

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-189609

(P2019-189609A)

(43) 公開日 令和1年10月31日(2019.10.31)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00 Z N A H	4 B 0 1 8
A 6 1 K 31/19 (2006.01)	A 6 1 K 31/19	4 B 0 6 3
A 6 1 K 31/137 (2006.01)	A 6 1 K 31/137	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/22 (2006.01)	A 6 1 K 31/22	4 C 0 8 5
A 6 1 K 31/7004 (2006.01)	A 6 1 K 31/7004	4 C 0 8 6

審査請求 有 請求項の数 16 O L 外国語出願 (全 31 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2019-92447 (P2019-92447)	(71) 出願人	517357022 ヴェダント バイオサイエンス イン コーポレイテッド アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 O 2 1 3 9、ケンブリッジ、ブラックスト ン ストリート 1 9
(22) 出願日	令和1年5月15日 (2019.5.15)	(74) 代理人	100080791 弁理士 高島 一
(62) 分割の表示	特願2016-525434 (P2016-525434) の分割	(74) 代理人	100136629 弁理士 鎌田 光宣
原出願日	平成26年7月8日 (2014.7.8)	(74) 代理人	100125070 弁理士 土井 京子
(31) 優先権主張番号	61/844, 204	(74) 代理人	100121212 弁理士 田村 弥栄子
(32) 優先日	平成25年7月9日 (2013.7.9)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微生物叢由来生物活性分子の組み合わせを含む疾患治療用組成物

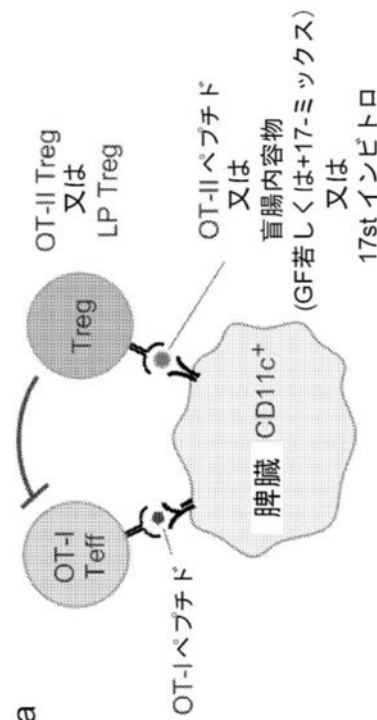
(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 ヒトの健康に対する、微生物叢改変の有害な影響に対抗するための、効果的なアプローチ、特に医薬品の品質規格で製造され得る組成物の提供。

【解決手段】 寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、及び炎症を低減する効果を有する組成物であって、

(a) 1以上の短鎖脂肪酸若しくは短鎖脂肪酸誘導体；
(b) 少なくとも1のGPR109リガンド；(c) 少なくとも1のGPR43リガンド；(d) 少なくとも1のヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤；(e) 1以上の、クロストリジウムクラスターIV、クロストリジウムクラスターXIVa、若しくはクロストリジウムクラスターXVIIに属する細菌由来の抗原；(f) フラジェリンポリペプチド；又は(g) (a)～(d)のうちの少なくとも1と(e)～(f)のうちの1との組み合わせを含む、組成物。

【選択図】 図4-1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、及び炎症を低減する効果を有する組成物であって、(a) 1 以上の短鎖脂肪酸若しくは短鎖脂肪酸誘導体；(b) 少なくとも 1 の G P R 1 0 9 リガンド；(c) 少なくとも 1 の G P R 4 3 リガンド；(d) 少なくとも 1 のヒストンデアセチラーゼ (H D A C) 阻害剤；(e) 1 以上の、クロストリジウムクラスター I V、クロストリジウムクラスター X I V a、若しくはクロストリジウムクラスター X V I I I に属する細菌由来の抗原；(f) フラジェリンポリペプチド；又は (g) (a) ~ (d) のうちの少なくとも 1 と (e) ~ (f) のうちの 1 との組み合わせを含む、組成物。

10

【請求項 2】

(a) が酪酸塩、イソ酪酸塩、プロピオン酸塩、酢酸塩、トリブチリン、酪酸ピバロイルオキシメチル、及びモノアセトングルコース 3-ブチラートから成る群から選択される、請求項 1 の組成物。

【請求項 3】

(a) が酪酸塩である、請求項 1 又は 2 の組成物。

【請求項 4】

(a) が酪酸塩、イソ酪酸塩、プロピオン酸塩、及び酢酸塩の、塩の混合物である、請求項 1 の組成物。

【請求項 5】

(f) がフラジェリン、フラジェリン様配列、フラジェリンの成分、C B i r 1、F l a-X、F l i C、F l i D、F l g K、F l g C 及び F l g E から成る群から選択される、請求項 1 の組成物。

20

【請求項 6】

(f) がフラジェリンである、請求項 1 の組成物。

【請求項 7】

(e) の細菌が、クロストリジウムクラスター I V からの細菌とクロストリジウムクラスター X I V a からの細菌との組み合わせ、又はクロストリジウムクラスター I V からの細菌とクロストリジウムクラスター X V I I I からの細菌との組み合わせ、又はクロストリジウムクラスター X I V a からの細菌とクロストリジウムクラスター X V I I I からの細菌との組み合わせ、又はクロストリジウムクラスター I V からの細菌、クロストリジウムクラスター X I V a からの細菌及びクロストリジウムクラスター X V I I I からの細菌の組み合わせを含む、請求項 1 の組成物。

30

【請求項 8】

寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、及び炎症を低減する効果を有する組成物であって、酪酸塩及びフラジェリンを含む、組成物。

【請求項 9】

寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、及び炎症を低減する効果を有する組成物であって、酪酸塩、イソ酪酸塩、プロピオン酸塩、及び酢酸塩の、塩の混合物並びにフラジェリンを含む、組成物。

40

【請求項 10】

組成物を結腸粘膜に選択的に指向する送達システムを更に含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項の組成物。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の組成物及び医薬的に許容可能な成分を含む、医薬組成物。

【請求項 12】

寛容の誘導、腸管バリアの完全性の強化、及び炎症の低減を、それらを必要とする個体においてする方法であって、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項の組成物又は請求項 11 の医薬組成物を、該個体に投与することを含む、方法。

50

【請求項 13】

自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー疾患、及び感染性疾患から選択される少なくとも1の疾患の治療、治療補助、重篤度の低減、又は予防を、それらを必要とする個体においてする方法であって、請求項1～10のいずれか1項の組成物又は請求項11の医薬組成物を該個体に投与することを含む、方法。

【請求項 14】

投与が結腸送達システムを伴う、請求項13の方法。

【請求項 15】

請求項12～14のいずれか1項に記載の方法において用いるための医薬を製造するための、請求項1～10のいずれか1項の組成物又は請求項11の医薬組成物の使用。

10

【請求項 16】

クロストリジウムクラスターIV、クロストリジウムクラスターXIVa、又はクロストリジウムクラスターXVIIIIに属する細菌に発現する抗原に特異的なT細胞の活性化を決定する方法であって、(a)該抗原を認識する細胞を含むと疑われる被験体由来の試料を提供する工程；(b)試料と該抗原のエピトープを含有するMHCクラスIIテトラマー複合体とを接触させる工程；及び(c)試料の細胞とエピトープを含有するMHCクラスIIテトラマーとの結合が生じているか否か決定する工程を含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

20

分野

腸内微生物叢に由来する分子の治療用の組み合わせ、より具体的には、結腸送達システムを介して経口投与されるタンパク質抗原と小分子との、治療用の組み合わせが本明細書に記載される。

【背景技術】

【0002】

背景

ヒトを含む動物は、口、食道、胃、小腸、大腸、盲腸、結腸、直腸、膣、皮膚、鼻腔、耳、及び肺を含む解剖学的部位に、数多くの微生物（宿主微生物叢と総称される）を有している。ヒトの微生物叢は、数多くの重要な過程（特に、免疫系の発生、糖質、タンパク質、及び生体異物の代謝、上皮の形成及び再生、脂肪の貯蔵、ホルモンの産生、ビタミンの産生、並びに病原体感染の防御を含む）に関与している（Hooper LV, Gordon JI. *Science*. 2001; 292: 1115; Rakoff-Nahum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. *Cell*. 2004; 118: 229; Backhed F, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004; 101: 15718; Stappenbeck TS, Hooper LV, Gordon JI. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2002; 99: 15451; Sonnenburg JL, Angenent LT, Gordon JI. *Nat. Immunol.* 2004; 5: 569; Hooper LV, et al. *Science*. 2001; 291: 881）。抗生物質の使用、過度の衛生状態、食事制限、遺伝的背景、又は上記の組み合わせ等の多くの要因によって惹起され得るヒト微生物叢の改変が、特に、多くの感染性疾患（例、C. ディフィシルの感染）、炎症性疾患、自己免疫疾患、及びアレルギー疾患（例、潰瘍性大腸炎、クローン病、1型糖尿病、食物アレルギー、喘息、関節リウマチ）、並びに代謝性疾患（例、2型糖尿病、メタボリックシンドローム、肥満、栄養失調）に関連している。これらの改変により、無害な食物抗原又は無害な共生細菌抗原に対する寛容の喪失、引き続く過剰な炎症反応、代謝調節異常、及び腸組織への（腸管内腔と体循環との間のバリアとしての役目を果たすその能力を無効にする）損傷がもたらされ得る。微生物叢改変の、健康に対する有害な影響に対抗するアプローチは、かかる改変がヒトの病状の進行に重要な役割を果たすにもかかわらず、限られ

30

40

50

る。微生物叢を調節することが知られている治療介入としては、抗生物質、プレバイオティクス、プロバイオティクス及び糞便移植が挙げられるが、これらはそれぞれ効果が限られ、潜在的な副作用を有する。ヒトの健康に対する、微生物叢改変の有害な影響に対抗するための、効果的な更なるアプローチ、特に医薬品の品質規格で製造され得る組成物が、明らかに必要とされている。

【発明の概要】

【0003】

要旨

ヒトの健康に対する、微生物叢改変の有害な影響に対抗し、有効であり、及び医薬品規格で製造され得る組成物を提供することが本開示の目的である。特に、微生物叢に対する寛容を誘導し、腸管バリアを強化し、及び代謝及び免疫の恒常性を維持又は回復する薬物を開発するために、宿主に対する有益な効果に關与する微生物叢によって産生される、生理学的に活性のある物質を同定すること、及びそれらの物質を、それらがかかる有益な効果を調節し得る、まさにその解剖学的部位に送達する方法を考案することは望ましいであろう。

【0004】

本開示の組成物及び方法は、当該技術分野における上記課題を考慮して開発された。特定の微生物叢由来抗原及び微生物叢由来小分子は、組み合わせで、寛容、腸管バリアの完全性及び炎症の低減の、個々又はそれらのいずれかの組み合わせの誘導に対して（例、寛容及び腸管バリアの完全性の誘導に対して、寛容及び炎症の低減の誘導に対して、腸管バリアの完全性及び炎症の低減の誘導に対して、又は、寛容、腸管バリアの完全性及び炎症の低減の誘導に対して、相乗効果を有する。（１）（a）１以上の短鎖脂肪酸若しくは１以上の短鎖脂肪酸誘導体、（b）（少なくとも１の、１以上の）GPR109リガンド、（c）（少なくとも１の、１以上の）GPR43リガンド、（d）（少なくとも１の、１以上の）ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）阻害剤、（e）クロストリジウムクラスターIV、若しくはクロストリジウムクラスターXIVa、若しくはクロストリジウムクラスターXVIIに属する１以上の細菌由来の１以上の抗原、又はクロストリジウムクラスターIV、クロストリジウムクラスターXIVa、及びクロストリジウムクラスターXVIIのいずれかの組み合わせからの細菌由来の１以上の抗原（例、クロストリジウムクラスターIVからの細菌由来の１以上の抗原及びクロストリジウムクラスターXIVaからの細菌由来の１以上の抗原、クロストリジウムクラスターIVからの細菌由来の１以上の抗原及びクロストリジウムクラスターXVII由来の１以上の抗原、クロストリジウムクラスターXIVaからの細菌由来の１以上の抗原及びクロストリジウムクラスターXVIIからの細菌由来の１以上の抗原、又はクロストリジウムクラスターXIVaからの細菌由来の１以上の抗原及びクロストリジウムクラスターXVIIからの細菌由来の１以上の抗原）、或いは（f）（少なくとも１の、１以上の）フラジェリンポリペプチドを含むか、或いは（g）（a）～（d）のうちの少なくとも１と（e）～（f）のうちの少なくとも１との組み合わせを含み；（２）寛容を誘導し（例、制御性T細胞（Treg）の増殖及び／若しくは蓄積を誘導し）、腸管バリアの完全性を強化し、炎症を低減するか、又はそれらのいずれかの組み合わせをする組成物が、本明細書中に記載される。例えば、組成物は、（１）（a）及び（e）、（a）及び（f）、（b）及び（e）、（b）及び（f）、（c）及び（e）、（c）及び（f）、（d）及び（e）又は（d）及び（f）の組み合わせを含み；並びに（２）単に寛容を誘導する、単に腸管バリアの完全性を強化する、単に炎症を低減する、寛容を誘導し及び腸管バリアの完全性を強化する、寛容を誘導し及び炎症を低減する、腸管バリアの完全性を強化し及び炎症を低減する、又は寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し及び炎症を低減するものであり得る。

