

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7613748号
(P7613748)

(45)発行日 令和7年1月15日(2025.1.15)

(24)登録日 令和7年1月6日(2025.1.6)

| | | |
|-------------------------|---------------|-------|
| (51)国際特許分類 | F I | |
| A 6 1 K 35/74 (2015.01) | A 6 1 K 35/74 | B |
| A 6 1 P 1/02 (2006.01) | A 6 1 P 1/02 | Z N A |
| A 6 1 K 9/14 (2006.01) | A 6 1 K 9/14 | |
| A 6 1 K 9/19 (2006.01) | A 6 1 K 9/19 | |
| A 6 1 L 15/44 (2006.01) | A 6 1 L 15/44 | 1 0 0 |
| 請求項の数 9 (全26頁) 最終頁に続く | | |

| | | | |
|-------------------|-------------------------------|----------|---|
| (21)出願番号 | 特願2021-539949(P2021-539949) | (73)特許権者 | 521299927 |
| (86)(22)出願日 | 令和1年12月13日(2019.12.13) | | 遼寧 格瑞仕特生物制 藥 有限 公司 |
| (65)公表番号 | 特表2022-516983(P2022-516983 A) | | 中華人民共和國 1 1 7 0 0 4 遼 寧 省本溪市溪湖区石 橋 子春安街 8 - 2 棟 1 層 1 号 |
| (43)公表日 | 令和4年3月3日(2022.3.3) | (74)代理人 | 100108453 |
| (86)国際出願番号 | PCT/CN2019/125180 | | 弁理士 村山 靖彦 |
| (87)国際公開番号 | WO2020/147472 | (74)代理人 | 100110364 |
| (87)国際公開日 | 令和2年7月23日(2020.7.23) | | 弁理士 実広 信哉 |
| 審査請求日 | 令和4年12月5日(2022.12.5) | (74)代理人 | 100133400 |
| (31)優先権主張番号 | 201910036001.4 | | 弁理士 阿部 達彦 |
| (32)優先日 | 平成31年1月15日(2019.1.15) | (72)発明者 | 盖 波 |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 中国(CN) | | 中華人民共和國 1 1 7 0 0 4 遼 寧 省本溪市溪湖区石 橋 子春安街 8 - |
| (31)優先権主張番号 | 201911022193.X | | 最終頁に続く |
| (32)優先日 | 令和1年10月25日(2019.10.25) | | |
| | 最終頁に続く | | |

(54)【発明の名称】 ロドコッカス・ルーバー製品及びその製薬使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

口腔扁平苔癬の治療するための医薬組成物であって、
単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格と、薬学的に許容される賦形剤と、を含み、
単離された前記ロドコッカス・ルーバーが2019年3月22日に北京市朝陽区北辰西路1号院3号の中国微生物菌種保存管理委員会普通微生物センターに寄託され、寄託番号がCGMCC No. 17431であり、

前記単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格が1重量部で、前記薬学的に許容される賦形剤が200～300重量部である、医薬組成物。

【請求項 2】

前記単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格が1重量部で、前記薬学的に許容される賦形剤が250重量部であり、

液体である、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

請求項1又は2に記載の医薬組成物の乾燥粉末製剤又は凍結乾燥粉末製剤である、口腔扁平苔癬の治療するための医薬組成物。

【請求項 4】

口腔扁平苔癬の治療するための医療機器であって、
単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格と、薬学的に許容される賦形剤と、を含

み、

単離された前記ロドコッカス・ルーバーが2019年3月22日に北京市朝陽区北辰西路1号院3号の中国微生物菌種保存管理委員会普通微生物センターに寄託され、寄託番号がCGMCC No. 17431であり、

ドレッシング材、貼付剤、包帯、及びフィルムからなる群から選択される、医療機器。

【請求項5】

単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格の、口腔扁平苔癬の治療するための医薬又は医療機器の製造における使用であって、

単離された前記ロドコッカス・ルーバーが2019年3月22日に北京市朝陽区北辰西路1号院3号の中国微生物菌種保存管理委員会普通微生物センターに寄託され、寄託番号がCGMCC No. 17431である、使用。

10

【請求項6】

前記口腔扁平苔癬が網状型、環状型、線状型、丘疹型、糜爛型、斑状型、水疱型、及び萎縮型扁平苔癬からなる群から選択される1つ又はそれらの組み合わせである、請求項5に記載の使用。

【請求項7】

前記医薬が膏薬、クリーム剤、乳液、懸濁剤、ペースト剤、ゲル剤、洗浄剤、チンキ剤、オイル剤、錠剤、エアロゾル剤、噴霧剤、リニメント剤、及び粉剤からなる群から選択される剤形として製造される、請求項5又は6に記載の使用。

【請求項8】

前記医療機器がドレッシング材、貼付剤、包帯、及びフィルムからなる群から選択される形態として製造される、請求項5又は6に記載の使用。

20

【請求項9】

前記医薬又は医療機器の単位用量が、 $1\mu\text{g} \sim 1000\mu\text{g}$ の活性成分を含む、請求項5又は6に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は2019年01月15日に提出した中国特許出願「ロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格及びその使用」(出願番号201910036001.4)及び2019年10月25日に提出した中国特許出願「単離されたロドコッカス・ルーバー」(出願番号201911022193.X)の優先権の利益を主張するものであり、これらの全ての内容は引用により本明細書に組み込まれる。

30

【0002】

本開示は医学分野、微生物分野、生物製薬分野に関するものである。具体的には、ロドコッカス・ルーバー及びその細胞壁成分、製剤、医薬組成物、製造方法、及びロドコッカス・ルーバーの細胞壁成分の治療における使用に関するものである。

【背景技術】

【0003】

ロドコッカス・ルーバー(*Rhodococcus ruber*)はグラム陽性菌である。通常はコロニーが円形で、黄みの橙色又は赤みの橙色を呈し、コロニーのサイズは約1mm~2mmであり、細胞の形態は球状又は短桿状であり、一次分枝した菌糸体を形成でき、鞭毛はない。ロドコッカス・ルーバーは好気性であり、従属栄養性である。

40

【0004】

現在、研究者によりロドコッカス・ルーバーの全ゲノム配列決定が行われている。例えば、樊欣らによりロドコッカス・ルーバーSD3株の全ゲノムの配列決定が行われ、生物情報学的分析が行われた。SD3株の全ゲノムの長さは約5.37Mbで、GC含量は約70.63%で、GenBank登録番号はCP029146である(樊欣、ロドコッカス・ルーバーSD3の全ゲノム配列決定及びその熱ショックタンパク質DnaKの発現の分析、ゲノム学と応用生物学、2019年1月)。

50

【0005】

ロドコッカス属 (*Rhodococcus*) 自体が非常に強い有機物耐性と広い分解スペクトルを有するため、多様な生存環境に適応できる。よって、ロドコッカス属は汚染の修復、有機化合物の分解、汚水の処理などの分野に広く適用される。現在、ロドコッカス・ルーバーは主に環境整備の分野に適用され、CN108862590A、CN107151635A、CN102250796A、CN1519312A、CN103627653A、CN101033454A、CN108130288A、CN104830738A、CN101619299A、CN103509833A、CN106434466A、CN101580808A、CN102604875A、CN103160491A、CN106591168A、CN106591172A、CN105820982Aを参照されたい。

10

【0006】

CN109576180Aは広州市番禺区付近の郊外の赤土からスクリーニングした菌RDC-01を開示しており、16S rRNA遺伝子配列分析及び培養特性同定により、この菌株がロドコッカス・ルーバーであると同定された。この菌を不活化した後に、免疫アジュバントとして動物用の不活化ワクチンに添加すると、動物の抗体の産生を促進できることが示された。

【0007】

しかし、ロドコッカス・ルーバーをヒトの医学分野に適用するという報告はまだない。

【0008】

口腔扁平苔癬 (*Oral lichen planus*, OLP) は細胞性免疫による皮膚粘膜の慢性炎症性疾患である (口腔粘膜病学、北京大学医学出版社、2014)。臨床的にかなりよく見られる疾患であり、有病率は0.1%~4%である。長期的に糜爛を有する口腔扁平苔癬は潜在的な悪化リスクがある (Lodi Gら、*Current controversies in oral lichen planus: Report of an international consensus meeting, part 2; clinical management and malignant transformation. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics*, 2005, 100(2): 164-78)。2005年にWHOはそれを口腔潜在的悪性疾患 (*Oral potentially malignant disorders*, OPMD) として挙げ、2019年の最新の研究ではOLPの悪性転化率が0.8%~1.5%であると示されている。

