

(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2008-503576

(P2008-503576A)

(43) 公表日 平成20年2月7日(2008.2.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 37/14	4 C 0 7 6
A 6 1 K 31/718 (2006.01)	A 6 1 K 31/718	4 C 0 8 4
A 6 1 P 15/02 (2006.01)	A 6 1 P 15/02	4 C 0 8 6
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	4 C 2 0 6
A 6 1 P 31/10 (2006.01)	A 6 1 P 31/10	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 25 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-518008 (P2007-518008)	(71) 出願人	506425929
(86) (22) 出願日	平成17年6月23日 (2005.6.23)		ネストール・メディカル・アーベ
(85) 翻訳文提出日	平成19年2月8日 (2007.2.8)		スウェーデン国S-646 23グネスタ
(86) 国際出願番号	PCT/SE2005/000989		. ボックス197
(87) 国際公開番号	W02006/001766	(74) 代理人	100091731
(87) 国際公開日	平成18年1月5日 (2006.1.5)		弁理士 高木 千嘉
(31) 優先権主張番号	0401631-7	(74) 代理人	100127926
(32) 優先日	平成16年6月23日 (2004.6.23)		弁理士 結田 純次
(33) 優先権主張国	スウェーデン (SE)	(74) 代理人	100105290
			弁理士 三輪 昭次
		(72) 発明者	インガー・マトスピーーバルツァー
			スウェーデン国S-412 70イェーテ
			ポリ. フェルトゥルリーグヘーテン23
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 乳酸およびラクトフェリンを含む組成物

(57) 【要約】

尿生殖路における症状を治療および／または予防するための、乳酸およびラクトフェリンおよび／またはそれらのペプチドフラグメントを含む組成物を開示する。また、このような組成物の、尿生殖路における症状を治療および／または予防するための医薬品を製造するための使用、同様に、それらを治療する方法も開示する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ラクトフェリンおよび／またはそのペプチドフラグメントを含むことを特徴とする、尿生殖路における症状を治療および／または予防するための乳酸を含む組成物。

【請求項 2】

ラクトフェリンおよび／またはそのペプチドフラグメントの濃度は、 $0.0001 \sim 100 \text{ mg/ml}$ の範囲である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

ラクトフェリンおよび／またはそのペプチドフラグメントの濃度は、 $0.001 \sim 10 \text{ mg/ml}$ の範囲である、請求項 1 に記載の組成物。

10

【請求項 4】

ラクトフェリンおよび／またはそのペプチドフラグメントの濃度は、 $0.01 \sim 5 \text{ mg/ml}$ の範囲である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】

ラクトフェリンは、組換えヒトラクトフェリンである、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

ラクトフェリンのペプチドフラグメントは、合成または組換えである、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

乳酸の濃度は、 $1 \sim 100 \text{ mg/ml}$ の範囲である、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項 8】

中和剤をさらに含む、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 9】

乳酸および中和剤の含量は、pH が $3.5 \sim 4.5$ の範囲内になるような量である、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 10】

中和剤は、水酸化ナトリウムである、請求項 8 または 9 に記載の組成物。

【請求項 11】

乳酸菌種のための増殖基質をさらに含む、請求項 1～10 のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項 12】

乳酸の増殖基質に対する重量比は、 $20 : 1 \sim 500 : 1$ の範囲である、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 13】

乳酸の増殖基質に対する重量比は、 $50 : 1$ である、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 14】

増殖基質は、 $\alpha(1-6)$ 分岐を含む $\alpha(1-4)$ グルカンである、請求項 11～13 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項 15】

増殖基質は、グリコーゲン、アミロペクチン、グルコース、デキストロース、および、ラクトースからなる群より選択される、請求項 14 に記載の組成物。

【請求項 16】

不活性な媒体をさらに含む、請求項 1～15 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 17】

不活性な媒体は、プロピレングリコール、または、ポリエチレングリコールである、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 18】

増粘剤をさらに含む、請求項 1～17 のいずれか一項に記載の組成物。

50

【請求項 19】

増粘剤は、セルロースのメチルヒドロキシプロピルエーテルである、請求項 18 に記載の組成物。

【請求項 20】

クリーム、ゲル、膣坐剤、錠剤、または、スプレーの形態である、請求項 1～19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 21】

尿生殖路における症状を予防および／または治療するための医薬品を製造するための、請求項 1～20 のいずれか一項に記載の組成物の使用。

【請求項 22】

医薬品は、抗菌活性を有する、請求項 21 に記載の使用。

【請求項 23】

症状は、尿生殖路における高められた pH および／または乱れた微生物叢を含む、請求項 21 または 22 に記載の使用。

【請求項 24】

乱れた微生物叢は、異常に低いレベルの乳酸菌と組み合わせた、異常に高いレベルの B V 関連細菌（嫌気性グラム陰性菌、嫌気性グラム陽性球菌、ブドウ球菌、連鎖球菌、大腸菌）および／またはカンジダを特徴とする、請求項 23 に記載の使用。

【請求項 25】

症状は、細菌性膣症、中間的膣内微生物叢、および、酵母感染症からなる群より選択される、請求項 21～24 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 26】

尿生殖路における症状を予防および／または治療する方法であって、それを必要とする患者に、医薬上有効量の請求項 1～20 のいずれか一項に記載の組成物を投与することを含む、上記方法。

【請求項 27】

症状は、尿生殖路における高められた pH および／または乱れた微生物叢を含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

乱れた微生物叢は、異常に低いレベルの乳酸菌と組み合わせた、異常に高いレベルの B V 関連細菌（嫌気性グラム陰性菌、嫌気性グラム陽性球菌、ブドウ球菌、連鎖球菌、大腸菌）および／またはカンジダを特徴とする、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

症状は、細菌性膣症、中間的膣内微生物叢、および、酵母感染症からなる群より選択される、請求項 26～28 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、尿生殖路における症状を治療および／または予防するための、乳酸を含む組成物に関する。

【0002】

本発明はまた、このような組成物の、尿生殖路における症状を治療および／または予防するための医薬品を製造するための使用、同様に、尿生殖路における症状の治療および／または予防方法にも関する。

【背景技術】

【0003】

酸性度は、膣の防御機構の 1 つと考えられる。この酸性度は、クラミジア、生殖器のマイコプラズマ、トリコモナス症、尿路感染のような感染の危険の減少と、さらに、膣入り口での細菌の運送の減少とに関連している（Hanna, N 等 1985, 1975, Stamey TA および Kaufman MF 1975, Stamey TA および T

10

20

30

40

50

imothy MM 1975)。

【0004】

それに対して、膣内微生物叢の不均衡、すなわち細菌性膣症 (BV) は、早産、性感染症の危険の増加、HIV 感染の危険の増加および骨盤内炎症性疾患に関連している (Schwebke, JR, 2003, Obstet Gynecol Clin North Am. 30: 685~94; Eschenbach, DA, 1993, Am J Obstet Gynecol, 第169巻: 441~5; Taha 等, Aids, 1998, 第12巻: 1699~706, Hillier, SL 等, 1996, Am J Obstet Gynecol, 第175巻: 435~41)。

【0005】

膣は、周産期中や初経から閉経への期間が最も酸性である。膣は、膣内のグリコーゲンを、酸性の生成物 (主として酢酸および乳酸) に嫌氣的に代謝することによって酸性化されていると考えられている。この代謝が、膣内細菌および／または上皮細胞によって行われているのかどうかは、なお論争中である (Pybus および Onderdonk 1999 の総説を参照)。

【0006】

通常、乳酸産生微生物叢にとって望ましい環境が存在し、粘膜分泌物中に約 4 の pH をもたらす。しかしながら、この環境は、月経周期の特定の期間中および閉経の際のエストロゲン濃度の変動のような要因ならびに、例えば長期化する月経の出血、月経前の血性帯下、中間期出血および射精液に起因する様々なタイプの分泌物の発生の増加によっても障害を起こす可能性がある。また、膣内の異物、例えばコイル、ペッサリーならびに、例えば抗生物質治療に関連して、および洗浄の際に挿入されたものも、pH が上昇するような健康な微生物叢の崩壊を引き起こす可能性がある。pH が 4.5 を超えると、嫌気性細菌が増殖する傾向が増加する。

