

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6405382号
(P6405382)

(45) 発行日 平成30年10月17日(2018.10.17)

(24) 登録日 平成30年9月21日(2018.9.21)

(51) Int.Cl. F I
A 6 1 K 38/19 (2006.01) A 6 1 K 38/19
A 6 1 K 38/20 (2006.01) A 6 1 K 38/20
A 6 1 K 9/48 (2006.01) A 6 1 K 9/48
A 6 1 K 9/06 (2006.01) A 6 1 K 9/06
A 6 1 K 9/08 (2006.01) A 6 1 K 9/08

請求項の数 11 (全 21 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-533950 (P2016-533950)
(86) (22) 出願日 平成26年8月11日(2014.8.11)
(65) 公表番号 特表2016-529254 (P2016-529254A)
(43) 公表日 平成28年9月23日(2016.9.23)
(86) 国際出願番号 PCT/GB2014/052450
(87) 国際公開番号 W02015/022509
(87) 国際公開日 平成27年2月19日(2015.2.19)
審査請求日 平成29年8月4日(2017.8.4)
(31) 優先権主張番号 1314452.2
(32) 優先日 平成25年8月13日(2013.8.13)
(33) 優先権主張国 英国 (GB)

(73) 特許権者 516043199
オスタラ バイオメディカル エルティー
ディー
OSTARA BIOMEDICAL L
TD
イギリス国 5ティーエフ エル3 マー
セイサイド, リバプール, マウント ブ
リーザント 131, リバプール サイエ
ンス パーク
(74) 代理人 100099634
弁理士 平井 安雄

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 胚移植

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

妊娠率を向上するために使用されるか、そして／又は、胚の移植前、又は、授精前の、雌の免疫寛容の子宮環境を提供するために使用される、エオタキシン (Eotaxin) 及びランテス (RANTES) を含む組成物。

【請求項2】

TNF- α 、TGF- β 、IL-12、MCP-1、MIP、IL-17、IL-9及びGM-CSFからなる群から選択された8つの付加的なサイトカインの何れか1つ又は2以上を更に含む、請求項1に記載した組成物。

【請求項3】

前記IL-12は、IL-12p40又はIL-12p70の何れか一方であり、及び前記MIPは、MIP-1a又はMIP-1bの何れか一方である、請求項2に記載した組成物。

【請求項4】

IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1ra、IL-2ra、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-13、IL-15、IL-16、IL-18、FGF、G-CSF、IFN- α 2、IFN- γ 、IP-10、PDGF、VEGF、CTACK、KC、GRO α 、HGF、ICAM-1、LEPTIN、LIF、MCP-3、M-CSF、MIF、MIG、 β -NGF、SCF、SCGF- β 、SDF-1 α 、TNF- β 、TRAIL、VEGF及びVCAM-1からなる群か

10

20

ら選択された1又は2以上の付加的なサイトカインを更に含む、請求項1から4の何れか1つに記載した組成物。

【請求項5】

妊娠率を向上するために使用されるか、そして／又は、胚の移植前、又は、授精前の、雌の免疫寛容の子宮環境を提供するために使用される、腔用カプセル、腔用ジェル、腔用錠剤、腔用パウダー、腔用溶液、腔用ペッサリー、腔用カップ、腔用スポンジ、腔用エアロゾル、又は、腔用フォーム若しくはスプレー状の請求項1から4の何れか1つに記載した医薬組成物。

【請求項6】

有効成分が、生殖力のある精液において認められる生理学的範囲の濃度を超えて、又は、その範囲内の濃度において原位置（イン・サイチュ）で放出される、請求項5に記載した医薬組成物。

10

【請求項7】

アジュバント、賦形剤又はキャリアを更に含む、請求項5から6の何れか一方に記載した医薬組成物。

【請求項8】

急速投与、制御された投与、連続投与又はパルス投与用の、請求項5から7の何れか1つに記載した医薬組成物。

【請求項9】

子宮への受け入れを容易にするために使用される、請求項1から4の何れか1つに記載した組成物を含む、経粘膜腔投与用ペッサリー。

20

【請求項10】

必要に応じてマウス又はラットである齧歯類の子宮への受け入れを容易にするために使用される、請求項9に記載のペッサリー。

【請求項11】

妊娠率を向上するために使用されるか、そして／又は、胚の移植前、又は、授精前の、雌の免疫寛容の子宮環境を提供するために使用される、請求項1から8の何れか1つに記載した前記組成物、又は、請求項9から10の何れか1つに記載した前記ペッサリーを含む複数の腔投与手段と、前記腔投与手段を雌のレシピエントの腔に挿入するための装置と、必要に応じて、そのための取扱説明書とを含む一式。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、授精前又は胚移植前に免疫寛容の子宮環境を提供することによって、雌における、胚移植の成功率、及び、妊娠の成功率を向上するための方法及び組成物に関するものである。本発明の方法は、例えば、移植された胚、精子又は他の組織同種移植片に対して、子宮をより受容可能にするために使用される。また、本発明は、特に本発明の方法において使用するための組成物及び製剤をも含むものである。

【背景技術】

【0002】

子宮環境が敵対的であり、即ち、受容的でない場合には、このことは、ヒトも動物も同じように、良品質胚の移植率を低下する原因となる。また、子宮環境を不適切に刺激することもまた、着床不全及び自然流産の観点から、多数の生殖障害の原因になると考えられる。同様に、ヒトにおいては、子宮の刺激の失敗は、胎盤発育を阻害することによって、子癇前症や胎児発育不全等の妊娠合併症の原因であると認識されている。

40

【0003】

数々の遺伝子組み換え動物は、新規な遺伝子医薬治療についてインビボ試験のための数々の価値あるモデルと提供するものであり、このことは、この十年間の間で、動物実験の数が増加している主な理由である。英国においては、1995年の場合と比較して、2011年には、4倍強の数の、遺伝子組み換え動物を用いた科学操作が行われた。現在では

50

、遺伝子組み換え動物の使用は、動物の科学操作のうちの50%以上を占めている。この使用の最も大きな分類は、齧歯類による品種改良（を行って、遺伝子組み換え動物を生み出すこと）であり、その操作の数は、背景として、数が毎年増加しているという傾向にあり、英国においては、2012年だけで、約180万件に至っている。齧歯類における胚の移植は、遺伝子組み換えのアプローチや、特異株の再誘導を支えるものであり、大きな隔たりを越えて、動物起源細胞の移植の助けになっている。一般には、雌のレシピエントに偽妊娠を誘導する必要がある。この現象は、子宮に胚を移植する準備をさせるものであるが、偽妊娠の導入にも拘わらず、遺伝子組み換えに係る胚を移植する成功率は、比較的低い。

【0004】

10

マウスは自然排卵動物であり、これは、発情期を迎え、この雌が、ハーランラボラトリーズアイエヌシー (Harlan Laboratories Inc) から入手可能なT145H-R株（これは、染色体転位に起因して無精子である）等の遺伝子学的に無精子の雄、又は、精管切除術が施された雄と交尾した後に、偽妊娠に至る。2組の雄は、生殖能を有する精子が欠如した精漿を射精する。しかしながら、遺伝子学的に無精子のマウス、及び、精管切除術が施されたマウスの何れも、比較的高価である。精管切除術が施された雄の場合、不妊が100%効果的であることを保証することはできず、各々の雄についてテストする必要がある、一方、遺伝子学的に無精子の雄を作り出すことは、不必要な余剰の雌を作り出すことに繋がる。