【0005】

いくつかの実施形態においては、（g）の組み合わせとしては：以下：（a）１以上の短鎖脂肪酸若しくは１以上の短鎖脂肪酸誘導体；又は（b）（少なくとも１の、１以上の

）GPR109リガンド；又は（c）（少なくとも1の、1以上の）GPR43リガンド；又は（d）（少なくとも1の、1以上の）ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）阻害剤のうちの1つと：（e）クロストリジウムクラスターIV、若しくはクロストリジウムクラスターXIVa、若しくはクロストリジウムクラスターXVIIに属する1以上の細菌由来の1以上の抗原、又はクロストリジウムクラスターIV、クロストリジウムクラスターXIVa、若しくはクロストリジウムクラスターXVIIのいずれかの組み合わせからの細菌由来の1以上の抗原（例、クロストリジウムクラスターIVからの細菌由来の1以上の抗原及びクロストリジウムクラスターXIVaからの細菌由来の1以上の抗原；クロストリジウムクラスターIVからの細菌由来の1以上の抗原及びクロストリジウムクラスターXVIIからの細菌由来の1以上の抗原；クロストリジウムクラスターXIVaからの細菌由来の1以上の抗原及びクロストリジウムクラスターXVIIからの細菌由来の1以上の抗原、クロストリジウムクラスターIVからの細菌由来の1以上の抗原、クロストリジウムクラスターXIVaからの細菌由来の1以上の抗原及びクロストリジウムクラスターXVIIからの細菌由来の1以上の抗原）又は（f）（少なくとも1の、1以上の）フラジェリンポリペプチドのいずれかの、いずれかとの組み合わせが挙げられる。

10

【0006】

（1）（a）1以上の短鎖脂肪酸若しくは短鎖脂肪酸誘導体；（b）（少なくとも1以上の）GPR109リガンド；（c）（少なくとも1以上の）GPR43リガンド；（d）（少なくとも1以上の）ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）阻害剤；（e）クロストリジウムクラスターIV、若しくはクロストリジウムクラスターXIVa、若しくはクロストリジウムクラスターXVIIに属する細菌の1以上に由来する抗原；（f）フラジェリンポリペプチド；又は（g）（a）～（d）のうちの少なくとも1と、（e）～（f）のうちの1との組み合わせを含み、（2）寛容（例、制御性T細胞（Treg）の増殖及び／又は蓄積）を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、並びに炎症を低減する組成物が、本明細書中に記載される。本発明は腸内微生物叢由来分子の、治療用の組み合わせ、より具体的には結腸送達システムを用いて経口投与される、タンパク質抗原と小分子との組み合わせに属する。

20

【0007】

1つの実施形態においては、短鎖脂肪酸又は短鎖脂肪酸誘導体は：酪酸塩、イソ酪酸塩、プロピオン酸塩、酢酸塩、トリブチリン、酪酸ジバロイルオキシメチル、及びモノアセトングルコース 3-ブチラートから成る群から選択される物質である。1つの実施形態においては、GPR109リガンドは：ピリジン-3-カルボキシル酸（ナイアシン又はビタミンB3としても知られる）、ナイアシン誘導体、4, 5-ジヒドロ-5-メチル-4-オキソ-5-フェニル-2-フランカルボキシル酸、5-カルボキシ-2-メチル-1-オキシドピラジン-1-イウム、GSK-256073、GSK256073、ARI-3037MO、INCB019602、INCB19602、MK-0354、MK-0354、バルビツール酸誘導体、アントラニル酸誘導体、ピラゾール誘導体、イソキサゾール誘導体、キサントシン誘導体、シクロアルカン誘導体、ピラゾロピリミジン、及びチオフェン（thiophene）から成る群から選択される物質である。1つの実施形態においては、GPR43リガンドは：酢酸塩、ギ酸塩、フェニルアセトアミド 1 [(S)-2-(4-クロロフェニル)-3-メチル-N-(チアゾール-2-イル)ブタンアミド]、フェニルアセトアミド 2 [(S)-2-(4-クロロフェニル)-N-(5-フルオロチアゾール-2-イル)-3-メチルブタンアミド]、プロピオン酸塩、及び吉草酸塩から成る群から選択される物質である。他の態様においては、HDAC阻害剤は：トリコスタチンA、(N-(2-アミノフェニル)-N'-フェニル-オクタジアミド)、2-(4-ブトキシフェニル)-N-ヒドロキシアセトアミド、MS-275、スベロイルアニリドヒドロキサム酸、及びRG 2833から成る群から選択される物質である。いくつかの実施形態においては、クロストリジウムクラスターIV、又はクロストリジウムクラスターXIVa、又はクロストリジウムクラスターXVIIに属する

30

40

50

細菌由来の1以上の抗原は：熱処理された、クロストリジウムクラスターI V、又はクロストリジウムクラスターX I V a、又はクロストリジウムクラスターX V I I Iに属する1以上の不活化細菌、クロストリジウムクラスターI V、又はクロストリジウムクラスターX I V a、又はクロストリジウムクラスターX V I I Iに属する1以上の細菌からの精製膜画分、フラジェリン、フラジェリン様配列、フラジェリンの成分タンパク質、C B i r 1、F l a - X、F l i C、F l i D、F l g K、F l g C及びF l g Eからなる群から選択される物質である。

【0008】

1つの実施形態においては、組成物は、T r e g誘導を介して炎症を調節し、腸管バリアの透過性を制御するサイトカインである、T G F - β の活性型産生を最も有利に促進できる、酢酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、酪酸ナトリウム、イソ酪酸ナトリウムを含む短鎖脂肪酸の混合物、又は酢酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、酪酸ナトリウム、及びイソ酪酸ナトリウムを含むが、それらに限定されない短鎖脂肪酸の、2、3、4（若しくはそれ以上）のいずれかの組み合わせを含有する。

【0009】

本明細書中に記載の組成物は、それを必要とする個体（それを必要とする患者等）に経口投与される。組成物は、p H感受性製剤（例、胃を通過後に、p Hがよりアルカリになると薬物を放出する腸溶性ポリマーで被覆された製剤）；おおよそ小腸の通過時間に等しい、3～5時間の遅延時間の間、薬物の放出を遅延させ、それによって結腸への送達を確立する製剤；結腸粘膜への接着を選択的にもたらす生体接着性ポリマーを含有する製剤；並びに樹状細胞、腸上皮細胞、及びマクロファージに選択的に発現する受容体を標的にする分子を含有する製剤を含む、活性剤を結腸組織に選択的に送達する多くの経口形態で投与され得る。

【0010】

1つの態様においては、本明細書中に記載の組成物の投与は、転写因子F o x p 3陽性T r e g又はI L - 1 0産生性T r e gであるT r e gの誘導を惹起する。本明細書中に記載の組成物の投与に起因する、T r e g増殖又は蓄積の誘導度の評価は、患者試料（生検又は血液の試料等）中の、F o x p 3を発現するT r e g数、I L - 1 0発現促進、C T L A 4発現促進、I D O発現促進、又はI L - 4発現抑制の測定による等、様々なアプローチによって行われ得る。

【0011】

個体における免疫は、医薬組成物の投与によるか、或いは食物若しくは飲料中の、又は栄養補助食品としての組成物の摂取による等、主題の組成物の投与により抑制され得る。主題の組成物は、例えば、自己免疫疾患、アレルギー疾患、炎症性疾患を予防又は治療するため、移植臓器の免疫学的拒絶を抑制するため、又は癌を治療するために用いられ得る。

【0012】

寛容の誘導、腸管バリアの強化及び／又は炎症の低減を、それらを必要とする個体においてする方法も本明細書中で提供される。該方法は、個体に、本明細書中に記載の組成物を投与することを含む。いくつかの実施形態においては、該組成物は、（a）1以上の短鎖脂肪酸若しくは短鎖脂肪酸誘導体；（b）G P R 1 0 9リガンド；（c）G P R 4 3リガンド；（d）ヒストンデアセチラーゼ阻害剤；（e）1以上の、クロストリジウムクラスターI V、X I V a、及びX V I I Iに属する細菌由来の抗原；（f）フラジェリンポリペプチド；又は（g）（a）～（d）のうちの少なくとも1と（e）～（f）のうちの1との組み合わせを含み、状態又は疾患の予防、低減又は治療を必要とする個体に投与される。

【0013】

被験体における寛容の誘導を検出及び定量するための方法も提供される。該方法は、被験体由来試料において、クロストリジウムクラスターI Vに属する細菌、又はクロストリジウムクラスターX I V aに属する細菌、又はクロストリジウムクラスターX V I I Iに

10

20

30

40

50

属する細菌に発現する抗原を認識する T r e g 数を定量する。いくつかの実施形態においては、T r e g に認識される抗原はフラジェリンである。蛍光色素が結合した、4つのビオチン結合部位を有する分子であるストレプトアビジンを含む、4つの M H C クラス I I のテトラマーを含む複合体が調製される。所望のエピトープ、例えばクロストリジウムクラスター I V、又はクロストリジウムクラスター X I V a、又はクロストリジウムクラスター X V I I I に属する細菌に発現する抗原中に存在するエピトープをコードするポリヌクレオチドの組換え発現により、M H C クラス I I 鎖が得られる。

【図面の簡単な説明】

【0014】

図面の簡単な説明

10

【図1】図1は、酪酸塩（B u t）が、インビトロで、T r e g 細胞の蓄積を誘導することを示す代表的な F A C S プロットを示す。

【図2】図2は、抗アセチルヒストン H 3 抗体（A c H 3）又は陰性対照としてのウサギ I g G を用いて、酪酸塩を含めて（白棒）か、又は含めない（黒棒）で培養した C D 4 + T 細胞で行った、F o x p 3 のプロモーター及びエンハンサー領域の C h I P - P C R 解析を示す。

【図3】図3は、0.5 m M の酢酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、酪酸ナトリウム、イソ酪酸ナトリウムのいずれかか、又はそれらの混合物（S C F A ミックス）で24時間刺激された上皮細胞株 H T 2 9 の培養上清中の活性型 T G F - β 濃度を示す。

【図4-1】図4aは、同種抗原により引き起こされる抑制アッセイの模式図を示す。

20

【図4-2】図4bは、クロストリジウム細菌が定着したノトバイオートマウスの固有層中の T r e g により、クロストリジウム抗原が認識されることを示す。

【図5】図5は、17のクロストリジウム株の混合物が定着したノトバイオートマウス由来の、固有層の C D 4 + C D 2 5 + T 細胞が、O T - I C D 8 T 細胞の、O T - I オボアルブミンペプチドにより引き起こされる増殖を相当程度阻害し、オートクレーブされた、クロストリジウムが定着したマウスからの盲腸内容物、又は、オートクレーブされた、インビトロでの培養クロストリジウム株の存在下で、この抑制が顕著に亢進されたが、O T - I I O V A ペプチド又は G F マウスからの盲腸内容物存在下ではそうではなかったことを示す。

【発明を実施するための形態】

30

【0015】

詳細な説明

I. 定義

用語「微生物叢」は、集合的に、ヒト等の高等動物に関連して見出される微生物全体を指す。

【0016】

用語「片利共生生物」は、宿主にとって通常無害であり、該宿主と共生関係も成立させ得る生物を指す。

【0017】

用語「ヒト微生物叢」は、人体中の微生物全体、それらの遺伝学的要素全体（ゲノム）、及び環境相互作用全体を指す。

40

【0018】

用語「寛容」及び「免疫寛容」は、免疫系が抗原を攻撃しなくする過程を指す。

【0019】

用語「寛容誘導」又は「寛容を誘導する」は、免疫系を操作することで、外部抗原に対する寛容をもたらすことができる過程を指す。

【0020】

用語「制御性 T 細胞」又は「T r e g」は、異常又は過剰な免疫応答を抑制し、免疫寛容に関与する T 細胞を指す。制御性 T 細胞は、典型的には、転写因子 F o x p 3 陽性 C D 4 陽性の T 細胞である。本発明の制御性 T 細胞には、I L - 1 0 産生性の C D 4 陽性 T 細胞

50

胞である、転写因子 Foxp3 陰性の制御性 T 細胞も含まれる。

【0021】

用語「制御性 T 細胞の増殖又は蓄積を誘導する」は、未成熟 T 細胞の制御性 T 細胞への分化（該分化は制御性 T 細胞の増殖及び／又は蓄積をもたらす）の誘導効果を指す。更に、「制御性 T 細胞の増殖又は蓄積を誘導する」の意味には、インビボの効果、インビトロの効果、及びエックスビボの効果が含まれる。

【0022】

用語「腸管バリアの完全性を強化する」は、内腔「外側」と宿主組織との間のバリアとして、その透過性及び漏出を減少させることにより作用する、消化管上皮バリアの能力を向上させる過程を指す。自己免疫疾患及び炎症性疾患に罹った患者においては、腸のバリア機能に関するいくつかの異常が見出されている。例えば、「腸管壁浸漏」は、炎症性腸疾患（IBD）発症における最初の異常であるし；NSAID等の、バリアを損傷させる物質は、IBD患者において、炎症を惹起し、腸管バリアにおける異常は慢性的な腸内炎症をもたらすのに十分である。

【0023】

II. 寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、及び炎症を低減する効果を有する組成物

著者らは、動物において結腸制御性 T 細胞を誘導し、IBDの発症を予防する能力を有することが以前示されていた（Atarashi et al., Science, 331 (6015): 337-41, 2011）、クロストリジウムクラスターIV、又はクロストリジウムクラスターXIVa、又はクロストリジウムクラスターXVIIIIに属する細菌が、共同して、相乗作用をもって寛容を誘導し、バリア機能を強化し、及び炎症を低減する2種類の分泌物を産生することを発見した。該2種類の分泌物は、短鎖脂肪酸、特に酪酸塩、及びタンパク質抗原、特にフラジェリンポリペプチドである。

