

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-515881

(P2017-515881A)

(43) 公表日 平成29年6月15日 (2017.6.15)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 35/74 (2015.01)	A 6 1 K 35/74 A	4 C 0 7 6
A 6 1 K 35/745 (2015.01)	A 6 1 K 35/745	4 C 0 8 7
A 6 1 K 35/747 (2015.01)	A 6 1 K 35/747	
A 6 1 K 35/744 (2015.01)	A 6 1 K 35/744	
A 6 1 P 1/02 (2006.01)	A 6 1 P 1/02	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 28 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-568694 (P2016-568694)	(71) 出願人	500155578
(86) (22) 出願日	平成27年5月20日 (2015.5.20)		バイオガイア・エイビー
(85) 翻訳文提出日	平成29年1月17日 (2017.1.17)		B i o g a i a A B
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/061181		スウェーデン・エスー10364ストック
(87) 国際公開番号	W02015/177246		ホルム・ピーオーボックス3242
(87) 国際公開日	平成27年11月26日 (2015.11.26)	(74) 代理人	110000855
(31) 優先権主張番号	62/000,842		特許業務法人浅村特許事務所
(32) 優先日	平成26年5月20日 (2014.5.20)	(72) 発明者	モルシュタム、ボー
(33) 優先権主張国	米国 (US)		スウェーデン国、セーデルフリッツペーゲン 12
		(72) 発明者	アーガード、シャースティ
			アメリカ合衆国、テキサス、ベレア、サウス サード ストリート 534
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 新生児の微生物叢の補充

(57) 【要約】

本発明は、具体的なプロバイオティック乳酸菌の菌株を妊娠中の母親に提供することによって、最適ではない腸内微生物叢を有して生まれた乳児における健康関連状態を予防及び/又は処置することを目的とする。これは、乳児消化管への早期コロニー形成を、誕生前であっても可能とし、最適ではない微生物叢に関連した健康関連状態を予防及び/又は処置する。したがって、本発明は、胎児又は新生児の処置における使用のためのプロバイオティック微生物であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって上記プロバイオティック微生物は胎児に投与される、プロバイオティック微生物を提供する。本発明の方法及び使用は、胎児若しくは新生児へのコロニー形成又は胎児若しくは新生児の微生物叢をシフトさせることも提供する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

胎児又は新生児の処置における使用のためのプロバイオティック微生物であって、前記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって前記プロバイオティック微生物は胎児に投与される、上記プロバイオティック微生物。

【請求項 2】

胎児又は新生児へのコロニー形成における使用のためのプロバイオティック微生物であって、前記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって前記プロバイオティック微生物は、胎児においてコロニー形成する、上記プロバイオティック微生物。

10

【請求項 3】

胎児又は新生児の微生物叢をシフトさせることにおける使用のためのプロバイオティック微生物であって、前記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって前記プロバイオティック微生物は胎児に投与され、胎児の微生物叢におけるシフトをもたらす、上記プロバイオティック微生物。

【請求項 4】

前記使用が、最適ではない腸内微生物叢を有して生まれた乳児又は新生児に関連した健康関連疾患又は状態の処置又は予防のためである、請求項 1 から 3 までのいずれか一項に記載の使用のためのプロバイオティック微生物。

20

【請求項 5】

前記使用が、乳児疝痛の処置若しくは予防、又は壊死性腸炎（NEC）の処置若しくは予防のためである、請求項 1 から 4 までのいずれか一項に記載の使用のためのプロバイオティック微生物。

【請求項 6】

前記使用が、さらに、早産及び／又は新生児の出生時の低体重の予防を含む、請求項 1 から 5 までのいずれか一項に記載の使用のためのプロバイオティック微生物。

【請求項 7】

前記使用が、さらに、異なるプロバイオティック微生物を場合により投与することによる、前記妊娠中の女性における歯肉炎又は尿路感染症の予防又は処置を含む、請求項 1 から 6 までのいずれか一項に記載の使用のためのプロバイオティック微生物。

30

【請求項 8】

前記妊娠中の女性が、歯肉炎又は尿路感染症を有するか、又は早産及び／又は新生児の出生時の低体重のリスクがある女性である、請求項 1 から 7 までのいずれか一項に記載の使用のためのプロバイオティック微生物。

【請求項 9】

前記プロバイオティック微生物が、乳酸菌である、請求項 1 から 8 までのいずれか一項に記載の使用のためのプロバイオティック微生物。

【請求項 10】

前記乳酸菌が、ラクトバチルス属又はビフィドバクテリウム属である、請求項 1 から 9 までのいずれか一項に記載の使用のためのプロバイオティック微生物。

40

【請求項 11】

前記ラクトバチルス属の細菌が、L.ロイテリ、好ましくは、L.ロイテリDSM 17938又はATCC PTA5289である、請求項 10 に記載の使用のためのプロバイオティック微生物。

【請求項 12】

前記使用が、前記胎児から発達した新生児又は乳児における状態の予防又は処置のためである、請求項 1 から 11 までのいずれか一項に記載の使用のためのプロバイオティック微生物。

50

【請求項 13】

前記プロバイオティック微生物が、咀嚼錠、チューインガム又はロゼンジの形態で投与される、請求項 1 から 12 までのいずれか一項に記載の使用のためのプロバイオティック微生物。

【請求項 14】

プロバイオティック微生物による胎児又は新生児の処置方法であって、妊娠中の女性の口腔中のコロニー形成に好適な量の経口製剤中の前記プロバイオティック微生物の前記妊娠中の女性の口腔への投与を含み、それによって前記プロバイオティック微生物は胎児に投与される、上記処置方法。

【請求項 15】

プロバイオティック微生物による胎児又は新生児へのコロニー形成のための方法であって、妊娠中の女性の口腔中のコロニー形成に好適な量の経口製剤中の前記プロバイオティック微生物の前記妊娠中の女性の口腔への投与を含み、それによって前記プロバイオティック微生物は、胎児においてコロニー形成する、上記方法。

【請求項 16】

胎児又は新生児の微生物叢をシフトさせるための方法であって、妊娠中の女性の口腔中のコロニー形成に好適な量の経口製剤中のプロバイオティック微生物の前記妊娠中の女性の口腔への投与を含み、それによって前記プロバイオティック微生物は胎児に投与され、胎児の微生物叢におけるシフトをもたらす、上記方法。

【請求項 17】

治療される前記疾患又は状態が、請求項 4 から 7 までのいずれか一項に定義され、前記妊娠中の女性が、請求項 8 に定義され、又は前記プロバイオティック微生物が、請求項 9 から 13 までのいずれか一項に定義される、請求項 14 から 16 までのいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、一般に、新生児の微生物叢に関する。より具体的には、本発明は、新生児の微生物叢の補充のための方法に関する。本発明は、新生児の微生物叢のプロバイオティック細菌の早期コロニー形成、ひいては子宮外における生活改善の可能性に関する。そのような早期コロニー形成は、最適ではない腸内フローラを有する乳児に関連した生活関連疾患又は状態を予防及び／又は処置する。

【背景技術】

【0002】

ヒトの微生物叢は、皮膚の表面上及び深層中、鼻腔及び口腔内、胃腸管内、泌尿生殖器系及びヒトの体の他の部位内に存在する（細菌、真菌及びウイルスのような）すべての微生物の総集合体である。歴史的に、細菌細胞は、感染の原因となるそれらの能力のために単に有害とみなされることが多かった。しかしながら、いくつかの細菌に関連した特定の有益な特徴がある。それらは、しばしばプロバイオティック細菌と呼ばれる。単語「プロバイオティック」は、ギリシャ語で「促進すること」を意味するプロ（*pro*）及び「生命」を意味するバイオティック（*biotic*）から派生したものである。国連食糧農業機関は、プロバイオティクスを、適正な量で投与された場合に、宿主に健康上の利益を付与する生きた微生物」と定義している。ラクトバチルス属（*Lactobacillus*）及びビフィドバクテリウム属（*Bifidobacteria*）のような乳酸産生細菌の特定の菌種は、多様なタイプの食品、例えば、ヨーグルトにおいてプロバイオティクスとして一般的に使用される。有害な微生物の増殖及びコロニー形成は、乳酸産生細菌によって、哺乳動物上又はその内部における乳酸産生細菌自身のコロニー形成を介して、バイオフィルムの形成を介して、利用可能な栄養素に関する競争を介して及び過酸化水素、バクテリオシン、（乳酸及び酢酸を含む）pHを低下させる有機酸のような具体的な物質の産生をも介して防止されうる。哺乳動物は、多くの方法でプロバイオティック細菌から利益を得ることができ、プロバ

10

20

30

40

50

イオティック細菌の有効性は菌種特異的であり、各菌種は様々なメカニズムにより哺乳動物の健康に寄与する可能性がある。プロバイオティクスは、病原体の増殖を防止若しくは阻止する、病原体による病原性因子の産生を抑制する、又は炎症促進性若しくは抗炎症性の方法で免疫反応を調節することができる。

