



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 201733599 A

(43) 公開日：中華民國 106 (2017) 年 10 月 01 日

(21) 申請案號：106105119 (22) 申請日：中華民國 106 (2017) 年 02 月 16 日
(51) Int. Cl. : A61K35/17 (2015.01) A61P29/00 (2006.01)
(30) 優先權：2016/02/17 日本 2016-028090
(71) 申請人：醫療法人社團混志會 (日本) KOSHIKAI, NON-PROFIT MEDICAL CORPORATION
(JP)
日本
邁世耐特股份有限公司 (日本) MEDINET CO., LTD. (JP)
日本
(72) 發明人：後藤重則 GOTO, SHIGENORI (JP) ; 木村佳司 KIMURA, YOSHIJI (JP)
(74) 代理人：林志剛
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：29 項 圖式數：0 共 23 頁

(54) 名稱

以發炎性疾病為對象之醫藥

MEDICINES FOR INFLAMMATORY DISEASES

(57) 摘要

本發明之課題係在於提供發炎性疾病之治療，尤其是潰瘍性大腸炎之症狀減輕方法、以及用於該等之醫藥。

亦將免疫細胞療法應用於發炎性疾病的患者。

發明摘要

※申請案號：106105119

※申請日：106年02月16日

※IPC分類：**A61K 35/17**(2015.01)
A61P 29/00(2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

以發炎性疾病為對象之醫藥

Medicines for inflammatory diseases

【中文】

本發明之課題係在於提供發炎性疾病之治療，尤其是潰瘍性大腸炎之症狀減輕方法、以及用於該等之醫藥。

亦將免疫細胞療法應用於發炎性疾病的患者。

【英文】

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

發明專利說明書

(本申請書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

以發炎性疾病為對象之醫藥

Medicines for inflammatory diseases

【技術領域】

[0001] 本發明係關於以發炎性疾病為對象之醫藥。

【先前技術】

[0002] 目前，作為癌免疫細胞治療，係盛行 1) 樹狀細胞疫苗療法、2) NK 細胞療法、3) $\gamma\delta$ T 細胞療法、4) $\alpha\beta$ T 細胞療法、5) 細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 療法等 (專利文獻 1 及非專利文獻 1)。

[0003] 所謂的樹狀細胞疫苗療法，係使自末梢血液中之單球分化出之樹狀細胞 (Dendritic Cells: DC) 吞噬成為其標的之癌細胞並送回至體內，使其作為擔負將癌或病原體的標記 (抗原) 傳遞至具傷害癌細胞之能力的細胞 (主要為 T 細胞) 或持有抗體產生機能的 B 細胞之角色之「抗原提呈細胞 (Antigen Presenting Cell: APC)」而發揮功能，藉此治療癌之方法。

[0004] 所謂的 NK (Natural Killer) 細胞療法，係使用 IL-2 等複數刺激物質使末梢血液中所包含之 NK 細胞等傷害異常細胞之能力較高的細胞活化、增殖並送回至體

內，而治療癌之方法。NK 細胞為擔負自然免疫系統之淋巴球之 1 種，其具有較強的細胞傷害能力，特定而言，具有識別並殺傷 MHC class I 分子表現降低或消失的細胞之機制、以及作為抗體依存性細胞傷害（ADCC）中之主要的效應細胞而發揮功能等，因而對拒絕腫瘤細胞或病毒感染細胞而言屬重要的細胞。

[0005] $\gamma\delta$ T 細胞為擔負被稱為淋巴球壓力（細胞傷害）監視機制（lymphoid stress-surveillance）之生體防禦反應之中心性細胞，所謂的 $\gamma\delta$ T 細胞療法，係使自患者採血而得之末梢血液中少量存在（1~5%）之持有 $\gamma\delta$ 型 T 細胞受體（ $V\gamma 9V\delta 2$ 受體）之 $\gamma\delta$ T 細胞選擇性地增殖，並送回至體內之治療法。 $\gamma\delta$ T 細胞可獲得在不依存於 $\alpha\beta$ T 細胞所識別之「抗原」之情形下，藉由識別在癌細胞表面比較共通表現之分子等而殺傷癌之「抗原非特異性」抗腫瘤效果。