【0024】

寛容を誘導（例、制御性 T 細胞（Treg）の増殖及び／又は蓄積を誘導）し、腸管バリアの完全性を強化し、及び炎症を低減する組成物が、本明細書中に記載される。いくつかの実施形態においては、該組成物は、有効成分として、（a）1以上の短鎖脂肪酸若しくは短鎖脂肪酸誘導体；（b）（少なくとも1以上の）GPR109リガンド；（c）（少なくとも1以上の）GPR43リガンド；（d）（少なくとも1以上の）ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）阻害剤；（e）1以上の、クロストリジウムクラスターIV、若しくはクロストリジウムクラスターXIVa、若しくはクロストリジウムクラスターXVIIIIに属する細菌由来の抗原；（f）フラジェリンポリペプチド；又は（g）（a）～（d）のうちの少なくとも1と（e）～（f）のうちの1との組み合わせを含む。

【0025】

1つの実施形態においては、短鎖脂肪酸は：酪酸塩、イソ酪酸塩、プロピオン酸塩、及び酢酸塩から成る群から選択される物質である。かかる分子は、ヒト結腸において、クロストリジウムクラスターIV、又はクロストリジウムクラスターXIVa、又はクロストリジウムクラスターXVIIIIに属する細菌によって、天然に大量に産生される。好ましい実施形態においては、短鎖脂肪酸物質は酪酸塩である。対応する天然物と同様の性質を有する、トリブチリン、ピバロイルオキシメチル酪酸、及びモノアセトングルコース 3-ブチレート等の、酪酸塩の合成誘導体も、この趣旨で用いられ得る。

【0026】

酢酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、酪酸ナトリウム、及びイソ酪酸ナトリウムの混合物を含有する組成物は、上皮細胞株の培養上清において、活性型 TGF-βの産生を最も有利に促進できる。活性型 TGF-βに富む環境は、今度は Treg の増幅及び分化を補助し、炎症を低減し、並びに腸管バリアの完全性を強化する。

【0027】

1つの実施形態においては、GPR109Aに結合する物質が、本明細書中に記載の組成物の成分として用いられ得る。GPR109Aは、当該技術分野で以前示された通り、

10

20

30

40

50

酪酸塩を低親和性で認識し、結腸及び腸の上皮細胞の内腔に面する頂端膜に発現する、Gタンパク質共役受容体である。結腸内腔における典型的な酪酸塩濃度（ミリモラー）は、受容体の活性化を最大にするのに十分である。本明細書中に記載の組成物の成分として用いられるGPR-109A結合物質は：ピリジン-3-カルボキシル酸（ナイアシン又はビタミンB3としても知られる）、ナイアシン誘導体、4,5-ジヒドロ-5-メチル-4-オキソ-5-フェニル-2-フランカルボキシル酸、5-カルボキシ-2-メチル-1-オキシドピラジン-1-イウム、GSK-256073、GSK256073、ARI-3037MO、INCB019602、INCB19602、MK-0354、MK-0354、バルビツール酸誘導体、アントラニル酸誘導体、ピラゾール誘導体、イソキサゾール誘導体、キサントシン誘導体、シクロアルカン誘導体、ピラゾロピリミジン、及びチオフェン（thiophene）から成る群から選択され得る。

10

【0028】

1つの実施形態においては、GPR43に結合する物質が、本明細書中に記載の組成物の成分として用いられ得る。GPR43は、酢酸塩及びプロピオン酸塩を認識するGタンパク質共役受容体である。本明細書中に記載の組成物の成分として用いられるGPR43結合物質は：酢酸塩、ギ酸塩、フェニルアセトアミド 1 [(S)-2-(4-クロロフェニル)-3-メチル-N-(チアゾール-2-イル)ブタンアミド]、フェニルアセトアミド 2 [(S)-2-(4-クロロフェニル)-N-(5-フルオロチアゾール-2-イル)-3-メチルブタンアミド]、プロピオン酸塩、及び吉草酸塩から成る群から選択され得る。

20

【0029】

1つの実施形態においては、ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）を阻害する物質が、本明細書中に記載の組成物の成分として用いられ得る。酪酸塩によるナイーブT細胞の処理で、Foxp3遺伝子座のヒストンH3のアセチル化が亢進され、従って酪酸塩は、エピジェネティックな修飾を介してTreg細胞の分化を調節する。本明細書中に記載の組成物の成分として用いられるHDAC阻害物質は：トリコスタチンA、(N-(2-アミノフェニル)-N'-フェニル-オクタジアミド)、2-(4-ブトキシフェニル)-N-ヒドロキシアセトアミド、MS-275、スベロイルアニリドヒドロキサム酸、及びRG-2833から成る群から選択され得る。

30

【0030】

短鎖脂肪酸の産生単独では、クロストリジウムクラスターIV、又はクロストリジウムクラスターIVa、又はクロストリジウムクラスターVIIに属する細菌の、寛容を誘導し、バリア機能を強化し、及び炎症を低減する能力は十分に説明されない。クロストリジウムクラスターIV、又はクロストリジウムクラスターIVa、又は(or or)クロストリジウムクラスターVIIに属する細菌が発現する抗原も、寛容を誘導し、バリア機能を強化し、及び炎症を低減することに寄与する。いくつかの実施形態においては、本明細書に記載の組成物は：熱処理された、クロストリジウムクラスターIV、若しくはクロストリジウムクラスターXIVa、若しくはクロストリジウムクラスターXVIIに属する1以上の不活化細菌又はクロストリジウムクラスターIV、若しくはクロストリジウムクラスターXIVa、若しくはクロストリジウムクラスターXVIIに属する細菌のいずれかの組み合わせ；クロストリジウムクラスターIV、若しくはクロストリジウムクラスターXIVa、若しくはクロストリジウムクラスターXVIIに属する1以上の細菌又はクロストリジウムクラスターIV、若しくはクロストリジウムクラスターXIVa、若しくはクロストリジウムクラスターXVIIに属する細菌のいずれかの組み合わせからの精製膜画分、フラジェリン、フラジェリン様配列、フラジェリンの成分タンパク質、CBir1、Fla-X、FlaC、FlaD、FlaK、FlaC及びFlaEからなる群から選択される1以上の細菌抗原を含有する。精製膜画分は、細菌細胞の他の成分から、少なくとも部分的に精製された、細菌の膜を指す。クロストリジウムクラスターIV、又はクロストリジウムクラスターXIVa、又はクロストリジウムクラスターXVIIに属する細菌からの精製膜画分は、細菌細胞の機械的な破碎に続く超遠心分離、

40

50

続いてのトリフルオロエタノール及びクロロホルムによる抽出等の、当該技術分野における公知の方法を用いることにより得ることができる。好ましい実施形態においては、精製膜画分は、クロストリジウム・サッカログミア (*Clostridium saccharogumia*)、クロストリジウム・ラモーサム (*Clostridium ramosum*) JCM1298、クロストリジウム・ラモーサム、フラボニフラクター・ブラウティ (*Flavonifractor plautii*)、シュードフラボニフラクター・カピローサス (*Pseudoflavonifractor capillosus*) ATCC 29799、クロストリジウム・ハセワイ (*Clostridium hatchewayi*)、クロストリジウム・サッカロリティカム (*Clostridium saccharolyticum*) WM1、バクテロイデス菌種 (*Bacteroides* sp.) MANG、クロストリジウム・サッカロリティカム、クロストリジウム・シンデンス (*Clostridium scindens*)、ラクノスピラ科細菌 (*Lachnospiraceae bacterium*) 5_1_57 FAA、ラクノスピラ科細菌 6_1_63 FAA、クロストリジウム菌種 (*Clostridium* sp.) 14616、クロストリジウム・ボルテアエ (*Clostridium bolteaee*) ATCC BAA-613、cf. クロストリジウム菌種 (cf. *Clostridium* sp.) MLG055、エリシペロトリクス科細菌 (*Erysipelotrichaceae bacterium*) 2_2_44 A、クロストリジウム・インドリス (*Clostridium indolis*)、アナエロスティペス・カカエ (*Anaerostipes caccae*)、クロストリジウム・ボルテアエ、ラクノスピラ科細菌 DJF_VP30、ラクノスピラ科細菌 3_1_57 FAA_CT1、アナエロツルンカス・コリホミニス (*Anaerotruncus colihominis*)、アナエロツルンカス・コリホミニス DSM 17241、ルミノコッカス菌種 (*Ruminococcus* sp.) ID8、ラクノスピラ科細菌 2_1_46 FAA、クロストリジウム・ラバレンス (*Clostridium lavalense*)、クロストリジウム・アスパラギホルメ (*Clostridium asparagiforme*) DSM15981、クロストリジウム・シンビオサム (*Clostridium symbiosum*)、クロストリジウム・シンビオサム WAL-14163、ユーバクテリウム・コントルタム (*Eubacterium contortum*)、クロストリジウム菌種 D5、オシロスピラ科細菌 (*Oscillospiraceae bacterium*) NML 061048、オシリバクター・バレリシゲネス (*Oscillibacter valericigenes*)、ラクノスピラ科細菌 A4、クロストリジウム菌種 316002/08、及びクロストリジウム菌 (*Clostridiales bacterium*) 1_7_47 FAA、ブラウティア・ココイデス (*Blautia cocooides*)、及びアナエロスティペス・カカエ DSM 14662 から選択される、クロストリジウムクラスター I V、若しくはクロストリジウムクラスター X I V a、若しくはクロストリジウムクラスター X V I I I に属する 1 以上の細菌又はクロストリジウムクラスター I V、若しくはクロストリジウムクラスター X I V a、若しくはクロストリジウムクラスター X V I I I に属する細菌のいずれかの組み合わせから得られる。フラジェリントンパク質は、クロストリジウムクラスター I V、X I V a、及び X V I I I に属する細菌により、大量に産生される。フラジェリン、フラジェリン様配列、フラジェリンの成分タンパク質、及びフラジェリンポリペプチドは、例えば、細菌の組換え宿主内での産生、又は液相若しくは固相のペプチド合成を含む、当該技術分野で公知の方法を用いて製造され得る。

【0031】

該組成物は、医薬組成物、栄養補助食品、又は食料若しくは飲料（動物試料でもあり得る）の形態で投与されてもよく、或いは動物モデル実験用の試薬として用いられてもよい。該組成物は、免疫抑制効果を有する組成物として、好適に用いられ得る。免疫抑制効果は、例えば、以下のようにして評価され得る。本発明の組成物が経口投与されたマウス等の実験動物から単離された制御性 T 細胞が、脾臓から単離されたエフェクター T 細胞 (CD4+CD25-細胞) に作用するよう惹起され、その増殖能が、[3H] チミジンの取

り込み量を指標として用いることにより測定される。

【0032】

該組成物が治療（有害作用の軽減又は予防）に有用な対象疾患の具体的な例としては、自己免疫疾患、アレルギー疾患、感染性疾患、及び臓器移植における拒絶反応である、炎症性腸疾患（IBD）、潰瘍性大腸炎、クローン病、スプルー、自己免疫性関節炎、リウマチ性関節炎、1型糖尿病、多発性硬化症、骨髄移植に続く移植片対宿主拒絶反応、変形性関節症、若年性慢性関節炎、ライム病関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性エリテマトーデス、インスリン依存性糖尿病、甲状腺炎、ぜんそく、乾癬、強皮症皮膚炎（*dermatitis scleroderma*）、アトピー性皮膚炎、移植片対宿主拒絶反応、臓器移植に関連した急性又は慢性の免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固症候群、川崎病、グレーブス病（パセドゥ病）、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ヴェーゲナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーライン紫斑病、腎臓における顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症候群、悪液質、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、アルツハイマー病、脳卒中、原発性胆汁性肝硬変症、溶血性貧血、多腺性機能不全症候群1型及び多腺性機能不全症候群2型、シュミット症候群、成人（急性）呼吸窮迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、血清反応陰性関節症、関節症、ライター病、乾癬性関節症、クラミジア感染症、エルシニア・サルモネラ感染関連関節症、脊椎関節症、アテローム性疾患／動脈硬化、アレルギー性大腸炎、アトピー性アレルギー、食物アレルギー（ピーナッツアレルギー、ナッツアレルギー、卵アレルギー、乳アレルギー、大豆アレルギー、小麦アレルギー、魚介アレルギー、貝アレルギー又はゴマアレルギー等）、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状IgA病、自己免疫性溶血性貧血、クームス試験陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋肉脊髄炎／ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、特発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全関連疾患、C型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型低ガンマグロブリン血症）、拡張型心筋症、線維性肺疾患、特発性線維化性肺炎、炎症後間質性肺炎、間質性肺炎、結合組織病関連間質性肺疾患、混合性結合組織関連疾患肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性エリテマトーデス関連肺（lung）疾患、皮膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患、ヘモジデリン沈着症関連肺疾患、薬物誘発性間質性肺疾患、放射線線維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺炎、痛風性関節炎、自己免疫性肝炎、1型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性又はルポイド肝炎）、2型自己免疫性肝炎（抗LKM1抗体肝炎）、自己免疫性低血糖、黒色表皮腫によるB型インスリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連した急性免疫疾患、臓器移植に関連した慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎疾患NOS、糸球体腎炎、腎臓における顕微鏡的血管炎、円板状エリテマトーデス、特発性男子不妊症又はNOS、精子自己免疫、多発性硬化症（全てのサブタイプに関する）、インスリン依存性糖尿病、交感性眼炎、肺高血圧症による結合組織病、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ様脊椎炎、スティル病、全身性硬化症、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑、アレルギー性鼻炎（花粉アレルギー）、アナフィラキシー、ペットアレルギー、ラテックスアレルギー、薬物アレルギー、アレルギー性鼻炎結膜炎、好酸球性食道炎、好酸球増加症候群、好酸球性胃腸炎、皮膚エリテマトーデス、好酸球性食道炎、好酸球増加症候群、好酸球性胃腸炎、並びに下痢等が挙げられる。