【0005】

20

他の方法として、人工的な機械刺激手段と結合することにより、例えば、振動ツール（ケニー (Kenny) 氏外；ジャーナル オブ リプロダクション ファーティリティ (J Reprod. Fert.) 1977年、49、305-309）によって、得られる通常の膣の刺激をシミュレートすることによって、偽妊娠を誘導することができる。挿入の回数及び速度が、繁殖の成功に極めて重大な影響を及ぼすことが判明した（ダイヤモンド (Diamond) 氏；サイエンス (Science)、1970年、169、4、995-997）。このアプローチは、ラット及びマウスにおいてはある程度の作成が認められたが、機械的な刺激は、ゴールデンハムスター (Golden Hamster) における偽妊娠の誘導には効果がなかった（ダイヤモンド (Diamond) 氏外；ジャーナル オブ リプロダクション ファーティリティ (J Reprod. Fert.) 1968年、17、165-168）。雌が、生殖力のない雄と交尾し、又は、機械的な刺激を受けた場合、その黄体は、胚なしで残り、偽妊娠に至る。この雌は、偽妊娠状態で、乳腺が発達し、乳を分泌し、巣を作る。そのため、実験室の実験動物において、偽妊娠状態を誘導する方法を改善する必要がある。

30

【0006】

数多くの齧歯類における胚の移植のためのプロトコルは、比較的十分に確立されているものの、その最適化は不十分であり、これは、数多くの動物の著しい損失があり、世界中の動物単位での数多くの経済的及び倫理的問題を増加させていることを意味する。現在行われている従来技術による一般的なアプローチは、機械的な刺激よりもむしろ、雌のレシピエントを、精管切除術が施された雄と交尾させて、偽妊娠を誘導させることに依存しており、ここにおいては、性交活動と、母性の生殖器官を精子に暴露することによって、神経内分泌の（主に子宮に対する）局所的な炎症反応を引き起こし、これは、サイトカイン及びプロスタグランジンによって、次々と起こる複雑な事象を含んでおり、これらの事象は、子宮内の免疫寛容の環境を形成することに向けられており、これにより、移植前の胚発生及び／又は胚盤胞の移植、及び、妊娠の成立に有利に作用する。受精なしであっても、黄体発育及びプロゲステロン産生が支持され、母性の生理機能が調整されて、10から13日までに、移植された胚に対して、子宮を受容可能にする。この技術は、通常は、普通の（凍結保存株の再生／再誘導）又は遺伝子組み換えされた（トランスジェニックの／キメラの／クローンの）胚の発育をサポートするために使用される。

40

【0007】

しかしながら、このアプローチの効果には限りがある。一般的には、雌が妊娠に至る場

50

合と比較して、この操作のためには、4倍の数の雌が用意される。新鮮胚又は冷凍胚を移植する場合には、著しい量の価値ある生物学的物質が廃棄され、それに対応する努力が損失する。しかも、精管切除術が施された、数多くの若い雄を、有望なレシピエントと一緒に維持する必要がある、これらの交尾は1週間に2-3回しか行うことができず、一般的には、その実績を維持するためには、6-9か月毎に交換される。

【0008】

主に、雌のレシピエントが発情期である場合に、交尾が起こる。マウス及びラットにおいては、発情周期は、4-5日続き（これは、女性の平均的な28日の月経周期に相当する）、その結果、精管切除術が施された雄、又は、他の無精子の雄との可能性のある交尾に参加するための、膨大にプールされた可能性のある雌のレシピエントに依存する必要がある。一般的には、ランダムに循環する個体数において、レシピエントの75%が発情期に至らず、数多くの雌、並びに、精管切除術が施された雄及び他の無精子の雄は、そのまま保持され、前者の場合の多くは、その時の移植に使用される十分な数のレシピエントを保証するために、代理母として使用されることはない。移植されるべき胚が特に効果である場合に、このことは特に歴然としている。このアプローチの様々な改良は、複数の雌のレシピエントにおいて、ホイットン効果(Whitten effect)によって行われる定時発情誘導に依存している。この方策は、複数の雌のレシピエントのフェロモン刺激に依存しており、これは、一般的には、種付けの雄の尿が染み付いた寝床への暴露の後3日で、これらの雌のレシピエントを発情させるものである。しかしながら、種付けの雄のケージと近接して、フェロモン暴露の際の、雌のサイクリングステージ、及び、高齢のレシピエントはすべて、このアプローチの信頼性について悪影響を及ぼし、これにより、このアプローチを比較的役に立たないものにしていく。

【0009】

雌が正しい時期に発情する（性的に受容的になる）可能性は、これらのサイクルの長さ（4日）に起因して、1:4である。従って、4つのレシピエントが必要である場合には、16の雌が16の雄と交尾することになり、これは、25%の成功率になる。ある雌がそれらのパートナーとの交尾を拒むことがあるため、この数字は、更に低くなる場合がある。このキーポイントは、殆どのブリーダーは、発情期の雌を選択するか、又は、無精子の雄との交尾前に発情を誘導しているが、発情した雌のうちの比較的低いパーセンテージ（多くの場合には、約50%であるが、ある施設では、15%まで低下している）の雌のみが依然として、「交尾」に至り、従って、偽妊娠であると見なされるということである。更に、また、胚移植レシピエントとしての雌の機能的な寿命は、数か月という非常に限られたものである。雌は、これらが成熟すると、急激に腹部脂肪を蓄積し、開腹術による胚移植（最も一般的で成功率の高い方法である）を技術的に非常に困難にする。

本発明の組成物及び方法によれば、雌のマウスの使用量を著しく減少すると共に、精管切除術が施されたマウス、及び、他の無精子のマウスの必要性を飛躍的に減少することができる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明の目的は、妊娠の陽性反応に関して、哺乳類の雌の妊娠率を向上し、そして／又は、人工又は自然受精の後の、又は、新鮮胚、冷凍胚若しくはその他の保存胚の移植後の、一腹の子の数を増加することである。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明によれば、妊娠率を向上し、そして／又は、精液／精子、又は、胚、又は、他の組織同種移植片に対する母性の同種反応性を低下させ、そして／又は、胚の移植前、又は、授精前の、雌の免疫寛容の子宮環境を提供するために使用される、TNF- α 、TGF- β 、エオタキシン(Eotaxin)及びランテス(RANTES)からなる群から選択された、何れか1つ、2つ、3つ、4つ、5つ又は6つのサイトカインを含む組成物が

提供される。

【0012】

従って、この組成物は、TGF- β 、エオタキシン(Eotaxin)及びランテス(RANTES)のうちの1又は2以上を有するTNF- α 、又は、エオタキシン(Eotaxin)及びランテス(RANTES)のうちの1又は2以上を有するTGF- β 、又は、エオタキシン(Eotaxin)及びランテス(RANTES)を含んでいてもよい。

【0013】

本発明のある実施態様においては、この組成物は、TNF- α 、TGF- β 、エオタキシン(Eotaxin)及びランテス(RANTES)からなる群から選択された、何れか2つ、3つ又は4つのサイトカインの組合せを含んでいてもよい。従って、本発明の組成物は、上述したリストから選択された特定のサイトカインのうちの、2から4の異なる組合せに係る複数のものを含んでいてもよい。

