

【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 3 部門第 2 区分

【発行日】平成27年12月3日 (2015.12.3)

【公開番号】特開2015-134813(P2015-134813A)

【公開日】平成27年7月27日 (2015.7.27)

【年通号数】公開・登録公報2015-047

【出願番号】特願2015-75105(P2015-75105)

【国際特許分類】

A 6 1 K	35/74	(2015.01)
C 1 2 N	1/00	(2006.01)
C 1 2 N	1/20	(2006.01)
C 1 2 N	5/0784	(2010.01)
C 1 2 N	5/0783	(2010.01)
A 2 3 L	1/28	(2006.01)
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)
A 6 1 K	35/17	(2015.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)
A 6 1 P	35/04	(2006.01)
A 6 1 P	37/04	(2006.01)
G 0 1 N	33/574	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
G 0 1 N	33/543	(2006.01)
G 0 1 N	33/536	(2006.01)
G 0 1 N	33/50	(2006.01)
G 0 1 N	33/15	(2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K	35/74	A
C 1 2 N	1/00	Z N A T
C 1 2 N	1/20	A
C 1 2 N	5/00	2 0 2 M
C 1 2 N	5/00	2 0 2 L
A 2 3 L	1/28	Z
C 1 2 Q	1/02	
A 6 1 K	35/74	B
A 6 1 K	35/17	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	35/04	
A 6 1 P	37/04	
G 0 1 N	33/574	B
G 0 1 N	33/53	N
G 0 1 N	33/543	5 4 5 D
G 0 1 N	33/543	5 9 7
G 0 1 N	33/536	D
G 0 1 N	33/50	Z
G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N	33/53	P

## 【手続補正書】

【提出日】平成27年10月19日(2015.10.19)

## 【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】

Core - 1 陽性微生物を含む栄養補助食品または薬学的組成物を製造するための方法であって、

(i) 微生物の混合物からCore - 1 陽性微生物を単離する工程であって、

(a) 健常なヒトおよび/もしくは患者、動物、土壌、食物および/もしくは植物から得られた微生物、ならびに/または、健常な個体および/もしくは患者の、ヒト消化管、ヒト大便、ヒト血液、ヒト組織および/もしくはヒト体液から得られた微生物からなる群より選択される微生物の混合物と、Core - 1 特異的抗体とを接触させる工程と、

(b) 該Core - 1 特異的抗体によって結合される微生物を単離する工程とを包含する、工程；および

(ii) 該単離した微生物を、薬学的に許容可能なキャリアに添加し、栄養補助食品または薬学的組成物を調合する工程を包含する、方法。

【請求項2】

少なくとも1つのCore - 1 陽性微生物および/または少なくとも1つのそのCore - 1 陽性の断片もしくは溶解物を含んでいる、栄養補助食品および/または薬学的組成物からなる群から選択される製剤であって、ここで、該Core - 1 陽性微生物および/または該そのCore - 1 陽性の断片もしくは溶解物は、少なくとも1つのCore - 1 特異的抗体によって認識され、そして、該Core - 1 陽性微生物はBacteroides 属の微生物である、製剤。

【請求項3】

請求項2に記載の製剤であって、前記Core - 1 陽性微生物および/または前記そのCore - 1 陽性の断片もしくは溶解物は、

- ・ Nemod - TF 1
- ・ Nemod - TF 2
- ・ A78 - G / A7
- ・ HB - T 1
- ・ HH 8

からなる群から選択される少なくとも1つのCore - 1 特異的抗体によって認識される、製剤。

【請求項4】

前記Core - 1 陽性微生物および/またはそのCore - 1 陽性の断片もしくは溶解物は、2つのCore - 1 特異的抗体であるNemod - TF 1およびNemod - TF 2によって認識される、請求項2または3に記載の製剤。

【請求項5】

前記少なくとも1つのCore - 1 特異的抗体による前記Core - 1 陽性微生物および/またはそのCore - 1 陽性の断片もしくは溶解物の認識は、過ヨウ素酸塩感受性であり、過ヨウ素酸塩処理の後に結合の低下を示す、請求項2～4のいずれか1項に記載の製剤。

【請求項6】

請求項2～5のいずれか1項に記載の製剤であって、前記Core - 1 陽性微生物は、Bacteroides ovatus、Bacteroides thetaiotaota

micron、Bacteroides acidophilus、Bacteroides cacciae、AG6 (DSM18726) および MU1 (DSM18728) からなる群から選択され、ここで、該群から選択される該微生物は、Core-1 陽性であり、少なくとも1つのCore-1 特異的抗体によって認識される、製剤。

