【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】平成22年10月21日(2010.10.21)

【公表番号】特表2010-502175(P2010-502175A)
【公表日】平成22年1月28日(2010.1.28)
【年通号数】公開・登録公報2010-004
【出願番号】特願2009-526123(P2009-526123)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　5/07　(2010.01)
Ｃ１２Ｑ　1/02　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/70　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　35/12　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　35/23　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　35/36　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　37/02　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　17/16　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　8/98　(2006.01)
Ａ６１Ｑ　19/00　(2006.01)
Ａ６１Ｑ　17/04　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　5/00　Ｅ
Ｃ１２Ｑ　1/02
Ｃ１２Ｑ　1/70
Ａ６１Ｋ　35/12
Ａ６１Ｋ　35/23
Ａ６１Ｋ　35/36
Ａ６１Ｐ　37/02
Ａ６１Ｐ　17/16
Ａ６１Ｋ　8/98
Ａ６１Ｑ　19/00
Ａ６１Ｑ　17/04

【手続補正書】
【提出日】平成22年9月2日(2010.9.2)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
生物、特にヒトの末梢循環血由来のＣＤ１４＋単球からランゲルハンス細胞（ＬＣ）又は間質性／真皮樹状細胞（ＩＤＣ）、又はＬＣ及びＩＤＣを製造する方法であって、該ＣＤ１４＋単球を、ケラチノサイトなどの上皮細胞及び／又は皮膚線維芽細胞などの間充織細胞含む細胞環境の存在下に入れ、ＣＤ１４＋単球をＬＣ又はＩＤＣに、又はＬＣ及びＩＤＣに分化させることを特徴とする方法。
【請求項２】
上記ＣＤ１４＋単球を、ケラチノサイトなどの上皮細胞及び／又は皮膚線維芽細胞などの間充織細胞含む細胞環境の存在下に入れ、ＣＤ１４＋単球を、ＩＤＣ、及びマクロファ

ージ及び／又は内皮細胞に、又はＬＣ、ＩＤＣ、マクロファージ及び／又は内皮細胞に分化させる請求項１に記載の方法。
【請求項３】
ＣＤ１４＋単球の分化が、有意な量の外来性サイトカインを添加することなく行われる請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
単球をケラチノサイトなどの上皮細胞を含む細胞環境の存在下に入れ、単球の未成熟の機能的ＬＣへの分化を促進させる請求項１～３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５】
単球を皮膚線維芽細胞などの間充織細胞を含む細胞環境の存在下に入れ、単球の未成熟の機能的ＩＤＣへの分化を促進させる請求項１～４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６】
単球をケラチノサイトなどの上皮細胞、及び皮膚線維芽細胞などの間充織細胞含む細胞環境の存在下に入れ、単球の典型的なＬＣ及びＩＤＣへの分化を促進させる請求項１～５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７】
細胞又は組織モデル内における、生物の特にヒトの末梢循環血に由来するＣＤ１４＋単球の融合を含むＣＤ１４＋単球の培養方法であって、該細胞又は組織モデルがケラチノサイトなどの上皮細胞、及び／又は皮膚線維芽細胞などの間充織細胞を含み、且つ該モデル中でＣＤ１４＋単球を、ＬＣに、又はＩＤＣに、又はＬＣ及びＩＤＣに分化させるために、前記ＣＤ１４＋単球をケラチノサイトなどの上皮細胞、及び／又は皮膚線維芽細胞などの間充織細胞の存在下で培養することを特徴とする方法。
【請求項８】
ＣＤ１４＋単球の培養を、有意な量の外来性サイトカインを加えることなく行う請求項７に記載の方法。
【請求項９】
上記細胞又は組織モデルが、表皮モデル、上皮モデル、真皮モデル、絨毛膜モデル、皮膚モデル、及び粘膜モデルからなる群から選ばれる請求項７又は８に記載の方法。
【請求項１０】
上記細胞又は組織培養モデルが、次の材料：
－間充織細胞、特に線維芽細胞を含むコラーゲン系またはフィブリン系ゲルまたはフィルム、
－１種以上のグリコサミノグリカン及び／又は必要に応じてキトサンを含んでいてもよい、また融合間充織細胞、特に線維芽細胞を含んでいても含んでいなくてもよいコラーゲン製多孔質マトリックス、
－間充織細胞、特に線維芽細胞を含んでいても含んでいなくてもよい、次の群：
半透性合成膜、特に半透性ニトロセルロース膜、半透性ナイロン膜、ポリテトラフルオロエチレン（テフロン（登録商標）（Ｒ）、ＰＴＦＥ）膜またはスポンジ、半透性ポリカーボネートまたはポリエチレンテレフタレート（ＰＥＴ）膜、酸化アルミニウムのキャピラリー多孔性構造を有する無機膜（半透性アノポア膜）、セルロースアセテートまたはエステル（ＨＡＴＦ）膜、半透性ビオポアＣＭ膜、半透性ポリエステル膜、
から選ばれる不活性支持体、及び
－間充織細胞、特に線維芽細胞を含んでいても含んでいなくてもよい、ポリカーボネート系又はポリスチレン系の培養用に処理した不活性支持体、
からなる群から選ばれる皮膚または絨毛膜マトリックス支持体を含む請求項７～９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１】
用いる細胞または組織モデルが、表面に上皮細胞、特にケラチノサイトを有する上記皮膚または絨毛膜支持体を含む請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】

