

(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2004-512371

(P2004-512371A)

(43) 公表日 平成16年4月22日(2004.4.22)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00 Z N A	4 B 0 2 4
A 0 1 K 67/027	A 0 1 K 67/027	4 B 0 6 3
A 6 1 K 31/7088	A 6 1 K 31/7088	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 39/395 D	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395 N	4 C 0 8 6
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 63 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-538960 (P2002-538960)	(71) 出願人	502156674 ウトウク ナラン
(86) (22) 出願日	平成13年10月29日 (2001.10.29)		ドイツ連邦共和国 ベルリン プファルツ
(85) 翻訳文提出日	平成15年4月25日 (2003.4.25)		バーガー シュトラッセ 8 1
(86) 国際出願番号	PCT/EP2001/012485	(74) 代理人	100095577
(87) 国際公開番号	W02002/036149		弁理士 小西 富雅
(87) 国際公開日	平成14年5月10日 (2002.5.10)	(74) 代理人	100100424
(31) 優先権主張番号	00123666.0		弁理士 中村 知公
(32) 優先日	平成12年10月30日 (2000.10.30)	(74) 代理人	100114362
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		弁理士 萩野 幹治
		(72) 発明者	ウトウク, ナラン
			ドイツ国 1 0 7 1 9 ベルリン パルズ
			バーガー ストラッセ 8 1
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 T I R C 7 リガンド結合の阻害剤を得るための方法およびその使用

(57) 【要約】

対象において、移植片対宿主病、自己免疫疾患、アレルギー疾患、感染症、敗血症の治療用の、腫瘍の治療用の、創傷治癒の改良用の、または免疫非応答性の誘導または維持用の、医薬組成物を調製するための、H L A (ヒト白血球関連抗原) クラス I I アルファ () 鎖のごときそのリガンドと T I R C 7 との相互作用に干渉する作用物質の使用が提供される。加えて、そのような作用物質を同定及び取得するための方法が記載される。さらに、T I R C 7 リガンドの存在または不存在を判定することによって免疫疾患または腫瘍を診断する方法が提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象における、移植片宿主病、自己免疫疾患、アレルギー疾患、感染症、敗血症の治療のための、腫瘍の治療のための、創傷治癒の改良のための、または免疫非応答性を誘導または維持するための医薬組成物を調製するための、T I R C 7 とそのリガンドとの相互作用に干渉する阻害剤の使用。

【請求項 2】

前記リガンドは H L A (ヒト白血球関連抗原) クラス I I アルファ () 鎖である請求項 1 記載の使用。

【請求項 3】

前記阻害剤が：

(a) 配列番号：2 に示されたアミノ酸配列を含む (ポリ) ペプチドまたは (a) その断片に結合するおよび / またはそれに干渉する作用物質；

(b) 配列番号：1 に示されたヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドによってコードされた (ポリ) ペプチドまたは (a) その断片に結合する作用物質；及び

(c) (a) または (b) で定義された (ポリ) ペプチドまたはその断片の誘導体のアナログ；

よりなる群から選択される請求項 2 記載の使用。

【請求項 4】

前記阻害剤が、請求項 2 または 3 で定義された (ポリ) ペプチドに特異的に結合するアダプター、または抗体である請求項 1 ないし 3 のいずれかに記載の使用。

【請求項 5】

対象において、移植片宿主病、自己免疫疾患、アレルギー疾患、感染症、敗血症の治療のための、腫瘍の治療のための、創傷治癒の改良のための、または免疫非応答性を誘導または維持するための医薬組成物を調製するための、請求項 1 ないし 4 のいずれかに記載の阻害剤をコードする核酸分子の使用。

【請求項 6】

前記核酸分子がベクターに組み込まれる請求項 5 記載の使用。

【請求項 7】

(a) (ポリ) ペプチドまたは物質の集合に対して、T I R C 7 および H L A クラス I I 鎖 (ポリ) ペプチドまたはその断片の間の相互作用を阻害するその能力を、適当な読み出しシステムを用いてテストする工程；及び

(b) 工程 (a) における T I R C 7 とそのリガンドとの相互作用の阻害につきそのテストが陽性である (ポリ) ペプチドまたは物質を同定する工程；

を含む、T I R C 7 およびそのリガンドの間の相互作用に干渉できる作用物質を同定し及び取得するための方法。

【請求項 8】

前記 H L A クラス I I 鎖 (ポリ) ペプチドまたはその断片が、配列番号 2 に由来する、または配列番号 1 によってコードされるアミノ酸配列を含む請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】

さらに、(c) 同定された (ポリ) ペプチドまたは物質につき工程 (a) および (b) を 1 回以上反復する工程であって、新たに同定された (ポリ) ペプチドまたは物質が、さらなる相互作用 (ポリ) ペプチドまたは物質の同定のためのおとりとして、先に同定された (ポリ) ペプチドまたは物質を置き換える工程を含む、請求項 7 または 8 記載の方法。

【請求項 10】

(a) (ポリ) ペプチド集団を、H L A クラス I I 鎖 (ポリ) ペプチドまたはその断片と、または請求項 7 ないし 9 のいずれかに記載の方法によって得ることができる (ポリ) ペプチドまたは物質と、該 (ポリ) ペプチドの結合を可能とする適当な条件下で接触させる工程；

(b) (a) で定義された前記 (ポリ) ペプチドまたはその断片に結合しなかった (ポリ

10

20

30

40

50

) ペプチドを前記 (ポリ) ペプチド集団から除去する工程 ; 及び
(c) (a) で定義された前記 (ポリ) ペプチドまたはその断片に結合する (ポリ) ペプチドを同定する工程 ;
を含む、対象において免疫応答の調節に關与する (ポリ) ペプチドを同定し及び取得する方法。

【請求項 11】

(a) TIRCI7 およびHLAクラスII 鎖を含むダイマーまたはスクリーニングされるべき化合物とのそれらの対応する相互作用結合ドメインによって、その転写が直接的または間接的に活性化されるレポーター遺伝子を含む宿主細胞をスクリーニングする工程 ; 及び

10

(b) レポーター遺伝子の活性化を抑制する化合物を選択する工程 ;
を含む、免疫疾患の治療のための作用物質を同定し及び取得する方法。

【請求項 12】

前記宿主細胞が、転写活性化またはDNA結合ドメインに作動可能に連結した少なくともHLAクラスII 鎖またはその断片をコードするDNA分子を含有する、少なくとも1つの発現ベクターを含む請求項11記載の方法。

【請求項 13】

請求項1ないし4のいずれかで定義された阻害剤、または請求項7ないし10、11または12のいずれかに記載の方法によって同定された作用物質、または請求項10記載の方法によって同定された(ポリ)ペプチドを精製する方法であって、

20

(a) 前記作用物質または(ポリ)ペプチドを、ペプチドミメティックスによってモデル化する工程 ; 及び

(b) モデル化された化合物を化学的に合成する工程 ;
を含む方法。

【請求項 14】

請求項1ないし4のいずれかで定義された阻害剤、または請求項7ないし9、11または12のいずれかに記載の方法によって同定された作用物質、または請求項10記載の方法によって同定された(ポリ)ペプチド、または請求項13記載の方法によって精製された作用物質またはポリ(ペプチド)、および、必要に応じて、医薬上許容される担体および/または希釈剤を配合することをを含む、組成物の製造方法。

30

【請求項 15】

請求項7ないし13のいずれかに記載の方法における前記工程、および前記作用物質または(ポリ)ペプチド、および、必要に応じて、医薬上許容される担体および/または希釈剤を配合するさらなる工程を含む、組成物の製造方法。

【請求項 16】

前記組成物が医薬組成物である請求項14または15記載の方法。

【請求項 17】

対象における、移植片宿主病、自己免疫疾患、アレルギー疾患、感染症、敗血症の治療のための、腫瘍の治療のための、創傷治癒の改良のための、または免疫非応答性を誘導または維持するための医薬組成物を調製するための、請求項7ないし9、11または12のいずれかに記載の方法によって同定された作用物質、または請求項10記載の方法によって同定されたポリ(ペプチド)、または請求項13記載の方法によって精製された作用物質または(ポリ)ペプチドの使用。

40

【請求項 18】

請求項5で定義された核酸分子のヌクレオチド配列を含む核酸分子配列によってコードされた遺伝子産物を過剰発現する非ヒト・トランスジェニック動物。

【請求項 19】

請求項5で定義された核酸分子またはそのホモログ、パラログまたはオルソログがサイレントであるか、および/または突然変異している非ヒト・トランスジェニック動物。

【請求項 20】

50

免疫疾患または腫瘍の治療用医薬物の同定のための、HLAクラスII鎖または断片または誘導体の使用。

【請求項21】

請求項7ないし9または11ないし13いずれか1記載の方法によって得られた作用物質の有効量を対象に投与することを含む、免疫疾患または腫瘍を治療する方法。

【請求項22】

(a) HLAクラスII鎖をコードするポリヌクレオチドにおける突然変異の存在または不存在を決定すること；及び

(b) 前記突然変異の存在または不存在に基づいて、病的状態、または病的状態に関する罹患性を診断すること；

を含む、TIRC7活性によって媒介される、またはそれに対して応答する障害に関連する対象における病的状態、または病的状態に対する罹患性を診断する方法。

【請求項23】

(a) 生物学的試料中でのHLAクラスII鎖ポリペプチドの発現の存在または量を測定し、次いで、

(b) ポリペプチドの存在または発現量に基づいて、病的状態、または病的状態に対する罹患性を診断すること；

を含む、TIRC7の活性に媒介される、またはそれに対して応答する障害に関する対象において病的状態、または病的状態に対する罹患性を診断する方法。

【請求項24】

請求項22または23記載の方法に有用なキットであって、HLAクラスII鎖ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片と、HLAクラスII鎖をコードする核酸分子またはHLAクラスII鎖遺伝子にハイブリダイズする長さが少なくとも15ヌクレオチドの核酸分子または抗-HLAクラスII鎖抗体と、および、必要に応じて、検出するための適当な手段と、を含むキット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、対象における、移植片宿主病、自己免疫疾患、アレルギー疾患、感染症、敗血症の治療のための、腫瘍の治療のための、創傷治癒の改良のための、または免疫非応答性を誘導または維持するための医薬組成物を調製するための、TIRC7とそのリガンドとの相互作用に干渉する阻害剤の使用に関する。加えて、本発明は、免疫疾患の緩和、治療および予防用の医薬組成物の調製のための、該阻害剤をコードする核酸分子または該核酸分子を含むベクターの使用に関する。加えて、本発明は、TIRC7およびそのリガンドの間の相互作用に干渉することができる作用物質を同定する方法、および/または対象において免疫応答の調節に関与する(ポリ)ペプチドを同定する方法を提供する。さらなる実施態様において、本発明は、ここに定義され、または本発明の方法によって同定される阻害剤、作用物質または(ポリ)ペプチドを精製する方法に関する。さらに、本発明は、本明細書中に開示する方法によって同定および/または精製される作用物質、(ポリ)ペプチドを含む医薬組成物の調製に関する。さらなる実施態様において、本発明は、医薬組成物を調製するための、本明細書中に開示する方法によって同定および/または精製される阻害剤、作用物質または(ポリ)ペプチドの使用に関する。

【0002】

本明細書のテキストを通じていくつかの書類が引用される。(いずれかの製造業者の仕様書、指示書等を含む)本明細書中で引用する書類の各々を、ここに引用によって援用する。しかしながら、引用されたいずれの書類も、事実、本発明に関する先行技術であることを認容するものではない。

【0003】

T細胞の活性化が多数のシグナル経路および遺伝子発現の連続的变化を含む一連のプロセスであり、その結果、T細胞は識別される亜集団、すなわち、Th1およびTh2に分化し、これらは、サイトカイン産生のそのパターンによって識別でき、細胞免疫応答の態様

10

20

30

40

50

を特徴付ける。T細胞の応答は、抗原提示細胞（APC）の表面の主要組織適合性複合体（MHC）分子によって提示されたペプチドと抗原特異的T細胞受容体（TCR）との相互作用によって開始される。さらなるシグナルが、集合的に、共刺激シグナル（Perez, *Immunity* 6 (1997年), 411)と呼ばれるCD28/CTLA4およびB7、CD40/CD40L、LFA-1およびICAM-1 (Lenschow, *Science* 257 (1992年), 789-792; Linsley, *Annu. Rev. Immunol.* 11 (1993年), 191-212; Xu, *Immunity* 1 (1994年), 423-431; Bachmann, *Immunity* 7 (1997年), 549-557; Schwartz, *Cell* 71 (1992年), 1065-1068)のごとき多数の膜タンパク質によって媒介される受容体リガンドの相互作用のネットワークによって供給される。これらの膜タンパク質は区別される方法でT細胞の活性化を変化させ得 (Bachmann, *Immunity* 7 (1997年), 549-557)、これらの分子によって供給される陽性および陰性シグナルの統合によって免疫応答を調節する (Bluestone, *Immunity* 2 (1995年), 555-559; Perez, *Immunity* 6 (1997年), 411)。細胞の免疫応答を調節するのに効果的な作用物質の多くはT細胞受容体と干渉し (Cosimi, *Transplantation* 32 (1981年), 535-539)、共刺激シグナリングをブロックし (Larsen, *Nature* 381 (1996年), 434-438; Blazar J. *Immuno.* 157 (1996年), 3250-3259; Kirk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94 (1997年), 8789-8794; Linsley, *Science* 257 (1992年), 792-95; Turka, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (1992年), 11102-11105)、またはこれらの初期細胞膜トリガーから下流の細胞内活性化シグナルを阻害する (Schreiber and Crabtree, *Immunology Today* 13 (1992年), 136-42)のいずれかである。器官移植または自己免疫疾患におけるT細胞活性化の治療的予防は、現在、下流の細胞内事象に干渉する汎免疫抑制薬物に頼っている。免疫応答の特異的調節は、免疫学的研究における長年の目標のままである。

10

20

30

【0004】

ヒト身体の免疫応答に関係する疾患のための治療手段の必要性に鑑み、本発明の技術的課題は、対象における免疫非応答性のごとき免疫応答の調節のための手段および方法を提供することにある。当該技術的に対する解決は、請求項で特徴付けられる実施態様を提供することによって達成される。

【0005】

従って、1つの態様において、本発明は、対象における、移植片宿主病、自己免疫疾患、アレルギー疾患、感染症、敗血症の治療のための、腫瘍の治療のための、創傷治癒の改良のための、または免疫非応答性を誘導または維持するための医薬組成物を調製するための、TIRC7とそのリガンドとの相互作用に干渉する阻害剤の使用に関する。

【0006】

本発明に関して使用される用語「TIRC7」は、T細胞の活性化および/または増殖のシグナル変換に関与し、好ましくは、可溶性型において、混合リンパ球培養においてアロ活性化に应答して、または外因的に前記培養に添加された場合にマイトジェンに应答して、T細胞増殖を阻害または抑制することができるタンパク質を示す。In vitroで翻訳されたTIRC7タンパク質は、混合リンパ球培養においてアロ活性化に应答して、またはマイトジェンに应答して、T細胞の増殖を用量依存的に効果的に抑制することができる。TIRC7は当業者に知られており、とりわけ、WO99/11782およびUtкура、*Immunity* 9 (1998年), 509-518に記載されている。

40

【0007】

用語「TIRC7とそのリガンドとの相互作用に干渉する阻害剤」とは、本発明において

50

は、T I R C 7とその対応するリガンドとの相互作用を阻害および/または調節できる作用物質を意味する。T I R C 7とそのリガンドとの相互作用は免疫応答の過程で重要な事象を調節するので、そのような阻害剤は免疫応答を調節することもできるはずである。本発明では、前記阻害剤は、好ましくは、例えば、リガンドに特異的に結合することによってT I R C 7 - リガンドと相互作用する。「特異的に結合する」とは「特異的に相互作用する」を意味し、それにより、該相互作用は、とりわけ、共有結合的、非共有結合的および/または疎水性であり得る。そのような阻害剤は本明細書中にて後に定義されるか、本明細書中に記載する方法によって得ることができる。潜在的阻害剤は、該リガンド上の関連する部位に結合し、それに干渉しおよび/またはそれを占める小分子を含む。小さな分子の例は小さなペプチドまたはペプチド様分子を含む。

10

【0008】

用語「免疫非応答性」は、T細胞またはB細胞、NK細胞、単球および/またはマクロファージのような免疫細胞サブセットの非応答性を含む。免疫非応答性は、自己免疫疾患を有する対象においてT I R C 7に結合する各リガンドタンパク質の刺激をブロックして、自己免疫疾患の徴候を緩和することによって維持することができる。これらの場合、T I R C 7またはそのリガンド阻害剤を、免疫非応答性を維持するのに十分な量および期間にて対象に投与される。別法として、免疫非応答性を反転させて、腫瘍を有する対象において腫瘍特異的免疫応答を刺激したり、ワクチンを接種された対象においてワクチンの効率を増強させたりすることができる。例えば、細胞（例えば、腫瘍細胞）を修飾してT I R C 7リガンドを発現させることができ、あるいは腫瘍を有する対象、または腫瘍の再発を防ぐために外科的に腫瘍が取り除かれた対象にT I R C 7刺激剤を投与することができる。加えて、抗原特異的応答性は、T I R C 7またはそのリガンドを通じて免疫細胞を刺激することによって、In vitroにてアネルギー化免疫細胞に復帰させることができる。In vitroで生じた応答性細胞は、次いで、対象に投与することができる。

20

【0009】

用語「治療」、「治療する」などは、本明細書中においては、一般に、所望の薬理学的および/または生理学的効果を得ることを意味するように用いられる。該効果は、その疾病または徴候を完全にまたは部分的に防止する点で予防的であり得るかおよび/または疾病および/または該疾病に帰せられる悪影響を部分的または完全に治癒する点で治療的であり得る。本明細書中で用いる用語「治療」は、哺乳動物、特にヒトにおける病気のいずれの治療も網羅し、(a)当該疾病に対する素因があり得るが、未だそれを有すると診断されていない対象において発病するのを妨ぐこと；(b)疾病を阻害すること、すなわち、その進行を阻止すること/または(c)疾病を緩和すること、すなわち、疾病の退行を引き起こすことを含む。

