



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 698 22 919 T2** 2005.03.17

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 877 032 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **698 22 919.3**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **98 400 874.8**

(96) Europäischer Anmeldetag: **09.04.1998**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **11.11.1998**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **07.04.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **17.03.2005**

(51) Int Cl.⁷: **C07K 16/12**

**C07K 16/40, C07K 16/02, A61K 39/40,
A23L 1/00, A61K 39/02**

(30) Unionspriorität:

9415997 11.04.1997 JP

(84) Benannte Vertragsstaaten:

DE, FR, GB, IT

(73) Patentinhaber:

**Ghen Corp., Gifu, JP; Nisshin Pharma Inc.,
Tokio/Tokyo, JP**

(72) Erfinder:

**Kodama, Yoshikatsu, Gifu-shi, Gifu-ken, JP;
Icatlo, Jr, Faustino C., Gifu-shi, Gifu-ken, JP;
Kimura, Nobutake, Iruma-gun, Saitama-ken
356-8511, JP; Ariga, Masato, Iruma-gun,
Saitama-ken 356-8511, JP**

(74) Vertreter:

Samson & Partner, Patentanwälte, 80538 München

(54) Bezeichnung: **Spezifische Antikörper zur Verwendung in der Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen nützlich für die Vorbeugung oder Behandlung von Gastritis, Magen- und Zwölffingerdarmgeschwüren**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft spezifische Antikörper zur Verwendung bei der Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen, die für die Verhütung oder Behandlung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera nützlich sind, welche durch eine Infektion mit *Helicobacter pylori* (nachstehend als *H. pylori* oder *Hp* bezeichnet) verursacht werden, und zur Verwendung als Zusatz in Nahrungsmitteln, die für die Verhütung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera nützlich sind.

[0002] Zur Zeit wird angenommen, dass die Ausrottung von *H. pylori* im Magen für eine vollständige Behandlung von peptischen Ulzera wesentlich ist. Die Kombination von Antibiotika und Suppressoren der Magensäuresekretion ist allgemein als Therapie für eine wirksame Ausrottung von *H. pylori* vorgeschlagen worden, wie nachstehend beschrieben.

[0003] *H. pylori* ist ein gram-negatives spiralförmiges, stäbchenförmiges Bakterium, das an einem Ende einige Flagella aufweist und die menschliche Magenmukosa besiedelt. Marshall, B. J., und Warren, J. R., in Australien berichteten 1983, dass dieses Bakterium häufig in Magenbiopsie-Proben von Patienten mit Magenulzera nachgewiesen wurde. Zu diesem Zeitpunkt wurde dieses Bakterium *Campylobacter pylori* genannt, da es *Campylobacter* in der Morphologie und den Wachstumsmerkmalen ähnelt. Später wurde gefunden, dass sich das Bakterium von *Campylobacter* in der Fettsäure-Zusammensetzung seiner äußeren Membran und der Sequenz der Ribosom-16S-RNA unterscheidet. Deshalb wird das Bakterium nun als *Helicobacter pylori* bezeichnet und gehört einer neu aufgestellten Gattung *Helicobacter* an.

[0004] Seit damals sind viele Berichte auf der Grundlage von epidemiologischen Studien veröffentlicht worden, die anzeigen, dass dieses Bakterium Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera verursacht und mit Krankheiten wie Magenkrebs verbunden ist. Wenn *H. pylori* die Magenmukosa besiedelt, kann es im Magen nicht ausgerottet werden und besiedelt weiterhin den Magen, obwohl die Immunantwort auf eine Infektion mit demselben stark ist, d. h. der Antikörper-Titer hoch ist. Das heißt, wenn *H. pylori* nicht vollständig durch eine Antibiotika-Therapie aus dem Magen eliminiert wird, kehrt der Infektionszustand innerhalb etwa eines Monats, nachdem die Verabreichung von Antibiotika beendet worden ist, zum gleichen Maß wie vor der Behandlung zurück. Zusätzlich wird der pH des Magens durch HCl, die eine starke Säure ist, sehr niedrig gehalten, und deshalb neigen die meisten Antibiotika dazu, inaktiviert zu werden. Aus diesem Grund wird häufig die Kombination eines Antibiotikums und eines Protonenpumpen-Inhibitors, der die Magensäuresekretion stark unterdrückt, in einer größeren Dosis als üblich für die Ausrottung von *H. pylori* verwendet. Kürzlich erwies sich, dass eine neue Behandlung, die eine Kombination von Bismutsubsalicylat, Metronidazol und Tetracyclin verwendet, die höchste Eliminierungsrate von *H. pylori* aufweist, aber es ist bekannt, dass Metronidazol in dieser Kombination das rasche Auftauchen eines Antibiotika-resistenten Stamms verursacht, wenn es allein verwendet wird. In Entwicklungsländern wird dieses Medikament in großem Umfang zur Behandlung von Diarrhöe-Patienten verwendet, und als Ergebnis tritt mit hoher Häufigkeit eine Infektion mit Metronidazol-resistentem *H. pylori* auf. So weist die Verabreichung von Antibiotika über lange Zeit die ernsthaften Probleme der Vermehrung der Antibiotika-resistenten Stämme sowie der Verursachung von Nebenwirkungen auf.

[0005] Gegenwärtig ist ein immunologischer Therapieansatz unter Verwendung eines oralen Impfstoffs vorgeschlagen worden, um Probleme wie Nebenwirkungen und Vermehrung von Antibiotika-resistenten Stämmen durch die Behandlung mit Antibiotika für die Ausrottung der Bakterien zu lösen. Jedoch ist es für diesen Zweck wesentlich, Tiermodelle für eine Hp-Injektion zu entwickeln. Es wurde berichtet, dass Hp-Infektions-Tests unter Verwendung von Ratten, Mäusen, Kaninchen, Hunden, Schweinen und Affen durchgeführt worden sind, und Tests unter Verwendung von Hunden, Schweinen und Affen waren erfolgreich. Jedoch kann Hp kleine Tiere, wie Mäuse und Ratten, nicht leicht infizieren, und die Infektionstests erfordern komplizierte Bedingungen. Beispielsweise sind keimfreie Tiere für eine Infektion erforderlich oder sind frische Isolate zur Aufrechterhaltung der Infektion über eine lange Zeit erforderlich. Diese Anforderungen haben die Studien behindert, die auf die Entwicklung von neuen Verfahren zur Verhütung und Behandlung abzielen.

[0006] Beispielsweise wurde von Marchetti, M., et al. in Science, Bd. 267, S. 1655–1658 (1995) berichtet, dass 80% einer Hp-Infektion durch orale Immunisierung unter Verwendung eines Mausmodells zur Bewertung der Wirksamkeit von oralem Hp-Impfstoff inhibiert wurden. Jedoch wies dieses orale Impfstoffpräparat ein wärmelabiles Toxin (LT), das von *E. coli* abstammt, als Adjuvans auf. Im Allgemeinen weist das Impfstoffpräparat in derartigen Experimenten unter Verwendung eines oralen Impfstoffs zusätzlich zu LT, das von *E. coli* abstammt, ein Cholera-toxin auf, und eine Schleimhautimmunität kann nicht ohne diese Adjuvantien erzielt werden. LT aus *E. coli* und Cholera-toxin weisen hohe Toxizitätsgrade auf, und dieses Impfverfahren weist viele ungelöste Probleme bezüglich der Sicherheit bei seiner praktischen Anwendung beim Menschen auf. Auch

wird der Impfstoff überwiegend für die Verhütung verwendet, und deshalb weist er keine Wirkung bei Patienten auf, die bereits mit Hp infiziert worden sind.

[0007] Als neuen Versuch, Hp zu inhibieren, verwendeten Aiba et al. (The Meeting of the 30th Japan Germ-free Animal Gnotobiology Society, Program and Abstracts, S. 22, Requested Title 18, New Attempt for Inhibiting *Helicobacter pylori*, Januar 1997) keimfreie Mäuse als Modell für eine Hp-Infektion und untersuchten (i) die Wirkung von *Lactobacillus salivarius* als Probiotikum bei der Inhibierung von Hp und (ii) die Wirkung einer oralen Verabreichung von Anti-Hp-Antikörpern, die aus dem Eigelb der Eier von Hennen erhalten wurden, welche mit durch Formalin abgetöteten ganzen Zellen von Hp immunisiert worden waren, auf die Inhibierung von Hp. Im Fall (i) wurde die Zahl von Hp im Magen der Hp-infizierten Mäuse in einer Gruppe mit Verabreichung 10–1000-mal kleiner als die einer Kontrollgruppe. Im Fall (ii) wurde die Zahl von Hp im Magen mit Verabreichung 10-mal kleiner als diejenige einer Kontrollgruppe.

[0008] Jedoch wurden diese Ergebnisse unter Verwendung von Mäusen erhalten, die keine normale Flora in der Mundhöhle, dem Magen und dem Darm aufweisen, und es wird nicht erwartet, dass derartige Ergebnisse bei herkömmlichen Mäusen mit normaler Flora erhalten werden können. Im Allgemeinen werden, wenn Mäuse, die eine inhärente normale Flora aufweisen, mit menschlichen Milchsäure-Bakterien geimpft werden, die Bakterien durch die normale Flora beseitigt und bilden keine Kolonien. Auch waren die Antikörper, die in den obigen Experimenten verwendet wurden, diejenigen gegen ganze Zellen von Hp, und die Zahl von Hp im Magen wurde nur 10-mal kleiner als diejenige der Kontrollgruppe, d. h., Hp wurde nicht vollständig eliminiert. Weiter gibt es keinen Hinweis auf die Beziehung zwischen der Abnahme von Hp und der Verringerung von Gastritis.

[0009] Die japanische Patentanmeldung Kokai No. 4-275232 offenbart ebenfalls die Verwendung von spezifischen Antikörpern, aber sie offenbart lediglich Antikörper, die aus den Eiern von Hennen erhalten wurden, welche gegen ganze Hp-Zellen als Antigen immunisiert worden waren. Sie beschreibt ein Nahrungsmittel zur Verwendung bei der Verhütung von Gastritis, Magenulkus und Duodenalulkus, das als aktiven Bestandteil Antikörper umfasst, die aus den Eiern von Hennen erhalten wurden, welche mit ganzen Hp-Zellen als Antigen immunisiert worden waren, wobei die Antikörper für das Antigen spezifisch waren, aber die Wirkung der spezifischen Antikörper ist nicht klar. Die Wirksamkeit der erhaltenen Antikörper gegen ganze Zellen wird unter Verwendung der Tatsache bewertet, dass Hp in vitro an Mucin in Schweinemagenmukosa haftet, und die Ergebnisse sind, dass Eiantikörper gegen ganze Hp-Zellen die Haftung von Hp an der Magenmukosa inhibieren. Jedoch wurden die In-vitro-Tests in einer milden Umgebung mit pH 7,4 durchgeführt, und deshalb ist es fraglich, ob die erhaltenen Daten genau die Ergebnisse anzeigen, die in einer stark sauren Umgebung mit pH 1–3 im Magen erhalten würden. Die Bestätigung der Wirkung der Eliminierung von Hp in einem stark sauren Magen erfordert Tiere als Hp-Infektionsmodell in Experimenten. Die oben beschriebene Patentanmeldung bezieht sich nicht auf derartige Experimente, und deshalb ist es nicht klar, ob die Verabreichung von Eiantikörpern gegen ganze Hp-Zellen die Eliminierung von Hp fördern kann. Auch gibt es keinen Hinweis, ob die Antikörper das Auftreten von Gastritis unterdrücken können.