【請求項7】

請求項2から6のうちの少なくとも1項に記載の製剤であって、前記微生物は、Core-1 陽性であり、

- ・ Nemod - TF1
- ・ Nemod - TF2
- ・ A78 - G / A7

からなる群から選択される少なくとも2つのCore-1 特異的抗体によって特異的に認識され、ここで、該抗体の結合は、過ヨウ素酸塩感受性であり、過ヨウ素酸塩処理後に結合の低下を示す、製剤。

【請求項8】

請求項2から7のいずれかに記載の製剤であって、前記Core-1 陽性微生物または前記Core-1 陽性微生物の断片は、図19の#1、#2、#3、#4および/もしくは#5ならびに/またはその繰り返し単位を含む群から選択される炭水化物構造のうちの少なくとも1つを含む、製剤。

【請求項9】

請求項2～8のいずれか一項に記載の製剤であって、前記微生物は、AG6 (DSM18726) または MU1 (DSM18728) である、製剤。

【請求項10】

請求項2から9のいずれかに記載の製剤であって、該製剤は、ヒトまたは動物においてCore-1 に対する液性免疫応答および/または細胞性免疫応答、あるいは、Th1細胞のCD4 陽性T細胞および/またはCD8 陽性細胞傷害性T細胞の活性化を包含する細胞性免疫応答を誘導するかまたは増強する、製剤。

【請求項11】

前記Core-1 陽性微生物が、化学的処理によって得られ、前記Core-1 構造が露出している、請求項10に記載の製剤。

【請求項12】

少なくとも1つのCore-1 特異的抗体と接触するときに該抗体によって認識され、そして結合される、Core-1 陽性微生物であって、ここで、該Core-1 特異的抗体は、

- ・ Nemod - TF1
- ・ Nemod - TF2
- ・ A78 - G / A7
- ・ HB - T1 および
- ・ HH8

からなる群から選択され、そして、該Core-1 陽性微生物はBacteroides 属の微生物である、Core-1 陽性微生物。

【請求項13】

2つのCore-1 特異的抗体であるNemod - TF1 および Nemod - TF2 によって認識され、そして結合される、請求項12に記載のCore-1 陽性微生物。

【請求項14】

前記Core-1 特異的抗体による前記Core-1 陽性微生物の認識は、過ヨウ素酸塩感受性であり、過ヨウ素酸塩処理の後に結合の低下を示す、請求項12または13に記載のCore-1 陽性微生物。

【請求項15】

請求項12～14のいずれかに記載のCore-1 陽性微生物であって、該微生物は、Core-1 陽性であり、かつ、

- ・ N e m o d - T F 1
- ・ N e m o d - T F 2
- ・ A 7 8 - G / A 7

からなる群から選択される少なくとも2つのC o r e - 1 特異的抗体によって特異的に認識され、ここで、該抗体の結合は、過ヨウ素酸塩感受性であり、過ヨウ素酸塩処理後に結合の低下を示す、C o r e - 1 陽性微生物。

【請求項16】

請求項12から15のうちの1項に記載のC o r e - 1 陽性微生物であって、該C o r e - 1 陽性微生物は、図19の#1、#2、#3、#4および/もしくは#5ならびに/またはその繰り返し単位を含む群から選択される炭水化物構造のうちの少なくとも1つを含む、C o r e - 1 陽性微生物。

【請求項17】

請求項12～16のいずれか一項に記載のC o r e - 1 陽性微生物であって、前記微生物は、A G 6 ( D S M 1 8 7 2 6 ) またはM U 1 ( D S M 1 8 7 2 8 ) である、C o r e - 1 陽性微生物。

【請求項18】

腫瘍を治療するためかまたは予防するための薬物および/または栄養補助食品を製造するための、請求項12から17のうちの少なくとも1項に記載のC o r e - 1 陽性微生物ならびに/またはそのC o r e - 1 陽性の断片もしくは溶解物の使用。

【請求項19】

C o r e - 1、C o r e - 1 抗原またはC o r e - 1 陽性腫瘍細胞に対して特異的な液性免疫応答および/または細胞性免疫応答を誘導するかまたは増強するための、請求項2から11のうちの少なくとも1項に記載の製剤、あるいは、請求項12から17のいずれかにおいて定義されるC o r e - 1 陽性微生物、および/または該C o r e - 1 陽性の断片もしくは溶解物を含む組成物。

