(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2016 年 11 月 10 日(10.11.2016)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2016/178410 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 39/02 (2006.01) *A61P 17/04* (2006.01)
A61K 39/35 (2006.01) *A61P 27/14* (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01) *A61P 37/02* (2006.01)
A61P 11/02 (2006.01) *A61P 37/08* (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2016/063395

(22) 国際出願日: 2016 年 4 月 28 日(28.04.2016)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2015-094304 2015 年 5 月 1 日(01.05.2015) JP

(71) 出願人: 日東電工株式会社(NITTO DENKO CORPORATION) [JP/JP]; 〒5678680 大阪府茨木市下穂積１丁目１番２号 Osaka (JP).

(72) 発明者: 松下　恭平(MATSUSHITA, Kyohei); 〒5678680 大阪府茨木市下穂積１丁目１番２号 日東電工株式会社内 Osaka (JP). 深坂　昌弘(FUKASAKA, Masahiro); 〒5678680 大阪府茨木市下穂積１丁目１番２号　日東電工株式会社内 Osaka (JP). 宍戸　卓矢(SHISHIDO, Takuya); 〒5678680 大阪府茨木市下穂積１丁目１番２号 日東電工株式会社内 Osaka (JP). 浅利　大介(ASARI, Daisuke); 〒5678680 大阪府茨木市下穂積１丁目１番２号　日東電工株式会社内 Osaka (JP). 大久保　勝之(OKUBO, Katsuyuki); 〒5678680 大阪府茨木市下穂積１丁目１番２号　日東電工株式会社内 Osaka (JP). 堀　光彦(HORI, Mitsuhiko); 〒5678680 大阪府茨木市下穂積１丁目１番２号 日東電工株式会社内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人　安富国際特許事務所(YASUTOMI & ASSOCIATES); 〒5320003 大阪府大阪市淀川区宮原３丁目５番３６号 Osaka (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

(54) **Title**: ALLERGY VACCINE COMPOSITION

(54) 発明の名称 : アレルギーワクチン組成物

(57) **Abstract**: Provided is an allergy vaccine composition that is useful as a preventative or therapeutic agent for allergic diseases, is safe, and can effectively induce immunological tolerance. This allergy vaccine composition is administered to humans or animals that have an allergic disease in order to prevent or treat the allergic disease. The allergy vaccine composition is characterized by containing at least one type of allergen and, as an immunomodulator, at least one type of lipopolysaccharide derived from a Gram-negative bacterium selected from the group consisting of *Serratia*, *Leclercia*, *Rahnella*, *Acidicaldus*, *Acidiphilium*, *Acidisphaera*, *Acidocella*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Belnapia*, *Craurococcus*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, *Kozakia*, *Leahibacter*, *Muricoccus*, *Neoasaia*, *Oleomonas*, *Paracraurococcus*, *Rhodopila*, *Roseococcus*, *Rubritepida*, *Saccharibacter*, *Stella*, *Swaminathania*, *Teichococcus*, *Zavarzinia*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Methanoculleus*, *Methanosarcina*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Pantoea*, *Acetobacter*, *Zymomonas*, *Xanthomonas*, and *Enterobacter*, or a salt of said lipopolysaccharide.

(57) 要約: アレルギー性疾患の予防又は治療剤として有用で、安全で、効果的に免疫寛容を誘導させることのできるアレルギーワクチン組成物を提供する。 アレルギー性疾患を予防又は治療するためにアレルギー性疾患を有するヒト又は動物に投与されるワクチン組成物であって、免疫調節剤として、Ｓｅｒｒａｔｉａ、Ｌｅｃｌｅｒｃｉａ、Ｒａｈｎｅｌｌａ、Ａｃｉｄｉｃａｌｄｕｓ、Ａｃｉｄｉｐｈｉｌｉｕｍ、Ａｃｉｄｉｓｐｈａｅｒａ、Ａｃｉｄｏｃｅｌｌａ、Ａｃｉｄｏｍｏｎａｓ、Ａｓａｉａ、Ｂｅｌｎａｐｉａ、Ｃｒａｕｒｏｃｏｃｃｕｓ、Ｇｌｕｃｏｎａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ、Ｇｌｕｃｏｎｏｂａｃｔｅｒ、Ｋｏｚａｋｉａ、Ｌｅａｈｉｂａｃｔｅｒ、Ｍｕｒｉｃｏｃｃｕｓ、Ｎｅｏａｓａｉａ、Ｏｌｅｏｍｏｎａｓ、Ｐａｒａｃｒａｕｒｏｃｏｃｃｕｓ、Ｒｈｏｄｏｐｉｌａ、Ｒｏｓｅｏｃｏｃｃｕｓ、Ｒｕｂｒｉｔｅｐｉｄａ、Ｓａｃｃｈａｒｉｂａｃｔｅｒ、Ｓｔｅｌｌａ、Ｓｗａｍｉｎａｔｈａｎｉａ、Ｔｅｉｃｈｏｃｏｃｃｕｓ、Ｚａｖａｒｚｉｎｉａ、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ、Ａｃｈｒｏｍｏｂａｃｔｅｒ、Ｂａｃｉｌｌｕｓ、Ｍｅｔｈａｎｏｃｕｌｌｅｕｓ、Ｍｅｔｈａｎｏｓａｒｃｉｎａ、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ、Ｍｉｃｒｏｃｏｃｃｕｓ、Ｆｌａｖｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ、Ｐａｎｔｏｅａ、Ａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ、Ｚｙｍｏｍｏｎａｓ、Ｘａｎｔｈｏｍｏｎａｓ、及び、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒからなる群より選択される少なくとも１種のグラム陰性細菌由来のリポポリサッカライド又はその塩と、少なくとも一種類のアレルゲンとを含むことを特徴とするアレルギーワクチン組成物。

WO 2016/178410 A1

明　細　書

発明の名称 ： アレルギーワクチン組成物

技術分野

[0001] 本発明は、アレルギー性疾患の予防又は治療剤として有用なアレルギーワクチン組成物に関する。特に本発明は、特定のリポポリサッカライドを免疫調節剤として、アレルゲンとともに投与することで安全で、効果的にアレルギー症状を緩和せしめることが可能なアレルギーワクチン組成物に関する。

背景技術

[0002] アレルギー性疾患に対する治療としては、現状、抗ヒスタミン剤を用いる対処療法がそのほとんどであるが、近年、アレルギー性疾患を根治可能な治療方法として減感作療法が注目を集めている。

減感作療法は、一般的に２～３年程度の長期間投与が必要であるため、介護者及び患者のＱＯＬ（ｑｕａｌｉｔｙ　ｏｆ　ｌｉｆｅ）をより向上させるような、効果的で取扱い容易なワクチン製剤が必要であると考えられている。

[0003] 一方、ワクチン製剤の用途としては、ワクチン投与により免疫応答の誘導を目的とするものと、ワクチン投与により免疫寛容の誘導を目的とするものとがあり、前者の免疫応答の誘導においては、特許文献１で、パントエア菌由来リポポリサッカライドであるＰａｎｔｏｅａ属由来ＬＰＳ（Ｉｍｍｕｎｏ　ｐｏｔｅｎｔｉａｔｏｒ　ｆｒｏｍ　Ｐａｎｔｏｅａ　ａｇｇｌｏｍｅｒａｎｓ　１）を抗原と共に経鼻投与することで、免疫応答の誘導が可能であるという例が示されている。また、特許文献２では、Ｐａｎｔｏｅａ属由来ＬＰＳを配合したワクチン製剤を口腔内投与することで、免疫応答が十分に誘導されている。

しかしながら、Ｐａｎｔｏｅａ属由来ＬＰＳを配合したワクチン製剤により、後者の免疫寛容の誘導を示す例は開示されていなかった。すなわち、Ｐａｎｔｏｅａ属由来ＬＰＳを配合したワクチン製剤を多数回投与してアレルギ

一症状を緩和できるかどうかは開示されていなかった。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開２００９－２４２３６７号公報

