

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003 - 28881

(P2003 - 28881A)

(43)公開日 平成15年1月29日 (2003.1.29)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
G 0 1 N 33/564		G 0 1 N 33/564	Z 2 G 0 4 5
A 6 1 K 45/00		A 6 1 K 45/00	4 B 0 6 3
A 6 1 P 1/00		A 6 1 P 1/00	4 C 0 8 4
	1/04	1/04	
	29/00	29/00	

審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 17数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 209897(P2001 - 209897)

(22)出願日 平成13年7月10日(2001.7.10)

(71)出願人 300040380

株式会社オリエントキャンサーセラピー
東京都三鷹市大沢1 - 1 - 21

(72)発明者 八木田 旭邦

東京都三鷹市大沢1丁目1番21号

(74)代理人 100088904

弁理士 庄司 隆

F タ-ム (参考) 2G045 AA25 AA40 BA13 CA18 CA25

DA36 FA37 FB03 FB07

4B063 QA18 QA19 QQ03 QQ08 QQ79

QR48 QR77 QX02

4C084 AA17 DC50 NA14 ZA661 ZA681

ZB081

(54)【発明の名称】 難治性自己免疫疾患の測定方法

(57)【要約】

【目的】本発明の課題は、ステロイド、抗TNF 抗体および薬物抵抗性の炎症性腸疾患 (IBD)や難治性自己免疫疾患に対する新規な検定方法を提供することである。

【構成】免疫を担う活性化されたNK T細胞が関与するカスケードにおいて、NK T細胞の活性化に係わる2つの異なる抗原受容体、すなわちNKR-P1とV 24V 11の作用が全く異なるものであることに続き、これらが陽性であることと難治性自己免疫疾患とが相関することを見出し本発明を完成した。加えて、CD3CD161、CD3CD161パーフォリン又はV 24V 11、V 24V 11パーフォリンをマ-カーとして検定されることが、難治性自己免疫疾患の測定手段として有効であることを見出し本発明を完成した。

【特許請求の範囲】

【請求項1】ナチュラルキラーT（人NKT）細胞が有するナチュラルキラー（NK）細胞抗原受容体であるNKR-P1（ナチュラルキラー受容体-P1）又はV₂₄(V₁₁)であるT細胞抗原受容体（TcR）の活性化状況を指標として用いられる難治性自己免疫疾患の測定又は検定方法。

【請求項2】NKR-P1（ナチュラルキラー受容体-P1）の活性化又はTcRの不活性化が難治性自己免疫疾患の原因の一であると判定する請求項1の測定又は検定方法。

【請求項3】NKR-P1（ナチュラルキラー受容体-P1）の活性化を10 制御する物質又はTcRの活性化を誘導する物質からなる難治性自己免疫疾患治療・予防剤。

【請求項4】NKR-P1（ナチュラルキラー受容体-P1）の活性化又はTcRの活性化を指標とする難治性自己免疫疾患治療・予防剤のスクリーニング方法。

【請求項5】CD3CD161もしくはCD3CD161パーフォリン、又はV₂₄V₁₁もしくはV₂₄V₁₁パーフォリンをマーカーとして検定する請求項1もしくは2の方法。

【請求項6】CD3CD161もしくはCD3CD161パーフォリン、20 又はV₂₄V₁₁もしくはV₂₄V₁₁パーフォリンをマーカーとして検定する請求項3の難治性自己免疫疾患治療・予防剤。

【請求項7】CD3CD161もしくはCD3CD161パーフォリン、又はV₂₄V₁₁もしくはV₂₄V₁₁パーフォリンをマーカーとして検定する請求項4の方法。

【請求項8】請求項1～7の何れかーに記載の情報を担持した商業的媒体。

【請求項9】請求項1～7の何れかーに記載の情報を担持した商業方法。

【請求項10】請求項1～7の何れかーに記載の情報を30 担持した商業的免疫機能検定サービスシステム。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、人NKT細胞の活性化に着目した新規な難治性自己免疫疾患の測定方法に関する。さらに詳しくは、難治性自己免疫疾患治療・予防剤、および難治性自己免疫疾患治療・予防剤のスクリーニング方法に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、癌免疫に関与する細胞として、ナ40 チュラルキラーT（人NKT）細胞（Cui J. et al., Science 278, 1623, 1997）が見出された。人NKT細胞は、免疫系に関与する細胞の一つであり、強力なサイトカイン産生能、とくにIFN産生能、及びFasやパーフォリンを介した細胞傷害性等の機能を持つ。従ってこの細胞を活性化することにより、癌患者の治癒・延命効果が更に高くなることが期待される。

【0003】谷口等は、人NKT細胞が有するV₂₄(V₁₁)という特異的なT細胞抗原受容体（TcR）が認識する特異的な糖脂質抗原を発見し、この抗原が、ガラクト50

シルセラミドであることを報告している。更に、ガラクトシルセラミドを投与した担癌マウスでは、NKT細胞が活性化され（マウスではV₁₄をもつ細胞の存在比率が増えている状態）、癌の消失はみられないものの転移が抑制されることを証明した。

【0004】人NKT細胞には、もう一つの受容体としてNKT細胞抗原受容体（NKR-P1）があることは報告されている（特集 NKT細胞の基礎と臨床：最新医学55巻4号2000年818～823ページ）。NKR-P1も人NKT細胞の活性化に関与する。

【0005】炎症性腸疾患（IBD）である潰瘍性大腸炎（UC）とクローン病（CD）とは先進国（日本も含めて）で著増しているが、その病因、病態に不明の点が多く、その治療法も明らかでない。このIBDの病因、病態に免疫異常が関与している可能性が多く、このIBDの発病には、2種類の免疫系が関与していると考えられる。その一つは、TNF IFN IL-12 CTLの系の関与であり、他の一つは人NKT細胞の関与である。

【0006】現在臨床的に使われているIBD製剤、ステロイド、サラゾピリン、5-ASA、抗TNF抗体は主として前者のTh1系サイトカイン（IFN、IL-12、IL-18）を抑制して、CTL活性を抑制することを目的にしている。これらの薬物でコントロールできないIBD症例は難治性IBDとして注目されているが、未だ病因が不明である。

【0007】IBDの発病や病態の憎悪に人NKT細胞が関与していることは谷口らにより報告されている。人NKT細胞はT細胞とNK細胞の両方の性質を持ち、T細胞受容体（TcR：V₂₄V₁₁）とNK受容体（NKR-P1：CD161）とがある。IBDでは、人NKT細胞のTcRの刺激では免疫学的に抑制的に作用（谷口ら）し、NKR-P1の刺激は免疫学的に活性化に作用する（八木田ら）ことを見出している。そしてこの人NKT細胞の活性はステロイドや抗癌剤、5-ASA薬物などに影響されないことが八木田らにより見出されている。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明の課題は、ステロイド、抗TNF抗体および薬物抵抗性の炎症性腸疾患（IBD）や難治性自己免疫疾患に対する新規な検定方法を提供することである。本発明は、これら疾患の新規なマーカーを見出すことである。さらに本発明は、そのマーカーを制御することによる難治性自己免疫疾患の治療・予防剤を見出すことである。加えて、本発明は、新規な難治性自己免疫疾患の治療・予防剤のスクリーニング方法を見出すことである。

【0009】

【課題を解決するための手段】上述の課題を解決するために、本発明者はステロイド、抗TNF抗体および薬物抵抗性の炎症性腸疾患（IBD）や難治性自己免疫疾患の予防又は治療における免疫カスケードについて検討を重

ね、免疫を担う活性化された人NKT細胞が関与するカスケードにおいて、人NKT細胞の活性化に係わる2つの異なる抗原受容体、すなわちNKR-P1とTcR (V 24V 11) の作用が全く異なるものであることに続き、NKR-P1陽性又はTcR陽性であることとこれら疾患（難治性自己免疫疾患）とが相関することを見出し本発明を完成した。加えて、CD3CD161もしくはCD3CD161パーフォリン、又はV 24V 11もしくはV 24V 11パーフォリンをマーカーとして検定されることが、難治性自己免疫疾患の測定手段として有効であることを見出し本発明を完成した。

【0010】本発明の本質は、人NKT細胞のNKR-P1又はTcRをコントロールすることは難治性自己免疫疾患の有効な治療手段になることを見出したことである。本発明は、IBDやステロイドの有効性が知られている自己免疫疾患のすべてにおいて適応可能となる。本発明はステロイド抵抗性、薬物抵抗性あるいは抗TNF 抗体で改善しない難治性の自己免疫疾患に有効である。