【0033】

組成物が治療に有用である対象疾患の更なる例としては、結腸癌、嚢胞性線維症、セリ

アック病、2型糖尿病、及び自閉症関連の免疫病が挙げられる。これらの疾患は、胃腸の微生物叢における、クロストリジウムクラスターI V及びX I Vに属する細菌の減少、又はクロストリジウムクラスターI V若しくはクロストリジウムクラスターX I Vに属する細菌の減少を特徴とする。

【0034】

本明細書中に記載の組成物は、例えば、免疫により惹起された過度の炎症に起因するか、又は患者の微生物叢の改変に起因する損傷のために感染性疾患への抵抗性が損なわれた個体における、感染性疾患の、予防又は治療用の医薬組成物としても用いられ得る。宿主恒常性の維持又は回復を損ない、結果的に、かかる免疫病理学的な組織損傷を引き起こす感染性病原体の例としては、サルモネラ属、シゲラ属、クロストリジウム・ディフィシル、マイコバクテリウム属（結核症を惹起する）、原虫（マラリアを惹起する）、糸状線虫類（フィラリア症を惹起する）、シストソーマ属（住血吸虫症を惹起する）、トキソプラズマ属（トキソプラズマ症を惹起する）、リーシュマニア属（リーシュマニア症を惹起する）、H C V及びH B V（C型肝炎及びB型肝炎を惹起する）、及び単純ヘルペスウイルス（ヘルペス症を惹起する）が挙げられる。

【0035】

投与又は摂取されるべき組成物量は、それを受容する個体の年齢、体重、性別、状態、健康状態、及び投与又は摂取されるべき組成物の種類（医薬品、食料又は飲料）等の要因を考慮して経験的に決定され得る。例えば、投与又は摂取ごとの量は、一般的には0.01mg/kg体重～100mg/kg体重、特定の実施形態においては1mg/kg体重～10mg/kg体重である。組成物は、個体に1回投与されてもよいし、1回を超えて投与されてもよい。組成物が1回を超えて投与される場合は、定期的（例えば、1日1回、2日ごとに1回、週に1回、2週ごとに1回、月1回、6ヶ月ごとに1回、又は年1回）、又は必要に応じて又は不定期的に投与され得る。適切な投与回数（とりわけ宿主の遺伝的特徴、年齢、性別、及び被験体の健康状態又は疾病状態の要因に左右され得る）は、経験的に決定され得る。

【0036】

I I I . 送達システム

クロストリジウム由来の短鎖脂肪酸とクロストリジウム由来の抗原との、寛容の誘導、腸管バリアの完全性、及び炎症の低減に対する組み合わせ効果は、これらの物質の、腸管バリアへの物理的近接性に強く依存する。生理学的な関連では、これらの物質は、典型的には結腸壁にごく近接して生存する細菌により分泌される。クロストリジウム由来の短鎖脂肪酸及びクロストリジウム由来の抗原が、結腸送達システムで製剤化されずに被験体に経口投与される場合、クロストリジウム由来の抗原は、消化管中を通過する間にプロテアーゼによって分解され、短鎖脂肪酸は、結腸に到達する前に小腸で迅速に吸収されるため、これらが有する効果は限定的又は不十分である。本明細書中に記載の組成物を、結腸組織を標的に選択して放出する送達システムで製剤化することにより、寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を増大させ、及び炎症を低減させる、該組成物の能力が非常に強化される。

【0037】

結腸への送達を可能にするための総合的戦略

薬物の、結腸への全般的送達を可能にする非常に多くの方法が、当該技術分野で記述されており、それらのいずれもが、結腸中のニッチへの送達を向上するために、本発明の新規特徴と組み合わせられ得る。かかる方法としては、pH感受性製剤（例、胃を通過後、pHがよりアルカリの範囲へと移る際に薬物を放出する腸溶性ポリマーで被覆された製剤）；薬物の放出を遅延時間3～5時間の間（おおよそ小腸の通過時間に相当）遅らせ、それによって結腸への送達を確立する製剤；結腸粘膜への選択的な接着をもたらす生体接着性ポリマーで被覆した薬物（例、米国特許第6,368,586号を参照）；消化管において、タンパク質分解活性が生物学的薬剤を分解するのを防止するために、プロテアーゼ阻害剤を組み込んだ送達システム；並びにC D 2 0 5 樹状細胞特異的I C A M - 3 結合

ノンインテグリン（DC-SIGN）及びランゲリン等の、樹状細胞に選択的に発現する受容体、腸上皮細胞に選択的に発現する受容体、並びにマクロファージに選択的に発現する受容体を標的とする、アニオン性脂質、ムラミルトリペプチド（MTP）、Arg-Gly-Asp（RGD）、抗VCAM1、抗CC52、抗CC531、抗CD11c/DEC-205、レクチン（Mann-C4-Chol、Man2DOG、アミノプロピル- α -D-マンノピラノシド、Man3-DPPE等）、ウシ血清アルブミン誘導体、オーステロイルアミロペクチン、フィブロネクチン、及びガラクトシル等の分子を含有する製剤が挙げられる。

【0038】

製剤は、安全且つ有効であると考えられ、望ましくない生物学的副作用又は好ましくない相互作用を惹起せずに個体に投与され得る物質で構成される、医薬的に許容される「担体」を用いて調製される。該「担体」は、医薬製剤中に存在する、有効成分（単数）又は有効成分（複数）以外の全ての成分である。用語「担体」としては、希釈剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、充填剤及び被覆組成物が挙げられるがそれらに限定されない。「担体」としては、可塑剤、色素、着色剤、安定化剤及びグリダント（glidants）を含み得る被覆用組成物の全ての成分も挙げられる。遅延放出投与製剤は、“Pharmaceutical dosage form tablets”, Liberman et al. 編（New York, Marcel Dekker, Inc., 1989）, “Remington-The science and practice of pharmacy”, 第20版, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2000, 及び“Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems”, 第6版, Ansel et al.（Media, PA: Williams and Wilkins, 1995）（これは、錠剤及びカプセル剤、並びに錠剤、カプセル剤及び顆粒剤の遅延放出の投薬形態の調製用の、担体、材料、装置及び方法に関する情報を提供している）等の参考文献に記載の通りに調製され得る。

【0039】

好適な被覆材料の例としては、セルロースアセテートフタレート、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート及びヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートスクシネート等のセルロースポリマー；ポリビニルアセテートフタレート、アクリル酸ポリマー及びコポリマー、並びにメタクリル樹脂（商品名Eudragit（登録商標）（Roth Pharma, Westerstadt, Germany）の下で市販されている）、ゼイン、シェラック並びに多糖類が挙げられるがそれらに限定されない。

【0040】

さらに、被覆材料は、可塑剤、色素、着色剤、グリダント、安定化剤、細孔形成剤（pore formers）及び界面活性剤等の従来の担体を含有し得る。

【0041】

薬物を含有する錠剤、ビーズ、顆粒又は粒子に存在する、医薬的に許容可能な任意の賦形剤としては、希釈剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、着色剤、安定化剤及び界面活性剤が挙げられるがそれらに限定されない。希釈剤（「充填剤」とも称される）は、典型的には、錠剤の圧縮又はビーズ及び顆粒の形成のために実用的な大きさを与えるために、固体投与形態の嵩を増加させるのに必要である。好適な希釈剤としては、例えば、リン酸二カルシウム二水和物、硫酸カルシウム、ラクトース、スクロース、マンニトール、ソルビトール、セルロース、微結晶性セルロース、カオリン、塩化ナトリウム、乾燥デンプン、加水分解デンプン、アルファー化デンプン、二酸化珪素、酸化チタン、珪酸アルミニウムマグネシウム及び粉糖が挙げられるがそれらに限定されない。

【0042】

結合剤は、固体の投与製剤に凝集性の性質を付与するため、従って、錠剤又はビーズ又は顆粒の原型を、投与形態の形成後に確実に保つために用いられる。好適な結合剤物質と

しては、デンプン、アルファー化デンプン、ゼラチン、糖（スクロース、グルコース、デキストロース、ラクトース及びソルビトールが挙げられる）、ポリエチレングリコール、ワックス、アラビアゴム、トラガカントゴム等の天然又は合成ゴム、アルギン酸ナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、エチルセルロースを含むセルロース、並びにビーガム（vee gum）、並びにアクリル酸コポリマー及びメタクリル酸コポリマー、メタクリル酸コポリマー、メチルメタクリレートコポリマー、アミノアルキルメタクリレートコポリマー、ポリアクリル酸／ポリメタクリル酸並びにポリビニルピロリドン等の合成ポリマーが挙げられるが、それらに限定されない。

【0043】

滑沢剤は、錠剤の製造を容易にするために用いられる。好適な滑沢剤の例としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸、グリセロールベヘネート、ポリエチレングリコール、タルク、及び鉱物油が挙げられるが、それらに限定されない。

10

【0044】

崩壊剤は、投与後に、投与形態の崩壊又は「分解」を容易にするために用いられ、一般的にデンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、カルボキシメチルデンプンナトリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、アルファー化デンプン、粘土、セルロース、アルギニン（alginate）、ゴム又は架橋PVP（GAF Chemical Corp からの Polyplasdone XL）等の架橋ポリマーが挙げられるが、それらに限定されない。

20

【0045】

安定化剤は、薬物分解反応（例として、酸化反応が挙げられる）を阻害する、又は遅らせるために用いられる。

【0046】

界面活性剤は、アニオン性、カチオン性、両性又はノニオン性の表面活性剤であり得る。好適なアニオン性界面活性剤としては、カルボキシル酸塩、スルホン酸塩及び硫酸塩のイオンを含有するものが挙げられるが、それらに限定されない。アニオン性界面活性剤の例としては、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム等の、長鎖のアルキルスルホン酸及びアルキルアールスルホン酸のナトリウム、カリウム、アンモニウム；ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム等の、ジアルキルスルホコハク酸ナトリウム；ビスー（2-エチルチオキシル）-スルホコハク酸ナトリウム等の、ジアルキルスルホコハク酸ナトリウム；及びラウリル硫酸ナトリウム等のアルキル硫酸塩が挙げられる。カチオン性界面活性剤としては、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、臭化セトリモニウム、塩化ステアリルジメチルベンジルアンモニウム、ポリオキシエチレン及びココナッツアミン等の第4級アンモニウム化合物が挙げられるが、それらに限定されない。ノニオン性界面活性剤の例としては、エチレングリコールモノステアレート、プロピレングリコールミリスレート、グリセリルモノステアレート、グリセリルステアレート、ポリグリセリル-4-オレエート、ソルビタンアシレート、スクロースアシレート、PEG-150ラウレート、PEG-400モノラウレート、ポリオキシエチレンモノラウレート、ポリソルベート、ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテル、PEG-1000セチルエーテル、ポリオキシエチレントリデシルエーテル、ポリプロピレングリコールブチルエーテル、Poloxamer（登録商標）401、ステアロイルモノイソプロパノールアミド、及びポリオキシエチレン水添タロウアミドが挙げられる。両性界面活性剤の例は、N-ドデシル-β-アラニンナトリウム、N-ラウリル-β-イミノジプロピオン酸ナトリウム、ミリストアムフォアセテート、ラウリルベタイン及びラウリルスルホベタインが挙げられる。

30

40

【0047】

所望される場合、錠剤、ビーズ顆粒又は粒子は、少量の、湿潤剤又は乳化剤、染料、pH緩衝剤、及び保存剤等の非毒性補助物質を含んでいてもよい。

【0048】

当業者に理解され、関連する教科書及び文献中に記載されているように、種々の薬物放

50

出プロファイルを提供する薬物含有錠剤、ビーズ、顆粒又は粒子を調製するために、多くの方法が利用可能である。かかる方法としては、以下：適切な被覆材料により薬物又は薬物含有組成物を被覆する（通常は、ポリマー物質を必ず取り入れなければならないというわけではない）；薬物粒子サイズを増大する；マトリクス内に薬物を入れる；及び好適な錯化剤により薬物の錯体を形成する、といったものが挙げられるが、それらに限定されない。

【0049】

遅延放出投与単位形態は、従来の技術（例、従来の被覆パン（coating pan）、無気吹付法、流動床被覆装置（Wurstar挿入部を備えるか、又は備えない）など）を使用する遅延放出ポリマー被覆により被覆され得る。錠剤及び遅延放出投与形態を調製するための材料、装置及び過程に関する詳細な情報については、Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Lieberman et al. 編（New York: Marcel Dekker, Inc., 1989）及び Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 第6版（Media, PA: Williams & Wilkins, 1995）を参照。

