

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5986227号

(P5986227)

(45) 発行日 平成28年9月6日(2016.9.6)

(24) 登録日 平成28年8月12日(2016.8.12)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/00 Z N A H

A 6 1 K 39/39 (2006.01)

A 6 1 K 39/39

A 6 1 P 1/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/00

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

A 6 1 P 37/06

請求項の数 16 (全 24 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-555298 (P2014-555298)  
 (86) (22) 出願日 平成25年2月6日(2013.2.6)  
 (65) 公表番号 特表2015-511941 (P2015-511941A)  
 (43) 公表日 平成27年4月23日(2015.4.23)  
 (86) 国際出願番号 PCT/FR2013/050252  
 (87) 国際公開番号 WO2013/117860  
 (87) 国際公開日 平成25年8月15日(2013.8.15)  
 審査請求日 平成27年1月8日(2015.1.8)  
 (31) 優先権主張番号 1251100  
 (32) 優先日 平成24年2月6日(2012.2.6)  
 (33) 優先権主張国 フランス (FR)

(73) 特許権者 514198530  
 ユニヴェルシテ デュ ドロワ エ ド  
 ラ サンテ ド リール 2  
 UNIVERSITE DU DROIT  
 ET DE LA SANTE DE  
 LILLE 2  
 フランス、エフ-59800 リール、リ  
 ュ ポール デュエズ、42  
 42, rue Paul Duez,  
 F-59800 Lille, FRAN  
 CE

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 Th1および/またはTh17型応答を生じる自己免疫炎症性疾患の予防および/または治療において使用するための住血吸虫由来の28 kDa GSTタンパク質

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

タンパク質、該タンパク質のフラグメント、該タンパク質および該フラグメントの誘導配列ならびに該タンパク質および該フラグメントの相同配列から選択される生成物を含む組成物であって：

- 前記タンパク質は、それぞれ配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列によって表されるスキストソマ ヘマトビウム、スキストソマ マンソニおよびスキストソマ ボビスから選択される住血吸虫由来の28 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼタンパク質を含むか、または当該タンパク質から構成され；

- 前記フラグメントは、Th2型免疫応答を誘導することおよび/またはTh1型応答を低減することを前提として、前記タンパク質の1つのフラグメントであり、該フラグメントは次の領域：配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までの領域、20位アミノ酸から50位アミノ酸までの領域、24位アミノ酸から43位アミノ酸までの領域、170位アミノ酸から220位アミノ酸までの領域、180位アミノ酸から215位アミノ酸までの領域、および190位アミノ酸から211位アミノ酸までの領域のうち少なくとも1つの領域を含む；

- 前記誘導配列は、配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列の1つ、または上記フラグメントの1つに由来し、該誘導配列は次の領域：配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までの領域、20位アミノ酸から50位アミノ酸までの領域、24位アミノ酸から43位アミノ酸までの領域、170位アミノ酸から220位

10

20

アミノ酸までの領域、180位アミノ酸から215位アミノ酸までの領域、および190位アミノ酸から211位アミノ酸までの領域のうち少なくとも1つの領域を含み；それによってTh2応答の誘導および/またはTh1応答の低減をもたらす；および

- 前記相同配列は、配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列の1つまたは上記フラグメントの1つの相同配列であり、配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の次の領域：15位アミノ酸から60位アミノ酸までの領域、20位アミノ酸から50位アミノ酸までの領域、24位アミノ酸から43位アミノ酸までの領域、170位アミノ酸から220位アミノ酸までの領域、180位アミノ酸から215位アミノ酸までの領域、および190位アミノ酸から211位アミノ酸までの領域のうち少なくとも1つまたは配列番号1、配列番号2または配列番号3の1つ全体と少なくとも80%の同一性を有し；それによってTh2応答の誘導および/またはTh1応答の低減をもたらす；

10

前記組成物はTh1/Th17型免疫応答を生じる免疫系疾患に関連する慢性炎症性疾患の予防および/または治療用である  
ことを特徴とする組成物。

#### 【請求項2】

前記誘導配列が配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列中の1つ以上のアミノ酸の欠失、置換または付加により得られることを特徴とする請求項1に記載の組成物。

#### 【請求項3】

前記タンパク質が、配列番号1の配列（スキストソマ ヘマトビウム由来の28GSTグルタチオンS-トランスフェラーゼ）によって表され、

20

前記フラグメントが、次の領域：配列番号1の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までの領域、20位アミノ酸から50位アミノ酸までの領域、24位アミノ酸から43位アミノ酸までの領域、170位アミノ酸から220位アミノ酸までの領域、180位アミノ酸から215位アミノ酸までの領域、および190位アミノ酸から211位アミノ酸までの領域のうち少なくとも1つの領域を含み、

前記誘導配列は配列番号1の配列または上記フラグメントの1つから得られ、

前記相同配列は配列番号1の配列または上記フラグメントの1つと少なくとも80%の同一性を有する

ことを特徴とする請求項1または2に記載の組成物。

#### 【請求項4】

30

前記生成物が

- 配列番号1で表される28 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼタンパク質；または  
- 次の領域：配列番号1の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までの領域、20位アミノ酸から50位アミノ酸までの領域、24位アミノ酸から43位アミノ酸までの領域、170位アミノ酸から220位アミノ酸までの領域、180位アミノ酸から215位アミノ酸までの領域、および190位アミノ酸から211位アミノ酸までの領域のうち少なくとも1つの領域を含むか、または当該領域から構成されるフラグメント；または

- 前記誘導配列の1つ；または

- 前記相同配列の1つ；

をコードするヌクレオチド配列の発現生成物であり、

40

前記ヌクレオチド配列が、配列番号1をコードする配列番号4の配列に相当することを特徴とする請求項3に記載の組成物。

#### 【請求項5】

前記生成物がサッカロマイセス セレビスエまたはエシェリシア コリにおける前記配列番号4のコード配列の発現生成物であることを特徴とする請求項4に記載の組成物。

#### 【請求項6】

前記相同配列に関する同一性が少なくとも85%であることを特徴とする請求項1～5のいずれか1項に記載の組成物。

#### 【請求項7】

前記疾患が、バージャー病、バセドー病、慢性甲状腺炎、原発性粘液水腫、セリアック

50

病、潰瘍性大腸炎、クローン病、関節リウマチ、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、自己免疫性溶血性貧血、ビールマー貧血（悪性貧血）、エリテマトーデス、クレスト症候群、1型糖尿病、強皮症、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、後天性表皮水泡症、疱疹状皮膚炎、筋力無力症、ランバート・イートン型筋無力症候群、多発性筋炎、シェーグレン症候群、多発性硬化症、グレーブス病および乾癬を含む自己免疫炎症性疾患から選択されることを特徴とする請求項1～6のいずれか1つに記載の組成物。

【請求項8】

前記疾患が小児における病態であることを特徴とする請求項1～7のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項9】

活性成分としての請求項1～8のいずれか1つに記載の組成物および医薬的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項10】

アルミニウム塩から選択されるアジュバントを含むことを特徴とする請求項9に記載の医薬組成物。

【請求項11】

前記アジュバントが水酸化アルミニウムであることを特徴とする請求項10に記載の医薬組成物。

【請求項12】

アジュバントの濃度が0.5 mg/ml～2 mg/mlであることを特徴とする請求項10または11に記載の医薬組成物。

【請求項13】

アジュバントの濃度が0.3 mg/ml～1 mg/mlであることを特徴とする請求項10または11に記載の医薬組成物。

【請求項14】

アジュバントの濃度が220 µg/ml～280 µg/mlであることを特徴とする請求項10または11に記載の医薬組成物。

【請求項15】

アジュバントの濃度が250 µg/mlと等しいことを特徴とする請求項14に記載の医薬組成物。

【請求項16】

- それぞれ配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列によって表されるスキストソマ ヘマトビウム、スキストソマ マンソニおよびスキストソマ ボビスから選択される住血吸虫由来の28 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼタンパク質を含むか、または当該タンパク質から構成されるタンパク質；

- Th2型免疫応答を誘導することおよび/またはTh1型応答を低減することを前提として、前記タンパク質の1つのフラグメントであり、配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までの領域、20位アミノ酸から50位アミノ酸までの領域、24位アミノ酸から43位アミノ酸までの領域、170位アミノ酸から220位アミノ酸までの領域、180位アミノ酸から215位アミノ酸までの領域、および190位アミノ酸から211位アミノ酸までの領域のうち少なくとも1つの領域を含むフラグメント；

- 配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列の1つ、または上記フラグメントの1つに由来し、配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までの領域、20位アミノ酸から50位アミノ酸までの領域、24位アミノ酸から43位アミノ酸までの領域、170位アミノ酸から220位アミノ酸までの領域、180位アミノ酸から215位アミノ酸までの領域、および190位アミノ酸から211位アミノ酸までの領域のうち少なくとも1つの領域を含み；それによってTh2応答の誘導および/またはTh1応答の低減をもたらす誘導配列；および

- 配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列の1つまたは上記フラグメントの1つの相同配列であり、配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の15位アミノ酸か

10

20

30

40

50

ら60位アミノ酸までの領域、20位アミノ酸から50位アミノ酸までの領域、24位アミノ酸から43位アミノ酸までの領域、170位アミノ酸から220位アミノ酸までの領域、180位アミノ酸から215位アミノ酸までの領域、および190位アミノ酸から211位アミノ酸までの領域のうち少なくとも1つまたは配列番号1、配列番号2または配列番号3の1つ全体と少なくとも80%の同一性を有し；それによってTh2応答の誘導および/またはTh1応答の低減をもたらす相同配列

から選択される生成物の、請求項1～15のいずれか1つに記載の組成物の製造における使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は、クローン病または多発性硬化症のような自己免疫炎症性疾患の予防および/または治療において使用するための様々な寄生住血吸虫由来のグルタチオン-S-トランスフェラーゼである特定のタンパク質に関する。また、本発明は、当該配列および当該フラグメントが抗炎症性応答を生じさせ得る限りにおいて、該タンパク質のフラグメント、これらのタンパク質から誘導した配列およびこれらのタンパク質のホモログに関する。

