

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2004年7月1日 (01.07.2004)

PCT

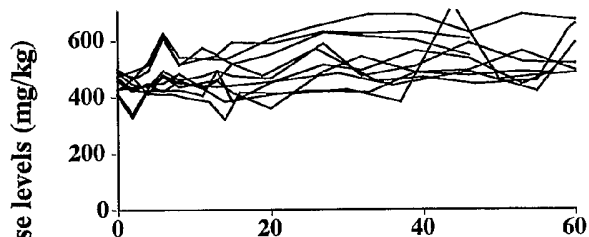
(10) 国際公開番号  
WO 2004/054618 A1

- (51) 国際特許分類<sup>7</sup>: A61K 45/00, 39/395, 48/00, A61P 3/10 (72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 安波 洋一 (YASUNAMI, Yohichi) [JP/JP]; 〒813-0014 福岡県福岡市東区香椎台3丁目18-21 Fukuoka (JP). 谷口 克 (TANIGUCHI, Masaru) [JP/JP]; 〒263-0043 千葉県千葉市稲毛区小仲台3丁目17-12 Chiba (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/007986
- (22) 国際出願日: 2003年6月24日 (24.06.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (74) 代理人: 矢口 太郎 (YAGUCHI, Taro); 〒107-0062 東京都港区南青山2-13-7 マトリス4F 大森・矢口国際特許事務所 Tokyo (JP).
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 60-434,467 2002年12月18日 (18.12.2002) US (81) 指定国 (国内): CA, JP, US.
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本町4丁目1番8号 Saitama (JP).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

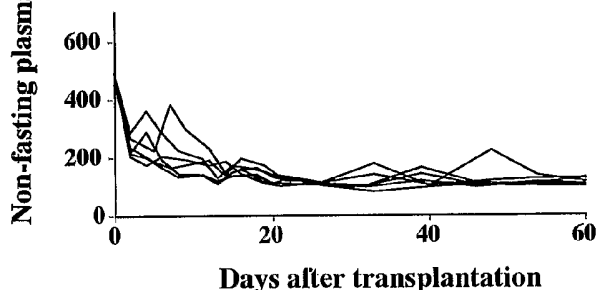
(54) Title: DRUGS FOR INHIBITING REJECTION REACTION IN TISSUE TRANSPLANTED INTO MAMMALIAN TISSUE AND METHOD OF TREATING DIABETES USING THE SAME

(54) 発明の名称: 哺乳動物に移植された組織の移植拒絶を阻害するための薬剤、及びそれらを使用した糖尿病の治療方法

(a)  
200 islets



(b)  
400 islets



(57) Abstract: It is intended to provide a drug whereby a rejection reaction in tissue transplantation into a recipient can be regulated and a therapeutic method. To achieve the above objects, this drug, which aims at inhibiting a rejection reaction in a tissue transplanted into a mammal, is characterized by containing an ingredient in a dose efficacious in controlling the effect of natural killer cells in the mammal after the transplantation.

[ 続葉有 ]

WO 2004/054618 A1



---

(57) 要約: この発明は、上記の事情に鑑みて成されたものであり、その目的は、レシピエントへの組織移植後の拒絶反応を抑制できる薬剤及び治療方法を提供することにある。この目的を達成するため、この薬剤は、哺乳動物に移植された組織の移植拒絶を阻害するための薬剤であって、前記移植後の哺乳動物内でのナチュラルキラーT細胞の作用を制御するのに有効な量の成分を含有するものであることを特徴とする。

## 明細書

哺乳動物に移植された組織の移植拒絶を阻害するための薬剤、及びそれらを使用した糖尿病の治療方法

5

## 技術分野

この発明は、レシピエントへの組織移植後の拒絶反応を抑制できる薬剤及び治療方法に関し、さらに詳しくは、糖尿病の治療において、膵島移植後に発生するグラフト障害を抑制できる薬剤及び治療方法に関するものである。