【0050】

持続放出錠剤を調製するための好ましい方法は、薬物を含有する配合物（例、直接配合、湿式顆粒化又は乾式顆粒化過程を用いて調製された顆粒の配合物）を圧縮することによる。持続放出錠剤は、圧縮ではなく、好適な水溶性滑沢剤を含有する湿潤物質から出発して成形してもよい。しかしながら、好ましくは、錠剤は成形ではなく、圧縮を用いて製造される。持続放出の薬物を含有する配合物を形成するための好ましい方法は、薬物粒子を、1以上の、希釈剤（又は充填剤）、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、グリダント、及び着色剤等の賦形剤と直接混合することである。直接配合の代替として、湿式顆粒化又は乾式顆粒化法を用いて、薬物を含有する配合物を調製し得る。活性剤を含有するビーズも、多くの慣用的な技術のいずれか一つによって、典型的には流体の分散から出発して調製し得る。例えば、薬物を含有するビーズを調製するための典型的な方法は、活性剤を、ポリビニルピロリドン、メチルセルロース、タルク、金属ステアリン酸塩、二酸化ケイ素、可塑剤等といった医薬賦形剤を含有する被覆用懸濁液又は溶液中に分散又は溶解させることを含む。混合物は、約20～60メッシュの大きさを有する糖の球（又はいわゆる“ノンパレイユ”）の等のビーズの核を被覆するために用いられる。

【0051】

薬物のビーズを調製するための代替の方法は、薬物を、微結晶セルロース、ラクトース、セルロース、ポリビニルピロリドン、タルク、ステアリン酸マグネシウム、崩壊剤、等といった1以上の医薬的に許容可能な賦形剤と配合し、配合物を押出し、押出物を球状化し、乾燥し、そして必要に応じて被覆して、即時放出ビーズを形成することによる。

【0052】

遅延放出製剤は、胃の酸性環境で不溶性であり、小腸の中性環境で可溶性であるポリマーのフィルムで、固体投与形態を被覆することによって形成される。遅延放出投与単位は、例えば、薬物又は薬物含有組成物を、選択された被覆材料で被覆することによって調製され得る。薬物含有組成物は、例えば、カプセルに組み込まれる錠剤、「被覆コア」投与形態における内部コアとして用いられる錠剤、又は錠剤若しくはカプセルのいずれかに組み込まれる複数の薬物含有ビーズ、粒子若しくは顆粒であり得る。好ましい被覆材料としては、生体内分解性、漸次加水分解性、漸次水溶性、及び／又は酵素分解性のポリマーが挙げられるが、従来の「腸溶性」ポリマーであり得る。腸溶性ポリマーは、当業者に理解されるように、下部消化管のより高いpH環境において可溶性になるか、又は投与形態が消化管を通るにつれてゆっくり浸食される。一方、酵素分解性ポリマーは、下部消化管、特に結腸中に存在する細菌性酵素によって分解される。遅延放出を達成するのに好適な被覆材料としては、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチ

ルセルロースアセテートスクシネート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メチルセルロース、エチルセルロース、セルロースアセテート、セルロースアセテートフタレート、セルロースアセテートトリメリテート及びカルボキシメチルセルロースナトリウム等のセルロースポリマー、；アクリル酸ポリマー及びコポリマー（好ましくは、アクリル酸、メタクリル酸、アクリル酸メチル、アクリル酸エチル、メタクリル酸メチル及び／又はメタクリル酸エチルから形成される）、並びにEudragit（登録商標）L30D-55及びL100-55（pH5.5及びそれ以上で可溶性）、Eudragit（登録商標）L-100（pH6.0及びそれ以上で可溶性）、Eudragit（登録商標）S（より高いエステル化度の結果として、pH7.0及びそれ以上で可溶性）、並びにEudragit（登録商標）NE、RL及びRS（種々の程度の透過性及び膨張性（expandability）を有する水不溶性ポリマー）を含む、商品名Eudragit（登録商標）（Roehm Pharma；Westerstadt, Germany）下で商業的に入手可能な他のメタクリル樹脂；ポリビニルピロリドン、ビニルアセテート、ビニルアセテートフタレート、ビニルアセテートクロトン酸コポリマー、及びエチレン-ビニルアセテートコポリマー等のビニルポリマー及びコポリマー；アゾポリマー、ペクチン、キトサン、アミロース及びグァーガム等の酵素分解性ポリマー；ゼイン及びシェラックが挙げられるがそれらに限定されない。種々の被覆材料の組み合わせも用いられ得る。種々のポリマーを用いた多層被覆物も適用し得る。

10

【0053】

被覆組成物は、可塑剤、色素、着色剤、安定化剤、グリダント等といった、従来の添加剤を含み得る。可塑剤は、通常、被覆物の脆性を減少させるために存在し、ポリマーの乾燥重量に対して一般に約10重量%～50重量%を占める。典型的な可塑剤の例としては、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、トリアセチン、ジメチルフタレート、ジエチルフタレート、ジブチルフタレート、ジブチルセバケート、トリエチルシトレート、トリブチルシトレート、トリエチルアセチルシトレート、ヒマシ油及びアセチル化モノグリセリドが挙げられる。安定化剤は、好ましくは、分散液中の粒子を安定化させるのに用いられる。典型的な安定化剤は、ソルビタンエステル、ポリソルベート及びポリビニルピロリドン等の、ノニオン性乳化剤である。グリダントは、フィルム形成及び乾燥の際の粘着作用を減少させるのに推奨され、一般に、被覆用溶液中のポリマー重量の約25重量%～100重量%を占める。1つの有効なグリダントはタルクである。ステアリン酸マグネシウム及びグリセロールモノステアレート等の、他のグリダントも用いられ得る。二酸化チタン等の色素も用いられ得る。少量の、シリコーン（例えばシメチコン）等の消泡剤も、被覆用組成物に加えられ得る。

20

30

【0054】

粒子は、治療剤から、或いは該剤と界面活性剤との組み合わせから専ら調製され得る。粒子は様々な材料で作製され得る。無機及び有機の両方の材料が用いられ得る。例えば、セラミックスが用いられ得る。ポリマー、及び脂肪酸等の非ポリマー材料が、空気力学的に軽い粒子を形成するために用いられ得る。他の好適な材料としては、ゼラチン、ポリエチレングリコール、トレハロース、及びデキストランが挙げられるが、それらに限定されない。秒単位から月単位までにわたる分解及び放出時間を有する粒子が、粒子材料等の因子に基づいて設計及び製造され得る。

40

【0055】

治療剤又は診断剤（或いは他の所望の送達用分子であり得る）の他に、粒子は、ショ糖等、ラクトース等の賦形剤、アルブミン等のタンパク質、及び／又は界面活性剤を含み得る。

【0056】

腸溶性カプセル：「胃耐性天然ポリマー」は、本明細書で用いる場合、胃の酸性pH中では不溶性の天然ポリマー又は天然ポリマーの混合物を指す。本明細書で用いる場合、「フィルム形成性天然ポリマー」は、噴霧、ブラッシング、又は多様な工業的過程により適用される、表面の被覆に有用で、フィルム形成を遂げるポリマーを指す。大抵のフィルム

50

形成過程において、比較的低粘度の液体被覆材が固体基材に塗布され、使用者の所望の特性を有する、固体且つ、高分子量の、ポリマーベースの粘着性フィルムへの硬化を遂げる。大抵の一般的な塗布に関して、このフィルムは0.5マイクロメートル～500マイクロメートル（0.0005ミリメートル～0.5ミリメートル、又は0.00002インチ～0.02インチ）の範囲の厚さを有する。

【0057】

「ゲル化剤」は、本明細書で用いる場合、分散媒中で水和及び分散するか、又は分散媒中に溶解すると、高度に架橋又は結合を遂げる物質を指す。分散相の、この架橋又は結合は、分散媒の粘度を変化させる。分散媒の運動が分散相によって制限され、粘度が増大する。

10

【0058】

(1) 胃に抵抗性の天然ポリマー；(2) フィルム形成性の天然ポリマー；及び必要に応じて(3) ゲル化剤、を含有する、胃に抵抗性のフィルム形成性組成物が、本明細書中に記載される。典型的な、胃に抵抗性の天然ポリマーとしては、典型的には線状ポリサッカライド鎖を形成する、主としてガラクトツロン酸及びガラクトツロン酸メチルエステル単位からなるペクチン及びペクチン様ポリマーが挙げられるが、それらに限定されない。これらのポリサッカライドは、典型的には、ガラクトツロン酸、ラムノース、アラビノース及びガラクトースに富む（例えば、ポリガラクトツロナン、ラムノガラクトツロナン、並びにいくつかのアラビナン、ガラクトタン及びアラビノガラクトタン）。これらは、通常は、エステル化の程度によって分類される。高（メチル）エステル（「HM」）ペクチンでは、比較的高い割合のカルボキシル基がメチルエステルとして存在しており、残りのカルボキシル酸基は遊離酸又はそのアンモニウム、カリウム、カルシウム若しくはナトリウム塩としての形態である。有用な特性は、エステル化の程度及び重合の程度とともに変化し得る。メチルエステルとして存在しているカルボキシル酸単位が50%未満のペクチンは、通常、低（メチル）エステルペクチン又はLMペクチンとして言及される。一般に、低エステルペクチンは、穏やかな酸又はアルカリ条件での処理により、高エステルペクチンから得られる。アルカリ性の脱エステル化過程において、アンモニアが用いられる場合、アミド化されたペクチンが、高エステルペクチンから得られる。この型のペクチンでは、残存するカルボキシル酸基の一部は、酸アミドへと変換されている。アミド化されたペクチンの有用な特性は、エステル単位とアミド単位の比率及び重合化の程度とともに変化し得る。一つの実施形態においては、胃に抵抗性の天然ポリマーは、ペクチンである。胃に抵抗性の天然ポリマーは、組成物の約5重量%未満の量で、好ましくは組成物の約2重量%～約4重量%の量で存在する。

20

30

【0059】

典型的なフィルム形成性天然ポリマーとしては、ゼラチン及びゼラチン様ポリマーが挙げられるが、それらに限定されない。好ましい実施形態においては、フィルム形成性天然ポリマーはゼラチンである。多くの他のゼラチン様ポリマーが、商業的に入手できる。フィルム形成性天然ポリマーは、組成物の約20重量%～約40重量%、好ましくはその組成物の約25重量%～約40重量%で存在する。

【0060】

組成物は、必要に応じてゲル化剤を含有し得る。典型的なゲル化剤としては、 Ca^{2+} 及び Mg^{2+} 等の二価カチオンが挙げられる。これらのイオンのソースとしては、無機カルシウム塩及びマグネシウム塩並びにカルシウムゼラチン（calcium gelatin）が挙げられる。ゲル化剤は、組成物の約2重量%未満の量で、好ましくは組成物の約1重量%未満の量で存在する。

40

【0061】

1以上の可塑剤が、フィルム形成過程を容易にするために、組成物に加えられる得る。好適な可塑剤としては、グリセリン、ソルビトール、ソルビタン、マルチトール、グリセロール、ポリエチレングリコール、3～6の炭素原子を有する多価アルコール、クエン酸、クエン酸エステル、トリエチルシトレート、及びそれらの組み合わせが挙げられる。1以

50

上の可塑剤の濃度は、組成物の約8重量%～約30重量%である。1つの実施形態においては、可塑剤はグリセリン及び／又はソルビトールである。

【0062】

フィルム形成性組成物は、液体若しくは半固体の充填材料を封入できる軟殻ゼラチンカプセル若しくは硬殻ゼラチンカプセル、又は活性剤及び1以上の医薬的に許容可能な賦形剤を含有する固体の錠剤（Softlet（登録商標））を調製するために用いられ得る。或いは、該組成物は、組成物中に溶解又は分散した活性剤を有する液体として投与され得る。

【0063】

フィルム形成性組成物は、当該分野における周知の技術を用いて、軟カプセル又は硬カプセルを調製するために用いられ得る。例えば、軟カプセルは、典型的にはロータリーダイカプセル充填過程（rotary die encapsulation process）を用いて生産される。充填製剤は、重力により、カプセル充填機械中に供給される。

10

【0064】

カプセル外殻は、グリセリン、ソルビトール、ソルビタン、マルチトール、グリセロール、ポリエチレングリコール、3～6の炭素原子を有する多価アルコール、クエン酸、クエン酸エステル、トリエチルシトレート、及びそれらの組み合わせからなる群より選択される、1以上の可塑剤を含有し得る。

【0065】

可塑剤に加えて、カプセル外殻は、乳白剤、着色剤、保湿剤、防腐剤、香料、並びに緩衝塩及び緩衝酸等の、他の好適な外殻の添加物を含み得る。

20

【0066】

乳白剤は、カプセルに封入される活性剤が光感受性の場合、カプセルの外殻を不透明にするために用いられる。好適な乳白剤としては、二酸化チタン、酸化亜鉛、炭酸カルシウム及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【0067】

着色剤は、マーケティング及び製品の同定／区別目的のために用い得られる。好適な着色剤としては、合成色素及び天然色素並びにそれらの組み合わせが挙げられる。

【0068】

保湿剤は、軟ゲルの水分活性を抑制するために用いられ得る。好適な保湿剤としては、グリセリン及びソルビトールが挙げられるが、それらはしばしば可塑剤組成物の成分である。乾燥され適切に貯蔵された軟ゲルの低い水分活性に起因して、糸状菌及び酵母により、微生物起因の最大のリスクが生じる。この理由のため、保存剤が、カプセル外殻中に組み込まれ得る。好適な保存剤としては、p-ヒドロキシ安息香酸の、メチル、エチル、プロピル、ブチル、及びヘプチルエステル等のアルキルのエステル（まとめて「パラベン」として知られる）又はそれらの組み合わせが挙げられる。

