

(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2008-536511

(P2008-536511A)

(43) 公表日 平成20年9月11日 (2008.9.11)

|                                   |                 |             |
|-----------------------------------|-----------------|-------------|
| (51) Int. Cl.                     | F I             | テーマコード (参考) |
| <b>C 1 2 N 5/06 (2006.01)</b>     | C 1 2 N 5/00 E  | 4 B 0 6 5   |
| <b>A 6 1 K 35/14 (2006.01)</b>    | A 6 1 K 35/14 Z | 4 C 0 8 7   |
| <b>A 6 1 P 31/12 (2006.01)</b>    | A 6 1 P 31/12   |             |
| <b>A 6 1 P 31/16 (2006.01)</b>    | A 6 1 P 31/16   |             |
| <b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b>    | A 6 1 P 35/00   |             |
| 審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 11 頁) 最終頁に続く |                 |             |

(21) 出願番号 特願2008-507536 (P2008-507536)  
 (86) (22) 出願日 平成18年1月20日 (2006.1.20)  
 (85) 翻訳文提出日 平成19年10月24日 (2007.10.24)  
 (86) 国際出願番号 PCT/KR2006/000228  
 (87) 国際公開番号 W02006/112587  
 (87) 国際公開日 平成18年10月26日 (2006.10.26)  
 (31) 優先権主張番号 10-2005-0033191  
 (32) 優先日 平成17年4月21日 (2005.4.21)  
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)

(71) 出願人 506316410  
 コリア ユニバーシティ インダストリー  
 アンド アカデミー コーオペレーション  
 ファウンデーション  
 大韓民国 136-701 ソウル ソン  
 ブク-グ アナンドン5ガ 1-2  
 (74) 代理人 100082418  
 弁理士 山口 朔生  
 (72) 発明者  
 パク, ヨン, ケウン  
 大韓民国 132-010 ソウル, ドボ  
 ン-グ, ドボン-ドン, ハンシン アパー  
 トメント 122-1304

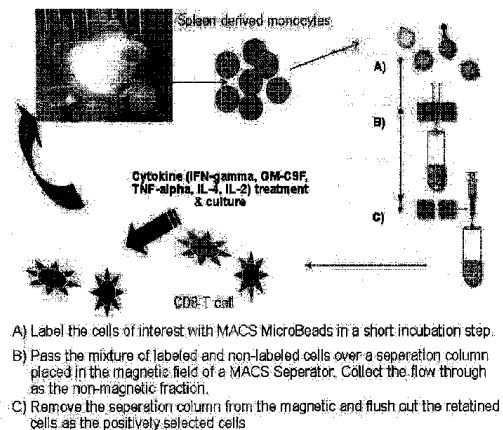
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 CD8 T細胞の活性化方法 {Method For Activating CD8 T Cells}

## (57) 【要約】

本発明は、CD8 T細胞を分離して、GM-CSF、IFN-gamma、TNF-alpha、Lectin、IL-2、及びIL-4を含むサイトカインを添加した培地で培養し、試験管内においてCD8 T細胞を活性化する方法及び当該方法にて活性化されたCD8 T細胞を含むウイルス感染疾患を予防又は治療する組成物に関する。

【選択図】 図1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

個体の生物学的試料からCD8 T細胞を分離するステップと、  
前記CD8 T細胞を、GM-CSF、IFN-gamma、TNF-alpha、Lectin、IL-2及びIL-4を含むサイトカインを添加した培地で培養するステップと、  
を含む、試験管内においてCD8 T細胞を活性化する方法。

## 【請求項 2】

生物学的試料が、血液(blood)、血漿(plasma)、リンパ節(lymph node)、脾臓(spleen)、胸腺(thymus)、または、骨髓(bone marrow)である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

サイトカインの濃度が、培地 1ml 当たり、0.05 から 0.2 µg の GM-CSF、0.5 から 2 µg の IFN-gamma、0.05 から 0.2 µg の TNF-alpha、40 から 60 µg の Lectin、0.05 から 0.2 µg の IL-2、及び、0.05 から 0.2 µg の IL-4 である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記CD8 T細胞を、1日から4日培養する、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 5】