【0007】

粘膜で炎症反応を起こさない膣内の正常な微生物叢の崩壊は BV と言われており、これは、悪臭の発散や 4.5 を超える pH をもたらすが、BV は、一般的には、実際の疾患とはみなされていない。しかしながら、BV は、低い pH によって部分的に付与される感染に対する防御が弱まっている指標であり、さらに、好ましくない環境下で BV は実際の感染症を引き起こす。

【0008】

微生物叢の変化は、膣内の pH の変化と関連している (Caillouette JC 等 1997)。BV の間、膣内の pH が上昇し、乳酸菌の優勢な相から、ガードネラ・バジナリス (*Gardnerella vaginalis*) や嫌気性細菌が優勢な生物相への移行が観察される。嫌気性細菌の存在は、高くなった pH (4.5 を超える) で、悪臭の発散や揮発性アミンを発生させる。

【0009】

BV における膣液の pH 上昇によって発生した臭いは、アミンの存在によるものである。BV 中の発散は、嫌気性細菌の脱炭酸反応によって生産される数種のアミンの濃度上昇を含む。プロトン化されていない型 (遊離塩基) で存在する場合、アミンは揮発性になりそして臭気を発する。しかしながら、強酸を添加すると、アミンはプロトン化型 (塩) に変換され、揮発性ではなくなる。乳酸は強酸であるため、悪臭の発散を減少させるのに適している。

【0010】

乳酸を用いて膣内の pH を低くすることによって、乳酸菌類が膣内に再び定着し、それにより、BV 関連細菌の異常増殖に対する本来の耐性の回復が、より簡単になると思われる。乳酸塩 (すなわち乳酸の塩) を、乳酸菌のための増殖基質 (グリコーゲン) を含むゲル中に添加することが、BV における高い pH と悪臭に対して有効であることが示された。(EP0257007 を参照)。

【0011】

この乳酸塩ゲルは、保存剤を含まずグリコーゲンを含む、酸性の乳酸クリームを提供する。グリコーゲンは、妊娠可能な女性の膣上皮細胞に大量に見出され、乳酸菌のための重要な栄養基質である。

【0012】

乳酸しか含まないクリーム、または、保存剤を含む酸性のクリームと比較して、この乳酸塩ゲルは、インビトロで、乳酸菌の生存に関して2倍の望ましい作用を有することが示されている。従って、これは、BVの症例において、正常な環境を再び確立するのに用いることができる。

【0013】

また、この乳酸塩ゲルは、その低いpHのために、ある種のBV関連細菌種に対してある程度の抗菌作用を有することも示されている。(Andersch B等; "Treatment of Bacterial Vaginosis with an Acid Cream: A Comparison between the Effect of Lactate-Gel and Metronidazole", Gynecol Obstet Invest 21:19~25 (1986)を参照)。しかしながら、カンジダ・アルビカンス(C. albicans)やカンジダ・クルセイ(C. krusei)のような酵母に対する効果は、観察されていない。

【0014】

膣における真菌感染症を治療するための従来の方法は、通常、抗生物質(例えばイミダゾール誘導体)の投与を含む。当然ながら、例えば耐性の発生のために、抗生物質の使用を減らすための多くの動機がある。

【0015】

さらに、患者がBVまたは真菌感染症に罹っているかどうかを診断することは難しい。そのため、用心としての抗生物質が処方され、抗生物質の不必要な過剰投与が起こる。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0016】

当然ながら、膣のpHを低くし、さらに臭いを減少させるという上述の特徴を有するだけでなく、BVおよび／または真菌感染症、特に酵母感染症の治療または予防に有効な、抗生物質を用いない治療を得ることは極めて有用と思われる。理想的には、このような治療は、患者がBVまたは真菌感染症に罹っているかどうか、または、BVまたは真菌感染症に罹る危険性があるかどうかに関わりなく有効であるべきである。これまで、このような可能性は提供されていない。

【課題を解決するための手段】

【0017】

本発明の目的は、泌尿生殖器の症状を治療するためのより効率的な組成物を提供することであり、本組成物は、pHを低くし、悪臭に対して有効であり、さらに、細菌性膣症および真菌感染症、特に酵母種によって引き起こされる真菌感染症の治療にも有効である。

【0018】

この目的は、ラクトフェリン(LF)、および／または、それらのペプチドフラグメントを含むことを特徴とする、乳酸を含む組成物によって達成される。

【0019】

LFおよび／またはそれらのペプチドフラグメントを取り込むと、組成物の抗菌活性が高められるため、本組成物は、尿生殖路、特に膣内の望ましくない細菌や真菌の増殖を阻害および／またはそれらを死滅させるために用いることができる。

【0020】

LFおよび／またはそれらのペプチドフラグメントの濃度は、0.0001~100mg/mlの範囲、特に0.001~10mg/ml、または、0.01~5mg/mlの範囲が可能であり、前記LFは、組換えヒトLFであってもよい。前記ラクトフェリンのペプチドフラグメントは、合成でもよいし、または、組換えでもよい。

【0021】

乳酸の濃度は、0.1～10%（すなわち1～100mg/ml）の範囲が可能である。

【0022】

本組成物は、中和剤をさらに含んでもよく、そして乳酸および中和剤の含量は、好ましくは、pHが3.5～4.5の範囲内になるような量である。

【0023】

本組成物は、乳酸菌のための増殖基質をさらに含んでもよく、そして乳酸の増殖基質に対する重量比は、好ましくは20：1～500：1の範囲、より特定すれば約50：1の範囲である。

10

【0024】

本組成物は、不活性な媒体および／または増粘剤をさらに含んでもよい。

【0025】

本組成物は、例えば、クリーム、ゲル、腔坐剤、錠剤、または、スプレーの形態が可能である。

【0026】

その上、本発明は、尿生殖路における症状を予防および／または治療するための医薬品を製造するための上述の組成物の使用に関する。このような医薬品は、抗菌活性を有する。

【0027】

治療および／または予防しようとする症状は、尿生殖路における高められたpH、および／または、乱れた微生物叢を含む。乱れた腔内微生物叢は、異常に低いレベルの乳酸菌と組み合わせた、異常に高いレベルのBV関連細菌（嫌気性グラム陰性菌、嫌気性グラム陽性球菌、ブドウ球菌、連鎖球菌、大腸菌）および／またはカンジダを特徴とする。

20

【0028】

本発明はまた、上述の症状を予防および／または治療する方法に関する。

【0029】

本発明に係る組成物を用いる利点は、いくつかある：

- ・ 本組成物は、乳酸菌に対しては寛容である。
- ・ 単一の組成物中で乳酸とLFとを組み合わせると、pHを低くし、臭いを減らし、さらにBV関連細菌および酵母の増殖を阻害するため、予想外の相乗効果が生じる。
- ・ 本組成物は、患者がBVまたはカンジダ感染症に罹っているかどうかに関わりなく有効であり、これは当然ながら、信頼できる診断が確立できない場合、特に自己療法の場合に、有利である。
- ・ 抗生物質の使用を減少させることができる。

30

【0030】

〔発明の詳細な説明〕

ラクトフェリン（LF）は、抗菌物質、炎症性反応のモジュレーターおよび免疫調節タンパク質と記載されており、これは、単鎖の鉄結合性糖タンパク質である。LFは、初乳および成熟乳に2～7g/lのレベルで見出される。初乳において、LFは、総タンパク質含量の43%を構成している。また、唾液、涙、気管支粘液、および、腔頸管分泌物のようなその他の外分泌腺の分泌物もLFを含む（表1）。

40

【0031】

これは、トリプシンやトリプシン様酵素によるタンパク質分解に対して著しい耐性を有する。しかしながら、ペプシン消化によりペプチドフラグメントであるラクトフェリシンが生産され、これは、インビトロで広範囲の細菌に対する強い殺菌性を有する。LFとラクトフェリシンはいずれも、インビトロで殺菌性および殺真菌性を有する。