30

【0010】

さらに、本明細書中で使用される用語「対象」は、本明細書中に開示する免疫学的疾病の軽減、治療および/または予防が必要な動物に関する。最も好ましくは、該対象はヒトである。

【0011】

好ましい実施態様において、前記リガンドは、H L A - D R 鎖とも言われるH L A (ヒト白血球関連抗原)クラスI I アルファ() 鎖である。これらの用語は交換可能に使用される。

40

【0012】

H L A クラスI I は2つの膜貫通糖タンパク質、アルファおよびベータ鎖のヘテロダイマーである。そのアミノ末端が外方向で、両鎖は、1回の細胞膜貫通を形成する疎水性酸配列によって短い細胞質テールに連結した、各々90 - 100アミノ酸の2つの細胞外ドメインを含む。アルファ鎖において、膜遠位ドメインはアルファ1として知られており、膜近位ドメインはアルファ2として知られている。同様に、ベータ鎖においては、膜遠位ドメインはベータ1として知られており、膜近位ドメインはベータ2として知られている。両膜近位ドメインは、C1タイプの免疫グロブリンドメインに特徴的な構造を保有する。

50

アルファ1およびベータ1ドメインは多型であって、T細胞活性化の間にペプチド(12-24量体)のT細胞受容体への提示で占有される。部位特異的突然変異体を用いた研究によってHLAクラスII分子の膜近位ベータ2ドメインに結合するCD4の部位がマップされた。

【0013】

ある種のHLAクラスII分子の発現およびそれらの多型は、インスリン依存性糖尿病、グットバズール症候群、尋常性天疱瘡、全身性エリタマトーデス、多発性硬化症、グラブ病、慢性関節リウマチおよび重症筋無力症のごとき多数の病気に強く関連する。HLA多型に関連する病気の多くは能動感染を伴わず、それらの徴候は炎症および/または自己免疫の慢性状態によって引き起こされる。糖尿病の場合、提唱されている1つの一般的メカニズムは、微生物抗原の提示によってT細胞が活性化され、引き続き、それに対し活性化前に寛容性であった自己ペプチドと交差反応することである。かくして、コキサッキーウイルス感染は糖尿病と関連付けられており、腸の種々の細菌感染はHLAクラスII関連病と関連付けられてきた。

10

【0014】

感染症においては、HLA多型の効果については比較的あまり知られていない。AIDS患者のコホートについての研究から、病気のより速い進行のごときHLA効果が認められる(Rogerら、Faseb, 12, 1998, p. 625-32, Marsh, ParhamおよびBarber, "The HLA-FACS-Book", Academic Press (2000年), 37-97)。病状の進行に伴い、ヒトの応答は、リンパ球が接触される健康な細胞および組織の正常な成分に対して寛容になる。特に重要なものの内には、個人の免疫系は、その同一個人の細胞の表面に発現された自己HLAクラスIおよびIIアロタイプに対して寛容性を生じることである。対照的に、個人の免疫系は、器官移植の後のごとき他のヒトによって発現された非自己HLAアロタイプの数百に対しては寛容とならない。従って、一旦個人が移植を受け、もし受容者およびドナーが細胞表面で発現されたそれらのHLA抗原型が適合しなければ移植された器官に対する超急性または急性拒絶が起きる確率が高い。

20

【0015】

本発明においては、驚くべきことに、添付の実施例に示すごとく、HLAクラスII鎖がTIRC7と相互作用できることが見出された。従って理論に拘束されるつもりはないが、TIRC7 HLAクラスII鎖との間の該結合/相互作用への干渉は、対応する受容体/リガンド相互作用による細胞応答の修飾をもたらす。該修飾は、阻害性ならびに刺激性細胞応答を含むが、それらに限定されない。しかしながら、好ましくは、分子の作用メカニズムの背後にある理論にかかわらず、本発明による使用のための阻害剤は、(1) TIRC7またはそのリガンドに相互作用/結合する、および(2) WO99/11782およびUtkuraら、Immunity 9(1998年), 509-518に記載されているごとき、アッセイにおいてマイトジェン刺激PBMCの増殖を阻害することができることによって特徴付けることができる。好ましくは、前記阻害剤は、例えば、それと該リガンドが相互作用するTIRC7の部位を占めることによって、該阻害剤が、該リガンドがTIRC7と相互作用するのを妨げるように、該阻害剤はTIRC7の該リガンドに、またはTIRC7に相互作用/結合する。前記したごとき、好ましくは、該リガンドはHLAクラスII鎖である。ヒトMHCクラスII HLA-DR-アルファ鎖のヌクレオチドおよびアミノ酸配列は当業者に知られており、公のデータベース、例えば、Genbank登録番号V00523およびM60334から入手することができる。本発明によって同定されたHLAクラスII鎖/ヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、各々、配列番号: 1および配列番号: 2に示される。

30

40

【0016】

従って、本発明の好ましい実施態様において、前記阻害剤は:

(a) 配列番号: 2に示されるアミノ酸配列を含む(ポリ)ペプチドまたは(a)その断片に結合するおよび/またはそれに干渉する作用物質、

50

(b) 配列番号：1に示されるヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドによってコードされる(ポリ)ペプチドまたは(a)その断片に結合する作用物質、および
(c)(a)または(b)に定義される(ポリ)ペプチドまたはその断片の誘導体のアナログ；
よりなる群から選択される。

【0017】

クラスII主要組織適合性抗原(MHC)は2つの非共有結合したポリペプチド鎖よりなる。内部ジスルフィド結合を含み、それらのアミノ酸配列によって判断されるベータ2、アルファ2鎖はイムノグロブリンスーパーファミリーに属し、アルファ1、ベータ1鎖はMHCクラスII分子のペプチド結合ドメインである。異なる細胞種でのMHC分子の発現は、これらの細胞の表面に存在する外来性抗原とTリンパ球が相互作用できるか否かを決定する。MHCクラスII分子はほとんどの免疫および非免疫ヒト細胞で発現される。MHC遺伝子産物の発現は、細胞型特異的因子によって、およびIFN- γ のようなサイトカインのような炎症性および免疫性刺激因子によって転写レベルで大いに調節される。マクロファージのごときいくつかの細胞は、サイトカイン、特にIFN- γ によってクラスII分子を発現するように誘導することができ、他方、他の細胞およびBリンパ球はクラスII分子を構成的に発現する。抗原によるCD4ヘルパーT細胞の活性化は、Tリンパ球以外の細胞の関与を必要とする；これらの細胞は、しばしば、これらの表面でMHCクラスII分子を発現するアクセサリ細胞と呼ばれる。リンパ球活性化におけるアクセサリ細胞の必須の役割は2つの方法に従う：まず、アクセサリ細胞は抗原提示細胞(APC)であり、それらはタンパク質抗原をペプチドに変換し、それらはCD4⁺T細胞によって認識できるような形態でペプチド-MHC複合体を提示する。APCによるネイティブタンパク質のMHC関連ペプチド断片への変換は抗原プロセッシングと呼ばれる。アクセサリ細胞の第2の機能は、T細胞抗原受容体に結合するペプチド-MHC複合体によって開始されたものを超え、刺激をT細胞に与えることである。共刺激体活性と呼ばれるこれらの刺激は、アクセサリ細胞の膜結合または分泌産物によってもたらされるT細胞の十分な生理学的活性化に必要である。

【0018】

免疫応答は、APC上のMHCクラスIまたはII分子による抗原のT細胞への成功した提示に強く依存する。CD4細胞への不十分な抗原提示の場合、免疫応答は生じない。その代わりに、非応答または無視が起こるのであろう。これは、感染症ならびに創傷治癒および敗血症などにおいて必要な、外来性粒子を破壊する免疫系の能力のかなりの低下に至るのであろう。Utamura, *Immunity* 9(1998年)、509-518によって示されているごとく、特異抗体によるTIRC7のターゲティングは免疫応答を阻害し、IFN- γ のごときTH-1タイプのリンパ球サイトカインの発現を低下させる。

【0019】

本発明においては、驚くべきことに、配列番号：2に示したポリペプチドがTIRC7と相互作用できるタンパク質であることが見出され、そのcDNAがTIRC7ポリペプチドに対するヒトリンパ球から酵母ツーハイブリッドライブラリーをスクリーニングすることによって単離された。た。前記したごとく配列番号：2、および配列番号；1に示されたそれをコードするヌクレオチド配列はHLA-DR鎖に関する。HLA-DRは、添付の実施例に示されたごとくTIRC7に結合し/それと相互作用する。従って、理論に拘束されることなく、該結合/相互作用は、対応する受容体/リガンド相互作用に対する細胞応答の修飾に至ると考えられる。該修飾は、限定されるものではないが、阻害性ならびに刺激性細胞応答を含む。

【0020】

本明細書中で用いられる用語「作用物質(原語：agent)」は、(ポリ)ペプチド、無機および/または有機物質ならびに合成的に合成された分子のような分子に関する。例えば、前記「作用物質」はペプチド、無機および/または有機物質のような「小さな分子」、またはD-アミノ酸を含むペプチド-アナログのようなペプチド-様分子を含むことが

10

20

30

40

50

できる。前記「作用物質」は、特異的（オリゴ）ヌクレオチド、P N A S および / またはアプタマーのような核酸分子を含むこともできる。本発明では、本明細書中で用いられる用語「作用物質」は、単一の物質、または同一であってもなくてもよい複数の物質であり得る物質も含む。前記作用物質 / 化合物は、例えば、植物、動物または微生物からの全ての抽出物質中に含まれ得る。

【0021】

配列番号：2 に記載された前記ポリペプチドは、添付の実施例で説明するごとく c D N A - クローン「c D N A - スクリーン7」に由来する。本発明においては、H L A I I - D R に対応する前記ポリペプチドは、配列番号：2 に記載された正確なアミノ酸配列のみならず、該アミノ酸配列に対して相同性を示し、本明細書中に開示するごとく H L A I I - D R 分子（「c D N A - スクリーン7」遺伝子産物）として機能することができるアミノ酸配列を含むポリペプチドも含む。これらの相同アミノ酸配列は、とりわけ、H L A I I - D A の「バリエント（変異体）」を含むことができる。用語「バリエント」は、限定されるものではないが、対立遺伝子バリエント、スプライスバリエント、合成により生産されたバリエントまたは遺伝子工学により作製されたバリエントを含む。これらのバリエントはポリヌクレオチドおよび / またはポリペプチドレベルいずれかで異なってもよい。あるいは、天然に生じないバリエントは前記特定の作用物質の結合パートナーとしても構成される。これらの天然に生じないバリエントは、とりわけ、突然変異誘発技術によって、または直接合成によって生産される。従って、前記定義のポリペプチドに結合しおよび / またはそれと干渉する作用物質は、そのようなバリエントと相互作用し、それに結合しおよび / またはそれに干渉することができる作用物質をもいう。従って、本明細書中で用いられる用語「断片」は、前記 H L A I I - D R - 分子に由来し、前記作用物質に結合しおよび / またはそれと相互作用することができるペプチドおよびポリペプチドをいう。

10

20

【0022】

本明細書中で用いられる用語、ポリペプチドまたはその断片の「アナログまたは誘導体」は、H L A I I - D R および T I R C 7 の相互作用を特異的に阻害することができる前記分子の前記定義バリエントとは対照的に配列番号：2 に示されるアミノ酸配列および / または H L A I I - D R のアナログまたは誘導体を意味する。従って、これらのアナログ / 誘導体は、とりわけ、通常は H L A I I - D R - T I R C 7 相互作用によって媒介される生理学的および / または細胞応答を誘導することができない化学的および / または遺伝子学的に修飾された H L A I I - D R - 分子を含む。本発明においては、これらのアナログおよび / または誘導体は、前記 H L A I I - D R - T I R C 7 相互作用に干渉することができるさらなる分子またはポリペプチド - 断片と組み合わせられて H L A I I - D R および / またはその断片を含む融合タンパク質および / またはモザイクポリペプチドであってもよい。当業者であれば、そのようなアナログ / 誘導体、融合タンパク質および / またはモザイクポリペプチドの調製のための方法 / 技術を十分に知っている；Sambrookら、(Molecular cloning; A Laboratory Manual. Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Cold Spring Harbor NY (1989年)) or Oxender and Fox (1987年) “Protein engineering”, Liss New York 参照。これらの手法は、例えば、突然変異誘発法、直接的生化学および / または化学合成を含む。従って、前記アナログ / 誘導体は天然起源または合成もしくは半合成分子であり得る。

30

40

本発明のさらなる好ましい実施態様において、前記阻害剤は H L A - I I 鎖に特異的に結合するアプタマーまたは抗体である。抗 - H L A - D R - 抗体を用いることによる T I R C 7 の結合のブロックは陽性シグナルのブロックに導き、増殖の阻害に導き、望まない免疫反応を調節するのに非常に重要である。

【0023】

本発明においては、用語「アプタマー」は、標的分子、すなわち、前記定義の標的分子 H L A I I - D R に結合することができる核酸分子を意味する。アプタマーは通常は R N A

50

、 ssDNA、修飾されたRNA-DNAを含む。アプタマーの調製は当該分野で知られており、例えば、結合部位を同定するためのコンビナトリアルライブラリーの使用を含むことができる。(Gold Ann. Rev. Biochem. 64 (1995年), 736-797)。

【0024】

前記したごとく、TIRC7とそのリガンドとの相互作用に干渉できる阻害剤は、本明細書中で定義されるHLA-II-DR-分子に特異的に結合する抗体を含むこともできる。該抗体はモノクローナル、ポリクローナル、合成、キメラ、ヒト化、異種間および/または半合成抗体を含むことができる。用語「抗体」はFab、Fv、またはScFv-断片のごとき断片を含むこともできる。抗体、その断片、誘導体は、例えば、Harlow および Lane「Antibodies, a Laboratory Manual」C SH Press, 1988年に記載されているように公知の方法によって産生しおよび/または得ることができる。キメラ抗体の調製はWO89/09622に記載されている。

10

【0025】

さらに、本発明は、対象における、移植片宿主病、自己免疫疾患、アレルギー疾患、感染症、敗血症のような免疫学的障害の治療のための、腫瘍の治療のための、創傷治癒の改良のための、または免疫非応答性を誘導または維持するための医薬組成物を調製するための、前記阻害剤をコードする核酸分子の使用に関する。本発明で使用される核酸分子はmRNAのようなRNA、cDNAのようなDNAを含む。前記用語はPNAも含む。加えて、本発明は、対象において、前記定義の免疫学的障害を治療するための、または創傷の改良のための、または免疫非応答性を誘導または維持するための医薬組成物の製造のための、前記した核酸分子を含むベクターの使用に関する。本発明のベクターは、例えば、遺伝子治療アプローチで用いられるプラスミド、コスミド、ウイルスまたは他のベクターであり得る。さらなる詳細については、例えば、Molecular Cloning: a Laboratory Manual: 第2版、Sambrookら、1989年、Cold Spring Harbor Laboratory Press参照。例えば、核酸コンストラクトの調製、突然変異誘発法(前記参照)、配列決定法、DNAの細胞への導入および遺伝子発現、およびタンパク質の分析などにおける、多くの核酸操作方法及びプロトコルは、Current Protocols in Molecular Biology、第2版、Ausubelら編、John Wiley & Sons, 1994年および更新された別版に詳細に記載されている。SambrookらおよびAusubelらの開示をここに引用によって援用する。

20

30

【0026】

さらに、本発明は、
 (a) (ポリ)ペプチドまたは物質の集団に対して、TIRC7およびHLAII-DRの間の相互作用を阻害するそれらの能力を、適当な読出系を用いてテストする工程；及び、
 (b) 工程(a)においてTIRC7とそのリガンドとの相互作用の阻害につきそのテストが陽性を示す(ポリ)ペプチドまたは物質を同定する工程；
 を含む、TIRC7およびそのリガンドの間の相互作用に干渉することができる作用物質を同定し及び取得する方法に関する。

40

【0027】

工程(a)の前記テストは、とりわけ、HLAII-DR-分子への結合の検出が可能なアッセイにおいて前記(ポリ)ペプチドまたは物質(例えば、前記定義の作用物質)をテストすることを含む。これらの(ポリ)ペプチドまたは物質は、HLAII-DR-分子に特異的に結合することによって、TIRC7-HLAII-DRシグナリング経路に干渉することができる。従って、TIRC7およびそのリガンドの間の相互作用を「干渉/阻害する能力についての該テスト」は、当該分野で知られた特異的免疫学的および/または生化学的アッセイによって行うことができる。そのようなアッセイは複合体形成の測定

50

、E L I S A、R I A等のような、結合パートナーが検出されるアッセイを含む。前記相互作用アッセイは、とりわけ、H L A I I - D Rの結合パートナーを検出することができるツ-ハイブリッドシステム（これは、H L A I I - D R / T I R C 7相互作用に干渉するのに用いることができる）またはイン・ピトロ結合アッセイのような当該分野で知られた読出システムを含むこともできる。該アッセイおよび対応する読出システムは、複合体形成および/またはそのような複合体形成の阻害の検出を含むこともできる。例えば、検出されるべき（ポリ）ペプチド物質、作用物質の存在下で、T I R C 7 / H L A I I - D R（またはその断片）の*i n v i t r o*複合体が形成されるか否かをテストすることができる。ここにおいて、読出システムは、とりわけ、蛍光キットや免疫沈澱アッセイのような免疫アッセイであり得る。また、本発明の方法ではハイスループットスクリーニングを使用することも考えられる。

10

【0028】

よって、1つの実施態様において、本発明は、

（a）その転写が、スクリーニングされるべき化合物と共に、T I R C 7およびH L A クラスI I 鎖を含むダイマーまたはそれらの対応する相互作用結合ドメインによって直接的または間接的に活性化されるレポーター遺伝子を含む宿主細胞をスクリーニングする工程；及び、