[0010] Es ist in Transactions of Japan Agricultural Chemistry Society, 71, S. 52, 20p22 (1997) offenbart, dass die Eiantikörper gegen ganze Hp-Zellen eine inhibierende Wirkung auf das Hp-Wachstum aufweisen. Jedoch können die Antikörper mit den gleichen Problemen behaftet sein, wie oben erklärt, da es sich bei dem Antigen, das bei der Immunisierung von Hennen verwendet wird, um ganze Hp-Zellen handelt.

[0011] Es ist bekannt, dass Antikörper gegen ganze Hp-Zellen aus Milch oder Serum von Säugetieren, wie Kühen, erhalten werden können. Siehe die japanische Patentanmeldung Kokai Nr. 4-169539 und die japanische Patentanmeldung Kokai Nr. 4-330099. Diese Verfahren können keine Antikörper in großen Mengen und preiswert erzeugen. Zusätzlich handelt es sich bei dem Antigen, das bei der Immunisierung von Säugetieren verwendet wird, um ganze Zellen von Hp, und deshalb wird die vollständige Eliminierung von Hp nicht erwartet, wie im obigen Stand der Technik von Aiba et al. erwähnt.

[0012] Die WO 94/21248 offenbart eine Zusammensetzung zur Behandlung oder Verhütung von gastrointestinalen Krankheiten, z. B. einer *Helicobacter pylori*-Infektion, welche Kolostrum-Antikörper umfasst, die aus Kühen erhalten wurden, die mit dem Pathogen immunisiert worden waren, und gegebenenfalls mit probiotischen Organismen (*Lactobacilli* und/oder *Streptococci*) gemischt sind. Die EP-A-0 752 473 lehrt ebenfalls Verfahren, das H. pylori-Wachstum mittels Zusammensetzungen, die Flagella von H. pylori oder Antikörper dagegen umfassen, oder Zusammensetzungen, die Urease aus H. pylori und Antikörper dagegen umfassen, und Zusammensetzungen, die beide Antigene oder beide Antikörper umfassen, zu inhibieren. Blanchard et al. (1995), Infection and Immunity 63(4): 1394–1399, offenbaren die Verwendung von monoklonalen Antikörpern gegen

Urease aus *H. felis*, um Mäuse vor einer *H. felis*-Besiedelung zu schützen. Es wird auf ähnliche Ergebnisse Bezug genommen, die mit Zusammensetzungen erhalten werden können, welche Antikörper gegen die Urease aus *H. pylori* umfassen.

[0013] Wie oben erklärt, hat die Langzeitverwendung von Antibiotika für die Eliminierung von Hp eine Zunahme von Antibiotika-resistenten Bakterien sowie Nebenwirkungen zur Folge, und es ist kein Impfstoff für die praktische Verwendung entwickelt worden. Auch können Versuche, Milchsäure-Bakterien zu verabreichen oder Eiantikörper gegen ganze Hp-Zellen zu verwenden, Hp nicht ausrotten, und deshalb sind sie für die Verhütung oder Behandlung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera nicht wirksam.

[0014] Es ist ein Ziel der vorliegenden Erfindung, eine pharmazeutische Zusammensetzung zur Verwendung bei der Verhütung oder Behandlung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera bereitzustellen, die durch eine *H. pylori*-Infektion verursacht werden, wobei die Zusammensetzung wirksam und sicher ohne die Nachteile der Nebenwirkungen und der Zunahme von Arzneistoffresistenten Stämmen ist, und ein Nahrungsmittel zur Verhütung dieser Krankheiten bereitzustellen.

[0015] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, spezifische Antikörper zur Verwendung bei der Herstellung der obigen pharmazeutischen Zusammensetzungen bereitzustellen.

[0016] Andere Ziele und Vorteile sowie die Natur der vorliegenden Erfindung werden aus der folgenden Beschreibung offensichtlich.

[0017] Die gegenwärtigen Erfinder haben den Mechanismus der Besiedelung der Magenmukosa durch Hp aufgedeckt, der nicht vollständig geklärt war, und die vorliegende Erfindung auf der Grundlage dieser Entdeckung gemacht.

[0018] *H. pylori* kann nicht in einer atmosphärischen Bedingung wachsen, wächst suboptimal in einer anaeroben Bedingung und wächst optimal in einer mikroaeroben Bedingung. Aufgrund dieser spezifischen Eigenschaft ist die Ökologie des Bakteriums im Magen nicht aufgeklärt worden. Insbesondere konnte der Grund für die starke Wachstumsfähigkeit im Magen nicht erklärt werden, obwohl verschiedene Studien über die Kolonienbildung von Hp in Magenmukosa durchgeführt worden sind, welche der Schlüssel des Wachstums im Magen mit starker Azidität ist. Die Kolonienbildung von Hp in der Magenmukosa spielt eine wichtige Rolle beim Wachstum von Hp im Magen, und deshalb ist die Aufklärung von Kolonienbildungsfaktoren bei der Entwicklung eines Verfahrens zur Verhütung oder Behandlung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera, die von Hp verursacht werden, von großer Bedeutung.

[0019] Es ist angenommen worden, dass die pathogenen Faktoren von Hp im Magen Urease, die von Hp erzeugt wird, Flagella zur freien Bewegung in der Schleimhaut-Mucinschicht, das äußere Membranprotein Cag A, das an der Produktion von Interleukin 8 als entzündungsförderndem Cytokin beteiligt ist, das vakuolenbildende Cytotoxin Vac A, das an der Vakuolenbildung beteiligt ist, Erosion, Nekrose und Ulkusbildung der Magenmukosa-Epithelzellen sind.

[0020] Es ist angenommen worden, dass einer der pathogenen Faktoren, Urease, die von Hp erzeugt wird, in der Lage ist, eine Umgebung bereitzustellen, die für das Wachstum von Hp im Magen nützlich ist, indem sie Harnstoff im Magen in Ammoniak überführt und eine stark saure Umgebung um die Bakterienzellen herum neutralisiert. Andererseits wurde bezüglich der Kolonienbildung von Hp in der Magenmukosa in Experimenten unter Verwendung von gnotobiotischen Schweinen gezeigt, dass ein Urease-negativer Stamm von Hp sowie ein Urease-positiver Stamm den Magen besiedeln können (Eaton, K. A., und Krakowka, S., 1995, Scand. J. Gastroenterol., 30: 434–437). In einem kürzlichen Bericht wurde die Bindung eines Urease-negativen Stamms von Hp an menschliche Magenmukosa-Epithelzellen und an Zellen aus einer Magen-Adenokarzinom-Zelllinie (Kato III-Zellen) mit dem Binden eines Urease-positiven Stamms verglichen, und es wurde geschlossen, dass es keinen Unterschied zwischen der Haftung der zwei Arten von Stämmen an diesen Zellen gibt, und dass die Urease von Hp nicht als Adhäsion wirkt. (Clyne, M., und Drumm, B., 1996, Infect. Immun. 64: 2817–2820).

[0021] Die gegenwärtigen Erfinder haben die Entdeckung gemacht, die aus den Ergebnissen der Studien des Standes der Technik über die Kolonienbildung von Hp nicht erwartet wurde, dass Urease selbst an der Kolonienbildung von Hp in der Magenmukosa teilnimmt. Das heißt, die Erfinder haben gefunden, dass Urease, die von Hp produziert wird, als ein Haupt-Adhäsion zusätzlich zu ihrer Wirkung als Enzym wirkt, das Harnstoff in Ammoniak überführen kann, und dass das Binden von Urease selbst an Magenmukosa-Mucin das Wachstum von Hp ermöglicht. Die Erfinder erhielten auch Informationen, die nahe legen, dass Flagella von Hp ebenfalls

an der Kolonienbildung von Hp in der Magenmukosa teilnehmen.

[0022] Die vorliegende Erfindung wurde auf der Grundlage der obigen Entdeckung gemacht, welche nahe legt, dass Antikörper gegen ganze Zellen von Hp nicht ausreichend sind und Antikörper gegen Urease von Hp und/oder Flagella von Hp für eine vollständige Inhibierung der Kolonienbildung von Hp in der Magenmukosa wirksam sind, um das Wachstum von Hp im Magen zu inhibieren. Es wurde weiter gefunden, dass die Kombination von jedem oder beiden dieser Antikörper und mindestens einem Organismus, der aus Milchsäure-Bakterien, Enterokokken, Hefen und Bacillus ausgewählt ist, eine synergistische Wirkung aufweist.

[0023] In einem Aspekt stellt die vorliegende Erfindung spezifische Antikörper bereit, die aus Eiern erhalten wurden, die von Hennen gelegt wurden, die gegen Urease A und Urease B von *Helicobacter pylori* als Antigen immunisiert worden sind, wobei die spezifischen Antikörper gegen das Antigen wirksam sind. Die vorliegende Erfindung stellt auch spezifische Antikörper bereit, die aus Eiern erhalten wurden, die von Hennen gelegt wurden, die gegen Flagella A und Flagella B von *Helicobacter pylori* als Antigen immunisiert worden sind, wobei die spezifischen Antikörper gegen das Antigen wirksam sind.

[0024] Die obigen Anti-Urease-A und -Urease B-Antikörper sind gegen Urease wirksam, und die obigen Anti-Flagella A- und -Flagella B-Antikörper sind gegen Flagella wirksam. Deshalb sind Anti-Urease-Antikörper und/oder Anti-Flagella-Antikörper für die Inhibierung des Wachstums von *H. pylori* im Magen wirksam. Die Anti-Urease-Antikörper können bei der Inhibierung des *H. pylori*-Wachstums im Magen zusammen mit mindestens einem Organismus verwendet werden, der aus Milchsäure-Bakterien, Enterokokken, Hefen und Bacillus ausgewählt ist. Die Anti-Urease A- und -Urease B-Antikörper können bei der Inhibierung des *H. pylori*-Wachstums im Magen zusammen mit den Anti-Flagella-Antikörpern und mindestens einem Organismus verwendet werden, der aus Milchsäure-Bakterien, Enterokokken, Hefen und Bacillus ausgewählt ist.