10

## 背景技術

近年、欧米に於いて糖尿病の治療手段として膵ランゲルハンス氏島（膵島）移植の臨床応用が開始された。インスリン投与による治療ではなくインスリン産生細胞を移植しようとする試みである。臨床膵島移植の実際の手技は局所麻酔下、超音波ガイド下経皮経肝的に門脈を穿刺しカテーテルを留置、同部よりドナー膵島を肝内に移植する。膵島グラフトは門脈末端に生着、インスリンを分泌し血糖値を調節する。膵島移植が成功した場合糖尿病レシピエントは正常血糖となりインスリン治療が不要となる。しかしながら現在までに臨床膵島移植の成功例は限定され、しかも一人のレシピエントに対し2  
15 ー3人の膵臓より単離された膵島が移植されているのが現状である。すなわち、移植直後膵島機能障害が発現し、グラフト生着率が低下、一人から一人への移植では十分ではなく2ー3人のドナーから一人への移植が行われている。一説には移植グラフトの20ー30%のみしか生着しないといわれている。この機能障害の詳細は未解明で臨床膵島移植の成績向上にとっては極めて重要な課題となっている。この問題が解決しグラフト生着率を改善する方法が見出されれば一人のドナーから一人のレシピエントへ、更には一人から  
25 二人以上への膵島移植が実現する可能性がある。

この発明は、上記の事情に鑑みて成されたものであり、その目的は、レシ

ピエントへの組織移植後の拒絶反応を抑制できる薬剤及び治療方法を提供することにある。

さらに詳しくは、糖尿病の治療において、膵島移植後に発生するグラフト障害の原因を明らかにし、それを抑制できる薬剤及び治療方法を提供することにある。

#### 発明の開示

上記課題を解決するべく、本発明の発明者らは膵島移植後のグラフト障害にナチュラルキラーT（NK T）細胞が重要な役割を演じているのではないかと仮説を立て、NK T細胞欠損マウスを膵島移植のレシピエントに使用し実験を進めた。その結果、NK T細胞が移植後の膵島グラフト障害に必須の役割を演じていることを見出した。さらにその効果はインターフェロナー

γを介して発現していることが明らかとなった。

本発明の第1の主要な観点によれば、哺乳動物に移植された組織の移植拒絶を阻害するための薬剤であって、前記移植後の哺乳動物内でのナチュラルキラーT細胞の作用を制御するのに有効な量の成分を含有することを特徴とする薬剤が提供される。

この発明の一実施形態によれば、前記製剤は、哺乳動物に移植後の膵島のグラフト障害を防止するための糖尿病治療用薬剤である。

この発明の別の実施形態によれば、前記成分は、前記移植後にナチュラルキラーT細胞から分泌されるインターフェロナーγの作用を制御するのに有効な量の抗インターフェロナーγ抗体である。前記哺乳動物がヒトの場合、前記抗インターフェロナーγ抗体はヒトリコンビナント抗体であることが好ましい。

また、この発明の第2の側面によれば、哺乳動物に移植された組織の移植拒絶を阻害するための薬剤の開発方法であって、前記薬剤は前記移植後の哺乳動物内でのナチュラルキラーT細胞の作用を制御する成分を含むものであり、前記哺乳動物に移植された組織の移植拒絶を阻害するのに有効な前記成

分の投与量、形態及び方法を決定する工程を含むことを特徴とする方法が提供される。

この発明の一の実施形態によれば、前記組織は膵島であり、前記工程は、  
(a) 前記膵島を哺乳動物内に移植する工程と、(b) 移植後の膵島のグラ  
5 フト障害を阻害するのに有効な量の抗インターフェロン $\gamma$ 抗体を前記有効  
成分として含む薬剤を用意する工程と、(c) 前記薬剤を所定の周期で前記  
哺乳動物に投与してモニターする工程とを含む。

この発明の別の一の実施形態によれば、前記成分は、前記移植後にナチュラルキラーT細胞から分泌されるインターフェロン $\gamma$ の作用を制御するの  
10 に有効な量の抗インターフェロン $\gamma$ 抗体である。前記哺乳動物がヒトの場合、前記抗インターフェロン $\gamma$ 抗体はヒトリコンビナント抗体であることが好ましい。

