

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大 類：
I P C 分類：

A6
B6

本案已向：

國（地區） 申請專利，申請日期： 案號： ，☐有 ☐無主張優先權

加拿大 2000年05月25日 2,309,518 ☐有 ☒無主張優先權

有關微生物已寄存於： 寄存日期： ，寄存號碼：

裝
訂
線

五、發明說明 (1)

發明領域

本發明係關用於治療和/或預防各種哺乳類病患之T-細胞中介及發炎的醫學病症的生化和生物組合物及其用途。更特定言之，其乃關於藉由施用含有哺乳類動物的細胞物質及其片段治療和預防T-細胞中介(例如，自體免疫)及發炎的醫學病症，以及關於含有哺乳類動物的細胞物質及其片段的組合物，和製備此種組合物的方法。

發明背景

有兩種細胞死亡的機制被認知，即細胞壞死和細胞凋亡。細胞凋亡是一種設定的細胞死亡過程，由Kerr等人在1992年提出說明[Kerr JFR, Wyllie, AH, Currie AR (1992年)。<細胞凋亡-一種在組織動力學上具有廣泛涵義之基本的生物學現象>《英國癌症雜誌》，第26期：239-257頁]，藉由此過程穩定態階段之各種體內的器官和組織被保持在連續的細胞分裂，並且產生分化。進行細胞凋亡的細胞通常展現獨特的形態學上的改變，如細胞量顯著減少，細胞結構修飾而造成顯著的細胞膜起泡現象、染色質濃縮及DNA被分解成寡核小體片段。

在這些形態學上的改變之後，細胞凋亡細胞可分裂成多個細胞凋亡體的小片段，包括含有完整胞器及染色質等膜結合體。細胞凋亡體一般會在它們能被溶解並且釋出其潛在前-發炎細胞內的內容物之前，便由巨噬細胞、樹突細胞和其他產生抗原的細胞的吞噬作用從體內移除。

簡單地說，細胞凋亡被認為是如以下的方式進行的。有

五、發明說明(2)

三種相可在設定性細胞死亡的細胞凋亡機制中被鑑定出來：

誘發相；
作用相；及
分解破壞相。

該誘發相部分是依賴細胞膜表面的死亡誘發信號。一種普遍的信號是由特定的配體與出現在細胞膜表面的TNF受體家族結合而起始的。一種重要的此種受體是Fas (APO-1, CD95)，其與Fas-配體交互作用而使細胞凋亡起始。

由誘發項之受體與配體結合而活化的作用相會導致caspases-一種胱胺醯基-天冬胺醯基需求之蛋白酶(蛋白質水解酶)活化，其包括caspases 1和8。該活化與粒線體的滲透性之變化相關聯，使得涉及caspase活化的細胞色素-c得以釋出。活化的caspases會起始一連串致命的蛋白質水解作用，而使細胞凋亡中可見之染色質和細胞結構成份變化達到高潮。

有許多進行細胞凋亡的細胞可由瓊脂膠體電泳上所見到的DNA『階梯』的特徵來鑑認，該『階梯』是從DNA被切成一系列的片段所產生的。將DNA從細胞內抽取出來後在瓊脂膠體電泳上的DNA『階梯』外觀是一種被公認用來鑑認細胞中凋亡的方法[Loo, D.T.和Rillema, J.R. (1998年) <測量細胞死亡>，《細胞生物學方法》，第57期：251-264頁]，雖然它並非總是能夠充分敏感地測出細胞凋亡。原位標記細胞核的DNA片段，例如利用可購得的dUTP缺口與

五、發明說明 (3)

標記檢驗法(TUNEL)是另一種選擇並且可以更具複現性地測量，進而測定細胞凋亡之細胞和正在進行細胞凋亡的細胞中DNA片段化的情形[Gavrieli Y,和Sherman Y, Ben-Sasson SA (1992年)<藉由特定標記細胞核的DNA片段鑑認原位之已設定的細胞死亡>，《細胞生物學雜誌》，第119期：493-501頁]。

