週間）。該動物から血液を採取し、各種規定の時間間隔後に再度免疫血清を取得する（４週間後に第一回採血、次に２－３週間ごとに５回までの採血）。このようにして採取された免疫血清には、フローサイトメトリー、免疫蛍光法または免疫組織化学法によってウエスタンブロット法で標的タンパクを検出および特長付けする目的で使用可能なポリクローナル抗体が含まれている。

【０１５８】

動物を通常、存在している別の方法とともに４種類の十分に確立された方法のどれかによって免疫化する。免疫化は、標的タンパクに特異的なペプチドを用いるか、完全タンパクを用いるか、実験であるいは予測プログラムで特定することのできタンパクの細胞外部分配列を用いることによって実施可能である。予測プログラムは、必ずしも完全に機能するとは限らないので、透過膜領域によって相互に分裂している二つの領域を採用することも可能である。この場合、二つの領域の一方が、細胞外領域であるが、これは、後で実験によって実証することができる（以下を参照）。免疫化は、各種商業サービスプロバイダによって提供される。

（１）第一の事例では、ペプチド（長さ：８－１２アミノ酸）を、ｉｎ ｖｉｔｒｏ法によって合成し（おそらくは商業サービスによって実施）、該ペプチドを免疫化に使用する。通常、三回免疫化が実施される（例えば、５－１００μｇ／一回免疫化、の濃度で）。

（２）あるいは、免疫化は組換えタンパクを用いて実施することも可能である。したがって、標的遺伝子のクローン化されたＤＮＡを、発現ベクターにクローン化し、標的タンパクを例えば無細胞ｉｎ ｖｉｔｒｏで、バクテリア内（例えば大腸菌(Ｅ．ｃｏｌｉ)）、酵母（例えばＳ．ｐｏｍｂｅ）、昆虫の細胞または哺乳動物の細胞で特定の製造元（例

えば Roche Diagnostics, Invitrogen, Clontech, Qiagen）の条件に従って合成する。ウイルス発現システムを使用して標的タンパクを合成することも可能である（例、バキュロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス）。前記システムのどれかで合成した後に標的タンパクを、通常はクロマトグラフィー法により精製する。この場合、精製道具として分子アンカーを有する免疫化タンパクに使用することも可能である（例えばHis tag, Qiagen; FLAG tag, Roche Diagnostics; ＧＳＴ融合タンパク）。例えば、「Current Protocols in Molecular Biology」, John Wiley & Sons Ltd.（Wikey InterScience）には、様々なプロトコルが記載されている。標的タンパクを精製した後には、上記のように免疫化を実施する。

（３）所望のタンパクを内生的に合成する細胞株を入手できる場合には、この細胞株を特異的抗血清の調製に直接用いることができる。この場合、免疫化を、それぞれの事例で約１－５ × １０^{7} 個の細胞を使用し１－３回の注入により実施する。

（４）免疫化は、ＤＮＡの注入によって実施することも可能である（ＤＮＡ免疫化）。したがって、標的遺伝子をはじめに発現ベクターにクローン化して、標的配列を強力な真核細胞プロモータ（例えば、ＣＭＶプロモータ）の制御下に置く。続いて、ＤＮＡ（例えば、１－１０μｇ／注入）を、生体内で強力な血流のある毛細管領域に遺伝子銃を用いて免疫原として導入する（例えばマウスやラビット）。導入されたＤＮＡを動物細胞によって取り込み、標的遺伝子を発現させ、該動物が最終的に標的タンパクに対する免疫反応を発現する（Jung et al., Mol. Cells 12: 41 49, 2001; Kasinrerk et al., Hybrid Hybridomics 21: 287-293, 2002）。

【０１５９】

モノクロナル抗体の産生

モノクロナル抗体は、従来、ハイブリドーマ技術を活用して産生されている（技術の詳細については、"Monoclonal Antibodies: A Practical Approach" by Philip Shepherd, Christopher Dean ISBN 0 19 963722 9; "Antibodies: A Laboratory Manual" by Ed Harlow, David Lane ISBN: 0879693142, "Using Antibodies: A Laboratory Manual: Portable Protocol NO" by Edward Harlow, David Lane, Ed Harlow ISBN: 0879695447を参照）。さらに使用されている新しい方法が「ＳＬＡＭ」技法である。ここでは、Ｂ細胞を全血から単離させ、細胞をモノクローナル化する。次いで、単離させたＢ細胞の上清を、その抗原特異性について分析する。ハイブリドーマ技術とは異なり、次に抗体遺伝子の可変領域を単細胞ＰＣＲで増幅させ、好適なベクターにクローン化する。この方法では、モノクローナル抗体の産生が加速化される（de Wildt et al., J. Immunol. Methods 207:61-67, 1997）。

【０１６０】

４．抗体を用いたタンパク－化学法による標的の妥当性評価

上記のように産生可能な抗体は、標的タンパクに関する重要な多数の記述を行うのに利用できる。詳細には、標的タンパクを妥当性評価するための下記の分析が有効である。

【０１６１】

抗体の特異性

後続のウエスタンブロット法による細胞培養に基づいた検査が、所望の標的タンパクだけに特異的に抗体が結合するという事実を実証するのに最も適している（例えば、"Current Protocols in Proteinchemistry", John Wiley & Sons Ltd., Wiley InterScienceにさまざまなバリエーションが記述されている）。実証するために、強力な真核細胞プロモータの制御下の（例えば、サイトメガロウイルスプロモータ、ＣＭＶ）、標的タンパクのｃＤＮＡを細胞にトランスフェクトする。ＤＮＡで細胞株をトランスフェクトするための十分に確立された方法が多種ある（例えば、エレクトロポレーション、リポゾームベースのトランスフェクション、リン酸カルシウム沈澱）（例えば、Lemoine et al., Methods Mol. Biol. 75: 441-7, 1997）。別の方法として、標的遺伝子を内生的に発現させる細胞株を使用することも可能である（標的遺伝子特異的ＲＴ－ＰＣＲを介した検出）。コントロールとして、理想的な事例では、同種遺伝子を実験で共トランスフェクトして、分析した

抗体の特異性を、下記のウエスタンブロット法で実証することも可能である。

【０１６２】

後続のウエスタンブロット法では、標的タンパクを含んでいると考えられる細胞培養から得られた細胞または組織標本を１％の強度のＳＤＳ溶液に溶解させ、タンパクをこのプロセスで変性させる。溶解物を８－１５％の強度の変性ポリアクリルアミドゲル（１％のＳＤＳを含有）（ＳＤＳポリアクリルアミドゲル電気泳動、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）で電気泳動によりサイズに従って分画する。次にタンパクを複数のブロット法（例えば、半乾燥エレクトロブロット；Ｂｉｏｒａｄ）のどれかひとつによって特異的膜（例えば、ニトロセルロース、Schleicher & Schull）に導入する。この膜上で所望のタンパクを可視化できる。したがって、膜をはじめに、６０分間、標的タンパクを認識する抗体でインキュベートする（希釈率約１：２０－１：２００、該抗体の特異性による）。洗浄プロセス後に、膜を、マーカに共役しており（例えば、ペロキシダーゼまたはアルカリ性フォスファターゼなどの酵素）、第一の抗体を認識する第二の抗体でインキュベートする。すると、色彩反応または化学発光反応で膜上に標的タンパクを可視状態にすることができる（例、ECL, Amersham Bioscience）。標的タンパクに対し高い特異性を備えた抗体が、理想的な場合には、それ自体所望のタンパクのみを認識するはずである。

【０１６３】

標的タンパクの局在性

コンピュータ内法で特定された、標的タンパクの膜局在性を確認するのにさまざまな方法が使用されている。上記抗体を使用する重要でしかも十分に確立された方法が、免疫蛍光法（IF）である。したがって、標的タンパクを合成する（RT-PCR法によるRNAの検出またはウエスターンブロット法によるタンパクの検出）か、さもなければプラスミドDNAをトランスフェクトした、確立された細胞株の細胞を利用する。ＤＮＡを細胞株にトランスフェクトするためのさまざまな方法（例えば、エレクトロポレーション、リポソーム利用トランスフェクション、リン酸カルシウム沈殿法）が十分に確立されている（例えば、Lemoine et al., Methods Mol. Biol. 75: 441 7, 1997）。免疫蛍光法でトランスフェクトされたプラスミドは、未修飾タンパクをコードするか、さもなければ標的タンパクに各種アミノ酸マーカを結合させることができる。例えば、主マーカは、各種異なる蛍光形態における蛍光緑蛍光タンパク（ＧＦＰ）、高アフィニティの特異的抗体を利用できる６－１２アミノ酸からなる短いペプチド配列、またはそのシステインを介して、特異的蛍光物質（Invitrogen）に結合しうる短いアミノ酸配列Ｃｙｓ－Ｃｙｓ－Ｘ－Ｘ－Ｃｙｓ－Ｃｙｓである。標的プロテインを合成する細胞は、例えば、パラホルムアルデヒドまたはメタノールで固定する。次に、必要に応じて、細胞を洗剤(例えば、0.2% Triton X 100)を使用してインキュベーションにより透過させる。次に細胞を、標的タンパクまたは結合マーカのひとつに対向している第一の抗体を使用してインキュベートする。洗浄プロセス後に、第一の抗体に結合している蛍光マーカ（例えば、 フルオレセイン, Texas Red, Dako）に結合している第二の抗体を使用して、混合液をインキュベートする。次に、このようにしてラベル標識した細胞をグリコロールで被覆し、製造元の情報に従って、蛍光顕微鏡を活用して分析した。この場合、採用した物質に従った特異的励起法により、特異的蛍光発光を実現する。分析により通常、標的タンパク、抗体の質および二重染色において確認されている標的タンパクの信頼性の高い局在化、さらに、標的タンパクに加えて、結合アミノ酸マーカまたは局在性がすでに文献に報告されている染色されている他のマーカの信頼性の高い局在化も可能にする。ＧＦＰおよびその誘導体は、直接励起可能で、それ自体が蛍光を発する特殊な事例であることを表している。免疫蛍光法で、洗剤の使用により制御可能な膜透過性により、免疫原エピトープが、細胞の内側と外側のどちらにあるのかを実証することができる。したがって、選択したタンパクの予測は、実験的に裏付けられる。別の可能性としてフローサイトメトリの手段によって細胞外領域を検出する。したがって、細胞を非浸透条件下で(例えば、ＰＢＳ／Ｎａ ａｚｉｄｅ／２％ ＦＣＳ／５ ｍＭ ＥＤＴＡを用いて)固定し、製造元の指示に従って、フローサイトメータで分析する。この方法で分析する抗体によって認識できるのは、細胞外エピトープだけである。免疫蛍光法と

の相違点は、例えば、ヨウ化プロピジウムまたはTrypanブルーを用いて死細胞と生細胞との間を識別できるので、擬陽性の判定を回避できるという点にある。

【０１６４】

もうひとつの重要な検出法では、特異的組織標本で、免疫組織化学法（ＩＨＣ）を用いる。この方法の目的は、機能的に無傷の組織凝集体におけるタンパクの局在性を特定することにある。IHCは、具体的には、(1)腫瘍および正常組織における標的タンパクの量の見積もりを可能にする、(2) 腫瘍組織と健常組織中のいくつの細胞が標的遺伝子を発現しているのかについての分析を行う、さらには(3)標的タンパクが検出可能な組織内の細胞の種類（腫瘍細胞か健常細胞か）を決定するのに役立つ。あるいは、デジタルカメラと好適なソフトウェア（例えば、Tillvision, Till-photonics, Germany）を用いた組織免疫蛍光によって、標的遺伝子のタンパクの量を定量することができる。技術が頻繁に公開されており、染色法と顕微鏡検査の詳細は、例えば、"Diagnostic Immunohistochemistry" by David J., MD Dabbs ISBN: 0443065667 または"Microscopy, Immunohistochemistry, and Antigen Retrieval Methods: For Light and Electron Microscopy" ISBN: 0306467704などに記載されている。ただし、有意な結果を得るためには、抗体の特性のため異なるプロトコルを使用しなくてはならない（以下に例を示す）。

【０１６５】

通常、ＩＨＣでは、組織学的に定義された腫瘍組織と、参照として、比較可能な健常組織が採用される。標的遺伝子の存在がRT－PCR分析によって明らかになる、陽性および陰性のコントロール細胞株として使用することも可能である。バックグランドコントロールは、必ず対象として採用しなくてはならない。

【０１６６】

厚さ4μmのホルマリン固定（例えば、メタノールを用いる別の固定法も可能である）およびパラフィン包埋組織片をガラスサポート上にアプライし、例えば、キシレンなどでパラフィンを溶解する。標本をＴＢＳ Ｔで洗浄し、血清中でブロックする。次いで、通常使用するアフィニティ精製抗体を用いて、１－１８時間、第一の抗体（希釈率：１：２－１：２０００）を使用してインキュベーションを行う。洗浄プロセスに続き、アルカリホスファターゼ（代替物質：例えばペルオキシダーゼなど）に共役し、第一の抗体と対向している第二の抗体を使用して、約３０－６０分間インキュベーションを行う。次いで、該アルカリホスファターゼを用いて呈色反応を行う（例えば、Shi et al., J. Histochem. Cytochem. 39: 741-748, 1991; Shin et al., Lab. Invest. 64: 693-702, 1991などを参照）。抗体の特異性を実証するため、免疫原を事前に添加しておくことにより反応を遮断できる。

【０１６７】

タンパクの修飾の分析

例えば、Ｎ－およびＯ－グリコシル化やミリスチン化などの二次タンパク修飾は、免疫原エピトープの利用可能性に影響を与えるか完全に抑止さえするので、抗体療法の効能に疑問が呼び起こされている。さらに、二次修飾の型と量が、正常組織と腫瘍組織で異なることがしばしば実証されている（例： Durand & Seta, 2000; Clin. Chem. 46: 795-805; Hakomori, 1996; Cancer Res. 56: 5309-18）。したがって、これらの修飾の分析が、抗体療法を成功させるのに必要不可欠である。潜在的結合部位は、特定のアルゴリズムによって予測可能である。

【０１６８】

通常、タンパクの修飾の分析は、ウエスタンブロット法によって行われる（上記を参照）。通常、数ｋＤａの大きさをもつグリコシル化により、特に、ＳＤＳ－ＰＡＧＥで分画しうる、より大きな全質量の標的タンパクが生じる。特異的Ｏ－およびＮ－グリコシド結合を検出するため、Ｏ－またはＮ－グリコシラーゼを用い、（それぞれの製造元の指示、例えば、PNgase、 endoglycosidase F, endoglycosidase H、Roche Diagnosticsに従って）ＳＤＳによって変性させる前に、タンパク溶解物をインキュベートする。次に、上記のようにウエスタンブロット法を行う。したがって、グリコシダーゼを用いたインキュベーシ

ョン後に、標的タンパクの大きさが縮小していた場合には、特異的グリコシル化を検出し、このようにして修飾の腫瘍特異性の分析も行うことが可能となる。

【０１６９】

標的遺伝子の機能分析

標的分子の機能は、その治療の有用性にとって最も重要であるため、治療に利用可能な分子の特長づけにおいては、機能分析が重要な要素となる。機能分析は、細胞で、細胞培養実験で、あるいは動物モデルを利用して ｉｎ ｖｉｖｏでも行うことができる。これには、突然変異によって標的分子の遺伝子のスイッチをオフ（ノックアウト）にするかまたは標的配列を細胞または生体に挿入（ノックイン）するプロセスを伴う。したがって、第一の事例では、分析する対象の遺伝子の機能を欠失させることによって、細胞の環境における機能的修飾を分析することができる（機能の欠失）。第二の事例では、分析対象の遺伝子の付加により生じた修飾を分析できる（機能の獲得）。

【０１７０】

ａ．細胞における機能分析

トランスフェクション。機能の獲得を分析するには、標的分子の遺伝子を細胞に転移しなくてはならない。したがって、標的分子の合成を可能にするＤＮＡを細胞にトランスフェクトする。通常、ここでは、標的分子の遺伝子は、強力な真核細胞プロモータ（例えば、サイトメガロウイルスプロモータ；ＣＭＶなど）の制御下に置かれる。ＤＮＡを細胞株にインフェクトするための多種多様な方法（例えば、エレクトロポレーション、リポソーム使用トランスフェクション、リン酸カルシウム沈殿法など）が完全に確立されている（例えば、Lemoine et al., Methods Mol. Biol. 75: 441-7, 1997）。この遺伝子は、ゲノムを取り込まずに過渡的に、または例えばネオマイシンで選択した後にゲノムを取り込んで安定的に合成できる。

【０１７１】

ＲＮＡ干渉（ｓｉＲＮＡ）。細胞における標的分子の機能の完全な欠失を誘発しうる標的遺伝子の発現阻害は、ＲＮＡ干渉（ｓｉＲＮＡ）技術によって細胞内で生じさせることができる（Hannon, GJ. 2002. RNA interference. Nature 418: 244 51; Czauderna et al. 2003. Nucl. Acid Res. 31: 670 82）。したがって、標的分子に特異的な、約２０－２５のヌクレオチドからなる短い二重鎖ＲＮＡ分子を細胞にトランスフェクトする。次に、酵素介在プロセスによって、標的遺伝子の特異的ＲＮＡの変性と、それに伴う標的タンパクの機能の阻害が生じ、結果的に標的遺伝子の機能の分析が可能となる。

【０１７２】

トランスフェクションまたはｓｉＲＮＡによって修飾された細胞株は、続いて各種方法で分析できる。もっとも一般的な例を以下に示す。

【０１７３】

１．増殖

細胞増殖を分析するための数多くの方法が確立されており、さまざまな会社から市販されている（例えば、Roche Diagnostics, Invitrogen; 検査法の詳細については、多数の適用プロトコルを参照）。細胞培養実験における細胞数は、単に数えることによってまたは細胞の代謝活性を測定する比色分析によって判定することができる（例えば、wst 1, Roche Diagnostics）。代謝試験法では、酵素マーカを介して、実験における細胞数を間接的に測定する。細胞増殖は、例えばブロモデオキシウリジン（BrdU）を添加するなど、ＤＮＡ合成の速度を分析することによって、測定できるが、取り込まれたＢｒｄＵは、特異的抗体を介して比色分析によって直接測定できる。

【０１７４】

２．アポトーシスと細胞毒性

細胞のアポトーシスと細胞毒性を検出するための数多くの検査システムが利用可能である。決定的特長は、不可逆的であり、いずれの場合も細胞死に至るゲノムＤＮＡの特異的酵素依存型フラグメント化である。これらの特異的ＤＮＡフラグメントを検出するための方法は、市販されている。さらに、組織部でもＤＮＡ単鎖の破断を検出できるＴＵＮＥＬ検

定という別の方法も利用可能である。細胞毒性は、主として、細胞の活力状態のマーカとしての役割を果たす変性細胞の浸透性を介して検出される。これには、いっぽうで、細胞培養上清で通常細胞間に認められるマーカの分析を伴う。さらにもう一方では、無傷細胞によって吸収されない色素マーカの吸収性も分析可能である。色素マーカのもっともよく知られた例が、Ｔｒｙｐａｎブルーとヨウ化プロピジウムであるが、一般的な細胞内マーカは、酵素介在下で上清中で検出可能な乳酸デヒドロゲナーゼである。さまざまな提供業者提供の各種検定システムを利用できる（例えば、 Roche Diagnostics, Invitrogen）。

【０１７５】

３．遊走試験

細胞が遊走できる能力は、特異的遊走試験で、好ましくはＢｏｙｄｅｎチャンバー（Corning Costar）を利用して分析する（Cinamon G., Alon R. J. Immunol. Methods. 2003 Feb; 273(1-2):53-62; Stockton et al. 2001. Mol. Biol. Cell. 12: 1937-56）。したがって、特定の孔サイズのフィルタ上で細胞を培養する。遊走可能な細胞は、このフィルタを通過して以下の別の培養容器へと遊走することができる。次に、顕微鏡分析によって、標的分子の機能獲得または機能欠失により誘発されたおそらくは変性した遊走行動の判定が可能となる。

【０１７６】

ｂ．動物モデルにおける機能分析

標的遺伝子の機能の分析を行うための細胞培養実験に代わりうる別の方法として、動物モデルにおける複雑なｉｎ ｖｉｖｏ実験が挙げられる。細胞を使用した方法に比べ、これらのモデルは生体全体の環境においてのみ検出可能な、欠陥のある発達または疾患を検出することができるという長所がある。いままでヒト疾患に関するモデルは多数利用できる（Abate-Shen & Shen. 2002. Trends in Genetics S1-5; Matsusue et al. 2003. J. Clin. Invest. 111:737-47）。例えば、酵母、線虫またはゼブラフィッシュなどの各種動物モデルが、その後、集中的に特長づけされている。ただし、他の種より好ましいモデルが、例えば、マウス（Mus musculus）、などの動物モデルである。というのは、これらはヒト環境で生体プロセスを再現する最大の可能性を秘めているからである。マウスの場合、いっぽうで、新しい遺伝子をマウスのゲノムに取り込むトランスジェニック法が、近年確立されてきた（gain of function; Jegstrup I. et al. 2003. Lab Anim. 2003 Jan.; 37(1):1 9）。そのいっぽうで、他の系統的アプローチが、マウスのゲノム内で遺伝子のスイッチをオフにするので、所望の遺伝子における機能の欠失が誘発される。（knockout models, loss of function; Zambrowicz BP & Sands AT. 2003. Nat. Rev. Drug Discov. 2003 Jan; 2(1):38-51; Niwa H. 2001. Cell Struct. Funct. 2001 Jun; 26(3):137-48）；技術の詳細に関する文献は多数出版されている。

【０１７７】

マウスモデルを生成したなら、導入遺伝子によってあるいは遺伝子の機能の欠失によって誘発された変性を、全生体の環境で分析できる（Balling R, 2001. Ann. Rev. Genomics Hum. Genet. 2:463-92）。したがって、例えば、行動試験の実施または確定した血液パラメータの生化学的研究が可能となる。組織学的分析、免疫組織化学法または電子顕微鏡法により、細胞レベルで変性を特長付けることができる。遺伝子の特異的発現パターンは、ｉｎ－ｓｉｔｕハイブリダイゼーションによって検出可能である（Peters et al. 2003. Hum. Mol. Genet 12:2109-20）。

【実施例１】

【０１７８】

診断がん標的および治療がん標的としての仮説タンパクＦＬＪ３１４６１の特定

遺伝子予測プログラムを用いて、遺伝子銀行寄託番号ＮＭ＿１５２４５４のもとで登録されているＦＬＪ３１４６１（SEQ ID NO:1）を、染色体１５上のまだ機能的に特長づけされていない推定遺伝子（15q25.3）と判定した。遺伝子銀行に蓄積されている配列から二つの有力なオープンリーディングフレームが得られる。第一のリーディングフレームは１３６個のアミノ酸の長さを持つタンパクをコードする。ＮＰ＿６８９６６７の寄託番号の

もとでＮＣＢＩのＲｅｆＳｅｑのデータバンク内に蓄積されている遺伝子産物（SEQ ID NO:2）はしたがって、約１５　ｋＤａの算出分子量を有している。第二のリーディングフレームは、　１００個のアミノ酸の長さを持つタンパクをコードする（核酸配列：SEQ ID NO:69;アミノ酸配列：SEQ ID NO:70）。

