

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7628958号
(P7628958)

(45)発行日 令和7年2月12日(2025.2.12)

(24)登録日 令和7年2月3日(2025.2.3)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	31/706(2006.01)	A 6 1 K	31/706
A 2 3 L	33/10 (2016.01)	A 2 3 L	33/10
A 2 3 L	33/15 (2016.01)	A 2 3 L	33/15
A 2 3 L	33/175(2016.01)	A 2 3 L	33/175
A 6 1 K	31/198(2006.01)	A 6 1 K	31/198
請求項の数 19 (全36頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-557008(P2021-557008)	(73)特許権者	590002013
(86)(22)出願日	令和2年3月27日(2020.3.27)		ソシエテ・デ・プロデュイ・ネスレ・エ
(65)公表番号	特表2022-526329(P2022-526329		ス・アー
	A)		スイス, 1 8 0 0 ヴヴェイ, アヴェ
(43)公表日	令和4年5月24日(2022.5.24)		ニュー ネスレ 5 5
(86)国際出願番号	PCT/EP2020/058693	(73)特許権者	516029470
(87)国際公開番号	WO2020/201076		ルドウイグ インスティテュート フォー
(87)国際公開日	令和2年10月8日(2020.10.8)		キャンサー リサーチ エルティーディー
審査請求日	令和5年3月15日(2023.3.15)		スイス国 シーエイチ - 8 0 0 1 チュー
(31)優先権主張番号	19166183.4		リッヒ スタデルホフェルストラッセ 2 2
(32)優先日	平成31年3月29日(2019.3.29)	(74)代理人	100088155
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		弁理士 長谷川 芳樹
		(74)代理人	100107456
			弁理士 池田 成人
		(74)代理人	100162352
最終頁に続く			

(54)【発明の名称】 T細胞機能を向上させるための組成物及び方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するための作用剤であって、前記作用剤は、(a) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びマンガン；(b) ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、及びマンガン；(c) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びビタミンB 1 2；又は(d) ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンを含む、作用剤。

【請求項2】

(a) 細菌若しくはウイルス感染症の治療、又は(b) 癌の予防若しくは治療に使用するための作用剤であって、(a) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びマンガン；(b) ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、及びマンガン；(c) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びビタミンB 1 2；又は(d) ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンを含む、作用剤。

【請求項3】

前記作用剤が、養子T細胞移植の方法の一環として使用される、請求項1又は2に記載の作用剤。

【請求項4】

養子T細胞移植に使用するための作用剤であって、(a) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びマンガン；(b) ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、及びマンガン；(c) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びビタミンB 1 2；又は(d) ニコ

チンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンを含む、作用剤。

【請求項 5】

T細胞集団における、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上のための、(a) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びマンガン；(b) ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、及びマンガン；(c) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びビタミンB 1 2；又は(d) ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンを含む作用剤のインビトロでの使用。

【請求項 6】

前記T細胞の機能が、T細胞のメモリー機能である、請求項 1 又は 3 に記載の作用剤。

【請求項 7】

前記使用が、対象のT細胞レベルを上昇させる、請求項 1 ～ 4 及び 6 のいずれか一項に記載の作用剤。

【請求項 8】

前記ウロリチンが、ウロリチンAである、請求項 1 ～ 4 及び 6 ～ 7 のいずれか一項に記載の作用剤。

【請求項 9】

前記作用剤が、医薬組成物又は栄養組成物の形態である、請求項 1 ～ 4 及び 6 ～ 8 のいずれか一項に記載の作用剤。

【請求項 1 0】

前記作用剤が、食品、栄養補助食品、ニュートラシューティカルズ、特別医療目的の食品(F S M P)、栄養補給剤、乳製品ベースの飲料、低用量液体栄養補給剤、又は食事代替飲料の形態である、請求項 1 ～ 4 及び 6 ～ 9 のいずれか一項に記載の作用剤。

【請求項 1 1】

対象が、免疫不全の対象である、請求項 1 ～ 4 及び 6 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の作用剤。

【請求項 1 2】

対象が、化学療法；放射線療法；及び手術からなる群から選択される介入を受けている、請求項 1 ～ 4 及び 6 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の作用剤。

【請求項 1 3】

T細胞集団を増幅させる方法に用いられる作用剤であって、
前記方法が、前記作用剤に前記T細胞集団を接触させることを含み、
前記作用剤が、(a) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びマンガン；(b) ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、及びマンガン；(c) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びビタミンB 1 2；又は(d) ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンを含む、作用剤。

【請求項 1 4】

(a) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びマンガン；(b) ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、及びマンガン；(c) ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びビタミンB 1 2；又は(d) ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンを含む、T細胞の疲弊を低減する、及び／又はT細胞の機能を増強するための組成物。

【請求項 1 5】

対象における、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上に使用するための組成物であって、前記組成物は、請求項 1 ～ 4 及び 6 ～ 1 3 のいずれか一項に記載の作用剤を含む、組成物。

【請求項 1 6】

前記T細胞の機能が、T細胞のメモリー機能である、請求項 5 に記載の使用。

【請求項 1 7】

前記ウロリチンが、ウロリチンAである、請求項 5 に記載の使用。

【請求項 1 8】

10

20

30

40

50

前記作用剤が、医薬組成物又は栄養組成物の形態である、請求項 5 に記載の使用。

【請求項 19】

前記作用剤が、食品、栄養補助食品、ニュートラシューティカルズ、特別医療目的の食品（FSMP）、栄養補給剤、乳製品ベースの飲料、低用量液体栄養補給剤、又は食事代替飲料の形態である、請求項 5 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、免疫療法に使用するための作用剤及び方法に関する。特に、本発明は、例えば、養子 T 細胞移植の方法の一環として、T 細胞の機能を向上させ、かつ T 細胞の疲弊を低減するための、ニコチンアミドリボシド、ビタミン B 12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの組み合わせなどの作用剤の使用に関する。

10

【背景技術】

【0002】

免疫療法は、癌を含む多くの病気に対して非常に効果的であり有望な、治癒的な全身療法である。黒色腫、白血病、及びウイルス関連の悪性腫瘍は、免疫療法に対し特に応答性が高く、これらの領域での成功により、多くの種類の癌に対してこのアプローチを採用する試みが活発になっている。

【0003】

20

腫瘍は、免疫系によって異常なものとして認識され、免疫応答のトリガーとなる、生体分子（腫瘍関連抗原）を産生する。この産生は癌細胞の排除につながり得るものであるが、癌細胞は、免疫応答から逃避し、免疫抑制微小環境を維持するための様々な戦略を利用する。実際に、免疫療法を単独療法として投与した場合に示される客観的奏効率は様々であり、例えば、チェックポイント阻害療法で治療した転移性黒色腫では約 10～40% である。ある種の患者で反応がない理由は調査中であり、強力な免疫抑制性腫瘍微小環境に関連していると考えられている。したがって、抗原提示に適切に応答して自身を活性化する免疫系の能力は、癌細胞の根絶の鍵であり、栄養によって調節される可能性のある「免疫能（immune fitness）」の概念の起源である。

【0004】

30

T 細胞の活性化は、エネルギー要求及びエネルギー産生の切り替えを伴う統制されたプロセスである。血液中を循環している、又は脾臓若しくはリンパ節などの二次免疫器官で休止しているナイーブ T 細胞は、脂肪酸の酸化及び酸化的リン酸化の代謝経路を介してエネルギーを産生する。しかしながら、抗原提示によって活性化されると、それらは同化作用を示し、増殖して脅威と戦うために、エネルギー産生の速度を上げる必要がある。その結果、T 細胞は、エフェクター T 細胞になるとエネルギー産生を解糖に切り替える。増殖及び増幅サイクルの後、エフェクター T 細胞は疲弊状態になり、その後細胞死を迎える。しかしながら、一部のエフェクター T 細胞は、その寿命を延ばして、二次免疫器官で休止する休止期メモリー細胞になることができる。エネルギー要求が少ないこれらの長期（long-term）T 細胞は、休止状態での代謝に戻るため、再び活性化されるまで脂肪酸の酸化及び酸化的リン酸化によってエネルギー産生を維持する。多くの研究が T 細胞の代謝スイッチを調査しており、休止状態から活性化状態への変化、又は活性化状態から休止状態への変化は、これらの細胞の、様々な生物学的機序によりミトコンドリア呼吸を調節する能力に関連していることを示している。

40

【0005】

T 細胞の機能を亢進することによって免疫調節効果を発揮する特定の作用剤の能力を精査するために、複数の研究が行われているものの、例えば、癌及び感染症などの治療結果を改善するために免疫系を最適化することを目標とする、栄養介入などの解決策が今尚強く必要とされている。

【0006】

50

〔発明の概要〕

本発明者らは、免疫細胞を調節することができる複数種の具体的な作用剤及び作用剤の組み合わせを特定した。特に、本発明者らの研究は、活性化後のT細胞の免疫能を増強する手法を実証しており、当該方法は、例えば、養子細胞療法（例えば、感染症及び癌、並びにT細胞の疲弊に関連するその他の免疫不全に罹患している患者における治療）に適用することができる。

【0007】

本発明者らは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチンA、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの組み合わせによる介入が、長期T細胞の分化を改善することを見出した。

【0008】

更に、養子細胞移植プロトコルの間に当該介入について試験したところ、本発明者らは、インビボでの感染モデルにおいて長期T細胞の形成の改善を観察した。

【0009】

理論に束縛されるものではないが、腫瘍に浸潤するものなどの特定のCD8 T細胞は、体内で疲弊した表現型を示し、効果的な免疫応答を駆動することができないと考えられている。本発明の作用剤は、例えば、対象に再移植する前に、T細胞の疲弊を低減することによって、T細胞の免疫能を向上させるために使用することができる。

【0010】

したがって、一態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するための作用剤を提供し、この作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2つ以上の組み合わせからなる群から選択される。

【0011】

免疫の増強においては、本明細書に開示される作用剤（複数可）又は作用剤の組み合わせは、対象における最適でない（sub-optimal）免疫を治療又は予防することができ、当該対象は、免疫不全患者であり得る。

【0012】

免疫の増強は、腫瘍免疫の増強を指す場合があり、その場合、対象は、例えば寛解中又は完全寛解中の患者などの癌患者であり得る。

【0013】

別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するための作用剤を提供し、この作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2つ以上の組み合わせからなる群から選択される。

【0014】

別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するための作用剤を提供し、この作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2つ以上の組み合わせからなる群から選択される。

【0015】

理論に拘束されることを望むものではないが、本発明者らは、当該作用剤は、免疫能、特に腫瘍免疫において機能することが知られているCD8-T細胞の免疫能を亢進することにより、癌の予防に有効である可能性があると考えている。予防は、寛解後の癌の再発に関するものであり得る。

【0016】

別の態様では、本発明は、養子T細胞移植において使用するための作用剤を提供し、この作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2つ以上の組み合わせからなる群から選択される。

10

20

30

40

50

【0017】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのニコチンアミドリボシドを提供し、好ましくは、ニコチンアミドリボシドは、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのニコチンアミドリボシドを提供し、好ましくは、ニコチンアミドリボシドは、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンの組み合わせられる。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのニコチンアミドリボシドを提供し、好ましくは、ニコチンアミドリボシドは、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのニコチンアミドリボシドを提供し、好ましくは、ニコチンアミドリボシドは、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。

10

【0018】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのニコチンアミドリボシドを提供し、ニコチンアミドリボシドは、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのニコチンアミドリボシドを提供し、ニコチンアミドリボシドは、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのニコチンアミドリボシドを提供し、ニコチンアミドリボシドは、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのニコチンアミドリボシドを提供し、ニコチンアミドリボシドは、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。

20

【0019】

いくつかの実施形態では、ニコチンアミドリボシドは、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと同時に、連続して、又は別々に、好ましくは同時に、対象に投与される。

30

【0020】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのビタミンB12を提供し、好ましくは、ビタミンB12は、ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのビタミンB12を提供し、好ましくは、ビタミンB12は、ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのビタミンB12を提供し、好ましくは、ビタミンB12は、ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植において使用するためのビタミンB12を提供し、好ましくは、ビタミンB12は、ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。