【0011】すなわち本発明は、以下からなる。

1. ナチュラルキラーT (人NKT) 細胞が有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体であるNKR-P1 (ナチュラルキラー受容体 - P1) 又はV 24 (V 11) であるT細胞抗原受容体 (TcR) の活性化状況を指標として用いられる難治性自己免疫疾患の測定又は検定方法。
2. NKR-P1 (ナチュラルキラー受容体 - P1) の活性化又はV 24 (V 11) であるT細胞抗原受容体 (TcR) の不活性化が難治性自己免疫疾患の原因の一であると判定する前項1の測定又は検定方法。
3. NKR-P1 (ナチュラルキラー受容体 - P1) の活性化を制御する物質又はV 24 (V 11) であるT細胞抗原受容体 (TcR) を活性化する物質からなる難治性自己免疫疾患治療・予防剤。
4. NKR-P1 (ナチュラルキラー受容体 - P1) 又はV 24 (V 11) であるT細胞抗原受容体 (TcR) の活性化を指標とする難治性自己免疫疾患治療・予防剤のスクリーニング方法。
5. CD3CD161もしくはCD3CD161パーフォリン、又はV 24V 11もしくはV 24V 11パーフォリンをマーカーとして検定する前項1もしくは2の方法。
6. CD3CD161もしくはCD3CD161パーフォリン、又はV 24V 11もしくはV 24V 11パーフォリンをマーカーとして検定する前項3の難治性自己免疫疾患治療・予防剤。
7. CD3CD161もしくはCD3CD161パーフォリン、又はV 24V 11もしくはV 24V 11パーフォリンをマーカーとして検定する前項4の方法。
8. 前項1～7の何れかーに記載の情報を担持した商業的媒体。
9. 前項1～7の何れかーに記載の情報を担持した商業方法。
10. 前項1～7の何れかーに記載の情報を担持した商業的免疫機能検定サービスシステム。

【0012】

【発明の実施の形態】以下に本発明を詳述する。本発明は、臨床における炎症性腸疾患 (IBD) である潰瘍性大腸炎 (UC) とクローン病 (CD) における免疫機能の相関性を検討することにより達成した。本発明者は、84例のCD疾患患者と87例のUC疾患患者の各種サイトカイン、及び人NKT細胞についての各種パラメーターの測定をおこなった (図1～10)。そして、その結果を、ステロイド投与とステロイド非投与の各疾患患者における免疫機能の比較データとして得た。

【0013】図1～4及び図9～10は、CD疾患患者分であり、全数84例でステロイド投与が無効な患者を対象とする。測定は、ステロイド投与群28例とステロイド非投与群56例について、IFN、IL-12、及びCD3CD161を測定した (CD3CD161の測定が、NKR-P1を介した人NKT細胞の活性化を表すものであることは本発明者が別途確立している) (図1～3)。また、CD疾患患者へのステロイド投与群とステロイド非投与群について、CD3CD161パーフォリン、V 24V 11、V 24V 11パーフォリンを測定した (表1～6) (図4、9～10)。

【0014】その結果、図1～4ではステロイド投与群でIFN、IL-12の値がステロイド非投与群に比して有意に低値を示したのに対し、CD3CD161、CD3CD161パーフォリンの測定値は両群に差異がないことが判明した。このことは、炎症性腸疾患 (IBD) であるクローン病 (CD) であって、ステロイド無効例であってもステロイド投与でIFN、IL-12等のサイトカイン産生の抑制系は働いていること、それにもかかわらず疾患は難治性であること、ステロイド投与ではCD3CD161 (NKR-P1) に対しては抑制に働かないことを意味するものである。

【0015】図9～10及び表1～6は、CD疾患患者へのステロイド投与群とステロイド非投与群への影響であるが、両群においてV 24V 11、V 24V 11パーフォリンへの影響に差異はない。IFN、IL-12の値はステロイド投与群で低下傾向にある。

【0016】図11～13は、CD患者の活動期と非活動期と健常人における各ファクター値の比較である。CD患者では、IFN、IL-12の値はいずれも健常人より高い傾向にあり、活動期と非活動期ではIL-12の値が、非活動期の方が高い傾向であった。CD3CD161及びCD3CD161パーフォリンは、CD3CD161パーフォリンが健常人に対し有意の高値を示した。活動期と非活動期の比較ではCD3CD161は非活動期が減少傾向にあるが、CD3CD161パーフォリンは両期で有意の差異は確認されない。V 24V 11及びV 24V 11パーフォリンは、両者とも健常人に比して有意の高値を示したが、活動期と非活動期で有意の差異は確認されない。

【0017】かくして、本発明者は、難治性自己免疫疾患 (例えばCD患者) は、CD3CD161 (NKR-P1) 特にCD3CD161パーフォリンが活性化状態にあり、これが原因で免疫

異常が誘発されていることを見出した。そして、このCD3CD161 (NKR-P1) 特にCD3CD161パーフォリンの活性化状態を制御(抑制)してやれば、難治性自己免疫疾患(CD患者)の治療・予防が達成でき、CD3CD161 (NKR-P1) 特にCD3CD161パーフォリンの活性化状態を制御(抑制)する物質をスクリーニングすれば難治性自己免疫疾患(特にCD患者)の有力な治療・予防剤の提供が達成できることを見出した。

【0018】一方、NKT細胞のV 24V 11 (TcR)、V 24V 11パーフォリンは、CD患者では健常人に比較して高値であり、CD患者のNKT細胞の免疫系は抑制に働く傾向であることが確認された。CD患者の活動期と非活動期での比較はV 24V 11で非活動期に高い傾向があった。このことからNKT細胞のV 24V 11 (TcR)を活性化してやると、NKT細胞の免疫系は抑制にはたらき結果として難治性自己免疫疾患の治療・予防が達成でき、V 24V 11 (TcR)を活性化する物質をスクリーニングすれば難治性自己免疫疾患の有力な治療・予防剤の提供が達成できることを見出した。

【0019】図5～8は、UC疾患患者分であり、全数87例でステロイド投与が無効な患者を対象とする。測定は、ステロイド投与群25例とステロイド非投与群62例について、IFN、IL-12、及びCD3CD161もしくはCD3CD161パーフォリンを測定した(CD3CD161の測定が、NKR-P1を介した人NKT細胞の活性化を表すものであることは本発明者が別途確立している)。その結果、ステロイド投与群でIFN、IL-12の値がステロイド非投与群に比して有意に低値を示したのに対し、CD3CD161及びCD3CD161パーフォリンの測定値は両群に差異がないことが判明した。このことは、炎症性腸疾患(IBD)である潰瘍性大腸炎(UC)であって、ステロイド無効例であってもステロイド投与例ではIFN、IL-12等のサイトカイン産生の抑制系は働いていること、それにもかかわらず疾患は難治性であること、ステロイド投与ではCD3CD161 (NKR-P1) に対しては抑制に働かないことを意味するものである。

【0020】図11～13は、UC患者の活動期と非活動期と健常人における各ファクター値の比較である。UC患者では、活動期と非活動期ではIFN、IL-12の値が、非活動期の方が高い傾向であった。CD3CD161及びCD3CD161パーフォリンは、CD3CD161パーフォリンが健常人に対し有意の高値を示した。活動期と非活動期の比較ではCD3CD161、CD3CD161パーフォリン共に両期で有意の差異は確認されない。V 24V 11及びV 24V 11パーフォリンは、両者とも健常人に比して有意の高値を示したが、活動期と非活動期の比較で非活動期がCD3CD161、CD3CD161パーフォリン共に減少傾向が確認された。

【0021】かくして、本発明者は、難治性自己免疫疾患(例えばUC患者)は、CD3CD161 (NKR-P1) 特にCD3CD161パーフォリンが活性化状態にあり、これが原因で免疫異常が誘発されていることを見出した。そして、このCD

3CD161 (NKR-P1) 特にCD3CD161パーフォリンの活性化状態を制御(抑制)してやれば、難治性自己免疫疾患(UC患者)の治療・予防が達成でき、CD3CD161 (NKR-P1) 特にCD3CD161パーフォリンの活性化状態を制御(抑制)する物質をスクリーニングすれば難治性自己免疫疾患(特にUC患者)の有力な治療・予防剤の提供が達成できることを見出した。

【0022】一方、NKT細胞のV 24V 11 (TcR)、V 24V 11パーフォリンは、UC患者では健常人に比較して高値であり、UC患者のNKT細胞の免疫系は抑制に働く傾向であることが確認された。UC患者の活動期と非活動期での比較はV 24V 11、V 24V 11パーフォリン共に非活動期に低い傾向があった。すなわち、UCでは抑制性のフィードバックとしてのV 24V 11活性化が不足であり、CD非活動期のレベルまで活性化すればステロイド抵抗性UCの病勢の制御につながる。このことからNKT細胞のV 24V 11 (TcR)を活性化してやると、NKT細胞の免疫系は抑制にはたらき結果として難治性自己免疫疾患(UC患者)の治療・予防が達成でき、V 24V 11 (TcR)を活性化する物質をスクリーニングすれば難治性自己免疫疾患(UC患者)の有力な治療・予防剤の提供が達成できることを見出した。

【0023】ナチュラルキラー(T)細胞が有するナチュラルキラー(NK)細胞抗原受容体であるNKR-P1(ナチュラルキラー受容体-P1)の活性化状況とは、CD3CD161の測定において、CD3とCD161の両方が陽性の細胞、すなわち細胞表面上に細胞表面マーカーであるCD3及びCD161を有している細胞を意味する。その測定は、人NKT細胞の細胞表面抗原であるCD3及びCD161を、モノクローナル抗体を用いてフローサイトメトリーを使用するTwo Color検査により測定する。人NKT細胞が活性化されているとは、リンパ球の中で人NKT細胞の割合が10%以上であることをいう。人NKT細胞活性化の制御とは、人NKT細胞の割合が10%以上の状況を減少せしめる機能、又はある物質を投与する前の人NKT細胞の割合より更に減少せしめる機能を意味する。TcRの活性化状況は、V 24V 11をマーカーとする以外略同一である。