特許文献2：特開２０１３－２３１０２６号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明は、安全で、アレルギー性疾患の予防又は治療剤として有用で、効果的に免疫寛容を誘導させることのできるアレルギーワクチン組成物を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明者らは、上記課題を解決するため、鋭意検討した結果、特定のグラム陰性細菌由来のリポポリサッカライド又はその塩を免疫調節剤として、アレルゲンと共に投与することで、安全で、効果的に免疫寛容を誘導させることができることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0007] すなわち、本発明は、アレルギー性疾患を予防又は治療するためにアレルギー性疾患を有するヒト又は動物に投与されるワクチン組成物であって、免疫調節剤として、Ｓｅｒｒａｔｉａ、Ｌｅｃｌｅｒｃｉａ、Ｒａｈｎｅｌｌａ、Ａｃｉｄｉｃａｌｄｕｓ、Ａｃｉｄｉｐｈｉｌｉｕｍ、Ａｃｉｄｉｓｐｈａｅｒａ、Ａｃｉｄｏｃｅｌｌａ、Ａｃｉｄｏｍｏｎａｓ、Ａｓａｉａ、Ｂｅｌｎａｐｉａ、Ｃｒａｕｒｏｃｏｃｃｕｓ、Ｇｌｕｃｏｎａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ、Ｇｌｕｃｏｎｏｂａｃｔｅｒ、Ｋｏｚａｋｉａ、Ｌｅａｈｉｂａｃｔｅｒ、Ｍｕｒｉｃｏｃｃｕｓ、Ｎｅｏａｓａｉａ、Ｏｌｅｏｍｏｎａｓ、Ｐａｒａｃｒａｕｒｏｃｏｃｃｕｓ、Ｒｈｏｄｏｐｉｌａ、Ｒｏｓｅｏｃｃｕｓ、Ｒｕｂｒｉｔｅｐｉｄａ、Ｓａｃｃｈａｒｉｂａｃｔｅｒ、Ｓｔｅｌｌａ、Ｓｗａｍｉｎａｔｈａｎｉａ、Ｔｅｉｃｈｏｃｏｃｃｕｓ、Ｚａｖａｒｚｉｎｉａ、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ、Ａｃｈｒｏｍｏｂａｃｔｅ

ｒ、Ｂａｃｉｌｌｕｓ、Ｍｅｔｈａｎｏｃｕｌｌｅｕｓ、Ｍｅｔｈａｎｏｓａｒｃｉｎａ、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ、Ｍｉｃｒｏｃｏｃｃｕｓ、Ｆｌａｖｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ、Ｐａｎｔｏｅａ、Ａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ、Ｚｙｍｏｍｏｎａｓ、Ｘａｎｔｈｏｍｏｎａｓ、及び、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒからなる群より選択される少なくとも１種のグラム陰性細菌由来のリポポリサッカライド又はその塩と、少なくとも一種類のアレルゲンとを含むことを特徴とするアレルギーワクチン組成物である。

[0008] 本発明のアレルギーワクチン組成物において、上記免疫調節剤と上記アレルゲンとの質量比（免疫調節剤の総質量／アレルゲンの総質量）が、０．００２～５００であることが好ましい。

０．００２未満であると、充分な強さの免疫寛容が誘導されないことがあり、５００を超えると、安全面での問題が生じる恐れがある。上記免疫調節剤と上記アレルゲンとの質量比のより好ましい下限は０．０１、より好ましい上限は１００である。上記免疫調節剤と上記アレルゲンとの質量比がこの範囲にあることで、安全性を確保しつつ、充分な強さの免疫寛容が誘導できる。上記免疫調節剤と上記アレルゲンとの質量比の更に好ましい上限は１０である。

本明細書にいう「アレルゲンの質量」は、特記する場合を除き、ワクチン中のアレルゲンに含まれるアレルゲンタンパク質の質量のことである。したがって、アレルゲンが、生体由来物質である場合は、そのアレルゲンに含まれる全タンパク質の質量を意味する。

[0009] 本発明のアレルギーワクチン組成物は、ヒト又は動物に対して５回以上投与されるものであることが好ましい。

[0010] 本発明は、上記アレルギーワクチン組成物が、アレルギー性疾患を有するヒト又は動物に５回以上投与されることを特徴とするアレルギー性疾患の治療方法であることが好ましい。

[0011] 本発明は、アレルゲンから引き起こされるアレルギー性疾患の予防薬又は治療薬としての使用のための上記アレルギーワクチン組成物であることが好ま

しい。

[0012] 本明細書にいう「アレルゲン」は、アレルギー性疾患を持っている人の抗体と特異的に反応する抗原を意味し、典型的にはタンパク質である。

上記アレルゲンは、具体的には樹木類の花粉に由来するアレルゲン（アカシア、ハンノキ、ビロードアオダイモ、セイヨウブナ、白樺、カエデ、山スギ、赤スギ、ハコヤナギ、ヒノキ、アメリカニレ、アキニレ、トガサワラ、ゴムの木、ユーカリの木、エノキ、ヒッコリー、アメリカシナノキ、サトウカエデ、メスキート、カジノキ、コナラ属、オリーブ、ペカン、コショウ、マツ、イボタツキ、ロシアオリーブ、アメリカスズカケ、ニワウルシ、クロクルミ、クロヤナギ等）、草木類の花粉に由来するアレルゲン（ワタ、ギョウギシバ、ナガハグサ、スズメノチャヒキ、トウモロコシ、ヒロハウシノケグサ、セイバンモロコシ、カラスムギ、カモガヤ、コヌカグサ、ホソムギ、コメ、ハルガヤ、オオアワガエリ、ヒユ、アカザ、オナモミ、ギシギシ、セイタカアワダチソウ、イソホウキ、シロザ、キンセンカ、イラクサ、アオビエ、ヘラオオバコ、オオブタクサ、ブタクサ、ブタクサモドキ、ノハラヒジキ、ヤマヨモギ、エニシダ、ヒメスイバ等）、虫由来のアレルゲン（カイコ、ダニ、ミツバチ、スズメバチ、アリ、ゴキブリ等）、菌由来のアレルゲン（アルテルナリア、アスペルギルス、ボツリヌス、カンジダ、セファロスポリウム、カーブラリア属、エピコッカム菌、表皮菌、フザリウム属、ヘルミントスポリウム属、連鎖クラドスポリウム、ケカビ、ペニシュリウム、ファーマ属、プルラリアプルランス、クモノスカビ等）、動物の体毛由来のアレルゲン（犬、猫、鳥等）、ハウスダスト由来のアレルゲンタンパク質、食物由来のアレルゲン（ＯＶＡ等）等が挙げられ、アレルギー性疾患を持っている人の抗体と特異的に反応する抗原であれば特に限定されない。

[0013] 本明細書にいう「アレルギー性疾患」は、上記アレルゲンに対し免疫反応が起こる疾患である。代表的な疾患としては アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎（花粉症等）、アレルギー性結膜炎、 アレルギー性胃腸炎、気管支喘息、小児喘息、食物アレルギー、薬物アレルギー又は蕁麻疹等があげられる。

[0014] 本発明のアレルギーワクチン組成物において、上記アレルゲンは有効量含有されていればよいが、例えば、本発明のアレルギーワクチン組成物中、一回投与量当たり０．０１～１００００μｇの範囲で含有されていることが好ましい。０．０１μｇ未満であるとアレルギー性疾患の予防又は治療剤としての機能が不充分となることがあり、１００００μｇを超えると、安全性に関して問題となることがある。上記アレルゲン含有量のより好ましい下限は０．１μｇ、より好ましい上限は５０００μｇである。

[0015] 本発明のアレルギーワクチン組成物は、免疫調節剤を含有する。

上記免疫調節剤としては、トール様受容体４（ＴＬＲ４）アゴニストが挙げられ、本発明では、該トール様受容体４（ＴＬＲ４）アゴニストとして、特定のリポポリサッカライドが用いられる。