40

【0021】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのビタミンB12を提供し、ビタミンB12は、ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はア

50

スパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのビタミンB 1 2を提供し、ビタミンB 1 2は、ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのビタミンB 1 2を提供し、ビタミンB 1 2は、ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのビタミンB 1 2を提供し、ビタミンB 1 2は、ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。

【0022】

いくつかの実施形態では、ビタミンB 1 2は、ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと同時に、連続して、又は別々に、好ましくは同時に、対象に投与される。

【0023】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのウロリチンを提供し、好ましくは、ウロリチンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのウロリチンを提供し、好ましくは、ウロリチンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのウロリチンを提供し、好ましくは、ウロリチンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのウロリチンを提供し、好ましくは、ウロリチンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。

【0024】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのウロリチンを提供し、ウロリチンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのウロリチンを提供し、ウロリチンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのウロリチンを提供し、ウロリチンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのウロリチンを提供し、ウロリチンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。

【0025】

いくつかの実施形態では、ウロリチンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと同時に、連続して、又は別々に、好ましくは同時に、対象に投与される。

【0026】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのマンガンを提供し、好ましくは、マンガンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのマンガンを提供し、好ましくは、マンガンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパ

10

20

30

40

50

ラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するマンガンを提供し、好ましくは、マンガンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのマンガンを提供し、好ましくは、マンガンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。

【0027】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのマンガンを提供し、マンガンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するマンガンを提供し、マンガンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのマンガンを提供し、マンガンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は養子T細胞移植に使用するためのマンガンを提供し、マンガンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。

【0028】

いくつかの実施形態では、マンガンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、セリン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと同時に、連続して、又は別々に、好ましくは同時に、対象に投与される。

【0029】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するセリンを提供し、好ましくは、セリンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのセリンを提供し、好ましくは、セリンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのセリンを提供し、好ましくは、セリンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのセリンを提供し、好ましくは、セリンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。

【0030】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのセリンを提供し、セリンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するセリンを提供し、セリンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのセリンを提供し、セリンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのセリンを提供し、セリンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。

【0031】

いくつかの実施形態では、セリンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、グリシン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと同時に、連続して、又は別々に、好ましくは同時に、対象に投与される。

【0032】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのグリシンを提供し、好ましくは、グリシンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのグリシンを提供し、好ましくは、グリシンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのグリシンを提供し、好ましくは、グリシンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのグリシンを提供し、好ましくは、グリシンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。

【0033】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのグリシンを提供し、グリシンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのグリシンを提供し、グリシンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのグリシンを提供し、グリシンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのグリシンを提供し、グリシンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。

【0034】

いくつかの実施形態では、グリシンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、アルギニン、及び／又はアスパラギンと同時に、連続して、又は別々に、好ましくは同時に、対象に投与される。

【0035】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのアルギニンを提供し、好ましくは、アルギニンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのアルギニンを提供し、好ましくは、アルギニンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのアルギニンを提供し、好ましくは、アルギニンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのアルギニンを提供し、好ましくは、アルギニンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアスパラギンと組み合わせられる。

【0036】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのアルギニンを提供し、アルギニンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアスパ

ラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのアルギニンを提供し、アルギニンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのアルギニンを提供し、アルギニンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのアルギニンを提供し、アルギニンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアスパラギンと共に対象に投与される。

【0037】

いくつかの実施形態では、アルギニンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアスパラギンと同時に、連続して、又は別々に、好ましくは同時に、対象に投与される。

【0038】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのアスパラギンを提供し、好ましくは、アスパラギンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアルギニンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのアスパラギンを提供し、好ましくは、アスパラギンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアルギニンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのアスパラギンを提供し、好ましくは、アスパラギンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアルギニンと組み合わせられる。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのアスパラギンを提供し、好ましくは、アルギニンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアルギニンと組み合わせられる。

【0039】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するためのアスパラギンを提供し、アスパラギンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアルギニンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するためのアスパラギンを提供し、アスパラギンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアルギニンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するためのアスパラギンを提供し、アスパラギンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアルギニンと共に対象に投与される。別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するためのアスパラギンを提供し、アスパラギンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアルギニンと共に対象に投与される。

【0040】

いくつかの実施形態では、アスパラギンは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、及び／又はアルギニンと同時に、連続して、又は別々に、好ましくは同時に、対象に投与される。

【0041】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫増強に使用するための、(a)ニコチンアミドリボシド；(b)ビタミンB12；(c)ウロリチン；(d)マンガン；(e)セリン；(f)グリシン；(g)アルギニン；及び(h)アスパラギンからなる群から選択される2つ以上の作用剤の組み合わせを提供する。作用剤の特に効果的な組み合わせは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンであり得る。

【0042】

いくつかの実施形態では、(a)～(h)のうちの2つ以上が、同時に、連続して、又は別々に対象に投与される。好ましい実施形態では、(a)～(h)のうちの2つ以上が対象に同時に投与される。更により好ましい実施形態では、(a)、(b)、(c)、及び(d)が、対象に同時に投与される。

【0043】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するための、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及びアスパラギンからなる群から選択される1種以上の作用剤を含む組成物を提供する。好ましい実施形態では、当該組成物は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンを含む。

10

【0044】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫を増強する方法を提供し、本方法は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及びアスパラギンからなる群から選択される1種以上の作用剤を、上記効果を必要とする対象に投与することを含む。好ましい実施形態では、当該方法において投与される作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンの組み合わせである。

【0045】

ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンの組み合わせは、特に効果的であり得る。

20

【0046】

別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するための、(a)ニコチンアミドリボシド；(b)ビタミンB12；(c)ウロリチン；(d)マンガン；(e)セリン；(f)グリシン；(g)アルギニン；及び(h)アスパラギンからなる群から選択される2種以上の作用剤の組み合わせを提供する。作用剤の特に効果的な組み合わせは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンであり得る。

【0047】

いくつかの実施形態では、(a)～(h)のうちの2種以上が、同時に、連続して、又は別々に対象に投与される。好ましい実施形態では、(a)～(h)のうちの2種以上が対象に同時に投与される。更により好ましい実施形態では、(a)、(b)、(c)、及び(d)は、対象に同時に投与される。

30

【0048】

別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療に使用するための、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及びアスパラギンからなる群から選択される1種以上の作用剤を含む組成物を提供する。好ましい実施形態では、当該組成物は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンを含む。

【0049】

別の態様では、本発明は、細菌又はウイルス感染の治療方法を提供し、本方法は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及びアスパラギンからなる群から選択される1種以上の作用剤を、上記治療を必要とする対象に投与することを含む。好ましい実施形態では、当該方法において投与される作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンの組み合わせである。

40

【0050】

別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するための、(a)ニコチンアミドリボシド；(b)ビタミンB12；(c)ウロリチン；(d)マンガン；(e)セリン；(f)グリシン；(g)アルギニン；及び(h)アスパラギンからなる群から選択される2種以上の作用剤の組み合わせを提供する。作用剤の特に効果的な組み合わせは、ニコチ

50

ンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンであり得る。

【0051】

いくつかの実施形態では、(a)～(h)のうちの2種以上が、同時に、連続して、又は別々に対象に投与される。好ましい実施形態では、(a)～(h)のうちの2種以上が対象に同時に投与される。更により好ましい実施形態では、(a)、(b)、(c)、及び(d)は、対象に同時に投与される。

【0052】

別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療に使用するための、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及びアスパラギンからなる群から選択される1種以上の作用剤を含む組成物を提供する。好ましい実施形態では、当該組成物は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンを含む。

10

【0053】

別の態様では、本発明は、癌の予防又は治療の方法を提供し、本方法は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及びアスパラギンからなる群から選択される1種以上の作用剤を、上記処置を必要とする対象に投与することを含む。好ましい実施形態では、当該方法において投与される作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンの組み合わせである。

【0054】

別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するための、(a)ニコチンアミドリボシド；(b)ビタミンB 1 2；(c)ウロリチン；(d)マンガン；(e)セリン；(f)グリシン；(g)アルギニン；及び(h)アスパラギンからなる群から選択される2種以上の作用剤の組み合わせを提供する。作用剤の特に効果的な組み合わせは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンであり得る。

20

【0055】

いくつかの実施形態では、(a)～(h)のうちの2種以上が、同時に、連続して、又は別々に対象に投与される。好ましい実施形態では、(a)～(h)のうちの2つ以上が対象に同時に投与される。更により好ましい実施形態では、(a)、(b)、(c)、及び(d)は、対象に同時に投与される。

30

【0056】

別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するための、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及びアスパラギンからなる群から選択される1種以上の作用剤を含む組成物を提供する。好ましい実施形態では、当該組成物は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンを含む。

【0057】

別の態様では、本発明は、養子T細胞移植の方法を提供し、本方法は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、及びアスパラギンからなる群から選択される1種以上の作用剤を、上記処置を必要とする対象に投与することを含む。好ましい実施形態では、当該方法において投与される作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、及びマンガンの組み合わせである。

40

【0058】

いくつかの実施形態では、この作用剤は、養子T細胞移植の方法の一環として使用される。

【0059】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞集団におけるT細胞の機能向上のための、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB 1 2、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2種以上の組み合わせか

50

らなる群から選択される作用剤の使用を提供する。作用剤の特に効果的な組み合わせは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンであり得る。

【0060】

いくつかの実施形態では、使用は、インビトロでの使用又はエキスビボでの使用である。

【0061】

別の態様では、本発明は、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞集団におけるT細胞の機能向上のための、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2種以上の組み合わせからなる群から選択される作用剤のインビトロでの使用を提供する。作用剤の特に効果的な組み合わせは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンを

10

【0062】

いくつかの実施形態では、T細胞の機能は、T細胞のメモリー機能である。

【0063】

いくつかの実施形態では、使用により、対象のT細胞レベルが上昇する。

【0064】

いくつかの実施形態では、作用剤は、ニコチンアミドリボシド、又はニコチンアミドリボシドを含む組み合わせである。いくつかの実施形態では、作用剤は、ビタミンB12、又はビタミンB12を含む組み合わせである。

【0065】

好ましい実施形態では、組み合わせは、ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びマンガンである。好ましい実施形態では、組み合わせは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、及びマンガンである。好ましい実施形態では、組み合わせは、ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びビタミンB12である。好ましい実施形態では、組み合わせは、セリン、グリシン、及びビタミンB12である。好ましい実施形態では、組み合わせは、ウロリチン、ビタミンB12、及びマンガンである。

20

【0066】

作用剤の特に効果的な組み合わせは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンであり得る。したがって、好ましい実施形態では、組み合わせは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンである。

30

【0067】

本明細書に開示される任意の態様又は実施形態では、ウロリチンは、ウロリチンAであり得る。

【0068】

好ましい実施形態では、ウロリチンは、ウロリチンAである。

【0069】

いくつかの実施形態では、作用剤又は組み合わせは、組成物の形態である。

【0070】

いくつかの実施形態では、作用剤又は組み合わせは、医薬組成物又は栄養組成物の形態であり、好ましくは栄養組成物の形態である。

40

【0071】

いくつかの実施形態では、作用剤又は組み合わせは、錠剤、ゲルカプセル、粉末、粉乳、食品製品、液体フォーマット（例えば、レディ・トゥ・ドリンクのフォーマット）及び／又は飲料の形態である。

【0072】

いくつかの実施形態では、作用剤又は組み合わせは、食品製品、栄養補助食品、ニュートラシューティカルズ、特別医療目的の食品（FSMP）、栄養補給剤、乳製品ベースの飲料、低用量液体栄養補給剤、又は食事代替飲料の形態である。

【0073】

好ましい実施形態では、対象は、ヒトである。

50

【0074】

いくつかの実施形態では、対象は、免疫不全患者である。

【0075】

いくつかの実施形態では、対象は、化学療法；放射線療法；及び手術からなる群から選択された介入を受けている。

【0076】

別の態様では、本発明は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2種以上の組み合わせからなる群から選択される作用剤に、T細胞集団を接触させることを含む、T細胞集団を増幅させる方法を提供する。好ましい実施形態では、当該方法において投与される作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンの組み合わせである。