【0024】本発明で、難治性自己免疫疾患とは、ステロイド、抗TNF抗体、IBD製剤、サラゾピリン、5-ASA等の治療剤投与に無効・抵抗性の免疫疾患を意味し、例えばUC、CD等が例示される。これら疾患であることの検定のために、本発明からなるNKR-P1(ナチュラルキラー受容体-P1)(CD3CD161)及び/又はTcR(V 24V 11)の活性化状況の測定は、新規で有力な手段を提供する。

【0025】本発明でNKR-P1(ナチュラルキラー受容体-P1)の活性化を制御する物質とは、前記NKR-P1(ナチュラルキラー受容体-P1)(CD3CD161)(CD3CD161パーフォリン)の測定系において、候補物質の試行において、リンパ球の中で陽性細胞の割合が10%以上の状況を減少せしめる機能をもつ物質、ある物質を投与する前の陽性細胞の割合よ

り更に減少せしめる機能を有する物質、あるいはある物質の投与で人NKT細胞のNKR-P1 (ナチュラル-受容体 - P1) をマスキング可能な物質を意味する。本発明のNKR-P1 (ナチュラル-受容体 - P1) の活性化を制御する物質の最も手短な物質はNKR-P1に対する抗体である。

【0026】本発明で、TcR (V 24V 11) の活性化を誘導する物質とは、TcR (V 24V 11) (V 24V 11パーフォリン) の測定系において、候補物質の試行において、リンパ球の中で陽性細胞の割合が0.04%以上の状況をもたらしめる機能をもつ物質、ある物質を投与する前の陽性細胞の割合より更に増加せしめる機能を有する物質を意味する。具体的な物質としては、BCG生ワクチン、ガラクトシルセラミドが例示される。BCG生ワクチンは、結核の治療薬として使用されているが、本発明ではこれを経口投与することが好ましい。摂取はBCG生菌量約10~500mg、より好ましくは40~100mgである。投与手法の一例では、約80mg生菌製剤を3~10日に一度、約1~数ヶ月摂取する。

【0027】抗体は、NKR-P1またはその由来物からなるCD3, CD161のようなペプチドの抗原決定基を選別して作製する。抗原はNKR-P1またはその断片でもよく、少なくとも8個、好ましくは少なくとも10個、より好ましくは少なくとも12個、さらに好ましくは15個以上のアミノ酸で構成される。NKR-P1に特異的な抗体を作製するためには、NKR-P1に固有なアミノ酸配列からなる領域を用いることが好ましい。抗体は、免疫学的にNKR-P1またはその由来物からなるペプチドを結合または認識する限り特に限定されない。この結合または認識の有無は、公知の抗原抗体結合反応によって決定される。

【0028】抗体を産生するためには、自体公知の抗体作製法を利用できる。例えば、NKR-P1またはその由来物からなるペプチドを、アジュバントの存在または非存在下で単独または担体に結合して動物に投与し、体液性応答および/または細胞性応答などの免疫誘導を行うことにより得られる。担体は、それ自体が宿主に対して有害作用をおこさなければ、特に限定されず例えばセルロース、重合アミノ酸、アルブミンなどが例示される。免疫される動物は、マウス、ラット、兎、ヤギ、馬などが好適に用いられる。

【0029】ポリクローナル抗体は、上記免疫手段を施された動物の血清から自体公知の抗体回収法によって取得される。好ましい手段として免疫アフィニティクロマトグラフィー法により得られる。

【0030】モノクローナル抗体を生産するためには、上記の免疫手段が施された動物から抗体産生細胞(例えば、脾臓またはリンパ節由来のリンパ球)を回収し、自体公知の永久増殖性細胞(例えば、P3X63Ag8株などのミエローマ株)への形質転換手段を導入することによって行われる。例えば、抗体産生細胞と永久増殖性細胞とを自体公知の方法で融合させてハイブリドマを

作成してこれをクローン化し、NKR-P1を特異的に認識する抗体を産生するハイブリドマを選別し、該ハイブリドマの培養液から抗体を回収する。

【0031】かくして得られた、NKR-P1またはその由来物であるペプチドを認識し結合しうるポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体は、試薬または標識マーカーなどとして利用できる。特にNKR-P1の活性化を抑制し得る抗体は、本発明からなるNKR-P1の活性を調節するために使用でき、そのためNKR-P1が関連する疾患特に難治性自己免疫疾患の治療・予防のために有用である。

【0032】(同定・スクリーニング手段)本発明では、難治性自己免疫疾患とNKR-P1 (CD3CD161, CD3CD161パーフォリン) 及び/又はTcR (V 24V 11, V 24V 11パーフォリン) の関係が明らかになされたことから、NKR-P1の活性化を制御、抑制すること (CD3CD161, CD3CD161パーフォリンをマーカーにする) 又はTcRを活性化すること (V 24V 11, V 24V 11パーフォリン) をマーカーにして難治性自己免疫疾患治療・予防剤の同定・スクリーニングが可能となる。制御・抑制・活性化とは前記定義と同じ。例えば、NKR-P1 (CD3CD161)、TcR (V 24V 11)、パーフォリンまたはそれらの由来ペプチドの立体構造に基づくドラッグデザインによる拮抗剤・活性化剤の選別、遺伝子レベルでの発現調節剤の選別、抗体を利用した抗体認識物質の選別などが、自体公知の医薬品スクリーニングシステムを利用して構築可能である。

【0033】また、NKR-P1 (CD3CD161)、TcR (V 24V 11)、パーフォリンまたはそれらの由来物からなるペプチドは、スクリーニングしようとする化合物とこれらペプチドとの間の相互作用を可能にする条件を選別し、この相互作用の有無を検出することのできるシグナルおよび/またはマーカーを使用する系を導入し、このシグナルおよび/またはマーカーの存在または不存在を検出することにより、NKR-P1 (CD3CD161, CD3CD161パーフォリン)活性を阻害する又はTcR (V 24V 11) を活性化する化合物を同定し難治性自己免疫疾患治療・予防剤の提供が可能である。

【0034】また、例えば形質転換技術を用い、スクリーニングしようとする化合物と形質転換体を接触させ、NKR-P1 (CD3CD161)、TcR (V 24V 11)、もしくはパーフォリン、またはそれらの由来物からなるペプチドの発現の有無を検出することのできるシグナルおよび/またはマーカーを使用する系を導入し、このシグナルおよび/またはマーカーの存在または不存在を検出することにより、NKR-P1 (CD3CD161)、TcR (V 24V 11)、もしくはパーフォリン、またはそれらの由来物からなるペプチドの発現を阻害する化合物を同定し難治性自己免疫疾患治療・予防剤の提供が可能である。

【0035】上記の手段で同定された化合物は、NKR-P1又はパーフォリンに関する活性阻害剤または活性拮抗剤、TcR (V 24V 11) に関する活性化剤、ひいては難

治性自己免疫疾患治療・予防剤の候補化合物として利用可能である。また、遺伝子レベルでのNKR-P1又はパーフォリン遺伝子系に対する発現阻害剤もしくは発現拮抗剤、またはもしくはTcR (V 24V 11) 遺伝子系に対する活性化剤は難治性自己免疫疾患治療・予防剤の候補化合物としても利用可能である。

【0036】かくして選別された候補化合物は、生物学的有用性と毒性のバランスを考慮して選別することによって、難治性自己免疫疾患治療・予防剤の医薬組成物として調製可能である。また本発明のNKR-P1 (CD3CD161、

CD3CD161パーフォリン)、TcR (V 24V 11、V 24V 11パーフォリン) に関する測定系は、難治性自己免疫疾患の診断マーカーや試薬などの疾病診断手段として有用である。

【0037】また、上記本発明の難治性自己免疫疾患の測定方法及び/又は上記本発明のスクリーニング方法を商業的媒体に担持させれば、当該製品の価値について差別化手段となる。従って、これら情報を商業的媒体に担持させた物は、極めて有用性の高いものである。そのう

【0038】

【実施例】本発明の実施例を示し、更に具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではなく、本発明の技術的思想を逸脱しない範囲内で種々の応用が可能である。

【臨床例1】CD3CD161の測定は、CD3/CD161又はCD3陽性CD161陽性とも記載し、CD3とCD161が陽性の細胞、すなわち細胞表面上に細胞表面マーカーであるCD3及びCD161を有している細胞を意味する。CD3CD161パーフォリンとは、CD3CD161に加えてさらにパーフォリンが陽性の細胞を意味する。V 24V 11の測定は、V 24/V 11又はV 24 + V 11 +とも記載し、V 24及びV 11が陽性の細胞、すなわち細胞表面上に細胞表面マーカーであるV 24及びV 11を有している細胞を意味する

【0040】細胞及び各サイトカインの測定方法を以下に示す。

(人NKT細胞の測定) 人NKT細胞の活性化のうち、NKR-P1への作用による活性化の測定は、人NKT細胞の細胞表面に特異的に存在する細胞表面抗原 (CD3及びCD161) の測定により、人NKT細胞数の増加を調べることで行うことができる。具体的には、末梢血中のリンパ球について、CD3陽性細胞でかつCD161陽性細胞の細胞を検定する。つまり、人NKT細胞の細胞表面抗原であるCD3及びCD161