【０１７９】

われわれがクローン化した遺伝子ＦＬＪ３１４６１の配列分析で、データベースに蓄積されている配列と比較して、コーディング領域におけるヌクレオチドの挿入部位を発見して驚いた。その結果リーディングフレームがシフトする。配列データベース内にすでに蓄積されている配列に由来し得ない完全に新しい２個のオープンリーディングフレームが得られる。これにより、新しいリーディングフレーム（SEQ ID NO:71）が、９６個のアミノ酸の長さを持つ新しい仮説タンパク（SEQ ID NO:72）をコードする。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７３は、１３３個のアミノ酸の長さを持つ仮説タンパク（SEQ ID NO:74）をコードする。われわれは、データベースで本来蓄積されている内容に誤りがあると想定すべきなので、われわれはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７２、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７３およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７４のさらなる実験に傾注した。

【０１８０】

本発明にしたがい、ＦＬＪ３１４６１特異的定量的ＲＴ－ＰＣＲ（SEQ ID NO:31、32、91、92、93、94でのプライマー）の確定後に、遺伝子特異的転写産物の量を健全な組織とがん標本で調べた（図１）。精巣を除き、ＦＬＪ３１４６１はわれわれが調査した正常組織のいずれにも検出されない（図１Ａ）。ＦＬＪ３１４６１はしたがって、かなりの高確率で、強力な配偶子特異的遺伝子産物であると言える。驚いたことにわれわれは、腫瘍の分析中に多くの腫瘍型でＦＬＪ３１４６１にスイッチが入る一方で、それらは対応する正常組織では検出限界以下であることを突き止めた（図１Ａ－Ｄ）。このことは、われわれが調べた事実上すべての乳房腫瘍に（図１Ｃ）、また、一連の肺がんや鼻咽喉がんに適用されるだけでなく、様々な頻度で他の悪性新生物にも該当する（図１Ｄ）。

【０１８１】

ＦＬＪ３１４６１はしたがって、診断のみならず治療にも使用することができる、腫瘍組織に対する高度に特異的な分子マーカである。選択的組織分布のために、マーカとしての役割を果たすいわゆるがん／精巣抗原のクラスの代表として、この遺伝子産物は例えば、正常組織に損傷を与えずに腫瘍細胞の正確な標的化を確かなものにできる。がん／精巣遺伝子は、標的治療のための魅力的な標的構造とみなされ、第一相／第二相試験でがん疾患における特異的免疫療法についてすでに実験が行われている（すなわちScanlan MJ, Gure AO, Jungbluth AA, Old LJ, Chen YT. 2002. Immunol. Rev. 2002 Oct; 188: 22-32）。

【０１８２】

タンパクレベルでこれらのデータを確認するため、特異的抗体または免疫血清を、動物を免疫化することによって生成した。タンパクトポロジーを、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７２およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７４の膜貫通領域をバイオインフォマティクスツール（ＴＭＨＭＭ、ＴＭＰＲＥＤ）で分析することによって予測した。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７２に関するこの方法で、例えば、２つの膜貫通領域を予測した。タンパクのＮ末端とＣ末端は細胞外である。

【０１８３】

本発明にしたがい、免疫化のためペプチドエピトープ、特に両タンパク変異体に特異的である細胞外ペプチドエピトープを選択した。

【０１８４】

中でも、抗体を産生する目的での免疫化には下記のペプチドを選択した（SEQ ID NO:61、62、96、97）。

【０１８５】

ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：９６を用いた免疫化によって産生された抗体に関するデータを例として示す。特異的抗体を免疫蛍光実験のための各種固定条件下で用いることができる。ＲＴ－ＰＣＲ陽性および陰性細胞株の比較染色では、個々のタンパクは、十分な検出可能な

量で、中でも定量的ＲＴ－ＰＣＲを用いて陽性と判定された乳がん細胞株において特異性を示す（図２）。この事例における内生的タンパクは、膜局在化を呈している。

【０１８６】

このような抗体は、ヒト組織切片の免疫組織化学的染色に好適である。かなりな範囲までわれわれは転写レベルに認められる組織分布を確認することができた。われわれは、精巣を除き、正常組織における抗体の反応をほとんど認めることができなかった（図３Ａ）一方で、ＦＬＪ３１４６１に対する抗体は、各種ヒト腫瘍標本、特に乳房腫瘍と肺腫瘍を染色している（図３Ｂ）。細胞の染色では、細胞表面におけるタンパクの局在性を示す膜を際立たせている。驚いたことに、われわれは、特に、腫瘍の転移（図３Ｂ）がこのタンパクを特に頻繁に、高い細胞比で発現することを突き止めた。

【０１８７】

これらのデータは、われわれが観察したこの遺伝子が実際にはタンパクを形成していること、このタンパクがヒト腫瘍に高度に特異的であることおよびこのような腫瘍細胞の表面膜上にこれが存在していることを一方で示している。したがってこのタンパクは治療用抗体に特に利用可能である。同様に、われわれのデータは、このタンパクに対する特異的抗体を産生可能であることを実証している。これらの抗体は、腫瘍細胞にマーカＦＬＪ３１４６１を介して選択的に結合する。

【０１８８】

本発明にしたがうとこのような抗体を、例えば免疫組織学のための診断に使用することができる。特に、このような抗体は治療に用いることができる。産生された抗体は、キメラ組み換え抗体またはヒト化組み換え抗体の産生に直接利用することもできる。これはまたウサギから取得した抗体で直接実施することも可能である（J Biol Chem. 2000 May 5; 275(18):13668-76 by Rader C, Ritter G, Nathan S, Elia M, Gout I, Jungbluth AA, Cohen LS, Welt S, Old LJ, Barbas CF 3rd "The rabbit antibody repertoire as a novel source for the generation of therapeutic human antibodies"を参照）。これを達成するために、免疫化した動物からリンパ球を採取した。ＦＬＪ３１４６１は、ワクチンや抗原特異的Ｔリンパ球の養子免疫伝達などといった免疫治療処置にとって極めて魅力的な標的でもある。

【実施例２】

【０１８９】

診断がん標的および治療がん標的としてのＤＳＧ４ （デスモグレイン 4）の特定

翻訳産物（デスモグレイン４；SEQ ID NO:76）を有する遺伝子DSG4 （デスモグレイン４；SEQ ID NO:75）はデスモソームカドヘリンファミリーに属する。この遺伝子は１６個のエキソンで構成され、染色体１８（18q12）上に配置されている。生成されたアミノ酸配列は、１０４０個のアミノ酸の長さを持つ前駆体タンパクをコードする。処理されたタンパク（49個のアミノ酸によってＮ末端が切り詰められた）は、９９１個のアミノ酸の長さを持ち、約１０８　ｋＤａの分子量を修飾せずに備えている。ＤＳＧ４は、他のデスモグレインと全く同様に、グリコシル化1型細胞表面タンパクであると想定する必要がある。ＤＳＧ４は、デスモゾームの成分として検出することが可能であった（Kljuic et al. 2003. Cell 113: 249-260）。デスモゾームは、機械的安定性を持つ上皮組織を提供する、複合細胞間結合部（表皮などのような）である。デスモグレインファミリーの他のメンバーに対する自己抗体は、デスモゾームに結合することによって表皮内で細胞－細胞－コンタクトの欠損に寄与しているようであり、さらに、皮膚疾患の尋常性天疱瘡にも寄与しているようである。ＤＳＧ４は、ほとんどの健常な組織では発現しないという記載がある。今まで有意な発現が報告されているのは、唾液腺、精巣、前立腺および皮膚だけである（Whittock, Bower 2003. J Invest Derm 120: 523-530）。腫瘍の疾患に対する関連性はいまだ検討がなされていない。

【０１９０】

本発明にしたがって、ＤＳＧ４特異的オリゴヌクレオチドを用いて健常な組織と腫瘍で発現を調べた。本発明にしたがって、ＲＴ－ＰＣＲ検査に、複数の　ＤＳＧ４特異的プライ

マーペアを用いた。これらは、ＤＳＧ４プライマーペアＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７、７８（エキソン10とエキソン12）、ＤＳＧ４プライマーペアＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８３、８４（エキソン1とエキソン5）、ＤＳＧ４プライマーペアＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８９、９０（エキソン5とエキソン8）およびＤＳＧ４プライマーペアＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：９５、７８（エキソン8とエキソン12）である。

【０１９１】

全プライマーペアを用いた実験では、ほとんどの正常組織でＤＳＧ４が発現しないということを確認した。ただし、プライマーペアによっては、異なる発現パターンが観察された（図４Ｂ）。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：９５、７８（エキソン8-12）のプライマーペアでは、前立腺と皮膚におけるごくわずかな発現を例外として、正常組織では一切発現は認められなかった。驚いたことに、一連の腫瘍で、このプライマーペアを用いたところＤＳＧ４を検出することができた。これらは特に、胃の腫瘍とさらには、口内、鼻および咽喉領域のがんである（図４Ａ）。

【０１９２】

ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７、７８（エキソン10-12）のプライマーペアの場合、上記のような前立腺や皮膚における正常組織で発現した場合であってもあまり顕著ではなかった。さらに驚いたことに、このプライマーペアの場合、より顕著な発現が腫瘍で認められた（図４Ａ）。一方では、これらの腫瘍は、胃の腫瘍や、口内、鼻および咽喉領域のがんやさらには他の種類のがんなど、第一のプライマーペアを用いた検査では疑わしい病態である（図４Ｂ、Ｃ）。特に、すべての腸腫瘍で、われわれは有意かつ高い発現を検出したが、われわれは第一のプライマーペアを用いては検出できなかった。各種腫瘍における発現量は、最も高い発現率の細胞毒性関連正常細胞に比べ多様であった（図４Ｂ）。

【０１９３】

これらの検査結果に基づくと、全長転写産物ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７５およびそれらに由来するタンパク（SEQ ID NO:76）は別として、エキソン９の前の領域が欠損しているＤＳＧ４の切りつめられた変異体も存在しているようである（図５）。

【０１９４】

ＤＳＧ４の遺伝子座の拡張分析の結果、この分子の各種変異体はエキソン9より前が欠失していることを予期せねばならないということが実証された（図５）。これらは、転写産物ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８５、８７、１０８、１１０および１１２ならびにそれらの変性タンパク産物ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８６、８８、１０９、１１１および１１３である。全長の転写はまた、エキソン１０より先の領域で修飾され、変異体転写産物ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０２、１０４、１０６およびタンパクＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０３、１０５、１０７となる。

【０１９５】

エキソン９の前で切り詰められた変異体は全長変異体よりも腫瘍選択的でさえあり、全長変異体が発現しない大腸がんなどのその他の種類の腫瘍で認めることができる。膜貫通領域はエキソン１２に配置されているので、プライマーＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７、７８によって増幅される領域は細胞外にあり、したがって抗体にとって利用可能となるはずである。この切り詰められた細胞外領域には、ＤＳＧ４－遺伝子セクションエキソン１０、１１および１２が含まれている。したがって、ＤＳＧ４のエキソン１０、１１および１２（SEQ ID NO:79）を含む転写産物は、特に、診断用がん標的および治療用がん標的として好適である。これらのＤＳＧ４領域は、細胞外にある領域（SEQ ID NO:81）をコードする。したがって、エキソン１０、１１、１２（SEQ ID NO:75、79、80、85、87、106、112）およびそれらがコードするポリペプチド（SEQ ID NO:76、81、82、86、88、107、113）を有するＤＳＧ４－ポリヌクレオチドは特に、本発明によるモノクローナル抗体の標的構造体として有用である。

【０１９６】

したがって、われわれは、全長分子（SEQ ID NO:75）の領域および切り詰められた分子（SEQ ID NO:81）の細胞外領域のそれぞれからエピトープを持つ動物を免疫化した。

【０１９７】
われわれは、ＤＳＧ４をトランスフェクトした細胞表面上でＤＳＧ４を染色する抗体を生成することができた。その後、特異的抗体は、表面上で免疫蛍光法（図６Ａ）およびフロウサイトメトリ（図６Ｂ）を用いてこのタンパクを特異的に検出することができる。
【０１９８】
提示された腫瘍の指標に関するこの分子の顕著な発現と高度な発生率によりこのタンパクと特にはその切り詰められた変異体が本発明にしたがった極めて興味のある診断および治療用マーカとなる。これはさらに、血清中、骨髄および尿内の播種型腫瘍細胞の検出さらには本発明にしたがったＲＴ－ＰＣＲを用いた他の器官における転移の検出も含む。
【０１９９】
ＤＳＧ４の細胞外領域、特には細胞膜に近い部分を、本発明にしたがった治療ならびに免疫診断のためのモノクローナル抗体の標的構造体としても利用可能である。
【０２００】
さらに、DSG4は、腫瘍特異的免疫反応（Ｔ細胞およびＢ細胞介在免疫反応）の誘発を目的として、ワクチン（RNA、DNA、タンパク、ペプチド）として本発明にしたがって用いることができる。本発明にしたがうと、これには、ＤＳＧ４の生体活性を調節し、腫瘍の治療に用いることができるいわゆる「小型化合物」の発現も含まれる。
【実施例３】
【０２０１】
診断用がん標的および治療用がん標的としてのＤＳＧ３（デスモグレイン3）の特定
遺伝子ＤＳＧ３（デスモグレイン３；SEQ ID NO:3）およびその翻訳産物（SEQ ID NO:4）は、寄託番号ＮＭ＿００１９４４（ヌクレオチド配列）またはＮＰ＿００１９３５（タンパク配列）のもとでＮＣＢＩで公開されているデスモゾームのカドヘリンファミリーに属している。この遺伝子は、１５個のエキソンで構成され、染色体１８（18q12.1-q12.2）上に配置されている。生成されたアミノ酸配列は、９９９個のアミノ酸を有し、約１３０　ｋＤａの仮説サイズを持つタンパクをコードする。ＤＳＧ３は、グリコシル化１型細胞表面タンパクであり、デスモゾーム内で検出可能である（Silos et al. J. Biol. Chem. 271: 17504-17511, 1996）。デスモゾームは、上皮細胞、（例えば表皮などといった）上皮組織に機械的安定性を与えるため、隣接細胞のケラチンフィラメントを接続している細胞内複合接続部である。デスモソーマルカドヘリンデスモグレインおよびデスモコリンは、カルシウム依存型接着分子である。デスモグレイン３に対する自己免疫と、結果として生じる表皮における細胞-細胞-接触部の欠損は、皮膚疾患の尋常性天疱瘡に関与している（Amagai et al., 1991. Cell 67: 869-877）。これは、動物モデルでも実証されている（Koch et al, 1997. J Cell Biol 5: 1091-1102）。
【０２０２】
本発明にしたがい、ＤＳＧ３特異的定量的ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO:33、34）の確定後に、遺伝子特異的転写産物の量を、健全な組織とがん標本で検査した（図７；方法：材料と方法を比較；　セクションＢ．１．）。われわれの実験では、正常組織における発現の分化分布が実証された。ＤＳＧ３転写産物は、正常組織にはほとんど認められなかった。有意な転写産物の量を発現している唯一の正常組織は、気管支、皮膚、胸腺である（図７ａ）。その他すべての分析の対象とした組織、特に脳、心臓、肝臓、膵臓、ＰＢＭＣ、肺、乳房、卵巣、腎臓、脾臓、大腸、リンパ節、子宮、膀胱および前立腺では、転写度は低くまたは、検出不能である（図７Ａ）。驚いたことに、われわれは、今日まで報告されていない一部の腫瘍型におけるＤＳＧ３の有意な発現を実証することができた。
【０２０３】
腫瘍の定量的ＲＴ－ＰＣＲ分析では、ＤＳＧ３特異的転写産物がとりわけ鼻咽喉領域（頭頸部がん）の腫瘍において、最も高度な発現性細胞毒性関連組織を超える量で実証されている（図７Ｂ）。しかし、気管支（図７Ｃ）のがんなどといった他の腫瘍もこのタンパクを発現する。

【０２０４】
われわれは、ＤＳＧ３特異的抗体でヒト組織の切片を染色したところ、ＰＣＲ内で観察された腫瘍特異性を確認することができた（図８）。
【０２０５】
記述された腫瘍指標におけるこの分子の顕著な発現と高発生率は、このタンパクを、本発明にしたがったきわめて興味深い診断および治療用マーカにしている。これには、本発明にしたがって、血清、骨髄および尿における播種型腫瘍細胞の検出ならびにＲＴ－ＰＣＲを用いた他の器官における転移の検出も含まれる。
【０２０６】
Ｎ端末に配置されたＩ型膜タンパクデスモグレイン３（SEQ ID NO:4、アミノ酸1-611）の細胞外領域は、治療用のみならず免疫診断用にモノクローナル抗体の標的構造として本発明にしたがって使用できる。さらに、本発明にしたがって、ＤＳＧ３を、腫瘍特異的免疫反応（T細胞およびB細胞介在免疫反応）誘導するためのワクチン（RNA、DNA、タンパク、ペプチド）として使用することができる。本発明にしたがいこれには、ＤＳＧ３の生体活性を調節し、腫瘍の治療に使用することのできる、いわゆる「小型化合物」の発現も含まれる。
【実施例４】
【０２０７】
診断および治療用がん標的としてのトランスポータＳＬＣ６Ａ３（溶質担体ファミリー6）の特定
遺伝子ＳＬＣ６Ａ３（SEQ ID NO:5）およびその翻訳産物（SEQ ID NO:6）は、ナトリウム神経伝達物質共輸送体ファミリー（SNF－ファミリー）に属しており、寄託番号ＮＭ＿００１０４４（ヌクレオチド配列）またはＮＰ＿００１０３５（タンパク配列）のもとで蓄積されている。この遺伝子は１６個のエキソンで構成され、染色体５（5p15.3）上に配置されている。ＳＬＣ６Ａ３遺伝子は、６２０個のアミノ酸の長さを持つ糖タンパクをコードする。ＳＬＣ６Ａ３は、ホモオリゴマーとしてイオントランスポーター複合体の一部に相当する、合計１２の膜貫通領域を持つ必須の膜タンパクである（Hastrup et al., 2003. J Biol Chem 278: 45045-48）。
【０２０８】
本発明にしたがい、ＳＬＣ６Ａ３特異的定量的ＲＴ－ＰＣＲ（プライムペア SEQ ID NO: 35、36）の確定後に、健全な組織とがん標本でＳＬＣ６Ａ３特異的転写産物の分布を検査した（図９；方法：材料と方法を比較； セクションＢ．１．）。ほとんどの正常組織でＳＬＣ６Ａ３はごくわずかしかまたはまったく発現せず、ＳＬＣ６Ａ３の中程度の発現が胸腺、脾臓、卵巣、膵臓さらには腎臓でのみ認められた。約１００倍増加したＳＬＣ６Ａ３Ａの有意な過剰発現が腎がんで検出された（図９Ａ）。定量（図９Ｂ）および従来のＲＴ－ＰＣＲ（図９Ｃ）を用いた各種腎臓組織の詳細分析から、ＳＬＣ６Ａ３が、７／１２腎臓細胞がんで発現し、非腫瘍化標本に比べ５／１２の標本で過剰発現することが認められた。レベルは有意に低いが検出可能なＳＬＣ６Ａ３特異的発現も、他のがんの一部の腫瘍組織で検出された。特に、一部の乳がん、卵巣がん、気管支がんおよび前立腺がんでは、ＳＬＣ６Ａ３Ａ特異的転写産物が検出された（図９Ｄおよび９Ｅ）。
【０２０９】
本発明によれば、ＳＬＣ６Ａ３の様々な細胞外領域をモノクローナル治療抗体の標的構造体として使用可能である。ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６を基準とした以下の配列領域は、ＳＬＣ６Ａ３（ソフトウェアTMHMM2を用いた分析に基づく）に対する細胞外領域であるとして予測される： アミノ酸８９－９７、１６４－２３７、２８８－３１０、３６９－３９７、４７０－４７８、５４５－５５８。ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３および６４に列挙されているペプチドを、ＳＬＣ６Ａ３特異的抗体の産生のために使用した。
【実施例５】
【０２１０】
診断および治療用がん標的としてのＧＲＭ８の特定

遺伝子ＧＲＭ８／ＧｌｕＲ８すなわち「メタボトロフィックグルタミン酸受容体８」（SEQ ID NO:7）およびその翻訳産物（SEQ ID NO:8）はグルタミン酸受容体のファミリーに属している。この遺伝子は１０個のエキソンから成り、染色体７（7q31.3-q32.1）に配置されている。ＧＲＭ８遺伝子によってコードされているタンパクは、９０８個のアミノ酸の長さを持ち、その算出分子量は１０２　ｋＤａである。予測プログラムは、７個の膜貫通領域を予測している。このタンパクは、ＧｌｕＲ４およびＧｌｕＲ７との高い類似性（67％～70％の類似性）を示している（Scherrer et al., 1996. Genomics 31: 230-233）。

【０２１１】

Ｌグルタメートは、中枢神経系における重要な神経伝達物質でイオンチャンネル型のみならず代謝型グルタミン酸受容体も活性化する。ＧＲＭ８特異的転写産物は今日まで、脳またはグリア細胞内でしか検出されていない。しかし現在まで、もっと多くの数の組織の定量レベルでの転写産物またはタンパクを比較する調査は報告されていなかった（Wu et al., 1998. Brain Res. 53: 88-97）。

【０２１２】

本発明にしたがい、ＧＲＭ８特異的定量的ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO:37、38）の確定後に、ＧＲＭ８特異的転写産物の分布を健常な組織とがん標本で調べた（図１０；方法：材料と方法を比較；　セクションＢ．１．）。われわれの実験で、各種正常組織内の発現量の特異的分布が実証された。われわれは、脳のみならず、量的には少ないが胃、腸、膀胱、卵巣、肺、および膵臓の組織でも、選択的にＧＲＭ８転写産物を特定した。他の正常組織ではほとんど、ＧＲＭ８の発現量が有意に少なかったか、またはまったく検出されなかった。一部の腫瘍では、まだ報告されていない有意なＧＲＭ８の発現を検出することができた。特に、大腸、子宮頸管および腎臓の各細胞のがんは、他の正常組織すべてに比べて、１０倍以上もの過剰発現を呈し、さらに、脳組織の発現レベルよりも明らかに上回っている（図１０Ａおよび１０Ｂ）。

【０２１３】

本発明によれば、ＧＲＭ８の細胞外領域を、治療用モノクローナル抗体の標的構造体として使用することができる。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８に関しては、アミノ酸１－５８２、６４４－６５２、７１７－７４３および８０６－８１９が細胞外に局在化している。

【実施例６】

【０２１４】

診断および治療用がん標的としてのカドヘリン１７（ＣＤＨ１７）の特定

遺伝子ＣＤＨ１７（SEQ ID NO:9）およびその翻訳産物（SEQ ID NO:10）は、カドヘリンファミリーに属している。この遺伝子は１８個のエキソンからなり、染色体８（８ｑ２２．１）に配置されている。これは、二次修飾をせずに、９２．１　ｋＤａの算出分子量を持ち、１個の膜貫通領域を持つ８３２個のアミノ酸の長さを有する１型膜透過タンパクをコードする。カドヘリン１７は、Dantzig ら（Science 264: 430-433, 1994）によってプロトン依存ペプチドトランスポータとしてクローン化された。カルシウム依存糖タンパクカドヘリン17には、細胞外領域に7個のカドヘリン領域が含まれている（Gessner et al., Ann N Y Acad Sci.; 915:136-43, 2000）。細胞内領域は、他のカドヘリンとの相同性を示していない。発現に関する実験は、散発的のみ利用可能で、多数の異なる組織の定量的比較転写またはタンパク実験の形態ではできなかった。

【０２１５】

本発明にしたがい、ＣＤＨ１７特異的定量ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO:39、40）の確定後に、ＣＤＨ１７特異的転写産物の分布について健常な組織とさらにはがん標本において調べた（図１１；方法：材料と方法を比較；　セクションＢ．１．）。ほとんどの正常組織で、ＣＤＨ１７はまったく検出できない（図１１Ａ）。われわれは、胃と腸の組織で選択的に有意な転写量と、膀胱、脾臓、リンパ節、胸腺、前立腺および食道ではるかに少ない発現量を確認した。驚いたことにわれわれは、かつて報告されたことのない顕著なＣＤＨ１７特異的発現を腫瘍で検出した。腸内腫瘍におけるＣＤＨ１７に関しては、少なくとも２－１０倍の過剰発現が正常組織に比較して測定された。ＣＤＨ１７は、さ