（b）レポーター遺伝子の活性化を抑制する化合物を選択する工程；

を含む、免疫疾患の治療用の作用物質を同定し単離する方法に関する。

【0029】

かくして、T I R C 7およびH L A クラスI I 鎖を含むダイマーまたはマルチマー複合体の形成を妨げる化合物は、T I R C 7関連疾患における治療的介入として用いることができる。従って、本発明のこの実施態様は、免疫系に応答して、T I R C 7媒介およびH L A クラスI I 鎖関連シグナル変換を阻害する化合物を発見する方法を提供する。本発明の方法に従うアッセイのための基本的な設定は当業者によく知られている。これは、いわゆる酵母「ツ-ハイブリッド系」の使用によって、S c o f i e l d (S c i e n c e 274 (1996年), 2063 - 2065)に記載されているごとく、当該分野でよく知られたアッセイによって達成することができる。この系においては、T I R C 7をコードする核酸分子またはそのより小さな部分によってコードされたタンパク質は、G A L 4転写因子のD N A - 結合ドメインに連結させることができる。この融合タンパク質を発現し、かつG A L 4転写因子によって認識される適当なプロモーターによって駆動される*l a c Z*レポーター遺伝子を含む酵母株を、活性化ドメインに融合したT I R C 7のタンパク質リガンドまたはそのペプチドを発現するベクターで形質転換する。かくして、T I R C 7および前記リガンド、例えば、H L A クラスI I 鎖を含むダイマーまたはマルチマー複合体の形成に干渉する物質の非存在下では、複合体はレポーター遺伝子の発現を指令することができる。例えば、実施例に記載されたツ-ハイブリッドアッセイ系はそれに従って適合させることができる。かくして、T I R C 7の既に同定された結合パートナー、すなわち、H L A クラスI I 鎖とT I R C 7との相互作用に干渉する物質の同定を除き、T I R C 7の相互作用パートナーをスクリーニングすることはもはや使用されない。かくして、前記した方法の好ましい実施態様においては、スクリーニングアッセイで用いる宿主細胞は、転写活性化またはD N A 結合ドメインに作動可能に連結した少なくともH L A クラスI I 鎖またはその断片をコードするD N A 分子を含有する少なくとも1つの発現ベクターを含む。いわゆるスリ-ハイブリッド系で同様の戦略を追求することができる。

20

30

40

【0030】

T I R C 7および前記リガンド、例えば、H L A クラスI I 鎖を含むダイマーまたはマルチマー複合体の形成に干渉する化合物を同定する他の方法は、例えば、ファージディスプレイシステムでの*i n v i t r o*スクリーニングならびにフィルター結合アッセイまたは、例えば、B I A c o r e装置 (P h a r m a c i a) を用いる相互作用の「リアルタイム」測定である；前記引用の文献参照。

50

【0031】

好ましい実施態様において、本発明は、

(c) 同定された(ポリ)ペプチドまたは物質で工程(a)および(b)を1回以上反復する工程であって、新たに同定された(ポリ)ペプチドまたは物質は、さらなる相互作用(ポリ)ペプチドまたは物質の同定のためのおとり(原語: bait)として先に同定された(ポリ)ペプチドまたは物質を置き換える工程をさらに含む、TIRCFおよびそのリガンドの間の相互作用に干渉することができる作用物質を同定する方法に関する。

【0032】

加えて、本発明は、

(a) (ポリ)ペプチド集団を、配列番号: 2に示されるアミノ酸配列を有する、または配列番号: 1によってコードされる、あるいは本明細書中で開示された方法によって得ることができる(ポリ)ペプチドまたは断片と、該(ポリ)ペプチドの結合を可能とする適当な条件下で、接触させる工程;

(b) (a)で定義された前記(ポリ)ペプチドまたはその断片に結合しない(ポリ)ペプチドを前記(ポリ)ペプチド集団から除去する工程; 及び、

(c) (a)で定義された前記(ポリ)ペプチドまたはその断片に結合する(ポリ)ペプチドを同定する工程;

を含む、対象において免疫応答の調節に関与する(ポリ)ペプチドを同定し及び取得する方法に関する。

【0033】

本発明の方法に従ってテストし同定することができる化合物および(ポリ)ペプチド集団は発現ライブラリー、例えば、cDNA発現ライブラリー、ペプチド、タンパク質、核酸、抗体、小有機化合物、ホルモン、ペプチドミメティックス、PNA等であり得る(Milner, Nature Medicine 1 (1995年), 879-880; Hupp, Cell 83 (1995年), 237-245; Gibbs, Cell 79 (1994年), 193-198および前記引用文献)。本発明の前記方法のいずれか1つの好ましい実施態様において、例えば、免疫系の腫瘍組織または細胞に由来する細胞溶解物を用い、最も好ましくは、ヒトリンパ球溶解物が用いられる; 実施例および図3参照。

【0034】

さらに、本発明は、

(a) ペプチドミメティックスによって作用物質または(ポリ)ペプチドをモデリングすること; 及び、

(b) モデル化された化合物を化学的に合成すること;

を含む、本明細書中で定義された阻害剤または本明細書中で開示した方法によって同定された作用物質または(ポリ)ペプチドを精製する方法に関する。

【0035】

かくして、前記方法は、もちろん、前記スクリーニング方法または当該分野でよく知られた他のスクリーニング方法のいずれかの1以上の工程と組み合わせることができる。臨床的化合物発見のための方法は、例えば、リードの同定のための超ハイスループットスクリーニング(Sundberg, Curr. Opin. Biotechnol. 11 (2000年), 47-53)、および構造ベースの薬物デザイン(Verlinde およびHol, Structure 2 (1994年), 577-587)およびリード最適化のためのコンビナトリアル化学(Salemmeら, Structure 15 (1997年), 319-324)を含む。一旦薬物が選択されたならば、該方法は、修飾された薬物を用いて合理的薬物デザインを行い、例えば、相互作用/エネルギー分析に従って該修飾された薬物が良好なアフィニティを呈するか否かを評価するのに用いられる方法を反復するさらなる工程を有することができる。

【0036】

従って、前記方法によって単離された化合物は、アナログ化合物（類縁化合物）の開発のためのリード化合物として利用することもできる。アナログは、鍵となる官能基が、リード化合物と実質的に同一の方法でTIR C7またはそのリガンドに提示されるのを可能とする安定化された電子的立体配置および分子立体配座を有するべきである。特に、アナログ化合物は、結合領域に匹敵する空間的電子的特性を有するが、しばしば、約2 kD未満、好ましくは約1 kD未満の分子量を有するリード化合物よりも小さい分子であり得る。アナログ化合物の同定は、自己-合致場（SCF）分析、立体配置相互作用（CI）分析、および通常態様の動的分析のごとき手法の使用を介して実施することができる。これらの手法を実行するためのコンピュータプログラムは入手可能である；例えば、Rein, Computer - Assisted Modeling of Receptor - L 10
egand Interactions (Alan Liss, New York, 1989年)。化学的誘導体およびアナログの調製方法は当業者によく知られており、例えば、Beilstein, Handbook of Organic Chemistry, Springer edition New York Inc., 175 Fifth A 20
venue, New York, N.Y. 10010 U.S.A. and Organic Synthesis, Wiley, New York, U.S.A.に記載されている。さらに、前記誘導体およびアナログは当該分野で知られた方法に従ってその効果につきテストすることができる；前記参照。さらに、適当な誘導体およびアナログのペプチドミメティックスおよび/またはコンピュータ支援デザインを、例えば、前記した方法に従って用いることができる。薬物発見におけるリード生成のための方法は、タンパク 20
質および質量分析 (Cheng et al. J. Am. Chem. Soc. 117 (1995年), 8859 - 8860) およびいくつかの核磁気共鳴 (NMR) 方法 (Fejzora, Chem. Biol. 6 (1999年), 755 - 769; Linら, J. Org. Chem. 62 (1997年), 8930 - 8931)のごとき検出方法を含む。

【0037】

本発明の組成物で用いる阻害剤、作用物質および（ポリ）ペプチドは、好ましくは、TIR C7のリガンドに対する結合特異性と少なくとも実質的に同一の特異性を有し、特に、もしTIR C7刺激が望まれるのであれば、該リガンドは好ましくはHLAクラスII 30
鎖である。阻害剤は、免疫細胞のTIR C7媒介増殖が抑制されるべき場合、少なくとも $10^5 M^{-1}$ 、好ましくは $10^7 M^{-1}$ より高い、有利には $10^{10} M^{-1}$ までのHLAクラスII鎖タンパク質に対する結合アフィニティを有することができる。好ましい実施態様において、抑制物質または阻害剤は少なくとも約 $10^{-7} M$ 、好ましくは少なくとも約 $10^{-9} M$ 、最も好ましくは少なくとも約 $10^{-11} M$ のアフィニティを有する。アンチセンス核酸分子の場合、それらは、コーディング配列の20連続ヌクレオチドの正確な相補体よりも最大で2倍、5倍または10倍低い、HLAクラスII鎖をコードするものに対する結合アフィニティを有するのが好ましい。

【0038】

好ましくは、親油性細胞膜を通して細胞に入ることができるためには、阻害剤、作用物質または（ポリ）ペプチドは500 - 600 Daの「バイオアベイラビリティ壁」より大きくない。他方、タンパク質治療においては、最近、HIVウイルス由来の部分タンパク質に融合した酵素は、マウスにおいて*in vivo*でその酵素活性を保持しつつ、細胞膜を通過することができることが示されている (Schwarze, Science 28 40
5 (1999年), 1569 - 1572)。ほぼ10年間、HIVウイルスからの転写活性化調節タンパク質 (TATタンパク質) が、受容体またはトランスポーターを用いることなく、またはATPを必要とすることなく細胞膜を横切る異常な能力を有することが知られている (Green and Loewenstein, Cell 55 (1988年), 1179 - 1188)。その正確なメカニズムは解明されていないが、TATのタンパク質変換ドメイン (PTD) は細胞膜脂質二重層中に「穴」を開け、再度それを閉じる前にそれを通じて共有結合したものを引き出すことが示されている。これは、さも 50

なければ細胞を損傷してしまう特異的プロセスである。かくして、本発明の方法によって同定された機能的阻害剤または(ポリ)ペプチドはリンカーを介してPTDにカップリングして、それらを細胞膜を通過させることができる；レビューについては、DDT4(1999年), 537参照。

【0039】

加えて、本発明は、本明細書中に開示する阻害剤、本明細書中に開示する方法によって同定された作用物質、本明細書中に開示された方法によって同定された(ポリ)ペプチドまたは本明細書中に開示される方法によって精製された作用物質または(ポリ)ペプチドおよび、必要に応じて、医薬上許容される担体およびまたは希釈剤を配合することを含む、組成物の生産方法に関する。

10

【0040】

本発明の前記方法のうちのいずれか一つに従って一旦薬物が選択されたならば、薬物またはそのプロドラッグを治療上有効量となるように合成することができる。本明細書中で用いるごとく、用語「治療上有効量」とは、有効な患者の利益、すなわち、例えば免疫疾患の治療、治癒、予防または緩和、またはそのような疾患の治療、治癒、予防または緩和の速度の増大を示すのに十分な薬物またはプロドラッグの合計量を意味する。加えて、あるいは代替的に、特に薬物の前臨床試験に関しては、用語「治療上有効量」とは、好ましくは、非-ヒト動物試験において、その標的TIRC7またはそのリガンドに対するその結合に際して、生理学的応答を誘導するのに十分な薬物またはプロドラッグの合計量を含む。

20

【0041】

その*in vivo*投与後に薬物またはプロドラッグは代謝されて、排出によって、または1以上の活性または不活性代謝産物への代謝によって排除される(Meyer, J. Pharmacokinetic Biopharm. 24(1996年), 449-459)。かくして、本発明の方法によって同定及び取得された現実の化合物または薬物を用いるよりはむしろ、患者内でその活性形に変換されるプロドラッグとしての対応する処方を用いることができる。プロドラッグおよび薬物の適用のために取ることができる予防手段は文献に記載されている；レビューについては、Ozama, J. Toxicol. Sci. 21(1996年), 323-329参照。

30

【0042】

好ましい実施態様において本発明はここに開示する方法に関し、それにおいて前記組成物は医薬組成物である。この実施態様では、前記方法のいずれの1つにおいても以下の工程を含む。すなわち工程(a)：(i)カルボキシル基のエステル化、または(ii)ヒドロキシル基の炭素酸でのエステル化または(iii)ヒドロキシル基の、例えば、ホスフェート、ピロホスフェートもしくはスルフェートまたはヘミスクシネートへのエステル化、または(iv)医薬上許容される塩の形成、または(v)医薬上許容される複合体の形成、または(vi)薬理的に活性なポリマーの合成、または(vii)親水性部位の導入、または(viii)アロマトまたは側鎖上の置換基の導入/交換、置換基パターンの変化、または(ix)等電子または生物等電子部位の導入による修飾、または(x)相同化合物の合成、または(xi)分岐側鎖の導入、または(xii)アルキル置換基の環状アナログへの変換、または(xiii)ヒドロキシル基のケタール、アセテートへの誘導体化、または(xiv)アミド、フェニルカルバメートへのN-アセチル化、または(xv)マンニツヒ塩基、イミンの合成、または(xvi)ケトンまたはアルデヒドのシフの塩基、オキシル、アセタール、ケタール、エノールエステル、オキサゾリジン、チオゾリジンまたはその組合せへの変換による、(i)作用の修飾された部位、活性のスペクトル、器官特異性および/または(ii)改良された効力、および/または(iii)低下した毒性(改良された治療指数)および/または(iv)低下した副作用および/または(v)治療作用の修飾された開始、効果の持続および/または(vi)修飾された薬物動態パラメーター(吸収、分布、代謝および排出)および/または(vii)、修飾された

40

50

物理化学的パラメーター（溶解度、吸湿度、色、味覚、匂い、安定性、状態）および/または（*v i i i*）、改良された一般的特異性、器官/組織特異性および/または（*i x*）最適化された適用形態および経路、を達成するために、本発明の方法によってリード化合物としての同定された作用物質を修飾する肯定、及び（*b*）：前記修飾によって得られる生成物を医薬上許容される担体と配合する工程、である。

【0043】

前記種々の工程は一般に当該分野で知られている。それらは定量的構造 - 作用関係（*Q S A R*）分析（*K u b i n y i , I . M e d . C h e m . 4 1 (1 9 8 8 年) , 2 2 5 5 3 - 2 5 6 4 ; P h a r m . U n s e r e r Z e i t 2 3 (1 9 9 4 年) , 2 8 1 - 2 9 0*）、コンビナトリアル生化学、古典的化学その他を含み、またはそれに依存する。

10

【0044】

本発明においては、用語「医薬組成物」は所望により、さらに、例えば、免疫系を調節しおよび/またはそれに干渉することができる分子のような、他の分子を単独または組み合わせて含む。医薬組成物は固体、液体または気体形態とすることができ、とりわけ、（*a*）粉末、（*a*）錠剤、（*a*）溶液またはアエロゾルの形態とすることができる。

【0045】

本発明の医薬組成物は、さらに、医薬上許容される担体を含むことができる。適当な医薬担体の例は当該分野で知られており、リン酸緩衝生理食塩水、水、水中油型エマルジョンのごときエマルジョン、種々のタイプの湿潤剤、滅菌溶液等を含む。そのような担体を含む組成物はよく知られた慣用的方法によって配合することができる。これらの医薬組成物は適当な用量にて対象に投与することができる。適当な組成物の投与は、種々の方法によって、例えば、静脈内、腹腔内、皮下、筋肉内、局所または皮内投与によって行うことができる。投与方法は主治医および臨床的因子によって決定されるであろう。医学分野でよく知られているごとく、いずれの患者についての投与量も、患者のサイズ、体表面積、年齢、投与すべき特定の化合物、性別、投与の時間および経路、全体の健康状態、および同時投与すべき他の薬物を含めた多くの因子に依存する。

20

【0046】

さらに、本発明は、対象における、移植対宿主病、自己免疫疾患、アレルギー疾患、感染症、敗血症の治療用の、腫瘍の治療用の、創傷治癒の改良用の、または免疫非応答性の誘導または維持用の医薬組成物の調製のための、本明細書に記載した阻害剤、本明細書に開示した方法によって同定された作用物質または（ポリ）ペプチド、または本明細書に開示した方法によって精製された阻害剤の使用に関する。

30

【0047】

加えて、本発明は、本明細書中で定義される阻害剤、核酸分子、ベクターおよび/または作用物質および/または本明細書中に開示した方法によって同定された（ポリ）ペプチドを含む医薬組成物に関する。

【0048】

さらに、本発明は、前記定義のヌクレオチド配列を含む核酸配列によってコードされた遺伝子産物を過剰発現する非ヒト・トランスジェニック動物に関する。さらに、本発明は、前記定義の核酸分子またはそのホモログ、パラログもしくはオルソログがサイレントでありおよび/または突然変異した非ヒト・トランスジェニック動物を提供する。該非ヒト・トランスジェニック動物は、特に、医療および科学的研究目的で有用であり、マウス、ラット、イヌ、ヒツジ等ならびに *C . e l e g a n s* または *D r o s o p h i l a* のような非脊椎動物を含むことができる。非ヒト動物は、ここに記載した本発明のスクリーニング方法に従って用いることができる。トランスジェニック胚の生産およびそれらのスクリーニングは、例えば、*A . L . J o y n e r E d . , G e n e T a r g e t i n g , A P r a c t i c a l A p p r o a c h (1 9 9 3 年) , O x f o r d U n i v e r s i t y P r e s s* によって記載されているごとく行うことができる。胚の胚膜の *D N A* は、例えば、適当なプローブでのサザンブロットを用いて分析することができる。

40

50

【0049】

さらに、本発明は、免疫疾患または腫瘍の治療用の薬物の同定のための、または前記方法のいずれか1つにおけるリガンドとしての、HLAクラスII 鎖または断片もしくは誘導体の使用に関する。