10

【0077】

別の態様では、本発明は、本発明の方法によって得られるT細胞の集団を提供する。

【0078】

別の態様では、本発明は、(a)ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びマンガン；(b)ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、及びマンガン；(c)ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びビタミンB12；(d)セリン、グリシン、及びビタミンB12；又は(e)ウロリチン、ビタミンB12、及びマンガンを含む、T細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強のための組成物を提供する。好ましい実施形態では、当該組成物は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンを含む。

20

【0079】

別の態様では、本発明は、対象におけるT細胞の疲弊の低減、及び／又はT細胞の機能向上、及び／又は免疫の増強に使用するための組成物であって、上記の請求項のいずれかに記載の作用剤又は組み合わせを含む、組成物を提供する。

【0080】

別の態様では、本発明は、(a)ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びマンガン；(b)ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、及びマンガン；(c)ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びビタミンB12；(d)セリン、グリシン、及びビタミンB12；又は(e)ウロリチン、ビタミンB12、及びマンガンを含む、細菌又はウイルス感染の治療のための組成物を提供する。好ましい実施形態では、当該組成物は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンを含む。

30

【0081】

別の態様では、本発明は、対象における細菌又はウイルス感染の治療に使用するための組成物であって、上記の請求項のいずれかに記載の作用剤又は組み合わせを含む、組成物を提供する。

【0082】

別の態様では、本発明は、(a)ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びマンガン；(b)ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、及びマンガン；(c)ニコチンアミドリボシド、ウロリチン、及びビタミンB12；(d)セリン、グリシン、及びビタミンB12；又は(e)ウロリチン、ビタミンB12、及びマンガンを含む、癌の予防又は治療のための組成物を提供する。好ましい実施形態では、当該組成物は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンを含む。

40

【0083】

別の態様では、本発明は、対象における癌の予防又は治療に使用する組成物であって、上記の請求項のいずれかに記載の作用剤又は組み合わせを含む、組成物を提供する。

【0084】

別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するための組成物であって、上記の請求項に記載の作用剤又は組み合わせを含む、組成物を提供する。

50

【0085】

T細胞集団を、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2つ以上の組み合わせからなる群から選択される作用剤に接触させることを含む、T細胞集団におけるT細胞の疲弊を低減する、及び／又はT細胞の機能を向上させるための方法。好ましい実施形態では、当該方法において投与される作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンの組み合わせである。

【0086】

いくつかの実施形態では、本方法は、インビトロ又はエクスビボの方法である。

【0087】

対象にT細胞を移植する方法であって、T細胞集団と、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2種以上の組み合わせからなる群から選択される作用剤とを接触させることと、当該T細胞集団を対象に投与することを含む。好ましい実施形態では、当該方法において投与される作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンの組み合わせである。

【0088】

ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2種以上の組み合わせからなる群から選択される作用剤に、T細胞集団を接触させることと、T細胞集団を対象に投与することと、を含む、細菌又はウイルス感染の治療の方法。好ましい実施形態では、当該方法において投与される作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンの組み合わせである。

【0089】

ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2種以上の組み合わせからなる群から選択される作用剤に、T細胞集団を接触させることと、T細胞集団を対象に投与することと、を含む、癌の予防又は治療の方法。好ましい実施形態では、当該方法において投与される作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンの組み合わせである。

【0090】

ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2種以上の組み合わせからなる群から選択される作用剤に、T細胞集団を接触させることと、T細胞集団を対象に投与することと、を含む、養子T細胞移植の方法。好ましい実施形態では、当該方法において投与される作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンの組み合わせである。

【図面の簡単な説明】

【0091】

【図1-1】作用剤及びその組み合わせは、CD62L発現（左パネル）及び予備呼吸能（右パネル）によって解明されたとおり、インビトロでT細胞機能を向上させる。個々の作用剤（A）；セリン、グリシン、及びビタミンB12の組み合わせ（B）；ニコチンアミドリボシド（NR）、ウロリチンA（UroA）、マンガン、及びビタミンB12からなる複数種の組み合わせ（C）；の結果を示す。

【図1-2】作用剤及びその組み合わせは、CD62L発現（左パネル）及び予備呼吸能（右パネル）によって解明されたとおり、インビトロでT細胞機能を向上させる。個々の作用剤（A）；セリン、グリシン、及びビタミンB12の組み合わせ（B）；ニコチンアミドリボシド（NR）、ウロリチンA（UroA）、マンガン、及びビタミンB12からなる複数種の組み合わせ（C）；の結果を示す。

【図2-1】作用剤は、血中及び脾臓のT細胞レベルの増加（A）；血中及び脾臓のMP

10

20

30

40

50

E Cレベルの増加（B）；血中及び脾臓のメモリーT細胞レベルの増加（C）；並びにC X C R 3の発現及びサイトカイン産生の増加（D）によって解明されたとおり、インビボでT細胞機能を向上させる。

【図2-2】作用剤は、血中及び脾臓のT細胞レベルの増加（A）；血中及び脾臓のM P E Cレベルの増加（B）；血中及び脾臓のメモリーT細胞レベルの増加（C）；並びにC X C R 3の発現及びサイトカイン産生の増加（D）によって解明されたとおり、インビボでT細胞機能を向上させる。

【発明を実施するための形態】

【0092】

本明細書で使用する場合、用語「含む（comprising）」、「含む（comprises）」、及び「から構成される（comprised of）」は、「含む（including）」又は「含む（includes）」又は「含有する（containing）」又は「含有する（contains）」と同義であり、他を包含し得るもの、すなわちオープンエンドであり、かつ追加の、列挙されていない構成、要素、又は工程を除外しない。用語「含む（comprising）」、「含む（comprises）」、及び「から構成される（comprised of）」はまた、用語「からなる（consisting of）」を含む。

【0093】

T細胞

T細胞（Tリンパ球とも呼ばれる）は、細胞性免疫において重要な役割を果たすリンパ球の一種である。T細胞は、細胞表面のT細胞受容体（TCR）の発現によって、他のリンパ球、例えばB細胞及びナチュラルキラー細胞（NK細胞）と区別することができる。

【0094】

細胞傷害性T細胞（TC細胞又はCTL；キラーT細胞とも呼ばれる）は、ウイルスに感染した細胞及び腫瘍細胞を破壊する。細胞傷害性T細胞はまた、移植に対する拒絶にも関与する。TC細胞は、細胞表面上にCD8を発現する。これらの細胞は、全ての有核細胞の細胞表面に存在するMHCクラスI抗原に結合することによって標的を認識する。

【0095】

ヘルパーT細胞（TH細胞）は、B細胞の形質細胞及びメモリーB細胞への成熟、細胞傷害性T細胞及びマクロファージの活性化などの免疫学的プロセスにおいて他の白血球を支援する。TH細胞は、細胞表面上にCD4を発現する。TH細胞は、抗原提示細胞（APC）の表面上のMHCクラスII分子によってペプチド抗原が提示されると活性化される。TH細胞は、TH1、TH2、TH3、TH17、Th9、又はTFHを含む複数種のサブタイプのいずれかに分化でき、これらは、様々なサイトカインを分泌して、様々なタイプの免疫応答を促進する。

【0096】

制御性T細胞（Treg細胞；以前はサプレッサーT細胞として知られていた）は、免疫寛容の維持に不可欠である。制御性T細胞は、免疫応答を終わらせるためT細胞性免疫を停止させ、胸腺でのネガティブセレクションのプロセスを逃れた自己反応性T細胞を抑制することを主な役割とする。

【0097】

CD4⁺Treg細胞に関しては主要な2つのクラス、すなわち内在性Treg細胞及び適応性Treg細胞が報告されている。

【0098】

胸腺で産生される内在性Treg細胞（CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺Treg細胞）は、TSLPで活性化された骨髄（CD11c⁺）樹状細胞及び形質細胞様樹状細胞（CD123⁺）の両方と、分化中のT細胞との間の相互作用に関係する。内在性Treg細胞は、FOXP3と呼ばれる細胞内分子の存在によって他のT細胞と区別することができる。FOXP3遺伝子の変異は、制御性T細胞の分化を妨げ、致死的な自己免疫疾患IPEXを招く可能性がある。

10

20

30

40

50

【0099】

適応性 T_{reg} 細胞(T_{r1} 細胞又は T_{h3} 細胞としても知られる)は、正常な免疫応答の過程で生成され得る。

【0100】

エフェクターT細胞は、刺激に対して積極的かつ即座に応答するタイプのT細胞全般を含む群である。エフェクターT細胞には、ヘルパーT細胞、キラーT細胞、及び制御性T細胞が含まれる。

【0101】

メモリーT細胞はエフェクター細胞に対応し、将来的な感染を標的とするために長期にわたり生存する。メモリーT細胞は、感染が解消した後も長期間生存する。生存しているメモリーT細胞は、同種抗原に再曝露されると直ちに増殖して多数のエフェクターT細胞となり、免疫系に過去の感染についての「メモリー」を提供する。メモリーT細胞は $CD4^{+}$ 又は $CD8^{+}$ のいずれかであり得、通常は細胞表面タンパク質 $CD45RO$ を発現している。

10

【0102】

メモリーT細胞は3つのサブタイプ、すなわち：セントラルメモリーT細胞(T_{CM} 細胞)；エフェクターメモリーT細胞(T_{EM} 細胞)；及びTメモリー幹細胞(T_{MSC})から構成されている。

【0103】

好ましい実施形態では、本発明の作用剤又は組み合わせと接触させるT細胞は、 $CD8^{+}$ T細胞である。

20

【0104】

本発明はまた、本発明の方法によって得られるT細胞又はT細胞集団を提供する。

【0105】

本発明で使用するためのT細胞は、対象又は無関係(unconnected)のドナーからの末梢血サンプルなどの、サンプルから単離することができる。T細胞は末梢血単核細胞(PBMC)サンプルに由来してもよい。T細胞は、本発明の組み合わせの作用剤との接触の前に、又は接触と同時に、活性化及び／又は増殖し得る。

【0106】

T細胞集団は、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)の集団であり得る。TILは、例えば、患者から切除された腫瘍塊から単離され得る。

30

【0107】

本発明のT細胞は、以下により調製することができる。

(a) 対象又は上記のその他の供給源からT細胞含有サンプルを単離し、必要に応じて、T細胞又はあるタイプのT細胞についてサンプルを濃縮する。

(b) T細胞を本発明の作用剤又は組み合わせと接触させる。

【0108】

このT細胞は、続いて精製してもよい。

【0109】

本発明のT細胞は、例えば、ヒト又はマウスのT細胞であり得る。好ましくは、T細胞は、ヒトT細胞である。

40

【0110】

本明細書の開示は単個のT細胞(a cell)について言及する場合があるが、本発明はまた、本発明のT細胞集団にも関する。

【0111】

細胞集団の単離及び濃縮

T細胞などの細胞集団を本明細書に開示する。いくつかの実施形態では、細胞集団は、単離された細胞集団である。

【0112】

本明細書で使用する時、用語「単離された細胞集団」は、体内に含まれていない細胞

50

の集団を指す。単離された細胞集団は、あらかじめ対象から取り出されていてもよい。単離された細胞集団は、当該技術分野で公知の標準的な技術を使用して、エキスビボ又はインビトロで培養及び操作することができる。単離された細胞集団は、後で対象に再導入されてもよい。上記対象は、細胞が当初単離された対象と同じ対象でもよく、異なる対象でもよい。

【0113】

細胞集団からは、特異的な表現型若しくは特徴を示す細胞を、その表現型若しくは特徴を示さない、又は示す程度が低い、他の細胞から、選択的に精製できる。例えば、特定のマーカー（CD8など）を発現する細胞集団を、操作を開始する細胞集団から精製することができる。あるいは、又は更に、別のマーカーを発現しない細胞集団を精製することも

10

【0114】

本明細書で使用する時、用語「濃縮」は、集団内のある細胞型の濃度を高めることを指す。他の細胞型の濃度は、それに伴って低減され得る。

【0115】

精製又は濃縮は、他の細胞型の実質的に純粋な細胞集団をもたらす得る。

【0116】

特定のマーカー（例えば、CD8）を発現する細胞集団の精製又は濃縮は、そのマーカーに結合する、好ましくはそのマーカーに実質的に特異的に結合する剤を使用することによって達成することができる。

