

(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2017-535511

(P2017-535511A)

(43) 公表日 平成29年11月30日(2017.11.30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 35/741 (2015.01)	A 6 1 K 35/741	4 B 0 1 8
C 1 2 N 1/20 (2006.01)	C 1 2 N 1/20 Z N A A	4 B 0 6 5
A 2 3 L 33/135 (2016.01)	C 1 2 N 1/20 A	4 C 0 7 6
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 2 3 L 33/135	4 C 0 8 5
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	4 C 0 8 7

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 84 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-501394 (P2017-501394)
 (86) (22) 出願日 平成28年6月15日 (2016. 6. 15)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年3月23日 (2017. 3. 23)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2016/051770
 (87) 国際公開番号 W02016/203218
 (87) 国際公開日 平成28年12月22日 (2016. 12. 22)
 (31) 優先権主張番号 1510466.4
 (32) 優先日 平成27年6月15日 (2015. 6. 15)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)
 (31) 優先権主張番号 1520508.1
 (32) 優先日 平成27年11月20日 (2015. 11. 20)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)
 (31) 優先権主張番号 1606810.8
 (32) 優先日 平成28年4月19日 (2016. 4. 19)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

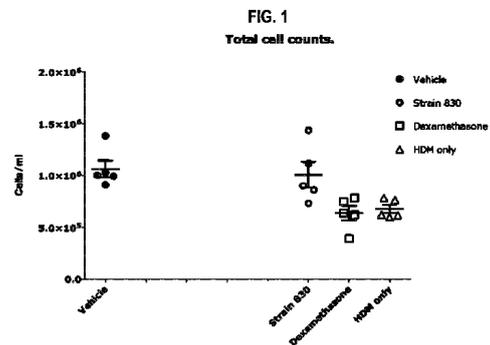
(71) 出願人 514079985
 フォーディー ファーマ リサーチ リミテッド
 4 D PHARMA RESEARCH LIMITED
 イギリス国 エイベー25 2ゼットエス
 アバディーン コーンヒルロード ライフサイエンス イノベーションビルディング
 (74) 代理人 100107984
 弁理士 廣田 雅紀
 (74) 代理人 100102255
 弁理士 小澤 誠次
 (74) 代理人 100096482
 弁理士 東海 裕作

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細菌株を含む組成物

(57) 【要約】

本発明は、炎症性疾患及び自己免疫疾患を治療及び予防するための細菌株を含む組成物を提供する。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

IL-17 又は Th17 経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア属の細菌株を含む組成物。

【請求項 2】

アレルギー性喘息又は好中球性喘息などの喘息；関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、又は若年性特発性関節炎などの関節炎；多発性硬化症；視神経脊髄炎（デビック病）；強直性脊椎炎；脊椎関節炎；乾癬；全身性紅斑性狼瘡；クローン病又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患；セリアック病；慢性閉塞性肺疾患（COPD）；乳がん、結腸がん、肺がん、又は卵巣がんなどのがん；ブドウ膜炎；強膜炎；血管炎；ベーチェット病；アテローム性動脈硬化症；アトピー性皮膚炎；肺気腫；歯周炎；アレルギー性鼻炎；及び同種異系移植片拒絶からなる群から選択される疾患又は状態を治療又は予防する方法に使用するための、請求項 1 に記載の組成物。

10

【請求項 3】

好中球性喘息又はアレルギー性喘息などの喘息を治療又は予防する方法に使用するための、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

喘息の治療において好中球増加又は好酸球増加を低減させる方法に使用するための、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 5】

関節リウマチを治療又は予防する方法に使用するための、請求項 2 に記載の組成物。

20

【請求項 6】

関節リウマチにおける関節の腫脹を低減させる方法に使用するための、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 7】

多発性硬化症を治療又は予防する方法に使用するための、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 8】

疾患の発生率又は疾患の重症度を低減させる方法に使用するための、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

ブドウ膜炎を治療又は予防する方法に使用するための、請求項 2 に記載の組成物。

30

【請求項 10】

ブドウ膜炎における網膜損傷を低減又は予防する方法に使用するための、請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 11】

肺がん、乳がん、又は肝臓がんなどのがんを治療又は予防する方法に使用するための、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 12】

腫瘍のサイズを低減させる、腫瘍の増殖を低減させる、転移を予防する、又は血管新生を予防する方法に使用するための、請求項 11 に記載の組成物。

40

【請求項 13】

IL-17 又は Th17 経路によって媒介される疾患又は状態の治療又は予防において、IL-17 の産生を低減させる又は Th17 細胞の分化を低減させる方法に使用するための、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 14】

IL-17 レベル又は Th17 細胞が上昇している患者に使用するための、請求項 1 ~ 13 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 15】

細菌株が、ブラウチア・ステルコリスの細菌株である、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の組成物。

50

【請求項 16】

細菌株が、ブラウチア・ウェクスレラエの細菌株である、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 17】

細菌株が、ブラウチア・ステルコリスの細菌株の 16 s rRNA 配列と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 又は 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有する、請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 18】

細菌株が、配列番号 1 又は 2 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 又は 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有する、請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載の組成物。

10

【請求項 19】

細菌株が、配列番号 2 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 又は 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有するか、又は細菌株が、配列番号 2 によって表される 16 s rRNA 配列を有する、請求項 18 に記載の組成物。

【請求項 20】

細菌株が、ブラウチア・ウェクスレラエの細菌株の 16 s rRNA 配列と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 又は 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有する、請求項 1 ~ 14 及び 16 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 21】

細菌株が、配列番号 3 又は 4 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 又は 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有する、請求項 1 ~ 14 及び 16 のいずれかに記載の組成物。

20

【請求項 22】

細菌株が、配列番号 4 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、若しくは 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有するか、又は細菌株が、配列番号 4 によって表される 16 s rRNA 配列を有する、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 23】

関節リウマチを治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

30

【請求項 24】

好中球性喘息又はアレルギー性喘息などの喘息を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 25】

多発性硬化症を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 26】

ブドウ膜炎を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

40

【請求項 27】

がんを治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 28】

関節リウマチを治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ウェクスレラエ種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 29】

好中球性喘息又はアレルギー性喘息などの喘息を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ウェクスレラエ種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 30】

50

多発性硬化症を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ウェクスレラエ種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3 1】

ブドウ膜炎を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ウェクスレラエ種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3 2】

がんを治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ウェクスレラエ種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3 3】

経口投与用である、請求項 1 ~ 3 2 のいずれかに記載の組成物。

10

【請求項 3 4】

1 又は 2 以上の薬学的に許容される賦形剤又は担体を含む、請求項 1 ~ 3 3 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 3 5】

細菌株が凍結乾燥されている、請求項 1 ~ 3 4 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 3 6】

請求項 1 ~ 1 4、及び 2 3 ~ 3 2 のいずれかに記載の使用のための、請求項 1 ~ 3 5 のいずれかに記載の組成物を含む食品。

【請求項 3 7】

請求項 1 ~ 1 4、及び 2 3 ~ 3 2 のいずれかに記載の使用のための、請求項 1 ~ 3 5 のいずれかに記載の組成物を含むワクチン組成物。

20

【請求項 3 8】

IL - 17 又は Th 17 経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防する方法であって、それを必要とする患者にブラウチア属の細菌株を含む組成物を投与することを含む、前記方法。

【請求項 3 9】

受託番号 NCIMB 42381 として寄託されたブラウチア・ステルコリス株又はその派生物の細胞。

【請求項 4 0】

請求項 3 9 に記載の細胞を含む組成物。

30

【請求項 4 1】

薬学的に許容される担体又は賦形剤を含む、請求項 4 0 に記載の組成物。

【請求項 4 2】

受託番号 NCIMB 42381 として寄託されたブラウチア・ステルコリス株又はその派生物の生物学的に純粋な培養物。

【請求項 4 3】

治療に使用するための、受託番号 NCIMB 42381 として寄託されたブラウチア・ステルコリス株又はその派生物の細胞。

【請求項 4 4】

受託番号 NCIMB 42486 として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株又はその派生物の細胞。

40

【請求項 4 5】

請求項 4 4 に記載の細胞を含む組成物。

【請求項 4 6】

薬学的に許容される担体又は賦形剤を含む、請求項 4 5 に記載の組成物。

【請求項 4 7】

受託番号 NCIMB 42486 として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株又はその派生物の生物学的に純粋な培養物。

【請求項 4 8】

治療に使用するための、受託番号 NCIMB 42486 として寄託されたブラウチア

50

・ウェクスレエ株又はその派生物の細胞。

【請求項 4 9】

請求項 1 ~ 1 4 のいずれかに規定の方法に使用するためである、請求項 4 8 に記載の細胞。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、哺乳動物の消化管から単離された細菌株を含む組成物及び疾患の治療におけるそのような組成物の使用の分野にある。

【背景技術】

【0 0 0 2】

ヒトの腸管は、子宮内では無菌的であると考えられるが、出生直後に母体及び環境のかなり多様な微生物に曝露される。その後、微生物の定着及び継承という活動的な期間が存在するが、これは出産の様式、環境、食物、及び宿主の遺伝子型などの要因によって影響を受け、その全てが特に人生の初期における腸内微生物叢の組成に影響を及ぼす。その後、微生物叢は安定化して、成人様となる (Spor et al. (2011) Nat Rev Microbiol. 9(4):279-90)。ヒト腸内微生物叢は、本質的に 2 つの主要な細菌門、すなわちバクテロイデス門 (Bacteroidetes) とフィルミクテス門 (Firmicutes) に属する 5 0 0 ~ 1 0 0 0 超の異なるファイロタイプを含有する (Eckburg et al. (2005) Science. 10;308(5728):1635-8)。ヒトの腸に細菌が定着することにより生じる共生関係の成功により、広く多様な代謝、構造、保護、及び他の有益な機能がもたらされた。細菌が定着した腸の代謝活性の増強により、そうでなければ消化されない食事成分が確実に分解されて、宿主にとって重要な栄養源を提供する副産物が放出される。同様に、腸内微生物叢の免疫学的重要性は、十分に認識されており、免疫系が損なわれているが片利共生細菌の導入後に機能的に再構成される無菌動物において例証されている (Macpherson et al. (2001) Microbes Infect. 3(12):1021-35、Macpherson et al. (2002) Cell Mol Life Sci. 59(12):2088-96、Mazmanian et al. (2005) Cell 15;122(1):107-18)。

【0 0 0 3】

消化管の障害、例えば炎症性腸疾患 (IBD, inflammatory bowel disease) では、微生物叢の組成の劇的な変化が報告されている。例えば、クロストリジウム (Clostridium) クラスター XIV a 細菌のレベルは、IBD 患者において低減されているが、大腸菌 (E. coli) の数は増加しており、腸内での共生生物と病原性生物のバランスがシフトしていることを示唆している (Frank et al. (2007) PNAS 104(34):13780-5、Scanlan et al. (2006) J Clin Microbiol. 44(11):3980-8、Kang et al. (2010) Inflamm Bowel Dis. 16(12):2034-42、Machiels et al. (2013) Gut. 63(8):1275-83)。興味深いことに、この微生物共生バランス失調は、エフェクター T 細胞集団の不均衡にも関連している。

【0 0 0 4】

特定の細菌株が動物の腸に及ぼす潜在的なプラスの効果認められて、多様な株を、多様な疾患の治療に使用することが提唱されている (例えば、国際公開第 2 0 1 3 / 0 5 0 7 9 2 号パンフレット、国際公開第 0 3 / 0 4 6 5 8 0 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 3 / 0 0 8 0 3 9 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 4 / 1 6 7 3 3 8 号パンフレットを参照されたい)。同様に、主にラクトバチルス (Lactobacillus) 及びビフィドバクテリウム (Bifidobacterium) 株を含む特定の株を、腸管に直接関連していない多様な炎症性疾患及び自己免疫疾患の治療に使用することが提唱されている (総説に関しては Goldin and Gorbach (2008) Clin Infect Dis. 46 Suppl 2:S96-100 及び Azad et al. (2013) BMJ. 347:f6471 を参照されたい)。しかし、種々の疾患と種々の細菌株との関係、並びに特定の細菌株が腸、全身レベル、及びいずれかの特定の型の疾患に及ぼす明確な効果は、あまり特徴付けられていない。

【0 0 0 5】

炎症性疾患及び自己免疫疾患を治療する新規方法が当技術分野で必要である。同様に、

10

20

30

40

50

腸内細菌を使用する新規治療を開発することができるように、腸内細菌の潜在的な効果の特徴付けることも必要である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】国際公開第2013/050792号パンフレット

【特許文献2】国際公開第03/046580号パンフレット

【特許文献3】国際公開第2013/008039号パンフレット

【特許文献4】国際公開第2014/167338号パンフレット

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Spor et al. (2011) Nat Rev Microbiol. 9(4):279-90

【非特許文献2】Eckburg et al. (2005) Science. 10;308(5728):1635-8

【非特許文献3】Macpherson et al. (2001) Microbes Infect. 3(12):1021-35

【非特許文献4】Macpherson et al. (2002) Cell Mol Life Sci. 59(12):2088-96

【非特許文献5】Mazmanian et al. (2005) Cell 15;122(1):107-18

【非特許文献6】Frank et al. (2007) PNAS 104(34):13780-5

【非特許文献7】Scanlan et al. (2006) J Clin Microbiol. 44(11):3980-8

【非特許文献8】Kang et al. (2010) Inflamm Bowel Dis. 16(12):2034-42

【非特許文献9】Machiels et al. (2013) Gut. 63(8):1275-83

【非特許文献10】Goldin and Gorbach (2008) Clin Infect Dis. 46 Suppl 2:S96-100

【非特許文献11】Azad et al. (2013) BMJ. 347:f6471

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明者らは、炎症性疾患及び自己免疫疾患を治療及び予防するための新規治療を開発した。特に、本発明者らは、IL-17又はTh17経路によって媒介される疾患及び状態を治療及び予防するための新規治療を開発した。特に、本発明者らは、ブラウチア (*Blautia*) 属の細菌株がTh17炎症応答の低減に有効でありうることを明らかにした。実施例に記述されるように、ブラウチア・ステルコリス (*Blautia stercoris*) を含む組成物の経口投与は、喘息、関節リウマチ、及び多発性硬化症のマウスモデルにおいてTh17炎症応答を含む炎症応答の重症度を低減させうる。同様に、実施例に記述されるように、ブラウチア・ウェクスラエ (*Blautia wexlerae*) を含む組成物の経口投与は、ブドウ膜炎のマウスモデルにおいてTh17炎症応答を含む炎症応答の重症度を低減させうる。したがって、本発明者らは、ブラウチア属の異なる種に由来する2つの異なる株が、炎症性疾患及び自己免疫疾患を治療するために有用でありうることを特定した。

【課題を解決するための手段】

【0009】

したがって、第1の実施形態において、本発明は、IL-17又はTh17経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防する方法に使用するためのブラウチア属の細菌株を含む組成物を提供する。本発明者らは、この属からの細菌株による治療によって、IL-17を含むTh17経路の一部であるサイトカインのレベルを低減させることができ、Th17炎症応答を軽減でき、IL-17及びTh17経路によって媒介される炎症性疾患及び自己免疫疾患のマウスモデルにおいて臨床上の利益を提供できることを特定した。

【0010】

特定の実施形態において、本発明は、多発性硬化症；関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、又は若年性特発性関節炎などの関節炎；視神経脊髄炎（デビック病）；強直性脊椎炎；脊椎関節炎；乾癬；全身性紅斑性狼瘡；クローン病又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患；セリアック病；アレルギー性喘息又は好中球性喘息などの喘息；慢性閉塞性

10

20

30

40

50

肺疾患（COPD，chronic obstructive pulmonary disease）；乳がん、結腸がん、肺がん、又は卵巣がんなどのがん；ブドウ膜炎；強膜炎；血管炎；ベーチェット病；アテローム性動脈硬化症；アトピー性皮膚炎；肺気腫；歯周炎；アレルギー性鼻炎；及び同種異系移植片拒絶からなる群から選択される疾患又は状態を治療又は予防する方法に使用するためのブラウチア属の細菌株を含む組成物を提供する。ブラウチア属の細菌株に関して示されたTh17炎症応答に及ぼす効果は、IL-17及びTh17経路によって媒介される疾患及び状態、例えば上記の疾患及び状態に対して治療上の利益を提供しうる。

【0011】

好ましい実施形態において、本発明は、好中球性喘息又はアレルギー性喘息などの喘息を治療又は予防する方法に使用するためのブラウチア属の細菌株を含む組成物を提供する。本発明者らは、ブラウチア株による治療が好中球及び好酸球の肺への動員を低減させることができ、喘息を治療又は予防するために役立つことを特定した。さらに、本発明者らは、喘息のマウスモデルにおいてブラウチア株を試験してその有効性を証明した。特定の実施形態において、組成物は、好中球性喘息又は好酸球性喘息を治療又は予防する方法に使用するためのものである。本発明の組成物に関して示された好中球及び好酸球に対する効果は、本発明の組成物が好中球性喘息及び好酸球性喘息を治療又は予防するために特に有効でありうることを意味する。実際に、特定の実施形態において、組成物は、喘息の治療若しくは予防において好中球性炎症応答を低減させる方法に使用するためのものであるか、又は組成物は、喘息の治療若しくは予防において好酸球性炎症応答を低減する方法に使用するためのものである。好ましい実施形態において、本発明は、喘息、特に好酸球性又はアレルギー性喘息の治療に使用するためのブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む組成物を提供する。同様に、ブラウチア・ステルコリスは、喘息モデルにおいて好中球に対して特に顕著な効果を有することが示されており、ブラウチア・ステルコリスによる治療は、好中球性喘息を治療するために特に有効でありうる。特定の実施形態において、本発明は、喘息、特に好酸球性又はアレルギー性喘息の治療に使用するためのブラウチア・ウェクスレラ工種の細菌株を含む組成物を提供する。

10

20

【0012】

さらに好ましい実施形態において、本発明は、関節リウマチを治療又は予防する方法に使用するためのブラウチア属の細菌株を含む組成物を提供する。本発明者らは、ブラウチア株による治療が、関節リウマチのマウスモデルにおいて臨床上の利益を提供することができ、関節の腫脹を低減させることができることを特定している。好ましい実施形態において、本発明は、関節リウマチの治療に使用するためのブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む組成物を提供する。ブラウチア・ステルコリスを使用する組成物は、関節リウマチを治療するために特に有効でありうる。特定の実施形態において、本発明は、関節リウマチの治療に使用するためのブラウチア・ウェクスレラ工種の細菌株を含む組成物を提供する。

30

【0013】

さらに好ましい実施形態において、本発明は、多発性硬化症を治療又は予防する方法に使用するためのブラウチア属の細菌株を含む組成物を提供する。本発明者らは、ブラウチア株による治療が、多発性硬化症のマウスモデルにおいて疾患の発生率及び疾患の重症度を低減させることができることを特定した。好ましい実施形態において、本発明は、多発性硬化症の治療に使用するためのブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む組成物を提供する。ブラウチア・ステルコリスを使用する組成物は、多発性硬化症を治療するために特に有用でありうる。特定の実施形態において、本発明は、多発性硬化症の治療に使用するためのブラウチア・ウェクスレラ工種の細菌株を含む組成物を提供する。

40

【0014】

さらに好ましい実施形態において、本発明は、ブドウ膜炎、例えば後部ブドウ膜炎を治療又は予防する方法に使用するためのブラウチア属の細菌株を含む組成物を提供する。本発明者らは、ブラウチア株による処置が、ブドウ膜炎のマウスモデルにおいて疾患の発生率及び疾患の重症度を低減させることができ、並びに網膜損傷を予防又は低減させ

50

ることができることを特定した。好ましい実施形態において、本発明は、ブドウ膜炎の治療に使用するためのブラウチア・ウェクスレラ工種の細菌株を含む組成物を提供する。ブラウチア・ウェクスレラ工種を使用する組成物は、ブドウ膜炎を治療するために特に有効でありうる。特定の実施形態において、本発明は、ブドウ膜炎の治療に使用するためのブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む組成物を提供する。

【0015】

さらに好ましい実施形態において、本発明は、乳がん、肺がん、又は肝臓がんなどのがんを治療又は予防する方法に使用するためのブラウチア属の細菌株を含む組成物を提供する。ブラウチア属の細菌株を含む組成物は、乳がん、肺がん、及び肝臓がんのマウスモデルにおいて腫瘍の増殖を低減させうる。特定の実施形態において、組成物は、がんの治療において腫瘍サイズを低減させる又は腫瘍の増殖を予防する方法に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明は、がんの治療に使用するためのブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む組成物を提供する。特定の実施形態において、本発明は、がんの治療に使用するためのブラウチア・ウェクスレラ工種の細菌株を含む組成物を提供する。

10

【0016】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、IL-17又はTh17経路によって媒介される疾患又は状態の治療又は予防において、IL-17の産生を低減させる又はTh17細胞の分化を低減させる方法に使用するためのものである。特に、本発明の組成物は、喘息、関節リウマチ、若しくは多発性硬化症の治療若しくは予防において、又は喘息、関節リウマチ、多発性硬化症、ブドウ膜炎、若しくはがんの治療若しくは予防において、IL-17の産生を低減させる又はTh17細胞の分化を低減させる際に使用されうる。好ましくは、本発明は、喘息、関節リウマチ、若しくは多発性硬化症の治療若しくは予防において、IL-17の産生を低減させる又はTh17細胞の分化を低減させるために使用するためのブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む組成物を提供する。本発明は、ブドウ膜炎の治療又は予防において、IL-17の産生を低減させる又はTh17細胞の分化を低減させるために使用するためのブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む組成物も提供する。本発明は、喘息、関節リウマチ又は多発性硬化症又はブドウ膜炎の治療又は予防において、IL-17の産生を低減させる又はTh17細胞の分化を低減させるために使用するためのブラウチア・ウェクスレラ工種の細菌株を含む組成物も提供する。

20

30

【0017】

特定の実施形態において、組成物は、IL-17レベル又はTh17細胞が上昇している患者に使用するためのものである。ブラウチア株に関して示されるTh17炎症応答に及ぼす効果は、そのような患者にとって特に有益でありうる。

【0018】

本発明の好ましい実施形態において、組成物中の細菌株は、ブラウチア・ステルコリスの細菌株である。近縁の株、例えばブラウチア・ステルコリスの細菌株の16S rRNA配列と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%又は99.9%同一である16S rRNA配列を有する細菌株を使用してもよい。好ましくは、細菌株は、配列番号1又は2と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%又は99.9%同一である16S rRNA配列を有する。好ましくは、上記配列同一性は配列番号2に対する同一性である。好ましくは、本発明において使用するための細菌株は、配列番号2によって表される16S rRNA配列を有する。

40

【0019】

本発明の好ましい実施形態において、組成物中の細菌株は、ブラウチア・ウェクスレラ工種の細菌株である。近縁の株、例えばブラウチア・ウェクスレラ工種の細菌株の16S rRNA配列と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%又は99.9%同一である16S rRNA配列を有する細菌株もまた使用してもよい。好ましくは、細菌株は、配列番号3又は4と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%又は99.9%同一である16S rRNA配列を有する。好ましくは、上

50

記配列同一性は配列番号4に対する同一性である。好ましくは、本発明に使用するための細菌株は、配列番号4によって表される16S rRNA配列を有する。

【0020】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、経口投与用である。本発明の株の経口投与は、IL-17又はTh17経路によって媒介される疾患及び状態を治療するために有効でありうる。同様に、経口投与は、患者及び医師にとっても都合がよく、腸管への送達及び/又は腸管での部分的又は完全な定着(colonisation)を可能にする。

【0021】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、1又は2以上の薬学的に許容される賦形剤又は担体を含む。

【0022】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、凍結乾燥されている細菌株を含む。凍結乾燥は、細菌の送達を可能にする安定な組成物を調製するために有効で都合のよい技術である。

【0023】

特定の実施形態において、本発明は、上記の組成物を含む食品を提供する。

【0024】

特定の実施形態において、本発明は、上記の組成物を含むワクチン組成物を提供する。

【0025】

さらに、本発明は、IL-17又はTh17経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防する方法であって、ブラウチア属の細菌株を含む組成物を投与することを含む方法を提供する。

【0026】

上記の本発明の開発にあたって、本発明者らは、治療にとって特に有用である細菌株を同定し特徴付けた。本発明のブラウチア・ステルコリス株は、本明細書において記述される疾患、例えば関節炎、喘息、及び多発性硬化症を治療するために有効であることが示されている。したがって、別の態様において、本発明は、受託番号NCIMB 42381として寄託されたブラウチア・ステルコリス株又はその派生物(derivative)の細胞を提供する。本発明はまた、そのような細胞又はそのような細胞の生物学的に純粋な培養物を含む組成物も提供する。本発明はまた、特に本明細書において記述される疾患の治療に使用するための受託番号NCIMB 42381として寄託されたブラウチア・ステルコリス株又はその派生物の細胞も提供する。

【0027】

上記の本発明の開発にあたって、本発明者らは、治療にとって特に有用であるさらなる細菌株を同定し特徴付けた。本発明のブラウチア・ウェクスレラエ株は、本明細書において記述される疾患、例えばブドウ膜炎を治療するために有効であることが示されている。したがって、別の態様において、本発明は、受託番号NCIMB 42486として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株又はその派生物の細胞を提供する。本発明はまた、そのような細胞又はそのような細胞の生物学的に純粋な培養物を含む組成物も提供する。本発明はまた、特に本明細書において記述される疾患の治療に使用するための受託番号NCIMB 42486として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株又はその派生物の細胞も提供する。

【図面の簡単な説明】

【0028】

【図1】チリダニによる喘息のマウスモデル - BAL液中の総細胞数を示す。

【図2】チリダニによる喘息のマウスモデル - BALF中の総好酸球数を示す。

【図3】チリダニによる喘息のマウスモデル - BALF中の好酸球の割合を示す。

【図4】チリダニによる喘息のマウスモデル - BALF中の総マクロファージ数を示す。

【図5】チリダニによる喘息のマウスモデル - BALF中のマクロファージの割合を示す。

10

20

30

40

50

- 【図6】チリダニによる喘息のマウスモデル - B A L F 中の総好中球数を示す。
- 【図7】チリダニによる喘息のマウスモデル - B A L F 中の好中球の割合を示す。
- 【図8】チリダニによる喘息のマウスモデル - B A L F 中の総リンパ球数を示す。
- 【図9】チリダニによる喘息のマウスモデル - B A L F 中のリンパ球の割合を示す。
- 【図10】重度の好中球性喘息のマウスモデル - B A L 液中の総細胞数を示す。
- 【図11】重度の好中球性喘息のマウスモデル - B A L F 中の総好酸球数を示す。
- 【図12】重度の好中球性喘息のマウスモデル - B A L F 中の好酸球の割合を示す。
- 【図13】重度の好中球性喘息のマウスモデル - B A L F 中の総マクロファージ数を示す。
- 【図14】重度の好中球性喘息のマウスモデル - B A L F 中のマクロファージの割合を示す。 10
- 【図15】重度の好中球性喘息のマウスモデル - B A L F 中の総好中球数を示す。
- 【図16】重度の好中球性喘息のマウスモデル - B A L F 中の好中球の割合を示す。
- 【図17】重度の好中球性喘息のマウスモデル - B A L F 中の総リンパ球数を示す。
- 【図18】重度の好中球性喘息のマウスモデル - B A L F 中のリンパ球の割合を示す。
- 【図19】関節リウマチのマウスモデル - - 14日 ~ 0日目の体重を示す。データは初回 (- 14日) の体重の平均値 \pm S E M パーセントとして表す。
- 【図20】関節リウマチのマウスモデル - 0日 ~ 42日目の体重を示す。データは初回 (0日) の体重の平均値 \pm S E M パーセントとして表す。媒体処置群と比較して、 p は 0 . 05 未満である。 20
- 【図21】関節リウマチのマウスモデル - 臨床スコアを示す。データは平均値 \pm S E M として表す。媒体処置群の 21日目と比較して、 * * * * p は 0 . 0001 未満である。所定の日の媒体処置群と比較して、 p は 0 . 05 未満である。
- 【図22】関節リウマチのマウスモデル - II型コラーゲンに対する脾細胞の増殖応答を示す。³H - T d R 取り込みに基づく、培地のバックグラウンドを差し引いた [CII刺激 - 培地バックグラウンド] 1分間のカウント数。データは全て、平均値 \pm S E M として表す。媒体処置群と比較して、 * p は 0 . 05 未満である。
- 【図23】関節リウマチのマウスモデル - 組織培養上清中の I F N のレベルを示す。線は、群の中央値を表す。
- 【図24】関節リウマチのマウスモデル - 組織培養上清中の I L - 17 A のレベルを示す。線は、群の中央値を表す。 30
- 【図25】関節リウマチのマウスモデル - 組織培養上清中の I L - 10 のレベルを示す。線は、群の中央値を表す。
- 【図26】関節リウマチのマウスモデル - 組織培養上清中の I L - 6 のレベルを示す。線は、群の中央値を表す。
- 【図27】チリダニによる喘息のマウスモデル - 血清中の総 I g E を示す。
- 【図28】チリダニによる喘息のマウスモデル - 血清中の H D M 特異的 I g G 1 を示す。
- 【図29】チリダニによる喘息のマウスモデル - B A L F 中の総 I g E を示す。
- 【図30】チリダニによる喘息のマウスモデル - B A L F 中の H D M 特異的 I g G 1 を示す。 40
- 【図31】チリダニによる喘息のマウスモデル - 組織学的分析 - 平均気管支周囲浸潤スコアを示す。
- 【図32】チリダニによる喘息のマウスモデル - 組織学的分析 - 平均血管周囲浸潤スコアを示す。
- 【図33】チリダニによる喘息のマウスモデル - 組織学的分析 - 平均炎症スコア (気管支周囲浸潤スコアと血管周囲浸潤スコアの両方の平均値) を示す。
- 【図34】チリダニによる喘息のマウスモデル - 組織学的分析 - 粘液スコアを示す。
- 【図35】チリダニによる喘息のマウスモデル - 肺組織中の I L - 9 レベルを示す。
- 【図36】チリダニによる喘息のマウスモデル - 肺組織中の I L - 1 a レベルを示す。
- 【図37】チリダニによる喘息のマウスモデル - 肺組織中の I F N レベルを示す。 50