また、本発明は上記の目的物および少なくとも1つの医薬的に許容され得る賦形剤を含む医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

20

先進国においては、免疫系障害（自己免疫炎症性疾患）に関連する慢性炎症性疾患は人口の約8%に影響する。最も一般的な自己免疫炎症性疾患としては、慢性炎症性腸疾患（CIBD）および多発性硬化症が挙げられる。

【0003】

慢性炎症性腸疾患（クローン病および潰瘍性大腸炎）は、いわゆる「先進国」において頻度がますます増大している。近年、残念ながら、我々は、これらの国におけるこれらの疾病の小児における症例の増大を目の当たりにしている。さらに、おそらくは食習慣および衛生状態の変化に起因して、これらの疾患がいわゆる「途上国」において現れ始めている。慢性的な自己免疫炎症性疾患の従来の治療は、免疫抑制剤および/またはコルチコステロイドに基づく。これらの治療には深刻な副作用がないとはいえない。

30

【0004】

よって、クローン病に関して、免疫抑制剤であるアザチオプリン、メトトレキサートまたはシクロスポリンは変動しがちな効能を示し、リンパ球増加症候群または肝線維症のような深刻な副作用を伴うことがある。

【0005】

急性型のクローン病は、コルチコステロイドを用いて治療するが、これは毒性が強く、骨粗鬆症、糖尿病および日和見感染症の発症を促進する。

生物学的療法は、抗TNFモノクローナル抗体によるTNF阻害を利用している。これらの療法は入院および外科的介入を減らす、感染、リンパ腫または心不全のリスクを生じさせる。さらには、一部の患者はこのタイプの療法に反応を示さず、その上非常に高価である。さらに、いずれの疾患も再発すれば患者に身体的障害が生じて、例えば排泄物回収用袋を装着することが不能になるという結果を生じさせるリスクがある。患者のクオリティ・オブ・ライフは大いに低減する。

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

これらの疾患、特にクローン病の小児における病態において、その発生率は直近の10年でかなり増大しているが、治療用品は非常に限られている。免疫抑制剤は使用できない。

【0007】

従って、例えばクローン病または多発性硬化症のようなTh1および/またはTh17型炎症性

50

応答を生じさせる免疫系疾患に関連する慢性炎症性疾患の新たな予防および/または治療法を開発すべき現実かつ緊急のニーズがある。

【0008】

本発明の第1の目的は、Th1および/またはTh17型炎症性応答を生じさせる慢性炎症性疾患の予防および/または治療において使用するための新たな活性成分を提供することである。

【0009】

本発明の別の目的は、上記の疾患の予防および/または治療において使用するための、弱い毒性および僅かな副作用を示すかまたは副作用を示さない活性成分を提供することである。

10

【0010】

本発明の別の目的は、上記の疾患の予防および/または治療において使用するための、児童に投与することができる活性成分を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0011】

これらの目的の少なくとも1つは、タンパク質、該タンパク質のフラグメント、該タンパク質から誘導した配列および該タンパク質の相同配列から選択される生成物(product)によって達成される。本発明によれば、特徴的には、Th1/Th17型免疫応答を生じさせる免疫系疾患に関連する慢性炎症性疾患の予防および/または治療において使用するための、

- 上記のタンパク質は、それぞれ配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列によって表されるスキストソマヘマトビウム(*Schistosoma haematobium*)、スキストソママンソニ(*Schistosoma mansoni*)、スキストソマボビス(*Schistosoma bovis*)から選択される住血吸虫由来の28 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼタンパク質を含むか、または当該タンパク質から構成され；

20

- 上記のフラグメントは、Th2型免疫応答を誘導することを前提として、上記のタンパク質の1つのフラグメントであり、該フラグメントは、好ましくは、少なくとも、配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までを含む領域、特に20位アミノ酸から50位アミノ酸までを含む領域、好ましくは24位アミノ酸から43位アミノ酸までを含む領域および170位アミノ酸から220位アミノ酸までを含む領域、特に180位アミノ酸から215位アミノ酸までを含む領域、好ましくは190位アミノ酸から211位アミノ酸までを含む領域のうち少なくとも1つの領域を含み；

30

- 上記の誘導した配列は、この誘導した配列がTh2型応答を誘導することを前提として、上記の配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列の1つまたは上記のフラグメントの1つに由来し、特に1つ以上のアミノ酸の欠失、置換または付加により得られ；

- 上記の相同配列は、この相同配列がTh2型応答を誘導することを前提として、上記の配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列の1つまたは上記のフラグメントの1つに相同な配列であり、特に上記の配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列の1つと少なくとも80%、特に少なくとも85%の同一性を有する。

【図面の簡単な説明】

【0012】

40

【図1】図1は、異なるラット群（TNBSを用いる大腸炎誘導前に本発明のタンパク質で治療された群である第1群、大腸炎誘導前にスキストソママンソニに感染した群である第2群、対照群である第3群）について得られた巨視的および組織学的スコアを示す。第1群はX軸上の番号1で、第2群はX軸上の番号2で、第3群はX軸上の番号3で表す。巨視的スコアは斜線カラムで、組織学的スコアは白色カラムで表す。巨視的および組織学的スコアはY軸で定量化する。

【図2】図2は、図1について記述したラット群におけるトータルタンパク質レベルに対するミエロペルオキシダーゼ（MPO）レベルの比を示し、第1群はX軸上の番号1で、第2群はX軸上の番号2で、第3群はX軸上の番号3で表す。Y軸は、ng/mgで表されるトータルタンパク質レベルに対するMPOレベルの比を示す。

50

【図3】図3は、図1で使用したものと同一のラット群におけるインターロイキンIL-1b、IL-13、IL-5およびIL-10をコードするメッセンジャーRNAの量を示し、第1群はX軸上の番号1で、第2群はX軸上の番号2で、第3群はX軸上の番号3で表す。インターロイキンIL-1bをコードするメッセンジャーRNAの量は斜線カラムで、インターロイキンIL-13をコードするメッセンジャーRNAの量は太めの斜線カラムで、インターロイキンIL-5をコードするメッセンジャーRNAの量は白色カラムで、インターロイキンIL-10をコードするメッセンジャーRNAの量は垂直線カラムで表す。Y軸はメッセンジャーRNAの量(A.U.)を示す。

【図4】図4は、図1で使用したものと同一のラット群における誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)をコードするメッセンジャーRNAのレベルに対するI型アルギナーゼ(Arg)をコードするメッセンジャーRNAのレベルの比を示し、第1群はX軸上の番号1で、第2群はX軸上の番号2で、第3群はX軸上の番号3で表す。Y軸は誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)をコードするメッセンジャーRNAのレベルに対するI型アルギナーゼ(Arg)をコードするメッセンジャーRNAのレベルの比を示す。

【図5】図5は、異なるマウス群(対照群である第1群、大腸炎誘導前に5-アミノサリチル酸で治療した群である第2群、大腸炎誘導前に本発明のタンパク質で治療した群である第3群、大腸炎誘導前にエタノールの注入を受けた群である第4群)について得られた巨視的および組織学的スコアを示す。第1群はX軸上の番号1で、第2群はX軸上の番号2で、第3群はX軸上の番号3で、第4群はX軸上の番号4で表す。巨視的スコアは斜線カラムで表し、組織学的スコアは白色カラムで表す。巨視的および組織学的スコアはY軸によって定量化される。

【図6】図6は、図5について記述したマウス群におけるトータルタンパク質レベルに対するミエロペルオキシダーゼレベルの比を示し、第1群はX軸上の番号1で、第2群はX軸上の番号2で、第3群はX軸上の番号3で、第4群はX軸上の番号4で表す。Y軸はng/mgで表されるトータルタンパク質レベルに対するMPOレベルの比を示す。

【図7】図7は、図5で使用したものと同一のマウス群におけるインターロイキンIL-1bをコードするメッセンジャーRNAの量を示し、第1群はX軸上の番号1で、第2群はX軸上の番号2で、第3群はX軸上の番号3で、第4群はX軸上の番号4で表す。Y軸はメッセンジャーRNAの量(A.U.)を示す。

【図8】図8は、図5で使用したものと同一のマウス群におけるインターロイキンIL-5およびIL-13をコードするメッセンジャーRNAの量を示す。第1群はX軸上の番号1で、第2群はX軸上の番号2で、第3群はX軸上の番号3で、第4群はX軸上の番号4で表す。インターロイキンIL-5をコードするメッセンジャーRNAの量は白色カラムで表し、インターロイキンIL-13をコードするメッセンジャーRNAの量は斜線カラムで表す。Y軸はメッセンジャーRNAの量(A.U.)を示す。

【図9】図9は、図5で使用したものと同一のマウス群におけるインターロイキンIL-10をコードするメッセンジャーRNAの量を示す。第1群はX軸上の番号1で、第2群はX軸上の番号2で、第3群はX軸上の番号3で、第4群はX軸上の番号4で表す。Y軸はメッセンジャーRNAの量(A.U.)を示す。

【図10】図10は、図5で使用したものと同一のマウス群における誘導型一酸化窒素合成酵素をコードするメッセンジャーRNAのレベルに対するI型アルギナーゼをコードするメッセンジャーRNAのレベルの比を示す。第1群はX軸上の番号1で、第2群はX軸上の番号2で、第3群はX軸上の番号3で、第4群はX軸上の番号4で表す。Y軸は誘導型一酸化窒素合成酵素をコードするメッセンジャーRNAのレベルに対するI型アルギナーゼをコードするメッセンジャーRNAのレベルの比を示す。

