

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公開特許公報** (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002 - 95472

(P2002 - 95472A)

(43)公開日 平成14年4月2日 (2002.4.2)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ト* (参考)
C 1 2 N 15/02		A 6 1 K 39/395	U 2 G 0 4 5
A 6 1 K 39/395		45/00	4 B 0 2 4
45/00		A 6 1 P 11/06	4 B 0 6 4
A 6 1 P 11/06		17/00	4 C 0 8 4
17/00		29/00	4 C 0 8 5

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 8 数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 284608 (P2000 - 284608)

(22)出願日 平成12年9月20日 (2000.9.20)

(71)出願人 399027794

三菱東京製薬株式会社

東京都中央区日本橋本町二丁目2番6号

(72)発明者 三宅 健介

佐賀県佐賀市八戸溝3丁目10 - 114

(74)代理人 100092831

弁理士 松山 直行 (外 1 名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 MD - 1 分子に特異的に反応するモノクローナル抗体

(57)【要約】

【課題】抗原の定量および検出、医薬品ならびに診断薬に応用可能なMD - 1 分子を特異的に認識するモノクローナル抗体を提供する。

【解決手段】本発明のモノクローナル抗体は、MD - 1 分子が本来の立体構造を持つように、細胞表面上に発現するMD - 1 分子で適当な宿主を免疫処置することで得られる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】MD - 1 分子に特異的に反応するモノクローナル抗体またはその活性フラグメント。

【請求項 2】MD - 1 分子と会合する R P 1 0 5 分子からのシグナル伝達に対し、影響を及ぼす請求項 1 に記載のモノクローナル抗体またはその活性フラグメント。

【請求項 3】MD - 1 分子/R P 1 0 5 分子 発現細胞における細胞増殖刺激に対し、増殖抑制作用を有する請求項 1 に記載のモノクローナル抗体またはその活性フラグメント。

【請求項 4】請求項 1 乃至 3 に記載のモノクローナル抗体またはその活性フラグメントを含有する免疫調節薬または診断薬。

【請求項 5】アレルギー、自己免疫疾患、喘息、炎症、アトピー性疾患、敗血症を調整する請求項 4 に記載の免疫調節薬。

【請求項 6】請求項 1 乃至 3 に記載のモノクローナル抗体またはその活性フラグメントを刺激物質として用いる化合物のスクリーニング方法。

【請求項 7】請求項 6 のスクリーニング方法において選 20 択される化合物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、抗原の定量および検出、医薬品ならびに診断薬に応用可能な MD - 1 分子を特異的に認識するモノクローナル抗体に関するものである。

【0002】

【従来の技術】B 細胞は細胞表面に存在する免疫グロブリンを介して抗原刺激を受け取り、外来抗原の刺激に 30 応じて種々の抗原特異的 B 細胞が活性化され、特異抗体を産生し、侵入して来た抗原の排除に寄与する。一方、自己抗原と反応する B 細胞クローンはこの過程において負の増殖シグナルを受け、除去されたり（クローナル・デリーション）、不応答（クローナル・アナージー）になることが知られている。この外来抗原刺激による B 細胞の活性化が正常に行われない場合、自己抗体の産生などを引き起こし、自己免疫疾患が発症すると考えられる。

【0003】最近の研究によると、未熟 B 細胞のみならず、成熟 B 細胞も、抗原、抗免疫グロブリン抗体により 40 B 細胞表面 I g M を架橋することにより、細胞死（アポトーシス）が引き起こされることが明らかとなってきた。

【0004】しかし、生体内において、このような抗原刺激、表面 I g M の架橋により B 細胞がアポトーシス、アナージーに至れば、正常の免疫応答でみられる抗体産生がみられないこととなり、実際の生体の免疫応答と矛盾する。したがって、B 細胞が抗原刺激に反応して増殖する為には、そのアポトーシスをキャンセルする別のシグナル（第 2 のシグナル）の関与が必要となる。

【0005】R P 1 0 5 分子は、成熟 B 細胞に発現し、pre- B 細胞や T 細胞には発現しない細胞表面分子である。この R P 1 0 5 分子は、脾臓の B 細胞を放射線照射により誘導されるアポトーシスから防御する R P (radio protective) 抗体の抗原として同定された。R P 1 0 5 分子は、その RP 抗体でクロスリンクされると、アポトーシスに対し抵抗すると同時に、B 細胞を増殖させる強力な活性化シグナルを伝達する。興味深いことに、これらの活性化され増殖している B 細胞抗原レセプターからの刺激が入ると、B 細胞の増殖を抑制しアポトーシスを起こす。このように R P 1 0 5 分子は B 細胞の増殖と、抗原により誘導されるアポトーシスの制御に関与する。