なお、本明細書にいう「リポポリサッカライド」は、リポポリサッカライドそれ自体のほか、その性質を有する限りその誘導体であることができる。本明細書にいう塩とは、任意の有機酸又は無機酸であってよいが、好ましくは薬学的に許容される塩である。

[0016] ここで、リポポリサッカライド（ｌｉｐｏｐｏｌｙｓａｃｃｈａｒｉｄｅ、以下、ＬＰＳと記載することがある）について説明する。

上記ＬＰＳは、大腸菌、サルモネラ菌、百日咳菌等のグラム陰性細菌細胞壁のペプチドグリカンを囲む外膜に存在している脂質及び糖からなる複合化合物であり、Ｏ抗原及びエンドトキシンの活性成分として知られている［ジェー・エム・ギューセン及びアール・ハッケンベック（Ｊ．Ｍ．Ｇｈｕｙｓｅｎ ａｎｄ Ｒ．Ｈａｋｅｎｂｅｃｋ）編、「ニュー・コンプリヘンシブ・バイオケミストリー（Ｎｅｗ Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ）」、第２７巻、バクテリアル・セル・ウオール（Ｂａｃｔｅｒｉａｌ Ｃｅｌｌ Ｗａｌｌ）、第１８ページ、エルセヴィア（Ｅｌｓｅｖｅａ）、１９９４年］。

上記ＬＰＳの基本構造は、特異な脂質を有するリピドＡ、それに共有結合したＲコアと呼ばれるオリゴ糖、更にＯ特異多糖の３成分よりなっている（「

日経バイオテクノロジー最新用語辞典」、第４３１ページ、日経マグロウヒル社、１９８５年）。

[0017] 上記Ｏ特異多糖の構造は、構成成分の中で最も多様であり、菌種に特異的であって、いわゆるＯ抗原としての活性を示す。一般に数種の単糖からなるオリゴ糖の繰返し構造を特徴とするが、同一単糖からなるもの、または繰返し構造でないものも知られている。

[0018] 本発明のアレルギーワクチン組成物は、上記免疫調節剤として、特定のグラム陰性細菌由来のリポポリサッカライド又はその塩を含む。これらは、多くの食品に含まれ、生体への安全性が担保されており、これらの菌由来の抽出物又はその改変体をそのまま用いることも可能である。

上記免疫調節剤に用いられるリポポリサッカライドの由来細菌としては、Ｓｅｒｒａｔｉａ（Ｐａｎｔｏｅａ菌近種／パン、肉類、牛乳、常在細菌の一種）、Ｌｅｃｌｅｒｃｉａ（Ｐａｎｔｏｅａ菌近種／食品全般（土壌菌））、Ｒａｈｎｅｌｌａ（Ｐａｎｔｏｅａ菌近種／常在細菌の一種）、Ａｃｉｄｉｃａｌｄｕｓ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ａｃｉｄｉｐｈｉｌｉｕｍ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ａｃｉｄｉｓｐｈａｅｒａ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ａｃｉｄｏｃｅｌｌａ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ａｃｉｄｏｍｏｎａｓ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ａｓａｉａ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｂｅｌｎａｐｉａ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｃｒａｕｒｏｃｏｃｃｕｓ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｇｌｕｃｏｎａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｇｌｕｃｏｎｏｂａｃｔｅｒ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｋｏｚａｋｉａ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｌｅａｈｉｂａｃｔｅｒ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｍｕｒｉｃｏｃｃｕｓ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｎｅｏａｓａｉａ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｏｌｅｏｍｏｎａｓ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｐａｒａｃｒａｕｒｏｃｏｃｃｕｓ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｒｈｏｄｏｐｉｌａ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｒｏｓｅｏｃｏｃｃｕｓ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｒｕｂｒｉｔｅｐｉｄａ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｓａｃｃｈａｒｉｂａｃｔ

ｅｒ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｓｔｅｌｌａ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｓｗａｍｉｎａｔｈａｎｉａ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｔｅｉｃｈｏｃｏｃｃｕｓ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｚａｖａｒｚｉｎｉａ（酢酸菌類／発酵食品製造）、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ（シュードモナス菌類／牛肉、卵、肉類、魚介類、野菜）、Ａｃｈｒｏｍｏｂａｃｔｅｒ（アクロモバクター菌類／魚介類、肉類）、Ｂａｃｉｌｌｕｓ（バシラス菌類／米、野菜）、Ｍｅｔｈａｎｏｃｕｌｌｅｕｓ（メタン産生菌類／動物の腸に寄生するメタン産生菌）、Ｍｅｔｈａｎｏｓａｒｃｉｎａ（メタン産生菌類／動物の腸に寄生するメタン産生菌）、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ（クロストリジウム菌類／肉類、牛乳、野菜、缶詰）、Ｍｉｃｒｏｃｏｃｃｕｓ（放射菌類／肉類、魚介類）、Ｆｌａｖｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ（バクロイデス菌類／食品の腐敗菌）、Ｐａｎｔｏｅａ、Ａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ、Ｚｙｍｏｍｏｎａｓ、Ｘａｎｔｈｏｍｏｎａｓ、及び、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒが挙げられる。これらは、多くの食品に含まれるものであるか、食品の製造工程で用いられるものであるため、生体への安全性が担保されている。

なかでも、Ｓｅｒｒａｔｉａ、Ｌｅｃｌｅｒｃｉａ、Ｒａｈｎｅｌｌａ、Ａｃｉｄｉｃａｌｄｕｓ、Ａｃｉｄｉｐｈｉｌｉｕｍ、Ａｃｉｄｉｓｐｈａｅｒａ、Ａｃｉｄｏｃｅｌｌａ、Ａｃｉｄｏｍｏｎａｓ、Ａｓａｉａ、Ｂｅｌｎａｐｉａ、Ｃｒａｕｒｏｃｏｃｃｕｓ、Ｇｌｕｃｏｎａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ、Ｇｌｕｃｏｎｏｂａｃｔｅｒ、Ｋｏｚａｋｉａ、Ｌｅａｈｉｂａｃｔｅｒ、Ｍｕｒｉｃｏｃｃｕｓ、Ｎｅｏａｓａｉａ、Ｏｌｅｏｍｏｎａｓ、Ｐａｒａｃｒａｕｒｏｃｏｃｃｕｓ、Ｒｈｏｄｏｐｉｌａ、Ｒｏｓｅｏｃｏｃｃｕｓ、Ｒｕｂｒｉｔｅｐｉｄａ、Ｓａｃｃｈａｒｉｂａｃｔｅｒ、Ｓｔｅｌｌａ、Ｓｗａｍｉｎａｔｈａｎｉａ、Ｔｅｉｃｈｏｃｏｃｃｕｓ、Ｚａｖａｒｚｉｎｉａ、Ｐａｎｔｏｅａ、Ａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ、Ｚｙｍｏｍｏｎａｓ、Ｘａｎｔｈｏｍｏｎａｓ、及び、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒからなる群より選択される少なくとも１種が好ましい。

上記グラム陰性菌としては、Ｐａｎｔｏｅａ、Ａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ、Ｚ

ｙｍｏｍｏｎａｓ、Ｘａｎｔｈｏｍｏｎａｓ、及び、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒからなる群より選択される少なくとも１種である。特にＰａｎｔｏｅａ由来リポポリサッカライドは、現在健康食品として用いられており、特に粘膜面に投与する際により有効であるといえる。これらの菌由来の抽出物又はその改変体をそのまま用いることも可能である。

[0019] また、上記グラム陰性細菌由来のリポポリサッカライド又はその塩を用いる場合には、一般的には生体への安全性を加味する必要があり、これらを解毒化するための改変体として用いることもできる。

[0020] また、上記トール様受容体４（ＴＬＲ４）アゴニストとしては、上記特定のリポポリサッカライドの誘導体、例えば、多糖部分を除去したリピドＡ又はモノホスホリルリピッドＡ、３－脱－アシル化ＭＰＬ等が挙げられ、若しくは塩であってもよい。