10

【0014】

好ましくは、IL-12は、IL-12p40又はIL-12p70の何れか一方である。

【0015】

好ましくは、MIPは、MIP-1a又はMIP-1bの何れか一方である。

【0016】

好ましくは、この組成物は、IL-12、MCP-1、MIP、IL-17、IL-9及びGM-CSFからなる群から選択された何れか1つ、2つ、3つ又は4つの付加的なサイトカインを更に含んでいる。従って、本発明の組成物は、実施例におけるように、IL-12、MCP-1、MIP、IL-17、IL-9及びGM-CSFのうちの1又は2以上に加えて、TGF- β 、エオタキシン(Eotaxin)及びランテス(RANTES)のうちの1又は2以上を有するTNF- α を含んでいてもよい。子宮を誘導して、移植された胚、精子又は他の組織同種移植片に対して、より受容的にすること、即ち、敵対的でなくすることに使用される複数の特定のサイトカインの複数の特定の組合せを提供することは、本発明の範囲内のことである。

20

【0017】

従って、本発明の組成物は、精液中の高濃度の特定のサイトカインは、その生物学的意義を必ずしも反映しないことが認識されるように、様々な複数のサイトカインを含んでいてもよい。

30

【0018】

好ましくは、この組成物は、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1ra、IL-2ra、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-13、IL-15、IL-16、IL-18、FGF、G-CSF、IFN- α 2、IFN- γ 、IP-10、PDGF、VEGF、CTACK、KC、GRO α 、HGF、ICAM-1、LEPTIN、LIF、MCP-3、M-CSF、MIF、MIG、 β -NGF、SCF、SCGF- β 、SDF-1 α 、TNF- β 、TRAIL、VEGF及びVCAM-1からなる群から選択された1又は2以上の付加的なサイトカインを更に含んでいる。

40

【0019】

本発明の組成物は、下記のサイトカインから選択される：

(i) TNF- α 、TGF- β 、エオタキシン(Eotaxin)及びランテス(RANTES)からなる群から選択された、何れか1つ、2つ、3つ又は4つのサイトカイン；及び、場合により、下記からなる群から選択された1又は2以上の付加的なサイトカイン：

(ii) IL-12、MCP-1、MIP、IL-17、IL-9及びGM-CSF；及び、場合により、下記からなる群から選択された更なる付加的なサイトカイン：

(iii) IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1ra、IL-2ra、IL-2、IL-3

50

、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-13、IL-15、IL-16、IL-18、FGF、G-CSF、IFN- α 2、IFN- γ 、IP-10、PDGF、VEGF、CTACK、KC、GRO α 、HGF、ICAM-1、LEPTIN、LIF、MCP-3、M-CSF、MIF、MIG、 β -NGF、SCF、SCGF- β 、SDF-1 α 、TNF- β 、TRAIL、VEGF及びVCAM-1。

【0020】

当然のことながら、本発明の組成物は、最小の場合、2個のサイトカイン、最大の場合、41個のサイトカイン、又は、その間の数のサイト間を含んでいてもよい

以下の表1は、本発明において言及しているサイトカインの頭文字を記している：

【0021】

【表 1】

表 1 : バイオプレックスアッセイ (bio-plex assays) を用いて分析されたサイトカイン	
IL-1 α	インターロイキン-1 α
IL-1 β	インターロイキン-1 β
IL-1ra	インターロイキン-1 受容体拮抗薬
IL-2ra	インターロイキン-2 受容体拮抗薬
IL-2	インターロイキン-2
IL-3	インターロイキン-3
IL-4	インターロイキン-4
IL-5	インターロイキン-5
IL-6	インターロイキン-6
IL-7	インターロイキン-7
IL-8	インターロイキン-8
IL-9	インターロイキン-9
IL-10	インターロイキン-10
IL12 (p40)	インターロイキン-12 (p40)
IL-12 (p70)	インターロイキン-12 (p70)
IL-13	インターロイキン-13
IL-15	インターロイキン-15
IL-16	インターロイキン-16
IL-17	インターロイキン-17
IL-18	インターロイキン-18
Eotaxin	エオタキシン
FGF	塩基性線維芽細胞増殖因子
G-CSF	顆粒球コロニー刺激因子
GM-CSF	顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子
IFN- α 2	インターフェロン- α 2
IFN- γ	インターフェロン- γ
IP-10	IFN- γ 誘導タンパク質-10
LEPTIN	重量制御関連ホルモン
MCP-1	マクロファージ球走化性タンパク質-1
MIP-1 α	マクロファージ炎症性タンパク質-1 α
MIP-1 β	マクロファージ炎症性タンパク質-1 β
PDGF	血小板由来成長因子
RANTES	血小板やT細胞由来の好酸球走化性物質 (Regulated upon activation normal T cell expressed and secreted)
TNF- α	腫瘍壊死因子
VEGF	血管内皮成長因子
CTACK	皮下T細胞誘導性ケモカイン
KC	ケラチノサイト由来サイトカイン
GRO α	成長調節腫瘍遺伝子- α
HGF	肝細胞成長因子
ICAM 1	細胞間接着分子
LIF	白血病阻害因子
MCP3	単球走化性タンパク質-3
M-CSF	マクロファージコロニー刺激因子
MIF	マクロファージ遊走阻止因子
MIG	IFN- γ 誘導性モノカイン
β -NGF	基礎神経成長因子
SCF	幹細胞因子
SCGF- β	幹細胞因子- β
SDF-1 α	ストロマ細胞由来因子-1 α
TGF- β 1	トランスフォーミング成長因子 β 1
TNF- β	腫瘍壊死因子- β
TRAIL	リガンドを含むアポトーシスに関連する腫瘍壊死因子
VCAM-1	血管細胞接着分子-1

10

20

30

40

【0022】

本発明は、子宮の受容性を促進するという精子物質の特性を利用し、そして、精管切除術が施された雄、又は、他の無精子の雄の、物理化学的な代替物を、好ましくは、ベッサリー、ジェル、スプレー、又は、これらと関連がある他の溶解性のキャリア等の腔挿入体の形で提供することにある。

50

【0023】

遺伝子組み換えによる、ヒト以外の動物モデルの需要が更に高まることに鑑み、本発明は、偽妊娠を誘導する、精管切除術が施された雄、又は、他の無精子の雄の代替物を有益に提供すると共に、移植された胚に対する、子宮の受容性を改善することによって、必要な雌の数を有益に減少するものである。

【0024】

精管切除術が施された雄、又は、他の無精子の雄そのものの貢献は、偽妊娠を誘導するために必要な神経内分泌の子宮炎症反応をもたらすことに関連していることに鑑み、本発明は、これらの雄の必要性を有益に除去するものである。

【0025】

本発明の他の態様によれば、妊娠率を向上し、そして／又は、精液／精子、又は、胚、又は、他の組織同種移植片に対する母性の同種反応性を低下させ、そして／又は、胚の移植前、又は、授精前の、雌の免疫寛容の子宮環境を提供するための、子宮内器具状の、上述した医薬組成物が提供される。