20

【0117】

細胞マーカーに結合する剤は、抗体、例えば抗CD8抗体であり得る。

【0118】

本明細書で使用する時、用語「抗体」は、選択された標的に結合することができる完全な抗体又は抗体断片を意味し、Fv、ScFv、F(ab')₂及びF(ab')₂、モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体、改変抗体、例えば、キメラ抗体、CDRグラフト化抗体及びヒト化抗体、並びにファージディスプレイ又は代替技術を用いて産生される人工的に選択された抗体が挙げられる。

【0119】

加えて、本発明ではまた、典型的な抗体の代替物、例えば、「アビボディ」、「アビマー」、「アンチカリン」、「ナノボディ」、及び「DARPin」も使用され得る。

30

【0120】

特異的マーカーに結合する剤は、当該技術分野において公知の多数の技術のいずれかを使用して、同定可能なように標識されてもよい。剤は、固有に標識されてもよく、又は剤に標識をコンジュゲートすることによって修飾されてもよい。「コンジュゲート」により、剤及び標識が操作可能に連結されることを理解されたい。これは、剤と標識が両方とも実質的に障害なくそれらの機能（例えば、マーカーに結合すること、蛍光による識別を可能にすること、又は磁場に置いた場合に分離が可能であること）を発揮できるように連結されることを意味する。コンジュゲートの好適な方法は当技術分野で周知であり、当業者により容易に特定可能である。

40

【0121】

標識は、例えば、それが連結されている標識剤及び任意の細胞をその環境から精製すること（例えば、剤は磁気ビーズ、又はアビジンなどの親和性タグで標識されてもよい）、検出すること、又はその両方を可能とする。標識として使用するのに好適である検出可能なマーカーとしては、蛍光分子（例えば、グリーン蛍光タンパク質、チェリー蛍光タンパク質、シアン蛍光タンパク質、及びオレンジ蛍光タンパク質）及びペプチドタグ（例えば、Hisタグ、Mycタグ、FLAGタグ及びHAタグ）が挙げられる。

【0122】

特異的マーカーを発現する細胞集団を分離するための数多くの技術が当技術分野で公知である。上記技術には、磁気ビーズベースの分離技術（例えば、閉回路磁気ビーズによる

50

分離)、フローサイトメトリー、蛍光活性化細胞選別 (FACS)、親和性タグ精製 (例えば、アフィニティーカラム又はビーズ、例えば、アビジン標識した剤を分離するためのビオチンカラム) 及び顕微鏡ベースの技術が含まれる。

【0123】

異なる技術の組み合わせ、例えば、磁気ビーズベースの分離工程と、その後の、得られた細胞集団を1つ以上の付加的 (陽性又は陰性) マーカーに関しフローサイトメトリーにより選別する工程と、を用いて分離を行うこともできる。

【0124】

臨床グレードの分離は例えば、CliniMACS (登録商標) システム (Miltenyi) を用いて行うことができる。これは閉回路磁気ビーズベースの分離技術の一例である。

10

【0125】

T細胞の機能

T細胞の活性化は、エネルギー要求及びエネルギー産生の切り替えを伴う統制されたプロセスである。血液中を循環している、又は脾臓若しくはリンパ節などの二次免疫器官で休止しているナイーブT細胞は、脂肪酸の酸化及び酸化的リン酸化の代謝経路を介してエネルギーを産生する。しかしながら、抗原提示によって活性化されると、それらは同化作用を示し、増殖して脅威と戦うためにエネルギー産生の速度を上げる必要がある。その結果、T細胞は、エフェクターT細胞になるとエネルギー産生を解糖に切り替える。増殖及び増幅サイクルの後、エフェクターT細胞は疲弊状態になり、その後細胞死を迎える。しかしながら、一部のエフェクターT細胞は、その生存期間を延長し、二次免疫器官中で休止する休止期メモリー細胞になることができる。このような長期T細胞はエネルギー要求量が少なく、休止状態での代謝に戻ることから、再び活性化されるまでは、脂肪酸の酸化及び酸化的リン酸化によりエネルギー産生を維持する。

20

【0126】

本発明の使用及び方法は、T細胞集団、例えば腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) の集団における、T細胞の疲弊の低減を提供する。

【0127】

T細胞の疲弊は、プログラム細胞死1 (programmed cell death 1、PD-1) の発現の増加及び／又はサイトカイン産生の減少を特徴とし得る。T細胞の疲弊の低減は、このような特徴のうちの1つ以上を防止又は逆転させる可能性がある。

30

【0128】

本発明の使用及び方法は、向上したT細胞メモリー機能又はT細胞エフェクター機能、好ましくは向上したT細胞メモリー機能などの、向上したT細胞機能を有するT細胞を提供する。

【0129】

T細胞の疲弊の低減及び／又はT細胞機能の向上は、例えば、高齢の対象又は感染症、炎症性疾患、及び／若しくは癌の患者において、免疫能を向上させる可能性がある。

【0130】

いくつかの実施形態では、T細胞の機能は、T細胞のエフェクター機能を含む。いくつかの実施形態では、T細胞の機能は、T細胞のエフェクター機能である。

40

【0131】

T細胞のエフェクター機能は、T細胞集団における、表面マーカーCXCR3を発現する、並びに／又はIFN α 及びTNF α などのサイトカインを産生できる細胞数と相関し得る。

【0132】

いくつかの実施形態では、T細胞の機能は、T細胞のメモリー機能を含む。いくつかの実施形態では、T細胞の機能は、T細胞のメモリー機能である。

【0133】

用語「メモリー機能」は、最初の一次応答で抗原暴露を経験しかつ生存したT細胞が獲

50

得した、一連の多様な挙動を指し、この機能には、抗原の非存在下での基礎増殖及び生存、その後の抗原との遭遇による活性化の際の閾値の低下、及び迅速な応答（増殖、サイトカインの産生、及び細胞毒性の観点から）が含まれる。

【0134】

メモリー機能は、予備呼吸能と相関し得る。T細胞集団におけるメモリー機能の向上は、本発明の作用剤又は組み合わせとの接触後のT細胞集団における予備呼吸能の、本発明の作用剤又は組み合わせと接触していない他は実質的に同一条件下にあるT細胞集団と比較しての増大であり得る。接触は、例えば、インビトロ培養での接触によるもの、又は対象への投与による接触であり得る。

【0135】

予備呼吸能は、当該技術分野で知られている方法を使用して、例えば、Seahorseアッセイを使用して（例えば、本明細書の実施例に開示されているように）測定することができる。

【0136】

メモリー機能は、T細胞集団における、CD62L発現細胞数と相関している可能性がある。T細胞集団におけるメモリー機能の向上は、本発明の作用剤又は組み合わせとの接触後のT細胞集団におけるCD62L発現T細胞の割合（％）の、本発明の作用剤又は組み合わせと接触していない他は実質的に同一条件下にあるT細胞集団と比較しての増大であり得る。接触は、例えば、インビトロ培養での接触によるもの、又は対象への投与による接触であり得る。

【0137】

メモリー機能は、T細胞集団における記憶前駆エフェクター細胞（MPEC）及び／又は記憶細胞の数と相関し得る。MPECは、CD127⁺及びKLRG1⁻を特徴とし得る。メモリーT細胞は、CD27⁺及びCD43⁻を特徴とし得る。T細胞集団におけるメモリー機能の向上は、本発明の作用剤又は組み合わせとの接触後のT細胞集団におけるMPEC及び／又はメモリーT細胞の割合（％）の、本発明の作用剤又は組み合わせと接触していない他は実質的に同一条件下にあるT細胞集団と比較しての増大であり得る。接触は、例えば、インビトロ培養での接触によるもの、又は対象への投与による接触であり得る。

【0138】

メモリー機能は、上記の手段の1つ以上を使用して評価することができる。

【0139】

いくつかの実施形態では、T細胞機能の向上は、T細胞持続性（persistence）の向上である。したがって、別の態様では、本発明は、T細胞持続性の向上に使用する作用剤を提供し、この作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2つ以上の組み合わせからなる群から選択される。別の態様では、本発明は、T細胞集団における持続性を向上させる、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2種以上の組み合わせからなる群から選択される作用剤の使用（例えば、インビトロでの使用）を提供する。

【0140】

「持続性（persistence）」という用語は、細胞がレシピエントにおいて長期間生存する能力を指す。いくつかの実施形態では、持続性は、移植後約1～72ヶ月、1～48ヶ月、1～24ヶ月、又は1～12ヶ月で評価される。他の実施形態では、持続性は、移植後約1、2、3、4、5、6、12、24、36、48、60、又は72ヶ月で評価される。

【0141】

持続性は、例えば、感染症又は癌などの疾患の治療における治療的T細胞移植の有効性と相関する可能性がある。T細胞の持続性が高くなるほど、治療レジメン（therapeutic regime）が効果的なものになる可能性が高くなり、例えば、腫瘍の再

10

20

30

40

50

発が発生する可能性は低くなる。

【0142】

いくつかの実施形態では、当該T細胞は、本発明による作用剤又は組み合わせと接触していないT細胞よりも少なくとも1、2、3、4、5、6、12、24、36、48又は72ヶ月長くレシピエントにおいて生存する。

【0143】

他の実施形態では、当該T細胞は、CD62Lを発現する形で、本発明による作用剤又は組み合わせと接触していないT細胞よりも少なくとも1、2、3、4、5、6、12、24、36、48又は72ヶ月長くレシピエントにおいて生存する。

【0144】

いくつかの実施形態では、本発明の使用及び方法は、対象におけるT細胞レベルを上昇させ、特に、対象（例えば、対象の血液及び／又は脾臓）の全T細胞に占める、移植されたT細胞及びその子孫細胞の割合を増加させる。

【0145】

T細胞の機能、レベル、及び持続性は、当該技術分野で知られている、インビトロ及びインビボで細胞を定量する方法を使用して評価することができる。例えば、移植する細胞は、マーカー、例えば、エキスピボで検出して、移植した細胞及びその子孫細胞の数を定量するために使用できるレポータータンパク質（例えば、GFP又は表面タグ）、又はDNA配列を発現するよう遺伝子操作され得る。細胞は末梢血から直接分析することができ、又はサンプルを関連組織（例えば、骨髄、リンパ節、及び／又は脾臓）から抽出することができる。分析は、当該技術分野で知られている方法を使用して、例えばフローサイトメトリー又はポリメラーゼ連鎖反応によってインビトロで実施することができる。

【0146】

特定の状態（例えば、特定のマーカーを発現する、生細胞、死細胞、又はアポトーシス細胞）の細胞の数及び／又は割合（％）は、血球計算盤、自動セルカウンター、フローサイトメーター、蛍光活性化セルソーティングマシンの使用を含む、当技術分野で知られている数多くの方法のいずれかを使用して定量することができる。マーカーは、例えば、マーカーに特異的な抗体で染色することによって識別することができる。これらの技術は、生細胞、死細胞、及び／又はアポトーシス細胞の区別を可能にし得る。

【0147】

作用剤

T細胞のインビトロ培養物と接触させる場合、本発明の作用剤は、インビトロでの細胞培養に適した任意の形態（例えば、非毒性の形態）で使用され得る。対象に投与される場合、本発明の作用剤は、動物、好ましくはヒトによる摂取に適した任意の形態（例えば、非毒性）で使用され得る。

【0148】

作用剤は、例えば、栄養組成物などの組成物において、任意の適切な量で使用する事ができる。当業者は、当該作用剤に望ましい用量に応じて適切な量を決定することができるであろう。用量は、投与を受ける対象の年齢、体格、及び健康状態、ライフスタイル、並びに遺伝的遺産（genetic heritage）などの因子に応じて異なり得る。用量は、Food and Nutrition Board of the National Academy of Sciencesなどの組織によって開発された推奨1日摂取量（RDA）に沿ったものであり得る。