上記リポポリサッカライドの多糖部分を除去したリピドＡとしては、上記特定のグラム陰性菌由来の単離物であればよく、あるいはこれらのグラム陰性菌由来の単離物と同じ構造になるように合成した物を用いてもよい。

また、上記リピドＡの改変体としては、脱リン酸化を行ったモノホスホリルリピッド（ＭＰＬ）又は塩も好適に用いられる。なお、本明細書にいうモノホスホリルリピッドは、モノホスホリルリピッドそれ自体のほか、その性質を有する限りその誘導体であることができる。特に既に医療用途で免疫賦活化剤として実績がある３－脱－アシル化物モノホスホリルリピッド（３Ｄ－ＭＰＬ）、又は、米国特許出願公開第２０１０／０３１０６０２号明細書で提案されている脱アシル化されていない合成Ｇｌｕｃｏｐｙｒａｎｏｓｙｌ　ｌｉｐｉｄが生体への安全性の観点から好ましい。

また、上記モノホスホリルリピッドとしては、安全性及び使用前例のあるサルモネラ菌由来のものも好適に用いられる。

[0021] 本発明では、パントエア・アグロメランス（Ｐａｎｔｏｅａ　ａｇｇｌｏｍｅｒａｎｓ）由来ＬＰＳが好ましく用いられる。なかでも、パントエア・アグロメランス由来ＬＰＳは、タンパク質マーカーを用いてＳＤＳ－ＰＡＧＥ

法で測定した分子量が、５０００±３０００、好ましくは、５０００±２０００であるパントエア・アグロメランス由来ＬＰＳが好ましい。ここにいう分子量は、タンパク質マーカーを用いたＳＤＳ－ＰＡＧＥ法による染色帯の位置により測定され、詳細は後述する。

本発明でも好ましく用いられるパントエア・アグロメランス由来ＬＰＳは、Ｏ－抗原部分がラムノースとグルコースとの繰返し構造であることを特徴とするリポポリサッカライドである。

[0022] 上記パントエア・アグロメランス由来ＬＰＳは、パントエア・アグロメランス（Ｐａｎｔｏｅａ　ａｇｇｌｏｍｅｒａｎｓ）を、常法により培養し、培地から菌体を集め、集めた菌体から公知の方法により精製して製造できる。

[0023] なお、上記パントエア・アグロメランス由来ＬＰＳの分子量は、以下の方法で測定できる。

すなわち、配合物として用意したパントエア・アグロメランス由来ＬＰＳ、あるいはワクチン組成物から適当な方法で抽出精製したパントエア・アグロメランス由来ＬＰＳについて、以下の方法で分子量を測定できる。

パントエア・アグロメランス由来ＬＰＳを蒸留水に溶解して１ｍｇ／ｍＬの濃度の溶液を調製し、その溶液と、Ｓａｍｐｌｅ　ｂｕｆｆｅｒ　ｓｏｌｕｔｉｏｎ　２ＭＥ＋（ＷＡＫＯ社製）を等量混合し、５分間沸騰水浴中に浸し、その後直ちに氷水中に浸して急冷する。

ランニングバッファー（アトー社製）をスラブゲル電気泳動槽（マリソル社製）に満たし、２０％ポリアクリルアミドゲルを泳動槽に固定し、サンプル溝に１０μＬずつ検体を入れ、電圧を１００Ｖにて少なくとも１時間通電して、色素がゲルより溶出するまで泳動を継続する。泳動終了後に、銀染色キット１６１－０４４３（バイオラッド社製）により室温で銀染色を行い、挙動を確認する。

[0024] また、本発明のアレルギーワクチン組成物は、上述した免疫調節剤として、特定のグラム陰性細菌由来のリポポリサッカライド又はその塩を含有するものであれば、これらと他の従来公知の免疫調節剤を組み合わせて用いてもよ

い。

[0025] 本発明のアレルギーワクチン組成物は、上述したアレルゲン及び免疫調節剤に、必要に応じて他の成分（例えば、リン酸緩衝溶液等）を加え、公知の方法で攪拌混合することで、及び必要に応じて公知の方法で、更に加熱、冷却、又は非加熱乾燥することで調製することができる。

[0026] 本発明のアレルギーワクチン組成物は、必要に応じて、添加剤を含有していてもよい。上記添加剤は、上記アレルゲン及び上記免疫調節剤との適合性、意図する投与レジメン等に応じて、例えば、賦形剤、結合剤、香料、矯味剤、甘味剤、着色剤、等張化剤、防腐殺菌剤、酸化防止剤、溶解剤、溶解補助剤、懸濁化剤、充填剤、ｐＨ調節剤、安定化剤、吸収促進剤、放出速度制御剤、可塑剤、架橋剤、粘着剤又は界面活性剤等が挙げられる。これら添加剤は単独で又は２種以上を組み合わせて用いることができる。

これらの材料としては特に限定されず、従来公知のものが使用できる。

[0027] 本発明のアレルギーワクチン組成物の剤形は、例えば、液剤、エマルジョン剤、噴霧剤、半固形製剤、固形製剤、リニメント剤、ローション剤等の外用液剤、エアゾール剤等の外用スプレー剤、ゲル剤、テープ剤及びパップ剤等の貼付剤、軟膏剤、硬膏剤又はクリーム剤であってよい。これらの組成物の区分、定義、性質、製法などは、当該技術分野において周知であり、例えば日本薬局方第１６版を参照されたい。

後述のように、本発明のアレルギーワクチン組成物の剤形が、液剤、エマルジョン剤又は液体を添加して溶解、乳化、あるいは懸濁させて使用する上記固形製剤であることで、ヒト又は動物に注射により好適に投与することができる。また、本発明のアレルギーワクチン組成物の剤形が、液剤、噴霧剤、半固形製剤又は固形製剤であることで、ヒト又は動物の粘膜に好適に投与することができる。また、本発明のアレルギーワクチン組成物の剤形が、リニメント剤、ローション剤等の外用液剤、エアゾール剤等の外用スプレー剤、ゲル剤、テープ剤及びパップ剤等の貼付剤、軟膏剤、硬膏剤又はクリーム剤であることで、より好適にヒト又は動物の皮膚に投与することができる。

[0028] 本発明のアレルギーワクチン組成物は、免疫寛容の誘導のために用いられるものである。免疫寛容誘導効果を定量的に測定する方法は特に限定されず、様々な方法が開発されているが、例えば免疫評価用モデル動物を用いた免疫寛容誘導実験及びＥＬＩＳＡ法（アレルゲン抗原特異的ＩｇＥ抗体）により測定することができる。液性免疫を測定するためのサンプルとしては、例えば、免疫評価用モデル動物の血液等が挙げられる。

[0029] 本明細書にいう「対象」は、実用段階においてアレルギーワクチン組成物を投与して免疫寛容を誘導し得るいずれかの動物、典型的にはヒトを含む哺乳類、例えばマウス、ラット、イヌ、ネコ、ウサギ、ウマ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、サル、チンパンジー等を意味する。特に好ましい対象は、ヒトである。

また、本発明のアレルギーワクチン組成物は、抗原の種類と投与経路とが特定の組み合わせであることが好ましい。具体的には、上記抗原がＯＶＡである場合、経皮投与であることが好ましく、上記抗原がスギ花粉である場合、舌下投与又は経皮投与であることが好ましく、上記抗原がダニアレルゲンである場合、皮下注射による投与が好ましい。

[0030] ＜注射投与用アレルギーワクチン組成物＞

上記注射投与用アレルギーワクチン組成物の剤型は、例えば、液剤、エマルジョン剤、水溶性又は疎水性の懸濁剤、又は、液体を添加して溶解あるいは懸濁させて使用する半固形製剤又は固形製剤であることが好ましい。ある程度の流動性を有する剤型であれば、ヒト又は動物に好適に注射投与することができる。