【図11】図11は、実験的アレルギー性脳炎(多発性硬化症モデル)研究における異なるラット群のD35における体重分析を示す。A群はEAE誘導前に水酸化アルミニウム(alum)と併用した5μg/kgのrSh28 GSTの注入を2回受けたラット群に相当し、X軸上の文字Aで表され、B群はEAE誘導前に水酸化アルミニウム(alum)と併用した0.5μg/kgのrSh28 GSTの注入を2回受けたラット群に相当し、X軸上の文字Bで表され、C群はEAE誘導前に水酸化アルミニウム単独の注入を2回受けたラット群に相当し、X軸上の文字Cで表され、D群はEAE

10

20

30

40

50

誘導前に何の注入も受けていないラット群に相当し、X軸上の文字Dで表される。Y軸は異なる群のラットの体重を示す。図11について、結果は、箱ひげ図の形式で表される。クラスカル・ウォリス検定およびマン・ホイットニー検定を行って異なるラット群間の有意差を測定する。 $* P < 0.05$ 。

【図12】図12は、図11について記述した異なるラット群のD42における体重(g)の分析を示し、当該群の参照文字はX軸上に示し、ラットの体重はY軸上に示す。図12について、結果は、箱ひげ図の形式で表される。クラスカル・ウォリス検定およびマン・ホイットニー検定を行って異なるラット群間の有意差を測定する。 $* P < 0.05$ 。

【図13】図13は、図11について記述した異なるラット群のD48における体重(g)の分析を示し、当該群の参照文字はX軸上に示し、ラットの体重はY軸上に示す。図13について、結果は、箱ひげ図の形式で表される。クラスカル・ウォリス検定およびマン・ホイットニー検定を行って異なるラット群間の有意差を測定する。 $* P < 0.05$ 。

【図14】図14は、図11について記述した異なるラット群についての累積スコアを示し、当該群の参照文字はX軸上に示し、累積スコアはY軸上に示す。図14に関して、A群およびC群のラットは、それぞれD0、D14およびD28に、A群についてはD35のEAE誘導前に水酸化アルミニウム(alum)と併用した5 $\mu$ g/kgのrSh28GSTの注入を3回、C群についてはD35のEAE誘導前にalum単独の注入を3回受けた。

【発明を実施するための形態】

【0013】

具体的な実施態様では、本発明は、Th1/Th17型免疫応答を生じさせる免疫系疾患に関連する慢性炎症性疾患の予防および/または治療において使用するためのタンパク質、該タンパク質のフラグメント、該タンパク質から誘導した配列および該タンパク質の相同配列から選択される生成物(product)に関し、特徴的には：

- 上記のタンパク質は、それぞれ配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列によって表されるスキストソマ ヘマトビウム、スキストソマ マンソニ、スキストソマ ボビスから選択される住血吸虫由来の28 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼタンパク質を含むか、または当該タンパク質により構成され；

- 上記のフラグメントは、Th2型免疫応答を誘導し、かつ/または、Th1型応答を低減することを前提として、上記のタンパク質の1つのフラグメントであり、該フラグメントは次の領域：配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までを含む領域、20位アミノ酸から50位アミノ酸までを含む領域、24位アミノ酸から43位アミノ酸までを含む領域、170位アミノ酸から220位アミノ酸までを含む領域、特に180位アミノ酸から215位アミノ酸までを含む領域、好ましくは190位アミノ酸から211位アミノ酸までを含む領域のうち少なくとも1つの領域を含み；

- 上記の誘導した配列は、配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列の1つまたは上記フラグメントの1つに由来し、特に配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列中の1つ以上のアミノ酸の欠失、置換または付加により得られ、該誘導した配列は次の領域：配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までを含む領域、20位アミノ酸から50位アミノ酸までを含む領域、24位アミノ酸から43位アミノ酸までを含む領域、170位アミノ酸から220位アミノ酸までを含む領域、180位アミノ酸から215位アミノ酸までを含む領域、190位アミノ酸から211位アミノ酸までを含む領域のうち少なくとも1つの領域を含み；それによってTh2応答の誘導および/またはTh1応答の低減をもたらす；および

- 上記の相同配列は、配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列の1つまたは上記のフラグメントの1つの相同配列であり、上記の配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の次の領域：15位アミノ酸から60位アミノ酸までを含む領域、20位アミノ酸から50位アミノ酸までを含む領域、24位アミノ酸から43位アミノ酸までを含む領域、170位アミノ酸から220位アミノ酸までを含む領域、180位アミノ酸から215位アミノ酸までを含む領域、190位アミノ酸から211位アミノ酸までを含む領域の少なくとも1つまたは配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の1つ全体と少なくとも80%、特に少なくとも

10

20

30

40

50

85%の同一性を有し；それによってTh2型免疫応答の誘導および/またはTh1型応答の低減をもたらす。

【0014】

本発明によれば、フラグメントは、該タンパク質の1つのフラグメントであり、好ましくは、少なくとも、配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までを含む領域、特に20位アミノ酸から50位アミノ酸までを含む領域、好ましくは24位アミノ酸から43位アミノ酸までを含む領域および170位アミノ酸から220位アミノ酸までを含む領域、特に180位アミノ酸から215位アミノ酸までを含む領域、好ましくは190位アミノ酸から211位アミノ酸までを含む領域を含み；それによりTh2応答の誘導および/またはTh1応答の低減をもたらす。

10

【0015】

本発明の生成物が配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列の1つから誘導した配列であるとき、有利には、該誘導した配列は、少なくとも、配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までを含む領域、特に20位アミノ酸から50位アミノ酸までを含む領域、好ましくは24位アミノ酸から43位アミノ酸までを含む領域および170位アミノ酸から220位アミノ酸までを含む領域、特に180位アミノ酸から215位アミノ酸までを含む領域、好ましくは190位アミノ酸から211位アミノ酸までを含む領域を含み得、それによりTh2応答を誘導するか、かつ/または、Th1応答を低減させる。

【0016】

本発明の生成物が上記の相同配列であるとき、有利には、少なくとも配列番号1、配列番号2または配列番号3の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までを含む領域、特に20位アミノ酸から50位アミノ酸までを含む領域、好ましくは24位アミノ酸から43位アミノ酸までを含む領域および170位アミノ酸から220位アミノ酸までを含む領域、特に180位アミノ酸から215位アミノ酸までを含む領域、好ましくは190位アミノ酸から211位アミノ酸までを含む領域を含み、それによりTh2応答を誘導するか、かつ/または、Th1応答を低減する。

20

【0017】

従って、相同配列は、上記の領域の少なくとも1つまたは上記の領域の全てを含んでもよい。これらの領域は、配列番号1、配列番号2および配列番号3の配列の対応する領域と同一であってもよいし、または、各々が上記の配列の1つの対応する領域と少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%の同一性を有していてもよい。同一性のパーセンテージは各領域で異なり得る。

30

【0018】

本発明によれば、Th1型応答は、IFN $\gamma$ のようなサイトカインを産生するが、IL-4もIL-5も産生しないリンパ球の存在によって特徴付けられるものと定義される。また、この応答は、TNFの産生をもたらす。

Th2型応答は、IL-4、IL-5またはIL-13のようなサイトカインを産生するが、IFN $\gamma$ を産生しないリンパ球の存在によって特徴付けられる。

Th17型応答は、多くの型の細胞によって産生されるTNFに加えて、リンパ球がIL-17またはIL-25を産生する炎症性応答である。

40

【0019】

従って、応答の型は、当該細胞を入手できるとき（フローサイトメトリーによって）細胞自体または組織中におけるPCRのいずれかによって産生されるサイトカインを評価することによって測定する。応答の「型」というとき、応答の型は細胞または器官の優勢な応答を表す。実際には、常に、混合した応答が存在する。Th1応答 対 Th2を測定するための1つの手段は、IFN $\gamma$ /IL-4比を測定することである。

自己免疫性の疾病は、しばしば混合した応答、特に炎症促進性の応答を生じさせるので、抗TNFに基づく生物学的療法を用いる。

【0020】

1つの実施態様では、上記のタンパク質は、配列番号1（スキストソマ ヘマトビウム

50



由来の28GSTグルタチオントランスフェラーゼ)の配列で表され、上記のフラグメントは、特に、15位アミノ酸から60位アミノ酸までを含む領域、特に20位アミノ酸から50位アミノ酸までを含む領域、好ましくは24位アミノ酸から43位アミノ酸までを含む領域および170位アミノ酸から220位アミノ酸までを含む領域、特に180位アミノ酸から215位アミノ酸までを含む領域、好ましくは190位アミノ酸から211位アミノ酸までを含む領域を含む上記のタンパク質のフラグメントであり、誘導した配列は配列番号1から得られ、相同配列は上記のように配列番号1の配列と同一性を有する。

#### 【0021】

別の特定の実施態様によれば、生成物は：

- 配列番号1で表される28 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼタンパク質；または
- 配列番号1で表される上記のタンパク質のフラグメントであり、該フラグメントは、少なくとも、配列番号1の配列の15位アミノ酸から60位アミノ酸までを含む領域、特に20位アミノ酸から50位アミノ酸までを含む領域、好ましくは24位アミノ酸から43位アミノ酸までを含む領域および170位アミノ酸から220位アミノ酸までを含む領域、特に180位アミノ酸から215位アミノ酸までを含む領域、好ましくは190位アミノ酸から211位アミノ酸までを含む領域を含むか、または当該領域から構成され；または
- 上記のような誘導した配列；または
- 上記のような相同配列；

をコードするヌクレオチド配列、特に配列番号4に相当する上記のコードヌクレオチド配列の発現生成物である。

特定の実施態様によれば、タンパク質はサッカロマイセス セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)またはエシェリシア コリ(*Escherichia coli*)における上記配列番号4のコード配列の発現生成物である。

#### 【0022】

本発明によれば、上記で定義された疾患は、次の自己免疫炎症性疾患：バージャー病、バセドー病、慢性甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、原発性粘液水腫、セリアック病、潰瘍性大腸炎、クローン病、関節リウマチ、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、自己免疫性溶血性貧血、ビールマー貧血(悪性貧血)、エリテマトーデス、クレスト症候群、1型糖尿病、強皮症、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、後天性表皮水泡症、疱疹状皮膚炎、筋力無力症、ランバート・イートン型筋無力症候群(Lambert-Eaton myasthenic syndrome)、多発性筋炎、シェーグレン症候群(Goujerot-Sjogren syndrome)、多発性硬化症、グレーブス病および乾癬から選択される。

