【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30年5月10日(2018.5.10)

【公表番号】特表2016-501889(P2016-501889A)
【公表日】平成28年1月21日(2016.1.21)
【年通号数】公開・登録公報2016-005
【出願番号】特願2015-546558(P2015-546558)
【国際特許分類】
Ｃ０７Ｋ　14/47　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　45/00　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/7036　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/407　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/496　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　38/00　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/7056　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/546　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/63　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/65　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　31/04　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　31/10　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　17/02　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　37/06　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ０７Ｋ　14/47　ＺＮＡ
Ａ６１Ｋ　45/00
Ａ６１Ｋ　31/7036
Ａ６１Ｋ　31/407
Ａ６１Ｋ　31/496
Ａ６１Ｋ　37/02
Ａ６１Ｋ　31/7056
Ａ６１Ｋ　31/546
Ａ６１Ｋ　31/63
Ａ６１Ｋ　31/65
Ａ６１Ｐ　31/04
Ａ６１Ｐ　31/10
Ａ６１Ｐ　17/02
Ａ６１Ｐ　37/06

【誤訳訂正書】
【提出日】平成30年3月26日(2018.3.26)
【誤訳訂正１】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２０７
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２０７】
蛍光抗体法: HCECs とプライマリ HCECs は、Lab-Tek（商標名） II ガラス チャンバー スライド (Nunc, Rochester, NY)で培養され、そして基底メディアで一晩飢えさせた。単層は10 μlピペットチップで擦傷した、或いは傷付けずそのままとされ、そして、1

μM ホルボール 12-ミリステート-13-アセタート (PMA、シグマ アルドリッチ)、rCAP37(25-500 ng/ml)、または基底 KSFM (Gibco)で15分処理された。処置後、細胞を室温にてPBS (Gibco) 中の4% (v/v) ホルムアルデヒド溶液 (Thermo、ロックフォード、イリノイ州)で20分間固定化し、次いでPBS (Gibco) 中の0.5% PBS TRITON(商品名) -X 100 (Mallinckrodt, St. Louis, MO)で易透化させた。残りのホルムアルデヒドは、 PBS中の0.05 M塩化アンモニウム (NH_4Cl、シグマ アルドリッチ、セントルイス ミズーリ州)で10分間クエンチした。細胞をPBS で洗浄し、ブロッキングバッファー (5% ウシ血清アルブミン(Calbiochem, Gibbstown, NJ) および0.5% PBS TRITON(商品名) -X 100 (Mallinckrodt, St. Louis, MO)を含む PBS中の 10% (v/v) ヤギ血清)で室温にて1時間ブロックした。PKC アイソフォームを検出するために、細胞は PKCδ (250 ng/ml), PKCθ (500 ng/ml), PKCα (1 μg/ml)または PKCγ (1 μg/ml)に対して指向する一次マウス抗体(Becton Dickinson Discovery Labware)中で室温にて1時間インキュベートされた。マウス IgG (1 μg/ml;Jackson ImmunoResearch) は非特異的染色の対照として用いられた。細胞は 0.25% TRITON(商品名) -X 100 (Mallinckrodt) を含むPBSで洗浄され、そして2次抗体(ブロッキングバッファ中4 μg/ml ; ALEXA FLUOR(登録商標) 488 dye (Life Technologies Corp., Grand Island, NY))で室温にて1時間インキュベートされた。細胞はTBSで5 分間、3回洗浄し、最後に水洗浄し、そしてDAPI (Molecular Probes/Life Technologies Corp., Grand Island, NY)を含むPROLONG(登録商標) Gold Antifade を使用して載置された。画像は倒立エピフルオレセント顕微鏡 (TE2000-E;ニコン)で得た。