【0026】

好ましくは、この雌は哺乳類であり、そして、より好ましくは、ヒトである。

【0027】

好ましくは、この哺乳類の雌は、マウス、ラット、ウサギ、アレチネズミ、モルモット、ハムスター、霊長類（サル、類人猿）、イヌ、ネコ、豚若しくは他の実験用動物、又は、胚が移植されるところの絶滅危惧種からなる群から選択される。

【0028】

好ましくは、この雌は、哺乳類であり、より好ましくは、希少ブリード／種、又は、絶滅危惧されたブリード／種である。

【0029】

好ましくは、この雌は、偶蹄目、食肉目、鯨目、翼手目、皮翼目、貧歯目、ヒラックス目、食虫目、ウサギ目、有袋目、奇蹄目、有鱗目、ひれあし目、霊長目、長鼻目、齧歯目、海牛目及び管歯目の動物からなる群から選択されてもよい。

【0030】

好ましくは、この組成物中に存在する複数のサイトカインのうちの所定量の何れか1つは、以下に記載する複数の提供可能な形状のうちの何れか1つから、精液において認められる生理学的範囲を超えて、又は、その範囲内において原位置(イン・サイチュ: in situ)で放出(release)される。

【0031】

サイトカインは、この技術分野において基準値として認められた、ピコグラム／ミリリットル (pg/ml)の単位で測定されている。

【0032】

本発明は、交尾／受精前、又は、胚の移植前に、雌の膣に挿入投与するために適した形状の物理化学的製剤を提供することによって、精子物質、特に、サイトカイン（これは、免疫反応のタンパク質モジュレータであり、子宮の受容性を促進する）の特性を利用するものである。導入された製剤は、子宮環境の受容性を促進する物質を放出する。

【0033】

本発明において用いられたアプローチは、ペッサリー系、ジェル系、溶液系、エマルジョン系、パウダー系又はエアロゾル系投与システムを用いることによって、精漿で調節される生化学的シグナルを模倣することである。ペッサリーは、胚移植／人工授精用の性周期を同期させるために、多くの在来種（例えば、畜牛）に既にごく普通に使用されている。しかしながら、ペッサリーは、今まで、本発明の組成物と共に使用されてはならず、また、子宮の受容性を促進し、そして／又は、偽妊娠状態を誘導するという特定の機能のために用いられてはいない。

【0034】

好ましくは、これらのサイトカインは、組み換え型である。換言すれば、これらは、遺

10

20

30

40

50

伝子組み換え技術を用いて、バクテリア又は他の細胞型を遺伝子工学的に操作することによって形成される。

【0035】

本発明は、精子／胚に対する母性の免疫同種反応性を低下させ、これにより、妊娠率／妊娠結果を向上するために、受精／胚移植前に、一般的には、膣内に取り付けられるペッサリー、又は、膣に放出されるエアロゾルフォームの形体の、遺伝子組み換えサイトカイン製剤からなる、雌用の組成物を提供するものである。子宮内膜の受容性を改善するための方策として、このような投与方法を用いることは新規である。

【0036】

好ましくは、この組成物は、防腐剤、酸化防止剤、湿潤剤、乳化剤及び分散剤等のアジュバントを更に含んでいる。様々な抗菌物質及び抗真菌性物質、例えば、パラベン、クロロブタノール又はフェノールソルビン酸を含むことによって、微生物の作用を阻止することができる。また、例えば、糖類、塩化ナトリウム等の等張剤を含むことが望ましい。

【0037】

好ましくは、この組成物は、膣用カプセル、膣用ジェル、膣用錠剤、膣用パウダー、膣用溶液、膣用ペッサリー、膣用カップ、膣用スポンジ、又は、膣用フォーム若しくはスプレー等の膣への投与に適した形状を有している。最も好ましくは、この組成物は、膣用ペッサリーの形状を有している。

【0038】

好ましくは、この膣用製剤は、溶解性又は非溶解性、分解性又は非分解性である。

【0039】

好ましくは、本発明の組成物は、膣用座剤、錠剤、パウダー、生体接着性錠剤、カプセル、微小粒子、生体接着性微小粒子、マイクロカプセル、微小球、リポソーム、クリーム、ローション、フォーム、スプレー、フィルム、軟膏、溶液、ジェル若しくは持続放出性ジェル、タブレット若しくはカプセル、又は、膣に投与され、若しくは、膣用器具内に組み込まれる持続放出性坐剤として調製される。

【0040】

本発明の他の実施形態においては、本発明の組成物は、経口若しくは直腸投与用に調製され、又は、組成物が消化管の粘膜から吸収されるように、消化管投与に用いられる腸溶性錠剤として調製される。投与方法をこれらの方法にした理由は、消化系における粘膜免疫系は、生殖器官の免疫系に関連しているからである。このように、粘膜プライミングが生じ、これによって、胚移植、同種移植片／ガメート／胚に対する耐性、自己免疫耐性、又は、生殖器官及び消化器官双方の内因性／外因性のマイクロフローラに対する耐性を促進する。

【0041】

好ましくは、本発明の組成物は、多層の、マルチコアの、マイクロカプセル化された製剤として調製される。より好ましくは、この組成物の有効成分は、使用時には、ゼラチンカプセルのように、シェル／コート内にカプセル化された乾燥材料である。

【0042】

膣投与用の組成物は、好ましくは、本発明の組成物を、適宜の薬剤成分、又は、セ刺激性のない賦形剤、又は、常温では固体であるが、体温では液状になり、従って、直腸又は膣腔内で溶解し、有効成分を放出するところの、ココアバター、ポリエチレングリコール若しくは座薬タイプのワックス等のキャリアと混合することによって調製される。膣用ペッサリーの一般的な例は、有効成分と、以下の賦形剤：中鎖脂肪酸トリグリセリド及び硬い脂肪とを含んでいる。

【0043】

又は、この組成物は、子宮内器具又はこの種の器具の被膜、例えば、タンポン若しくはタンポン状の器具の被膜に含まれるものであってもよく、又は、スポンジ、フォーム、ストリップ、パウダー、ペッサリー若しくは他の材料に含まれるものであってもよい。このような器具の吸収材料又はマトリックスを、溶液状、懸濁ローション状、パウダー状、ク

10

20

30

40

50

リーム状、リポソームのマイクロエマルジョン状若しくは懸濁状、生体接着性ナノ粒子状、又は、生体接着性微小粒子状の本発明の組成物で含浸してもよい。好ましくは、この腔用器具は、溶解性又は非溶解性、分解性又は非分解性である。

【0044】

好ましくは、この組成物は、粘膜接着剤、吸着促進剤又は浸透促進剤を更に含む。本発明のこの組成物は、経粘膜的な腔投与によって投与され、その方法は、腔粘膜を本発明の組成物と接触させることからなっている。

【0045】

好ましくは、腔投与用の組成物は、急速投与、制御された投与、連続投与又はパルス投与用である。1つの実施形態においては、本発明の組成物は、連続投与又は急速投与をそれぞれ実現するために、溶融速度が遅いワックス又は溶融速度が速いワックスを含むペッサリーとして考案されたものである。他の実施形態においては、本発明の組成物は、制御された放出を実現するために、適宜の添加物を含むフォーム又はジェル状に考案されている。