在細胞凋亡期間，磷脂醯絲胺酸會曝露在細胞膜外[Fadok VA, Voelker DR, Campbell PA, Cohen JJ, Bratton DL, Henson PM (1992年)，<磷脂醯絲胺酸曝露在細胞凋亡之淋巴球表面會引起特定的辨識並且被巨噬細胞移除>，《免疫學雜誌》，第148期：2207-2216頁]，並且此種曝露的磷脂醯絲胺酸會結合至特定的受體以調節哺乳動物體內細胞凋亡細胞之攝取和清除[Fadok VA, Bratton DL, Rose DM, Pearson A, Ezekewitz RAB, Henson PM (2000年)，<用於磷脂醯絲胺酸特定之細胞凋亡細胞之清除的受體>，《自然》，第405期：85-90頁]。細胞表面之表現磷脂醯絲胺酸是另一種公認鑑別細胞凋亡細胞的方法。

粒線體完整性的變化與細胞凋亡緊密相關聯，會造成粒線體外膜的滲透性改變並使細胞色素-c從粒線體釋放到細胞質中[Susin, S.A., Lorenzo, H.K., Zamzami, N., Marzo, I, Brenner, C., Larochette, N., Prevost, M.C., Alzari, P.M.和Kroemer, G. (1999年)，<粒線體在細胞凋亡過程中釋出caspase-2和caspase-9>，《實驗醫學雜誌》，第189期：381-394頁]。測量粒線體膜上電位的改變可反應出粒線體

五、發明說明(4)

膜的滲透性之變化，這是另一種公認用於鑑別細胞凋亡細胞的方法。

有數種其他的方法以鑑別正在進行細胞凋亡的細胞和細胞凋亡細胞，其中有許多是利用對抗細胞凋亡細胞之特定標記物的單株抗體者，亦已說明在科學文獻之中。

已知用於定量細胞組合物中之細胞凋亡細胞和細胞凋亡體的方法，並且可由熟習此藝者容易地操作實行。該技術包括對處理過的細胞群染色，用適當的具選擇性之染劑如與螢光素接合之接合素V，接著予以培育並用流動細胞計數器進行分析。

相對地，細胞壞死就病理學本質而言表細胞死亡，其係由受傷、細菌毒素作用，發炎調節子等等所造成，並且涉及膜的破裂並將細胞內的內容物釋放到周邊的組織，經常是具有傷害性之發炎後果者。壞死的細胞可由偵測組成之細胞膜來偵測和鑑別特徵，例如藉著像是以碘丙炔、染色，接著以流動細胞計數法或顯微術的方法來進行。

美國專利第5,908,954號，於1999年11月9日授予Bolton者揭示一種用於治療自身免疫疾病的自身免疫疫苗，藉著將自源血液在體外用壓迫劑，即氧化劑，UV照射和/或升高溫度來製備。用此方式製備的疫苗經報導含有淋巴球和其他白血球，展現收縮之類似細胞凋亡的形態，其數量大於病患正常血液中所含者。此種細胞異於且截然不同於凋亡細胞和細胞凋亡體。重複本專利所說明之程序，亦即將人的全血用含有14-15 mcg/毫升臭氧/醫藥級氧氣的臭氧/

五、發明說明(5)

氧氣混合物以大約每分鐘200毫升的速度起泡通過血液部份，在42.5℃的溫度下經3分鐘，同時以波長253.7 nm的UV照射，產生白血球細胞部份物，當其被分離且用「Annex 5 FTIC細胞凋亡偵測套組」(Sigma產品Cord/APO/AF)，以合併素5染色分析，顯示實質上未有細胞凋亡細胞或細胞凋亡體存在。

發明摘述

根據本發明，施用先前在體外製備的凋亡細胞和細胞凋亡體係用在預防和/或治療發炎和T-細胞調節之醫學疾病。該醫學疾病可以是T-細胞調節的疾病如類風濕性關節炎、硬皮病、狼瘡、糖尿病、牛皮癬等等。其可為因身體或其器官對外部接觸或攝食物質的過敏反應所造成的炎症，例如：接觸之過敏性、氣喘、常春藤過敏反應或橡樹過敏反應、蕁麻疹等等及感染。其亦可為內臟之過敏或T-細胞調節之疾病，如肝病、腎病、心臟病及類似者。

在其一方法之方面，本發明係導向用於治療或預防哺乳類病患體內T-細胞調節及發炎病症，其包括對病患施用有效量之細胞凋亡體和/或細胞凋亡細胞。

這些方法較好是藉著對病患施用本說明書所說明的醫藥組合物來達成。

附圖之簡要說明

附圖係顯示用本發明之組合物與對照組治療老鼠之淨耳腫脹之比較圖。

較佳具體實例之說明

五、發明說明(6)