【誤訳訂正２】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２１３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２１３】
CAP37はインビトロ創傷の閉鎖を容易とする：CAP37 仲介移行、HCEC増殖、接着が、CAP37 を角膜創傷治癒のプロセスを促進するという前提を導く。この前提を調べるためには、インビトロ擦傷モデルが、CAP37が傷の閉鎖を促進するかどうかを決定するため利用された。調査結果は、 CAP37は、インビトロでの傷の閉鎖の投与量依存的(図 23 A)促進を示した。CAP37 は、最大限に 250 と 500 ng/ml の濃度で使用すると傷の閉鎖を促進した。250 ng/ml のCAP37でCAP37処理した傷の創傷閉鎖率は、ほぼ 18 時間で 71% であり、約 41%の閉鎖を示した基底メディア処理試料より有意に多かった (**P <0.01) 。CAP37の500 ng/mlでの傷の治療は、約 62% 閉鎖となり、緩衝液対照より有意に大きかった (*P < 0.05)。正の対照として使用されたHB-EGFは治療単層の ほぼ 88% 閉鎖を示した (図23Ａ)。時間の各ポイントで撮影した インビトロ擦傷アッセイの代表的な画像は、様々な治療への応答の閉鎖の程度を示す。HB-EGFで治療の傷は、傷が完全な閉鎖するのに 24 から 48 時間の間必要である一方、 CAP37 の 250 ng/ml で処置した場合は 24 時間で完全に閉鎖された。バッファー処理傷(図 23 Ｂ)は、48 時間で完全閉鎖に届かなかった。

【誤訳訂正３】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２１４
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２１４】
創傷後の最初の18時間のインビトロ創傷閉鎖の時間経過顕微鏡観察研究は、細胞の先端が、CAP37 対 HB-EGFに応答するにおいて、明らかな違いがあることを示した。CAP37処理のサンプルでは、個々の細胞が先端（リーディングエッジ）から切り離れ、他の細胞から独立した負傷領域を横切って這い進むすることがわかった。細胞は、活性化を示す明白な葉状仮足(lamellipodia)を有して、偏極を示した。リーディングエッジでないすべての細胞は、活性化または葉状仮足を生産した。ただし、傷のエッジには、HB- EGF 処理単層よ

りもよりダイナミックな活動が示された。HB-EGF処理細胞は、傷の閉鎖の著しく異なる方法を示した。これらの細胞はシートで進み、個々の細胞は切り離れたり、あるい細胞の前記した進入するシートに独立して、創傷を横切って移動しないもののようであった。極在化や葉状仮足形成のような、CAP37処理細胞の形態変化は、HB-EGFまたは基底KSFM処理単層には表れなかった。

【誤訳訂正４】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２１５
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２１５】
CAP37のin vivo マウスモデルにおける角膜創傷治癒促進: 角膜創傷治癒材料と方法に記載の in vivo マウスモデルを使用して、傷の閉鎖の CAP37 の局所適用の効果が検討され、16、24、および 48 時間での閉鎖率が正の対照 HB-EGF と負のビヒクル対照と比較した(図２４ａおよび図２４ｂ)。16 時間で CAP37は71%で傷の大きさを減じ、24時間で CAP37 処理 (250 ng/ml)は83% 傷閉鎖した。両方の時点で CAP37処置した傷の閉鎖は、ビヒクル処理対照よりも有意に大きいものであった(* P < 0.05 緩衝液対照と比較して)。傷の時間依存閉鎖がHB-EGFでも示され、緩衝液対照と比較して顕著に高かった(** P < 0.01)。フルオレセイン染色傷の代表的な画像は、図２２Ｂで表示され、HB-EGF と CAP37とビヒクルで治療の反応の傷治癒の時間依存が示された。図示されるように、フルオレセイン染色 (図２２Ｂ) によって測定されるように、すべての傷は48 時間で完全閉鎖を示した。