【0046】

好ましくは、本発明の組成物を、腔用ペッサリー、錠剤、生体接着性錠剤、カプセル、パウダー、微小粒子、生体接着性微小粒子として提供する場合には、この被膜は、ざらざらしている。子宮の受容性のために調製されるべき種の雄の陰茎が、粗い表皮、角質のどげ等を有している場合には、特に、投与される組成物は、適宜、このように変更される。この場合、挿入に係る腔用投与手段は、陰茎における粗い外皮と同様の粗い被膜を有するものとして、母性の炎症反応を引き起こし、もって、粘膜への製剤の浸透を促進し、初期炎症反応を引き起こし、そして、全体的な神経内分泌の刺激を促進することが望ましい。

【0047】

本発明の特に好ましい実施形態においては、この組成物は、ペッサリーの形状を有している。好ましくは、このペッサリーは、雌の子宮に挿入されるように、適宜の大きさ及び形状を有している。このペッサリーは、固体の核及び外側の多孔質層を有していてもよい。マウス用ペッサリーの一般的な寸法は、外径が4 mmで、長さが7 mmである。このペッサリーの直径及び長さは、これが挿入される種の腔の大きさによって異なるが、このペッサリーは、腔に挿入したときに、不快感なく保持されるような大きさ及び形状を有していることが望ましい。

【0048】

本発明の他の実施形態によれば、妊娠率を向上し、そして／又は、精液／精子、又は、胚、又は、他の組織同種移植片に対する母性の同種反応性を低下させ、そして／又は、胚の移植前、又は、授精前の、雌の免疫寛容の子宮環境を提供するための製剤を製造するための、本発明の第1の実施形態の組成物が提供される。

【0049】

本発明の他の実施形態によれば、腔／胃腸粘膜を上述した組成物に曝すことを含む、精液／精子、胚、又は、他の組織同種移植片（既存マイクロフローラを含む）に対する雌の母性の同種反応性を低下させる方法であって、

(i) 本発明の組成物を含む少なくとも1つの腔投与手段を、前記雌の腔内に導入し；

(i i) 単数又は複数の更なる腔投与手段を任意に挿入し；

(i i i) 十分な一定時間の経過を許容して、前記腔投与手段の有効成分の放出、前記腔への浸入、及び、経粘膜的な吸収、及び／又は、拡散、及び／又は、子宮内並びに／若しくは胃腸粘膜内への浸透を可能にし、そして、

(i v) 雄との交尾によって、又は、人工授精、ガメートドナー、又は、胚若しくは他の組織同種移植片を移植させるために導入することによって、前記雌を授精させることを含む方法が提供される。

本発明の他の実施形態によれば、腔／胃腸粘膜を上述した組成物に曝すことを含む、胚の授精又は移植前の、雌の妊娠率又は妊娠結果を向上する方法であって、

(i) 本発明の組成物を含む少なくとも1つの腔投与手段を、前記雌の腔内に導入し；

(i i) 単数又は複数の更なる膣投与手段を任意に挿入し：

(i i i) 十分な一定時間の経過を許容して、前記膣投与手段の有効成分の放出、前記膣への浸入、及び、経粘膜的な吸収、及び／又は、拡散、及び／又は、子宮内並びに／若しくは胃腸粘膜内への浸透を可能にし、そして、

(i v) 雄との交尾によって、又は、人工授精、ガメートドナー、又は、胚若しくは他の組織同種移植片を移植させるために導入することによって、前記雌を授精させることを含む方法が提供される。

【 0 0 5 0 】

本発明の他の実施形態においては、人工授精又は自然受精の場合に、工程 (i i i) 及び (i v) を、同時に又は近接した時間的順序で実施する。精子／胚／ガメート、及び、内因性若しくは外因性のマイクロフローラに対する母性の免疫同種反応性を低下させ、これによって、妊娠率を向上するために、本発明の方法は、受精／胚移植の際に、膣に収容される遺伝子組み換えサイトカインを含むペッサリー、ジェル、スプレー又はフォームを含む組成物を用いている。

【 0 0 5 1 】

投与量及び複数の投与間に設けられる期間は、様々な要件によって異なり、種若しくは種族、早発／過排状況、季節的影響、泌乳状況、及び、以前に失敗した妊娠の回数、若しくは、依然に受精の回数、若しくは、人工授精の回数によって異なる。これは、母性年齢によっても異なり、また、この雌が初めての妊娠であるかどうかによっても異なる。

【 0 0 5 2 】

好ましくは、ヒト以外の実験動物に使用する場合、本発明の方法は、雌のレシピエントにおいて、発情期を同期させる工程を含んでいる。

【 0 0 5 3 】

本発明の更に他の態様によれば、複数の部品、及び、必要に応じて、そのための取扱説明書のキットが提供され、このキットは、本発明の組成物を含む複数の膣投与手段と、上記膣投与手段を雌のレシピエントの膣に挿入するための装置とを含んでいる。

【 0 0 5 4 】

本発明の第 1 の実施形態に関して上述した特徴は、本発明の特徴の各々及びすべてに同様に適用可能であり、そして、変更すべきところは変更して適用される。

【 0 0 5 5 】

下記の図を参照して、単なる一例によって、本発明を以下に説明する。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 5 6 】

本発明の実施態様を、添付図面を参照しながら以下に更に記載する。図面において、

【図 1】図 1 は、マウスの精漿中のサイトカインネットワークのベイジアン数学モデリングを示している。複数のノード（複数のサイトカイン）が、それらの親ノードの状態（各ノードに隣接するバーチャートは、左側の低い位置から右側の高い位置に亘って、3つの濃度瓶のうちの 1 つに分類される、そこに内在する条件付き確立を反映している）を考慮して、高濃度（緑）、低濃度（赤）又は中間濃度（白）という、対応するメディエータ相対濃度の条件付き確立に従って、色分けされている。正規化された濃度（低又は高）は、ノード色の強度を決定している。複数の端部（複数のノード間の因果的接続線）は、複数のノード間の因果的に向けられた相互作用を表わしている。これらのサイトカインは、母性の生殖器官と相互作用を起こして、父性の抗原に対する免疫寛容性を誘導する。

【図 2】図 2 は、ラットの精漿中のサイトカインネットワークのベイジアン数学モデリングを示している（詳細については上述した通りである）。ベイジアン結果の確実性のある分析に基づいて（90%のブーストラッピング反復を超える確率で生じることに基づいて）、非常に高い信頼レベルの端部が赤で色付けされている。

【図 3】図 3 は、投与に成功し、次いで、精管切除術が施された雄、又は、完全混合、混合 1、混合 2 及び混合 3 のペッサリー（グループ当たり $n = 14$ ）を用いて交尾することによって、偽妊娠を誘導した確率のバーチャートを示している。

【発明を実施するための形態】

【0057】

ここにおいて、用語「胚」は、胞胚、胚盤胞、受精卵、又は、成長の初期段階、特に、雌のレシピエント内に移植されるべき、明確に識別可能な形に至る前の生命体を含むことを意図するものとする。これらの用語は、区別なく使用されるものである。

【0058】

ここにおいて、用語「妊娠率の向上」とは、妊娠結果が陽性であること、又は、処理された精液を用いて人工授精後に、若しくは、自然受精後に、若しくは、新鮮胚、冷凍胚若しくは他の保存胚の移植後に、周産期生存を向上すること若しくは一般的な生存能力を向上することを含むことを意図するものとする。以下に使用する用語「妊娠」とは、自然若しくは人工授精から生ずる妊娠、又は、新鮮胚、冷凍胚若しくは他の保存胚及びがメートの移植後に生ずる妊娠を含むものと解釈されるべきである。