なお、上述した剤型の材料としては特に限定されず、従来公知のものを使用することが出来る。

上記注射投与用アレルギーワクチン組成物中の上記アレルゲン及び上記免疫調節剤の含有量は特に限定されないが、例えば、上記注射投与用アレルギーワクチン組成物中の上記アレルゲンは、０．０１～１００００μｇの範囲で含有されていることが好ましく、０．１～５０００μｇの範囲で含有されて

いることがより好ましい。また、上記注射投与用アレルギーワクチン組成物中の上記免疫調節剤は、上記アレルゲンとの質量比（すなわち、免疫調節剤の総質量／アレルゲンの総質量）が、例えば０．００２～５００の範囲で含有されていることが好ましく、０．００２～５０の範囲で含有されていることがより好ましく、０．０１～１０の範囲で含有されていることが更に好ましい。

また、上記免疫調節剤はＰａｎｔｏｅａ属由来ＬＰＳであることが好ましい。

[0031] 本発明の注射ワクチン組成物の投与方法としては特に限定されないが、皮内注射、皮下注射、筋肉注射のいずれかの方法により投与されることが好ましい。

[0032] ＜経粘膜投与用アレルギーワクチン組成物＞

上記経粘膜投与として、例えば、鼻粘膜、口腔内粘膜、眼粘膜、耳粘膜、生殖器粘膜、咽頭粘膜、気道粘膜、気管支粘膜、肺粘膜、胃粘膜、腸管粘膜、直腸粘膜等への投与が挙げられる。

上記経粘膜投与用アレルギーワクチン組成物の剤型は、例えば、ゲル剤（ゼリー剤）、クリーム剤、軟膏剤、硬膏剤等の半固形剤、液剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、フィルム剤、錠剤、口腔内崩壊錠等の固形製剤、半固形製剤、エアゾール剤等の粘膜用スプレー剤、吸引剤等であってよい。これらの組成物の区分、定義、性質、製法等は、当該技術分野において周知であり、例えば日本薬局方第１６版を参照されたい。

また、本発明の経粘膜投与用アレルギーワクチン組成物は、ヒト又は動物の粘膜に投与されるものであるので、上記半固形製剤及び固形製剤は、体液及び／又は体温によって溶解するものであることが好ましい。

なお、上述した剤型の材料としては特に限定されず、従来公知のものを使用することが出来る。

上記経粘膜投与用アレルギーワクチン組成物中の上記アレルゲン及び免疫調節剤の含有量は特に限定されないが、例えば、上記経粘膜投与用アレルギー

ワクチン組成物中の上記アレルゲンは、０．０１～１００００μｇの範囲で含有されていることが好ましく、０．１～５０００μｇの範囲で含有されていることがより好ましい。また、上記経粘膜投与用アレルギーワクチン組成物中の上記免疫調節剤は、上記アレルゲンとの質量比（すなわち、免疫調節剤の総質量／アレルゲンの総質量）が、例えば０．００２～５００の範囲で含有されていることが好ましく、０．０１～１００の範囲で含有されていることがより好ましい。

[0033] 経粘膜投与用アレルギーワクチン組成物に含まれる免疫調節剤はＰａｎｔｏｅａ属由来ＬＰＳであることが好ましい。また、経粘膜投与用アレルギーワクチン組成物の投与経路が経鼻である場合、剤形は、アレルゲン及びＰａｎｔｏｅａ属由来ＬＰＳを含む溶液あるいはドライパウダーが好ましい。経鼻投与用アレルギーワクチン組成物が、上記溶液の場合は、予め溶液状態のものでも、用事に生理食塩水など液体に溶解、分散させて用いてもよい。また、経粘膜投与用アレルギーワクチン組成物の投与経路が舌下である場合、剤形は、アレルゲン及びＰａｎｔｏｅａ属由来ＬＰＳを含む溶液、半固形製剤あるいは固形製剤が好ましい。舌下投与用アレルギーワクチン組成物が、上記溶液の場合は、予め溶液状態のものでも、用事に生理食塩水など液体に溶解、分散させて用いてもよい。

[0034] ＜経皮投与用アレルギーワクチン組成物＞

上記経皮投与用ワクチン医薬組成物の剤型は、例えば、リニメント剤、ローション剤等の外用液剤、エアゾール剤等の外用スプレー剤、ゲル剤、テープ剤及びパップ剤等の貼付剤、軟膏剤、硬膏剤、クリーム剤等が挙げられ、経皮投与できるものであってよい。これらの組成物の区分、定義、性質、製法等は、当該技術分野において周知であり、例えば日本薬局方第１６版を参照されたい。上記経皮投与用アレルギーワクチン組成物の剤形は、コンプライアンスの観点から特に貼付剤（テープ剤、パップ剤等）が好ましい。

なお、上述した剤型の材料としては特に限定されず、従来公知のものを使用することが出来る。

上記経皮投与用アレルギーワクチン組成物中（テープ剤の場合は、粘着剤層中）の上記アレルゲン及び免疫調節剤の含有量は特に限定されないが、上記アレルゲンの含有量は０．０１～４０重量％が好ましく、０．１～３０重量％がより好ましい。また、上記経皮投与用アレルギーワクチン組成物中の上記免疫調節剤は、上記アレルゲンとの質量比（すなわち、免疫調節剤の総質量／アレルゲンの総質量）が、例えば０．００２～５００の範囲で含有されていることが好ましく、０．０１～１００の範囲で含有されていることがより好ましい。

[0035] 上記テープ剤は、配合成分（即ち、上記アレルゲン、上記免疫調節剤等）を含有する粘着剤層と、上記粘着剤層を支持する支持体とを有することが好ましい。使用前に上記粘着剤層を露出させず、使用時に上記粘着剤層から容易に剥離できる剥離ライナーを更に有していてもよい。

[0036] 上記粘着剤層を形成する粘着剤は特に限定されないが、アレルゲンの拡散・放出性が良好であることより、ポリアクリル酸ナトリウムのような親水性基材が好ましい。

上記粘着剤層中の上記粘着剤の含有量は特に限定されないが、固形分として、上記粘着剤層の総重量の１０～９９重量％が好ましく、２０～９５重量％がより好ましい。

[0037] 上記粘着剤層の厚みは特に限定されないが、１０～１０００μｍが好ましい。上記範囲の厚みとすることにより、上記粘着剤層に有効量の上記配合成分を含有させること、充分な粘着力を発揮させること、上記粘着剤層を形成すること等が容易となる。

[0038] 上記支持体は特に限定されないが、実質的に上記配合成分に対して不透過性を有するもの、即ち、上記粘着剤層に含まれる上記アレルゲン及び上記免疫調節剤等が支持体を通って背面から失われて含有量の低下を引き起こさないものが好ましい。

[0039] 本発明のアレルギーワクチン組成物を対象に投与する際、上記アレルギー性疾患の治療上有効量は、疾患の重症度、対象の年齢及び相対的な健康、他の

既知の要因等に依存して広範に変化しうるが、一般に、１日用量約０．１μｇ～１０ｇ／ｋｇ体重で満足のいく結果が得られる。上記免疫調節剤は、上記アレルゲンと同時又は逐次的に、好ましくは同時に投与される。

上記免疫調節剤の治療上有効量は、用いる具体的な免疫調節剤、他の添加剤の有無等に依存して広範に変化しうるが、一般に、１日用量約０．１μｇ～１０ｇ／ｋｇ体重で満足のいく結果が得られる。

[0040] なお、１日用量を１回で投与してもよいが、２回以上（例えば、２回、３回、４回、５回等）の複数回に分けて投与してもよい。１回あたりの連続投与時間は、１分間～７日間の間で適宜選択されることが好ましい。投与間隔は、毎日～１年に１回（例えば、１日１回、２日に１回、３日に１回、１週間に１回、２週間に１回、１月に１回、３月に１回、６月に１回、１年に１回）又はそれより長期の投与間隔から、患者の状態、アレルギー疾患の重症度、治療目的か予防目的か等に応じて、適宜選択されることが好ましい。一般に、重度の疾患を現実に有する患者の治療目的では、より高頻度及び／又は高用量で本発明のアレルギーワクチン組成物を投与し、疾患を有さない患者の予防目的では、より低頻度及び／又は低用量で本発明のアレルギーワクチン組成物を投与することが好ましい。