#### 【0023】

本発明によれば、上記の疾病の予防および/または治療は、任意の患者、ヒトまたは動物に用いてもよい。特にヒト、成人または児童に用いる。本発明によれば、予防および/または治療は、より具体的には児童に関するものであり得、より具体的には児童の予防に関するものであり得る。

「児童」とは0歳から18歳までの個体、より具体的には9歳から18歳までの個体と定義する。

#### 【0024】

また、本発明は、特にTh1および/またはTh17型免疫応答を生じる自己免疫疾患に関連する慢性炎症性疾患の予防および/または治療において、活性成分としての本発明の生成物および医薬的に許容され得る賦形剤を含む医薬組成物に関する。

#### 【0025】

本発明の意味においては、「医薬的に許容され得る」とは、賦形剤が、治療による恩恵よりも統計的に大きな二次的応答を生じることなく注入され、摂取され、または少なくとも皮膚に塗布され得る賦形剤を意味する。

#### 【0026】

本発明によれば、有利には、組成物は次の自己免疫炎症性疾患：バージャー病、バセドー病、慢性甲状腺炎、原発性粘液水腫、セリアック病、潰瘍性大腸炎、クローン病、関節

10

20

30

40

50

リウマチ、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、自己免疫性溶血性貧血、ピールマー貧血（悪性貧血）、エリテマトーデス、クレスト症候群、1型糖尿病、強皮症、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、後天性表皮水泡症、疱疹状皮膚炎、筋力無力症、ランバート・イートン型筋無力症候群、多発性筋炎、シェーグレン症候群、多発性硬化症、グレーブス病および乾癬から選択される疾患、特にこれらの疾病の小児における病態予防および/または治療、特に予防目的の処置、より具体的には小児における病態の予防において使用する。

#### 【0027】

本発明の生成物および/または組成物の免疫原活性は、炎症性応答（特にTh1型）を低減または抑制し、かつ/または、例えば特定のインターロイキンの分泌によりTh2型免疫応答を誘導し得る。

10

また、本発明は、Th1および/またはTh17型応答を生じる自己免疫疾患の治療、特に上記の疾病の治療に用い得るワクチンとしての上記の医薬組成物に関する。このワクチンは特に児童用が意図され得る。

#### 【0028】

本発明によれば、組成物は、アジュバント、特にアルミニウム塩から、より具体的には水酸化アルミニウムから選択されるアジュバントを含み得る。水酸化アルミニウムは、ワクチンにおいて用いられる免疫応答のアジュバントであり、ヒトにおける使用に適している。イオン性ネットワークが形成され、抗原性タンパク質は数分間のインキュベーション後にそこに吸収される。この複合体は一時的な貯蔵を創出して細胞のリクルートを可能にし、抗原性Th2型応答を促進する。

20

#### 【0029】

「アルミニウム塩」という用語は、天然または非天然アルミニウム塩の全てを指す。例えば、これはアルミニウムスルフェート（水和または非水和）、アルミニウムホスフェート、ミョウバン（ $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ）、水酸化アルミニウム、または、その他の式（ $\text{BAI}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ）の塩である。

#### 【0030】

本発明によれば、アジュバントの濃度は、0.5 mg/mlから2 mg/mlまで、特に0.3 mg/mlから1 mg/mlまで、特に220  $\mu\text{g/ml}$ から280  $\mu\text{g/ml}$ まで、好ましくは250  $\mu\text{g/ml}$ とほとんど等しい。

30

以下に説明するように、良好な結果は、上記の範囲内に含まれる濃度、特に250  $\mu\text{g/ml}$ の水酸化アルミニウムを用いて得られる。

#### 【0031】

また、本発明は、特に児童において、Th1および/またはTh17型免疫応答を生じる免疫系疾患に関連する慢性炎症性疾患の予防および/または治療において使用するためのタンパク質、該タンパク質のフラグメント、該タンパク質から誘導した配列および該タンパク質の相同配列から選択され：

- 上記のタンパク質は、それぞれ配列番号5および配列番号6の配列によって表されるスキストソマ ジャポニカム (*Schistosoma Japonicum*)由来の28 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼタンパク質又はスキストソマ ジャポニカム由来の26 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼタンパク質を含むか、または当該タンパク質から構成され、

40

- 上記のフラグメントは、Th2型免疫応答を主に誘導することを前提として、上記のタンパク質の1つのフラグメントであり、

- 上記の誘導した配列は、この誘導した配列がTh2型応答を主に誘導することを前提として、配列番号5および配列番号6の配列の1つまたは上記フラグメントに由来し、特に1つ以上のアミノ酸の欠失、置換または付加により得られ、

- 上記の相同配列は、この相同配列がTh2型応答を主に誘導することを前提として、配列番号5および配列番号6の配列の1つまたは上記フラグメントの1つに相同な配列であり、特に配列番号5および配列番号6の配列の1つと少なくとも80%、特に少なくとも85%の同一性を有する；

50

ことを特徴とする生成物に関する。

【0032】

Th1および/またはTh17型免疫応答を生じる免疫系疾患に関連する慢性炎症性疾患は、クローン病、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症、関節リウマチ、1型（自己免疫）糖尿病、グレーブス病および乾癬から選択され得る。

【0033】

また、本発明は、活性成分としてSj28GSTおよびSj26GSTについて上述した生成物の少なくとも1つおよび医薬的に許容され得る賦形剤を含む医薬組成物に関する。

また、この組成物は、上記のようなアジュバント、特に水酸化アルミニウムを含み得る。アジュバントの量は上述したとおりである。

10

【0034】

28 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼ天然タンパク質は、住血吸虫症の原因となる扁形動物である寄生住血吸虫により発現されるタンパク質である。住血吸虫には数種類ある。スキストソマ マンソニは、アフリカおよびブラジルにおけるヒト腸住血吸虫症の原因である。スキストソマ ヘマトビウムは、アフリカおよびアラビア半島におけるヒト膀胱住血吸虫症の原因である。いずれの住血吸虫種も、それら独自の特徴的な28 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼを発現する。従って、スキストソマ マンソニ種はSm28GSTを発現し、スキストソマ ヘマトビウム種はSh28GSTを発現し、スキストソマ ボビス（家畜に感染する住血吸虫）はSb28GSTを発現し、スキストソマ ジャボニカム種（南東アジア-フィリピンおよび南中国-で影響がある）はSj28GSTおよびSj26GSTを発現する。これらのタンパク質をコードする遺伝子は公知であり、かつ/または、当業者はそれらを同定することができる。従って、当業者は、組換え技術により、上記のタンパク質および本発明の生成物を産生することができる。

20

【0035】

Sh28GST、Sm28GST、Sb28GST、Sj28GSTおよびSj26GSTタンパク質は、同定され、データベース、特にウェブサイト<http://www.uniprot.org/uniprot/P30114>に列挙される配列を有する。Sb28GSTおよびSh28GSTタンパク質は97%同一である一方、Sh28GSTおよびSm28 GSTタンパク質は91%同一である。

【0036】

下記の配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号5および配列番号6の配列は、それぞれSh28GST、Sm28GST、Sb28GST、Sj28GSTおよびSj26GSTタンパク質の配列を表す。

30

【0037】

寄生虫が、寄生した宿主において免疫応答を誘導することは公知である。従って、住血吸虫は、宿主に拒絶されないように、感染する宿主の免疫系に効果を有することが公知である。宿主の免疫応答は、短期間のTh1型応答をもって開始し、次にTh2型応答をもって、最後に制御性T応答をもって継続する。制御性T応答が生じるとき、寄生した宿主および寄生虫は共存している。

【0038】

自己免疫疾患に関連する慢性炎症性疾患は、患者の自己抗原に対する異常な免疫応答を生じ、これが炎症を引き起こすことが公知である。クローン病および潰瘍性大腸炎の場合、サイトカインおよびとりわけTh1型の化学的誘引物質によってリクルートされる炎症性細胞の潰瘍形成および浸潤を特徴とする腸粘膜の炎症がみられる。

40

多発性硬化症の場合、脳および脊髄の軸索ミエリン鞘の局所的な炎症がみられ、神経線維の脱髄を生じる。

【0039】

本発明者らは、驚くべきことに、Sh28GSTタンパク質が、抗炎症性のTh2型応答を生じることによって、Th1型応答の低減を可能とすることを示した。このTh1型応答の低減は、上記の疾患に関連する症状、特に炎症の低減を可能とする。従って、タンパク質は、臓器または全身にさえも影響する上記のような疾患の予防および/または治療において、特に身体中に存在するインターロイキンについて使用することができる。本発明の全ての生成物

50

について同じ効果が期待され得る。

#### 【0040】

さらに、炎症と癌との間に関連があり、前者が後者の発症を促進することが公知である。従って、本発明のタンパク質は、慢性炎症を直接的または間接的に低減することによって、炎症性自己免疫疾患に関連する慢性炎症により誘導される癌を低減または排除さえし得る。従って、潰瘍性大腸炎およびクローン病は結腸直腸癌リスクの増大要因である。