【0006】R P 1 0 5 分子は分子量 105kDa のタイプ I 膜貫通型蛋白質で、細胞外ドメインには蛋白質-蛋白質相互作用に関与すると言われるモチーフであるロイシンリッチ受容体 (Leucine-rich repeat) を持ち、細胞内蛋白質は短い。以上より、R P 1 0 5 分子には信号伝達分子が会合していることが予想された。

【0007】本発明者らは、R P 1 0 5 分子の会合分子を検索するために免疫沈降実験を行い、22kDa と 25kDa の蛋白質を得た。その後、蛋白質を精製し、N 末端アミノ酸シークエンサーを用い 25kDa 蛋白質の N 末端アミノ酸 24 個を決定した。同じ配列が 22kDa 分子からも得られた。この配列は、NCBI database の検索より、新規の蛋白質であることがわかり、その遺伝子のクローニングを行った (J. Immunology 161:1348-1353, 1998)。

【0008】先に決定した蛋白質の N 末端アミノ酸シークエンスを基に、縮重 (degenerate) プライマーを作製し、B C L 1 細胞から作製した c D N A ライブラリーをテンプレートとして P C R を行い D N A 増幅を行った。得られた P C R 増幅産物の塩基配列を決定し、アミノ酸配列をコードしているのを確認したうえで、この配列をプローブとして再度 B C L 1 細胞の c D N A ライブラリーをスクリーニングした結果、長さ約 1 k b の c D N A を得、全塩基配列を決定した。全てのアミノ酸配列を用いて再度データベースを検索したところ、v-myb regulated gene の一つである MD - 1 分子が高いホモロジーを示し、この分子が MD - 1 分子のマウスホモログであると同定された。

【0009】本発明者らは、上述したように、すでにマウス MD - 1 分子蛋白質をコードする c D N A を単離し、その全塩基配列を決定している (J. Immunology 161:1348-1353, 1998)。このマウス MD - 1 分子をコードする遺伝子を基に、ヒト MD - 1 分子を単離することを目的とした研究を重ね、ヒト MD - 1 分子をコードする遺伝子をクローニングすることに成功した。

【0010】細胞表面をビオチン化した細胞ライゼートを用いた免疫沈降実験により、MD - 1 分子は細胞表面

に存在することが示された。しかしながら、そのcDNAクローン(cDNA clone)は二つめの疎水性部分を持たず、分泌蛋白質と予想された。本発明者らは、MD-1分子flag(MD-1分子遺伝子の端にflagというepitope(エピトープ)蛋白質を結合したもの)cDNAを293T細胞へトランスフェクトしたところ、293T細胞上にflag epitopeは検出されなかったが、培養上清中には検出された。ところが、RP105分子cDNAをMD-1分子flag cDNAと共にトランスフェクションすると、細胞表面上にflag epitopeが検出された。このようにMD-1分子は分泌蛋白質であるが、RP105分子と結合することで細胞表面に存在することができる。

【0011】RP105分子の発現におけるMD-1分子の役割、およびMD-1分子の機能を調べるため、RP105分子モノマーおよびRP105分子/MD-1分子ヘテロダイマーの性質の差を調べた。RP105分子は単独またはMD-1分子と共に293T細胞上に発現させ、抗RP抗体で検出することができる。MD-1分子cDNAと共にトランスフェクトすると、RP105分子cDNAのみをトランスフェクトした細胞に比較してRP105分子陽性細胞の比率が上昇した。RP105分子cDNAを、他の関係のない分子をコードするLy-6A/E cDNAと共にトランスフェクションしたコントロール実験では、RP105分子陽性細胞の比率はRP105分子cDNAだけのトランスフェクションの約半分であった。すなわち、MD-1分子はRP105分子の細胞膜への発現を促進させることが明らかとなった。