[0006] 所謂的 $\alpha\beta$ T 細胞療法，係將末梢血液中所包含之淋巴球使用介白素-2（IL-2）及抗 CD3 抗體進行培養約 2 週，使其整體活化/增殖之後送回至體內之治療法。末梢血液之 T 淋巴球多半為持有 $\alpha\beta$ 型 T 細胞受體（T Cell Receptor: TCR）之 $\alpha\beta$ T 細胞，即是說經增殖之細胞多數亦為 $\alpha\beta$ T 細胞。 $\alpha\beta$ T 細胞係由上述樹狀細胞等提呈抗原，並對持有該抗原之細胞加以攻擊。

[0007] 細胞傷害性 T 細胞（CTL）療法為藉由在體外使用癌細胞刺激末梢血液單核球中之 T 細胞而誘導細胞

傷害性 T 細胞 (CTL)，並送回至體內之治療法。癌細胞本身係扮演作為抗原提呈細胞 (APC) 之角色，能夠有效率地增加持有對自身的癌之攻擊能力之細胞傷害性 T 細胞 (CTL)。

[0008] 免疫細胞治療相較於以往的外科治療、放射線治療、化學治療之三大療法而言具有幾乎無副作用之優點，已作為第 4 種癌治療法對實際的肺癌患者當作先進醫療進行施用。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

[0009]

[專利文獻 1] 國際公開第 2006/006720 號小冊

[0010]

[非專利文獻 1] MEDINET 網頁

<http://www.medinet->

[inc.co.jp/english/service/technology.html](http://www.medinet-inc.co.jp/english/service/technology.html)

【發明內容】

[發明所欲解決之課題]

[0011] 作為本案發明者之醫師等人為將上述癌免疫細胞療法實際施用於患者之臨床醫師等人。本案發明者等人進行經施行癌免疫療法之患者的症狀的經時觀察之後，發現潰瘍性大腸炎發病之患者的症狀係緩和減輕。

即，本案發明之目的為免疫細胞治療之另一用途，擴

大適應症至發炎性疾病，特定而言，潰瘍性大腸炎。

[解決課題之手段]

[0012] 所謂的發炎性疾病，係指伴隨著發炎性細胞介素的過剩生成之疾病。作為發炎性細胞介素，有 IL-1、IL-6、IL-8、IL-12、IL-18、腫瘤壞死因子 (TNF α/β) 等。

從而，所謂的發炎性疾病，雖然並不限定於此，但克隆氏症 (Crohn's disease)、類風濕性關節炎、乾癬 (包含尋常性乾癬、關節症性乾癬、膿疱性乾癬、乾癬性紅皮症)、強直性脊椎炎、潰瘍性大腸炎、貝西氏症 (Behcet's disease) 所引發之難治性網膜葡萄膜炎等係符合於此。

[0013] 所謂的發炎性腸疾病 (IBD: inflammatory bowel disease)，係包含克隆氏症及潰瘍性大腸炎，其係以引起下痢及腹痛之消化管各部的慢性發炎為特徵之反覆復發及緩解之病態。

發炎係由於消化管黏膜中之細胞性免疫反應而產生。針對病因雖不明，但在免疫反應中，係牽涉到細胞介素、介白素、腫瘤壞死因子 (TNF)、及脂質媒介物等發炎媒介物的釋放。

[0014]

< 潰瘍性大腸炎 >

所謂的潰瘍性大腸炎 (UC: Ulcerative colitis)，係

在大腸的黏膜中出現糜爛或潰瘍之大腸的發炎性疾病。作為特徵性症狀，係發生伴隨著或未伴隨著下血之下痢及腹痛。病變有從直腸連續性地並且上行性地擴展之性質，最大從直腸擴展至結腸整體。潰瘍性大腸炎係藉由病變的擴展或經過而如下述般加以分類。