【0003】

新生児は、誕生後1週間以内にすでに消化管内に存在する複雑な微生物叢を有するが、細菌組成が成熟してある種の平衡に到達するまでは最長3年かかる。未熟児は、最初から異なる消化管の微生物コロニー形成を示すことが多く、生後数週間の間に腸の問題を有することがしばしば見出される。壊死性腸炎(NEC)は、主に未熟児においてみられる医学的状態である。この状態は、腸の一部の壊死と関連している。症状は誕生後に現れ、最悪の場合、死に至る可能性がある。NECは、米国において未熟児の2番目に多い死因と認められており、残念なことに、現在、NECのための有効な治療法又は処置はない。

10

【0004】

乳児疝痛又は夜泣きは、よくあることであり、しばしば親や介護者をいらだたせる問題である。この疾患は、小児科医、家庭医及び地域看護師の訪問及び接触の最も通常の原因の一つである。乳児疝痛は、生後3か月の間の3週間を超える、少なくとも3時間の収められない啼泣、空騒ぎ及び易怒性の臨床状態であるといわれる。これは、その他の点では健康な乳児において夕方に最も頻繁に現れる。乳児疝痛の正確な原因はまだわかっていないが、この状態の激増には数種の要因が関連している可能性が高い。近年、乳児の消化管に存在する微生物叢の役割が、1つの可能性として議論されてきた。疝痛を有する乳児と健康な乳児との比較において、大腸菌型細菌の量が多いのに対して腸内乳酸菌の量が少ないことによる細菌量のシフトが観察された。

20

【0005】

生後1年の間に適切に免疫系が発達するためには、胃腸管における早期コロニー形成が必須である。胎児の腸が無菌であり、新生児が自然分娩の間に母親の膣及び直腸の細菌フローラを植え付けられるということは、最も広く理解されている。帝王切開により分娩された子供は、最初の2年間、自然な方法で生まれた子供に比べて細菌フローラの多様性が低い。アレルギーを発症させるリスクは、帝王切開により生まれた子供のほうが高い。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

30

【0006】

したがって、現在、乳児消化管内のよく発達した微生物叢を確保するための新しくより優れた処置が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は、具体的なプロバイオティック乳酸菌の菌株を妊娠中の母親に提供することによって、最適ではない腸内フローラ又は微生物叢を有して生まれた乳児に関連した又は認められる健康関連状態を解決(例えば、予防及び/又は処置)することを目的とする。これは、乳児消化管における早期コロニー形成を、誕生前であっても可能とし、乳児又は新生児における最適ではない微生物叢に関連した健康関連状態を予防及び/又は処置する。

40

【0008】

本発明は、乳児のための、特定の疾患及び状態を予防するための防御的処置用の、それらの特異的な特徴を理由とする、特定のプロバイオティック細菌の使用、特に、プロバイオティック乳酸菌の使用を提供する。

【0009】

より具体的には、本発明は、プロバイオティック細菌、特に乳酸菌を、妊娠中の母親に投与すること、及び該細菌を乳児において早期コロニー形成させることに関する。具体的なプロバイオティック細菌の早期コロニー形成は、乳児に有益である。

【0010】

本発明の主な目的は、子宮外の生活のために胎児の準備をすること、例えば、最適では

50

ない腸内フローラ又は微生物叢に関連した健康関連状態を予防及び／又は処置することである。

【0011】

目的は、例えば、妊娠中の母親の子宮内に身ごもられた胎児から発達した新生児又は乳児などのその子におけるその後のコロニー形成のために、特定のプロバイオティック細菌を妊娠中の母親に経口投与することである。

【0012】

別の目的は、母親の口腔からの血行性播種によって、プロバイオティック細菌が胎児の消化管においてコロニー形成することを可能とすることである。

【0013】

別の目的は、プロバイオティック細菌が母親の口腔の微生物叢をシフトさせ、次いで、母親の口腔からの血行性播種によって、このシフトが胎児の消化管の微生物叢に反映されることを可能とすることである。

【0014】

さらなる目的は、母親の口腔内における曝露時間を最大化して、母親の口腔の少なくとも一部及びその結果として胎児の消化管に首尾よくコロニー形成させるために、咀嚼錠、チューインガム又はロゼンジ等の形態で、特定のプロバイオティック細菌を母親に経口投与することである。

【0015】

別の目的は、母親の口腔内における曝露時間を最大化して、母親の口腔の少なくとも扁桃腺及びその結果として胎児の消化管に首尾よくコロニー形成させるために、咀嚼錠、チューインガム又はロゼンジ等の形態で、特定のプロバイオティック細菌を母親に経口投与することである。

【0016】

別の目的は、母親の口腔内における曝露時間を最大化して、例えば、母親の口腔の少なくとも歯の表面及びその結果として胎児の消化管に首尾よくコロニー形成させるために、咀嚼錠、チューインガム又はロゼンジ等の形態で、特定のプロバイオティック細菌を母親に経口投与することである。

【0017】

別の目的は、母親の口腔内における曝露時間を最大化して、母親の口腔の少なくとも肉溝及びその結果として胎児の消化管に首尾よくコロニー形成させるために、咀嚼錠、チューインガム又はロゼンジの形態で、特定のプロバイオティック細菌を母親に経口投与することである。

【0018】

本発明の目的は、細菌の有益な組成を含む微生物叢を確保するために、特定のプロバイオティック細菌、特に、特定の乳酸菌を乳児の胃腸の微生物叢に補充することである。

【0019】

別の目的は、特定のプロバイオティック細菌の使用であり、具体的には、乳児疝痛を発症させるリスクを最小化するための乳児の利益のために、疝痛を防御的処置するそれらの能力に関して知られている特定の乳酸プロバイオティック細菌の使用である。

【0020】

別の目的は、特定のプロバイオティック細菌の使用であり、具体的には、NECを発症させるリスクを最小化するための乳児の利益のために防御的処置するそれらの能力に関する特定の乳酸プロバイオティック細菌の使用である。

【0021】

別の目的は、アレルギーのような免疫関連状態のリスクを最小化するための、特定のプロバイオティック細菌の使用、特に、乳児のためのアレルギーを低減するための防御的処置におけるそれらの能力に関して知られた、特定のプロバイオティック乳酸菌の使用である。

【0022】

10

20

30

40

50

別の目的は、早産のリスクを最小化するための母親の防御的処置のための、特定のプロバイオティック細菌の使用、特に、特定の乳酸菌の使用である。

【 0 0 2 3 】

有益なプロバイオティクスは、妊娠の前及び／又はその間に母親の口腔に投与されなくてはならない。

【 0 0 2 4 】

特定の乳酸菌のような有益なプロバイオティクスは、妊娠の前及び／又はその間に母親の口腔に投与されなくてはならない。

【 0 0 2 5 】

本発明は、妊娠中の女性の口腔に存在するか又は投与されたプロバイオティック微生物が、次に、胎児に、次いで、その後の新生児及び乳児に投与されるか又は移行されることができるという驚くべき発見に基づく。理論にとらわれることを望まないが、口腔の少なくとも一部にプロバイオティック細菌がコロニー形成するようにプロバイオティック微生物を妊婦の口腔へ投与することが、プロバイオティック細菌の母親の口腔から胎盤及び胎児への血行性播種を可能とし、それにより胎児の消化管／腸におけるコロニー形成を可能とすると考えられる。実際に、添付の実施例は、特定のプロバイオティック細菌が、妊娠中の動物に投与されることができ、次いで、該細菌が胎盤中及び生まれたばかりの子において検出されることを実証している。

10

【 0 0 2 6 】

したがって、本発明は、処置（例えば、胎児又は新生児における疾患又は状態の処置又は予防）における使用のためのプロバイオティック微生物であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって上記プロバイオティック微生物は胎児に投与される、プロバイオティック微生物を提供する。

20

【 0 0 2 7 】

別の見方をすれば、本発明は、プロバイオティック微生物の胎児又は新生児への投与における使用のための上記プロバイオティック微生物であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与される、プロバイオティック微生物を提供する。

【 0 0 2 8 】

したがって、プロバイオティック微生物は、該微生物の母親への投与によって、子宮内の胎児に投与される。

30

【 0 0 2 9 】

さらに、本発明は、胎児又は新生児へのコロニー形成における使用のためのプロバイオティック微生物であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって上記プロバイオティック微生物は、胎児においてコロニー形成する、プロバイオティック微生物を提供する。

【 0 0 3 0 】

別の見方をすれば、本発明は、プロバイオティック微生物による胎児又は新生児へのコロニー形成における使用のための上記プロバイオティック微生物であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与される、プロバイオティック微生物を提供する。