請求項 1 に記載の方法にて活性化されたCD8 T細胞を含むウイルス感染疾患を予防又は治療する組成物。

## 【請求項 6】

ウイルスが、オルソミソビリデ科 (Orthomyxoviridae) である請求項 5 に記載の組成物。

## 【請求項 7】

ウイルスが、インフルエンザウイルス A(Influenzavirus A)、インフルエンザウイルス B(Influenzavirus B)、または、インフルエンザウイルス C(Influenzavirus C) である請求項 6 に記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、CD8 T細胞を分離して、GM-CSF、IFN-gamma、TNF-alpha、Lectin、IL-2及びIL-4を含むサイトカインを添加した培地で培養して、試験管内においてCD8 T細胞を活性化する方法及び当該方法にて活性化されたCD8 T細胞を含むウイルス感染疾患を予防又は治療する組成物に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

インフルエンザは病原性ウイルスで毒感(influenza)の原因菌である。このウイルスの病理学的特性の上細胞内で寄生するこの病原菌は細胞内寄生後に体細胞を破壊しながら繁殖する生活史を持つ。

体細胞内に寄生するウイルスの特性の上ウイルスに直接的に治療効果を見せてくれる薬は開発されていることができない。ウイルスが伴う寒気、嘔吐、発熱などを抑制する補助制で症状を緩和した後自然免疫係による治療効果を期待する実情である。

## 【0003】

比較的最近開発された鼻粘膜に直接投与するアヨンゼルスプレー方式のような場合ウイルスに対する直接的治療効果よりはインフルエンザウイルスなどが細胞にくっつくことができないように阻む効果で治療効果を誘導している。

新しい治療剤の一分野として、免疫細胞などを細胞治療剤に用いる方法が研究されており、このような治療法は、特定の個体から分離した免疫細胞を活性化して患者に直接投与する。このような細胞治療法では、APC細胞、特定の抗原などで活性化した細胞を用いた。

## 【0004】

このような背景下で、本発明者は、GM-CSF、IFN-gamma、TNF-alpha、Lectin、IL-2及びIL-4の配合物がCD8 T細胞を相乗的に活性化し、このように活性化されたCD8 T細胞が、ウイルス感染を効果的に治療し、また、再感染に対する予防効果を持つことを確認し、本発明を完成した。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明の一つの目的は、個体の生物学的試料からCD8 T細胞を分離するステップと、前記CD8 T細胞をGM-CSF、IFN-gamma、TNF-alpha、Lectin、IL-2及びIL-4を含むサイトカインを添加した培地で培養するステップと、を含む、試験管内においてCD8 T細胞を活性化する方法を提供することにある。

10

本発明のもう一つの目的は、上記の方法にて活性化されたCD8 T細胞を含むウイルス感染疾患を予防又は治療する組成物を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0006】

一つの様態として、本発明は、個体の生物学的試料からCD8 T細胞を分離するステップと、前記CD8 T細胞をGM-CSF、IFN-gamma、TNF-alpha、Lectin、IL-2及びIL-4を含むサイトカインを添加した培地で培養するステップと、を含む、試験管内においてCD8 T細胞を活性化する方法を提供するものである。

【0007】

20

T細胞は、免疫反応に関与する細胞であり、特定の細胞表面マーカー(cell surface marker)を発現するT細胞集団(population)を意味する。本発明は、T細胞集団の中で、CD8表面マーカーを有するT細胞だけを分離して使用しようとする。CD8抗原を有するCD8 T細胞には、Tc細胞(cytotoxic T T細胞)がある。Tc細胞は、ターゲット細胞を溶解することができる細胞でウイルス感染された細胞及び癌細胞などを直接的にとり除く役目をする。また、CD8抗原を有するCD8 T細胞には、Ts細胞(suppressor T細胞)がある。