30

【0069】

香料は、充填製剤の不快な匂い及び味をマスクするために用いられ得る。好適な香料としては、合成香料及び天然香料が挙げられる。香料の使用は、ゼラチンを架橋し得るアルデヒドの存在のために問題になり得る。結果として、緩衝塩及び緩衝酸が、ゼラチンの架橋を阻害するため、アルデヒドを含有する香料と合わせて用いられ得る。

40

【0070】

軟カプセル又は硬カプセルが、医薬的活性のある、多様な薬剤を送達するために用いられ得る。好適な薬剤としては、小分子、タンパク質、核酸、炭水化物、脂質、及び生物全体が挙げられる。

【0071】

充填製剤は、安全及び有効であると考えられる材料で構成される、医薬的に許容可能な担体を用いて調製され得、望ましくない生物学的副作用も、所望されない相互作用も惹起することなく個体に投与され得る。担体は、有効成分（単数）又は有効成分（複数）以外

50

の、医薬製剤中に存在する全ての成分である。本明細書で一般的に用いられる場合、「担体」としては、界面活性剤、保湿剤、可塑剤、結晶化阻害剤、湿潤剤、増量剤、可溶化剤、バイオアベイラビリティ向上剤、pH調整剤、及びそれらの組み合わせが挙げられるが、それらに限定されない。

【0072】

或いは、該組成物は、組成物中に溶解された活性剤を含む液体（例、溶液）として、又は分散された活性剤を含む液体（例、懸濁液）として投与され得る。好適な活性剤は、上記される。溶液又は懸濁液は、1以上の医薬的に許容可能な賦形剤を用いて調製され得る。好適な賦形剤としては、界面活性剤、保湿剤、可塑剤、結晶化阻害剤、湿潤剤、増量剤、可溶化剤、バイオアベイラビリティ向上剤、pH調整剤、香料及びそれらの組み合わせが挙げられるが、それらに限定されない。

10

【0073】

粘膜付着性粒子及び製造方法：一般論としては、組織へのポリマーの付着は、(i) 物理的結合又は機械的結合、(ii) 一次化学結合又は共有化学結合、及び／或いは (iii) 二次化学結合（例、イオン結合）、によって達成され得る。物理的結合又は機械的結合は、粘液の間隙又は粘膜の襞における、付着性物質の沈着又は凝集から生じ得る。二次化学結合は、生体接着特性に寄与し得、これは分散的な相互作用（例、ファンデルワールス相互作用）及びより強力な特異的相互作用（これには、水素結合が挙げられる）からなる。水素結合の形成に関与する親水性官能基は、ヒドロキシル基（-OH）及びカルボキシル基（-COOH）である。

20

【0074】

付着性ポリマー性マイクロスフェアは、以下に詳細に記載する通り、化学的組成、及び、表面積等の物理的特性の関数に基づいて形成される、物理的結合及び化学的結合に基づいて、選択されている。これらのマイクロスフェアは、粘膜への付着力が 11 mN/cm^2 超であることが特徴である。これらのマイクロスフェアのサイズは、ナノ粒子から直径でミリメートルまでの範囲である。付着力は、ポリマー組成、生物学的基材、粒子の形態、粒子の幾何学的性質（例、直径）及び表面修飾の関数である。

【0075】

生体接着性マイクロスフェア形成に有用なポリマーの種類：生体接着性マイクロスフェアを形成するために用いられ得る好適なポリマーとしては、可溶性及び不溶性、生分解性及び非生分解性のポリマーが挙げられる。これらは、天然又は合成の、ハイドロゲル又は熱可塑性物質、ホモポリマー、コポリマー又はブレンド、であり得る。しかし、極めて重要な特徴は、このポリマーが、ラットの腸粘膜表面に適用されたとき、 110 N/m^2 （ 11 mN/cm^2 ）～ $100,000\text{ N/m}^2$ の生体接着性相互作用を生じなければならないことである。

30

【0076】

生体接着性粒子が、GI管を裏打ちする粘液内層に埋め込まれ、又は、包み込まれるためには、個々の粒子の半径は天然粘液層の厚みと同じ程の厚さであるべきである。胃粘液層の厚さは、典型的には、ラットでは、 $5\sim200\mu$ まで、及びヒトでは、 $10\sim400\mu$ で様々であることが示されている。しかし、時にはSpiro, R. G., "Glycoproteins," Annual Review of Biochemistry, 39, 599-638, 1970; Labat-Robert, J. & Decaens, C., "Glycoproteins du Mucus Gastrique: Structure, Fonction, et Pathologie," Pathologie et Biologie (Paris), 24, 241, 1979; Allen, A., Hutton, D. A., Pearson, J. P., & Sellers, L. A., "Mucus Glycoprotein Structure, Gel Formation and Gastrointestinal Mucus Function" in Mucus and Mucosa, Ciba Foundation Symposium 109 (J. Nugent & M. O'Connor編), pp

40

50

． 137 (London: Pitman, 1984) に記載の通り、ヒトで 1000 μ もの厚さに達し得る。過去には、二種類のポリマー：親水性ポリマー及びハイドロゲル、が、有用な生体接着特性を示すように思われた。親水性ポリマーという大きな分類では、カルボキシル基（例、ポリ〔アクリル酸〕）を含有する親水性ポリマーが、最高の生体接着特性を示す。最高濃度のカルボキシル基を含むポリマーが、柔らかい組織上の生体接着に対して選択される材料であるはずだと推量できるであろう。他の研究では、最も有望なポリマーは：アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、及びメチルセルロース、であった。これらの材料のいくつかは、水溶性であるが、他は、ハイドロゲルである。

【0077】

ポリ〔ラクチド- α -グリコリド〕、ポリ無水物、及びポリオルトエステル等の、これらの平滑な表面が腐食するとき、外表面上にそのカルボキシル基が露出する迅速生体内分解性のポリマーは、生体接着性薬物送達システムの優れた候補である。さらに、ポリ無水物及びポリエステル等の不安定な結合を含有するポリマーは、それらの加水分解反応性に関しては周知である。それらの加水分解の分解速度は、一般に、ポリマー骨格中の簡単な変化によって改変され得る。

【0078】

代表的な天然ポリマーとしては、ゼイン、改変ゼイン、カゼイン、ゼラチン、グルテン、血清アルブミン、又はコラーゲン等のタンパク質、並びにセルロース、デキストラン、ポリヒアルロン酸等の多糖類、アクリル酸エステル及びメタクリル酸エステル及びアルギン酸のポリマーが挙げられる。代表的な合成ポリマーとしては、ポリホスファゼン (polyphosphazene)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリアミド、ポリカーボネート、ポリアルキレン、ポリアクリルアミド、ポリアルキレングリコール、ポリアルキレンオキシド、ポリアルキレンテレフタレート、ポリビニルエーテル、ポリビニルエステル、ハロゲン化ポリビニル、ポリビニルピロリドン、ポリグリコリド、ポリシロキサン、ポリウレタン、及びそれらのコポリマーが挙げられる。合成により改変された天然ポリマーとしては、アルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、セルロースエーテル、セルロースエステル、及びニトロセルロースが挙げられる。目的の他のポリマーとしては、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシブチルメチルセルロース、セルロースアセテート、セルロースプロピオネート、セルロースアセテートブチレート、セルロースアセテートフタレート、カルボキシメチルセルロース、セルローストリアセテート、セルロースサルフェートナトリウム塩、ポリ(メチルメタクリレート)、ポリ(エチルメタクリレート)、ポリ(ブチルメタクリレート)、ポリ(イソブチルメタクリレート)、ポリ(ヘキシルメタクリレート)、ポリ(イソデシルメタクリレート)、ポリ(ラウリルメタクリレート)、ポリ(フェニルメタクリレート)、ポリ(メチルアクリレート)、ポリ(イソプロピルアクリレート)、ポリ(イソブチルアクリレート)、ポリ(オクタデシルアクリレート)、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ(エチレングリコール)、ポリ(エチレンオキシド)、ポリ(エチレンテレフタレート)、ポリ(ビニルアセテート)、ポリビニルクロリド、ポリスチレン、ポリビニルピロリドン、及びポリビニルフェノールが挙げられるが、それらに限定されない。代表的な生体内分解性ポリマーとしては、ポリラクチド、ポリグリコリド及びそれらのコポリマー、ポリ(エチレンテレフタレート)、ポリ(酪酸) (poly(butic acid))、ポリ(吉草酸)、ポリ(ラクチド- α -グリコリド)、ポリ無水物、ポリオルトエステル、これらのブレンド及びコポリマーが挙げられる。

【0079】

I V. クロストリジウム抗原及び短鎖脂肪酸を発現する改変細菌

少なくとも 1 のクロストリジウム由来の抗原及び少なくとも 1 の短鎖脂肪酸を発現する改変生物が、本明細書中に記載される。好ましい実施形態においては、クロストリジウム由来の抗原はフラジェリンであり、短鎖脂肪酸は酪酸塩である。該生物は、遺伝学的に改

10

20

30

40

50

変された細菌又は遺伝学的に改変された酵母であり得る。好ましくは、該生物は、クロストリジウム属に属する細菌、乳酸菌、又はE. coli等の、遺伝学的に改変された細菌である。好ましい実施形態においては、該生物は、クロストリジウムクラスターIV又はXIVaに属する、グラム陽性生物である。該生物は、動物の結腸粘膜において、少なくとも1 (on) の抗原及び少なくとも1の短鎖脂肪酸をin vivoで発現できる。例えば、フラジェリンのコード領域を含有するPCR断片 (例、GenBankアクセッション番号AY551005及び/又は (a or) AY551006)) 並びにアセチルCoA C-アセチルトランスフェラーゼ、3-ヒドロキシブチリルCoAデヒドロゲナーゼ、エノイルCoAヒドラターゼ、ブチリルCoAデヒドロゲナーゼ、リン酸ブチリルトランスフェラーゼ、及び酪酸キナーゼ等の、酪酸合成に参与する酵素のコード領域を含有するPCR断片を生物にクローニングでき、それらのPCRクローンを含む組換えベクターを構築できる。これらの改変細菌により産生される組換え抗原及び短鎖脂肪酸は、寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を増大させ、及び炎症を低減することが、それらを必要とする被験体において、できる。本明細書は、上記の通りの、少なくとも1のクロストリジウム由来の抗原及び1の短鎖脂肪酸を発現する改変生物を含む、医薬組成物にも関する。

10

【0080】

V. 治療方法

上記の通り、そして実施例で示す通り、組成物の個体への投与により、個体において寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、及び炎症を低減することが可能になる。これにより、寛容を誘導し、腸管バリアを強化し、及び炎症を低減する方法が、それらを必要とする個体において提供される。該方法は、本明細書中に記載の組成物を、個体に投与することを含む。いくつかの実施形態においては、(a) 1以上の短鎖脂肪酸若しくは短鎖脂肪酸誘導体；(b) (少なくとも1以上の) GPR109リガンド；(c) (少なくとも1以上の) GPR43リガンド；(d) (少なくとも1以上の) ヒストンデアセチラーゼ阻害剤；(e) 1以上の、クロストリジウムクラスターIV、XIVa、若しくはXVIIに属する細菌由来の抗原；(f) フラジェリンポリペプチド；又は(g) (a) ~ (d) のうちの少なくとも1と(e) ~ (f) のうちの1との組み合わせを含む組成物が、状態又は疾患の予防、低減、又は治療を必要とする個体に投与される。組成物は、寛容の誘導、腸管バリアの強化、及び炎症の低減の、所望の効果をもたらすのに十分な量で、個体に投与 (提供) される。それは、自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー疾患、又は感染性疾患から選択される少なくとも1の疾患の治療、重篤度の低減、又は予防を必要とする個体に投与され得る。

20

30

【0081】

組成物の投与により、寛容が誘導されるか否かは、以下：制御性T細胞の数、結腸T細胞群中の制御性T細胞の割合、制御性T細胞の機能、若しくは制御性T細胞マーカーの発現、のうちの少なくとも1の増大又は増強を指標として用いて決定され得る。制御性T細胞の増殖又は蓄積の誘導の指標としての、生検又は血液の試料等の患者試料における、Foxp3を発現するTreg数若しくはパーセンテージ、IL-10発現の促進 (亢進)、CTLA4発現の促進 (亢進)、IDO発現の促進 (亢進)、又はIL-4発現の抑制の測定が、具体的なアプローチである。組成物の投与により、バリア機能が強化されるか否かは、腸上皮細胞による、活性型TGF- β 及び/又は密着結合関連タンパク質の産生の増加を指標として用いることにより決定され得る。組成物の投与により、炎症が低減されるか否かは、IL-10及び/若しくはTGF- β 等の抗炎症性サイトカイン産生の増加、又はIL-4等の炎症性サイトカイン産生の減少を指標として用いることにより決定され得る。

40

【0082】

かかる発現を検出する方法としては、遺伝子発現の転写レベルでの検出のための、ノーザンブロット、RT-PCR、及びドットブロット；遺伝子発現の翻訳レベルでの検出のための、ELISA、ラジオイムノアッセイ、イムノブロット、免疫沈降、及びフローサ