【0012】本発明者はさらに、全身性エリテマトーデス(以下SLE)患者の末梢血B細胞におけるRP105分子の発現について検討し、SLE患者の末梢血B細胞にRP105分子未発現細胞が含まれること、RP105分子未発現B細胞の割合とSLE疾患の程度とが正に相関することを示している(Arthritis&Rheumatism, 42, 2593-2600, 1999)。これらの結果はRP105分子の発現抑制により、RP105分子からのシグナルを回避したB細胞がSLE患者の自己抗体産生細胞になっている可能性を示している。

【0013】近年、RP105分子のもつLPRドメインを有する一群の蛋白質(Toll Like Receptor ; TLR)が明らかにされ、その中の一部(TLR-2、-4)の蛋白質がLPSに代表されるエンドトキシンの応答に重要な役割をになっていることが明らかになった。MD-1分子とホモロジーを有するMD-2分子はTLR-4分子に結合することが明らかになり、RP105分子-MD-1分子複合体もまた、TLR-4-MD-2分子複合体とさらに結合し、RP105分子-MD-1分子/TLR-4-MD-2分子という複合体を形成することが明らかになった。このように、RP105分子-MD-1分子複合体はB細胞の増殖やアポトーシスの

制御のみならず、外来毒素に対する自然免疫の応答の制御にも関与している可能性が示された。

【0014】

【発明が解決しようとする課題】前記したとおり、MD-1分子は抗原レセプターを介した正常B細胞の増殖、アポトーシスに深く関与している分子であり、その存在はアポトーシスの制御における第2のシグナルを導入するマウスRP105分子の発現を制御する可能性が高く、アポトーシスの正負の制御に重要な働きを担う分子であると考えられる。

【0015】さらに、LPS等の外来毒素に対する自然免疫の応答制御においても重要な役割を担う分子であることが予想される。

【0016】しかし、これまでに抗MD-1分子抗体は取得されておらず、MD-1分子の機能については未知な点が多い。本発明者は、MD-1分子の機能解析、疾患との関連の検討および治療薬、診断薬などへの臨床応用を目的とし、抗MD-1分子抗体の取得のため、鋭意検討してきた。

【0017】本発明は、抗MD-1分子抗体の自己免疫疾患、炎症、アレルギー等に対する免疫調節薬、および、これらの診断薬への臨床応用の可能性を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】本発明者は、B細胞上に発現するRP105分子と会合するMD-1分子がRP105分子の発現調節、B細胞の増殖、分化、アポトーシスの制御等に重要な分子であるという考えのもと、このMD-1分子に対するモノクローナル抗体を開発することにより、B細胞の増殖、分化、アポトーシスの制御機構の解明に役立てるとともに、B細胞の抗体産生に関する疾患、自己免疫疾患、アレルギー疾患、喘息、アトピー性皮膚炎等疾患の治療、診断への糸口が見つかるのではないかと考え、本発明を完成させるに至った。

【発明の実施の形態】以下、本発明に関し詳細に説明する。

【0018】本発明のモノクローナル抗体は、MD-1分子が本来の立体構造を持つように、細胞表面上に発現するMD-1分子で適当な宿主を免疫処置することで得られる。

【0019】本発明のモノクローナル抗体および該モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマは、例えば、以下のようにして作製することができる：(1)MD-1分子/RP105分子複合体を強制発現させたマウスB細胞リンホーマ細胞株M12細胞で齧歯類動物を免疫感作し、(2)免疫した齧歯類動物から脾臓を摘出して、脾細胞の懸濁液を形成し、(3)該脾細胞懸濁液をマウスのミエローマ細胞と融合促進剤の存在下で混合して、両細胞を融合し、(4)融合した細胞を未融合のミエローマ細胞を支持しない媒質中で希釈して培養して、抗体産生細胞とミエローマ細胞が融合したハイブリド-

マを選別し、(5)(4)で得たハイブリドーマを適当な条件下で培養し、該ハイブリドーマから産生されるモノクローナル抗体を回収し、このモノクローナル抗体を用いて、MD-1分子/RP105分子複合体を強制発現させたヒトkidney line 293 T細胞(ATTC CRL1573)との反応性を指標として、抗体の存在を確認し、(6)所望の抗体を生成するハイブリドーマを選択した後、限界希釈法により、単クローンにし、(7)この単クローンのハイブリドーマの培養液からモノクローナル抗体を回収する。