20

30

【0009】

扁平苔癬の診断には、中華口腔医学会口腔粘膜病専門委員会と中華口腔医学会中西医结合専門委員会が連合して制定した「口腔扁平苔癬の診療指南」又はWHOの2003年の口腔扁平苔癬の診断基準を参考にすることができる。「口腔粘膜病学」では扁平苔癬は網状型、環状型、線状型、丘疹型、糜爛型、斑状型、水疱型、萎縮型に分けられる。

【0010】

OLPの病因は未だ明確ではなく、有病期間が長くなりやすく、繰り返しやすい。根治療法はまだなく、対症療法及び免疫調節治療を主とすることが多い。臨床では、糖質コルチコイドを主な治療薬として局所投与しており (Garcia-Pola MJら、*Treatment of oral lichen planus. Systematic review and therapeutic guide. Medicina Clinica*, 2017, 149(8): 351-362)、重症患者には短期的に糖質コルチコイド又は免疫抑制剤などを全身に投与するが、糖質コルチコイドを長期にわたって局所投与するという治療には大きな副作用があり、例えば粘膜の萎縮及び感染悪化などの一連の合併症、電解質バランスの乱れ、創傷癒合の遅延及び小児の成長抑制などの全身の有害反応を引き起こし、よってこの医薬は臨床的に長期にわたって投与するには不適である (Oray Mら、*Long-term side effects of glucocor*

40

50

ticoids. Expert Opinion on Drug Safety, 2016, 15(4): 457-65)。

【0011】

したがって、安全且つ効果的で顕著な副作用がない医薬を探することは臨床において速やかな解決が望まれる課題である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

【文献】中国特許出願公開第108862590号明細書

【文献】中国特許出願公開第107151635号明細書

10

【文献】中国特許出願公開第102250796号明細書

【文献】中国特許出願公開第1519312号明細書

【文献】中国特許出願公開第103627653号明細書

【文献】中国特許出願公開第101033454号明細書

【文献】中国特許出願公開第108130288号明細書

【文献】中国特許出願公開第104830738号明細書

【文献】中国特許出願公開第101619299号明細書

【文献】中国特許出願公開第103509833号明細書

【文献】中国特許出願公開第106434466号明細書

【文献】中国特許出願公開第101580808号明細書

20

【文献】中国特許出願公開第102604875号明細書

【文献】中国特許出願公開第103160491号明細書

【文献】中国特許出願公開第106591168号明細書

【文献】中国特許出願公開第106591172号明細書

【文献】中国特許出願公開第105820982号明細書

【文献】中国特許出願公開第109576180号明細書

【文献】中国特許出願公開第101250490号明細書

【文献】中国特許出願公開第101323865号明細書

【非特許文献】

【0013】

30

【文献】Lodi Gら著、「Current controversies in oral lichen planus: Report of an international consensus meeting, part 2; clinical management and malignant transformation」、Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics 2005年、100(2)、p. 164-78

【文献】Garcia-Pola MJら著、「Treatment of oral lichen planus, Systematic review and therapeutic guide」、Medicina Clinica 2017年、149(8)、p. 351-362

40

【文献】Oray Mら著、「Long-term side effects of glucocorticoids」、Expert Opinion on Drug Safety 2016年、15(4)、p. 457-65

【文献】Meij EHVD、Waal IVD著、「Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications」、Journal of Oral Pathology & Medicine、2003年、32(9)、p. 507-512

50

【文献】Gorouhi Fら著、「Randomized trial of pimecrolimus cream versus triamcinolone acetonide paste in the treatment of oral lichen planus」、Journal of the American Academy of Dermatology、2007年、57(5)、p.806-813

【文献】Park HKら著、「Oral lichen planus: REU scoring system correlates with pain」、Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology、2012年、114(1)、p.75-82

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

本開示のいくつかの実施態様のうち、一態様において、単離されたロドコッカス・ルーバー(Rhodococcus ruber)を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0015】

本開示のいくつかの具体的な実施態様において、2019年3月22日に中国微生物菌種保存管理委員会普通微生物センター(China General Microbiological Culture Collection Center、北京市朝陽区北辰西路1号院3号、中国科学院微生物研究所、郵便番号:100101)に寄託した、寄託番号CGMCC No.17431のロドコッカス・ルーバーを提供する。この寄託は「特許手続上の微生物の寄託の国際承認に関するブダペスト条約(Budapest Treaty on the International Recognition of the Deposit of Microorganisms for the Purposes of Patent Procedure)」の規定を満たす。

【0016】

本開示のいくつかの実施態様において、ロドコッカス・ルーバー及びその派生製品を提供する。前記派生製品はロドコッカス・ルーバー由来で、ロドコッカス・ルーバーの組成成分(例えばタンパク質、核酸、脂質、細胞壁及びその組成成分、炭水化物、代謝物)を含む。

【0017】

具体的な実施態様において、単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁を提供する。

【0018】

具体的な実施態様において、単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁を提供し、前記ロドコッカス・ルーバーは寄託番号がCGMCC No.17431の株のことを指す。

【0019】

具体的な実施態様において、単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格を提供する。

【0020】

具体的な実施態様において、単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格を提供し、前記ロドコッカス・ルーバーは寄託番号がCGMCC No.17431の株のことを指す。

【0021】

本開示のいくつかの実施態様において、本開示におけるロドコッカス・ルーバーの細胞壁又はロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格を含む医薬組成物を提供する。

【0022】

本開示の一実施態様において、ロドコッカス・ルーバーを粉砕して得た生成物を含むロドコッカス・ルーバー製品を提供する。

【0023】

本開示の別のいくつかの実施態様において、ロドコッカス・ルーバーを粉砕してから精

10

20

30

40

50

製（脂質除去、核酸除去、タンパク質除去）して得た生成物を含むロドコッカス・ルーバー製品を提供する。

【0024】

本開示の別のいくつかの実施態様において、ロドコッカス・ルーバーの細胞壁を含むロドコッカス・ルーバー製品を提供する。

【0025】

本開示の別のいくつかの実施態様において、ロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格を含むロドコッカス・ルーバー製品を提供する。

【0026】

本開示の一実施態様において、ロドコッカス・ルーバーを粉砕して得た生成物を含む医薬組成物又は医療機器を提供する。

10

【0027】

本開示の別のいくつかの実施態様において、ロドコッカス・ルーバーを粉砕してから精製（脂質除去、及び/又は核酸除去、及び/又はタンパク質除去）して得た生成物を含む医薬組成物又は医療機器を提供する。

【0028】

本開示の別のいくつかの実施態様において、ロドコッカス・ルーバーの細胞壁を含む医薬組成物又は医療機器を提供する。

【0029】

本開示の別のいくつかの実施態様において、ロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格を含む医薬組成物又は医療機器を提供する。

20

【0030】

本開示の別のいくつかの実施態様において、前記ロドコッカス・ルーバー製品を含む医薬組成物又は医療機器を提供する。

【0031】

具体的な実施態様において、医薬組成物は薬学的に許容される賦形剤をさらに含む。

【0032】

いくつかの実施態様において、医薬組成物中の前記ロドコッカス・ルーバー製品は1重量部であり、薬学的に許容される賦形剤は200～300重量部（例えば、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300及び任意の2つの数値の間の任意の値）である。

30

【0033】

別のいくつかの実施態様において、医薬組成物中のロドコッカス・ルーバーの細胞壁は1重量部であり、前記薬学的に許容される賦形剤は200～300重量部（例えば、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300及び任意の2つの数値の間の任意の値）である。

【0034】

さらにいくつかの実施態様において、医薬組成物中のロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格は1重量部であり、前記薬学的に許容される賦形剤は200～300重量部（例えば、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300及び任意の2つの数値の間の任意の値）である。

40

【0035】

いくつかの実施態様において、医薬組成物は液体（液体製剤）として製造できる。

【0036】

別のいくつかの実施態様において、医薬組成物は固体（乾燥粉末製剤又は凍結乾燥粉末製剤）として製造できる。

【0037】

当業者は、本開示の医薬組成物について、液体製剤及び乾燥粉末製剤（又は凍結乾燥粉末製剤）のどちらも相互に変換でき、含水量にしか違いはないということを理解できる。液体製剤中のほとんど又は全ての水を除去することで、乾燥粉末製剤（又は凍結乾燥粉末

50

製剤)を得る。乾燥粉末製剤(又は凍結乾燥粉末製剤)を溶解(又は再溶解)させることで、液体製剤を得る。

【0038】

いくつかの実施態様において、医薬又は医薬組成物は軟膏剤、クリーム剤、ゲル剤、洗浄剤、チンキ剤、リニメント剤、オイル剤、ペースト剤、エアロゾル剤、トローチ剤、貼付剤、凍結乾燥粉末、懸濁液からなる群から選択される剤形として製造される。