【請求項20】

少なくとも1つのヒトまたは動物においてC o r e - 1 特異的免疫応答を誘導するかもしくは増強するため、および/または、C o r e - 1 陽性癌細胞を破壊する能力を有することによってC o r e - 1 陽性癌細胞に対する防御をもたらすため、および/または、C o r e - 1 陽性の疾患、腫瘍もしくは転移の発生を減少させるためかもしくは予防するため、および/または、C o r e - 1 陽性の疾患もしくは腫瘍の拡大もしくは転移を減少させるかもしくは予防するため、および/または、免疫系を強化するため、および/または免疫応答を改善するための、請求項19に記載の製剤または組成物。

【請求項21】

C o r e - 1 陽性微生物を微生物の混合物から単離するための方法であって、

( a ) 健常なヒトおよび/もしくは患者、動物、土壌、食物ならびに/または植物から得られた微生物、ならびに/または、健常な個体および/もしくは患者の、ヒト消化管、ヒト大便、ヒト血液、ヒト組織および/もしくはヒト体液から得られた微生物からなる群から選択される微生物の混合物とC o r e - 1 特異的抗体とを接触させる工程、および

( b ) 該C o r e - 1 特異的抗体によって結合される微生物を単離する工程を包含する、方法。

【請求項22】

前記C o r e - 1 特異的抗体が、

- ・ N e m o d - T F 1
- ・ N e m o d - T F 2
- ・ A 7 8 - G / A 7
- ・ H B - T 1
- ・ H H 8

からなる群から選択される、請求項21に記載の方法。

【請求項23】

請求項 2 1 または 2 2 に記載の方法であって、

- ( a ) 便サンプルから、全細菌を含んでいる微生物の混合物を単離する工程
  - ( b ) Core - 1 特異的抗体を該微生物の混合物と接触させる工程
  - ( c ) 好気性または嫌気性の条件下において該 Core - 1 特異的抗体に結合する微生物を、磁気粒子分離を用いて単離する工程
  - ( d ) Nemod - TF 2 または A 7 8 - G / A 7 および Nemod - TF 1 によって結合される微生物を同定する工程であって、該結合は、過ヨウ素酸塩感受性であり、過ヨウ素酸塩処理後に結合の低下を示す、工程、および
  - ( e ) それぞれ同定された微生物を、少なくとも 1 つのヒトまたは動物において Core - 1 に対する免疫応答を誘導するかまたは増強する能力についてインビトロで試験する工程
- を包含する、方法。

【請求項 2 4】

請求項 2 から 1 7 のいずれかに記載の、製剤あるいは Core - 1 陽性微生物またはその Core - 1 陽性の断片もしくは溶解物がヒトまたは動物において Core - 1 に対する液性免疫応答を誘導するかまたは増強する能力を試験するための液性免疫応答試験であって、

- a ) 該製剤、該 Core - 1 陽性微生物または該その Core - 1 陽性の溶解物もしくは断片を投与されたヒトまたは動物から得たサンプルから、血清、血漿もしくは便由来の抗体を単離する工程；および

b )

( i )

a . アシアログリコホリンおよびグリコホリン、または

b . アシアログリコホリンおよび過ヨウ素酸塩処理されたアシアログリコホリン、または

c . アシアログリコホリンおよびグリコホリンおよび過ヨウ素酸塩処理されたアシアログリコホリン

を含む糖タンパク質に対する E L I S A であって、

ここで、Core - 1 に対する陽性の液性免疫応答は、アシアログリコホリンに対する該抗体の結合のほうが、グリコホリンおよび / または過ヨウ素酸塩処理されたアシアログリコホリンに対する結合よりも有意に強く、そしてアシアログリコホリンに対する結合のほうが、該製剤、該 Core - 1 陽性微生物または該その溶解物もしくは断片を投与する前の同じ動物またはヒトからしかるべく単離された抗体の結合よりも有意に強い結合を示す、E L I S A ；および / または

( i i ) Gal 1 - 3 Gal N A c 1 - P A A、Gal 1 - 3 Gal N A c 1 - P A A、G l c N A c 1 - 2 Gal 1 - 3 Gal N A c 1 - P A A、および / または過ヨウ素酸塩で処理された Gal 1 - 3 Gal N A c 1 - P A A を含む、ポリアクリルアミドに結合した炭水化物構造 ( P A A 結合体 ) に対する E L I S A であって、ここで、Core - 1 に対する陽性の液性免疫応答は、Gal 1 - 3 Gal N A c 1 - P A A に対する該抗体の結合のほうが、該製剤、該 Core - 1 陽性微生物または該その溶解物もしくは断片を投与する前の同じ動物またはヒトからしかるべく単離された抗体の結合よりも有意に強い結合を示す、E L I S A ；および / または