- 【図38】チリダニによる喘息のマウスモデル - 肺組織中のIL-17Aレベルを示す。
- 【図39】チリダニによる喘息のマウスモデル - 肺組織中のIL-4レベルを示す。
- 【図40】チリダニによる喘息のマウスモデル - 肺組織中のIL-5レベルを示す。
- 【図41】チリダニによる喘息のマウスモデル - 肺組織中のIL-1bレベルを示す。
- 【図42】チリダニによる喘息のマウスモデル - 肺組織中のRANTESレベルを示す。
- 【図43】チリダニによる喘息のマウスモデル - 肺組織中のMIP-1aレベルを示す。
- 【図44】チリダニによる喘息のマウスモデル - 肺組織中のKCレベルを示す。
- 【図45】チリダニによる喘息のマウスモデル - 肺組織中のMIP-2レベルを示す。
- 【図46】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 血清中のHDM特異的IgG1を示す。
- 【図47】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 血清中のHDM特異的IgG2aを示す 10
- 。
- 【図48】重度の好中球性喘息のマウスモデル - BALF中のHDM特異的IgG1を示す。
- 【図49】重度の好中球性喘息のマウスモデル - BALF中のHDM特異的IgG2aを示す。
- 【図50】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 組織学的分析 - 平均気管支周囲浸潤スコアを示す。
- 【図51】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 組織学的分析 - 平均血管周囲浸潤スコアを示す。
- 【図52】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 組織学的分析 - 平均炎症スコア（気管支周囲浸潤スコアと血管周囲浸潤スコアの両方の平均値）を示す。 20
- 【図53】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 肺組織中のTNFレベルを示す。
- 【図54】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 肺組織中のIL-1aレベルを示す。
- 【図55】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 肺組織中のIFNレベルを示す。
- 【図56】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 肺組織中のIL-17Fレベルを示す。
- 【図57】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 肺組織中のIL-1bレベルを示す。
- 【図58】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 肺組織中のRANTESレベルを示す。
- 【図59】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 肺組織中のMIP-2レベルを示す。
- 【図60】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 肺組織中のKCレベルを示す。
- 【図61】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 肺組織中のIL-17Aレベルを示す。 30
- 【図62】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 肺組織中のMIP-1aレベルを示す。
- 【図63】重度の好中球性喘息のマウスモデル - 肺組織中のIL-33レベルを示す。
- 【図64】関節リウマチのマウスモデル - 組織病理学スコアのための目視用テンプレートを示す。コラーゲン誘発関節炎試験におけるマウス足根関節からの複合スコアを示す代表的な画像を示す。
- 【図65】関節リウマチのマウスモデル - 組織病理学：炎症スコアを示す。データは平均値±SEMとして表す。媒体処置群と比較して** pは0.01未満である。
- 【図66】関節リウマチのマウスモデル - 組織病理学：軟骨スコアを示す。データは平均値±SEMとして表す。媒体処置群と比較して*** pは0.001未満である。
- 【図67】関節リウマチのマウスモデル - 組織病理学：骨スコアを示す。データは平均値±SEMとして表す。媒体処置群と比較して、*** pは0.001未満である。 40
- 【図68】関節リウマチのマウスモデル - 組織病理学：総スコアを示す。データは平均値±SEMとして表す。媒体処置群と比較して、*** pは0.001未満である。
- 【図69】関節リウマチのマウスモデル - 組織病理学：代表的な写真を示す。動物ID（#n.n）及び四肢（Rは右、Lは左）を括弧の中に示す。左の画像（媒体）：炎症及び線維症が関節周囲軟組織に及ぶ広範囲の関節及び骨の破壊。
- 【図70】多発性硬化症のマウスモデル - 臨床スコアを示す。
- 【図71】多発性硬化症のマウスモデル - 疾患の発生率を示す。
- 【図72】ブドウ膜炎のマウスモデル - IRBPペプチドに対するリンパ節の増殖応答。 50
- 3H-チミジン取り込みに基づく培地バックグラウンドを差し引いた[IRBPペプチド

刺激 - 培地バックグラウンド] 1 分間当たりのカウント数。データは全て平均値 + S E M (n = 3) として表す。

【図 7 3】ブドウ膜炎のマウスモデル - 対照群の T E F I スコアを示す。データは平均値 ± S E M として表す。

【図 7 4】ブドウ膜炎のマウスモデル - 2 1 日目の T E F I スコアを示す。データは平均値 ± S E M として表す。

【図 7 5】L P S 誘導炎症アッセイ - I L - 6 レベル

【図 7 6】L P S 誘導炎症アッセイ - T N F レベル

【図 7 7】L P S 誘導炎症アッセイ - M o - D C 成熟レベル

【図 7 8】オポアルブミン誘導炎症アッセイ - C D 4 + 細胞レベル

10

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 9 】

細菌株

本発明の組成物は、ブラウチア属の細菌株を含む。実施例は、この属の細菌が I L - 1 7 又は T h 1 7 経路によって媒介される疾患及び状態を治療又は予防するために有用であることを実証している。好ましい細菌株は、ブラウチア種の細菌株である。

【 0 0 3 0 】

本発明において使用するためのブラウチア株の例としては、ブラウチア・ステルコリス、B . フェシス (B . faecis)、B . コッコイデス (B . coccoides)、B . グルセラセア (B . glucerasea)、B . ハンセニイ (B . hansenii)、B . ヒドロゲノトロフィカ (B . hydrogenotrophica)、B . ルティ (B . luti)、B . プロダクタ (B . producta)、B . シンキイ (B . schinkii) 及び B . ウェクスレラエが挙げられる。ブラウチア種は、球状又は卵形のいずれかでありうる非運動性のグラム反応陽性細菌であり、全てがグルコース発酵の主最終産物として酢酸を産生する偏性嫌気性菌である (Liu et al . (2008) Int J Syst Evol Microbiol 58, 1896-1902)。ブラウチアは、ヒトの腸から単離されうるが、B . プロダクタは、敗血症の試料から単離された。ブラウチア・ステルコリス株 G A M 6 - 1 ^T の 1 6 S r R N A 遺伝子配列の GenBank 受託番号は、H M 6 2 6 1 7 7 (本明細書において配列番号 1 として開示される) である。例示的なブラウチア・ステルコリス株は Park et al . (2012) Int J Syst Evol Microbiol . 62(Pt 4):776-9 に記述されている。ブラウチア・ウェクスレラエの基準株は、W A L 1 4 5 0 7 = A T C C B A A - 1 5 6 4 = D S M 1 9 8 5 0 (Liu et al . (2008) Int J Syst Evol Microbiol . 58(Pt 8):1896-902) である。ブラウチア・ウェクスレラエ株 W A L 1 4 5 0 7 ^T の 1 6 S r R N A 遺伝子配列の GenBank 受託番号は、E F 0 3 6 4 6 7 (本明細書において配列番号 3 として開示される) である。この例示的なブラウチア・ウェクスレラエ株は、Liu et al . (2008) Int J Syst Evol Microbiol . 58(Pt 8):1896-902 に記載されている。

20

30

【 0 0 3 1 】

受託番号 N C I M B 4 2 3 8 1 として寄託されたブラウチア・ステルコリス細菌を、実施例において試験し、また、本明細書において以降、株 8 3 0 と称する。試験した 8 3 0 株の 1 6 S r R N A 配列を配列番号 2 に提供する。株 8 3 0 は、2 0 1 5 年 3 月 1 2 日に、GT Biologics Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scotland) によって国際寄託当局 NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland) に「ブラウチア・ステルコリス 8 3 0」として寄託され、受託番号 N C I M B 4 2 3 8 1 を与えられた。GT Biologics Ltd 社は、後に社名を 4D Pharma Research Limited 社に変更した。

40

【 0 0 3 2 】

株 8 3 0 のゲノムは染色体及びプラスミドを含む。株 8 3 0 の染色体配列を配列番号 5 に提供する。株 8 3 0 のプラスミド配列を配列番号 6 に提供する。これらの配列は、PacBio RS II プラットフォームを使用して生成された。

【 0 0 3 3 】

受託番号 N C I M B 4 2 4 8 6 として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ細菌を

50

実施例において試験し、この株は本明細書において株 M R X 0 0 8 とも称する。試験した M R X 0 0 8 株の 1 6 S r R N A 配列を配列番号 4 に提供する。株 M R X 0 0 8 は、2015年11月16日に、4D Pharma Research Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scotland) によって国際寄託当局 NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland) に「ブラウチアノルミノコッカス」として寄託され、受託番号 N C I M B 4 2 4 8 6 を与えられた。

【0034】

本実施例で試験した株に近縁の細菌株もまた、I L - 1 7 又は T h 1 7 経路によって媒介される疾患及び状態を治療又は予防するために有効であると予想される。特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、ブラウチア・ステルコリスの細菌株の 1 6 s r R N A 配列と少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 5 % 又は 9 9 . 9 % 同一である 1 6 s r R N A 配列を有する。好ましくは、本発明に使用するための細菌株は、配列番号 1 又は 2 と少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 5 % 又は 9 9 . 9 % 同一である 1 6 s r R N A 配列を有する。好ましくは、上記配列同一性は配列番号 2 に対する同一性である。好ましくは、本発明に使用するための細菌株は、配列番号 2 によって表される 1 6 s r R N A 配列を有する。特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、ブラウチア・ウェクスレエの細菌株の 1 6 s r R N A 配列と少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 5 % 又は 9 9 . 9 % 同一である 1 6 s r R N A 配列を有する。好ましくは、本発明において使用するための細菌株は、配列番号 3 又は 4 と少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 5 % 又は 9 9 . 9 % 同一である 1 6 s r R N A 配列を有する。好ましくは、上記配列同一性は配列番号 4 に対する同一性である。好ましくは本発明において使用するための細菌株は、配列番号 4 によって表される 1 6 s r R N A 配列を有する。

【0035】

特定の実施形態において、本発明において使用するための細菌株は、配列番号 5 に対して配列同一性を有する染色体を有する。好ましい実施形態において、本発明において使用するための細菌株は、配列番号 5 の少なくとも 6 0 % (例えば、少なくとも 6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % 又は 1 0 0 %) にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性 (例えば、少なくとも 9 2 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % 又は 1 0 0 % の配列同一性) を有する染色体を有する。例えば、本発明に使用するための細菌株は、配列番号 5 の 7 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性、又は配列番号 5 の 8 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性、又は配列番号 5 の 9 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性、又は配列番号 5 の 1 0 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性、又は配列番号 5 の 7 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性、又は配列番号 5 の 8 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性、又は配列番号 5 の 9 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性、又は配列番号 5 の 1 0 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性、又は配列番号 5 の 7 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 8 % の配列同一性、又は配列番号 5 の 8 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 8 % の配列同一性、又は配列番号 5 の 9 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 8 % の配列同一性、又は配列番号 5 の 1 0 0 % にわたって配列番号 5 に対して少なくとも 9 8 % の配列同一性を有する染色体を有しうる。

【0036】

特定の実施形態において、本発明において使用するための細菌株は、配列番号 6 に対して配列同一性を有するプラスミドを有する。好ましい実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、配列番号 6 の少なくとも 6 0 % (例えば、少なくとも 6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % 又は 1 0 0 %) に

10

20

30

40

50

わたって配列番号6に対して少なくとも90%の配列同一性(例えば、少なくとも92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%の配列同一性)を有するプラスミドを有する。例えば、本発明に使用するための細菌株は、配列番号6の70%にわたって配列番号6に対して少なくとも90%の配列同一性、又は配列番号6の80%にわたって配列番号6に対して少なくとも90%の配列同一性、又は配列番号6の90%にわたって配列番号6に対して少なくとも90%の配列同一性、又は配列番号6の100%にわたって配列番号6に対して少なくとも90%の配列同一性、又は配列番号6の70%にわたって配列番号6に対して少なくとも95%の配列同一性、又は配列番号6の80%にわたって配列番号6に対して少なくとも95%の配列同一性、又は配列番号6の90%にわたって配列番号6に対して少なくとも95%の配列同一性、又は配列番号6の100%にわたって配列番号6に対して少なくとも95%の配列同一性、又は配列番号6の70%にわたって配列番号6に対して少なくとも98%の配列同一性、又は配列番号6の80%にわたって配列番号6に対して少なくとも98%の配列同一性、又は配列番号6の90%にわたって配列番号6に対して少なくとも98%の配列同一性、又は配列番号6の100%にわたって配列番号6に対して少なくとも98%の配列同一性を有するプラスミドを有しうる。

10

【0037】

特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、配列番号5に対して配列同一性を有する染色体と、配列番号6に対して配列同一性を有するプラスミドとを有する。

20

【0038】

受託番号42381として寄託された細菌のバイオタイプである細菌株もまた、IL-17又はTh17経路によって媒介される疾患及び状態を治療又は予防するために有効であると予想される。受託番号42486として寄託された細菌のバイオタイプである細菌株もまた、IL-17又はTh17経路によって媒介される疾患及び状態を治療又は予防するために有効であると予想される。バイオタイプは、同じ又は非常に類似の生理的及び生化学的特徴を有する近縁の株である。

【0039】

受託番号NCIMB 42381又は42486として寄託された細菌のバイオタイプであり、本発明における使用に好適な株を、受託番号NCIMB 42381又は42486として寄託された細菌の他のヌクレオチド配列をシーケンシングすることによって同定してもよい。例えば、実質的に全ゲノムをシーケンシングしてもよく、本発明に使用するためのバイオタイプの株は、その全ゲノムの少なくとも80%にわたって(例えば、少なくとも85%、90%、95%又は99%又はその全ゲノムにわたって)少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%又は99.9%の配列同一性を有しうる。バイオタイプの株の同定に使用するための他の好適な配列としては、hsp60、又は反復配列、例えばBOX、ERIC、(GTG)₅、若しくはREP、又はMasc o et al. (2003) Systematic and Applied Microbiology, 26:557-563が挙げられうる。バイオタイプの株は、受託番号NCIMB 42381又は42486として寄託された細菌の対応する配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%又は99.9%の配列同一性を有する配列を有しうる。

30

40

【0040】

あるいは、受託番号NCIMB 42381又は42486として寄託された細菌のバイオタイプであり、本発明における使用に好適な株を、受託番号NCIMB 42381の寄託物、又は受託番号NCIMB 42486の寄託物、並びに制限酵素断片分析及び/又はPCR分析を使用することによって、例えば蛍光増幅断片長多型(FAPLP, fluorescent amplified fragment length polymorphism)及び反復DNAエレメント(rep) - PCRフィンガープリンティング又はタンパク質プロファイリング、又は部分的16S若しくは23s rDNAシーケンシングを使用することによって同定してもよい。好ましい実施形態において、そのような技術を、他のブラウチア・ステルコリス又はブ

50

ラウチア・ウェクスレラエ株を同定するために使用してもよい。

【0041】

特定の実施形態において、受託番号NCIMB 42381又は42486として寄託された細菌のバイオタイプであり、本発明における使用に好適な株は、増幅リボソームDNA制限分析(ARDDRA, amplified ribosomal DNA restriction analysis)によって分析した場合に、例えばSau3AI制限酵素(例示的な方法及び指針に関しては、例えばSrutkova et al. (2011) J. Microbiol. Methods, 87(1):10-6を参照されたい)を使用した場合に、受託番号NCIMB 42381又は42486として寄託された細菌と同じパターンを提供する株である。あるいは、バイオタイプの株は、受託番号NCIMB 42381又は42486として寄託された細菌と同じ炭水化物発酵パターンを有する株として同定される。

10

【0042】

本発明の組成物及び方法において有用である他のブラウチア株、例えば受託番号NCIMB 42381又は42486として寄託された細菌のバイオタイプは、実施例に記述されるアッセイを含むいかなる適切な方法又は方策を使用して同定してもよい。例えば、本発明に使用するための株は、嫌気性のYCF A中で培養すること、及び/又は細菌をII型コラーゲン関節炎マウスモデルに投与すること、次いでサイトカインレベルを評価することによって同定してもよい。特に、受託番号NCIMB 42381又は42486として寄託された細菌と類似の増殖パターン、代謝型、及び/又は表面抗原を有する細菌株は、本発明において有用でありうる。有用な株は、受託番号NCIMB 42381又は42486株に対して同等の免疫調節活性を有するであろう。特に、バイオタイプの株は、実施例に示される効果と、喘息、関節炎、多発性硬化症、及びブドウ膜炎の疾患モデルに対して同等の効果、並びにサイトカインレベルに対して同等の効果を生じ、このことは、実施例に記述される培養及び投与プロトコールを使用することによって同定される。

20

【0043】

本発明の特に好ましい株は、受託番号NCIMB 42381として寄託されたブラウチア・ステルコリス株である。これは、実施例で試験した例示的な830株であり、疾患を治療するために有効であることが示されている。したがって、本発明は、受託番号NCIMB 42381として寄託されたブラウチア・ステルコリス株又はその派生物の細胞、例えば単離細胞を提供する。本発明はまた、受託番号NCIMB 42381として寄託されたブラウチア・ステルコリス株又はその派生物の細胞を含む組成物も提供する。本発明はまた、受託番号NCIMB 42381として寄託されたブラウチア・ステルコリス株の生物学的に純粋な培養物も提供する。本発明はまた、特に本明細書に記述される疾患の治療に使用するための受託番号NCIMB 42381として寄託されたブラウチア・ステルコリス株又はその派生物の細胞も提供する。

30

【0044】

本発明の特に好ましい株は、受託番号NCIMB 42486として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株である。これは、実施例において試験した例示的なMRX008株であり、疾患を治療するために有効であることが示されている。したがって、本発明は、受託番号NCIMB 42486として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株又はその派生物の細胞、例えば単離された細胞を提供する。本発明はまた、受託番号NCIMB 42486として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株又はその派生物の細胞を含む組成物も提供する。本発明はまた、受託番号NCIMB 42486として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株の生物学的に純粋な培養物も提供する。本発明はまた、特に本明細書に記述される疾患の治療に使用するための、受託番号NCIMB 42486として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株又はその派生物の細胞も提供する。

40

【0045】

受託番号NCIMB 42381又は42486株として寄託された株の派生物は、オリジナル株の娘株(後代)又はオリジナル株から培養された(サブクローニングされた)

50

株であってもよい。本発明の株の派生物は、例えば生物活性を損ねることなく、遺伝子レベルで改変されていてもよい。特に、本発明の派生株は、治療上活性である。派生株は、元のNCIMB 42381又は42486株と同等の免疫調節活性を有するであろう。特に、派生株は、実施例に示される効果と、喘息、関節炎、多発性硬化症、及びブドウ膜炎の疾患モデルに対して同等の効果、並びにサイトカインレベルに対して同等の効果を生じ、このことは、実施例に記述される培養及び投与プロトコールを使用することによって同定される。NCIMB 42381株の派生物は、一般的にはNCIMB 42381株のバイオタイプであろう。NCIMB 42486株の派生物は、一般的にはNCIMB 42486株のバイオタイプであろう。

【0046】

受託番号NCIMB 42381として寄託されたブラウチア・ステルコリス株の細胞という言及は、受託番号NCIMB 42381として寄託された株と同じ安全性及び治療有効性の特徴を有するいかなる細胞も包含し、そのような細胞は、本発明に包含される。受託番号NCIMB 42486として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株の細胞という言及は、受託番号NCIMB 42486として寄託された株と同じ安全性及び治療有効性の特徴を有するいかなる細胞も包含し、そのような細胞は、本発明に包含される。

【0047】

好ましい実施形態において、本発明の組成物における細菌株は、生存しており、腸管に部分的又は完全に定着することができる。

【0048】

治療での用途

実施例において実証されるように、本発明の細菌組成物は、Th17炎症応答を低減させるために有効である。特に、本発明の組成物による治療によって、IL-17及びTh17経路によって媒介される状態の動物モデルにおいて、IL-17Aレベル及び他のTh17経路のサイトカインの低減、並びに臨床上の改善がもたらされる。したがって、本発明の組成物は、炎症性疾患及び自己免疫疾患、特にIL-17によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防するために有用でありうる。特に、本発明の組成物は、IL-17炎症応答の上昇を低減又は予防するために有用でありうる。

【0049】

Th17細胞は、ヘルパーT細胞のサブセットであり、例えば、IL-17A、IL-17F、IL-21、及びIL-22を産生する。Th17細胞の分化及びIL-17の発現は、IL-23によって駆動される。これらのサイトカイン及び他のサイトカインは、Th17経路の重要な部分を形成し、Th17経路は、いくつかの炎症性疾患及び自己免疫疾患に寄与してそれらの基礎となる、十分に確立された炎症シグナリング経路である(例えばYe et al. (2015) PLoS One. 10(1):e0117704、Fabro et al. (2015) Immunobiology. 220(1):124-35、Yin et al. (2014) Immunogenetics. 66(3):215-8、Cheluvappa et al. (2014) Clin Exp Immunol. 175(2):316-22、Schieck et al. (2014) J Allergy Clin Immunol. 133(3):888-91、Balato et al. (2014) J Eur Acad Dermatol Venereol. 28(8):1016-24に記述される)。Th17経路が活性化されている疾患は、Th17経路媒介疾患である。Th17経路媒介疾患は、Th17経路を抑えることによって改善又は軽減することができ、これはTh17細胞の分化の低減、又はその活性の低減、又はTh17経路サイトカインのレベルの低減を通して行われうる。Th17経路によって媒介される疾患は、Th17細胞によって産生されるサイトカイン、例えばIL-17A、IL-17F、IL-21、IL-22、IL-26、IL-9のレベルの増加によって特徴付けられうる(Monteleone et al. (2011) BMC Medicine. 2011, 9:122に論評)。Th17経路によって媒介される疾患は、Th-17関連遺伝子、例えばStat3又はIL-23Rの発現の増加によって特徴付けられうる。Th17経路によって媒介される疾患は、Th17細胞のレベルの増加に関連しうる。

【0050】

IL - 17 は、いくつかの炎症性及び自己免疫性の疾患並びに状態の病原性に寄与する炎症促進性サイトカインである。本明細書に使用される IL - 17 は、IL - 17 A、IL - 17 B、IL - 17 C、IL - 17 D、IL - 17 E、及び IL - 17 F を含む IL - 17 ファミリーのいかなるメンバーも指しうる。IL - 17 媒介の疾患及び状態は、疾患又は状態に罹患した組織における IL - 17 の高い発現及び / 又は IL - 17 陽性細胞の蓄積若しくは存在によって特徴付けられる。同様に、IL - 17 媒介疾患及び状態は、高い IL - 17 レベル又は IL - 17 レベルの増加によって悪化し、低い IL - 17 レベル又は IL - 17 レベルの低減によって軽減される疾患及び状態である。IL - 17 炎症応答は局所又は全身性でありうる。

【0051】

IL - 17 又は Th 17 経路によって媒介されうる疾患及び状態の例には、多発性硬化症；関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、又は若年性関節炎などの関節炎；視神経脊髄炎（デビック病）；強直性脊椎炎；脊椎関節炎；乾癬；全身性紅斑性狼瘡；クローン病又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患；セリアック病；アレルギー性喘息又は好中球性喘息などの喘息；慢性閉塞性肺疾患（COPD）；乳がん、結腸がん、肺がん、又は卵巣がんなどのがん；ブドウ膜炎；強膜炎；血管炎；ベーチェット病；アテローム性動脈硬化症；アトピー性皮膚炎；肺気腫；歯周炎；アレルギー性鼻炎；及び同種異系移植片拒絶が挙げられる。好ましい実施形態において、本発明の組成物は、これらの状態又は疾患の 1 又は 2 以上を治療又は予防するために使用される。さらに好ましい実施形態において、これらの状態又は疾患は、IL - 17 又は Th 17 経路によって媒介される。

【0052】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、IL - 17 又は Th 17 経路によって媒介される疾患又は状態の治療又は予防において、IL - 17 の産生を低減させる又は Th 17 細胞の分化を低減させる方法に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物は、治療又は予防が Th 17 炎症応答の上昇を低減又は予防することによってもたらされる、炎症性疾患又は自己免疫疾患の治療又は予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物は、IL - 17 レベル若しくは Th 17 細胞が上昇している又は Th 17 炎症応答を示している、炎症性疾患又は自己免疫疾患を有する患者の治療に使用するためのものである。特定の実施形態において、患者は、慢性炎症性又は自己免疫性の疾患若しくは状態を有すると診断されていてもよく、又は本発明の組成物は、慢性炎症性又は自己免疫性の疾患若しくは状態へと発展する炎症性又は自己免疫性の疾患若しくは状態の予防に使用するためであってもよい。特定の実施形態において、疾患又は状態は、TNF - 阻害剤による治療に応答性でなくてもよい。本発明のこれらの使用は、先の段落に記載した特異的疾患又は状態のいかなるものにも適用されうる。

【0053】

IL - 17 及び Th 17 経路はしばしば、慢性炎症性疾患及び自己免疫疾患に関連しており、そのため、本発明の組成物は、上記の慢性疾患又は状態を治療又は予防するために特に有用でありうる。特定の実施形態において、組成物は、慢性疾患を有する患者に使用するためのものである。特定の実施形態において、組成物は、慢性疾患の発症の予防に使用するためのものである。

【0054】

本発明の組成物は、IL - 17 又は Th 17 経路によって媒介される疾患及び状態を治療するために、並びに Th 17 炎症応答に対処するために有用でありうることから、本発明の組成物は、慢性疾患を治療若しくは予防するために、他の治療（TNF - 阻害剤による治療など）に応答しなかった患者の疾患を治療若しくは予防するために、及び / 又は IL - 17 及び Th 17 細胞に関連する組織損傷及び症状を治療又は予防するために特に有用でありうる。例えば、IL - 17 は、軟骨及び骨組織におけるマトリクスの破壊を活性化することが知られており、IL - 17 は、軟骨細胞及び骨芽細胞におけるマトリクス産生に対して阻害効果を有することから、本発明の組成物は、骨びらん又は軟骨損傷を治

10

20

30

40

50

療又は予防するために有用でありうる。

【0055】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、IL-17レベル、特にIL-17Aレベルの低減をもたらすか又は上昇を予防する。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、TNF、IFN- γ 又はIL-6レベルの低減をもたらすか、又は上昇を予防する。これらのサイトカインのレベル上昇のそのような低減又は予防は、炎症性及び自己免疫性の疾患並びに状態、特にIL-17又はTh17経路によって媒介される疾患及び状態を治療又は予防するために有用でありうる。

【0056】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、CD4+細胞レベルの低減をもたらすか又は上昇を予防する。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、樹状細胞、特にCD1a+CD14-単球由来樹状細胞の成熟レベルの低減をもたらすか、又は上昇を予防する。CD4+細胞レベルのそのような低減若しくはレベルの上昇の予防、又は樹状細胞成熟レベルの低減若しくは上昇の予防は、炎症性及び自己免疫性の疾患並びに状態、特にIL-17又はTh17経路によって媒介される疾患及び状態を治療又は予防するために有用でありうる。

10

【0057】

喘息

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、喘息の治療又は予防に使用するためのものである。実施例は、本発明の組成物が、チリダニ抽出物による感作及びチャレンジ後の気道への好中球及び/又は好酸球の動員の低減をもたらすことを実証しており、そのため本発明の組成物が喘息の治療又は予防において有用でありうる。喘息は、気道の炎症及び制限によって特徴付けられる慢性疾患である。喘息における炎症は、IL-17及び/又はTh17細胞によって媒介されうることから、本発明の組成物は、喘息の予防又は治療にとって特に有効でありうる。喘息の炎症は、好酸球及び/又は好中球によって媒介されうる。

20

【0058】

特定の実施形態において、喘息は好酸球性又はアレルギー性喘息である。好酸球性及びアレルギー性喘息は、末梢血及び気道分泌液中の好酸球数の増加によって特徴付けられ、基底膜部の肥厚に病理学的に関連し、コルチコステロイド応答性に薬理学的に関連する (Fahy (2009) Proc Am Thorac Soc 6.256-259)。好酸球の動員又は活性化を低減又は阻害する組成物は、好酸球性及びアレルギー性喘息を治療又は予防するために有用でありうる。

30

【0059】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、好中球性喘息(又は非好酸球性喘息)の治療又は予防に使用するためのものである。多数の好中球は、コルチコステロイド治療に対して非感受性でありうる重度の喘息に関連する。好中球の動員又は活性化を低減又は阻害する組成物は、好中球性喘息の治療又は予防にとって有用でありうる。

【0060】

好酸球性及び好中球性喘息は、相互に排他的な状態ではなく、好酸球及び好中球の応答のいずれかの対処に役立つ治療は、喘息全般の治療にとって有用でありうる。

40

【0061】

IL-17レベルの増加及びTh17経路の活性化は、重度の喘息に関連していることから、本発明の組成物は、重度の喘息の発症を予防するために、又は重度の喘息を治療するために有用でありうる。

【0062】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、喘息の治療又は予防において好酸球性炎症応答を低減させる方法に使用するため、又は喘息の治療又は予防において好中球性炎症応答を低減させる方法に使用するためのものである。先に述べたように、喘息における高レベルの好酸球は、基底膜部の肥厚に病理学的に関連することから、喘息の治療又は予防

50

における好酸球性炎症応答の低減は、疾患のこの特徴に特異的に対処することができる可能性がある。同様に、好中球の上昇は、好酸球の上昇を伴って又は伴わなくとも、重度の喘息及び慢性的な気道の狭窄に関連する。したがって、好中球性炎症応答の減少は、重度の喘息に対処するために特に有用でありうる。

【 0 0 6 3 】

特定の実施形態において、組成物は、アレルギー性喘息における気管支周囲浸潤を低減させるか、又はアレルギー性喘息の治療において気管支周囲浸潤の低減に使用するためのものである。特定の実施形態において、組成物は、好中球性喘息における気管支周囲及び/若しくは血管周囲浸潤を低減させるか、又はアレルギー性好中球性喘息の治療において、気管支周囲及び/又は血管周囲浸潤の低減に使用するためのものである。

10

【 0 0 6 4 】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、TNF レベルの低減をもたらす、又はレベルの上昇を予防する。

【 0 0 6 5 】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、喘息を治療する方法に使用するためであり、それによって好酸球及び/又は好中球性炎症応答の低減が起こる。特定の実施形態において、治療される患者は、採血又は喀痰分析を通して特定されるように、好中球又は好酸球のレベル上昇を有すると特定されている、又は過去に特定されたことがある。