【0008】

本発明において、用語“個体(subject)”とは、T細胞を含む単核細胞を提供する提供者(donor)であり、血管系(vascular system)及び造血細胞(hematopoietic cell)を有する有機体が全部含まれ得るし、望ましくは、人間と、牛、馬、羊、豚、山羊、駱駝、かもしか、犬、マウスなどの脊椎動物である。

30

【0009】

T細胞、より具体的に、CD8 T細胞は、個体の単核細胞(mononuclear cell)を含む様々な生物学的試料、例えば、血液(blood)、血漿(plasma)、リンパ節(lymph node)、脾臓(spleen)、胸腺(thymus)、骨髄(bone marrow)などから分離できる。

【0010】

T細胞を分離する方法は、特別に制限されない。例えば、細胞密度(cell density)、細胞表面エピトープに対する抗体親和度、細胞の大きさ(cell size)、蛍光放出(fluorescent emission)程度に依存して分離することができる。具体的に、アルブミン(albumin)、デキストラン(dextran)、フィコール(Ficoll)、メトリザミド(metrizamid)、パーコール(Percoll)などを用いる密度勾配遠心分離(density gradient centrifugation)方法が、抗体を用いる方法には、MACS(magnetic activated cell sorter)などの方法が、細胞の大きさを用いる方法には、centrifugal elutriationなどの方法が、蛍光を用いる方法には、FACS等の方法がある。本発明では、単核細胞からCD8 T細胞だけを分離するために、抗-CD8 T細胞抗体を用いてMACSを施した。

40

【0011】

分離したCD8 T細胞は、通常の方法にて培養され、試験管内(invitro)において活性化される。培養に使われる培地は、一般的に、細胞の成長と生存に必須な栄養素を含有する。前記培地は、様々な炭素原、窒素原及び微量の元素成分を含む。また、望ましくは、血清を含む培地である。具体的に、DMEM、RPMIのような培地を使用することができる。

50

## 【0012】

本発明において、用語“T細胞の活性化”とは、免疫反応を担当できるように刺激を与えることを意味し、様々な信号により活性化できる。本発明の目的上、T細胞の活性化は、CD8T細胞の活性化を意味する。

## 【0013】

本発明者は、CD8T細胞の活性化に、前記GM-CSF、IFN-gamma、TNF-alpha、Lectin、IL-2及びIL-4の配合物が相乗的に(synergistically)作用することを確認した。具体的に、インフルエンザウイルス A(Influenzavirus A)に感染される場合に100%死亡するマウスを、前記の方法のサイトカインを用いて活性化されたCD8 T細胞で処理する場合、60%の生存率を見せることが確認できた。しかしながら、CD4 T細胞を投与する場合は、死亡時期だけ延ばすだけ生存率には何らの影響を及ぼすことができなかった。このような結果から、CD8 T細胞が、オルソミソビリデ(Orthomyxoviridae)科に属するウイルス感染治療に非常に効果的であることが分かる。また、CD8 T細胞の投与によって生存したマウスが、インフルエンザウイルスの感染に対して、100%の予防効果を持つことから、本発明のCD8 T細胞が、優れているワクチン効果を持っていることが分かる。

## 【0014】

配合物において、各々のサイトカイン濃度は、望ましくは、培地1ml当たり、0.05から0.2 µgのGM-CSF、0.5から2 µgのIFN-gamma、0.05から0.2 µgのTNF-alpha、40から60 µgのLectin、0.05から0.2 µgのIL-2 及び0.05から0.2 µgのIL-4である。

## 【0015】

上記のGM-CSF、IFN-gamma、TNF-alpha、Lectin、IL-2及びIL-4は、様々な個体に由来する野生型であるか、あるいは、野生型の生物学的活性を保持するこれらの断片、または、変移体であることができる。

## 【0016】

前記サイトカイン配合物は、CD8 T細胞を活性化するための追加の成分を含むことができ、このような成分の例には、IL-12、TLT3-ligand、LPS(Lipopolysaccharide)などがある。