【誤訳訂正５】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２１６
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２１６】
CAP37は24 時間で角膜再上皮化につながる: フルオレセイン染色法は、角膜上皮剥離と治癒の程度を確認する総形態学的アプローチを提供する。ただし、CAP37が、完全な再上皮化を促進して角膜の上皮層の構造の整合性を復元するかどうかを確認するのに、完全眼球は16、24、および 48 時間で収集され、組織学のため処理された(図２５Ａ～Ｅ)。ヘマトキシリンとエオシン(H & E)染色標本は、24 時間でその再上皮化は順調に進んで、CAP37での治療に応答してこれらの細胞の増殖を示す、上皮の基底細胞層の修復がもたらされることを明らかにした(図２５Ａ)。図２４Ｂに示された24時間でのフルオレセイン染色の低レベルの検出の可能性があって、CAP37への応答において、24時間での移行および扁平上皮細胞への分化は完了したものではないと思われた。CAP37への応答においての再上皮化は、24時間で、ビヒクル処理した傷と比較して大きく促進された (図２５Ｂ)。図に示されるように、上皮は、傷の中央地域において単層厚さのみであり、基底細胞の増殖は、これと同じ時間時点での、CAP37処理した傷と比較して限られていた。これはさらに、図２４Ｂに示されたフルオレセイン染色傷において、ビヒクル処理傷が非常により強い染色をされていることが示されていることでで確認できる。48時間で、CAP37処理した傷 (図２５Ｃ)は、全くの完全性を取り戻して、無傷の角膜 (図２５Ｅ)と組織学的区別できないものであった。ビヒクル治療角膜は、48時間で再上皮化したが頂層性の完全な構造(図２５Ｄ) は観察されなかった 。