上記細胞または組織モデルが、少なくとも一種の他の細胞種、例えば神経細胞及び／又はメルケル細胞及び／又は内皮細胞及び／又はマクロファージ、及び／又はメラノサイト及び／又はリンパ球及び／又は脂肪細胞及び／又は剛毛や毛髪、脂腺などの皮膚付属物を含む請求項１０又は１１に記載の方法。

【請求項１３】

ＣＤ１４＋単球を、少なくとも間充織細胞を含む細胞または組織モデルで培養して、一部の単球を内皮細胞及び／又はマクロファージに分化させる請求項７～１２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１４】

上記細胞または組織モデルが上皮部分と連結マトリックスとを含み、ＬＣが実質的に上皮部分に局在し、ＩＤＣ、マクロファージ及び／又は内皮細胞が実質的に連結マトリックスに局在している請求項７～１２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１５】

ＣＤ１４＋単球をＬＣ及び／又はＩＤＣに分化させる方法であって、以下の工程：

－循環血からＣＤ１４＋単球を採取する工程；

－ＣＤ１４＋単球をＤＣへの分化を促進しない条件下に維持する工程；及び

－ＣＤ１４＋単球をＬＣ、又はＩＤＣ、又はＬＣ及びＩＤＣに分化を促進する条件下で、ＣＤ１４＋単球を、ケラチノサイトなどの上皮細胞及び／又は線維芽細胞などの間充織細胞を含む細胞環境の存在下に入れる工程、

を含む方法。

【請求項１６】

上記ＬＣ及び／又はＩＤＣの少なくとも１種と、さらに必要に応じてマクロファージ及び／又は内皮細胞とを含む請求項１～１５のいずれか一項に記載の方法により得られる細胞モデル。

【請求項１７】

上記ＬＣ及び／又はＩＤＣの少なくとも１種と、さらに必要に応じてマクロファージ及び／又は内皮細胞を含む請求項１～１５のいずれか一項に記載の方法により得られる、表皮モデル、上皮モデル、真皮モデル、絨毛膜モデル、皮膚モデル及び粘膜モデルからなる群から選ばれる組織モデル。

【請求項１８】

ケラチノサイトなどの上皮細胞を含む上皮部分と、皮膚または絨毛膜線維芽細胞などの間充織細胞を含む連結マトリックスとを含み、ＬＣが実質的に上皮部分に局在し、ＩＤＣ、マクロファージ及び／又は内皮細胞が実質的に連結マトリックスに局在している請求項１７に記載の組織モデル。

【請求項１９】

生物、特にヒトの末梢循環血から単離される凍結ＣＤ１４＋単球。

【請求項２０】

請求項１６に定義される少なくとも１種の細胞モデル、又は請求項１７又は１８に定義される少なくとも１種の組織モデルの、化粧品、皮膚薬学、薬学分野での試験モデルとして、及び／又は活性成分の選択ために使用する方法。

【請求項２１】

請求項１６に定義される少なくとも１種の細胞モデル、又は請求項１７又は１８に定義される少なくとも１種の組織モデルの、生物の防御／感染プロセスで起こる現象と活性の評価のために、特に特定の活性成分の免疫刺激または免疫抑制活性の評価のために、上記活性成分による免疫調整の評価と誘導のために、外部試薬のアレルギー、刺激、感作活性を予測するためのインビトロ試験実施のために、または分子又は化学物質の試験、特に毒性調査を実施するために使用する方法。