#### 【0041】

下記の結果は、Th1型応答を生じる炎症性自己免疫疾患であるクローン病の予防および／または治療（特に予防）におけるSh28GSTタンパク質の効果を確認している。

本発明のタンパク質は、それが由来する住血吸虫に拘らず及びその分子量に拘らず、自然に単離されたか（天然）、または組換え体であり得る。

10

#### 【0042】

本特許出願を通じて、「組換え28 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼ」（rSh28GST）という用語は、Sh28GSTをコードする全長配列（配列番号4）またはこの配列のフラクションを宿主生物に挿入することによって、組換えにより得られたタンパク質を指す。この合成は、コード配列が挿入されているベクターおよび発現を制御するシグナルに応じて、様々な宿主細胞、バクテリア、酵母またはより高等な細胞において行われ得る。本発明の組換えタンパク質は、スキストソマ ヘマトビウムに存在するSh28GST天然タンパク質と同一の一次構造を有し得るが、免疫原活性を有する該天然タンパク質の誘導体または不完全なSh28GSTタンパク質（タンパク質フラグメント）であってもよい。また、このタンパク質またはこのタンパク質フラグメントは、宿主細胞においてタンパク質のより良好な発現を促進するために、または任意に細胞からの排出を引き起こすために、対応するDNAセグメントの遺伝子操作に続いて別のタンパク質（またはタンパク質フラグメント）と融合させてもよい。

20

#### 【0043】

実施例において、rSh28GSTという用語は、配列番号4のコードヌクレオチド配列の挿入によってサッカロマイセス セレピシエで産生されたタンパク質を指す。

#### 【0044】

rSh28GSTタンパク質は周知である。従って、上記の論文「スキストソマ ヘマトビウム由来の28 kDaグルタチオンS-トランスフェラーゼの結晶構造（Crystal structure of the 28 kDa glutathione S-transferase from Schistosoma haematobium）」は、エシェリシア コリにおける本発明の組換えSh28GSTの産生方法を例証する。さらに、1999年にジャーナルVaccineにおいて公開された論文「ホモログのチャレンジで実験的に感染させた霊長類におけるスキストソマ ヘマトビウムからクローニングされた組換えグルタチオンS-トランスフェラーゼのワクチンとしての可能性（Vaccine potential of a recombinant glutathione S-transferase cloned from Schistosoma haematobium in primates experimentally infected with an homologous challenge）」は、サッカロマイセス セレピシエの特定の株において産生されたSh28GST組換えタンパク質を例証する。

30

#### 【0045】

しかしながら、様々な宿主細胞における外来遺伝子または外来遺伝子のフラグメントをクローニングおよび発現するための技術は当事者に公知であるから、本発明の組換えタンパク質は、上記したこれら2つの例に限定されるものでない。

40

#### 【0046】

これらのバクテリアにおける組換えタンパク質の産生は既に公知であり、完全に習得されている。事実、rSh28GST組換えタンパク質は、住血吸虫症に対するワクチン接種のための臨床試験の対象物である（Bilhvaxプロジェクト）。従って、この組換えタンパク質は工業規模で製造されている；したがって、特に治療目的の製造および精製は完全に習得されている。

#### 【0047】

事実、以下により詳しく記載するように、本発明の生成物は、上記の疾病に予防効果を

50

有し得る。上記の疾病の炎症エピソード前の該タンパク質またはタンパク質フラグメント投与により、炎症の低減および疾患の増悪期の、当該疾病に特徴的なTh1型応答からTh2型応答への振れを得ることが可能となる。これは本発明のタンパク質および/またはタンパク質フラグメントを用いる治療後にみられる免疫応答の型の変化であり、これにより、様々な臓器の慢性炎症性疾患の予防、および全ての系、例えば神経系に影響する疾患における慢性炎症性疾患の予防でさえも可能となる。「予防」とは、炎症増悪期前に投与されるときに、炎症増悪の抑制または炎症増悪の強度および/もしくは存続時間の低減を可能とするか、および/または、2つの炎症増悪の間隔を延長することを可能とする処置を意味する。治療の効果は問題の臓器または系の炎症の状態から評価する。

#### 【0048】

10

「治療」とは、炎症増悪期に投与されるときに、増悪について、特に当該増悪に関連する症状（特に、例えば腸壁の局所的な炎症）の1つを弱化または抑制することを可能とする処置を意味する。

#### 【0049】

下記に説明されているように、本発明の生成物は、Th1型炎症性応答の特定のインターロイキンの分泌を低減すること、および/または、Th2型免疫応答に対応するインターロイキンの産生を増大することによって作用する。これらのインターロイキンは身体中を循環し、それらの低減または増大は、潜在的には、全ての臓器に影響する。

#### 【0050】

本発明の生成物により、Th1および/またはTh17型応答を生じる免疫系疾患に関連する慢性炎症性疾患において調節的な役割を有するインターロイキン（IL-10）の産生が可能になることは以下でわかる。多発性硬化症患者におけるアスカリス属(*Ascaris* genus)の寄生虫による寄生が疾患の進行を低減させることが公知である（「多発性硬化症における寄生虫感染と免疫応答との関連性 (Association between parasite infection and immune responses in multiple sclerosis)」 Annals of Neurology 2007を参照）。しかしながら、スキストソマの特定のタンパク質が、生物の全ての神経系に影響する疾病に対して治療効果および/または予防効果を有し得ることを示すものは何もない。従って、これは、特に多発性硬化症のような、神経の疾患に属し、かつ、全ての神経系に影響する免疫系疾患に関連する慢性炎症性疾患について本発明の生成物を試験した本発明者らの功績である。

20

30

#### 【0051】

本発明によって治療が意図される患者は限定されない。動物、哺乳類、より具体的にはヒトであってもよい。児童であってもよい。事実、Bilhvaxプロジェクトは本発明のrSh28 GST組換えタンパク質が5歳から12歳までの児童において完全に安全であることを示した。従って、本発明の生成物は、免疫系疾患に関連する慢性炎症性疾患の小児における症例の、特にこれらの疾患の小児における症例の治療に用いてもよい。このように、上記の疾患を引き起こすか、または、患者が該疾患をより発症しやすくする遺伝的要因が強く疑われる場合（例えば、両親がいずれもクローン病を発症した児童の場合）には、本発明の生成物は予防措置として投与することができる。

#### 【0052】

40

有利には、組成物は50  $\mu\text{g/kg}$ から1000  $\mu\text{g/kg}$ までの範囲のタンパク質量で投与する。用量は50  $\mu\text{g/kg}$ 、500  $\mu\text{g/kg}$ または1000  $\mu\text{g/kg}$ に等しくてもよい。

例えば、児童1人に投与する精製タンパク質の濃度は253  $\mu\text{g}$ （これはrSh28GST28+濃度1 mg/mlの水酸化アルミニウムを含むBilhvaxワクチンの最終用量100  $\mu\text{g}$ に相当する）に等しい：例えば、タンパク質量は100  $\mu\text{g}$ 以上、500  $\mu\text{g}$ 以下であり得る。

#### 【0053】

本発明の組成物の本発明による投与方法は限定されない。例えば、組成物は、皮下経路によって注入されてもよいし、または、粘膜経路によって投与されてもよい。本発明の組成物は、例えば、点鼻またはバツカルスプレー剤、座剤、錠剤、凍結乾燥物、カプセル剤、シロップ剤、静脈内、皮下または筋肉内経路で注入可能な溶液、局所塗布用軟膏剤また

50

はゲル剤の剤形で投与され得る。

#### 【0054】

本発明、その特徴および本発明が提供する様々な利点は、実施例を参照して下記の記載を読めば明らかとなろう。実施例も添付の図も限定的なものではない。

#### 【実施例】

#### 【0055】

クローン病モデル

#### ラットにおけるTNBSを用いる大腸炎誘導実験のプロトコル（クローン病モデル）

用いた動物は雄性スプラグドローラット（180～250 g）である。前日に動物の体重を量り、餌を与えないで大腸炎誘導の日に空腹にさせる。ペントバルビタール（40mg/kg）の腹腔内注入によりラットを麻酔する。100%エタノールに希釈（容量/容量）したTNBS（2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸）溶液250  $\mu$ lをラット1 kgあたり80 mgの割合で直腸内注入する。TNBS注入後96時間で大腸炎を評価する：動物の体重を量り300  $\mu$ lのT61心腔内注射で犠牲にする。巨視的スコア評価のために結腸を取り出す。また、組織学的スコアを評価するために、直腸から4cmで結腸の横断切片を採取し、次いでコルク片にピン止めし、これを4%パラホルムアルデヒド浴中に24時間浸漬し、次いで70%エタノール浴中に浸漬し、脱水し、パラフィンに包埋する。

10

#### 【0056】

#### マウスにおけるTNBSを用いる大腸炎誘導実験のプロトコル（クローン病モデル）

動物はC57BL/6遺伝子プールからの雄性マウスである。マウスは、それぞれの用量が50 mg/kgのキシラジン-ケタミン混合物を用いて皮下経路によって麻酔する。大腸炎は、マウス1 kgあたり150 mgの割合で100%エタノールに希釈（容量/容量）したTNBS溶液40  $\mu$ lを用いて、直腸内に誘導される。エタノールの直腸内注入には、50%エタノール（対照溶媒）を使用する。

20

#### 【0057】

#### スキストソマ マンソニによる寄生実験のプロトコル

バリウム(Valium)（8mg/kg）およびケタミン（75mg/kg）混合物の腹腔内注入によってラットを麻酔し、次いで腹部を剃毛する。2000セルカリア（感染性の幼虫）のスキストソマ マンソニを含む溶液を動物の腹部に30分間置く：セルカリアは経皮的に侵入する。この寄生は実験の「ゴールドスタンダード」に相当する。

30

#### 【0058】

#### 多発性硬化症におけるrSh28GST研究のプロトコル（Th1型自己免疫疾患）

多発性硬化症を研究するためのこのモデルは、EAE（実験的アレルギー性脳炎）と呼ばれる自己免疫疾患を誘導するためにミエリンタンパク質（MBP）の脳炎誘発性ペプチドを注入することを含む。

rSh28GSTの予防特性を証明するために、4週齢のルイスラットに水酸化アルミニウムと混合した用量5  $\mu$ g/kgのrSh28GSTを注入する（パラグラフ「試験組成物の調製」参照）。4週間後、EAEが誘導される（D=35）。D=44に臨床スコアを評価する（最初の増悪）。EAEのピークはD=48に起こる。少なかれ完治した動物がD=55にみられる。プロトコルを通して、動物の体重の損失を測定し、臨床スコアを記録し、炎症性浸潤を定量化し、クリティカルポイント(critical point)で脱髄を測定する（IHC）。