【0050】

さらなる態様において、本発明は、

(a) HLAクラスII 鎖をコードするポリヌクレオチドにおける突然変異の存在または不存在を判定すること；及び

(b) 前記突然変異の存在または不存在に基づいて、病的状態、または病的状態に対する罹患性を診断すること；

を含む、TIRC7の活性によって媒介される、またはそれに応答性である障害に関連する対象において病的状態、または病的状態に対する罹患性を診断する方法に関する。

10

【0051】

加えて、本発明は、

(a) 生物学的試料中のHLAクラスII 鎖ポリペプチドの存在または発現量を測定すること；及び、

(b) 前記ポリペプチドの存在または発現量に基づいて、病的状態、または病的状態に対する罹患性を診断すること；

を含む、TIRC7の活性によって媒介される、またはそれに応答性である障害に関連する対象において、病的状態、または病的状態に対する罹患性を診断する方法に関する。

20

【0052】

これらの実施態様において、前記で同定されたHLAクラスII 鎖ポリヌクレオチド、核酸分子、(ポリ)ペプチド、抗体または化合物は好ましくは検出可能に標識される。種々の手法が生体分子を標識するのに利用でき、それは当業者によく知られており、本発明の範囲内にあると考えられる。そのような手法は、例えば、Tijssen, "Practice and theory of enzyme immunoassays", Burden, RH and von Knippenburg (Eds), Volume 15 (1985年), "Basic methods in molecular biology"; Davis LG, Dimer MD; Battey Elsevier (1990年), Mayer et al., (Eds) "Immunochemical methods in cell and molecular biology" Academic Press, London (1987年)、または、in the series "Methods in Enzymology", Academic Press, Inc.に記載されている。当業者に知られた多くの異なる標識および標識方法がある。一般に使用される標識は、とりわけ、(フルオレセイン、ローダミン、テキサスレッド等のような)フルオロクローム、(ホースラディッシュペルオキシダーゼ、ガラクトシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼのような)酵素、(32Pまたは125Iのような)放射性同位体、ビオチン、ジゴキシゲニン、コロイド状金属、(ジオキセタン、ルミノールまたはアクリジニウムのような)ケミ-またはバイオルミネセント化合物を含む。酵素またはビオチニル基の共有結合カップリング、ヨウ素化、リン酸化、ビオチニル化、ランダムプライミング、ニック-トランスレーション、(ターミナルトランスフェラーゼを用いる)テーリングのような標識手法は当該分野でよく知られている。検出方法は、限定されるものではないが、オートラジオグラフィ、蛍光顕微鏡、直接および間接的酵素反応等を含む。

30

40

【0053】

加えて、前記化合物等は固相に結合させることができる。固相は当該分野でよく知られており、ポリスチレンビーズ、ラテックスビーズ、磁性ビーズ、コロイド金属粒子、ガラスおよび/またはシリコンチップおよび面、ニトロセルロースストリップ、膜、シート、動物赤血球細胞、または赤血球細胞ゴースト、デュアラサイトおよび反応トレイのウェルの壁、プラスチックチューブまたは他のテストチューブを含むことができる。固相へのHL

50

AクラスII 鎖核酸、(ポリ)ペプチド、タンパク質、抗体等を固定化する適当な方法は、限定されるものではないが、イオン、疎水性、共有結合相互作用等を含む。固相は、前記定義の領域を引き付け固定化する能力を有する1以上のさらなる受容体を保持することができる。この受容体は、試薬それ自体、または捕獲試薬にコンジュゲートした荷電物質に対して反対に荷電した荷電物質を含むことができるか、または受容体は、固相に固定化された(付着された)、かつ前記定義の試薬を固定化することができるいずれの特異的結合パートナーでもあり得る。

【0054】

一般に使用される検出アッセイは放射性同位体または非放射性同位体方法を含むことができる。これらは、とりわけ、RIA(放射性同位体アッセイ)およびIRMA(免疫ラジオイムノメトリックアッセイ)、EIA(酵素免疫アッセイ)、ELISA(酵素連結イムノアッセイ)、FIA(蛍光免疫アッセイ)およびCLIA(ケミルミネセント免疫アッセイ)を含む。当該分野で用いられる他の検出方法は、トレーサー分子を用いないものである。これらの方法の1つのプロトタイプは、少なくとも2つの粒子を架橋する与えられた分子の特性に基づく凝集アッセイである。

10

【0055】

臨床および/または研究用検体中の(ポリ)ペプチド、ポリヌクレオチド等の診断および定量では、核酸ハイブリダイゼーションアッセイ、PCRアッセイまたはDNA酵素免疫アッセイ(Manteroら、Clinical Chemistry 37(1991年)、422-429)のような、前記した種々の免疫学的方法ならびに分子生物学的

20

【0056】

前記組成物は、例えば、対象の細胞からmRNAを得、次いで、かく得られたmRNAを、適当なハイブリダイゼーション条件下で、HLAクラスII鎖ポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズすることができる核酸分子を含むプローブ/プライマーと接触させ、次いで、該プローブ/プライマーにハイブリダイズしたmRNAの存在を検出することを含む、HLAクラスII鎖(ポリ)ペプチドをコードするmRNAの存在を検出することによって、HLAクラスII鎖ポリヌクレオチドの発現を検出する方法において用いることができる。試料中の核酸分子の検出に導くさらなる診断方法は、例えば、ポリメラーゼチェーン反応(PCR)、リガーゼチェーン反応(LCR)、核酸ハイブリダイゼーションと組み合わせたサザンブロッティング、比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)または代表差分析(RDA)を含む。核酸分子の存在につきアッセイするこれらの方法は当該分野で知られており、過度の実験もなくして行うことができる。

30

【0057】

さらに、本発明は、対象から細胞試料を得、抗体がHLAクラスII鎖タンパク質に結合するのを可能とする条件下で該試料を前記抗体のうちの1つと接触させ、次いで、例えば、ラジオイムノアッセイまたは酵素免疫アッセイのごとき免疫アッセイ法を用いてそのように結合した抗体の存在を検出することを特徴とする、試料、例えば細胞試料中のHLAクラスII鎖タンパク質の存在を検出する方法を含む。さらに、当業者であれば、HLAクラスII鎖活性を有する(ポリ)ペプチドを特異的に認識するが、その不活性形態を認識しない、または不活性形態を特異的に認識するが、HLAクラスII鎖活性を有する対応のポリペプチドを特異的に認識しない抗体を用いることによって、そのHLAクラスII鎖活性を欠失または改変した突然変異形態から機能的HLAクラスII鎖タンパク質であるポリペプチドを特異的に検出し、区別することができる。

40

【0058】

さらに、本発明は、前述の方法において前記試料が毛髪、血液、血清、痰、糞、または他の体液である、またはそれに由来する方法に関する。分析すべき試料は、とりわけ、核酸

50

分子、(ポリ)ペプチドまたは抗体を抽出するごとく処理することができる。

【0059】

好ましくは、TIRCFによって媒介され、前記方法で診断されるべき疾患または免疫疾患は、移植対宿主病、自己免疫疾患、アレルギー疾患、感染症、敗血症、腫瘍、特に免疫細胞に関連するもの、創傷治癒の欠乏、および適当な免疫応答を誘導する対象の欠乏よりなる群のうちの1つである。

【0060】

また、本発明は、前記したもののごときHLAクラスII鎖特異的試薬を含有するキット組成物に関する。HLAクラスII鎖DNAまたはRNA、HLAクラスII鎖に対する抗体、またはHLAクラスII鎖タンパク質を含有するキットを調製することができる。そのようなキットを用いて、HLAクラスII鎖DNAまたはRNAにハイブリダイズするDNAを検出し、または試料中のHLAクラスII鎖タンパク質またはペプチド断片の存在を検出する。そのような特徴付けは、限定されるものではないが、法医学分析、診断適用、および本発明の前記方法による疫学的研究を含めた種々の目的で有用である。組換えHLAクラスII鎖タンパク質、DNA分子、RNA分子および抗体は、HLAクラスII鎖の検出およびタイピングに適したキットの構成に適合するように調製される。そのようなキットは、典型的には、少なくとも1つの容器における密接な封じ込めにて保持するのに適した区画化キャリアを含む。該キャリアは、さらに、組換えHLAクラスII鎖タンパク質またはHLAクラスII鎖に適した抗-HLAクラスII鎖抗体のごとき試薬を含むであろう。また、該キャリアは、標識抗原または酵素基質のごとき検出用の手段を含むことができる。

10

20

【0061】

本明細書中で引用した書類の開示内容はここに引用によって援用する。

【0062】

これらおよび他の実施態様は、本発明の記載および実施例によって開示され、包含される。本発明で使用されるべき方法、使用および化合物のいずれか1つに関するさらなる文献は、例えば、エレクトロニックデバイスを用いて公のライブラリーから検索することができる。例えば、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/medline.html>、下でインターネットで利用できる公のデータベース「Medline」を利用することができる。<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>、<http://www.infobiogen.fr/>、http://www.fmi.ch/biology/research_tools.html、<http://www.tigr.org/>のごときさらなるデータベースおよびアドレスは当業者に知られており、例えば、<http://www.lycos.com>を用いて得ることもできる。バイオテクノロジーにおける特許情報の概観および遡及的サーチで、および現在の認識で有用な特許情報の関連ソースの概観は、Berks, TIBTECH 12 (1994年), 352-364に与えられる。

30

【0063】

本開示は、参照として組み込まれる添付の図面と組み合わせて最良に理解することができる。さらに、本発明の、およびその多くの利点の良好な理解は、例示として与えられる以下の実施例から得られ、それは限定を意図するものではない。

40

【0064】

実施例において、特記しない限り、組換えDNA技術は、Sambrookら、(1989年), Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY or in Volumes 1 and 2 of Ausubelら、(1994年), Current Protocols in Molecular Biology, Current Protocolsに記載されたプロトコルに従って実行される。

【0065】

実施例は本発明を説明する。

50

実施例 1 : ツーハイブリッドライブラリースクリーニングを用いることによる T I R C 7 のリガンドの同定

U t k u ら、Immunity 9 (1 9 9 8 年) , 5 0 9 - 5 1 8 によって公表された T I R C 7 c D N A を用いて、S t r a t a g e n e , L a J o l l a , U S A に よる H Y B R Z A P 2 . 1 システムによるツーハイブリッドスクリーニングを実施した。配給業者の指示書に従って陽性クローンをアッセイした。クローン「cDNA - スクローン 7」は、ヒト白血球抗原クラス II - D R との 1 0 0 % 同一性を示した 8 1 9 b p 長の c D N A インサートを明らかにした (図 1 a - b) 。

【 0 0 6 6 】

実施例 2 : H L A - D R アルファ鎖の免疫沈澱

共免疫沈澱は、J o n s ら、H i s t o c h e m . C e l l . B i o l . , 1 9 9 9 年 , 1 1 1 (4) , 3 1 3 - 8 に記載されているごとく行った。簡単に述べれば、C B L 1 2 0 モノクローナル抗体 (C y b u s - B i o t e c h n o l o g y) (図 1 c 、 レーン 2) を利用することによって、活性化されたヒト末梢血液リンパ球溶解物 (図 1 c 、 レーン 1) を H L A - D R アルファ鎖の免疫沈澱で用いた。対照的に、対照抗体である イソタイプ I g G 1 (P h a r m i n g e n) はいずれの沈殿も示さない (図 1 c 、 レーン 3) 。

【 0 0 6 7 】

【 配列表 】

SEQUENCE LISTING

<110> GenPat 77 Pharmacogenetics AG

<120> Use of inhibitors of TIRC7 ligand binding

<130> GE19A31/P-JP/WO

<140>

<141>

<150> EP 0012 3666.0

<151> 2001-10-30

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 819

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

```
actcccaaaa gagcgcccaa gaagaaaatg gccataatg gagtccctgt gctaggattt 60
ttcatcatag ctgtgctgat gagcgctcag gaatcatggg ctatcaaaga agaacatgtg 120
atcatccagg ccgagtctta tctgaatcct gaccaatcag gcgagtttat gtttgacttt 180
gatgggtgatg agatittcca tgtggataig gcaaagaagg agacggctcg gcggcttgaa 240
gaatttggac gatttgccag ctttgaggct caagggtgat tggccaacat agctgtggac 300
aaagccaact tggaatcat gacaaagcgc tccaactata ctccgatcac caatgtacct 360
ccagaggtaa ctgtgctcac gaacagccct gtggaactga gagagcccaa cgtccctcgc 420
tgtttcatag acaagttcac cccaccagtg gtcaatgtca cgtggcttcg aaatggaaaa 480
cctgtcacca caggagtgtc agagacagtc ttctgcccga ggaagacca cttttccgc 540
aagtccact atctccctt cctgccctca actgaggacg tttagcactg cagggtggag 600
cactggggct tggatgagc tcttctcaag cactgggagt ttgatgtcc aagccctctc 660
ccagagacta cagagaactg ggtgigtgcc ctgggctga ctgtgggtct ggtgggcatc 720
attatigggg ccatcttcat catcaagggg ttgcgcaaaa gcaatgcagc agaacgcagg 780
ggcctctgt aaggcacatg gaggtgatgg tgtttctta 819
```

10

20

30

40

<210> 2
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 Met Ala Ile Ser Gly Val Pro Val Leu Gly Phe Phe Ile Ile Ala Val
 1 5 10 15
 Leu Met Ser Ala Gln Glu Ser Trp Ala Ile Lys Glu Glu His Val Ile
 20 25 30
 Ile Gln Ala Glu Phe Tyr Leu Asn Pro Asp Gln Ser Gly Glu Phe Met
 35 40 45
 Phe Asp Phe Asp Gly Asp Glu Ile Phe His Val Asp Met Ala Lys Lys
 50 55 60
 Glu Thr Val Trp Arg Leu Glu Glu Phe Gly Arg Phe Ala Ser Phe Glu
 65 70 75 80
 Ala Gln Gly Ala Leu Ala Asn Ile Ala Val Asp Lys Ala Asn Leu Glu
 85 90 95
 Ile Met Thr Lys Arg Ser Asn Tyr Thr Pro Ile Thr Asn Val Pro Pro
 100 105 110
 Glu Val Thr Val Leu Thr Asn Ser Pro Val Glu Leu Arg Glu Pro Asn
 115 120 125
 Val Leu Ile Cys Phe Ile Asp Lys Phe Thr Pro Pro Val Val Asn Val
 130 135 140
 Thr Trp Leu Arg Asn Gly Lys Pro Val Thr Thr Gly Val Ser Glu Thr
 145 150 155 160
 Val Phe Leu Pro Arg Glu Asp His Leu Phe Arg Lys Phe His Tyr Leu
 165 170 175
 Pro Phe Leu Pro Ser Thr Glu Asp Val Tyr Asp Cys Arg Val Glu His
 180 185 190
 Trp Gly Leu Asp Glu Pro Leu Leu Lys His Trp Glu Phe Asp Ala Pro
 195 200 205
 Ser Pro Leu Pro Glu Thr Thr Glu Asn Val Val Cys Ala Leu Gly Leu
 210 215 220
 Thr Val Gly Leu Val Gly Ile Ile Ile Gly Thr Ile Phe Ile Ile Lys
 225 230 235 240
 Gly Leu Arg Lys Ser Asn Ala Ala Glu Arg Arg Gly Pro Leu
 245 250

10

20

30

【図面の簡単な説明】

40

【図 1 a】819ヌクレオチドを含むヒトHLA DRアルファ鎖のcDNA配列が示され、ヒトリンパ球から酵母ツーハイブリッドライブラリーのスクリーニングによって単離されたcDNAが示される。

【図 1 b】メチオニンで開始される254アミノ酸を含むHLA DR分子のアミノ酸配列が示される。

【図 1 c】特異的抗TIRC7および抗HLA DRアルファ鎖抗体を用いることによるヒトリンパ球溶解物からのHLA DRタンパク質でのTIRC7タンパク質の共免疫沈澱が示される。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(18) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
10 May 2002 (10.05.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/36149 A2

- (51) International Patent Classification: A61K 38/17, 39/295, A61P 37/00, 31/00, 35/00
 - (21) International Application Number: PCT/EP01/12485
 - (22) International Filing Date: 29 October 2001 (29.10.2001)
 - (25) Filing Language: English
 - (26) Publication Language: English
 - (30) Priority Data: 00123666.0 30 October 2000 (30.10.2000) EP
 - (71) Applicant and
(72) Inventor: CTKU, Natan [DE/DE], Pfalzburger Strasse 81, 10719 Berlin (DE).
 - (74) Agent: VOSSIUS & PARTNER, Siebertstrasse 4, 81675 München (DE).
 - (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GG, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, NI, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TL, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
 - (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PL, SE, TR), OAPI patent (BF, BI, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
without international search report and to be republished upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/36149 A2

(54) Title: METHODS FOR OBTAINING INHIBITORS OF TIR2 LIGAND BINDING AND USES THEREOF

(57) Abstract: Provided are uses of agents interfering with the interaction of TIR2 with its ligand such as ILA (Human Leukocyte associated Antigen) class II alpha (α) chain for the preparation of pharmaceutical compositions for the treatment of graft versus host disease, autoimmune diseases, allergic diseases, infectious diseases, sepsis, for the treatment of tumors, for the improvement of wound healing or for inducing or maintaining immune unresponsiveness in a subject. In addition, methods for identifying and obtaining such agents are described. Furthermore, methods of diagnosing an immune disease or a tumor by determining the presence or absence of TIR2 ligand are provided.

WO 02/36149

PCT/EP01/12485

Methods for obtaining inhibitors of TIRC7 ligand binding and uses thereof

The present invention relates to the use of an inhibitor interfering with the interaction of TIRC7 with its ligand(s) for the preparation of a pharmaceutical composition for the treatment of graft versus host disease, autoimmune diseases, allergic diseases, infectious diseases, sepsis, for the treatment of tumors, for the improvement of wound healing or for inducing or maintaining immune unresponsiveness in a subject. In addition, the present invention relates to the use of a nucleic acid molecule encoding said inhibitor and of a vector comprising said nucleic acid molecule for the preparation of a pharmaceutical composition for amelioration, treatment and prevention of immunological diseases. Additionally, the present invention provides methods of identifying an agent capable of interfering with the interaction between TIRC7 and its ligand and/or of identifying a (poly)peptide involved in the regulation of the immune response in a subject. In a further embodiment, the present invention relates to a method of refining an inhibitor, an agent or a (poly)peptide as defined herein or identified by the method(s) of the invention. Furthermore, the invention relates to the preparation of pharmaceutical compositions comprising the agents, (poly)peptides identified and/or refined by the methods as disclosed herein. In a further embodiment, the present invention relates to the use of an inhibitor, an agent or a (poly)peptide as identified and/or refined by the methods as disclosed herein for the preparation of a pharmaceutical composition.