【 0 0 6 6 】

本発明の組成物は、新生児又は妊娠女性に投与した場合に、新生児における喘息の発症を予防するために有用でありうる。組成物は、小児における喘息の発症を予防するために有用でありうる。本発明の組成物は、成人発症喘息を治療又は予防するために有用でありうる。本発明の組成物は、喘息をマネージ又は軽減するために有用でありうる。本発明の組成物は、アレルギー、例えばチリダニによって悪化する喘息に関連する症状を低減させるために特に有用でありうる。

20

【 0 0 6 7 】

喘息の治療又は予防は、患者にとって問題である、症状の重症度の軽減、又は悪化の頻度の低減若しくは誘因の範囲の低減を指しうる。

【 0 0 6 8 】

関節炎

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、関節リウマチ (RA, rheumatoid arthritis) の治療又は予防に使用するためのものである。実施例により、本発明の組成物が、マウスモデルにおけるRAの臨床兆候の低減をもたらすこと、軟骨及び骨損傷を低減させること、並びにIL-17炎症応答を低減させることが実証されており、そのため本発明の組成物は、RAの治療又は予防において有用でありうる。RAは、関節に主に罹患する全身性の炎症障害である。RAは、関節の腫脹、滑膜過形成、並びに軟骨及び骨の破壊が起こる炎症応答に関連している。例えば、IL-17は軟骨細胞及び骨芽細胞においてマトリクス産生を阻害して、マトリクスメタロプロテナーゼの産生及び機能を活性化することにより、並びにRA疾患の活動度がIL-17レベル及びTh17細胞数と相関することによりMiossec and Kolls (2012) Nat Rev Drug Discov. 11(10):763-76、Yang et al. (2014) Trends Pharmacol Sci. 35(10):493-500、IL-17及びTh17細胞は、RAにおいて重要な役割を有し、それにより本発明の組成物は、RAの予防又は治療にとって特に有効でありうる。

30

40

【 0 0 6 9 】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、RAの治療又は予防におけるIL-17レベルの低下又はIL-17レベルの上昇の予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、IL-17レベル、特にIL-17Aレベルの低減をもたらすか又は上昇を予防する。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、IFN- γ 又はIL-6レベルの低減をもたらすか又は上昇を予防する。

【 0 0 7 0 】

50

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって関節の腫脹の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、関節が腫脹した患者又は関節が腫脹するリスクがあると特定された患者に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物は、R Aにおける関節の腫脹を低減させる方法に使用するためのものである。

【0071】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、軟骨損傷又は骨損傷の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、R Aの治療において軟骨又は骨損傷の低減又は予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、組成物は、軟骨又は骨損傷のリスクがある重度のR Aを有する患者の治療に使用するためのものである。

10

【0072】

増加したIL-17レベル及び多数のTh17細胞数は、R Aにおける軟骨及び骨の破壊に関連している(Miossec and Kolls (2012) Nat Rev Drug Discov. 11(10):763-76、Yang et al. (2014) Trends Pharmacol Sci. 35(10):493-500)。IL-17は、軟骨及び骨組織におけるマトリクスの破壊を活性化させることが知られており、IL-17は軟骨細胞及び骨芽細胞におけるマトリクス産生に対して阻害効果を有する。したがって、特定の実施形態において、本発明の組成物は、R Aの治療において骨びらん又は軟骨損傷の予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、組成物は、骨びらん若しくは軟骨損傷を示す患者、又は骨びらん若しくは軟骨損傷のリスクがあると特定された患者の治療に使用するためのものである。

20

【0073】

TNF- もまたR Aに関連するが、TNF- は疾患の後期の病原性には関係していない。これに対し、IL-17は、慢性疾患の全ての進行期を通して役割を有する(Koeners et al. (2006) J. Immunol. 176:6262-6269)。したがって、特定の実施形態において、本発明の組成物は、関節の破壊及び軟骨の喪失を含む疾患などの慢性R A又は後期R Aの治療に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物は、抗TNF- 治療を以前に受けたことがある患者を治療するためのものである。特定の実施形態において、治療を受ける患者は、抗TNF- 治療に応答しない、又はもはや応答しない。

30

【0074】

本発明の組成物は、患者の免疫系を調節するために有用でありうることから、特定の実施形態において、本発明の組成物は、R Aのリスクがあると特定されている患者又は初期R Aを有すると診断されている患者におけるR Aの予防に使用するためのものである。本発明の組成物は、R Aの発症を予防するために有用でありうる。

【0075】

本発明の組成物は、R Aをマネージ又は軽減するために有用でありうる。本発明の組成物は、関節の腫脹又は骨の破壊に関連する症状を低減させるために特に有用でありうる。R Aの治療又は予防は、例えば患者にとって問題である、症状の重症度の軽減、又は悪化の頻度の低減若しくは誘因の範囲の低減を指しうる。

40

【0076】

多発性硬化症

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、多発性硬化症の治療又は予防に使用するためのものである。実施例により、本発明の組成物が、多発性硬化症のマウスモデル(EAEモデル)における疾患の発生率及び疾患の重症度の低減をもたらすことが実証されており、そのため、本発明の組成物は、多発性硬化症の治療又は予防において有用でありうる。多発性硬化症は、特に脳及び脊柱のニューロンの髄鞘に対する損傷に関連する炎症障害である。多発性硬化症は、次第に無能力となり、エピソードが進行する慢性疾患である。例えばIL-17レベルは多発性硬化症の病変と相関しうる、IL-17は血液脳関門の内皮細胞の堅固な接合を破壊しうる、及びTh17細胞が中枢神経系に遊走してニュー

50

ーロンの喪失を引き起こしうることから (Amedei et al. (2012) *Int J Mol Sci.* 13(10):13438-60、Shabgah et al. (2014) *Postepy. Dermatol. Alergol.* 31(4):256-61)、IL-17及びTh17細胞は、多発性硬化症において重要な役割を有しうる。したがって、本発明の組成物は、多発性硬化症を予防又は治療するために特に有用でありうる。

【0077】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、疾患の発生率又は疾患の重症度の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、疾患の発生率又は疾患の重症度の低減に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、運動機能の低下を予防するか、又は運動機能の改善が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、運動機能の低下の予防に使用するためのものであるか、又は運動機能の改善に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、麻痺の発生を予防する。特定の実施形態において、本発明の組成物は、多発性硬化症の治療における麻痺の予防に使用するためのものである。

10

【0078】

本発明の組成物は、患者の免疫系を調節するために有用でありうることから、特定の実施形態において、本発明の組成物は、多発性硬化症のリスクがあると特定されている患者、又は初期多発性硬化症である若しくは「再発 - 寛解性の」多発性硬化症であると診断されている患者における多発性硬化症の予防に使用するためのものである。本発明の組成物は、硬化症の発生を予防するために有用でありうる。実際に、実施例により、本発明の組成物の投与が、多くのマウスにおける疾患の発症を予防したことが示されている。

20

【0079】

本発明の組成物は、多発性硬化症をマネージ又は軽減するために有用でありうる。本発明の組成物は、多発性硬化症に関連する症状を低減するために特に有用でありうる。多発性硬化症の治療又は予防は、例えば患者にとって問題である、症状の重症度の軽減、又は悪化の頻度の低減若しくは誘因の範囲の低減を指しうる。

【0080】

ブドウ膜炎

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、ブドウ膜炎の治療又は予防に使用するためのものである。実施例は、本発明の組成物が、ブドウ膜炎の動物モデルにおいて疾患の発生率及び疾患の重症度の低減をもたらすことを実証しており、そのため本発明の組成物はブドウ膜炎の治療又は予防において有用でありうる。ブドウ膜炎は、ブドウ膜の炎症であり、それによって網膜組織の破壊が起こりうる。ブドウ膜炎は、異なる解剖学的形態（前部、中間部、後部、又はびまん性）で存在する場合があります。全身性の自己免疫障害を含む、異なるが関連する原因により起こりうる。IL-17及びTh17経路は、ブドウ膜炎に中心的に関係していることから、本発明の組成物は、ブドウ膜炎の予防又は治療にとって特に有効でありうる。参考文献Zhang (2015) *Inflammation.* Aug 23、Sun et al. (2015) *Cytokine.* 74(1):76-80、Mucientes et al. (2015) *Br J Ophthalmol.* 99(4):566-70、Jawad et al. (2013) *Ocul Immunol Inflamm.* 21(6):434-9、Maya et al. (2014) *J. Ophthalmology.* 310329、Chi et al. (2007) *J. Allergy and Clinical Immunology.* 119(5):1218-1224、Chi et al. (2008) *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 49(7): 3058-3064、Luger and Caspi (2008) *Semin. Immunopathol.* 30(2): 134-143は、ブドウ膜炎の患者においてインターロイキン-17Aの血清レベルが上昇していること、IL-17A遺伝子バリエーションと全ブドウ膜炎との特異的関連、実験的自己免疫性ブドウ膜炎の病原性におけるTh17関連サイトカインの役割、単相性実験的自己免疫性ブドウ膜炎におけるTh17細胞と調節性T細胞との不均衡、ブドウ膜炎及び活動性アダマンチアデス - ベーチェット病及びフォクト - 小柳 - 原田 (VKH, Vogt-Koyanagi-Harada) 病の患者におけるIL-17Aの上方調節、ブドウ膜炎の眼におけるセクキヌマブ (抗IL-17A抗体) 及びTh17による非感染性ブドウ膜炎の治療について記述している。

30

40

【0081】

特定の実施形態において、ブドウ膜炎は後部ブドウ膜炎である。後部ブドウ膜炎は主に

50

網膜及び脈絡膜の炎症として出現し、実施例は、本発明の組成物は、網膜の炎症及び損傷を低減させるために有効であることを実証している。

【0082】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、網膜損傷の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、ブドウ膜炎の治療において網膜損傷の低減又は予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、組成物は、網膜損傷のリスクがある重度のブドウ膜炎の患者の治療に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって視神経乳頭の炎症の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、視神経乳頭の炎症の低減又は予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、炎症細胞による網膜組織浸潤の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、炎症細胞による網膜組織浸潤の低減に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、視力が維持されるか又は改善される。特定の実施形態において、本発明の組成物は、視力の維持又は改善に使用するためのものである。

10

【0083】

特定の実施形態において、組成物は、非感染疾患又は自己免疫疾患、例えばベーチェット病、クローン病、フックス虹彩毛様体炎、多発血管炎性肉芽腫症、HLA-B27関連ブドウ膜炎、若年性特発性関節炎、サルコイドーシス、脊椎関節炎、交感性眼炎、尿細管間質性腎炎、及びブドウ膜炎症候群、又はフォクト-小柳-原田症候群に関連するブドウ膜炎の治療又は予防に使用するためのものである。IL-17Aは、例えばベーチェット病及びフォクト-小柳-原田病に関係していることが示されている。

20

【0084】

ブドウ膜炎の治療又は予防は、例えば症状の重症度の軽減又は再発の予防を指してもよい。

【0085】

がん

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、がんの治療又は予防に使用するためのものである。IL-17及びTh17経路は、がんの発生及び進行において中心的な役割を有することから、本発明の組成物は、がんの治療又は予防にとって有用でありうる。

30

【0086】

がんにおけるIL-17及びTh17細胞の役割は完全には理解されていないが、IL-17及びTh17細胞の多数の腫瘍促進性効果が知られている。例えば、Th17細胞及びIL-17は、血管新生を促進して、腫瘍細胞の増殖及び生存を増加させ、腫瘍促進性の転写因子を活性化することができる(Numasaki et al. (2003) Blood. 101:2620-2627、Zhang et al. (2008) Biochem. Biophys. Res. Commun. 374: 533-537、Karin (2006) Nature. 441: 431-436)。

【0087】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、腫瘍サイズの低減又は腫瘍増殖の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、腫瘍サイズの低減又は腫瘍増殖の低減に使用するためのものである。本発明の組成物は、腫瘍サイズ又は腫瘍増殖を低減するために有効でありうる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、固形腫瘍を有する患者に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物は、がんの治療において血管新生の低減又は予防に使用するためのものである。IL-17及びTh17細胞は、血管新生において中心的な役割を有する。特定の実施形態において、本発明の組成物は、転移の予防に使用するためのものである。

40

【0088】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、乳がんの治療又は予防に使用するためのものである。本発明の組成物は、乳がんを治療するために有効である場合があり、IL-17及びTh17細胞は、乳がんにおいて重要な役割を有する(Faghih et al. (2013).

50

Iranian Journal of Immunology. 10(4):193-204)。特定の実施形態において、本発明の組成物は、乳がんの治療において、腫瘍サイズの低減、腫瘍増殖の低減、又は血管新生の低減に使用するためのものである。好ましい実施形態において、がんは乳がんである。好ましい実施形態において、がんはステージⅣの乳がんである。

【0089】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、肺がんの治療又は予防に使用するためのものである。本発明の組成物は、肺がんを治療するために有効でありえ、IL-17及びTh17細胞は、肺がんにおいて重要な役割を有する(Numasaki et al. (2005) J. Immunol. 175: 6177-6189)。特定の実施形態において、本発明の組成物は、肺がんの治療において、腫瘍サイズの低減、腫瘍増殖の低減、又は血管新生の低減に使用するためのものである。好ましい実施形態において、がんは肺がんである。

10

【0090】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、肝臓がんの治療又は予防に使用するためのものである。本発明の組成物は、肝臓がんを治療するために有効でありえ、IL-17及びTh17細胞は、肝臓がんにおいて重要な役割を有する(Hammerich and Tacke (2014) Clin Exp Gastroenterol. 7:297-306)。特定の実施形態において、本発明の組成物は、肝臓がんの治療において、腫瘍サイズの低減、腫瘍増殖の低減、又は血管新生の低減に使用するためのものである。好ましい実施形態において、がんはヘパトーマ(肝細胞がん)である。

【0091】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、がん腫の治療又は予防に使用するためのものである。本発明の組成物は、がん腫の治療にとって特に有効でありうる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、非免疫原性がんの治療又は予防に使用するためのものである。本発明の組成物は、非免疫原性がんを治療するために有効でありうる。

20

【0092】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、急性リンパ球性白血病(ALL, acute lymphoblastic leukemia)、急性骨髄性白血病、副腎皮質がん、基底細胞がん、胆管がん、膀胱がん、骨腫瘍、骨肉腫/悪性線維性組織球腫、脳幹部神経膠腫、脳腫瘍、小脳星細胞腫、大脳星細胞腫/悪性神経膠腫、上衣腫、髄芽腫、テント上原始神経外胚葉腫瘍、乳がん、気管支腺腫/カルチノイド、パーキットリンパ腫、カルチノイド腫瘍、頸がん、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄増殖障害、結腸がん、皮膚T細胞リンパ腫、子宮内膜がん、上衣腫、食道がん、ユーイング肉腫、眼内黒色腫、網膜芽細胞腫、胆嚢がん、胃がん、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍(GIST, gastrointestinal stromal tumor)、胚細胞腫瘍、小児視床下部性視路神経膠腫、ホジキンリンパ腫、黒色腫、膵島細胞がん、カポジ肉腫、腎細胞がん、喉頭がん、白血病、リンパ腫、中皮腫、神経芽腫、非ホジキンリンパ腫、中咽頭がん、骨肉腫、卵巣がん、膵臓がん、副甲状腺がん、咽頭がん、下垂体腺腫、形質細胞新生物、前立腺がん、腎細胞がん、網膜芽腫、肉腫、精巣がん、甲状腺がん、又は子宮がんの治療又は予防に使用するためのものである。

30

【0093】

本発明の組成物は、さらなる治療剤と併用して使用した場合に特に有効でありうる。本発明の組成物の免疫調節効果は、より直接的な抗がん剤と併用すると有効でありうる。したがって、特定の実施形態において、本発明は、ブラウチア属の細菌株と抗がん剤を含む組成物を提供する。好ましい実施形態において、抗がん剤は、免疫チェックポイント阻害剤、標的化抗体免疫療法、CAR-T細胞療法、腫瘍溶解性ウイルス、又は細胞分裂阻害薬である。好ましい実施形態において、組成物は、Yervoy(イピリムマブ、BMS社製); Keytruda(ペムプロリズマブ、Merck社製); Opdivo(ニボルマブ、BMS社製); MEDI4736(AZ/MedImmune社製); MPDL3280A(Roche/Genentech社製); トレメリムマブ(AZ/MedImmune社製); CT-011(ピディリズマブ、CureTech社製); BMS-986015(リリルマブ、BMS社製); MEDI0680(AZ/MedImmune社製); MSB-0010718C(Merck社製); PF-05082566(P

40

50

fizer社製) ; MEDI6469 (AZ/MedImmune社製) ; BMS-986016 (BMS社製) ; BMS-663513 (ウレルマブ、BMS社製) ; IMP321 (Prima Biomed社製) ; LAG525 (Novartis社製) ; ARGX-110 (arGEN-X社製) ; PF-05082466 (Pfizer社製) ; CDX-1127 (バルリルマブ ; CellDex Therapeutics社製) ; TRX-518 (GITR Inc.社製) ; MK-4166 (Merck社製) ; JTX-2011 (Jounce Therapeutics社製) ; ARGX-115 (arGEN-X社製) ; NLG-9189 (インドキシモド、NewLink Genetics社製) ; INCB024360 (Incyte社製) ; IPH2201 (Innate Immotherapeutics/AZ社製) ; NLG-919 (NewLink Genetics社製) ; 抗VISTA (JnJ社製) ; エパカドスタット (Epacadostat) (INCB24360、Incyte社製) ; F001287 (Flexus/BMS社製) ; CP 870893 (University of Pennsylvania社製) ; MGA271 (Macrogenix社製) ; エマクツズマブ (Emactuzumab) (Roche/Genentech社製) ; ガルニセルチブ (Eli Lilly社製) ; ウロクブルマブ (BMS社製) ; BKT140/BL8040 (Biokine Therapeutics社製) ; パビツキシマブ (Peregrine Pharmaceuticals社製) ; CC 90002 (Celgene社製) ; 852A (Pfizer社製) ; VTX-2337 (Ventirx Pharmaceuticals社製) ; IMO-2055 (Hybridon、Idera Pharmaceuticals社製) ; LY2157299 (Eli Lilly社製) ; EW-7197 (Ewha Women's University社製、Korea) ; ベムラフェニブ (Plexikon社製) ; ダブラフェニブ (Genentech/GSK社製) ; BMS-777607 (BMS社製) ; BLZ945 (Memorial Sloan-Kettering Cancer Centre社製) ; Unituxin (ジヌツキシマブ、United Therapeutics Corporation社製) ; Blincyto (ブリナツモマブ、Amgen社製) ; Cyramza (ラムシルマブ、Eli Lilly社製) ; Gazyva (オビヌツズマブ、Roche/Biogen社製) ; Kadcylla (アドトラスツズマブエムタンシン、Roche/Genentech社製) ; Perjeta (ペルツズマブ、Roche/Genentech社製) ; Adcetris (ブレンツキシマブベドチン、Takeda/Millennium社製) ; Arzerra (オフアツムマブ、GSK社製) ; Vectibix (パニツムマブ、Amgen社製) ; Avastin (ベパシズマブ、Roche/Genentech社製) ; Erbitux (セツキシマブ、BMS/Merck社製) ; Bexxar (トシツモマブ - I 1 3 1、GSK社製) ; Zevalin (イブリツモマブチウキセタン、Biogen社製) ; Campath (アレムツズマブ、Bayer社製) ; Mylotarg (ゲムツズマブオゾガマイシン、Pfizer社製) ; Herceptin (トラスツズマブ、Roche/Genentech社製) ; Rituxan (リツキシマブ、Genentech/Biogen社製) ; ボロシキシマブ (Abbvie社製) ; エナバツズマブ (Abbvie社製) ; ABT-414 (Abbvie社製) ; エロツズマブ (Abbvie/BMS社製) ; ALX-0141 (Abylnx社製) ; オザラリズマブ (Ozaralizumab) (Abylnx社製) ; アクチマブ - C (Actinium社製) ; アクチマブ - P (Actinium社製) ; ミラツズマブ - ドクス (Actinium社製) ; Emab-SN-38 (Actinium社製) ; ナブツモマブエスタフェナトクス (Active Biotech社製) ; AFM13 (Affimed社製) ; AFM11 (Affimed社製) ; AGS-16C3F (Agensys社製) ; AGS-16M8F (Agensys社製) ; AGS-22ME (Agensys社製) ; AGS-15ME (Agensys社製) ; GS-67E (Agensys社製) ; ALXN6000 (サマリズマブ、Alexion社製) ; ALT-836 (Altor Bioscience社製) ; ALT-801 (Altor Bioscience社製) ; ALT-803 (Altor Bioscience社製) ; AMG780 (Amgen社製) ; AMG228 (Amgen社製) ; AMG820 (Amgen社製) ; AMG172 (Amgen社製) ; AMG595 (Amgen社製) ; AMG110 (Amgen社製) ; AMG232 (アダカツムマブ、Amgen社製) ; AMG211 (Amgen/MedImmune社製) ; BAY20-10112 (Amgen/Bayer社製) ; リロツムマブ (Amgen社製) ; デノスマブ (Amgen社製) ; AMP-514 (Amgen社製) ; MEDI575 (AZ/MedImmune社製) ; MEDI3617 (AZ/MedImmune社製) ; MEDI6383 (AZ/MedImmune社製) ; MEDI551 (AZ/MedImmune社製) ; モキセツモマブパストクス (AZ/MedImmune社製) ; MEDI565 (AZ/MedImmune社製) ; MEDI0639 (AZ/MedImmune社製) ; MEDI0680 (AZ/MedImmune社製) ; MEDI562 (AZ/MedImmune社製) ; AV-380 (AVEO社製) ; AV203 (AVEO社製) ; AV299 (AVEO社製) ; BAY79-4620 (Bayer社製) ; アネツマブラブタンシン (Bayer社製) ; パンチクツマブ (Bayer社製) ; BAY94-9343 (Bayer社製) ; シプロツズマブ (Boehringer Ingelheim社製) ; BI-836845 (Boehringer Ingelheim社製) ; B-701 (BioClin社製) ; BIIB015 (Biogen社製) ; オビヌツズマブ (Biogen/Genentech社製) ; BI-505 (Bioinvent社製) ; BI-1206 (Bioinvent社製) ; TB-403 (Bioinvent社製) ; BT-062 (Biotest社製) ; BIL-010t (Biosceptre社製) ; MDX-1203 (BMS社製) ; MDX-1204 (BMS社製) ; ネシツムマブ (BMS社製) ; CAN-4 (Cantargia AB社製) ; CDX-011 (Celldex社製) ; CDX1401 (Celldex社製) ; CDX301 (Celldex社製) ; U3-1565 (Daiichi Sankyo社製) ; パトリツ

マブ (Daiichi Sankyo社製) ; チガツズマブ (Daiichi Sankyo社製) ; ニモツズマブ (Daiichi Sankyo社製) ; DS-8895 (Daiichi Sankyo社製) ; DS-8873 (Daiichi Sankyo社製) ; DS-5573 (Daiichi Sankyo社製) ; MORab-004 (Eisai社製) ; MORab-009 (Eisai社製) ; MORab-003 (Eisai社製) ; MORab-066 (Eisai社製) ; LY3012207 (Eli Lilly社製) ; LY2875358 (Eli Lilly社製) ; LY2812176 (Eli Lilly社製) ; LY3012217 (Eli Lilly社製) ; LY2495655 (Eli Lilly社製) ; LY3012212 (Eli Lilly社製) ; LY3012211 (Eli Lilly社製) ; LY3009806 (Eli Lilly社製) ; シクスツムマブ (Eli Lilly社製) ; フランボツマブ (Eli Lilly社製) ; IMC-TR1 (Eli Lilly社製) ; ラムシルマブ (Eli Lilly社製) ; タバルマブ (Eli Lilly社製) ; ザノリムマブ (Emergent Biosolution社製) ; FG-3019 (FibroGen社製) ; FPA008 (Five Prime Therapeutics社製) ; FP-1039 (Five Prime Therapeutics社製) ; FPA144 (Five Prime Therapeutics社製) ; カツマキソマブ (Fresenius Biotech社製) ; IMAB362 (Ganymed社製) ; IMAB027 (Ganymed社製) ; HuMax-CD74 (Genmab社製) ; HuMax-TFADC (Genmab社製) ; GS-5745 (Gilead社製) ; GS-6624 (Gilead社製) ; OMP-21M18 (デムシズマブ、GSK社製) ; マパツムマブ (GSK社製) ; IMG289 (ImmunoGen社製) ; IMG901 (ImmunoGen社製) ; IMG853 (ImmunoGen社製) ; IMG529 (ImmunoGen社製) ; IMMU-130 (Immunomedics社製) ; ミラツズマブ - ドクス (Immunomedics社製) ; IMMU-115 (Immunomedics社製) ; IMMU-132 (Immunomedics社製) ; IMMU-106 (Immunomedics社製) ; IMMU-102 (Immunomedics社製) ; エブラツズマブ (Immunomedics社製) ; クリパツズマブ (Immunomedics社製) ; IPH41 (Innate Immunotherapeutics社製) ; ダラツムマブ (Janssen/Genmab社製) ; CNTO-95 (インテツムマブ、Janssen社製) ; CNTO-328 (シルツキシマブ、Janssen社製) ; KB004 (KaloBios社製) ; モガムリズマブ (Kyowa Hakko Kirrin社製) ; KW-2871 (エクロメキシマブ、Life Science社製) ; ソネブシズマブ (Lpath社製) ; マルゲツキシマブ (Margatuximab) (Macrogenics社製) ; エノブリツズマブ (Macrogenics社製) ; MGD006 (Macrogenics社製) ; MGF007 (Macrogenics社製) ; MK-0646 (ダロツズマブ、Merck社製) ; MK-3475 (Merck社製) ; Sym004 (Symphogen/Merck Serono社製) ; DI17E6 (Merck Serono社製) ; MOR208 (Morphosys社製) ; MOR202 (Morphosys社製) ; Xmab5574 (Morphosys社製) ; BPC-1C (エンシツキシマブ、Precision Biologics社製) ; TAS266 (Novartis社製) ; LFA102 (Novartis社製) ; BHQ880 (Novartis/Morphosys社製) ; QGE031 (Novartis社製) ; HCD122 (ルカツムマブ、Novartis社製) ; LJM716 (Novartis社製) ; AT355 (Novartis社製) ; OMP-21M18 (デムシズマブ、OncoMed社製) ; OMP52M51 (Oncomed/GSK社製) ; OMP-59R5 (Oncomed/GSK社製) ; バンチクツマブ (Oncomed/Bayer社製) ; CMC-544 (イノツズマブオゾガマイシン、Pfizer社製) ; PF-03446962 (Pfizer社製) ; PF-04856884 (Pfizer社製) ; PSMA-ADC (Progenics社製) ; REGN1400 (Regeneron社製) ; REGN910 (ネスバクマブ、Regeneron/Sanofi社製) ; REGN421 (エノチクマブ、Regeneron/Sanofi社製) ; RG7221、RG7356、RG7155、RG7444、RG7116、RG7458、RG7598、RG7599、RG7600、RG7636、RG7450、RG7593、RG7596、DCDS3410A、RG7414 (パルサツズマブ) ; RG7160 (イムガツズマブ) ; RG7159 (オビヌツズマブ) ; RG7686、RG3638 (オナルツズマブ) ; RG7597 (Roche/Genentech社製) ; SAR307746 (Sanofi社製) ; SAR566658 (Sanofi社製) ; SAR650984 (Sanofi社製) ; SAR153192 (Sanofi社製) ; SAR3419 (Sanofi社製) ; SAR256212 (Sanofi社製) ; SGN-LIV1A (リンツズマブ、Seattle Genetics社製) ; SGN-CD33A (Seattle Genetics社製) ; SGN-75 (ボルセツズマブマホドチン、Seattle Genetics社製) ; SGN-19A (Seattle Genetics社製) ; SGN-CD70A (Seattle Genetics社製) ; SEA-CD40 (Seattle Genetics社製) ; イブリツモマブチウキセタン (Spectrum社製) ; MLN0264 (Takeda社製) ; ガニツマブ (Takeda/Amgen社製) ; CEP-37250 (Teva社製) ; TB-403 (Thrombogenic社製) ; VB4-845 (Viventia社製) ; Xmab2512 (Xencor社製) ; Xmab5574 (Xencor社製) ; ニモツズマブ (YM Biosciences社製) ; カルルマブ (Janssen社製) ; NY-ESO TCR (Adaptimmune社製) ; MAGE-A-10 TCR (Adaptimmune社製) ; CTL019 (Novartis社製) ; JCAR015 (Juno Therapeutics社製) ; KTE-C19 CAR (Kite Pharma社製) ; UCART19 (Cellestis社製) ; BPX-401 (Bellicum Pharmaceuticals社製) ; BPX-601 (Bellicum Pharmaceuticals社製) ; ATTCK20 (Unum Therapeutics社製) ; CAR-NKG2D (Cel

yad社製) ; Onyx-015 (Onyx Pharmaceuticals社製) ; H101 (Shanghai Sunwaybio社製) ; DNX-2401 (DNATRIX社製) ; VCN-01 (VCN Biosciences社製) ; Colo-Ad1 (PsiOxus Therapeutics社製) ; ProstAtak (Advantagene社製) ; Oncos-102 (Oncos Therapeutics社製) ; CG0070 (Cold Genesys社製) ; Pexa-vac (JX-594, Jennerex Biotherapeutics社製) ; GL-ONC1 (Genelux社製) ; T-VEC (Amgen社製) ; G207 (Medigene社製) ; HF10 (Takara Bio社製) ; SEPREHVIR (HSV1716, Virttu Biologics社製) ; OrientX010 (OrientGene Biotechnology社製) ; Reolysin (Oncolytics Biotech社製) ; SVV-001 (Neotropix社製) ; Cacatak (CVA21, Viralytics社製) ; Alimta (Eli Lilly社製) 、 シスプラチン、 オキサリプラチン、 イリノテカン、 フォリン酸、 メトトレキサート、 シクロホスファミド、 5 - フルオロウラシル、 Zykadia (Novartis社製) 、 Tafinlar (GSK社製) 、 Xalkori (Pfizer社製) 、 Iressa (AZ社製) 、 Gilotrif (Boehringer Ingelheim社製) 、 Tarceva (Astellas Pharma社製) 、 Halaven (Eisai Pharma社製) 、 ベリバリブ (Abbvie社製) 、 AZD9291 (AZ社製) 、 アレクチニブ (Chugai社製) 、 LDK378 (Novartis社製) 、 ガネテスピブ (Synta Pharma社製) 、 テルジェンブマツセル - L (NewLink Genetics社製) 、 GV1001 (Kaelo-GemVax社製) 、 チパンチニブ (ArQule社製) ; サイトキサン (BMS社製) ; オンコピン (Eli Lilly社製) ; アドリアマイシン (Pfizer社製) ; ゲムザール (Eli Lilly社製) ; Xeloda (Roche社製) ; Ixempra (BMS社製) ; Abraxane (Celgene社製) ; Trelstar (Debiopharm社製) ; Taxotere (Sanofi社製) ; Nexavar (Bayer社製) ; IMMU-132 (Immunomedics社製) ; E7449 (Eisai社製) ; Thermodox (Celsion社製) ; Cometriq (Exellix社製) ; Lonsurf (Taiho Pharmaceuticals社製) ; Camptosar (Pfizer社製) ; UFT (Taiho Pharmaceuticals社製) ; 及びTS-1 (Taiho Pharmaceuticals社製) からなる群から選択される抗がん剤を含む。