を使用するTwo Color検査により測定する。人NKT細胞が活性化されているとは、リンパ球の中で人NKT細胞の割合が10%以上であることをいう。人NKT細胞活性化能とは、人NKT細胞の割合を10%以上に増加せしめる機能、又はある物質を投与する前の人NKT細胞の割合より更に増強せしめる機能を意味する。

【0041】患者の血液を用いて、血中細胞について、細胞表面抗原であるCD3及びCD161が陽性である細胞の割合をフローサイトメトリーを用いたTwo Color検査により常法通り測定した。CD3及びCD161に対するモノクローナル抗体は、それぞれコールター社製のCD3 - PC5並びにベクトンディッキンソン社製のCD161を使用した。

【0042】V 24V 11への作用による活性化の測定は、NKT細胞の細胞表面に特異的に存在する細胞表面抗原 (V 24及び所望によりV 11) の測定により、NKT細胞数の増加を調べることで行うことができる。具体的には、末梢血中のリンパ球について、V 24陽性細胞でかつV 11陽性細胞の細胞を検定する。つまり、NKT細胞の細胞表面抗原であるV 24及びV 11を、モノクローナル抗体 (TcR - V 24PE、TcR - V 11FITC; Beckman Coulter社) を用いてフローサイトメトリー (FCM) を使用するTwo Color検査により測定した。

【0043】(CD3CD161パーフォリンのThree Color検査) 患者の血液を用いて、血中細胞について、細胞表面抗原であるCD3、CD161、及びパーフォリンが陽性である細胞の割合をフローサイトメトリーを用いたThreeColor検査により常法通り測定した。具体的には、患者から採取した血液に固定液を加えて細胞を固定し、膜透過液を添加後抗パーフォリン抗体 (Pharminogen) を添加して反応させ、さらにPRE - Cy5標識化2次抗体 (DAKO) を添加して反応させる。ついで抗CD3 - PE (Coulter 6604627) 抗体及び抗CD161 - FITC (B-D) 抗体を添加して反応させ、その後FCMで測定する。

【0044】(V 24V 11パーフォリンのThree Color検査) CD3及びCD161が、V 24及びV 11であることを除いて上記と同様である。

【0045】(サイトカインを測定するための試料の調製) まず、被検患者血液より単核球細胞を分離調製する。患者から得たヘパリン加末梢血をリン酸緩衝生理食塩水 (Phosphate Buffered Saline; PBS) で2倍に希釈して混和した後、Ficoll - Conray液 (比重1.077) 上に重層し、400Gで20分遠沈後、単核球層を採取した。洗浄後、10%牛胎児血清 (FBS) を加えたRPMI - 1640培地を加え、単核球数を 1×10^6 個となるように調製した。得られた細胞浮遊液200 μ lにフィトヘマグルチニン (Phytohemagglutinin; 以下、PHAと略称する) (DIFCO製) を20 μ g/mlの濃度となるように加え、96穴マイクロプ

レートにて5%CO₂存在下、37℃で24時間培養し、該培養した細胞溶液中のサイトカインを測定する試料とした。

【0046】(IL-12の測定) IL-12は、R&D SYSTEMS製のキットを用いたELISA法にて測定した。実際には96穴マイクロプレートの各穴に測定用希釈液 Assay Diluent RD1Fを50μl、標準液(standard)又は実施例1で調製した試料を200μlずつ分注した後、室温にて静置して2時間反応させた。その後、horse radish peroxidase(以下、HRPと略称する)標識抗IL-12抗体を200μlずつ分注し2時間室温で静置した。各穴の反応液を除去し3回洗浄後、発色基質溶液を200μlずつ分注し、20分室温静置後、酵素反応停止溶液を50μlずつ分注した。550nmを対照として450nmにおける各穴の吸光度をEmax(和光純薬株式会社)にて測定した。IL-12量は、pg/mlとして表される。IL-12産生誘発能とは、末梢血単核球が刺激により産生するIL-12量を、7.8pg/ml以上(7.8は測定限界値)に増強せしめる機能、又はある物質を投与する前のIL-12産生量より増強せしめる機能を意味する。

【0047】(IFNの測定) IFNの測定は、BioSource Europe S.社のIFNキットを用いて、酵素免疫測定法(EIA法)で測定した。実際には96穴マイクロプレートの各穴に標準液(standard)又は上記調製した試料を2倍希釈したものを50μlずつ分注し、HRP標識抗IFN-α抗体を50μlずつ分注し更に振盪しながら2時間室温で反応させた。各穴の反応液を除去し3回洗浄後、発色基質溶液を200μlずつ分注し、振盪しながら15分室温で反応させ、酵素反応停止溶液を50μlずつ分注した。630nmを対照として450nm及び490nmにおける各穴の吸光度をEmax(和光純薬)にて測定した。IFN量は、IU/mlとして表される。

【0048】対象とした患者は、ステロイド治療、IBD製剤治療、サラゾピリンもしくは5-ASA治療、または抗TNF治療が無効と判断された活動期及び非活動期を含めた難治性自己免疫疾患を対象にした。CD患者の場合は全数84例で、通常の免疫抑制剤あるいは抗炎症剤としての処方によりステロイドの継続投与中の患者28例、ステロイド非投与患者56例である。UC患者の場合は全数87例で、同上記処方のステロイドの継続投与中の患者25例、ステロイド非投与患者62例である。

【0049】以上の測定結果データをもとに以下に各分析をした。図1は、CD患者のIFN値であり、ステロイド投与患者はステロイド非投与患者に比して約1/2に減少しており、有意の抑制効果が確認された。図2は、CD患者のIL-12値であり、ステロイド投与患者はステロイド非投与患者に比して約1/5に減少しており、有意の抑

制効果が確認された。図3及び図4は、各々CD患者のCD3CD161値及びCD3CD161パーフォリンであり、ステロイド投与患者とステロイド非投与患者には有意の効果差が確認されなかった。これはステロイドには人NKT細胞のCD3CD161に全く影響を及ぼさず難治性自己免疫疾患の患者では有意の活性化状態にあることを示唆した。このことから、人NKT細胞のCD3CD161の活性化を制御すればCD患者のような難治性自己免疫疾患の治療・予防に有用であることを確認した。

【0050】図5は、UC患者のIFN値であり、ステロイド投与患者はステロイド非投与患者に比して約1/3に減少しており、有意の抑制効果が確認された。図6は、UC患者のIL-12値であり、ステロイド投与患者はステロイド非投与患者に比して約3/5に減少しており、有意の抑制効果が確認された。図7及び図8は、各々UC患者のCD3CD161値及びCD3CD161パーフォリンであり、ステロイド投与患者とステロイド非投与患者には有意の効果差が確認されなかった。これはステロイドには人NKT細胞のCD3CD161に全く影響を及ぼさず難治性自己免疫疾患の患者では有意の活性化状態にあることを示唆した。このことから、人NKT細胞のCD3CD161の活性化を制御すればUC患者のような難治性自己免疫疾患の治療・予防に有用であることを確認した。

【0051】図9、10及び表1~6は、CD患者である。IFN、IL-12はステロイド投与群では低値を示し、ステロイド非投与群では高値を示した。CD3CD161、V24V11への影響は両群ともなかった。しかし、V24V11はステロイド投与・非投与両群とも高値を示した。なお、表1~2は各数値の平均値、表3~4は標準偏差値、表5~6は症例数を示す。表中P+とはパーフォリン+を意味する。

【0052】

【臨床例2】難治性自己免疫疾患としてCD患者、UC患者及び健康人を対象として(被験者数は図中にn数として表示)IFN、IL-12、CD3CD161、CD3CD161パーフォリン、V24V11、V24V11パーフォリンの測定を行い、CD及びUCの各活動期と非活動期についての数値の比較検討をした。図11は、IFN、IL-12の比較結果である。IFNは、CDでは健康人に対し約6倍、活動期と非活動期で有意差なし、UCでは健康人に対し約2倍~5倍、活動期と非活動期では後者が約2.5倍高い値を示した。IL-12は、CDでは健康人に対し約2.5~5倍、活動期と非活動期で後者が約1.8倍高く、UCでは健康人に対し約1~1.7倍、活動期と非活動期では後者が約1.5倍高い値を示した。図12は、CD3CD161、CD3CD161パーフォリンの比較結果である。CD3CD161は、CDでは健康人に対し約1.1~1.4倍、活動期と非活動期で前者が約1.2倍高い傾向、UCでは健康人に対し約0.9倍~1.1倍、活動期と非活動期では後者が約1.2倍高い傾向を示した。CD3CD161パーフォリンは、CDでは健康人に対し約3.5~3.7倍、活動期と非

活動期で後者が約1.04倍高い傾向、UCでは健常人に対し約2.2~2.4倍、活動期と非活動期では後者が約1.09倍高い傾向を示した。図13は、24V 11、V 24V 11パーフォリンの比較結果である。24V 11は、CDでは健常人に対し約4.9~5.3倍、活動期と非活動期で前者が約1.08倍高い傾向、UCでは健常人に対し約3.2倍~4.6倍、活動期と非活動期では後者が約1.4倍高い傾向を示した。24V 11パーフォリンは、CDでは健常人に対し約4.5~5倍、活動期と非活動期で後者が約1.1倍高い傾向、UCでは健常人に対し約3.3~4.8倍、活動期と非活動期では後者が約1.45倍高い傾向を示した。