Several documents are cited throughout the text of this specification. Each of the documents cited herein (including any manufacturer's specifications, instructions, etc.) are hereby incorporated herein by reference; however, there is no admission that any document cited is indeed prior art as to the present invention.

T-cell activation is a serial process involving multiple signaling pathways and sequential changes in gene expression resulting in differentiation of T-cells into distinct subpopulations, i.e. Th1 and Th2, which are distinguishable by their pattern of cytokine production and characterize the mode of cellular immune response. The T-cell response is initiated by the interaction of the antigen-specific T-cell receptor (TCR) with peptide presented by major histocompatibility complex (MHC) molecules on the surface of antigen presenting cells (APCs). Additional signals are provided by a network of receptor-ligand interactions mediated by a number of membrane proteins such as CD28/CTLA4 and B7, CD40/CD40L, LFA-1 and ICAM-1 (Lenschow, *Science* 257 (1992), 789-792; Linsley, *Annu. Rev. Immunol.* 11 (1993), 191-212; Xu, *Immunity* 1 (1994), 423-431; Bachmann, *Immunity* 7 (1997), 549-557; Schwartz, *Cell* 71 (1992), 1065-1068) collectively called costimulatory signals (Perez, *Immunity* 6 (1997), 411). These membrane proteins can alter T-cell activation in distinct ways (Bachmann, *Immunity* 7 (1997), 549-557) and regulate the immune response by the integration of positive and negative signals provided by these molecules (Bluestone, *Immunity* 2 (1995), 555-559; Perez, *Immunity* 6 (1997), 411). Many of the agents which are effective in modulating the cellular immune response either interfere with the T-cell receptor (Cosimi, *Transplantation* 32 (1981), 535-539) block costimulatory signaling (Larsen, *Nature* 381 (1996), 434-438; Blazar *J. Immunol.* 157 (1996), 3250-3259; Kirk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94 (1997), 8789-8794; Linsley, *Science* 257 (1992), 792-95; Turka, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (1992), 11102-11105) or inhibit intracellular activation signals downstream from these primary cell membrane triggers (Schreiber and Crabtree, *Immunology Today* 13 (1992), 136-42). Therapeutic prevention of T-cell activation in organ transplantation and autoimmune diseases presently relies on panimmunosuppressive drugs interfering with downstream intracellular events. Specific modulation of the immune response remains a longstanding goal in immunological research.

In view of the need of therapeutic means for the treatment of diseases related to immune responses of the human body, the technical problem of the present invention is to provide for means and methods for modulation of the immune response such as immune unresponsiveness in a subject. The solution to said

WO 02/36149

PCT/EP01/12485

3

technical problem is achieved by providing the embodiments characterized in the claims.

Accordingly, in one aspect the present invention relates to the use of an inhibitor interfering with the interaction of TIRC7 with its ligand for the preparation of a pharmaceutical composition for the treatment of graft versus host disease, autoimmune diseases, allergic diseases, infectious diseases, sepsis, for the treatment of tumors, for the improvement of wound healing or for inducing or maintaining immune unresponsiveness in a subject.

The term "TIRC7" as used in accordance with the present invention, denotes a protein involved in the signal transduction of T-cell activation and/or proliferation and that, preferably in a soluble form is capable of inhibiting or suppressing T-cell proliferation in response to alloactivation in a mixed lymphocyte culture or in response to mitogens when exogenously added to the culture. *In vitro* translated TIRC7 protein is able to efficiently suppress in a dose dependent manner the proliferation of T-cells in response to alloactivation in a mixed lymphocyte culture or in response to mitogens. TIRC7 is known to the person skilled in the art and described, inter alia, in WO99/11782 and in Utku et al., *Immunity* 9 (1998), 509-518.

The term "inhibitor interfering with the interaction of TIRC7 with its ligand" means in accordance with the present invention an agent capable of inhibiting and/or modulating the interaction of TIRC7 with its corresponding ligand. Since the interaction of TIRC7 with its ligand(s) modulates events which are valuable in course of immune responses, such inhibitor should also be capable of modulating immune responses. In accordance with the present invention, said inhibitor preferably interacts with the TIRC7-ligand, for example by specifically binding to said ligand. "Specifically binding" means "specifically interacting with" whereby said interaction may be, inter alia, covalently, non-covalently and/or hydrophobic. Such inhibitors are defined herein below or may be obtained by methods described herein. Potential inhibitors include small molecules which bind to, interfere with and/or occupy relevant sites on said ligand. Examples of small molecules include small peptides or peptide-like molecules.

The term "immune unresponsiveness" comprises non-unresponsiveness of immune cell subsets like T-cell or B-cells, NK-cells, monocytes and/or macrophages.

Immune unresponsiveness can be maintained by blocking the stimulation of each ligand protein which binds to TIRC7 in a subject who has an autoimmune disease to alleviate symptoms of the autoimmune disease. In these cases, a TIRC7 or its ligand inhibitory agent is administered to the subject in an amount and over a period of time sufficient to maintain immune unresponsiveness. Alternatively, immune unresponsiveness can be reversed in a subject bearing a tumor to stimulate a tumor specific immune response or in a subject receiving a vaccine to enhance the efficacy of the vaccine. For example, a cell (e.g. a tumor cell) can be modified to express a TIRC7 ligand or a TIRC7 stimulatory agent can be administered to the subject bearing a tumor or who has had a tumor surgically removed to prevent recurrence of the tumor. Additionally, antigen-specific responsiveness can be restored to anergized immune cells in vitro by stimulating the immune cells through TIRC7 or its ligands. Responsive cells generated in vitro can then be administered to a subject.

The terms "treatment", "treating" and the like are used herein to generally mean obtaining a desired pharmacological and/or physiological effect. The effect may be prophylactic in terms of completely or partially preventing a disease or symptom thereof and/or may be therapeutic in terms of partially or completely curing a disease and/or adverse effect attributed to the disease. The term "treatment" as used herein covers any treatment of a disease in a mammal, particularly a human, and includes: (a) preventing the disease from occurring in a subject which may be predisposed to the disease but has not yet been diagnosed as having it; (b) inhibiting the disease, i.e. arresting its development; or (c) relieving the disease, i.e. causing regression of the disease.

Furthermore, the term "subject" as employed herein relates to animals in need of amelioration, treatment and/or prevention of immunological diseases as disclosed herein. Most preferably said subject is a human.

In a preferred embodiment, said ligand is HLA-(Human Leukocyte associated Antigen) class II alpha (α) chain, also referred to as HLA-DR α -chain. These terms are used interchangeably herein.

HLA class II is a heterodimer of two transmembrane glycoproteins, the alpha and beta chains. Oriented with their amino terminal ends on the outside of the cell, both chains comprise two extracellular domains, each of 90-100 amino acids, connected to a short cytoplasmic tail by a hydrophobic acid sequence that makes a single pass through the cell membrane. In the alpha chain the membrane distal domain is known as alpha 1 and the membrane proximal domain as alpha 2. Likewise, in the beta chain the membrane distal domain is known as beta 1 and the membrane proximal domain as beta 2. Both membrane proximal domains possess structural characteristics of C1-type immune globulin domains. The alpha 1 and beta 1 domains are polymorph and occupied with presentations of peptides (12 - 24mers) to the T-cell receptor during the course of T-cell activation. Studies using site-specific mutants have mapped the site of CD4 binding to the membrane proximal beta 2 domain of the HLA class II molecule.

Expression of certain HLA class II molecules and their polymorphism are strongly associated with a number of diseases such as insulin-dependent diabetes mellitus, Goodpasture syndrome, Pemphigus vulgaris, Systemic lupus erythematosus, Multiple sclerosis, Grave's disease, Rheumatoid arthritis and Myasthenia gravis.

Many of the disease associated with HLA polymorphism do not involve active infections and their symptoms are caused by a chronic state of inflammation and/or autoimmunity. In the case of diabetes, one general mechanism which has been proposed is that T-cell is activated by presentation of a microbial antigen subsequently crossreact with self peptides to which they were tolerant before activation. Thus, Coxackie virus infections have been correlated with diabetes and various bacterial infections of the intestine with the HLA class II associated diseases.

In infectious diseases relatively little is known of the effects of HLA polymorphism. From studies on cohorts of AIDS patients HLA effect can be seen, such as quicker progression of the disease (Roger et al., FASEB, 12, 1998, p. 625-32, Marsh, Parham and Barber, "The HLA-FACS-Book", Academic Press (2000), 37-97).

WO 02/36149

PCT/EP01/12485

6

During the development the human response becomes tolerant of the normal components of healthy cells and tissues to which lymphocytes are exposed. Of the particular importance is that a person's immune system develops tolerance to the self HLA class I and II allotypes expressed on the surface of that same person's cell. By contrast a person's immune system is not tolerant of the many hundreds of non-self HLA allotypes expressed by other human beings such as after organ transplantation. Therefore, once a person receives a transplant, hyperacute or acute rejection of the transplanted organ is likely to occur if the recipient and donor are not compatible in their HLA antigen types expressed on the cell surface.

In context of the present invention, it was surprisingly found that the HLA-class II α chain is capable of interacting with TIRC7 as shown in the appended examples. Therefore, and without being bound by theory, it is envisaged that interfering with said binding/interaction between TIRC7 HLA-class II α chain and leads to modifications of cellular responses due to the corresponding receptor/ligand interaction. Said modifications comprise, but are not limited to, inhibitory as well as stimulatory cellular responses. Preferably, However, irrespective the theory behind the molecular mechanism of action, a the inhibitor for use in accordance with the present invention can be characterized by (1) interacting/binding to TIRC7 or its ligand, and (2) being capable of inhibiting proliferation of mitogen-stimulated PBMCs in an assay as described in WO99/11782 and in Utku et al., *Immunity* 9 (1998), 509-518. Preferably, said inhibitor interacts/binds to said ligand of TIRC7 or to TIRC7 such that said inhibitor prevents said ligand from interacting with TIRC7, for example by occupying the site of TIRC7 with which said ligand interacts. As mentioned before, preferably said ligand is the HLA-class II α chain. Nucleotide and amino acid sequences of human MHC class II HLA-DR-alpha chain are known to the person skilled in the art and can be retrieved from public databases, e.g., Genbank accession numbers V00523 and M60334. The nucleotide and amino acid sequences of the HLA-class II α chain that have been identified in accordance with the present invention are depicted in SEQ ID NO: 1 and SEQ ID NO: 2, respectively.

Accordingly, in a preferred embodiment of the present invention, said inhibitor is selected from the group consisting of:

- (a) an agent binding to and/or interfering with a (poly)peptide or (a) fragment(s) thereof comprising an amino acid sequence as depicted in SEQ ID NO:2
- (b) an agent binding to a (poly)peptide or (a) fragment(s) thereof encoded by a polynucleotide comprising a nucleotide sequence as depicted in SEQ ID NO:1; and
- (c) an analogue of derivative of the (poly)peptide or the fragment(s) thereof as defined in (a) or (b);

Class II Major histocompatibility antigens (MHC) are composed of two noncovalently associated polypeptide chains. The beta2, alpha2 chains which contain internal disulfide bonds and judged by their amino acid sequence, belong to the Ig superfamily and the alpha1, beta1 chain which is the peptide binding domain of MHC class II molecules. The expression of MHC molecules on different cell types determines whether or not T-lymphocytes can interact with foreign antigens present on the surface of these cells. MHC class II molecules are expressed on most immune and non-immune human cells. The expression of MHC gene products is highly regulated at the level of transcription both by cell type specific factors and by inflammatory and immune stimuli, including cytokines like IFN-gamma. Some cells such as macrophages can be induced to express class II molecules by cytokines, especially IFN-gamma whereas other cells and B lymphocytes constitutively express class II molecules. The activation of CD4 helper T-cells by antigen requires the participation of cells other than T-lymphocytes; these cells are often called accessory cells which express MHC class II molecules on their surface. The obligatory role of accessory cells in lymphocyte activation follows in two ways:

First, accessory cells are antigen presenting cells (APC) and they convert protein antigens to peptides and they present peptide-MHC-complexes in a form that can be recognized by CD4+ T-cells. The conversion of native proteins to MHC-associated peptide fragments by APCs is called antigen processing. The second function of accessory cells is to provide stimuli to the T-cell, beyond those initiated by peptide-MHC complexes binding to the T-cell antigen receptor. These stimuli, referred to as costimulator activities, are required for full physiologic activation of the T-cells which are provided by membrane-bound or secreted products of accessory cells.

WO 02/36149

PCT/EP01/12485

8

Immune response is strongly dependent on successful presentation of antigens to T-cells by MHC class I or II molecules on APCs. In case of insufficient antigen presentation to CD4 cells, the creation of immune response will not occur, instead, unresponsiveness or ignorance will take place. This will lead to significant decrease of the ability of the immune system to destroy foreign particles required in such as infectious diseases as well as wound healing and sepsis. As demonstrated by Utku et al., *Immunity* 9 (1998), 509-518, targeting of TIRC7 by specific antibodies inhibit immune response and decrease TH-1 type lymphocyte cytokine expression such as IFN-gamma.

In context of the present invention, it was surprisingly found that the polypeptide as depicted in SEQ ID NO: 2 is a protein capable of interacting with TIRC7, the cDNA of which has been isolated by screening of a yeast two hybrid library from human lymphocytes against TIRC7 polypeptide. As mentioned before, SEQ ID NO: 2 and its encoding nucleotide sequence as depicted in SEQ ID NO: 1 relate to the HLA-DR α -chain. HLA-DR binds to/interacts with TIRC7 as shown in the appended examples. Therefore, and without being bound by theory, it is envisaged that said binding/interaction leads to modifications of cellular responses to the corresponding receptor/ligand interaction. Said modifications comprise, but are not limited to, inhibitory as well as stimulatory cellular responses.

The term "agent" as employed herein above relates to molecules like (poly)peptides, anorganic and/or organic substances as well as synthetically synthesized molecules. For example, said "agent" may comprise "small molecules", like peptides, anorganic and/or organic substances or peptide-like molecules, like peptide-analogues comprising D-amino acids. Said "agent" may also comprise nucleic acid molecules, like specific (oligo)nucleotides, PNAS and/or aptamers. In accordance with the present invention the term "agent" as employed herein also comprises substances which may be single substances or a plurality of substances which may or may not be identical. Said agent/compound may be comprised, for example, in all extracts from plants, animals or microorganisms.

WO 02/36149

PCT/EP01/12485

9

The above mentioned polypeptide as set forth in SEQ ID NO: 2 is derived from a cDNA-clone "cDNA-screen7" as illustrated in the appended examples. In accordance with the present invention the above recited polypeptide, corresponding to HLAII-DR comprises not only the precise amino acid sequence as set forth in SEQ ID NO:2 but also comprises polypeptides which comprise amino acid sequences which show homology to said amino acid sequence and are capable of functioning as the HLAII-DR molecule ("cDNA-screen7" gene product) as disclosed herein. These homologous amino acid sequences may comprise, inter alia, "variants" of HLAII-DR. The term "variant" comprises but is not limited to allelic variants, splice variants, synthetically produced variants or genetically engineered variants. These variants can vary at either the polynucleotide and/or the polypeptide level. Alternatively, non-naturally occurring variants are also comprised as binding partner of the above identified agent. These non-naturally occurring variants may, inter alia, be produced by mutagenesis techniques or by direct synthesis. Therefore, (an) agent(s) binding to and/or interfering with the herein above defined polypeptide also refer to agents which are capable of interacting with, binding to and/or interfering with such variants. In accordance the term "fragment(s)" as used herein above refers to peptides and polypeptides that are derived from said HLAII-DR-molecule and that are capable of to be bound and/or interacting with the above mentioned agent.

The term "analogue or derivative" of the polypeptide or fragment thereof as used herein above denotes analogues or derivatives of the amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2 and/or of HLAII-DR which are in contrast to the above defined variants of said molecule capable of specifically inhibiting the interaction of HLAII-DR and TIRC7. These analogues/derivatives, therefore, comprise, inter alia, chemically and/or genetically modified HLAII-DR-molecules which are not capable of eliciting physiological and/or cellular responses normally mediated by HLAII-DR -- TIRC7 interactions. These analogues and/or derivatives may also, in accordance with the invention, be fusion proteins and/or mosaic polypeptides which comprise HLAII-DR and/or fragments thereof in combination with further molecules or polypeptide-fragments capable of interfering with the above recited HLAII-DR -- TIRC7 interaction. The person skilled in the art is fully aware of methods/techniques

for the preparation of such analogues/derivatives, fusion proteins and/or mosaic polypeptides; see, inter alia, Sambrook et al. (Molecular cloning; A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Cold Spring Harbor NY (1989)) or Oxender and Fox (1987) "Protein engineering", Liss New York. These techniques comprise, e.g., mutagenesis techniques, direct biochemical and/or chemical synthesis. Accordingly, said analogues/derivatives may be of natural origin or synthetic or semi-synthetic molecules.

In a further preferred embodiment of the present invention, said inhibitor is an aptamer or antibody specifically binding to the HLA-II α chain. It is envisaged that blockade of binding of TIRC7 by using anti-HLA-DR-antibodies leads to blockade of positive signals leading to inhibition of proliferation and is of great importance to modulate undesired immune reactions.

The term "aptamer" means nucleic acid molecules that can bind to target molecules, in accordance with this invention, i.e. the target molecule HLAII-DR as defined herein above. Aptamers commonly comprise RNA, ssDNA, modified RNA/DNA. The preparation of aptamers is known in the art and may involve, e.g., the use of combinatorial libraries to identify binding sites (Gold, Ann. Rev. Biochem. 64 (1995), 736-797).