10

20

30

40

50

【0094】

投与様式

好ましくは、本発明の組成物は、本発明の細菌株の腸管への送達及び/又は腸管での部分的若しくは完全な定着を可能にするために、消化管に投与される。一般的に、本発明の組成物は経口投与されるが、それらは直腸、鼻腔内、又は口腔内若しくは舌下経路によって投与されてもよい。

【0095】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、フォーム (foam)、スプレー、又はゲルとして投与されてもよい。

【0096】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、直腸内坐剤などの坐剤として、例えばカカオ脂 (ココアバター)、合成ハードファット (例えば、suppocire、ウイテゾール)、グリセロゼラチン、ポリエチレングリコール、又はソープグリセリン組成物の形態で投与されてもよい。

【0097】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、チューブ、例えば経鼻胃チューブ、経口胃チューブ、胃チューブ、空腸瘻チューブ (Jチューブ)、経皮内視鏡胃瘻 (PEG, percutaneous endoscopic gastrostomy) を介して、又はポート、例えば胃、十二指腸へのアクセスを提供する胸壁ポート、及び他の好適なアクセスポートを介して消化管に投与される。

【0098】

本発明の組成物は、1回投与されてもよく、又は治療レジメンの一部として連続的に投与されてもよい。特定の実施形態において、本発明の組成物は、毎日投与される。

【0099】

本発明の特定の実施形態において、本発明による治療は、患者の腸内微生物叢の評価を伴う。本発明の株の送達及び/若しくは部分的若しくは完全な定着が達成されず、有効性が観察されなければ治療を繰り返してもよく、又は送達及び/若しくは部分的若しくは完全な定着が成功して有効性が観察されれば治療を中止してもよい。

【0100】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、炎症性疾患又は自己免疫疾患がその子宮内の子供及び／又は出産後の子供に発症するのを予防するために妊娠中の動物、例えばヒトなどの哺乳動物に投与されてもよい。

【0101】

本発明の組成物は、IL-17若しくはTh17経路によって媒介される疾患若しくは状態を有すると診断されている患者、又はIL-17若しくはTh17経路によって媒介される疾患若しくは状態のリスクがあると特定されている患者に投与されてもよい。組成物はまた、健康な患者におけるIL-17又はTh17経路によって媒介される疾患又は状態の発症を予防するための予防的手段として投与されてもよい。

10

【0102】

本発明の組成物は、異常な腸内微生物叢を有すると特定されている患者に投与されてもよい。例えば、患者は、ブラウチア、特にブラウチア・ステルコリス又はブラウチア・ウエクスレラエの定着が低減していてもよく、又は定着していなくてもよい。

【0103】

本発明の化合物は、食品、例えば栄養サプリメントとして投与されてもよい。

【0104】

一般的に本発明の組成物は、ヒトの治療のためのものであるが、本発明の組成物を、家禽、ブタ、ネコ、イヌ、ウマ、又はウサギなどの単胃哺乳動物を含む動物を治療するために使用してもよい。本発明の組成物は、動物の成長及び能力を増強するために有用でありうる。動物に投与する場合、強制経口投与を使用してもよい。

20

【0105】

組成物

一般的に、本発明の組成物は、細菌を含む。本発明の好ましい実施形態において、組成物は凍結乾燥形態で製剤化される。例えば、本発明の組成物は、本発明の細菌株を含む顆粒剤又はゼラチンカプセル、例えば硬ゼラチンカプセルを含みうる。

【0106】

好ましくは、本発明の組成物は、凍結乾燥細菌を含む。細菌の凍結乾燥は十分に確立された手順であり、関連する指針を、例えば参考文献Miyamoto-Shinohara et al. (2008) *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 54, 9-24, Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols, ed. by Day and McLellan, Humana Press, Leslie et al. (1995) *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3592-3597で入手することができる。

30

【0107】

あるいは、本発明の組成物は、生きた活性な細菌培養物を含んでもよい。

【0108】

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、腸管に細菌株を送達することができるようにカプセル化されている。カプセル化は、pHの変化によって誘発されてもよい化学的又は物理的刺激、例えば圧力、酵素活性、又は物理的崩壊によって破裂させることによって、目標とする位置に送達するまで組成物を分解から保護する。任意の適切なカプセル化法が用いられうる。例示的なカプセル化技術としては、多孔質マトリクス内の捕捉、固体担体表面への接着若しくは吸着、フロキュレーション又は架橋剤による自己凝集、及び微孔性の膜若しくはマイクロカプセルへの機械的封じ込めが挙げられる。本発明の組成物を調製するために有用でありうるカプセル化の指針は、例えば参考文献Mitropoulou et al. (2013) *J Nutr Metab.* (2013) 716861及びKailasapathy et al. (2002) *Curr Issues Intest Microbiol.* 3(2):39-48で入手することができる。

40

【0109】

組成物は、経口投与されてもよく、錠剤、カプセル剤、又は散剤の形態であってもよい。ブラウチアは嫌気性菌であることから、カプセル化産物が好ましい。インビボでの送達並びに／又は部分的若しくは完全な定着及び生存を改善するために、他の成分（例えばビタミンC）を、酸素スクベンジャー及びプレバイオティック基質として含ませてもよい

50

。あるいは、本発明のプロバイオティック組成物は、食品若しくは栄養製品、例えばミルク若しくは乳清ベースの発酵乳製品、又は医薬品として経口投与されてもよい。

【0110】

組成物はプロバイオティックとして製剤化されてもよい。

【0111】

本発明の組成物は、本発明の細菌株の治療有効量を含む。細菌株の治療有効量は、患者に対して有益な効果を発揮するために十分である。細菌株の治療有効量は、患者の腸管への送達及び/又は部分的若しくは完全な定着が起こるために十分でありうる。

【0112】

例えば成人に関する細菌の好適な1日量は、約 1×10^3 ~ 約 1×10^{11} コロニー形成単位(CFU, colony forming unit)、例えば約 1×10^7 ~ 約 1×10^{10} CFUであってもよく、別の例では約 1×10^6 ~ 約 1×10^{10} CFUであってもよい。

10

【0113】

特定の実施形態において、組成物は、組成物の重量1gあたり約 1×10^6 ~ 約 1×10^{11} CFUの量の細菌株を含有し、例えば約 1×10^8 ~ 約 1×10^{10} CFU/gの量の細菌株を含む。用量は、例えば、1g、3g、5g、及び10gであってもよい。

【0114】

典型的には、プロバイオティック、例えば本発明の組成物を、少なくとも1つの好適なプレバイオティック化合物と組み合わせてもよい。プレバイオティック化合物は通常、オリゴ糖若しくは多糖などの消化できない炭水化物、又は上部消化管で分解若しくは吸収されない糖アルコールである。公知のプレバイオティクスとしては、市販の製品、例えばイヌリン及びトランスガラクトオリゴ糖が挙げられる。

20

【0115】

特定の実施形態において、本発明のプロバイオティック組成物は、プレバイオティック化合物を、組成物の全重量に対して約1 ~ 約30重量% (例えば、5 ~ 20重量%)の量で含む。炭水化物は、フラクトオリゴ糖(又はFOS, fructo-oligosaccharides)、短鎖フラクトオリゴ糖、イヌリン、イソマルトオリゴ糖、ペクチン、キシロオリゴ糖(又はXOS, xylo-oligosaccharides)、キトサンオリゴ糖(又はCOS, chitosan-oligosaccharides)、ベータグルカン、アレイブル(arable)ゴム改変レジスタントスターチ、ポリデキストロース、D-タガトース、アカシアファイバー、キャロブ、オート麦、及びシトラスファイバーからなる群から選択されうる。1つの態様において、プレバイオティクスは、短鎖フラクトオリゴ糖(本明細書において単純にするために、以降FOSs-c.c (short-chain fructo-oligosaccharide)として示す)であり、前記FOSs-c.cは、消化されない炭水化物であり、一般的にはビートシュガーの変換によって得られ、3つのグルコース分子が結合しているサッカロース分子を含む。

30

【0116】

本発明の組成物は、薬学的に許容される賦形剤又は担体を含んでもよい。そのような好適な賦形剤の例は、参考文献Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Edition, (1994), Edited by A Wade and PJ Wellerに見出されうる。治療での使用のために許容可能な担体又は希釈剤は、薬学分野において周知であり、例えば、参考文献Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985)に記載されている。好適な担体の例としては、ラクトース、スターチ、グルコース、メチルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、マンニトール、ソルビトールなどが挙げられる。好適な希釈剤の例には、エタノール、グリセロール、及び水が挙げられる。薬学的担体、賦形剤、又は希釈剤の選択は、意図される投与経路及び標準的な薬学の実践に関して選択することができる。医薬組成物は、担体、賦形剤、若しくは希釈剤として、又は担体、賦形剤、若しくは希釈剤に加えて、いかなる好適な結合剤、潤滑剤、懸濁剤、コーティング剤、可溶化剤を含んでもよい。好適な結合剤の例としては、スターチ、ゼラチン、天然の糖、例えばグルコース、無水乳糖、流動性乳糖、ベータ乳糖、コーンシロップなど、天然及び合成ゴム、例えばアカシア、トラガカントなど、又はアルギン酸ナトリウム、カルボキシメチ

40

50

ルセルロース及びポリエチレングリコールが挙げられる。好適な潤滑剤の例としては、オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウムなどが挙げられる。保存剤、安定剤、色素、及び香味料も医薬組成物中に提供されてもよい。保存剤の例としては、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、及びp-ヒドロキシ安息香酸のエステルが挙げられる。抗酸化剤及び懸濁剤も同様に使用してもよい。

【0117】

本発明の組成物は、食品として処方されてもよい。例えば、食品は、例えば栄養サプリメントのように、本発明の治療効果に加えて、栄養上の利益をもたらさう。同様に、本発明の組成物の味を向上させるように、又は医薬組成物よりむしろ一般的な食品により類似することによって消費者に組成物をより魅力的にするように、食品を処方してもよい。特定の実施形態において、本発明の組成物は乳製品として処方される。用語「乳製品」は、多様な脂肪含有量を有するいかなる液体又は半固体のミルク又は乳清ベースの製品も意味する。乳製品は、例えば牛乳、ヤギ乳、ヒツジ乳、スキムミルク、全乳、粉乳から還元したミルク、及び加工していない乳清、又は加工製品、例えばヨーグルト、凝固乳、カード、サワーミルク、サワー全乳、バターミルク、及び他のサワーミルク製品でありうる。別の重要な群としては、乳飲料、例えば乳清飲料、発酵乳、コンデンスミルク、幼児用又はベビーミルク；フレーバーミルク、アイスクリーム、ミルク含有食品、例えばスイーツが挙げられる。

10

【0118】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、1つの細菌株又は種を含有し、他のいかなる細菌株又は種も含有しない。そのような組成物は、ごく微量の又は生物学的に無関係な量の他の細菌株又は種を含んでもよい。そのような組成物は、他の生物体の種を実質的に含まない培養物であってもよい。

20

【0119】

本発明による使用のための組成物は、販売承認を必要としてもよく、必要としなくてもよい。

【0120】

いくつかの例において、凍結乾燥細菌株は、投与前に再構成される。いくつかの場合において、再構成は、本明細書において記述される希釈剤の使用によって行われる。

30

【0121】

本発明の組成物は、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、又は担体を含みうる。

【0122】

特定の実施形態において、本発明は、本発明の細菌株と、薬学的に許容される賦形剤、担体、又は希釈剤とを含む医薬組成物であって、細菌株が、それを必要とする対象に投与した場合に障害を治療するために十分な量で存在し、障害が、喘息、アレルギー性喘息、好中球性喘息、変形性関節症、乾癬性関節炎、若年性特発性関節炎、視神経脊髄炎（デビック病）、強直性脊椎炎、脊椎関節炎、全身性紅斑性狼瘡、セリアック病、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、がん、乳がん、結腸がん、肺がん、卵巣がん、ブドウ膜炎、強膜炎、血管炎、ベーチェット病、アテローム性動脈硬化症、アトピー性皮膚炎、肺気腫、歯周炎、アレルギー性鼻炎、及び同種異系移植片拒絶からなる群から選択される、医薬組成物を提供する。

40

【0123】

特定の実施形態において、本発明は、本発明の細菌株と、薬学的に許容される賦形剤、担体、又は希釈剤とを含む医薬組成物であって、細菌株が、IL-17又はTh17経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防するために十分な量で存在する、医薬組成物を提供する。好ましい実施形態において、前記疾患又は状態は、関節リウマチ、多発性硬化症、乾癬、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、セリアック病、喘息、アレルギー性喘息、好中球性喘息、変形性関節症、乾癬性関節炎、若年性特発性関節炎、視神経脊髄炎（デビック病）、強直性脊椎炎、脊椎関節炎、全身性紅斑性狼瘡、慢性閉塞性肺

50

疾患（COPD）、がん、乳がん、結腸がん、肺がん、卵巣がん、ブドウ膜炎、強膜炎、血管炎、ベーチェット病、アテローム性動脈硬化症、アトピー性皮膚炎、肺気腫、歯周炎、アレルギー性鼻炎、及び同種異系移植片拒絶からなる群から選択される。

【0124】

特定の実施形態において、本発明は、細菌株の量が、組成物の重量1グラムあたり約 1×10^3 ~ 約 1×10^{11} コロニー形成単位である、上記医薬組成物を提供する。

【0125】

特定の実施形態において、本発明は、1g、3g、5g又は10gの用量で投与される、上記医薬組成物を提供する。

【0126】

特定の実施形態において、本発明は、経口、直腸内、皮下、鼻腔内、口腔内、及び舌下からなる群から選択される方法によって投与される、上記医薬組成物を提供する。

【0127】

特定の実施形態において、本発明は、乳糖、スターチ、グルコース、メチルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、マンニトール、及びソルビトールからなる群から選択される担体を含む、上記医薬組成物を提供する。

【0128】

特定の実施形態において、本発明は、エタノール、グリセロール、及び水からなる群から選択される希釈剤を含む、上記医薬組成物を提供する。

【0129】

特定の実施形態において、本発明は、スターチ、ゼラチン、グルコース、無水乳糖、流動性乳糖、ベータ乳糖、コーンシロップ、アカシア、トラガカント、アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、ポリエチレングリコール、オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、及び塩化ナトリウムからなる群から選択される賦形剤を含む、上記医薬組成物を提供する。

【0130】

特定の実施形態において、本発明は、保存剤、抗酸化剤、及び安定剤の少なくとも1つをさらに含む、上記医薬組成物を提供する。

【0131】

特定の実施形態において、本発明は、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、及びp-ヒドロキシ安息香酸のエステルからなる群から選択される保存剤を含む、上記医薬組成物を提供する。

【0132】

特定の実施形態において、本発明は、前記細菌株が凍結乾燥されている、上記医薬組成物を提供する。

【0133】

特定の実施形態において、本発明は、組成物を密封容器中で約4ヶ月又は約25ヶ月で保存して、容器を相対湿度50%の雰囲気中に置いた場合に、コロニー形成単位として測定した細菌株の少なくとも80%が少なくとも約1か月、3か月、6か月、1年、1.5年、2年、2.5年、又は3年の期間残っている、上記医薬組成物を提供する。

【0134】

培養方法

本発明に使用するための細菌株は、例えば参考文献Handbook of Microbiological Media, Fourth Edition (2010) Ronald Atlas, CRC Press、Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry (1996) Jennie C. Hunter-Cevera, Academic Press、Strobel (2009) Methods Mol Biol. 581:247-61に詳述されている標準的な微生物学の技術を使用して培養することができる。

【0135】

培養のために使用する固体又は液体培地は、YCF A寒天又はYCF A培地であっても

10

20

30

40

50

よい。YCF A培地は、(100mlあたり、概算値)カシトン(1.0g)、酵母抽出物(0.25g)、 NaHCO_3 (0.4g)、システイン(0.1g)、 K_2HPO_4 (0.045g)、 KH_2PO_4 (0.045g)、 NaCl (0.09g)、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.09g)、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.009g)、 CaCl_2 (0.009g)、レサズリン(0.1mg)、ヘミン(1mg)、ビオチン(1 μg)、コバラミン(1 μg)、p-アミノ安息香酸(3 μg)、フォリン酸(5 μg)、及びピリドキサミン(15 μg)を含みうる。

【0136】

ワクチン組成物に使用するための細菌株

本発明者らは、本発明の細菌株がIL-17又はTh17経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防するために有用であることを特定した。これは、おそらく、本発明の細菌株が宿主免疫系に効果を及ぼした結果である。したがって、本発明の組成物は、また、ワクチン組成物として投与した場合に、IL-17又はTh17経路によって媒介される疾患又は状態を予防するためにも有用でありうる。特定のそのような実施形態において、本発明の細菌株を、殺滅、不活化、又は弱毒化させてもよい。特定のそのような実施形態において、組成物は、ワクチンアジュバントを含んでもよい。特定の実施形態において、組成物は、注射による投与、例えば皮下注射による投与用である。

10

【0137】

全般

本発明の実践は、特に示されていなければ、当業者の能力範囲内である化学、生化学、分子生物学、免疫学、及び薬理学の通常の方法を使用する。そのような技術は、文献に十分に説明されている。例えば、参考文献Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20th edition, ISBN: 0683306472及びMolecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course, (Ream et al., eds., 1998, Academic Press)、Methods In Enzymology (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.)、Handbook of Experimental Immunology, Vols. I IV (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds., 1986, Blackwell Scientific Publications)、Sambrook et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition (Cold Spring Harbor Laboratory Press)、Handbook of Surface and Colloidal Chemistry (Birdi, K.S. ed., CRC Press, 1997)、Ausubel et al. (eds) (2002) Short protocols in molecular biology, 5th edition (Current Protocols)、PCR (Introduction to Biotechniques Series), 2nd ed. (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)等を参照されたい。

20

30

【0138】

用語「含む (comprising)」は、「含む (including)」並びに「からなる」を包含し、例えばX「を含む」組成物は、Xのみからなってもよく、又は追加のもの、例えばX+Yを含んでもよい。

【0139】

数値xに関連する用語「約」は、任意であり、例えば $x \pm 10\%$ を意味する。

【0140】

用語「実質的に」は、「完全に」を除外せず、例えばYを「実質的に含まない」組成物は、Yを完全に含まなくてもよい。必要に応じて、用語「実質的に」を、本発明の定義から省略してもよい。

40

【0141】

2つのヌクレオチド配列間のパーセント配列同一性に対する言及は、整列させた場合に、2つの配列の比較においてヌクレオチドのパーセントが同じであることを意味する。このアラインメント及びパーセント相同性又は配列同一性は、当技術分野で公知のソフトウェアプログラム、例えば参考文献Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987) Supplement 30の7.7.18章に記載のプログラムを使用して決定することができる。好ましいアラインメントは、ギャップオープンペナルティ12及びギャップ伸長ペナルティ2、BLOSUM行列62と共にアフィンギャップ検索を使用

50

するSmith-Watermanの相同性検索アルゴリズムによって決定される。Smith-Watermanの相同性検索アルゴリズムは、参考文献Smith & Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2: 482-489に開示される。

【0142】

具体的に示していなければ、多数のステップを含む工程又は方法は、方法の開始若しくは終了時に追加のステップを含んでもよく、又は追加の介在ステップを含んでもよい。同様に、必要に応じて、ステップを結合、省略、又は別の順序で行ってもよい。

【0143】

本発明の多様な実施形態を本明細書において記述する。それぞれの実施形態において明記された特徴を他の明記された特徴と結びつけて、さらなる実施形態を提供してもよいと認識される。特に、本明細書において好適である、典型である、又は好ましいと強調された実施形態を互いに組み合わせてもよい（相互に排他的である場合を除く）。

【実施例1】

【0144】

チリダニによる喘息のマウスモデルにおける細菌接種物の有効性
概要

マウスに、本発明による細菌株を含む組成物を投与して、次いでチリダニ（HDM, house dust mite）抽出物をチャレンジして、アレルギー性炎症応答を誘発した。HDMに対する炎症応答は、好酸球及び好中球成分を含み、IL-17及びTh17経路によって媒介され、喘息のモデルである。本発明の組成物によって処置したマウスが示した炎症応答の程度及び特徴を対照群と比較した。本発明の組成物は、炎症応答を軽減させて、好酸球及び好中球の動員を低減させることが見出され、このことは、本発明の組成物が、IL-17及びTh17媒介疾患、例えば好酸球増加、好中球増加、及び喘息を処置するために有用でありうることを示している。

【0145】

株

830：ブラウチア・ステルコリス

【0146】

試験計画

群：

1. 陰性対照群。媒体対照による処置（経口投与）
6. 治療用細菌接種株830による処置（経口投与）
7. 陽性対照群。デキサメタゾンによる処置（腹腔内投与）
8. 無処置対照群

1群当たりのマウスの数 = 5

- 14 ~ 13日目：媒体対照を毎日経口投与（群1）

- 14 ~ 13日目：治療用細菌接種物を毎日経口投与（群2 ~ 6）

0、2、4、7、9、11日目：容量30 μ lのPBS中のHDM（チリダニ抽出物 - カタログ番号：XPB70D3A25、ロット番号：231897、Greer Laboratories社製、Lenoir, NC, USA）15 μ gを鼻腔内投与（群1 ~ 8）

0、2、4、7、9、11日目：デキサメタゾンの投与（腹腔内投与、3 mg / kg、Sigma-Aldrich社製、カタログ番号D1159）（群7）

14日目：分析のため全ての動物の屠殺。

マウスの総数 = 40

【0147】

エンドポイント及び分析

14日目に、動物を致死量のペントバルビタール（Streuli Pharma AG社製、Uznach、カタログ番号：1170139A）の腹腔内注射により屠殺した直後に気管支肺胞洗浄（BAL, bronchoalveolar lavage）を行った。

【0148】

細胞をBAL（気管支肺胞洗浄）液から単離して、白血球百分率を決定した（細胞数200個/試料）。

【0149】

材料及び方法

マウス。雌性7週齢BALB/cマウスをCharles River Laboratoriesから購入して、1ケージあたり全5匹ずつ無作為にケージ（換気ケージ、Indulab AG社製、Gams, Switzerland、ケージタイプ：“The Sealsafe（商標）- IVCケージ。製品番号1248L）に割付した。ケージには、試験番号、群番号、及び実験開始日のラベルを貼った。マウスを毎週モニターして、試験開始（試験日-14日）前7日間、施設に馴化させた。試験日-14日目で、動物は8週齢であった。飲料水及び食事を自由に与えた。ケージエンリッチメントが存在した。動物の毎日の世話は、地域当局の承認番号2283.1（Service de la consommation et des affaires veterinaires du Canton de Vaudによる発行及び承認）に従って実施した。飲料水及び食事を自由に与え、1日1回交換した。ケージエンリッチメントが存在した。実験動物の飼育、遺伝子改変動物の作製、及び動物実験法に関するFVO（スイス連邦獣医局（Federal Veterinary Office））の法令455.163の下で、スイスの当局によって示された動物福祉規則を遵守した。

10

【0150】

細菌接種物の培養。無菌的ワークステーション内で、細菌の凍結バイアルを、手袋をはめた手で加温することによって融解して、内容物約0.7mlを、嫌気性YCFAM1を含むHungateチューブ（カタログ番号、1020471、Glasgeratebau Ochs社製、Bovenden-Lenglern, Germany）に注入した。通常、株あたり2本のチューブを調製した。次いで、Hungateチューブを37℃で最大24~26時間（株830に関して）インキュベート（静置）した。

20

【0151】

媒体対照の培養。嫌気性YCFAM1を含むHungateチューブを37℃で16時間インキュベート（静置）した。

【0152】

細菌接種物又は媒体対照の投与。培養した細菌接種物又は媒体対照400µlを強制経口投与によって毎日投与した。

【0153】

鼻腔内感作。マウスを、9.75mg/kgのキシラソール及び48.75mg/kgのケタソール（Dr. E. Graeub AG社製、Bern, Switzerland）の腹腔内注射によって麻酔し、鼻腔当たり容量30µlのPBS中のHDM（カタログ番号：XPB70D3A25、ロット番号：231897、Greer Laboratories社製、Lenoir, NC, USA）15µgを投与した。

30

【0154】

陽性対照化合物であるデキサメタゾンの調製及び投与。デキサメタゾン-21-リン酸二ナトリウム塩（Sigma-Aldrich社製、カタログ番号D1159、ロット番号SLBD.1030V）をH₂Oに溶解して、上記の試験プロトコルに記載した日に3mg/kgの用量を200µlの容量で動物に経口投与した。

40

【0155】

終了手順。14日目に、動物を致死量のペントバルビタール（Streuli Pharma AG社製、Uznach、カタログ番号：1170139A）の腹腔内注射により屠殺した直後に食塩水500µlによって気管支肺胞洗浄（BAL）を行った。

【0156】

BALへの細胞浸潤の測定。BAL液から細胞を単離して、標準的な形態学及び細胞化学の基準に基づいて、白血球百分率を決定した。

【0157】

グラフ及び統計分析。グラフは全てGraphpad Prismバージョン6によって作製し、一元配置ANOVAを適用した。統計分析の結果を個々のデータ表と共に提供した。エラーバ

50

ーは、平均値の標準誤差 (S E M , Standard Error of the Mean) を表す。

【 0 1 5 8 】

結果及び分析

実験結果を図 1 ~ 9 に示す。

【 0 1 5 9 】

細菌又は媒体で処置したマウスにおいて病的状態又は死亡は認められなかった。2つの対照、すなわち媒体処置 (陰性対照) 及びデキサメタゾン処置 (陽性対照) は、予想通りの結果を示し、デキサメタゾン処置後に好酸球増加及び好中球増加の減少が認められた。

【 0 1 6 0 】

この実験の最も重要な結果を図 6 及び 7 に示し、これらは H D M によるチャレンジ後の気管支肺胞洗浄液において検出された好中球の総数及びパーセントを報告する。株 8 3 0 の投与によって、媒体のみの対照と比較して B A L 中の好中球の総数及び好中球の割合が低減した。

10

【 実施例 2 】

【 0 1 6 1 】

重度の好中球性喘息のマウスモデルにおける細菌接種物の有効性

概要

マウスに、本発明による細菌株を含む組成物を投与して、次いでチリダニ (H D M) 抽出物の皮下投与によって感作し、鼻腔内投与により H D M をチャレンジして、重度の好中球性喘息の炎症応答のモデルとした。本発明の組成物で処置したマウスが示した炎症応答の程度及び特徴を対照群と比較した。本発明の組成物は、抗 I L - 1 7 抗体の投与を含む陽性対照と同等に炎症応答を軽減させて、特に好中球の動員を低減させることが見出された。したがって、データは、本発明の組成物が I L - 1 7 及び T h 1 7 媒介状態、例えば好中球増加及び喘息を処置するために有用でありうることを示している。

20

【 0 1 6 2 】

株

8 3 0 : ブラウチア・ステルコリス

【 0 1 6 3 】

試験計画

群 :

- 1 . 陰性対照群、媒体対照による処置 (経口投与)
- 6 . 治療用細菌接種株 8 3 0 による処置 (経口投与)
- 7 . 陽性対照群。抗 I L - 1 7 による処置 (腹腔内投与)
- 8 . 無処置対照群
- 9 . 健康なマウス (ベースライン)

30

1 群当たりのマウスの数 (群 1 ~ 8) = 5

- 1 4 ~ 1 7 日目 : 媒体対照を毎日経口投与 (群 1)

- 1 4 ~ 1 7 日目 : 治療用細菌接種物を毎日経口投与 (群 2 ~ 6)

0 日目 : C F A と混合した H D M による感作 (皮下投与) (群 1 ~ 8)

7 日目 : C F A と混合した H D M による感作 (皮下投与) (群 1 ~ 8)

40

1 3、1 5、1 7 日目 : 抗 I L - 1 7 中和抗体の腹腔内投与 (群 7)

1 4、1 5、1 6、1 7 日目 : 鼻腔当たり 3 0 μ l の P B S 中の H D M をチャレンジ (群 1 ~ 8)

1 8 日目 : 分析のため全ての動物の屠殺。

【 0 1 6 4 】

エンドポイント及び分析

1 4 日目に、動物を致死量のペントバルビタール (Streuli Pharma AG 社製、Uznach、カタログ番号 : 1 1 7 0 1 3 9 A) の腹腔内注射により屠殺した直後に気管支肺胞洗浄 (B A L) を行った。細胞を B A L 液から単離して、白血球百分率を決定した (細胞数 2 0 0 個 / 試料) 。

50

【0165】

材料及び方法

マウス。雌性7週齢C57BL/6マウスをCharles River Laboratoriesから購入して、1ケージあたり全5匹ずつ無作為にケージ（換気ケージ、Indulab AG社製、Gams, Switzerland、ケージタイプ：“The Sealsafe（商標）- IVCケージ。製品番号1248L）に割付した。ケージには、試験番号、群番号、及び実験開始日のラベルを貼った。マウスを毎週モニターして、試験開始（試験日 - 14日）前7日間、施設に馴化させた。試験日 - 14日目で、動物は8週齢であった。飲料水及び食事を自由に与えた。ケージエンリッチメントが存在した。動物の毎日の世話は、地域当局の承認番号2283.1（Service de la consommation et des affaires veterinaires du Canton de Vaud 10
による発行及び承認）に従って実施した。飲料水及び食事を自由に与え、1日1回交換した。ケージエンリッチメントが存在した。実験動物の飼育、遺伝子改変動物の作製、及び動物実験法に関するFVO（スイス連邦獣医局）の法令455.163の下で、スイスの当局によって示された動物福祉規則を遵守した。