【0039】

いくつかの実施態様において、剤形はトローチ剤である。例えば、凍結乾燥粉末を打錠することにより得られる。

【0040】

いくつかの実施態様において、前記薬学的に許容される賦形剤は充填剤、安定剤、矯味剤、崩壊剤、接着剤、潤滑剤であるが、これらに限定されない。

【0041】

本開示のいくつかの実施態様において、以下のステップを含むか、または以下のステップで構成されるロドコッカス・ルーバー製品の製造方法を提供する：

- 1) ロドコッカス・ルーバーを用意する；
- 2) 場合によって、前記ロドコッカス・ルーバーを培養する；
- 3) 場合によって、培養したロドコッカス・ルーバーを収集する；
- 4) 培養した前記ロドコッカス・ルーバーを粉碎し、粉碎生成物を得る；
5. 1) 場合によって、前記粉碎生成物に脂質除去操作を行う；
5. 2) 場合によって、前記粉碎生成物に核酸除去操作を行う；
5. 3) 場合によって、前記粉碎生成物にタンパク質除去操作を行う；
5. 4) 精製生成物を得る；

6) 場合によって、前記精製生成物中の水を除去し、好ましくは凍結乾燥によって前記精製生成物中の水を除去する；

7) 場合によって、個包装する；

8) 前記ロドコッカス・ルーバー製品を得る；

ステップ5. 1)、5. 2)、5. 3)は順序を入れ替えてもよく、同時に行ってもよい。ステップ6)とステップ7)は順序を入れ替えてもよく、同時に行ってもよい。

【0042】

場合によって、ステップ5)が(例えば非イオン性界面活性剤で)細胞膜を除去するステップを含んでもよい。

【0043】

ロドコッカス・ルーバーの培養は具体的な培地及び培養パラメータに制限はなく、当業者は公知の適切な方式で培養を行うことができ、製造規模に応じてシャーレ、培養フラスコ、発酵タンクを用いることができる。

【0044】

ロドコッカス・ルーバーの粉碎の目的は、細胞内の物質を除去することであり、よって超音波破碎、リゾチームなどの技術を用いることができる。当業者はグラム陽性菌を破碎する既知の方法又は将来的な方法のどれを用いても、本開示の技術的解決手段に適するということを理解できる。

【0045】

当業者には活性成分(細胞壁及びその組成成分)の後続の投与(例えば内服、注射、外用など)に応じて、培養、破碎、単離、収集、不純物除去、個包装の具体的なパラメータ及び機器を調整することで、後続の投与に影響する要素が製造ステップに導入されないようにする能力がある。

【0046】

いくつかの実施態様において、破碎した生成物中の脂質を有機溶媒で除去する。いくつかの実施態様において、破碎した生成物中のDNA及びRNAをヌクレアーゼで除去する。いくつかの実施態様において、破碎した生成物中のタンパク質をヒドロラーゼで分解す

10

20

30

40

50

る。いくつかの実施態様において、破碎した生成物中の細胞膜を界面活性剤で除去する。

【0047】

いくつかの実施態様において、粉碎後の平均粒径は10nm~1000nmであり、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190nm±10nm、及び上記の任意の2つの数値の間の範囲であってもよい。粒径の測定方法は多数ある（胡松青ら、現代の粒径測定技術、現代化工、2002年22：1）。

【0048】

いくつかの具体的な実施態様において、粉碎後の平均粒径は10nm~800nmである。

10

【0049】

別のいくつかの具体的な実施態様において、粉碎後の平均粒径は10nm~500nmである。

【0050】

いくつかの実施態様において、前記個包装とは容器に個包装することを指し、前記容器はボトル、チューブ、パック、袋、プレート、アンプル、注射装置、アルミ箔包装、ドレッシング材、カプセルからなる群から選択される。

【0051】

例えば、具体的な実施態様において、前記個包装とはボトル/アンプルに個包装することを指す。投与前に、ボトル/アンプルに溶媒を添加する。

20

【0052】

本開示のいくつかの具体的な実施態様において、本開示における方法で製造されるロドコッカス・ルーバー製品を提供する。

【0053】

本開示のいくつかの具体的な実施態様において、本開示における方法で製造されるロドコッカス・ルーバー製品を含む医薬組成物又は医療機器を提供する。

【0054】

本開示のいくつかの具体的な実施態様において、扁平苔癬の予防及び/又は治療のための単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁を提供する。

【0055】

本開示のいくつかの具体的な実施態様において、扁平苔癬の予防及び/又は治療のためのロドコッカス・ルーバー製品を提供する。

30

【0056】

本開示のいくつかの具体的な実施態様において、扁平苔癬の予防及び/又は治療のための医薬組成物又は医療機器を提供する。

【0057】

本開示のいくつかの具体的な実施態様において、本開示におけるロドコッカス・ルーバーの細胞壁の、扁平苔癬の予防及び/又は治療における使用を提供し、本開示におけるロドコッカス・ルーバーの細胞壁の、扁平苔癬の予防及び/又は治療のための医薬/医療機器の製造における使用をさらに提供する。

40

【0058】

本開示のいくつかの具体的な実施態様において、本開示におけるロドコッカス・ルーバー製品の、扁平苔癬の予防及び/又は治療における使用を提供し、本開示におけるロドコッカス・ルーバー製品の、扁平苔癬の予防及び/又は治療のための医薬/医療機器の製造における使用をさらに提供する。

【0059】

本開示のいくつかの具体的な実施態様において、本開示における医薬組成物の、扁平苔癬の予防及び/又は治療における使用を提供し、本開示における医薬組成物の、扁平苔癬の予防及び/又は治療のための医薬/医療機器の製造における使用をさらに提供する。

【0060】

50

本開示のいくつかの実施態様において、本開示におけるロドコッカス・ルーバー、本開示における単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁、本開示におけるロドコッカス・ルーバー製品、本開示における医薬組成物からなる群から選択されるいずれかの医薬（又は医療機器）の製造における使用を提供する。

【0061】

いくつかの具体的な実施態様において、前記医薬は扁平苔癬の予防及び／又は治療に用いられる。

【0062】

いくつかの具体的な実施態様において、前記医療機器（例えばドレッシング材、貼付剤、包帯、フィルムなど）は扁平苔癬の予防及び／又は治療に用いられる。

10

【0063】

本開示のいくつかの実施態様において、扁平苔癬を予防及び／又は治療する方法をさらに提供し、被験対象を治療有効量（又は予防有効量）の以下から選択されるいずれか1つに接触させることを含む：

- 本開示におけるロドコッカス・ルーバー、
- 本開示における単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁、
- 本開示におけるロドコッカス・ルーバー製品、
- 本開示における医薬組成物、
- 本開示における医療機器。

【0064】

20

いくつかの具体的な実施態様において、接触させるサイクルは2日間～2か月間である。具体的には、例えば2、4、6、8、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60日間であり、また例えば、1、2、3、4、5週間であってもよい。具体的な実施態様において、被験対象に4週間にわたって活性成分を使用する。

【0065】

いくつかの実施態様において、1日に1～3回、2日に1～6回、3日に1～9回、1週間に1～14回、1か月に1～60回の頻度で使用する。いくつかの実施態様において、1日に2回、又は1日に1回、又は2日に1回使用する。

【0066】

1回あたりの使用量は被験対象の具体的な状況に応じて様々な用量を採用し、通常は1 μg ～1000 μg / 単位用量 / 1回で使用し、具体的には、例えば1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200 μg / 単位用量 / 1回、及び上記の任意の2つの数値の間の範囲で使用する。

30

【0067】

いくつかの具体的な実施態様において、接触は例えば内服、静脈注射、筋肉注射、経皮、腹腔内注射、穿刺、点鼻、点眼、坐剤の方式で実施されるが、それらに限定されない。

【0068】

いくつかの具体的な実施態様において、被験対象はヒト以外の動物であり、例えば農場の動物、愛玩動物、使役動物、観賞動物、産業動物である。

40

【0069】

具体的な実施態様において、被験対象はヒトである。

【0070】

いくつかの具体的な実施態様において、被験対象は目的の疾患又はその症状を有すると疑われるか、有すると診断されているか、すでに有しているか、又は罹患しやすい対象である。

【0071】

本願の文脈では、医薬又は医薬組成物における唯一の治療性（又は予防性）活性成分はロドコッカス・ルーバー由来の製品であり、特にロドコッカス・ルーバーの組成成分（例

50

例えばタンパク質、核酸、脂質、細胞壁及びその組成成分、炭水化物、代謝物)を含む製品であり、具体的にはロドコッカス・ルーバーの細胞壁(さらに好ましくはロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格又はその組成成分)を含む製品である。