## 【0017】

前記サイトカイン配合物は、CD8 T細胞を活性化する有効量内において、これを細胞培養液に添加する方法、時期、添加回数に特に制限されない。分離したCD8 T細胞を培養と同時に添加することもでき、細胞培養の後、一定の時間的な間隔において添加することもできる。また、有効量内において単一投与することもでき、何回も多重添加することもできる。なお、サイトカインの各々が添加される時期も調節できる。望ましくは、あらゆるサイトカインを細胞培養と同時に単一処理するものである。サイトカインを添加した後、培地で1日から4日培養することが望ましい。

## 【0018】

本発明は、毒性が殆どない細胞治療の効率を決定付ける重要な要素であるCD8 T細胞活性を誘導する簡単でかつ効果的な方法を提供する。前記方法により活性を持つようになったCD8 T細胞は、様々な用途の癌、ウイルス感染及び免疫疾患治療のための生物学的製剤として使用されることができる。

更に他の様態として、本発明は、上記の方法にて活性化されたCD8 T細胞を含むウイルス感染疾患を予防又は治療する組成物に関する。

更に他の様態として、本発明は、上記の方法にて活性化されたCD8 T細胞をウイルス感染された患者に投与して、ウイルス感染疾患を予防又は治療する方法に関する。

## 【0019】

本発明において、用語“予防”とは、活性化されたCD8 T細胞の投与により、ウイルス感染を抑制したり、発病を遅延したりするあらゆる行為を意味する。

本発明において、用語“治療”とは、活性化されたCD8 T細胞の投与により、ウイルス感染による疾患症状が好転したり、有益に変更されるあらゆる行為を意味する。

## 【0020】

本発明において、用語“患者”とは、活性化されたCD8 T細胞の投与により、症状が好転できるウイルス感染疾患を有した人間と、牛、馬、羊、豚、山羊、駱駝、かもしか、犬などの動物を意味する。GM-CSF、IFN-gamma、TNF-alpha、Lectin、IL-2及びIL-4のサイトカイン配合物により活性化されたCD8 T細胞を患者に投与することによって、ウイルス感染疾患を効果的に予防又は治療することができる。

## 【0021】

本発明の方法にて活性化されたCD8 T細胞は、既存の抗ウイルス活性を持つ物質と組み合わせ投与することができる。前記CD8 T細胞を投与することによって、ウイルス感染された細胞を効果的に除去することで、抗ウイルス活性を持つようになる。

10

## 【0022】

本発明の方法にて活性化されたCD8 T細胞の投与により治療できるウイルス感染疾患は、特別に制限されないが、望ましくは、オルソミソビリデ(Orthomyxoviridae)科に属するウイルス感染により誘発された疾患である。オルソミソビリデ(Orthomyxoviridae)科には、インフルエンザウイルス A(Influenzavirus A)、インフルエンザウイルス B(Influenza virus B)、インフルエンザウイルス C(Influenzavirus C)、ソゴトウイルス(Thogotovirus)、及び、イザウイルス(Isovirus)などがある。より望ましくは、インフルエンザウイルス A、インフルエンザウイルス B、または、インフルエンザウイルス Cの感染により誘発された疾患である。

20

## 【0023】

前記CD8 T細胞の投与経路は、目的の組織に到達できる限り、ある一般的な経路を介して投与することができる。非経口投与、例えば、腹腔内投与、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、血内投与することができるが、これに制限されない。前記組成物は、活性物質が標的の細胞に移動できる任意の装置により投与することができる。

## 【0024】

前記組成物は、細胞治療に一般的に使われる薬剤学的担体と一緒に投与することができ、このような担体として、生理学的食塩水が挙げられる。

## 【0025】

本発明のCD8 T細胞は、治療学的に有効な量に投与する。

用語“治療学的に有効な量(therapeutically effective amount)”は、医学的治療に適用可能な合理的な受患/危険の割合で疾患を治療するに十分な量を意味し、有効量は、疾病の重症度、年齢、性別、投与時間、投与経路及び排出比率、治療期間、同時に使われる薬物を含む要素と、その他医学分野によく知られている要素とによって決定できる。前記要素を全て考慮して、副作用無く、最小限の量で最大の効果が得られる量を投与することが重要であり、当業者により容易に決定することができ、例えば、成人の基準に、1回1mgから1000mgの本発明のCD8 T細胞を投与することができる。