【誤訳訂正６】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２１７
【訂正方法】変更
【訂正の内容】

【０２１７】
PKCδとPKCθが負傷したHCEC単層に存在する：本発明者による研究は、PKCアイソフォームα、δ、ε、θ、η、ι、λ、ζは、ヒト角膜上皮細胞に発現され、CAP37は、走化性において特異的にPKCδとθを活性化することを示す。上皮細胞の移動は、正常な創傷治癒に重要なステップであるが、これらのアイソフォームが創傷治癒に関与していたかどうか疑問であった。傷付けたものと傷付けていないHCEC単分子膜がPKCδとθの発現を見るために染色された。結果は、傷付けていないHCEC単分子膜におけるPKCアイソフォームδとθの構成的発現を示し、創傷の縁に沿って両方のアイソフォームの増加した染色を示した(図２６Ａ)。PKCアイソフォームδとθの構成的発現は、プライマリーHCECsを使用して確認した（図２６Ｂ)。SV40 HCEC細胞系およびプライマリーHCECsにおけるこれらの2つのアイソフォームの染色の特異性は、染色を示さないIgG抗体対照を用いて示された。
【誤訳訂正７】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２１８
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２１８】
CAP37治療はHCEC単分子膜のPKCδ染色の増加につながる：PKCδはCAP37を介する角膜創傷治癒のさらなる調査に選択された。CAP37が、傷付けたものと傷付けていないHCEC単分子膜でのPKCδ発現に影響を有するかどうかを決定するために、HCECsをCAP37（250および500 ng/ml)ならびに正の対照としてのPMAで処理した。未処理の傷付けていないHCEC単層（図２７Ａ）および未処理の傷付けたHCEC単層（図２７Ｂ）を上回る、PKCδ染色における用量依存性の増加が、傷付けていないHCEC単層（図２７Ｅおよび図２７Ｇ）と傷付けたHCEC単層（図２７Ｆおよび図２７Ｈ）の双方において、CAP37処理した細胞で15 分で見られた。PKCδ染色における増加は、500 ng/mlのCAP37での処理に続いて観察されたより大きな染色から、用量依存性であると思われた。CAP37に反応するPKCδ染色における増加は、未処理（図２７Ｋ)のものに対して少なくとも18時間(図２７Ｌ）持続された。PKCδの発現は、CAP37処理細胞（図２７Ｅ～Ｈ)とPMA処理細胞（図２７Ｃ、２７Ｄ）の間で比較された。CAP37処理に応答したこの増加した発現がPKCδ染色に特異的であることを立証するために、PKCのαアイソフォームの染色も行ったが、CAP37で処理した場合に、PKCα染色における増加は、単膜（図２７Ｉ）内にも単層の創傷の縁（図２７Ｊ）に沿っても観察されなかった。
【誤訳訂正８】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２１９
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２１９】
PKCδは、インビボで創傷の縁に沿って発現される：PKCδに関する染色は、培養HCEC単層(図２６Ａ)における傷に応答して増加したので、研究は、PKCδの発現における増加がインビボで角膜の創傷において観察されるであろうかどうかを決定するために行った。前述のように角膜が擦傷され、マウスの完全眼球が傷付けた後の6、16、および48時間で免疫組織化学のために収集され、傷に応答してのPKCδの発現を調べた。傷付けた後の６時間（図２８Ａ～Ｂ）および１６時間（図２８Ｃ)では、新しく増殖しおよび移行してきた上皮細胞の先端（リーディング エッジ）でPKCδはほとんど、ないしは全く観察されませんでした。ただし、リーディング エッジより離れた位置での上皮細胞は、正常な傷付けられていない角膜（図２８Ｇ）におけるPKCδの恒常的な発現に匹敵する低いレベルの染色を示した。
【誤訳訂正９】
【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】０２２０
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２０】
傷のCAP37処理がPKCδの発現において影響を有していたかどうかを決定するために、角膜が傷付けられ、そしてその直後および傷付けた16時間後に処理された。6時間および16時間後に摘出された眼は、１回のCAP37の処理（０時間目）を受けたものであり、一方、48時間後に摘出された眼は、2回のCAP37の処理（０時間目および１６時間目）を受けたものである。6 時間で染色された切片は、新しく移行しおよび増殖している上皮細胞、ならびに創傷の縁から離れたそれらの細胞に関して強く染色されることを示した（図２８Ｄ～Ｅ)。PKCδに関する同様の染色パターンが、傷付けられた16時間後で得られた切片において観察された（図２８Ｆ）。48時間後に得られた切片は、完全に治癒されており、そして、傷付けていない角膜（図２８Ｇ）における恒常的発現と同様の強度で、上皮全体が均一に染色されているものであった（図２８Ｈ）。
【誤訳訂正１０】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２１
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２１】
PKCδはインビボにおけるCAP37傷治癒に必要である: CAP37が、PKCδを介して傷治癒を仲介しているかどうかを決定する siRNA を用いたインビボ実験を行った。マウス角膜が、PKCδに対して指向するsiRNAで、またはスクランブル siRNAでトランスフェクションされた。スクランブル siRNAおよびPKCδ siRNAでのトランスフェクションに続いて、上述したようにして傷が形成された。角膜は、次いでビヒクルまたはCAP37(250 ng/ml)で処理され、そして傷の閉鎖を16時間および24時間で測定した。スクランブル siRNAをトランスフェクションされた角膜は、CAP37処理後24時間で、傷閉鎖における期待された増加を示した(P < 0.05) (図２９Ａ)。PKCδ siRNAをトランスフェクションされた角膜においては、16時間および24時間のいずれの時点でも、CAP37に応答しての創傷治癒の大幅な増加がなかった(図２９Ａ)。しかしながら、CAP37処理は、生理食塩水処理創傷以上の傷治癒におけるわずかな増加につながるものであった。しかしこの増加は統計的有意性には届かないものであった（図２９Ａ)。このことは、PKCδは、含まれている唯一のシグナル伝達分子ではなく、それぞれの角膜におけるPKCδのノックダウンが、ウェスタンブロットによって評価した場合に、平均 50%であった（図２９Ａ）ことの影響であることを示すことができるものであった。このノックダウンのレベルは、スクランブル siRNA 対照と比較した場合に、統計的に有意なものである（*** P < 0.005)と測定された。フルオレセイン染色傷の代表的な画像が、スクランブル siRNAをトランスフェクションされ、そしてCAP37で処理された角膜における経時的な傷閉鎖の程度を表す（図２９Ｂ）。図示されるように、最大の傷の閉鎖は、スクランブル siRNAをトランスフェクションされ、そしてCAP37で処理された動物において観察された。
【誤訳訂正１１】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２２】
これらの結果は、ヘパリン結合タンパク質およびアズロシジンとしても知られる、好中球由来のタンパク質CAP37の新たな機能を示すものである。創傷治癒における一連のインビトロのおよびインビボのモデルを使用して、CAP37 が、インビトロで、ならびに角膜擦傷のマウスモデルにおいて傷閉鎖を加速することが示された。重要なことは、CAP37 の角