- 1) 經由病變的擴展之分類：全大腸炎、左側大腸炎、直腸炎
- 2) 病期之分類：活動期、緩解期
- 3) 經由重症度之分類：輕症、中等症、重症、激症
- 4) 經由臨床經過之分類：再燃緩解型、慢性持續型、急性激症型、初次發作型

[0015] 日本的潰瘍性大腸炎的患者數為約 16 萬人，從年幼者至高齡者皆會發病，看不出性別所造成之差異。關於潰瘍性大腸炎的原因，一般認為自體免疫反應的異常或飲食生活等為原因，但目前仍不明。

[0016] 若潰瘍性大腸炎發病，則可看出下痢或血便，有時伴隨著痙攣性或持續性腹痛。若演變成重症，則會發生發熱、體重減少、貧血等全身症狀。此外，有時亦會出現皮膚的症狀、關節或眼部的症狀作為腸管以外之併發症。

[0017] 對於潰瘍性大腸炎，可藉由例如 5-胺基水楊酸藥（5-ASA）製藥的經口/從直腸投予、腎上腺皮質類固醇藥、血球成分去除療法、免疫調節藥/抑制藥、抗 TNF α 受體拮抗藥、抗 TNF α 抗體等內部治療法抑制腸的發炎而

改善症狀，但導致完全治好之方法並不存在。在於內科治療下症狀並未改善之情況，有時亦施行大腸全摘術等外科治療。

[0018] 由於一般認為起因於細胞性免疫反應，故除了上述藥物療法/外科療法以外，亦使用血球成分去除療法（CAP 療法）等作為非藥物療法之治療法。舉例而言，對於重症激症患者及難治性患者，亦應用去除顆粒球、單球之 GCAP 療法，對於類固醇治療抵抗性患者，亦應用白血球（顆粒球、單球及淋巴球）去除療法（LCAP 療法）等，儘管取得一定的成果，但尚未確立普遍有效的治療法，而被指定為日本厚生勞動省的特定醫療疾病。

[0019] 本案發明者等人係除了經施行上述免疫細胞療法之患者的經時觀察以外，尚施行生化學參數的驗證，確認藉由與上述血球成分去除療法相反地將在體外增殖之免疫細胞送回至患者之免疫細胞療法，確實達到發炎性腸疾病的症狀的減輕緩和，遂完成本案發明。

[0020] 從而，關於本發明，本發明之構成係如以下[1]至[29]。

[1]一種發炎性疾病治療用或預防用醫藥組成物，其係包含免疫細胞；

[2]如[1]之醫藥組成物，其中，免疫細胞為淋巴球；

[3]如[1]之醫藥組成物，其中，免疫細胞為經培養之淋巴球；

[4]如[3]之醫藥組成物，其中，淋巴球係以 $\alpha\beta T$ 細

胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NK 細胞或 $CD16^+$ 及/或 $CD56^+$ 細胞之任一者作為主成分；

[5]如[1]之醫藥組成物，其中，免疫細胞係源自末梢血液單核球；

[6]如[1]~[5]中任一項之醫藥組成物，其中，發炎性疾病為發炎性腸疾病；

[7]如[6]之醫藥組成物，其中，發炎性腸疾病為潰瘍性大腸炎；

[8]如[1]~[7]中任一項之醫藥組成物，其係與 $TNF\alpha$ 阻礙劑的投予共同地或接續地進行投予。

[9]如[8]之醫藥組成物，其中， $TNF\alpha$ 阻礙劑為抗 $TNF\alpha$ 抗體。

[0021] [10]一種經單離之免疫細胞之用途，其係用於製造發炎性疾病治療用或預防用醫藥；

[11]如[10]之用途，其中，免疫細胞為經單離之淋巴球；

[12]如[11]之用途，其中，免疫細胞為經單離後，經培養之淋巴球；

[13]如[12]之用途，其中，淋巴球係以 $\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NK 細胞或 $CD16^+$ 及/或 $CD56^+$ 細胞之任一者作為主成分；