30

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0026】

以下、実施例に基づいて、本発明をより詳細に説明することにする。これらの実施例は、単に本発明を例示するためのものであるので、本発明の範囲が、これらの実施例により制限されると解析されないはずである。

40

## 【実施例】

## 【0027】

実施例1：インフルエンザウイルス感染症を抑制するためのCD4 T細胞の製造

マウス(BALB/c、SLC Japan)の脾臓を取り出して、セル・グラインダー(cell grinder)で破碎した。破碎された細胞を、RPMI培地状態で1500rpmに遠心分離した後、RBC lysing buffer(Sigma、USA)10mlを加えて、常温で10分間反応させた。1500rpmに遠心分離した後、RPMI培地10mlで3回交換して、赤血球を除去した。得られた単核免疫細胞から、抗-CD8 T細胞抗体を使用して、MACS方法を用いて、CD8 T細胞を分離した。分離されたCD8 T細胞を、サイトカイン及び10%FBSを含むRPMI培地に入れて、48時間培養

50

した。

添加されるサイトカインの量は、培地 1 ml 当たり、GM-CSF 0.1  $\mu$ g、IFN-gamma 1  $\mu$ g、TNF-alpha 0.1  $\mu$ g、Lectin 50  $\mu$ g、IL-2 及び 0.1  $\mu$ g、IL-4 0.1  $\mu$ g になるようにした。培養された細胞を収集し、これを、PBS に懸濁して、細胞治療剤に使用した。図 1 は、個体から CD8 T Cell を分離して活性化する過程を示した模式図である。

#### 【0028】

##### 実施例 2: マウスモデルにおいて、インフルエンザ感染後の細胞治療剤による効果分析

1  $\times$  10<sup>4</sup> のインフルエンザウイルス (Influenza A virus A/PR/8/34; 延世大学校ソングバックリン教授から提供) をマウスに気管支内で投与して、ウイルス感染を誘発した。実施例 1 の方法にて活性化した CD8 T 細胞を、PBS 溶液に 1  $\times$  10<sup>6</sup> になるように懸濁させ、インフルエンザウイルスに感染されたマウスに静脈注射した。

マウスの生存率を、PBS だけを投与した対照郡マウス、細胞株マクロファージ、または、CD4 T 細胞を投与した実験郡マウスと比較した (表 1)。

#### 【0029】

【表 1】

| Day | Control<br>(生存マウス/<br>全体) | Macrophage<br>(生存マウス/<br>全体) | CD4 T cell<br>(生存マウス/<br>全体) | CD8 T cell<br>(生存マウス/<br>全体) |
|-----|---------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 2   | 10/10                     | 10/10                        | 10/10                        | 10/10                        |
| 4   | 8/10                      | 10/10                        | 10/10                        | 10/10                        |
| 8   | 2/10                      | 10/10                        | 10/10                        | 10/10                        |
| 10  | 0/10                      | 6/10                         | 8/10                         | 10/10                        |
| 12  | 0/10                      | 0/10                         | 7/10                         | 9/10                         |
| 14  | 0/10                      | 0/10                         | 2/10                         | 9/10                         |
| 16  | 0/10                      | 0/10                         | 2/10                         | 9/10                         |

#### 【0030】

図 2 は、インフルエンザウイルス感染症が誘発されたマウスに対して様々な細胞を投与して、その効果を比較した結果である。活性化された CD8 T 細胞を、インフルエンザウイルスが感染されたマウスに投与する場合、マウスの生存率が増加することが確認できた。