膜上皮創傷治癒を促進するというメカニズムが特定されたことである。免疫組織化学的および siRNA 技術を用いることにより、プロテインキナーゼＣ (PKC)のシグナル伝達経路、 特にPKCδが、CAP37仲介角膜上皮創傷治癒の重要な変調成分であることが立証された。これは、角膜上皮創傷治癒において、好中球顆粒由来抗菌タンパク質によって用いられる細胞内シグナル伝達メカニズムの最初の実証であると思われる。

【誤訳訂正１２】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２３】

角膜は免疫特権部位であり、そしてそれゆえ、角膜における治癒のプロセスは皮膚の創傷で起こるプロセスとは同一ではない。ただし、角膜および皮膚での創傷治癒の双方において重要な特徴の１つは、好中球が不可欠な細胞成分であるということである。好中球はプロセスの初期の参加者であり、そしてこれらの強力な抗菌作用及び貪食活性によって、感染から宿主を保護することを基本とするものである。角膜が傷付けられた場合、好中球はリンパ管を介して角膜中へと移行する。研究は、角膜創傷治癒の遅延は、抗体による好中球減少症のマウスで発生することを示している。野生型およびノックアウトマウスを用いたルミカンとヘムオキシゲナーゼに関する、および角膜上皮創傷治癒のウサギモデルに関する、その他の研究はさらに好中球の存在が治癒を加速することを立証している。このことが、CAP37、LL 37、ヒト β-ディフェンシン-1 (HBD-1)のような好中球の顆粒内で見出される抗菌タンパク質、および殺菌性-透過性-増加（bactericidal-permeability-increasing (BPI))タンパク質が、創閉鎖を調節する上で有用であると証明し得るとの概念を本発明者らにもたらした。

【誤訳訂正１３】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２４
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２４】

創傷部位に補充された好中球はCAP37並びにその他抗菌タンパク質およびペプチドを含む、それらの顆粒成分を放出し、角膜感染に対する最初の防御ラインを提供する。侵入病原体を殺すことに加えて、これらの抗菌性ペプチド類は、自然免疫を制御する宿主細胞の機能を調節することができることが今明らかとなった。重要なことは、好中球はこれらの抗菌タンパク質の唯一の源ではないということである。CAP37およびLL-37は、感染および傷付けられたことへの応答において、角膜上皮を含む、宿主細胞において、誘導されることができる。LL-37は、CAP37とどうように、インビトロにおいて、抗菌性で、リポ多糖を結合し、そして角膜上皮創傷治癒を促進することが示された。CAP37とは異なりLL-37は、HCECの増殖を促進せず、そして角膜上皮細胞の移動および創傷治癒におけるそれらの影響を含む細胞内シグナル伝達機構が解明されていない。

【誤訳訂正１４】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２５
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２５】

この実施例は、HB-EGF がインビトロでの創傷治癒を促進することを確認するのみならず、HB-EGF がインビボで角膜創傷治癒を促進することも初めて明らかにした。HB-EGFは、これがまたCAP37と同様にヘパリン結合タンパク質であり、そしてまた、HB-EGFが器官組織培地において角膜創傷治癒を促進するというインビトロの証拠があったゆえに、正の