[0025] In einem weiteren Aspekt stellt die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung bereit, die als aktiven Bestandteil die oben beschriebenen Anti-Urease A- und -Urease B-Antikörper und/oder die oben beschriebenen Anti-Flagella A- und -Flagella B-Antikörper zur Verwendung bei der Verhütung oder Behandlung von Gastritis, Magenulkus und Duodenalulkus enthält. Die Anti-Urease A- und -Urease B-Antikörper können bei der Verhütung oder Behandlung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera zusammen mit mindestens einem Organismus verwendet werden, der aus Milchsäure-Bakterien, Enterokokken, Hefen und Bacillus ausgewählt ist. Die Anti-Urease A- und -Urease B-Antikörper können bei der Verhütung oder Behandlung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera zusammen mit den Anti-Flagella-A und -Flagella-B-Antikörpern und mindestens einem Organismus verwendet werden, der aus Milchsäure-Bakterien, Enterokokken, Hefen und Bacillus ausgewählt ist.

[0026] Die vorliegende Erfindung stellt auch ein Nahrungsmittel zur Verwendung bei der Verhütung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera bereit, das als Zusatz die oben beschriebenen Anti-Urease-Antikörper und/oder die oben beschriebenen Anti-Flagella-Antikörper enthält. Einem Nahrungsmittel, das die Anti-Urease-Antikörper enthält, oder einem Nahrungsmittel, das die Anti-Urease-Antikörper und die Anti-Flagella-Antikörper enthält, kann mindestens ein Organismus zugesetzt werden, der aus Milchsäure-Bakterien, Enterokokken, Hefen und Bacillus ausgewählt ist.

[0027] Fig. 1 ist eine graphische Darstellung, die anzeigt, dass Hp-Urease auf Konzentrations-abhängige Weise an Rattenmagen-Mucin bindet;

[0028] Fig. 2 ist eine graphische Darstellung, die das Binden von Urease an Rattenmagen-Mucin zeigt, das durch Heparin voradsorbiert ist.

[0029] Fig. 3 ist eine graphische Darstellung, die eine Inhibierungswirkung von verschiedenen Antikörpern aus Eiern auf die Haftung von Hp an menschlichen NKM45-Magenkrebszellen zeigt.

[0030] Um die spezifischen Antikörper der vorliegenden Erfindung zu produzieren, werden Hennen gegen ein Antigen immunisiert. Als Antigen zur Immunisierung von Hennen werden Urease A und Urease B und Flagella A und Flagella B von *Helicobacter pylori* hergestellt. *Helicobacter pylori*-Stämme, die für die Herstellung von Antigenen zu verwenden sind, schließen menschliche klinische Isolate ein, wie #130 (Cag A+) (Vac A+), NSP#305 (Cag A+) (Vac A+), NSP#335 (Cag A+) (Vac A+), NSP#355 (Cag A-) (Vac A-). Nach Kultivierung eines gewählten Stamms werden die Urease A- und Urease B-Komponente und die Flagella A- und Flagella B-Komponente auf geeignete Weise hergestellt.

[0031] Die Immunisierung von Hennen gegen ein Antigen kann durch Einimpfen des Antigens auf einem geeigneten Weg, wie subkutane oder intramuskuläre Injektion, durchgeführt werden. Vorzugsweise wird ein geeignetes Adjuvans in Verbindung mit dem Antigen verabreicht, um die Immunisierung zu verstärken. Adjuvantien, die für diesen Zweck nützlich sind, sind komplettes (inkomplettes) Freund-Adjuvans (Difco), Choleratoxin BB (Sigma), Titer Max (CytRx Corp.) usw.

[0032] Die Dosis des Antigens wird abhängig von der Art des Antigens und des Adjuvans und dem Verabreichungsweg auf solche Weise festgelegt, dass ein Immunstatus in der Henne ohne Erzeugung übermäßiger Toxizität des Antigens in ihr induziert wird. Gewöhnlich wird die Henne innerhalb weniger Wochen nach der Impfung (anfänglichen Immunisierung) für das Gen empfindlich, d. h. gegen das Antigen immunisiert. Spezifische Antikörper gegen das Antigen werden im Körper der Henne produziert, und Eier, die von der Henne gelegt werden, insbesondere das Eigelb der Eier, enthalten die spezifischen Antikörper.

[0033] Nach der anfänglichen Immunisierung der Henne gegen das Antigen können eine oder mehrere Auffrischimpfungen mit einer geeigneten Dosismenge verabreicht werden, um einen hohen Antikörpertiter in der Henne aufrechtzuerhalten.

[0034] Die Anwesenheit und das Titerniveau der spezifischen Antikörper gegen das Antigen in der Henne und in Eiern der Henne können durch jedes bekannte Verfahren bestätigt werden, das dem Fachmann auf dem Gebiet der immunologischen Assays bekannt ist, wie ELISA oder ein Verfahren, das eine Agglutinationsreaktion verwendet.

[0035] Nachdem bestätigt ist, dass ein ausreichender Titer der spezifischen Antikörper in den Eiern vorliegt, die von der immunisierten Henne gelegt wurden, werden von der Henne gelegte Eier gesammelt, und die gewünschten Antikörper werden gewonnen.

[0036] Die spezifischen Antikörper der vorliegenden Erfindung können aus dem Gesamt-Ovum oder dem Eigelb der Eier hergestellt werden. Die meisten Antikörper sind im Eigelb eines Eis enthalten, und gewöhnlich wird das Eigelb von dem Ei zur Verwendung bei der Produktion der Antikörper abgetrennt. In einigen Fällen kann das Gesamt-Ovum des Eis verwendet werden.

[0037] Das Gesamt-Ovum oder das Eigelb des Eis kann ohne Fraktionierung verwendet werden. Alternativ kann das Gesamt-Ovum oder das Eigelb des Eis einer Fraktionierung oder Reinigung unterzogen werden. Beispielsweise kann ein Delipidierungsverfahren durch geeignete Methoden, wie Methoden, die Hydroxypropylmethylcellulosephthalat, Polyethylenglycol usw. verwenden, um Lipid-Komponenten aus dem Eigelb zu entfernen, durchgeführt werden. Falls gewünscht, kann eine weitere Reinigung durch jedes bekannte Verfahren, einschließlich bekannter Reinigungsverfahren von Proteinen, wie Aussalzen mit Ammoniumsulfat oder Natriumsulfat oder kalte Ethanol-Fällung usw., durchgeführt werden.

[0038] Das Gesamt-Ovum oder das Eigelb des Eis kann ohne Fraktionierung oder mit Fraktionierung oder Reinigung direkt verwendet werden, oder es kann verarbeitet werden. In einer bevorzugten Ausführungsform kann das Gesamt-Ovum oder das Eigelb zu einer Emulsion gerührt oder homogenisiert und durch herkömmliche Techniken, wie Sprühtrocknung oder Lyophilisierung, getrocknet werden, um ein Pulver zu bilden. So können verschiedene Formen von Antikörpern verwendet werden, abhängig vom Zweck.

[0039] Die so erhaltenen Antikörper, die für Urease oder Flagella von Hp spezifisch sind, sind für die Ausrottung von Hp, der an der Magenmukosa haftet, und für die Unterdrückung des Auftretens von Gastritis in Tieren bei einem Hp-Infektionsmodell wirksam, wie in den folgenden Beispielen demonstriert. Das heißt, diese Antikörper können die Haftung von Hp an Magenmukosa verhindern und das Wachstum von Hp im Magen inhibieren. Diese bemerkenswerten Wirkungen sind niemals mit den Antikörpern des Standes der Technik gegen ganze Zellen von Hp erhalten worden. Zusätzlich zeigen die Antikörper aus den Eiern von Hennen eine Antikörpern aus Säugern überlegene Fähigkeit, Hp zu eliminieren, wie in dem folgenden Experiment gezeigt, was ein unerwartetes Ergebnis ist.

[0040] Auch zeigen, wenn Anti-Urease-Antikörper und Anti-Flagella-Antikörper zusammen verwendet werden, Antikörper, die sogar einen etwas niedrigen Titer aufweisen, aufgrund von synergistischen Wirkungen eine ausreichende Wirkung bei der Eliminierung von Hp aus dem Magen und der Unterdrückung von Gastritis. Die gleichen Wirkungen werden auch gezeigt, wenn mindestens ein Organismus, der aus Milchsäure-Bakterien, Enterokokken, Hefen und Bacillus ausgewählt ist, zusammen mit den Anti-Urease-Antikörpern oder den Anti-Urease-Antikörpern und Anti-Flagella-Antikörpern verwendet wird.

[0041] Deshalb sind Anti-Urease-Antikörper und/oder Anti-Flagella-Antikörper bei der Inhibierung von Hp im Magen wirksam und können zur Verhütung oder Behandlung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera verwendet werden oder können einem Nahrungsmittel zur Verhütung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera zugesetzt werden. Diese Antikörper können bei der Verhütung oder Behandlung dieser Krankheiten in Kombination mit mindestens einem Organismus verwendet werden, der aus Milchsäure-Bakterien, Enterokokken, Hefen und Bacillus ausgewählt ist, oder können einem Nahrungsmittel zur Verhütung dieser Krankheiten zugesetzt werden. Bei den Antikörpern kann es sich um eine Antikörper-haltige Substanz handeln, die direkt aus dem Gesamt-Ovum oder dem Eigelb des Eis von immunisierten Hennen gewonnen wurde und als Lösung oder Emulsion oder durch Trocknen als Festkörper, wie ein Pulver oder Granulat, verwendet wird. Eine weitere Fraktionierung oder Reinigung der Antikörper-haltigen Substanz kann durchgeführt werden, um gereinigte Antikörper zu erhalten, falls gewünscht.

[0042] Beispiele für Milchsäure-Bakterien, die in der vorliegenden Erfindung verwendet werden, schließen *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gaceri*, *Lactobacillus cryspatus* usw. ein. Beispiele für Enterokokken sind *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* usw., Beispiele für Hefen sind *Candida*-Spezies, und Beispiele für Bacillus-Spezies sind *Bacillus subtilis* usw.

[0043] Wenn die spezifischen Antikörper der vorliegenden Erfindung bei der Verhütung oder Behandlung der oben erwähnten Krankheiten verwendet werden, können die Antikörper in Form einer pharmazeutischen Zusammensetzung verabreicht werden, welche die Antikörper und einen pharmazeutisch annehmbaren Träger dafür enthält. Weiter können Antazida (beispielsweise Natriumhydrogencarbonat, Magnesiumcarbonat, gefälltes Calciumcarbonat, synthetischer Hydrotalkit usw.), Mittel zum Schutz der Magenmukosa (z. B. Aluminiumsilicat, Sucralfat und Natriumkupferchlorophyllin) und Verdauungsenzyme (Biodistase, Lipase usw.) der pharmazeutischen Zusammensetzung zugesetzt werden, falls erforderlich oder gewünscht. Die Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung kann auf herkömmliche Weise durchgeführt werden. Die Verabreichung der pharmazeutischen Zusammensetzung zur Verwendung bei der Verhütung oder Behandlung dieser Krankheiten kann auf dem oralen Weg geschehen.