本發明係有關細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體以治療哺乳類病患體內T-細胞調節與發炎病症之用途。

如本說明書中使用之「細胞凋亡細胞」和「細胞凋亡體」之名詞意指展現一或多種以下之細胞凋亡特徵的細胞和細胞體：表面曝露出磷脂醯絲胺酸者，可由標準而可接受的偵測方法如合併素V染色來偵測；藉由標準可接受的方法測量到之粒線體膜的滲透性改變(例如 Salvioli, S., Ardizzoni, A., Franceschi, C. Cossarizza, A. (1997年)<JC-1, 但非 DiOC6(3)或硫氰胺-123 (Rhodamine 123), 是一種用於探究完整細胞中之Delta Psi變化之可靠螢光探針：在細胞凋亡期間之粒線體功能性研究之暗示>，《FEBS通信》，第411期：77-82頁]；DNA片段化之證據如從細胞中抽取DNA後在瓊脂膠體電泳上出現DNA階梯[Teiger, E., Dam, T.V., Richard, L., Wisnewsky, C., Tea, B.S., Gaboury, L., Tremblay, J., Schwartz, K.和Hamet, P. (1996年)，<在家鼠體內過度施壓誘發之心臟肥大的細胞凋亡>，《臨床研究期刊》，第97期；2891-2897頁]，或藉由原位標記法(請參考Gavrieli等人，1992年，以上參考過)。

用於本發明的凋亡細胞和/或細胞凋亡體較佳者係包括不超過大約35%重量比的壞死細胞和/或壞死細胞體，此乃根據細胞凋亡細胞/細胞凋亡體和壞死細胞/壞死細胞體的總重而言；更好是不超過大約20%重量比；甚至更好是不超過10%重量比。在此種程度下，此壞死細胞和/或壞死細胞體的存在被認為不會顯著改變體內的作用過程。

五、發明說明(7)

在其最佳的具體實例中，細胞凋亡細胞/體本質上不含壞死細胞和/或壞死細胞體(亦即少於大約2%重量比之壞死細胞/體)。

用於本發明的細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體是在體外由哺乳動物細胞製備的，其與哺乳動物病患的細胞相容。其本質上可從任何型式的哺乳動物細胞包括經培養的細胞株製備，較好是其由得自哺乳動物病患自身或建立之細胞株的細胞型式製備。更好是其由與該哺乳動物病患相容之血液的白血球製備，更好是從病患本身的白血球和更好是從病患本身的T-淋巴球製備。甚至更好是其由已建立的細胞株製備。該細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體在施用於病患前係以體外方式製備的。因此，在一項具體實例中，藉由例如靜脈穿刺抽取病患的小部份血液，以及其至少一小部份白血球，將其在體外以誘發細胞凋亡的條件予以處理。

有許多在哺乳動物細胞中誘發細胞凋亡，以產生凋亡細胞和細胞凋亡體的方法已見知於本技藝中，並且基本上其中任一者均可採用於製備用於本發明的細胞凋亡體。其係將此細胞以離子化照射(γ -射線、X-射線等)和/或非離子化的電磁輻射包括紫外線處理。細胞凋亡亦可藉著超音波處理細胞來誘發。

另一種方法是用藥物如非特定的蛋白質激酶抑制劑，例如：異孢素處理(請參考Bombeli, Karsan, Tait和Hirlan, (1997年)，〈細胞凋亡之血管性內皮變為前凝血劑〉，《血

五、發明說明(8)

液》，第89卷：2429-2442頁)。同時某些用於治療惡性腫瘤的化學治療劑可誘發細胞凋亡，例如，亞德里亞黴素，以及停滯性藥物(3-羥基-3-甲基戊二醯基輔酶A還原酶抑制劑)[Guijarro C, Blanco-Colio LM, Ortego M, Alonso C, Ortiz A, Plaza JJ, Diaz C, Hernandez G, Edigo J (1998年)，〈3-羥基-3-甲基戊二醯基輔酶A還原酶和異戊二烯化抑制劑會誘發培養中之血管平滑肌的細胞凋亡〉，《循環系統研究》，第83期：490-500頁]，和秋水仙素[Suzuki Y (1998年)，〈細胞死亡，秋水仙素治療後在老鼠嗅覺上皮和犁鼻器官中的吞噬作用和神經生成〉，《紐約科學院年鑑》，第855期：252-254頁]。從以上對細胞凋亡的討論顯然可見，細胞死亡受體之配體如Fas-配體在誘發細胞凋亡上的用途。