As mentioned herein above, inhibitors capable of interfering with the interaction of TIRC7 with its ligand(s) may also comprise antibodies specifically binding to HLAII-DR-molecules as defined herein. Said antibodies may comprise monoclonal, polyclonal, synthetic, chimeric, humanized, xenogeneic and/or semi-synthetic antibodies. The term "antibody" also comprises fragments such as Fab, Fv or scFv-fragments. Antibodies, fragments thereof, derivatives may be produced and/or obtained by known methods as described for example in Harlow and Lane "Antibodies, a Laboratory manual" CSH Press, 1988. The preparation of chimeric antibodies is described in WO89/09622.

Furthermore, the present invention relates to the use of a nucleic acid molecule encoding said inhibitor for the preparation of a pharmaceutical composition for the

treatment of an immunological disorder, like graft versus host disease, autoimmune diseases, allergic diseases, infectious diseases, sepsis, for the treatment of tumors, for the improvement of wound healing or for inducing or maintaining immune unresponsiveness in a subject. Nucleic acid molecules as employed in the present invention comprises RNA, like mRNA, DNA like cDNA. The term also comprises PNAs. In addition, the present invention relates to the use of a vector comprising the nucleic acid molecule as described herein above for the preparation of a pharmaceutical composition for the treatment of the above defined immunological disorders or for the improvement of wound healing or for inducing or maintaining immune unresponsiveness in a subject. The vector of the present invention may be a plasmid, cosmid, virus or other vector used, e.g. in gene therapeutic approaches. For further details see, for example, *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*: 2nd edition, Sambrook et al, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Many known techniques and protocols for manipulation of nucleic acid, for example in preparation of nucleic acid constructs, mutagenesis (see above), sequencing, introduction of DNA into cells and gene expression, and analysis of proteins, are described in detail in *Current Protocols in Molecular Biology*, Second Edition, Ausubel et al. eds., John Wiley & Sons, 1994 and updated issues. The disclosures of Sambrook et al. and Ausubel et al. are incorporated herein by reference.

Furthermore, the present invention relates to a method of identifying and obtaining an agent capable of interfering with the interaction between TIRC7 and its ligand comprising the steps of

- (a) testing a collection of (poly)peptides or substances for their ability to inhibit interaction between TIRC7 and HLAII-DR using a suitable readout system; and
- (b) identifying (poly)peptides or substances which test positive for inhibition of the interaction of TIRC7 with its ligand in step (a).

The above mentioned test of step (a) may, inter alia, comprise the testing of said (poly)peptides or substances (e.g. agents as defined herein above) in assays which allow the detection of binding to HLAII-DR-molecules. These (poly)peptides or substances may, by specifically binding to HLAII-DR-molecules, be capable of interfering with the TIRC7 – HLAII-DR signaling pathway. Said "test for ability to

interfere/inhibit" the interaction between TIRC7 and its ligand, may, therefore, be carried out by specific immunological and/or biochemical assays known in the art. Such assays, comprise the measurement of complex formation, assays wherein binding partners are detected, like ELISAs, RIAs and the like. Said interaction assays may also comprise read-out systems known in the art like, two-hybrid systems wherein, inter alia, binding partners of HLAII-DR can be detected (which may be used to interfere with the HLAII-DR/TIRC7 interaction) or in vitro binding assays. Said assays and corresponding read-out systems may also comprise the detection of complex formation and/or inhibition of such complex formations. For example, it can be tested, whether an in vitro complex of TIRC7/HLAII-DR (or fragments thereof) forms in presence of the (poly)peptide substance, agent to be detected. Read-out systems in this context may be, inter alia, fluorescence kits and immunoassays, like immunoprecipitation assays. It is also envisaged that high throughput screening be employed in the methods of the present invention.

Hence, in one embodiment, the invention relates to a method for identifying and isolating an agent for treatment of immune diseases comprising the steps of:

- (a) screening a host cell comprising a reporter gene whose transcription is directly or indirectly activated by dimers comprising TIRC7 and HLA-class II α chain or their corresponding interacting binding domains with a compound to be screened; and
- (b) selecting a compound that represses activation of the reporter gene

Thus, compounds that prevent the formation of dimers or multimeric complexes comprising TIRC7 and HLA-class II α chain can be used as a therapeutic intervention in TIRC7 associated diseases. Accordingly, this embodiment of the invention provides a method for the discovery of compounds that inhibit TIRC7 mediated and HLA-class II α chain associated signal transduction in responses of the immune system. The basic set up for assays in accordance with the method of the present invention are well known to the person skilled. This can be achieved by assays well known in the art, for example, as described in Scofield (Science 274 (1996), 2063-2065) by use of the so-called yeast "two-hybrid system". In this system the protein encoded by the TIRC7 encoding nucleic acid molecules or a smaller part

thereof can be linked to the DNA-binding domain of the GAL4 transcription factor. A yeast strain expressing this fusion protein and comprising a lacZ reporter gene driven by an appropriate promoter, which is recognized by the GAL4 transcription factor, is transformed with a vector which expresses the protein ligand of TIRC7 or peptides thereof fused to an activation domain. Thus, in the absence of substances which interfere with the formation of dimers or multimeric complexes comprising TIRC7 and said ligand, e.g. HLA-class II α chain, the complex is able to direct expression of the reporter gene. For example, the two-hybrid assay system described in the Examples can be adapted accordingly. Thus, it is no longer used to screen an interaction partner of TIRC7 but for identification of substances that interfere with the interaction of TIRC7 with the already identified binding partner of TIRC7, i.e. the HLA-class II α chain. Thus, in a preferred embodiment of the above described method, the host cell used in the screening assay comprises a least one expression vector containing a DNA molecule encoding at least the HLA-class II α chain or a fragment thereof operatively linked to a transactivation or DNA binding domain. A similar strategy can be pursued with the so called three hybrid system.

Other methods for identifying compounds which interfere with formation of dimers or multimeric complexes comprising TIRC7 and said ligand, e.g. HLA-class II α chain are, for example, the *in vitro* screening with the phage display system as well as filter binding assays or "real time" measuring of interaction using, for example, the BIAcore apparatus (Pharmacia); see references cited *supra*.

In a preferred embodiment, the present invention relates to a method of identifying an agent capable of interfering with the interaction between TIRC7 and its ligand, further comprising the step of

- (c) repeating steps (a) and (b) with the (poly)peptides or substances identified one or more times wherein the newly identified (poly)peptide or substance replaces the previously identified (poly)peptide or substance as a bait for the identification of a further interacting (poly)peptide or substance.

Additionally, the present invention relates to a method of identifying and obtaining a (poly)peptide involved in the regulation of the immune response in a subject comprising the steps of

- (a) contacting a collection of (poly)peptides with (a) (poly)peptide(s) or fragment(s) thereof having an amino acid sequence as depicted in SEQ ID NO: 2 or being encoded by SEQ ID NO: 1 or obtainable by the methods as disclosed herein, under suitable conditions that allow binding of said (poly)peptides;
- (b) removing (poly)peptides from said collection of (poly)peptides that did not bind to said (poly)peptide(s) or fragment(s) thereof as defined in (a); and
- (c) identifying (poly)peptides that bind to said (poly)peptide(s) or fragment(s) thereof as defined in (a).

The compounds and collection of (poly)peptides which can be tested and identified according to a method of the invention may be expression libraries, e.g., cDNA expression libraries, peptides, proteins, nucleic acids, antibodies, small organic compounds, hormones, peptidomimetics, PNAs or the like (Milner, *Nature Medicine* 1 (1995), 879-880; Hupp, *Cell* 83 (1995), 237-245; Gibbs, *Cell* 79 (1994), 193-198 and references cited supra). In a preferred embodiment of any one of the above described methods of the invention, cell lysates are used derived from, for example, tumor tissue or cells of the immune system, most preferably a human lymphocyte lysate is used; see the Examples and Figure 3.

Furthermore, the present invention relates to a method of refining an inhibitor as defined herein or an agent or a (poly)peptide identified by the methods as disclosed herein comprising

- (a) modelling said agent or (poly)peptide by peptidomimetics; and
- (b) chemically synthesizing the modeled compound.

Thus, the above-described methods can, of course, be combined with one or more steps of any of the above-described screening methods or other screening methods well known in the art. Methods for clinical compound discovery comprises for example ultrahigh-throughput screening (Sundberg, *Curr. Opin. Biotechnol.* 11 (2000), 47-53) for lead identification, and structure-based drug design (Verlinde and

Hol, Structure 2 (1994), 577-587) and combinatorial chemistry (Salemme et al., Structure 15 (1997), 319-324) for lead optimization. Once a drug has been selected, the method can have the additional step of repeating the method used to perform rational drug design using the modified drug and to assess whether said modified drug displays better affinity according to for example interaction/energy analysis.

Accordingly, the compounds isolated by the above methods can also serve as lead compounds for the development of analog compounds. The analogs should have a stabilized electronic configuration and molecular conformation that allows key functional groups to be presented to TIRC7 or its ligand in substantially the same way as the lead compound. In particular, the analog compounds have spatial electronic properties which are comparable to the binding region, but can be smaller molecules than the lead compound, frequently having a molecular weight below about 2 kD and preferably below about 1 kD. Identification of analog compounds can be performed through use of techniques such as self-consistent field (SCF) analysis, configuration interaction (CI) analysis, and normal mode dynamics analysis. Computer programs for implementing these techniques are available; e.g., Rein, Computer-Assisted Modeling of Receptor-Ligand Interactions (Alan Liss, New York, 1989). Methods for the preparation of chemical derivatives and analogues are well known to those skilled in the art and are described in, for example, Beilstein, Handbook of Organic Chemistry, Springer edition New York Inc., 175 Fifth Avenue, New York, N.Y. 10010 U.S.A. and Organic Synthesis, Wiley, New York, USA. Furthermore, said derivatives and analogues can be tested for their effects according to methods known in the art; see also supra. Furthermore, peptidomimetics and/or computer aided design of appropriate derivatives and analogues can be used, for example, according to the methods described above. Methods for the lead generation in drug discovery also include using proteins and detection methods such as mass spectrometry (Cheng et al. J. Am. Chem. Soc. 117 (1995), 8859-8860) and some nuclear magnetic resonance (NMR) methods (Fejzo et al., Chem. Biol. 6 (1999), 755-769; Lin et al., J. Org. Chem. 62 (1997), 8930-8931).

The inhibitor, agents and (poly)peptides used in the compositions of the present invention preferably have a specificity at least substantially identical to the binding specificity of the TIRC7 with its ligand, said ligand preferably being HLA-class II α chain, in particular if TIRC7 stimulation is desired. An inhibitor can have a binding affinity to the HLA-class II α chain protein of at least $10^5 M^{-1}$, preferably higher than $10^7 M^{-1}$ and advantageously up to $10^{10} M^{-1}$ in case TIRC7 mediated proliferation of immune cells should be suppressed. In a preferred embodiment, a suppressive agent or inhibitor has an affinity of at least about $10^{-7} M$, preferably at least about $10^{-9} M$ and most preferably at least about $10^{-11} M$. In case of antisense nucleic acid molecules it is preferred that they have a binding affinity to those encoding the HLA-class II α chain of at most 2-, 5- or 10-fold less than an exact complement of 20 consecutive nucleotides of the coding sequence.

Preferably, the inhibitor, agent or (poly)peptide is not larger than the "bioavailability wall" of 500-800 Da in order to be able to cross the lipophilic cell membrane into the cell. On the other hand, in protein therapy it has been recently demonstrated that enzymes fused to part of a protein from the HIV virus can cross cell membranes while retaining their enzymatic activity in vivo in mice (Schwarze, Science 285 (1999), 1569-1572). It has been known for approximately ten years that the transactivating regulatory protein (TAT protein) from the HIV virus has an unusual ability to cross cell membranes without using receptors or transporters, or requiring ATP (Green and Loewenstein, Cell 55 (1988), 1179-1188). Although its exact mechanism is unknown, it has been shown that the protein transduction domain (PTD) of TAT opens a "hole" in the cell membrane lipid bilayer, pulling anything covalently attached through it, before closing it again. This is a specific process that does not otherwise damage the cell. Thus, a functional inhibitor agent or (poly)peptide identified by a method of the present invention may be coupled to PTD via a linker in order to let them cross the cell membrane; see also for review DDT 4 (1999), 537.

In addition, the present invention relates to a method of producing a composition comprising formulating the inhibitor as disclosed herein, an agent identified by the methods as disclosed herein, the (poly)peptide identified by the method as

disclosed herein or an agent or (poly)peptide refined by the method as disclosed herein and, optionally, a pharmaceutically acceptable carrier and/or diluent.

Once a drug has been selected in accordance with any one of the above-described methods of the present invention, the drug or a pro-drug thereof can be synthesized in a therapeutically effective amount. As used herein, the term "therapeutically effective amount" means the total amount of the drug or pro-drug that is sufficient to show a meaningful patient benefit, i.e., treatment, healing, prevention or amelioration of for example an immune disease, or an increase in rate of treatment, healing, prevention or amelioration of such conditions. In addition or alternatively, in particular with respect to pre-clinical testing of the drug the term "therapeutically effective amount" includes the total amount of the drug or pro-drug that is sufficient to elicit a physiological response, preferably upon its binding to its target TIRC7 or its ligand, in a non-human animal test.

Drugs or pro-drugs after their *in vivo* administration are metabolized in order to be eliminated either by excretion or by metabolism to one or more active or inactive metabolites (Meyer, J. Pharmacokinet. Biopharm. 24 (1996), 449-459). Thus, rather than using the actual compound or drug identified and obtained in accordance with the methods of the present invention a corresponding formulation as a pro-drug can be used which is converted into its active in the patient. Precautionary measures that may be taken for the application of pro-drugs and drugs are described in the literature; see, for review, Ozama, J. Toxicol. Sci. 21 (1996), 323-329.

In a preferred embodiment, the present invention relates to the method as disclosed herein, wherein the composition is a pharmaceutical composition. For this embodiment any one of the above described methods may comprise the steps of (a) modifying an agent identified by the method of the invention as a lead compound to achieve (i) modified site of action, spectrum of activity, organ specificity, and/or (ii) improved potency, and/or (iii) decreased toxicity (improved therapeutic index), and/or (iv) decreased side effects, and/or (v) modified onset of therapeutic action, duration of effect; and/or (vi) modified pharmacokinetic parameters (resorption, distribution, metabolism and excretion), and/or (vii) modified physico-chemical

parameters (solubility, hygroscopicity, color, taste, odor, stability, state), and/or (viii) improved general specificity, organ/tissue specificity, and/or (ix) optimized application form and route by (i) esterification of carboxyl groups, or (ii) esterification of hydroxyl groups with carbon acids, or (iii) esterification of hydroxyl groups to, e.g. phosphates, pyrophosphates or sulfates or hemi succinates, or (iv) formation of pharmaceutically acceptable salts, or (v) formation of pharmaceutically acceptable complexes, or (vi) synthesis of pharmacologically active polymers, or (vii) introduction of hydrophilic moieties, or (viii) introduction/exchange of substituents on aromates or side chains, change of substituent pattern, or (ix) modification by introduction of isosteric or bioisosteric moieties, or (x) synthesis of homologous compounds, or (xi) introduction of branched side chains, or (xii) conversion of alkyl substituents to cyclic analogues, or (xiii) derivatisation of hydroxyl group to ketales, acetals, or (xiv) N-acetylation to amides, phenylcarbamates, or (xv) synthesis of Mannich bases, imines, or (xvi) transformation of ketones or aldehydes to Schiff's bases, oximes, acetals, ketales, enolesters, oxazolidines, thiazolidines or combinations thereof; and (b) formulating the product of said modification with a pharmaceutically acceptable carrier.

The various steps recited above are generally known in the art. They include or rely on quantitative structure-action relationship (QSAR) analyses (Kubinyi, I. Med. Chem. 41 (1998), 22563-2564; Pharm. Unserer Zeit 23 (1994), 281-290), combinatorial biochemistry, classical chemistry and others.

The term "pharmaceutical composition", in context of this invention, optionally, further comprises other molecules, either alone or in combination, like e.g. molecules which are capable of modulating and/or interfering with the immune system. The pharmaceutical composition may be in solid, liquid or gaseous form and may be, inter alia, in a form of (a) powder(s), (a) tablet(s), (a) solution(s) or (an) aerosol(s).

The pharmaceutical composition of the present invention may further comprise a pharmaceutically acceptable carrier. Examples of suitable pharmaceutical carriers are well known in the art and include phosphate buffered saline solutions, water, emulsions, such as oil/water emulsions, various types of wetting agents, sterile solutions etc. Compositions comprising such carriers can be formulated by well

known conventional methods. These pharmaceutical compositions can be administered to the subject at a suitable dose. Administration of the suitable compositions may be effected by different ways, e.g., by intravenous, intraperitoneal, subcutaneous, intramuscular, topical or intradermal administration. The dosage regimen will be determined by the attending physician and clinical factors. As is well known in the medical arts, dosages for any one patient depends upon many factors, including the patient's size, body surface area, age, the particular compound to be administered, sex, time and route of administration, general health, and other drugs being administered concurrently.

Furthermore, the present invention relates to the use of an inhibitor as disclosed herein, an agent or a (poly)peptide as identified by the methods as disclosed herein or of an inhibitor as refined by the method as disclosed herein for the preparation of a pharmaceutical composition for the treatment of graft versus host disease, autoimmune diseases, allergic diseases, infectious diseases, sepsis, for the treatment of tumors, for the improvement of wound healing or for inducing or maintaining immune unresponsiveness in a subject.

Additionally, the present invention relates to a pharmaceutical composition comprising an inhibitor, a nucleic acid molecule, a vector and/or an agent as defined herein and/or a (poly)peptide identified by the method disclosed herein.