【0032】

【表 1】

表 1

いくつかの分泌物における LF のレベル		mg/ml
ヒト乳汁	初乳	5～7
	成熟乳	1～3
ヒト分泌物:		
	涙	0.4～2.2
気道	鼻の分泌物	0.1
	唾液	0.005～0.01
	気管支粘液	0.03～0.04
尿生殖路	膣粘液	<u>タンパク質 1mg あたり 0.004～0.2</u>
	子宮分泌物	0.5～1
	精漿	0.4～2

10

【0033】

腔内の微生物間の均衡を維持することは、極めて重要性である。BV の治療において（炎症を伴わない、腔内の生物相における不均衡によって引き起こされる悪臭の発散）、乳酸菌の優勢な生物相を再び確立することが重要である。 20

【0034】

本発明に至る研究において、驚くべきことに、上述の既知の乳酸塩と、LF および／またはそれらのペプチドフラグメントとを組み合わせることによって、優れた相乗効果が得られることが見出された。

【0035】

従って、本発明は、LF および／またはそのペプチドフラグメントを含む酸性の乳酸組成物を提供する。本発明に係る組成物は、乳酸菌にとって生産的な環境の再確立を補助し、pH を低くし、さらに、多数の微生物、例えば C. アルビカンス、大腸菌、黄色ブドウ球菌、G. バジナリスおよびプレボテラ属に対する抗菌活性を及ぼすことによって、腔内の粘膜の本来の防御機構を強化する。 30

【0036】

本発明で使用するための LF としては、ヒト LF、組換えヒト LF（rHLF）、または、ウシ LF が可能である。

【0037】

ヒト LF は、ヒト、例えばヒトの乳汁から精製した LF を意味する。

組換えヒト LF は、ハイブリッド DNA 技術によって原核または真核細胞（細菌、真菌細胞、植物または動物）中で生産された LF を意味する。

【0038】

また、LF のペプチドフラグメントも本発明で使用可能であり、これは、単独でもよいし、または、LF と組み合わせてもよい。1 種のペプチドフラグメント、または、2 またはそれ以上の異なる種類のペプチドフラグメントのいずれを使用してもよい。 40

【0039】

「LF のペプチドフラグメント」は、N 末端からの LF 分子の抗菌性の領域をベースとした様々なサイズのペプチドを意味する。このペプチドフラグメント配列は、ヒト LF の N 末端から数えて 1～40 位のアミノ酸（a. a.）、特に 12～40 位のアミノ酸で構成される配列をベースとする。合成ペプチドおよび組換えペプチドを用いることができる。LF ペプチドの例は、ラクtoferrin である。その他の例は、N 末端からそれぞれ 16 位または 18 位のアミノ酸残基から始まる 25 個または 23 個のアミノ酸長さのペプチ 50

ドが可能である。本発明で用いるのに適したL Fペプチドは、公報番号W O O O / O 1 7 3 0の国際出願に記載されている。

【0040】

L Fおよび／またはそれらのペプチドフラグメントの濃度は、例えば、0.0001～100mg/ml、0.0001～1mg/ml、0.001～10mg/ml、0.01～5mg/ml、または、1～50mg/mlの範囲が可能である。特に、L Fおよび／またはそれらのペプチドフラグメントの濃度は、0.001～10mg/mlの範囲、または、0.01～5mg/mlの範囲である。

【0041】

乳酸の濃度は、例えば、1～100mg/ml、または、10～100mg/mlの範囲が可能である。 10

さらに、本発明において、乳酸塩、すなわち乳酸の塩を用いてもよい。

本組成物は、乳酸のpHを緩衝するための中和剤を含んでいてもよい。中和剤の例は、水酸化ナトリウムおよびアンモニアである。

【0042】

乳酸および中和剤の含量は、3.5～4.5の範囲内、好ましくは3.8の近傍になるような量が可能である。pHは、酸が組織に刺激を与えたり、または、中程度の酸性の環境を必要とする乳酸菌のための環境を損なったりするほど低くないことが有利である。pH 3.7～3.9が、特に有利であることが示されている。

【0043】

本組成物は、乳酸菌のための増殖基質をさらに含んでいてもよい。増殖基質は、好ましくは α (1-6) 分岐を含む α (1-4) グルカンである。 20

【0044】

適切な増殖基質の例はグリコーゲンであり、これは、妊娠可能な女性の膈上皮細胞で大量に見出され、そして、乳酸菌のための重要な栄養基質である。治療によって、乳酸を供給することによってpHレベルをより低い数値に調節するだけでなく、本来の状態を再生するために乳酸菌の増殖に有利な環境が再び確立するように、乳酸菌のための増殖基質としてグリコーゲンが用いられる。増殖基質のその他の例は、ラクトース、デキストロース、グルコース、および、アミロペクチンである。

【0045】

乳酸は、増殖基質より相当大きい重量比率で含まれ、例えば、20:1～500:1の重量比、特に50:1の重量比で含まれる。 30

【0046】

本発明に係る組成物は、クリーム、ゲル、スプレー、錠剤または膈坐剤の形態が可能である。その結果として、本発明に係る組成物は、クリームまたはゲルの粘稠度、錠剤の粘稠度、スプレー投与に適した粘稠度を有するか、または、膈坐剤または膈錠の形態が与えられる。

本発明に係る組成物は、膈内、経口または経皮投与が可能である。

【0047】

使用に適した医薬品を形成するために、本組成物の活性成分のための媒体を添加してもよい。本発明に係る組成物は、本発明において不活性なタイプであり、クリームまたはゲル様の粘稠度またはスプレー投与に適した粘稠度を提供する媒体を含んでいてもよい。あるいは、不活性な媒体は、体温で、および、体液中で溶ける物質である。 40

【0048】

膈坐剤を製造しようとする場合、室温で乾燥した環境では比較的固体だが、体温で、さらに体液と接触すると溶ける物体の形成を可能にする媒体が必要である。この点について、膈内の環境で徐々に解けるポリエチレングリコール、PEGを用いてもよい。

【0049】

クリームに適した媒体の一つはプロピレングリコールだが、例えばトリグリセリドのような不活性な性質を有するその他の物質も、この関連で媒体として有用であることがわか 50

っている。

【0050】

本発明に係る組成物は、増粘剤をさらに含んでいてもよく、例えば、クリームおよびゲルの場合、セルロースのメチルヒドロキシプロピルエーテルである。市販品の例としては、ヒプロメローサム(Hypromellose)^(R) 90 HG 4000が挙げられる。増粘剤のその他の例は、コーンスターチである。

【0051】

「尿生殖路における症状」は、雌および／または雄の尿路または生殖器官におけるあらゆる障害または疾患を意味する。特に、本発明は、膣内の症状を治療するのに適している。

10

【0052】

本発明に従って治療しようとする症状は、尿生殖路における高められたpHおよび／または乱れた微生物叢を含む。「高められたpH」は、4.5を超えるpHを意味する。

【0053】

「乱れた微生物叢」は、異常に高いレベルのBV関連細菌、例えばG. バジナリス、嫌気性グラム陰性菌（プレボテラ属、バクテロイド属およびフゾバクテリウム属）、嫌気性グラム陽性球菌、モビルンカス属(Mobiluncus)、および／または、異常に高いレベルの大腸菌、黄色ブドウ球菌および連鎖球菌を、いずれも異常に低いレベルの乳酸菌と組み合わせて含む生物相を意味する。また、膣炎で発生する可能性がある高レベルのカンジダも、乱れた膣内微生物叢とみなされる。

20

【0054】

「異常に高いレベル」は、正常なヒトでのレベルより100～1000倍多いレベルを意味する。

【0055】

「異常に低いレベル」は、優勢ではないことを意味し、すなわち、顕微鏡の液浸視野あたり、乳酸菌の形態型が存在しないか、または、1個未満しか存在しないこと、または、液浸視野あたり、その他の形態型より少ないか、または、その他の形態型と等しいことを意味する。（「ニュージェントの採点法(Nugent scoring system)」による評価であって、これは、膣内の分泌における細菌の不均衡を記載するために国際的に用いられている。Nugent RP等 1991, J Clin Microbiol 29: 297～301を参照）。