另一個方法則將氧化性壓迫在體外施加於細胞(請參考例如 Buttke 和 Sandstrom (1994年)，〈以氧化性壓迫做為細胞凋亡的調節劑〉，《現代免疫學》，第15期：7-10頁)。這可藉由化學氧化劑如過氧化氫、過氧化物和氫氧化物，臭氧、過錳酸鹽、過碘酸鹽及類似者處理懸浮液中的細胞來達成。較好是使用生物學上可接受的此種氧化劑，以便降低與從而形成之細胞凋亡細胞和細胞凋亡體殘留物和污染關聯的可能問題。

本發明並不限於生產用於本說明書中之凋亡細胞和細胞凋亡體的任何特殊方法，任何適當、已知的方法均可使用。

五、發明說明(9)

用於偵測和定量細胞凋亡的方法可用於測定本發明中待施用於病患之製備物中的細胞凋亡之存在及其程度。在以上說明部份中所說明的諸多方法之至少一項應被用於確認施用藥物前細胞凋亡的程度。其係於使用前以本技藝中已知的方法，如差速離心法，予以適當的純化。

在製備細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體的過程中，必需小心不要施加過度的氧化性壓迫、輻射、藥物處理等，否則會引起受處理的至少某些細胞壞死之顯著危機。細胞壞死會引起細胞膜破裂並且釋出細胞內容物，通常具有生物上有害的結果，尤其是發炎作用。因此最好是避免壞死細胞及其成份與細胞凋亡體同時存在。

適當程度處理細胞以生產用於本發明之細胞凋亡體，在某種程度上要視所選擇的細胞與細胞組合物的本質，以及選用於誘發細胞凋亡的型式而定。此種適當的程度可以很容易地被熟習此技藝所測定，而其與此項主題上可獲得的科學文獻，包括以上做為參考的文章有關。

根據本發明之較佳方法之一係涉及培養得自病患的細胞或相容之哺乳動物細胞株。然後對培養的細胞進行處理以產生細胞凋亡細胞和/或其中的細胞凋亡體。該細胞懸浮在病患的血漿或其他適當的懸浮基質，如鹽液或平衡之哺乳動物細胞培養基中，可接著以下述方法施用，細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體的數目可經由科學文獻中發表的方法予以測定，包括以上做為參考的文章。此種細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體施用於病患以獲得所欲之臨床表現，

五、發明說明 (10)

其所需要的數目會隨細胞的來源、病患的條件、年齡與重量和其他可立即由參與之醫師測得的相關因素而有所改變。

因此，根據本發明之較佳實例之一係自待接受治療的病患身上抽取一小部份血液，並且在引起細胞凋亡的條件下處理其中的白血球，以便產生一種細胞組合物，其中有顯著數目的白血球已凋亡，而從其中產生相當數目的細胞凋亡細胞或細胞凋亡體。然後把經處理過的組合物再施用於病患。

經處理而引起細胞凋亡的小部份可為全血，但較好是其經過分離的白血球部份收集物，藉由已知的方法從血液分出，並予懸浮在血漿或其他適當的懸浮基質，如鹽液或經過平衡的哺乳動物細胞培養基之中。更好是從已知方法由血液分離出的T-淋巴球，如以上方式予以懸浮，可用做為細胞凋亡細胞和細胞凋亡體的來源。

選用於治療以生產細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體的可存活細胞數目以達到大約 4×10^9 個為適當，較好是從大約1,000,000至大約1,000,000,000個為佳，而最好是從大約50,000,000至大約150,000,000個，用在每次施用於人類病患身上。所施用之細胞組合物中從大約10%至90%，較好是從大約30%至70%係由細胞凋亡細胞和細胞凋亡體所組成的，以存活細胞與壞死細胞平衡。因此，細胞凋亡體和/或細胞凋亡細胞之較佳施用量是將這些數目的細胞以細胞凋亡條件處理所產生者。當全血被用做為以細胞凋亡誘

五、發明說明(11)

發條件處理之細胞來源時。這些數目的白血球細胞可從體積達大約400毫升，較佳達100毫升的血液部份中獲得。更特定言之，50,000,000至150,000,000個細胞相當於在體積10-30毫升之血液部份中的白血球數。