40

【 0 0 3 1 】

好ましくは、本発明は、胎児又は新生児、特に、胎児又は胎児から発達した新生児の消化管又は腸への早期コロニー形成を可能とする。

【 0 0 3 2 】

他の態様において、本発明の方法又は使用は、プロバイオティック微生物が、母親の口腔の微生物叢をシフトさせることによって、胎児又は新生児の微生物叢をシフトさせること、例えば、胎児又は胎児から発達した新生児の消化管又は腸における微生物叢をシフトさせることを可能とする。したがって、本発明は、胎児又は新生児の微生物叢をシフトさ

50

せることにおける使用のためのプロバイオティック微生物であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって上記プロバイオティック微生物は胎児に投与され、胎児の微生物叢におけるシフトをもたらす、プロバイオティック微生物を提供する。

【0033】

代わりの態様において、本発明の方法又は使用は、例えば、細菌の有益な組成を含む微生物叢を確保するために、胎児又は新生児の微生物叢、例えば、胎児又は胎児から発達した新生児の消化管又は腸の微生物叢へのプロバイオティック微生物の補充のためにも使用可能である。したがって、本発明は、胎児又は新生児の微生物叢を補充することにおける使用のためのプロバイオティック微生物であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって上記プロバイオティック微生物は胎児に投与され、胎児の微生物叢の補充をもたらす、プロバイオティック微生物も提供する。

10

【0034】

本発明は、胎児又は新生児の処置（例えば、胎児又は新生児における疾患又は状態の処置又は予防）における使用のための組成物又は医薬品の製造におけるプロバイオティック微生物の使用も提供し、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって上記プロバイオティック微生物は胎児に投与される。

【0035】

20

別の見方をすれば、本発明は、プロバイオティック微生物の胎児又は新生児への投与における使用のための組成物又は医薬品の製造における上記プロバイオティック微生物の使用であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与される、使用を提供する。

【0036】

したがって、プロバイオティック微生物は、該微生物の母親への投与によって、子宮内の胎児に投与される。

【0037】

さらに、本発明は、胎児又は新生児へのコロニー形成における使用のための組成物又は医薬品の製造におけるプロバイオティック微生物の使用であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって上記プロバイオティック微生物は、胎児においてコロニー形成する、使用を提供する。

30

【0038】

別の見方をすれば、本発明は、プロバイオティック微生物による胎児又は新生児へのコロニー形成における使用のための組成物又は医薬品の製造における上記プロバイオティック微生物の使用であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与される、使用を提供する。

【0039】

好ましくは、本発明は、胎児又は新生児、特に、胎児又は胎児から発達した新生児の消化管又は腸への早期コロニー形成を可能とする。

40

【0040】

他の態様において、本発明の方法又は使用は、プロバイオティック微生物が、母親の口腔の微生物叢をシフトさせることによって、胎児又は新生児の、例えば、胎児又は胎児から発達した新生児の消化管又は腸における微生物叢をシフトさせることを可能とするために使用されることができる。したがって、本発明は、胎児又は新生児の微生物叢をシフトさせることにおける使用のための組成物又は医薬品の製造におけるプロバイオティック微生物の使用であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって上記プロバイオティック微生物は胎児に投与され、胎児の微生物叢におけるシフトをもたらす、使用も提供する。

50

【 0 0 4 1 】

代わりの態様において、本発明の方法又は使用は、例えば、細菌の有益な組成を含む微生物叢を確保するために、プロバイオティック細菌とともに、胎児又は新生児の微生物叢、例えば、胎児又は胎児から発達した新生児の消化管又は腸の微生物叢の補充のためにも使用可能である。したがって、本発明は、胎児又は新生児の微生物叢を補充することにおける使用のための組成物又は医薬品の製造におけるプロバイオティック微生物の使用であって、上記プロバイオティック微生物は、口腔中のコロニー形成に好適な製剤で妊娠中の女性の口腔に投与され、それによって上記プロバイオティック微生物は胎児に投与され、胎児の微生物叢の補充をもたらす、使用も提供する。

【 0 0 4 2 】

本発明のさらなる態様は、妊娠中の女性の口腔中のコロニー形成に好適な（又は有効な）量の経口製剤中のプロバイオティック微生物の上記妊娠中の女性の口腔への投与を含み、それによって上記プロバイオティック微生物は胎児に投与される、上記プロバイオティック微生物による胎児又は新生児の処置方法を提供する。

【 0 0 4 3 】

別の見方をすれば、本発明は、妊娠中の女性の口腔中のコロニー形成に好適な（又は有効な）量の経口製剤中のプロバイオティック微生物の上記妊娠中の女性の口腔への投与を含み、それによって上記プロバイオティック微生物は胎児に投与される、上記プロバイオティック微生物の胎児又は新生児への投与のための方法を提供する。

【 0 0 4 4 】

本発明の別の態様は、妊娠中の女性の口腔中のコロニー形成に好適な（又は有効な）量の経口製剤中のプロバイオティック微生物の上記妊娠中の女性の口腔への投与を含み、それによって上記プロバイオティック微生物は、胎児においてコロニー形成する、上記プロバイオティック微生物による胎児又は新生児へのコロニー形成のための方法を提供する。

【 0 0 4 5 】

本発明の別の態様は、妊娠中の女性の口腔中のコロニー形成に好適な（又は有効な）量の経口製剤中のプロバイオティック微生物の上記妊娠中の女性の口腔への投与を含み、それによって上記プロバイオティック微生物は胎児に投与され、胎児の微生物叢におけるシフトをもたらす、胎児又は新生児の微生物叢をシフトさせるための方法を提供する。

【 0 0 4 6 】

本発明の別の態様は、妊婦の口腔中のコロニー形成に好適な（又は有効な）量の経口製剤中のプロバイオティック微生物の上記妊婦の口腔への投与を含み、それによって上記プロバイオティック微生物は胎児に投与され、胎児の微生物叢の補充をもたらす、胎児又は新生児の微生物叢を補充するための方法を提供する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 4 7 】

【 図 1 】 計画されたヒト臨床試験の概略図である。

【 図 2 】 計画されたヒト臨床試験のサンプリングスケジュールを示す図である。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 4 8 】

本発明の理解を容易にするために、多くの用語が以下に定義される。

【 0 0 4 9 】

「胎児」は、母親の子宮内にまだある場合の、まだ生まれていない子供をさす。

【 0 0 5 0 】

「新生児の」又は「新生児」及び「生まれたばかりの」は、交換可能に使用され、生まれたばかりの子供及び誕生直後の期間をさす。

【 0 0 5 1 】

「乳児」及び「乳幼児」は交換可能に使用され、生まれたばかりの乳幼児及びその最初の一年をさす。

【 0 0 5 2 】

10

20

30

40

50

「早産」は、妊娠 37 週よりも前に起こる誕生をさす。

【0053】

プロバイオティック細菌を対象へ「投与すること」又は「投与」は、上記プロバイオティック細菌の対象への経口送達をさす。

【0054】

「感染」は、疾患を引き起こす細菌の侵入をさす。

【0055】

「臨床状態」は、観察可能な症状を引き起こす疾患又は病気をさす。

【0056】

妊娠中、妊婦は、多数の解剖学的、生理学的及び生化学的变化に晒される。これは、ホルモン及び身体的変化の結果であり、全身及びその器官に影響する。ヒトの微生物叢も例外でなく、これまで消化管及び膣の両方が大いに研究されてきた。微生物叢は、出産のタイミング、とりわけ早産に役割を果たすと予想される。今日の共通理解は、早産は膣腔から胎盤への上行性感染によって開始されるということである。一般に、早産患者の羊水及び胎盤中並びに新生児において細菌が存在するという証拠があるが、本発明者らは、驚くべきことに、これらの細菌が口腔内に通常認められる細菌と類似して見えることを発見した。したがって、この最近の発見は、母親の口の微生物群が乳児に移行されうることが暗示する。

10

【0057】

驚くべきことに、本発明者らは、血液を介して胎児に播種されて、新生児の正常な発達のために適切な準備をする可能性のある有益なプロバイオティック細菌を新生児の消化管に接種するために、特定のプロバイオティック細菌を母親に投与し、それらを口腔においてコロニー形成させるというアイデアを考え付いた。

20

【0058】

プロバイオティクスの摂取又は投与の持続時間は変化しうる。妊婦は、その妊娠を知ってすぐにプロバイオティクスを飲みはじめてよい。しかしながら、投与は妊娠前であってもよい。妊婦が特別な早産のリスク群にある場合、投与は、妊娠がわかってすぐに開始してもよい。投与は、妊娠の比較的後期、例えば、妊娠 3、4、5、6、7、8、9 か月で開始してもよい。したがって、投与は、妊娠の全体を通して、又は妊娠後期、例えば、妊娠の最後の数週間（例えば、最後の 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 又は 12 週などの、最後の 12 週以下）で行われることができる。ヒトの妊娠のためには、投与は、例えば、妊娠 28 週～36 週又は 28 週から妊娠の最後まで行われることができる。他の哺乳動物のための適切な等価の時間スケールは、妊娠の長さによって決定されうる。