【0166】

細菌接種物の培養。無菌的ワークステーション内で、細菌の凍結バイアルを、手袋をはめた手で加温することによって融解して、内容物約0.7mlを、嫌気性YCF A 8mlを含有するHungateチューブ（カタログ番号、1020471、Glasgeratebau Ochs社製、Bovenden-Lenglern, Germany）に注入した。通常、株あたり2本のチューブを調製した。次いで、Hungateチューブを37℃で最大24~26時間（株830に関して）インキュベート（静置）した。 20

【0167】

媒体対照の培養。嫌気性YCF A 8mlを含有するHungateチューブを37℃で16時間インキュベート（静置）した。

【0168】

細菌接種物又は媒体対照の投与。培養した細菌接種物又は媒体対照400µlを強制経口投与によって毎日投与した。

【0169】

HDMの感作。PBS中のHDM（カタログ番号：XPB70D3A25、ロット番号：231897、Greer Laboratories社製、Lenoir, NC, USA）50µgを、フロイント完全アジュバント（CFA（complete Freund's adjuvant）、Chondrex Inc社製、Washington, USA）の等量と共に乳化させて、200µlの容量を反対側の脇腹に2週間の間に2回皮下投与した。2回目の免疫の1週間後に、マウスを、9.75mg/kgのキシラソール及び48.75mg/kgのケタソール（Dr. E. Graeub AG社製、Bern, Switzerland）の腹腔内注射によって麻酔して、容量30µlのPBS中のHDM15µgを4日連続して鼻腔内にチャレンジした。最終チャレンジの1日後に分析を行った。 30

【0170】

陽性対照化合物である抗マウスIL-17抗体の調製及び投与。抗IL-17中和抗体をBio X Cell社から購入して、4℃で保存し（クローン17F3、カタログ番号BE0173、Bio X Cell社製）、上記の試験プロトコールに記載した日に12.5mg/kgの用量を動物に腹腔内投与した。 40

【0171】

終了手順。18日目に、動物を致死量のペントバルビタール（Streuli Pharma AG社製、Uznach、カタログ番号：1170139A）の腹腔内注射により屠殺した直後に食塩水500µlによって気管支肺胞洗浄（BAL）を行った。

【0172】

BALへの細胞浸潤の測定。BAL液から細胞を単離して、標準的な形態学及び細胞化学の基準に基づいて、白血球百分率を決定した。

【0173】

グラフ及び統計分析。グラフは全てGraphpad Prismバージョン6によって作製し、一元 50

配置 ANOVA を適用した。統計分析の結果を個々のデータ表と共に提供した。エラーバーは、平均値の標準誤差 (SEM) を表す。

【0174】

結果及び分析

実験結果を図 10 ~ 18 に示す。

【0175】

細菌又は媒体で処置したマウスにおいて病的状態又は死亡は認められなかった。図 11、12、15、及び 16 に示すように、株 830 で処置した特定のマウスは、好酸球増加及び好中球増加の低減を示した。

【実施例 3】

【0176】

II 型コラーゲン誘発関節炎マウスモデルにおける関節炎を処置するための細菌接種物の有効性

材料及び方法

株

830 : ブラウチア・ステルコリス

【0177】

細菌培養

細菌培養物を、嫌気性のワークステーション (Don Whitley Scientific 社製) の中で投与のために増殖させた。

【0178】

細菌株 # 830 を、グリセロール保存株から増殖させた。上記グリセロール保存株を -80 で保存した。1 週間に 3 回、グリセロール保存株を室温で融解して、YCF A プレートで画線培養した。新しいグリセロールアリコートそれぞれの場合に使用した。細菌を所定のプレートにおいて最大 72 時間増殖させた。

【0179】

動物に投与する溶液を 1 日 2 回、8 時間間隔で午前 (AM) と午後 (PM) の処置のために調製した。画線培養したプレートから細菌コロニーを取り上げて、YCF A 培地を含有するチューブに移した。細菌株 # 830 を 24 時間増殖させた後、午前の投与を行った。午後の投与のために、細菌を YCF A 培地に 1% で継代培養した。午前及び午後の処置の調製後に、それぞれの株に関して OD 値を記録した。

【0180】

II 型コラーゲン誘発関節炎マウスモデル

成体雄性 DBA / 1 マウスを実験群に無作為に割付して、2 週間馴化させた。0 日目に、動物に、4 mg / ml ヒト型結核菌 (Mycobacterium tuberculosis) H37Ra を補充したフロイント不完全アジュバント中に II 型コラーゲン (CII, type II collagen) 100 マイクログラムを含有する乳剤 100 マイクロリットルを皮下注射によって投与した。21 日目に、動物に、フロイント不完全アジュバント中に II 型コラーゲン 100 µ を含有する追加免疫用の乳剤を皮下注射によって投与した。

【0181】

以下の投与スケジュールに従って処置を行った。- 14 日から 45 日目の実験終了時まで、動物の体重を 1 週間に 3 回測定した。21 日目から実験終了まで、動物を、後肢及び前肢の腫脹、橈骨手根 (手首) 関節の腫脹、及び脛骨足根骨 (足首) 関節の腫脹を含む関節炎の臨床兆候に関して週に 3 回スコア化した。

【0182】

45 日目に、マウスを間引いて、最終血液試料をサイトカイン分析のために採取した。

【0183】

- 14 日目、0 日目、及び 45 日目に、便試料を微生物学的分析のために収集して、直ちに急速凍結して、- 80 で保存した。

【0184】

10

20

30

40

50

コラーゲン誘発関節炎 (CIA, collagen-induced arthritis) マウスモデルは、関節リウマチの十分に確立されたマウスモデルである (Brand et al. (2007) Nature Protocols. 2(5):1269-1275)。CIIによる免疫は、滑膜過形成、単核球浸潤、及び軟骨破壊を含む、関節リウマチのいくつかの重要な病理学的特徴を含む病原性を引き起こす。重要なことに、CIAの発症は、IL-17Aの分泌を通してTh17細胞によって媒介される (Jiao et al. (2014) Immunopathology and Infectious Diseases. 184(4):1085-93)。関節炎モデルの基礎となる免疫応答は、ヒト型結核菌を補充したフロイントアジュバントを使用することによって増強される。

【0185】

21日目に、各群の3匹のサテライト動物から脾臓を収集した。細胞をII型コラーゲンの存在下又は非存在下で72時間培養した。培養上清及び最終血清中の、TNF- α 、IL-6、IFN- γ 、IL-4、IL-10、及びIL-17を含むサイトカインを、Luminexによって定量した。細胞の増殖は、トリチウム化チミジン取り込み法を使用して定量した。

【0186】

処置群及び用量

全ての群はn = 15 (主な試験群に関してn = 12、サテライト群に関してn = 3)であった。

【0187】

生物治療薬のために使用される媒体は、酵母抽出物 - カシトン - 脂肪酸 (YCF A、Yeast extract-Casitone-Fatty Acid) 培地であった。

【0188】

【表1】

	群	用量	投与		疾患の誘導
			経路	レジメン	
1	媒体	5 ml/kg	PO	BID: -14日目から 実験終了まで	0日目:コラーゲン/CFAを 1回、SC 21日目:コラーゲン/IFAを 1回、SC
3	生物治療薬#830	5 ml/kg			

PO:強制経口投与、SC:皮下注射、BID:1日2回、CFA:フロイント完全アジュバント。

ト。

【0189】

体重

- 14日目から実験終了まで、動物の体重を週に3回測定した。データをグラフにした (平均値 \pm SEM)。

【0190】

非特異的臨床所見

- 14日目から実験終了まで、動物を、異常な姿勢 (丸くなる)、異常な被毛の状態 (立毛)、及び異常な活動レベル (活動の低減又は増加) を含む、非特異的臨床兆候に関して毎日チェックした。

【0191】

臨床所見

21日目から45日目の実験終了まで、動物を、後肢及び前肢の腫脹、橈骨手根 (手首

）関節の腫脹、及び脛骨足根骨（足首）関節の腫脹を含む関節炎の臨床兆候に関して週に3回スコア化した。各脚を以下の尺度を使用してスコア化した：（0）正常、（1）わずかに腫脹、（2）軽度の腫脹、（3）中等度の腫脹、及び（4）重度の腫脹。それぞれの脚スコアを加算することにより臨床スコアを計算した。1匹の動物に関して可能性がある最大臨床スコアは（16）であった。2回連続して（12）に等しいスコアを有する動物、及びいずれか1回の折に（12）より大きいスコアを有する動物を間引いた。データをグラフにした（平均値 ± S E M）。

【0192】

細胞増殖の分析

21日目に、1群あたり3匹のサテライト動物を間引いて脾臓を摘出した。脾細胞をII型コラーゲンの存在下又は非存在下で72時間培養した。72時間後、細胞をトリチウム化チミジンの存在下で一晩パルスした。チミジンの取り込みを測定することによって、細胞の増殖を定量した。データをグラフにした（平均値 ± S E M）。上清を採取して、重要なサイトカインの存在に関して試験した。

10

【0193】

サイトカインの分析

脾細胞培養物からの最終上清を、LuminexによってTNF- α 、IL-6、IFN- γ 、IL-4、IL-10、及びIL-17を定量するために試験した。データをグラフにした（平均値 ± S E M）。

20

【0194】

微生物学的分析

-14日目、0日目、及び45日目に、便試料を各動物から収集して、直後に急速凍結して、-80℃で保存した。盲腸（内容物を含む）を直ちに急速凍結して、-80℃で保存した。細菌を播くことによって、細菌同定試験を毎日実施した。

【0195】

組織病理学

実験の終了時に、後肢を組織固定液で保存した。試料を脱灰液に移した。組織試料を処理して切片にして、ヘマトキシリン・エオシンで染色した。試験計画に対して盲検の適任の組織病理学者が、炎症、関節軟骨損傷、及び下層の骨幹端骨損傷を含む、関節炎の兆候に関して切片をスコア化した。詳細なスコア化システムを使用した（以下を参照されたい）。データをグラフにした（平均値 ± S E M）。生データ及び分析したデータも同様に代表的な写真と共に提供した。

30

【0196】

【表 2】

表1.組織病理学スコア化システム

グレード	説明	
炎症		
0	正常な関節	
1	好中球が多数を占める炎症を有する軽度の滑膜過形成。関節腔に少数の好中球及びマクロファージが認められる。	10
2	好中球及びマクロファージの両方を伴う中等度から顕著な炎症を有する滑膜過形成。関節腔に好中球及びマクロファージが認められる。いくつかの壊死組織片が存在してもよい。	
3	好中球及びマクロファージの両方を伴う顕著な炎症を有する滑膜過形成。滑膜細胞内層の喪失。炎症は、滑膜から筋肉を含む周辺組織まで及んでもよい。多数の好中球及びマクロファージが、有意な壊死組織片と共に関節腔に認められる。	
関節軟骨損傷		
0	正常な関節	
1	関節軟骨はごく軽度の変性変化を示す。初期パンヌス形成が辺縁に存在してもよい。	20
2	関節軟骨は中等度の変性変化及び局所的喪失を示す。パンヌス形成が局所に存在する。	
3	広範囲のパンヌス形成を伴う関節軟骨の有意な破壊及び喪失	
下層の骨幹端骨に対する損傷		
0	正常な関節	
1	下層の骨幹端骨に変化はない	
2	骨幹端骨の局所的壊死又は線維症であってもよい	
3	骨幹端骨の破壊又は崩壊。骨幹端の骨髓腔に及ぶ広範囲の炎症、壊死、又は線維症。	30

【0197】

結果及び分析

生存及び非特異的臨床所見

一部の動物は、関節炎の臨床兆候の重症度により、又は非特異的臨床所見の重症度により、試験の予定終了前に間引いた。

【0198】

群1（媒体処置）の動物1匹を、処置前期間の間に間引いた（-14日目～0日目、供給元から到着時に脚が骨折していた動物）。

【0199】

動物7匹を、関節炎の臨床兆候の重症度により間引いた；群1（媒体処置）の動物5匹及び群3（生物治療薬#830による処置）の動物2匹。

【0200】

動物6匹を、異常な姿勢（丸くなる）、異常な被毛の状態（立毛）、異常な活動レベル（活動の低減）を含む、非特異的臨床兆候の重症度により間引いた；群1（媒体処置）の動物3匹及び群3（生物治療薬#830による処置）の動物3匹。

【0201】

50

体重

体重データを - 14 日目から 0 日目まで記録して、初回 (- 14 日) の体重のパーセントとして表記して、二元配置 ANOVA の後に、 - 14 日目との多重比較、次いで媒体処置群との多重比較のためにダネット事後検定によって分析した。データを図 19 に示す。実験の予定終了日以前に間引いた動物からのデータを分析から除外した。

【 0 2 0 2 】

- 14 日目と比較すると、強制経口投与による 1 日 2 回投与は、媒体処置群において - 9 日及び - 7 日目、並びに群 3 (生物治療薬 # 830 による処置) において - 11 日目及び - 9 日目に有意な体重減少を誘導した。

【 0 2 0 3 】

体重データを 0 日目から 28 日目まで記録して、初回 (0 日目) の体重のパーセントとして表記して、二元配置 ANOVA の後に、媒体群の 0 日目との多重比較、次いで媒体処置群との多重比較のためにダネット事後検定によって分析した。データを図 20 に示す。実験の予定終了日以前に間引いた動物及びサテライト動物からのデータを分析から除外した。28 日目、35 日目、及び 42 日目のデータを、一元配置 ANOVA の後に媒体処置群との多重比較のためにダネット事後検定によってさらに分析した。

【 0 2 0 4 】

関節炎の臨床兆候の発生は、媒体処置群の 0 日目と比較して 26 日目及び 28 日目 (p は 0.0001 未満) で有意に体重が減少したことに関連した。

【 0 2 0 5 】

媒体処置群と比較すると、体重は、群 3 (生物治療薬 # 830 による処置において 28 日目 (0.005 未満) で有意に高かった。

【 0 2 0 6 】

臨床所見

臨床スコアデータを二元配置 ANOVA の後、媒体処置群における日毎の多重比較のために、次いでそれぞれの日の実験群と媒体処置群の間の多重比較のためにダネット事後検定によって分析した。データを図 21 に示す。実験終了前に間引いた動物から記録されたデータを分析から除外した。関節炎の臨床兆候の重症度により動物を間引いた場合、最後に記録されたスコアを、翌日に報告して、統計分析に使用した。

【 0 2 0 7 】

臨床スコアの有意な増加は、媒体処置群において、21 日目と比較して 28 日目 ~ 45 日目 (p は 0.0001 未満) まで観察された。

【 0 2 0 8 】

生物治療薬 # 830 は、媒体処置群と比較して 28 日目から 45 日目まで臨床スコアの低減を誘導した。低減は、31 日目及び 45 日目で統計学的に有意であった (p は 0.05 未満) 。

【 0 2 0 9 】

細胞増殖の分析

アッセイを検証するために、脾細胞を、陽性対照刺激として可溶性抗 CD3 及び抗 CD28 (抗 CD3 / CD28) の存在下で培養して、細胞の増殖能を確認した。

【 0 2 1 0 】

抗 CD3 / CD28 に対する強い増殖応答が、全ての実験群で観察され、細胞が健康で生存しており、活性化シグナルに応答可能であることを示した。

【 0 2 1 1 】

II 型コラーゲン (CII) の存在下での増殖応答を試験するために、脾細胞を、 $50 \mu\text{g} / \text{ml}$ の CII の存在下で培養した。CII に対する脾細胞の増殖応答を、二元配置 ANOVA の後、非刺激脾細胞と CII 刺激脾細胞の間の多重比較のためにサイダック事後検定によって、及び一元配置 ANOVA の後に、異なる実験群と媒体処置群との CII 刺激応答の比較のためにダネット事後検定によって分析した。データを図 22 に示す。

【 0 2 1 2 】

10

20

30

40

50

CIIは、媒体処置群における非刺激脾細胞と比較すると³H-チミジン取り込み(cpm)の非常に有意な増加を誘導した(pは0.0001未満)。

【0213】

生物治療薬#830によって処置した群は、媒体処置群より有意に低いレベルのCII誘導脾細胞増殖を証明した。

【0214】

組織培養上清中のサイトカインレベル

抗CD3/CD28刺激培養に由来する組織培養上清中のそれぞれのサイトカインのレベルを、luminex分析によって測定した。これらは、測定した全てのサイトカインに関して強い応答を示した(媒体群における平均レベルは以下の通りであった: IL-4 = 6, 406 pg/ml; IL-6 = 306 pg/ml; IL-10 = 10,987 pg/ml; IL-17A = 11,447 pg/ml; IFN- γ = 15,581 pg/ml; TNF- α = 76 pg/ml)。

10

【0215】

以下の章は、II型コラーゲン刺激培養物から得られたデータを要約する。該当する場合、非刺激脾細胞及びCII刺激脾細胞の上清中のサイトカインレベルの差の統計分析を、二元配置ANOVAの後に多重比較のためにサイダック事後検定を使用して行ったが、生物治療薬処置群と媒体処置群におけるCII刺激応答の比較のためには、一元配置ANOVAの後のダネット事後検定を使用した。いずれの場合にも群の間でサイトカインレベルに有意差はなかった。これはおそらく使用した母集団のサイズ(n=3)が小さいためである。

20

【0216】

データの実質的な拡散を有するサイトカインに関するデータの分布をより正確に提示するために、これらを散布図として表す。

【0217】

CIIによる刺激後の組織培養上清中のIL-4の群平均値は5 pg/ml未満であった。これらは生物学的に有意ではないと考えられ、本明細書に含まなかった。コラーゲンによる刺激後の組織培養上清中のTNF- α の群平均値は、定量限界未満であった。

【0218】

IFN- γ の上清中レベル(図23)

IL-17と共に、IFN- γ は、CIAモデルにおいて疾患を駆動する主要なサイトカインである。図23における散布図は、CII刺激後のIFN- γ レベルを実証しており、群の中央値は、生物治療薬と比較して媒体処置群ではより高かった。

30

【0219】

IL-17Aの上清中レベル(図24)

IL-17Aのレベルは、媒体処置群に関してCII刺激培養において50 pg/mlであった。このサイトカインのレベルは、媒体処置群と比較して生物治療薬群ではより低いように思われた。

【0220】

IL-10の上清中レベル(図25)

媒体処置群におけるIL-10のレベルはCII刺激及び培地対照培養に関してそれぞれ、13 pg/ml及び2.1 pg/mlであった。炎症及び炎症促進性サイトカインの誘導は抗炎症フィードバック機構を伴いうることから、媒体処置群ではより高レベルのIL-10(抗炎症性サイトカインである)が予想されうる。

40

【0221】

IL-6の上清中レベル(図26)

炎症性サイトカイン、例えばIL-6及びTNF- α は、典型的には、抗CII培養において高レベルで産生されない。しかし、それらのレベルは、免疫調節の結果として変化する。CII刺激培養におけるIL-6のレベルは控えめであり、10 pg/mlに達した。培地対照培養より高いものの、これらの差は、小さすぎて統計分析を行うための論理的

50

根拠を提供できなかった。

【0222】

微生物学的分析

細菌の増殖は、分光光度計を使用して600nmでの光学密度を測定することによって、確認した。細菌の同一性は、画線培養したプレートの写真を参照写真と比較することによって確認した。

【0223】

細菌調製法を改善した後、測定された高いOD値によって示されるように、一貫して高用量の細菌株を-2日目及び-3日目に投与した。

【0224】

便試料を収集して、-14日目、0日目及び終了時に急速凍結した。

【0225】

組織病理学

組織病理学の結果を図65~69に示す。このモデルに関して予想されるように、関節炎の有無又は存在する変化の重症度に関して個体内及び個体間変動が観察された。

【0226】

病態の性質はこのモデルに関して予想された通りであり、関節周囲軟組織（筋肉、脂肪組織、皮膚コラーゲン）を巻き込むように広がる滑膜及び滑液包の広範な混合型の慢性活動型炎症が認められた。最も重度の罹患関節では、関節内壊死組織片を伴う関節軟骨の変性及び喪失、並びに線維症及び炎症による関節及び骨構造の炎症及び破壊が認められた。

【0227】

組織病理学的変化の発生率は、媒体-80%（16/20）；生物治療薬#830-20%（4/20）であった。生物治療薬#830による処置は、媒体処置群と比較してマウス後肢の組織病理学スコアの発生率を低減させた（図65~68を参照されたい）。組織病理学スコアは、ノンパラメトリックデータに関する一元配置ANOVA（Kruskal-Wallis検定）の後に、媒体処置群との多重比較に関するDunnの事後検定によって分析した。生物治療薬#830は、媒体処置群と比較して組織病理学で観察された関節炎症スコアの有意な低減を誘導した（pは0.01未満）。生物治療薬#830は、媒体処置群と比較して組織病理学で観察された軟骨損傷スコアの有意な低減を誘導した（pは0.001未満）。生物治療薬#830は、媒体処置群と比較して組織病理学で観察された骨損傷スコアの有意な低減を誘導した（pは0.001未満）。生物治療薬#830は、媒体処置群と比較して総組織病理学スコアの有意な低減を誘導した（pは0.001未満）。

【0228】

要約

臨床スコアの増加は、DBA/1マウスのこの関節炎モデルについて予想されるように、II型コラーゲンの最初の投与後28日目から観察された。生物治療薬#830は、このモデルの関節炎を処置するために有効であることが示された。生物治療薬#830は、組織病理学的分析において証明されたように、臨床スコアの重症度を低減させるため、及び関節における病理学的疾患を低減させるために有効であった。

【0229】

II型コラーゲンに対する増殖性の記憶応答が、全ての実験群の脾細胞培養物において認められた。生物治療薬#830による処置後では、コラーゲン特異的応答が有意に低減された（群3）。

【0230】

試験したT細胞サイトカインの多くが、媒体処置群においてII型コラーゲン刺激と培地対照との間で検出可能な増加を示した。これらの増加は、生物治療薬処置群では明白ではなかった。このことは、上記のII型コラーゲンに対する増殖性の記憶応答を広く支持している。

【0231】

このモデル及びヒトRAにおける病原性の応答であるTh1/Th17軸が抑制されて

10

20

30

40

50

いる証拠が認められた。サイトカインレベルの低減と増殖の低減との相関は、免疫の調節を示唆している。この調節がTh2関連IL-4のレベルの増加に起因するのか、又は免疫調節性サイトカインであるIL-10の増加に起因するのかは証拠がない。

【実施例4】

【0232】

チリダニによる喘息のマウスモデルにおける細菌接種物の効果に関するさらなる分析

実施例1で試験したマウスにさらなる分析を行って、アレルギー性喘息の炎症応答に及ぼす本発明の組成物の効果をさらに特徴付けた。

【0233】

材料及び方法

14日目での血液抜き取り及び血清調製。動物の血液試料を心穿刺によって収集した。14000gで5分間遠心分離することによって、血液試料から血清を単離して、-20で保存した。

【0234】

14日目での臓器の摘出。後続の組織学的分析のために左の肺葉のコレクションをホルマリンに入れた。右肺葉(残りの全ての肺葉)のコレクション及び血清を採取して急速凍結して後続の分析を行った。残りのBAL液を後続の分析のために急速凍結した。

【0235】

血清及びBAL液中の抗体レベルの測定

BAL液及び血清中の総IgE及びチリダニ(HDM)特異的IgG1抗体産生を、ELISAアッセイによって測定した。

【0236】

肺の単離及び組織学的分析

左の肺葉をホルマリンで固定した後、パラフィンに包埋して、切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン及びPASで染色した。その後の組織学スコア化は以下のように盲検に行った: 試料あたり無作為な5つの視野を炎症(気管支周囲浸潤及び血管周囲浸潤)及び粘液産生に関してスコア化した。炎症性浸潤を以下のグレード化システムによってスコア化した:

- 0 - 正常
- 1 - 軽度の炎症性浸潤
- 2 - 中等度の炎症性浸潤
- 3 - 顕著な炎症性浸潤
- 4 - 重度の炎症性浸潤
- 5 - 非常に重度の炎症性浸潤

それぞれの視野において、気道のサイズを測定して、粘液細胞数/umを定量した。

【0237】

肺組織における炎症メディエータの測定

炎症メディエータの定量のために単離した右肺葉(残りの全ての肺葉)を急速凍結した後、CCl11、IFN-ガンマ、IL-1アルファ、IL-1ベータ、IL-4、IL-5、IL-9、IL-17A、CXCL1、CCl3、CXCL2、及びCCl5を、市販の多重アッセイ(Merck-Millipore社)によって測定した。分析は、製造業者の説明書に従って実施した。

【0238】

結果及び分析

実験の結果を図27~45に示す。

【0239】

実施例1に記述される知見を支持して、株830によって処置したマウスの肺組織における細胞浸潤の分析は、平均炎症スコアの顕著で統計学的に有意な低減を示した(図31及び33を参照されたい)。

【0240】

10

20

30

40

50

BAL液及び血清中の抗体レベルを分析した(図27~30を参照されたい)。血清抗体レベルに及ぼす細菌処置の明確な効果は観察されなかった。このことは、各処置のデータの拡散及びエラーが大きく、陽性対照及び陰性対照が予想通りの反応を示さないように思われたことから、実験の失敗を反映する可能性がある。同様にベースラインの血清抗体レベルが何らかの変化を隠すこともありえた。

【0241】

同様に、肺組織におけるサイトカインレベルに及ぼす細菌処置の明確な効果は観察されなかった(図35~45を参照されたい)。この場合も、各処置のデータの広がり及びエラーが大きく、陽性対照及び陰性対照が予想通りの反応を示さないように思われたことから、実験の失敗を反映する可能性がある。同様に、関係する作用機序が影響を及ぼしたのがより早期のサイトカイン応答であり、そのため最後のHDM気道チャレンジの4日後でもはや検出不能であった可能性もある。現在の試験においてサイトカインデータを解釈する際には、検出されるレベルのばらつきにより、何らかの注意を払うべきである。このばらつきは一部には、異なる分析のために肺組織を分離し、そのため一つの肺葉が、まだら状の炎症分布により他のマウスの同じ肺葉を完全には表していなかった又は同等ではなかったという事実によって説明できる。

10

【実施例5】

【0242】

重度の好中球性喘息のマウスモデルにおける細菌接種物の効果のさらなる分析

実施例2で試験したマウスにさらなる分析を行って、重度の喘息に関連する好中球の応答に及ぼす本発明の組成物の効果をさらに特徴付けた。

20

【0243】

材料及び方法

18日目での臓器の摘出。後続の組織学的分析のために左の肺葉のコレクションをホルマリンに入れた。右肺葉(残りの全ての肺葉)のコレクション及び血清を採取して急速凍結して後続の分析を行った。残りのBAL液を後続の分析のために急速凍結した。

【0244】

肺組織における炎症メディエータの測定(後続の分析)。炎症メディエータの定量のために単離した右肺葉(残りの全ての肺葉)を急速凍結した後、IFN-ガンマ、IL-1アルファ、IL-1ベータ、CXCL1、CCL3、CXCL2、CCL5、IL-17A、TNF-アルファ、IL-17F、IL-23、及びIL-33を、市販の多重アッセイ(Merck-Millipore社製)によって測定した。分析は、製造業者の説明書に従って実施した。

30

【0245】

血清及びBAL液中の抗体レベルの測定(後続の分析)。BAL及び血清中のチリゲン(HDM)特異的IgG1及びIgG2a抗体産生を、ELISAアッセイによって測定した。

【0246】

肺の単離及び組織学的分析(後続の分析)。左の肺葉をホルマリンで固定した後、パラフィンに包埋して、切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン及びPASで染色した。その後の組織学スコア化は以下のように盲検的に行った: 試料あたり無作為な5つの視野を、炎症(気管支周囲浸潤及び血管周囲浸潤)及び粘液産生に関してスコア化した。炎症性浸潤を以下のグレード化システムによってスコア化した:

40

0 - 正常

1 - 軽度の炎症性浸潤

2 - 中等度の炎症性浸潤

3 - 顕著な炎症性浸潤

4 - 重度の炎症性浸潤

5 - 非常に重度の炎症性浸潤

【0247】

50

結果及び分析

実験結果を図46～63に示す。

【0248】

実施例4と同様にサイトカインレベルに関連して、各処置のデータの拡散及びエラーバーが大きく、陽性対照及び陰性対照が予想通りの反応を示さないように思われる。同様に、作用機序がより早期のサイトカイン応答に影響を及ぼすことに関係し、そのため最後のHDM気道チャレンジの4日後でもはや検出不能であった可能性もある。現在の試験においてサイトカインデータを解釈する際には、検出されるレベルのばらつきにより、何らかの注意を払うべきである。このばらつきは一部には、異なる分析のために肺組織を分離し、そのため一つの肺葉が、まだら状の炎症分布により他のマウスの同じ肺葉を完全には表

10

【0249】

上記の注意を考慮すると、図53のデータは、株830による処置が、TNFのレベルの低減をもたらすことを示唆しており、このことは間質細胞又は自然免疫細胞によるケモカイン放出（及びしたがって細胞の動員）に及ぼす影響に関連する作用機序を示しうる。TNFはTh17経路の一部である。このデータセットを共に考慮すると、株830は重度の好中球性喘息のこのマウスモデルにおいて炎症メカニズムに有益な効果を及ぼしたと結論することができる。

20

【実施例6】

【0250】

多発性硬化症のマウスモデルにおける細菌接種物の有効性
概要

マウスに、本発明による細菌株を含む組成物を投与して、次いでマウスをミエリン乏突起膠細胞糖タンパク質によって免疫して、実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE, experimental autoimmune encephalomyelitis）を誘発した。EAEは、ヒト多発性硬化症の最も一般的に使用される実験モデルである。本発明の組成物は、疾患の発生率及び疾患の重症度に対して顕著な効果を有することが見出された。

30

【0251】

株

830：受託番号NCIMB 43281として寄託された細菌

【0252】

試験計画

群：

1. 陰性対照群。媒体対照による処置（経口投与）
5. 治療用細菌接種株830による処置（経口投与）
9. 陽性対照群。デキサメタゾンによる処置（腹腔内投与）
10. 無処置対照群。