【0053】

【臨床例3】BCG生ワクチン経口投与(週1回70mgをのべ4回、以後70mgを月1回、3ヶ月)のUC・癌合併症例で、BCG生ワクチンの経口投与前に比べてV 24V 11が上がり、同時にIFN- γ 産生能とIL-12産生能が変異しなかったがUCの病態改善・癌悪化の症例Aがあった。

【0054】

【臨床例4】症例Bは、ACTH産生腫瘍とクローン(CD)病の合併症例であるが、BCG生ワクチン経口投与(週1回70mgをのべ4回、以後70mgを月1回、3ヶ月)により、IFN- γ 産生能とIL-12産生能が変化せず、一方V 24V 11が上昇してクローン病の病勢が改善した。

【0055】

【臨床例5】症例Cは、潰瘍性大腸炎患者にBCG生ワクチンを経口投与(週1回70mgをのべ4回、以後70mgを月1回、3ヶ月)することで、投与前に比べてV 24V 11が上がり、IFN- γ 産生能とIL-12産生能は変化せず、UC病勢が改善した。

【0056】

【臨床例6】肺腺癌と急性活動期の全大腸炎型の潰瘍性大腸炎症例にステロイド30mg/日投与していたが改善が認められなかった。しかも肺癌は増大傾向が認められた。そこで抗腫瘍効果を目的にBCG70mgを週1回4週連続で経口投与した。肺癌は変化が認められなかったが、潰瘍性大腸炎の症状は1日10回以上の下痢と血便が2~3回/日に著明に改善した。この間NKT細胞のNK受容体(CD3CD161)に変化は認められなかったが、NKT細胞のT細胞受容体すなわちV 24V 11がBCG投与前の0.01%に比べ投与後1ヶ月目で0.06%と6倍に改善していた。またV 24V 11パーフォリン産生能も0.005%から0.025%5倍に改善していた。この傾向はBCG投与3ヶ月後もUCの改善が認められた。この事実は、BCG経口投与によりV 24V 11が活性化した事によりUCが改善したものと推察された。

【0057】

【臨床例7】44才の男性クローン病患者で10年にわたってのステロイド投与例である。4年前から縦隔腫瘍が合併しACTH産生胸腺腫瘍と診断された。この症例にIL-12誘導の新免疫療法を施行したが胸腺腫瘍が縮小するとACTH産生が低下し血中コーチゾールも低下しクローン病が

悪化することがわかっている症例である。胸腺腫瘍が増大したのでIL-12誘導の新免疫療法を強化したが胸腺腫瘍は増大した。そこでBCG経口療法を開始した。この間クローン病はやや改善傾向を示したものの、まだ活動期の下血が5~6回/日、腹痛も認められた。BCG投与後、胸腺腫瘍の増大は停止したが、それよりもクローン病の症状の著明な改善が認められた。NKT細胞の表面マーカーを検討したところ、NKT細胞のTcRの著明な改善が認められた。すなわちBCG投与前はV 24V 11が0.02%であったのに対しBCG投与後2ヶ月目で0.08%と4倍になりV 24V 11パーフォリン産生能もそれぞれ0.01%から0.05%と5倍に増強していた。このことは、BCG投与によりNKT細胞のTcRが活性化されたことによるものと推察された。

【0058】

【臨床例8】クローン病とACTH産生胸腺腫瘍の同症例において、BCG投与によりクローン病の病勢が改善したため、腫瘍治療を目的としてNKT細胞のNKR-P1活性が認められた1-3グルカン(ニゲロオリゴ糖)の投与を開始したところ、1日5回の下痢が起き、CRPは8.8mg/dlに上昇し、CD活動期となった。この時BCG投与中に7.2%であったCD3+CD161+は18.1%と上昇していた。CD3+CD161+パーフォリン+は3.4%から8.2%に上昇していた。この事実は1-3グルカン(ニゲロオリゴ糖)経口投与によりNKT細胞のCD161受容体が活性化したためにCDが悪化したものと考えられ、NKR-P1の活性化を制御することがCDの病勢に重要な影響を及ぼすことを見出した。

【0059】

【臨床例9】ステロイド抵抗性のUC疾患の患者3名に、BCG生ワクチン経口投与(週1回70mgをのべ4回、以後70mgを月1回、3ヶ月)し、BCG投与前と投与後の各サイトカインの測定値を比較した。結果は表7及び8。その結果、TcRのV 24V 11及びV 24V 11パーフォリンは明らかに増加傾向が確認されUC症状の改善が確認された。

【0060】

【臨床例10】ステロイド抵抗性のCD疾患の患者3名に、BCG生ワクチン経口投与(週1回70mgをのべ4回、以後70mgを月1回、3ヶ月)し、BCG投与前と投与後の各サイトカインの測定値を比較した。結果は表9及び10。その結果、TcRのV 24V 11及びV 24V 11パーフォリンは明らかに増加傾向が確認されCD症状の改善が確認された。

【0061】

【発明の効果】本発明では、難治性自己免疫疾患と人NKT細胞受容体の関係を証明したことから、難治性自己免疫疾患の検査において、NKR-P1及び/又はTcRを測定すればその病態の把握が可能となり、またNKR-P1を介した人NKT細胞の活性化阻害剤・拮抗剤、TcRを介した人NKT細胞の活性化剤、ひいては難治性自己免疫疾患治療・予防剤のスクリーニングを容易に可能とする。かくして本発

明は難治性自己免疫疾患治療における革命的な成果を達成したものである。 *【0063】

【表1】

【0062】以下に表を列記する。

	IFN γ (IU/ml)	IL-12 (pg/ml)	CD3+/CD 161+ %	CD3+/CD 161+/Perf orin+ %
全体	38.34118	32.58431	16.1	7.668571
ステロイド投与	19.525	7.825	17.55	5.525
ステロイド非投与	40.90952	37.37857	15.98095	7.873333

続き

	V α 24+/V β 11+ %	Perforin+/ ERF/CD3 % CD161	CD3CD1P 11PERF/ V α 24V β 11	V α 24V β CD3+CD1 61+/V α 24V β 11	CD3+CD1 61+) β +/ V α 24V β 11) β +
全体	0.039486	0.028	44.66358	77.66234	697.6663
ステロイド投与	0.05	0.0375	30.86439	78.125	463.4375
ステロイド非投与	0.039067	0.027333	45.74781	76.79847	702.1524

【0064】

標準偏差	IFN γ (IU/ml)	IL-12 (pg/ml)	CD3+/CD 161+ %	CD3+/CD 161+/Perf orin+ %
全体	38.95458	41.97656	5.509592	4.141382
ステロイド投与	23.08035	0.05	6.361604	2.917048
ステロイド非投与	36.59081	44.82566	5.272211	4.283322

続く

	V α 24+/V β 11+ %	Perforin+/ ERF/CD3 % CD161	CD3CD1P 11PERF/ V α 24V β 11	V α 24V β CD3+CD1 61+/V α 24V β 11	CD3+CD1 61+) β +/ V α 24V β 11) β +
全体	0.020461	0.01389	14.53383	21.97049	1168.05
ステロイド投与	0.024495	0.015	7.264439	17.13745	332.2796
ステロイド非投与	0.01958	0.013374	14.03533	22.80731	1248.345

【0065】

N	IFN γ (IU/ml)	IL-12 (pg/ml)	CD3+/CD 161+ %	CD3+/CD 161+/Perf orin+ %
全体	51	51	51	35
ステロイド投与	4	4	4	4
ステロイド非投与	42	42	42	30

続く

	V α 24+/V β 11+ %	Perforin+/ ERF/CD3 % CD161	CD3CD1P 11PERF/ V α 24V β 11	V α 24V β CD3+CD1 61+/V α 24V β 11	CD3+CD1 61+) β +/ V α 24V β 11) β +
全体	35	35	35	33	35
ステロイド投与	4	4	4	4	4
ステロイド非投与	30	30	30	28	30

【0066】

ステロイド抵抗性UCにBCGを投与した例(n=3) 【表7】

平均値±標準偏差	IFN γ (IU/ml)	IL-12 (pg/ml)	CD3+CD161+ (%)
BCG投与前	20.1 ± 8.8	12.9 ± 6.3	12.6 ± 8.1
BCG投与後	14.6 ± 12.5	10.4 ± 5.1	11.2 ± 7.5

続く

CD3+CD161+ N ⁺ フォリン+ (%)	Vα24+Vβ11+ (%)	Vα24+Vβ11+ N ⁺ フォリン+ (%)	CRP (mg/dl)
6.1 ± 3.2	0.027 ± 0.032	0.026 ± 0.030	4.4 ± 3.4
4.7 ± 2.9	0.051 ± 0.048	0.040 ± 0.018	1.8 ± 1.0

* * 【表 8】

【0067】

ステロイド抵抗性CDにBCGを投与した例(n=3) * * 【表 9】

平均値± 標準偏差	IFNγ (IU/ml)	IL-12 (pg/ml)	CD3+CD161+ (%)
BCG投与前	30.4 ± 22.9	15.8 ± 16.4	18.1 ± 6.9
BCG投与後	17.2 ± 11.6	12.9 ± 7.2	12.5 ± 5.5