30

【0059】

口腔は、細菌が存在することのできる様々な表面及び領域からできている。口腔の様々な部位は、それら自身のマイクロフローを示し、ある菌株はより部位特異的であるが、他は数種の領域においてもっと一般的に見られる。口腔を亜部位に分割する方法は：舌背、舌の側面、頬のひだ（buccal fold）、硬口蓋、軟口蓋、唇側歯肉、軟組織表面の扁桃腺、歯肉縁上、歯肉溝及び歯の表面から歯肉縁下のプラークである。扁桃腺は、最も多くの細菌菌株を含有する部位である見え、歯の表面、歯肉縁下並びに硬及び軟口蓋がそれに続く。本明細書に開示される本発明は、好ましくは、母親の口の一部においてコロニー形成しうるプロバイオティック細菌をさし、これらは胎盤への血行性播種に最も関連する。

40

【0060】

新生児は、誕生後 1 週間以内にすでに消化管内に存在する複雑な微生物叢を有するが、これは、細菌組成が比較的発達した平衡に達する 1～3 歳近辺までではない。これらの最も早い微生物社会を形作るすべての要素及び新生児がどの時点で最初にその微生物叢に曝露され、コロニー形成されるかということはまだ明らかでない。生後 1 週間において、新生児の消化管の微生物叢は、特定の細菌、すなわち、アクチノバクター（Actinobacter）

50

(ほとんどがビフィドバクテリウム)、プロテオバクテリア (Proteobacteria)、バクテロイデス (Bacteroides) のコロニー形成が優先的に起こり、ごく一部のみフィルミクテス (Firmicutes) からなる (通常は、膣のフローラを支配するラクトバチルス種を含む)。対照的に、出生時体重の低い新生児の消化管の微生物叢は、異なる細菌の組成を示す。彼らの微生物叢は、フィルミクテス及びテネリクテス (Tenericutes) 門に支配され、アクチノバクターは非常に少ない。

【0061】

壊死性腸炎 (NEC) は、早産児に発症する消化管の炎症性疾患である。この疾患は、最終的には壊死が始まる、消化管の一部の炎症をもたらす。この疾患の一般的な症状は、哺乳の問題、腹部膨満及び血便である。処置をしないと、この疾患は、消化管の穿孔により惹起される、消化管内容物の腹部への漏出による腹膜炎及び敗血症を引き起こしうる。NEC は、生命を脅かす疾患であるとみなされる。正確な原因は完全にわかっていないが、乳児の消化管及び免疫系が適切に発達しておらず、特に腸内フローラが変化したことがわかっている、というのが一般的な見解である。

10

【0062】

乳児疝痛又は夜泣きは、好発し、親及び介護者にとってストレスのたまることの多い問題である。乳児疝痛の原因はまだわかっていないが、この状態の激増には数種の要因が関連している可能性が高い。近年、乳児の消化管に存在する微生物叢の役割が、1つの可能性として議論されてきた。多施設二重盲検プラセボ対照試験において、ラクトバチルス・ロイテリ (*Lactobacillus reuteri*) DSM 17938 が、正期産新生児において疝痛、便秘及び逆流症の発症を低減するかが調査された。結果は陽性であり、ラクトバチルス・ロイテリ DSM 17938 群の乳児がプラセボ群の乳児に比べて改善された消化管の運動性を有したことを示した。この調査は、ラクトバチルス・ロイテリ DSM 17938 の防御的使用が機能性胃腸障害の発症を低減したと結論した。これは、さらに、ラクトバチルス・ロイテリ DSM 17938 菌株を、母親へのプロバイオティック細菌の経口投与による出産前の防御的処置として使用することの利益を暗示する。

20

【0063】

したがって、上記のことから、本発明の方法及び使用において、該方法又は使用により処置されるか又は影響を受ける一次的な対象又は患者は、妊娠中の女性の胎児又は妊娠中の母親であり、その結果、胎児から発達した新生児又は乳児であることがわかる。しかしながら、胎児へのプロバイオティック細菌の投与は母親を介して行われる。もちろん、母親又は妊娠中の女性も、本発明の方法又は使用から利益を受けることができる。したがって、母親又は妊娠中の女性も、本発明の方法又は使用により処置されるか又は影響を受ける対象又は患者 (例えば、二次的な対象又は患者) である。本発明の方法又は使用は、一般に、それを必要とする患者又は対象に対して実行され、該方法又は使用は、場合により、処置を必要とする患者又は対象が任意の適切な方法によって、例えば、具体的な疾患又は状態のバイオマーカー又は他の指標を探すか又は検出することによって、同定されるステップを含む。

30

【0064】

本発明の方法又は使用は、任意の妊娠中の女性に対して、又は実際に妊娠前の任意の女性若しくは妊娠を計画しているか若しくは妊娠しようと試みる過程にある女性に対して実行可能である。したがって、本発明の方法又は使用は、一般に、子供又は若年/妊娠可能年齢の哺乳動物、例えば、ヒトにおいては、55、50又は45歳未満の女性に適している。本発明の方法又は使用が、女性の対象の処置も可能とするため、特に好ましい女性、例えば、妊娠中の女性は、プロバイオティック微生物によって処置又は予防可能な疾患を患っている女性、例えば、歯肉炎若しくは尿路感染症を発症させるか若しくはそれにかかるリスクを有する女性、又は未熟児出産若しくは早産のリスク及び/又は出生時体重の低い乳幼児を有するリスクを有する女性である。

40

【0065】

本発明の方法及び使用は、任意の哺乳動物、例えば、ヒト又は任意の家畜、ペット若し

50

くは実験動物に対して実行可能である。具体例としては、マウス、ラット、ブタ、ネコ、イヌ、ヒツジ、ウサギ、ウシ及びサルが挙げられる。しかしながら、好ましくは、哺乳動物はヒトである。

【 0 0 6 6 】

本発明の方法及び使用は、胎児へ投与又は移行させることが望まれるプロバイオティック微生物がコロニー形成する、女性の口腔を含む。本明細書中で使用される用語「口腔においてコロニー形成する」又は「口へのコロニー形成」又は他の同義語には、それらの標準的且つ本分野で理解される、口腔におけるプロバイオティック微生物の存在及び好ましくは、増殖という意味が与えられる。増殖への言及は、微生物が成長又は繁殖していることを意味する。したがって、この用語は、口腔の少なくとも一部におけるプロバイオティック微生物の検出可能な存在又は生存、すなわち、口腔の少なくとも一部にプロバイオティック微生物がコロニー形成していること、を包含する。

10

【 0 0 6 7 】

したがって、例えば、本発明は、合理的又は適切な期間、好ましくは、微生物が検出可能な存在を確立するように微生物と口腔表面の間の接触を可能とするか、又は好ましくは、口腔内の微生物の増幅を可能とするように、口腔においてコロニー形成するために合理的又は適切な期間、女性の口腔内に存在しているプロバイオティック微生物を含む。言い換えれば、口腔内のプロバイオティック微生物の存在は、一過性のものではなく、例えば、微生物の存在は、微生物が投与される時間枠の後でも口腔内で検出可能である。これは、例えば、プロバイオティック微生物が標準的な被覆錠剤又はカプセル、例えば、飲み込まれるゼラチン被覆カプセルとして与えられる状況とは対照的であり、この場合、微生物は錠剤の胃腸管への通過の間に一過性にのみ口腔内に存在し、微生物が口腔においてコロニー形成するための適切な口腔中の場所に存在しない。

20

【 0 0 6 8 】

したがって、本発明において使用される適切な投与経路、フォーマット及び製剤は、微生物及び胃腸管の間の接触を必要としないものである。実際に、そのような接触は好ましくない。重要なのは、本発明によって胎児に投与又は移行されるプロバイオティック微生物が、口へのコロニー形成をもたらすか又は口へのコロニー形成が起こることを可能とするのに十分な長さの時間及び/又は口腔内の適切な場所で、女性の口腔と接触することである。

30

【 0 0 6 9 】

したがって、本発明の方法及び使用において、プロバイオティック微生物は、女性の口腔に微生物がコロニー形成するようなフォーマット又は製剤中、例えば、微生物及び口腔、例えば、口腔表面との直接接触を可能とするフォーマット又は製剤中で、微生物による口腔（又は口腔の少なくとも一部）へのコロニー形成を可能とするための適切な時間及び/又は適切な場所において投与される。したがって、本発明のプロバイオティック微生物は、一般に、被覆錠若しくは保護カプセル、又はその微生物内容物を放出し、胃腸管、例えば、下部胃腸管において体の表面と接触するように設計された他のフォーマット又は製剤の形態で投与されない。

【 0 0 7 0 】

本発明における使用のための好ましいフォーマット及び製剤は、したがって、噛み砕ける又は吸引可能なフォーマット及び製剤、例えば、チューインガム又は咀嚼錠又はロゼンジのような吸引可能な錠剤又は最終的に口腔（又は口腔の少なくとも一部）への微生物によるコロニー形成を可能とするのに十分に長く口腔又は女性の口に留まる、何等かの他のフォーマット又は製剤である。或いは、例えば、口腔が長期間被覆されることを可能とする、濃いシロップが使用されうる。