從病患抽取用於處理以從中產生細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體之血液部份的體積適當可達大約400毫升。較好是從大約0.1至大約100毫升，而最好是從大約5毫升至大約15毫升。因此，較佳之細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體的施用量相當於可從包含於此量全血中所衍生白血球或經分離之T-淋巴球，接著以細胞凋亡誘發條件處理的數目。

經處理用在施用於病患之細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體的懸浮液是在生物可接受的液態懸浮基中製備的，如病患的血漿或血清，鹽液，或經過平衡之哺乳動物細胞培養基。添加其他的因子，如細胞介素、激素、受壓迫細胞之產物或其他適當之生物活性物質可促進施用之細胞凋亡細胞物質的優點。該部份物可藉由適當方法再導入病患體內，最好是肌內注射，但亦可行皮下注射、微小移植、腹膜內注射、動脈內注射、靜脈內注射和口服。該細胞凋亡物種可利用任何適當且已知的輸送系統輸送到特定的身體器官和/或部位。

本發明的組合物可視需要包括藥物學上可接受的賦形劑。某些適當賦形劑的實例包括：殺菌過的水、消毒過的鹽液、磷酸鹽緩衝的鹽液及類似者。

在施用時，該醫藥組合物包含有效量之細胞凋亡體/細

五、發明說明 (12)

胞以便在有罹患T-細胞調節或發炎病症或有其風險的病患身上誘發適當的預防和/或治療反應。較好是，施用於該哺乳動物病患的組合物包含大約10,000至10,000,000個細胞凋亡細胞或細胞凋亡體/每公斤體重，較好是大約500,000至5,000,000個，而最好是大約1,500,000至4,000,000個細胞凋亡細胞或細胞凋亡體/每公斤體重。所採用之特定劑量當然視待治療病患之年齡、體重、疾病的嚴重程度而定，這所有都在參與之醫師的技術範圍內。

為了最有效地治療和/或預防涉及發炎成份之哺乳類疾病，該病患應予一段期間根據本發明之細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體的治療。每一期程的治療可能涉及對病患施用1至6個小時部份如以上說明之懸浮細胞物質。此種部份物一天不應施用超過一種，並且在任兩次鄰接的施用之間最長的休息期間不應超過大約21天。為可保持所需效果，該病患可進行加強治療，以更多如以上說明之懸浮的細胞凋亡細胞和/或細胞凋亡體小部份施用過程，而以三至四個月的間隔進行之。

如所提出的，本發明可應用於治療和/或預防廣泛種哺乳動物之T-細胞調節和發炎的疾病，如自體免疫疾病。這些包括：狼瘡、糖尿病、硬皮病、牛皮癬和類風濕性關節炎，以及發炎的過敏反應、器官與細胞移應之疾病，以及引起發炎反應的微生物感染。本發明亦可應用於預防攝入毒物、曝露於毒性化學物質、輻射傷害，以及接觸到空氣中含有和水中含有的刺激性物質等等，會引起破壞性發炎

五、發明說明 (13)

的物質。此外，其可應用於發炎、過敏和T-細胞調節之內臟如腎、肝、心等等的疾病。

本發明為了解說的目的是，尚在以下的特定實施例中做進一步說明。

實施例1

用於證明本發明的實驗是在實驗室老鼠身上，在經准許進行此種實驗的條件下進行的。

根據經許可的動物實驗法，吾人在實驗室老鼠身上探究根據本發明之較佳實例治療接觸過敏(CHS)的效果，該疾病是Th-1-細胞發炎性疾病的一項實例，其已知係由發炎性細胞介素所調節；吾人所使用的方法說明於Kondo等人的〈與抗原-1 (LFA-1)關聯的淋巴球功能對於最大引起過敏性接觸皮膚炎是必要的〉，《英國皮膚學雜誌》，第131期：354-359頁(1994年)，只做了極小的改變。在該文獻中揭示的內容以參考文獻併在本說明書中。簡單地說，為了誘發CHS，因此將每隻老鼠的腹部皮膚去毛，並且用二硝基二氟苯DNFB塗擦，DNFB是致過敏化學物質，使用25微升0.5% DNFB溶於4:1丙酮：橄欖油溶液中來調配。將此致過敏作用施於兩組Balb/c老鼠身上，一共有10隻動物。