Furthermore, the present invention relates to a non-human transgenic animal overexpressing a gene product encoded by a nucleic acid sequence comprising a nucleotide sequence as defined herein above. Furthermore, the present invention also provides for a non-human transgenic animal, wherein the nucleic acid molecule as defined herein above or a homolog, paralog or ortholog thereof is silenced and/or mutated. Said non-human transgenic animals are particularly useful for medical and scientific research purposes and may comprise mice, rats, dogs, sheep and the like as well as non-vertebrates, like *C. elegans* or *Drosophila*. The non-human animal can be used in accordance with a screening method of the invention described herein. Production of transgenic embryos and screening of those can be performed, e.g., as described by A. L. Joyner Ed., *Gene Targeting, A Practical Approach*

(1993), Oxford University Press. The DNA of the embryonal membranes of embryos can be analyzed using, e.g., Southern blots with an appropriate probe.

Furthermore, the present invention relates to the use of the HLA-class II α chain or a fragment or derivative for the identification of drugs for the treatment of an immune disease or tumor or as a ligand in any one of the above defined methods.

In a further aspect, the present invention relates to a method of diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition in a subject related to a disorder which is mediated by or responsive to the activity of TIRC7, comprising:

- (a) determining the presence or absence of a mutation in a polynucleotide encoding HLA-class II α chain; and
- (b) diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition based on the presence or absence of said mutation.

In addition, the present invention relates to a method of diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition in a subject related to a disorder which is mediated by or responsive to the activity of TIRC7, comprising:

- (a) determining the presence or amount of expression of a HLA-class II α chain polypeptide in a biological sample; and
- (b) diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition based on the presence or amount of expression of the polypeptide.

In these embodiments, the HLA-class II α chain polynucleotides, nucleic acid molecules, (poly)peptide, antibodies or compounds identified above are preferably detectably labeled. A variety of techniques are available for labeling biomolecules, are well known to the person skilled in the art and are considered to be within the scope of the present invention. Such techniques are, e.g., described in Tijssen, "Practice and theory of enzyme immuno assays", Burden, RH and von Knippenburg (Eds), Volume 15 (1985), "Basic methods in molecular biology"; Davis LG, Diber MD; Ballew Elsevier (1990), Mayer et al., (Eds) "Immunochemical methods in cell and molecular biology" Academic Press, London (1987), or in the series "Methods in Enzymology", Academic Press, Inc. There are many different labels and methods of labeling known to those of ordinary skill in the art. Commonly used labels comprise,

inter alia, fluorochromes (like fluorescein, rhodamine, Texas Red, etc.), enzymes (like horse radish peroxidase, β -galactosidase, alkaline phosphatase), radioactive isotopes (like ^{32}P or ^{125}I), biotin, digoxigenin, colloidal metals, chemi- or bioluminescent compounds (like dioxetanes, luminol or acridiniums). Labeling procedures, like covalent coupling of enzymes or biotinyl groups, iodinations, phosphorylations, blotinylations, random priming, nick-translations, tailing (using terminal transferases) are well known in the art. Detection methods comprise, but are not limited to, autoradiography, fluorescence microscopy, direct and indirect enzymatic reactions, etc.

In addition, the above-described compounds etc. may be attached to a solid phase. Solid phases are known to those in the art and may comprise polystyrene beads, latex beads, magnetic beads, colloid metal particles, glass and/or silicon chips and surfaces, nitrocellulose strips, membranes, sheets, animal red blood cells, or red blood cell ghosts, duracytes and the walls of wells of a reaction tray, plastic tubes or other test tubes. Suitable methods of immobilizing HLA-class II α chain nucleic acids, (poly)peptides, proteins, antibodies, etc. on solid phases include but are not limited to ionic, hydrophobic, covalent interactions and the like. The solid phase can retain one or more additional receptor(s) which has/have the ability to attract and immobilize the reagent as defined above. This receptor can comprise a charged substance that is oppositely charged with respect to the reagent itself or to a charged substance conjugated to the capture reagent or the receptor can be any specific binding partner which is immobilized upon (attached to) the solid phase and which is able to immobilize the reagent as defined above.

Commonly used detection assays can comprise radioisotopic or non-radioisotopic methods. These comprise, inter alia, RIA (Radioisotopic Assay) and IRMA (Immune Radioimmunometric Assay), EIA (Enzym Immuno Assay), ELISA (Enzyme Linked Immuno Assay), FIA (Fluorescent Immuno Assay), and CLIA (Chemiluminescent Immune Assay). Other detection methods that are used in the art are those that do not utilize tracer molecules. One prototype of these methods is the agglutination assay, based on the property of a given molecule to bridge at least two particles.

For diagnosis and quantification of (poly)peptides, polynucleotides, etc. in clinical and/or scientific specimens, a variety of immunological methods, as described

above as well as molecular biological methods, like nucleic acid hybridization assays, PCR assays or DNA Enzyme Immunoassays (Mantero et al., Clinical Chemistry 37 (1991), 422-429) have been developed and are well known in the art. In this context, it should be noted that the HLA-class II α chain nucleic acid molecules may also comprise PNAs, modified DNA analogs containing amide backbone linkages. Such PNAs are useful, inter alia, as probes for DNA/RNA hybridization.

The above-described compositions may be used for methods for detecting expression of a HLA-class II α chain polynucleotide by detecting the presence of mRNA coding for a HLA-class II α chain (poly)peptide which comprises, for example, obtaining mRNA from cells of a subject and contacting the mRNA so obtained with a probe/primer comprising a nucleic acid molecule capable of specifically hybridizing with a HLA-class II α chain polynucleotide under suitable hybridization conditions, and detecting the presence of mRNA hybridized to the probe/primer. Further diagnostic methods leading to the detection of nucleic acid molecules in a sample comprise, e.g., polymerase chain reaction (PCR), ligase chain reaction (LCR), Southern blotting in combination with nucleic acid hybridization, comparative genome hybridization (CGH) or representative difference analysis (RDA). These methods for assaying for the presence of nucleic acid molecules are known in the art and can be carried out without any undue experimentation.

Furthermore, the invention comprises methods of detecting the presence of a HLA-class II α chain protein in a sample, for example, a cell sample, which comprises obtaining a cell sample from a subject, contacting said sample with one of the aforementioned antibodies under conditions permitting binding of the antibody to the HLA-class II α chain protein, and detecting the presence of the antibody so bound, for example, using immuno assay techniques such as radioimmunoassay or enzymeimmunoassay. Furthermore, one skilled in the art may specifically detect and distinguish polypeptides which are functional HLA-class II α chain proteins from mutated forms which have lost or altered their HLA-class II α chain activity by using

WO 02/36149

PCT/EP01/12485

23

an antibody which either specifically recognizes a (poly)peptide which has HLA-class II α chain activity but does not recognize an inactive form thereof or which specifically recognizes an inactive form but not the corresponding polypeptide having HLA-class II α chain activity.

Furthermore, the present invention relates to a method as described above wherein said sample is or is derived from hair, blood, serum, sputum, feces or another body fluid. The sample to be analyzed may be treated such as to extract, inter alia, nucleic acid molecules, (poly)peptides, or antibodies.

Preferably, the condition or immune disease mediated by TIRC7 and to be diagnosed in accordance with the above described methods is one of the group consisting of graft versus host disease, autoimmune disease, allergic disease, infectious disease, sepsis, tumor, in particular those involving immune cells, deficiency in wound healing and deficiency of a subject to elicit appropriate immune responses.

The present invention also relates to kit compositions containing HLA-class II α chain specific reagents such as those described herein-before. Kits containing HLA-class II α chain DNA or RNA, antibodies to HLA-class II α chain, or HLA-class II α chain protein may be prepared. Such kits are used to detect DNA which hybridizes to HLA-class II α chain DNA or RNA or to detect the presence of HLA-class II α chain protein or peptide fragments in a sample. Such characterization is useful for a variety of purposes including but not limited to forensic analyses, diagnostic applications, and epidemiological studies in accordance with the above-described methods of the present invention. The recombinant HLA-class II α chain proteins, DNA molecules, RNA molecules and antibodies lend themselves to the formulation of kits suitable for the detection and typing of HLA-class II α chain. Such a kit would typically comprise a compartmentalized carrier suitable to hold in close confinement at least one container. The carrier would further comprise reagents such as recombinant HLA-class II α chain protein or anti- HLA-class II α chain antibodies suitable for detecting HLA-class II α chain. The carrier may also contain a means for detection such as labeled antigen or enzyme substrates or the like.

The disclosure content of the documents as cited in this specification is herewith incorporated by reference.

These and other embodiments are disclosed and encompassed by the description and examples of the present invention. Further literature concerning any one of the methods, uses and compounds to be employed in accordance with the present invention may be retrieved from public libraries, using for example electronic devices. For example the public database "Medline" may be utilized which is available on the Internet, for example under <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/medline.html>. Further databases and addresses, such as <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, <http://www.infobiogen.fr/>, http://www.fmi.ch/biology/research_tools.html, <http://www.tigr.org/>, are known to the person skilled in the art and can also be obtained using, e.g., <http://www.lycos.com>. An overview of patent information in biotechnology and a survey of relevant sources of patent information useful for retrospective searching and for current awareness is given in Berks, TIBTECH 12 (1994), 352-364.

This disclosure may best be understood in conjunction with the accompanying drawings, incorporated herein by references. Furthermore, a better understanding of the present invention and of its many advantages will be had from the following examples, given by way of illustration and are not intended as limiting.

Unless stated otherwise in the examples, all recombinant DNA techniques are performed according to protocols as described in Sambrook et al. (1989), Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY or in Volumes 1 and 2 of Ausubel et al. (1994), Current Protocols in Molecular Biology, Current Protocols.

WO 02/36149

PCT/EP01/12485

25

The figures show:

Figure 1a: Shown is the cDNA sequence of human HLA DR alpha chain which contains 819 nucleotides and demonstrates the cDNA which has been isolated by screening of a yeast two hybrid library from human lymphocytes.

Figure 1b: The amino acid sequence of HLA DR molecule is shown which includes 254 amino acids starting with a methionin.

Figure 1c Shown is the coimmunoprecipitation of TIRC7 protein with HLA DR protein from human lymphocyte lysate by using specific anti-TIRC7 and anti HLA DR alpha chain antibodies.

The examples illustrate the invention.

Example 1: Identification of a ligand of TIRC7 by using two hybrid library screening

The TIRC7 cDNA published by Utku et al., *Immunity* 9 (1998), 509-518, was used to perform two-hybrid screening using the HYBRZAP 2.1 system by Stratagene, La Jolla, USA. Positive clones were assayed following the instructions of the distributor. The clone "cDNA-screen7" revealed a cDNA insert of 819bp length which showed 100 % identity with human leukocyte antigen class II-DR (Figure 1a - 1b).

Example 2: Immunoprecipitation of HLA-DR alpha chain

Coimmunoprecipitation was performed as described in Jöns et al., *Histochem. Cell. Biol.*, 1999, 111(4), 313-8. Briefly, activated human peripheral blood lymphocyte lysate (Figure 1c, lane 1) was used for immunoprecipitation of HLA-DR alpha chain by utilizing the CBL120 monoclonal antibody (Cybus-Biotechnology) (Figure 1c, lane2). In contrast, the control antibody, isotype IgG1 (Pharmingen) does not show any precipitation (Figure 1c, lane 3).

Claims

1. Use of an inhibitor interfering with the interaction of TIRC7 with its ligand for the preparation of a pharmaceutical composition for the treatment of graft versus host disease, autoimmune diseases, allergic diseases, infectious diseases, sepsis, for the treatment of tumors, for the improvement of wound healing or for inducing or maintaining immune unresponsiveness in a subject.
2. The use of claim 1, wherein said ligand is HLA-(Human Leukocyte associated Antigen) class II alpha (α) chain.
3. The use of claim 2, wherein said inhibitor is selected from the group consisting of:
 - (a) an agent binding to and/or interfering with a (poly)peptide or (a) fragment(s) thereof comprising an amino acid sequence as depicted in SEQ ID NO:2
 - (b) an agent binding to a (poly)peptide or (a) fragment(s) thereof encoded by a polynucleotide comprising a nucleotide sequence as depicted in SEQ ID NO:1; and
 - (c) an analogue or derivative of the (poly)peptide or the fragment(s) thereof as defined in (a) or (b);
4. The use of any one of claims 1 to 3, wherein said inhibitor is an aptamer or antibody specifically binding to the (poly)peptide(s) as defined in claim 2 or 3.
5. Use of a nucleic acid molecule encoding the inhibitor of any one of claims 1 to 4 for the preparation of a pharmaceutical composition for the treatment of graft versus host disease, autoimmune diseases, allergic diseases, infectious diseases, sepsis, for the treatment of tumors, for the improvement of wound healing or for inducing or maintaining immune unresponsiveness in a subject.

6. The use of claim 5, wherein said nucleic acid molecule is comprised in a vector.
7. A method of identifying and obtaining an agent capable of interfering with the interaction between TIRC7 and its ligand comprising the steps of
 - (a) testing a collection of (poly)peptides or substances for their ability to inhibit interaction between TIRC7 and HLA-class II α chain (poly)peptides or (a) fragment(s) thereof using a suitable readout system; and
 - (b) identifying (poly)peptides or substances which test positive for inhibition of the interaction of TIRC7 with its ligand in step (a).
8. The method of claim 7, wherein said HLA-class II α chain (poly)peptides or (a) fragment(s) thereof comprise an amino acid sequence derived from SEQ ID NO: 2 or being encoded by SEQ ID NO: 1.
9. The method of claim 7 or 8, further comprising the step of
 - (c) repeating steps (a) and (b) with the (poly)peptides or substances identified one or more times, wherein the newly identified (poly)peptide or substance replaces the previously identified (poly)peptide or substance as a bait for the identification of a further interacting (poly)peptide or substance.
10. A method of identifying and obtaining a (poly)peptide involved in the regulation of the immune response in a subject comprising the steps of
 - (a) contacting a collection of (poly)peptides with HLA-class II α chain (poly)peptides or (a) fragment(s) thereof or with a (poly)peptide or substance obtainable by the method of any one of claims 7 to 9, under suitable conditions that allow binding of said (poly)peptides; and
 - (b) removing (poly)peptides from said collection of (poly)peptides that did not bind to said (poly)peptide(s) or fragment(s) thereof as defined in (a); and

- (c) identifying (poly)peptides that bind to said (poly)peptide(s) or fragment(s) thereof as defined in (a).
11. A method for identifying and isolating an agent for treatment of immune diseases comprising the steps of:
- screening a host cell comprising a reporter gene whose transcription is directly or indirectly activated by dimers comprising TIRC7 and HLA-class II α chain or their corresponding interacting binding domains with a compound to be screened; and
 - selecting a compound that represses activation of the reporter gene.
12. The method of claim 11, wherein said host cell comprises a least one expression vector containing a DNA molecule encoding at least the HLA-class II α chain or a fragment thereof operatively linked to a transactivation or DNA binding domain.
13. A method of refining an inhibitor as defined in any one of claims 1 to 4 or an agent identified by the method of any one of claims 7 to 9, 11 or 12 or of a (poly)peptide identified by the method of claim 10 comprising
- modeling said agent or (poly)peptide by peptidomimetics; and
 - chemically synthesizing the modeled compound.
14. A method of producing a composition comprising formulating an inhibitor as defined in any one of claims 1 to 4 or an agent identified by the method of any one of claims 7 to 9, 11 or 12 or of a (poly)peptide identified by the method of claim 10 or an agent or (poly)peptide refined by the method of claim 13 and, optionally, a pharmaceutically acceptable carrier and/or diluent.
15. A method of producing a composition comprising the steps of the method of any one of claims 7 to 13, and a further step of formulating the agent or (poly)peptide and, optionally, a pharmaceutically acceptable carrier and/or diluent.

16. The method of claim 14 or 15, wherein the composition is a pharmaceutical composition.
17. Use of an agent identified by the method of any one of claims 7 to 9, 11 or 12 or of a (poly)peptide identified by the method of claim 10 or an agent or (poly)peptide refined by the method of claim 13 for the preparation of a pharmaceutical composition for the treatment of graft versus host disease, autoimmune diseases, allergic diseases, infectious diseases, sepsis, for the treatment of tumors, for the improvement of wound healing or for inducing or maintaining immune unresponsiveness in a subject.
18. A non-human transgenic animal overexpressing a gene product encoded by a nucleic acid molecule sequence comprising a nucleotide sequence of the nucleic acid molecule as defined in claim 5.
19. A non-human transgenic animal, wherein the nucleic acid molecule defined in claim 5 or a homolog, paralog or ortholog thereof is silenced and/or mutated.
20. Use of the HLA-class II α chain or a fragment or derivative for the identification of drugs for the treatment of an immune disease or tumor.
21. A method for treating of an immune disease or tumor comprising the administration to a subject of an effective amount of an agent obtained by the method of any one of claims 7 to 9 or 11 to 13.
22. A method of diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition in a subject related to a disorder which is mediated by or responsive to the activity of TIRC7, comprising:
 - (a) determining the presence or absence of a mutation in a polynucleotide encoding the HLA-class II α chain; and
 - (b) diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition based on the presence or absence of said mutation.

23. A method of diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition in a subject related to a disorder which is mediated by or responsive to the activity of TIRC7, comprising:
- (a) determining the presence or amount of expression of HLA-class II α chain polypeptide in a biological sample; and
 - (b) diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition based on the presence or amount of expression of the polypeptide.
24. A kit useful for the method of claim 22 or 23, said kit comprising a HLA-class II α chain polypeptide or a biologically active fragment thereof, a nucleic acid molecule encoding HLA-class II α chain or a nucleic acid molecule of at least 15 nucleotides in length hybridizing to a HLA-class II α chain gene, or an anti-HLA-class II α chain antibody, and optionally suitable means for detection.