40

#### 【0059】

#### 多発性硬化症の場合におけるrSh28GSTの治癒効果を示すプロトコル

EAEのラットモデルを用いる。ルイスラットをEAEの誘導と同時に、任意に疾患のクリティカルポイントで、rSh28GSTおよび水酸化アルミニウムの組成物を用いて免疫する。注入される用量は5  $\mu$ g/kg、50  $\mu$ g/kg、500  $\mu$ g/kg及び1000  $\mu$ g/kgに等しい（これらの数字はrSh28GSTの用量を指し、水酸化アルミニウムの濃度は常にパラグラフ「試験組成物の調製」に示されるとおりである）。次いで、興味ある異なる細胞集団を分析する。

#### 【0060】

#### 関節リウマチ（RA）研究のプロトコル

50

マウスの尾部の付け根にコラーゲン（自己抗原）を2回皮内注入し、21日後に慣用のスコアに従って足の関節炎を測定する。次に、免疫学的パラメータ（抗体、サイトカイン、調節性細胞）をモニタリングする。

予防効果を測定するために、2回のコラーゲン注入前に水酸化アルミニウムと混合した用量1000 µg/kgのrSh28GSTを注射する（パラグラフ「試験組成物の調製」参照）。治療効果を証明するために、試験組成物（rSh28GSTタンパク質について1000 µg/kg）を上記2回のコラーゲン注入と同時に注入した。

#### 【0061】

##### ミエロペルオキシダーゼ（MPO）のアッセイ

結腸組織に含まれるミエロペルオキシダーゼレベルは、サンドイッチELISA（「酵素免疫吸着アッセイ」）タイプの免疫学的技法によって評価し、同一の結腸組織に含まれるタンパク質のレベルを基準にして言及する。

まず、（炎症の場合MPOを含む）結腸組織をすり潰し、そのホモジネートを得る。後者は、抗MPO抗体で既に被覆されたプレートのウェル中に置く。次いで、抗原（ここではMPO）-抗MPO抗体反応を行う。次に、MPO分子を指向するビオチン標識二次抗体を添加し、色素原にカップリングした（ビオチンに高親和性を有する）ストレプトアビジンを添加することによって顕示する。その基質の存在下で後者は着色物質を放出し、その光学密度を分光光度計で評価する。測定される光学密度は結腸組織ホモジネートに含まれるMPOタンパク質の量に比例する。

#### 【0062】

##### 試験組成物（rSh28GSTタンパク質＋水酸化アルミニウム）の調製

用いるrSh28GSTタンパク質は、サッカロマイセス セレビスエで産生されたEurogentec社製の組換えタンパク質である。配列番号4の配列で表される遺伝子の全長配列を用いる。タンパク質は凍結乾燥の形態にあり、1バイアルが165 µg（±5%）のタンパク質を含む。医薬組成物は、1つのタンパク質バイアル中で生理食塩水中に10倍希釈した水酸化アルミニウムゲル（2%）660 µlで再構成されているので、濃度は250 µg/mlである。このようにして同一の濃度で得られた組成物を動物に皮下注入する。全ての実験プロトコルにおいて動物に注入されるのは、このrSh28GST＋水酸化アルミニウム混合物である。示される用量はrSh28GSTタンパク質の用量に相当する。

#### 【0063】

##### 「アルギナーゼI／一酸化窒素合成酵素2」比

この比は、所与の結腸試料について2型誘導型一酸化窒素合成酵素（iNOS）をコードするメッセンジャーRNAのレベルに対するアルギナーゼI（Arg）をコードするメッセンジャーRNAのレベルを表す。メッセンジャーRNAレベルは、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）法により得られる。これはDNAのインビトロ増幅のための分子生物学的技法である。各増幅サイクルにおいて、DNAのトータル量は蛍光プローブにより測定する；当初のメッセンジャーRNAの定量は、全ての増幅サイクルの反応速度論から得ることができる。

#### 【0064】

##### インターロイキンIL-1b、IL-13、IL-5及びIL-10のメッセンジャーRNAの発現

結腸組織における異なるインターロイキンのメッセンジャーRNAの存在と定量は、先のパラグラフで説明したリアルタイムPCR法を用いて得られる。

#### 【0065】

##### ラットにおける実験結果

3つのスプラッグドローラット群を形成する。第1群は、（rSh28GSTタンパク質について）用量50 µg/kgの上記組成物（rSh28GST＋水酸化アルミニウム）の皮下注入を2回（1回目はD=0および2回目はD=28）受ける。第2群（「ゴールドスタンダード」）は、D=0に、2000セルカリアのスキストソマ マンソニを用いて寄生させる。第3群は対照群である。D=35に、3つの群において、TNBSの直腸内注入により大腸炎がラットにおいて誘導され、次いでD=39にラットを犠牲にする。

#### 【0066】

### 巨視的および組織学的スコア

図1に示すように、第1群および第2群のラットの腸壁の炎症が第3群のラットと比べて低減されていることが見出される。加えて、組織学的スコアが巨視的スコアを確認している。

#### 【0067】

#### ミエロペルオキシダーゼ (MPO) のアッセイ

ミエロペルオキシダーゼは、好中性顆粒球に存在する酵素であり、炎症マーカーでもある。図2に示すように、第1群および第2群のラットの結腸組織中のMPO量は、第3群のラットの結腸組織中に存在する量と比べて低減されている。これらの結果はrSh28GSTタンパク質の注入により、炎症性の大腸炎におけるMPO分泌の有意な低減が可能となることを示す。

10

#### 【0068】

#### インターロイキンIL-1b、IL-13、IL-5およびIL-10

IL-1bは、Th1型炎症性免疫応答の間分泌されるインターロイキンである。図3に示すように、このインターロイキンをコードするメッセンジャーRNAの量は、第1群および第2群のラットの結腸組織において低減される（第2群よりも第1群においては一層低減される）ことが理解できる。これらの結果は、rSh28GSTタンパク質の注入が、D0におけるスキストソマ マンソニ感染よりもさらに顕著なTh1型免疫応答の低減を引き起こすことを示す。

#### 【0069】

インターロイキンIL-5およびIL-13は、Th2型免疫応答の間分泌される。図3に示すように、これら2つのインターロイキンをコードするメッセンジャーRNAの量は、第3群のラットの組織と比べて第1群のラットの結腸組織において増大する。IL-5をコードするメッセンジャーRNAの量およびIL-13をコードするメッセンジャーRNAの量は、第2群よりも第1群において大きい。これらの結果は、rSh28GSTタンパク質がIL-5およびIL-13のメッセンジャーRNAの強力な発現を誘導することを示す。従って、RSh28GSTタンパク質は、TNBSを用いて誘導した大腸炎の場合にみられるTh1型免疫応答を相殺するTh2型免疫応答を誘導することを可能とする。

20

#### 【0070】

クローン病に罹患する患者は、インターロイキン10に基づく治療に好都合な反応を示すことが証明されている (Braat H, Rottiers P, Hommes DW, Huyghebaert N, Remaut E, R 30

emon JP, van Deventer SJ, Neiryncjk S, Peppenlenbosch MP, Steidler L (June 2006) 「クローン病におけるインターロイキン10を発現するトランスジェニックバクテリアを用いるフェーズI臨床(A phase I trial with transgenic bacteria expressing Interleukin-10 in Crohn's disease)」 Clin. Gastroenterol. Hepatol.4 (6): 754-9. doi: 10.1016/j.cgh.2006.03.028. PMID 16716759参照)。図3に示すように、第2群のラットの組織よりも第1群のラットの結腸組織に多くのIL-10をコードするメッセンジャーRNAが存在する。これらの結果は、rSh28GSTタンパク質が、クローン病の治療の場合に好都合な因子であるIL-10をコードするメッセンジャーRNAの産生を誘導することを示す。さらに、IL-10はTh2型免疫応答の間分泌され、このことは、図3に示す結果に合致している。

#### 【0071】

#### 「アルギナーゼ I /一酸化窒素合成酵素2」比

I型アルギナーゼは、Th1抗炎症性免疫応答中に存在するいわゆる代替的M2マクロファージを特徴付けるマーカーとして用いられる酵素である；また、2型一酸化窒素合成酵素は、Th2炎症促進性免疫応答中のいわゆる慣用のマクロファージを特徴付けるマーカーとして用いられる酵素である。これら2つの酵素の比は、結腸組織における特定の型のマクロファージの存在を反映し、2つの免疫応答Th1およびTh2間のバランスを評価することを可能にする。

40

図4に示すように、rSh28GSTタンパク質は、Th2型応答を促進することができ、そして大腸炎により誘導されるTh1型応答を相殺する。

#### 【0072】

50



### マウスにおける実験結果

用いる2つのげっ歯類モデル(ラットおよびマウス)はクローン病モデルとして文献に広く記載される古典的な実験モデルである。ここで用いるマウス系統(C57 BL6)はむしろTh1促進性であり、したがって、この動物モデルにおけるTh1型応答の低減を伴って得られる結果はラットの場合よりも一層説得力がある。

#### 【0073】

4つのマウス群を形成する。第1群は無治療群であり、D=35にTNBSを用いて大腸炎が誘導されるだけで治療されない；これは対照群である。第2群のマウスは、D=30から5-ASA(5-アミノサリチル酸)含有ペレット(ペレット600 gあたり1 gの5-ASAの割合)を給餌され、そしてD=35にTNBSを用いて大腸炎が誘導される。第3群のマウスは、(rSh28GSTについて) 10  
用量1000 µg/kgの上記組成物(rSh28GST+水酸化アルミニウム)の注入をD0およびD28に2回、次いでTNBSの直腸内投与を受ける。第4群のマウスは、D35に50%エタノール(TNBS対照溶媒)の直腸内注入を受けるのみである。4群のマウスは、D=37に犠牲にする。