細胞凋亡體是從老鼠的纖維母細胞製備的。用50 mM丁酸鈉溶於RPMI基質處理老鼠的纖維母細胞，使之匯集一日，然後更換丁酸鈉基質。為了增加細胞凋亡細胞和細胞凋亡體的數目，可另外用UV-光輻射細胞(例如75 mj)。含有懸浮細胞之懸浮液則在照射後24小時予以移除。

五、發明說明 (14)

細胞凋亡體的定量是將懸浮液予以離心(1200 rpm, 5分鐘), 對懸浮液進行抽取, 用PBS沖洗得到的細胞小塊, 並如以上方式再離心一次。把含有細胞凋亡體的小塊再懸浮於PBS中。於4℃下將細胞貯存在PBS中, 歷整個實驗期間, 將要染色定量的細胞重新懸浮在1X結合緩衝液中, 濃度則為 1×10^6 個細胞/每毫升。把100微升細胞轉入5毫升試管中, 並添加10微升與螢光素接合之合併素V和10微升碘丙炔試劑。將細胞輕輕振動打散, 並且把細胞混合物在25℃下黑暗中培育15分鐘。在培育之後, 把400微升1X的結合緩衝液添加到每支試管中。在流動細胞計數器上對樣品進行分析, 歷1小時。

在兩組致敏的老鼠群中, 第一群, 也就對照組A未接受任何治療, 第二組, 亦即實驗組B則予注射如以上說明方式製備之懸浮的細胞凋亡體, 每次注射的50微升體積中含有150,000個細胞凋亡體的血液是以上述方法用壓迫劑處理過的。每次治療涉及在肌內注射50微升個別液體, 從致敏化的那天開始, 並且重複總共6天。在最後一次治療的同日, 但在施用之後, 用DNFB挑戰該動物, 藉著對每隻動物右耳施用10微升溶於丙酮和橄欖油的0.2% DNFB溶液。對每隻動物的左耳施用不含DNFB的丙酮/橄欖油溶劑。由CHS引起的發炎顯示在右耳之腫脹。吾人測定挑戰24小時後耳朵的厚度, 利用Peacock牌的彈簧裝載之微米器進行(Ozaki Co., Tokyo, 日本出品)。其結果係以每隻動物在挑戰24小時後, 右耳與左耳的厚度和厚度差異來表示。

五、發明說明 (15)

重複該實驗，用更多套兩組動物進行足夠的次數以確認結果中統計學上的顯著性。吾人在以根據本發明之細胞凋亡細胞和細胞凋亡體懸浮液治療的動物身上，值得注意的是發現耳朵厚度(發炎)顯著地下降，此係與未經治療的組別相比的結果，證明顯著地降低發炎。該結果顯示在以下的表中，並附有圖說，呈淨耳朵腫脹之長條圖(即右耳與左耳厚度的差值)，對於每一組，其「標準差」則以垂直線顯示於每一長條頂端。

表 1

組別	左耳	右耳	差值
A	17	31	14
A	18	39	21
A	17	30	13
A	18	32	14
A	18	31	13
			平均值：15 標準差：3.391165

組別	左耳	右耳	差值
B	21	31	10
B	18	18	0
B	17	30	13
B	20	24	4
B	18	22	4
			平均值：6.2 標準差：5.215362

分析施用於實驗組B之動物的細胞凋亡細胞和細胞凋亡

五、發明說明 (16)

體懸浮液指出在其中出現大約40%細胞凋亡細胞和細胞凋亡體，其處於存活細胞與微量壞死細胞(不超過20%)之平衡狀態，壞死細胞之存在被認為在體內過程中是不顯著的。

實施例2

將以上試驗程序在相似的動物群上重複進行，即一個對照組和一個實驗組，但是使用細胞凋亡細胞和細胞凋亡體的懸浮液在實驗組上，其包含大約60%細胞凋亡細胞和細胞凋亡體，呈存活細胞和微量(不超過20%)壞死細胞的平衡狀態。吾人獲得本質上相似的結果。

本發明的方法和組合物在預防和緩和因CHS造成發炎之效果指出，投予細胞凋亡細胞及細胞凋亡體會向上調節體內產生抗發炎性之Th-2衍生的細胞介素如IL-10(已知與CHS有關連，請參考Kondo, McKenzie和Sauder, 《研究皮膚學雜誌》，第103期，1994年，811-814頁)，以及可能結果會向下調節發炎性的細胞介素如TNF γ ，IL-6和IL-12。這些發炎性的細胞介素與自體免疫疾病有關連，這些疾病包括：牛皮癬、類風濕性關節炎、硬皮病，狼瘡、糖尿病、器官排斥、流產、多發性硬化症、發炎性水腫疾病和動脈粥樣硬化，以及移植物對抗宿主的疾病。因此，在以上實施例報導之CHS治療上發現的成功指示能成功地使用該方法和組合物在治療和/或預防廣泛種類之T-細胞調節與發炎性疾病包括以上所討論者。