* * 【表 9】

続く

CD3+CD161+ N ⁺ フォリン+ (%)	Vα24+Vβ11+ (%)	Vα24+Vβ11+ N ⁺ フォリン+ (%)	CRP (mg/dl)
8.5 ± 4.6	0.031 ± 0.023	0.029 ± 0.024	3.1 ± 2.2
5.7 ± 3.8	0.055 ± 0.037	0.043 ± 0.017	0.9 ± 0.5

* * 【表 10】

【0068】

【図面の簡単な説明】

【図 1】 CD患者のIFN 値を示す図である。

【図 2】 CD患者のIL-12値を示す図である。

【図 3】 CD患者のCD3×CD161値を示す図である。

【図 4】 CD患者のCD3×CD161×パーフォリン値を示す図である。

【図 5】 UC患者のIFN 値を示す図である。

【図 6】 UC患者のIL-12値を示す図である。

【図 7】 UC患者のCD3×CD161値を示す図である。

【図 8】 UC患者のCD3×CD161パーフォリン値を示す図である。

【図 9】 CD患者のV 24V 11値を示す図である。

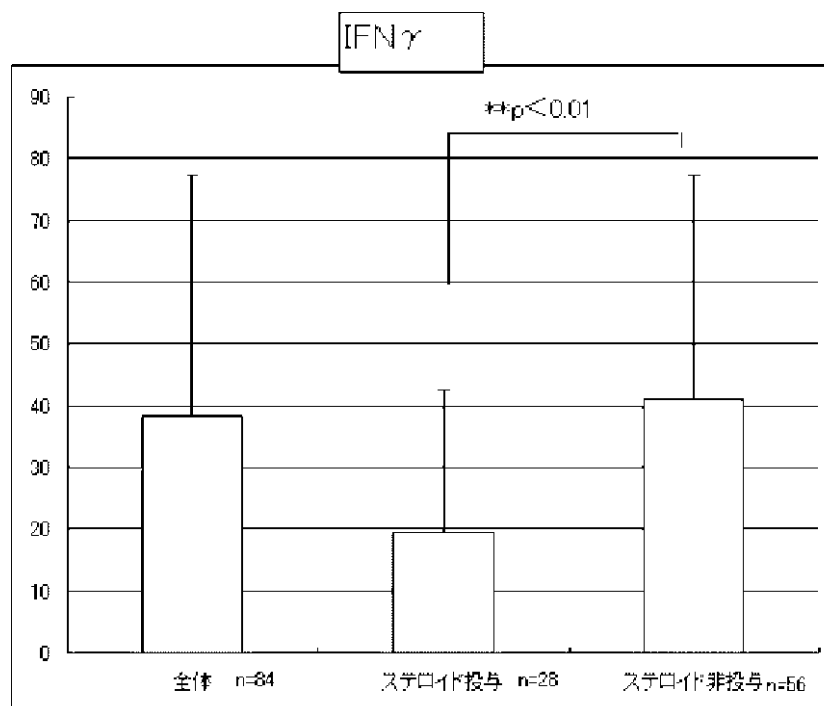
20 【図 1 0】 CD患者のV 24V 11パーフォリン値を示す図である。

【図 1 1】 IBDにおけるサイトカインの比較図である。

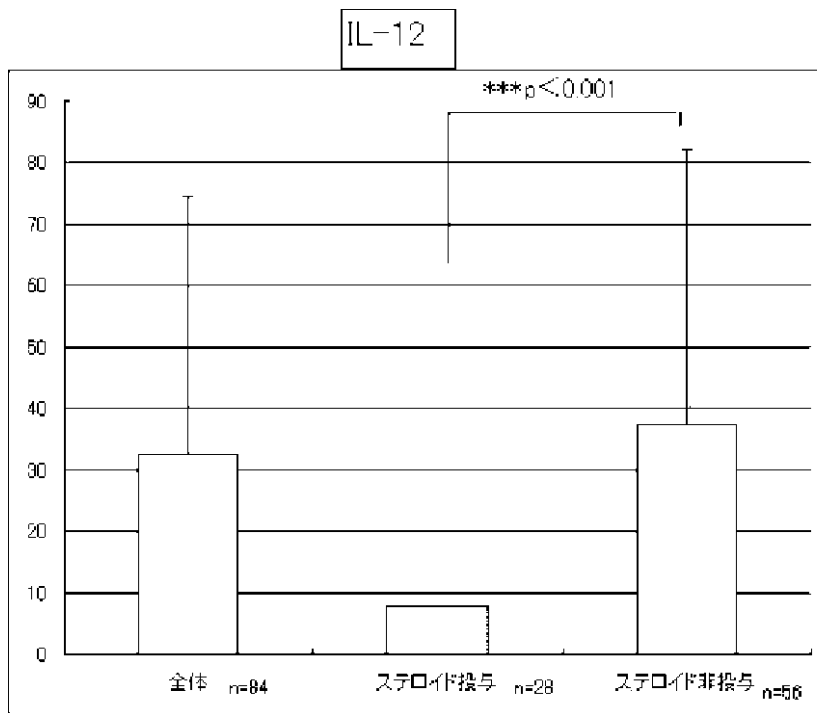
【図 1 2】 IBDにおけるCD3×CD161、CD3×CD161パーフォリンの比較図である。