【0149】

ニコチンアミドリボシド

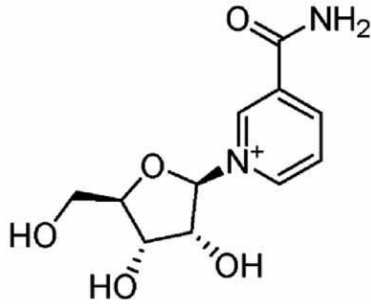
ニコチンアミドリボシド（NR）は、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD）の前駆体であるビタミンB3のピリジンヌクレオシド型である。

【0150】

ニコチンアミドリボシドは次の構造を有する。

【0151】

【化 1】



【0152】

いくつかの実施形態では、T細胞は、1～10、1～5、1～2.5、又は1～2 mMのNR濃度のNRと接触する。他の実施形態では、T細胞は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10 mM、好ましくは2 mMのNR濃度のNRと接触する。

【0153】

ビタミンB12

ビタミンB12（コバラミンとしても既知）は人体で合成することができず、したがって食品から又は腸内微生物叢による合成から得る必要のあるコバルト含有水溶性ビタミン群である。

【0154】

ヒト体内におけるビタミンB12のプールは、いくつかの形態から構成され、不活性であり、活性を得るには変換を要するシアノコバラミン、並びにビタミンB12の代謝活性型であるメチルコバラミン及びアデノシルコバラミンである。

【0155】

2種類の酵素、メチオニン合成酵素及びメチルマロニルCoAムターゼがビタミンB12を補因子として利用することが知られている。メチオニン合成酵素は、ホモシステインをメチオニンに変換するのにメチルコバラミンを利用する細胞内酵素である。かかる酵素は、この変換により、メチル化ドナーとしてS-アデノシルメチオニン（SAM）を提供し、ホモシステインの毒性の蓄積を予防する重要な役割を果たす。重度のビタミンB12欠乏により観察される低SAMレベル及び高ホモシステインレベルでは、末梢神経及び脊髄のミエリン形成が損なわれる。メチオニン合成酵素は、5-メチルーテトラヒドロ葉酸の、生物活性のあるテトラヒドロ葉酸への活性化も触媒し、この触媒効果は1-炭素代謝及びDNA合成に必要とされ、ひいては赤血球の増加に効果がある。メチルマロニルCoAムターゼは、メチルマロニルCoAをスクシニルCoAに変換するにあたりアデノシルコバラミンを利用するミトコンドリア酵素であり、スクシニルCoAは続いてTCA回路に取り込まれる。これは分岐鎖アミノ酸及び奇数鎖長脂肪酸の分解によって示され、胚期中の神経発達の制御に必須であるものの、成人期では必須なものではない。

【0156】

本発明のビタミンB12は、例えば、ビタミンB12そのもの、半合成誘導体のシアノコバラミン、ヒドロキソコバラミン、メチルコバラミン、及び／又はアデノシルコバラミンの形態であってよい。メチルコバラミンは、特に効果的であり得る。

【0157】

いくつかの実施形態では、T細胞は、10～100 μ M、10～75 μ M、又は10～50 μ MのビタミンB12濃度のビタミンB12と接触する。他の実施形態では、T細胞は、25～100 μ M、25～75 μ M、又は25～50 μ MのビタミンB12濃度のビタミンB12と接触する。他の実施形態では、T細胞は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、又は100 μ M、好ましくは50 μ MのビタミンB12濃度のビタミンB12と接触する。

【0158】

いくつかの実施形態では、ビタミンB12は、1日あたりのビタミンB12の推奨1日摂取量（RDA）の0.1～40倍、例えば、1日あたりのビタミンB12の推奨1日摂取量（RDA）の1～10倍で対象に投与される。

【0159】

したがって、ビタミンB12は、1日あたりのビタミンB12のRDAの約10、20、30、又は40倍の1日量で投与することができる。好ましくは、1日用量は、1日あたりのビタミンB12のRDAの10～40倍、より好ましくは10～30倍、又は更に好ましくは10～25倍、最も好ましくは約12～21倍を提供する。

【0160】

米国ではビタミンB12のRDAは、14歳以上のヒトで1日2.4 µgであるため、該当する個体は、1日あたり約0.002 mg～約0.4 mgのビタミンB12、好ましくは1日あたり0.02 mg～0.07 mgのビタミンB12、より好ましくは1日あたり0.03 mg～0.05 mgのビタミンB12を提供する1日量を投与され得る。

【0161】

ウロリチン

ウロリチンは、食品に由来するエラジタンニンなどのエラグ酸誘導体の代謝産物であり、ヒト腸内で腸内細菌によって産生される。

【0162】

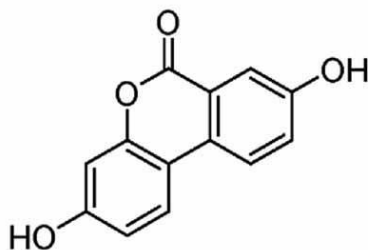
ウロリチンの例としては、ウロリチンA（3,8-ジヒドロキシウロリチン）、ウロリチンB（3-ヒドロキシウロリチン）、及びウロリチンD（3,4,8,9-テトラヒドロキシウロリチン）、ウロリチンAグルクロニド及びウロリチンBグルクロニドが挙げられる。

【0163】

ウロリチンA（UroA）は、以下の構造を有する。

【0164】

【化2】



いくつかの実施形態では、T細胞は、1～20 µM、1～15 µM、又は1～10 µMのウロリチン濃度のウロリチンと接触する。他の実施形態では、T細胞は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、又は20 µM、好ましくは5 µMのウロリチン濃度のウロリチンと接触する。

【0165】

マンガン

マンガンは、例えば、対象、好ましくはヒト対象による摂取に好適な任意の形態で含まれ得る。例えば、マンガンは、塩化マンガン、グルコン酸マンガン、硫酸マンガン、アスコルビン酸マンガン、アミノ酸キレートマンガン（manganese amino acid chelates）、アスパラギン酸マンガン、ピコリン酸マンガン、フマル酸マンガン、リンゴ酸マンガン、コハク酸マンガン、クエン酸マンガン、又はこれらの混合物の形態で含まれ得る。塩化マンガン（II）は、特に効果的であり得る。

【0166】

いくつかの実施形態では、T細胞は、10～100 nM、10～75 nM、又は10～50 nMのマンガン濃度のマンガンと接触する。他の実施形態では、T細胞は、25～100 nM、25～75 nM、又は25～50 nMのマンガン濃度のマンガンと接触する。

他の実施形態では、T細胞は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、又は100 nM、好ましくは50 nMのマンガン濃度のマンガンと接触する。
【0167】

いくつかの実施形態では、マンガンは、約1.8～11.2～3、又は2.5～2.7 mg／日の用量で対象に投与される。

【0168】

セリン、グリシン、アルギニン、及びアスパラギン

いくつかの実施形態では、T細胞は、1～10、1～5、1～2.5、又は1～2 mMのセリン濃度のセリンと接触する。他の実施形態では、T細胞は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10 mM、好ましくは2 mMのセリン濃度のセリンと接触する。

10

【0169】

いくつかの実施形態では、T細胞は、1～10、1～5、1～2.5、又は1～2 mMのグリシン濃度のグリシンと接触する。他の実施形態では、T細胞は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10 mM、好ましくは2 mMのグリシン濃度のグリシンと接触する。

【0170】

いくつかの実施形態では、T細胞は、1～15、1～10、又は1～5 mMのアルギニン濃度のアルギニンと接触する。他の実施形態では、T細胞は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10 mM、好ましくは4 mMのアルギニン濃度のアルギニンと接触する。

20

【0171】

いくつかの実施形態では、T細胞は、1～15、1～10、又は1～5 mMのアスパラギン濃度のアスパラギンと接触する。他の実施形態では、T細胞は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10 mM、好ましくは4 mMのアスパラギン濃度のアスパラギンと接触する。

【0172】

本発明の作用剤は、適宜、塩又はエステル、特に製薬上許容される塩又はエステルとして存在し得る。

【0173】

本発明の作用剤の製薬上許容される塩には、必要に応じて、それらの適切な酸付加塩又は塩基塩が含まれる。好適な薬学的塩の総説は、Berge et al. (1977) J Pharm Sci 66: 1-19に見ることができる。

30

【0174】

本発明はまた、適宜、作用剤の全てのエナンチオマー及び互変異性体を含む。当業者は、光学特性（例えば、1つ以上のキラル炭素原子）又は互変異性特性を有する化合物を認識するであろう。対応するエナンチオマー及び／又は互変異性体は、当該技術分野において既知の方法によって単離／調製することができる。

【0175】

特に効果的な作用剤は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンであり得る。作用剤の特に効果的な組み合わせは、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、及びマンガンであり得る。

40

【0176】

医薬組成物及び栄養組成物

いくつかの実施形態では、作用剤又は組み合わせは、医薬組成物の形態である。

【0177】

医薬組成物は、製薬上許容される担体、希釈剤、又は添加物を更に含んでもよい。

【0178】

いくつかの実施形態では、T細胞は、医薬組成物の形態である。

【0179】

50

本発明の細胞は、製薬上許容可能な担体、希釈剤、又は添加物と共に対象に投与するために配合することができる。好適な担体及び希釈剤は、等張生理食塩水、例えばリン酸緩衝生理食塩水を含み、場合によりヒト血清アルブミンを含有する。

【0180】

細胞療法製品の取り扱い、好ましくは、細胞療法に関するFACT-JACIE国際規格に準拠して実施される。

【0181】

いくつかの実施形態では、作用剤又は組み合わせは、栄養組成物の形態である。

【0182】

いくつかの実施形態では、作用剤又は組み合わせは、食品、栄養補助食品、ニュートラシューティカルズ、特別医療目的の食品(FSMP)、栄養補給剤、乳製品ベースの飲料、低用量液体栄養補給剤、又は食事代替飲料の形態である。いくつかの実施形態では、組成物は乳児用フォーミュラである。

【0183】

いくつかの実施形態では、作用剤又は組み合わせは、食品添加物又は医薬品の形態である。

【0184】

食品添加物又は医薬品は、例えば、錠剤、カプセル、トローチ、又は液体の形態であってもよい。食品添加物又は医薬品は、長期間にわたって作用剤又は組み合わせを持続的(constant)に供給可能な、徐放性製剤として提供されることが好ましい。

【0185】

組成物は、粉乳ベースの製品；インスタント飲料；レディ・トゥ・ドリンク処方；栄養粉末；栄養液体；乳ベースの製品、特にヨーグルト又はアイスクリーム；穀類製品；飲料；水；コーヒー；カプチーノ；麦芽飲料；チョコレート風味飲料；調理製品；スープ；錠剤；及び／又はシロップからなる群から選択されてもよい。

【0186】

組成物は、保護親水コロイド（ガム、タンパク質、加工デンプンなど）、結合剤、フィルム形成剤、封入剤／封入材、壁／シェル材料、マトリックス化合物、コーティング、乳化剤、表面活性剤、可溶化剤（油、脂肪、ワックス、レシチンなど）、吸着剤、担体、充填剤、共化合物、分散剤、湿潤剤、加工助剤（溶媒）、流動化剤、矯味剤、増量剤、ゼリー化剤、ゲル形成剤、抗酸化物質、及び抗菌剤を更に含有してもよい。

【0187】

更に、組成物には、経口又は経腸投与に好適な有機又は無機担体材料に加え、USFDAなどの政府機関の推奨に従い、ビタミン類、ミネラル類、微量元素及びその他の微量栄養素を含有させることもできる。

【0188】

本発明の組成物は、タンパク質源、炭水化物源及び／又は脂質源を含有してもよい。

【0189】

任意の好適な食品由来のタンパク質、例えば、動物性タンパク質（乳タンパク質、肉タンパク質、及び卵タンパク質など）；植物性タンパク質（大豆タンパク質、小麦タンパク質、米タンパク質、及びエンドウ豆タンパク質など）；遊離アミノ酸の混合物；又はこれらの組み合わせを使用できる。カゼイン及びホエイタンパク質等の乳タンパク質、並びに大豆タンパク質が特に好ましい。

【0190】

組成物が脂肪源を含む場合、脂肪源は、好ましくは、フォーミュラのエネルギーのうち5%～40%；例えば、エネルギーのうち20%～30%をもたらす。DHAを添加してもよい。好適な脂肪プロファイルを、キャノーラ油、コーン油、及び高オレイン酸ヒマワリ油のブレンドを使用して得ることができる。