#### 【0074】

### 巨視的および組織学的スコア

図5に示すように、炎症を反映する巨視的スコアは、第3群のマウスにおいて大幅に低減される。得られた結果は、5-ASAを用いて得られた結果よりも良好である。組織学的スコアが巨視的スコアを確認する。

#### 【0075】

### ミエロペルオキシダーゼ(MPO)のアッセイ

図6は、rSh28GSTが、大腸炎の場合において、第3群のマウスの結腸組織におけるMPOレベルを低減することを示す。大腸炎でないマウス(第4群)の場合には、MPO活性に変化はない。

#### 【0076】

### インターロイキンIL-1b、IL-13、IL-5およびIL-10

図7～9は、マウスにおいて、ラットで得られた結果を確認する。rSh28GSTタンパク質は、大腸炎の場合において、IL-1bをコードするメッセンジャーRNAのレベルを低減し、IL-13およびIL-5レベルを増大する。従って、上記のタンパク質は、IL-10産生の増大に起因して予防効果を有するようである。

#### 【0077】

### 「I型アルギナーゼ／一酸化窒素合成酵素2」比

図10は、ラットの場合と同様に、第1、2および4群と比べて第3群において、一酸化窒素合成酵素2をコードするメッセンジャーRNAに対するI型アルギナーゼをコードするメッセンジャーRNAのレベルの比が増大していることを示す。この「I型アルギナーゼ／一酸化窒素合成酵素2」比の増大は、Th2応答に関連するマクロファージの存在の増大を示唆する。従って、本発明の組成物は、誘導された大腸炎において、Th2型応答を促進することができ、これは5-アミノサリチル酸の場合にはない(第2群を参照)。

加えて、別のマウス群は、上述のとおりrSh28GST注入2回およびTNBSに代えてエタノールの直腸内注入1回を受ける。これは、炎症を伴わずにタンパク質の影響を試験する。図に結果を示していないが、この群において、MPO活性に変化はない。従って、本発明のタンパク質は、炎症を低減するが、炎症が誘導されないときにMPOレベルを変更しない。また、この群についての結果は、炎症が誘導されていないとき、タンパク質が単独でIL-13、IL-5およびIL-10をコードするメッセンジャーRNAの増大を可能とし、炎症が誘導されていないときには、このタンパク質がマクロファージに活性を示さないことを示す。

#### 【0078】

### 多発性硬化症モデル

用いるモデルは実験的アレルギー性脳炎(EAE)のモデルである。この場合、ミエリン塩基性タンパク質(MBP)注入によりEAEが誘導される。

ルイスラットモデルにおいてMBPを用いて誘導されたEAEの発症に対するrSh28GSTを用いる免疫付与の効果を調べた。

10

20

30

40

50

## 【0079】

材料および方法：

## 1- 試薬：

a) rSh28GST (alum) の調製：（バッチ：GLP指定：L-Bix-P08/165a）。「alum」という用語は下記に詳しく説明する水酸化アルミニウムの水性懸濁物を指す。

5  $\mu$ g/kg (+alum) の用量：

165  $\mu$ gのrSh28GSTを含む1バイアルを660  $\mu$ lの生理食塩水中に溶解し、250  $\mu$ g/mlの溶液を得る。次いで、溶液を10  $\mu$ g/mlに調製する：生理食塩水中で1：25に希釈。Alumを添加する：10  $\mu$ l（「alum」はアルハイドロゲル2% VacciGrade\_50 ml cat: vac-alu-50バッチ：AHG-33-427を指す。）

10

0.5  $\mu$ g/kg (+alum) の用量：

250  $\mu$ g/mlのrSh28GST溶液から開始して、溶液を1  $\mu$ g/mlに調製する：生理食塩水中での1：250に希釈。Alumを添加する：10  $\mu$ l（alumはアルハイドロゲル2% VacciGrade\_50 ml cat: vac-alu-50バッチ：AHG-33-427を指す。）

## 【0080】

## b) Alum用量：

Alum用量は、10  $\mu$ lのalumを2.5 mlの生理食塩水で希釈することによって得られる（alumはアルハイドロゲル2% VacciGrade\_50 ml cat: vac-alu-50バッチ：AHG-33-427を指す。）

## 【0081】

## c) EAE誘導を意図するエマルジョンの調製

溶液を100  $\mu$ g/ml、すなわち2 mg/mlのCFA 3 ml + IFA 1ml + SPB中の200  $\mu$ g/mlのMBP 4 mlの溶液に調製する。50  $\mu$ l/5  $\mu$ gのMBPに等しい2つの8ml用量をラットの足に注入する。トータルで、ラット当たり100  $\mu$ l/10  $\mu$ gのMBPを注入する。

上記SPB中のMBP溶液は、MBP（バッチ2011）を希釈することによって得られる：過ホウ酸ナトリウム（SPB）3.94 ml中の940  $\mu$ g/mlで1064  $\mu$ l。

20

## 【0082】

CFAは、完全フロイント・アジュバント（すなわち、マイコバクテリア（*M. tuberculosis*）を含む）を指す。IFAは不完全フロイント・アジュバントを指す。1 mLの不完全フロイント・アジュバントは0.85 mLのパラフィンオイルおよび0.15 mLのマニドモノオレエートからなる。完全な形態では、それは熱で不活性化（熱で殺傷）および乾燥した所定量のマイコバクテリウム ツベルクローシス（H37Ra, ATCC 25177）をさらに含む。

30

CFA（2 mg/mlのM. ツベルクローシス）：上記2 mg/mlの濃度を得るようにIFA Sigma（ref. F5506 バッチ：070M8706）およびマイコバクテリウム ツベルクローシス H37 RA Difco（ref. 3114-25 バッチ：131582 L-00535-02）。

畜産セクションによって供給される麻酔薬：ケタミンおよびキシラジン

## 【0083】

## d. 動物：

実験開始時に6週齢の雄性ルイスラット（CERJ Janvier育種場）を12週目にMBPで免疫する（n=10ラット/群）。注入は、ラットの首に皮下的に行う。40匹のラットを使用した。

40

## 【0084】

実験プロトコル

ラットが7週齢になった時に実験を開始する。

A群の10匹のラットは、5  $\mu$ g/kgのrSh28GSTおよびalumを含む上記溶液の注入をD=0に受ける。B群の10匹のラットは、0.5  $\mu$ g/kgのrSh28GSTおよびalumを含む上記溶液の注入をD=0に受ける。C群の10匹のラットは、上記alum溶液単独の注入をD=0に受け、2回目のalum単独の注入をD=28に受ける。対照群であるD群の10匹のラットは、D=0に注入を受けない。A群およびB群のラットは、1回目の注入と同じ用量で2回目のrSh28GST (alum) の注入をD=28に受ける。

D=35に、ミエリン塩基性タンパク質を含む注入をもってEAEが誘導される（パラグラフ

50

cを参照)。臨床研究は、D=44に開始し、D=56に動物を犠牲にして終了する。

#### 【0085】

P28 GSTを用いて免疫したラットの体液性応答

抗rSh28GST IgG抗体のアッセイをD35 (EAE誘導の日) およびD56 (犠牲にする日) にELISA法で採取した血液サンプルについて実施した。結果は、A群の (10匹のうち) 6ラットおよびB群の (10匹のうち) 4ラットのみが臨床プロトコルを通して検出可能な免疫応答を示したことを示す。D35およびD56におけるrSh28GSTに対する抗rSh28GST IgG抗体の検出可能な産生という形で免疫応答を示すこれらのラットのみを、ラットの体重に関する次の研究に含めた。

#### 【0086】

4つの群のラットの体重変化の調査

EAE誘導の日 (すなわち、1回目のrSh28GST注入後35日目) および初発症状 (D42) から始めて毎日、動物の体重を評価した。得られた結果は、疾患がピークに達する時に、全ての群について約10%の体重損失がみられることを示す。

しかしながら、これらのデータについてノンパラメトリック検定を行ったところ、群間の有意差が明らかとなった。

従って、D35に、A群およびB群のラットは、(P28GSTの用量を問わず) C群およびD群よりも体重が有意に重い。

#### 【0087】

この結果は図11においてみることができ、この図はD35における異なる群のラットの体重の分析を示している。結果は箱ひげ図の形で表す。クラスカル・ウォリス検定およびマン・ホイットニー検定を実施し、異なる群のラット間の有意差を測定した。\*  $P < 0.05$ 。

また、D42およびD48に、D群の罹病ラットは、A群およびB群のラットよりも体重が軽いようにみえる。

#### 【0088】

図12はD42における異なる群のラットの体重分析を示す。図13はD48における異なる群のラットの体重分析を示す。両図において、結果は箱ひげ図の形で示す。クラスカル・ウォリス検定およびマン・ホイットニー検定を用いて、用量 $5 \mu\text{g/kg}$ のrSh28GST (alum) を受けるラット、用量 $0.5 \mu\text{g/kg}$ のrSh28GST (alum) を受けるラット、alum単独を受けるラットおよび対照の間の有意差を測定した。\*  $P < 0.05$ 。