#### 【0031】

##### 実施例 3: マウスモデルにおいて、インフルエンザウイルス感染症に対する細胞治療剤のワクチン効果の分析

ウイルスの感染後、実施例 1 の方法にて活性化された CD8 T 細胞を処理して生存したマウス郡 (6 匹) に対して、1  $\times$  10<sup>4</sup> のインフルエンザウイルスを気管支内投与して、感染を誘導した後、インフルエンザウイルスが感染されることがなく、また、PBS だけが投与されたマウスに、上記と同様に、インフルエンザウイルスを投与した対照郡 (6 匹) との生存率の比較によって、CD8 T 細胞の投与によるワクチン効果を見てみた。

#### 【0032】

図 3 は、活性化された CD8 T 細胞を投与して生存したマウスに対して 病原性ウイルスを感染させた後、ワクチン効果が現れるかを検証した結果である。その結果、CD8 T 細胞の投与によって生存したマウスは、インフルエンザウイルスの在感染に対して、100% の予防効果を持つことが分かった。

#### 【0033】

##### 実施例 4: サルモネラ菌株に対する抗原抗体反応の分析

細胞治療剤によるワクチン効果を測定するために、細胞治療の後、生存したマウスの血液を分離した。眼球から抽出したマウスの血液は、3000 rpm に遠心分離して、血清を収得した。収得された血清に対して、抗原であるサルモネラ菌株に対する特異的な抗体反応

の程度を、ELISA技法を使用して確認した。

図4は、活性化されたCD8 T細胞を投与して生存したマウスから取得された血清のサルモネラ菌株に対する抗原抗体反応の結果である。図4によれば、CD8 T Cellにより治療されたマウスの場合、治療しなかったマウスに比べて、7倍程更に敏感なサルモネラに対する抗体反応(total IgG)を示すことが確認できた。同時に、粘膜免疫の指標として使用されるIgMを測定した結果も、正常マウスに比べて、治療されたマウスの場合、抗体反応の程度が上がったことを確認した。これは、細胞治療剤を通じて治療されたマウスから、サルモネラ菌株に対する特異的な抗体反応が誘導され得ることを示すものである。

【0034】

本発明の方法にて活性化されたCD8 T細胞は、インフルエンザウイルスなどのウイルス感染疾患を効果的に予防又は治療することができる。

【図面の簡単な説明】

【0035】

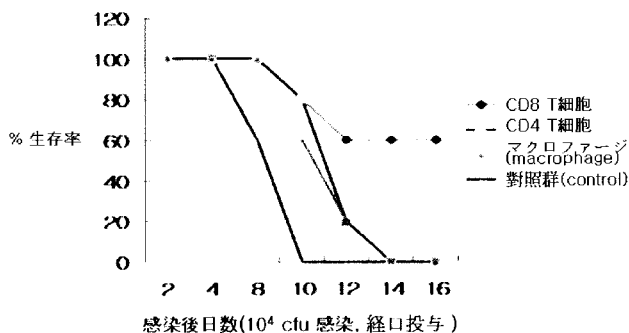
【図1】個体からCD8 T Cellを分離して活性化する過程を示した模式図である。

【図2】インフルエンザ感染症が誘発されたマウスに対して様々な細胞を投与して、その効果を比較した結果である。

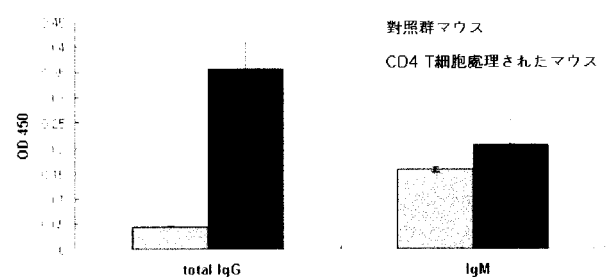
【図3】活性化されたCD8 T細胞を投与して生存したマウスに対して病原性ウイルスを感染させた後、ワクチン効果が現れるかを検証した結果である。