【0191】

炭水化物源は、より好ましくは、組成物のエネルギーの40%～80%をもたらす。任

10

20

30

40

50

意の好適な炭水化物、例えば、スクロース、ラクトース、グルコース、フルクトース、固形コーンシロップ、マルトデキストリン、及びこれらの混合物を使用できる。

【0192】

養子T細胞移植

本発明は、治療に使用するための、本発明の方法により調製されたT細胞集団を提供する。

【0193】

この使用は、T細胞移植手順の一環として行うことができる。

【0194】

別の態様では、本発明は、養子T細胞移植に使用するための、本発明の細胞又は本発明の方法により調製された細胞を提供し、当該養子T細胞移植は、場合により、同種異系養子T細胞移植、非アロ反応性のユニバーサルなT細胞移植 (universal non-alloreactive T-cell transfe)、又は自家養子T細胞移植であり得る。

10

【0195】

本発明の作用剤又は組み合わせは、養子T細胞移植レジメンの一環として使用することができる。例えば、T細胞集団は、この集団を対象に移植する前に、インビトロで本発明の作用剤又は組み合わせと接触させることができる。例えば、本発明の作用剤又は組み合わせは、養子T細胞移植の前、最中、及び／又は後に、(例えば、栄養介入の一環として) 対象に投与され得る。

20

【0196】

養子細胞の移植は、同種異系又は自家によるものであってよい。

【0197】

「自家細胞移植」により、処理開始時の細胞集団(例えば、以降で本発明の作用剤又は組み合わせと接触する細胞集団)が、当該T細胞集団を投与される対象と同じ対象から得られているものと解釈される。自家移植は、免疫学的不適格に伴う問題を回避し、遺伝的に一致するドナーのアベイラビリティを問わず対象に使用できるため、有利である。

【0198】

「同種異系細胞移植」により、処理開始時の細胞集団(例えば、以降で本発明の作用剤又は組み合わせと接触する細胞集団)が、当該形質導入した細胞集団を投与される対象と異なる対象から得られているものと解釈される。好ましくは、免疫学的不適合のリスクを最小にするために、ドナーは細胞が投与される対象と遺伝的に合致するように選択されることとなる。あるいは、ドナーは遺伝的に合致せず、患者とは無関係であってもよい。

30

【0199】

治療方法

本明細書において「治療」についてなされる全ての言及は、治療的、緩和的、及び予防的治療を含むものであると理解される。治療には、疾患の重症度の進行を抑止することも含まれ得る。

【0200】

哺乳動物、特にヒトの治療が、好ましい。ヒト及び動物の治療の両方が、本発明の範囲内である。

40

【0201】

本発明の作用剤、組み合わせ、及びT細胞は、細菌又はウイルス感染症などの感染症の治療に使用することができる。

【0202】

本発明の作用剤、組み合わせ、及びT細胞は、サイトメガロウイルス(CMV)感染、エプスタイン・バーウイルス(EBV)感染、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染、B型肝炎ウイルス(HBV)感染、又はC型肝炎ウイルス(HCV)感染を含む、慢性感染症を治療するために使用することができる。

【0203】

50

本発明のＴ細胞は、標的細胞、例えば癌細胞を殺傷する能力を有し得る。したがって、本発明の作用剤、組み合わせ、及びＴ細胞は、癌の治療に使用することができる。

【０２０４】

本発明の作用剤、組み合わせ、及びＴ細胞は、例えば、自己免疫疾患、アレルギー、又は移植片対宿主拒絶において、病原性免疫応答の制御に使用することができる。

【０２０５】

本発明の作用剤、組み合わせ、及びＴ細胞は、例えば、膀胱癌、乳癌、結腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌（腎細胞）、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、脾臓癌、前立腺癌、及び甲状腺癌などの癌の予防又は治療に使用することができる。

【０２０６】

本発明の作用剤、組み合わせ、及びＴ細胞は、以下を予防又は治療するために使用することができる：舌、口、及び咽頭の癌を含む、口腔及び咽頭の癌；食道癌、胃癌、及び結腸直腸癌を含む、消化器系の癌；肝細胞癌及び胆管癌を含む、肝臓及び胆管系の癌；気管支原性癌及び喉頭癌を含む、呼吸器系の癌；骨肉腫を含む、骨及び関節の癌；黒色腫を含む、皮膚癌；乳癌；女性の子宮癌、卵巣癌、及び子宮頸癌、男性の前立腺癌、及び精巣癌などの、生殖器癌；腎細胞癌及び尿管又は膀胱の転移上皮癌を含む、腎管の癌；神経膠腫、多形性膠芽腫、及び髄芽腫を含む、脳癌；甲状腺癌、副腎癌、及び多発性内分泌腫瘍症候群に関連する癌を含む、内分泌系の癌；ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫を含む、リンパ腫；多発性骨髄腫及び形質細胞腫；急性及び慢性、骨髄性又はリンパ性の両方の白血病；並びに神経芽細胞腫を含む、他の不特定の部位の癌。

【０２０７】

本発明のＴ細胞による治療は、標準的なアプローチではしばしば生じる腫瘍細胞の逃避又は放出を防ぐのに役立ち得る。

【０２０８】

投与

本発明で使用するための作用剤、組み合わせ、及びＴ細胞は単独で投与することができるが、それらは概して、特にヒトの治療のために、医薬担体、添加物、又は希釈剤と混合して投与される。

【０２０９】

いくつかの実施形態では、本発明の作用剤は、本発明の１つ以上の他の作用剤との同時、別個の、又は連続的な使用のための、組み合わせた調製物である。

【０２１０】

本明細書で使用する時、用語「組み合わせ」、又は用語「組み合わせて」、「～と組み合わせて使用される」若しくは「組み合わせた調製物」は、２種以上の作用剤／剤を同時に、順次に、又は別々に組み合わせ投与することを指す。

【０２１１】

本明細書で使用する用語「同時」は、作用剤／剤が同時に投与される、すなわち、同じ時に投与されることを意味する。

【０２１２】

本明細書で使用する用語「順次」とは、作用剤／剤がもう一方の後に投与されることを意味する。

【０２１３】

本明細書で使用する用語「別々に」は、作用剤／剤が、互いに独立して投与されるが、但し、作用剤／剤を組み合わせた効果、好ましくは相乗的な効果を示すことを可能にする時間間隔内で投与されることを意味する。したがって、「別々に」投与するとは、１つの作用剤／剤を、例えば、もう一方の後の１分以内、５分以内、又は１０分以内に投与することを容認し得る。

【０２１４】

投与量

当業者は、過度の実験を行わずとも、本発明の作用剤の１つを対象に投与するのに適切

10

20

30

40

50

な用量を容易に決定することができる。典型的には、医師は、個々の患者に最も好適である実際の投与量を、使用される具体的な作用剤の活性、代謝安定性及びその作用剤の作用の長さ、年齢、体重、全般的な健康、性別、規定食、投与方法及び投与時間、排泄速度、薬物の組み合わせ、特定の状態の重症度、並びに治療を受けている個体を含む様々な因子をもとに決定する。当然のことではあるが、より高い又はより低い投与量範囲が優れている個別の場合があり得、そのような場合も本発明の範囲内にある。

【0215】

対象

いくつかの実施形態では、対象は、ヒト又はヒト以外の動物である。

【0216】

ヒト以外の動物の例としては、脊椎動物、例えば、ヒト以外の霊長類（特に高等霊長類）、イヌ、げっ歯類（例えば、マウス、ラット、又はモルモット）、ブタ及びネコなどの哺乳類が挙げられる。ヒト以外の動物は、コンパニオンアニマルであってもよい。

【0217】

好ましくは、対象は、ヒトである。

【0218】

いくつかの実施形態では、対象は、免疫不全患者であり、例えば、化学療法及び／又は放射線療法を受けている患者である。

【0219】

増幅の方法及び培養用培地

別の態様では、本発明は、ニコチンアミドリボシド、ビタミンB12、ウロリチン、マンガン、セリン、グリシン、アルギニン、アスパラギン、及びこれらの2種以上の組み合わせからなる群から選択される作用剤に、T細胞集団を接触させることを含む、単離されたT細胞集団を増幅させる方法を提供する。

【0220】

いくつかの実施形態では、接触は、作用剤の存在下で細胞集団を培養することを含む。

【0221】

いくつかの実施形態では、方法は、

(a) T細胞集団を準備するステップと；

(b) T細胞集団を活性化するステップと；

(c) T細胞集団を増幅させるステップと；

(d) ステップ(a)、ステップ(b)、及び／又はステップ(c)中に細胞集団を本発明の作用剤又は組み合わせと接触させるステップと、を含む。

【0222】

T細胞の培養、活性化、及び増幅に適切な条件及び培地は、当技術分野で既知である。例えば、T細胞の活性化は、IL-2及び抗原（例えば、ペプチド抗原）の存在下で培養することによって達成され得る。例えば、T細胞の増殖は、IL-2及びIL-7の存在下で培養することによって達成され得る。

【0223】

別の態様では、本発明は、本発明の作用剤又は組み合わせを含むT細胞培養培地を提供する。

【0224】

キット

別の態様では、本発明は、本発明の作用剤、組み合わせ、及び／又は細胞を含むキットを提供する。

【0225】

細胞は、好適な容器で提供することができる。

【0226】

キットはまた、使用のための使用説明書を含んでもよい。

【0227】

当業者は、開示される本発明の範囲から逸脱することなく、本明細書に開示される本発明の全ての特徴を組み合わせることができることを理解されたい。

【0228】

本発明の好ましい特徴及び実施形態を、非限定的な例によってこれより記述する。

【0229】

本発明の実施では、特に指示がない限り、当業者の能力の範囲内のものである、化学、生化学、分子生物学、微生物学、及び免疫学の従来技術を用いる。かかる技術は文献で説明されている。例えば、Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F. M. et al. (1995 and periodic supplements) *Current Protocols in Molecular Biology*, Ch. 9, 13 and 16, John Wiley & Sons; Roe, B., Crabtree, J. and Kahn, A. (1996) *DNA Isolation and Sequencing: Essential Techniques*, John Wiley & Sons; Polak, J. M. and McGee, J. O' D. (1990) *In Situ Hybridization: Principles and Practice*, Oxford University Press; Gait, M. J. (1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press、並びに、Lilley, D. M. and Dahlberg, J. E. (1992) *Methods in Enzymology: DNA Structures Part A: Synthesis and Physical Analysis of DNA*, Academic Pressを参照されたい。これらの一般的なテキストの各々は、本明細書に参照により組み込まれる。

【実施例】

【0230】

実施例1（インビトロ試験）

材料及び方法

別途記載のない限り、細胞培地には、以下の濃度の作用剤又は作用剤の組み合わせを添加した。

【0231】

【表1】

作用剤	濃度
ウロリチンA(UroA)	5 μ M
ニコチンアミドリボシド(NR)	2mM
Mn(MnCl ₂)	50nM
セリン	2mM
グリシン	2mM
ビタミンB12	50 μ M
アルギニン	4mM
アスパラギン	4mM

【0232】

10

20

30

40

50

【表 2】

作用剤の組み合わせ	それぞれの濃度
NR/UroA/Mn	2mM/5 μ M/50nM
NR/B12/Mn	2mM/50 μ M/50nM
UroA/B12/Mn	5 μ M/50 μ M/50nM
NR/UroA/B12	2mM/5 μ M/50 μ M
Ser/Gly/B12 _{25 μM}	2mM/2mM/25 μ M
Ser/Gly/B12 _{50 μM}	2mM/2mM/50 μ M

【0233】

10

T細胞の準備（全脾細胞）

O T I - 1 マウスを 殺し、解剖して脾臓を摘出した。無菌条件下で、脾臓を 0.70 μ m フィルターで破碎した。次に、破碎した脾臓に体積が 30 mL となるまで P B S を加え、混合物を遠心分離した（1500 rpm、室温で5分間）。

【0234】

上清の P B S を廃棄し、細胞を 2 mL の 1 × 赤血球溶解バッファーに3分間再懸濁した。次に、15 mL の P B S を加えて細胞を洗浄し、混合物を遠心分離した（1500 rpm、室温で5分間）。