40

【 0 0 7 1 】

プロバイオティック微生物が口腔又は口腔の少なくとも一部においてコロニー形成したか否かを決定する適切な方法は、標準的であって当業者に周知であり、これらのいずれも使用可能である。そのような方法は、例えば、プロバイオティック微生物の、本発明の方

50

法及び使用における使用のための好適性を決定するためにも使用可能である。例えば、サンプルは、口腔、例えば、口腔中の１つ又は複数の場所から採取され、特別な微生物の存在及び量に関して試験されることができる。例示的な場所は、本発明において別に示されており、例えば、硬口蓋、歯肉（例えば、歯肉溝）及び頬領域である。他の例示的な場所は、扁桃腺及び歯の表面である。

【００７２】

本発明によるプロバイオティック微生物の口腔への投与後に適切なサンプルが採取された場合、微生物が口腔中で検出されることが好ましい。

【００７３】

本明細書中で別記されるように、本発明によれば、女性の口腔へのコロニー形成は、次いでプロバイオティック微生物の胎児への移行又はプロバイオティック微生物の胎児、ひいては新生児及び乳児への投与（間接的な投与）を起こす。したがって、プロバイオティック微生物による口腔へのコロニー形成は、そのような口腔から胎児への移行又は投与が生じることを可能とするレベル及び口腔内の場所になければならない。次に、プロバイオティック微生物の胎児への移行又は投与のレベルは、胎児、例えば、胎児の消化管へのコロニー形成が起こり、それによって、生理学的又は治療的效果が胎児、新生児又は乳児において観察されることを可能とするようなものであることが好ましい。

【００７４】

母親から子宮内の胎児へのプロバイオティック微生物の移行を本発明が可能とするため、プロバイオティック微生物による処置から利益を受けることのできる胎児、新生児又は乳児における任意の疾患又は状態を処置又は予防するために、本発明が使用可能であることがわかる。したがって、処置に関する例示的な状態はすでに認識されることとなる。本発明は、最適ではない腸内フローラ又は微生物叢を有して生まれた新生児又は乳児に関連した健康関連疾患又は状態の処置又は予防のためにも使用可能である。したがって、本発明によって処置又は予防可能な疾患又は状態の例としては、腸疾患又は胃腸障害、アレルギー又は他の免疫関連疾患、炎症状態（例えば、消化管の炎症性疾患）、腸の運動性障害、便秘、逆流症又は過敏性腸症候群が挙げられる。好ましいのは、疝痛、具体的には、乳児疝痛の処置若しくは予防、又は壊死性腸炎（NEC）の処置若しくは予防である。乳児疝痛及び壊死性腸炎（NEC）は、本明細書中に別記されている。

【００７５】

さらに、例えば、プロバイオティック微生物の投与によって付与される、女性又は妊娠中の母親の健康への好ましい効果により、本発明は、早産若しくは未熟児の誕生及び／又は新生児の出生時の低体重の予防又はリスクを低減することのできる方法又は使用も提供する。特に、妊娠中の（又はまだ妊娠していない）女性における歯肉炎又は尿路感染症の処置又は予防は、早産及び／又は胎児／新生児の出生時の低体重の予防又はリスクの低減に寄与する可能性がある。

【００７６】

そのような態様において、一般に、妊娠中の（又はまだ妊娠していない）女性における歯肉炎又は尿路感染症（又は他の疾患若しくは状態）を処置するために好適なプロバイオティック微生物が選択され、このプロバイオティック微生物が、妊娠中の（又は妊娠していない）女性におけるそのような疾患及び状態に対して好ましい効果を有するのみでなく、この有益な微生物はまた、本発明の方法又は使用によって、胎児、次いで、今度は新生児に及び該胎児から発達した乳児に渡されるか又は移行される、と予想される。或いは、プロバイオティック微生物の混合物が本発明の方法において使用されることができ、その場合、好適な微生物が選択され、妊娠中の（又はまだ妊娠していない）女性が患っている任意の状態を処置するために使用され、場合により、異なる（又はさらなる）微生物が、胎児、新生児又は乳児の利益のために選択されることができる。次いで、これらの微生物は一緒に、例えば、同時に、例えば、混合物中で、又は別個に投与されることができる。所望により、微生物は、異なる時に投与されることもできる。

【００７７】

本明細書に記載の本発明の治療的使用は、一般に、関連する疾患若しくは状態又はその症状の低減又は緩和をもたらす。そのような疾患若しくは状態又はその症状の低減又は緩和は、問題の疾患に依存する任意の適切なアッセイによって測定可能である。疾患、状態又は症状の低減又は緩和は、臨床的に有意であることが好ましい。好ましくは、疾患、状態又は症状の低減又は緩和は、統計学的に有意、好ましくは、0.05未満の確率値で有意である。そのような疾患、状態又は症状の低減又は緩和は、一般に、適切な対照個人又は集団、例えば、健康な哺乳動物又は未処置の若しくはプラセボで処置された哺乳動物に比較して決定される。

【0078】

本明細書の別の場所の開示から明らかとなり、本発明の方法及び使用は、疾患の予防並びに疾患の処置に好適である。したがって、予防的処置も本発明に包含される。例えば、本明細書中の議論から、本発明の方法及び使用により処置される疾患のうちのいくつかは、胎児が盛んに患うものではなく、新生児又は乳児において症状を呈するのみであることがわかる。したがって、例えば、新生児又は乳児における疾患の予防は、重要な態様である。この理由により、本発明の方法及び使用において、処置は適宜、防御又は予防も含む。予防が予想される好ましい態様が本明細書において議論される。

【0079】

本発明の方法及び、母親から胎児へのプロバイオティック微生物の移行又は投与を可能とするため、それによって次に胎児から新生児に、次いで胎児から発達した乳児にこれらのプロバイオティック微生物を渡すことは、本発明の方法及び使用が、胎児自体並びに新生児及び乳児における疾患を処置又は予防するために使用可能であることを意味する。

【0080】

したがって、本発明は、疾患又は状態が、母親及び胎児（及びそれによって新生児又は乳児）においても処置又は予防されることのできる、併用療法も提供する。該併用療法のために投与されるプロバイオティクスは、同じプロバイオティクスであることが好ましいが、それらは異なることも可能である。

【0081】

本発明の個別の又は併用処置のための適切なプロバイオティック微生物は、当業者によって容易に選択されることができる。例えば、適切なプロバイオティック微生物は、胎児、新生児又は乳児において本発明によって予防又は処置される疾患又は状態に基づいて選択されることができる。例えば、好ましいのは、疝痛、例えば、乳児疝痛を予防する（予防的処置）若しくは処置する、又は疝痛を発症させるリスクを最小化するそれらの能力に関して知られたプロバイオティック微生物である。他の好ましいプロバイオティック微生物は、例えば、NECの予防（予防的処置）若しくは処置におけるそれらの抗炎症作用を及ぼす（例えば、それらの抗炎症性特性）、又はNECを発症させるリスクを最小化するそれらの能力に関して知られたものである。他の好ましいプロバイオティック微生物は、例えば、アレルギー若しくは他の免疫関連状態の予防（予防的処置）若しくは処置若しくは低減におけるアレルギー若しくは免疫反応を低減する、又はアレルギー若しくは他の免疫関連状態を発症させるリスクを最小化するそれらの能力に関して知られたものである。さらに、母親の全体的な健康を増進し、改善するためのプロバイオティクスの使用は、例えば、未熟児出産及び／又は出生時の低体重の予防又はリスクの低減によって、胎児に利益をもたらすことができる。

【0082】

本発明によるプロバイオティック微生物の投与は、他の治療法、例えば、同じ疾患又は状態の処置のために有用な他の治療法と併用されることもでき、例えば、伝統的な薬物療法も投与されることができる。そのような追加の作用剤は、本明細書に記載のプロバイオティック微生物と一緒に（例えば、組成物として）投与されることができ、又は別個に投与されることができる。さらに、そのような追加の作用剤は、本明細書に記載のプロバイオティック微生物と同時点で又は異なる時点で投与されることができる。好適な投与レジメン及びタイミングは、問題のさらなる作用剤に依存して、当業者によって容易に決定さ