四、中文發明摘要 (發明之名稱： 用於治療T-細胞中介及發炎病症之細胞凋亡體)

本發明係關哺乳類病患之T-細胞中介及發炎病症的治療和/或預防，其乃藉由施予病患有效量的細胞凋亡體和/或細胞凋亡細胞，並施用從而形成的細胞凋亡細胞至病患身上來實行的。

英文發明摘要 (發明之名稱： "APOPTOTIC ENTITIES FOR USE IN TREATMENT OF T-CELL-MEDIATED AND INFLAMMATORY DISORDERS")

Treatment and/or prophylaxis of T-cell-mediated and inflammatory disorders in mammalian patients is effected by administering to the patient effective amounts of apoptotic bodies and/or apoptotic cells, and administration of the apoptotic cells so formed to the patient.

六、申請專利範圍

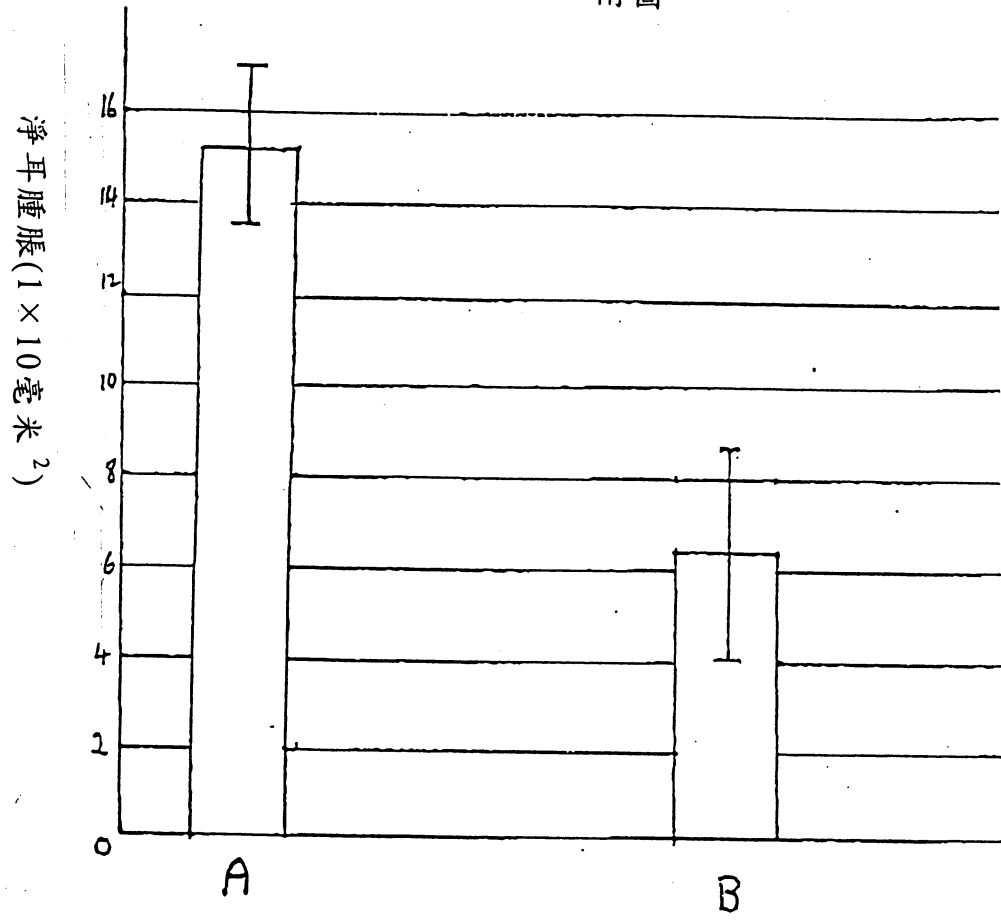
1. 一種治療和/或預防哺乳類病患體內T-細胞調節以及發炎病症之醫療組合物，其包含有效量之細胞凋亡體及/或細胞，及視需要之藥學上可接受之賦形劑。
2. 根據申請專利範圍第1項的醫藥組合物，其中該細胞凋亡體及/或細胞係與可存活的細胞一起存在液態懸浮液中。
3. 根據申請專利範圍第2項的醫藥組合物，其中該細胞凋亡體及/或細胞組成該懸浮液中細胞部分的10%至90%。
4. 根據申請專利範圍第3項的醫藥組合物，其中該細胞凋亡體及/或細胞組成該懸浮液中細胞部分的30%至70%。
5. 根據申請專利範圍第1項或第2項的醫藥組合物，其中該細胞凋亡體及/或細胞係衍生自在與該哺乳動物病患相容之體外血液細胞。
6. 根據申請專利範圍第1項或第2項的醫藥組合物，其中該細胞凋亡體及/或細胞係衍生自己建立的培養細胞株。
7. 根據申請專利範圍第5項的醫藥組合物，其中該血液細胞係為與該哺乳動物病患相容之血液的白血球。
8. 根據申請專利範圍第7項的醫藥組合物，其中該血液細胞係病患本身的白血球。
9. 根據申請專利範圍第8項的醫藥組合物，其中該血液細胞係病患本身的T-淋巴球。
10. 根據申請專利範圍第1項或第2項的醫藥組合物，其中該疾病係選自由牛皮癬、類風濕性關節炎、硬皮病、狼瘡、糖尿病、器官排斥、軟骨變異、多發性硬化症、發