【図面の簡単な説明】

【0072】

【図1】ロドコッカス・ルーバーのコロニー形態である。

【図2】16S rRNAの同定結果である。

【図3】扁平苔癬の治療効果である。

【発明を実施するための形態】

【0073】

「単離」とは本開示のロドコッカス・ルーバーを当初の増殖環境から脱離させることを指す。

【0074】

当業者にとって、グラム陽性菌とグラム陰性菌の細胞壁の構造が異なることは既知である。具体的には、グラム陽性菌の方が細胞壁が厚く(通常は20nm~80nm)、約90%のペプチドグリカン及び約10%のタイコ酸(アルコール分子とリン酸分子で形成されるポリマーであり、通常は糖エステル又はアミノ酸エステルの形態で存在する)を含む。ペプチドグリカン層は緻密で、多い場合は20層に達する。しかし、グラム陰性菌の細胞壁はグラム陽性菌の細胞壁よりも薄い場合が多く、構造が複雑で、外膜(outer membrane)とペプチドグリカン層(通常は2nm~3nm)に分けられる。

【0075】

ペプチドグリカン層は細菌の細胞壁中の特有の成分で、ヘテロ多糖の誘導体の1つである。ペプチドグリカンモノマーごとに糖ユニット(例えば、少なくとも2種の糖分子がグリコシド結合で接続され、ペプチドグリカンの骨組み構造を構成するもの)、ペプチド末端(複数のアミノ酸が接続されて構成された短ペプチド鎖であり、N-アセチルムラミン酸分子に接続されるもの)、及びペプチドブリッジ(隣接する「ペプチド末端」を架橋して高強度のネットワーク構造を形成するもの)という3つの部分を含む。細菌が異なればペプチドブリッジ、ペプチド末端、架橋方式も異なる。

【0076】

単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁

本開示において、「単離されたロドコッカス・ルーバーの細胞壁」とは完全な細胞壁としてだけでなく、不完全な細胞壁(例えば、破碎されたもの、又は部分的に分解されたもの)として解釈することもできる。本開示の教示に基づき、当業者は、所望の活性を示す成分がロドコッカス・ルーバーの細胞壁(例えば、細胞壁自体又はその組成成分)由来のものであると理解できる。よって、臨床での適用において完璧な細胞壁、破碎された細胞壁、細胞壁の不完全な分解生成物、細胞壁の組成成分、細胞壁の抽出物などの各種形態を採用でき、これらはいずれも本開示の範疇に含まれる。

【0077】

細胞壁骨格

細胞壁の主な構造を構成する組成成分であるが、細胞壁の中の実体的な架橋ネットワークのみを表すとは解釈せず、当業者は実体的な架橋ネットワークに吸着、結合、保持される他の細胞壁成分を排除しないと理解できる。

【0078】

ロドコッカス・ルーバー

本開示の実施態様で用いるロドコッカス・ルーバーとはロドコッカス属(Rhodococcus)のロドコッカス・ルーバー種(Rhodococcus ruber)を指し、特定の細胞株に限定されない。

【0079】

限定されない例としてTOY7株(南京農業大学農業環境微生物菌種保存センター)、CGMCC No. 4795、DSM 43338、CCTCC No. 2012035、C

10

20

30

40

50

GMCC No. 16640、CGMCC No. 17431を含む。

【0080】

ロドコッカス・ルーバーの同定

既知の又は将来的な微生物同定技術により、当業者は細菌株に分類学的同定を行うことができ、例えば採用可能な同定技術は形態学的特徴、生理生化学的特徴、16S rRNAなどを含む。当業者の理解では、科学技術の発展に伴い、同定技術は様々な手段に関連し、早い段階では主に形態学的同定方式及び生化学的同定方式を用いていたが、これらの方法は信頼性が低い。配列決定技術が出現してからは、当業者はより信頼性が高い方式で菌株の同定を行うことができるようになった。例えば、16S rRNAのDNA配列決定で97%以上の相同性を有していれば、2つの菌は同じ種に属すると判定される（華苟根ら、ロドコッカス属の分類及び応用研究の進展、微生物学通信、2003：30（4））。ロドコッカス・ルーバーについて、国際（又は国立）菌種保存センターに寄託された既知の菌株をモデル菌株として、比較を行う。

10

【0081】

剤形

本開示の医薬又は医薬組成物又は活性成分又は製品は、軟膏剤、クリーム剤、硬膏剤、ゲル剤、洗浄剤、チンキ剤、リニメント剤、オイル剤、ペースト剤、凍結乾燥粉末、エアロゾル剤、坐剤、貼付剤、懸濁液、内服液、トローチ剤、スキンケア用品（洗顔料、化粧水、美容液、乳液、フェイスクリーム、フェイスマスク）の形態であってもよいが、それらに限定されない。

20

【0082】

賦形剤

本開示の賦形剤には例えば、デキストラン、ラクトース、微結晶性セルロース、トレハロース、グリシン、キシリトール、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エリスリトール、ゼラチン、ステアリン酸マグネシウム、噴射剤、保湿剤、溶媒、可溶化剤、乳化剤、酸化防止剤、pH調整剤、防腐剤を適用するが、それらに限定されない。具体的には、非限定的な例は、白色ワセリン、カルボマー、ヒプロメロース、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロースナトリウム、キトサン、スクラルフェートキトサン、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ヒアルロン酸ナトリウム、ジメチルエーテル、テトラフルオロエタン、ヒドロフルオロアルカン、グリセロール、プロピレングリコール、脱イオン水、注射用水、蒸留水、エタノール、セタノール、ステアリルアルコール、p-アミノ安息香酸、アミドエチル、イソプロパノール、トウイーン、ポリオキシエチレン水素化ヒマシ油、ステアリン酸、モノステアリン酸グリセリル、モノステアリン酸トリグリセロール、ショ糖脂肪酸エステル、ショ糖エステル、ショ糖酢酸イソ酪酸エステル、トリステアリン酸ソルビタン、ミリスチン酸イソプロピル、コレステロール、スクアレン、スクアラン、n-ブタノール、エチレングリコール、エタノール、プロピレングリコール、ポリグリセロールエステル、亜硫酸塩、システイン酸、ジブチルヒドロキシトルエン、ソルビン酸カリウム、リン酸緩衝液、トリエタノールアミン、水酸化ナトリウム、エチレンジアミン、ラウリルアミン、重炭酸ナトリウム、塩酸、パラベン、チメロサール、クロクロレゾール、クロロブタノール、安息香酸及びそのナトリウム塩をさらに含む。

30

40

【0083】

製剤ユニット

本開示の医薬又は医薬組成物又は活性成分又は製品は、単位製剤（ユニット製剤）の形態で製造できる。

【0084】

いくつかの実施態様において、前記医薬（又は製剤、又は治療薬、又は医療機器）中の単位用量は以下を含む：

- 0.001mg ~ 500mg の前記ロドコッカス・ルーバー製品；又は
- 0.001mg ~ 500mg の前記ロドコッカス・ルーバーの細胞壁；又は
- 0.001mg ~ 500mg の前記ロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格。

50

【 0 0 8 5 】

単位用量の具体例は 0 . 0 0 1、0 . 0 0 5、0 . 0 1、0 . 0 5、0 . 1、0 . 2、0 . 3、0 . 4、0 . 5、0 . 6、0 . 7、0 . 8、0 . 9、1、2、5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450、500 mg ± 10 %、及び上記の任意の2つの数値の間の範囲である。

【 0 0 8 6 】

「使用する」、「与える」、「供給する」、「処理する」という語を動物、ヒト、細胞、臓器又は生物サンプルに適用する場合、医薬又は医療機器を動物、ヒト、細胞、臓器又は生物サンプルに接触させることを指す。

10

【 0 0 8 7 】

「治療する」とは、被験対象に医薬（治療薬、活性成分又は組成物）（例えば、本開示におけるロドコッカス・ルーバーの細胞壁又はその医薬組成物）又は医療機器を内服又は外用するように与え、治療する被験対象（又は集団）の1つ又は複数の疾患症状を、臨床で測定可能な程度まで緩和（軽減、遅延、改善、治癒）することを指し、前記被験対象は1つ又は複数の疾患又はその症状をすでに有しているか、有すると疑われるか、又は罹患しやすい対象である。