[14]如[10]之用途，其中，免疫細胞係源自末梢血液單核球；

[15]如[10]~[14]中任一項之使用，其中，發炎性疾病

為發炎性腸疾病；

[16]如[15]之用途，其中，發炎性腸疾病為潰瘍性大腸炎。

[0022] [17]一種發炎性疾病之治療或預防方法，其係包含將經單離之免疫細胞投予至患者；

[18]如[17]之方法，其中，免疫細胞為淋巴球；

[19]如[17]之方法，其中，免疫細胞為經培養之淋巴球；

[20]如[19]之方法，其中，淋巴球係以 $\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NK 細胞或 $CD16^+$ 及/或 $CD56^+$ 細胞之任一者作為主成分；

[21]如[17]之方法，其中，免疫細胞係源自末梢血液單核球；

[22]如[17]~[21]中任一項之方法，其中，發炎性疾病為發炎性腸疾病；

[23]如[22]之方法，其中，發炎性腸疾病為潰瘍性大腸炎。

[0023] [24]一種發炎性疾病之治療或預防方法，其係包含

- 1) 自患者單離出末梢血液單核球之步驟、
- 2) 將末梢血液單核球進行培養而獲得免疫細胞之步驟、以及

- 3) 將所獲得之免疫細胞投予至患者之步驟；

[25]如[24]之方法，其中，免疫細胞為淋巴球；

[26]如[25]之方法，其中，淋巴球係以 $\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NK 細胞或 $CD16^+$ 及/或 $CD56^+$ 細胞之任一者作為主成分；

[27]如[24]~[26]中任一項之方法，其中，發炎性疾病為發炎性腸疾病；

[28]如[27]之方法，其中，發炎性腸疾病為潰瘍性大腸炎。

[0024] [29]一種發炎性腸疾病治療劑或預防劑之製造方法，其係包括將所採取之末梢血液單核球進行培養而取得組成物所成，且該治療劑或預防劑係以該組成物作為有效成分。

[發明效果]

[0025] 藉由使用本案發明，便能夠施行患者之 QOL (Quality of Life) 較高的發炎性疾病的治療、發炎的減輕緩和。

【實施方式】

[0026] 以下，針對用於實施本發明之形態進行說明。

< 免疫細胞調製的準備 >

首先，準備成為免疫細胞的細胞源之末梢血液單核球 (PBMCs)。在此處所謂的 PBMCs，係意味自末梢血液

分離出之包含淋巴球（NK 細胞、NKT 細胞、 $\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞等）、單球等之細胞集團。準備 PBMCs 之方法並無特別限定。舉例而言，將藉由採血所獲得之末梢血液藉由密度梯度離心法進行分離，便可獲得 PBMCs。一次採血量只要因應免疫細胞療法的種類及施行治療之患者而適宜設定即可，例如為 20~75mL 左右。

此外，在需要確保大量的細胞之情況，藉由使用成分採血裝置採取單核球成分，便能夠直接取得 PBMCs。

[0027] 所採取之 PBMCs 係懸浮於培養液（培養基）中，因應欲增殖或活化之免疫細胞的種類，添加細胞介素等並施行培養。所謂的培養，係包含以淋巴球等細胞的增殖、活化或加工為目的而實施之步驟。

[0028] 使 PBMCs 懸浮之培養液的種類只要是可使免疫細胞增殖，即無特別限定。作為該種培養液之例，可列舉 AIM-V 培養基、RPMI-1640 培養基、Dulbecco 改良 Eagle 培養基（DMEM）、Iscove 培養基等。在此等培養液中亦可視需要添加血清。作為所添加之血清之例，可列舉自體血漿。

[0029] PBMCs 之培養條件只要是可使免疫細胞增殖及活化，即無特別限定。通常只要在 34~38℃（較佳為 37℃）且 2~10%（較佳為 5%）CO₂ 條件下，培養 7~20 日左右即可。此時，因應所培養之細胞數，適宜追加培養液。再者，配合培養液量的增加，適宜追加 IL-2 等。

[0030]