発明の効果

[0041] 本発明のアレルギーワクチン組成物は、少なくとも一種類のアレルゲンと共に、上述した特定の免疫調節剤を併用するため、体内及び体表面に投与されることにより効果的に免疫寛容を誘導させることができる。

また、本発明のアレルギーワクチン組成物の剤形が、粘膜投与又は経皮投与のための剤形である場合、減感作療法に用いられると、患者が、在宅においてアレルゲンタンパク質の自己投与が可能であるため、介護者が投与しやすく、患者及び介護者のＱＯＬを大幅に向上させることができる。また、非侵襲的な体表面上の投与が可能であるため、優れたコンプライアンスが得られる。

即ち、痛み、恐怖心、注射痕及びそれに続く瘢痕化、繰り返し投与を行う場

合は通院が患者の生活の負担となること等の患者のＱＯＬの観点からの問題が低減される。

本発明のアレルギーワクチン組成物の剤形が、テープ剤及びパップ剤等の貼付剤の形態であれば、所定の投与量を確実に投与でき、薬物放出速度を任意に制御でき、また、投与に際して他の部位に付着することがないという利点がある。更に、貼付剤は容易に着脱可能であるため、副作用が生じた場合等に適用部位から貼付剤を除去することによって患者自らが即座に投与を中止することができるという利点も有する。したがって貼付剤はコンプライアンスの面で特に好ましい。

本発明のアレルギーワクチン組成物を投与することで、アレルゲンの単独投与と比較して、免疫寛容誘導効果が顕著に向上する。更に、本発明のアレルギーワクチン組成物を非侵襲的な体表面上の投与（例えば、経皮投与又は経粘膜投与）に用いることで、注射投与と比較して、強い免疫寛容を誘導することができる。

発明を実施するための形態

[0042] 以下の実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

[0043] （実施例１～４、比較例１～４）

各投与群は５匹分として調製した。

ＯＶＡ（Ｓｉｇｍａ）（１０μｇ／ｍＬ）と、Ｐａｎｔｏｅａ　ａｇｇｌｏｍｅｒａｎｓ由来リポポリサッカライド（自然免疫応用技研社製）溶液（１μｇ／ｍＬ）に生理食塩水を混和し、表１に相当するワクチン組成物（舌下投与剤、経鼻投与剤、皮下投与剤）を得た。

また、上記ＯＶＡ（１００μｇ／ｍＬ）及び上記Ｐａｎｔｏｅａ　ａｇｇｌｏｍｅｒａｎｓ由来リポポリサッカライド溶液（１０μｇ／ｍＬ）を、粘着剤であるポリアクリル酸ナトリウム（１０００μｇ）に混和し、薬物含有粘着剤溶液を調製した。この薬物含有粘着剤溶液をポリエステル剥離フィルム上に延伸乾燥して、厚み約６０μｍの薬物含有粘着層を形成し、これを厚み

２０μｍのＰＥＴ－不織布張り合わせ型の支持体に転写して、厚み約８０μｍのフィルムを得た。得られたフィルムを０．７ｃｍ^{2}に裁断して、表１に相当するワクチン組成物（経皮投与剤）を得た。また、比較例では、免疫調節剤を加えずに、アレルゲンを生理食塩水又は粘着剤であるポリアクリル酸ナトリウムに混和し、表１に示す投与量に相当する含量となるように調製した。

参考例１～３では、アレルゲン及び免疫調節剤を加えていないマウスのＩｇＥを測定した。

マウス（メス８週齢ＢＡＬＢ／Ｃマウス、日本エスエルシー社）各群５匹に麻酔後、それぞれのマウスに調製したワクチン組成物を舌下投与群は２０μＬ、経鼻投与群は１０μＬ、皮下注射投与群は２００μＬ、経皮投与群はテープ１枚それぞれ投与した。ここで、１回の投与につき、上記ＯＶＡ（１０μｇ／ｍＬ）と上記Ｐａｎｔｏｅａ　ａｇｇｌｏｍｅｒａｎｓ由来リポポリサッカライド溶液（１μｇ／ｍＬ）とが投与されるように、上記各製剤は調製されている。当該投与から２週間の間で、合計１０回、マウスに麻酔をかけ、それぞれのマウスに調製したワクチン組成物を舌下投与群は２０μＬ、経鼻投与群は１０μＬ、皮下注射投与群は２００μＬ、経皮投与群はテープ１枚それぞれ投与した。１０度目の投与から更に１週間後に、マウスの血清を採取し、血清中ＯＶＡ特異的ＩｇＥ力価の測定をＥＬＩＳＡ法により測定を行った。

なお、詳細な測定方法は後述する。

[0044]

[表1]

	アレルゲン（投与量／回）	免疫調節剤（投与量／回）	担体	対象	投与部位	投与条件	IgE at 2^7 dilution (ABS)
参考例1	なし	なし	なし	BALB/cマウス	なし	なし	2.00
比較例1	OVA蛋白(10ug/回)	なし	生理食塩水	BALB/cマウス	舌下	10回/2週間	1.45
実施例1	OVA蛋白(10ug/回)	Pantoea属由来LPS(1ug/回)	生理食塩水	BALB/cマウス	舌下	10回/2週間	0.85
比較例2	OVA蛋白(10ug/回)	なし	生理食塩水	BALB/cマウス	鼻	10回/2週間	1.50
実施例2	OVA蛋白(10ug/回)	Pantoea属由来LPS(1ug/回)	生理食塩水	BALB/cマウス	鼻	10回/2週間	0.90
比較例3	OVA蛋白(10ug/回)	なし	pAANaﾃｰﾌﾟ	BALB/cマウス	経皮	10回/2週間	1.90
実施例3	OVA蛋白(10ug/回)	Pantoea属由来LPS(1ug/回)	pAANaﾃｰﾌﾟ	BALB/cマウス	経皮	10回/2週間	1.20
比較例4	OVA蛋白(10ug/回)	なし	生理食塩水	BALB/cマウス	皮下注射	10回/2週間	1.90
実施例4	OVA蛋白(10ug/回)	Pantoea属由来LPS(1ug/回)	生理食塩水	BALB/cマウス	皮下注射	10回/2週間	1.50

[0045]（実施例５～８、比較例５～８）

治療用標準化アレルゲンエキススギ花粉（トリイ）（１０μｇ／ｍＬ）に変更した以外は基本的に実施例１～４、比較例１～４に準ずる操作で表２に相当するワクチン組成物を調製した。

マウス（メス８週齢ＢＡＬＢ／Ｃマウス、日本エスエルシー社）各群５匹に麻酔後、それぞれのマウスに調製したワクチン組成物を舌下投与群は２０μＬ、経鼻投与群は１０μＬ、皮下注射投与群は２００μＬ、経皮投与群はテープ１枚それぞれ投与した。ここで、１回の投与につき、上記治療用標準化アレルゲンエキススギ花粉（１０μｇ／ｍＬ）と上記Ｐａｎｔｏｅａ　ａｇｇｌｏｍｅｒａｎｓ由来リポポリサッカライド溶液（１μｇ／ｍＬ）とが投与されるように、上記各製剤は調製されている。当該投与から２週間の間で、合計１０回、マウスに麻酔をかけ、それぞれのマウスに調製したワクチン組成物を舌下投与群は２０μＬ、経鼻投与群は１０μＬ、皮下注射投与群は

２００μＬ、経皮投与群はテープ１枚それぞれ投与した。１０度目の投与から更に１週間後に、マウスの血清を採取し、血清中アレルゲンエキススギ花粉特異的ＩｇＥ力価の測定をＥＬＩＳＡ法により測定を行った。