【 0 0 8 8 】

任意の疾患の症状を効果的に緩和する医薬（治療薬、活性成分又は組成物）の量を治療有効量という。それはさまざまな要素、例えば被験対象の疾患の状態、年齢及び体重の変化に依存する。単一の被験対象の目的の疾患又はその症状を緩和させる際に、医薬（治療薬、活性成分又は組成物）が効果を発揮しない可能性があるが、本分野の既知の任意の統計学的検定方法（スチューデントのt検定、カイ二乗検定、マン・ホイットニーのU検定）により、医薬（治療薬、活性成分又は組成物）が目的の疾患又はその症状に対して統計学的に有効であると確定できると理解すべきである。

20

【 0 0 8 9 】

「場合によって」とは後文に記載の事項が発生する可能性があるが、必ずしも発生するとは限らず、状況に応じて設定する必要があるということの意味する。例えば、「場合によって、個包装する」とは製品を個包装することが許容されるが、必ずしも個包装する必要はなく、個包装は技術的效果の達成に影響しないということの意味する。

30

【 0 0 9 0 】

「1つの」、「単一の」、「この」は、明確な説明がなくても、複数の形態を含む。

【 0 0 9 1 】

以下の実施例、製造例及び試験例を組み合わせ、本開示をさらに説明するが、これらの実施例、製造例及び試験例は本開示の範囲に限定されない。具体的な条件が注記されていないならば、一般的な条件、及び原料供給業者が提案している条件に従って操作を行う。具体的な供給源が注記されていない試薬は、市場で購入した一般的な試薬である。

【 0 0 9 2 】

当業者は、以下の具体例に特定の細胞株を用いることができるが、技術的效果を達成するのはこの特定の細胞株に限定されず、ロドコッカス・ルーバー（*Rhodococcus ruber*）の任意の種をいずれも適用できるということを特に理解できる。

40

【 0 0 9 3 】

実施例

実施例 1 . 菌株の保存

菌株の最初の単離場所は考証するすべがない。発明者は実験室で保存していた当代の菌株を2019年3月22日に北京市朝陽区北辰西路1号院3号、中国微生物菌種保存管理委員会普通微生物センターに寄託し、その寄託番号はCGMCC No. 17431である。試験の結果、寄託した菌株が生存していることが示された。

【 0 0 9 4 】

実施例 2 . 菌株の同定

50

1. コロニー形態の特徴の肉眼での観察

グリセロール寒天培地で、30～37（具体的には32～35）で12～72（具体的には36～60、例えば40～50）時間培養すると、以下が分かった（図1）：

- コロニーが隆起する；
- 赤みの橙色を呈する（光線、培地の色などの影響で、僅かな違いもある）；
- 表面が乾燥してひび割れ、僅かに光沢を有する（培養条件の違いにより、僅かな違いもある）；
- 触れるとすぐに碎ける；
- コロニーのサイズは約1mm～2mmである（培養条件の違いにより、僅かな違いもある）。

10

【0095】

2. 顕微鏡での観察

- 菌体に分枝状を呈し、横隔膜を有し、菌糸体を形成している（培養条件の違いにより、僅かな違いもある）；
- 菌糸の分裂により短くて太い規則的な細胞を形成している（培養条件の違いにより、僅かな違いもある）；
- 4～5日間培養すると、菌体が短桿状又は球状になる（培養条件の違いにより、僅かな違いもある）。

【0096】

3. 染色性

グラム染色法によれば、陽性である。

20

【0097】

4. 生化学的反応

グリセロール寒天傾斜培地を用意し、30～37（具体的には32～35）で12～72（具体的には36～60、例えば40～50）時間培養する。次に、培養物に以下の各試験を行う。

【0098】

4.1 炭水化物の酸産生：

【表1】

30

| | |
|---------|--|
| 陽性を呈する： | グリセロール、マンニトール、ソルビトール、D-アラビトール、D-フルクトース、D-グルコース |
|---------|--|

| | |
|---------|---|
| 陰性を呈する： | イノシトール、イヌリン、ラクトース、スクロース、デンプン、マルトース、グリコーゲン、キシリトール、グルコン酸塩、トレハロース、エリスリトール、メレジトース、メリビオース、ラフィノース、セロビオース、アミグダリン、ゲンチオビオース、アドニトール、アルブチン、D-アラビノース、L-アラビノース、 α -メチル-D-グルコシド、 α -メチル-Dマンノシド、D-リボース、D-キシロース、L-キシロース、N-アセチル-D-グルコサミン、D-ツラノース、D-リキソース、 β -メチル-D-キシロシド、D-ガラクトース、D-タガトース、D-フコース、L-フコース、D-マンノース、L-ソルボース、L-アラビトール、L-ラムノース、2-ケト-D-グルコン酸塩 |
|---------|---|

40

50

4.2 酵素活性の測定 (API ZYM) :

【表2】

| | | |
|---------|--|----|
| 陽性を呈する: | アルカリフォスファターゼ、エステラーゼリパーゼ (C8)、リパーゼ (C14)、ロイシンアリルアミダーゼ、バリンアリルアミダーゼ、シスチンアリルアミダーゼ、トリプシナーゼ、キモトリプシン、酸性フォスファターゼ、ナフトール-AS-B1-ホスホヒドラーゼ、 α -グルコシダーゼ | 10 |
| 陰性を呈する: | N-アセチル-グルコサミニダーゼ、エステラーゼ (C4)、 β -ガラクトシダーゼ、 β -ウロニダーゼ、 β -グルコシダーゼ、 α -ガラクトシダーゼ、 α -マンノシダーゼ、 β -フコシダーゼ | |

4.3 硝酸塩還元反応で陽性、カタラーゼで陽性、チロシナーゼで陽性、アミラーゼで陰性、オキシダーゼで陰性、ゼラチン液化で陰性を呈する。

【0099】

4.4 唯一の炭素源 :

【表3】

| | | |
|------------------------|--|----|
| Biolog Gen II 増殖実験: | グルクロナミド、DL- β -ヒドロキシ酪酸、D-フルクトース-6-リン酸、 α -D-グルコース、D-フルクトース、D-マンニトール、D-アラビトール、D-ソルビトール、キナ酸、 γ -アミノ酪酸、クエン酸、L-リンゴ酸、ブロモコハク酸、トウイーン40、プロピオン酸、酢酸で陽性を呈する | 30 |
|------------------------|--|----|

| | | |
|----------------------------|---|----|
| Biolog Gen III 化学感受性実験: | ミノサイクリン、テトラデシル硫酸ナトリウム、リファマイシンSV、pH5.0の8%塩化ナトリウム、リンコマイシン、フシジン酸、D-セリン、バンコマイシン、テトラゾリウムバイオレット、テトラゾリウムブルーに対して感受性があり、 臭素酸ナトリウム、1%乳酸ナトリウム、pH6.0の1%~4%塩化ナトリウム、ナリジクス酸、塩化リチウム、亜テルル酸カリウム、アズトレオナム、酪酸ナトリウムに対して感受性が無かった。 | 40 |
|----------------------------|---|----|

4.5. 16S rRNA同定

作業用シードチューブ内の単離された15株の菌及び当初のシードチューブ内の単離された10株の様々な菌にゲノム抽出を行い、16S rRNA増幅し、配列決定する。合計25株の菌の16S rRNA遺伝子相同性は100%であった。これは25株の菌が同じ種属であることを意味する(図2)。

【0100】

また、Kimura 2パラメータアルゴリズムで構築したneighbor-join

10

20

30

40

50

ing 菌株の系統樹によれば、菌株が *Rhodococcus ruber* に属するという結果が示された。

【0101】

製造例

製造例 1 . 培養方法

1 . 一般的な微生物生産方法でロドコッカス・ルーバーを培養する。

【0102】

2 . 培養方法は固体培養でも液体培養でもよい。

【0103】

3 . 培地中の栄養源には特に規定はなく、微生物培養に一般的に用いられる炭素源、窒素源、他の栄養源を培地中に含んでいればよい。

10

【0104】

- 炭素源はロドコッカス・ルーバーが利用できる任意の炭素源である。例えば、フルクトース、グルコースなど。

【0105】

- 窒素源はブイヨン、ペプトン、アンモニウム塩、硝酸塩及び他の有機又は無機窒素化合物である。

【0106】

- 他の栄養源としていくつかの無機塩類を適切に添加できる。例えば NaCl、リン酸塩類。

20

【0107】

4 . 培養条件（温度、時間など）には厳格な制限はなく、当業者は初歩的な小規模パイロット試験データから、生産量を最も多くする条件を自ら選択できる。

【0108】

5 . 一例として、以下の培養条件でロドコッカス・ルーバーを発酵させる：

(1) 培地組成は以下を含む：

ペプトン、ビーフブイヨン、塩化ナトリウム、リン酸塩、グリセロール（及び固体培養の場合、場合によって寒天）。

【0109】

(2) 培養の方法パラメータは以下のとおりである：

作業用菌種を再生してから、固体培養媒体に移して 3 ~ 5 日間維持し、次に液体に移して培養し（30 ~ 37 で、3 ~ 5 日間維持する）、補助材料半連続バッチ供給モードを採用でき、バッチ供給モードも採用できる。培養期間は pH、細菌密度、溶存酸素、炭素源の消費をモニタリングする。