れることができる。

【0083】

任意の適切なプロバイオティック微生物、例えば、任意のプロバイオティック細菌が本発明の方法又は使用において使用可能であり、特に、疾患若しくは状態を処置するために有用であるか、又は乳児、新生児若しくは胎児における任意の健康上の利益を有する任意のプロバイオティック微生物が、本発明において使用されることができ、本明細書に記載のとおり母親への投与を介して胎児に投与若しくは移行されることができる。好ましい細菌は、乳酸菌、例えば、ラクトバチルス属又はビフィドバクテリウム属である。特に好ましいプロバイオティック細菌は、ラクトバチルス・ロイテリ、特に、ラクトバチルス・ロイテリDSM 17938又はATCC PTA 5289菌株である。ラクトバチルス・ロイテリDSM 17938菌株は、DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig) に、2006年1月30日に寄託された。ラクトバチルス・ロイテリPTA-5289は、American Type Culture Collection (Manassas, VA 20110-2209, USA) に、2003年1月25日に寄託された。これらの菌株は、乳児疝痛、NECの処置又は予防のため、或いは未熟児出産又は早産及び/又は出生時の低体重の予防のために有用である。DSM 17938菌株は、乳児疝痛、NECの処置又は予防のために特に好ましく、ATCC PTA 5289菌株は、未熟児出産又は早産及び/又は出生時の低体重の予防のために特に好ましい。

10

20

【0084】

これら2つの菌株(ラクトバチルス・ロイテリDSM 17938及びATCC PTA 5289)の併用は、本発明の方法及び使用において特に好ましい。例えば、これらの菌株は、適切な割合及び用量、例えば、1:1の割合で、混合物として投与されることができる。

【0085】

これらの微生物(及び実際に、本発明の方法及び使用において使用されるプロバイオティック微生物のうちのいずれか)の適切な用量は、当業者によって容易に決定されることができる。例えば、用量、製剤及び投与レジメンは、本発明によって女性に投与されるプロバイオティック微生物が、該女性の口腔においてコロニー形成することができ、胎児においてコロニー形成するための適切な量で胎児に移行(又は投与)されて、所望の効果、例えば、所望の治療効果をもたらすことができるように、選択される。したがって、上記用量は、好ましくは、処置される対象、例えば、胎児、新生児、乳児又は女性にとって適切な治療の有効量である。例示的なレジメンが、実施例において提供される。例えば、チューインガム又はロゼンジとして微生物が投与される場合、微生物の例示的な用量は、ガム又はロゼンジ当たり 2×10^8 cfuである。 $10^6 \sim 10^9$ の用量の微生物も等しく使用されうる。例示的なレジメンは、2つのガム又はロゼンジが、好ましくは食後に、好ましくは朝と夕に、毎日投与されるものである。製剤がチューインガムである場合、該ガムは、例えば、約10分間噛まれることができる。

30

40

【0086】

以下の非限定的な実施例を参照することにより、本発明はさらに説明される：

【実施例】

【0087】

(例1)

プロバイオティック菌株を含有するチューインガム製品の製造

この例においては、菌株をチューインガムに添加するために、ラクトバチルス・ロイテリDSM 17938又はATCC 5289(FJ1)を選択する。産業界におけるラクトバチルスを培養するための標準的な方法を用いて、ラクトバチルス・ロイテリ菌株を培養し、凍結乾燥する。

【0088】

50

選択した菌株を含有するチューインガムの製造プロセスの例のステップは以下のとおりであり、賦形剤、充填剤、香味剤、カプセル化剤、滑沢剤、固化防止剤、甘味料及び本分野で知られたチューインガム製品の他の構成要素が、製品の有効性に影響を及ぼすことなく使用しうることは理解される：

1 融解。容器中の Softisan 154 (SASOL GMBH, Bad Homburg, Germany) を融解し、結晶構造の完全な崩壊を確実にするために、これを 70 に加熱する。次いで、これを 52 ~ 55 (その凝固点のすぐ上) まで冷却する。

2 造粒。ラクトバチルス・ロイテリ凍結乾燥粉末を、Diosna ハイシアーミキサー / 造粒機又は同等の機器に移す。融解した Softisan 154 を、約 1 分間の間にゆっくりとラクトバチルス・ロイテリ粉末に添加する。さらなるマッシング時間は必要ない。添加の間にチョッパーを使用する。

3 湿式ふるい分け。造粒の直後に、Tornado ミルを用いて、顆粒を 1 mm のふるい網を通す。ふるい分けた顆粒を、PVC 被覆アルミニウムホイル製のアルパウチ (alupouch) に詰め、乾燥ポーチとともにポーチを形成するためにヒートシーラーで密封し、混合まで冷蔵庫に貯蔵する。造粒したパッチを 2 つの錠剤パッチに分ける。

4 混合。均質な混合物となるまで、すべての成分をミキサー中で混合する。

5 圧縮。最終的な混合物をロータリー打錠機のホッパーに移し、Kilian 圧縮機中、総重量 765 mg の錠剤に圧縮する。

6 バルク包装。チューインガムを、分子ふるいの乾燥ポーチとともにアルバッグ (alubag) に詰める。アルパウチをプラスチック製のバケツの中に入れ、最終的な包装の前に少なくとも 1 週間、冷所に貯蔵する。

【0089】

産業における標準的な工程内管理を、以下の表 1 に示す。

【表 1】

表 1.

IPC	試験	限界	方法
1	外観	清澄な、均一溶液	目視
2	温度	52 - 55 °C	温度計
3	外観	クリーム色で青い点を含む、 両側が平坦な凸面錠剤	目視
4	質量均一性	765 mg ± 5 %	ヨーロッパ薬局方

【0090】

(例 2)

妊娠中の女性の試験群を試験に含める。試験群の 1 つのサブセットは、標準的なゼラチンカプセル中の凍結乾燥粉末の形態のラクトバチルス・ロイテリ菌株 ATCC PT A 5289 を受容する一方、試験群の他のサブセットは、チューインガムの形態のラクトバチルス・ロイテリ DSM 17938 を受容する。プロバイオティクスの摂取は、女性の妊娠の最後の 3 週間の間である。プロバイオティクスの効果が母親の消化管において生じることが望ましいため、ラクトバチルス・ロイテリ菌株 ATCC PT A 5289 はゼラチンカプセルの形態にある。一方、ラクトバチルス・ロイテリ DSM 17938 は、

チューインガムの形態であり、曝露時間及び口腔内の曝露場所を最大化して、口腔内に首尾よくコロニー形成させるために、母親に経口で与えられる。母親の口腔内でコロニー形成した後、次いで、プロバイオティック細菌は、血液を介して胎盤、ひいてはさらに乳児の消化管まで伝播することができる。

【0091】

便サンプルを各対象から、誕生の日（0日目）に収集することができる。（2g以上の）サンプルを滅菌容器中に収集し、直ちに冷蔵庫に入れる。24時間以内に、20ml（1:5、wt/vol）の0.1%ペプトン水を添加する。サンプルをホモジナイズし、アリコート冷結保存バイアル中に分配し、直ちに-70で凍結する。

【0092】

胎盤サンプルも収集可能である。胎盤が分娩されるとすぐに、これを滅菌容器に入れ、1cm³の立方状切片を周方向に胎盤の別の領域から切除し、次いで、胎盤表面を捨てる。収集後、サンプルを滅菌した密閉バイアル中のドライアイス上に置き、-80で貯蔵する。

【0093】

便及び胎盤サンプルを、総ラクトバチルス及び2つのL.ロイテリ菌株PTA 5289及びDSM 17938の分析のために、ドライアイスで凍結してBiogaa AB研究所に輸送した。そこで、便サンプルを融解し、希釈し、L.ロイテリのためには、バンコマイシン（50mg/l）を含有するMRS-3寒天上に、総ラクトバチルス数を計数するためのLBS寒天プレート（KEBOLAB AB、Lund、Sweden）上に置いた。MRS-3は、2%酢酸ナトリウム（wt/vol）を含有する改変MRS寒天（KEBOLAB AB、Lund、Sweden）である。LBS寒天を、1リッターあたり1.32mlの氷酢酸を添加することによって、製造者の推奨のとおり調製する。嫌気ジャー中でBBL Gasパックを用いて、嫌氣的に37で48時間、寒天プレートをインキュベートする。試験から選択した単離物由来のDNAを、PCRにより分析する。

【0094】

胎盤サンプルからもDNAを単離する。継続中の厳しい汚染除去条件下で、各滅菌サンプルバイアルから、約100~150mgの凍結胎盤組織を取り出し、ホモジナイズして加熱し、次いで、Power Soil DNA Isolation Kit（MO-BIO Laboratories）を用いて処理した。DNAサンプルをキットの溶液C6中、-20で貯蔵する。次いで、PCRによりDNAを分析する。

【0095】

（例3）

最適ではない胃腸の微生物叢を有する子供を産むリスクを低減するために、妊婦をプロバイオティクスによる処置に供する。妊婦は、経口プロバイオティクス、好ましくは、特定の乳酸菌、例えば、ラクトバチルス・ロイテリDSM 17938を妊娠中に摂取し、それによって、血液及び胎盤を介してそれらを胎児に移行させる。

【0096】

（例4）

最適ではない胃腸の微生物叢を有する子供を産むリスクを低減するために、妊娠を計画している女性をプロバイオティクスによる処置に供する。女性は、経口プロバイオティクス、好ましくは、特定の乳酸菌、例えば、ラクトバチルス・ロイテリDSM 17938を妊娠の前及びその間に摂取し、それによって、血液及び胎盤を介してそれらを胎児に移行させる。