この発明の第3の主要な観点によれば、哺乳動物に移植された膵島のグラ  
フト障害を阻害するのに有効な方法であって、(a) 組織を哺乳動物内に移  
15 植する工程と、(b) 移植後の哺乳動物内でのナチュラルキラーT細胞の作用を制御するのに有効な量の成分を含有する薬剤を用意する工程と、(c)  
前記哺乳動物に治療上有効な量の前記薬剤を投与する工程とを含む方法が提供される。

この発明の一実施形態によれば、この方法は糖尿病の治療方法であり、前  
20 記薬剤は、移植後の膵島のグラフト障害を阻害するのに有効な量の抗インターフェロン $\gamma$ 抗体を有効成分として含む薬剤である。また、前記哺乳動物がヒトの場合、前記抗インターフェロン $\gamma$ 抗体はヒトリコンビナント抗体である。前記薬剤の1回目の投与は、移植直後であることが好ましい。前記薬剤の投与は、経口投与、腹腔内投与又は静脈内投与であることが望ましい  
25 。

この発明のその他の側面、特徴及び効果は、以下に説明する本発明の実施形態及び添付図面から当業者に明らかである。

## 図面の簡単な説明

図1は、単離膵島の移植を受けたストレプトゾトシン糖尿病マウスの血糖値の推移（本発明による治療なし）を示すものであり、図1 aは200個の膵島を肝内に移植した場合、図1 bは400個の膵島を肝内に移植した場合の例である。

図2は、200個の単離膵島の移植を受けたSTZ糖尿病マウスの血糖値の推移を示すものである。図2 aは比較例として示した図1 aのグラフを示した。図2 bは200個の単離膵島の移植を受けたSTZ糖尿病NKT欠損マウスの血糖値の推移を示した。図2 cは200個の単離膵島の移植を受けたSTZ糖尿病野生型マウスに抗インターフェロン- $\gamma$ 抗体を投与した場合の血糖値の推移を示すもの、図2 dは対照抗体（rat IgG1k）を投与した場合の血糖値の推移を示した。

図3は、単離膵島の移植を受けたSTZ糖尿病NKT細胞欠損マウスの血糖値の推移を示すものであり、図3 a及び図3 bは比較例として示したもので、それぞれ図2 a及び図2 bと同じグラフ、図3 cは膵島肝内移植と同時に野生型マウスの肝単核球（ $5 \times 10^6$ ）を移入した場合、図3 dは、STZ糖尿病NKT細胞欠損マウスの肝単核球（ $5 \times 10^6$ ）を移入した場合、図3 eは、インターフェロン- $\gamma$ 欠損マウスの肝単核球（ $5 \times 10^6$ ）を移入した場合の例である。

20

## 発明を実施するための最良の形態

以下、この発明の実施の形態につき図面を参照して説明する。

この発明は、膵島移植後のグラフト障害におけるNKT細胞の役割の検証をヒトと解剖学的構造上及び生理学上類似する哺乳類モデルで検証することにより、前記グラフト障害の抑制におけるNKT細胞を制御する薬剤の適用性を見出したものである。

インスリン依存糖尿病の成因は血糖降下ホルモンであるインスリン産生細胞（膵島 $\beta$ 細胞）が免疫学的機序により選択的に破壊されることによるもの

で、その結果発症後に高血糖となり、さまざまな障害を招来することが知られている。従来までの治療法は不足するインスリン製剤を投与（注射）し、高血糖を是正しようとするものであった。しかし、インスリンによる治療では厳密な血糖管理は困難で時に結果的に過剰投与になり、生命に危険な低血糖となることがある。また、糖尿病では発症後に糖尿病血管合併症（網膜症、腎症、神経症など）が進展し、従来の治療法（インスリン注射を含め）ではその進展を阻止できず、治療上重要な課題になっている。生理的には主として膵島β細胞による調節機構により血糖は制御されるが、インスリン依存糖尿病ではその欠落により血糖値の乱高下を招き、上記臨床症状の原因となる。