【0020】本発明のモノクローナル抗体には、「ヒト型化」抗体(キメラ抗体およびCDR-移植抗体を含む)、抗体断片、および、本発明のモノクローナル抗体に基づく二価抗体も含まれる。同様に、原核生物もしくは真核生物細胞中に生成された組み換え抗体関連生成物も本発明の範疇にある。例えば、FabおよびF(ab')₂断片のような抗体断片は、本発明の抗体の可変領域に関する構造(配列)情報が決定され次第、大腸菌、酵母、昆虫および哺乳類細胞などの宿主細胞を使用して培養器中で生成できる。可変領域に関する配列情報もまた、CDR-移植した抗体の調製を可能にする。さらに、キメラ抗体(例えば、マウス/ヒト抗体)は、形質転換したマウスミエローマ細胞あるいはハイブリドーマ細胞を用いて調製でき、また、二価抗体もハイブリッド・ハイブリドーマ細胞によって生成される。

【0021】本発明のMD-1分子に対するモノクローナル抗体は、MD-1分子と特異的に反応することから、種々の用途がある。すなわち、ヒトB細胞の同定、B細胞のシグナル伝達機構の解明、B細胞の抗体産生調節機序の解明、B細胞の抗体産生に關与する疾患、自己免疫疾患、アレルギー疾患、喘息、アトピー性皮膚炎等疾患の解析である。細胞表面分子の中にはその可溶性分子が体液(例えば血液)中へ遊離することが報告されている分子が存在し(Katayama, M et.al. (1991)Clin.Chim. Acta 202, 179-190)、本発明のモノクローナル抗体は、体液中の可溶性分子の存在を決定するための診断方法および/またはキットに使用できる。

【0022】また、本発明のモノクローナル抗体、好ましくはIgG抗体は、B細胞の増殖または抗体産生の異常に起因する疾患の患者に対する治療の目的での使用に好適である。例えば、自己抗体を産生する自己免疫疾患患者に対して免疫学的有効な量のモノクローナル抗体が投与される。

【0023】本発明のモノクローナル抗体は、B細胞の増殖または抗体産生の異常に起因する疾患の患者に対する治療において、他の免疫学的薬剤および/または化学的治療薬を組み合わせる事も出来る。混合投与に適した薬剤としては、補体、抗原結合部位および非抗原結合部位領域に結合する抗体、およびシクロフォスファミドのような化学薬剤等が挙げられる。

【0024】また、エンドトキシンショックや敗血症の治療においても、過剰な免疫応答を制御する目的で使用される。

【0025】

【実施例】以下、本発明を実施例により、更に詳細に説明するが、本発明は、特にこれに限定されるものではない。

【0026】実施例1 免疫感作

ラット腎臓由来細胞株であるNRK(normal rat kidney)細胞にマウスRP105分子cDNAを挿入したEF1プロモーターを有するpEF-BOSベクター(Nucleic Acids Res 1990 Sep 11;18(17):5322 pEF-BOS, a powerful mammalian expression vector. Mizushima S, Nagata S Osaka Bioscience Institute, Japan.)、マウスMD-1分子cDNAを挿入したpEF-BOSベクターおよびピューロマイシン耐性遺伝子を挿入したプラスミド;pSV2purで共トランスフェクトし、ピューロマイシン含有培地で培養し、薬剤耐性クローンのFACS解析により、マウスRP105分子/MD-1分子複合体発現細胞NRKm RP105分子/MD-1分子を得た。

【0027】NRKm RP105分子/MD-1分子細胞 1×10^7 個をPBSに懸濁し、フロイド完全アジュバントとコンジュゲートしてWister ラット(メス1匹)の両側足底部と尾根部に免疫した。

【0028】実施例2 細胞融合

免疫1週間後、上記で免疫感作したラットのソケイ部、膝下、後腹膜のリンパ節からリンパ節細胞を取り出した。取り出した細胞をRPMI1640培地に浮遊させ、リンパ節細胞 2.2×10^8 個を得た。このリンパ節細胞を、SP2/0ミエローマ細胞(ATTC CRL1581) 3×10^7 個と約7:1の割合で混合し、遠心した(1500rpm, 5分間)。得られた細胞のペレットに、融合促進剤としてポリエチレングリコール/RPMI1640溶液を加え、細胞融合を行った。細胞融合後、大量(約40ml)のRPMI1640液を加え、遠心分離して上清を除去した。次いで、ヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジンを含む10% FBS-RPMI1640培地(HAT)培地にて、脾細胞が 1×10^6 個/mlになるように調製した。