30

【0110】

製造性 2 . 菌体の破碎

製造例 1 で得た菌を収集し、細胞を粉碎する（例えば超音波によって破碎するが、それに限定されない）。本分野で任意の適切な公知の方法、例えば CN 101250490 A 又は CN 101323865 A でも菌体を破碎できる。

【0111】

顕微鏡下で粉碎の状況をチェックし、視野ごとの形状を保った菌の数が 5 個を超えてはならず、複数（10 ~ 30）の視野をチェックしていずれもこの基準を満たしていればよい。

40

【0112】

製造例 3 . 核酸の除去、脂質の除去、夾雑タンパク質の除去、細胞膜の除去

1 . 核酸の除去：

破碎上清に遠心分離を行い、取得した沈殿物に DNA 分解酵素及び RNA 分解酵素を添加し、酵素の供給業者が提案している操作に従って核酸を除去する。

【0113】

2 . タンパク質の除去：

50

沈殿物に一般的なプロテアーゼ（例えばトリプシナーゼ）を添加し、酵素の供給業者が提案している操作に従ってタンパク質を除去する。

【0114】

3. 脂質の除去：

沈殿物に有機試薬（例えばアセトン、エーテル、エタノールのうちの1つ又はそれらの組み合わせであるが、それらに限定されない）を添加し、本分野の一般的な操作に従って脂質を除去する。

【0115】

4. 細胞膜の除去：

沈殿物に Triton X - 100 を添加し、本分野の一般的な操作に従って、沈殿物を遠心力で収集し、PBSで洗浄する。

10

【0116】

不純物を除去する上記ステップの間で、当業者は順番を調整でき、ステップの間に互換性を持たせることができると理解すべきである。細胞壁以外の成分を除去した後に、沈殿物を注射用水に再溶解しておく。場合によって、115で20~30分間滅菌し、細胞壁骨格の原液（細胞壁骨格及びその組成成分を主に含む）とすることができる。

【0117】

5. 収量

159本のコレフラスコから菌液653ml（破碎後）を収集でき、湿重量での収量は138gで、細胞壁骨格の収量は約0.87g/コレフラスコであった。

20

【0118】

製造例4. 医薬組成物の製造方法

1. 製造例3で得た生成物に賦形剤（例えばデキストラン40、マンニトール又はトレハロース）を添加する。容器に充填することで、医薬組成物を得る。

【0119】

【表4】

表1. 医薬組成物の製造可能な複数の形態

| 組成物 | ボトル1本あたりの容量 | 配合量 |
|------|-------------|-----------------------------|
| 組成物1 | 2ml | 活性成分 60µg デキストラン40 15mg |
| 組成物2 | 2ml | 活性成分 60µg デキストラン40 12mg |
| 組成物3 | 2ml | 活性成分 120µg デキストラン40 36mg |
| 組成物4 | 2ml | 活性成分 60µg トレハロース 12mg |
| 組成物5 | 2ml | 活性成分 120µg トレハロース 36mg |
| 組成物6 | 2ml | 活性成分 120µg マンニトール 36mg |
| 組成物7 | 2ml | 活性成分 60µg マンニトール 12mg |

30

2. 製造例3で得た生成物（活性成分60µg~120µg）をドレッシング材に塗布することで、外用医療機器として製造する。

【0120】

3. 第1項の医薬組成物を凍結乾燥させることで、凍結乾燥粉末（番号はそれぞれ組成物1~7）を得る。

50

【 0 1 2 1 】

4 . 品質検査 (凍結乾燥粉末組成物 1 を例とする)

【表 5】

表 2 . 品質検査項目

| | | |
|------------------|---|----|
| 外観 | 白色の密度が低い物体又は粉末 | |
| 含水量 | ≤ 6 % | |
| 溶解度 | NaCl 注射液 2.0 ml を加えて 1 分以内に溶解すればよい | |
| 糖の識別 | 溶液が青緑色を呈する | |
| ムラミン酸の含有量 | 2.0 μg / 本 (基準 : ≥ 1.0 μg / 本) | 10 |
| タンパク質の残量 | 0.4 μg / 本 (基準 : ≤ 9.0 μg / 本) | |
| RNA の残量 | 0.8 % (基準 : 5 % 以下) | |
| DNA の残量 | 0.9 % (基準 : 5 % 以下) | |
| Triton X-100 の残量 | 検出されず (基準 : 5 % 以下) | |
| 脂質の残量 | 3.8 % (基準 : 5 % 以下) | |
| 食食率 | 75 % (基準 : ≥ 40 %) | |
| 食食指数 | 1.05 (基準 : ≥ 0.50) | |
| マウスに対する異常毒性 | 観察期間において、全てのマウスが健康であり、異常反応がなく、観察終了時に各マウスの体重が増加しており、要件を満たすと判定した。 | 20 |
| モルモットに対する異常毒性 | 観察期間において、全てのモルモットが健康であり、異常反応がなく、観察終了時に各モルモットの体重が増加しており、要件を満たすと判定した。 | |

試験例

試験例 1 . 薬理試験

1 . ヒトの臨床用量の 20、40、80 倍をネコに静脈注射した後に、麻酔をして血圧、呼吸、心拍数及び心電を測定したが、明らかな影響はなかった。

30

【 0 1 2 2 】

2 . ヒトの臨床用量の 1000 倍をマウスに静脈注射したが、運動協調性及び学習記憶能力に明らかな影響はなかった。

【 0 1 2 3 】

本発明の医薬組成物 (組成物 1 ~ 組成物 7) は動物の精神、神経系、心血管系、呼吸器系にいずれも明らかな影響がないということが分かった。

【 0 1 2 4 】

試験例 2 . 安全性試験

1 . 無菌試験 :

結果は陰性であり、無菌であることが証明された。

40

【 0 1 2 5 】

2 . マウス急性毒性試験 :

試験群に皮下注射及び腹腔内注射の方法でそれぞれ投与を行い、その用量はヒトの用量の 5 倍であり、対照群には滅菌生理食塩水 0.5 ml / 本を注射し、7 ~ 8 日間観察し続けた。マウスの状態は良好で、体重に異常はなく、マウスの各臓器に異常はなかった。

【 0 1 2 6 】

3 . 慢性毒性試験 :

臨床用量の 30 倍を 1 日に 1 回、イヌの腔に 3 か月間投与し続けたが、毒性作用は見られず、心電図、血液生化学的指標が正常な範囲内であった。投与を終了してから 2 週間後

50

にも、遅延毒性は見られなかった（組成物 1～組成物 7）。

【 0 1 2 7 】

試験例 3 . 安定性試験

常温（18～25）で 0、1、2、3、8、14、21 か月間放置したが、この医薬組成物のアラニン含有量、ムラミン酸含有量、貪食率、貪食指数は試験開始時と比較して、統計学的に有意な差がなかった（3 回試験した）。

【 0 1 2 8 】

以上から、凍結乾燥粉末製剤の医薬組成物は 24 か月間安定的に保存できる（組成物 1～組成物 7）。

【 0 1 2 9 】

試験例 4 . 貪食試験

マクロファージは単核貪食細胞系の主な細胞であり、貪食細胞は抗原刺激を受けると活性化し、貪食機能を顕著に増強することができる。マウスの体内で腹腔マクロファージの産生を誘導してから、マウスにニワトリ血液の赤血球を腹腔内注射し、30 分後にマウスを死亡させて腹腔液を取り出し、染色を行い、顕微鏡下で赤血球の貪食のパーセンテージを計数することで、マクロファージの殺傷能力を判定し、生体の非特異性免疫レベルを間接的に測定する。

【 0 1 3 0 】

本願の組成物 1 を用いて試験を行うと、貪食率は 75 % で、貪食指数は 1.05 であった。陰性対照（賦形剤）及びブランク対照（生理食塩水）の貪食率及び貪食指数はいずれも低かった。これは本願の細胞壁骨格の免疫貪食促進能力が高いことを示している。

【 0 1 3 1 】

効果例（口腔扁平苔癬の治療）

1 . 症例の診断及び受け入れ基準、排除基準

1 . 1 診断の根拠

WHO の 2003 年の口腔扁平苔癬診断基準（Meij EHVD, Waal IVD . Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications . Journal of Oral Pathology & Medicine , 2003 , 32 (9) : 507 - 512) を根拠とする。