【0235】

上清の P B S を廃棄し、細胞を新しい R P M I 完全培地（+10% F B S、ピルビン酸ナトリウム）に再懸濁してから計数した。

20

【0236】

C D 8 + T 細胞の刺激（0日目～3日目）

750 μ L の作用剤／作用剤の組み合わせを添加した溶液（上記）を、平底24ウェルプレートの対応するウェルに入れた。

【0237】

次に、全脾臓細胞を、I L - 2（最終濃度100 U / mL）及び S I I N F E K L ペプチド（最終濃度250 nM）を含む R P M I 完全培地（+10% F B S、ピルビン酸ナトリウム）に 1.6×10^6 個 / mL で再懸濁した。

【0238】

30

750 μ L の細胞溶液（2 ×）を各ウェルに加えた。したがって、細胞数は、 0.8×10^6 個 / mL で、ウェルあたり1,200,000個であった。

【0239】

次に、この細胞を37℃で3日間インキュベートした。

【0240】

O T I - 1 T 細胞の特異的活性化は、S I I N F E K L ペプチドによる。したがって、3日後には主に（それだけではないにしても）C D 8 T 細胞が増殖しており、活性化プロファイルを示すことになる。

【0241】

C D 8 + T 細胞の刺激（3日目～7日目）

40

各条件（3日目以降）の細胞を計数し、R P M I 完全培地（+10% F B S、ピルビン酸ナトリウム）に 1.2×10^6 個 / mL で再懸濁した。

【0242】

次に、細胞を96ウェル又は12ウェルプレートに 5×10^4 個 / ウェル（96ウェルプレート）及び 6×10^5 個 / ウェル（12ウェルプレート）で分配した。

【0243】

（a）I L - 2（最終濃度100 U / mL）及び I L - 7（最終濃度10 U / mL）（エフェクター細胞の表現型を維持するため）；又は（b）I L - 15（最終濃度10 U / mL）（陽性対照としてメモリー前駆エフェクター細胞（memory precursor effector cell、MPEC）への分化を誘導するため）；のいずれかに

50

加えて、作用剤／作用剤の組み合わせを添加した溶液（上記）又は完全培地を、対応するウェルに加えた。

【0244】

5日目に、新鮮な作用剤及びサイトカインを含む追加の培地をウェルに加えた。

【0245】

次に、細胞を37℃で4日間インキュベートした後、FACS染色又はSeahorse解析を行った。

【0246】

FACS解析

細胞を96ウェルプレートから回収し、遠心分離（2000rpm、4℃で2分間）した後、150μLのPBSで洗浄した。

【0247】

次に、細胞を60μLのLiveDead染色溶液（PBSで1：500希釈）に再懸濁し、氷上で15分間インキュベートした。次に、細胞を遠心分離（2000rpm、4℃で2分間）した後、150μLのPBS、次に200μLのFACSバッファー（PBS+2%FBS）で洗浄した。

【0248】

続いて、細胞を60μLの染色液（FACSバッファー+CD45.1、CD62L、及びCD8に特異的な抗体）に再懸濁し、氷上で15分間インキュベートした。

【0249】

次に、細胞を遠心分離（2000rpm、4℃で2分）してから150μLのFACSバッファーで洗浄した後、150μLのFACSバッファーに再懸濁し、FACS（BD（商標）LSRII）で解析した。

【0250】

データの取得後、FlowJo treestarソフトウェアを使用してFACSデータを解析し、CD62Lの蛍光の中央値を抽出した。

【0251】

Seahorse分析

細胞を12ウェル又は6ウェルプレートから回収した。

【0252】

カートリッジポアを含むプローブプレート（Seahorse XF96 FluxPak）は、200μLのSeahorse XF Calibrant溶液（Agilent）を各ウェルに添加し、37℃（CO₂なし）で一晩インキュベートすることによって準備した。

【0253】

細胞を15mLのチューブに移して残留物を除去し、パストゥールピペットを追加した。2mLのLympholyte Mをパストゥールピペットにゆっくりと加え、ピペットをチューブから取り外す前に、フィコールを細胞の下にゆっくりと放出させた。このチューブを、室温で、10分間、中断を挟まずに1500rpmで遠心分離した。

【0254】

5mLの新鮮な不完全RPMIを細胞に加え、混合物を1500rpm、室温で5分間遠心分離した。次に、細胞を1mLのRPMI完全培地（+10%FBS、ピルビン酸ナトリウム）に再懸濁した。

【0255】

続いて、細胞を計数してから、XF完全培地（グルコース（25mM）、L-グルタミン（2mM）、及びピルビン酸ナトリウム（1mM）を含む非緩衝RPMI、pH7.3）に5×10⁶個/mLで再懸濁した。

【0256】

次に、40μLの細胞を、細胞培養プレート（V3-PS TC-Treated）の対応する所定のポリ-D-リジンコーティングウェルに分配し、プレートを400gで5

10

20

30

40

50

分間遠心分離した。

【0257】

140 μ LのXF培地を各ウェルに注意深く加え、プレートを37℃で、30～60分（CO₂なし）インキュベートした。この間、前もって準備したカートリッジの細孔：細孔Aには20 μ Lのオリゴマイシン；細孔Bには22 μ LのFCCP；細孔Cには24 μ Lのロテノン／アンチマイシンA；に、モジュレーター溶液（10 μ Mオリゴマイシン；15 μ M FCCP；1 μ M／1 μ g／mLロテノン／アンチマイシンA）をロードし、このカートリッジを37℃（CO₂なし）でインキュベートした。

【0258】

次に、ミトコンドリアストレスの解析を、Waveのソフトウェアを使用して製造元の指示に従って実行した。

【0259】

データ取得後、酸素消費速度を抽出し、製造元の指示に従って予備呼吸能を計算した。

【0260】

結果及び考察

T細胞の免疫能の向上を試験するために、インビトロ試験では、長期及び休止の表現型を有するT細胞の分化に着目した。この分化は、メモリー細胞の特徴の構築に等しいと考えられる。代謝介入の結果は、以下により評価した。

【0261】

細胞表現型：休止中のT細胞で高発現する特異的なマーカーCD62Lの細胞表面発現をFACSにより評価。

【0262】

細胞機能：ミトコンドリアストレス時の細胞呼吸を評価するアッセイ（Seahorse technology）による、代謝能測定（予備呼吸能による）を使用して評価。細胞呼吸は、休止期のメモリー細胞で高くなる。

【0263】

UroA、NR、Mn、Ser、Gly、ビタミンB12、Arg、及びAsnを個別に試験する代謝介入では、陰性対照（IL-2／7で増殖したエフェクターT細胞）よりも高レベルでのCD62Lの細胞表面発現及び高代謝能によって表されるとおり、それぞれT細胞の表現型及び機能を改善した。

【0264】

NR及びB12は、陽性対照（IL-15を使用して分化させたメモリーT細胞）と同等又はそれ以上のCD62L発現レベルを示し、T細胞の免疫能を向上させる効果を有することを更に実証した（図1A）。

【0265】

作用剤の組み合わせのSer／Gly／B1225 μ M、Ser／Gly／B1250 μ M、NR／UroA／Mn、NR／B12／Mn、UroA／B12／Mn、及びNR／UroA／B12を試験した代謝介入では、細胞表面のCD62Lの発現が陰性対照よりも高レベルであることによって表されるとおり、それぞれのT細胞表現型を改善した。更に、組み合わせSer／Gly／B1225 μ M、Ser／Gly／B1250 μ M、NR／UroA／Mn、NR／B12／Mn、及びNR／UroA／B12では、陰性対照よりも高い代謝能によって表されるとおり、T細胞機能が改善された（図1B及び図1C）。

【0266】

全ての組み合わせは、陽性対照と同等又はそれ以上のCD62L発現レベルを示した。NR／UroA／Mn、NR／B12／Mn、及びNR／UroA／B12は、陽性対照（IL-15 TM）よりも高い代謝能（約2倍）を示し、T細胞の免疫能を向上させる効果を更に実証した（図1B及び図1C）。

【0267】

重要なことに、これらの結果から、組み合わせSer／Gly／B1225 μ M、Ser／Gly／B1250 μ M、NR／UroA／Mn、NR／B12／Mn、及びNR／UroA／B12

10

20

30

40

50

○ A / B 1 2 は、代謝能に相乗作用することが示された（図 1 B 及び図 1 C）。

【 0 2 6 8 】

実施例 2（インビボ試験）

材料及び方法

代謝介入は、感染マウスに養子細胞を移植するより前の、以下の作用剤濃度での、インビトロ法で記載したとおりの細胞培地添加により構成した。

【 0 2 6 9 】

【表 3】

作用剤	濃度
ウロリチンA(UroA)	5 μ M
ニコチンアミドリボシド(NR)	2mM
ビタミンB12	50 μ M
アルギニン	4mM

10

【 0 2 7 0 】

インビボ評価では、他の作用剤と同じ手順により、O T I - 1 C D 8 T細胞をインビトロでフェンホルミン（1 0 0 μ M）により前処理することで陽性対照を得た。フェンホルミンは、細胞において、長期 T細胞の分化に不可欠である代謝の切り替えを誘導することが知られている。

【 0 2 7 1 】

養子細胞移植及びリスティア菌（*Listeria monocytogenes*）感染
C 5 7 B L / 6 マウスに、O V A を発現するリスティア菌 2 0 0 0 C F U を、2 0 0 μ L の P B S 中 1×10^4 C F U / m L の濃度で（L m - O V A ; 抗生物質を非添加のブレインハートインフュージョン培地で O D が 0 . 3 に達した時点で回収）静脈内注射して、リスティア菌への感染を誘導した。

20

【 0 2 7 2 】

被処理 O T I - 1 T細胞（O V A を特異的に認識）は、実施例 1 に記載の手順の 7 日目の細胞から、P B S 中 1×10^5 個 / m L の濃度で準備した。上記のように L y m p h o l y t e M を使用して T細胞から残留物を除去した。

【 0 2 7 3 】

O T I - 1 T細胞の養子細胞移植は、2 0 0 μ L の P B S 中の 1×10^4 個の細胞を各マウスに静脈内注射することによって実施した。

30

【 0 2 7 4 】

3 5 日後、このマウスを 殺し、更なる表面及び細胞内 F A C S 解析のために血液及び脾臓を回収した。

【 0 2 7 5 】

表面 F A C S 解析

回収した血液又は全脾臓細胞に対し、9 6 ウェルプレートで赤血球の溶解を行い、遠心分離（2 0 0 0 r p m、4 $^{\circ}$ C で 2 分間）した後、1 5 0 μ L の P B S で洗浄した。

【 0 2 7 6 】

次に、細胞を 6 0 μ L の L i v e D e a d 染色溶液（P B S で 1 : 5 0 0 希釈）に再懸濁し、氷上で 1 5 分間インキュベートした。次に、細胞を遠心分離（2 0 0 0 r p m、4 $^{\circ}$ C で 2 分間）した後、1 5 0 μ L の P B S、次に 2 0 0 μ L の F A C S バッファー（P B S + 2 % F B S）で洗浄した。

40

【 0 2 7 7 】

続いて、細胞を 6 0 μ L の染色液（F A C S バッファー + C D 4 5 . 1、C D 6 2 L、C D 8、C D 1 2 7、K L R G 1、C D 2 7、C D 4 3、及び C X C R 3 に特異的な抗体）に再懸濁し、氷上で 1 5 分間インキュベートした。

【 0 2 7 8 】

次に、細胞を遠心分離（2 0 0 0 r p m、4 $^{\circ}$ C で 2 分）してから 1 5 0 μ L の F A C S

50

バッファーで洗浄した後、150 μ LのFACSバッファーに再懸濁し、FACS (BD (商標) LSR II) で解析した。

【0279】

データの取得後、FlowJo treestarソフトウェアを使用してFACSデータを解析し、標的としたマーカーについてゲートをかけた細胞の割合(%)を抽出した。

【0280】

細胞内FACS染色

回収した血液又は全脾臓細胞に対し、96ウェルプレートで赤血球の溶解を行い、遠心分離(2000 rpm、4℃で2分間)した後、上清を廃棄した。

【0281】

必要に応じて、50 μ Lの24G2の培養上清(ラット細胞株24G2の培養上清、FACSバッファー(PBS+2%FBS))で1:1希釈を各ウェルに添加し、4℃で15分間インキュベートして細胞上のFc受容体をブロックし、抗体の非特異的な結合を防いだ。