30

【0056】

「抗菌活性」は、静菌、静真菌、殺菌および／または殺真菌活性を意味し、すなわち、ある種の細菌および真菌の増殖をそれぞれ妨害し、および死滅させる能力を意味する。

【0057】

「症状の予防および／または治療」は、上述したような症状を治癒もしくは緩和する、または、このような症状の発症を予防するためのあらゆる処置を意味する。

【0058】

本発明に係る組成物を用いて治療しようとする症状の例は、細菌性膣症、中間的膣内微生物叢および酵母感染症、例えばカンジダ感染（カンジダ膣炎、カンジダ性亀頭炎）である。

40

【0059】

さらに、本発明に係る組成物は、クラミジア、生殖器のマイコプラズマ、トリコモナス症、尿路感染症、骨盤内炎症性疾患、および、ヒトパピローマウイルス(HPV)によって引き起こされる感染症の治療に用いてもよい。加えて、上述の症状のあらゆる組み合わせを、本発明に係る組成物で治療することもできる。

【0060】

また、本発明に係る組成物は、例えば性感染症に対する予防として、または、潤滑剤として、真菌性湿疹、潰瘍性乳頭の治療に用いてもよい。

【0061】

50

また、本発明に係る組成物は、口、喉および／または鼻の細菌感染症および／またはウイルス感染症を治療するのに用いてもよい。さらに、本発明に係る組成物は、細菌および／またはウイルスによって引き起こされる皮膚感染症を治療するのに用いてもよい。

【0062】

「治療有効量」は、本発明に係る組成物の、望ましい薬理学的効果および／または治療効果をもたらすであろう量を意味する。望ましい薬理学的効果および／または治療効果は、上述したように、尿生殖路における症状が治癒もしくは緩和されること、および／または、尿生殖路における症状の発症を予防することである。

【0063】

「患者」は、本発明に係る組成物および／または方法で治療することが必要な、雌性または雄性のあらゆるヒトまたはヒト以外の哺乳動物を意味する。

10

【0064】

本発明に係る組成物はさらに、その他の物質を含んでいてもよく、例えばアジュバント、キャリアー、保存剤、ビタミン、無機物、エストロゲンなどであり、これらは当業者周知である。

【0065】

その上、本発明に係る組成物を、例えば抗生物質および／または抗真菌薬（例えばイミダゾール製剤）での治療のような、その他の慣用の尿生殖路の症状の薬理的な治療と組み合わせることも可能である。

【0066】

本組成物は、使用者が使用前に希釈することを意図した濃縮物の形態でもよい。このような濃縮物は、適切には、例えば純水、水溶液または食塩水で希釈される。

20

【0067】

本発明に係る組成物の具体的な例を、以下の典型的な組成物で示す。

【表2】

クリーム

乳酸	5.0g
NaOH を pH 3.9 まで添加	
グリコーゲン	0.1g
プロピレングリコール (85%, 残部 H ₂ O)	15.0g
セルロースのメチルヒドロキシプロピルエーテル 例えばヒプロメローサム ^(R) 90HG4000 (2.5%, 残部 H ₂ O)	100.0g になるまで添加
rHLF	0.2g

30

クリーム

乳酸	5.0g
NaOH (5M)	4.1g
グリコーゲン	0.1g
プロピレングリコール (85%, 残部 H ₂ O)	15.0g
セルロースのメチルヒドロキシプロピルエーテル 例えばヒプロメローサム ^(R) 90HG4000 (2.5%, 残部 H ₂ O)	100.0g になるまで添加
rHLF	0.2g

40

【実施例】

【0068】

材料および方法

細菌株と真菌株

50

マイクロプレート分析では、細菌株、S. アウレウス1800 (CCUG 1800)、E. コリO6、および、酵母、C. アルビカンス (ATCC 64549) を使用した。全ての微生物を、脳心臓浸出液培地 (BHI) で、振盪機で、37℃で一晩培養した。培養物をBHIを含む新しい試験管に移し、振盪機で2時間以上インキュベートした。細菌を対数期で回収し、1回洗浄し、その後、マイクロプレート分析のために用いるブロスに懸濁した。この懸濁液を分光光度法で調節し、650nmで約 4×10^6 細胞/mlの濃度に希釈した。

【0069】

L. ガセリとラクトバシラス・イエセン (L. jensenii) を、チョコレート寒天プレートで、5% CO₂/95% 空气中で24時間培養した。その後これらを回収し、BHI (0.34%) に添加した。洗浄した後に、細菌溶液を分光光度法により調節し、 8×10^6 細菌/ml に希釈した。

10

【0070】

G. バジナリスとP. ビビア (P. bivia) を、チョコレート-GL-プレートで、嫌気性環境で48時間培養した。細菌を回収し、さらなるインキュベーション (37℃で4時間) のためのBHIに懸濁した。細菌を、バクトペプトン (BP, 0.2%) で2回洗浄した。濃度を分光光度法により調節し、 1×10^7 細菌/ml に希釈した。

【0071】

LFおよびペプチド

ヒトの乳汁からのLFを、シグマ (Sigma, セントルイス, 米国) から購入した。組換えヒトLFを、アジェニックス (Agennix) から得た。fmoc法で、ヒトLFの抗菌性の領域をベースとした23個のアミノ酸で構成されるペプチドフラグメントを合成した。

20

【0072】

最小殺菌および阻害濃度 (MMC)

洗浄した細胞を、0.2% BP (pH 7.0)、または、10分の1に希釈したBHI培地 (0.34%、pH 6.7~6.9) (ディフコ (Difco), 米国) に懸濁した。細菌または真菌細胞の濃度を、分光光度法により調節した。2回の工程で (特に他の指定がない限り) BHI希釈液またはBPで連続的に希釈したLFまたはペプチドを、マイクロタイタープレートのウェルに三連で添加した ($200 \mu\text{l}$ /ウェル)。細菌または酵母細胞溶液を $10 \mu\text{l}$ の量で添加し、最終濃度を約 2×10^5 細胞/mlとした。ストック溶液の濃度を、生菌数によって常にチェックした。マイクロプレートを、加湿チャンバーで、37℃で2時間 (特に他の指定がない限り) インキュベートした。各ウェルから $5 \mu\text{l}$ を採取し、血液寒天プレート上に滴加し、37℃で一晩インキュベートした。数回の実験で、さらに徹底した生菌数を行い、それらの死滅を、接種菌に対して残存したコロニー形成単位として示した。微生物の検出下限は200 CFU/mlであった。

30

【0073】

G. バジナリスおよびP. ビビアに関する殺菌性分析の手法は上述の通りであるが、マイクロプレートを嫌気条件下でインキュベート (2時間) したことを除く。その後、嫌気条件下で37℃で48時間インキュベートした後に、この溶液の液滴を、血液寒天プレート上で生存可能な細菌に関して解析した。

40

【0074】

実施例 1

乳酸塩およびLFの抗菌活性

ヒトLFの抗菌活性を、上述の殺菌性分析によって解析した。C. アルビカンス、大腸菌および黄色ブドウ球菌のような様々な微生物を、LFを含む乳酸塩 (殺菌性分析に不適切なゲルを形成する不活性ゲルベースを含まない) 中で、それらの生存に関して解析した。

【0075】

図1は、乳酸塩 (a) および塩化水素 (b) の存在下でのC. アルビカンスに対するL

50

Fの抗真菌活性を示す。L Fを、0.2%バクトペプトンで希釈した種々の濃度の乳酸塩、および、C. アルビカンスと共に2時間インキュベートした。その後、それぞれの溶液の生菌数を解析した。

【0076】

我々の結果によれば、全てのL F濃度について乳酸塩を5倍またはそれ以上($\leq 1\%$)に希釈した場合、L Fは、C. アルビカンスに対する乳酸塩の抗菌作用を強化することが示された(ただし乳酸塩の1%希釈での0.5mgの場合を除く)(図1a)。L Fは、乳酸塩濃度が0.2%、0.04%および0%乳酸塩で酵母細胞を99.9%減少させた。希釈していない乳酸塩では、抗真菌活性が観察された。乳酸塩1%は、カンジダを65%減少させた。しかしながら、接種菌の92および98.2%が、それぞれ2および5mg / mlのL Fの存在下で死滅した。乳酸塩をHClで置き換え、乳酸塩と同じpHにしたところ、希釈していない場合で、殺カンジダ性の活性の減少が起こった(図1b)。また、これらの実験から、低いpHだけでなく、乳酸塩それ自身も、抗真菌活性に重要である(希釈していない乳酸塩溶液で)ことも示された。