【 0 1 3 2 】

1 . 2 受け入れ基準

- 1) 病歴、臨床表現及び病理に基づいて糜爛型口腔扁平苔癬と診断された患者；
- 2) 発症年齢が 18～75 歳であり、発症の 1 か月前に関連の治療薬を服用していない患者；
- 3) 視野の欠損、眼底の病変及び全身性疾患がない患者（劉青蘭ら、トリアムシノロンアセトニド口腔用軟膏で充血糜爛型口腔扁平苔癬を治療する場合の治療効果及び安全性の観察、実用口腔医学雑誌、2017、33(04)：536-540）。

【 0 1 3 3 】

1 . 3 排除基準

- 1) 他の確定的な口腔粘膜疾患を有する患者；
- 2) 安定的に制御できていない糖尿病及び腫瘍などを有する患者；
- 3) 1 か月以内に抗生物質を用いたことがあるか、3 か月以内に免疫製剤を用いたことがある患者；
- 4) 何らかの医薬又はアマルガムインレーにより苔癬様反応が引き起こされた可能性がある患者；
- 5) アレルギー体質の患者及び薬物アレルギーと食物アレルギーを起こしたことがある患者；

10

20

30

40

50

6) 医師の服薬指示に従えないか、試験過程の記録が不完全で、治療効果の判断に影響を与える患者 (Gorouhi Fら、Randomized trial of pimecrolimus cream versus triamcinolone acetate paste in the treatment of oral lichen planus, Journal of the American Academy of Dermatology, 2007, 57(5): 806-813)。

【0134】

1.4 研究対象

上記診断基準に合致する糜爛型口腔扁平苔癬患者を選択する。ランダム法、ダブルブラインド法、プラセボ対照臨床試験法を採用し、試験群と対照群にランダムに分ける。研究計画を倫理委員会に提出して承認を受ける。被験対象全員に同意書にサインさせる。

10

【0135】

1.5 標本量

本試験で収集する小標本の有効数は60例以上であり、そのうち試験群及び対照群が各30例である(脱落率が約20%あることを考慮して、症例を75例収集することが推奨される)。

【0136】

2. 治療方法及び群分け

2.1 治療群

組成物1の凍結乾燥粉末を隔日に1回、1回にボトル1本(60 μ g)、就寝前に患者の糜爛箇所にも局所投与し、生理食塩水での含嗽を組み合わせる。投与方法: 投与前に毎回生理食塩水で含嗽を行い、次に綿棒で糜爛箇所を擦って洗浄し、凍結乾燥粉末を糜爛型口腔扁平苔癬患者の糜爛箇所にも2時間配置する。

20

【0137】

2.2 対照群

プラセボ(賦形剤のみ)を隔日に1回、1回にボトル1本、就寝前に患者の糜爛箇所にも局所投与し、生理食塩水での含嗽を組み合わせる。投与方法: 同上。

【0138】

3. 治療効果の評価指標

3.1 身体的兆候の点数記録

身体的兆候の点数記録にはREUSコアリングシステム(REU scoring system)(表3)を採用する(Park HKら、Oral lichen planus: REU scoring system correlates with pain, Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology, 2012, 114(1): 75-82)。

30

【0139】

40

50

【表 6】

表 3. 口腔扁平苔癬のREUSコアリングシステム

| 臨床タイプ | 採点 |
|-------------|--|
| 網状/過角化型 (R) | 0…白い線がない 1…白い線がある、又は斑状部が角化している |
| 充血型 (E) | 0…病変がない 1…病変が < 100 mm ² 2…病変が 100～300 mm ² 3…病変が > 300 mm ² |
| 潰瘍型 (U) | 0…病変がない 1…病変が < 100 mm ² 2…病変が 100～300 mm ² 3…病変が > 300 mm ² |
| 合計点 (Σ) | $\Sigma = \Sigma R + \Sigma (E \times 1.5) + \Sigma (U \times 2.0)$ |

10

3.2 疼痛症状の点数記録

主観的な指標には視覚的評価スケール (Visual analogue scale, VAS) を採用し、10レベルに分け、疼痛の程度を1～10で記録し、服薬後、患者に評価を被験対象日記カードに毎朝記入させる (表4)。

20

【0140】

【表7】

表 4. 口腔扁平苔癬患者のVAS

| 疼痛の程度 | VAS点数 | 症状の点数記録 |
|--------|-------|---------|
| 疼痛なし | 0 | 0 |
| 軽度の疼痛 | 1～3 | 1 |
| 中程度の疼痛 | 4～6 | 2 |
| 重度の疼痛 | 7～10 | 3 |

30

3.3 OHIP-14スケール

OHIP-14スケールは7つの部分、すなわち口腔の機能的な制限、生理的な疼痛、心理的な不調、生理的障害、心理的障害、社交不安障害及び身体障害の計14項目で構成される。スケールの各項目を5段階に分けて対応する点数記録を行い (0…ない、1…少しある、2…時々ある、3…よくある、4…常にある)、合計して0～56点に分け、点数が低いほど口腔の健康状態が良いことを表す。

40

【0141】

本試験では患者の初診時及び服薬してから1、2、4週間後の再検査時に記入させる (Sampogna F. et al., Comparison of patients' and providers' severity evaluation of oral mucosal conditions. Journal of the American Academy of Dermatology, 2011, 65(1): 69-76を参照)。

【0142】

3.4 治療効果の評価基準

- 著効 治療後に充血、糜爛が完全消滅し、白い線がなくなるか、又は薄くなる (身体的兆候の記録点数で0点又は1点)。

50

【 0 1 4 3 】

疼痛が完全消滅する（症状の記録点数で 0 点）。

【 0 1 4 4 】

- 有効 治療後に充血、糜爛が少なくなる（身体的兆候の記録点数が少なくなる）。

【 0 1 4 5 】

疼痛が軽減する（症状の記録点数が少なくなる）。

【 0 1 4 6 】

- 無効 治療後に充血、糜爛に変化がないか、又は増加する（身体的兆候の記録点数に変化がないか、又は増える）。

【 0 1 4 7 】

疼痛が軽減されないか、又は悪化する（症状の記録点数に変化がないか、又は増える）。

【 0 1 4 8 】

総有効率 = (著効 + 有効) × 症例数 / 総症例数 × 1 0 0 % 。

【 0 1 4 9 】

周剛らの口腔扁平苔癬（萎縮型、糜爛型）の治療効果の評価基準、中華口腔医学雑誌、2 0 0 5 , 4 0 (2) : 9 2 - 9 3 を参照されたい。

【 0 1 5 0 】

3 . 5 安全性の評価

実験室指標で血球分析、腎臓機能検査、血糖値測定を行う。

【 0 1 5 1 】

3 . 6 治療効果の評価タイミング

服薬してから 1、2、4 週間後の症状と身体的兆候の点数及び O H I P - 1 4 スケールの点数を観察し、治療開始から 4 週間後の治療効果を評価し、且つその期間の有害反応の発生の有無を観察する。

【 0 1 5 2 】

3 . 7 統計学的方法

S P S S 2 4 . 0 統計学ソフトウェアを用いてデータの処理分析を行う。計数データの比較にはカイ二乗検定を用い、計量データ群の間の比較には順位和検定又は 1 群 t 検定を採用し、群における治療前後の自己比較には順位和検定または対応のある t 検定を採用する。P < 0 . 0 5 であれば、差は統計学的に有意である（黄悦勤、臨床流行病学、人民衛生出版社、2 0 1 4 ）。

【 0 1 5 3 】

4 . 結果

4 . 1 研究対象の一般データ

本試験では患者計 6 6 例を受け入れたが、そのうち 6 例は追跡不能となり（患者が出張の仕事で医薬を投与できなかった）、6 0 例の観察を完了した。

【 0 1 5 4 】

試験群：3 0 人、男性 9 人、女性 2 1 人。

【 0 1 5 5 】

対照群（プラセボ）3 0 人、男性 1 0 人、女性 2 0 人。

【 0 1 5 6 】

2 つの群の患者の一般的な様子及び口腔衛生状況に有意な差はなく、P > 0 . 0 5 であった。

【 0 1 5 7 】

10

20

30

40

50

【表 8】

表 5. 試験群と対照群のベースライン特徴の研究

| 項目 | 治療群 | 対照群 | P |
|--------|--------------|---------------|-------|
| 年齢 | 48.9 ± 9.60 | 51.23 ± 8.42 | 0.834 |
| 女性% | 21 (70.00%) | 20 (66.67%) | 0.903 |
| 有病期間 | 6.26 ± 4.96 | 5.93 ± 5.22 | 0.462 |
| VAS点数 | 2.11 ± 0.67 | 1.73 ± 0.56 | 0.238 |
| OHIP点数 | 18.99 ± 9.43 | 17.82 ± 10.24 | 0.434 |
| REU点数 | 3.08 ± 0.74 | 2.41 ± 0.23 | 0.154 |