らに胃と気管支腫瘍で強く発現している（図１１Ｂおよび１１Ｃ）。

【０２１６】

報告されている腫瘍指標に関するこの分子の顕著な発現と高い発生率が、このタンパクを、本発明にしたがった極めて興味深い診断および治療マーカとさせている。これには、本発明にしたがって、血清、骨髄および尿における播種型腫瘍細胞の検出のみならず、ＲＴ－ＰＣＲを用いた他の器官における転移の検出も含まれる。

【０２１７】

本発明にしたがい、ＣＤＨ１７の細胞外領域を、治療ならびに免疫診断のためのモノクローナル抗体の標的構造体として使用することができる。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０に関しては、アミノ酸１－７８５が、細胞外に局在化している（ソフトウェアTMHMM2を用いて行われた予測）。

【０２１８】

さらに、ＣＤＨ１７を、本発明にしたがい、腫瘍特異的免疫反応（Ｔ細胞およびＢ細胞介在免疫反応）の誘発のためのワクチン（RNA、DNA、タンパク、ペプチド）として使用することができる。これには、本発明にしたがい、ＣＤＨ１７の生体活性を調節し、腫瘍の治療に使用することができるいわゆる「小型化合物」の開発も含まれる。

【実施例７】

【０２１９】

診断および治療用がん標的としてのＡＢＣＣ４の特定

遺伝子ABCC4（SEQ ID NO: 11）およびその翻訳産物（SEQ ID NO: 12）は、ABCトランスポータ（ATP-結合カセット）をコードする。この遺伝子は３１個のエキソンから成り、染色体１３（13q31）に配置されている。これは、修飾せずに、約１４９　ｋＤａの算出分子量を持つ、１３２５個のアミノ酸の長さを備えたタンパクをコードする。ＡＢＣＣ４は、必須の膜タンパクである。ＡＢＣＣ４のトポロジーはまだ解明されておらず、予測プログラムは１２－１４膜貫通領域を予測している。ＡＢＣトランスポータは、細胞外および細胞内膜を通じて各種分子を輸送する。ＡＢＣＣ４は、多剤耐性タンパクのいわゆるＭＲＰファミリーに属している。ＡＢＣＣ４の特異的機能はまだ解明されていないが、このトランスポータが、多くの腫瘍の化学療法耐性をになうことになる細胞解毒作用で重要な役割を果たすと考えられる。

【０２２０】

人体の各種器官に対するこの遺伝子産物の組織分布はいまだ調査されていない。本発明にしたがい、ＡＢＣＣ４特異的定量的ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO:41、42）の確定後に、特異的転写産物を、健全な組織およびがん標本で調べた（図１２；方法：材料と方法の比較；　セクションＢ．１．）。すべての正常組織におけるわれわれの比較実験で、ABCC4の公開された偏在的な発現を確認する。ＡＢＣＣ４は、すべての被験正常組織で検出された。驚いたことに、われわれは、正常組織の発現量を超える転写産産物の過剰発現を多数の腫瘍で観察した。この点で、ＡＢＣＣ４は、例えば腎臓および前立腺ならびに気管支腫瘍におけるすべての分析対象となった正常細胞と比べ２－１５倍もの増加した量で発見される（図１２）。

【０２２１】

報告されている腫瘍指標のこの分子の顕著な発現と高い発生率がこのタンパクを本発明にしたがった非常に興味深い診断および治療用マーカにさせている。これには、本発明にしたがった血清、骨髄および尿における播型腫瘍検出ならびに、ＲＴ－ＰＣＲを利用した他の器官における転移の検出も含まれる。

【０２２２】

本発明にしたがったＡＢＣＣ４の細胞外領域は、治療だけでなく免疫診断のためのモノクローナル抗体の標的構造体として使用可能である。細胞外領域の正確な配置はいまだ未知である。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２に関しては、ソフトウェアＴＭＨＭＭ２がアミノ酸１１４－１３２、２３０－２３２、３４７－３５０、７３０－７６８、８７９－９４６および９９９－１３２５が細胞外であると予測している。

【０２２３】
さらにＡＢＣＣ４は、本発明にしたがい、腫瘍特異的免疫反応（Ｔ細胞およびＢ細胞介在免疫反応）の誘発のためワクチン（RNA、DNA、タンパク、ペプチド）として使用してもよい。これには、本発明にしたがい、ＡＢＣＣ４の生体活性を調節し、腫瘍の治療に使用することができるいわゆる「小型化合物」の開発も含まれる。
【実施例８】
【０２２４】
診断および治療用がん標的としてのＶＩＬ１の特定
遺伝子ＶＩＬ１すなわちビリン１（SEQ ID NO:13）およびその翻訳産物（SEQ ID NO:14）は染色体２（2q35-q36）上の１９個のエキソンから成る遺伝子によってコードされる。この遺伝子は、修飾せずに、約９２　ｋＤａの算出分子量を持つ８２６個のアミノ酸の長さを備えたタンパクをコードする。ビリンは、胃腸および泌尿器生殖器上皮の細胞における微絨毛の構造上の主要成分である。これは、カルシウム調節されたアクチン結合タンパクに相当する。
【０２２５】
Pringaultら（EMBO J. 5: 3119-3124, 1986）はビリン1をクローン化し、二つの転写産物（2.7 kb and 3.5 kb）の存在を実証することができた。これらの変異体は代替ポリアデニル化信号を最終エキソンで用いることにより発生する。ＶＩＬ１特異的転写産物は脳、心臓、肺、腸、腎臓および肝臓などの多数の組織ですでに報告されている。ただし、さらに多くの数の組織に関する総括的定量比較転写産物またはタンパクの実験はいまだ実施されていない。これは治療目的でのＶＩＬ１の有用性に関する情報を与えてくれるに違いない。
【０２２６】
本発明にしたがい、ＶＩＬ１特異的定量的ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO:43、44）の確定後に、健常な組織とがん標本における特異的転写産物の分布を調べた（図１３；方法：材料と方法の比較、セクションＢ．１．）。すべての正常組織に関するわれわれの比較実験から、ＶＩＬ１特異的発現の特異的分布が明らかとなっている。ほとんどすべての正常細胞でＶＩＬ１特異的転写産物は、検出されていない（図１３Ａ）。特にわれわれの発見は、脳、心臓、乳房、卵巣、リンパ節、気管支、皮膚、胸腺、膀胱および筋肉におけるすでに報告されている発現に対し反証している。われわれは、胃と腸におけるＶＩＬ１転写産物を認め、膵臓、肝臓およびＰＢＭＣでは低い発現しか認めていない。
【０２２７】
ただし、驚いたことにわれわれは、有意でしかし報告されていないＶＩＬ１特異的過剰発現を腫瘍内で検出した。例えば、大腸および胃のがんでは、すべての分析対象となった正常組織に比べ５－１０倍の過剰発現が観察された（図１３Ａおよび１３Ｂ）。有意なＶＩＬ１特異的発現は、膵臓、胃および肝臓ならびに気管支の各腫瘍でも検出される。
【０２２８】
報告があった腫瘍指標に関するこの分子の顕著な発現と高い発生率が、本発明にしたがうこのタンパクを極めて興味深い診断および治療用マーカとしている。これには、本発明にしたがった血清、骨髄および尿における播種性腫瘍細胞の検出さらには、RT-PCRを活用した他の器官における転移の検出が含まれる。
【０２２９】
本発明にしたがい、これを、腫瘍特異的免疫反応（T細胞およびB細胞介在免疫反応）の誘発にワクチン（RNA、DNA、タンパク、ペプチド）として使用できる。本発明にしたがい、これには、ＶＩＬ１の生体活性を調節し、腫瘍の治療に使用することができるいわゆる「小型化合物」の開発が含まれる。
【実施例９】
【０２３０】
診断および治療用がん標的としてのＭＧＣ３４０３２の特定
遺伝子ＭＧＣ３４０３２（SEQ ID NO:15）の翻訳産物（SEQ ID NO:16）は、現在未知であ

る機能を有する仮説タンパクである。この遺伝子は、２８個のエキソンから成り、染色体１（1p31.1）に配置されている。この遺伝子は、約７９　ｋＤａの算出分子量を持つ７１９個のアミノ酸の長さを備えたタンパクをコードする。予測プログラムは一貫して、８個の膜貫通領域を予測している。相同性は知られておらず、ＭＧＣ３４０３２に関する出版物は存在していない。

【０２３１】

本発明にしたがい、ＭＧＣ３４０３２特異的定量的ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO:45、46）の確定後に、特異的転写産物の分布を健全な組織およびがん標本で調べた（図１４；方法：材料と方法の比較；　セクションＢ．１．）。われわれはすべての被験正常組織でＭＧＣ３４０３２転写産物を認めた。ただし、腫瘍に認められる転写産物と正常組織における転写産物の数量の比較結果は、驚いたことに各種腫瘍型がまだ報告されていないが有意なこの遺伝子産物を５～１０倍過剰に発現していることを示していた。これらは特に、気管支、大腸、卵巣、肺および腎臓の各細胞のがんならびに耳－鼻－咽喉がんである（図１４Ａ－Ｄ）。

【０２３２】

ＭＧＣ３４０３２特異的抗体を産生するためにＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：９８　および９９に列挙されているペプチドを用いた。これらの抗体は、細胞表面でＭＧＣ３４０３２を染色できた（図１５Ａ）。

【０２３３】

報告されている腫瘍指標に関するこの分子の顕著な発現と高い発生率が、本発明にしたがったこのタンパクを非常に興味深い診断および治療用マーカとしている。これはまた、血清、骨髄および尿における播種性腫瘍細胞の検出ならびにRT-PCR を活用した他の器官における転移の検出も含まれる。

【０２３４】

ＭＧＣ３４０３２の細胞外領域は治療ならびに免疫診断のためのモノクローナル抗体の標的構造体として本発明にしたがって使用することができる。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６に関しては、アミノ酸６２－２４０、２８８－３２３、３９５－４６１および６３３－６４６が細胞外に局在化している（TMHMM2ソフトウェアを活用した予測）。

【０２３５】

さらに、ＭＧＣ３４０３２は、腫瘍特異的免疫反応（T細胞およびB細胞介在免疫反応）の誘発のためワクチン（RNA、DNA、タンパク、ペプチド）として本発明にしたがい使用することができる。これには、本発明にしたがってＭＧＣ３４０３２の生体活性を調節し、腫瘍の治療に使用することができるいわゆる「小型化合物」の開発も含まれる。

【実施例１０】

【０２３６】

診断および治療用がん標的としてのセリンプロテアーゼＰＲＳＳ７（エンテロキナーゼ）の特定

遺伝子ＰＲＳＳ７（SEQ ID NO:17）およびその翻訳産物（SEQ ID NO:18）は、セリンプロテアーゼファミリーに属している。この遺伝子は２５個のエキソンからなり、染色体２１（21q21）上に配置されている。この遺伝子は、翻訳後にさらに処理される１０１９個のアミノ酸の長さを持つタンパクをコードする。活性酵素は、タンパク質分解開裂を通じて一般的前駆体分子から誘導される、ジスルフィド架橋によって接続されている２個のペプチド鎖で構成されている。Ｈ鎖は７８４個のアミノ酸で構成されている。２３５個のアミノ酸で構成されているＬ鎖は、既知のセリンプロテアーゼと明らかな相同性を示す。予測プログラムは、ＰＲＳＳ７のひとつの膜貫通領域を予測している。ＰＲＳＳ７は、特に、頂端細胞および小腸の腸細胞に形成され、膵臓のタンパク質分解酵素（トリプシン、キモトリプシンおよびカルボキシペプチダーゼなど）の初期活性に資する（Imamura and Kitamoto, Am J Phsyiol Gastrointest Liver Physiol 285: G1235-G1241, 2003）。現在までこのタンパクはヒト腫瘍と会合していない。

【０２３７】

本発明にしたがい、ＰＲＳＳ７特異的定量的ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO:47、48）の確定後に、健全組織とがん標本で特異的転写産物の分布を調べた（図１６；方法：材料と方法の比較、セクションＢ．１．）。ほとんどの分析した組織で、われわれは、ＰＲＳＳ７特異的発現をまったく検出しなかったかまたはごくわずかしか検出できなかった（図１６Ａ）。関連する発現が十二指腸でのみ認められた（図１６Ｂ）。

【０２３８】

ＰＲＳＳ７は、各種の腫瘍によって発現する。調査の対象とした胃がんの一部で、正常胃組織に比べ顕著な過剰発現が検出された（図１６Ｂ）。さらに、気管支、肝臓ならびに膵臓のがんが、ＰＲＳＳ７を発現しており、一部遺伝子は対応する正常組織に比べ一部の腫瘍標本において明らかに過剰発現していた（図１６Ｂおよび１６Ｃ）。

【０２３９】

報告された腫瘍指標に関するこの分子の顕著な発現と高い発生率が本発明にしたがったこのタンパク質を非常に興味深い診断および治療用マーカとしている。これにはまた、本発明にしたがって血清、骨髄および尿における播種型腫瘍細胞の検出ならびにＲＴ－ＰＣＲを活用した他の器官における検出も含まれる。

【０２４０】

われわれはＰＲＳＳ７だけでなくＰＲＳＳ７特異的抗体のあるヒト組織の切片によってトランスフェクトした細胞を染色したところ、膜上に予測されたタンパクトポロジーを確認することができた（図１７Ａと１７Ｂ）。

【０２４１】

ＰＲＳＳ７の細胞外部分は、本発明にしたがい、治療および免疫診断のためのモノクローナル抗体の標的構造体として使用することができる。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８に関しては、アミノ酸残基５０から始まるアミノ酸が細胞外に局在化している。さらに、本発明にしたがい、ＰＲＳＳ７は、腫瘍特異的免疫反応（T細胞およびB細胞介在免疫反応）の誘発のためのワクチン（RNA、DNA、タンパク、ペプチド）として使用できる。これには、本発明にしたがい、ＰＲＳＳ７の生体活性を調節し、腫瘍の治療に使用することができるいわゆる「小型化合物」の開発も含まれる。

【実施例１１】

【０２４２】

診断および治療用がん標的としてのＣＬＣＡ２の特定

遺伝子ＣＬＣＡ２すなわち「カルシウム活性化クロライドチャネル２」（SEQ ID NO:19）は、クロライドイオントランスポータのファミリーに属する。この遺伝子は１４個のエキソンからなり、染色体１（1p31-p22）に配置されている。この遺伝子は、約１２０　ｋＤａの算出分子量を有する９４３個のアミノ酸の長さを持つタンパクをコードする。実験により、５つの膜貫通領域の他、大型のＮ末端局在化細胞外領域も検出された。ＣＬＣＡ２は、イオントランスポーターである（Gruber, 1999. Am J Physiol 276, C1261-C1270）。

【０２４３】

ＣＬＣＡ２転写産物は、肺、気管および乳腺（Gruber, 1999. Am J Physiol 276, C1261-C1270）ならびに精巣、前立腺および子宮の組織（Agnel, 1999. FEBS Letters 435, 295-301）ですでに報告されている。組織の全集団における比較実験結果はまだ利用可能ではない。

【０２４４】

本発明にしたがい、ＣＬＣＡ２特異的定量的ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO:49、50）の確定後に、人体のほとんどすべての健常な組織と腫瘍標本で特異的転写産物の分布について調べた（図１８；方法：材料と方法の比較、セクションＢ．１．）。われわれは、正常組織でＣＬＣＡ２の示差発現を突き止めた。ほとんどの分析対象となった組織で、転写は検出できない。気管支、皮膚、膵臓でさらには胸腺、膀胱、大腸および前立腺で有意にわずかに発現を検出できたにすぎなかった。驚いたことに、われわれは、ＣＬＣＡ２のまだ報告されていない有意な発現を一部の種類で腫瘍で突き止めた。特に、鼻－咽喉

領域の腫瘍ならびに乳房、食道、卵巣および膵臓がんさらには、気管支がんでも、対応する正常組織に比べ、１０～１０００倍のＣＬＣＡ２特異的発現の増大が認められた（図１８）。

【０２４５】

報告された腫瘍指標に関するこの分子の顕著な発現と高い発生率が、本発明にしたがったこのタンパク質を、非常に興味深い診断および治療用マーカとしている。これには、本発明にしたがい、血清、骨髄および尿における播種型腫瘍細胞の検出ならびに、ＲＴ－ＰＣＲ を活用した他の器官における転移の検出が含まれる。

【０２４６】

２個の細胞外領域（SEQ ID NO:20に関して；アミノ酸1-235、448-552および925-943）は、本発明にしたがって治療だけでなく免疫診断にもモノクローナル抗体の標的構造体として使用できる。

【０２４７】

ＣＬＣＡ２特異的ペプチド（SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101）を使用した免疫化によって、細胞表面上にＣＬＣＡ２を染色する抗体が産生できた。ＣＬＣＡ２をトランスフェクトされた細胞は、細胞膜上にこのタンパクを発現する（図１９Ａ）。腫瘍の選択性が特異的抗体を用いた免疫蛍光法で確認された（図１９Ｂ）。

【０２４８】

さらに、ＣＬＣＡ２を、腫瘍特異的免疫反応（T細胞およびB細胞介在免疫反応）の誘発のためのワクチン（RNA、DNA、タンパク、ペプチド）として本発明にしたがい使用することができる。これには、本発明にしたがい、ＣＬＣＡ２の生体活性を調節し、腫瘍の治療に使用することができるいわゆる「小型化合物」の開発も含まれる。

【実施例１２】

【０２４９】

診断および治療用がん標的としてのＴＭ４ＳＦ４（膜透過４スーパーファミリーメンバ4）の特定

遺伝子ＴＭ４ＳＦ４（SEQ ID NO:21）とその翻訳産物（SEQ ID NO:22）はテトラスパニンファミリーに属している（Hemler,2001.J Cell Biol 155,1103-07）。この遺伝子は５個のエキソンから成り、染色体３（3q25）に配置されている。

【０２５０】

この遺伝子は、２０２個のアミノ酸の長さを持ち、算出分子量が約２１．５　ｋＤａであるタンパクをコードする。予測プログラムは、一貫してＴＭ４ＳＦ４の４個の膜貫通領域を予測している。このタンパクは、第二の細胞外領域の領域内でＮ－グリコシル化されており細胞膜内に配置されている。Ｎ－グリコシル化の度合いは、細胞増殖の調節に影響を与え、これはグリコシル化の増加に伴って阻害されるということが報告されている（Wice & Gordon, 1995. J Biol Chem 270, 21907-18）。テトラスパニンは、インテグリンから成る群のさまざまなメンバーとの複合体を形成する。これらの高分子多複合体は、細胞内で種々の重要な官能基と考えられている。例えばこれらは、細胞-細胞間接着の役割を果たし、細胞内接触、シグナル変換および細胞運動で役割を果たしている（Bereditschevski, 2001. J Cell Sci 114, 4143-51）。

【０２５１】

ＴＭ４ＳＦ４転写産物については、肝臓の門脈周囲部と腸の特異的セクションで報告があるが、他の組織での分析は行われておらず、特に腫瘍については行われていない（Wice & Gordon, 1995. J Biol Chem 270, 21907-18）。本発明にしたがい、ＴＭ４ＳＦ４特異的定量的ＲＴ－ＰＣＲ　（プライマーペアSEQ ID NO:51、52）の確定後に、健常組織とがん標本における特異的転写産物の分布について調べた（図２０；方法：材料と方法の比較；　セクションＢ．１．）。われわれの調査で、正常組織における発現の示差分布が証明された。ＴＭ４ＳＦ４特異的転写産物は主として正常肝組織の標本で認められた。いくつかのその他の正常組織では（中でも膵臓）、われわれは（少なくとも10倍）明らかに低い発現を認めた。発現は、脳、心筋、筋骨格系、皮膚、乳房組織、卵巣、ＰＢＭＣ、脾臓、リ

ンパ節および子宮頚官では検出できなかった。公開されている予測とは異なり、このＴＭ４ＳＦ４は腫瘍組織で下方制御されており（Wice & Gordon, 1995. J Biol Chem 270, 21907-18）、少なくとも比較対象になりうるTM4SF4特異的発現が各種腫瘍で示された。一部ＴＭ４ＳＦ４は、腫瘍で過剰発現していた（図２０Ａ）。詳細な発現分析で、われわれは、公開されているデータとは逆に、ＴＭ４ＳＦ４が肝腫瘍では抑制されないということを実証することもできた（図２０Ｂ）。さらに、この遺伝子は、正常大腸組織に比べ、４／１２大腸腫瘍標本で過剰発現していた（図２０Ｃ）。

【０２５２】

ＴＭ４ＳＦ４特異的抗体を産生させるために、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６５および６６にリストアップされているペプチドを使用した。これらの抗体は、推定グリコシル化パターンに相当する各種サイズのＴＭ４ＳＦ４タンパクを認識することができた（図２１Ａ）。さらに、ＴＭ４ＳＦ４表面局在性を免疫蛍光法を使用することで確認でき（図２１Ｂ）、さらにＰＣＲで観察された腫瘍選択性もヒト組織の免疫組織染色によって確認できた（図２１Ｃ）。

【０２５３】

要するに、ＴＭ４ＳＦ４は、発現が、いくつかの選択された正常組織の細胞亜集団に制限されているような膜タンパクとして特長づけることができる。ＴＭ４ＳＦ４は、特に、肝臓における門脈周囲肝細胞内に検出可能であり、胃腸管の表皮の頂端膜においても特に検出可能である。頂端タンパクの局在性の場合、このタンパクは正常細胞内では抗体に近接できない。というのは、腸の上皮内では、これは内腔に面しているために、血管系に接続されていないためである。しかしながら、腸の腫瘍では、健全な組織では利用できないこれらの分子はそれ以上、無制御の増殖や腫瘍の血管新生によってそれ以上区画されず、したがって治療抗体として利用することができる。

【０２５４】

したがってＴＭ４ＳＦ４の二つの細胞外領域を本発明にしたがいモノクローナル抗体の標的構造体として使用することができる。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２２に関しては、アミノ酸２３－４５および１１０－１５６が細胞外に配置されている（ソフトウェアTMHMM2を用いて、予測を行った）。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６５および６６を有するペプチドに関しては、ポリクローナル抗体の生成が、すでに成功を収めている (Wice & Gordon, 1995. J Biol Chem 270:21907-18)。腫瘍特異的抗体を開発するための治療方法には、それぞれが翻訳後Ｎ－グリコシル化のための保存誘因「ＮＳＸ／Ｔ」を含むペプチドＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６７およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６８が好適であるが、ここで"Ｘ"は、プロリン以外の任意のアミノ酸に相当する。

【実施例１３】

【０２５５】

診断および治療用がん標的としてのＣＬＤＮ１９の特定

翻訳産物（SEQ ID NO:24）を有する遺伝子ＣＬＤＮ１９すなわちクローディン１９（SEQ ID NO:23）は、クローディンファミリーに属する。

【０２５６】

この遺伝子は、約２１．５ｋＤａの算出分子量を有する、２２４個のアミノ酸長をもつタンパクをコードする。クローディン１９に関して、予測プログラムが一貫して、クローディンファミリーに特長的な４つの膜貫通領域を予測している。今までのところ、クローディン１９については機能的にそれ以上詳しくは特長づけされていない。クローディンファミリーの他のメンバーに関する機能は報告されている。したがって、クローディンは、細胞－細胞間接着および細胞内接触で重要な役割を果たしている。これらは、大きな分子複合体の一部を構成しているため、細胞－細胞間接触のための膜孔（「密着結合」）を形成している。