【0077】

大腸菌および黄色ブドウ球菌に対する乳酸塩の抗細菌活性は、L Fの非存在下または存在下のどちらでも優れていた(表2および3)。

【0078】

また、腔内で頻繁に見出される2種の乳酸菌株(L. ガセリ、および、L. イエンセン)を用いてL Fおよび乳酸塩の効果も解析した(図2)。

【0079】

図2は、L. ガセリおよびL. イエンセンに対するL F(2mg/ml)の効果を示す。これらの細菌を、0.34%BHIで希釈した種々の濃度の乳酸塩中で3時間インキュベートし、そしてCO₂中でインキュベートした。このアッセイ系において、L. ガセリは、L. イエンセンよりもよく生存した。希釈していない乳酸塩(5%)は、乳酸菌の生存に影響を与えた。乳酸塩1%で、L. イエンセンは生存しなかったが、L Fで処理したL. ガセリは18%生存した。

【0080】

次の実験で、異なるインキュベート条件(0.34%BHI, CO₂インキュベーター)でL Fの作用が変化するかどうかを調べるために、大腸菌とL. ガセリとの比較を行った。従って、大腸菌はL. ガセリと同じ方法で処理した。

【0081】

以前見出されたように、乳酸塩中で、大腸菌は乳酸塩に感受性を有し、そしてL. ガセリは、L Fを含んでいても、含んでいなくても、大腸菌よりも高い耐性を有していた(図3)。

【0082】

表2

殺菌性のマイクロプレート液滴アッセイで解析した、種々の濃度の乳酸塩におけるL Fの殺活性である。数値は、接種菌に対して残存した細菌の割合を示す。+++は、液滴5μl中に含まれるコロニー形成単位数(CFU)が、細菌の平滑層を形成したことを意味し、++は、「しわくちゃ(ruffled)」の領域が観察されたことを意味し、最後に、0は、5μlの三連サンプル中でCFUは見出されなかった(接種菌の99.95%より多くが死滅した)ことを意味する。

10

20

30

40

【表 3】

表 2

大腸菌の死滅					
インキュベーター時間	乳酸塩濃度	HLF, $\mu\text{g/ml}$			
		500	2000	5000	0
2 時間	5%	0	0	0	0
	1%	++	(+++)	(+++)	(+++)
	0.2%	++	(+++)	++	++
	乳酸塩なし	+++	++	++	+++
5 時間	5%	0	0	0	0
	1%	5	9	16	6
	0.2%	4	5	0.4	5
	乳酸塩なし	+++	3	2	+++

10

【0083】

表 3

殺菌性のマイクロプレート液滴アッセイで解析した、種々の濃度の乳酸塩における L F の殺活性である。数値は、接種菌に対して残存した細菌の割合を示す。+++ = 液滴 5 μl 中に含まれるコロニー形成単位数が、細菌の平滑層を形成した（かっこ = コントロールと比較してしわくちゃ領域への傾向）。0 = 5 μl の三連サンプル中に細菌なし（接種菌の 99.95% より多くが死滅した）。

20

【表 4】

表 3

黄色ブドウ球菌の死滅			
インキュベーター時間	乳酸塩	HLF, $\mu\text{g/ml}$	
		500	0
2 時間	5%	0	0
	1%	0	0
	0.2%	0	0
	乳酸塩なし	(+++)	+++
5 時間	5%	0	0
	1%	0	0
	0.2%	0	0
	乳酸塩なし	0.3	+++

30

40

【0084】

これらの実験より、乳酸塩を含まない L F における L. ガセリの生存は不良であったが、L. ガセリは、乳酸塩と L F を組み合わせた作用に対しては、大腸菌よりも高い耐性を有することが示された。

【0085】

また、G. バジナリスおよび P. ビビアに対する L F の抗細菌活性も解析した。この実験において、これらの細菌株は、嫌気性条件にもかかわらず、我々の試験システムでは生存しなかった。（さらなる実験に関しては、以下の実施例 2 を参照）。

【0086】

50

まとめると、L Fは、C. アルビカンスおよび大腸菌に対する乳酸塩の抗菌活性を強化する。（しかしながら、C. アルビカンスに関しては、活性の強さは、L Fだけでなく、乳酸塩濃度にも、いくらか依存する）。

【0087】

C. アルビカンス、黄色ブドウ球菌および大腸菌に関して、希釈していない乳酸塩濃度では、L Fを用いずに、抗菌活性は完全であった。それにより、抗菌活性に重要なのはp Hだけではなく、p Hを低くする分子のタイプも重要であるとも結論付けることができる。従って、 α -ヒドロキシプロピオン酸である乳酸塩は、L F存在下において、H C lよりも活性である（図1）。

【0088】

乳酸塩と組み合わせたL Fが、宿主にとって、不快な臭いと抗菌性の不均衡の両方に対して有益であるように思われる。

【0089】

実施例 2

G. バジナリスおよびP. ビビアに対するL Fの抗菌活性

G. バジナリスおよびP. ビビアに関する生存条件を得るために、殺菌性アッセイを改変した。0. 2 % B Pの代わりに、0. 3 4 % B H Iを用いた。L Fのみ（乳酸塩非含有）を種々の濃度でウェルに添加してこれらの菌株を解析した。プレートを20時間インキュベートした。

試験された全ての株で、L Fによる増殖の阻害が観察された（図4）。

【0090】

第二の一連の実験において、G. バジナリスの7種の株で、99 %が死滅する最小殺細菌濃度（M B C）が測定された（表4）。これらのなかで、L F 2. 5 m gとインキュベートした場合、多少の増殖を示したものは一つだけであった。従って、P. ビビアおよびG. バジナリスに対するL Fの抗菌活性も同様に確認された。

【0091】

表 4

L Fの殺菌活性である。L Fを、5回の連続工程で希釈した。99 %の死滅が達成された濃度をM B C₉₉と定義した。

【表 5】

表 4

菌株	MBC ₉₉ μg/ml
G. バジナリス, 株コード:	
17	>2500
90	4
23	1000
12	500
96	100~500
54	20
51	100

用いられた濃度は、2500、500、100、20、4μg/mlであった。

【0092】

実施例 3

乳酸塩およびr H L Fの抗菌活性

r H L Fが、ヒトの乳汁から精製されたL F（シグマ）と同じ程度に乳酸塩の抗菌作用を強化するかどうかを試験することを目的とした。

【0093】

r H L Fを含む乳酸塩（ゲルベースを含まない）の抗菌活性を、マイクロプレートアッセイで解析した。微生物 C. アルビカンス、大腸菌および黄色ブドウ球菌を解析した。

【0094】

我々の第一の実験において、r H L FとL Fを、乳酸塩を含まない条件下で比較した（示さず）。マイクロプレートアッセイでの解析によれば、いずれのL F調製物も、大腸菌に対するそれらの殺菌活性は類似していたが、L Fは、0.25および0.125 mg/mlの濃度で（インキュベート2時間）、黄色ブドウ球菌とC. アルビカンスに対しては、いくらか高い活性を有していたことが示された。

【0095】

乳酸塩の存在下で、希釈していない乳酸塩（5%）を用いたところ、酵母細胞が全く生存しなかったことから、C. アルビカンスに対する最大の活性が得られた（図5a）。しかしながら、乳酸塩濃度1%では、r H L F（0.5~1.0 mg/ml）は、接種菌のほぼ99%の死滅を達成した。0.2%乳酸塩の濃度で、1 mg/mlのL F調製物はいずれも、ほぼ99%の死滅を達成した。大腸菌の死滅に関して、希釈していない乳酸塩（5%）では生存した細菌はなかったが、L F調製物はいずれも、1%の乳酸塩濃度で死滅を強化した（図5b）。乳酸塩濃度0.2%で、乳酸塩を含まない溶液中で、2種のL Fのうち1 mg/mlのr H L Fが最も有効であった。