対照として使用するため選ばれた。以前のインビトロの研究は、EGFではなく、HB-EGFはEGF受容体の延長可された活性化を介して角膜創傷治癒を容易とすることを示していた。これは、HB-EGFは、角膜表面上の負に帯電したグリカンに結合することができる一方、EGFは処理後に洗浄除去されてしまうという事実によると信じられている。EGFに代って長期に作用するゆえにこれを望ましいものとするHB-EGFのペパリン結合特性は、CAP37にも適用され、そしてこれを角膜創傷治療に有効なものとする。

【誤訳訂正１５】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２６
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２６】
理論に拘束されることを希望せず、本研究は、先に、増殖、移行、および接着として定義された、CAP37介在細胞プロセスが、角膜上皮の創傷の治癒を促進することと関連して作用することを示すものである。CAP37処理されたインビトロの創傷の経時的なビデオは、少なくとも創傷修復の初期の段階で、主として移行を促進するとすることによって、角膜上皮創傷治癒に影響しているのではないかと推測する。増殖、接着などの他のメカニズムはプロセスのより後の段階で関与する可能性がある。

【誤訳訂正１６】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２７
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２７】
研究の１つの構成は、CAP37介在角膜上皮創傷治癒を誘発する細胞内シグナル伝達機構の描写であった。インビトロおよびインビボでの角膜創傷閉鎖(図２３～２４）を仲介するCAP37の能力を実証した後、PKCδの存在が未処理の角膜上皮細胞培養単層において同定され、そして、初期の角膜上皮細胞で確認された（図２６）。CAP37処理角膜上皮細胞単層は、PKCδ二環する染色において増加を示し(図２７)、これはCAP37処理18 時間後まで持続され、この効果が一過性でなかったことが示された。免疫組織化学は、傷付けていないマウス角膜におけるPKCδの恒常的な存在を明らかにした一方で、CAP37処理創傷の免疫組織化学は、6時間および16時間後のいずれにおいても、ビヒクル処理対照に比べて、傷のリーディング エッジに沿ってPKCδの染色が増加していることを明らかとした（図２８）。CAP37処理創傷における傷のリーディング エッジに沿ってのPKCδの存在およびこのPKCδの増加は、角膜上皮総称治療のマウスモデルにおいてPKCδがノックダウンされた研究へと向けさせた。結果は、PKCδの部分的なノックダウンが、インビボでの角膜創傷治癒におけるCAP37の効果を減ずるのに十分であることを明らかにした。PKCδノックダウンは、CAP37の効果を完全に切断するものではない一方で、スクランブル siRNAをトランスフェクションされ、そしてCAP37で処理された角膜と、PKCδ siRNAをトランスフェクションされ、そしてCAP37で処理された角膜との間で、いずれの時間時点においても有意差は見られず、創傷治癒における減少は臨床的にまだ有意な影響を与えるものであろう（図２９）。達成された平均PKCδノックダウンは50%であり、そしてこれは、CAP37が、PKCδに対するsiRNAでトランスフェクションされた角膜において創傷閉鎖の一定量をいまだに促進するのはなぜかという理由を説明できるものである。これらの発見のための別の説明は、PKCθのようなその他のPKCアイソフォームは、CAP37介在創傷治癒に部分的に寄与するかもしれないということである。他の研究者らは、PKCαおよびPKCεはHGF誘導角膜創傷治癒に重要であり、そしてPKCαはウサギ角膜創傷治癒において重要な変調成分であるということを示している。これに対して、PKCαノックアウトマウスを用いた研究は、より迅速な角膜上皮創傷治癒を実証しており、そして本発明者らはこれは恐らくこのモデルにおける浸潤性好中球数が少ないことによるものであることを示した。CAP37を用いた研究