【０２５７】

本発明に従い、ＣＬＤＮ１９特異的定量ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO:53,54）の確定後に、健常組織とがん標本で特異的転写産物の分布を調べた（図２２、方法：材

料と方法の比較；　セクションＢ．１）。その結果、驚いたことに、正常組織に発現の示差分布が存在することが判明した。（特に、脳、心筋、筋骨格、肝臓、膵臓、PBMC、肺、乳房組織、卵巣、脾臓、大腸、胃、リンパ節、食道、皮膚および前立腺における）正常組織の大部分で、ＣＬＤＮ１９が検出不能である。ＣＬＤＮ１９転写産物を検出できたのは、膀胱、胸腺および精巣における正常組織のみであった。腫瘍組織の比較試験の結果、驚いたことに、ＣＬＤＮ１９が各種腫瘍によって発現することが実証された。これらは、特に、腎臓、胃、肝臓および乳房のがんであるが、対応する正常組織に比べ、最大で１０倍もの過剰発現を呈している。ＣＬＤＮ１９は、ヒト腫瘍に関してはいまだ報告がない（図２２Ａ－２２Ｅ)。

【０２５８】

報告されている腫瘍指標に関するこの分子の顕著な発現と高い発生率が、本発明によるこのタンパクを非常に興味深い診断および治療用マーカとしている。本発明によれば、これには、血清、骨マークおよび尿中における播種型腫瘍細胞の検出、さらにはＲＴ－ＰＣＲを活用した他の器官における転移の検出も含まれる。

【０２５９】

ＣＬＤＮ１９の２つの細胞外領域（SEQ ID NO:24に関して、アミノ酸28-76および142-160）を、治療および免疫診断のためのモノクローナル抗体の標的構造体として本発明に従って使用できる。

【０２６０】

さらに、腫瘍特異的免疫反応（T細胞およびB細胞介在免疫反応）を誘発させるためのワクチン(RNA、DNA、タンパク、ペプチド)として本発明に従いＣＬＤＮ１９を使用できる。本発明によれば、これには、ＣＬＤＮ１９の生体活性を調節し、腫瘍の治療に使用できるいわゆる「小型化合物」開発を含む。

【実施例１４】

【０２６１】

診断および治療用のがん標的としてのＡＬＰＰＬ２の特定

遺伝子ＡＬＰＰＬ２すなわち「幹細胞特異的アルカリホスファターゼ」またはＧＣＡＰ（SEQ ID NO:25）は、アルカリホスファターゼ（AP）のファミリーに属しているタンパク(SEQ ID NO: 26)をコードしている。これは、全体として４個の非常に相同性の高いメンバー（相同性：90-98%）で構成されている。この遺伝子は、２４８６ｂｐ長を有する転写産物をコードしており、１１個のエキソンで構成されている。ＡＬＰＰＬ２は、それと関係の深いファミリーメンバーであるＡＬＰＰとＡＬＰＩの近傍で染色体２（2q37.1）に配置されている。

【０２６２】

生成されたタンパクは、５３２個のアミノ酸長と約５７．３ｋＤａの算出分子量を有する。ＡＬＰＰＬ２がグリコシル化され、ＧＰＩアンカーを介してホモダイマーとして原形質膜内に配置されている。この酵素の正確な生理学的機能は、未知である。骨肉種やパジェット病では、アルカリホスファターゼの酵素活性が腫瘍マーカとして使用されている（Millan, 1995. Crit Rev Clin Lab Sci 32, 1-39）。ただし、この判定法は、非特異的であり、実際の基礎分子からとは無関係である。上記３種のホスファターゼ、または現在はおそらく未知であるような他の同等なホスファターゼのどれがこのような活性を生み出しているのかは、明らかではない。

【０２６３】

ＡＬＰＰＬ２は、配偶子腫瘍を診断するための診断マーカとしてのみ、「ｉｎ　ｓｉｔｕ」で使用されてきた（Roelofs et al., 1999. J Pathol 189, 236-244）。

【０２６４】

初期の頃の限定された種類の組織一式に関する文献によれば、ＡＬＰＰＬ２は、精巣および胸腺の腫瘍、さらには一部の幹細胞腫瘍で発現する（LeDu, 2002. J Biol Chem 277, 49808-49814）。本発明に従い、ＡＬＰＰＬ２特異的定量ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO:55、56）を確定した後に、健常組織とがん標本におけるこの遺伝子産物の分布を

調べ、それに従って、特に、体組織すべても表す組織の総合的多様性を調べた（図２３、方法：材料と方法を比較；　Ｂ．１）。 われわれは、（特に、脳、心筋、筋骨格、肝臓、膵臓、PBMC、乳房組織、卵巣、脾臓、大腸、胃、リンパ節、食道、皮膚および前立腺における）正常組織の大部分で、タンパク質を検出しなかった。われわれは、精巣および肺の正常組織での発現と、胸腺および大腸における極めて低レベルの発現を実証した。ただし、腫瘍の比較研究結果により、驚いたことに、ＡＬＰＰＬ２は、各種の腫瘍型によって、特に大腸、胃、膵臓、卵巣および肺におけるがんだけでなく、鼻－咽喉領域のがんで、有意な量発現することが明らかとなった（図２３Ａおよび２３Ｂ）。

【０２６５】

報告されている腫瘍指標に関するこの分子の顕著な発現と高い発生率が、本発明によるこの分子を、非常に興味深い診断および治療用マーカとしている。これには、本発明に従った、血清、骨髄および尿中における播種型腫瘍細胞の検出と、ＲＴ－ＰＣＲを活用した他の器官における転移の検出が含まれる。

【０２６６】

ＡＬＰＰＬ２タンパク（SEQ ID NO: 26）は全体が、細胞外に配置されているため、本発明によれば、治療だけでなく免疫診断のためのモノクローナル抗体を開発するための標的構造体として使用することができる。

【０２６７】

さらに、本発明によるＡＬＰＰＬ２は、腫瘍特異的免疫反応（T細胞およびB細胞介在免疫反応）を誘発させるためのワクチン（RNA、DNA、タンパク、ペプチド）として使用できる。これには、本発明に従って、ＡＬＰＰＬ２の生体活性を調節し、腫瘍の治療に使用できるいわゆる「小型化合物」の開発も含まれる。

【実施例１５】

【０２６８】

診断および治療用がん標的としてのＧＰＲ６４の特定

遺伝子ＧＰＲ６４すなわち「Ｇタンパク共役受容体６４」（SEQ ID NO:27）とその翻訳産物（SEQ ID NO:28）は、７個の膜貫通受容体からなる大きな群に属している。この遺伝子は、３０４５ｂｐ長を有する転写産物をコードし、２７個のエキソンで構成されている。ＧＰＲ６４は、染色体（Xp22）上に配置されている。この遺伝子は、算出分子量が約１０８ｋＤａで、９８７個のアミノ酸長を有するタンパクをコードする。Ｎ末端領域は、強くグリコシル化される細胞外領域に相当する。このタンパクの正確な生理的機能は、未知である。

【０２６９】

ＧＰＲ６４については、いままでごく少数の正常組織でしか調査されていないが、そのうちの副睾丸の組織でのみ、この遺伝子が発現しているのが明らかとなった（Osterhoff, 1997. DNA Cell Biol 16, 379-389)。本発明に従って、われわれは、ＧＰＲ６４特異的ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO:57、58）を確定し、健常組織の全集団におけるこの遺伝子産物の分布を調べた（図２４；方法：材料と方法を比較; セクションＢ．１．）。多くの正常組織で、ＧＰＲ６４がまったく検出できず、一部が低レベルの発現を呈している。驚いたことに、腫瘍におけるこのタンパクの実験結果から、関連する正常組織に比べ、数倍も高い過剰発現が明らかになった。例えば、卵巣がんのほぼ半数で有意な過剰発現が認められた（図２４Ａ～２４Ｃ)。

【０２７０】

報告されている腫瘍指標におけるこの分子の顕著な発現と高い発生率が、本発明によるこのタンパクを、興味深い診断および治療マーカとしている。これには、血清、骨髄および尿中の播種型腫瘍細胞の検出だけでなく、ＲＴ－ＰＣＲを活用した他の器官における転移の検出も含まれる。

【０２７１】

本発明に従い、ＧＰＲ６４の４個の細胞外領域を、治療だけでなく免疫診断用のモノクローナル抗体の標的構造体として使用できる。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２８に関しては、アミ

ノ酸１－６２５、６８４－６９５、７５４－７８４および８５４－８５６が細胞外に配置されている。

【０２７２】

さらに、ＧＰＲ６４は、本発明に従って、腫瘍特異的免疫反応（Ｔ細胞およびＢ細胞介在免疫反応）を誘発させるためのワクチン（RNA、DNA、タンパク、ペプチド）として使用できる。これには、本発明に従い、ＧＰＲ６４の生体活性を調節し、腫瘍の治療に使用できるいわゆる「小型化合物」の開発が含まれる。

【実施例１６】

【０２７３】

診断および治療用がん標的としてのナトリウム／カリウム／塩化物トランスポータＳＬＣ１２Ａ１（溶質担体ファミリー12）の特定

遺伝子ＳＬＣ１２Ａ１（SEQ ID NO:29）は、翻訳産物（SEQ ID NO:30）をコードし、ナトリウム－カリウム－塩化物－共－トランスポータファミリーに属している。この遺伝子は、２６個のエキソンで構成されており、染色体１５（15q15-q21.1）上に配置されている。これは、二次修飾を伴わずに算出分子量が約１２０ｋＤａである、１０９９個のアミノ酸長を有するタンパクをコードする。ＳＬＣ１２Ａ１は、１０個の膜貫通領域を有する必須の膜タンパクである。ＳＬＣ１２Ａ１は、ヘンレ・シュライフェ（Henle-Schleife）における塩化ナトリウムの再吸収に介在し多くの臨床的に関連する利尿剤のターゲットポイントとなっている（Quaggin et al., Mammalian Genome 6: 557-561, 1995）。したがって、この分子は、基本的には、薬剤のための標的構造体として利用できる、つまりこれは、「製剤可能」である。

【０２７４】

本発明に従って、ＳＬＣ１２Ａ１－特異的定量ＲＴ－ＰＣＲ（プライマーペアSEQ ID NO: 59,60）を確定した後に、健常組織とがん標本における特異的転写産物の分布を調べた（図２５）。われわれは、正常組織におけるＳＬＣ１２Ａ１の発現が、文献にも報告されているように、第一に正常な腎組織に限定されていることを確認した。他の正常組織のすべてで、ＳＬＣ１２Ａ１特異的転写産物は、ごくわずかな量でしかまたはまったく検出されない（図２５Ａ）。驚いたことに、腫瘍の比較分析の結果、ＳＬＣ１２Ａ１発現しているのが認められた。特に腎臓、乳房、卵巣、前立腺のがんでは（図２５Ａ～２５Ｃ）、対応する正常組織に比べ、意外にも最高１，０００，０００倍もの過剰発現が認められた（図２５Ｂ～２５Ｄ）。今まで、ＳＬＣ１２Ａ１が腫瘍疾患に関して報告されたことはなかった。

【０２７５】

報告されている腫瘍指標の顕著な発現と高い発生率が、本発明に従ったこのタンパクを、非常に興味深い診断および治療用マーカとしている。これには、本発明に従い、結成、骨髄および尿中における播種型腫瘍細胞の検出だけでなく、ＲＴ－ＰＣＲを活用した他の器官における転移の検出も含まれる。ＳＬＣ１２Ａ１の細胞外領域は、治療および免疫診断のためのモノクローナル抗体の標的構造体として本発明に従って使用することができる。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０に関しては、アミノ酸１－１８１、２３４－２５７、３１９－３２７、４０２－４１５、５６２－５６４および　６３０－１０９９が、細胞外に配置されている。

【０２７６】

さらに、ＳＬＣ１２Ａ１は、本発明に従って、腫瘍特異的免疫反応（T細胞およびB細胞介在免疫反応）を誘発させるためのワクチン（RNA、DNA、タンパク、ペプチド）として使用できる。これには、本発明に従い、ＳＬＣ１２Ａ１の生体活性を調節し、腫瘍の治療に使用できるいわゆる「小型化合物」の開発も含まれる。

【図面の簡単な説明】

【０２７７】

【図１Ａ】（図１）遺伝子ＦＬＪ３１４６１のＰＣＲ分析結果を表す図である。（図１Ａ）正常組織（左）と各種腫瘍（それぞれ3個～4個の個体標本からなるプール：右）におけ

る、相対的発現量の対数表現（ｘ倍の活性化）により、ＦＬＪ３１４６１の定量的発現量の分析結果を表している。ほとんどの腫瘍で、健常組織における発現量と比較した結果、ＦＬＪ３１４６１が少なくとも１００倍過剰に発現していることが観察される。

【図１Ｂ】該当する正常組織（Nx）と、乳房、肺ならびに耳、鼻および咽喉の腫瘍における、ＦＬＪ３１４６の従来方式でのＲＴ－ＰＣＲ分析のゲル画像（M:DNA長マーカー）。

【図１Ｃ】各種正常組織（左）および乳房腫瘍の定量的発現量の分析結果を、相対的発現量の対数表現（x倍の活性化）で表している。ほとんどすべての乳房腫瘍で、健常組織における発現量と比較した結果、ＦＬＪ３１４６１が少なくとも１００倍過剰に発現していることが観察される。

【図１Ｄ】各種分析した腫瘍におけるＦＬＪ３１４６１特異的発現をまとめたものである。分析した腫瘍標本の総数を基準とした、陽性反応を示した腫瘍標本の数を示している。調査の対象となったすべての正常な体細胞組織（組織の型により、各3～10の組織）が、ＦＬＪ３１４６１の発現をまったく示していないいっぽうで、遺伝子は、多くの腫瘍にさまざまな頻度で発現している。

【図２】タンパクの局在性を表す図である。ＦＬＪ３１４６１タンパクの細胞局在化を表現している。この図には、乳房腫瘍細胞株ＭＣＦ７の内生的タンパクの発現が示されている。

【図３Ａ】（図３）免疫組織化学的分析結果を表す図である。（図３Ａ）精巣（陽性膜局在化）、大腸および腎臓（陰性膜局在化）の正常組織を現している。

【図３Ｂ】気管支がん、子宮頸がん、さらには概要（左の段）と詳細（右の段）における乳房腫瘍のリンパ節転移部のおけるＦＬＪ３１４６１タンパクの検出を表している。

【図３Ｃ】ＦＬＪ３１４６１タンパクの免疫組織化学的分析結果をまとめたものである。分析した腫瘍標本の総数を基準とした、陽性反応を示した腫瘍標本の数を示している。調査の対象となったすべての正常な体細胞組織が、ＦＬＪ３１４６１の発現をまったく示していないいっぽうで、タンパクは、腫瘍の多くでさまざまな頻度で細胞表面で検出されている。

【図４Ａ】（図４）正常組織および腫瘍におけるＤＳＧ４スプライス変異体のＰＣＲ分析結果を表している。（図４Ａ）エキソン８－１２およびエキソン１０－１２におけるＤＳＧ４特異的オリゴヌクレオチドを用いて正常組織および各種腫瘍で実施したＰＣＲを表している。エキソン１０－１２の転写の優勢な発現が、大腸腫瘍で認識されるいっぽうで、エキソン８－１２の転写は、正常組織で明らかに発現している。Ｇｅは脳、Ｄｄは十二指腸、Ｐａは膵臓、Ｍｉは脾臓、Ｔｅは精巣、Ｈｅは心臓、Ｋｏは大腸、ＬＮはリンパ節、ＴＭは胸腺、Ｐｒは前立腺Ｏｓは食道、Ｌｅは肝臓、ＰＢは活性末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、Ｌｕは肺、Ｂｌは膀胱、Ｍａは胃、Ｂｒは乳房、Ｕｔは子宮、Ｏｖは卵巣、Ｎｉは腎臓、Ｈａは皮膚、Ｍｕは筋肉をそれぞれ表している。

【図４Ｂ】各種分析した腫瘍におけるＤＳＧ４エキソン１０－１２の特異的発現をまとめた図である。総数を基準とした、陽性反応を示した腫瘍標本の数を示している。調査の対象となったほとんどすべての正常な体細胞組織が、ＤＳＧ４の発現をまったく示していないいっぽうで、この遺伝子セクションは、腫瘍の多くでさまざまな頻度で検出可能である。

【図４Ｃ】正常組織（左）と大腸、胃および耳－鼻－咽喉領域の腫瘍におけるＤＳＧ４エキソン１０－１２の転写セクションの定量的発現量分析の結果を、相対的発現量の対数表現（ｘ倍の活性化）で表している。ほとんどの腫瘍が、健常な組織における発現量と比較した結果、少なくとも５０倍のＤＳＧ４エキソン１０－１２の過剰な発現を示していた。

【図５】ＤＳＧ４遺伝子の推定転写変異体の外観を表している図である。

【図６Ａ】（図６）タンパク局在性を表している図である。（図６Ａ）ＤＳＧ４トランスフェクト細胞上における、免疫蛍光検査方を用いたＤＳＧ４タンパクの細胞局在化を表現したものである。

【図６Ｂ】ＤＳＧ４トランスフェクト細胞のＤＳＧ４特異的抗体（左図）によるＦＡＣＳ分析、および模擬トランスフェクト細胞のＤＳＧ４特異的抗体（陰性のコントロール、右

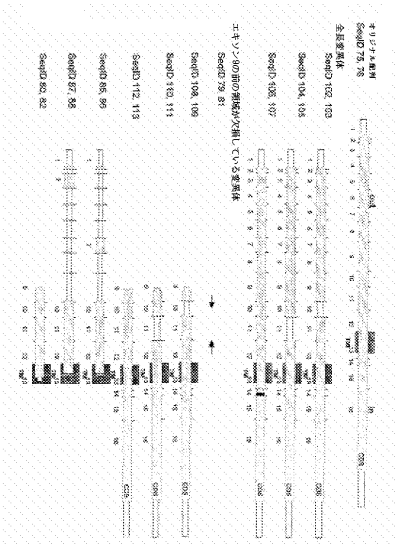
図）によるＦＡＣＳ分析の結果を表している。特異的表面特異的染色が明らかに可視である。
【図７Ａ】（図７）正常組織および腫瘍におけるＤＳＧ３特異的発現のｑＰＣＲ分析の結果を表している。（図７Ａ）正常組織（左側）および各種腫瘍（各3個～4個の個体標本からなるプール：右）における、ＤＳＧ３の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の対数表現（x倍の活性化）で表している。ほとんどの正常組織と比較した、食道腫瘍における顕著な過剰発現が認識できる。
【図７Ｂ】個々の正常組織(n=3（子宮頚管）；n=9（肺）)における発現量と比較した、子宮頚管と肺の各種腫瘍、さらには耳、鼻および咽喉の腫瘍におけるＤＳＧ３の定量的発現量分析の結果を、対数表現で表している。
【図７Ｃ】各種分析した腫瘍におけるＤＳＧ３特異的発現をまとめた図である。分析した腫瘍標本の総数を基準とした、陽性反応を示した腫瘍標本の数を示している。調査の対象となった正常な体細胞組織（組織の型により、各3～10の組織）はすべて、ＤＳＧ３の発現をまったく示していないいっぽうで、この遺伝子は、多くの腫瘍でさまざまな頻度で発現している。
【図８】免疫組織化学的分析の結果を表している。この図は、耳、鼻または咽喉の腫瘍における同種ＤＳＧ３局在化の概観（左）と詳細を表している。
【図９Ａ】（図９）ＳＬＣ６Ａ３のｑＰＣＲ分析の結果を表している。（図９Ａ）正常組織（左）および腫瘍標本（各3個～4個の個体標本からなるプール：右）における、ＳＬＣ６Ａ３の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の対数表現（ｘ倍の活性化）で表している。
【図９Ｂ】正常な腎臓(n=5)における発現量と比較した、各種腎腫瘍におけるＳＬＣ６Ａ３の定量的発現量分析の結果を、相対的発現量の対数表現で表している。
【図９Ｃ】腎腫瘍組織および各種正常腎組織におけるＳＬＣ６Ａ３特異的転写産物に関する従来方式の評価項目endpoint－ＲＴ－ＰＣＲ分析（二重判定）の結果を表している。画像は、ＳＬＣ６Ａ３特異的フラグメントをゲル電気泳動分解した後のものである。
【図９Ｄ】乳房、卵巣、肺および前立腺のがんにおけるＳＬＣ６Ａ３の定量的発現量分析の結果を、相対的発現量の対数表現（x倍の活性化）で表している。「組織」Ｎは、正常組織、「組織」は、腫瘍組織である。
【図９Ｅ】二重判定におけるゲル電気泳動で分離した後に、乳房、卵巣、肺および前立腺の腫瘍におけるＳＬＣ６Ａ３を従来方式でＲＴ－ＰＣＲ分析した結果を表している。Ｍは、ＤＮＡ長マーカである。
【図１０Ａ】（図１０）ＧＲＭ８のｑＰＣＲ分析結果を表している。（図１０Ａ）正常組織（左）および腫瘍組織（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、ＧＲＭ８の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の線形表現（x倍の活性化）で表している。
【図１０Ｂ】正常な腎臓および子宮における発現量ならびに耳、鼻および咽喉の各腫瘍、子宮頚管腫瘍およびメラノーマにおける相対的発現量と比較した、腎臓および子宮における各種腫瘍のＧＲＭ８の定量的発現量分析の結果を、相対的発現量の対数表現で表している。
【図１１Ａ】（図１１）ＣＤＨ１７のｑＰＣＲ分析結果を表している。　（図１１Ａ）正常組織（左）および腫瘍組織（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、ＣＤＨ１７の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の線形表現（ｘ倍の活性化）で表している。
【図１１Ｂ】個々の正常組織における発現量と比較した、大腸および胃の各種腫瘍におけるＣＤＨ１７の定量的発現量分析の結果を、対数表現で表している。
【図１１Ｃ】個々の正常組織における発現量と比較した、食道および膵臓の各種腫瘍におけるＣＤＨ１７の定量的発現量分析の結果を、対数表現で表している。
【図１２】ＡＢＣ－トランスポータＡＢＣＣ４のｑＰＣＲ分析結果を表している。この図は、正常組織（左）および腫瘍（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、ＡＢＣＣ４の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の線形表現（x倍の活性化）で表し