[0044] Die Dosierung der Antikörper der vorliegenden Erfindung wird gemäß der Verwendung, dem Zweck und den Zuständen der Symptome ausgewählt. Vorzugsweise können 0,25–25,0 mg/kg der gereinigten Antikörper pro Tag bei einem Erwachsenen bei der Verhütung von Gastritis, Magenulzera oder Duodenalulzera verabreicht werden, und 1,25–125 mg/kg der gereinigten Antikörper können pro Tag bei einem Erwachsenen bei der Behandlung dieser Krankheiten verabreicht werden.

[0045] Wenn die Antikörper der vorliegenden Erfindung als Zusatz zu Nahrungsmitteln zur Verhütung der oben erwähnten Krankheiten verwendet werden, können 0,01 bis 0,1 Gew.-% und bevorzugt etwa 0,05 Gew.-% gereinigte Antikörper in dem Nahrungsmittel enthalten sein.

[0046] Die folgenden Beispiele werden angegeben, um die vorliegende Erfindung weiter zu erläutern.

Beispiel 1

(1) Herstellung von Hp-Antigenen

(i) Herstellung von Hp-Antigen gegen ganze Zellen

[0047] Der Hp#130-Stamm aus einem Gastritis-Patienten (erhalten vom medizinischen College der Tohkai University) wurde in Gehirn-Herz-Infusionsagarmedium eingepflegt, das mit 5% Pferdeblut ergänzt war, und dann 72 Stunden bei einer Temperatur von 37°C in einem anaeroben Gaspackungsglas kultiviert. Nach der Kultivierung wurde eine glatte Kolonie, die einen klaren Glanz aufwies und eine schwache α -Hämolyse zeigte, gesammelt und in Brucella-Nährbrühe suspendiert, die mit 1–10% fetalem Rinderserum ergänzt war, und 24–48 Stunden unter Schütteln bei einer Temperatur von 37°C kultiviert, während die Gasphase durch ein Gasgemisch aus 10% CO₂, 10% H₂ und 80% N₂ ersetzt wurde. Es wurde dreimal eine Subkultivierung durchgeführt, um eine vierte Subkultur zu erhalten, wobei die Menge der Kultur bei jeder Subkultur erhöht wurde. Jedes Mal, wenn eine Subkultur vorgenommen wurde, wurde die Kultur bezüglich Gram-Färbbarkeit und Motilität getestet, und ein Urease-Test, Katalase-Test und Oxidase-Test wurden durchgeführt. Eine vierte Subkultur, die durch Subkultivierung erhalten wurde ($5,2 \times 10^8$ CFU/ml), wurde 20 Minuten bei $12\,000 \times g$ zentrifugiert. Die durch Zentrifugation gesammelten Zellen wurden in sterilisiertem destilliertem Wasser so suspendiert, dass die Menge des Kulturmediums hundertfach geringer war als diejenige des Anfangs-Kulturmediums, und dann wurde die resultierende Suspension mit einem Super-Hochgeschwindigkeitshomogenisierer (Cinematica) 60 Se-

kunden bei 15 000 U/min behandelt, um die Zellen zu lysieren. Es wurde durch Plattieren des Lysats auf einem Agarmedium, das mit 10% Pferdeblut ergänzt war, und Beobachten des Wachstums der Zelle bestätigt, dass die Zellen lysiert waren.

(ii) Herstellung von Flagella-Antigen

[0048] Eine Kultur des HP#130-Stamms in Brucella-Nährbrühe ($4,0 \times 10^8$ CFU/ml), die durch das gleiche Kultivierungsverfahren erhalten wurde, wie oben erwähnt, wurde 20 Minuten bei $12\,000 \times g$ zentrifugiert. Die gesammelten Zellen wurden in destilliertem Wasser suspendiert und mit einem Wirbelmischer gerührt, um die Urease-Komponente zu entfernen. Dann wurden die Zellen in Tris-HCl-Puffer (pH 7,2) suspendiert, mit einem Super-Hochgeschwindigkeitshomogenisierer (Cinematica) 60 Sekunden bei 15 000 U/min behandelt und 6 Minuten bei $6\,700 \times g$ zentrifugiert, um die Zellen in Flagella und verbleibende Teile aufzutrennen. Zu dem Überstand, der Flagella enthielt, wurde Trypsin gegeben (1 mg/ml), und er wurde 20 Minuten bei einer Temperatur von 37°C behandelt, um kontaminierende Protein-Komponenten, wie Urease, zu beseitigen. Die Flagella-haltige Fraktion wurde auf einen 25–65% Saccharose-Dichtegradienten gegeben, und es wurde 22 Stunden lang eine Zentrifugation bei $90\,000 \times g$ (+4°C) durchgeführt. Dann wurde unter Verwendung einer Fraktionssammlungsvorrichtung eine Fraktionierung durchgeführt, und die Protein-Konzentration jeder Fraktion wurde unter Verwendung eines Densitometers überwacht, und die Anwesenheit von Flagella wurde unter Verwendung von SDS-PAGE nachgewiesen. Fraktionen, die auf der Grundlage dieser Daten Protein von etwa 50 kDa enthielten, wurden vereinigt, und die vereinigten Fraktionen wurden 3–10-fach mit destilliertem Wasser verdünnt und dann 60 Minuten bei $180\,000 \times g$ zentrifugiert, um Pellets zu erhalten. Die Pellets wurden in destilliertem Wasser gelöst und dann 2 Minuten bei $6\,700 \times g$ zentrifugiert. Der erhaltene Überstand wurde SDS-PAGE unterzogen, und es wurde bestätigt, dass er Flagella A (53 kDa) und Flagella B (54 kDa) enthielt.

(iii) Herstellung von Urease-Antigen

[0049] Eine Kultur von Hp#130 in Brucella-Nährbrühe ($3,5 \times 10^8$ CFU/ml), die durch das gleiche Kultivierungsverfahren erhalten wurde, wie es oben in (i) erwähnt ist, wurde 20 Minuten bei $12\,000 \times g$ zentrifugiert. Die gesammelten Zellen wurden in destilliertem Wasser suspendiert, durch einen Wirbelmischer 60 Sekunden gerührt und zentrifugiert, um einen Überstand zu erhalten, der Urease enthielt. Die Reinigung wurde anhand des folgenden Verfahrens durchgeführt. Der Überstand wurde auf eine DEAE-Sephacel-Säule aufgebracht, die mit einem Puffer (20 mM Phosphat, pH 6,8, 1 mM EDTA, 1 mM 2-Mercaptoethanol und 10% PEG 300) äquilibriert war, und mit einem Durchsatz von 0,5 ml/min so durch ein Gel geleitet, dass das Gel Urease adsorbierte. Die Elution wurde mit einem 0–0,5 M KCl-Konzentrationsgradienten durchgeführt. Jede Fraktion wurde bezüglich der Urease-Aktivität überwacht. Die Fraktion mit einem Peak der Urease-Aktivität wurde zusammengegeben und konzentriert.

[0050] Dann wurde das Konzentrat auf eine Sephacryl S-300-Säule aufgebracht, die mit einem Puffer (20 mM Phosphat, pH 6,8, 150 mM NaCl) äquilibriert war, und eine Elution wurde durchgeführt. Die Urease-Aktivität jeder Fraktion wurde gemessen. Die Fraktion mit einem Peak der Urease-Aktivität wurde zusammengegeben und unter Verwendung von SDS-PAGE analysiert, um zu bestätigen, dass sie Urease A (32 kDa) und Urease B (60 kDa) enthielt.

(2) Immunisierung von Hennen

[0051] Die Immunisierung wurde unter Verwendung von weißen Leghorn, High Line W77-Hennen durchgeführt, die etwa 18 Wochen alt waren. Jedes der drei in Beispiel 1 erhaltenen Antigene (auf einen Gehalt von 0,5–1,0 mg/ml Protein eingestellt) wurde mit einem öligen Adjuvans gemischt und in den rechten und linken Brustmuskel mit einer Dosis von 0,5 ml pro Injektion injiziert (anfängliche Immunisierung). Sechs Wochen nach der anfänglichen Immunisierung wurde das gleiche Antigen als Auffrisch-Verabreichung auf die gleiche Weise und mit der gleichen Dosis injiziert. Etwa zwei Wochen nach der Auffrisch-Injektion nahm der Antikörper-Titer des Eigelbs von Eiern, die von diesen immunisierten Hennen gelegt wurden, signifikant zu und wurde stabil, und dann begann man mit dem Sammeln der Eier und setzte es vier Wochen fort. Bezüglich der Stabilität der Antikörper-Produktionsfähigkeit war der Antikörper-Titer der Eier über 4–6 Monate stabil. Danach nahm der Antikörper-Titer ab, und dann wurde die Injektion unter Verwendung des gleichen Verfahrens wie oben wiederholt, um den Titer wiederherzustellen.

(3) Assay des Antikörper-Titers von Eigelb

[0052] Das Eigelb wurde vom Eiweiß jedes Eis abgetrennt und gewogen. Zu diesem Eigelb wurde ein glei-

ches Volumen an Kochsalzlösung gegeben, um die Eigelbkomponente zu lösen. Zu dieser Mischung wurde ein gleiches Volumen an Chloroform gegeben, und dann wurde die Mischung heftig unter Schütteln gerührt und zentrifugiert. Der erhaltene Überstand wurde als Probe zur Bestimmung des Antikörper-Titers verwendet. Der Antikörper-Titer des Überstands wurde durch ELISA bestimmt. Das ELISA-Verfahren war wie folgt. Die optimale Konzentration an immobilisiertem Antigen und einem Konjugat von Meerrettichperoxidase-Geflügel-IgG wurde durch Schachbrett-Titration bestimmt. Eine Mikroverdünnungsplatte (Immulon 2, Dynex) wurde als Platte verwendet, und ein Antigen, das durch Lyse von ganzen Hp-Zellen erhalten wurde, wurde für die Immobilisierung verwendet. Ein Antigen wurde mit Carbonatpuffer (pH 9,6) so verdünnt, dass es 5 µg/ml Protein enthielt, und 100 µl des verdünnten Antigens wurden in jede Vertiefung gegeben und 18 Stunden bei 4°C stehen gelassen.