本発明に係る膵島移植はインスリン依存糖尿病の治療としてインスリン投与ではなく、血糖制御機能を有するインスリン産生細胞を移植するもので、移植が成功すると低血糖発作が消失し、インスリン注射が不要になり、血管合併症の改善が期待できる治療法である。1990年に臨床応用が開始され、一定程度の成果が得られている。現在の最も重要な課題は一人の移植を成功させるために2-3人分のドナー膵臓を必要とすることである。すなわち一人のドナー膵臓より単離した膵島の移植のみでは成功が得られていない。言い換えれば如何に少ないドナー膵島で移植を成功させられかということになる。この問題の解決策を見出せば、一人のドナーより一人、更には二人以上へのレシピエントへの膵島移植が実施できるようになり、画期的な発明となる。

本発明者らは膵島移植のこの問題の解決策として移植後膵島グラフト障害に着目、そのメカニズムを明らかにし、本発明の制御法を見出した。本発明のポイントはナチュラルキラーT（NK T）細胞が（肝臓内）移植後膵島グラフト障害の主因であるという知見であり、そのことをNK T細胞欠損マウスを用いた実験で明らかにした。今回のデータはマウスで得られているが、ヒトNK T細胞の性状はインターフェロン分泌能を含めマウスと同様であることが判明しており、膵島グラフト障害に対する抗インターフェロン-γの

効果も同様であると考えられる。マウスでは抗マウス抗体、ヒトではヒトリコンビナント抗体を使用するのが妥当である。

下記の実施例によれば、糖尿病NK T細胞欠損マウスへの膵島移植ではレシピエントの移植後血糖値は正常になるが糖尿病の野生型マウスへの移植では血糖は是正されない。NK T細胞欠損マウスへの膵島移植時に野生型またはNK T細胞欠損マウスの肝臓単核球を肝臓内に移入すると後者でのみ移植後高血糖は是正された。またインターフェロン $\gamma$ 欠損マウスの肝単核球の移入ではNK T細胞欠損マウスと同様の結果が得られた。野生型肝単核球はNK T細胞を豊富に含有する。これらの知見はNK T細胞がグラフト障害に必須の役割を担っていることを示している。更にNK T細胞は活性化されるとインターフェロン $\gamma$ を分泌することが知られているが、NK T細胞による膵島グラフト障害はNK T細胞より分泌されるインターフェロン $\gamma$ を介した作用であることが判明した。この知見は抗インターフェロン $\gamma$ 抗体の投与により移植後膵島グラフト障害が制御できることを示した下記の実施形態のデータから明らかである。

すなわち、本発明の主題は、移植後膵島グラフト障害を抑制するために、移植後にNK T細胞を制御するものであり、本実施形態では、NK T細胞から分泌されたインターフェロン $\gamma$ の作用を制御するために抗インターフェロン $\gamma$ 抗体を含む薬剤を投与している。しかし、インターフェロン $\gamma$ に限定されるものではなく、NK T細胞を介して作用を発現するものはすべて対象になると考えられる。

#### 実施例

既に知られているように、ストレプトゾトシン糖尿病マウスの高血糖を正常化するには一定以上の膵島、例えば400個の膵島移植が必要である。図1はこのことを示したグラフである。

ここでは、雄性C57BL/6マウス(22-25g)にストレプトゾトシン(STZ、180mg/kg)を静注し糖尿病状態とした。その3-5日後、同系C57BL/6マウス(25-30g)の単離膵島を糖尿病マウ



5 スの経門脈的肝内に移植した。膵島はドナー膵臓よりコラゲナーゼ法により単離した。移植前後週3回無麻酔下に眼窩静脈叢より採血しグルコースアナライザー（ベックマン）にて非空腹時血糖を測定した。又移植後60日目にレシピエントに糖負荷試験（腹腔内グルコース0.5g/kg投与）を施行した。

ドナー膵島数が400個の場合、図1に示すように、移植後にレシピエントの血糖値は10日以内に全て（n=5）正常血糖（200mg/dl以下）となった。

10 一方、ドナー膵島数が200個の場合、全てのマウス（n=10）は移植後60日以上高血糖（400mg/dl以上）で推移した。すなわち、ドナー膵島200個の移植で生着する膵島グラフトでは高血糖を是正出来ないことが分かる。