< NK 細胞之製造方法 >

在製造 NK 細胞之情況，一般為將抗 CD16 抗體等在 NK 細胞中特異性表現之分子之促效劑、或 IL-2 等添加至培養基中並進行培養之方法（例如日本專利 4275680 等）。作為本發明之醫藥所使用之 NK 細胞，使用其任何方法皆無妨。此外，使用藉由專利文獻 WO2009/151183 等所記載之方法所調製之 CD16⁺ 及 / 或 CD56⁺ 細胞作為 NK 細胞亦無妨。

[0031]

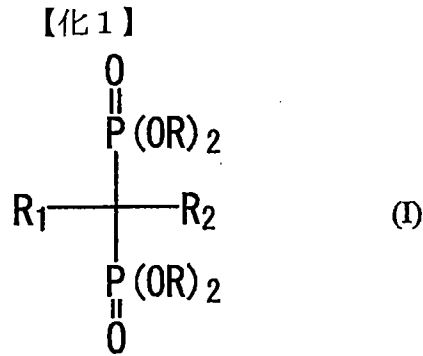
< $\gamma\delta$ T 細胞之製造方法 >

其次，針對 $\gamma\delta$ T 細胞之製造方法進行例示。

將所採取之 PBMCs 接種於添加有雙磷酸鹽及 IL-2 之培養液，培養 $\gamma\delta$ T 細胞。藉由將 PBMCs 在雙磷酸鹽及 IL-2 之存在下進行培養，可使 $\gamma\delta$ T 細胞選擇性地增殖及活化，而調製高純度地包含活化 $\gamma\delta$ T 細胞之細胞集團（參照專利文獻 1）。

[0032] 在本發明中，所謂的雙磷酸鹽，並無特別限制，係指具有 P-C-P 的骨架之化合物。關於本發明所使用之雙磷酸鹽，可列舉例如下述一般式[化 1]所示之化合物、其鹽、及該等之水合物。

[0033]



[0034] 上述[化1]中，R 為氫原子或低級烷基，R₁ 及 R₂ 係各自獨立地選自氫原子、鹵素原子、羥基、胺基、硫醇基、可經取代之芳基、可經取代之烷基、低級烷胺基、芳烷基、環烷基及雜環式基所組成群組，此外，R₁ 及 R₂ 亦可形成相同環狀構造之一部分。

作為上述 R₁ 及 R₂ 中之取代基，係選自例如鹵素原子、低級烷基、羥基、硫醇基、胺基、烷氧基、芳基、芳硫基、芳氧基、烷硫基、環烷基、雜環式基等所組成群組。

[0035] 在本說明書中，個別而言，作為鹵素原子，係示出例如氟原子、氯原子、溴原子等；作為烷基，係示出例如甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、戊基、庚基、辛基、十五基等直鏈或分枝鏈 C₁-C₃₀ 烷基等；作為低級烷基，係示出例如直鏈或分枝鏈 C₁-C₁₀ 烷基等；作為芳基，係示出例如苯基、萘基等；作為芳烷基，係示出例如芳基-低級烷基等；作為環烷基，係示出例如環辛基、金剛烷基等 C₁-C₁₀ 環烷基等；作為雜環式基，係示出吡啶基、咪唑基、吡咯啶基、咪唑基、噻啉基、異噻啉基等。

[0036] 此外，在本發明中，雙膦酸鹽較佳為藥學上

容許者，可列舉具有骨吸收抑制作用，一般使用作為骨質疏鬆症治療藥者。作為其例，包含帕米膦酸（pamidronic acid）、阿倫膦酸（alendronic acid）、唑來膦酸（zoledronic acid）、利塞膦酸（risedronic acid）、伊班膦酸（ibandronic acid）、英卡膦酸（incadronic acid）及該等之鹽、以及該等之水合物。此等為具有氮原子之胺基雙膦酸鹽，特佳為帕米膦酸、阿倫膦酸、唑來膦酸及該等之鹽、以及該等之水合物。作為市售之雙膦酸鹽系骨代謝改善藥，可列舉例如帕米膦酸二鈉五水合物（AREDIA（註冊商標）；Novartis Pharma 股份有限公司）、唑來膦酸水合物（ZOMETA（註冊商標）；Novartis Pharma 股份有限公司）等。