なお、詳細な測定方法は後述する。

[0046] [表2]

	アレルゲン（投与量／回）	免疫調節剤（投与量／回）	担体	対象	投与部位	投与条件	IgE at 2^7 dilution (ABS)
参考例2	なし	なし	なし	BALB/c マウス	なし	なし	1.90
比較例5	スギ花粉抽出物乾燥粉末 (10ug/回)	なし	生理食塩水	BALB/c マウス	舌下	10回/2週間	1.70
実施例5	スギ花粉抽出物乾燥粉末 (10ug/回)	Pantoea 属由来 LPS (1ug/回)	生理食塩水	BALB/c マウス	舌下	10回/2週間	1.01
比較例6	スギ花粉抽出物乾燥粉末 (10ug/回)	なし	生理食塩水	BALB/c マウス	鼻	10回/2週間	1.66
実施例6	スギ花粉抽出物乾燥粉末 (10ug/回)	Pantoea 属由来 LPS (1ug/回)	生理食塩水	BALB/c マウス	鼻	10回/2週間	1.20
比較例7	スギ花粉抽出物乾燥粉末 (10ug/回)	なし	pAANa ﾃｰﾌﾟ	BALB/c マウス	経皮	10回/2週間	1.80
実施例7	スギ花粉抽出物乾燥粉末 (10ug/回)	Pantoea 属由来 LPS (1ug/回)	pAANa ﾃｰﾌﾟ	BALB/c マウス	経皮	10回/2週間	1.11
比較例8	スギ花粉抽出物乾燥粉末 (10ug/回)	なし	生理食塩水	BALB/c マウス	皮下注射	10回/2週間	1.88
実施例8	スギ花粉抽出物乾燥粉末 (10ug/回)	Pantoea 属由来 LPS (1ug/回)	生理食塩水	BALB/c マウス	皮下注射	10回/2週間	1.50

[0047] （実施例９～１２、比較例９～１２）

ダニアレルゲン（Ｓｉｇｍａ）（１０μｇ／ｍＬ）に変更した以外は基本的に実施例１～４、比較例１～４に準ずる操作で表３に相当するワクチン組成

物を調製した。

マウス（メス８週齢ＢＡＬＢ／Ｃマウス、日本エスエルシー社）各群５匹に麻酔後、それぞれのマウスに調製したワクチン組成物を舌下投与群は２０μＬ、経鼻投与群は１０μＬ、皮下注射投与群は２００μＬ、経皮投与群はテープ１枚それぞれ投与した。ここで、１回の投与につき、上記ダニアレルゲン（１０μｇ／ｍＬ）と上記Ｐａｎｔｏｅａ　ａｇｇｌｏｍｅｒａｎｓ由来リポポリサッカライド溶液（１μｇ／ｍＬ）とが投与されるように、上記各製剤は調製されている。当該投与から２週間の間で、合計１０回、マウスに麻酔をかけ、それぞれのマウスに調製したワクチン組成物を舌下投与群は２０μＬ、経鼻投与群は１０μＬ、皮下注射投与群は２００μＬ、経皮投与群はテープ１枚それぞれ投与した。１０度目の投与から更に１週間後に、マウスの血清を採取し、血清中ダニアレルゲン特異的ＩｇＥ力価の測定をＥＬＩＳＡ法により測定を行った。

なお、詳細な測定方法は後述する。

[0048]

[表3]

	アレルゲン（投与量／回）	免疫調節剤（投与量／回）	担体	対象	投与部位	投与条件	IgE at 2^7 dilution (ABS)
参考例3	なし	なし	なし	BALB/cマウス	なし	なし	1.98
比較例9	ダニアレルゲン (10ug/回)	なし	生理食塩水	BALB/cマウス	舌下	10回/2週間	1.40
実施例9	ダニアレルゲン (10ug/回)	Pantoea属由来LPS (1ug/回)	生理食塩水	BALB/cマウス	舌下	10回/2週間	0.98
比較例10	ダニアレルゲン (10ug/回)	なし	生理食塩水	BALB/cマウス	鼻	10回/2週間	1.36
実施例10	ダニアレルゲン (10ug/回)	Pantoea属由来LPS (1ug/回)	生理食塩水	BALB/cマウス	鼻	10回/2週間	1.07
比較例11	ダニアレルゲン (10ug/回)	なし	pAANaﾃｰﾌﾟ	BALB/cマウス	経皮	10回/2週間	1.50
実施例11	ダニアレルゲン (10ug/回)	Pantoea属由来LPS (1ug/回)	pAANaﾃｰﾌﾟ	BALB/cマウス	経皮	10回/2週間	1.11
比較例12	ダニアレルゲン (10ug/回)	なし	生理食塩水	BALB/cマウス	皮下注射	10回/2週間	1.70
実施例12	ダニアレルゲン (10ug/回)	Pantoea属由来LPS (1ug/回)	生理食塩水	BALB/cマウス	皮下注射	10回/2週間	0.99

[0049] （マウス免疫実験）

８週齢、メス、ＢＡＬＢ／ｃマウスについて１０回、２週間の間にて投与を行った。最終投与より一週間後、マウス血液を採取した。血液は４℃下３０００Ｇで１０分間遠心し、上清２０μＬにリン酸緩衝液（ナカライテスク社製）３００μＬを加えて血清サンプルとした。

マウス血清中のＯＶＡ特異的ＩｇＥ力価を測定することにより、免疫寛容の誘導を評価した。

[0050] （マウス血清中抗原特異的ＩｇＥ力価測定方法（ＥＬＩＳＡ法））

ＥＬＩＳＡ用９６ウェルプレートに炭酸緩衝液にて希釈した各アレルゲン（例えばＯＶＡ特異的ＩｇＥ抗体価を測定する時にはＯＶＡ抗原溶液）（１００μｇ／ｍＬ）を１００μＬずつ添加し、一晩放置した。

予め準備したＴｗｅｅｎ２０含有ＰＢＳ（以下洗浄液）で３回ウェルを洗浄し、ブロッキング剤（Ｂｌｏｃｋ　Ａｃｅ、ＤＳファーマバイオメディカル社製）を精製水で４ｇ／４００ｍＬに希釈したブロッキング溶液を２００μＬずつ添加し、２時間室温で放置した。その後、洗浄液で３回ウェルを洗浄した。

ブロッキング剤（Ｂｌｏｃｋ　Ａｃｅ、ＤＳファーマバイオメディカル社製）をリン酸緩衝液（ナカライテスク社製）で０．４ｇ／１００ｍＬに希釈した溶液（以下試薬希釈液）を用いて、前述の血清サンプルを１／２倍ずつ１５回段階希釈し、その溶液をそれぞれ５０μＬずつ添加し、２時間室温で放置した。

その後、洗浄液で３回ウェルを洗浄し、試薬希釈液でＨＲＰ標識抗マウスＩｇＥ抗体（Ｇｏａｔ－ａｎｔｉ－ｍｏｕｓｅ　ＩｇＧ　Ｆｃ　ＨＲＰ、ＢＥＴＨＹＬ社製）を１００００倍に希釈したものを、１００μＬずつ添加し、１時間室温で放置した。

その後、洗浄液で３回ウェルを洗浄し、ＴＭＢ溶液（ＥＬＩＳＡ　ＰＯＤ　ＴＭＢキット、ナカライテスク社製）を１００μＬずつ加えた。ここに１Ｍ硫酸溶液を１００μＬずつ加え、当該９６ウェルプレートをマイクロプレートリーダー（１６８－１１１３５ＣＡＭ、バイオラッド社製）で４５０ｎｍの吸光度を測定した。段階希釈時の吸光度を基に、その吸光度が０．１を切らない最大の希釈倍率をマウス血清中ＩｇＥ力価とし、その値をＬｏｇ２の値で求めた。