40

1群当たりのマウスの数 = 10

- 14～27日目：媒体対照の毎日経口投与（群1）

- 14～27日目：治療用細菌接種物の毎日経口投与（群4）

0～28日目：デキサメタゾンの週に3回腹腔内投与（群9）

0日目：MOG35-55（ミエリン乏突起膠細胞糖タンパク質 - 2mg/ml）及びCFA（2mg/ml MTB）を1：1で混合して、1mg/ml溶液を得た。ペプチド-CFA混合物100µlを、各後肢に皮下注射した。百日咳毒素（300ng）を腹腔内投与した。

1日目：百日咳毒素の腹腔内投与（300ng）。

7日目以降：疾患の発生率及び体重を週に3回測定。

【0253】

50

エンドポイント及び分析

マウスを疾患の発生率及び疾患の重症度に関して週に3回分析した。スコア化は盲検で行った。疾患の重症度は、0～5までの範囲の臨床スコアを使用して評価し、5はマウスの死亡を示した（以下の臨床スコアスコア化システムを参照されたい）。

【0254】

モニタリング

表記の日にマウスの体重を測定して、疾患活動度スコア及び疾患の発生率を観察した。

【0255】

疾患活動度スコア観察：

0 - 非免疫マウスと比較して運動機能に明白な変化はない。

0.5 - 尾の先端を引きずる。

1.0 - 尾を引きずる。

1.5 - 尾を引きずり、後肢が阻害される。

2.0 - 尾を引きずり、後肢の虚弱。

又は - 歩行を観察すると頭部の傾きの明白な兆候がある。平衡が不良である。

2.5 - 尾を引きずり、後肢を引きずる。

又は - マウスが時に倒れるほど強い頭部の傾きが見られる。

3.0 - 尾を引きずり、後肢の完全な麻痺。

3.5 - 尾を引きずり、後肢の完全な麻痺。

これに加えて、マウスはケージの中を移動するが、横向きに寝かせると、立つことができない。

後肢は完全に体の片面に寄っている。

4.0 - 尾を引きずり、後肢の完全な麻痺及び前肢の部分麻痺。

マウスはケージの中の移動が最小限であるが、覚醒して餌を食べる

4.5 - 完全な後肢の麻痺及び前肢の部分麻痺。ケージの中を移動しない。

マウスを直ちに安楽死させてケージから出す。

5.0 - マウスを重度の麻痺により安楽死させる。

動物が、1に等しい又は1より大きい疾患活動度スコアを有する場合、プラスの疾患発生率スコアを有すると考えられる。

【0256】

結果

試験結果を図70及び71に示す。

【0257】

陰性対照群における疾患の誘導は、媒体対照及び無処置対照によって示された高いスコアにより、成功であった。株830による処置の効果は顕著であり、株830で処置したマウスは、疾患の発生率及び疾患の重症度の顕著な低減を示した。実際に、疾患の発生率及び疾患の重症度の低減は、陽性対照群と同等であった。これらのデータは、株830が、多発性硬化症の治療又は予防にとって有用でありうることを示している。

【実施例7】

【0258】

ブドウ膜炎のマウスモデルにおける細菌接種物の有効性

概要

本試験は、ブドウ膜炎に及ぼす細菌投与の効果を試験するために、光受容体間レチノイド結合タンパク質（IRBP, interphotoreceptor retinoid-binding protein）- 誘導ブドウ膜炎のマウスモデルを使用した。ブドウ膜炎は、眼内炎症及び網膜組織破壊に起因する失明の危険がある状態である。この疾患は、げっ歯類の実験的自己免疫性ブドウ膜炎（EAU, experimental autoimmune uveoretinitis）のモデルで試験することができる（Caspi (2003) Curr Protoc Immunol. Chapter 15:Unit 15.6）。EAUは、Th1/Th17細胞が網膜抗原に向けられ、常在単核細胞及び浸潤性単核細胞を活性化させるサイトカインを産生し、組織破壊に至る臓器特異的障害である。EAUは、光受容体間レ

10

20

30

40

50

チノイド結合タンパク質ペプチド (I R B P p , interphotoreceptor retinoid binding protein peptide) を含む網膜抗原のチャレンジによりマウスにおいて誘導することができる。疾患の発症は通常、8 ~ 9日目から起こり、14 ~ 15日後にピークとなる。臨床疾患の兆候は、局所内視鏡眼底イメージング (T E F I , topical endoscopic fundal imaging) を使用してモニターすることができる。

【 0 2 5 9 】

株

M R X 0 0 8 : ブラウチア・ウェクスレラエ、受託番号 N C I M B 4 2 4 8 6 として寄託された細菌。

【 0 2 6 0 】

生物治療薬は、グリコール保存株として提供された。微生物増殖培地 (Y C F A) を薬剤の培養のために使用した。

【 0 2 6 1 】

マウス

マウスは、C 5 7 B L / 6 系統であり、試験開始時6週齢を超えていた。マウス72匹を使用した (+ サテライト動物36匹)。健康でない動物を試験から除外した。動物を、サーモスタットでモニターする待機室 (2 2 ± 4) に特定病原体不在 (s p f , specific pathogen free) 条件で収容した。動物を使用前に少なくとも1週間、標準的な動物室条件で馴化させた。動物の健康状態をこの期間を通してモニターして、実験で使用するための各動物の適格性を試験開始前に評価した。マウスを試験期間中ケージあたり最大10匹の動物の群で収容した。馴化期間及び試験期間を通して、放射線滅菌固形飼料 (Lab 飼料、E U げっ歯類飼料22%、5 L F 5) 及び水を自由に摂取させた。飼料又は水のいかなる構成成分も試験を妨害しないと考えられる。

【 0 2 6 2 】

実験の概要

成体の雌性C 5 7 B L / 6 マウスを実験群に無作為に割付して、1週間馴化させた。以下のスケジュールに従って処置を投与した。0日目、動物に、2 . 5 m g / m l ヒト型結核菌 (Mycobacterium Tuberculosis) H 3 7 R a を補充したフロイント完全アジュバント (C F A , complete Freund ' s adjuvant) 中に光受容体間レチノイド結合タンパク質ペプチド 1 - 2 0 (I R B P p 1 - 2 0) 2 0 0 μ g を含有する乳剤を皮下注射によって投与した。同様に0日目に、動物に百日咳 (Bordetella Pertussis) 毒素 1 . 5 μ g を腹腔内注射により投与した。- 1 4 日目から、動物の体重を週に3回測定する。- 1 日目から4 2 日目の実験終了まで、動物を局所内視鏡眼底イメージング (T E F I) を使用してブドウ膜炎の臨床兆候に関して週に2回モニターする。

【 0 2 6 3 】

投与スケジュール

群は全て n = 1 2 である。

【 0 2 6 4 】

経口投与のための媒体は Y C F A 培地である。

【 0 2 6 5 】

1 日 2 回経口投与の投与体積は 5 m l / k g である。

【 0 2 6 6 】

10

20

30

40

【表 3】

群	処置	用量	経路	頻度	疾患の誘導
1	媒体	5 ml/kg	PO	-14 日～試験 終了まで BID	0 日目: IRBP/CFA, SC
2	MRX008	5 ml/kg			0 日目: PTx, IP

PO: 経口投与、BID: 1 日 2 回、SC: 皮下注射、IP: 腹腔内注射、IRBP: 光受容体間レチノイド結合タンパク質、CFA: フロイント完全アジュバント、PTx: 百日咳毒素

10

【0267】

薬物シクロスポリン A による処置を使用する陽性対照群も同様に試験した。

【0268】

読み出し

体重。 - 14 日目から動物の体重を週に 3 回測定する。2 回連続してその初回 (0 日目) の体重の 15% に等しい又は 15% より大きい体重減少を有する動物は間引く。

【0269】

非特異的臨床所見。 - 14 日目から実験終了まで、動物を、異常な姿勢 (丸くなる)、異常な被毛の状態 (立毛)、及び異常な活動レベル (活動の低減又は増加) を含む、非特異的臨床兆候に関して毎日チェックする。

20

【0270】

臨床スコア: 局所内視鏡眼底イメージング (TEFI) による網膜のイメージング。 - 1 日目から実験終了まで、動物を、ブドウ膜炎の臨床兆候に関して週に 2 回スコア化する。網膜の画像は、1% トロピカミドの後に 2.5% 塩化フェニレフリンを使用して瞳孔を散大させた後の非麻酔下の拘束動物において TEFI を使用して得る。網膜の画像は以下のシステムを使用してスコア化する。最大累積スコアは 20 である。

【0271】

【表 4】

スコア	視神経乳頭の炎症	網膜血管	網膜組織浸潤	構造損傷
1	最少	1～4か所の軽度のカフイング	1～4か所の小さい病変又は1か所の線状病変	網膜の面積の1/4～3/4を巻き込む網膜病変又は萎縮
2	軽度	4か所を超える軽度のカフイング又は1～3か所の中等度のカフイング	5～10か所の小さい病変又は2～3か所の線状病変	多数の小さい病変(瘢痕)又は3か所以下の線状病変(瘢痕)を伴う網膜全体の萎縮
3	中等度	3か所を超える中等度のカフイング	10か所を超える小さい病変又は3か所を超える線状病変	3か所を超える線状病変又は融合性病変(瘢痕)を伴う網膜全体の萎縮
4	重度	1か所を超える重度のカフイング	線状病変の融合	網膜ひだを伴う網膜剥離
5	失明(視界のきかない又は重度の剥離)			

10

20

【0272】

結果

試験結果を図72～74に示す。

30

【0273】

細胞増殖(サテライト動物、21日目)。流入領域リンパ節(DLN, draining lymph node)を摘出して細胞を単離した。計数後、細胞をIRBPペプチドの存在下又は非存在下で72時間培養した。サイトカイン分析のために上清を除去した後、3H-チミジンによってパルスした。次に細胞をさらに18時間培養後、回収してベータカウンターを使用して3H-チミジン取り込みによって増殖を決定した。

【0274】

群は、IRBP刺激に対して細胞増殖を示し、これらは培地対照ウェルで認められた(これらのバックグラウンド値をIRBP結果から差し引いてcpmとしてデータを提供した)。いずれの群も陽性対照刺激(抗CD3/CD28)に対して強い増殖応答を示し、培養細胞が生存しており、増殖可能であることを示した(データは示していない)。

40

【0275】

IRBPペプチドに対する増殖応答を、実験群と対照群の刺激応答を比較するために、一元配置ANOVAの後にDunnetの事後検定によって分析した。

【0276】

疾患対照動物におけるIRBPペプチドに対する増殖応答は、このモデルに関して予想された程度の応答であった。陽性対照薬であるシクロスポリンAは、増殖を低減させたが、この低減は、統計学的有意性に達しなかった(図72)。

【0277】

処置群(媒体のみを含む)は、対照動物で認められる上記の増殖の有意でない増加を示

50

した。

【0278】

IRBPペプチドに対する増殖応答を、処置群と媒体群の刺激応答を比較するために、一元配置ANOVAの後にDunnetの事後検定によって分析した。統計学的な差は認められなかった。

【0279】

臨床スコア：局所内視鏡眼底イメージング（TEFI）による網膜のイメージング。0日目から21日目まで対照群において測定されたTEFIスコアデータを、ノンパラメトリックデータに関するKruskal-Wallis検定の後に実験日の間の多重比較のためのDunnの事後検定によって分析した。

10

【0280】

IRBP投与は、対照群における0日目と比較して14日目（ p は0.01未満）以降及び21日目（ p は0.0001未満）に測定したTEFIスコアの有意な増加を誘導した（図73）。

【0281】

全ての実験群で21日目に測定されたTEFIスコアを、ノンパラメトリックデータに関するKruskal-Wallis検定の後に実験群の間の多重比較のためにDunnの事後検定によって分析した。

【0282】

実験のこの段階で、実験群の間に有意差は認められなかったが、TEFIスコアは陰性対照群よりMRX008処置群で低かった。実際に、TEFIスコアは、陽性対照であるシクロスポリンA処置群よりMRX008処置群で低かった。

20

【0283】

結論。IRBPペプチドに対する増殖応答が、未処置動物を除く全ての実験群のリンパ節培養物において認められ、疾患の誘導が成功したことを示していた。TEFIによって決定した臨床スコアは、このIRBP誘導ブドウ膜炎モデルにおいて予想されたように14日目から増加した。21日目まで、実験群の間に有意差は認められないが、疾患の発生率及び疾患の重症度の顕著な低減がMRX008処置群において観察され、これは陽性対照群で認められたものより大きい低減であった。特に、これらのデータは、株MRX008による処置が、炎症細胞による網膜損傷、視神経乳頭の炎症、及び/又は網膜組織浸潤を低減させたことを示している（上記のTEFI網膜画像スコア化システムを参照されたい）。これらのデータは、株MRX008がブドウ膜炎を治療又は予防するために有用でありうることを示している。

30

【実施例8】

【0284】

LPS誘導炎症モデル - サイトカイン濃度の低減におけるMRX006の細菌接種物の有効性
概要

細菌株MRX006（830）を、サイトカイン濃度に及ぼすその効果を決定するために抗炎症アッセイ（ $n = 9$ ）において試験した。炎症応答の十分に確立された誘因であるリポ多糖（LPS, lipopolysaccharide）を使用して炎症を誘導した。MRX006（830）処置群における炎症応答の程度及び特徴を対照群と比較した。本発明の組成物は、炎症応答を軽減させることが見出され、特にサイトカインであるIL-6及びTNFの濃度を低減させることが見出された。したがって、これらのデータは、本発明の組成物が、広い抗炎症表現型を有し、炎症疾患、例えば好中球増加及び喘息を治療するために有用でありうることを示している。

40

【0285】

結果及び分析

実験の結果を図75及び76に示す。

【0286】

50

図75及び76にそれぞれ示されるように、LPSの投与は、炎症の誘導後に予想されるように、IL-6及びTNF レベルの増加を引き起こす。重要なことに、これらのサイトカインレベルは、MRX006(830)によって処置した群では有意に低減される。したがって、本発明の組成物は、炎症性サイトカインの濃度を低減させ、したがって広い抗炎症表現型を有する。

【実施例9】

【0287】

LPS誘導炎症モデル - 単球由来樹状細胞 (Mo-DC, monocyte derived dendritic cell) 成熟の低減におけるMRX006の細菌接種物の有効性
概要

細菌株MRX006(830)を単球由来樹状細胞 (Mo-DC) の成熟の程度の検出を伴う抗炎症アッセイにおいて試験した。これらの細胞、特に本実施例において使用するCD1a+CD14-細胞は、成熟すると炎症応答に関係する。CD1a+CD14-細胞の成熟は、CD80、CD83、CD86、及びHLA-DRの発現の増加によって示される。本発明の組成物は、炎症応答を軽減させることが見出され、特に炎症応答に関連する樹状細胞 (CD1a+CD14-) の成熟を低減させることが見出された。したがって、データは、本発明の組成物が、炎症疾患、例えば好中球増加及び喘息を治療するために有用でありうることを示している。

【0288】

結果及び分析

実験の結果を図77に示す。

【0289】

図77に示されるように、LPSの投与は、黒の実線がグラフの右にシフトしたことによって示されるように、MoDC上の成熟マーカーの発現の増加を引き起こす。重要なことに、成熟マーカーの発現レベルはMRX006で処置したLPS群では低減される (中が塗りつぶされた黒い実線が左にシフトすることによって示される)。LPS+MRX006群では、CD80、CD83、及びHLA-DR炎症マーカーの発現レベルは、非刺激対照 (破線) の発現レベルに戻っている。さらに、LPS+MRX006群のCD86の発現レベルもまた、LPSのみの群と比較して大きく低減される。このため、本発明の組成物は、炎症に関連するMoDCの成熟レベルを低減させ、したがって広い抗炎症表現型を有する。

【実施例10】

【0290】

オポアルブミン誘導炎症モデルのマウスモデル - CD4+細胞分裂の低減における細菌接種物の有効性
概要

細菌株MRX006(830)を、CD4+細胞のレベルの検出を伴うさらなる炎症アッセイ (n=5) において試験した。CD4+細胞レベルの増加が炎症の指標である。この理由の1つは、CD4+細胞がTh17及びIL-17炎症経路に関係しているためである。炎症応答の十分に確立された誘因であるオポアルブミンを使用して、炎症を誘導した。本発明の組成物は、炎症応答を軽減することが見出され、特にCD4+細胞数を低減させることが見出された。したがって、データは、本発明の組成物が炎症疾患、例えば好中球増加及び喘息を治療するために有用でありうることを示している。

【0291】

結果及び分析

実験結果を図78に示す。

【0292】

図78に示されるように、3又は4以上の細胞分裂を経ている集団におけるCD4+細胞数は、オポアルブミンによるチャレンジ後に増加する (炎症応答の際に予想されるように)。重要なことに、オポアルブミンによるチャレンジ後3又は4以上の分裂を経ている

10

20

30

40

50

細胞数は、M R X 0 0 6 によって処置した群において有意に低減される。したがって、本発明の組成物は、C D 4 + 細胞レベルを低減させ、このため、本発明は、炎症疾患、例えば好中球増加及び喘息を治療するために有用でありうる。

【実施例 1 1】

【0 2 9 3】

安定性試験

本明細書に記述される少なくとも1つの細菌株を含有する本明細書において記述される組成物を、25 又は4 で密封容器の中で保存して、容器を30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、90%又は95%の相対湿度を有する雰囲気中に置く。1か月、2か月、3か月、6か月、1年、1.5年、2年、2.5年、又は3年後に、細菌株の少なくとも50%、60%、70%、80%又は90%が、標準的なプロトコールによって決定したコロニー形成単位で測定した場合に残っている。

10

【0 2 9 4】

配列

配列番号 1 (ブラウチア・ステルコリス株 G A M 6 - 1 1 6 S リボソーム R N A 遺伝子、部分配列 - H M 6 2 6 1 7 7)

1 tgcaagt cga gcaagcgct tacgacagaa ccttcggggg aagatgtaag ggactgagcg
61 gcggacgggt gagtaacgagc tgggtaacct gccatataca gggggataac agttggaaac
121 ggctgctaata accgcataag cgcacggtat cgcatagatac agtgtgaaaa actccgggtgg
181 tatgagatgg acccgcgtct gattagctag ttggaggggt aacggcccac caaggcgagc
241 atcagtagcc ggctgagag ggtgaacggc cacattggga ctgagacacg gccagactc
301 ctacgggagg cagcagtgga gaatatgca caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc
361 gcgtgaagga agaagtatct cggtagttaa acttctatca gcagggaaga aaatgacggt
421 acctgactaa gaagccccg ctaactacgt gccagcagcc gcgtaatac gtagggggca
481 agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg gagcgtagac ggaagagcaa gtcctgatgtg
541 aaaggctggg gcttaacccc aggactgcat tggaaactgt ttttcttgag tgccggagag
601 gtaagcggaa ttccatagtg agcggtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc
661 gaaggcggct tactggacgg taactgacgt tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg
721 attagatacc ctggtagtcc acgccgtaaa cgatgaatac taggtgttgg ggagcaaagc
781 tcttcgggtgc cgcagcaaac gcaataagta ttccacctgg ggagtacgtt cgcaagaatg
841 aaactcaaag gaattgacgg ggacccgcac aagcgttgg gcatgtggtt taattcgaag
901 caacgcgaag aacctacca agtcttgaca tcgatctgac cggttcgtaa tggaaacctt
961 ccttcgggac agagaagaca ggtggtgcat ggttgtcgtc agctcgtgtc gtgagatgtt
1021 gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctt atcctcagta gccagcaggg gaagctgggc
1081 actctgtgga gactgccagg gataacctgg aggaaggcgg ggacgacgtc aaatcatcat
1141 gcccttatg atttgggcta cacacgtgct acaatggcgt aaacaaaggg aagcgagccc
1201 gcgaggggga gcaaatccca aaaataacgt cccagttcgg actgcagctt gcaactcgac
1261 tgcacgaagc tggaaatcgt agtaatcgcg aatcagaatg tcgcggtgaa tacgttcccg
1321 ggtcttgtac acaccgcccg tcacaccatg ggagtcagta acgcccgaag tc

20

30

配列番号 2 (ブラウチア・ステルコリス株 8 3 0 のコンセンサス 1 6 S r R N A 配列)

TTTKGTCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGAAGCGCTTACGACAGAACCTTCGG
GGGAAGATGTAAGGGACTGAGCGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGCCTCATACAGGGGGATAACAGTTGGA
AACGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGTATCGCATGATACAGTGTGAAAACTCCGGTGGTATGAGATGGACCCGCG
TCTGATTAGCTAGTTGGAGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGGCTGAGAGGGTGAACGGCCACATTG
GACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCGAC
GCCGCTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAACTTCTATCAGCAGGGAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCC
CGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTA
GACGGAAGAGCAAGTCTGATGTGAAAGGCTGGGGCTTAACCCAGGACTGCATTGAAAAGTGTCTTTCTTGTAGTGCCGGA
GAGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGA
CGGTAACGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAA

40

50

TACTAGGTGTTGGGGAGCAAAGCTCTTCGGTGCCGCAGCAAACGCAATAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGTTGCAAGA
 ATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTATTGAAAGCAACGCGAAGAACCTTAC
 CAAGTCTTGACATCGATCTGACCGGTTTCGTAATGGAACCTTTCTTCGGGACAGAGAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCG
 TCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCGTTCAGTAGCCAGCAGGTAAAGCTGG
 GCACTCTGAGGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGC
 TACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAAGGGAAGCGAGCCCGGAGGGGGAGCAAATCCCAAAAAATAACGTCCCAGTTC
 GGAAGTGCAGTCTGCAACTCGACTGCACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCC
 CGGGTCTTGTACACACCCCGCCGTCACACCATGGGAGTCAGTAACGCCGAAGTCAGTGACCCAACCTTAGGGAGGGAGCT
 GCCGAAGGCGGGATTGATAACTGGGGTGAAGTCTAGGGGT

配列番号 3 (ブラウチア・ウェクスレエ株 W A L 1 4 5 0 7 1 6 S リボソーム R N A 遺伝子、部分配列 - E F 0 3 6 4 6 7) 10

1 caagtcgaac ggaattant ttattgaaac ttcggtcgat ttaatttaat tctagtggcg
 61 gacgggtgag taacgcgtgg gtaacctgcc ttatacaggg ggataacagt cagaaatggc
 121 tgctaatacc gcataagcgc acagagctgc atggctcagt gtgaaaaact ccggtgggat
 181 aagatggacc cgcgttggat tagcttgttg gtggggtaac ggcccaccaa ggcgacgatc
 241 catagccggc ctgagagggg gaacggccac attgggactg agacacggcc cagactccta
 301 cgggaggcag cagtggggaa tattgcacaa tgggggaaac cctgatgcag cgacgccgcy
 361 tgaaggaaga agtatctcgg tatgtaaact tctatcagca gggaagatag tgacggtacc
 421 tgactaagaa gccccggcta actacgtgcc agcagccgcy gtaatacgtg gggggcaagc
 481 gttatccgga ttacttgggt gtaaaggag cgtagacggt gtggcaagtc tgatgtgaaa 20
 541 ggcatgggct caacctgtgg actgcatgg aaactgtcat acttgagtgc cggaggggta
 601 agcggaaatc ctagtgtagc ggtgaaatgc gtagatatta ggaggaacac cagtggcgaa
 661 ggcggcttac tggacggtaa ctgacgttga ggctcgaag cgtggggagc aacaggatt
 721 agataacctg gtagtccacg ccgtaaacga tgaataacta ggtgtcgggt ggcaagcca
 781 ttcggtgccg tcgcaaacgc agtaagtatt ccacctgggg agtacgttcg caagaatgaa
 841 actcaaagga attgacgggg acccgcaaa gcggtggagc atgtggttta attcgaagca
 901 acgcaagaa ccttaccaag tcttgacatc cgctgaccg atccttaacc ggatctttcc
 961 ttcgggacag gcgagacagg tggtgcatgg ttgtcgtcag ctctgtctgt gagatgttgg
 1021 gttaagtccc gcaacgagcy caaccctat cctcagtagc cagcatttaa ggtgggact
 1081 ctggggagac tgccagggat aacctggagg aaggcgggga tgacgtcaaa tcatcatgcc 30
 1141 ccttatgatt tgggtacac acgtgctaca atggcgtaa caaaggaag cgagattgtg
 1201 agatggagca aatcccaaaa ataactgcc agttcggact gtagtctgca acccgactac
 1261 acgaagctgg aatcgctagt aatcgcgat cagaatgccg cgggaatac gttcccgggt
 1321 cttgtacaca ccgcccgtca cacatggga gtcagtaac cccgaagtca gtgacctaac
 1381 tgcaagaag gagctgccga aggcgggacc gatgactggg gtaagtcgt aacaaggt

配列番号 4 (ブラウチア・ウェクスレエ株 M R X 0 0 8 のコンセンサス 1 6 S r R N A 配列)

TTCATTGAGACTTCGGTGGATTTAGATTCTATTTCTAGTGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGCCTTATACA
 GGGGGATAACAGTCAGAAATGGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGAGCTGCATGGCTCAGTGTGAAAAACTCCGGTGG
 TATAAGATGGACCCGCTTGGATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATCCATAGCCGGCCTGAGAG 40
 GGTGAACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGA
 AACCTGATGCAGCGACGCCGCTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAAACTTCTATCAGCAGGGAAGATAGTGACGGT
 ACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTG
 GGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGTGTGGCAAGTCTGATGTGAAAAGCATGGGCTCAACCTGTGGACTGCATTGAAAAGTGT
 CATACTTGAGTGCCGGAGGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGC
 GAAGGCGGCTTACTGGACGGTAACTGACGTTGAGGCTCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC
 ACGCCGTAACGATGAATACTAGGTGTCNNGGGAGCATGGCTCTTCGGTGCCGTCGCAAACGCAGTAAGTATTCCACCTG
 GGGAGTACGTTGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGCAA
 GCAACGCGAAGAACCCTTACCAAGTCTTGACATCCGCCGTACCGATCCTTAACCGGATCTTTCTTCGGGACAGGCGAGAC
 AGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTCAGT 50

AGCCAGCATTTAAGGTGGGCACTCTGGGGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGCGGGGATGACGTCAAATCATCAT
 GCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAGATCGTGAGATGGAGCAAATCCCA
 AAAATAACGTCCCAGTTCGGACTGTAGTCTGCAACCCGACTACACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATG
 CCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCCGCCCGTACACCCATGGGAGTCAGTAACGCCCGAAGTCAGTGACCT
 AACTGCAAAGAAGGAGCTGCCGAA

配列番号 5 (株 8 3 0 の染色体配列) - 電子版の配列表を参照されたい。

配列番号 6 (株 8 3 0 のプラスミド配列) - 電子版の配列表を参照されたい。

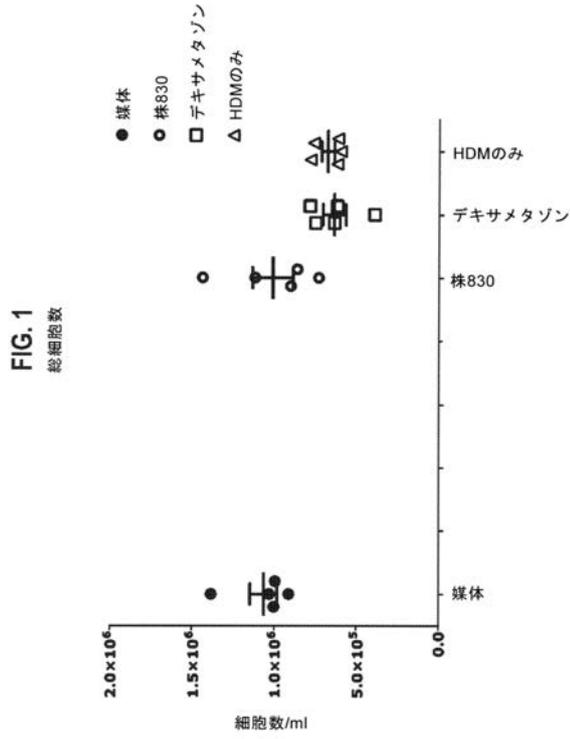
【 0 2 9 5 】

(参考文献)