これに対して、STZ糖尿病NK T細胞欠損マウスでは200個のドナー膵島で移植後に血糖値は正常化する。図2a～図2bはこの実験結果を示したものである。

15 ここでは、上記と同様の実験をNK T細胞欠損マウス（C57BL/6 Background J $\alpha$ 281-/-）をレシピエントに用いて行い、NK T細胞の役割を検討した。200個の膵島をSTZ糖尿病NK T細胞欠損マウスの肝内に移植した。これによれば、図2bに示すように、全てのレシピエント（n=5）は移植後7日以内に正常血糖となった。すなわち、NK T細胞の非存在下では移植後の膵島生着率が有意に改善することが明らかになった。

なお、図2aは、図1で示したストレプトゾトシン糖尿病野生型マウスの実験結果であり、本発明の実施例との比較のために提示したものである。

25 以上の知見はNK T細胞が肝内移植膵島グラフト非特異的障害に必須の役割を果たしていることを示している。

次に、抗インターフェロン $\gamma$ 抗体投与により200個の膵島でSTZ糖尿病野生型マウスの血糖値は移植後正常化することを示す。

NK T細胞は活性化すると大量のインターフェロン $\gamma$  (INF $\gamma$ ) を分泌する事が知られている。従って上記で示されたNK T細胞欠損マウスに於ける膵島グラフトの生着率改善効果にINF $\gamma$ が関与しているかどうかを明らかにするために抗INF $\gamma$ 抗体を移植時にレシピエントに投与して  
5 同様の実験を行なった。ここでは、抗INF $\gamma$ 抗体は、eBioscience社製 (Catalog Number16-7312) (clone R4-6A2) を使用した。

図2cに示すように、200個の膵島を移植し抗INF $\gamma$ 抗体(100  $\mu$ g)を1日1回、計3回(day 0、2、4)腹腔内投与した野生型STZ糖尿病マウスの血糖値は4/5が移植後正常化した。また図2dに示す  
10 ように、対照抗体(rat IgG1k)を投与したマウス(n=4)ではドナー膵島200個の移植では血糖値は移植後正常化せず高血糖で推移した。

図3a~dは、別の実験例を示したものである。

まず、図3a及び図3bは、上記図2a及び図2bと同じ実験結果であり、比較のために示したものである。これより、すなわち、NK T細胞の非存在下では移植後の膵島生着率が有意に改善することが明らかである。  
15

図3cは、STZ糖尿病NK T細胞欠損マウス(C57BL/6 Background J $\alpha$ 281-/-)に200個の膵島を肝内に移植し、野生型マウスの肝単核球( $5 \times 10^6$ )を移植時に肝内に移入した例である。細胞移入された糖尿病NK T細胞欠損マウス(n=3)の血糖は移植後正常  
20 化せず高血糖で推移した。

また、図3dは、STZ糖尿病NK T細胞欠損マウスに200個の膵島を肝内に移植し、STZ糖尿病NK T細胞欠損マウスの肝単核球( $5 \times 10^6$ )を移植時に肝内に移入した例、図3eはインターフェロン $\gamma$ 欠損マウスの肝単核球( $5 \times 10^6$ )を移植時に肝内に移入した例である。いずれも、  
25 細胞移入された糖尿病NK T細胞欠損マウス(n=3)の血糖は移植後正常化した。