ている。
【図１３Ａ】（図１３）Ｖｉｌｌｉｎ１（VIL1）のｑＰＣＲ分析結果を表している。（図１３Ａ）正常組織（左）および腫瘍組織（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、ＶＩＬ１の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の線形表現（ｘ倍の活性化）で表している。
【図１３Ｂ】個々の正常組織における発現量と比較した、大腸および胃の各種腫瘍におけるＶＩＬ１の定量的発現量分析の結果を、対数表現で表している。
【図１４Ａ】（図１４）仮想タンパクＭＧＣ３４０３２のｑＰＣＲ分析結果を表している。（図１４Ａ）正常組織（左）および各種腫瘍（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、ＭＧＣ３４０３２の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の線形表現（x倍の活性化）で表している。
【図１４Ｂ】個々の正常組織における発現量と比較した、食道、前立腺および大腸の各種腫瘍におけるＭＧＣ３４０３２の定量的発現量分析の結果を、対数表現で表している。
【図１４Ｃ】個々の正常組織における発現量と比較した、肺、卵巣および腎臓の各種腫瘍におけるＭＧＣ３４０３２の定量的発現量分析の結果を、対数表現で表している。
【図１４Ｄ】各種分析した腫瘍におけるＭＧＣ３４０３２特異的発現をまとめた図である。分析した腫瘍標本の総数を基準とした、陽性反応を示した腫瘍標本の数を示している。調査の対象となった正常な体細胞組織（組織の型により、各3～10の組織）はすべて、有意に低いＭＧＣ３４０３２の発現量を示しているいっぽうで、この遺伝子は、多くの腫瘍でさまざまな頻度で過剰発現している。
【図１５】免疫組織化学的分析結果を表している。これらの図は、ヒト精巣組織におけるＭＧＣ３４０３２タンパクの細胞局在性を表した、２種類の詳細図である。
【図１６Ａ】（図１６）エンテロキナーゼ（PRSS7）の発現分析結果を表している。（図１６Ａ）正常組織（左）および各種腫瘍組織（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、ＰＲＳＳ７の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の線形表現（ｘ倍の活性化）で表している。
【図１６Ｂ】個々の正常組織（胃：n=7、食道：n=3）における発現量と比較した、胃および食道の各種腫瘍におけるＰＲＳＳ７の定量的発現量分析の結果を表している。比較のため、正常十二指腸（n=2）における発現量を、対数表現で測定した。
【図１６Ｃ】個々の正常組織（それぞれn=4）における発現量と比較した、各種膵臓および肝腫瘍におけるＰＲＳＳ７の定量的発現量分析の結果を表している。比較のため、正常十二指腸（n=2）における発現量を、対数表現で測定した。
【図１７Ａ】（図１７）タンパクの局在性を表している。（図１７Ａ）ＰＲＳＳ７トランスフェクト細胞におけるＰＲＳＳ７タンパクの細胞局在性を表現している。
【図１７Ｂ】ＰＲＳＳ７タンパク検出の概略図（左）と詳細図（右）である。
【図１８Ａ】（図１８）ＣＬＣＡ２のｑＰＣＲ分析結果を表している。（図１８Ａ）正常組織（左）および各種腫瘍（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、ＣＬＣＡ２の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の対数表現（x倍の活性化）で表している。
【図１８Ｂ】個々の正常組織における発現量と比較した、肺、乳房、子宮頚管および子宮における各種腫瘍ならびに、耳、鼻および咽喉における腫瘍に関するＣＬＣＡ２の定量的発現量分析の結果を、対数表現で表している。
【図１８Ｃ】各種分析した腫瘍におけるＣＬＣＡ２特異的発現をまとめた図である。分析した腫瘍標本の総数を基準とした、陽性反応を示した腫瘍標本の数を示している。調査の対象となった正常な体細胞組織はすべて、有意に低いＣＬＣＡ２の発現量を示しているいっぽうで、この遺伝子は、多くの腫瘍でさまざまな頻度で過剰発現している。
【図１９Ａ】（図１９）タンパク局在性を表している。（図１９Ａ）ＣＬＣＡ２トランスフェクト細胞の膜におけるＣＬＣＡ２タンパクの局在性を表現している。
【図１９Ｂ】ＣＬＣＡ２タンパクにおける免疫組織化学的分析の結果を表している。
【図２０Ａ】（図２０）ＴＭ４ＳＦ４のｑＰＣＲ分析結果を表している。（図２０Ａ）正

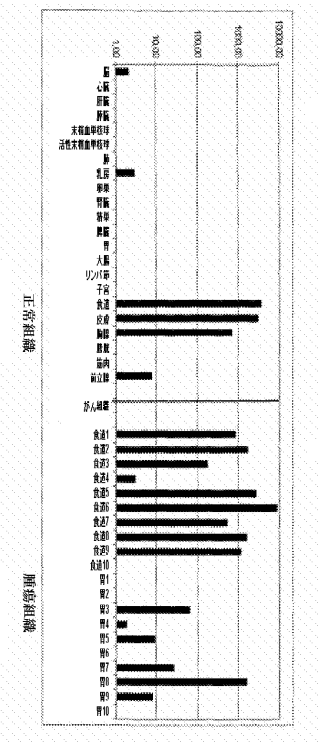
常組織（左）および各種腫瘍（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、ＴＭ４ＳＦ４の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の線形表現（ｘ倍の活性化）で表している。
【図２０Ｂ】肝臓の４種類の正常組織（N0～N3）と比較した、各種肝腫瘍におけるＴＭ４ＳＦ４の定量的発現量分析結果を、線形表現で表している。
【図２０Ｃ】正常大腸標本（NG：正常組織、6種類の正常組織を検査対象とした）と比較した、１２種類の大腸腫瘍におけるＴＭ４ＳＦ４の相対的発現量を対数表現で表している。
【図２１Ａ】（図２１）タンパクの分析結果を表している。（図２１Ａ）正常肝組織と肝腫瘍組織におけるＴＭ４ＳＦ４特異的抗体を用いた免疫ブロットの像を示している。２つの推定糖鎖付加パラメータを認識できる。
【図２１Ｂ】ＴＭ４ＳＦ４トランスフェクト細胞の膜におけるＴＭ４ＳＦ４タンパクの局在性の図を示している。
【図２１Ｃ】免疫組織化学的分析の結果、ＰＣＲによって選択的に観察された発現を確認できた。
【図２２Ａ】（図２２）クローディン１９の定量的発現分析の結果を表している。　（図２２Ａ）正常組織（左）および各種腫瘍（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、クローディン１９の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の対数表現（x倍の活性化）で表している。
【図２２Ｂ】各種乳房腫瘍と個々の正常乳房組織におけるクローディン１９の定量的発現量分析の結果を表している。
【図２２Ｃ】各種乳房腫瘍標本および正常組織における、クローディン１９の分析と、従来方式のＲＴ－ＰＣＲ。Ｍは、ＤＮＡ長マーカである。
【図２２Ｄ】胃の各種正常組織と胃腫瘍における、クローディン１９の従来方式でのＲＴ－ＰＣＲ分析の結果を表している。
【図２２Ｅ】肝臓の各種正常組織と肝腫瘍における、クローディン１９の従来方式でのＲＴ－ＰＣＲ分析の結果を表している。Ｍは、ＤＮＡ長マーカである。
【図２３Ａ】（図２３）ＡＬＰＰＬ２のｑＲＴ－ＰＣＲ分析である。（図２３Ａ）正常組織（左）および腫瘍（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、ＡＬＰＰＬ２の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の線形定量（x倍の活性化）で表している。
【図２３Ｂ】ゲル電気泳動分離後の、大腸と胃における各種腫瘍、さらには個々の正常組織における、ＡＬＰＰＬ２の従来方式のＲＴ－ＰＣＲ分析のゲル画像を表している。Ｍは、ＤＮＡ長マーカである。
【図２４Ａ】（図２４）Ｇ－タンパク共役受容体６４（GPR64）の定量的ＲＴ－ＰＣＲ分析の結果を表している。（図２４Ａ）正常組織（左）および腫瘍（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、ＧＰＲ６４の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の線形表現（ｘ倍の活性化）で表している。
【図２４Ｂ】卵巣の各種腫瘍および個々の正常卵巣組織におけるＧＰＲ６４の定量的発現量分析の結果を表している。
【図２４Ｃ】卵巣の各種腫瘍および正常組織におけるＧＰＲ６４のＲＴ－ＰＣＲ分析結果のゲル画像を表している（M:DNA長マーカ）。
【図２５Ａ】（図２５）ＳＬＣ１２Ａ１の定量的ＲＴ－ＰＣＲ分析結果を表している。（図２５Ａ）正常組織（左）および腫瘍（各3個～4個の個体標本からなるプール、右）における、ＳＬＣ１２Ａ１の定量的発現量分析結果を、相対的発現量の線形表現（x倍の活性化）で表している。
【図２５Ｂ】正常な腎臓（n=3）における発現量と比較した、１２種類の腎腫瘍におけるＳＬＣ１２Ａ１の定量的発現量分析結果を表している。
【図２５Ｃ】個々の正常組織（乳房は、n=9、卵巣は、n=8、前立腺は、n=3）における発現量と比較した、乳房、卵巣および前立腺の腫瘍におけるＳＬＣ１２Ａ１の定量的発現量分析結果を対数表現で表している。

【図２５Ｄ】腎腫瘍、各種正常腎および各種腫瘍の種類（乳房、前立腺、卵巣）を個々の正常な組織を用いて、ＳＬＣ１２Ａ１の従来方式でＲＴ－ＰＣＲ分析を行った結果を表している。