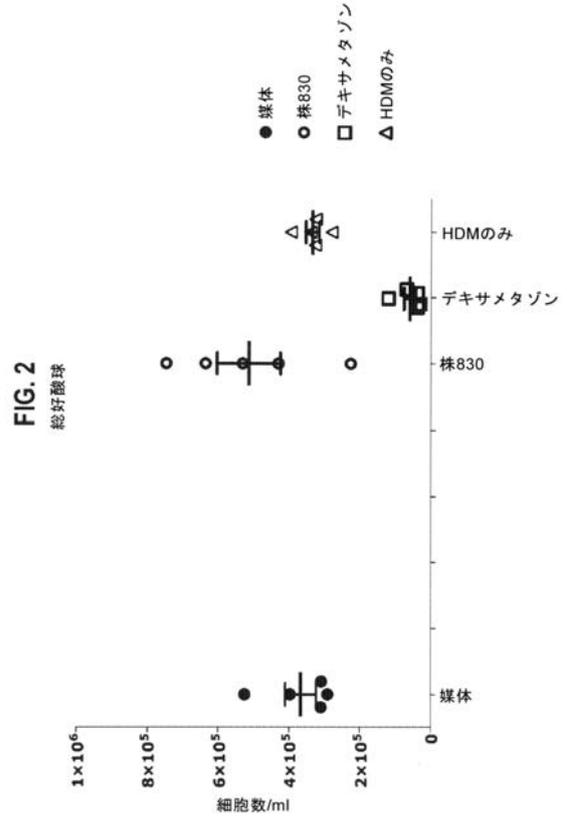
- [1] Spor et al. (2011) *Nat Rev Microbiol.* 9(4):279-90 10
- [2] Eckburg et al. (2005) *Science.* 10;308(5728):1635-8
- [3] Macpherson et al. (2001) *Microbes Infect.* 3(12):1021-35
- [4] Macpherson et al. (2002) *Cell Mol Life Sci.* 59(12):2088-96
- [5] Mazmanian et al. (2005) *Cell* 15;122(1):107-18
- [6] Frank et al. (2007) *PNAS* 104(34):13780-5
- [7] Scanlan et al. (2006) *J Clin Microbiol.* 44(11):3980-8
- [8] Kang et al. (2010) *Inflamm Bowel Dis.* 16(12):2034-42
- [9] Machiels et al. (2013) *Gut.* 63(8):1275-83
- [10] WO 2013/050792
- [11] WO 03/046580 20
- [12] WO 2013/008039
- [13] WO 2014/167338
- [14] Goldin and Gorbach (2008) *Clin Infect Dis.* 46 Suppl 2:S96-100
- [15] Azad et al. (2013) *BMJ.* 347:f6471
- [16] Liu et al. (2008) *Int J Syst Evol Microbiol* 58, 1896-1902
- [17] Park et al. (2012) *Int J Syst Evol Microbiol.* 62(Pt 4):776-9
- [18] Liu et al. (2008) *Int J Syst Evol Microbiol.* 58(Pt 8):1896-902
- [19] Masco et al. (2003) *Systematic and Applied Microbiology,* 26:557-563
- [20] Srutkova et al. (2011) *J. Microbiol. Methods,* 87(1):10-6
- [21] Ye et al. (2015) *PLoS One.* 10(1):e0117704 30
- [22] Fabro et al. (2015) *Immunobiology.* 220(1):124-35
- [23] Yin et al. (2014) *Immunogenetics.* 66(3):215-8
- [24] Cheluvappa et al. (2014) *Clin Exp Immunol.* 175(2):316-22
- [25] Schieck et al. (2014) *J Allergy Clin Immunol.* 133(3):888-91
- [26] Balato et al. (2014) *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 28(8):1016-24
- [27] Monteleone et al. (2011) *BMC Medicine.* 2011, 9:122
- [28] Fahy (2009) *Proc Am Thorac Soc* 6.256-259
- [29] Miossec and Kolls (2012) *Nat Rev Drug Discov.* 11(10):763-76
- [30] Yang et al. (2014) *Trends Pharmacol Sci.* 35(10):493-500
- [31] Koenders et al. (2006) *J. Immunol.* 176:6262-6269 40
- [32] Amedei et al. (2012) *Int J Mol Sci.* 13(10):13438-60
- [33] Shabgah et al. (2014) *Postepy. Dermatol. Alergol.* 31(4):256-61
- [34] Zhang (2015) *Inflammation.* Aug 23
- [35] Sun et al. (2015) *Cytokine.* 74(1):76-80
- [36] Mucientes et al. (2015) *Br J Ophthalmol.* 99(4):566-70
- [37] Jawad et al. (2013) *Ocul Immunol Inflamm.* 21(6):434-9
- [38] Maya et al. (2014) *J. Ophthalmology.* 310329
- [39] Chi et al. (2007) *J. Allergy and Clinical Immunology.* 119(5):1218-1224
- [40] Chi et al. (2008) *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 49(7): 3058-3064 50

- [41] Luger and Caspi (2008) *Semin. Immunopathol.* 30(2): 134-143
- [42] Numasaki et al. (2003) *Blood.* 101:2620-2627
- [43] Zhang et al. (2008) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 374: 533-537
- [44] Karin (2006) *Nature.* 441: 431-436
- [45] Faghih et al. (2013). *Iranian Journal of Immunology.* 10(4):193-204
- [46] Numasaki et al. (2005) *J. Immunol.* 175: 6177-6189
- [47] Hammerich and Tacke (2014) *Clin Exp Gastroenterol.* 7:297-306
- [48] Miyamoto-Shinohara et al. (2008) *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 54, 9-24
- [49] *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*, ed. by Day and McLellan, Humana Press 10
- [50] Leslie et al. (1995) *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3592-3597
- [51] Mitropoulou et al. (2013) *J Nutr Metab.* (2013) 716861
- [52] Kailasapathy et al. (2002) *Curr Issues Intest Microbiol.* 3(2):39-48
- [53] *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 2nd Edition, (1994), Edited by A Wade and PJ Weller
- [54] *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985)
- [55] *Handbook of Microbiological Media*, Fourth Edition (2010) Ronald Atlas, CRC Press
- [56] *Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry* (1996) Jennie C. Hunter-Cevera, Academic Press 20
- [57] Strobel (2009) *Methods Mol Biol.* 581:247-61
- [58] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 20th edition, ISBN: 0683306472
- [59] *Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course*, (Ream et al., eds., 1998, Academic Press)
- [60] *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.)
- [61] *Handbook of Experimental Immunology*, Vols. I-IV (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds, 1986, Blackwell Scientific Publications) 30
- [62] Sambrook et al. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edition (Cold Spring Harbor Laboratory Press)
- [63] *Handbook of Surface and Colloidal Chemistry* (Birdi, K.S. ed., CRC Press, 1997)
- [64] Ausubel et al. (eds) (2002) *Short protocols in molecular biology*, 5th edition (Current Protocols)
- [65] *PCR (Introduction to Biotechniques Series)*, 2nd ed. (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)
- [66] *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel et al., eds., 1987) Supplement 30 40
- [67] Smith & Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2: 482-489
- [68] Brand et al. (2007) *Nature Protocols.* 2(5):1269-1275
- [69] Jiao et al. (2014) *Immunopathology and Infectious Diseases.* 184(4):1085-93
- [70] Caspi (2003) *Curr Protoc Immunol.* Chapter 15:Unit 15.6