【図4】活性化されたCD8 T細胞を投与して生存したマウスから取得した血清のサルモネラ菌株に対する抗原抗体反応の結果である。

【図2】



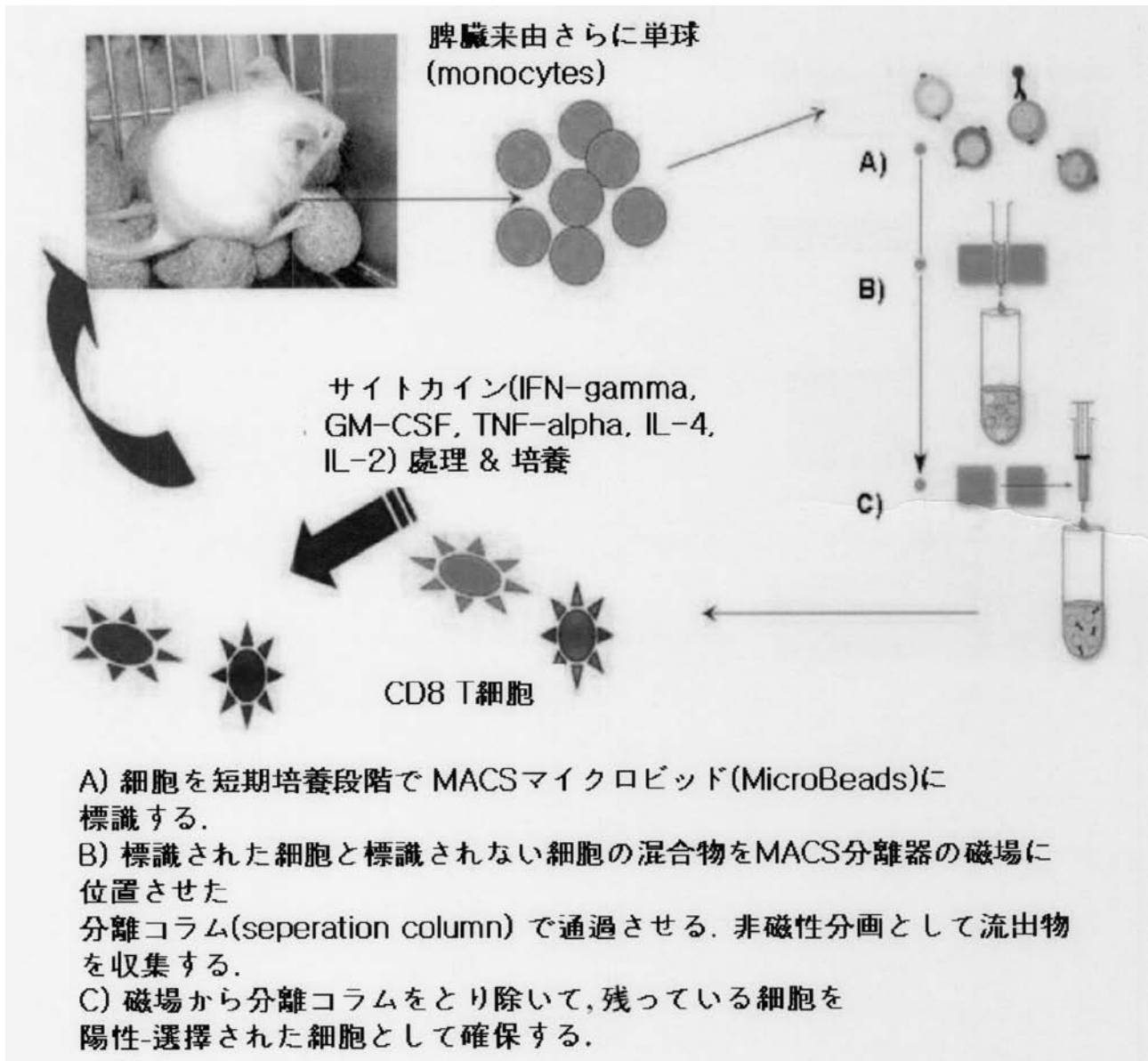
【図4】



【図3】



【図 1】



## 【国際調査報告】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                  | International application No.<br>PCT/KR2006/000228                                                                                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| <i>C12N 5/06(2006.01)i</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| C12N 5/06(2006.01)i                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| Korean Patents and applications for inventions since 1975                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| Korean Utility models and applications for Utility models since 1975                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| Japanese Utility models and application for Utility models since 1975                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| eKIPASS, PubMed, Delphion                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| Category*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                               | Relevant to claim No.                                                                                                                                        |
| X<br>----<br>A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Lawrence, C.W. and Braciale, T.J. 'Activation, Differentiation, and Migration of Naive Virus-Specific CD8+ T Cells during Pulmonary Influenza Virus Infection' In: J. Immunology, Vol.173, pp.1209-1218, 15 July 2004<br>See the whole document. | 5-7<br>-----<br>1-4                                                                                                                                          |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | US 2003/0224520 A1 (The Trustees of the University of Pennsylvania) 4 December 2003<br>See the whole document.                                                                                                                                   | 1-7                                                                                                                                                          |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | US 2003/0039628 A1 (Kristoffer Hellstrand et al.) 27 February 2003<br>See the whole document.                                                                                                                                                    | 1-7                                                                                                                                                          |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | US 6,498,006 B2 (Johnson T. Wong) 24 December 2002<br>See the whole document.                                                                                                                                                                    | 1-7                                                                                                                                                          |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| <p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p> |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                              |
| Date of the actual completion of the international search<br>21 APRIL 2006 (21.04.2006)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                  | Date of mailing of the international search report<br><b>24 APRIL 2006 (24.04.2006)</b>                                                                      |