[0037] 在 PBMCs 的培養時所添加之雙膦酸鹽的濃度較佳為 $0.05 \sim 100 \mu\text{M}$ 之範圍內，更佳為 $0.1 \sim 30 \mu\text{M}$ 之範圍內。更具體而言，在添加帕米膦酸或其鹽或該等之水合物、阿倫膦酸或其鹽或該等之水合物作為雙膦酸鹽之情況，雙膦酸鹽的濃度較佳為 $1 \sim 30 \mu\text{M}$ 之範圍內。此外，在添加唑來膦酸或其鹽或該等之水合物作為雙膦酸鹽之情況，雙膦酸鹽的濃度較佳為 $0.1 \sim 10 \mu\text{M}$ 之範圍內。

[0038] 在 PBMCs 的培養時所添加之 IL-2 的濃度較佳為 $50 \sim 2000 \text{U/mL}$ 之範圍內，更佳為 $400 \sim 1000 \text{U/mL}$ 之範圍內。

[0039] PBMCs 之培養條件只要可使 $\gamma\delta\text{T}$ 細胞增殖及活化，即無特別限定。通常只要在 $34 \sim 38^\circ\text{C}$ （較佳為

37°C) 且 2~10% (較佳為 5%) CO₂ 存在下，培養 7~14 日左右即可。此時，因應所培養之細胞數，適宜追加培養液。再者，配合培養液量的增加，以成為 50~2000 U/mL，更佳為 400~1000U/mL 之方式適宜追加 IL-2。

[0040] 藉由以上順序，可獲得大量包含 $\gamma\delta$ T 細胞之細胞集團。所獲得之細胞集團可如後述般在 $\gamma\delta$ T 細胞療法中利用作為投予至患者之細胞。

[0041] 培養係在 34~38°C，較佳為 37°C，且 2~10%，較佳為 5%的 CO₂ 條件下施行，培養期較佳為 1 日~20 日，特佳為 1~2 週左右。

所使用之培養基並無特別限定，可使用 AIM-V 培養基 (Invitrogen)、RPMI-1640 培養基 (Invitrogen)、Dulbecco 改良 Eagle 培養基 (Invitrogen)、Iscove 培養基 (Invitrogen)、KBM 培養基 (Kohjin Bio)、ALyS 培養基 (細胞科學研究所) 等細胞培養所使用之市售的培養基。此外，可視需要添加 5~20%的牛血清、牛胎兒血清、人類血清、人類血漿等。

[0042]

< $\alpha\beta$ T 細胞之製造方法 >

其次，針對 $\alpha\beta$ T 細胞之製造方法進行例示。

作為培養 $\alpha\beta$ T 細胞之方法，較佳為使用抗 CD3 抗體及 IL-2 之方法。

抗 CD3 抗體可添加至培養基中，亦可固相化於培養容器，已知藉由將淋巴球接種於固相化有抗 CD3 抗體之

燒瓶等培養容器，可更適合地進行培養（例如日本專利 3056230）。關於 IL-2 的濃度，較佳係以在培養基中成為 100~2000IU/mL 的濃度之方式進行添加。

培養係在 34~38°C，較佳為 37°C，且 2~10%，較佳為 5%的 CO₂ 條件下施行，培養期較佳為 1 日~20 日，特佳為 1~2 週左右。

所使用之培養基並無特別限定，可使用 AIM-V 培養基（Invitrogen）、RPMI-1640 培養基（Invitrogen）、Dulbecco 改良 Eagle 培養基（Invitrogen）、Iscove 培養基（Invitrogen）、KBM 培養基（Kohjin Bio）、ALyS 培養基（細胞科學研究所）等細胞培養所使用之市售的培養基。此外，可視需要添加 5~20%的牛血清、牛胎兒血清、人類血清、人類血漿等。

[0043]