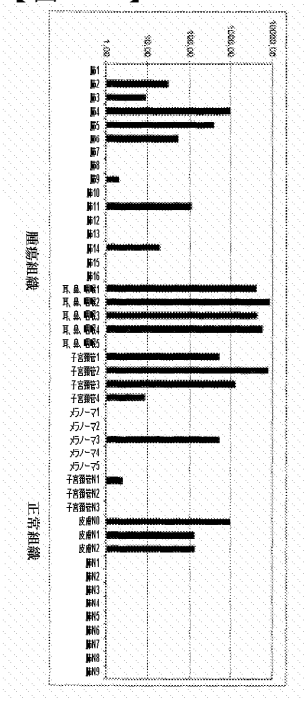
【図５】



【図７Ａ】



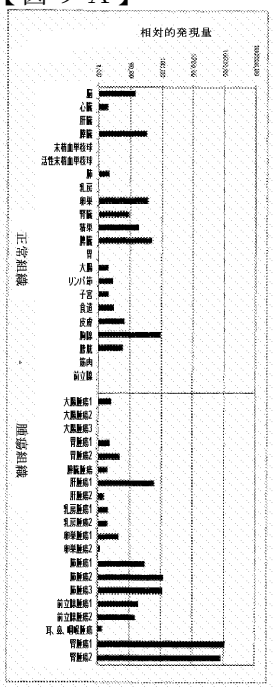
【図７Ｂ】



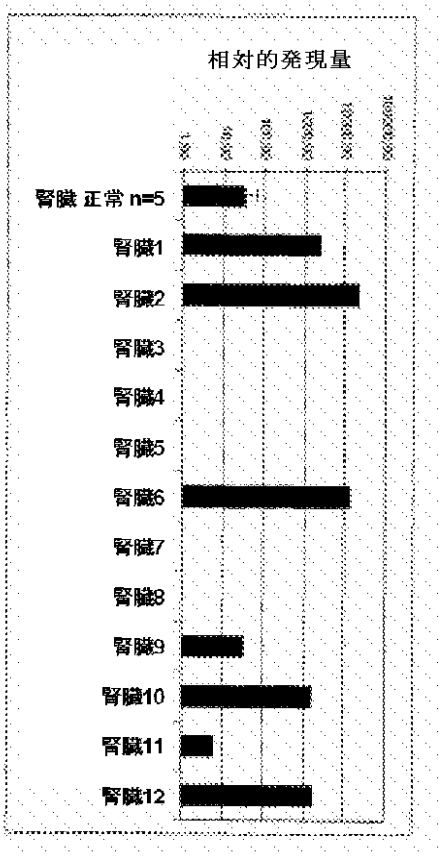
【図７Ｃ】

組織	腫瘍組織（陽性/総数）
食道	6/10
胃	1/10
子宮頸管	2/4
耳、鼻、咽喉	4/5
肺	2/16

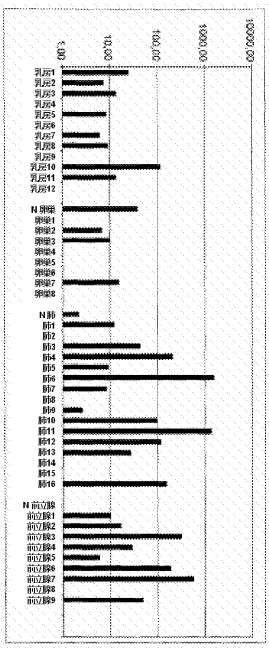
【図９Ａ】



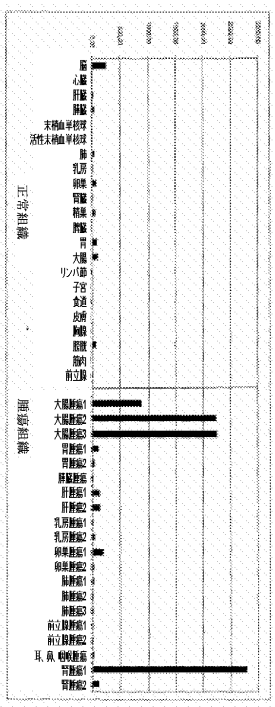
【図９Ｂ】



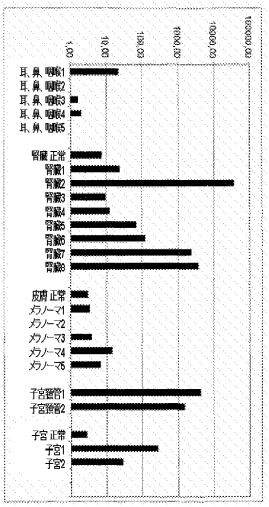
【図９Ｄ】



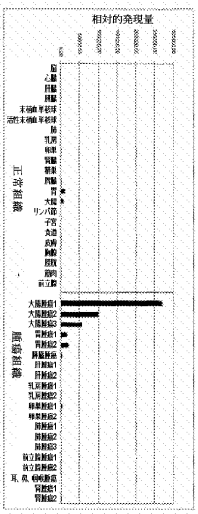
【図１０Ａ】



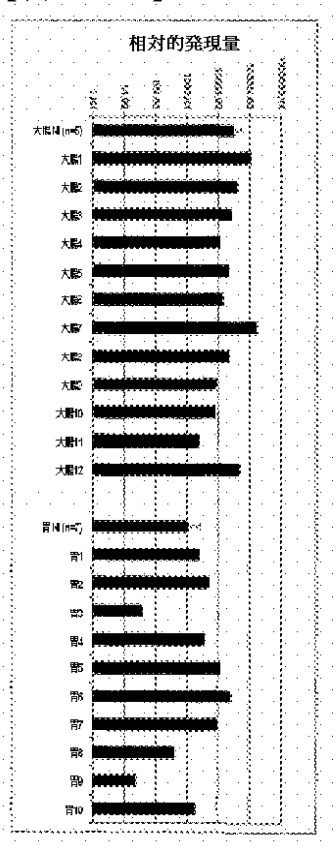
【図１０Ｂ】



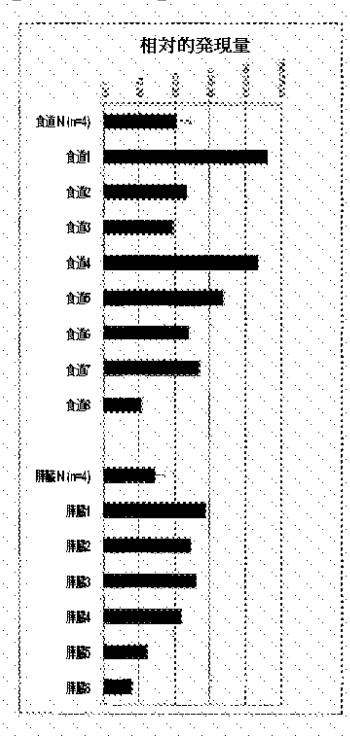
【図１１Ａ】



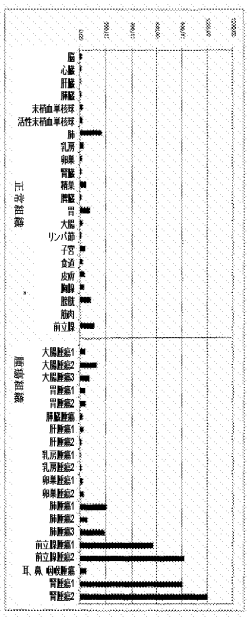
【図１１Ｂ】



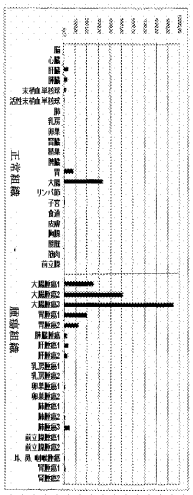
【図１１Ｃ】



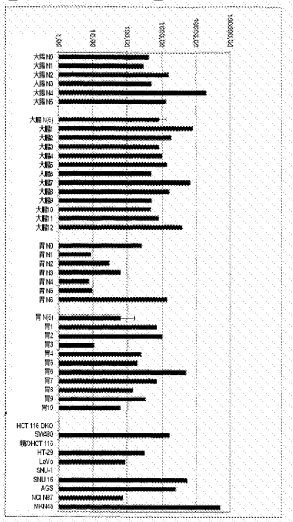
【図１２】



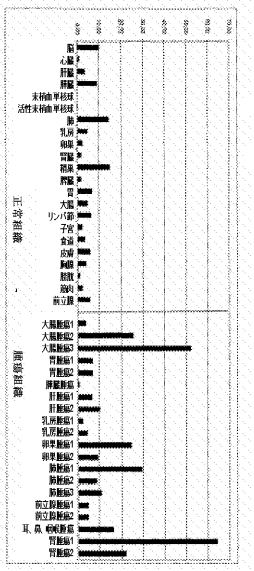
【図１３Ａ】



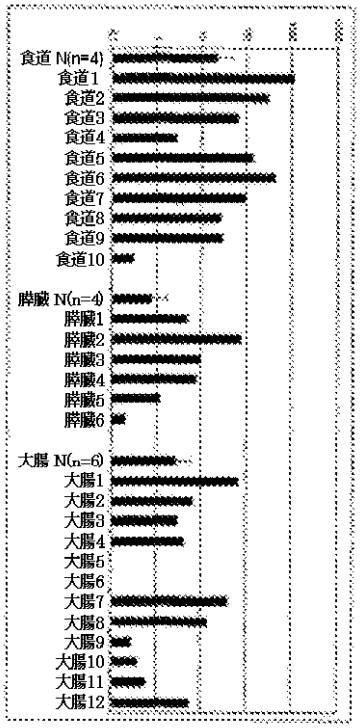
【図１３Ｂ】



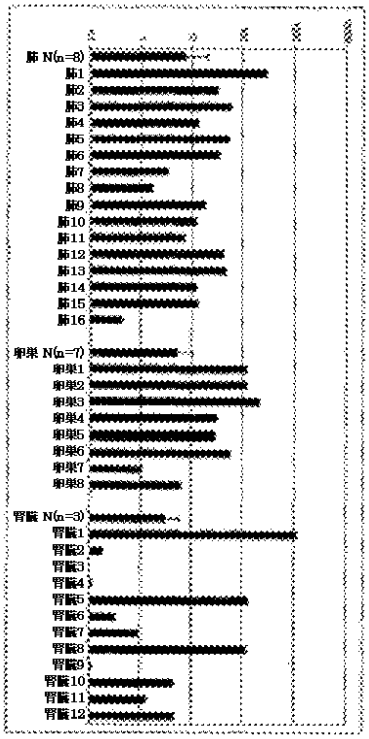
【図１４Ａ】



【図１４Ｂ】



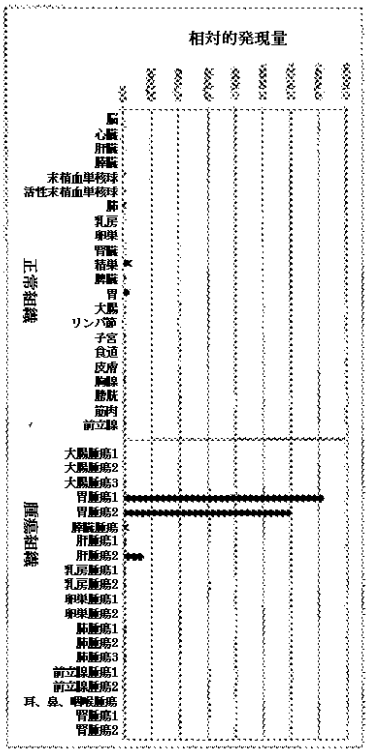
【図１４Ｃ】



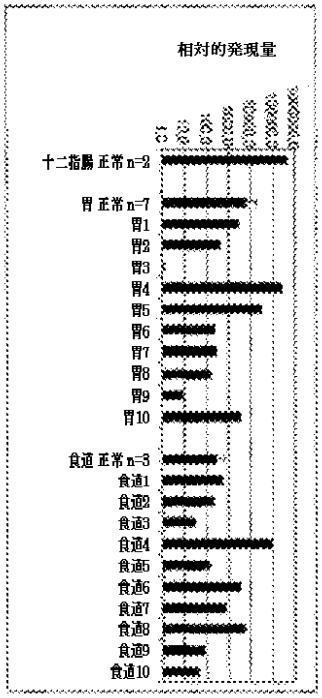
【図１４Ｄ】

組織	腫瘍組織 （陽性/総数）
大腸	3/12
食道	8/10
肺	7/16
卵巣	3/8
腎臓	3/12
耳、鼻、咽喉	3/12

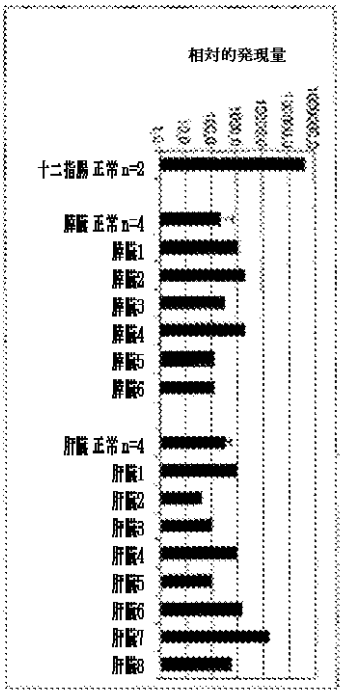
【図１６Ａ】



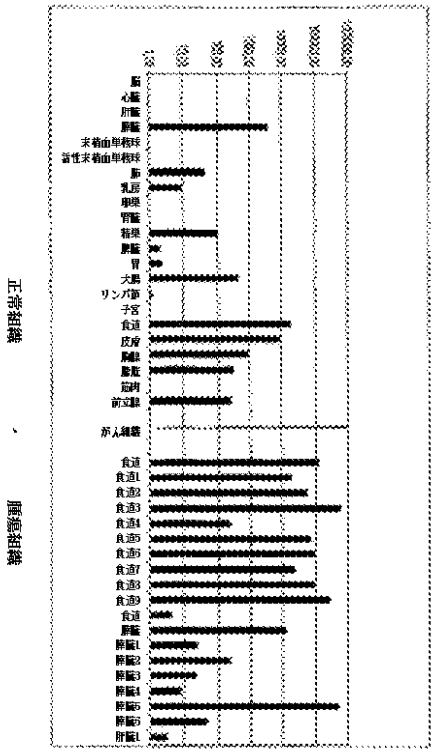
【図１６Ｂ】



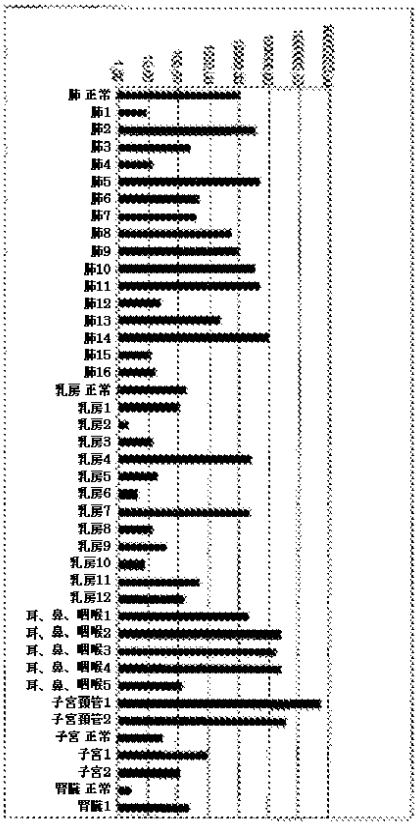
【図１６Ｃ】



【図１８Ａ】



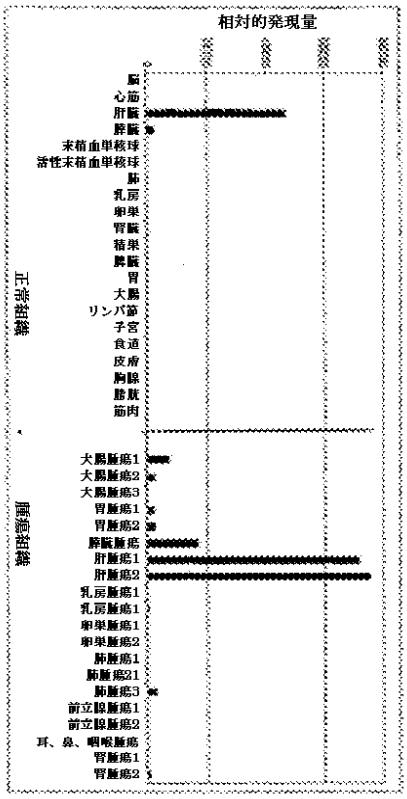
【図１８Ｂ】



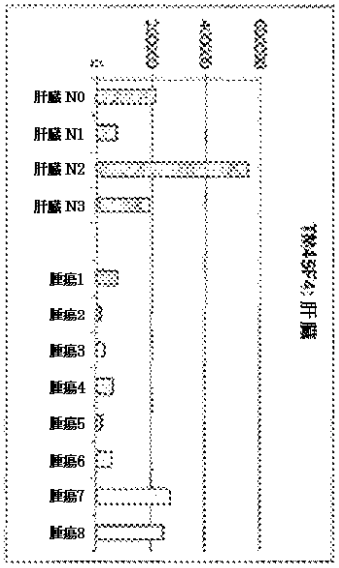
【図１８Ｃ】

組織	腫瘍組織（陽性/総数）
食道	8/10
肺	5/16
乳房	2/12
耳、鼻、咽喉	3/5
膵臓	1/6
子宮頸管	2/2

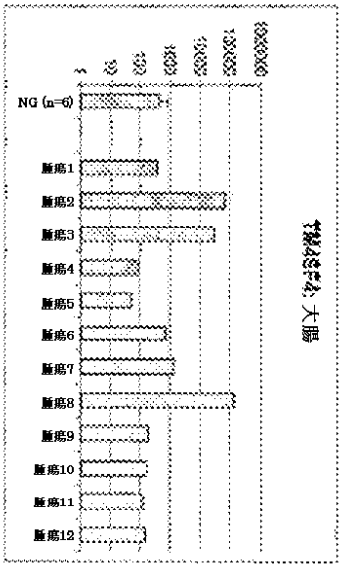
【図２０Ａ】



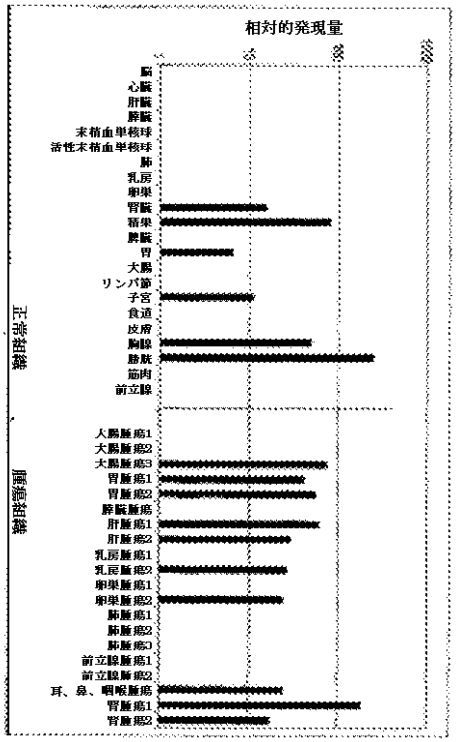
【図２０Ｂ】



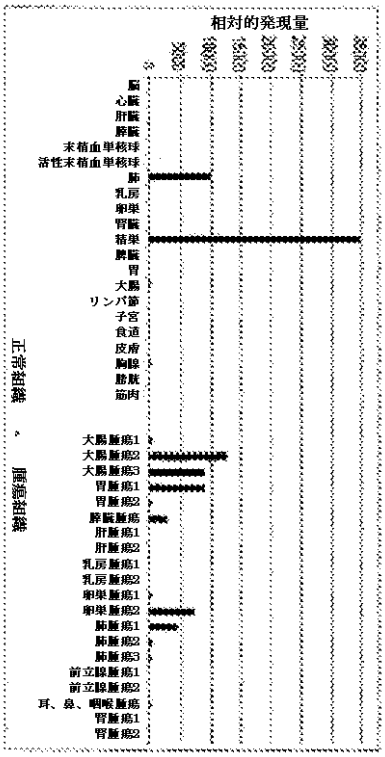
【図２０Ｃ】



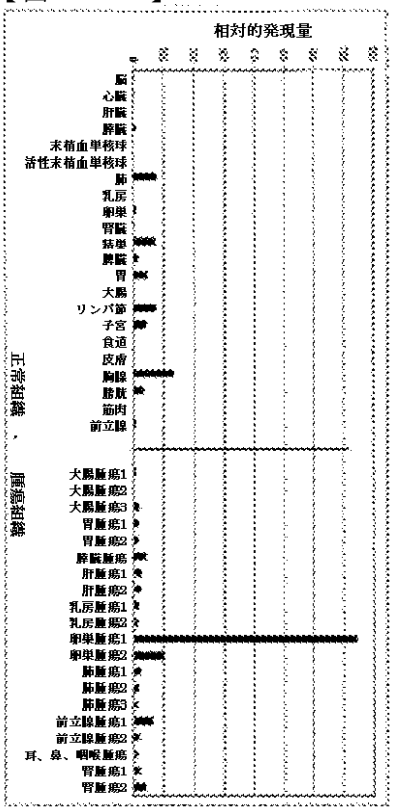
【図２２Ａ】



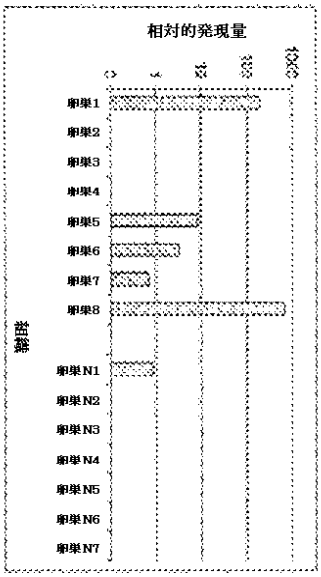
【図２３Ａ】



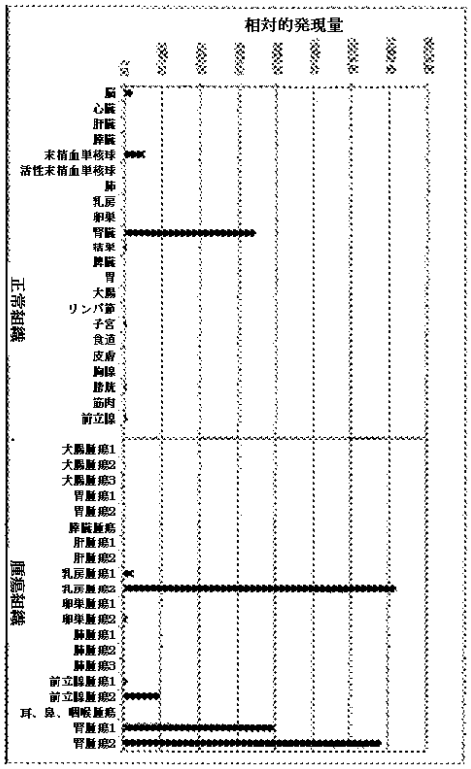
【図２４Ａ】



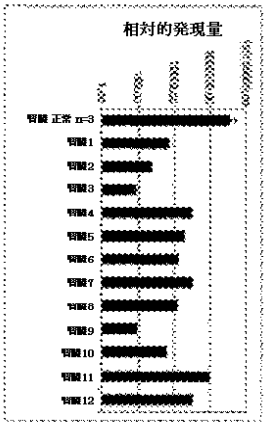
【図２４Ｂ】



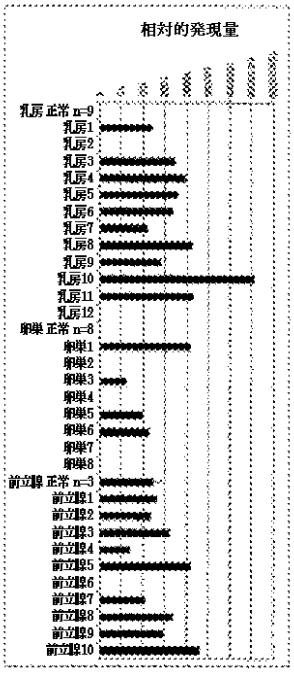
【図２５Ａ】



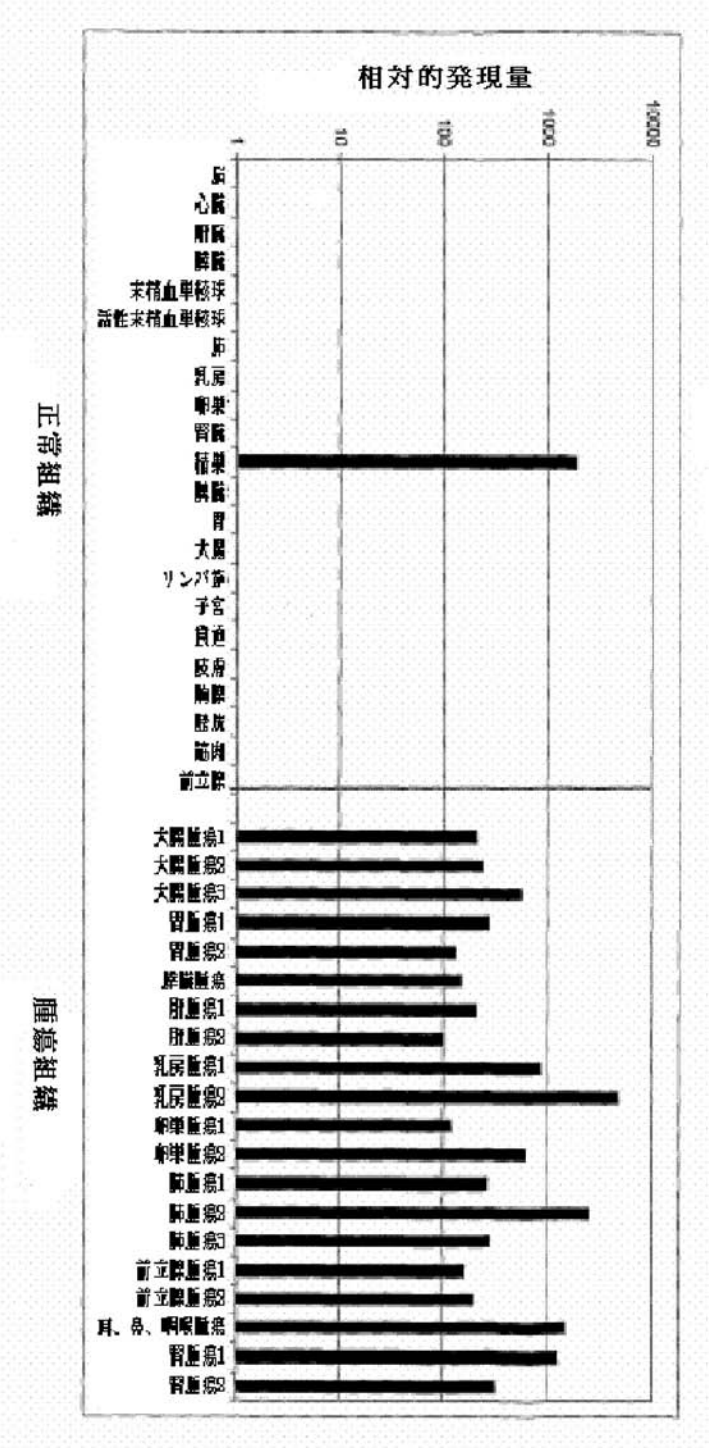
【図２５Ｂ】



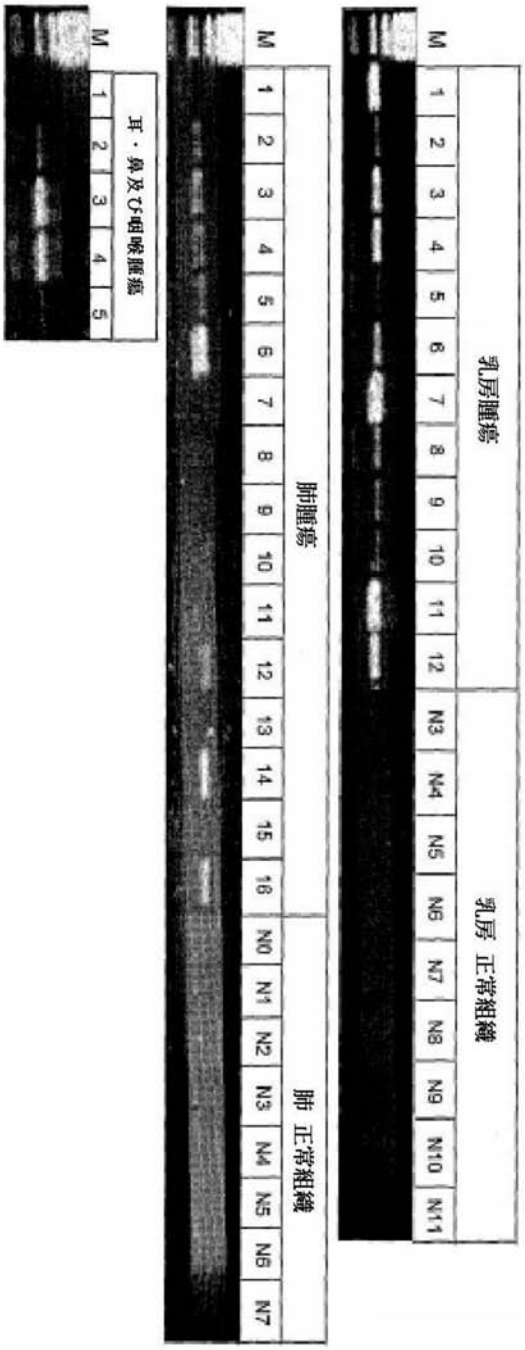
【図２５Ｃ】


相対的発現量
乳房 正常 n=9
乳房1
乳房2
乳房3
乳房4
乳房5
乳房6
乳房7
乳房8
乳房9
乳房10
乳房11
乳房12
卵巣 正常 n=8
卵巣1
卵巣2
卵巣3
卵巣4
卵巣5
卵巣6
卵巣7
卵巣8
前立腺 正常 n=3
前立腺1
前立腺2
前立腺3
前立腺4
前立腺5
前立腺6
前立腺7
前立腺8
前立腺9
前立腺10

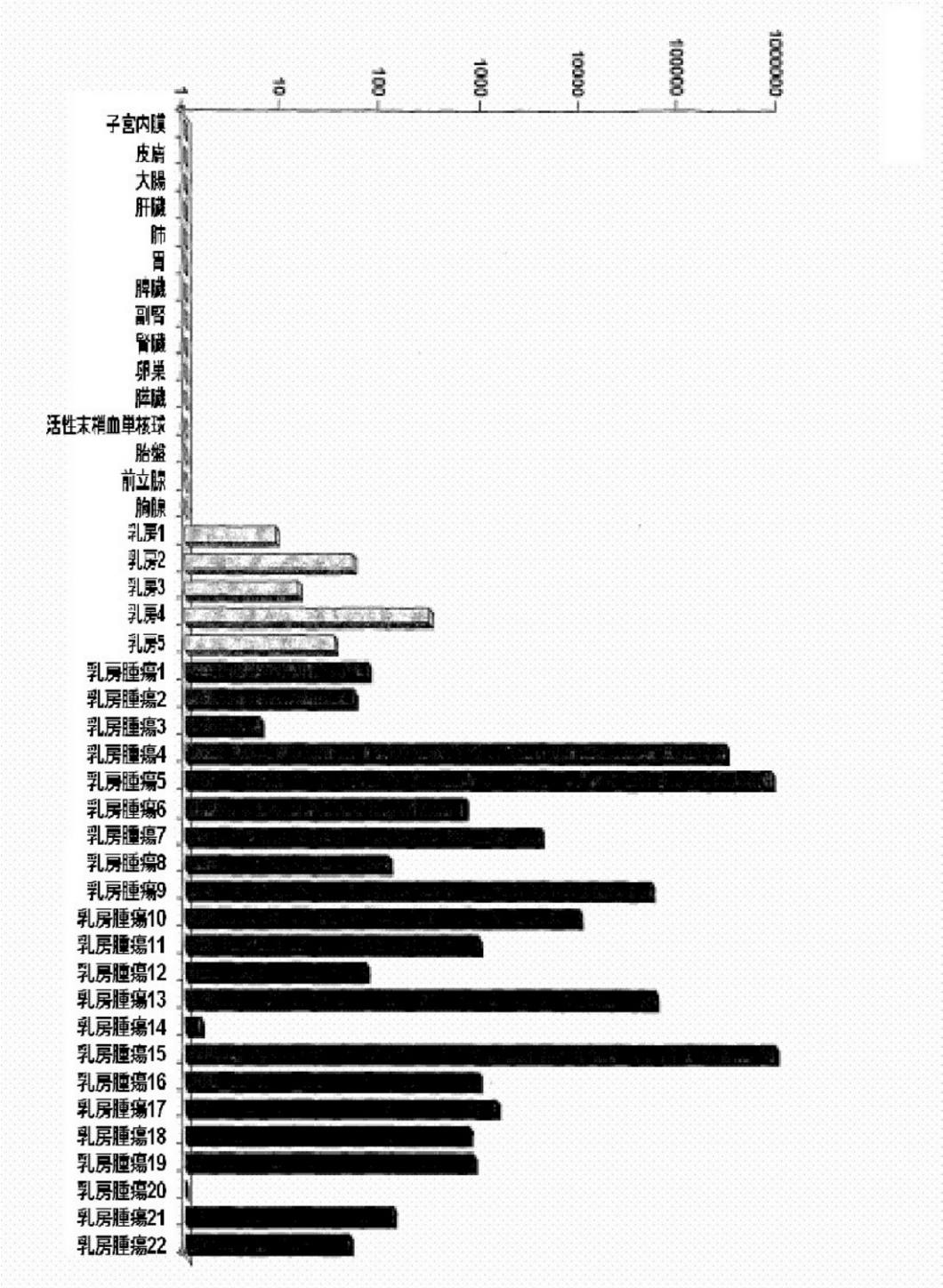
【図１Ａ】


相対的発現量
1
10
100
1000
10000
正常組織
腫瘍組織
脳
心臓
肺臓
腎臓
末梢血単核球
活性末梢血単核球
肝
乳房
卵巣
腎臓
精巣
脾臓
胃
大腸
リンパ節
子宮
食道
皮膚
胸腺
脂肪
胸筋
前立腺
大腸腺癌1
大腸腺癌2
大腸腺癌3
胃腺癌1
胃腺癌2
膵臓腺癌
胆嚢腺癌1
胆嚢腺癌2
乳房腺癌1
乳房腺癌2
卵巣腺癌1
卵巣腺癌2
肺腺癌1
肺腺癌2
肺腺癌3
前立腺腺癌1
前立腺腺癌2
耳、鼻、咽喉腺癌
腎腺癌1
腎腺癌2

【図１Ｂ】


乳房腫瘍
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
乳房 正常組織
N3 N4 N5 N6 N7 N8 N9 N10 N11
肺腫瘍
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16
肺 正常組織
N0 N1 N2 N3 N4 N5 N6 N7
耳・鼻及び咽喉腫瘍
M 1 2 3 4 5

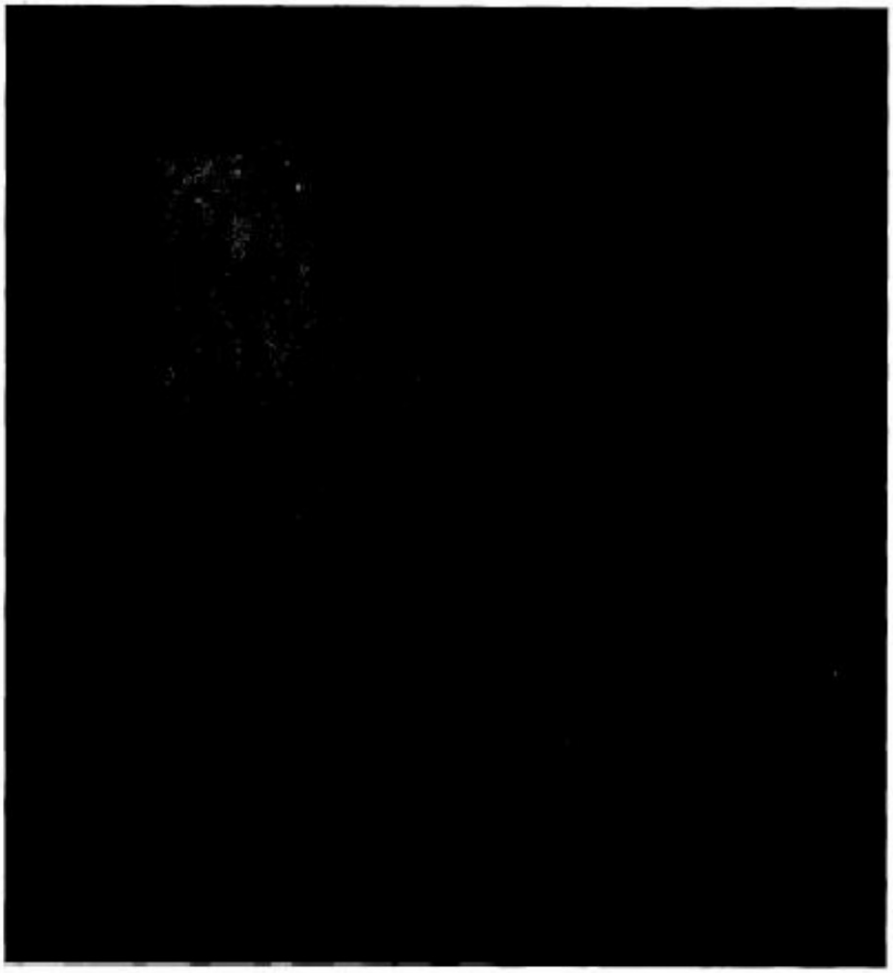
【図１Ｃ】


1000000
100000
10000
1000
100
10
1
乳房腫瘍22
乳房腫瘍21
乳房腫瘍20
乳房腫瘍19
乳房腫瘍18
乳房腫瘍17
乳房腫瘍16
乳房腫瘍15
乳房腫瘍14
乳房腫瘍13
乳房腫瘍12
乳房腫瘍11
乳房腫瘍10
乳房腫瘍9
乳房腫瘍8
乳房腫瘍7
乳房腫瘍6
乳房腫瘍5
乳房腫瘍4
乳房腫瘍3
乳房腫瘍2
乳房腫瘍1
乳房5
乳房4
乳房3
乳房2
乳房1
胸腺
前立腺
胎盤
活性末梢血単核球
膵臓
卵巣
腎臓
副腎
脾臓
胃
肺
肝臓
大腸
皮膚
子宮内膜