( i i i ) N M - D 4 または N M - F 9 および N M - w t または N M - H 9 を含む細胞に対する結合についてのフローサイトメトリー試験であって、Core - 1 に対する陽性液性免疫応答は、該抗体の N M - D 4 または N M - F 9 に対する結合のほうが N M - w t または N M - H 9 に対する結合よりも有意に強い結合を示し、そして N M - D 4 または N M - F 9 に対する結合のほうが、該製剤、該 Core - 1 陽性微生物または該その溶解物もしくは断片を投与する前の同じ動物またはヒトからしかるべく単離された抗体の結合よりも有意に強い結合を示す、フローサイトメトリー試験；および / または

( i v ) N M - D 4 または N M - F 9 を含む細胞、および N M - w t、N M - H 9、

過ヨウ素酸塩で処理されたNM-D4または過ヨウ素酸塩で処理されたNM-F9に対する結合についての免疫蛍光試験であって、ここで、Core-1に対する陽性の液性免疫応答は、特定量の該抗体のNM-D4またはNM-F9に対する結合のほうが、NM-wtもしくはNM-H9または過ヨウ素酸塩で処理されたNM-D4もしくはNM-F9に対する結合よりも有意に強い結合を示し、そしてNM-D4またはNM-F9に対する結合のほうが、該製剤、該Core-1陽性微生物または該その溶解物もしくは断片を投与する前の同じ動物またはヒトからしかるべく単離された抗体の結合よりも有意に強い結合を示す、免疫蛍光試験

において、該抗体の結合を試験する工程；および/または

c) 該抗体の活性を試験する工程であって、

(i) ユウロピウムまたはクロム-51などの適当量のマーカーで標識された、適当量のZR75-1、NM-D4、NM-F9、NM-H9および/またはNM-wtを、適当量の抗体と、適当量の補体とともに、適当な時間にわたってインキュベートし、そして、該インキュベート後にユウロピウムまたはクロム-51などの該マーカーの放出を測定することによって該細胞の溶解を判定する工程であって、ここで、Core-1に対する陽性の液性免疫応答は、NM-D4細胞またはNM-F9細胞の溶解のほうが、NM-wtまたはNM-H9の溶解よりも有意に高い溶解を示すか、または、Core-1に対する陽性の液性免疫応答は、NM-D4、NM-F9またはZR-75-1の溶解のほうが、補体なしの溶解、および/または該抗体なしの溶解、および/またはNM-D4、NM-F9もしくはZR-75-1に結合しないかまたはそれほど結合しない抗体を用いた溶解、および/または該製剤、該Core-1陽性微生物または該その溶解物もしくは断片を投与する前の同じ動物またはヒトからしかるべく単離された抗体を用いたNM-D4、NM-F9もしくはZR-75-1の溶解よりも、高い溶解を示す、工程；および/または

(ii) ユウロピウムまたはクロム-51などの適当量のマーカーで標識された、適当量のZR75-1、NM-D4、NM-F9、NM-H9および/またはNM-wtを、適当量の該抗体と、適当量の免疫エフェクター細胞または末梢血単核球とともに、適当な時間にわたってインキュベートし、そして、該インキュベート後にユウロピウムまたはクロム-51などの該マーカーの放出を測定することによって該細胞の溶解を判定する工程であって、ここで、Core-1に対する陽性液性免疫応答は、NM-D4細胞またはNM-F9細胞の溶解のほうが、NM-wtまたはNM-H9の溶解よりも有意に高い溶解を示すか、またはCore-1に対する陽性の液性免疫応答は、NM-D4、NM-F9またはZR-75-1の溶解のほうが、該抗体なしの溶解、および/またはNM-D4、NM-F9もしくはZR-75-1に結合しないかまたはそれほど結合しない抗体を用いた溶解、および/または該製剤、該Core-1陽性微生物またはその溶解物もしくは断片を投与する前の同じ動物またはヒトからしかるべく単離された抗体を用いたNM-D4、NM-F9もしくはZR-75-1の溶解よりも高い溶解を示す、工程を包含する、試験。