【0096】

以下の実験で、C. アルビカンスに対する殺真菌作用に関して、より高い濃度のL Fおよびr H L Fで研究した（図6）。r H L Fを用いたところ、再度、乳酸塩濃度1%のL Fより強い効果が得られた。0.2%の乳酸塩で、より長いインキュベート時間（20時間、図6）の後にのみ、より強いr H L Fの作用が観察された。

【0097】

r H L F 2 mgで得られた結果（図6を参照）に基づいて、L F調製物を、腔内微生物叢由来の2種の乳酸菌種、L. ガセリおよびL. イエンセンに対するそれらの効果に関して解析した（図7）。インキュベート2時間で、乳酸塩の存在によって示される効果に比べて、r H L Fは、L. ガセリの生存に対する追加の効果は示さなかったが（図7a）、L F調製物はいずれも、1%乳酸塩でL. イエンセンの死滅を強化した。0.2%乳酸塩で、L. イエンセンは、r H L Fの抗菌作用により高い耐性を有していた。従って、L. イエンセンは、L F調製物の作用に対して、特に1%乳酸塩でL. ガセリよりも高い感受性を有し（図7b）、これらの乳酸菌種はいずれも、r H L Fに対して、より高い耐性を有していた。

【0098】

まとめると、r H L Fを乳酸塩に添加することによって相乗効果が得られた。r H L Fは、薄いBHI培地（0.34%）で試験した場合、その抗菌活性において、L Fと比較していくらか弱いようであった。それに対して、r H L Fは、乳酸塩の存在下で（1または0.2%）、L Fよりもいくらか強かった（ただし、乳酸菌を用いた場合を除く）。乳酸菌は、健康な正常な微生物叢に属するため、この乳酸菌における逆の作用は宿主にとって有益である。この結果から、2 mg/mlのr H L Fは、乳酸塩において適切な濃度であり得ることが示される。

【0099】

実施例 4

乳酸塩およびL Fペプチド、H L 2の抗菌活性

23個のアミノ酸を含むL F分子の抗菌性の領域に基づくペプチドフラグメントを、乳酸塩の存在下でのその殺真菌活性に関して解析した。図8からわかるように、全ての乳酸塩濃度だけでなく、乳酸塩が添加されなかった場合も、H L 2の添加により酵母細胞生存率が減少した。しかしながら、希釈していない乳酸塩濃度（5%）では、H L 2の非存在下でも乳酸塩の効果は完全であった。従って、短いL Fペプチドフラグメントは、乳酸塩溶液に抗真菌活性を追加した。

【0100】

まとめ

実施例をまとめると、乳酸塩に L F を添加することにより、それらの抗菌作用が強化される。

乳酸塩と L F / r H L F とを組み合わせると、大腸菌のような細菌に関して相乗効果が得られた (図 5 b)。カンジダに対する乳酸塩の抗真菌活性に関しても、特に r H L F を乳酸塩に添加すると相乗効果が示された (図 5 a および 図 6)。

【0101】

負電荷を有する分子 (乳酸塩) を添加すると、カチオン性 L F との相互作用に関して細菌表面の負電荷を有する基と競合すると予想されていたため、この相乗効果は予想外であった。一般的に、微生物の負電荷を有する表面との静電的相互作用は、L F の殺菌活性における第一工程であると考えられている。例えば、リン酸塩および重炭酸塩の濃度を高めると、ヒト L F の殺菌活性が減少する可能性があることが示されている (Soukka 等, 1992, FEMS Microbiology letters 90: 223 ~ 228)。

【0102】

また、意外なことに、L. ガセリのような乳酸菌は、r H L F (図 7 a) が添加されたかまたは添加されていないかにかかわらず、乳酸塩中でも同様によく生存することを強調すべきである。

【図面の簡単な説明】

【0103】

【図 1】乳酸塩 (a) および塩化水素 (b) の存在下での C. アルビカンスに対する L F の抗真菌活性を示す。L F を、0.2 % バクトペプトンで希釈した種々の濃度の乳酸塩、および、C. アルビカンスと共に 2 時間インキュベートした。その後それぞれの溶液の生菌数を解析した。

【図 2】腔内微生物叢で一般的に見出される 2 種の乳酸菌株に対する L F (2 mg / ml) の作用を示す。これらの細菌を、0.34 % BHI で希釈した種々の濃度の乳酸塩中で 3 時間インキュベートし、さらに CO₂ 中でインキュベートした。

【図 3】同じ条件下 (0.34 % BHI、CO₂、インキュベート 2 時間) で試験されたラクトバシラス・ガセリ (L. gasser i) および大腸菌に対する L F および乳酸塩の抗菌活性を示す。

【図 4】種々の濃度の L F の存在下での、G. バジナリス (G v 14)、および、2 種のプレボテラ・ビビア (P. b i v i a) 株 (P b 57、P b 62) の増殖の阻害を示す。これらの細菌を、0.34 % BHI 中で、嫌気条件下で 20 時間インキュベートした。増殖の阻害を分光光度法により解析した。

【図 5】乳酸塩の存在下での (濃度 5 および 1 %、0.2 % バクトペプトンで希釈)、C. アルビカンス、および、大腸菌に対する L F および r H L F の殺菌活性を示す。この溶液を 2 時間インキュベートし、その後、生菌数によって解析した。

【図 6】乳酸塩の存在下での (濃度 1 および 0.2 %、0.2 % バクトペプトン中)、C. アルビカンスに対する L F および r H L F の殺菌活性を示す。この溶液を 2 および 20 時間インキュベートし、生菌数によって解析した。

【図 7】乳酸塩の存在下での (5、1 および 0.2 %、0.2 % バクトペプトンで希釈)、L F (2 mg / ml) および r H L F (2 mg / ml) の殺菌活性を示す。この溶液を 2 時間インキュベートし、生菌数によって解析した。

【図 8】種々の濃度の乳酸塩の存在下での (5、1、0.2 および 0.04 %、0.2 % バクトペプトンで希釈)、L F ペプチド H L 2 (250 μg / ml) の殺菌活性を示す。この溶液を 2 時間インキュベートし、生菌数で解析した。バーの上に示されたパーセンテージは、接種菌の生存画分を示す。

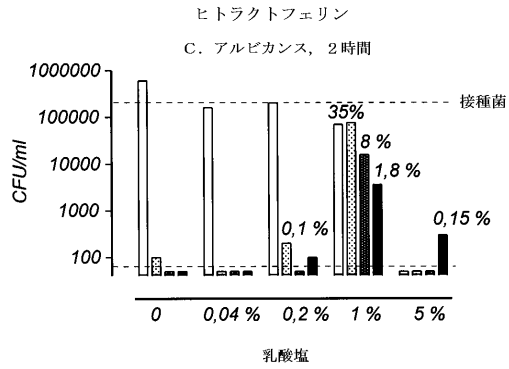
10

20

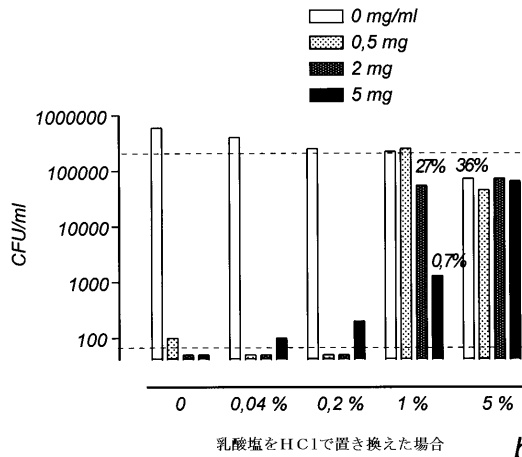
30

40

【図 1】

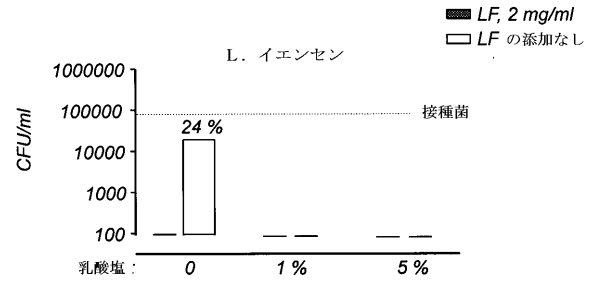
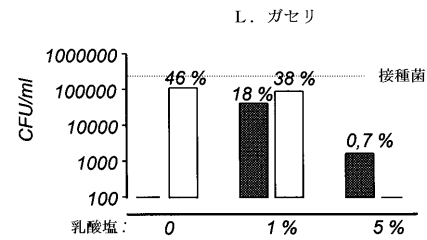