では、PKCαの関与が示されなかった。すべての炎症反応に関して、炎症細胞の流入を制限することと治癒プロセスを促進することの間に繊細なバランスが存在する。
【誤訳訂正１７】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２８
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２８】
図２８における興味深い観察は、CAP37処理角膜創傷のリーディングエッジでPKCδの染色に加えて、移住する白血球の染色があることである。好中球は、好中球における完全NADPH酸化と呼吸性バースト活性化のために必要とされる、PKCδを発現することが知られている。研究は、LL-37 など抗菌タンパク質がNADPHオキシダーゼ系を介して時間－および用量－依存性で好中球において反応性酸素種(ROS)の生産を引き起こすことができることを示している。これは、過酸化水素(H_2O_2)の低レベル(10-20 μM)が角膜上皮細胞の接着と移行の促進を介して角膜創傷治癒を誘導することが示されているために、創傷治癒の観点から特に重要である。本発明者から未発表の結果は、CAP37がまた走化性を仲介する細胞である、小膠細胞（ミクログリア）と単球において、CAP37がROSの生産を増加させることを示した。さらに、NADPHオキシダーゼはHCECsに発現されること、およびこれらの細胞はこの酵素複合体を介して過酸化物を生産できるものであることが、最近実証された。これらをまとめれば、これらの研究は、CAP37が創傷の縁で角膜上皮細胞におけるPKCδの発現を誘導し、そして、これによって創傷治癒を促進する、NADPHオキシダーゼおよび活性酸素の生産を局所的に活性化するものであることを示すものである。
【誤訳訂正１８】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３０
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３０】
抗生物質耐性に対向する伝統的な努力は、既存薬における増量的な変化を行うことに依存している。この戦略は、短期的な救済を提供するが、細菌はこれらのわずかな変更への抵抗力をすぐに開発する。このため、多剤耐性グラム陰性菌による感染症の治療のための安全かつ効果的な治療のための薬剤の開発パイプラインに深刻なギャップが存在する。
本願明細書に開示され、請求の範囲に要求された本発明概念（群）のペプチド化合物は、特に限定されるものではないが、例えば、シュードモナス属、アシネトバクター属、サルモネラ属およびエシェリキア・コリのようなグラム陰性病原体による深刻な感染の治療に関して、非感染性の新規な種類として、この主要な医療問題に貢献するものである。本願明細書に開示され、請求の範囲に要求された本発明概念（群）にはしたがって、実施形態として細菌感染症の治療おいて抗生物質の効果を高めるための方法を含むものである。この方法では、抗生物質および本願明細書に開示されたペプチド化合物が投与され、そこにおいて抗生物質は、(i)当該抗生物質のみで投与された場合には細菌に対して最適以下または有効ではないが、(ii)ペプチド化合物との組み合わせで投与した場合には細菌に対して有効である、投与量で投与される。
【誤訳訂正１９】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３１
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３１】
本治療的方法は、少なくとも１つの実施形態において、本明細書に開示されたペプチド化合物（例えば、BCC02-5RMP（配列番号22））を、治療抗生物質の標準的な効果を強化（増

強）するために用いるものであり、耐性菌に対しては最適値以下ないし効果がないと以前に考えられていたような投与量で、これら抗生物質を耐性菌に対して効果的なものとするものである。これらの発見は、もし現存する抗生物質が低い投与量（最適以下ないし<MIC）で用いられることができればこれらはより毒性となる可能性が低くなり、また、現存する抗生物質が低い投与量（最適以下ないし<MIC）でかつ本願明細書に開示された本発明概念群のペプチド化合物と組み合わせにおいて投与された際には、これらの抗生物質の低い投与量がそれのみで投与された場合と比較して、細菌がこれらの抗生物質に対して耐性を獲得しにくいという理由から、重要なものである。したがって、本願明細書に開示され、請求の範囲に要求された本発明概念（群）のペプチド化合物との組み合わせでの抗生物質の投与は、臨床設定で使用できる抗生物質の時間の長さを延長する可能性が高いものである。