【請求項25】

Core-1に対する細胞性免疫応答試験であって、

a. 適当量の未熟樹状細胞に、請求項2から17のいずれかに記載の適当量の前記Core-1陽性微生物、そのCore-1陽性の溶解物もしくは断片または前記製剤を負荷する工程；

b. 成熟させるために、適切な時間にわたって、そして適切な条件下において培養する工程；

c. 適当量の該負荷された樹状細胞を、樹状細胞によって活性化され得るかまたは抑制され得る、少なくとも1つの免疫細胞、T細胞、CD4+T細胞、CD8+T細胞、少なくとも1つのT細胞を含む細胞の混合物、または末梢血単核球細胞を含む適当量の免疫細胞と接触させる工程；

d. 活性化または抑制のために、適切な時間にわたって、そして適切な条件下において

培養する工程；

e．再刺激のために、適当量の、Core - 1を有する少なくとも1つの抗原または適当なコントロール抗原を負荷された、適当量の樹状細胞を加える工程；

f．再刺激のために、適切な時間にわたって、そして適切な条件下において培養する工程；

g．分泌されたGM - CSF、IFN および/またはTNF の量を測定する工程であって、Core - 1に対する陽性の細胞性免疫応答は、Core - 1を有する抗原を負荷された該樹状細胞で再刺激された該免疫細胞のGM - CSF、IFN および/またはTNF の分泌のほうが、負荷されていない対応する樹状細胞で再刺激された対応する免疫細胞のGM - CSF、IFN および/またはTNF の分泌よりも有意に高い分泌を示し、そして/または、Core - 1を有する抗原を負荷された該樹状細胞で再刺激された該免疫細胞のGM - CSF、IFN および/またはTNF の分泌のほうが、Core - 1を有していない抗原を負荷された対応する樹状細胞で再刺激された対応する免疫細胞のGM - CSF、IFN および/またはTNF の分泌よりも有意に高い分泌を示す、工程

を包含する、細胞性免疫応答試験。

【請求項26】

請求項2から11のいずれかに記載の製剤の成分として使用するのに適したCore - 1陽性微生物を同定するための方法であって、

(a) 少なくとも1つのCore - 1特異的抗体に対する結合について微生物を試験する工程、および

(b) ヒトまたは動物においてCore - 1抗原および/またはCore - 1陽性腫瘍細胞を認識する免疫応答の誘導をインビトロで試験する工程

を包含し、それによって、少なくとも1つのCore - 1特異的抗体と接触するときに該抗体によって結合される微生物が同定され、該微生物が、請求項24または25に記載のCore - 1に対する少なくとも1つの液性免疫応答試験または1つの細胞性免疫応答試験に対して陽性であることによって特徴付けられるとき、少なくとも1つのヒトまたは動物においてCore - 1に対する免疫応答を誘導するかまたは増強する、方法。

【請求項27】

Core - 1に対する機能的樹状細胞を調製するためのインビトロの方法であって、適当量の樹状細胞を、適当量の請求項12～17のいずれか1項において定義されたような、Core - 1陽性微生物および/またはそのCore - 1陽性の溶解物もしくは断片と接触させて、Core - 1に対する少なくとも1つの機能的樹状細胞を調製する工程を包含する、方法。

【請求項28】

Core - 1に対する、活性化T細胞、T細胞、T細胞クローンまたはT細胞株を調製するインビトロの方法であって、

・請求項27に記載の、Core - 1に対する適当量の機能的樹状細胞を、適当量のT細胞と接触させる工程；および

・該T細胞を、請求項27に記載の前記負荷された機能的樹状細胞とともに培養して、Core - 1に対して該T細胞を活性化するかまたはプライミングする工程を包含する、方法。

【請求項29】

Core - 1陽性の細胞および/または疾患に対する液性免疫応答および/または細胞性免疫応答を誘導する、請求項27または28に記載の方法によって調製される、Core - 1に対する機能的樹状細胞、Core - 1に対する活性化T細胞、あるいは、Core - 1に対するT細胞、Core - 1に対するT細胞株またはCore - 1に対するT細胞クローンを含む細胞組成物。

## 【請求項 30】

腫瘍を予防するためかまたは治療するための薬物および／または栄養補助食品を製造するための、請求項 29 に記載の機能的樹状細胞、活性化 T 細胞、T 細胞クローンまたは T 細胞株の使用。

## 【請求項 31】

C o r e - 1 特異的免疫応答を誘導するためかもしくは増強するため、および／または C o r e - 1 に対する機能的樹状細胞または活性化 T 細胞、T 細胞株または T 細胞クローンを調製するための、請求項 12 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の C o r e - 1 陽性微生物および／またはその断片を含む組成物。

## 【請求項 32】

請求項 12 から 17 のいずれかに記載の C o r e - 1 陽性微生物および／またはその C o r e - 1 陽性の断片を含む、腫瘍の治療または予防のための組成物。

## 【請求項 33】

請求項 2 から 11 のいずれかに記載の製剤、または請求項 30 に記載の機能的樹状細胞、活性化 T 細胞、T 細胞クローンまたは T 細胞株を含む、腫瘍の治療または予防のための組成物。