50

イトメトリーが挙げられる。かかる指標を測定するために用いられ得る試料としては、個体から得られる、血液、生検、又は糞便の試料等の、組織及び体液が挙げられる。

【0083】

V I . 被験体における寛容の誘導を検出及び定量するための方法

T細胞、特にクロストリジウムクラスターI V、X I V a、及びX V I I Iに属する細菌に発現する抗原を認識する特定のT r e gサブセット、の活性化を検出及び測定するためのイムノアッセイも、本明細書中に記載される。かかるイムノアッセイは、組成物の投与が、被験体において寛容を誘導するかどうかを決定及び定量するために用いられ得る。いくつかの実施形態においては、イムノアッセイは、M H CクラスI I分子による提示に関係してフラジェリンエピトープを認識するT r e g数を定量する。蛍光色素が結合した、4つのビオチン結合部位を有する分子であるストレプトアビジンを含む、4つのM H CクラスI Iのテトラマーの複合体が調製される。M H CクラスI I鎖は、宿主細胞中の所望のエピトープ、例えばフラジェリンエピトープ、をコードするポリヌクレオチドの組換え発現により得られる。被験体からの試料中の、フラジェリンエピトープに特異的なT r e g等の、クロストリジウム抗原に特異的なT r e gの集団は、たとえ存在がごく少数であっても、本方法の使用により、容易に検出される。例えば、多様なT細胞の集団を含有する末梢血リンパ球(P B L)の試料等の、被験体から得られる試料は、本明細書中に記載のテトラマー試薬と接触させられ得る。試料中のT細胞により認識されるエピトープを含有するテトラマーは、試料中の多様なT細胞集団と接触させられると、適合するT細胞に結合する。反応液内容物は、フローサイトメトリーを用いて解析して、結合したM H Cテトラマーを有するこれらのT細胞を定量し得る。

10

20

【実施例】

【0084】

実施例

以下は、特定の態様を記述する実施例である。これらが限定をするものであるとは、決して意図されない。

【0085】

実施例1：第一に、クロストリジウムクラスターI V、X I V a及びX V I I Iに属する細菌によるT r e g誘導の機序についての知見を得るため、無菌マウスに、クロストリジウムクラスターI Vに属する細菌株、クロストリジウムクラスターX I V aに属する細菌株、及びクロストリジウムクラスターX V I I Iに属する細菌株を含む混合細菌を定着させた(「クロストリジウムが定着したマウス」)。T r e g誘導に関与する可能性のある代謝産物を同定するため、クロストリジウムが定着した、外部細菌フリーのマウスの内腔組成物中に存在する数百の代謝産物を、主成分分析(P C A)と合わせた、N M Rに基づくメタボローム解析により丹念に調査した。これにより、T r e g誘導に関与する、酢酸塩、プロピオン酸塩、イソ酪酸塩、及び特に、酪酸塩を含む短鎖脂肪酸の同定がもたらされた。インビトロでのT r e g誘導に対する、酢酸塩、プロピオン酸塩、及び酪酸塩の影響は、以下の通り測定した：脾臓のナイーブ(C D 4 4^L C D 6 2 L^{h i}) C D 4 + T細胞を抗C D 3及び抗C D 2 8 m A bを被覆したビーズで刺激し、T細胞抗原受容体シグナル伝達及びT G F - β の存在下、上記のこれら各短鎖脂肪酸を含めてか、又は含めずに培養した。各短鎖脂肪酸、ただしとりわけ酪酸塩、の補充により、T r e gの分化が、無処理コントロールと比較して亢進された(図1)。これらの所見は、短鎖脂肪酸、特に酪酸塩が、T r e gの誘導に重要な役割を果たすことを示す。

30

40

【0086】

実施例2：第二に、酪酸塩がT r e gを誘導する作用の分子機構についての知見を得るため、T細胞において酪酸塩が遺伝子発現を調節するか否かを決定するための評価を行った。製造者のプロトコールに従って、M A G n i f y C h i P s y s t e m (I n v i t r o g e n)を用いてクロマチン免疫沈降(C h I P)を行った。該アッセイにより、酪酸塩が、F o x p 3遺伝子座において、プロモーター及び保存性非コード配列(C N S) 1におけるヒストンH 3のアセチル化をアップレギュレートすることが示された(図2

50

）。同様に、トリコスタチンA、(N-(2-アミノフェニル)-N'-フェニル-オクタジアミド、2-(4-ブトキシフェニル)-N-ヒドロキシアセトアミド、MS-275、スベロイルアニリドヒドロキサム酸、及びRG 2833等の、ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害特性を有する他の分子は、Tregに対して、同一の効果を媒介できる。

【0087】

実施例3：第三に、同定された各短鎖脂肪酸、及び同定された全ての短鎖脂肪酸のナトリウム塩の混合物を、それらの、活性型TGF- β を誘導する能力(組成物の、寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を増大させ、及び炎症を低減する能力を表す性質である)について試験した。個々の各短鎖脂肪酸の0.5mM溶液により、上皮細胞株HT29の培養上清中の活性型TGF- β の発現が増加した。驚くべきことに、酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩、及びイソ酪酸塩の、ナトリウム塩の0.5mM混合物により、活性型TGF- β の発現が、いずれかの、個々の短鎖脂肪酸溶液単独よりも、3倍超高く上昇した(図3)。培養上清中の活性型TGF-B1の濃度を、ELISAにより測定した。これらのデータにより、短鎖脂肪酸の混合物が協調して、活性型TGF- β 産生の増大に寄与することが示される。

【0088】

実施例4：第四に、クロストリジウムクラスターIV、XIVa及びXVIIに属する細菌が、T細胞に対して細菌性抗原を提供するか否かを決定するため、調査を行った。これを行うため、同種抗原により引き起こされる抑制アッセイを用いて、混合したクロストリジウムクラスター、XIVa、及びXVII-IVに属する17株(「17-ミックス」)が定着したマウス中に蓄積した、Tregの抗原特異性評価を行った。17-ミックスが定着したマウスからの、固有層のCD4+CD25+T細胞は、OT-I CD8 T細胞の、OT-I オボアルブミン(OVA)ペプチドにより引き起こされる増殖を相当程度阻害し、オートクレーブされた、+17ミックスのマウスからの盲腸内容物、又は、オートクレーブされた、インビトロでの培養17株の存在下で、この抑制が顕著に亢進されたが、OT-I OVAペプチド又はGFマウスからの盲腸内容物の存在下ではそうではなかった(図4a~b及び図5)。SPF C57BL/6マウスの脾臓からCD11c+細胞を単離し、0.5 μ M SINFEKL OT-I ペプチド単独でか、又は5 μ M ISQAVHAHAHA EINEAGR OT-I I ペプチド若しくはオートクレーブされた、+17ミックスマウスからの盲腸内容物のいずれかと組み合わせてパルスし、5x10⁴/ウェルで播種した。CD8 OT-I T細胞(Teff)を、5x10⁴/ウェルで、CD11c+細胞を播種したプレートに加えた。次いで、+17ミックスマウスの結腸LPから選別されたCD4+CD25+T細胞(LP Treg)又はSPF OT-I I マウスの脾臓から選別されたCD4+CD25+T細胞(OT-I Treg)を、表示された、Teff細胞に対するTreg細胞の比率で培養液に加えた。3日後、すべての細胞を回収し、抗CD4及び抗CD8抗体で染色し、そしてフローサイトメトリーで解析してCD8 OT-I T細胞数を数えた。図4bに表示したデータは、デュプリケートの平均を表す。更に、OT-I マウス(Teff)からのCD8 T細胞及び+17ミックスマウスからの、結腸固有層の、表示された比率のCD4+CD25+細胞を、OT-I ペプチド単独でか、又はオートクレーブされた、+17ミックスマウス(+17-ミックス 盲腸)若しくはGFマウス(+GF 盲腸)からの盲腸内容物又はオートクレーブされた、インビトロで培養された17株(+17st インビトロ)のいずれかと組み合わせてパルスしたCD11c+細胞とインキュベーションした。図5に表示されたデータは、デュプリケートの平均を表す。これらの結果により、クロストリジウムが定着したマウス中の結腸固有層Treg細胞のいくつかの画分が、クロストリジウム菌に特異的であることが証明される。総合すると、前の実施例と共に、これらの所見により、クロストリジウム株は、結腸Tregの分化及び増幅に共に寄与する、短鎖脂肪酸及び細菌性抗原を提供することが証明される。フラジェリン(配列番号1)を加えて同様の実験を繰り返した。フラジェリンは、クロストリジウムクラスターIV、XIVa

及びX V I I Iに属する細菌中で非常に豊富な抗原である。フラジェリン配列は種々の微生物間で様々である。3日後、フラジェリン特異的な結腸固有層T r e g細胞を単離した。

【0089】

配列番号1

```

atggtagtac agcacaattt acaggcaatg aactctaaca gaatgttagg catcacacag
aagacagcat ctaagtctac agaaaagtta tcttcagggtt acgcaatcaa ccgcgcagca
gacaacgcag caggtcttgc tatctctgag aagatgagaa agcagatcag aggacttaca
caggcttcta caaatgctga ggacggcatc agctctgtac agacagcaga aggcgccttg
acagaagtgc atgatatgct tcagagaatg aacgagctgg caattcaggc agcaaacggc
acaaactcag aagatgaccg ctcatatatt caggacgaaa ttgaccagct gacacaggaa
atcgatcgtg ttgctgagac aacaaagttc aatgagacat atctcttgaa gggtgacaca
aagaacggtg acgctatgga ctatacatat agctataagg cagttacaac gaatactgta
gcaagagctt cgggttttagc agcagagaac acagctacag gtatgtcagt tagtatttca
tttgctgcaa acagcggcaa ggttactgca gctgactcta acaaccttgc aaaggctatc
agagatcagg gcttcacaat cacaacatct acccagaatg gtaaggttgt ttacggtctt
gagctgaacg gaagcgatgc aaaggcaaac tatacagttt caacagtaag tatggaagct
ggtacattca agatcctgaa ttctaataag caggttgttg catctgtaac aatatctaca
acagctagct ttaaaaagggt atctgggtatg tcacagatcg ttacggcgta ctctgtatca
gcagcttatg cgacgggtga tgtataactct ctctatgacg cagacggaaa tgcaatttca
gcaaacaagc tggataagta ctttacggca ggcggcgcta cagaggcagg cggaatagct
actacacttt cagcaaactc tgggtgtcct aaggtttatg acgtactcgg aaaagagggt
tctgcagtaa gcattgcaag tacttttagta acagcagtta aggataagac ggctgcattg
aagatgaact tccatgtagg tgctgacgga acagataaca acaagattaa gatcaacatt
gaggctatga cagctaagag tcttggagtt aacggctctga aggtgagcgg ttcgagcgga
acaaacgcta caaacgctat cgagataatc gctggcgcta tcaagaagggt ttctacacag
agatctgctc ttggtgcggt tcagaacaga ttagagcaca caatcaacaa cttggataac
atcgttgaga acacaacagc agctgagtca ggaatccgcg atacagatat ggctacagag
atggtttaagt actctaacgc taatatcctt tcacaggcag gtcagtctat gcttgacacag
tctaaccagt ctaaccaggg tgtacttcag ctcttacagt aa

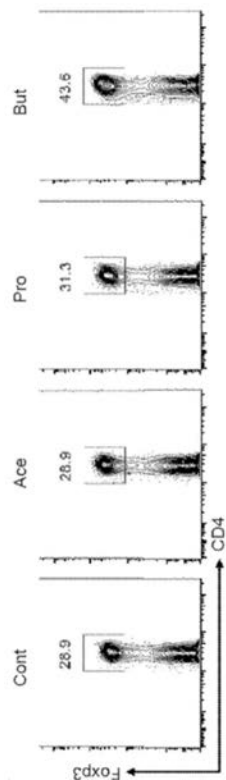
```