【誤訳訂正２０】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３２】
前述のとおりこれらの所見の重要性は、BCC02-5RMP（配列番号　22)のような、しかしながらこれに限定されない、本願明細書に開示され、請求の範囲に要求されたペプチド化合物（群）は、抗生物質治療の標準の効果を、これらがより低用量（最適以下ないし<MIC）で使用されることができ、そして抗生物質へ耐性となっていた生物に対してこれらの活性を取り戻すように、増強することができる。つまり、生物が抗生物質への耐性ゆえに、一度生物に対して有効でないと考えられていた抗生物質に、生物が再感作されることができる。

【誤訳訂正２１】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３３】
この結果を支持するデータは図３０～３２の通りです。レボフロキサシンとシプロフロキサシン耐性で、セフォタキシムに中間感度を有する緑膿菌臨床分離株が選ばれた。ペプチドおよび抗生物質は、3:1、1:1、1:3 の 抗生物質： ペプチドのMIC等価物の出発比率でマイクロタイタープレートのウェルの中にセットアップされた。これらは抗生物質およびペプチドの最適以下/致死以下のレベルを下回る濃度まで連続希釈された。生物（1 x 10^5 CFU/ウェル）が追加され、 BIOSCREEN C（商品名）アッセイ（グロース　システムス　ユーエスエイ、ニュージーランド州ピスカタウェイ[Growth Systems USA, Piscataway, NJ)を行って、データを 24 時間にわたって収集した。この生物はシプロフロキサシン（8.4 μ g/ml の MIC)、レボフロキサシン（15g/μ g/ml の MIC）およびセフォタキシム（15 μ g/ml の MIC)に耐性であったが、当該緑膿菌分離株をペプチド添加により最適以下/致死以下の投与量でこれらの抗生物質のそれぞれに感受性とすることが可能であった。

【誤訳訂正２２】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３４
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３４】
たとえば、図 ３０Ａは、 2.81 μg/ml の致死以下濃度でセフォタキシムの存在下での生物の成長/生存率曲線、および2.81μg/mlのセフォタキシムと 0.34、1.01、3.04 μg/m

l のペプチドとの併用での成長曲線を示すものである。3.15 μg/ml でペプチド独自の存在下での生物の成長が表示される。ペプチドと抗生物質の不在での緑膿菌の成長がまた示される。成長曲線ならびに小数領域 (FA) (図３０Ｂ) を示しているヒストグラムに見られるように、2.81μg/mlのセフォタキシムの添加は生物において殺菌性の効果ほとんど与えなかった。これは抗生物質の存在下での成功が比較対照の成長曲線と非常に似たものであるゆえである。、0.34 と lμg/ml のペプチドBCC02-5RMP (配列番号 22)の添加は、抗生物質の殺菌作用に及ぼす統計的影響がなかった。ただし、ペプチドの 3.04 μg/ml 添加においては、セフォタキシムに中間感度をもつ菌が今や感受性のものとなったことが明らかだった (P = 0.0143、 対になっていない t 検定による)。これは、CAP37 に基づくペプチドの化合物は、標準的な抗生物質との組み合わせで使用された場合、標準的な抗生物質治療上の線量が下げられ、耐性菌を治療に感受性とすることができることを示しています。

【誤訳訂正２３】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３５
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３５】
この効果が、別のクラスからの抗生物質でも見られるかどうかを確立するために、シプロフロキサシン（図３１Ａ～Ｂ）とレボフロキサシン（図３２Ａ～Ｂ）でのこれらの研究を行うことが選ばれた。シプロフロキサシンの 2.1 μg/ml にペプチド4.05 μg/ml の添加は顕著に殺害 (P = 0.0003、対になっていないt検定による)に影響を及ぼした。つまり、本明細書に記載の方法は8.4 μg/ml から 2.1 μg/ml (図３１Ａ～Ｂ) にMICを低減することができた。同様に、本明細書に記載の方法はペプチド3.04 μg/ml の存在下で15 μg/mlから 3.04 μg/ml にレボフロキサシンの MIC を削減できた。