【0097】

（例5）

マウス胎盤及び仔のラクトバチルス・ロイテリの検出

実験手順

無菌飼育で繁殖させた動物を発明者らの無菌施設に収容した。食品用ペーパー（foo

10

20

30

40

50

d paper) ベースの寝床、マウス用飼料及び水を含むすべての材料を、オートクレーブ又は化学処理のいずれかにより滅菌し、無菌的に渡した。アイソレーター及びバイオセーフティーキャビネット内で無菌的に実験手順を実行した。時限妊娠 (time d pregnancy) を用いた。(交尾栓により同定した) 交尾後 0.5 日で、雌親に純粋な培養細菌 ($10^6 \sim 10^9$ 個の細菌細胞) を経口強制飼養により接種した。窮迫の徴候を探し、深部体温をモニタリングして、敗血症の徴候に関してマウスをモニタリングした。

【0098】

口腔スワブ及びケージの便を 1、5、7、14 及び 20 日目に収集した。20 日目にマウスを屠殺し、脾臓、肝臓、胎盤及び胎仔も無菌的に収集した。仔の数を群間で評価する。各妊娠由来の断頭した 1 つの胎児全体及び胎盤全体をホルマリン固定し、パラフィン包埋した。

【0099】

母体及び新生仔臓器の細菌コロニー形成を、複数の方法で評価した。16S メタゲノムシーケンシング及び qPCR の組み合わせを用いて、便及び口腔スワブで妊娠中、ずっとコロニー形成を評価した。

L.ロイテリの増殖を確認するために、ロイテリン試験を実施した。この例において、L.ロイテリ 4020 を使用した。

【0100】

結果

結果を以下の表 2 に示す。4 頭のマウスに、L.ロイテリを経口投与し、5 頭のマウスを無菌対照として使用した。対照群においては、胎盤でも仔でも L.ロイテリを検出しなかった。試験群においては、L.ロイテリをマウスのうちの 2 頭で胎盤及び仔の両方で認めた。試験群においては、L.ロイテリを経口投与した 4 頭のマウスすべてが L.ロイテリによる口腔のコロニー形成があることを示した。

【表 2】

L.ロイテリの検出									
	L.ロイテリを経口投与				無菌対照				
胎盤	+	-	+	-	-	-	-	-	-
仔	+	-	+	-	-	-	-	-	-

表 2 は、L.ロイテリの検出(+又は-)を示す。

【0101】

(例 6)

Sahlgrenska University Hospital 又は Western Health Care Region of Sweden 内の他の病院若しくは妊婦のためのクリニックにおいて妊婦に交渉を始める。経膈分娩を予定している妊婦に参加を要請する。組み入れ及び除外基準を以下に列挙する。

【0102】

試験への登録を、妊娠 28 ~ 36 週で行う。登録に関して、(BioGaia Inc. が提供した) ラクトバチルス・ロイテリ経口用製品 (プロバイオティックロゼンジ、プロバイオティックチューインガム又はプラセボ (ロゼンジ)) による治療を受容するために、女性を無作為に選択する (図 1)。プロバイオティック処置は、女性が乳酸菌を含有するサプリメントを消費することを意味する。プロバイオティック製品は、2 つのラクトバチルス・ロイテリ菌株 (1; 1); (ペルー人女性の母乳から単離した) L.ロイテリ DSM 17938 及び (日本人女性の口腔から単離した) ラクトバチルス・ロイテリ ATCC PTA5289 を含有する。濃度は、ロゼンジ又はチューインガムあたり、2 億 (2×10^8) cfu である。他の成分は、水素化パーム油、水素化綿実油、タルク、メ

ントール香料、ペパーミント香料、二酸化ケイ素、ステアリン酸マグネシウム、ペパーミント油及びスクラロースである。チューインガムは、ガムベースも含む。無効なロゼンジは、同様の内容物を含むが、プロバイオティック乳酸菌を含まず、これは、それらが体にいかなる効果も与えないことを意味する。すべての製品は植物性であり、ラクトース及び乳タンパク質を全く含まない。

【0103】

参加する女性は、1日あたり、2つのロゼンジ/ガムを食後に摂取する（朝/夕）。チューインガムは、約10分間噛まなければならない。曝露は妊娠の残りの間も続く。ロゼンジによる処置は、二重盲検であり、この試験の完了後まで女性又は医師/助産師/研究者のいずれも、女性がプロバイオティクスを含有するロゼンジ又はプラセボを受容したかを知らない。これは、すべてのロゼンジが、同じ外観、におい、重量及びラベリングを有することによって行われる。これは、無作為にチューインガムに割り当てられた女性には当てはまらず、なぜなら、これがプロバイオティック製品としてのみ利用可能だからである。

10

【0104】

試験に参加する女性に、試験期間の間、プロバイオティックサプリメント、プロバイオティック乳製品及びプロバイオティクスを含有する他の製品及び製剤の使用をやめるように要請する。任意の形態の鉄サプリメントを使用している女性は、治験製剤の摂取から可能な限りの間隔をおいてこれらを摂取するように要請する。

20

【0105】

発明者らは、各群において完璧な対象が10人になるまで女性の登録を続ける。完璧な対象は、すべての訪問を経験し、ここで、すべてのサンプルが収集され、あてられた製品を消費しており、完全に追跡された女性であると定義する（図2）。

【0106】

試験の間、BioGaia Inc. が、プロバイオティック製品中の細菌濃度を2～3か月おきにチェックする。

【0107】

この試験に登録した母親から生まれた子供を、サンプリング及び診療記録によって、18歳まで追跡する。

30

【0108】

臨床検体の収集及びサンプリングスケジュール（図2）

妊娠28～36週における登録に関連して（訪問1）、血液サンプルを採取し、膣、直腸/便、尿及び口腔/唾液のサンプルを採取する。妊娠37～39週（訪問2）において、同じ観察点から新しいサンプルを収集する。分娩後（訪問3）、サンプルを臍帯、胎盤及び、母乳並びに乳児の口及び子供の直腸/最初の便（胎便）から採取した。来診2より前に分娩した女性は、その代わりに、分娩直前にサンプル採取する。さらなるサンプリングは、分娩の2～6週間後の追跡訪問（訪問4）において行われる。

【0109】

対象が、検体を得る領域（例えば、クリトリス）内にボディピアスを有する場合、対象はいかなるピアスジュエリー又は金属製品も、検体収集の日には取り外さなければならない。試験スタッフは、訪問記録用紙の該当するコメントの欄に、ピアスの存在を記録しなければならない。

40

【0110】

乳児の口及び子供の直腸/便からのサンプルも、1歳（訪問5）及び4歳（訪問6）で収集される。これらの訪問において、子供の丈及び身長を測定し、患者病歴を収集する。

【0111】

母親及び乳児の便は、母親が検体を持参する場合にはこの訪問において、又は郵送により収集する。

【0112】

【表 3】

体の部位		検体	訪問	頭字語
母体	膣	膣入り口	01, 02, 03, 04	INTRO_01
		後膣円蓋	01, 02, 03, 04	PFORN_01
	腔	硬口蓋 歯肉 頬	01, 02, 03, 04	M_PAL_01 M_GNG_01 M_BUC_01
	GI 管	母親の便	01, 02, 03, 04	M_STOOL_01
	血液	母親の血液	01, 02, 03, 04	M_BLOOD_01
	尿	母親の尿	01, 02, 03, 04	URINE_01
	母乳	母乳	03, 04	BMLK_01
胎盤	母体側	胎盤子宮部	03	MATPL_01
	胎児側	胎児の胎盤	03	FETPL_01
	組織サンプル	胎盤組織	03	PLAC_01
	臍帯血	臍帯血	03	CBLOOD_01
乳児	口腔	硬口蓋 歯肉 頬	03, 04, 05, 06	I_PAL_01 I_GNG_01 I_BUC_01
	GI 管	乳児の便	03, 04, 05, 06	I_STOOL_01
訪問 1:28 週 0 日～36 週 0 日 訪問 2:37 週 0 日～39 週 0 日 訪問 3:分娩 訪問 4:分娩後 2～6 週 訪問 5:子供の訪問、1 歳 訪問 6:子供の訪問、4 歳				

表 3:

【 0 1 1 3 】

生物学的分析

10

20

30

40

50

この試験の主目的は、母親及び子供の異なるコンパートメントにおける微生物含有量及び細菌組成を分析することである。具体的な細菌（例えば、ラクトバチルス・ロイテリ）のための培養技術及び（細菌DNAの分析に基づく）メタゲノム技術を両方とも、培養可能及び培養不可能な細菌の両方を試験するために使用する。

【0114】

異なるサンプルにおけるタンパク質及び細胞の分析のために、異なる技術も使用する。そのような技術の例は、プロテオミクス、xMAP Lumine x 及びFACSである。発明者らは、以前にこれらの技術をすべて使用した。さらに、カルプロテクチン及びミエロペルオキシダーゼ（MPO）のような炎症マーカーを試験するために、ELISAを使用する。