[0053] Die Testverfahren waren wie folgt: Nachdem jede Vertiefung dreimal mit PBS-Tween gewaschen worden war, wurden 200 µl 2%-ige Magermilch-Lösung zum Blockieren dazugegeben, und man ließ jede Vertiefung 60 Minuten bei 37°C stehen. Dann wurde jede Vertiefung dreimal mit PBS-Tween gewaschen, und 100 µl jeder Probe wurde zu jeder Vertiefung gegeben, um sie 60 Minuten bei 37°C reagieren zu lassen. Nach der Reaktion wurde die Vertiefung mit PBS-Tween gewaschen, und 12 000-fach verdünntes Konjugat wurde in einer Menge von 100 µl/Vertiefung für eine 60-minütige Reaktion bei 37°C dazugegeben. Nachdem jede Vertiefung fünfmal gewaschen worden war, wurde Substrat (o-Phenylendiaminhydrochlorid, das H₂O₂ enthielt) zu der Vertiefung gegeben, um bei Raumtemperatur eine Farbe zu erzeugen. Nach 20 Minuten wurden 50 µl/Vertiefung 3 N H₂SO₄ dazugegeben, um die Reaktion zu stoppen. Dann wurde in jeder Vertiefung die Extinktion bei 490 nm durch ein ELISA-Autoablesegerät gemessen. Der Antikörper-Titer der Probe wurde schließlich durch Korrektur des gemessenen Werts auf der Grundlage der Extinktion einer positiven und einer negativen Kontrolle berechnet.

(4) Herstellung von Antikörpern aus Eigelb

[0054] Nachdem die immunisierten Eier gewaschen und desinfiziert worden waren, wurde das Eigelb vom Eiweiß jedes Eis abgetrennt, und das vereinigte Eigelb von einer Mehrzahl von Eiern wurde in Gruppen von 8 kg aufgeteilt und bis zur Verwendung unterhalb von -20°C aufbewahrt. Die Reinigungsverfahren waren wie folgt: Zu 7,5 kg des Eigelbs als Ausgangsmaterial wurde eine zehnfache Menge (bezüglich Gewicht) an destilliertem Wasser zur Delipidisierung gegeben. Zu dem Überstand wurde Ammoniumsulfat gegeben, so dass eine 40%-ige Sättigung erzeugt wurde. Die Mischung wurde gerührt und zentrifugiert, um Pellets zu erhalten. Die Pellets wurden in Kochsalzlösung gelöst, und eine Aussalzung bei 30% Sättigung wurde durchgeführt, um Pellets zu erhalten. Die erhaltenen Pellets wurden in einer geringen Wassermenge gelöst, und zu dieser Mischung wurde unter Rühren bei -20°C Ethanol gegeben, so dass sich eine Endkonzentration von 50% ergab. Nach Zentrifugation wurden die Pellets in Kochsalzlösung gelöst und lyophilisiert. Als Ergebnis wurden 11 g hellgelblich-weißes Pulver erhalten. Die Gewinnungsrate der Antikörper betrug etwa 47%, die Reinheit von IgG war nicht weniger als 95%, und der Wassergehalt war nicht mehr als 2%.

Experiment 1

Wirksamkeit verschiedener Antikörper aus Eiern bei Mäusen, die mit Hp infiziert waren

[0055] Dieses Experiment wurde durchgeführt, um zu beobachten, ob Hp, der an Magenmukosa haftet, aus dem Magen eliminiert werden kann, wodurch das Auftreten von Gastritis signifikant unterdrückt wird, indem man einer Maus oral Eiantikörper gegen ganze Hp-Zellen (Vergleichsexperiment) Antikörper gegen Urease (die vorliegende Erfindung) und Antikörper gegen Flagella (die vorliegende Erfindung) verabreichte. Die Maus war ein Infektionsmodell einer herkömmlichen haarlosen Maus (NS : Hr/ICR) (Research Institute for Human and Animal Propagation, Zugangsnummer IRA-NHI-9701) mit einer hohen Empfindlichkeit für eine Hp-Infektion.

[0056] Jede der haarlosen Mäuse (männlich) wurde mit 1×10^9 CFU NSP 335, das aus klinischem Material isoliert worden war, an 3 aufeinander folgenden Tagen durch orale Verabreichung infiziert. Wie in Tabelle 1 gezeigt, wurden 8 Wochen nach der Infektion verschiedene Antikörper, wie in Beispiel 1 aus Eier von Hennen hergestellt, die gegen ganze Zellen, Urease A und Urease B von Hp oder Flagella A oder Flagella B von Hp als Antigen immunisiert worden waren, oral einmal täglich über 14 Tage zwangsverabreicht. Nach Verabreichung über 14 Tage wurden die Mäuse in jeder Gruppe geopfert, Blut wurde gesammelt, und die Antikörper-Titer gegen Hp wurden mittels ELISA getestet. Bei der Autopsie wurden die Mägen von Mäusen jeder Gruppe gesammelt und verwendet, um die Zahl von Hp-Zellen in dem Magen zu zählen und pathologische Gewebeproben zu präparieren. Die Zahl der Hp-Zellen, die an der Magenmukosa hafteten, wurden wie folgt gezählt.

Nach vollständiger Entfernung des Inhalts des Magens wurde das Magengewebe 8-mal mit PBS (pH 7,2) gewaschen und homogenisiert. Das homogenisierte Gewebe wurde auf ein selektives Medium zum Nachweis von Hp (Poremedia Hp Isolationsmedium, Eiken Kagaku) gegeben und 5 Tage durch das Gaspackungsverfahren bei 37°C inkubiert. Dann wurde die Zählung von lebensfähigem Hp durchgeführt. Die Anwesenheit von Gastritis wurde durch Fixieren des Magengewebes mit Formalin und Durchführen von Hämatoxylin-Eosin-Färbung in einem herkömmlichen Verfahren überprüft.

[0057] Wie aus den in Tabelle 1 gezeigten Ergebnissen ersichtlich ist, zeigten alle Gruppen, denen Eiantikörper verabreicht worden waren, die Tendenz, dass Hp im Magen auf Dosis-abhängige Weise verringert war. Jedoch konnte die Verabreichung von Antikörpern gegen ganze Zellen die Zahl von Hp im Magen nur um einen Faktor von etwa 10 verringern und konnte Hp nicht vollständig aus dem Magen eliminieren. Im Gegensatz dazu nahm in der Gruppe, der Anti-Flagella-Antikörper oder Anti-Urease-Antikörper verabreicht worden war, Hp im Magen auf Dosis-abhängige Weise bemerkenswert ab und war bei einer Dosis bei 0,5 ml nahezu vollständig eliminiert. Dies wurde durch den Antikörper-Titer im Blut gestützt, der mittels ELISA durchgeführt wurde. So waren die Titer im Blut von Gruppen mit Verabreichung auf Dosis-abhängige Weise verringert, und die Titer im Blut der Gruppe, der Anti-Flagella-Antikörper verabreicht worden waren, und der Gruppe, der Anti-Urease-Antikörper verabreicht worden waren, waren bemerkenswert niedrig im Vergleich zu der Gruppe, der Antikörper gegen ganze Zellen verabreicht worden waren.

[0058] Weiter ist es bemerkenswert, dass, obwohl die Verabreichung von Antikörpern gegen ganze Zellen von Hp im Magen bis zu einem gewissen Ausmaß verringern konnte, die Auswirkung auf die Unterdrückung des Auftretens von Gastritis gering war, und bei einer Dosis von 0,5 ml war nur eine Maus ohne Gastritis, und die restlichen hatten alle Gastritis. Im Gegensatz dazu konnte die Verabreichung von Anti-Flagella-Antikörpern oder Anti-Urease-Antikörpern das Auftreten von Gastritis in allen Mäusen bei einer Dosis von 0,5 ml unterdrücken.

[0059] So wurde bestätigt, dass die Verabreichung von Antikörpern der vorliegenden Erfindung aus Eiern eine überlegene Auswirkung auf die Ausrottung oder Beseitigung von Hp aus dem Magen und die Unterdrückung von Gastritis in mit Hp infizierten Mäusen aufwies.

[0060] In den oben erwähnten Experimenten von Aiba et al. wurde Hp#130 aus klinischem Material 4 Wochen alten keimfreien BALB/c-Mäusen (männlich) oral mit einer Dosis von 1×10^9 CFU über 3 Tage verabreicht. 4 bis 7 Wochen nach der Infektion wurden Antikörper aus Eiern gegen mit Formalin abgetötete ganze Hp-Zellen oral einmal täglich über 14 Tage verabreicht, und die Zahl von Hp im Magen wurde mit derjenigen der Kontrolle verglichen. Als Ergebnis wurde gezeigt, dass die Verabreichung der Antikörper gegen ganze Hp-Zellen die Zahl von Hp im Magen um einen Faktor von etwa 10 verringern konnte, verglichen mit derjenigen der Kontrollgruppe. Jedoch ist dies keine vollständige Eliminierung. Auch gibt es keine Bezugnahme auf die Inhibierungswirkung gegen das Auftreten von Gastritis.

Tabelle 1

Auswirkungen von verschiedenen Eiantikörpern (Ab), die mit Hp infizierten Mäusen verabreicht wurden

	Art des Antikörpers	Dosis (ml)	Zahl der Zellen im Magen (log 10/g)	ELISA-Antikörper-Titer im Blut (O.D.-Wert)	Gastritis
Vergleich	Antikörper gegen ganze Zellen (Ab-Titer: 2560)	0,5	4,22 ± 0,29 ^{a*} (5/5) ^b	0,78 ± 0,32 ^a	4/5 ^c
		0,25	4,62 ± 0,07 (5/5)	1,16 ± 0,23	5/5
		0,1	4,90 ± 0,10 (5/5)	1,32 ± 0,41	5/5
		0	5,08 ± 0,11 (5/5)	1,45 ± 0,37	5/5
vorliegende Erfindung	Anti-Flagella-Antikörper (Ab-Titer: 2560)	0,5	0,68 ± 1,24 ^{***} (1/5)	0,03 ± 0,02 ^{***}	0/5
		0,25	2,34 ± 1,76 ^{**} (3/5)	0,25 ± 0,33 ^{**}	3/5
		0,1	4,34 ± 0,24 [*] (5/5)	1,09 ± 0,11	5/5
		0	5,44 ± 0,27 (5/5)	1,40 ± 0,29	5/5
	Anti-Urease-Antikörper (Ab-Titer: 2560)	0,5	0 ± 0 ^{***} (0/5)	0,07 ± 0,07 ^{***}	0/5
		0,25	0,76 ± 1,39 ^{***} (1/5)	0,12 ± 0,11 ^{***}	0/5
		0,1	3,78 ± 0,36 ^{***} (5/5)	0,40 ± 0,12 ^{**}	1/5
		0	5,08 ± 0,16 (5/5)	1,18 ± 0,28	5/5

^aStandardabweichung^bNenner stellt die Zahl der verwendeten Mäuse dar Zähler stellt die Anzahl der Mäuse dar, die Hp im Magen enthielten^cNenner stellt die Zahl der verwendeten Mäuse dar Zähler stellt die Zahl der Mäuse dar, die bezüglich Gastritis positiv waren^{*}p < 0,05^{**}p < 0,01^{***}p < 0,001