| Name and mailing address of the ISA/KR<br> Korean Intellectual Property Office<br>920 Dunsan-dong, Seo-gu, Daejeon 302-701,<br>Republic of Korea<br>Facsimile No. 82-42-472-7140                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  | Authorized officer<br>LEE, CHUNG HO<br>Telephone No. 82-42-481-8160<br> |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2006/000228

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------|---------------------|
| US20030224520A1                           | 04. 12. 2003        | US2003224520A1             | 04. 12. 2003        |
|                                           |                     | US2003224520AA             | 04. 12. 2003        |
|                                           |                     | US2004101519A1             | 27. 05. 2004        |
|                                           |                     | US2004101519AA             | 27. 05. 2004        |
|                                           |                     | US2004110290A1             | 10. 06. 2004        |
|                                           |                     | US2004110290AA             | 10. 06. 2004        |
| <hr/>                                     |                     |                            |                     |
| US20030039628A1                           | 27. 02. 2003        | US2003039628A1             | 27. 02. 2003        |
|                                           |                     | US2003039628AA             | 27. 02. 2003        |
| <hr/>                                     |                     |                            |                     |
| US06498006B2                              | 24. 12. 2002        | US20010006776A1            | 05. 07. 2001        |
|                                           |                     | US20010006776A1            | 05. 07. 2001        |
|                                           |                     | US20010006776AA            | 05. 07. 2001        |
|                                           |                     | US2002094333AA             | 18. 07. 2002        |
|                                           |                     | US2003108942AA             | 12. 06. 2003        |
|                                           |                     | US2005208049AA             | 22. 09. 2005        |
|                                           |                     | US6498006BB                | 24. 12. 2002        |
|                                           |                     | US6514758BB                | 04. 02. 2003        |
|                                           |                     | US6893813BB                | 17. 05. 2005        |

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 37/04 (2006.01) A 6 1 P 37/04

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),  
EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,  
BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,  
CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KZ,LC,LK,LR,L  
S,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SY,TJ  
,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ユーン, ウォン, サック  
大韓民国 1 3 9-2 4 1 ソウル, ノウォン-グ, ゴンネン 1-ドン, 5 9 0-1, ヒュンダ  
イ アパートメント 1 0 1-2 0 2

Fターム(参考) 4B065 AA91X BA30 BB19 CA44  
4C087 AA01 AA02 BB37 DA18 DA31 DA32 NA01 NA14 ZB09 ZB26  
ZB33