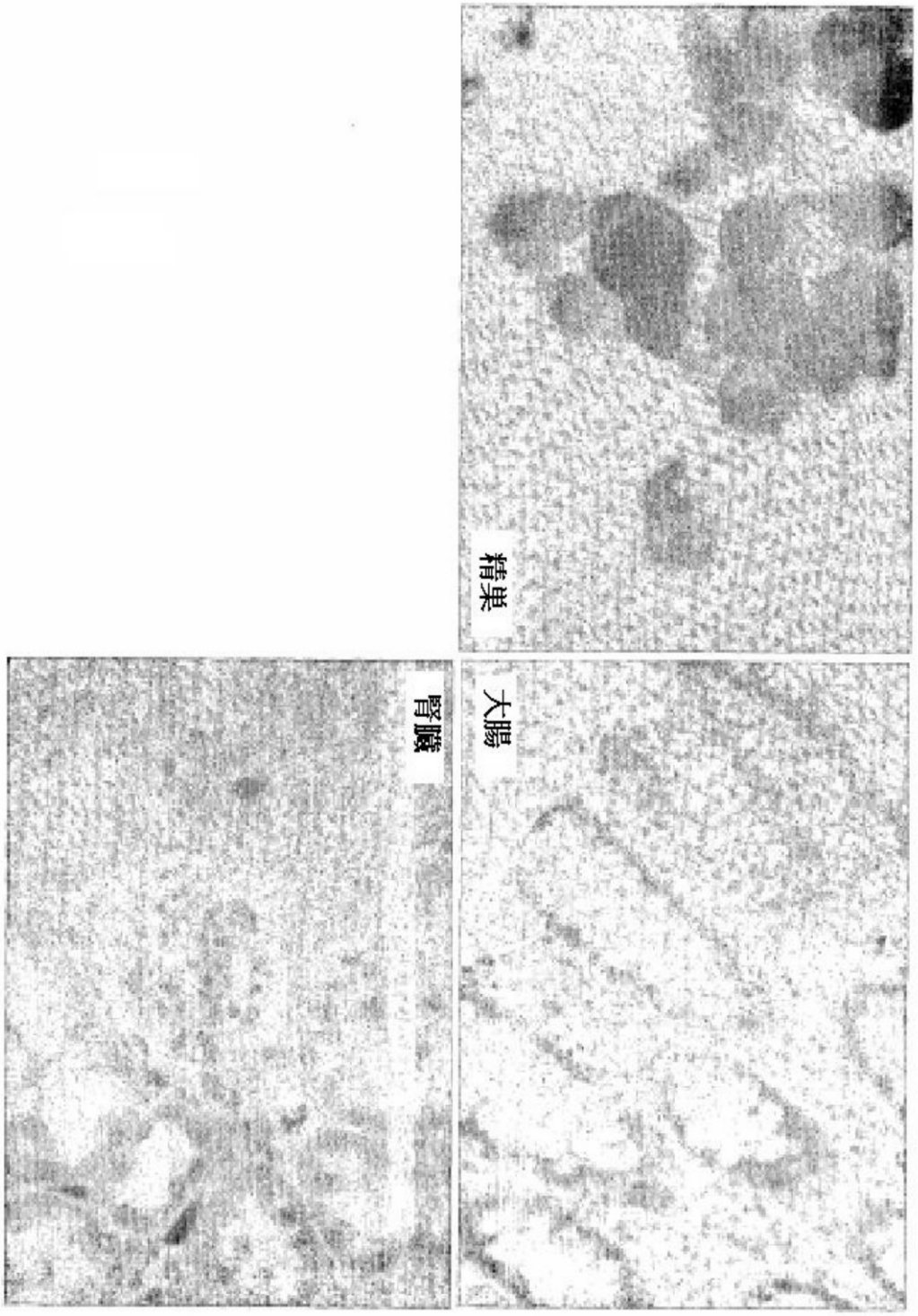
【図１Ｄ】

組織	正常組織	腫瘍組織 (陽性/総数)
乳房	陰性	10/12
肺	陰性	8/16
食道	陰性	3/10
卵巣	陰性	3/8
胃	陰性	3/10
耳、鼻、咽喉	テストしていない	4/5
子宮頚管	陰性	2/4
皮膚	陰性	2/5
前立腺	陰性	2/10
腎臓	陰性	3/12
大腸	陰性	1/12
子宮	陰性	1/5
皮膚	陰性	2/5

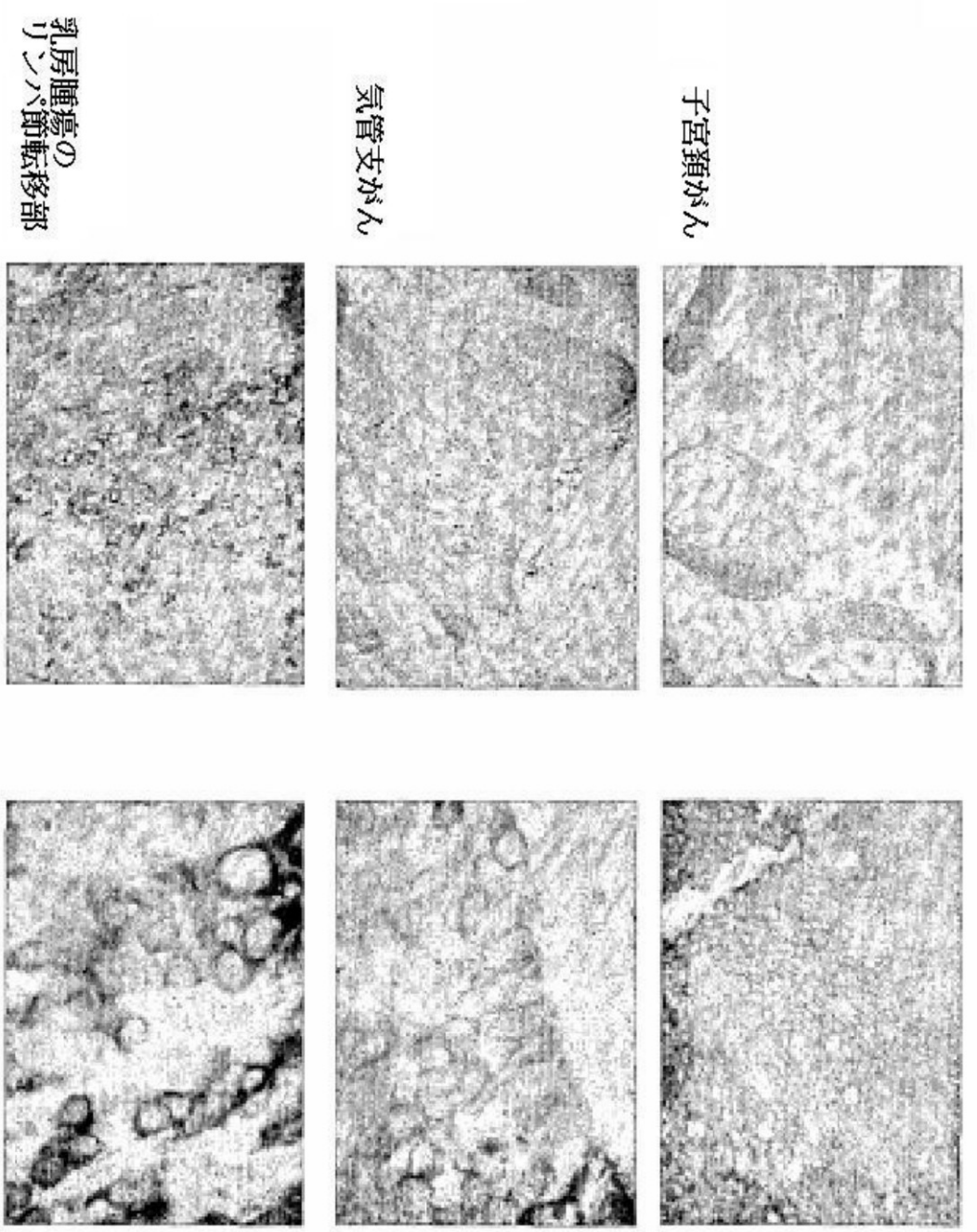
【図２】



【図３Ａ】



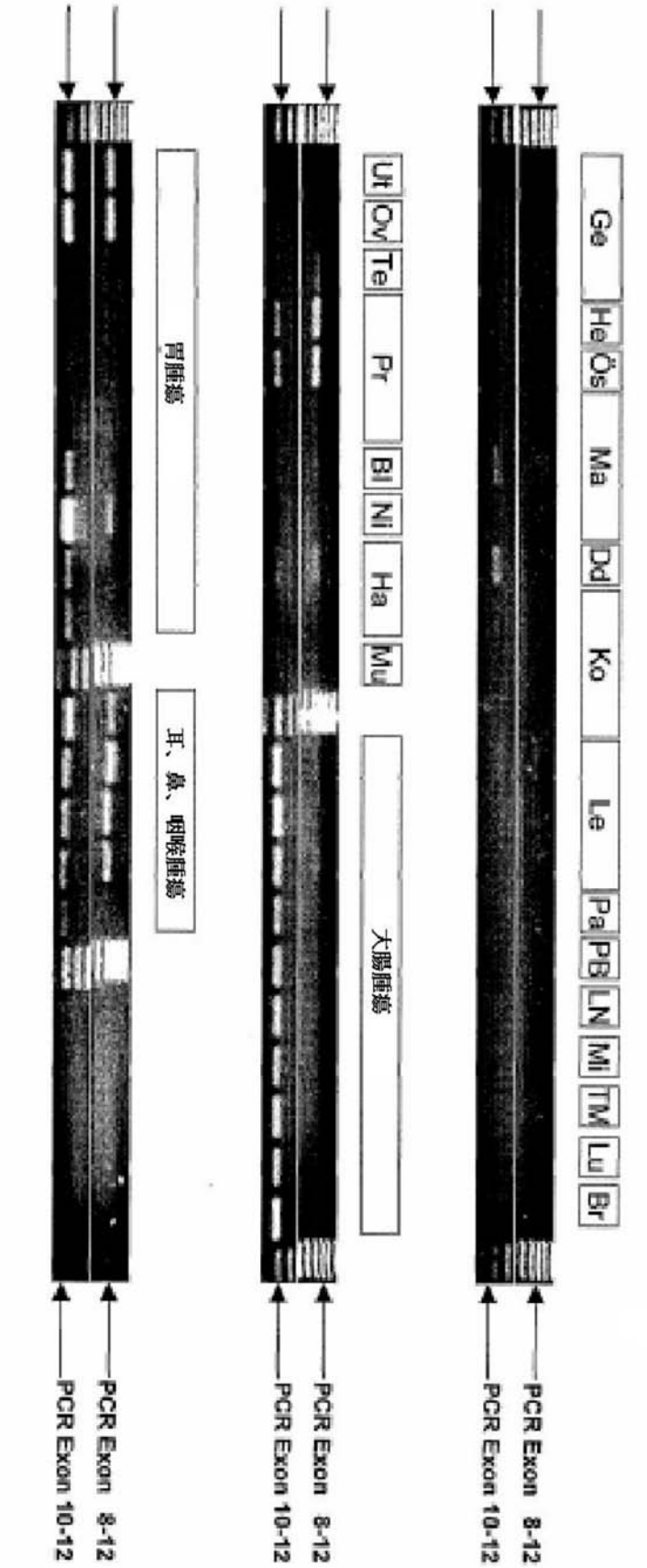
【図３Ｂ】



【図３Ｃ】

組織	腫瘍組織 (陽性/総数)
乳房	3/5
乳房腫瘍の 転移部	5/7
皮膚	1/1
耳、鼻、咽喉	6/6
肺	7/8

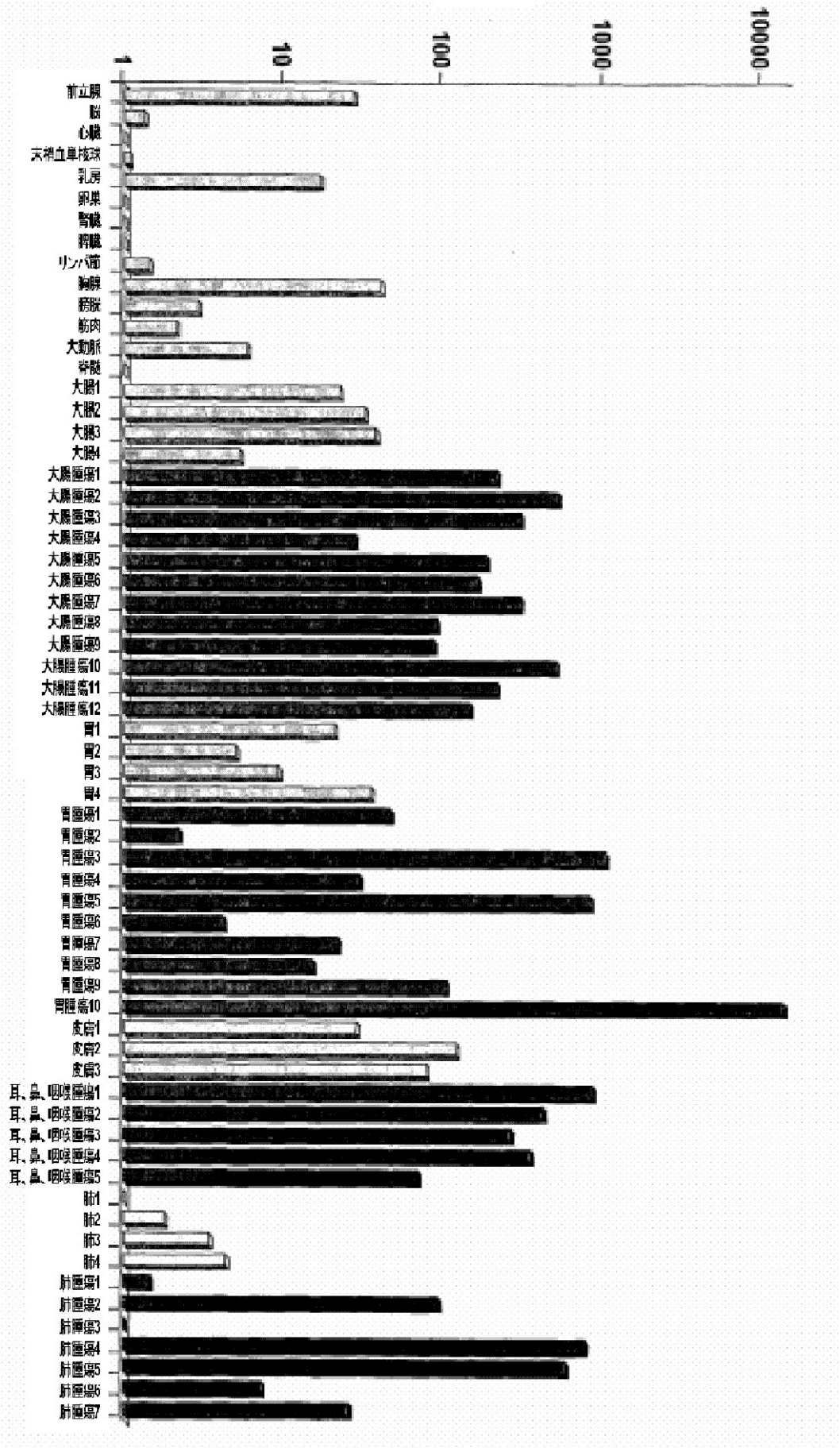
【図４Ａ】


Br
Lu
TM
Mi
LN
PB
Pa
Le
Ko
Dd
Ma
Os
He
Ge
大腸腫瘍
Mu
Ha
Ni
Bl
Pr
Te
Ov
Ut
耳、鼻、咽喉腫瘍
胃腫瘍
PCR Exon 8-12
PCR Exon 10-12
PCR Exon 8-12
PCR Exon 10-12
PCR Exon 8-12
PCR Exon 10-12

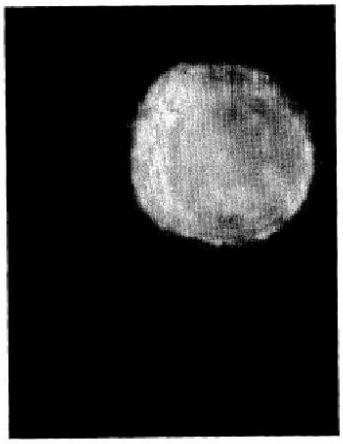
【図４Ｂ】

組織	腫瘍組織 （陽性/総数）
食道	6/10
胃	1/10
子宮頚管	2/4
耳、鼻、咽喉	4/5
肺	2/16

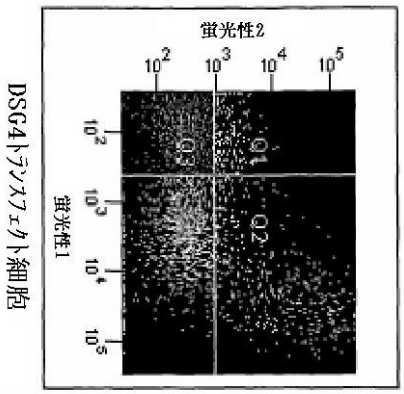
【図４Ｃ】

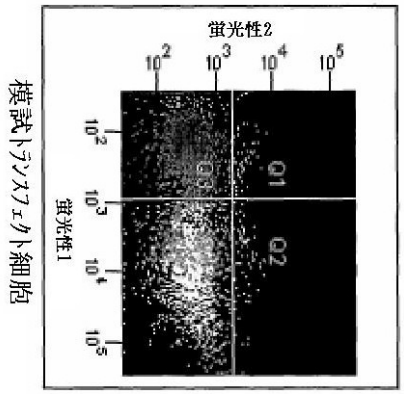

1
10
100
1000
10000
前立腺
脳
心臓
末梢血単核球
乳房
卵巣
腎臓
脾臓
リンパ節
胸腺
膀胱
筋肉
大動脈
脊髄
大腸1
大腸2
大腸3
大腸4
大腸腫瘍1
大腸腫瘍2
大腸腫瘍3
大腸腫瘍4
大腸腫瘍5
大腸腫瘍6
大腸腫瘍7
大腸腫瘍8
大腸腫瘍9
大腸腫瘍10
大腸腫瘍11
大腸腫瘍12
胃1
胃2
胃3
胃4
胃腫瘍1
胃腫瘍2
胃腫瘍3
胃腫瘍4
胃腫瘍5
胃腫瘍6
胃腫瘍7
胃腫瘍8
胃腫瘍9
胃腫瘍10
皮膚1
皮膚2
皮膚3
耳、鼻、咽喉腫瘍1
耳、鼻、咽喉腫瘍2
耳、鼻、咽喉腫瘍3
耳、鼻、咽喉腫瘍4
耳、鼻、咽喉腫瘍5
肺1
肺2
肺3
肺4
肺腫瘍1
肺腫瘍2
肺腫瘍3
肺腫瘍4
肺腫瘍5
肺腫瘍6
肺腫瘍7

【図６Ａ】



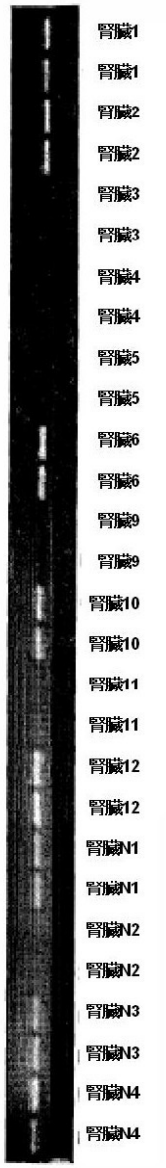
【図６Ｂ】


DSG4トランスフェクト細胞
蛍光性2
蛍光性1
Q1
Q2
Q3

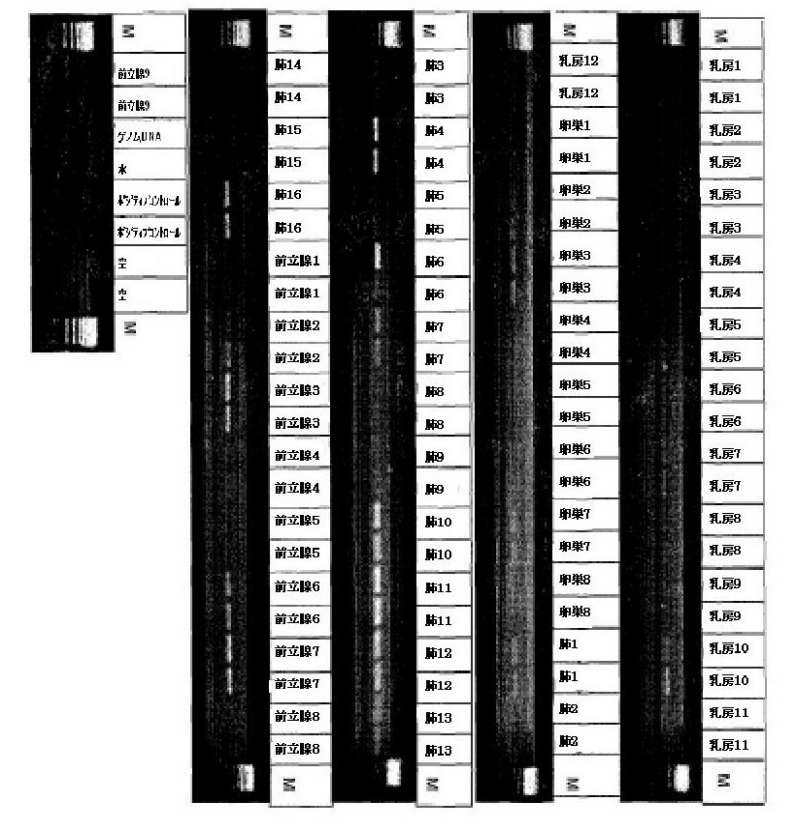

模試トランスフェクト細胞
蛍光性2
蛍光性1
Q1
Q2
Q3

【図８】

【図９Ｃ】


腎臓1
腎臓1
腎臓2
腎臓2
腎臓3
腎臓3
腎臓4
腎臓4
腎臓5
腎臓5
腎臓6
腎臓6
腎臓9
腎臓9
腎臓10
腎臓10
腎臓11
腎臓11
腎臓12
腎臓12
腎臓N1
腎臓N1
腎臓N2
腎臓N2
腎臓N3
腎臓N3
腎臓N4
腎臓N4

【図９Ｅ】


M
乳房1
乳房1
乳房2
乳房2
乳房3
乳房3
乳房4
乳房4
乳房5
乳房5
乳房6
乳房6
乳房7
乳房7
乳房8
乳房8
乳房9
乳房9
乳房10
乳房10
乳房11
乳房11
M
乳房12
乳房12
卵巣1
卵巣1
卵巣2
卵巣2
卵巣3
卵巣3
卵巣4
卵巣4
卵巣5
卵巣5
卵巣6
卵巣6
卵巣7
卵巣7
卵巣8
卵巣8
肺1
肺1
肺2
肺2
M
M
肺3
肺3
肺4
肺4
肺5
肺5
肺6
肺6
肺7
肺7
肺8
肺8
肺9
肺9
肺10
肺10
肺11
肺11
肺12
肺12
肺13
肺13
M
M
肺14
肺14
肺15
肺15
肺16
肺16
前立腺1
前立腺1
前立腺2
前立腺2
前立腺3
前立腺3
前立腺4
前立腺4
前立腺5
前立腺5
前立腺6
前立腺6
前立腺7
前立腺7
前立腺8
前立腺8
M
M
M
前立腺9
前立腺9
ゲノムDNA
水
ポジティブコントロール
ポジティブコントロール
空
空
M