10

【0059】

ここにおいて、用語「子宮内器具」とは、本発明の組成物を子宮内に投与して、本発明のこの組成物が子宮環境下で薬理作用をもたらすことを可能にする、ペッサリー状、ジェル状、溶液状、エマルジョン状、パウダー状又はエアロゾル状のシステムを含むことを意図するものとする。

【0060】

ここにおいて、用語「ペッサリー」とは、本発明の医薬物質が、膣の粘膜を通して容易に吸収されるように、又は、局部的に、例えば、炎症に対して、若しくは、子宮内で意図した通り作用するように、本発明の医薬物質を投与する手段を意図するものである。

20

【0061】

「薬剤成分」又は「賦形剤」とは、本発明の粘膜接着性を有する組成物に添加される、薬理的に不活性で、薬学的に受け入れ可能な成分を意味する。この成分又は賦形剤は、如何なる薬理的な特性をも有していない。

【0062】

「急速投与」とは、組成物のその成分からの、初期の緊急的な放出及び投与を意味するものとする。急速投与に続いて、一般的には、組成物又は装置からの成分の放出が時間に依存して減少し、そして、プラズマ／子宮壁組織（場合によっては、消化管）に薬が投与される。

30

【0063】

「制御された投与」とは、有効成分が、事前に計画された方法で、物質から放出されるところの、放出を意味する。有効成分の放出は、長期間に亘って、一定であってもよく、これは長期間に亘って、周期的であってもよく、又は、これは、環境又は他の外部事情によって始動されるものでもよい。

【0064】

「連続投与」とは、組成物が製剤又は装置から連続的に又は途切れずに放出されること、及び、このような組成物を連続的に投与することを意味する。連続投与の前に、急速投与が行われてもよい。

【0065】

「パルス投与」とは、組成物を間欠的な間隔をあけて放出し、投与することを意味する。例えば、組成物を、溶融可能なコーティングの複数の不活性層で間がけられた個々の複数の層で形成することによって、又は、異なる薬剤成分を用いることによって、このようなパルス投与を提供してもよい。

40

精液サイトカイン分析

【0066】

性的に成熟したCD1雄マウス（ $n=20$ ）及びウィスター系ラット（ $n=20$ ）を犠牲にし、死後のこれらの精腺から精液を採取し、このように、死後によるアプローチを選択して、電気射精によるサンプルの採取を避けた。何故ならば、この電気射精による精液の質は変化しやすく、これらのサンプルが急速に凝固し、分析に問題が生ずるからである

50

。精囊のサンプリングが理想的である。何故ならば、（付属腺のものよりも）この液体の方が、調査対象の、母性管の免疫調節因子を含んでおり、腺分泌の凝固をより容易に回避することができるからである。

【0067】

複数の精液サンプルをここの計量し、0.5%のウシ血清アルブミン（BSA）が添加されたリン酸緩衝生理食塩水（PBS）中に懸濁し、そして、再び計量した。マウスの精液の体積比を基準重量として推測することにより、分離された最初の容積、及び、上記PBSによって導入された希釈係数を求めることができた。この液体は、非常に粘性が高く、迅速にピペットで取ることができないため、この工程は必要である。これらのサンプルを回転させ、上清を -80°C で冷凍し、次いで、以下の23のサイトカインについて同時に分析を行った：インターロイキン（IL）-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10、IL-12（p40）、IL-12（p70）、IL-13、IL-17、エオタキシン（eotaxin）、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、インターフェロン（IFN）- γ 、表皮細胞由来ケモカイン（KC）、単球走化性タンパク質（MCP）-1、マクロファージ阻止因子（MIP）-1 α 、MIP-1 β 、血小板やT細胞由来の好酸球走化性物質（RANTES）、及び、腫瘍壊死因子（TNF）- α 。これは、スターステーション（StarStation（商標））ソフトウェアを搭載したルミネックス（Luminex-100（商標））で作動する、23の液相免疫測定分析カスタムキットによって実現された。疑陽性／偽陰性を回避するために、すべてのケースにおいて血清希釈剤を用い、そして、基準レベルに対する感度を最大限にするために、希釈率を1：1に調整した。ラットの精液についても同様の分析を行った。

【実施例1】

【0068】

以下の表2は、マウスの精液において、分析され、測定された様々なサイトカインを示している。エオタキシン（Eotaxin）及びランテス（RANTES）は、500 pg/ml超のレベルで存在する主要なサイトカインであると思われる。IL-9、TNF- α 、及び、MIP-1 α のレベルは、100 pg/ml超であり、一方、G-CSF及びIFN- γ 等の幾つかのサイトカインのレベルは、50から100 pg/mlの間であり、IL-13及びTGF- β 等の幾つかの他のもののレベルは、50 pg/ml未満であった。

【0069】

【表 2】

マウス	平均	標準偏差
IL-1 α	8.19	1.96
IL-1 β	87.48	9.04
IL-2	3.03	0.49
IL-3	0.35	0.04
IL-4	0.11	0.01
IL-5	0.56	0.07
IL-6	3.63	0.44
IL-9	135.14	33.47
IL-10	19.95	3.36
IL-12 p40	5.25	0.53
IL-12 p70	10.91	1.08
IL-13	20.64	1.86
IL-17	5.10	0.90
Eotaxin	857.22	73.85
G-CSF	45.03	3.33
GM-CSF	4.16	0.39
IFN- γ	46.38	3.95
KC	37.17	3.56
MCP-1	30.23	2.65
MIP-1 α	114.32	8.31
MIP-1 β	6.68	1.36
RANTES	618.62	84.17
TNF- α	102.27	9.11
TGF- β	27.63	6.54

10

20

【0070】

以下の表3は、ラットの精液において、分析され、測定された様々なサイトカインを示している。RANTESが、存在する主要なサイトカインであると思われる。分析に係る複数のサイトカインのうち、RANTES及びGRO/KCのみのレベルが200 pg/mlを超えていた。IL-10及びIL-6のレベルは100 pg/ml超であり、一方、MCP-1等の幾つかのサイトカインのレベルは、50から100 pg/mlの間であり、IL-17等の幾つかの他のもののレベルは、50 pg/ml未満であった。

【0071】

30

【表 3】

ラット	平均	標準偏差
IL-1 α	3.28	0.97
IL-1 β	20.41	0.84
IL-2	29.11	3.40
IL-4	20.17	1.13
IL-5	9.58	0.95
IL-6	149.17	1.13
IL-9	54.56	0.84
IL-10	114.89	1.45
IL-12 p70	55.14	4.31
IL-13	8.29	1.35
IL-17	15.80	1.11
IL-18	6.66	0.89
TNF- α	2.27	0.16
IFN- γ	2.93	0.39
Eotaxin	34.84	1.45
GCSF	1.51	0.07
GMCSF	40.53	2.10
MCP-1	61.56	2.21
LEPTIN	43.69	2.61
MIP-1 α	0.13	0.02
IP-10	4.24	0.34
GRO/KC	228.00	2.10
RANTES	287.31	2.21
VEGF	0.00	0.00
TGF- β	0.00	0.00