a

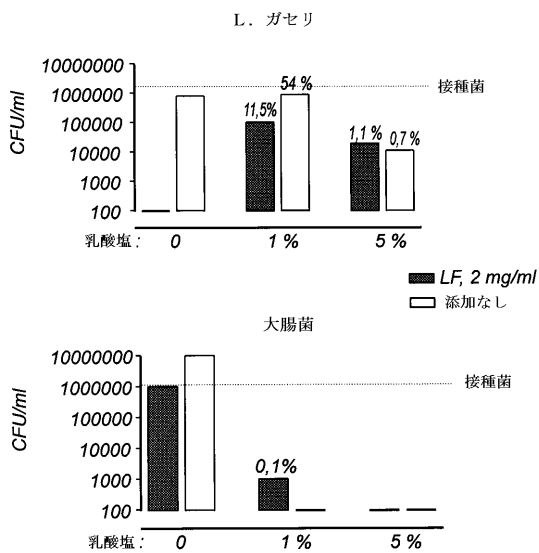


b

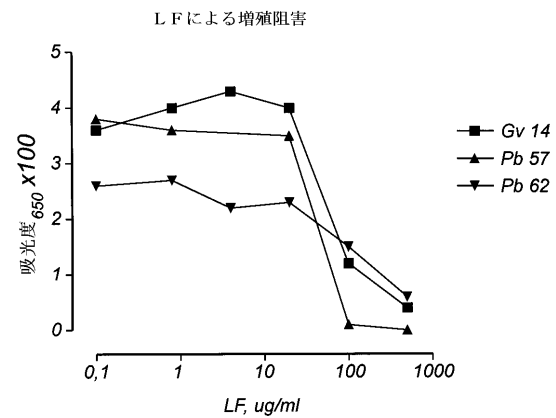
【図 2】



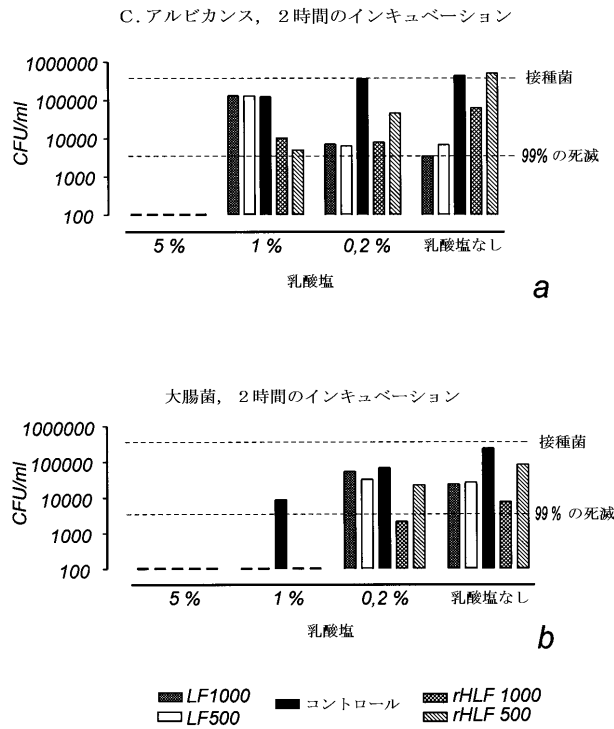
【図 3】



【図 4】



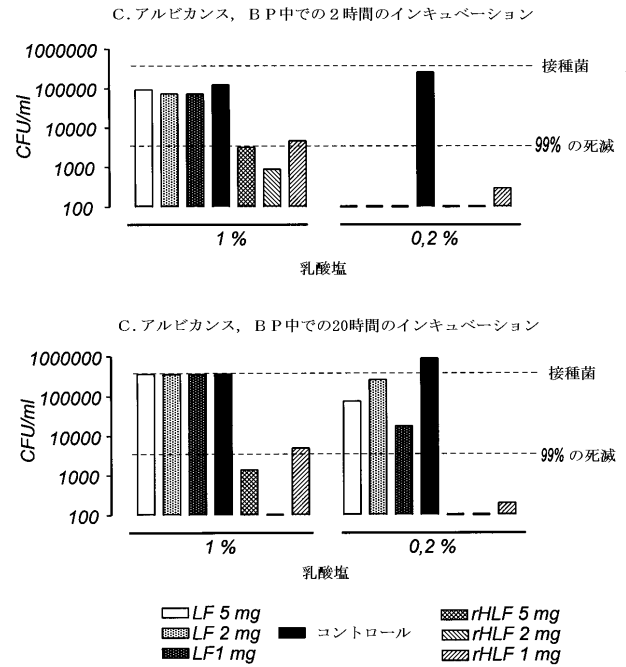
【図 5】



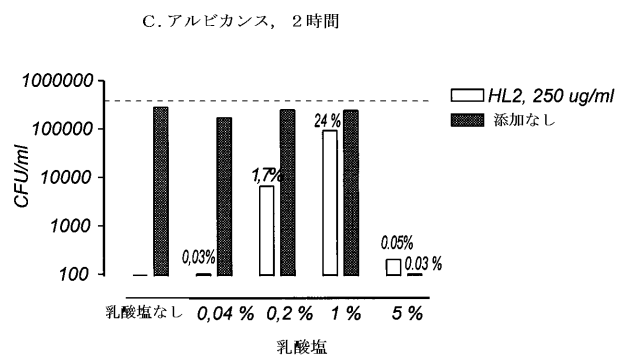
a

b

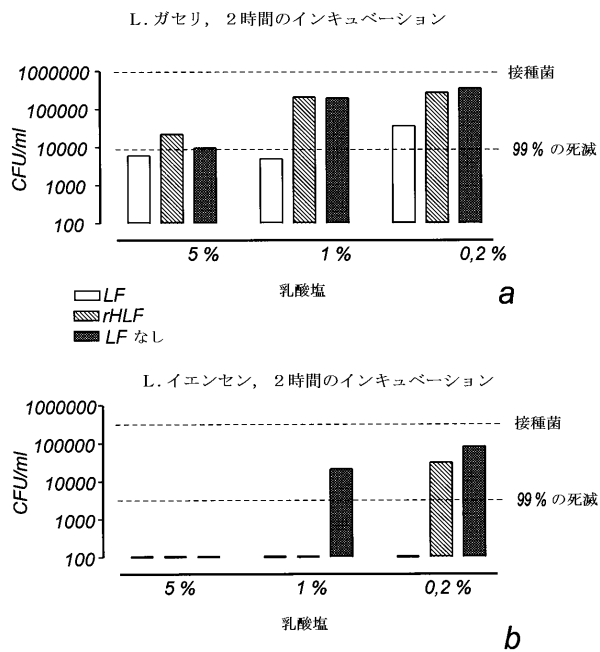
【図 6】



【図 8】



【図 7】



b

【手続補正書】

【提出日】平成18年7月31日(2006.7.31)

【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】

乳酸および／またはその塩、およびラクトフェリンおよび／またはそのペプチドフラグメントを含み、ペプチドフラグメントはN末端からラクトフェリン分子の抗菌領域を基にしており、ラクトフェリンおよび／またはそのペプチドフラグメントの濃度は、 $0.0001 \sim 100 \text{ mg/ml}$ の範囲であることを特徴とする、尿生殖路における症状を治療および／または予防するための組成物。

【請求項2】

ラクトフェリンおよび／またはそのペプチドフラグメントの濃度は、 $0.001 \sim 10 \text{ mg/ml}$ の範囲である、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

ラクトフェリンおよび／またはそのペプチドフラグメントの濃度は、 $0.01 \sim 5 \text{ mg/ml}$ の範囲である、請求項1に記載の組成物。

【請求項4】

ラクトフェリンは、組換えヒトラクトフェリンである、請求項1～3のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項5】