以上の知見はNK T細胞から分泌されるインターフェロン $\gamma$ が肝内移植膵島グラフトに発現する非特異的障害に必須の役割を果たしていることを示

している。

## 請求の範囲

1. 哺乳動物に移植された組織の移植拒絶を阻害するための薬剤であって、前記移植後の哺乳動物内でのナチュラルキラーT細胞の作用を制御するのに有効な量の成分を含有することを特徴とする薬剤。
- 5 2. 請求項1記載の薬剤において、  
前記薬剤は、哺乳動物に移植後の脾島のグラフト障害を防止するための糖尿病治療用薬剤であることを特徴とする薬剤。
3. 請求項1記載の薬剤において、  
10 前記成分は、前記移植後にナチュラルキラーT細胞から分泌されるインターフェロン $\gamma$ の作用を制御するのに有効な量の抗インターフェロン $\gamma$ 抗体であることを特徴とする薬剤。
4. 請求項3記載の薬剤において、  
前記哺乳動物がヒトの場合、前記抗インターフェロン $\gamma$ 抗体はヒトリコンビナント抗体であることを特徴とする薬剤。
- 15 5. 哺乳動物に移植された組織の移植拒絶を阻害するための薬剤の開発方法であって、  
前記薬剤は前記移植後の哺乳動物内でのナチュラルキラーT細胞の作用を制御する成分を含むものであり、  
前記哺乳動物に移植された組織の移植拒絶を阻害するのに有効な前記成分  
20 の投与量、形態及び方法を決定する工程  
を含むことを特徴とする方法。
6. 請求項5記載の方法において、  
前記組織は脾島であり、  
前記工程は、  
25 (a) 前記脾島を哺乳動物内に移植する工程と、  
(b) 移植後の脾島のグラフト障害を阻害するのに有効な量の抗インターフェロン $\gamma$ 抗体を前記有効成分として含む薬剤を用意する工程と、  
(c) 前記薬剤を所定の周期で前記哺乳動物に投与してモニターする工程

と

を含むことを特徴とする方法。

7. 請求項 5 記載の方法において、

5 前記成分は、前記移植後にナチュラルキラー T 細胞から分泌されるインターフェロン- $\gamma$  の作用を制御するのに有効な量の抗インターフェロン- $\gamma$  抗体であることを特徴とする方法。

8. 請求項 7 記載の方法において、

前記哺乳動物がヒトの場合、前記抗インターフェロン- $\gamma$  抗体はヒトリコンビナント抗体であることを特徴とする方法。

10 9. 哺乳動物に移植された膵島のグラフト障害を阻害するのに有効な方法であって、

(a) 組織を哺乳動物内に移植する工程と、

(b) 移植後の哺乳動物内でのナチュラルキラー T 細胞の作用を制御するのに有効な量の成分を含有する薬剤を用意する工程と、

15 (c) 前記哺乳動物に治療上有効な量の前記薬剤を投与する工程とを含む方法。

10. 請求項 9 記載の方法において、

この方法は糖尿病の治療方法であり、

20 前記薬剤は、移植後の膵島のグラフト障害を阻害するのに有効な量の抗インターフェロン- $\gamma$  抗体を有効成分として含む薬剤であることを特徴とする方法。