#### 【0089】

臨床スコア

臨床スコアを評価するために、他のラット群を用いた (A群について $n=22$ 、C群について $n=24$ およびD群について $n=8$ )。プロトコルは、A群のラットが (免疫応答が得られるように) 水酸化アルミニウム (alum) と併用した $5 \mu\text{g/kg}$ のrSh28 GSTの注入を (それぞれD0、D14およびD28に) 3回受けること、および、C群のラットがalum単独の注入を (D0、D14およびD28に) 3回受けることを除いては、上記したものと同じである。D35にEAEが誘導された。初発症状 (D44) から開始して寛解期の終わり (D55) まで毎日ラットを評点した。臨床スコアを次の基準スケールに従って割り当てた：スコア0=発症なし；スコア0.5=尾部の筋力低下；スコア1=尾部の張りの低下；スコア2=尾部の張りの低下+後肢の筋力低下；スコア3=後肢1つの麻痺；スコア4=両後肢の麻痺；スコア5=両後肢の麻痺+身づくろい不能；スコア6=動物の死亡。従って、図14は、rSh28GSTを用いる免疫後の時間に応じた上記異なるラット群について観察された累積スコアを示す。群をX軸上に示し、累積スコアをY軸上に示す。A群のラットはD44に増悪が始まり、C群およびD群と同じ反応速度論に従ってD46にピークに達しているが、D45から開始する累積スコアは、特にD45およびD55の間、C群およびD群の累積スコアよりも低い。D45およびD48における累積スコアの低減は有意である。従って、用量 $5 \mu\text{g/kg}$  (A群) で抗体応答を生ずるラットは、累積臨床スコアの低減を示す。また、A群の死亡率はゼロである一方、対照群Dでは1匹のラットが死亡し、C群 (alum単独) では3匹のラットが死亡している。

10

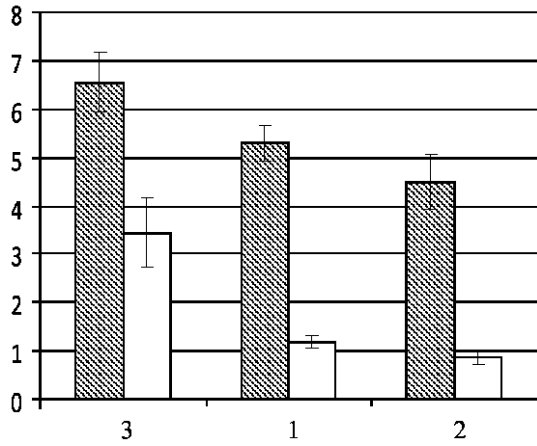
20

30

40

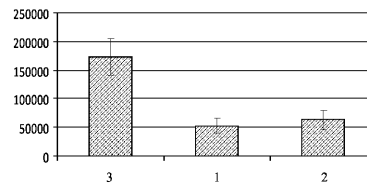
【図 1】

FIGURE 1



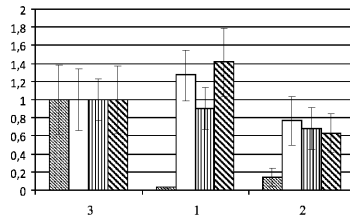
【図 2】

FIGURE 2



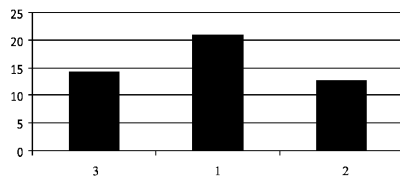
【図 3】

FIGURE 3



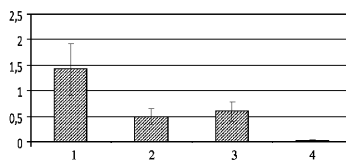
【図 4】

FIGURE 4



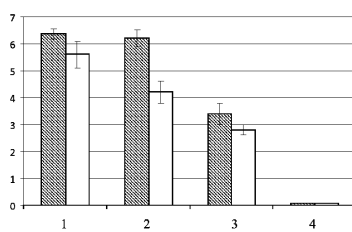
【図 6】

FIGURE 6



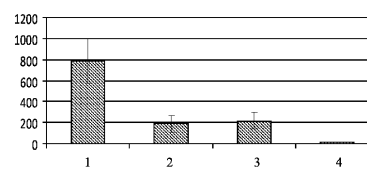
【図 5】

FIGURE 5



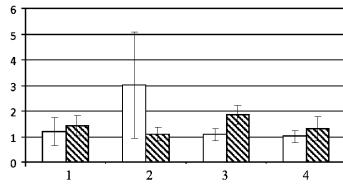
【図 7】

FIGURE 7



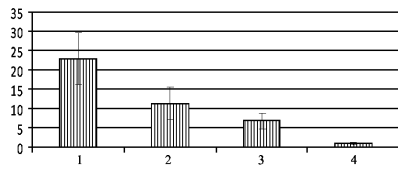
【図 8】

FIGURE 8



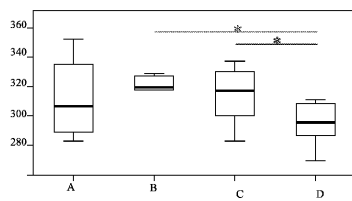
【図 9】

FIGURE 9



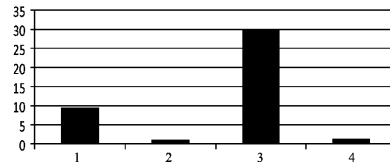
【図 1 2】

FIGURE 12



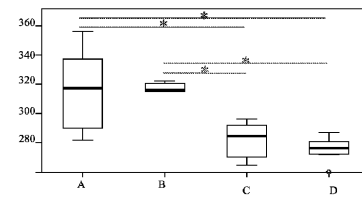
【図 1 0】

FIGURE 10



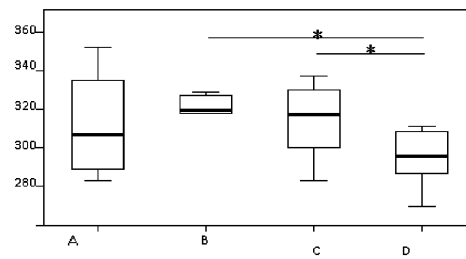
【図 1 1】

FIGURE 11



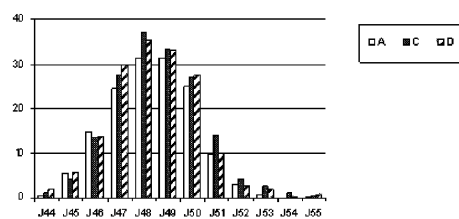
【図 1 3】

FIGURE 13



【図 14】

FIGURE 14



【配列表】

0005986227000001.app

フロントページの続き

- (51)Int.Cl. F I  
A 6 1 P 29/00 (2006.01) A 6 1 P 29/00
- (73)特許権者 591100596  
アンスティチュ ナショナル ドゥ ラ サンテ エ ドゥ ラ ルシエルシュ メディカル  
フランス国、エフー75013 パリ、リュ・ドゥ・トルビアック 101
- (73)特許権者 502205846  
サントル ナショナル ドゥ ラ ルシエルシュ シアンティフィク  
フランス国 パリ セデックス 16 リュ ミシェルーアンジュ 3
- (73)特許権者 514198541  
サントル オスピタリエ レジオナル ユニヴェルシテール ド リール  
CENTRE HOSPITALIER REGIONAL UNIVERSITAIRE DE  
LILLE  
フランス、エフー59037 リール セデックス、アヴェニュー オスカー ランブレ、2  
2, avenue Oscar Lambret, F-59037 Lille Cedex  
, FRANCE
- (74)代理人 100065248  
弁理士 野河 信太郎
- (74)代理人 100159385  
弁理士 甲斐 伸二
- (74)代理人 100163407  
弁理士 金子 裕輔
- (74)代理人 100166936  
弁理士 稲本 潔
- (72)発明者 カブロン, モニーク  
フランス、エフーファランパン 59133、リュ デュ カピテン ジャスミン、58
- (72)発明者 エル ナディ, モハメド  
フランス、エフー59139 ワティニー、リュ ジャン メルモー、804、クルース レジダ  
ンス メルモー
- (72)発明者 コロンベル, ジャンーフレデリック  
フランス、エフー59000 リール、リュ デュ リュートナン コルピン、11
- (72)発明者 リヴォー, ジルズ  
フランス、エフー59133 ファランパン、リュ ジョルジュ ブラッサンス、18

審査官 春田 由香

- (56)参考文献 Trottein F, et al., Inter-species variation of schistosome 28-kDa glutathione S-transf  
erases, Molecular and Biochemical Parasitology, 1992年, Vol.54, No.1, p.63-72  
Capron A, et al., Vaccine development against schistosomiasis from concepts to clinica  
l trials, British Medical Bulletin, 2002年, Vol.62, p.139-148  
Capron A, et al., TRENDS in Parasitology, 2005年 3月, Vol.21, No.3, p.143-149  
Capron A, et al., Vaccine strategies against schistosomiasis: from concepts to clinica  
l trials, International Archives of Allergy and Immunology, 2001年, Vol.124, No.1-  
3, p.9-15  
Zheng X, et al., Soluble egg antigen from Schistosoma japonicum modulates the progress  
ion of chronic progressive experimental autoimmune encephalomyelitis via Th2-shift res  
ponse, Journal of Neuroimmunology, 2008年, Vol.194, No.1-2, p.107-114  
Sewell D, et al., Immunomodulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by hel

minth ova immunization, *International Immunology*, 2003年, Vol.15, No.1, p.59-69  
La Flamme AC, et al., Schistosomiasis decreases central nervous system inflammation and alters the progression of experimental autoimmune encephalomyelitis, *Infection and Immunity*, 2003年, Vol.71, No.9, p.4996-5004  
Cooke A, et al., Infection with *Schistosoma mansoni* prevents insulin dependent diabetes mellitus in non-obese diabetic mice, *Parasite Immunology*, 1999年, Vol.21, No.4, p.169-176  
Zaccone P, et al., *Schistosoma mansoni* antigens modulate the activity of the innate immune response and prevent onset of type 1 diabetes, *European Journal of Immunology*, 2003年, Vol.33, No.5, p.1439-1449  
Elliott DE, et al., Exposure to schistosome eggs protects mice from TNBS-induced colitis, *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2003年, Vol.284, No.3, p.G385-G391  
Nagayama Y, et al., *Schistosoma mansoni* and alpha-galactosylceramide: prophylactic effect of Th1 Immune suppression in a mouse model of Graves' hyperthyroidism, *The Journal of Immunology*, 2004年, Vol.173, No.3, p.2167-2173

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/00-38/58

A61K 39/00-39/44

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

PubMed

Science Direct