【図 1 3】 IBDにおけるV 24V 11、V 24V 11パーフォリンの比較図である。

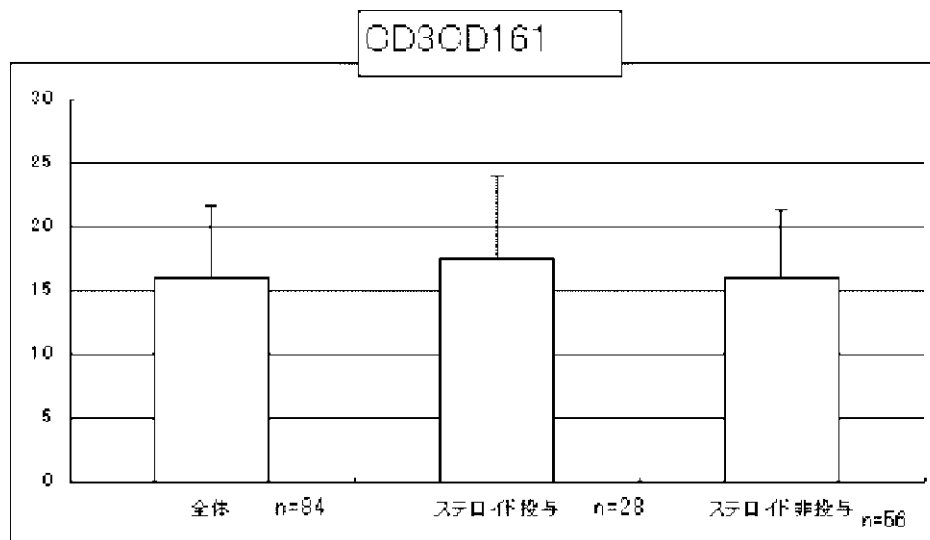
【図 1】



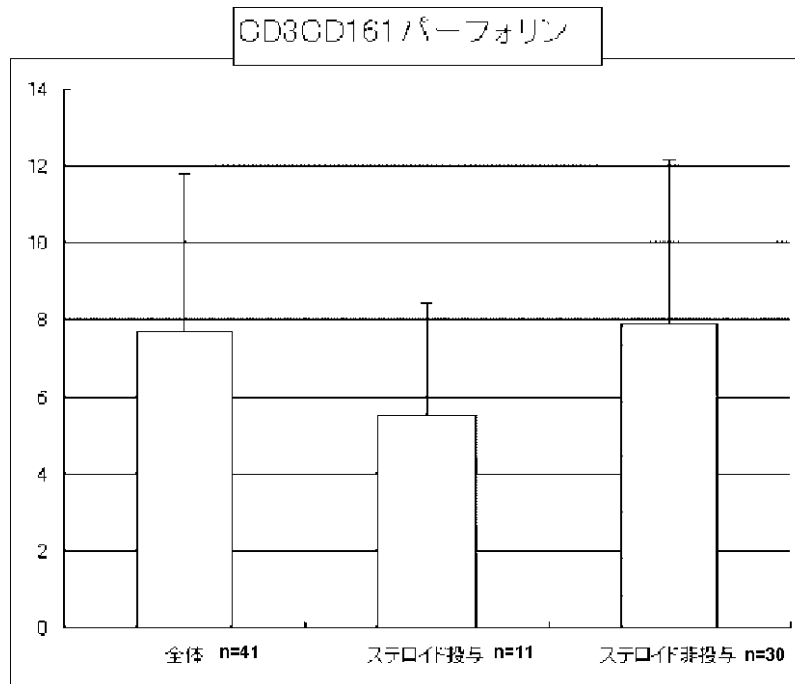
【図2】



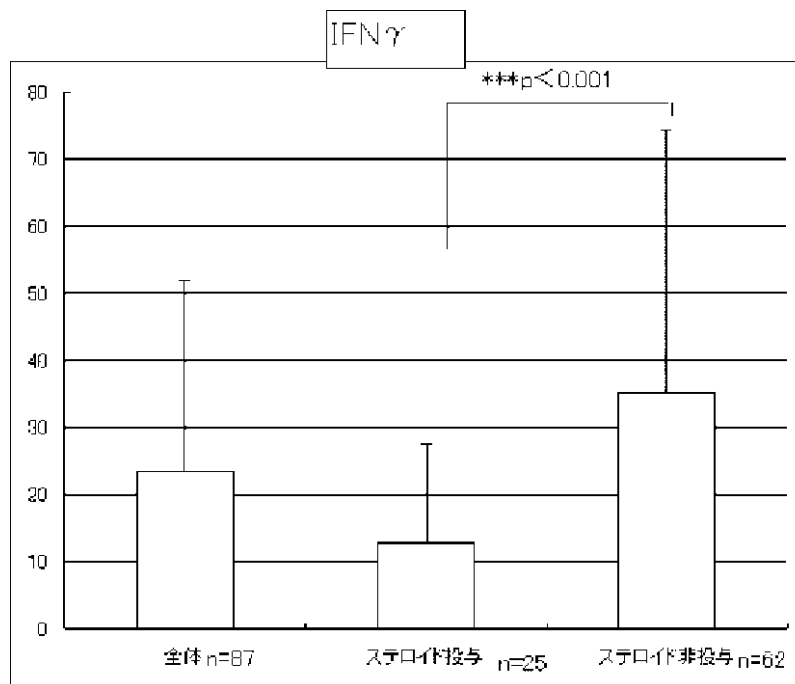
【図3】



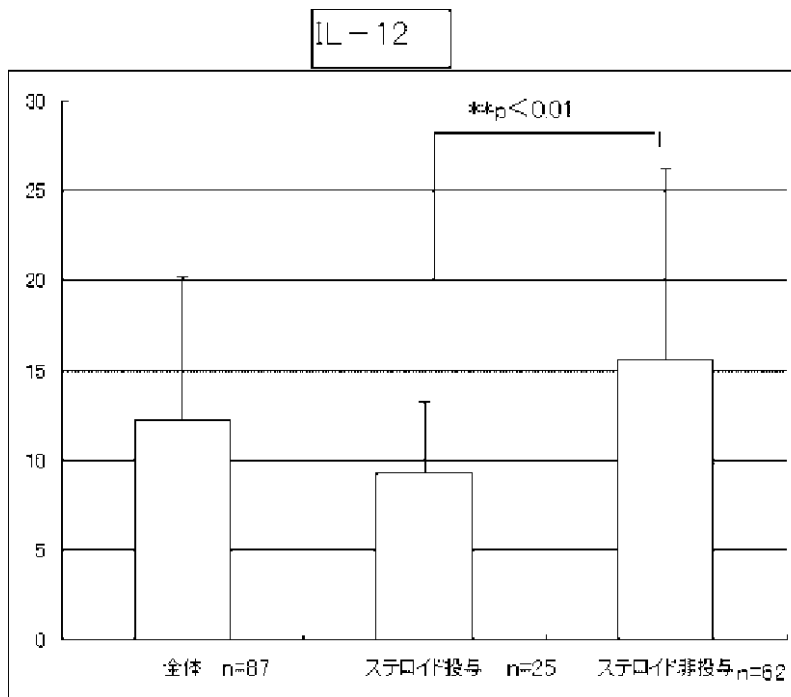
【図4】



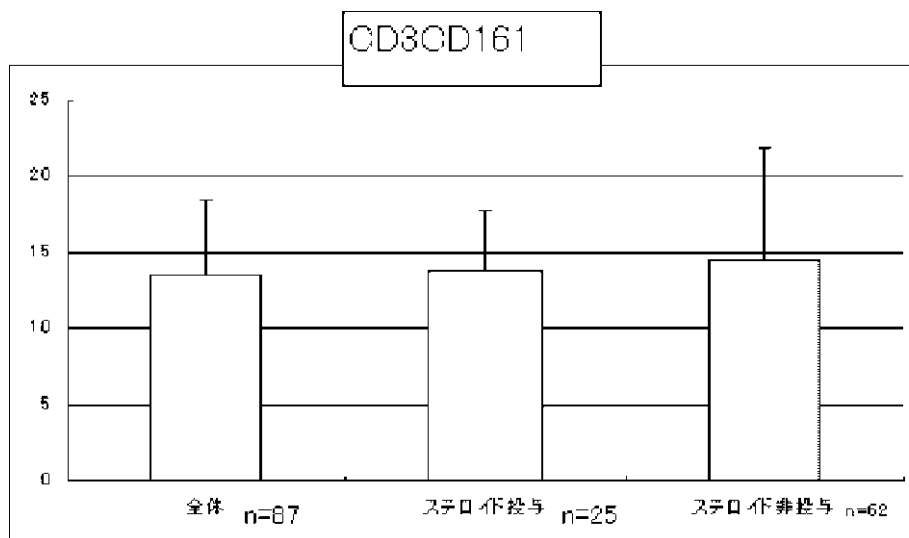
【図5】



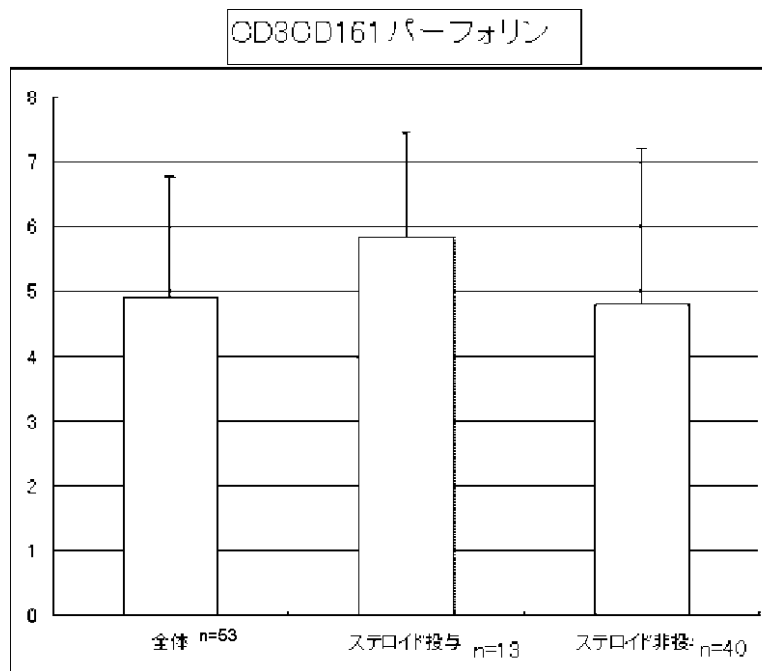
【図6】



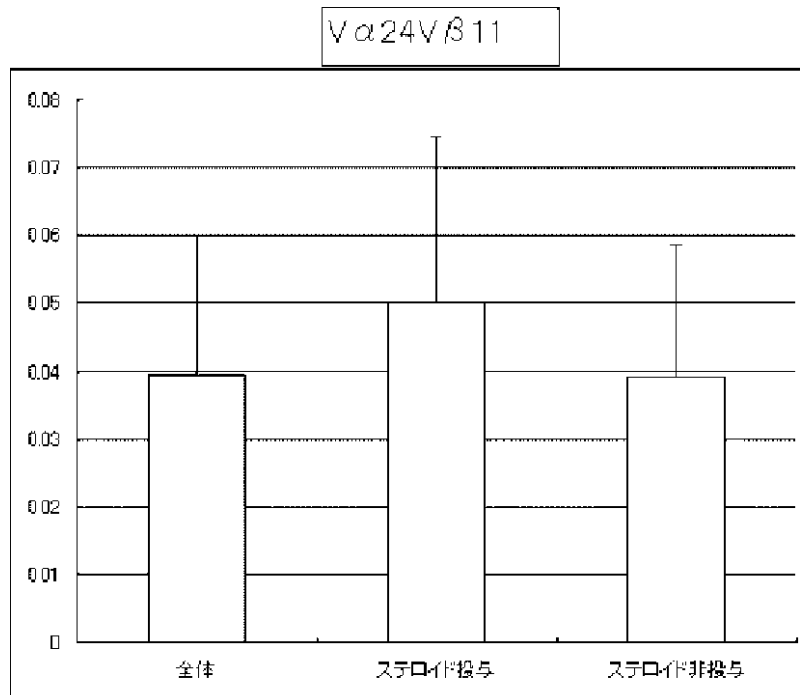
【図7】



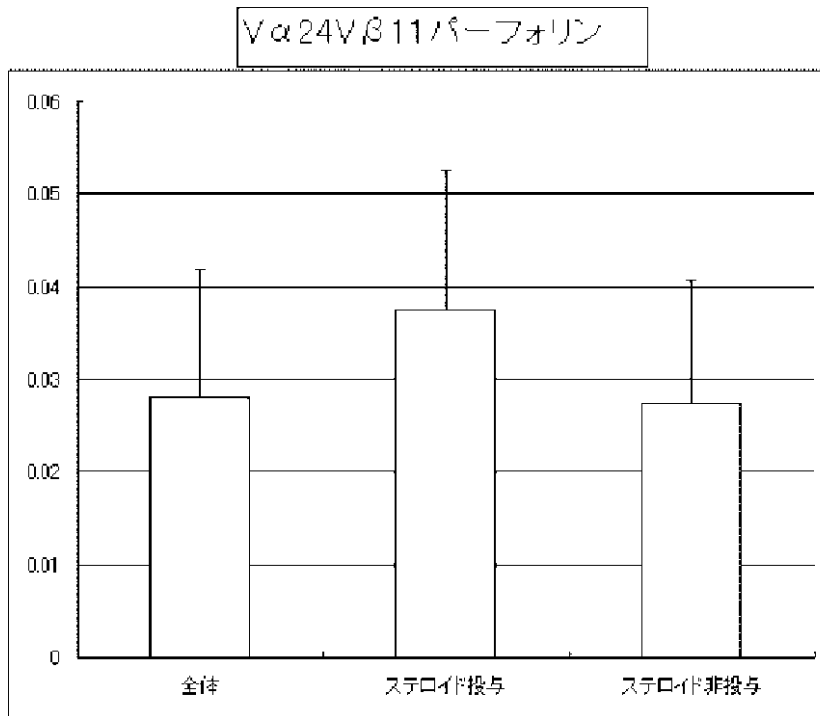
【図8】



【図9】

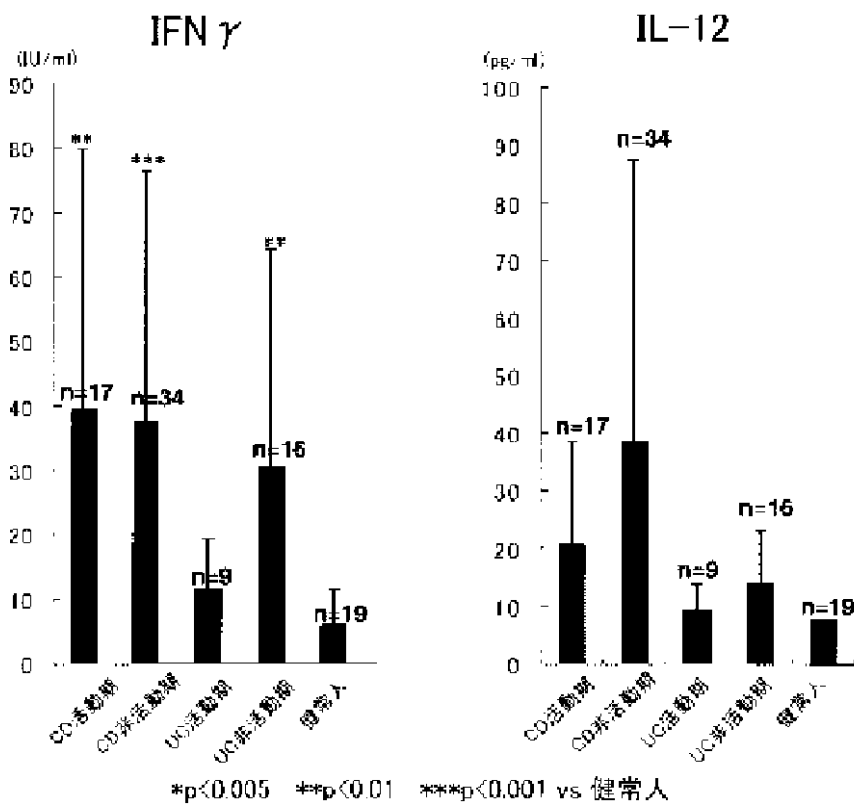


【図10】



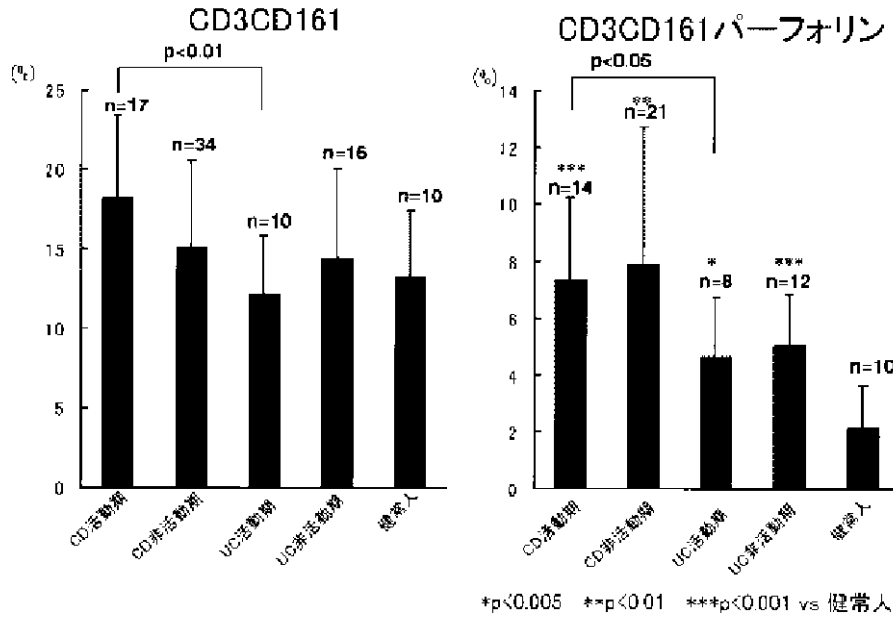
【図11】

IBDにおけるサイトカインの比較



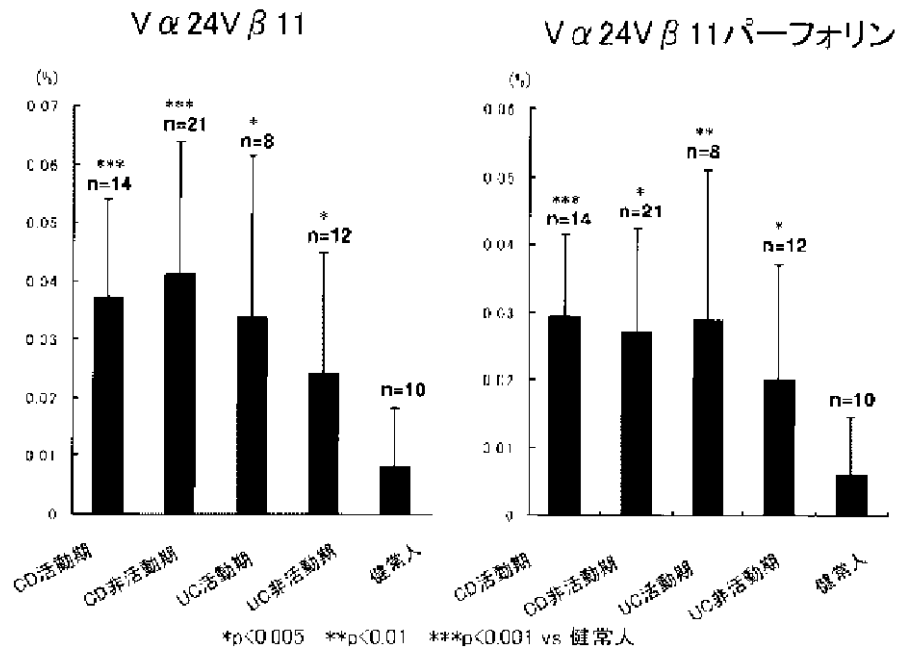
【図12】

IBDにおけるCD3CD161・CD3CD161パーフォリンの比較



【図13】

IBDにおけるVα24Vβ11・Vα24Vβ11パーフォリンの比較



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード(参考)
A 6 1 P 37/06		A 6 1 P 37/06	
G 0 1 N 33/15		G 0 1 N 33/15	Z
		33/50	Z
		33/53	V
// C 1 2 Q 1/02		C 1 2 Q 1/02	

专利名称(译)	难治性自己免疫疾患の測定方法		
公开(公告)号	JP2003028881A	公开(公告)日	2003-01-29
申请号	JP2001209897	申请日	2001-07-10
申请(专利权)人(译)	有限公司东方癌症治疗		
[标]发明人	八木田旭邦		
发明人	八木田 旭邦		