Experiment 2

Wirkungen einer Kombination von Anti-Urease-Antikörpern und Anti-Flagella-Antikörpern aus Eiern bei mit Hp infizierten Mäusen

[0061] Dieses Experiment demonstriert synergistische Wirkungen, die durch die Verabreichung von Anti-Urease-Antikörpern und Anti-Flagella-Antikörpern erhalten werden, bei der Eliminierung von Hp aus dem Magen**[0062]** Das Verfahren von Experiment 1 wurde wiederholt, außer dass Anti-Urease-Antikörper und Anti-Flagella-Antikörper in Kombination verabreicht wurden und die Menge der Verabreichung 0,1 ml einmal täglich über 14 Tage betrug. Jede Maus in einer Kontrollgruppe erhielt 0,1 ml sterilisierte Kochsalzlösung.**[0063]** Wie in Tabelle 2 angezeigt, waren Antikörper, die allein zu verabreichen waren, diejenigen mit einem Antikörper-Titer von 2560, und die Menge betrug 0,1 ml. Bei dieser Dosis konnten Anti-Urease-Antikörper zu einem gewissen Ausmaß Hp inhibieren und Gastritis unterdrücken, und Mäuse, denen Anti-Flagella-Antikörper verabreicht wurden, zeigten keinen signifikanten Unterschied zu denjenigen in der Kontrollgruppe bezüglich der Zahl von Hp, und die Anti-Flagella-Antikörper wiesen keine Wirkung bei der Unterdrückung von Gastritis auf. Jedoch konnte die Kombination von Anti-Flagella-Antikörpern und Anti-Urease-Antikörpern Hp vollständig aus dem Magen eliminieren und das Auftreten von Gastritis in allen Mäusen unterdrücken, selbst wenn die verwendeten Antikörper einen niedrigeren Antikörper-Titer von 640 aufwiesen.**[0064]** So zeigt die Kombination dieser Antikörper synergistische Wirkungen.

Tabelle 2

Synergistische Wirkungen, als Anti-Urease-Antikörper und Anti-Flagella-Antikörper aus Eiern in Kombination oral mit Hp infizierten Mäuse verabreicht wurden

Art von Antikörper	Zahl der Zellen im Magen (log 10/g)	ELISA-Antikörper-Titer (O.D.-Wert)	Gastritis
Anti-Flagella-Antikörper (2560) ^d	4,38 ± 0,26 ^a (5/5) ^b	1,20 ± 0,15 ^a	5/5 ^c
Anti-Urease-Antikörper (2560)	3,74 ± 0,33 ^{**} (5/5)	0,45 ± 0,12 ^{**}	3/5
Anti-Flagella-Antikörper (640) + Anti-Urease-Antikörper (640)	0 ± 0 ^{***} (0/5)	0,06 ± 0,07 ^{***}	0/5
Kontrolle	5,00 ± 0,27 (5/5)	1,21 ± 0,16	5/5

^{a, b, c} siehe Tabelle 1

^dAntikörper-Titer

^{**}p < 0,01

^{***}p < 0,001

Experiment 3

Synergistische Wirkungen durch die Kombination von Anti-Urease-Antikörpern und einem Milchsäure-Bakterium bei mit Hp infizierten Mäusen

[0065] Bhatia, S. J., et al. (J. Clin. Microbiol., 27: 2328–2330, 1989) führten an, dass *Lactobacillus acidophilus* das Wachstum von Hp in vitro inhibieren konnte und dass diese Inhibierungswirkung auf Milchsäure beruhte. Midolo, P. D., et al., (J. Appl. Bacteriol., 79: 475–479, 1995) teilten mit, dass *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Pediococcus pentosaceus* und *Bifidobacterium bifidus* das Wachstum von Hp in vitro inhibieren konnten und dass diese Aktivität auf den organischen Säuren beruhte, die durch diese Bakterien erzeugt werden. Jedoch wurden diese Experimente in vitro durchgeführt, und deshalb können tatsächliche Ergebnisse im Magen nicht erwartet werden.

[0066] Auch verabreichten Aiba et al., wie oben erwähnt, Hp#130, der aus klinischem Material isoliert worden war, vier Wochen alten keimfreien BALB/c-Mäusen (männlich) auf oralem Weg mit einer Dosis von 1×10^9 CFU über drei Tage, und 4–7 Wochen nach der Infektion wurde 1×10^8 CFU menschliches *Lactobacillus salivarius* oral über drei Tage verabreicht. Vier Wochen danach wurden die Mäuse geopfert, und die Zahl von Hp im Magen wurde mit derjenigen der Kontrollgruppe verglichen. Die Zahl von Hp im Magen betrug 1×10^5 CFU/g in der Kontrollgruppe, 10^2 – 10^3 CFU/g in der Gruppe, die 4 Wochen nach der Infektion eine Verabreichung erhielten, und 10^4 CFU/g in der Gruppe, die 6 Wochen nach der Infektion eine Verabreichung erhielten.

[0067] Da die Daten von Aiba et al. unter Verwendung von keimfreien Mäusen erhalten wurden, die keine normale Flora in der Mundhöhle, im Magen und im Darm aufweisen, ist es fraglich, ob die gleichen Ergebnisse in herkömmlichen Mäusen mit normaler Flora erhalten werden würden. So können, wenn menschliche Milchsäure-Bakterien herkömmlichen Mäuse mit einer inhärenten normalen Bakterienflora verabreicht werden, diese den Magen aufgrund der Barriere der inhärenten Maus-Bakterienflora nicht besiedeln.

[0068] Das Experiment 3 wurde durchgeführt, um die Beziehung zwischen der Wirkung der Eliminierung von Hp aus dem Magen und dem Auftreten von Gastritis zu untersuchen, wenn menschlicher *L. acidophilus* (JCM 1028) haarlosen Mäusen mit normaler Bakterienflora allein verabreicht und zusammen mit Anti-Urease-Antikörpern aus Eiern verabreicht wird. Es wurden die gleichen experimentellen Verfahren wie in Beispiel 2 verwendet. *L. acidophilus* wurde unter Verwendung von Briggs-Lebernährbrühe kultiviert, und die Zellzählung wurde anhand des Verfahrens von Mitsuoka (1979) durchgeführt. 1×10^8 CFU der Zellen wurden einmal täglich über 14 Tage verabreicht. Als Ergebnis war die Zahl von Hp im Magen jeder Maus in der Gruppe, der *L. acidophilus* allein verabreicht worden war, nahezu die gleiche wie diejenige der Kontrollgruppe, und es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den zwei Gruppen, wie in Tabelle 3 gezeigt. Die Gastritis-Bedingungen wurden ebenfalls beobachtet, und *L. acidophilus* wies keine Wirksamkeit bei der Unterdrückung von Gastritis auf. In dieser Hinsicht waren die Daten in diesem Experiment ziemlich unterschiedlich von den Daten, die von

Aiba et al. unter Verwendung keimfreier Mäuse erhalten wurden. So wurden Wirkungen von *L. acidophilus* bei der Eliminierung von Hp aus dem Magen und der Unterdrückung von Gastritis in Mäusen mit normaler Bakterienflora nicht beobachtet. Im Gegensatz dazu war in der Gruppe, der 14 Tage lang *L. acidophilus* und Anti-Urease-Antikörper verabreicht worden waren, der größte Teil von Hp aus dem Magen eliminiert, und gastritische Bedingungen wurden nicht beobachtet. Die verwendeten Antikörper wiesen einen Antikörper-Titer von 640 auf.

Tabelle 3

Synergistische Wirkungen, als Anti-Urease-Antikörper und *L. acidophilus* (JCM 1028) in Kombination oral mit Hp infizierten Mäusen verabreicht wurden

Behandlung	Zahl der Zellen im Magen (log 10/g)	ELISA-Antikörper-Titer (O.D.-Wert)	Gastritis
<i>L. acidophilus</i> (1×10^9 CFU) ^d	$4,72 \pm 0,19^a$ (5/5)	$1,17 \pm 0,30^a$	5/5 ^c
Anti-Urease-Antikörper (2,560) ^e	$3,82 \pm 0,61^{**}$ (5/5)	$0,43 \pm 0,05^{***}$	3/5
<i>L. acidophilus</i> (1×10^9 CFU) ^d + Anti-Urease-Antikörper (640) ^e	$0 \pm 0^{***}$ (0/5)	$0,03 \pm 0,02^{***}$	0/5
Kontrolle	$5,24 \pm 0,30$ (5/5)	$1,52 \pm 0,34$	5/5

^{a, b, c}siehe Tabelle 1

^dverabreichte Zellen pro Maus

^eAntikörper-Titer pro Maus

^{**}p < 0,01

^{***}p < 0,001

Experiment 4

Vergleich der Wirkungen von Anti-Urease-Antikörpern aus Eiern und der Wirkungen von Anti-Urease-Antikörpern aus Serum von Kaninchen

[0069] Dieses Experiment demonstriert, dass die Antikörper aus den Eiern von Hühnern bei der Beseitigung von Hp aus dem Magen wirksamer sind als Antikörper aus Säugetieren.

[0070] Die Wirkungen bei der Eliminierung von Hp wurden verglichen, als Anti-Urease-Antikörper aus den Eiern von Hühnern bzw. solche aus Serum von Kaninchen verwendet wurden. Die verwendeten Verfahren waren allgemein die gleichen wie in Experiment 2. Die Antikörper wurden einmal täglich 14 Tage lang mit einer Dosis von 0,5 ml verabreicht.

[0071] Wie in Tabelle 4 gezeigt, waren die Antikörper-Titer in jeder Maus in den zwei Gruppen nahezu die gleichen, aber nur in der Gruppe, der Antikörper aus den Eiern von Hühnern verabreicht worden waren, war Hp vollständig aus dem Magen eliminiert und war das Auftreten von Gastritis unterdrückt. Im Gegensatz dazu nahm bei der Gruppe, der Antikörper aus Kaninchen verabreicht wurden, die Zahl von Hp im Magen nur leicht ab, und Gastritis wurde nicht unterdrückt. So wurde bezüglich der Wirkungen bei der Eliminierung von Hp durch eine passive Immunisierungstherapie unerwartet offensichtlich, dass Eiantikörper, die heterolog zu Säugern sind, überlegene Wirkungen im Vergleich zu Antikörpern aus Säugern aufweisen.

[0072] Antikörper aus Serum von Kaninchen sowie Antikörper aus den Eiern von Hennen neutralisierten die Enzymaktivität von gereinigter Urease nicht vollständig, obwohl diese Antikörper durch Immunisierung mit Urease als Antigen erhalten wurden.