六、申請專利範圍

炎性水腫、動脈粥樣硬化和植入物對抗宿主的疾病所組成之群組。

11. 根據申請專利範圍第10項的醫藥組合物，其尚包含對哺乳類病患施用一劑包含10,000至10,000,000個細胞凋亡體及/或細胞凋亡細胞/每公斤病患體重之細胞凋亡體及/或細胞凋亡細胞。
12. 根據申請專利範圍第11項的醫藥組合物，其中該劑包含500,000至5,000,000個細胞凋亡體及/或細胞凋亡細胞/每公斤病患體重。
13. 根據申請專利範圍第11項的醫藥組合物，其中該劑包含1,500,000至4,000,000個細胞凋亡體及/或細胞凋亡細胞/每公斤病患體重。
14. 根據申請專利範圍第1項的醫藥組合物，其係用於製備施用於人類病患之醫藥單劑，該劑包含10,000至10,000,000個細胞凋亡體及/或細胞凋亡細胞/每公斤病患體重。
15. 根據申請專利範圍第14項的醫藥組合物，其中該劑包含500,000至5,000,000個細胞凋亡體及/或細胞凋亡細胞/每公斤病患體重。
16. 根據申請專利範圍第15項的醫藥組合物，其中該劑包含1,500,000至4,000,000個細胞凋亡體及/或細胞凋亡細胞/每公斤病患體重。

附圖



申請日期	90.6.1
案 號	90113342
類 別	A61K ^{35/2, 35/4} , A61P ^{29/00}

A4
93.3.3修正
年 月 日
中文說明書替換本(93年3月)

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書

一、發明 新型名稱	中 文	用於治療T-細胞中介及發炎病症之細胞凋亡體
	英 文	"APOPTOTIC ENTITIES FOR USE IN TREATMENT OF T-CELL-MEDIATED AND INFLAMMATORY DISORDERS"
二、發明人 創作人	姓 名	1.安東尼 E. 波頓 ANTHONY E. BOLTON 3.丹尼爾 梭德 DANIEL SAUDER 2.艾卡狄 曼德爾 ARKADY MANDEL
	國 籍	1.英國 2.3.加拿大
	住、居所	1.英國都比郡泰斯威爾市雪伍路藤莊大廈 2.加拿大安泰羅省北約克市西頓路277號 3.加拿大安泰羅省多倫多市孟羅大道96號
三、申請人	姓 名 (名稱)	愛爾蘭商費梭根愛爾蘭有限公司 VASOGEN IRELAND LIMITED
	國 籍	愛爾蘭
	住、居所 (事務所)	愛爾蘭克萊兒郡夏濃市夏濃機場路
	代 表 人 名 姓 名	凱文 唐諾文 KEVIN DONOVAN

煩請委員明示，本案修正後是否變更原實質內容

裝 訂 線