【0029】実施例3 ハイブリドーマの選別

上記で調製した細胞浮遊液を、96ウェル(培養穴)マイクロプレート10枚に200 μ lずつ分注し、37、5%CO₂下にあるCO₂インキュベーターで細胞を培養した。約2週間後には、ハイブリドーマのみがコロニーを形成し、増殖していることが確認できた。

【0030】実施例4 抗体の検出

次に、ハイブリドーマが十分増殖していることが確認されたので、その培養上清を用い、得られたハイブリドーマが産生する抗体が、マウスMD-1分子と反応する

か否かをフローサイトメトリーで調べ、抗体の検出を行った。まず、IL-3依存性マウスBa/F3にヒトRP105分子とマウスMD-1分子を共発現させた細胞(Ba/F3 hRP/mMD)への結合をフローサイトメトリーにより解析した。さらに、上記細胞株に反応する抗体のうち、Ba/F3細胞および、マウスRP105分子を発現させたBa/F3細胞(Ba/F3 mRP)には反応しないクローンを選別した。

【0031】Ba/F3 hRP/mMD細胞を回収後、チューブにPBSで懸濁した細胞を 1×10^6 個ずつ入れ遠心(1500rpm、5分間)し、上清を除いたのち、ハイブリドーマの培養上清を100 μ lずつ入れ、氷上で30分間反応させた。次に、PBSで遠心洗浄(1500rpm、5分間、2回)し、FITC-抗マウスIg's(Cappel社製)(50倍希釈)を100 μ l入れ、氷上で30分間反応させた。その後、PBSで遠心洗浄を2回行い、PBS1mlに懸濁し、FACScanで測定した。その結果、Ba/F3 hRP/mMD細胞との反応が確認されたハイブリドーマについて、さらに、Ba/F3細胞および、Ba/F3 mRPを用い、同様の方法でFACScanにて解析し、両細胞に反応しない抗体を産生するハイブリドーマを選別した。

【0032】以上の結果、細胞表面に発現するマウスMD-1分子に特異的に反応する抗体を産生するハイブリドーマを取得することができた。

【0033】実施例5 クローニング

抗体産生細胞を、限界希釈法により1個/ウェルとなるように、96ウェル・マイクロプレートに分注し、培養した。10日間の培養の後、シングルコロニーの増殖が確認できたため、再び(4)の抗体検出の操作を施した。その結果、マウスMD-1分子に対するクローンが得られた。

【0034】実施例6 抗体の取得

ハイブリドーマを、あらかじめプリスタン 0.5 ml腹腔に投与した先天性免疫不全症マウス(SCID)の腹腔内に、1匹当たり、 1×10^7 個接種した。1週間から10日後に貯留した腹水を採取し、ABxカラムクロマトグラフィー(J.T.Baker Inc., Phillipsburg, NJ)を用いてモノクローナル抗体を精製した。

【0035】実施例7 モノクローナル抗体の反応性試験

このようにして得られた抗マウスMD-1分子抗体の反応性を解析した。

【0036】BaRP30(Ba/F3細胞にマウスRP105分子を発現させた細胞)、BaRPMD(Ba/F3細胞にマウスRP105分子とマウスMD-1分子を発現させた細胞)および、BaHRPmMD-1分子#15(Ba/F3細胞にヒトRP105分子とマウスMD-1分子を発現させた細胞)の各細胞を回収

後、チューブにPBSで懸濁した細胞を 1×10^6 個ずつ入れ遠心(1500rpm、5分間)し、上清を除いた。次に、100 μ g/mlに調製した、各種抗体(RP/14;抗マウスRP105分子抗体、RP404;抗マウスRP105分子/MD-1分子複合体抗体、MD79, MD88, MD113;抗マウスMD-1分子抗体)を100 μ lずつ入れ、氷上で30分間反応させた。次に、PBSで遠心洗浄(1500rpm、5分間、2回)し、FITC-抗マウスIg's(Cappel社製)(50倍希釈)を100 μ l入れ、氷上で30分間反応させた。その後、PBSで遠心洗浄を2回行い、PBS1mlに懸濁し、FACScanで測定した。その結果、MD79、MD88及びMD113はいずれもマウスMD-1分子発現細胞に反応し、マウスRP105分子単独発現細胞には反応しないことより、マウスMD-1分子を認識していることが確認された。