Tabelle 4

Vergleich der Wirkungen, als Anti-Urease-Antikörper aus Eiern von Hennen und Anti-Urease-Antikörper aus Serum von Kaninchen oral mit Hp infizierten Mäusen verabreicht wurden

Antikörper abstammend aus	Zahl der Zellen im Magen (log 10/g)	ELISA-Antikörper-Titer (O.D.-Wert)	Gastritis
Hühnereigelb (2560) ^d	0 ± 0 ^{a***} (0/5) ^b	0,03 ± 0,01 ^{a***}	0/5 ^c
Kaninchenserum (2560) ^d	4,56 ± 0,28 (5/5)	0,53 ± 0,23*	5/5
Kontrolle	5,10 ± 0,31 (5/5)	1,30 ± 0,16	5/5

a, b, c, d siehe Tabelle 2

* p < 0,05

*** p < 0,001

Experiment 5

Spezifische Bindung von gereinigter Urease von Hp an Magen-Mucin von Ratten

[0073] Wie oben erwähnt, haben die Ergebnisse aus den früheren Studien nahegelegt, dass Urease, die von Hp produziert wird, eine Umgebung für das Wachstum von Hp-Zellen im Magen durch Umwandlung von Harnstoff in Ammoniak im Magen und Einstellen des pH auf neutral in dem Bereich, den die Zellen besiedeln, bereitstellen kann. Auch haben die Studien von Eaton, K. A., et al. und Clyne, M. et al. zu dem Schluss geführt, dass Urease, die von Hp produziert wird, nicht als Adhäsion für die Kolonienbildung von Hp an der Magenmukosa wirkt.

[0074] Jedoch konnten in dem obigen Experiment 1 Anti-Urease-Antikörper aus Eiern angesiedelten Hp aus dem Magen wirksamer als Antikörper gegen andere Antigene (Antigen gegen ganze Zellen und Flagella-Antigen) eliminieren und das Auftreten von Gastritis bemerkenswert unterdrücken. Zusätzlich wurde die Erhöhung des Antikörper-Titers gegen eine Infektion mit Hp durch Verabreichung von Anti-Urease-Antikörpern unterdrückt. Dieses Experiment legt nahe, dass Urease von Hp der stärkste Virulenzfaktor ist.

[0075] Die gegenwärtigen Erfinder testeten unter Verwendung von gereinigter Urease weiter in vitro, ob Urease von Hp als ein Adhäsion an Magenmukosa wirkt. Als Ergebnis haftete Urease an Rattenmagen-Mucin in Dosis-abhängiger Weise, wie in **Fig. 1** gezeigt. Dann wurden die in **Fig. 2** angezeigten Experimente durchgeführt, um die Bindungsstelle im Glycoprotein von Mucin zu bestimmen, an welche Urease bindet, und die erhaltenen Ergebnisse legen nahe, dass die Bindungsstelle Sulfatid im Mucin ist.

[0076] Weiter wurde die Inhibierungswirkung von Antikörpern aus Eiern auf die Haftung von Hp an menschlichen NKN 45-Magenkrebszellen untersucht, und es wurde gefunden, dass die Anti-Urease-Antikörper die höchste Inhibierungswirkung auf die Haftung von Hp zeigten und dass Anti-Flagella-Antikörper die zweithöchste Wirkung zeigten (**Fig. 3**). Obwohl es nicht bestätigt wurde, dass gereinigte Flagella in der Tat spezifisch an Rattenmagen-Mucin haften, besteht aus den Ergebnisse von Experiment 1 eine beträchtliche Möglichkeit, dass Flagella von Hp an der Haftung beteiligt sind.

[0077] Aus dem obigen wird angenommen, dass, da Anti-Urease-Antikörper aus Eiern spezifisch an Urease in der Oberflächenschicht von Hp-Zellen binden und die Haftung von Hp an Magen-Mucin inhibieren, die Antikörper die höchste Wirkung bei der Eliminierung von Hp in mit Hp infizierten Mäusen zeigen. Das heißt, Urease von Hp wirkt als Adhäsion an Magen-Mucin.

[0078] Wie aus dem obigen ersichtlich ist, stellt die vorliegende Erfindung sichere und wirksame pharmazeutische Zusammensetzungen zur Verwendung bei der Verhütung oder Behandlung von Gastritis, Magenerkrankungen und Duodenalerkrankungen, die durch eine Hp-Infektion verursacht werden, bereit und stellt auch ein Nahrungsmittel bereit, das zur Verhütung dieser Krankheiten nützlich ist. Die Antikörper der vorliegenden Erfindung wurden auf der Grundlage der Entdeckung von Faktoren erhalten, welche zur Kolonienbildung von Hp im Magen beitragen, und deshalb können die Antikörper Hp des Magens ausrotten und wirksam Gastritis, Magenerkrankungen und Duodenalerkrankungen unterdrücken. Weiter werden die Antikörper gemäß der vorliegenden Erfindung aus den Eiern

von Hennen erhalten, und deshalb können die gewünschten spezifischen Antikörper in großen Mengen und preiswert durch einfache Verfahren produziert werden.

Patentansprüche

1. Antikörper gegen Urease von *Helicobacter pylori*, wobei die Antikörper aus Eiern erhalten werden, die von Hennen gelegt worden sind, die gegen Urease A und Urease B des Bakteriums als Antigen immunisiert worden sind, wobei die Antikörper gegen das Antigen aktiv sind.

2. Antikörper gegen Geiseln von *Helicobacter pylori*, wobei die Antikörper aus Eiern erhalten werden, die von Hennen gelegt worden sind, die gegen Geisel A und Geisel B des Bakteriums als Antigen immunisiert worden sind, wobei die Antikörper gegen das Antigen aktiv sind.

3. Zusammensetzung, die in der Lage ist, das Wachstum von *Helicobacter pylori* im Magen zu inhibieren, umfassend als aktiven Bestandteil mindestens einen der Antikörper nach Anspruch 1 und der Antikörper nach Anspruch 2.

4. Pharmazeutische Zusammensetzung, die bei der Verhütung oder Behandlung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera nützlich ist, umfassend als aktiven Bestandteil mindestens einen der Antikörper nach Anspruch 1 und der Antikörper nach Anspruch 2 und einen pharmazeutisch annehmbaren Träger oder ein pharmazeutisch annehmbares Verdünnungsmittel.

5. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 4, die weiter mindestens ein Mittel enthält, das aus Antazida, Mitteln zum Schutz der Magenmukosa und Verdauungsenzymen ausgewählt ist.

6. Nahrungsmittel, das bei der Verhütung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera nützlich ist und mindestens einen der Antikörper nach Anspruch 1 und der Antikörper nach Anspruch 2 enthält.

7. Zusammensetzung, die das Wachstum von *Helicobacter pylori* im Magen inhibieren kann, umfassend (a) die Antikörper nach Anspruch 1 und (b) mindestens einen Organismus, der aus Milchsäurebakterien, Enterokokken, Hefen und *Bacillus* ausgewählt ist.

8. Pharmazeutische Zusammensetzung, die bei der Verhütung und Behandlung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera nützlich ist, umfassend (a) die Antikörper nach Anspruch 1, (b) mindestens einen Organismus, der aus Milchsäurebakterien, Enterokokken, Hefen und *Bacillus* ausgewählt ist, und (c) einen pharmazeutisch annehmbaren Träger oder ein pharmazeutisch annehmbares Verdünnungsmittel.

9. Nahrungsmittel, das bei der Verhütung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera nützlich ist und (a) die Antikörper nach Anspruch 1 und (b) mindestens einen Organismus enthält, der aus Milchsäurebakterien, Enterokokken, Hefen und *Bacillus* ausgewählt ist.

10. Zusammensetzung, die das Wachstum von *Helicobacter pylori* im Magen hemmen kann, umfassend (a) die Antikörper nach Anspruch 1, (b) die Antikörper nach Anspruch 2 und (c) mindestens einen Organismus, der aus Milchsäurebakterien, Enterokokken, Hefen und *Bacillus* ausgewählt ist.

11. Pharmazeutische Zusammensetzung, die bei der Verhütung oder Behandlung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera nützlich ist und (a) die Antikörper nach Anspruch 1, (b) die Antikörper nach Anspruch 2, (c) mindestens einen Organismus, der aus Milchsäurebakterien, Enterokokken, Hefen und *Bacillus* ausgewählt ist, und (d) einen pharmazeutisch annehmbaren Träger oder ein pharmazeutisch annehmbares Verdünnungsmittel enthält.

12. Nahrungsmittel, das bei der Verhütung von Gastritis, Magenulzera und Duodenalulzera nützlich ist und (a) die Antikörper nach Anspruch 1, (b) die Antikörper nach Anspruch 2 und (c) mindestens einen Organismus enthält, der aus Milchsäurebakterien, Enterokokken, Hefen und *Bacillus* ausgewählt ist.

13. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 3 bis 5, 7, 8, 10 und 11 und Nahrungsmittel nach einem der Ansprüche 6, 9 und 12, worin die Antikörper gereinigte Antikörper sind.

14. Nahrungsmittel nach Anspruch 6 oder 12, worin die Menge der Antikörper, die darin enthalten sind, im Bereich von 0,01 bis 0,1% als gereinigte Antikörper, bezogen auf das Gewicht des Nahrungsmittels, enthalten

sind.

15. Nahrungsmittel nach Anspruch 6 oder 12, worin die Antikörper eine Antikörper-haltige Substanz sind, die ohne ein Fraktionierungsverfahren aus dem Gesamt-Ovum oder dem Dotter von Eiern gewonnen wird, die von immunisierten Hennen gelegt worden sind.