IPC分类号	G01N33/564 A61K45/00 A61P1/00 A61P1/04 A61P29/00 A61P37/06 C12Q1/02 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53		
FI分类号	G01N33/564.Z A61K45/00 A61P1/00 A61P1/04 A61P29/00 A61P37/06 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.V C12Q1/02		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BA13 2G045/CA18 2G045/CA25 2G045/DA36 2G045/FA37 2G045/FB03 2G045/FB07 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ79 4B063/QR48 4B063/QR77 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/DC50 4C084/NA14 4C084/ZA661 4C084/ZA681 4C084/ZB081		
代理人(译)	庄司隆		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：为类固醇，抗TNF和α抗体和化学耐药性炎症性肠病（IBD）和完整的自身免疫性疾病提供新的检查方法。解决方案：在携带免疫的活化NKT细胞相关的级联中，发现与NKT细胞活化相关的两种不同抗原受体的操作，即NKR-P1和V & α24V和β11，完全不同，然后它们是阳性的，同时它们与完整的自身免疫疾病相关。另外，发现CD3CD161，CD3CD161穿孔素或V & α24V和β11以及V & α24V和β11穿孔素作为标记物的检查作为完整性自身免疫疾病的测量手段是有效的。

	(10)	特開20	
	17	18	
	* *【表8】		
CD3+CD161+ n=7/7+ (%)	Vα24+Vβ11+ (%)	Vα24+Vβ11+ n=7/7+ (%)	CRP (mg/dl)
6.1 ± 3.2	0.027 ± 0.032	0.026 ± 0.030	4.4 ± 3.4
4.7 ± 2.9	0.051 ± 0.048	0.040 ± 0.018	1.8 ± 1.0