【0037】実施例8 抗マウスMD-1分子モノクローナル抗体の機能試験(抗RP105分子抗体および、抗CD40抗体による脾細胞増殖に対する効果)

B6マウスより脾臓を取り出し、すりつぶしたのち、メッシュを通し、脾細胞を調製した。脾細胞をFBSを含まないRPMI培地で2回洗浄し、FBSを10%含むRPMI培地に 4×10^5 個になるよう懸濁し、96穴プレートに100 μ lずつ播種した。

【0038】抗マウスMD-1分子抗体(MD79、MD88およびMD113)をFBSを10%含むRPMI培地で20 μ g/mlの濃度に調製し、それぞれ50 μ l/well加えた。さらに、刺激物質としてFBSを10%含むRPMI培地に抗マウスRP105分子抗体(RP/16)および抗CD40抗体(LB249S)をそれぞれ8 μ g/mlおよび40 μ g/mlに調製し、それぞれ50 μ l/well加えた。CO₂インキュベーターで2日間培養し、PBSで50 μ Ci/mlに希釈したトリチウム標識チミジン(以下、³H-TdR)を10 μ l/well加え、さらに16時間培養した。セルハーベスターで細胞をガラスフィルター上に回収したのち、シンチレンターに浸し、カウンターでカウントを測定した。抗MD-1分子抗体は抗RP105分子抗体による脾細胞の増殖を完全に抑制した。また、抗CD40抗体による脾細胞の増殖を部分的(20-50%)に抑制した。

【0039】実施例9 抗マウスMD-1分子モノクローナル抗体の機能試験(LPS刺激による脾細胞増殖に対する効果)

ICRマウスより脾臓を取り出し、すりつぶしたのち、メッシュを通し、脾細胞を調製した。脾細胞をFBSを含まないRPMI培地で2回洗浄し、FBSを10%含むRPMI培地に 4×10^5 個になるよう懸濁し、96穴プレートに100 μ lずつ播種した。

【0040】抗マウスMD-1分子抗体(MD79、M

D88、およびMD113)をFBSを10%含むRPMI培地で40μg/mlの濃度に調製し、それぞれ50μl/well加えた。さらに、刺激物質としてFBSを10%含むRPMI培地にLPSを4μg/mlに調製し、50μl/well加えた。CO₂インキュベーターで2日間培養し、PBSで50μCi/mlに希釈した³H-TdRを10μl/well加え、さらに16時間培養した。セルハーベスターで細胞をガラスフィルター上に回収したのち、シンチレーターに浸し、カウンターでカウントを測定した。抗MD-1分子抗体はLPSによる脾細胞の増殖を部分的(40-50%)に抑制した。

【0041】

【発明の効果】本発明により、MD-1分子に対するモノクローナル抗体を提供することができる。

【0042】MD-1分子はRP105分子とともに細胞表面上に発現する蛋白質である。RP105分子の低発現細胞がSLE患者末梢血細胞に含まれることから、本モノクローナル抗体はSLEなどの自己免疫疾患の診断に有効である。また、本発明のモノクローナル抗体はMD-1分子の機能解析に用いられうる。今回、本発明のモノクローナル抗体を用い、本抗体が抗RP105分子抗体によるB細胞の増殖を完全に抑制すること、抗CD40抗体やLPS刺激によるB細胞の増殖を部分的に抑制することを示した。これらの知見より、本発明のモ*

*モノクローナル抗体がB細胞の異常増殖を伴う疾患、自己抗体産生に關与する疾患(自己免疫疾患、アレルギー性疾患、喘息、炎症およびアトピー性皮膚炎等)、および敗血症の治療および病態解析に有効である。

【0043】本発明のモノクローナル抗体はB細胞に何らかのシグナルを伝達する可能性が示唆され、本抗体はB細胞のシグナル伝達機構の解明、抗体産生調節機序の解明に有効である。また、本抗体を刺激物質として用いることで、MD-1分子の機能を促進または阻害する物質のスクリーニング系の構築が可能であり、ここで得られた物質は免疫調節薬として機能しうる。