10

20

【実施例 2】

【0072】

エオタキシン(Eotaxin)及びランテス(RANTES)が、各々、500 pg/mlを超える量で存在する主要なサイトカインであると思われる(表1及び2参照)。IL-1 α 、IL-6、IL-10、IL-12(p40)、IL-12(p70)、GM-CSF、及び、MIP-1 β のサイトカインは、20 pg/ml未満のレベルで存在し、また、IL-1 β 、IL-9、IL-13、G-CSF、TNF- α 、MCP-1、KC、MIP-1 α 、及び、IFN- γ のサイトカインは、20 pg/ml超、150 pg/ml未満のレベルで存在していた。

30

これらの分析に基づいて、遺伝子組み換えサイトカインを用い、細胞培養試験に係る遺伝子組み換えマウスのサイトカイン溶液を、PBS内で、精液中に見られる濃度で作成した(表3参照)。これを、ペッサリーに吸収させるのに必要になるまで、-80°Cで保存した。

【0073】

【表 4】

一度溶解後に調整したマウス用ペッサリーにおける子宮内のサイトキシン濃度

サイトキシン	ペッサリー溶液濃度	
	(pg/ml)	
IL-1 α	8.19	
IL-1 β	87.48	
IL-6	3.63	
IL-9	135.14	
IL-10	19.95	
IL-12 (p40)	5.25	
IL-12 (p70)	10.91	
IL-13	20.64	
G-CSF	45.03	
GM-CSF	4.16	
TNF- α	102.27	
MCP-1	30.23	
RANTES	618.62	
Eotaxin	857.22	
KC	37.17	
MIP-1 α	114.32	
MIP-1 β	6.68	
IFN- γ	46.38	

10

20

【0074】

これらのペッサリーは、所定量の TGF- β 1 をも含んでおり、これが、子宮の受容性を引き出すのに重要である。

30

【実施例 3】

【0075】

実験動物用ペッサリーの付加的な製剤成分を、（誤飲の場合の）毒性、（摂取をやめさせる）食味、及び、内腔 pH に対する影響（特定のサイトカインの生物活性は、腔の pH によって促進する）によって決定した。これらのペッサリーの大きさ及び形状は、主として、これらを使用する意図に関する種によって決定される。ペッサリーの大きさは、過度の不快感を伴うことなく、挿入に適したものとして決定され、このように決定されたものは、腔前庭に保持するために適切な大きさでもあるから、例えば、直径約 4 mm のペッサリーは、特に、マウス用に適している。大型の実験用動物、即ち、実際にこれよりも大きいマウス種は、大型のペッサリーを必要とする場合がある。これらのペッサリーは、5 から 10 ワットの設定で、レーザーエッチングされたナイロンから形成されており、この技術を用いることによって、（「装着」を容易にする）空隙率、及び、全体形状並びに寸法を制御することが可能である。これらのペッサリーは、このような大きさの範囲内で提供されるものであり、また、使用時に所望の場合には、複数の脚部を、中央の保持ユニットから外してもよく、また、ユーザーに、異なる複数の大きさの範囲のペッサリーを提供してもよい。これらのペッサリーに必要な有効成分を投入して、母性の生殖器官内において、精液のような最終濃度を確保するために、これらのペッサリーは、その使用のために、これらを、100 倍の濃度のサイトカイン溶液 200 μ l に浸漬することによって調製される。次いで、ペッサリーの頭部は、脚部から取り除かれ、適切な器具によって、マウス

40

50

の腔内に直接挿入される。次いで、このペッサリーは、一定の期間の間、マウスの腔内に残され、有効成分が吸収された後に、動物に麻酔を施して、胚の移植の際に、取り除かれるか、又は、このペッサリーは、自己溶解し、若しくは、このペッサリーは、自然に押し出される。

【0076】

当然のことながら、上述した実施形態は、本発明の組成物を投与する手段の1つの例に過ぎず、このペッサリーは、低速で又は高速で溶融するタイプの製剤から構成されてもよく、また、本発明の組成物を投与する方法は、種によって異なってもよい。この投与手段はまた、生分解性の製品から構成されていてもよく、例えば、ヒトにおいては、腔用スポンジが、これらの組成物を投与する、より都合のよい方法である場合がある。

10

【実施例4】

【0077】

還元サイトカインの完全混合物と、還元サイトカインの3つの異なる組成物とを、様々な生理学的濃度で、表5に示すように調製した。完全混合物は、IL-12 (P40)、ランテス (RANTES)、エオタキシン (Eotaxin)、MIP-1 β 、TNF- α 、IL-13、IFN- γ 、TGF- β 、IL-1 β 、IL-6、IL-12 (p70)、MCP-1、IL-10、IL-1 α 、IL-9、GM-CSF、KC、MIP-1及びGCSFからなっていた。

【0078】

混合物1は、IL-12 (P40)、ランテス (RANTES)、MIP-1 β 、IL-13及びTGF- β を含んでいた。IL-12 (P40)は、主なネットワークの祖先の親(著しい数の出発点を与えられている)としての、及び、下流側のメディエーターを推定的に原因管理するものとしての役割があるため、同IL-12 (P40)を含ませた。ランテス (RANTES)及びMIP-1 β は、(非常に多くの数の出発点に基づく、複数の信号分析におけるような)複数のハブノードであるので、これらのランテス (RANTES)及びMIP-1 β を含ませた。MIP-1が信号を送るという重要な点は、複数の種全体にわたって、このハブノードを維持することによって強調されており、その機能は、ラットのネットワーク(図2)において強調されたものと類似しており、同様の根拠に従って、IL-13を含ませた。何故ならば、図1に示したネットワークの主枝の右側におけるこの機能を実行する主なノードであると考えられたからである。交尾によって誘導される炎症反応を和らげるという、TGF- β が意味する強力な免疫調節特性に起因して、同TGF- β を含ませた。

20

30

【0079】

混合物2は、IL-12 (P40)、エオタキシン、TNF- α 及びIFN- γ を含んでいた。IFN- γ は、認められた墮胎薬でありながら、ここに示したように、低いレベルでハブノードとしての生理学的な役割果たすということを除いて、この混合物に関して、複数のメディエーターを上述したように選択した。

【0080】

混合物3は、上述において強調された理由で、ランテス (RANTES)、エオタキシン、TNF- α 及びTGF- β を含んでいた。TNF- α は、ネットワークの唯一の終端ノードであったことを考慮して、同TNF- α を添加した。このような重要な役割は、その終端ノードは、種の相違や、分析に係るネットワークノードの幾つかが変化するにも拘わらず、マウス及びラット全体を通して一貫しているという事実によって明確に示される。生殖に関する免疫におけるその役割は、熱心に議論されるが、このプロセスに関連する初期の炎症反応を引き起こすのに重要な役割を果たすようなものであると次第に認識されつつある。この選択は、精漿におけるサイトカインネットワークを数学的にモデリングしたもの(図1及び2参照)に基づく。完全混合物の組成物は、精漿分析に関して利用できる、最も詳細な、マウスの多重免疫学的分析に基づくものである。