< 包含免疫細胞之醫藥 >

本發明之醫藥係用於治療/預防發炎性疾病之醫藥，其係包含藉由上述本發明之製造方法所製造之免疫細胞。

[0044] 本發明之醫藥係例如為使藉由本發明之製造方法所製造之免疫細胞懸浮於能夠利用作為醫藥品之液體（例如生理食鹽水）中而成之注射劑（細胞懸浮液）。此注射劑可注射至靜脈內或皮內、皮下等，亦可直接注入病變部，亦可作為點滴進行全身投予。

[0045] 本發明之醫藥包含免疫細胞作為必需成分，亦可包含其他成分作為任意成分。

[0046] 本發明之醫藥中所包含之免疫細胞的數量可因應投予方法或疾病的種類而適宜設定。通常只要以成為 $10^8 \sim 10^{12}$ 個/人（較佳為 10^9 個/人）之方式進行設定即可。

[0047] 本發明之醫藥之製造方法並無特別限定。舉例而言，本發明之醫藥可藉由 1) 將經培養之免疫細胞藉由離心分離法等進行回收；2) 將所回收之免疫細胞以洗淨液（例如生理食鹽水或 PBS 等）加以洗淨；3) 將經洗淨之免疫細胞藉由離心分離法等進行回收；4) 使所回收之免疫細胞懸浮於能夠利用作為醫藥品之液體（例如生理食鹽水）中，而製造作為能夠經靜脈投予之點滴劑。

[0048] 以下，針對本發明參照實施例詳細地進行說明，但本發明並不受此等實施例所限定。

[實施例 1]

[0049]

< 1. 免疫細胞的培養及投予 >

自己徵得同意之患者採取末梢血液 67.5mL，藉由離心分離法施行末梢血液單核球的培養。在瀨田 Clinic 新橫濱 CPC（細胞加工設施）中，施行大約 14 日的培養，調製活化自體 NK 細胞。品質檢查後，將所獲得之活化自體 NK 細胞調製作為點滴劑，對患者施行經靜脈投予。

[0050]

< 2. 結果 >

該患者自數年前因潰瘍性大腸炎而出現血便、頻便的症狀，即便服用美沙拉嗪（mesalazine；5-胺基水楊酸：5-ASA）亦看不出改善。於是，自2年前開始進行英夫利昔單抗（infliximab）的投予，依照一般的用法/用量自2週間隔的投予延長至4週間隔，來院時已以6~8週間隔進行投予。藉由英夫利昔單抗（抗人類TNF α 單株抗體）的投予，雖可看出症狀的緩和，但血便的症狀仍持續。

[0051] 在2015年3月NK細胞第1次投予後，自翌日起血便減輕，再過不久血便消失。因此，便與潰瘍性大腸炎的主治醫師商談，中止英夫利昔單抗的投予，變成施行經過觀察。至今為止實施共計5次的投予，患者無血便或其他潰瘍性大腸炎的自覺症狀，持續著緩輕狀態（2017年1月末現在）。此外，藉由在第3次投予後實施之內視鏡檢查之結果，亦確認到發炎狀態的明顯改善。

[0052]

（總結）

即便長期投予潰瘍性大腸炎之治療藥亦未改善之症狀係藉由進行免疫細胞的投予而在未投予治療藥之情形下持續著緩輕狀態，因而在臨床醫師的綜合性診斷下確認免疫細胞治療係有效於發炎性疾病，尤其是潰瘍性大腸炎的症狀的治癒緩和。

[0053] 從而，本案發明所涉及之免疫療法可作為諸如美沙拉嗪或英夫利昔單抗等之藉由阻礙發炎性細胞介素之生成作用而產生症狀的治癒緩和之醫藥的代用或者在併

用下使用。

作為治療疾病對象，不僅是潰瘍性大腸炎，亦可應用於與發炎性細胞介素，尤其是 $\text{TNF}\alpha$ 相關之疾病，例如克隆氏症、類風濕性關節炎、乾癬（包含尋常性乾癬、關節症性乾癬、膿疱性乾癬、乾癬性紅皮症）、強直性脊椎炎、貝西氏症所引發之難治性網膜葡萄膜炎等。