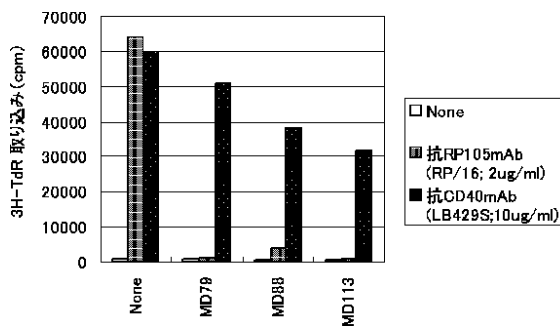
【図面の簡単な説明】

【図1】実施例7における、抗マウスMD-1分子抗体のマウスMD-1分子発現細胞への反応性を示した、フローサイトメトリーの結果を示す図。図の縦軸は細胞数、横軸は蛍光強度を表す。

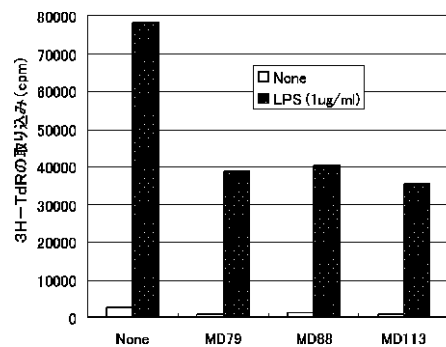
【図2】実施例8における、抗RP105分子抗体および、抗CD40抗体による脾細胞増殖に対する抗マウスMD-1分子抗体の抑制効果を示す図。グラフの縦軸は脾細胞に取り込まれた³H-TdRの放射活性を示す。

【図3】実施例9における、LPS刺激による脾細胞増殖に対する抗マウスMD-1分子抗体の抑制効果を示す図。グラフの縦軸は脾細胞に取り込まれた³H-TdRの放射活性を示す。