【0282】

次に、細胞を遠心分離(2000 rpm、4℃で2分間)した後、100 μ LのPBSで洗浄した。

【0283】

次に、細胞を60 μ LのLiveDead染色溶液(PBSで1:500希釈)に再懸濁し、4℃で15分間インキュベートした。次に、細胞を遠心分離(2000 rpm、4℃で2分間)した後、100 μ LのFACSバッファーで洗浄した。

【0284】

次に、細胞を遠心分離し(2000 rpm、4℃で2分間)、表面抗体ミックス(CD45.1、CD8に特異的な抗体; FACSバッファー中50 μ L)に再懸濁してから、4℃で15分間インキュベートした。

【0285】

続いて、細胞を遠心分離し(2000 rpm、4℃で2分間)、100 μ LのFACSバッファーで洗浄した。

【0286】

150 μ Lの1×固定/透過処理用バッファー(細胞内染色キット(BD (商標)))を添加し、30分又は一晩インキュベートした。

【0287】

次に、細胞を遠心分離し(2000 rpm、4℃で2分)、上清を廃棄した。

【0288】

次に、細胞を200 μ Lの1×透過処理用バッファー(細胞内染色キット(BD (商標)))で洗浄した後、遠心分離(2000 rpm、4℃で2分間)して、上清を廃棄した。

【0289】

次に、50 μ Lの1×透過処理用バッファー(細胞内染色キット(BD (商標)))及び抗体(IFN γ 及びTNF α に特異的)を添加して、細胞内染色を行った。混合物を4℃で30分間インキュベートした。

【0290】

細胞を遠心分離し(2000 rpm、4℃で2分間)、150 μ Lの1×透過処理用バッファー(細胞内染色キット(BD (商標)))で洗浄し、次に遠心分離(2000 rpm、4℃で2分間)し、200 μ LのFACSバッファーで洗浄した。

【0291】

次に、200 μ LのFACSバッファーを添加し、同日又は翌日のFACS (BD (商標) LSR II) による解析まで、混合物を4℃で保存した。

【0292】

データの取得後、FlowJo treestarソフトウェアを使用してデータを解析し、標的としたマーカーについてゲートをかけた細胞の割合(%)を抽出した。

10

20

30

40

50

【0293】

結果及び考察

T細胞の免疫能の向上を試験するために、インビボ試験では、リステリア菌に同時に感染したマウスへの治療及び養子細胞移植後の、長期及び休止表現型を有するT細胞の分化に重点を置いた。代謝介入の結果は、感染から35日後に以下により評価した。

【0294】

細胞の頻度：マウスの血液及び脾臓における全てのCD8陽性T細胞に占める移植細胞(CD45.1)の割合(%)をFACSにより評価。

【0295】

細胞の表現型：血液及び脾臓からの細胞に関し、全てのCD8陽性移植細胞(CD45.1)に占める、メモリー前駆エフェクター細胞(MPEC；マーカー類のCD127が陽性でありかつKLRG1が陰性である)又は完全なメモリー細胞(マーカー類のCD27及びCD43がいずれも陽性である)のいずれかのパターンのメモリー細胞を分化増殖した細胞の割合(%)をFACSにより評価。

10

【0296】

細胞の機能：マウス脾臓における全てのCD8陽性T細胞に占める、機能に関する表面マーカーCXCR3を発現している、並びにIFN γ 及びTNF α を産生することのできる移植細胞(CD45.1)の割合を、細胞内染色を用いるFACSにより評価。

【0297】

Arg、NR、及びB12を個別にテストする代謝介入は、血液及び脾臓における細胞頻度が対照よりも高いことにより表されるとおり、T細胞の免疫能を改善した(図2)。

20

【0298】

更に、Arg、NR、及びB12は、MPEC(特に脾臓ではB12；血液及び脾臓の両方でNR)及び／又はメモリー細胞(脾臓ではArg；血液及び脾臓の両方でB12及びNR)の割合が高いことにより表されるとおり、T細胞の表現型を改善した(図2)。重要なことに、全ての化合物で観察された効果は、CXCR3を発現している細胞、並びにIFN γ 及びTNF α の両方のサイトカインを産生する細胞の割合が高いことにより表されるとおり、同様又は改善された細胞機能を伴う(図2)。

【0299】

特に、B12は、血液及び脾臓の両方において、陽性対照(フェンホルミン処理)よりも高い頻度で移植細胞を示した。更に、NRは、陽性対照(フェンホルミン処理)よりも高い(血液)又は同様の(脾臓)頻度で移植細胞を示した。これらの結果は、T細胞の免疫能を向上させる効果を更に実証した(図2)。

30

【0300】

上記明細書で言及した全ての刊行物は、本明細書に参照により組み込まれる。開示される剤、組成物、本発明の使用及び方法の様々な修正及び変更は、本発明の範囲及び主旨から逸脱することなく、当業者には明白であろう。本発明は、特定の好ましい実施形態に関連して開示されているが、特許請求される本発明は、このような特定の実施形態に過度に限定されるべきではないことを理解されたい。実際、当業者には自明であり、本発明を実施するために開示された様式の種々の改変は以下の特許請求の範囲の範囲内であることを意図している。

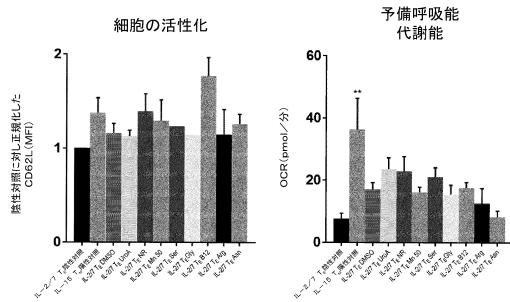
40

【図面】

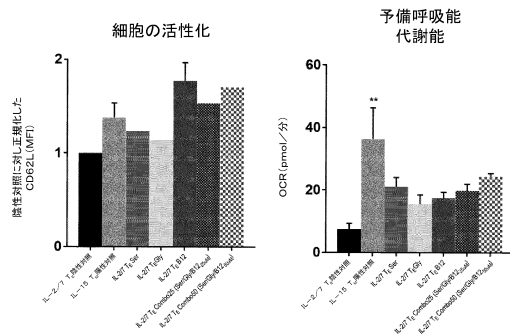
【図 1 - 1】

FIGURE 1

A



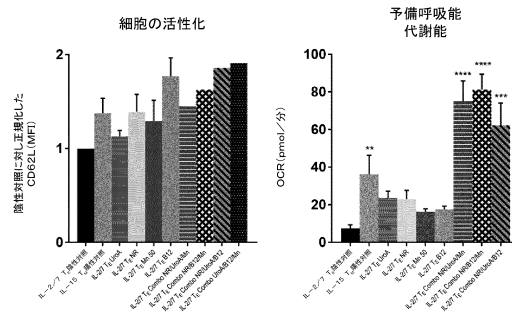
B



【図 1 - 2】

FIGURE 1 (続き)

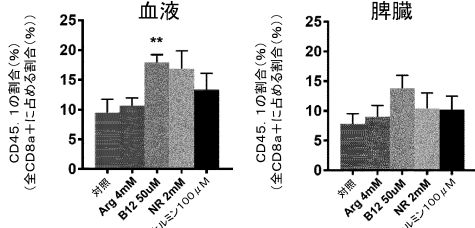
C



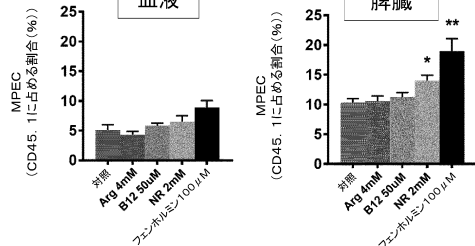
【図 2 - 1】

FIGURE 2

A



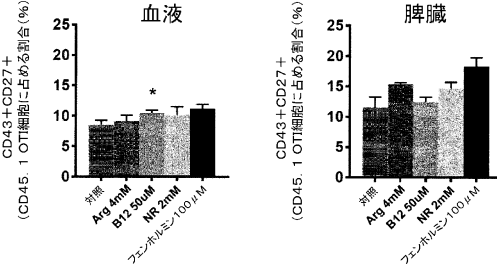
B



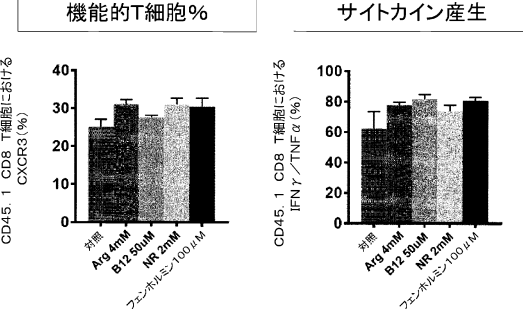
【図 2 - 2】

FIGURE 2 (続き)

C



D



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/37 (2006.01)	A 6 1 K	31/37	
A 6 1 K	31/714 (2006.01)	A 6 1 K	31/714	
A 6 1 K	33/32 (2006.01)	A 6 1 K	33/32	
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	31/12 (2006.01)	A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 7
		A 6 1 P	43/00	1 2 1

弁理士 酒巻 順一郎

(74)代理人 100140453

弁理士 戸津 洋介

(72)発明者 ヴァンニーニ, ニコラ

スイス連邦, 1 0 9 0 ラ クロワ (リュトリ), シュマン ド ラ カヌラ 8 0

(72)発明者 コウコス, ジョージ

スイス連邦, 1 0 7 1 シュブル, シュマン ドウ ダール 2 ビー

(72)発明者 レッジ, セルジュ, アンドレ, ドミニク

スイス連邦, 1 6 2 3 セムサール, レ シャルミル 4 2

(72)発明者 ラヴァル, ジュリー

フランス共和国, 3 4 7 2 0 コー, リュー ド ラ フォンテーヌ 1 1

(72)発明者 モナード, キャロライン

スイス連邦, 1 0 3 3 シュゾー-シュルーローザンヌ, デリエールルーシャトー 2 1

(72)発明者 リンコン レストレポ, マルセラ

スイス連邦, 1 0 0 6 ローザンヌ, アヴェニュー ドウ ロン ポワン 1

審査官 愛清 哲

(56)参考文献 米国特許出願公開第 2 0 1 8 / 0 3 5 3 5 2 6 (US, A1)

特表 2 0 1 7 - 5 2 7 5 7 2 (JP, A)

米国特許出願公開第 2 0 1 8 / 0 3 6 2 5 7 0 (US, A1)

中国特許出願公開第 1 0 7 4 1 2 2 6 0 (CN, A)

国際公開第 2 0 2 0 / 1 6 6 5 2 7 (WO, A1)

米国特許出願公開第 2 0 1 6 / 0 3 4 8 0 6 5 (US, A1)

国際公開第 2 0 1 2 / 1 1 3 8 3 5 (WO, A1)

中国特許出願公開第 1 0 8 9 1 2 3 4 2 (CN, A)

特表 2 0 1 7 - 5 3 3 7 0 2 (JP, A)

特開 2 0 0 0 - 2 8 1 5 7 1 (JP, A)

Immunomodulation by vitamin B12: augmentation of CD8+ T lymphocytes and natural killer (NK) cell activity in vitamin B12-deficient patients by methyl-B12 treatment, Clin Exp Immunol, 1999年, vol.116, pp.28-32

Urolithin A, a Novel Natural Compound to Target PI3K/AKT/mTOR Pathway in Pancreatic Cancer, Molecular Cancer Therapeutics, 2018年11月07日, 18(2), pp.301-311, doi: 10.1158/1535-7163.MCT-18-0464

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0

A 6 1 K 3 3 / 0 0 - 3 3 / 4 4

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0

A 2 3 L 3 3 / 0 0 - 3 3 / 1 8

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C a p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)