【請求項２２】

請求項１６に定義される少なくとも一種の細胞モデル、又は請求項１７又は１８に定義される少なくとも一種の組織モデルの、上皮性障壁の生理病理学；皮膚や粘膜の刺激性；

例えばウイルスや、ＨＩＶなどのレトロウイルス、バクテリア、糸状菌、微生物、粒子抗原などの生物学的攻撃、光毒性；光保護；さらには活性成分、特に化粧品または薬品活性成分の効果；最終製品、特に化粧品又は薬品製品の効果；病原性物質による感染のメカニズムの試験のために使用する方法。

【請求項２３】

請求項１６に定義される少なくとも一種の細胞モデル、又は請求項１７又は１８に定義される少なくとも一種の組織モデルの、ＨＩＶなどのレトロウイルスを含むウイルスの感染、複製、伝播現象のメカニズムの試験、又はワクチンや薬品の投与なども含む新しい治療法の探索と開発に使用する方法。

【請求項２４】

請求項１６に定義される少なくとも一種の細胞モデル、又は請求項１７又は１８に定義される少なくとも一種の組織モデルの、病原性物質、例えばウイルス、ＨＩＶなどのレトロウイルス、バクテリア、糸状菌、微生物、粒子抗原などの存在の検出のために使用する方法。

【請求項２５】

請求項１６に定義される少なくとも一種の細胞モデル、又は請求項１７又は１８に定義される少なくとも一種の組織モデルの、医療、生物医学又は化粧品用途に使用する方法、特にインビトロまたはインビボでの免疫または寛容応答の調整、環境的な攻撃、特に紫外線照射などの物理的な攻撃や刺激／アレルギー／感作物質などの化学的な攻撃や生物学的攻撃の結果としての免疫又は寛容応答の、特に予防又は治療目的での調整のために使用する方法。

【請求項２６】

請求項１６に定義される少なくとも一種の細胞モデル、又は請求項１７又は１８に定義される少なくとも一種の組織モデルの、組織工学及び細胞工学用途に使用する方法、医学または生物医学的用途、具体的には、免疫応答を刺激可能なＤＣ注入法による抗癌細胞療法；自己免疫疾患の場合の細胞療法に使用する方法や、例えばアネルギー性Ｔ細胞の産生による免疫寛容刺激の惹起や；免疫系を侵す疾患の遺伝子療法に使用する方法、またはワクチンの開発及び製造のために使用する方法。

【請求項２７】

以下の工程：

－生物の末梢循環血からＣＤ１４＋単球を単離する工程、

－皮膚または粘膜細胞を支持体上に播種し、栄養培地中で培養して、再生組織を得る工程、

－該再生組織に、皮膚または粘膜細胞と同時に、あるいは同時でなくＣＤ１４＋単球を播種する工程、

－該ＣＤ１４＋単球と皮膚または粘膜細胞とを含む再生組織をＣＤ１４＋単球が、ＬＣに、ＩＤＣと内皮細胞及び／又はマクロファージの混合物に、ＬＣとＩＤＣと内皮細胞及び／又はマクロファージの混合物に分化する条件下で培養する工程（なお、再生組織が表皮モデルである場合は、皮膚細胞は表皮ケラチノサイトであり、再生組織が真皮モデルである場合は、皮膚細胞は皮膚線維芽細胞であり、再生組織が上皮モデルである場合は、粘膜細胞は上皮粘膜細胞であり、再生組織が絨毛膜モデルである場合は、粘膜細胞は粘膜線維芽細胞である）、

からなる組織モデルの製造方法。

【請求項２８】

ケラチノサイト又は上皮粘膜細胞を、及び必要に応じてメルケル細胞及び／又はメラノサイト含む上皮部分と、真皮または絨毛膜線維芽細胞を含む連結マトリックスとを含む再生皮膚または再生粘膜を製造する方法であって、以下の工程：

－ケラチノサイトまたは上皮粘膜細胞を栄養培地中に播種し、必要に応じてメルケル細胞及び／又はメラノサイトの存在下で、ＩＤＣと必要に応じて内皮細胞及び／又はマクロファージを含む真皮または絨毛膜モデルの表面で培養する工程（ただし、上記真皮または絨

毛膜モデルが請求項２７に定義する真皮または絨毛膜モデルの製造方法により得られるものである）、および
－上記ケラチノサイトまたは上皮粘膜細胞の存在下で、ＣＤ１４＋単球がＬＣに分化する条件下で、生物の末梢循環血から単離したＣＤ１４＋単球をケラチノサイトまたは上皮粘膜細胞と同時に、あるいは同時でなく播種・培養する工程、
からなる方法。
【請求項２９】
前記細胞がヒト細胞である請求項２７又は２８に記載の方法。