〔產業上之可利用性〕

[0054] 本發明之治療藥能夠藉由以往無法完全治好之內科手法，施行發炎性疾病的治療，尤其是潰瘍性大腸炎的症狀減輕緩和。

申請專利範圍

1. 一種發炎性疾病治療用或預防用醫藥組成物，其係包含免疫細胞。
2. 如請求項 1 之醫藥組成物，其中，前述免疫細胞為淋巴球。
3. 如請求項 1 之醫藥組成物，其中，前述免疫細胞為經培養之淋巴球。
4. 如請求項 3 之醫藥組成物，其中，前述淋巴球係以 $\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NK 細胞或 $CD16^+$ 及/或 $CD56^+$ 細胞之任一者作為主成分。
5. 如請求項 1 之醫藥組成物，其中，前述免疫細胞係源自末梢血液單核球。
6. 如請求項 1 至 5 中任一項之醫藥組成物，其中，前述發炎性疾病為發炎性腸疾病。
7. 如請求項 6 之醫藥組成物，其中，前述發炎性腸疾病為潰瘍性大腸炎。
8. 如請求項 1 至 7 中任一項之醫藥組成物，其係與 $TNF\alpha$ 阻礙劑的投予共同地或接續地進行投予。
9. 如請求項 8 之醫藥組成物，其中，前述 $TNF\alpha$ 阻礙劑為抗 $TNF\alpha$ 抗體。
10. 一種經單離之免疫細胞之用途，其係用於製造發炎性疾病治療用或預防用醫藥。
11. 如請求項 10 之用途，其中，前述免疫細胞為經單離之淋巴球。

12.如請求項 11 之用途，其中，前述淋巴球為經單離後，經培養之淋巴球。

13.如請求項 12 之用途，其中，前述淋巴球係以 $\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NK 細胞或 $CD16^+$ 及/或 $CD56^+$ 細胞之任一者作為主成分。

14.如請求項 10 之用途，其中，前述免疫細胞係源自末梢血液單核球。

15.如請求項 10 至 14 中任一項之用途，其中，前述發炎性疾病為發炎性腸疾病。

16.如請求項 15 之用途，其中，前述發炎性腸疾病為潰瘍性大腸炎。

17.一種發炎性疾病之治療或預防方法，其係包含將經單離之免疫細胞投予至患者。

18.如請求項 17 之方法，其中，前述免疫細胞為淋巴球。

19.如請求項 18 之方法，其中，前述淋巴球為經培養之淋巴球。

20.如請求項 19 之方法，其中，前述淋巴球係以 $\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NK 細胞或 $CD16^+$ 及/或 $CD56^+$ 細胞之任一者作為主成分。

21.如請求項 17 之方法，其中，前述免疫細胞係源自末梢血液單核球。

22.如請求項 17 至 21 中任一項之方法，其中，前述發炎性疾病為發炎性腸疾病。

23.如請求項 22 之方法，其中，前述發炎性腸疾病為潰瘍性大腸炎。

24.一種發炎性疾病之治療或預防方法，其係包含

1) 自患者單離出末梢血液單核球之步驟、

2) 將末梢血液單核球進行培養而獲得免疫細胞之步驟、以及

3) 將所獲得之免疫細胞投予至患者之步驟。

25.如請求項 24 之方法，其中，前述免疫細胞為淋巴球。

26.如請求項 25 之方法，其中，前述淋巴球係以 $\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NK 細胞或 $CD16^+$ 及/或 $CD56^+$ 細胞之任一者作為主成分。

27.如請求項 24 至 26 中任一項之方法，其中，前述發炎性疾病為發炎性腸疾病。

28.如請求項 27 之方法，其中，前述發炎性腸疾病為潰瘍性大腸炎。

29.一種發炎性腸疾病治療劑或預防劑之製造方法，其係將所採取之末梢血液單核球進行培養而取得組成物所成，且該治療劑或預防劑係以該組成物作為有效成分。