【0115】

サンプルは、スウェーデン、ヨーロッパ及び米国においても、異なるタイプの分析のために分析する。

【0116】

医学的再調査

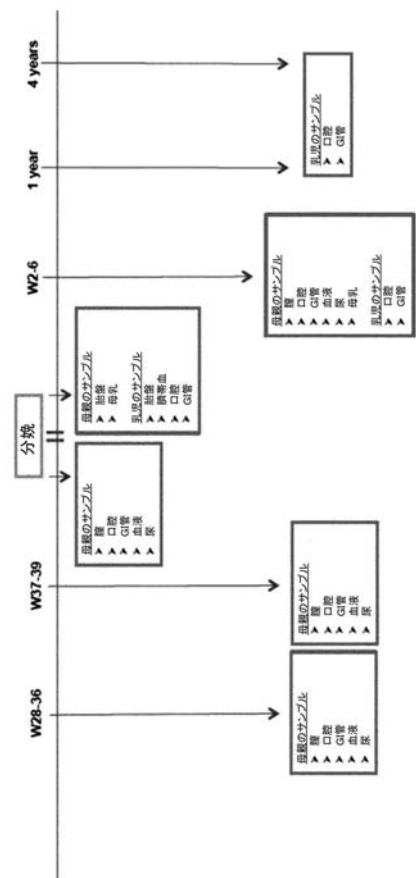
母親及び胎児／子供の診療記録を研究する。妊娠、分娩、新生児及び子供の（18歳までの）アウトカムを、母体ヘルスケア、女性クリニック、子供クリニック及び子供のヘルスケアの診療記録及び／又はNational Board of Health and Welfare、Statistics Sweden及び（Sveriges Kommuner och Landstingが保有する）The Swedish Quality Registersからの記録を用いてすべての群について研究する。

【図1】



【図2】

サンプリングスケジュール



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2015/061181

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K35/745 A61K35/747 A61P1/06 A61P1/00 A61P1/02 A61P31/00 A61P13/00 ADD. 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) A61K A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	HANIA SZAJEWSKA ET AL: "Lactobacillus reuteri DSM 17938 for the Management of Infantile Colic in Breastfed Infants: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial", THE JOURNAL OF PEDIATRICS, vol. 162, no. 2, 1 February 2013 (2013-02-01), pages 257-262, XP055119452, ISSN: 0022-3476, DOI: 10.1016/j.jpeds.2012.08.004 abstract ----- -/--	1-5,7-17
☒ 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 8 September 2015		Date of mailing of the international search report 16/12/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Rodrigo-Simón, Ana

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/061181

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	F. SAVINO ET AL: "Lactobacillus reuteri DSM 17938 in Infantile Colic: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial", PEDIATRICS, vol. 126, no. 3, 16 August 2010 (2010-08-16), pages e526-e533, XP055119050, ISSN: 0031-4005, DOI: 10.1542/peds.2010-0433 the whole document	1-5,7-17
Y	FLAVIA INDRIO MD ET AL: "Prophylactic Use of a Probiotic in the Prevention of Colic, Regurgitation, and Functional Constipation: A Randomized Clinical Trial", JAMA PEDIATRICS, AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION, USA, vol. 168, no. 3, 1 March 2014 (2014-03-01), pages 228-233, XP009185438, ISSN: 2168-6203, DOI: 10.1001/JAMAPEDIATRICS.2013.4367 the whole document	1-5,7-17
Y	N. ELAZAB ET AL: "Probiotic Administration in Early Life, Atopy, and Asthma: A Meta-analysis of Clinical Trials", PEDIATRICS, vol. 132, no. 3, 19 August 2013 (2013-08-19), pages e666-e676, XP055185032, ISSN: 0031-4005, DOI: 10.1542/peds.2013-0246 the whole document	1-5,7-17
Y	RAUTAVA S ET AL: "Probiotics modulate host-microbe interaction in the placenta and fetal gut: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial", NEONATOLOGY, vol. 102, no. 3, 6 July 2012 (2012-07-06), pages 178-184, XP009185442, ISSN: 1661-7800 [retrieved on 2012-07-06] page 179, column 1, paragraph 3 page 180, column 2, paragraph 3 page 182; table 2 page 182, column 2, paragraph 2 page 183, column 2, paragraph 2	1-5,7-17

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/061181

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	R. N. FICHOROVA ET AL: "Maternal Microbe-Specific Modulation of Inflammatory Response in Extremely Low-Gestational-Age Newborns", MBIO, vol. 2, no. 1, art. n° e00280-10, 18 January 2011 (2011-01-18), pages 1-8, XP055204097, DOI: 10.1128/mbio.00280-10 abstract page 6, column 2, paragraph 2 -----	1-5,7-17
Y	DATABASE PubMed [Online] May 2012 (2012-05), Keller et al: "Effect of chewing gums containing the probiotic bacterium Lactobacillus reuteri on oral malodour.", XP002743831, retrieved from NCBI Database accession no. 22182258 abstract -----	1-5,7-17
A	Prof. Dr. Ulrich Schlägenhauf: "Probiotics and plaque control in pregnant women", YouTube 8 June 2012 (2012-06-08), XP054976042, Retrieved from the Internet: URL:https://www.youtube.com/watch?v=BluxII DUKpU [retrieved on 2015-09-02] the whole document -----	1-5,7-17
A	Jackie Elias Et Al: "Are probiotics safe for use during pregnancy and lactation?", Motherisk-Canadian Family Physician - Le Médecin de famille canadien, vol. 57, 1 March 2011 (2011-03-01), pages 299-301, XP055203126, Retrieved from the Internet: URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3056676/pdf/0570299.pdf [retrieved on 2015-07-17] page 299, column 2, paragraph 1 ----- -/--	1-5,7-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/061181

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Anna Haukioja ET AL: "Probiotics and Oral Health", European Journal of Dentistry, vol. 4 1 July 2010 (2010-07-01), pages 348-355, XP055205540, Retrieved from the Internet: URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2897872/pdf/dent04_p0348.pdf [retrieved on 2015-07-30] the whole document -----	1-5,7-17
A	CAROLINE RODUIT ET AL: "Prenatal animal contact and gene expression of innate immunity receptors at birth are associated with atopic dermatitis", JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 127, no. 1, 7 October 2010 (2010-10-07), pages 179-185.e1, XP028150403, ISSN: 0091-6749, DOI: 10.1016/J.JACI.2010.10.010 [retrieved on 2010-10-19] abstract -----	1-5,7-17
A	MARGARITA INIESTA ET AL: "Probiotic effects of orally administered Lactobacillus reuteri -containing tablets on the subgingival and salivary microbiota in patients with gingivitis. A randomized clinical trial", JOURNAL OF CLINICAL PERIODONTOLOGY, vol. 39, no. 8, 1 August 2012 (2012-08-01), pages 736-744, XP055203122, ISSN: 0303-6979, DOI: 10.1111/j.1600-051X.2012.01914.x abstract -----	1-5,7-17
A	M.R. VIVEKANANDA ET AL: "A probiotic lozenge administered medical device and its effect on salivary mutans streptococci and lactobacilli", JOURNAL OF ORAL MICROBIOLOGY, vol. 18, no. 0, 2 November 2010 (2010-11-02), page 35, XP055203112, DOI: 10.1099/mic.0.035642-0 abstract ----- -/--	1-5,7-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/061181

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	M. STENSSON ET AL.: "Oral Administration of Lactobacillus reuteri during the First Year of Life Reduces Caries Prevalence in the Primary Dentition at 9 Years of Age", EUROPEAN JOURNAL OF DENTISTRY, 29 November 2013 (2013-11-29), pages 111-117, XP002743832, the whole document -----	1-5,7-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2015/061181**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 5.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-5, 7-17(all partially)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ EP2015/ 061181

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-5, 7-17(all partially)

Prenatal maternal oral supplementation of probiotics for use
in the prevention of infantile colic

2. claims: 1-5, 7-17(all partially)

Prenatal maternal oral supplementation of probiotics for use
in the prevention of necrotizing enterocolitis (NEC)

3. claims: 6(completely); 1-4, 7-17(partially)

Prenatal maternal oral supplementation of probiotics for use
in the prevention of preterm birth

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I			テーマコード (参考)		
A 6 1 P 13/02 (2006.01)	A 6 1 P	13/02	1 0 5			
A 6 1 P 1/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/00				
A 6 1 K 9/20 (2006.01)	A 6 1 K	9/20				
A 6 1 K 9/68 (2006.01)	A 6 1 K	9/68				

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(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), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, JP, 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

Fターム(参考) 4C076 AA36 AA49 AA69 BB22 CC16 CC17 CC50 DD28 DD29 DD37
DD41 DD67 EE30 EE53
4C087 AA01 AA02 BC55 BC56 BC59 MA35 MA47 MA57 ZA66 ZA67
ZA82 ZC51