Es folgen 3 Blatt Zeichnungen

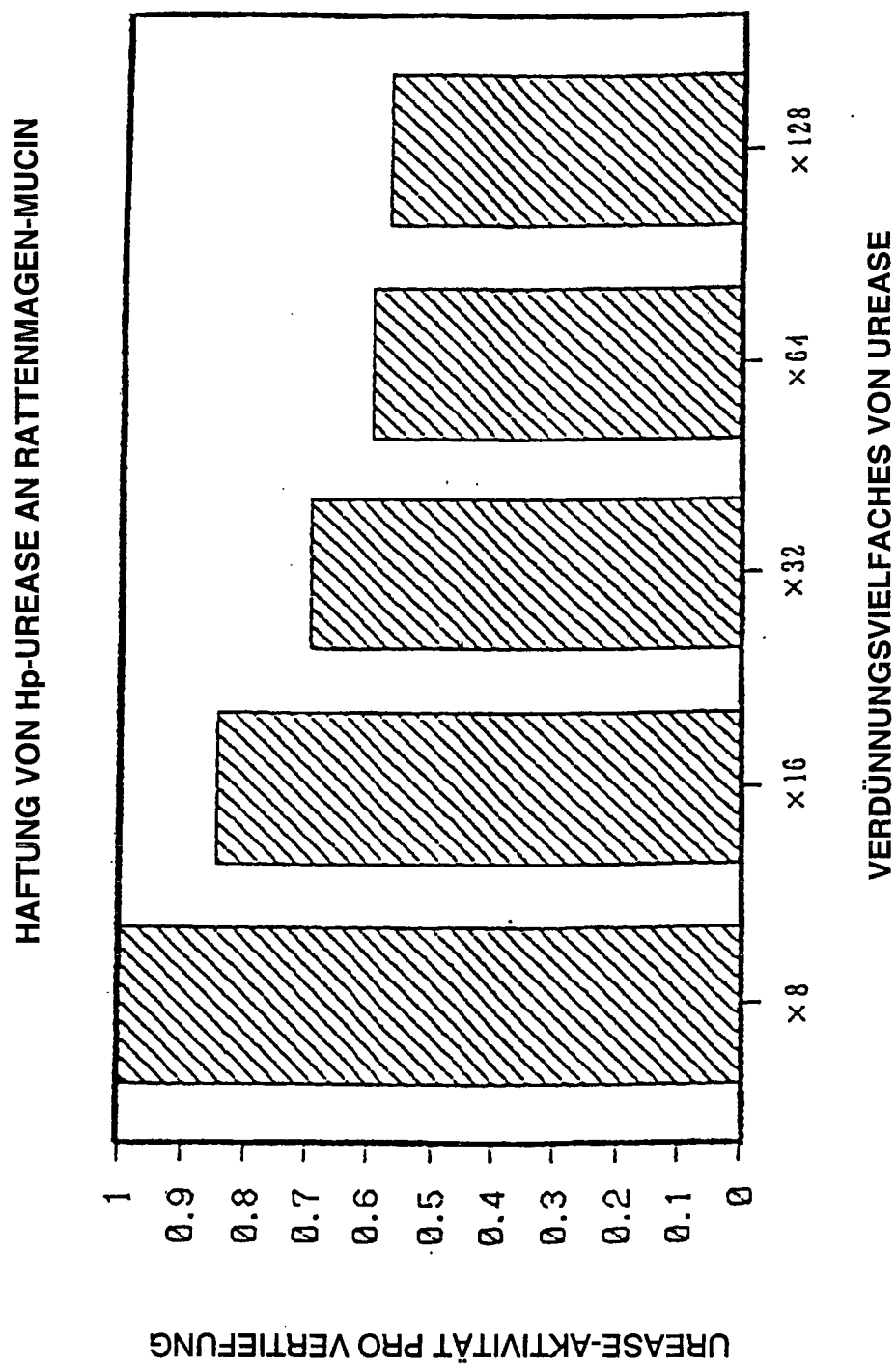
Fig. 1

Fig. 2

HAFTUNG VON UREASE AN RATTENMAGEN-MUCIN:
DAS MIT HEPARIN VORBEHANDELT WURDE

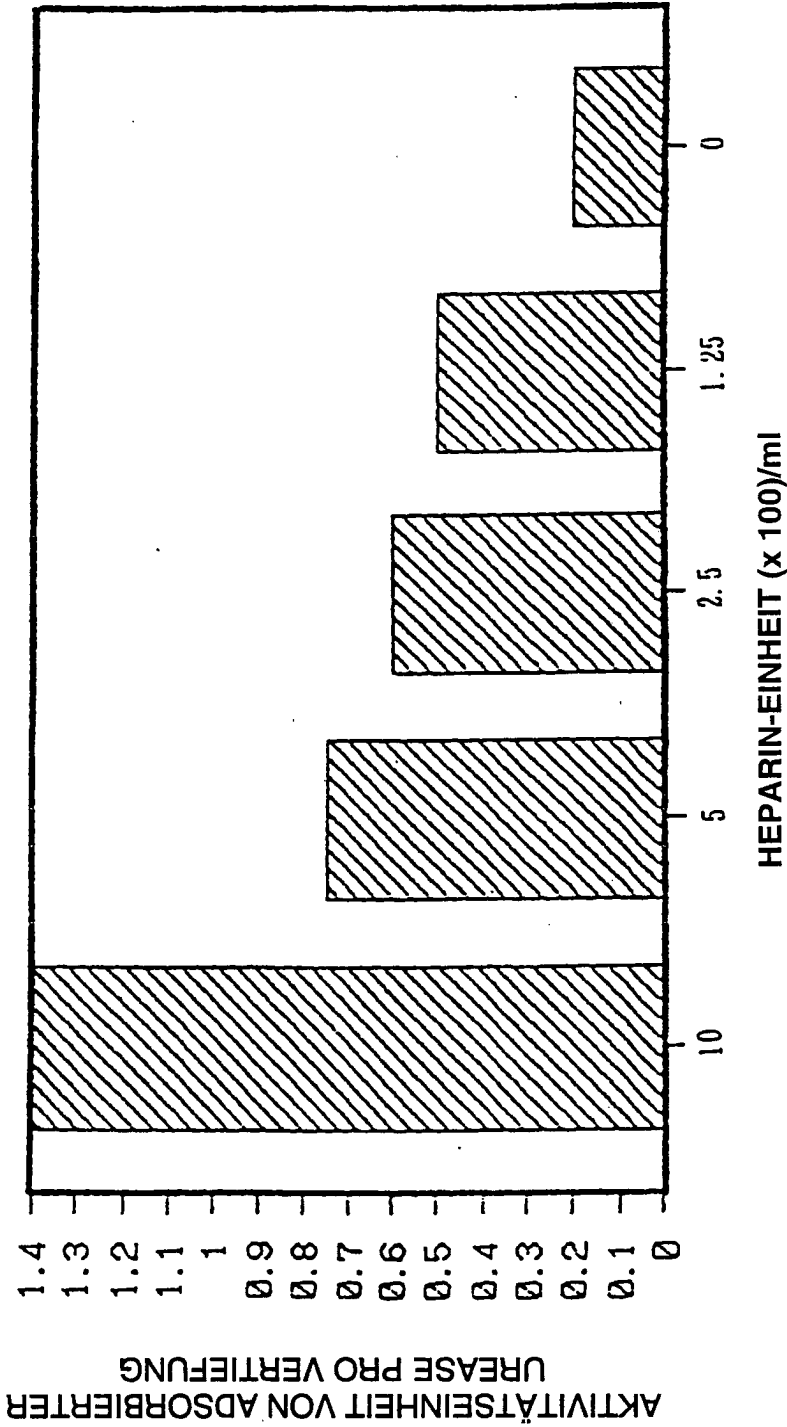
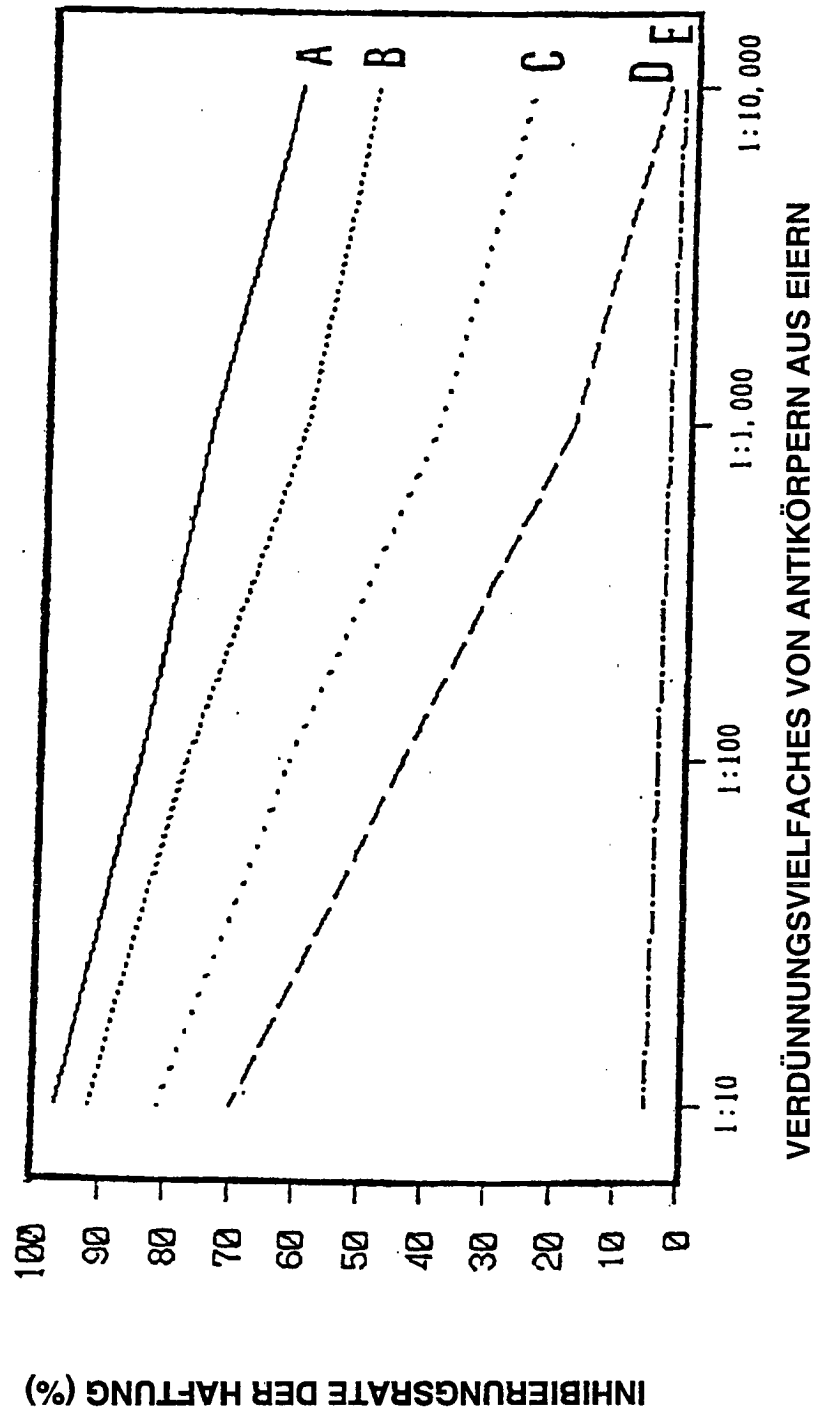


Fig. 3

WIRKUNGEN VON VERSCHIEDENEN ANTIKÖRPERN AUS EIERN AUF DIE
HAFTUNG VON Hp AN MENSCHLICHEN MKN45-MAGENKREBSZELLEN



- A: Anti-Urease- γ lgG-Antikörper + Anti-Flagella- γ lgG-Antikörper
 B: Anti-Urease- γ lgG-Antikörper
 C: Anti-Flagella- γ lgG-Antikörper
 D: γ lgG-Antikörper gegen ganze Zellen
 E: γ lgG aus nicht-immunisierten Hennen