11. 請求項 10 記載の方法において、

前記哺乳動物がヒトの場合、前記抗インターフェロン- $\gamma$  抗体はヒトリコンビナント抗体であることを特徴とする方法。

25 12. 請求項 9 記載の方法において、

前記薬剤の 1 回目の投与は、移植直後であることを特徴とする方法。

13. 請求項 10 記載の方法において、

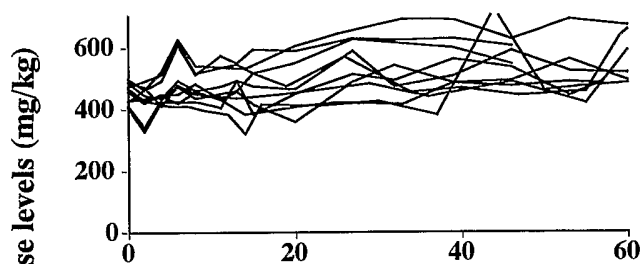
前記薬剤の投与は、経口投与、腹腔内投与又は静脈内投与であることを特

徴とする方法。

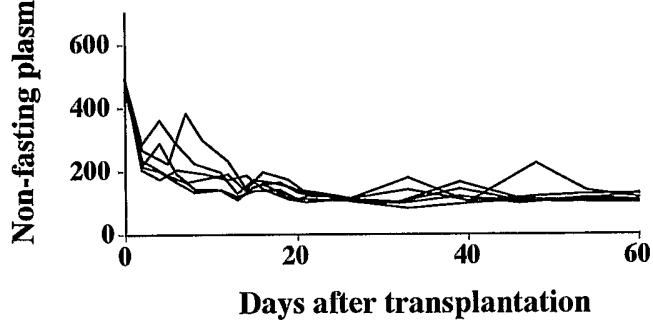
1/3

☒ 1

**(a)**  
**200 islets**



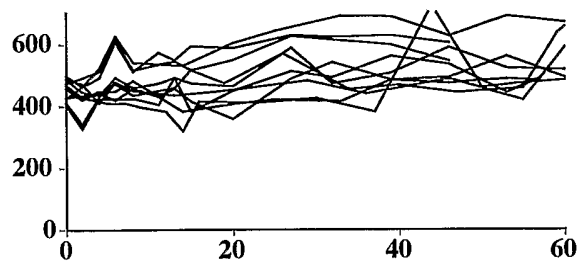
**(b)**  
**400 islets**



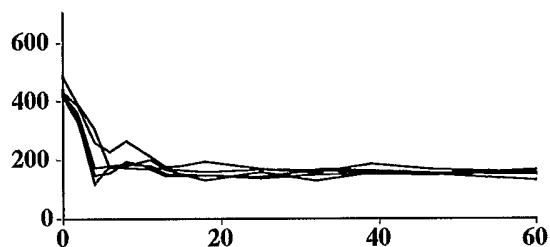
2/3

☒ 2

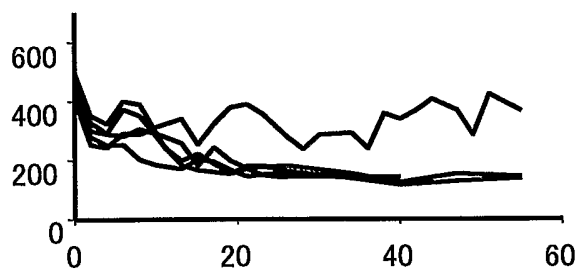
(a)  
200 pv  
Wild-type  
No treatment



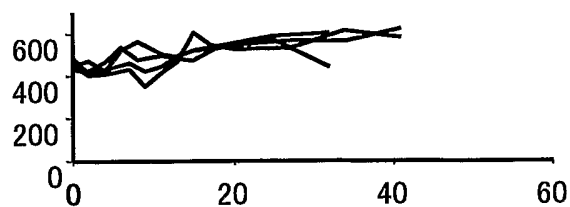
(b)  
200 pv  
Jα281-/-  
No treatment



(c)  
200 pv  
Wild-type  
Anti-INF-γ- antibody



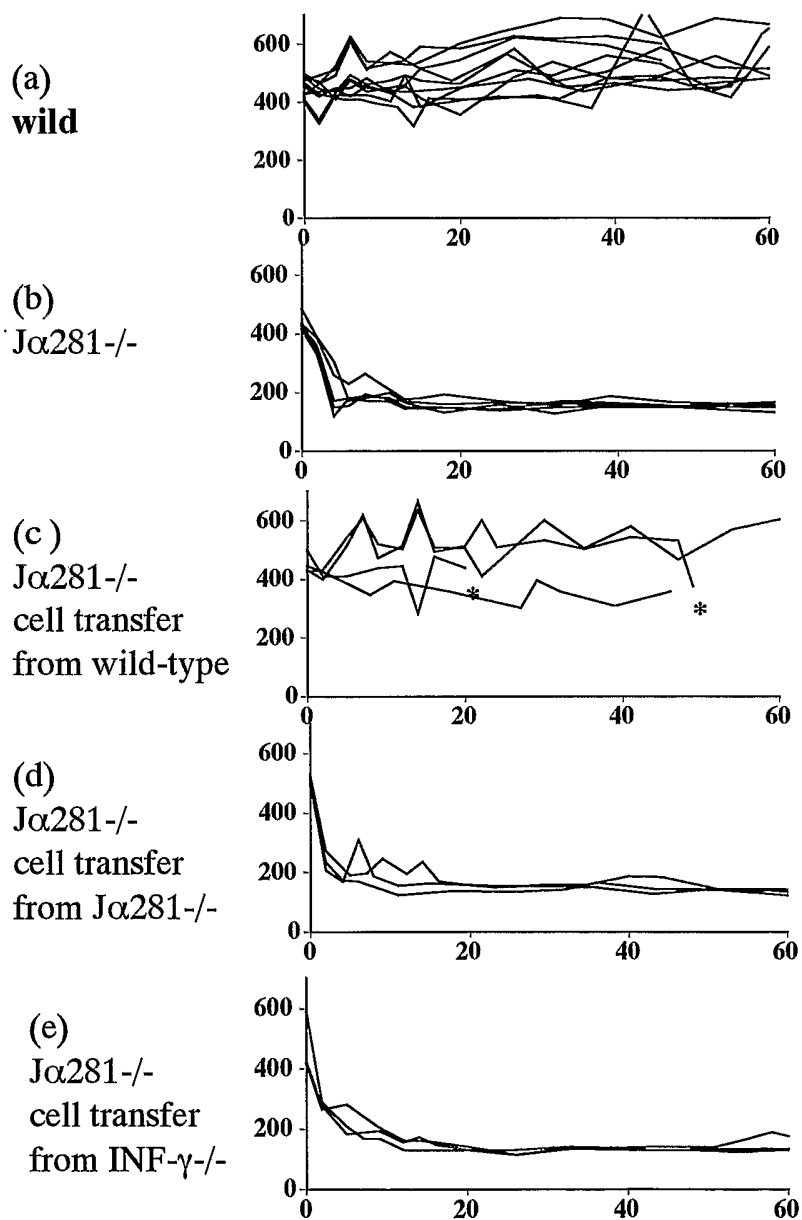
(d)  
200 pv  
Wild-type  
control antibody





3/3

図 3



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP03/07986

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 Int.Cl<sup>7</sup> A61K45/00, 39/395, 48/00, A61P3/10

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)  
 Int.Cl<sup>7</sup> A61K45/00, 39/395, 48/00, A61P3/10

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
 CA (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JEAN-CLAUDE CAREL et al., Transforming growth factor $\beta$ decreases the immunogenicity of rat islet xenografts (rat to mouse) and prevents rejection in association with treatment of the recipient with a monoclonal antibody to interferon $\gamma$ , Proc.Natl.Acad.Sci.USA, Vol.87, 1990, pages 1591 to 1595	1-4
A	Yasuto IKEHARA et al., CD4 <sup>+</sup> V $\alpha$ 14 natural killer T cells are essential for acceptance of rat islet xenografts in mice, J.Clin.Invest., Vol.105, 2000, pages 1761 to 1767	1-4

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

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 01 September, 2003 (01.09.03)	Date of mailing of the international search report 16 September, 2003 (16.09.03)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP03/07986