40

【0081】

【表 5】

表 5 : この研究において用いられた 4 つのペッサリーのサイトキシン組成 (影付きのボックスは、混合体に含まれていることを示す)				
サイトキシン	完全混合	混合 1	混合 2	混合 3
IL-12 (p40)				
RANTES				
Eotaxin				
MIP-1 β				
TNF- α				
IL-13				
IFN- γ				
TGF- β				
IL-1 β				
IL-6				
IL-12 (p70)				
MCP-1				
IL-10				
IL-1 α				
IL-9				
GM-CSF				
KC				
MIP-1 α				
G-CSF				

【0082】

図 3 に示すデータは、規定数のサイトカイン及びこれよりも少ない数のサイトカインの何れであっても、これらを「含む」現在のナイロン製の原型に係るペッサリーによれば、CaCBAxC57Bl/6 Flsにおいて、偽妊娠を誘導することに成功したことを確認するものである。数の少ないサイトカインの我々の 3 種の混合物では、成功率が異なっていたものの、1 つの組合せ、特に、混合物 3 は、精管切除術が施された市販の雄 (n = 14) と同様の成功率で、偽妊娠を誘導したことを我々は見出した。

【0083】

この明細書の発明の詳細な説明及び特許請求の範囲の全体を通して、「～からなる (comprise)」及び「～を含む (contain)」、並びに、これらの変化形は、「～を含むが、これに限定されるものではないことを意味するものであり、これらは、他の部分、添加物、成分、整数、又は、工程を除外することを意図するものではない。この明細書の発明の詳細な説明及び特許請求の範囲の全体を通して、単数形は、文脈上他の意味に解すべき場合を除き、複数形を含むものとする。特に、不定冠詞を用いた場合には、本明細書の該当する部分は、文脈上他の意味に解すべき場合を除き、複数及び単数を意味すると考えていると理解すべきである。

【0084】

本発明の特定の態様、実施形態又は実施例に関して記載された特徴、整数、特性、化合

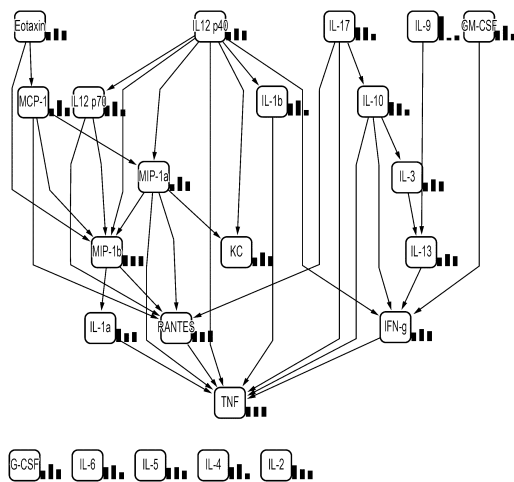
物、化学的部分又は群は、矛盾しない限り、ここに記載された他の態様、実施形態又は実施例に適用可能であると解釈すべきである。本明細書（添付された特許請求の範囲、要約書及び図面を含む）に記載された特徴のすべて、及び／又は、このように開示された方法又はプロセスの工程のすべては、このような特徴及び／又は工程の少なくとも幾つかが相互に排他的であるところの組合せを除き、如何なる組合せにおいて、組み合わせてもよいものとする。本発明は、上述した実施形態の詳細事項に限定されるものではない。本発明は、本明細書（添付された特許請求の範囲、要約書及び図面を含む）に開示された特徴のうちの、新規な1つ、又は、新規な組合せにまで及び、また、このように開示された方法又はプロセスの工程のうちの、新規な1つ、又は、新規な組合せにまで及ぶものとする。

【0085】

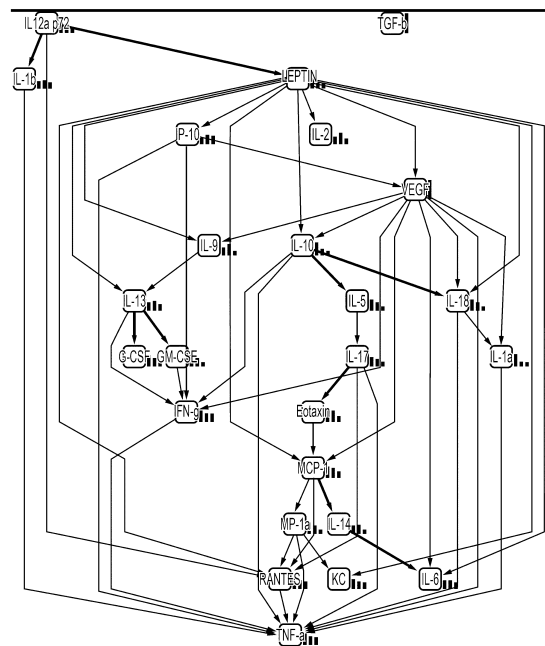
10

読者の注意は、本願に関する本明細書と共に提出され、又は、以前に提出され、そして、本明細書と共に公衆の閲覧に付されたすべての書類及び文書に向けられるものであり、これらの書類及び文書のすべての内容は、引用することにより、ここに組み入れられるものとする。

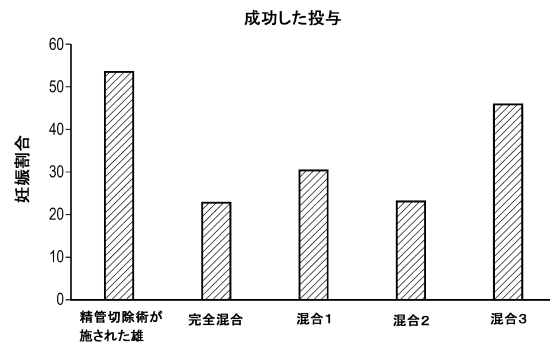
【図 1】



【図 2】



【図 3】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K	9/12	(2006.01)
A 6 1 K	9/14	(2006.01)
A 6 1 K	9/20	(2006.01)
A 6 1 P	15/08	(2006.01)
A 6 1 M	31/00	(2006.01)

A 6 1 K	9/12
A 6 1 K	9/14
A 6 1 K	9/20
A 6 1 P	15/08
A 6 1 M	31/00

(72)発明者 ゴピチャンドラン ナディア
イギリス国 5ティーエフ エル3 マーセイサイド, リバプール, マウント プリーザント
1 3 1, リバプール サイエンス パーク

(72)発明者 オージ ニコラス ミシェル
イギリス国 5ティーエフ エル3 マーセイサイド, リバプール, マウント プリーザント
1 3 1, リバプール サイエンス パーク

(72)発明者 ブローク デイヴィッド アンドリュー
イギリス国 5ティーエフ エル3 マーセイサイド, リバプール, マウント プリーザント
1 3 1, リバプール サイエンス パーク

審査官 渡邊 潤也

(56)参考文献 国際公開第2013/093878 (WO, A1)
国際公開第2008/070902 (WO, A1)
国際公開第97/007813 (WO, A1)
特表平08-507530 (JP, A)
特表平09-510988 (JP, A)
特表2008-501035 (JP, A)
Reproduction, 2006年 3月, 131(3), p.613-21
Clin Immunol., 2004年 1月, 110(1), p.71-80
青森臨産婦誌, 2006年, 21(1), p.16-31

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A 6 1 K 38/00
A 6 1 K 39/00
A 0 1 K 67/00
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)