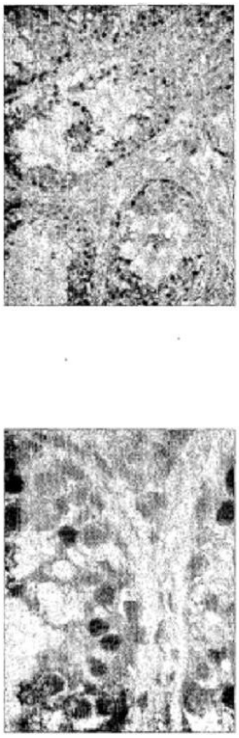
【図１５】

【図１７Ａ】

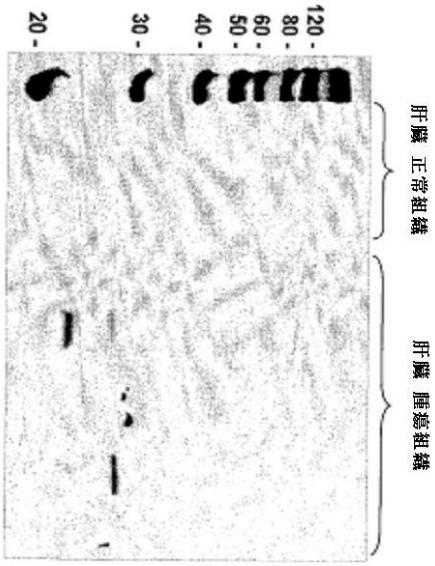
【図１７Ｂ】

【図１９Ａ】

【図１９Ｂ】

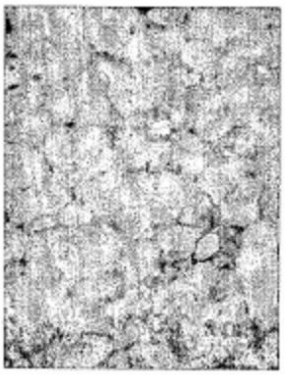


【図２１Ａ】

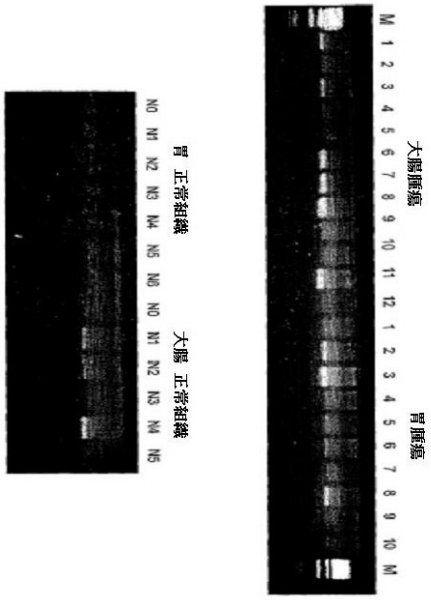


【図２１Ｂ】

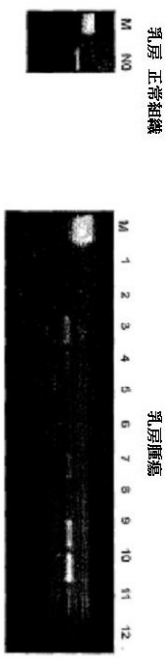
【図２１Ｃ】



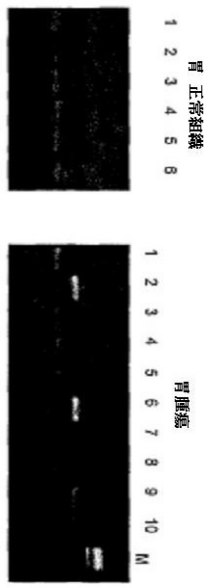
【図２２Ｂ】



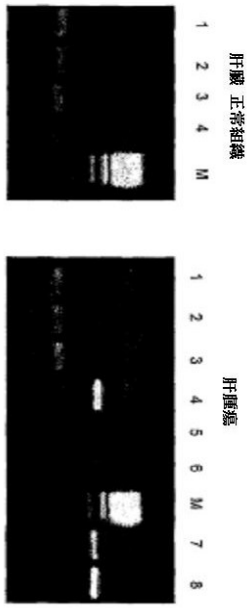
【図２２Ｃ】


乳房 正常組織
M N0
乳房腫瘍
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

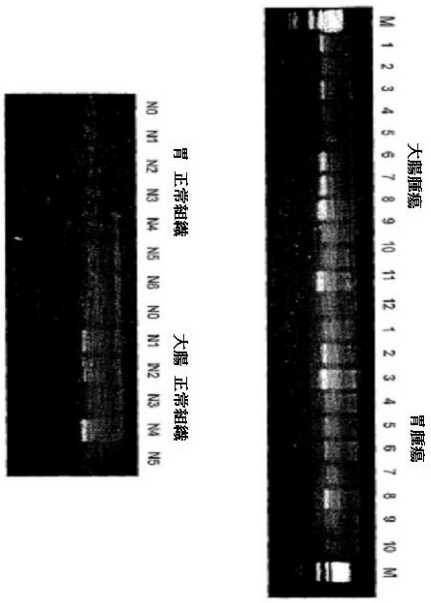
【図２２Ｄ】


胃 正常組織
1 2 3 4 5 6
胃腫瘍
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 M

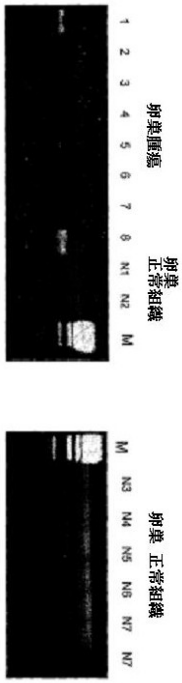
【図２２Ｅ】


肝臓 正常組織
1 2 3 4 M
肝腫瘍
1 2 3 4 5 6 M 7 8

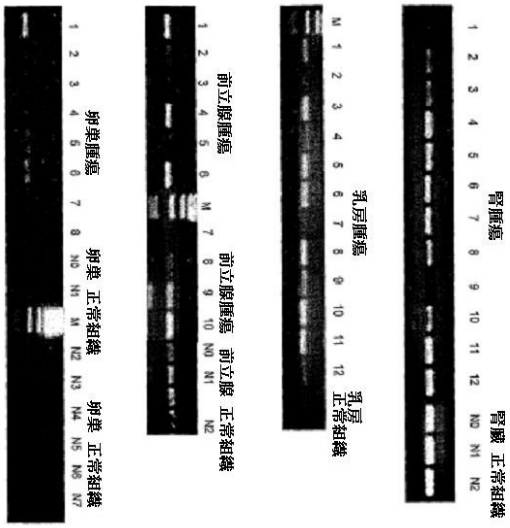
【図２３Ｂ】


大腸腫瘍
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 M
胃腫瘍
胃 正常組織
N0 N1 N2 N3 N4 N5 N0 N1 N2 N3 N4 N5
大腸 正常組織

【図２４Ｃ】



【図２５Ｄ】



【配列表】

2007537197000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2005/005104

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12Q1/68

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)
C12Q

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, Sequence Search, MEDLINE, WPI Data, PAJ, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL [Online] 28 May 2002 (2002-05-28), "AGENCOURT_7926639 NIH_MGC_72 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:6160718 5', mRNA sequence." XP002358303 retrieved from EBI accession no. EM_EST:BQ427878 Database accession no. BQ427878 the whole document -----	1-97
X	DATABASE EMBL [Online] 15 April 2003 (2003-04-15), "Sequence 695 from Patent EP1293569." XP002358304 retrieved from EBI accession no. EM_PAT:AX714011 Database accession no. AX714011 the whole document -/--	10,73,74

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] 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	Date of mailing of the International search report
9 December 2005	02 05 2006
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Botz, J

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2005/005104

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	& EP 1 293 569 A (RESEARCH ASSOCIATION FORBIOTECHNOLOGY) 19 March 2003 (2003-03-19)	
X	DATABASE EMBL [Online] 31 October 2001 (2001-10-31), "Homo sapiens cDNA FLJ31461 fis, clone NT2NE2001247." XP002358305 retrieved from EBI accession no. EM_HUM:AK056023 Database accession no. AK056023 the whole document	10,73,74
X	DATABASE UniProt [Online] 1 December 2001 (2001-12-01), "Hypothetical protein FLJ31461." XP002358306 retrieved from EBI accession no. UNIPROT:Q96N35 Database accession no. Q96N35 the whole document	10,73,74
A	WO 03/076631 A (SAHIN, UGUR; TUERECI, OEZLEM; KOSLOWSKI, MICHAEL; GANYMED PHARMACEUTIC) 18 September 2003 (2003-09-18) the whole document	1-97
A	WO 03/000928 A (ODIN MEDICAL A/S; POULSEN, HANS, SKOVGAARD; PEDERSEN, NINA; MORTENSEN,) 3 January 2003 (2003-01-03) the whole document	1-97
P,A	WO 2004/047863 A (GANYMED PHARMACEUTICALS AG; SAHIN, UGUR; TUERECI, OEZLEM; KOSLOWSKI, M) 10 June 2004 (2004-06-10) the whole document	1-97
A	SCHEURLE DANIELA ET AL: "Cancer gene discovery using Digital Differential Display" CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, US, vol. 60, no. 15, 1 August 2000 (2000-08-01), pages 4037-4043, XP002256957 ISSN: 0008-5472 the whole document	1-97

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2005/005104

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

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

1. [X] Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

2. [X] Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

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

see the Supplemental Sheet

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [X] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-97 (all in part)

Remark on Protest
[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2005/005104

Continuation of Box II.1

Although claims 33, 44, 56, 57, 61, 64 and 69 relate to a diagnostic method, or to a method for treatment of the human or animal body the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.

Continuation of Box II.2

Claims:
1, 2, 7, 9, 10, 32, 33, 44, 56, 57, 61, 64, 69, 73, 74, 83, 86, 87, 89, 90, 91, 92, 95, 96
(incompletely searched)

Claims 1, 2, 7, 9, 10, 32, 33, 44, 56, 57, 61, 64, 69, 73, 74, 83, 86, 87, 89, 90, 91, 92, 95 and 96 relate to an extremely large number of possible products. Support and disclosure (PCT Articles 6 and 5) can only be found for a very small portion of the claimed products, see sequence listing, figures and examples. The failure to meet the relevant requirements is so serious that it was taken into consideration in determining the scope of protection (PCT Guidelines 9.19 and 9.23).
The search on the above-mentioned claims was therefore restricted to those claimed products which are supported by the description, i.e. the actually stated sequence identities.
Current claims 1, 2, 7 and 9 relate to products characterized by a certain desired property or effect, namely "Pharmaceutical composition, comprising an agent inhibiting the expression or activity of a tumour-associated antigen" / "Pharmaceutical composition, comprising an agent with tumour-inhibiting activity, which is selective for cells that have an expression or abnormal expression of a tumour-associated antigen" (the same applies to the other above-mentioned claims). The description does not furnish any support or disclosure (PCT Articles 5 and 6) for any such product that has the above property or effect, and general knowledge of this kind is not available to the person skilled in the art. The failure to meet the relevant requirements is so serious that it was taken into consideration in determining the scope of protection (PCT Guidelines 9.19 and 9.20). The search on the above-mentioned claims was therefore restricted to the clearly disclosed products characterized by their technical features (sequence identities).

The applicant is advised that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subject matter that has not been searched. This also applies in cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2005/005104

Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. However, after entry into the regional phase before the EPO an additional search may be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, C-VI, 8.5) if the deficiencies that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been corrected.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2005/005104

The International Searching Authority has found that the international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

1. Claims: 1-97 (all in part)

Invention 1:
Surface-associated tumour antigen defined by the nucleic acid sequences SEQ ID Nos. 1/69/71/73 or by the amino acid sequences SEQ ID Nos. 2/70/72/74, as well as pharmaceutical compositions, methods for diagnosis, treatment, host cells, agents, antigens, kits, which all relate to the above-defined surface-associated tumour antigen.

---

2. Claims: 1-97 (all in part)

Inventions 2 - 29:
As per invention 1, but defined by respectively one of the nucleic acid sequences mentioned in claim 1 of the present application, as well as the corresponding protein sequences from claim 32.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2005/005104

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)			Publication date
EP 1293569	A	19-03-2003	NONE			
WO 03076631	A	18-09-2003	AU	2003219045	A1	22-09-2003
			CA	2478413	A1	18-09-2003
			CN	1646692	A	27-07-2005
			DE	10211088	A1	25-09-2003
			EP	1483389	A2	08-12-2004
			JP	2005519608	T	07-07-2005
			MX	PA04008867	A	17-06-2005
			US	2006013817	A1	19-01-2006
WO 03000928	A	03-01-2003	CA	2489420	A1	03-01-2003
			CN	1547617	A	17-11-2004
			EP	1446501	A2	18-08-2004
			JP	2005500833	T	13-01-2005
WO 2004047863	A	10-06-2004	AU	2003282101	A1	18-06-2004
			BR	0316435	A	11-10-2005
			CA	2505757	A1	10-06-2004
			CN	1714150	A	28-12-2005
			DE	10254601	A1	03-06-2004
			EP	1563068	A2	17-08-2005
			MX	PA05005423	A	03-08-2005
			US	2006035852	A1	16-02-2006

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/005104

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. C12Q1/68

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
C12Q

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, Sequence Search, MEDLINE, WPI Data, PAJ, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE EMBL [Online] 28. Mai 2002 (2002-05-28), "AGENCOURT_7926639 NIH_MGC_72 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:6160718 5', mRNA sequence." XP002358303 gefunden im EBI accession no. EM_EST:BQ427878 Database accession no. BQ427878 das ganze Dokument -----	1-97
X	DATABASE EMBL [Online] 15. April 2003 (2003-04-15), "Sequence 695 from Patent EP1293569." XP002358304 gefunden im EBI accession no. EM_PAT:AX714011 Database accession no. AX714011 das ganze Dokument -/--	10,73,74

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen [X] Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
9. Dezember 2005	02. 05. 2006

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Botz, J

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/005104

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
	& EP 1 293 569 A (RESEARCH ASSOCIATION FORBIOTECHNOLOGY) 19. März 2003 (2003-03-19)	
X	DATABASE EMBL [Online] 31. Oktober 2001 (2001-10-31), "Homo sapiens cDNA FLJ31461 fis, clone NT2NE2001247." XP002358305 gefunden im EBI accession no. EM_HUM:AK056023 Database accession no. AK056023 das ganze Dokument	10,73,74
X	DATABASE UniProt [Online] 1. Dezember 2001 (2001-12-01), "Hypothetical protein FLJ31461." XP002358306 gefunden im EBI accession no. UNIPROT:Q96N35 Database accession no. Q96N35 das ganze Dokument	10,73,74
A	WO 03/076631 A (SAHIN, UGUR; TUERECI, OEZLEM; KOSLOWSKI, MICHAEL; GANYMED PHARMACEUTIC) 18. September 2003 (2003-09-18) das ganze Dokument	1-97
A	WO 03/000928 A (ODIN MEDICAL A/S; POULSEN, HANS, SKOVGAARD; PEDERSEN, NINA; MORTENSEN,) 3. Januar 2003 (2003-01-03) das ganze Dokument	1-97
P,A	WO 2004/047863 A (GANYMED PHARMACEUTICALS AG; SAHIN, UGUR; TUERECI, OEZLEM; KOSLOWSKI, M) 10. Juni 2004 (2004-06-10) das ganze Dokument	1-97
A	SCHEURLE DANIELA ET AL: "Cancer gene discovery using Digital Differential Display" CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, US, Bd. 60, Nr. 15, 1. August 2000 (2000-08-01), Seiten 4037-4043, XP002256957 ISSN: 0008-5472 das ganze Dokument	1-97

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/005104

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. [X] Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

siehe BEIBLATT PCT/ISA/210

2. [X] Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

siehe BEIBLATT PCT/ISA/210

3. [ ] Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. [ ] Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser Internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.

2. [ ] Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.

3. [ ] Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.

4. [X] Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
1-97 (alle teilweise)
(call in part)

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

[ ] Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.

[ ] Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld II.1

Obwohl die Ansprüche 33, 44, 56, 57, 61, 64 und 69 sich auf ein Diagnostizierverfahren, bzw. auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

Fortsetzung von Feld II.2

Ansprüche Nr.:
1,2,7,9,10,32,33,44,56,57,61,64,69,73,74,83,86,87,89,90,91,92,95,96
(incompletely searched)

Die Ansprüche 1, 2, 7, 9, 10, 32, 33, 44, 56, 57, 61, 64, 69, 73, 74, 83, 86, 87, 89, 90, 91, 92, 95 und 96 beziehen sich auf eine extrem großen Anzahl von möglichen Produkten. Stützung und Offenbarung im Sinne von Artikel 6 und 5 PCT kann jedoch nur für einen sehr kleinen Teil der beanspruchten Produkte gefunden werden, siehe Sequence Listing, Abbildungen und Beispiele. Die Verletzung der einschlägigen Erfordernisse ist so schwerwiegend, dass sie bei der Bestimmung des Recherchenumfangs berücksichtigt
wurde (PCT Richtlinien 9.19 und 9.23).
Die Recherche der oben genannten Ansprüche wurde auf jene beanspruchten Produkte beschränkt, die durch die Beschreibung gestützt sind, d.h. auf die tatsächlich angeführten Sequenzidentitäten.
Die vorliegenden Ansprüche 1, 2, 7, 9 beziehen sich auf Produkte charakterisiert durch eine bestimmte gewünschte Eigenschaft oder Wirkung, nämlich "Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend ein Mittel, das die Expression oder Aktivität eines Tumor assoziierten Antigens hemmt" / "Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend ein Mittel mit tumorhemmender Aktivität, das selektiv ist für Zellen, die eine Expression oder abnormale Expression eines tumorassoziierten Antigens aufweisen" (analog für die weiteren oben genannten Ansprüche). Die Beschreibung gibt
jedoch keine Unterstützung und Offenbarung im Sinne von Artikel 6 und 5 PCT für irgendein solches Produkt, das die obengenannte Eigenschaft oder Wirkung hat, und dem Fachmann ist kein allgemeines Fachwissen solcher Art zugänglich. Die Verletzung der einschlägigen Erfordernisse ist so schwerwiegend, dass sie bei der Bestimmung des Recherchenumfangs berücksichtigt wurde (PCT Richtlinien 9.19 und 9.20). Die Recherche der oben geannten Ansprüche wurde deshalb auf die deutlich offenbarten, sich durch technische Merkmale auszeichnenden Produkte beschränkt (Sequenzidentitäten).

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen

WEITERE ANGABEN PCT/ISA/ 210

Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT).In seiner Eigenschaft als mit, der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt.Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäss Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt.Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-VI, 8.5), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.

Internationales Aktenzeichen PCT/ EP2005/ 005104

WEITERE ANGABEN PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-97 (alle teilweise)

Erfindung Nummer 1:
Oberflächen-assoziiertes Tumorantigen definiert durch die Nukleinsäurensequenzen SEQ. ID. NO:1/69/71/73 bzw. durch die Aminosäurensequenzen SEQ. ID. NO: 2/70/72/74, sowie pharmazeutische Zusammensetzungen, Verfahren zur Diagnose, Behandlung, Wirtszellen, Mittel, Antikörper, Kits, welche sich sämtlich auf das oben definierte oberflächen-assoziierte Tumorantigen beziehen.
---

2. Ansprüche: 1-97 (alle teilweise)

Erfindungen 2 - 29:
wie Erfindung 1, jedoch definiert durch jeweils eine der in Anspruch 1 der vorliegenden Anmeldung genannten Nukleinsäurensequenzen, sowie die entsprechenden Proteinsequenzen aus Anspruch 32.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/005104

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie			Datum der Veröffentlichung
EP 1293569	A	19-03-2003	KEINE			
WO 03076631	A	18-09-2003	AU	2003219045	A1	22-09-2003
			CA	2478413	A1	18-09-2003
			CN	1646692	A	27-07-2005
			DE	10211088	A1	25-09-2003
			EP	1483389	A2	08-12-2004
			JP	2005519608	T	07-07-2005
			MX	PA04008867	A	17-06-2005
			US	2006013817	A1	19-01-2006
WO 03000928	A	03-01-2003	CA	2489420	A1	03-01-2003
			CN	1547617	A	17-11-2004
			EP	1446501	A2	18-08-2004
			JP	2005500833	T	13-01-2005
WO 2004047863	A	10-06-2004	AU	2003282101	A1	18-06-2004
			BR	0316435	A	11-10-2005
			CA	2505757	A1	10-06-2004
			CN	1714150	A	28-12-2005
			DE	10254601	A1	03-06-2004
			EP	1563068	A2	17-08-2005
			MX	PA05005423	A	03-08-2005
			US	2006035852	A1	16-02-2006

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ　43/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１０５	４Ｃ０８５
Ａ６１Ｋ　39/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/00	Ｈ	４Ｃ０８６
Ａ６１Ｋ　39/395	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｎ	４Ｃ０８７
Ａ６１Ｋ　47/42	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｄ	４Ｈ０４５
Ａ６１Ｋ　47/48	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/42		
Ａ６１Ｐ　35/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/48		
Ａ６１Ｐ　13/08	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ａ６１Ｐ　35/04	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/08		
Ａ６１Ｋ　35/76	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/04		
Ｃ１２Ｎ　15/09	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	35/76		
Ｃ１２Ｑ　1/68	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/00	Ａ	
Ｃ１２Ｑ　1/04	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｑ	1/68	Ａ	
Ｃ０７Ｋ　14/705	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｑ	1/04		
Ｃ０７Ｋ　16/30	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/705		
Ｃ１２Ｐ　21/08	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	16/30		
Ａ６１Ｋ　31/7028	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｐ	21/08		
Ａ６１Ｋ　31/711	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7028		
		Ａ６１Ｋ	31/711		

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

(72)発明者　テューレツィ，エツレム
ドイツ，５５１１６　マインツ，フィリップーフォンーツァベルンープラッツ　１
(72)発明者　サヒン，ウグール
ドイツ，５５１１６　マインツ，フィリップーフォンーツァベルンープラッツ　１
(72)発明者　シュナイダー，サンドラ
ドイツ，６８１９９　マンハイム，ヴィルヘルムーブロスーシュトラーセ　１０
(72)発明者　ハーフテンベイン、ゲルド
ドイツ，３５３２９　ゲミュンデン，ニーダーーオーメナー　エステーエール.　１６
(72)発明者　シュリューター，フェルカー
ドイツ，８１３７７　ミュンヒェン，ギルムシュトラーセ　６４
(72)発明者　ウーゼナー，ディルク
ドイツ，６５１８５　ヴィースバーデン，マインツァー　シュトラーセ　２５アー
(72)発明者　ティール，フィリップ
ドイツ，５５２６８　ニーダーーオルム，カールージーベンーシュトラーセ　６

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 AA12 AA15 BA31 BA44 BA61 CA01 CA12 DA02 EA02
EA03 GA01 GA11 HA08 HA12 HA17
4B063 QA01 QA18 QA19 QQ02 QQ08 QQ42 QQ53 QQ79 QR08 QR32
QR36 QR42 QR48 QR50 QR54 QR55 QR62 QR66 QR72 QR77
QS25 QS28 QS33 QS34 QS36 QX01
4B064 AG27 CA20 DA05 DA14
4C076 AA12 AA95 BB11 CC27 EE41 EE59 FF68 FF70 GG41

4C084 AA17 MA66 NA14 ZA81 ZB21 ZB26
4C085 AA03 AA13 AA14 CC03 EE06 FF11 FF13 GG01
4C086 AA01 AA02 BC42 BC43 CB07 DA38 EA17 EA18 NA10 NA13
NA14 ZA81 ZB21 ZB26
4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 NA14 ZA81 ZB21 ZB26
4H045 AA11 AA20 AA30 BA09 CA40 CA41 DA75 DA76 DA86 EA20
FA74