**Box I 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.: 5-13

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 5 to 13 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

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 II 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.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))				
Int. Cl <sup>7</sup> A61K 45/00, 39/395, 48/00, A61P 3/10				
B. 調査を行った分野				
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))				
Int. Cl <sup>7</sup> A61K 45/00, 39/395, 48/00, A61P 3/10				
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの				
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)				
CA (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN)				
C. 関連すると認められる文献				
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号		
X	JEAN-CLAUDE CAREL et al., Transforming growth factor $\beta$ decreases the immunogenicity of rat islet xenografts (rat to mouse) and prevents rejection in association with treatment of the recipient with a monoclonal antibody to interferon $\gamma$ , Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol.87,1990, p.1591-1595	1-4		
A	Yasuto Ikehara et al., CD4 <sup>+</sup> V $\alpha$ 14 natural killer T cells are essential for acceptance of rat islet xenografts in mice, J.Clin. Invest., Vol.105, 2000, p.1761-1767	1-4		
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。				
* 引用文献のカテゴリー				
「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日	01.09.03	国際調査報告の発送日		
		16.09.03		
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 八原 由美子	 <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">4C</td> <td style="padding: 2px;">9261</td> </tr> </table>	4C	9261
4C	9261			
	電話番号 03-3581-1101	内線 3451		

## 第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求の範囲 5-13 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲5-13は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。