WO 02/36149

PC/EP01/12485

1/2

```

actccaaaa gagcgcccaa gaagaaaatg gccataagtg gagtcctgt gctaggattt
51 ttcacabag ctgtgctgat gaggctcag gaatcatgg ctabcaaga agaactgtg
121 atcatccgg cggagttcta tctgaatcct gaaccaatcag gggagttat gtttgcctt
181 gatggtgatg agattttcca tgtgatatg gcaagaagg agcgggtctg ggggttgaa
241 gaatttgagc gatttgccag ctttgaggct caagtgcat tggccsacac agctgtggac
301 aaagccaact tggaaatcat gacaagcgc tccaaactata ctccatcac caatgtacct
361 coagagtaa ctgtgctcac gaacagcct gtggaactga gagagccaa cgtcctcctc
421 tgttcacag acaagtccac cccaccagt gtcaatgcca cgtggcttcg aatggaaaa
481 cotgtcacca caggagtgtc agagacagtc ttctgcccc ggaagacca cttttccgc
541 aagttccact atctcccctt cctgcccctc actgaggagc tttacgactg cagggtyggag
601 cactgggctc tggatgagcc tcttctcaag cactgggagt ttgatgctcc aagccctctc
661 ccagagacta cagagaactg ggtgtgtgcc ctggccctga ctgtgggtct ggtggcctc
721 attattggga ccacttctat catcaagggg ttggccaaaa gcaatgcagc agaagcagg
781 gggcctctgt aaggcacatg gaggtgatgg tgtttctta

```

Figure 1a

```

MAISGVPLGFFILAVLMSAQESWAIKEEHVLIQAEFVNLNPDQSGEFMFDFDGDIEIFVDM
KKEIVWRLEEFGRFASFEAQGALANLAVDKANLEIMTKRSNYTPIITNVPFEVTLTNSPVEL
REPVLICFIDKFTPPVVNVTWLRNGKPVTTGVSETVPLPREDHLPFKPHYLPPLPSTEDVY
DCRVEHWGLDEPLLKHWFDAFSPLETTENNVCALGLTVGLVGIITGTFIFIKGLRKSNA
ERRCPL

```

Figure 1b

WO 02/36149

PCT/EP01/12485

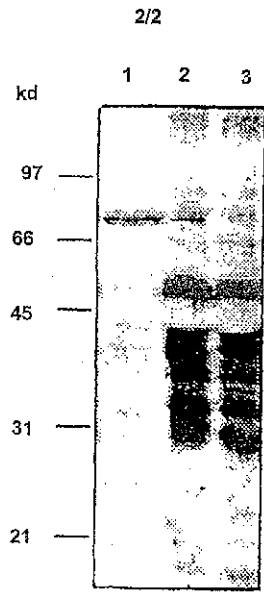


Figure 1c

WO 02/36149

PCT/EP01/12485

1/2

SEQUENCE LISTING

<110> GenPat 77 Pharmacogenetics AG
 <120> Use of inhibitors of TIRC7 ligand binding
 <130> E 2385 PCT
 <140>
 <141>
 <150> EP 0012 3666.0
 <151> 2001-10-30
 <160> 2
 <170> PatentIn Ver. 2.1
 <210> 1
 <211> 819
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 actcccaaaa gagcgcccaa gaagaaaatg gccataagtg gagtccctgt gctaggattt 60
 ttcacatag ctgtgtgat gagcgtcag gaatcatggg ctatcaaga agaacatgtg 120
 atcaatcagg ccgagttota tctgaatcct gcccaatcag gcggtttat gtttgacttt 180
 gatgggtgat agattttcca tctgatatg gcaagaagg agacggtctg gcggcttcaa 240
 gaatttggac gatctgccag ctttgaggct caaggtgcat tggccaacac agctgtggac 300
 aagccaact tggaaatcat gacaagcgc tccaactata ctccgatcac caatgtacct 360
 ccagaggtaa ctgtgtcac gaacaagcct gtggaactga gagagcccaa cgtctcac 420
 tghttcatag acaagtccac ccaaccagtg gtcaatgta cgtggcttcg aaatggaaaa 480
 cctgtcacca caggagtgtc agagacagtc ttcctgcca gggagacca cctttccgc 540
 aagtccact atctccctt cctgccccta actgaggacg tttagactg cagggtggag 600
 cactgggct tggatgagcc tcttctcaag cactgggagt ttgatgctc aagcctctc 660
 ccagagacta cagagaactg ggtgtgtgoc ctgggoccta ctgtggctct gttgggcatc 720
 attatggga caatcttcat catcaagga ttggcnaaa gcaatgcagc agaaccgag 780
 gggoccttgt aaggacatg gaggtgatg tgtttctta 819

<210> 2
 <211> 264
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 Met Ala Ile Ser Gly Val Pro Val Leu Gly Phe Phe Ile Ile Ala Val
 1 5 10 15
 Leu Met Ser Ala Gln Glu Ser Trp Ala Ile Lys Glu Glu His Val Ile
 20 25 30
 Ile Gln Ala Glu Phe Tyr Leu Asn Pro Asp Gln Ser Gly Glu Phe Met
 35 40 45
 Phe Asp Phe Asp Gly Asp Glu Ile Phe His Val Asp Met Ala Lys Lys

WO 02/36149

PCT/EP01/12485

2/2

50			55			60									
Glu	Thr	Val	Trp	Arg	Leu	Glu	Glu	Phe	Gly	Arg	Phe	Ala	Ser	Phe	Glu
65					70					75					80
Ala	Gln	Gly	Ala	Leu	Ala	Asn	Ile	Ala	Val	Asp	Lys	Ala	Asn	Leu	Glu
			65						90					95	
Ile	Met	Thr	Lys	Arg	Ser	Asn	Tyr	Thr	Pro	Ile	Thr	Asn	Val	Pro	Pro
			100					105						110	
Glu	Val	Thr	Val	Leu	Thr	Asn	Ser	Pro	Val	Glu	Leu	Arg	Glu	Pro	Asn
			115					120					125		
Val	Leu	Ile	Cys	Phe	Ile	Asp	Lys	Phe	Thr	Pro	Pro	Val	Val	Asn	Val
			130				135					140			
Thr	Trp	Leu	Arg	Asn	Gly	Lys	Pro	Val	Thr	Thr	Gly	Val	Ser	Glu	Thr
					150					155					160
Val	Phe	Leu	Pro	Arg	Glu	Asp	His	Leu	Phe	Arg	Lys	Phe	His	Tyr	Leu
					165				170					175	
Pro	Phe	Leu	Pro	Ser	Thr	Glu	Asp	Val	Tyr	Asp	Cys	Arg	Val	Glu	His
					180				185					190	
Trp	Gly	Leu	Asp	Glu	Pro	Leu	Leu	Lys	His	Trp	Glu	Phe	Asp	Ala	Pro
							200						205		
Ser	Pro	Leu	Pro	Glu	Thr	Thr	Glu	Asn	Val	Val	Cys	Ala	Leu	Gly	Leu
							210							220	
Thr	Val	Gly	Leu	Val	Gly	Ile	Ile	Ile	Ile	Gly	Thr	Ile	Phe	Ile	Ile
							230				235				240
Gly	Leu	Arg	Lys	Ser	Asn	Ala	Ala	Glu	Arg	Arg	Gly	Pro	Leu		
							245				250				

【国際公開パンフレット(コレクトバージョン)】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
10 May 2002 (10.05.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/036149 A3

- (61) International Patent Classification: **A61K 38/17**, 39/095, A61P 37/00, 31/00, 35/00
- (62) International Application Number: PCT/EP01/15485
- (63) International Filing Date: 29 October 2001 (29.10.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 00123666.0 30 October 2000 (30.10.2000) LP
- (71) Applicant and Inventor: UTKU, Nalan /DE/DE: Pflizberger Strasse 81, 10719 Berlin (DE).
- (74) Agent: STEINECKE, Peter; KNAUTH, Rechen- witz/Patentanwält, P.O. Box 31 01 40, 80103 München (DE).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, FR, GB, GR, GD, GH, GM, HN, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, SM, ST, SV, TD, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BI, CI, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).
- (54) Title: METHODS FOR OBTAINING INHIBITORS OF T-CELL MEMBRANE PROTEIN (TTRC7) LIGAND BINDING AND USES THEREOF
- (57) Abstract: Provided are uses of agents interfering with the interaction of TTRC7 with its ligand such as III A (Human Leukocyte associated Antigen) class II alpha (c) chain for the preparation of pharmaceutical compositions for the treatment of, graft versus host disease, auto-immune diseases, allergic diseases, infectious diseases, sepsis, for the treatment of tumors, for the improvement of wound healing or for inducing or maintaining immune responsiveness in a subject. In addition, methods for identifying and obtaining such agents are described. Furthermore, methods of diagnosing an immune disease or a tumor by determining the presence or absence of TTRC7 ligand are provided.



WO 02/036149 A3

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Inventor's Name PCT/EP 01/12485
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K38/17 A61K39/395 A61P37/00 A61P31/00 A61P35/00		
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): IPC 7 C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are indicated in the fields hereinafter:		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used): EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 11782 A (UTKU NALAN ; BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL (US); MILFORD EDGAR L (US);) 11 March 1999 (1999-03-11) cited in the application page 33, paragraph 3 - page 34, paragraph 1; claims 18-21	1
A	UTKU N ET AL: "PREVENTION OF ACUTE ALLOGRAFT REJECTION BY ANTIBODY TARGETING OF TIRC7, A NOVEL T CELL MEMBRANE PROTEIN" IMMUNITY, CELL PRESS, US, vol. 9, October 1998 (1998-10), pages 509-518, XP002188110 ISSN: 1074-7613 cited in the application the whole document	1-24
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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 relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but after the priority date claimed		
1 later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but relied 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 *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
21 January 2003	29/01/2003	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. Box 5018 Patentamt 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2240, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-1010	Authorised officer Ryckebosch, A	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 01/12485

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SAUBERMANN L J ET AL: "TIRC7 SPECIFIC AB, A NOVEL INHIBITOR OF ACTIVATED INTESTINAL T CELLS IN VITRO" GASTROENTEROLOGY, SAUNDERS, PHILADELPHIA, PA., US, vol. 4, PART 2, no. 116, April 1999 (1999-04), page A812 XP001073583 ISSN: 0016-5085 abstract nr. 63524 -----	1-24

Form PCT/ISA/210 (publication of essence) as at July 1992

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/EP 01/12485
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.	<input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.	<input checked="" type="checkbox"/>	Claims Nos.: 1-6,13,14,16,18,19 (all partly), and 15,17,21 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.	<input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(b).
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:		
1.	<input type="checkbox"/>	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2.	<input type="checkbox"/>	As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.	<input type="checkbox"/>	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.	<input type="checkbox"/>	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 claim Nos.:
Remark on Protest	<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
	<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP 01 12485

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCTISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 1-6,13,14,16,18,19 (all partly), and 15,17,21

Present claims 1-6,13,14,18,19 relate to the use of an inhibitor (or its encoding nucleic acid) defined by reference to a desirable characteristic or property, namely its property of interfering with the interaction of TIRC7 with its ligand.

The claims cover all inhibitors/agents having this characteristic or property, whereas the application provides support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT for only a very limited number of such agents. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Independent of the above reasoning, the claims also lack clarity (Article 6 PCT). An attempt is made to define the inhibitors/agents by reference to a result to be achieved. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be clear, supported and disclosed, namely those parts relating to the inhibitors/agents as partly defined in claims 2-4, namely antibodies specifically binding to HLA-class II alpha chain, more precisely, antibodies specifically binding to and/or interfering with a polypeptide comprising an amino acid sequence as depicted in SEQ ID NO:2 (encoded by a polynucleotide as depicted in SEQ ID NO:1).

Claims 13,14 (both partly),15, 16(partly),17 and 21 encompass a genus of compounds defined only by their function wherein the relationship between the structural features of the members of the genus and said function have not been defined. In the absence of such a relationship either disclosed in the as-filed application or which would have been recognized based upon information readily available to one skilled in the art, the skilled artisan would not know how to make and use compounds that lack structural definition. The fact that one could have assayed a compound of interest using the claimed assays does not overcome this defect since one would have no knowledge beforehand as to whether or not any given compound (other than those that might be particularly disclosed in an application) would fall within the scope of what is claimed. It would require undue experimentation (be an undue burden) to randomly screen undefined compounds for the claimed activity. Therefore, no search has been performed for claims 13,14 (both partly),15,16 (partly), 17 and 21 (Art. 83 and Art. 84 EPC).

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is

International Application No. PCT/EP 01 12485

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family membersInternational Application No.
PCT/EP 01/12485

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9911782	A	11-03-1999	
		DE 19738710 A1	18-03-1999
		AU 751151 B2	08-08-2002
		AU 9265498 A	22-03-1999
		CA 2301499 A1	11-03-1999
		WO 9911782 A1	11-03-1999
		EP 0996726 A1	03-05-2000
		JP 2001514852 T	18-09-2001

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 48/00	4 H 0 4 5
A 6 1 P 17/02	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 37/06	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 37/08	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 0 7 K 1/14	C 0 7 K 1/14	
C 1 2 N 15/09	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 Q 1/02	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/566	G 0 1 N 33/566	
// C 0 7 K 14/47	C 1 2 N 15/00	A
	A 6 1 K 37/02	
	C 0 7 K 14/47	

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, 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, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

Fターム(参考) 4B024 AA11 BA31 CA04 CA05 CA06 CA09 DA02 EA04 GA11 GA18
 HA03 HA08 HA12 HA14
 4B063 QA01 QA17 QA18 QA19 QQ03 QQ20 QQ42 QR08 QR32 QR41
 QR42 QR55 QR57 QR59 QR66 QR69 QR77 QR82 QS12 QS24
 QS25 QS28 QS34 QS39 QX01 QX07
 4C084 AA02 AA06 AA07 AA16 BA01 BA02 BA08 BA22 DC50 MA13
 MA17 MA35 MA43 MA52 MA55 MA56 MA66 NA14 ZA892 ZB072
 ZB082 ZB132 ZB262 ZB322 ZB352 ZC412
 4C085 AA13 AA14 AA16 BB11 BB41 BB44 CC22 CC23 GG02 GG03
 GG04 GG05 GG06 GG08
 4C086 AA01 EA16 MA13 MA17 MA35 MA43 MA52 MA55 MA56 MA66
 NA14 ZA89 ZB07 ZB08 ZB13 ZB26 ZB32 ZB35 ZC41
 4H045 AA30 BA10 CA40 DA86 EA50 FA10 FA72 FA74

专利名称(译)	用于提供TIRC7配体结合抑制剂的方法和设备		
公开(公告)号	JP2004512371A	公开(公告)日	2004-04-22
申请号	JP2002538960	申请日	2001-10-29
[标]申请(专利权)人(译)	Utukunaran		
申请(专利权)人(译)	Utuku纳朗		
[标]发明人	ウトウクナラン		
发明人	ウトウク, ナラン		
IPC分类号	A01K67/027 A61K31/7088 A61K38/00 A61K38/17 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P17/02 A61P31/00 A61P31/04 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K1/14 C07K14/47 C12N15/09 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/1709 A61P17/02		
FI分类号	A61K45/00.ZNA A01K67/027 A61K31/7088 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61P17/02 A61P31/04 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00.111 C07K1/14 C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.A A61K37/02 C07K14/47		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/BA31 4B024/CA04 4B024/CA05 4B024/CA06 4B024/CA09 4B024/DA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/GA18 4B024/HA03 4B024/HA08 4B024/HA12 4B024/HA14 4B063/QA01 4B063/QA17 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ20 4B063/QQ42 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR41 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR57 4B063/QR59 4B063/QR66 4B063/QR69 4B063/QR77 4B063/QR82 4B063/QS12 4B063/QS24 4B063/QS25 4B063/QS28 4B063/QS34 4B063/QS39 4B063/QX01 4B063/QX07 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA16 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/DC50 4C084/MA13 4C084/MA17 4C084/MA35 4C084/MA43 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/MA56 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA892 4C084/ZB072 4C084/ZB082 4C084/ZB132 4C084/ZB262 4C084/ZB322 4C084/ZB352 4C084/ZC412 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB11 4C085/BB41 4C085/BB44 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG05 4C085/GG06 4C085/GG08 4C086/AA01 4C086/EA16 4C086/MA13 4C086/MA17 4C086/MA35 4C086/MA43 4C086/MA52 4C086/MA55 4C086/MA56 4C086/MA66 4C086/NA14 4C086/ZA89 4C086/ZB07 4C086/ZB08 4C086/ZB13 4C086/ZB26 4C086/ZB32 4C086/ZB35 4C086/ZC41 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA86 4H045/EA50 4H045/FA10 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	萩野 干治		
优先权	2000123666 2000-10-30 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了干扰TIRC7与其配体如HLA-(人白细胞相关抗原) II类 α (α) 链相互作用的药剂的用途, 用于制备用于治疗移植物抗宿主病, 自身免疫疾病, 过敏的药物组合物。疾病, 感染性疾病, 败血症, 用于治疗肿瘤, 用于改善伤口愈合或用于诱导或维持受试者的免疫无应答性。另外, 描述了用于识别和获得这些代理的方法。此外, 提供了通过确定TIRC7配体的存在或不存在来诊断免疫疾病或肿瘤的方法。

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00 Z N A	4 B 0 2 4
A O 1 K 67/027	A O 1 K 67/027	4 B 0 6 3
A 6 1 K 31/7088	A 6 1 K 31/7088	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 38/395 D	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395 N	4 C 0 8 6
	審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 63 頁) 最終	

(21) 出願番号	特願2002-538960 (P2002-538960)	(71) 出願人	502156674
(86) (2) 出願日	平成13年10月29日 (2001.10.29)		ウトック ナラン
(85) 翻訳文提出日	平成15年4月25日 (2003.4.25)		ドイツ連邦共和国 ベルリン プ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2001/012485		バーガー シュトラッセ 8 1
(87) 国際公開番号	W02002/036149	(74) 代理人	100095577
(87) 国際公開日	平成14年5月10日 (2002.5.10)		弁理士 小西 富雄
(31) 優先権主張番号	00123666.0	(74) 代理人	100100424
(32) 優先日	平成12年10月30日 (2000.10.30)		弁理士 中村 和公
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100114362
			弁理士 萩野 幹治
		(72) 発明者	ウトック, ナラン
			ドイツ国 1 0 7 1 9 ベルリン
			バーガー ストラッセ 8 1
			最終頁