データは $x \pm s$ ($n=2$) として示す。

10

【0158】

4.2 有効性の分析

(1) 2つの群のREU身体的兆候の点数の比較

試験群及び対照群の患者の治療を行ってから1、2、4週間後、試験群の治療前後の身体的兆候の点数の差はいずれも統計学的に有意で、 $P < 0.05$ であり、2つの群の治療を行ってから4週間後の身体的兆候の点数の差は統計学的に有意で、 $P < 0.05$ であった(表6)。

20

【0159】

【表 9】

表 6. 2つの群のREU身体的兆候の点数の比較

| 項目 | 0週間後 | 1週間後 | 2週間後 | 4週間後 | P値 |
|-----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|
| 実験群 | 3.08 ± 0.7 | 2.37 ± 1.92 | 1.92 ± 1.48 | 1.48 ± 0.000 | 0.000 |
| | 4 | 1.23 | 1.13 | 0.96 | * |
| 対照群 | 2.41 ± 0.2 | 2.36 ± 0.65 | 2.31 ± 0.59 | 2.26 ± 1.19 | 0.063 |
| | 3 | 0.65 | 0.59 | 1.19 | * |
| P | 0.154 ⁺ | 0.821 ⁺ | 0.182 ⁺ | 0.001 ⁺ | |

*は群における治療前後の比較である。+は治療後の群間の比較である。

データは $x \pm s$ ($n=2$) として示す。

30

【0160】

(2) 2つの群の症状の点数の比較

試験群及び対照群の患者の治療を行ってから1、2、4週間後、試験群における症状の点数の差はいずれも統計学的に有意であり($P < 0.05$)、2つの群の治療後の群間の症状の点数の差はいずれも統計学的に有意であった($P < 0.05$)(表7)。

40

【0161】

50

【表 1 0】

表 7. 2つの群のVAS点数の比較

| 項目 | 0週間後 | 1週間後 | 2週間後 | 4週間後 | P値 |
|-----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|
| 実験群 | 2.11 ± 0.67 | 1.21 ± 0.76 | 0.70 ± 0.54 | 0.32 ± 0.63 | 0.000* |
| 対照群 | 1.73 ± 0.56 | 1.67 ± 0.76 | 1.60 ± 0.93 | 1.56 ± 0.73 | 0.041* |
| P | 0.238 ⁺ | 0.004 ⁺ | 0.000 ⁺ | 0.000 ⁺ | |

*は群における治療前後の比較である。+は治療後の群間の比較である。

データはx ± s (n = 2) として示す。

10

【0162】

(3) 2つの群のOHIP-14スケール点数の比較

試験群及び対照群の患者の治療を行ってから1、2、4週間後、試験群の治療後のOHIP-14スケール点数は顕著に少なくなり、統計学的に有意であり(P < 0.05)、2つの群の治療後のOHIP-14スケール点数の差はいずれも統計学的に有意であった(P < 0.05)(表8)。

20

【0163】

【表 1 1】

表 8. 2つの群のOHIP-14スケール点数の比較

| 項目 | 0週間後 | 1週間後 | 2週間後 | 4週間後 | P値 |
|-----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|
| 実験群 | 18.99 ± 9.43 | 10.61 ± 4.97 | 8.32 ± 6.89 | 5.21 ± 3.99 | 0.000* |
| 対照群 | 17.82 ± 10.24 | 16.33 ± 10.22 | 15.55 ± 12.71 | 14.56 ± 11.28 | 0.001* |
| P | 0.434 ⁺ | 0.013 ⁺ | 0.000 ⁺ | 0.000 ⁺ | |

*は群における治療前後の比較である。+は治療後の群間の比較である。

データはx ± s (n = 2) として示す。

30

【0164】

(4) 2つの群の治療後の有効率の比較

治療から2週間後及び4週間後の試験群の総有効率はそれぞれ70.00%及び86.67%であり、対照群の総有効率はそれぞれ23.33%及び26.67%であった。

40

【0165】

4.3 安全性の分析

服薬から4週間後の試験群と対照群の血球分析、腎臓機能検査、血糖値測定ではいずれも統計学的に有意な差はなく(P > 0.05)、服薬時に刺激痛症状及びアレルギー反応が起こった患者はおらず、有害反応は1例もなかった。

【0166】

4.4 投与終了後の追跡調査

さらに試験群のうちの12名の患者に投薬終了から4週間後に追跡調査を行ったが、糜爛が再発した患者は2名しかいなかった。服薬後に刺激痛及びアレルギー反応が起こった患者はおらず、有害反応は1例もなかった。

50

【 0 1 6 7 】

研究により、服薬後の試験群の総有効率がいずれも対照群よりも有意に高く、服薬から1、2、4週間後の試験群の糜爛の面積、疼痛の程度及び口腔の健康への影響程度はいずれも治療前よりも軽減されたということが分かった。研究結果では対照群の疼痛の程度及び口腔の健康への影響が治療前よりもやや軽減しているが、プラセボによる心理的効果である可能性が考えられる。

【 0 1 6 8 】

ロドコッカス・ルーバーの細胞壁骨格で糜爛型扁平苔癬を治療すると、効果的にOLPの糜爛の面積を縮小し、疼痛の程度を軽減することができ、投与後に高い臨床治療効果が示される。安全指標では対照群と比較して統計学的な差はない。

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 | 9/70 (2006.01) | A 6 1 K | 9/70 | 4 0 1 |
| C 1 2 N | 1/20 (2006.01) | C 1 2 N | 1/20 | C |
| A 6 1 K | 9/06 (2006.01) | C 1 2 N | 1/20 | A |
| A 6 1 K | 9/107(2006.01) | A 6 1 K | 9/06 | |
| A 6 1 K | 9/20 (2006.01) | A 6 1 K | 9/107 | |
| A 6 1 K | 9/12 (2006.01) | A 6 1 K | 9/20 | |
| A 6 1 K | 9/08 (2006.01) | A 6 1 K | 9/12 | |
| A 6 1 K | 9/10 (2006.01) | A 6 1 K | 9/08 | |
| | | A 6 1 K | 9/10 | |

(33)優先権主張国・地域又は機関

中国(CN)

微生物の受託番号 CGMCC CGMCC17431

2 棟 1 層 1号

(72)発明者

竇 春 艷

中華人民共和国 1 1 7 0 0 4 遼 寧 省本溪市溪湖区石 橋 子春安街 8 - 2 棟 1 層
1号

(72)発明者

張 軼

中華人民共和国 1 1 7 0 0 4 遼 寧 省本溪市溪湖区石 橋 子春安街 8 - 2 棟 1 層
1号

(72)発明者

張 国英

中華人民共和国 1 1 7 0 0 4 遼 寧 省本溪市溪湖区石 橋 子春安街 8 - 2 棟 1 層
1号

審査官 大西 隆史

(56)参考文献

国際公開第 2 0 0 5 / 1 0 2 3 6 9 (W O , A 1)

中国特許出願公開第 1 0 3 5 0 5 4 7 6 (C N , A)

中国特許出願公開第 1 0 1 2 0 9 2 6 7 (C N , A)

中国特許出願公開第 1 8 7 9 6 6 1 (C N , A)

特表 2 0 0 6 - 5 0 3 0 2 2 (J P , A)

中国特許出願公開第 1 0 8 9 3 8 6 7 4 (C N , A)

WANG, Yi et al. , Journal of International Medical Research , 2018年 , Vol. 46, No. 6 , pp.
2398-2409 , DOI: 10.1177/0300060518764210DE BOER, Elizabeth C. et al. , Clinical Infectious Diseases , 2000年 , Vol. 31, Suppl. 3 , pp.
S109-114 , DOI: 10.1086/314062.XIAONA, You et al. , Chinese Journal of Bioprocess Engineering , 2013年07月 , Vol. 11, N
o. 4 , pp. 55-58 , DOI: 10.3969/j.issn.1672-3678.2013.04.010KUYUKINA, Maria S. et al. , New Biotechnology , 2015年12月 , No. 32, No. 6 , pp. 559-56
8 , DOI: 10.1016/j.nbt.2015.03.006

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 1 2 N 1 / 0 0 - 7 / 0 8

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

A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2

A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9

A 6 1 L 1 5 / 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 / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T
N)

P u b M e d