10

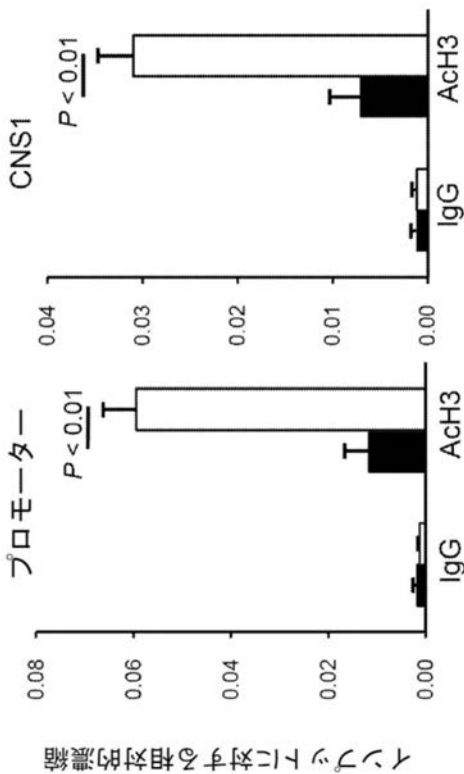
20

30

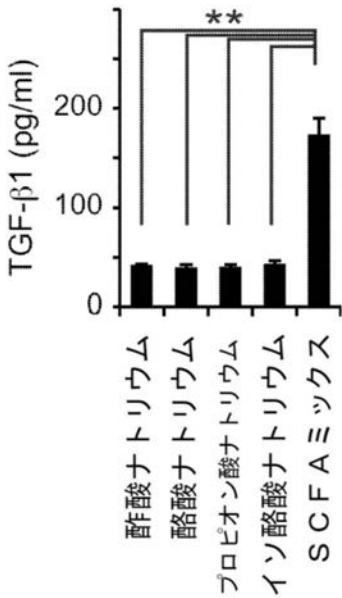
【図 1】



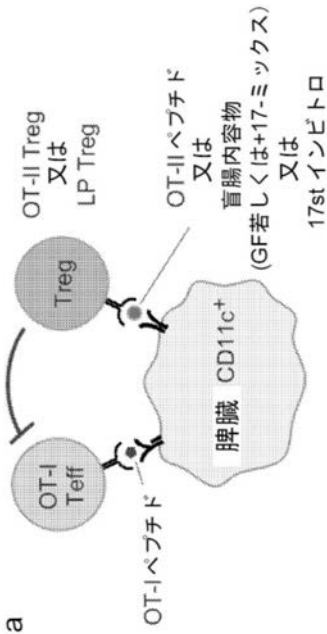
【図 2】



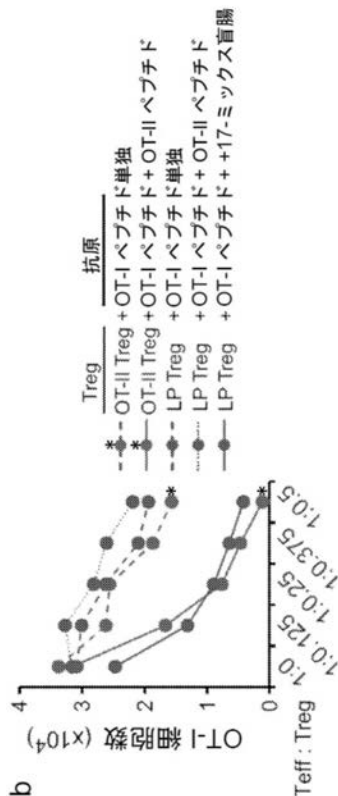
【図 3】



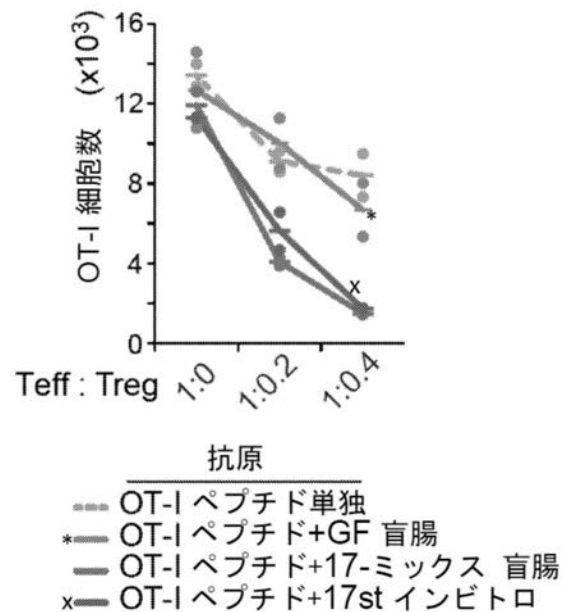
【図 4 - 1】



【図 4 - 2】



【図 5】



【配列表】

2019189609000001.app

【手続補正書】

【提出日】 令和1年6月14日 (2019.6.14)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】 特許請求の範囲

【補正対象項目名】 全文

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、及び炎症を低減する効果を有する組成物であって、(a) 1以上の短鎖脂肪酸若しくは短鎖脂肪酸誘導体；(b) 少なくとも1の GPR109リガンド；(c) 少なくとも1の GPR43リガンド；(d) 少なくとも1のヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤；(e) 1以上の、クロストリジウムクラスターIV、クロストリジウムクラスターXIVa、若しくはクロストリジウムクラスターXVIIに属する細菌由来の抗原；(f) フラジェリンポリペプチド；又は(g) (a)～(d)のうちの少なくとも1と(e)～(f)のうちの1との組み合わせを含む、組成物。

【請求項 2】

(a) が酪酸塩、イソ酪酸塩、プロピオン酸塩、酢酸塩、トリブチリン、酪酸ピバロイルオキシメチル、及びモノアセトングルコース 3-ブチラートから成る群から選択される、請求項1の組成物。

【請求項 3】

(a) が酪酸塩である、請求項1又は2の組成物。

【請求項 4】

(a) が酪酸塩、イソ酪酸塩、プロピオン酸塩、及び酢酸塩の、塩の混合物である、請求項 1 の組成物。

【請求項 5】

(f) がフラジェリン、フラジェリン様配列、フラジェリンの成分、C B i r l、F l a - X、F l i C、F l i D、F l g K、F l g C 及び F l g E から成る群から選択される、請求項 1 の組成物。

【請求項 6】

(f) がフラジェリンである、請求項 1 の組成物。

【請求項 7】

(e) の細菌が、クロストリジウムクラスター I V からの細菌とクロストリジウムクラスター X I V a からの細菌との組み合わせ、又はクロストリジウムクラスター I V からの細菌とクロストリジウムクラスター X V I I I からの細菌との組み合わせ、又はクロストリジウムクラスター X I V a からの細菌とクロストリジウムクラスター X V I I I からの細菌との組み合わせ、又はクロストリジウムクラスター I V からの細菌、クロストリジウムクラスター X I V a からの細菌及びクロストリジウムクラスター X V I I I からの細菌の組み合わせを含む、請求項 1 の組成物。

【請求項 8】

寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、及び炎症を低減する効果を有する組成物であって、酪酸塩及びフラジェリンを含む、組成物。

【請求項 9】

寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、及び炎症を低減する効果を有する組成物であって、酪酸塩、イソ酪酸塩、プロピオン酸塩、及び酢酸塩の、塩の混合物並びにフラジェリンを含む、組成物。

【請求項 10】

組成物を結腸粘膜に選択的に指向する送達システムを更に含む、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項の組成物。

【請求項 11】

請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の組成物及び医薬的に許容可能な成分を含む、医薬組成物。

【請求項 12】

寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、及び／又は炎症を低減するための、請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項の組成物又は請求項 11 の医薬組成物。

【請求項 13】

自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー疾患、及び感染性疾患から選択される少なくとも 1 の疾患を治療し、治療補助し、重篤度を低減し、又は予防するための、請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項の組成物又は請求項 11 の医薬組成物。

【請求項 14】

寛容を誘導し、腸管バリアの完全性を強化し、及び／又は炎症を低減するための医薬を製造するための、請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項の組成物又は請求項 11 の医薬組成物の使用。

【請求項 15】

自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー疾患、及び感染性疾患から選択される少なくとも 1 の疾患を治療し、治療補助し、重篤度を低減し、又は予防するための医薬を製造するための、請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項の組成物又は請求項 11 の医薬組成物の使用。

【請求項 16】

クロストリジウムクラスター I V、クロストリジウムクラスター X I V a、又はクロストリジウムクラスター X V I I I に属する細菌に発現する抗原に特異的な T 細胞の活性化を決定する方法であって、(a) 該抗原を認識する細胞を含むと疑われる被験体由来の試料を提供する工程；(b) 試料と該抗原のエピトープを含有する M H C クラス I I テトラ

マー複合体とを接触させる工程；及び（c）試料の細胞とエピトープを含有するMHCクラスIIテトラマーとの結合が生じているか否か決定する工程を含む、方法。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	4 C 0 8 7	
A 6 1 K	35/74	(2015.01)	A 6 1 K	35/74	4 C 2 0 6	B
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	4 H 0 4 5	
A 6 1 P	31/00	(2006.01)	A 6 1 P	31/00		
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04		
A 6 1 P	37/00	(2006.01)	A 6 1 P	37/00		
A 6 1 P	37/08	(2006.01)	A 6 1 P	37/08		
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
A 2 3 L	33/12	(2016.01)	A 2 3 L	33/12		
C 1 2 N	9/99	(2006.01)	C 1 2 N	9/99		
C 1 2 N	15/31	(2006.01)	C 1 2 N	15/31		
C 0 7 K	14/33	(2006.01)	C 0 7 K	14/33		
C 1 2 Q	1/06	(2006.01)	C 1 2 Q	1/06		
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	Y	

(74)代理人 100174296

弁理士 當麻 博文

(74)代理人 100137729

弁理士 赤井 厚子

(74)代理人 100151301

弁理士 戸崎 富哉

(74)代理人 100179039

弁理士 伊藤 洋介

(71)出願人 503359821

国立研究開発法人理化学研究所

埼玉県和光市広沢 2 番 1 号

(74)代理人 100080791

弁理士 高島 一

(72)発明者 本田 賢也

神奈川県横浜市鶴見区末広町 1 丁目 7 番 2 2 号 国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 消化管恒常性研究チーム

(72)発明者 オーレ、バーナット

アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 0 2 1 3 9、ケンブリッジ、ブルックリン ストリート 6 8、アパートメント 1 0 4

(72)発明者 新 幸二

神奈川県横浜市鶴見区末広町 1 丁目 7 番 2 2 号 国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 消化管恒常性研究チーム

(72)発明者 田之上 大

神奈川県横浜市鶴見区末広町 1 丁目 7 番 2 2 号 国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 消化管恒常性研究チーム

(72)発明者 大野 博司

神奈川県横浜市鶴見区末広町 1 丁目 7 番 2 2 号 国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 粘膜システム研究グループ

(72)発明者 福田 真嗣

神奈川県横浜市鶴見区末広町 1 丁目 7 番 2 2 号 国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 粘膜システム研究グループ

(72)発明者 長谷 耕二

神奈川県横浜市鶴見区末広町1丁目7番22号 国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 粘膜システム研究グループ

Fターム(参考) 4B018 MD09 MD10 MD20 ME11 ME14
4B063 QA01 QA18 QQ06 QR75 QS05 QS25 QS33 QS34
4C084 AA22 MA02 MA52 NA13 ZB07 ZB11 ZB13 ZB32 ZB35 ZC75
4C085 AA03 BA12 CC07 EE03 GG08
4C086 AA01 AA02 EA03
4C087 AA01 AA02 BC30 CA16 MA02 MA52 NA13 ZB07 ZB11 ZB13
ZB32 ZB35 ZC75
4C206 DA02 DB03 DB45 FA07
4H045 AA10 AA30 CA11 DA86 EA20 FA74

【外国語明細書】

2019189609000001.pdf

2019189609000002.pdf

2019189609000003.pdf

2019189609000004.pdf

专利名称(译)	包含微生物群生物活性分子组合的疾病治疗组合物		
公开(公告)号	JP2019189609A	公开(公告)日	2019-10-31
申请号	JP2019092447	申请日	2019-05-15
[标]申请(专利权)人(译)	独立行政法人理化学研究所		
申请(专利权)人(译)	国立研究開発法人理化学研究所		
[标]发明人	本田賢也 オーレバーナット 新幸二 田之上大 大野博司 福田真嗣 長谷耕二		
发明人	本田 賢也 オーレ、バーナット 新 幸二 田之上 大 大野 博司 福田 真嗣 長谷 耕二		
IPC分类号	A61K39/00 A61K31/19 A61K31/137 A61K31/22 A61K31/7004 A61K45/00 A61K35/74 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P37/00 A61P37/08 A61P43/00 A23L33/12 C12N9/99 C12N15/31 C07K14 /33 C12Q1/06 G01N33/53		
CPC分类号	A61K31/19 A61K38/164 A61K39/0008 A61K45/06 A61K2039/577 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P37/00 A61P37/08 A61P43/00 A61K2300/00 A61K39/08 G01N33/56977 G01N2333/70539 G01N2469/00		
FI分类号	A61K39/00.ZNA.H A61K31/19 A61K31/137 A61K31/22 A61K31/7004 A61K45/00 A61K35/74.B A61P29 /00 A61P31/00 A61P31/04 A61P37/00 A61P37/08 A61P43/00.121 A23L33/12 C12N9/99 C12N15/31 C07K14/33 C12Q1/06 G01N33/53.Y A61K39/00.HZN.A		
F-TERM分类号	4B018/MD09 4B018/MD10 4B018/MD20 4B018/ME11 4B018/ME14 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063 /QQ06 4B063/QR75 4B063/QS05 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4C084/AA22 4C084/MA02 4C084/MA52 4C084/NA13 4C084/ZB07 4C084/ZB11 4C084/ZB13 4C084/ZB32 4C084/ZB35 4C084 /ZC75 4C085/AA03 4C085/BA12 4C085/CC07 4C085/EE03 4C085/GG08 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA03 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BC30 4C087/CA16 4C087/MA02 4C087/MA52 4C087 /NA13 4C087/ZB07 4C087/ZB11 4C087/ZB13 4C087/ZB32 4C087/ZB35 4C087/ZC75 4C206/DA02 4C206/DB03 4C206/DB45 4C206/FA07 4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/CA11 4H045/DA86 4H045 /EA20 4H045/FA74		
代理人(译)	高島肇 当麻 博文 伊藤洋介		
优先权	61/844204 2013-07-09 US		
外部链接	Espacenet		
摘要(译)			

为了提供有效的方法来对抗微生物群修饰对人类健康的有害影响，特别是提供可以按照药物质量标准生产的组合物。解决方案：提供了一种具有诱导耐受性，增强肠屏障完整性和减少炎症的作用的组合物，含有（a）一种或多种短链脂肪酸或短链脂肪酸衍生物；（b）至少一种GPR109配体；（c）至少一种GPR43配体；（d）至少一种组蛋白脱乙酰基酶（HDAC）抑制剂；（e）一种或多种来源于梭状芽胞杆菌属IV，梭状芽胞杆菌属XIVa或梭状芽胞杆菌属XVIII的细菌的抗原；（f）鞭毛蛋白多肽；或（g）（a）至（d）中至少一项与（e）至（f）中至少一项的组合。图4-1