[0051] （アレルギーマウスの作製）

ＢＡＬＢ／ｃマウスについて１週間間隔で２回、アレルゲン（ＯＶＡ　１０μｇ／ｍＬ）及び水酸化アルミニウムゲル（Ａｌ（ＯＨ）$_3$として１ｍｇ相当）を生理食塩水に溶解又は懸濁させ、２００μＬに調製した注射剤を皮下注射投与して作製した。また、アレルゲンをスギ花粉（１０μｇ／ｍＬ）又はダニアレルゲン（１０μｇ／ｍＬ）に変更して、上述と同様に各アレルゲンに感作したアレルギーマウスを作製した。

[0052] 実施例では、ＯＶＡ、アレルゲンエキススギ花粉又はダニアレルゲン特異的ＩｇＥが高レベルで減少していた。これに対し、比較例では、減少量が低かった。

これらの結果から、アレルゲンと免疫調節剤としての特定のグラム陰性細菌由来のリポポリサッカライド又はその塩との併用が、免疫寛容の誘導に有効であることが見出された。

産業上の利用可能性

[0053] 本発明のアレルギーワクチン組成物は、少なくとも一種類のアレルゲンとともに、上述した特定の免疫調節剤を併用するため、安全で、効果的に免疫寛容を誘導することができる。

請求の範囲

[請求項1] アレルギー性疾患を予防又は治療するためにアレルギー性疾患を有するヒト又は動物に投与されるワクチン組成物であって、
免疫調節剤として、Ｓｅｒｒａｔｉａ、Ｌｅｃｌｅｒｃｉａ、Ｒａｈｎｅｌｌａ、Ａｃｉｄｉｃａｌｄｕｓ、Ａｃｉｄｉｐｈｉｌｉｕｍ、Ａｃｉｄｉｓｐｈａｅｒａ、Ａｃｉｄｏｃｅｌｌａ、Ａｃｉｄｏｍｏｎａｓ、Ａｓａｉａ、Ｂｅｌｎａｐｉａ、Ｃｒａｕｒｏｃｏｃｃｕｓ、Ｇｌｕｃｏｎａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ、Ｇｌｕｃｏｎｏｂａｃｔｅｒ、Ｋｏｚａｋｉａ、Ｌｅａｈｉｂａｃｔｅｒ、Ｍｕｒｉｃｏｃｃｕｓ、Ｎｅｏａｓａｉａ、Ｏｌｅｏｍｏｎａｓ、Ｐａｒａｃｒａｕｒｏｃｏｃｃｕｓ、Ｒｈｏｄｏｐｉｌａ、Ｒｏｓｅｏｃｏｃｃｕｓ、Ｒｕｂｒｉｔｅｐｉｄａ、Ｓａｃｃｈａｒｉｂａｃｔｅｒ、Ｓｔｅｌｌａ、Ｓｗａｍｉｎａｔｈａｎｉａ、Ｔｅｉｃｈｏｃｏｃｃｕｓ、Ｚａｖａｒｚｉｎｉａ、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ、Ａｃｈｒｏｍｏｂａｃｔｅｒ、Ｂａｃｉｌｌｕｓ、Ｍｅｔｈａｎｏｃｕｌｌｅｕｓ、Ｍｅｔｈａｎｏｓａｒｃｉｎａ、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ、Ｍｉｃｒｏｃｏｃｃｕｓ、Ｆｌａｖｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ、Ｐａｎｔｏｅａ、Ａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ、Ｚｙｍｏｍｏｎａｓ、Ｘａｎｔｈｏｍｏｎａｓ、及び、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒからなる群より選択される少なくとも１種のグラム陰性細菌由来のリポポリサッカライド又はその塩と、少なくとも一種類のアレルゲンとを含む
ことを特徴とするアレルギーワクチン組成物。

[請求項2] 免疫調節剤とアレルゲンとの質量比（免疫調節剤の総質量／アレルゲンの総質量）が、０．００２～５００である請求項１記載のアレルギーワクチン組成物。

[請求項3] ヒト又は動物に対して５回以上投与されるものである請求項１又は２記載のアレルギーワクチン組成物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/063395

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
A61K39/02(2006.01)i, *A61K39/35*(2006.01)i, *A61P1/04*(2006.01)i, *A61P11/02*(2006.01)i, *A61P11/06*(2006.01)i, *A61P17/04*(2006.01)i, *A61P27/14*(2006.01)i, *A61P37/02*(2006.01)i, *A61P37/08*(2006.01)i, *A61P43/00*(2006.01)i
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)
A61K39/02, A61K39/35, A61P1/04, A61P11/02, A61P11/06, A61P17/04, A61P27/14, A61P37/02, A61P37/08, A61P43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WANG, Y. et al., Neonatal exposure with LPS and/or allergen prevents experimental allergic airways disease: Development of tolerance using environmental antigens, J Allergy Clin Immunol, 2006, Vol.118, p.143-151, ISSN 0091-6749, particularly, summary, page 145, RESULTS, 2nd paragraph, FIG2.A, page 150, left column, lines 3 to 6	1-3
Y	Hiroyuki INAGAWA et al., "Protective effect by intradermal administration of Pantoea agglomerans LPS(LPSp) and oral administration of ONO-4007, a lipid A derivative, on IgE-dependent ear swelling", Biotherapy, 1997, vol.11, no.3, pages 464 to 466, ISSN 0914-2223, particularly, summary	1-3

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family 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 application or patent 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 referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited 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
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
13 July 2016 (13.07.16)	02 August 2016 (02.08.16)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3,Kasumigaseki,Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915,Japan	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/063395

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 1-156926 A (Hayashibara Biochemical Labs., Inc.), 20 June 1989 (20.06.1989), particularly, claims; page 2, lower left column, the last paragraph; table 3; experiment II-2 & US 4939239 A1 claims; column 2, lines 25 to 33; table 3; experiment II-2 & EP 308147 A1 & KR 10-1997-0010543 B	1-3
A	JP 2000-510844 A (Ribi Immunochem Research, Inc.), 22 August 2000 (22.08.2000), entire text & US 5762943 A1 entire text & WO 1997/042947 A1 & EP 914114 A1	1-3

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１６／０６３３９５

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　A61K39/02(2006.01)i, A61K39/35(2006.01)i, A61P1/04(2006.01)i, A61P11/02(2006.01)i, A61P11/06(2006.01)i, A61P17/04(2006.01)i, A61P27/14(2006.01)i, A61P37/02(2006.01)i, A61P37/08(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　A61K39/02, A61K39/35, A61P1/04, A61P11/02, A61P11/06, A61P17/04, A61P27/14, A61P37/02, A61P37/08, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報　１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報　１９７１－２０１６年
日本国実用新案登録公報　１９９６－２０１６年
日本国登録実用新案公報　１９９４－２０１６年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	WANG, Y. et al., Neonatal exposure with LPS and/or allergen prevents experimental allergic airways disease: Development of tolerance using environmental antigens, J Allergy Clin Immunol, 2006, Vol.118, p.143-151, ISSN 0091-6749, 特に要旨、１４５頁RESULTS第２段落及びFIG2.A、１５０頁左欄３－６行	1-3

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
１３．０７．２０１６	０２．０８．２０１６

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｃ　５５７４
小堀　麻子
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４５２

C（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	稲川　裕之　ほか, Pantoea agglomerans LPS (LPSp)の皮内投与とlipid A誘導体ONO-4007の経口投与によるIgE依存型アレルギー反応の抑制効果, Biotherapy, 1997, Vol.11, No.3, p.464-466, ISSN 0914-2223, 特に要旨	1-3
Y	JP 1-156926 A（株式会社林原生物化学研究所）1989.06.20, 特に特許請求の範囲、２頁左下欄最終段落、第３表、実験II－２ & US 4939239 A1, Claims, Column 2, line 25-33, TABLE 3, EXPERIMENT II-2 & EP 308147 A1 & KR 10-1997-0010543 B	1-3
A	JP 2000-510844 A（リビ　イムノケム　リサーチ　インク．）2000.08.22, 全文 & US 5762943 A1, 全文 & WO 1997/042947 A1 & EP 914114 A1	1-3