ラクトフェリンのペプチドフラグメントは、合成または組換えである、請求項1～4のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項6】

乳酸および／またはその塩の濃度は、 $1 \sim 100 \text{ mg/ml}$ の範囲である、請求項1～5のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項7】

中和剤をさらに含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項8】

乳酸および／またはその塩、および中和剤の含量は、pHが $3.5 \sim 4.5$ の範囲内になるような量である、請求項7に記載の組成物。

【請求項9】

中和剤は、水酸化ナトリウムである、請求項7または8に記載の組成物。

【請求項10】

乳酸菌種のための増殖基質をさらに含む、請求項1～9のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項11】

乳酸および／またはその塩の増殖基質に対する重量比は、 $20:1 \sim 500:1$ の範囲である、請求項10に記載の組成物。

【請求項12】

乳酸および／またはその塩の増殖基質に対する重量比は $50:1$ である、請求項11に記載の組成物。

【請求項13】

増殖基質は、 $\alpha(1-6)$ 分岐を含む $\alpha(1-4)$ グルカンである、請求項10～12のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項14】

増殖基質は、グリコーゲン、アミロペクチン、グルコース、デキストロース、およびラ

クトースからなる群より選択される、請求項 13 に記載の組成物。

【請求項 15】

不活性な媒体をさらに含む、請求項 1～14 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 16】

不活性な媒体は、プロピレングリコール、または、ポリエチレングリコールである、請求項 15 に記載の組成物。

【請求項 17】

増粘剤をさらに含む、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 18】

増粘剤は、セルロースのメチルヒドロキシプロピルエーテルである、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

クリーム、ゲル、腔坐剤、錠剤、または、スプレーの形態である、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 20】

尿生殖路における症状を予防および／または治療するための医薬品を製造するための、乳酸および／またはその塩、およびラクトフェリンおよび／またはそのペプチドフラグメントを含み、該ペプチドフラグメントは N 末端からラクトフェリン分子の抗菌領域を基にしている組成物の使用。

【請求項 21】

医薬品は、抗菌活性を有する、請求項 20 に記載の使用。

【請求項 22】

症状は、尿生殖路における高められた pH および／または乱れた微生物叢を含む、請求項 20 または 21 に記載の使用。

【請求項 23】

乱れた微生物叢は、異常に低いレベルの乳酸菌と組み合わせた、異常に高いレベルの B V 関連細菌（嫌気性グラム陰性菌、嫌気性グラム陽性球菌、ブドウ球菌、連鎖球菌、大腸菌）および／またはカンジダを特徴とする、請求項 22 に記載の使用。

【請求項 24】

症状は、細菌性膣症、中間的膣内微生物叢、および、酵母感染症からなる群より選択される、請求項 20～23 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 25】

尿生殖路における症状を予防および／または治療する方法であって、それを必要とする患者に、医薬上有効量の乳酸および／またはその塩、およびラクトフェリンおよび／またはそのペプチドフラグメントを含み、該ペプチドフラグメントは N 末端からラクトフェリン分子の抗菌領域を基にしている組成物を投与することを含む、上記方法。

【請求項 26】

症状は、尿生殖路における高められた pH および／または乱れた微生物叢を含む、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

乱れた微生物叢は、異常に低いレベルの乳酸菌と組み合わせた、異常に高いレベルの B V 関連細菌（嫌気性グラム陰性菌、嫌気性グラム陽性球菌、ブドウ球菌、連鎖球菌、大腸菌）および／またはカンジダを特徴とする、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

症状は、細菌性膣症、中間的膣内微生物叢、および、酵母感染症からなる群より選択される、請求項 25～27 のいずれか一項に記載の方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 2005/000989

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC7: A61K 31/40, A61P 31/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC7: A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

SE,DK,FI,NO classes as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, as arch terms used)

WPI, EPO-INTERNAL, PAJ, CHEM. ABS DATA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1040766 A1 (SNOW BRAND MILK PRODUCTS, CO., LTD.), 4 October 2000 (04.10.2000)	1
A	--	2-29
A	EP 0629347 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.), 21 December 1994 (21.12.1994)	1-29
A	--	
A	WO 9806425 A1 (HOLDINGBOLAGET VID GÖTEBORGS UNIVERSITETAB), 19 February 1998 (19.02.1998)	1-29
A	--	
A	WO 0240013 A1 (SIGMA-TAU HEALTHSCIENCE S.P.A.), 23 May 2002 (23.05.2002)	1-29
	--	

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"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

"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

"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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 Sept 2005

Date of mailing of the international search report

22-09-2005

Name and mailing address of the ISA/

Swedish Patent Office

Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM

Facsimile No. +46 8 666 02 86

Authorized officer

Eva Johansson/Elis

Telephone No. +46 8 782 25 00

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/SE2005/000989

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 26-29
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 26-29 relate to a method of treatment of the human or animal body by surgery or by therapy, as well as diagnostic
.../...
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/SE2005/000989

Box II.1

methods /Rule 39.1(iv). Nevertheless, a search has been executed for these claims. The search has been based on the alleged effects of the composition.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
 Information on patent family members

31/08/2005

International application No.

PCT/SE 2005/000989

EP	1040766	A1	04/10/2000	AT	267528	T	15/06/2004
				DE	60010962	D, T	16/06/2005
				DK	1040766	T	28/06/2004
				JP	3439686	B	25/08/2003
				JP	2000279143	A	10/10/2000
EP	0629347	A1	21/12/1994	SE	0629347	T3	
				AU	665381	B	04/01/1996
				CA	2128612	A, C	05/08/1993
				DE	69220679	D, T	23/10/1997
				US	5656591	A	12/08/1997
				AU	2956492	A	01/09/1993
				DK	629347	T	16/02/1998
				JP	3261174	B	25/02/2002
				JP	3261175	B	25/02/2002
				JP	5310594	A	22/11/1993
				JP	5320067	A	03/12/1993
				JP	6018528	U	11/03/1994
				JP	8006939	Y	28/02/1996
				WO	9314640	A	05/08/1993
				JP	2571445	Y	18/05/1998
				JP	6015168	U	25/02/1994
WO	9806425	A1	19/02/1998	AU	3872797	A	06/03/1998
				CA	2263416	A	19/02/1998
				EP	0920331	A	09/06/1999
				JP	2001504447	T	03/04/2001
WO	0240013	A1	23/05/2002	AU	7768801	A	27/05/2002
				IT	1317937	B	15/07/2003
				IT	RM20000601	A	17/05/2002

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 K	31/19	(2006.01)	A 6 1 K 31/19
A 6 1 K	9/06	(2006.01)	A 6 1 K 9/06
A 6 1 K	9/02	(2006.01)	A 6 1 K 9/02
A 6 1 K	9/10	(2006.01)	A 6 1 K 9/10
A 6 1 K	9/12	(2006.01)	A 6 1 K 9/12
A 6 1 K	9/20	(2006.01)	A 6 1 K 9/20
A 6 1 K	47/10	(2006.01)	A 6 1 K 47/10
A 6 1 K	47/34	(2006.01)	A 6 1 K 47/34
A 6 1 K	47/38	(2006.01)	A 6 1 K 47/38
A 6 1 K	47/02	(2006.01)	A 6 1 K 47/02

(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,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,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,L T,LU,LV,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 ビェルン・アンダーシュ

スウェーデン国 S-4 2 9 4 3 イェーテボリ. ダンブルーストレムスヴェーグ 3

Fターム(参考) 4C076 AA01 AA09 AA16 AA24 AA37 BB30 CC17 CC32 DD30Z DD38A
 EE23A EE32G FF12 FF17 FF61 FF68
 4C084 AA02 AA03 BA44 CA18 CA53 DC50 MA02 MA05 MA13 MA28
 MA31 MA35 MA56 NA14 ZA812 ZB322 ZB352
 4C086 AA01 AA02 EA20 MA03 MA05 MA07 MA09 MA13 MA28 MA31
 MA35 MA56 NA14 ZA81 ZB32 ZB35
 4C206 AA01 AA02 DA02 MA03 MA05 MA11 MA28 MA33 MA48 MA51
 MA55 MA76 NA14 ZA81 ZB32 ZB35