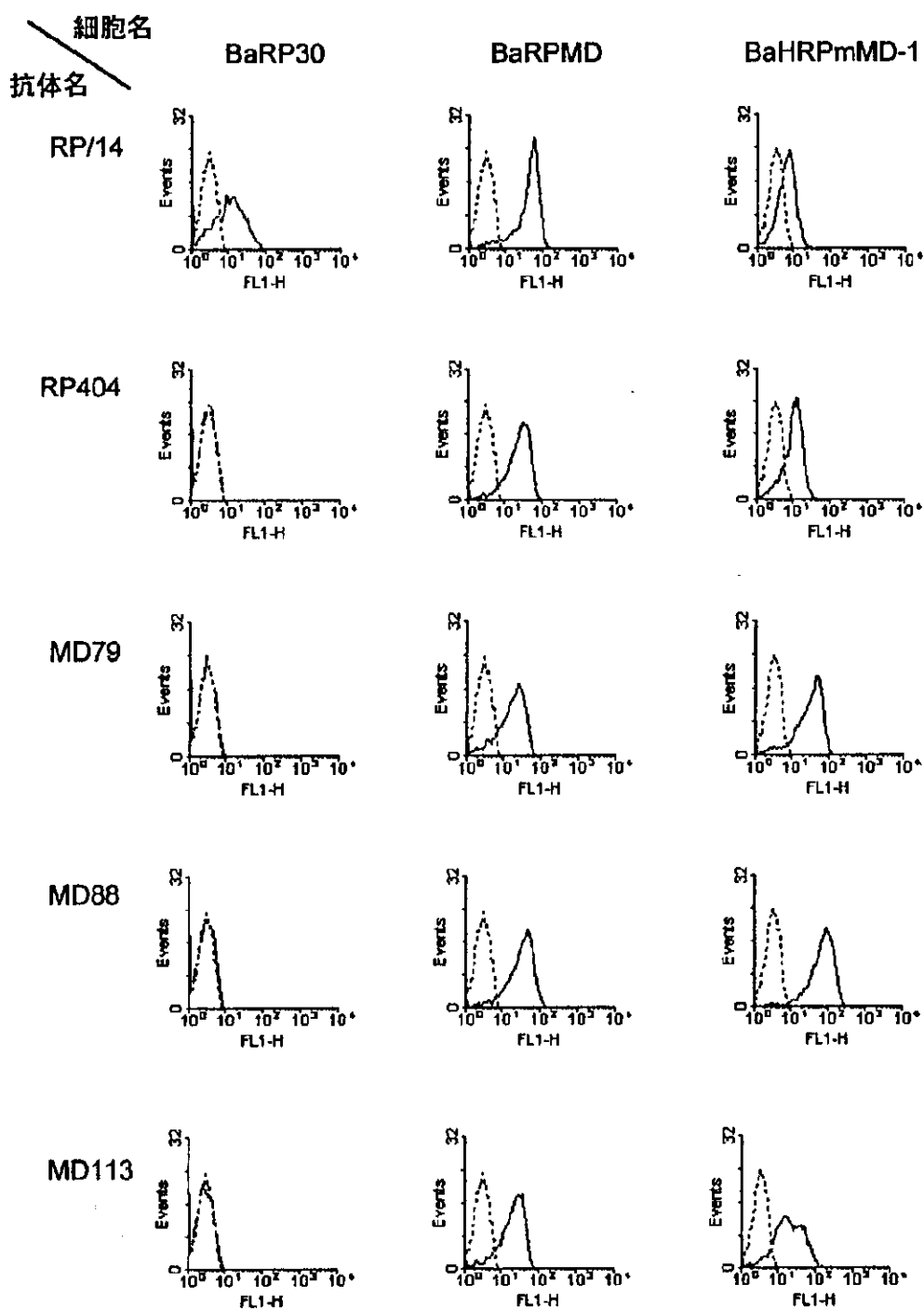
【図2】



【図3】



【図1】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

A 6 1 P 29/00
 37/02
 37/08
 43/00

識別記号

1 2 1

F I

A 6 1 P 37/02
 37/08
 43/00
 C 0 7 K 16/28

テ-マ-コ-ト (参考)

4 H 0 4 5

1 2 1

C 0 7 K	16/28	C 1 2 P	21/08	
C 1 2 P	21/08	G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N	33/15		33/50	Z
	33/50		33/53	D
	33/53		33/577	B
	33/577	C 1 2 R	1:91)	
/(C 1 2 N	15/02	(C 1 2 P	21/08	
C 1 2 R	1:91)	C 1 2 R	1:91)	
(C 1 2 P	21/08	C 1 2 N	15/00	C
C 1 2 R	1:91)	C 1 2 R	1:91)	

F ターム(参考) 2G045 AA40 CB01 FB03 FB08
 4B024 AA01 AA15 BA31 BA43 CA04
 DA02 EA04 FA02 GA03 GA11
 GA19 HA15
 4B064 AG01 AG27 CA10 CA19 CA20
 CC24 CE10 DA01 DA13
 4C084 AA17 NA14 ZA592 ZA892
 ZB072 ZB112 ZB132 ZC752
 4C085 AA14 AA16
 4H045 AA11 AA20 AA30 CA40 DA76
 DA86 EA22 FA72 FA74 GA21

专利名称(译)	与MD-1分子特异性反应的单克隆抗体		
公开(公告)号	JP2002095472A	公开(公告)日	2002-04-02
申请号	JP2000284608	申请日	2000-09-20
申请(专利权)人(译)	东京三菱制药有限公司银行		
[标]发明人	三宅健介		
发明人	三宅 健介		
IPC分类号	G01N33/50 A61K39/395 A61K45/00 A61P11/06 A61P17/00 A61P29/00 A61P37/02 A61P37/08 A61P43/00 C07K16/28 C12N15/02 C12P21/08 C12R1/91 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/577		
FI分类号	A61K39/395.U A61K45/00 A61P11/06 A61P17/00 A61P29/00 A61P37/02 A61P37/08 A61P43/00.121 C07K16/28 C12P21/08 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/577.B C12R1/91 C12N15/00.C		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/CB01 2G045/FB03 2G045/FB08 4B024/AA01 4B024/AA15 4B024/BA31 4B024/BA43 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/GA03 4B024/GA11 4B024/GA19 4B024/HA15 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/CE10 4B064/DA01 4B064/DA13 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA592 4C084/ZA892 4C084/ZB072 4C084/ZB112 4C084/ZB132 4C084/ZC752 4C085/AA14 4C085/AA16 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA22 4H045/FA72 4H045/FA74 4H045/GA21		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：获得特异性识别MD-1分子的单克隆抗体，适用于确定和检测抗原以及药物和诊断。解决方案：本发明中的该单克隆抗体是通过用在细胞表面表达的MD-1分子进行适当宿主的免疫处理而获得的，以使MD-1分子具有其原始的三维结构。

【图2】