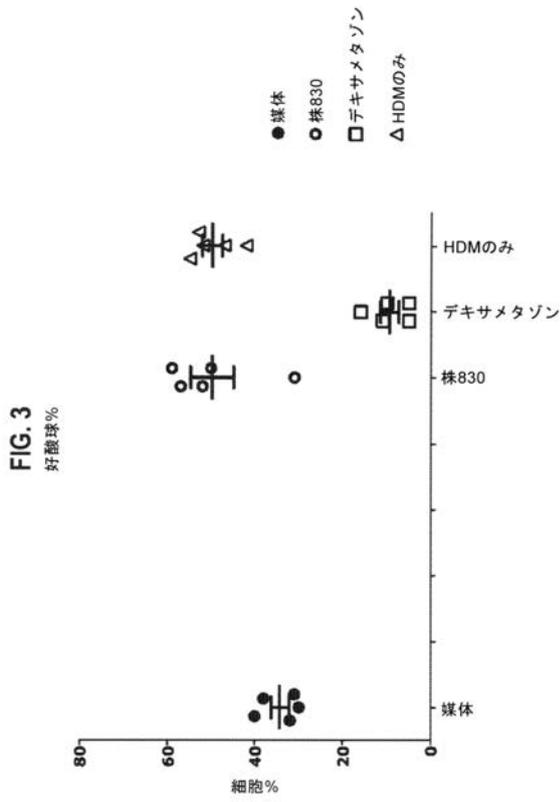
【 図 1 】



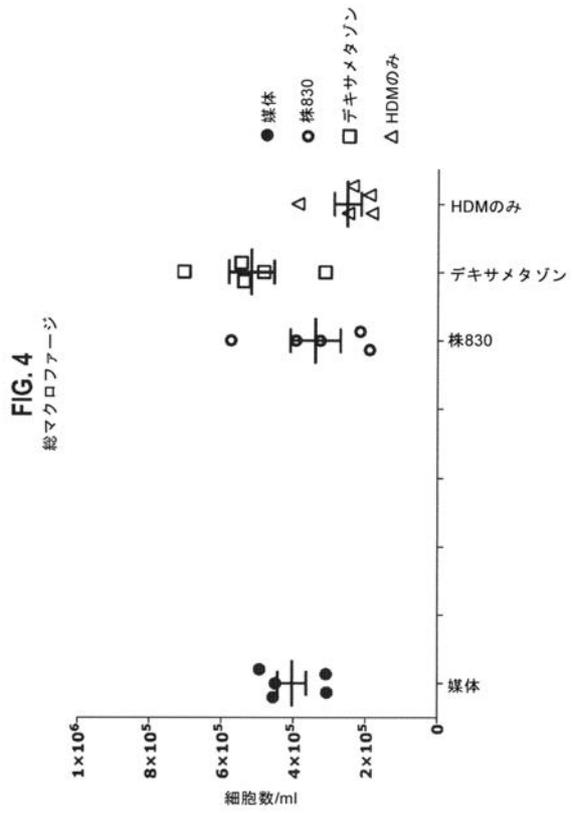
【 図 2 】



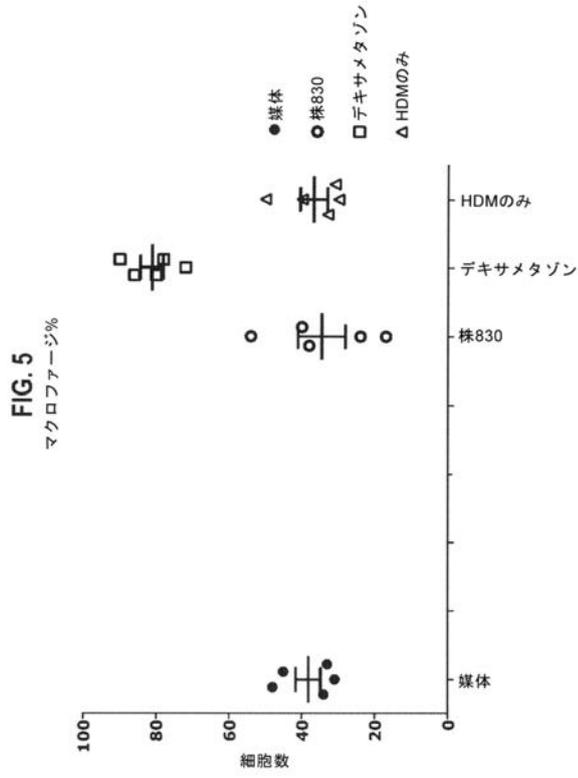
【 図 3 】



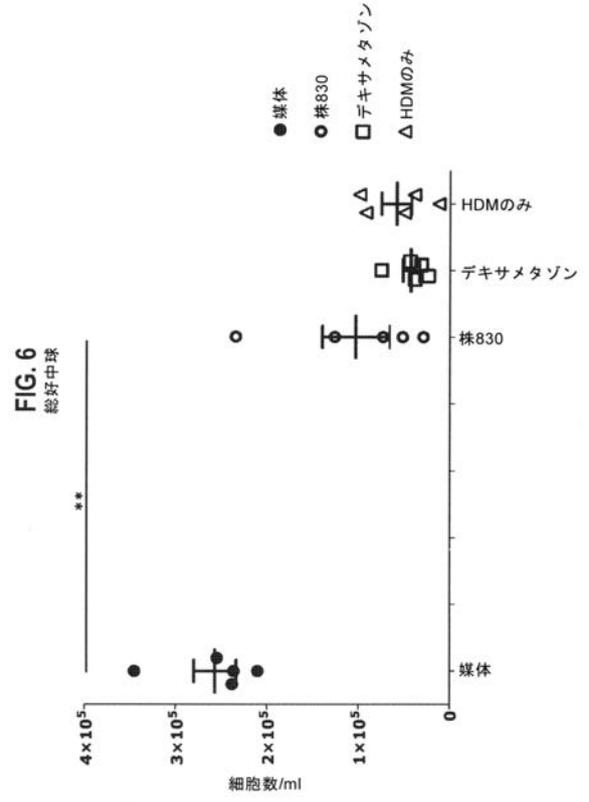
【 図 4 】



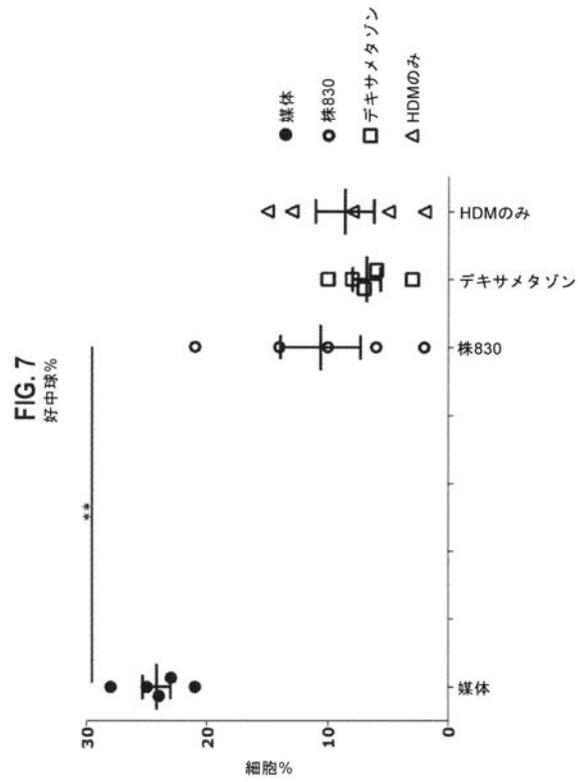
【 図 5 】



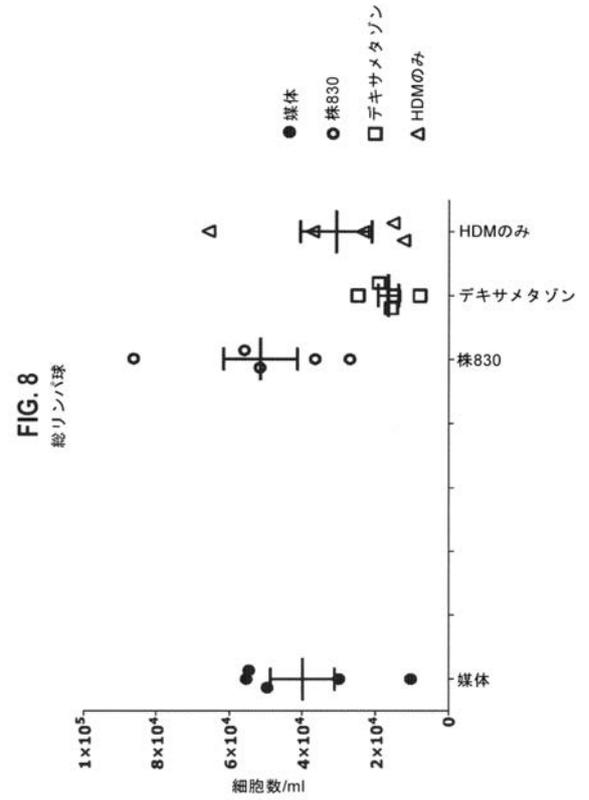
【 図 6 】



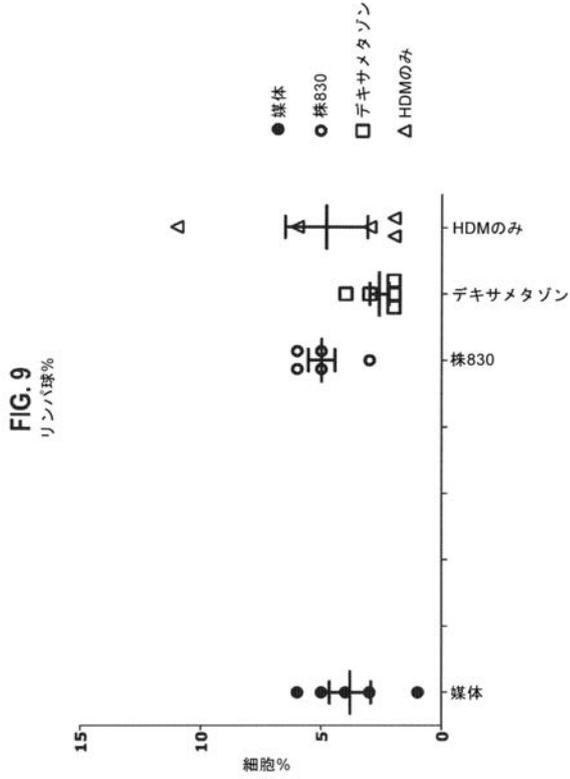
【 図 7 】



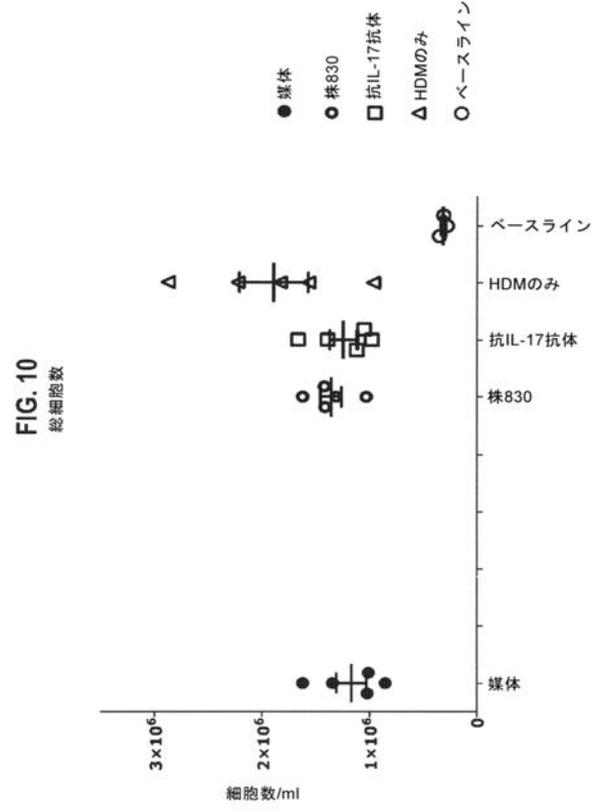
【 図 8 】



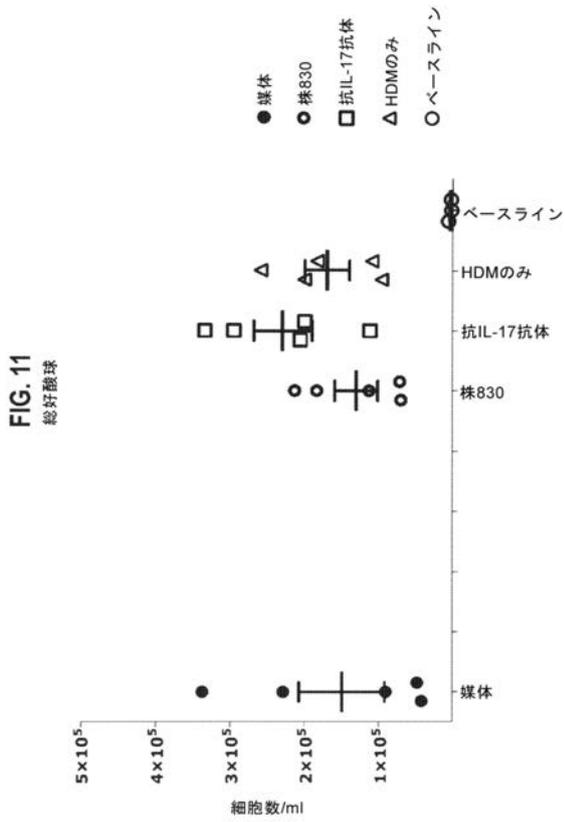
【 図 9 】



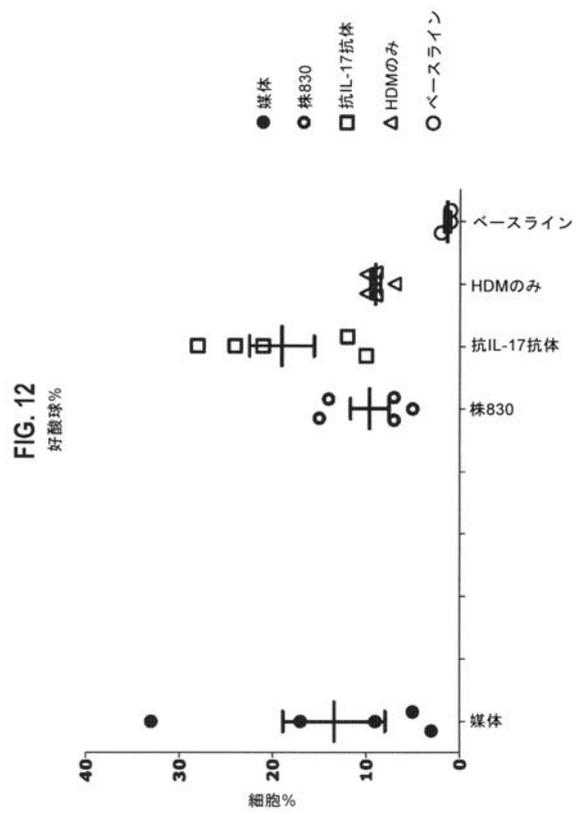
【 図 10 】



【 図 11 】

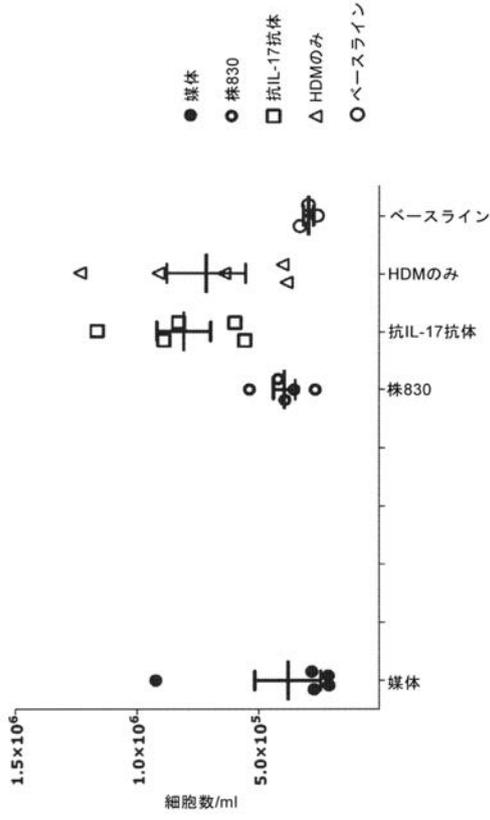


【 図 12 】



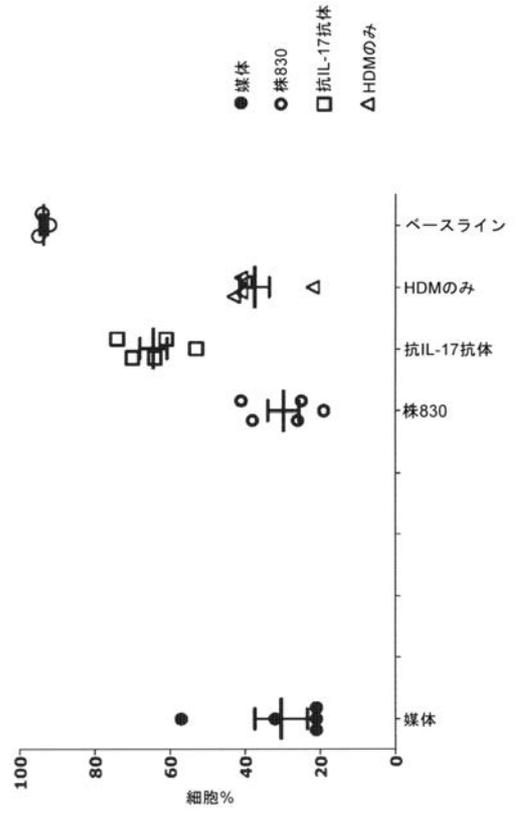
【 図 1 3 】

FIG. 13
総マクロファージ



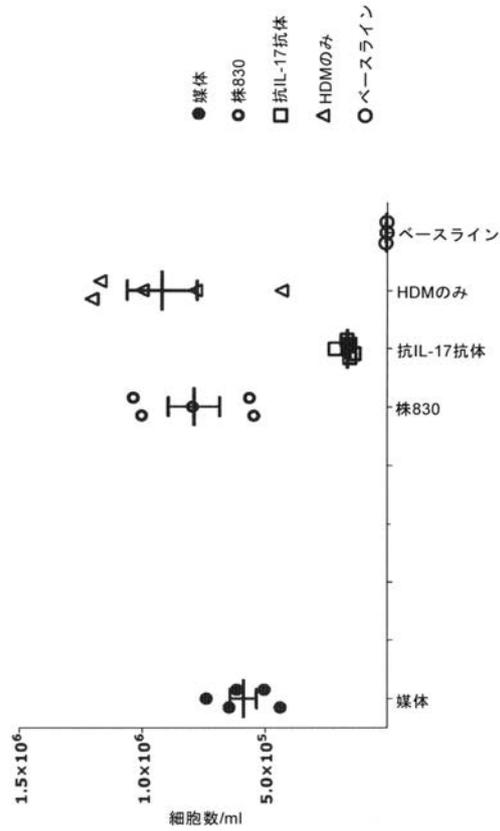
【 図 1 4 】

FIG. 14
マクロファージ%



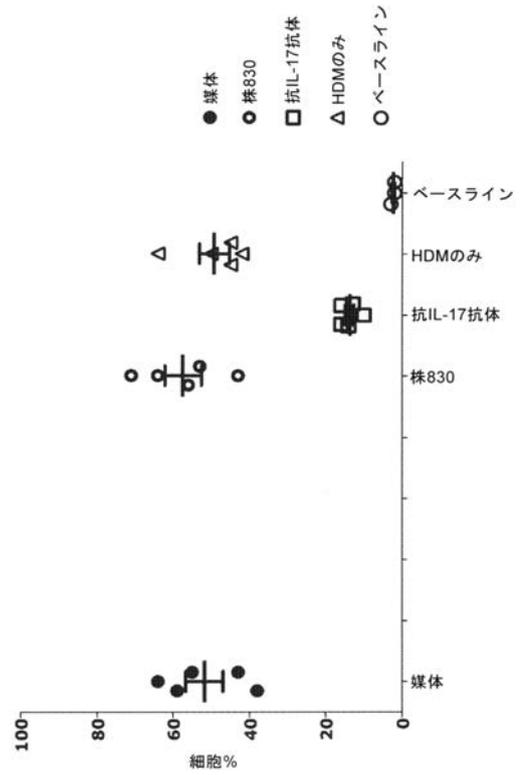
【 図 1 5 】

FIG. 15
総好中球

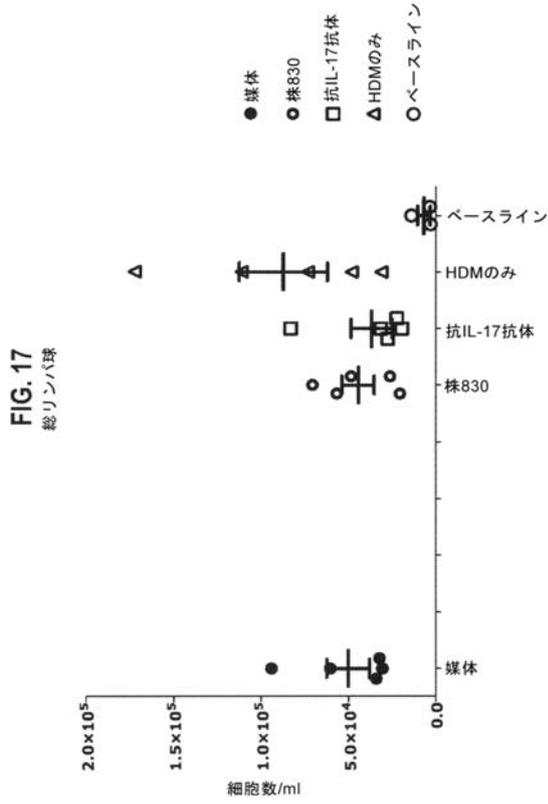


【 図 1 6 】

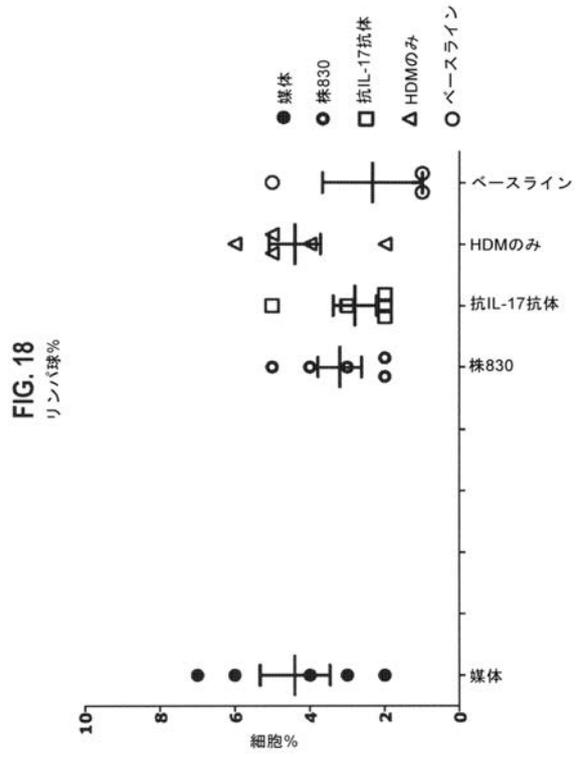
FIG. 16
好中球%



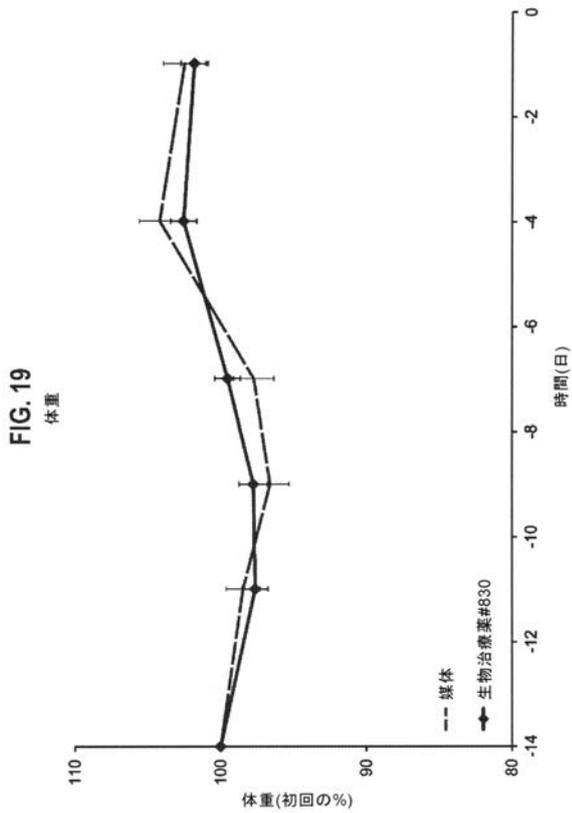
【 図 1 7 】



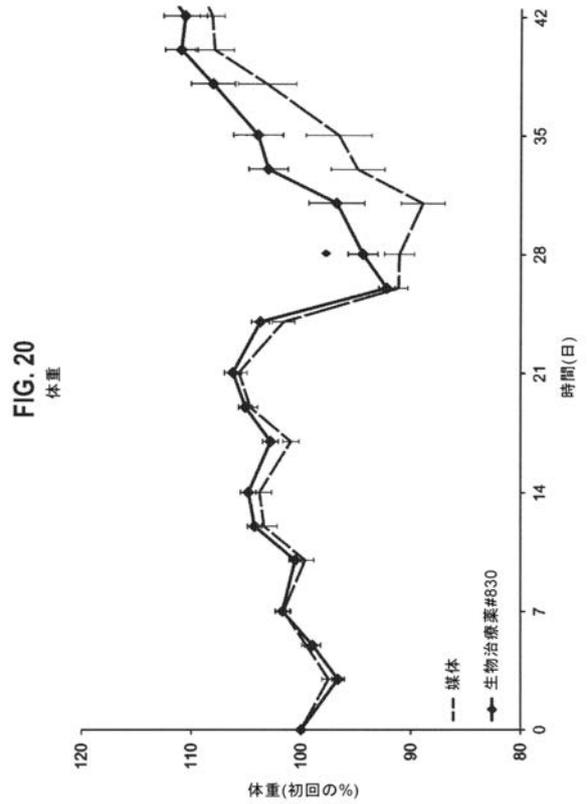
【 図 1 8 】



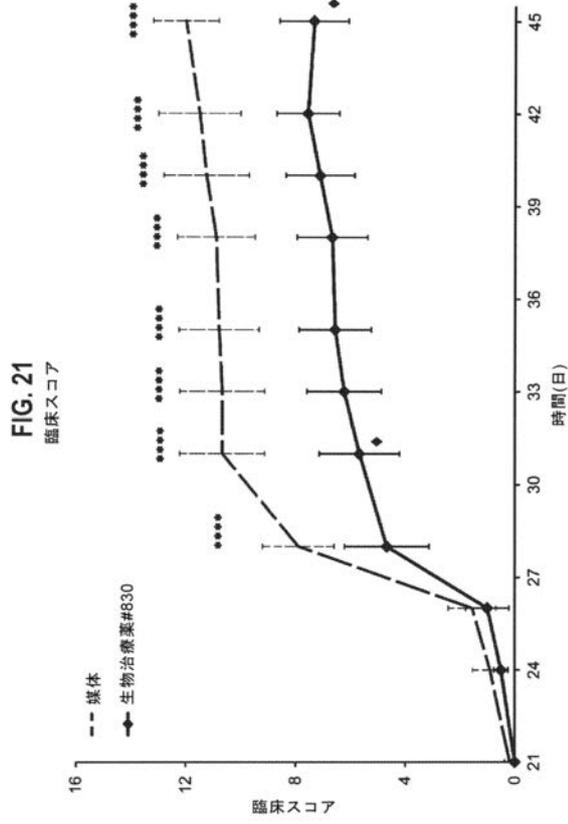
【 図 1 9 】



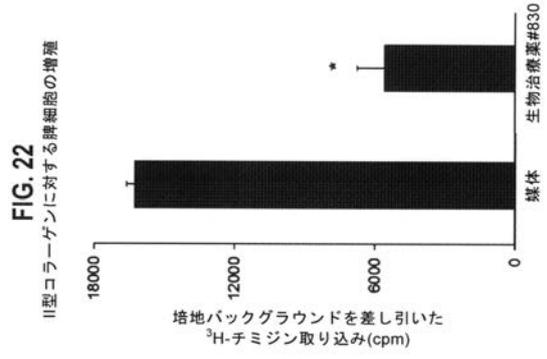
【 図 2 0 】



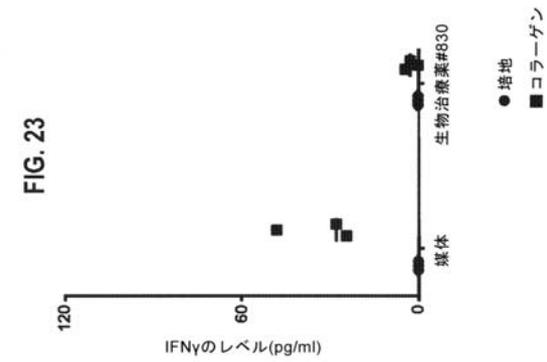
【 図 2 1 】



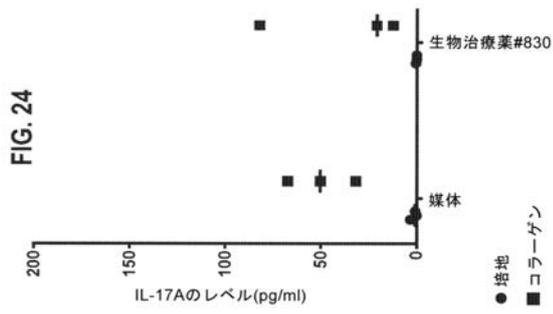
【 図 2 2 】



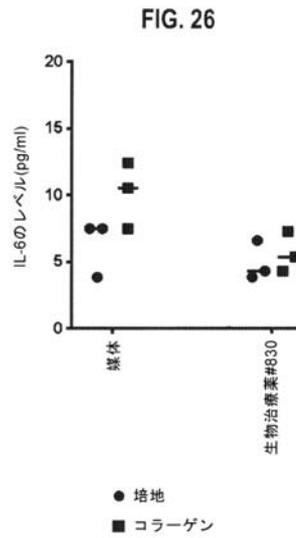
【 図 2 3 】



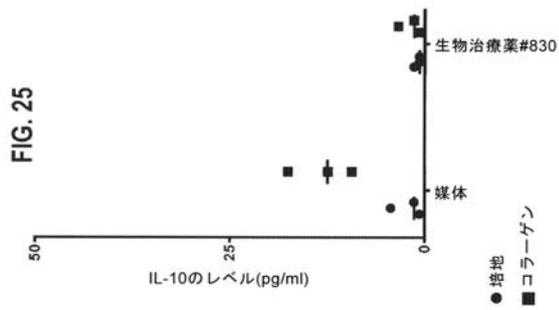
【 図 2 4 】



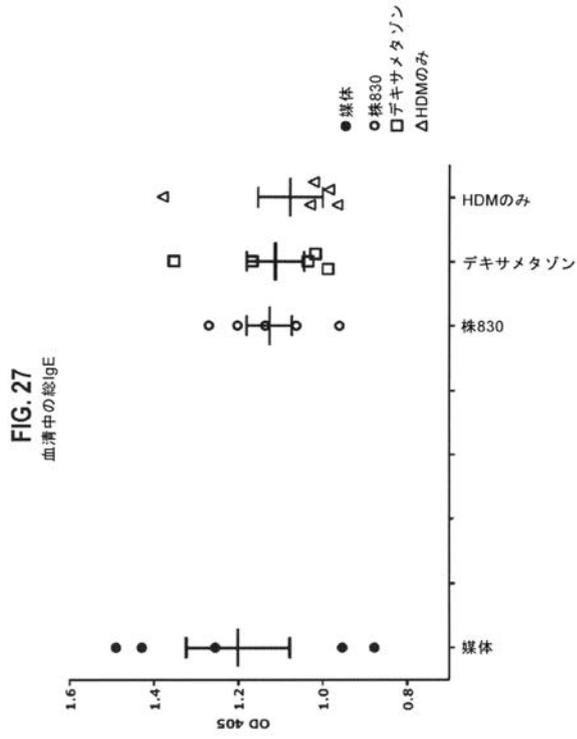
【 図 2 6 】



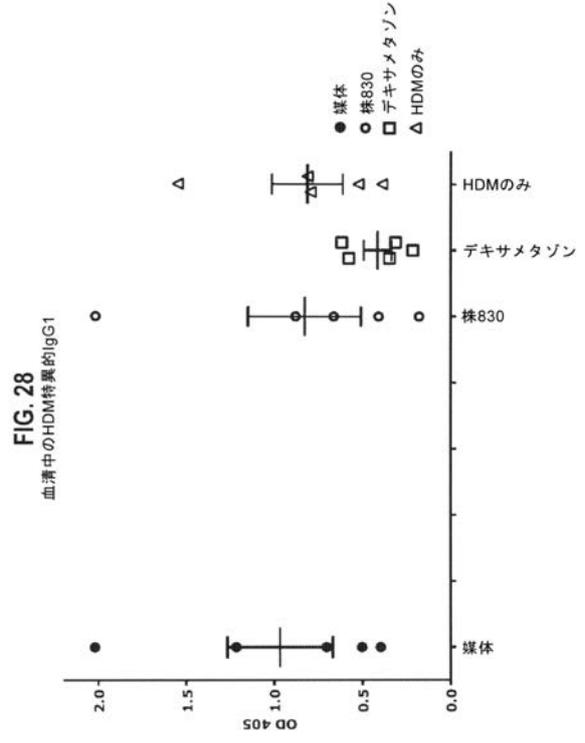
【 図 2 5 】



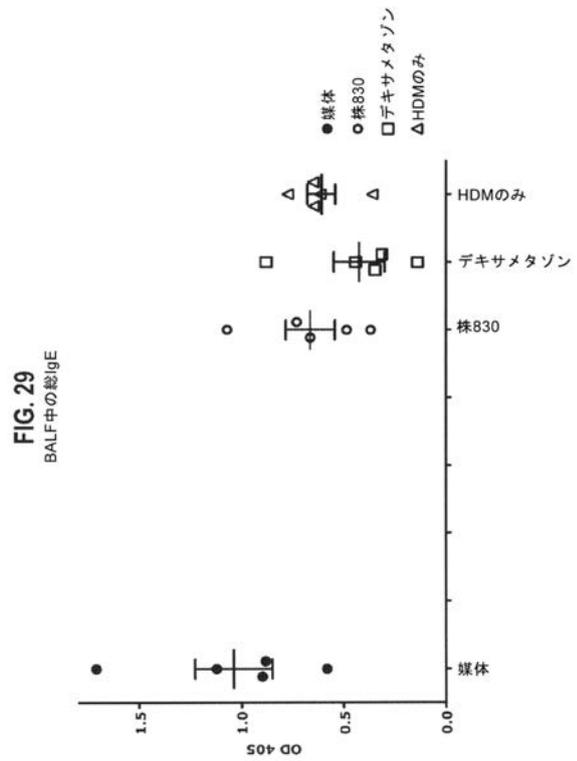
【 図 27 】



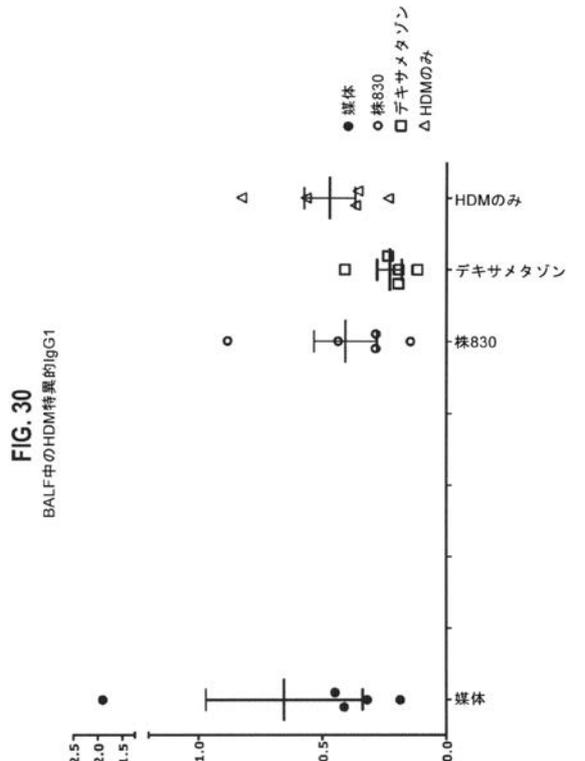
【 図 28 】



【 図 29 】

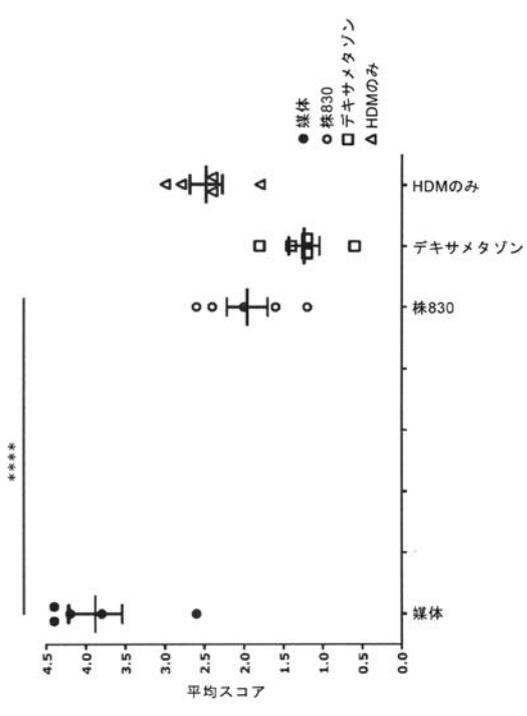


【 図 30 】



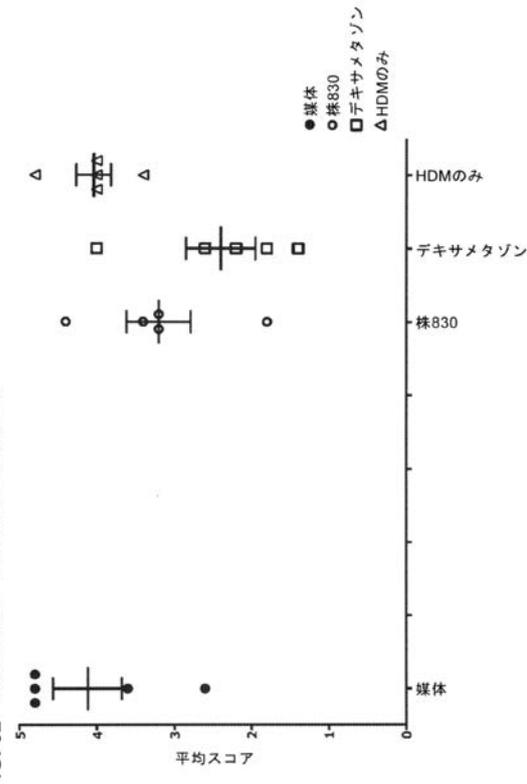
【 図 3 1 】

FIG. 31 組織学的分析-平均気管支周囲浸潤スコア



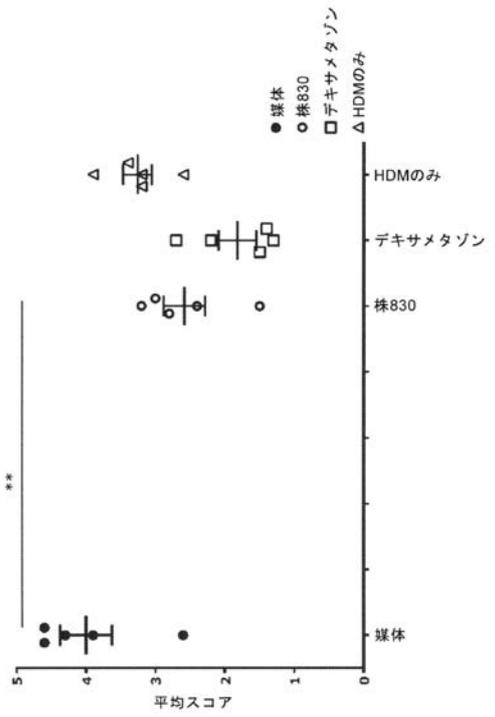
【 図 3 2 】

FIG. 32 組織学的分析-平均血管周囲浸潤スコア



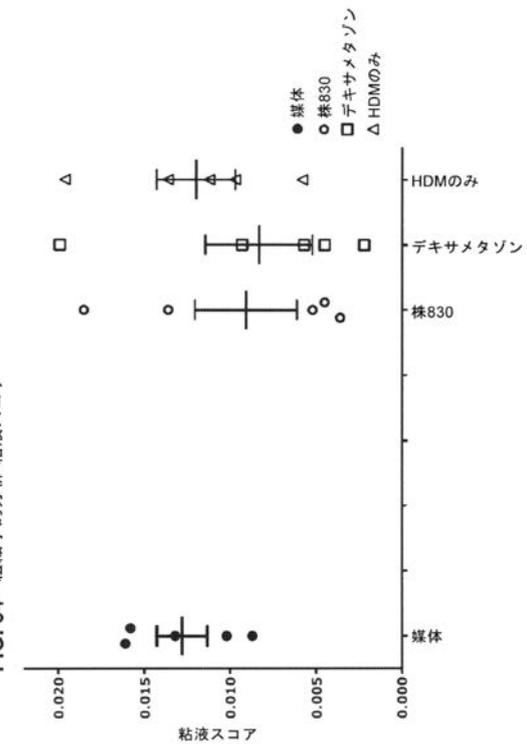
【 図 3 3 】

FIG. 33 組織学的分析-平均炎症スコア(気管支周囲浸潤スコアと血管周囲浸潤スコアの両方の平均値)

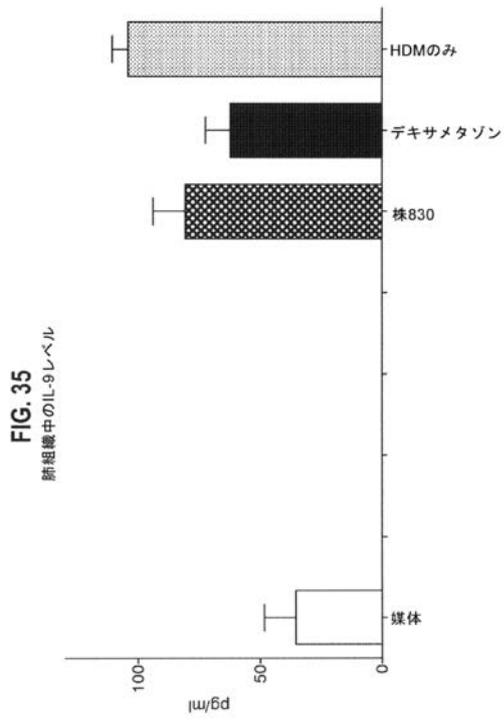


【 図 3 4 】

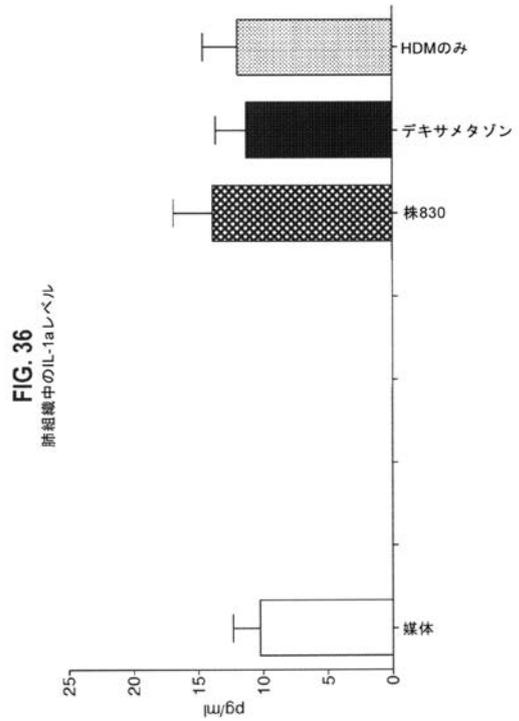
FIG. 34 組織学的分析-粘液スコア



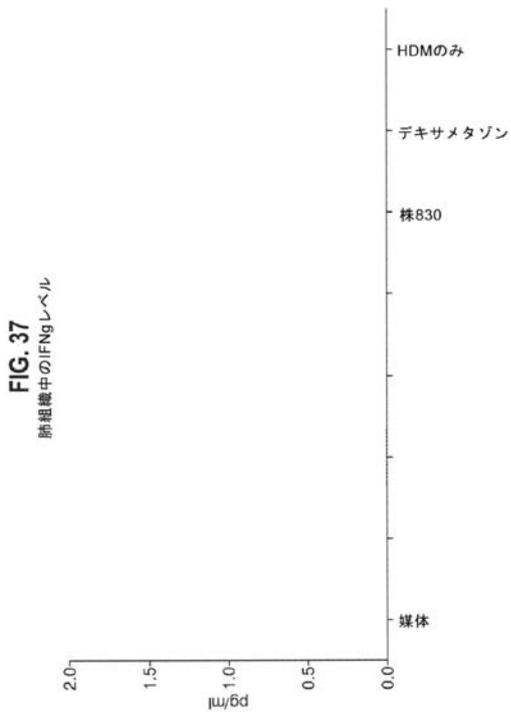
【 図 3 5 】



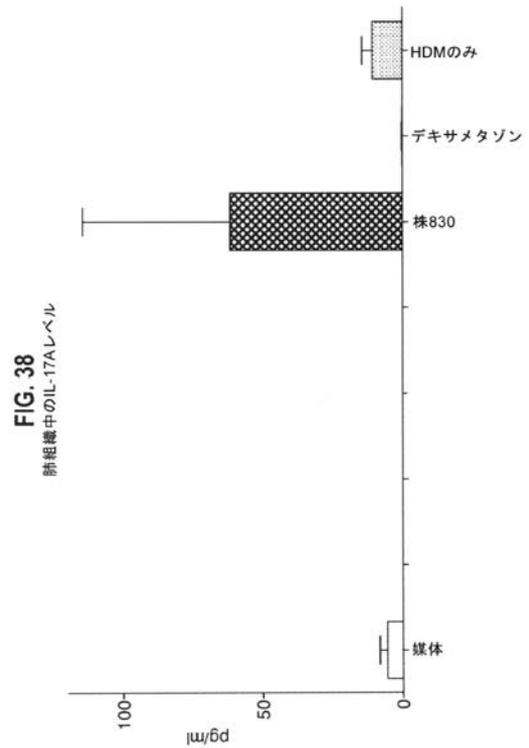
【 図 3 6 】



【 図 3 7 】

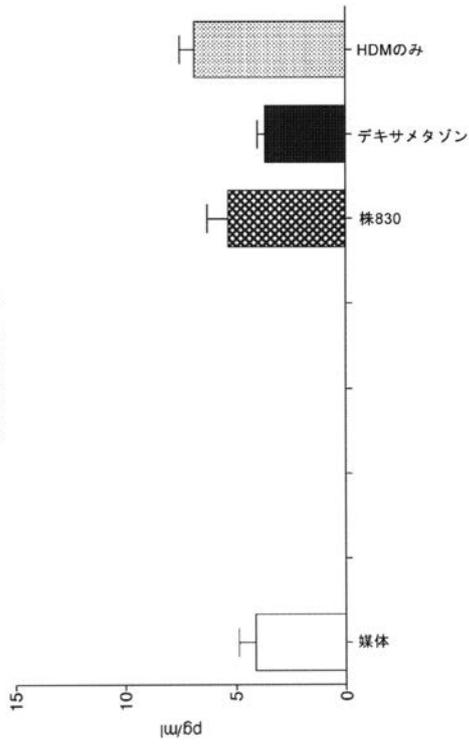


【 図 3 8 】



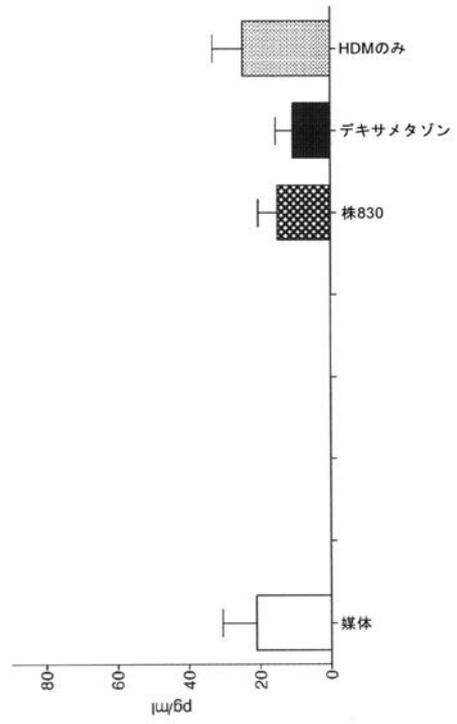
【 図 3 9 】

FIG. 39
肺組織中のIL-4レベル



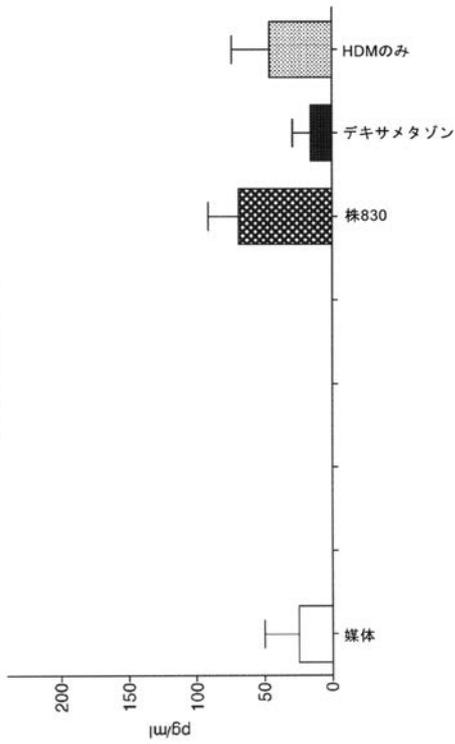
【 図 4 0 】

FIG. 40
肺組織中のIL-5レベル



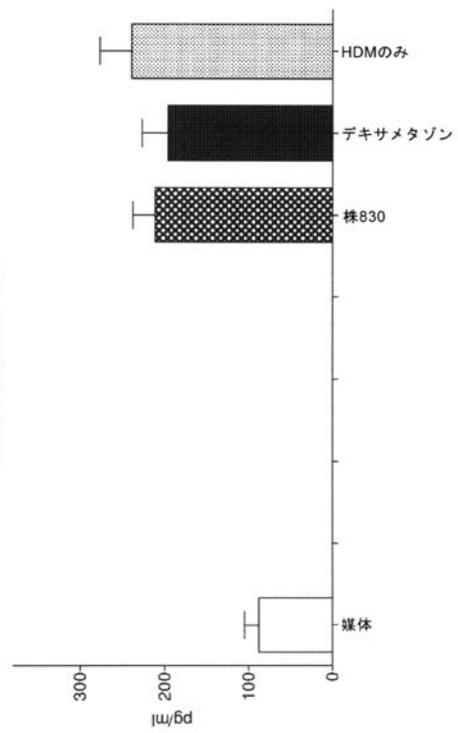
【 図 4 1 】

FIG. 41
肺組織中のIL-1bレベル



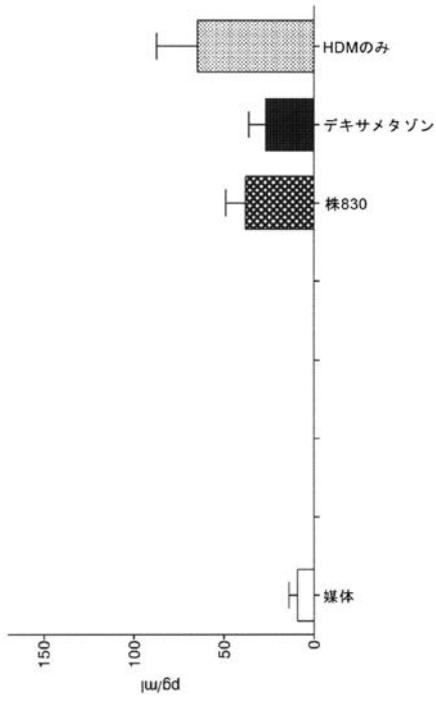
【 図 4 2 】

FIG. 42
肺組織中のRANTESレベル



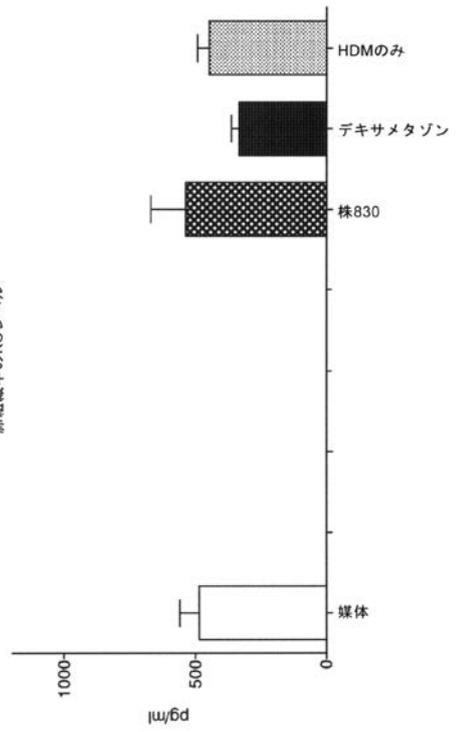
【 図 4 3 】

FIG. 43
肺組織中のMIP-1aレベル



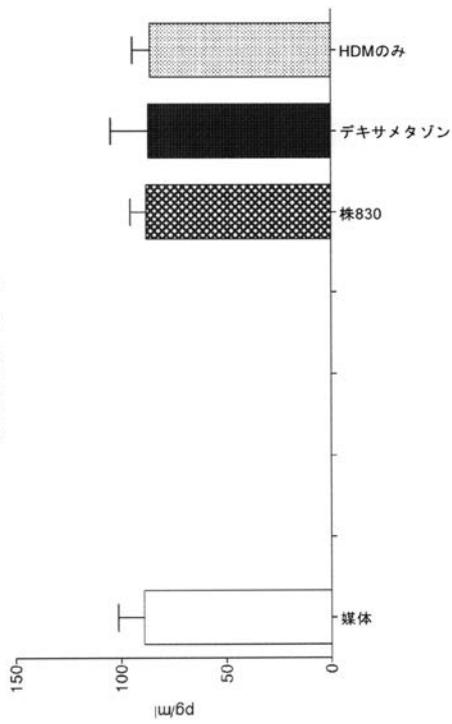
【 図 4 4 】

FIG. 44
肺組織中のKCレベル



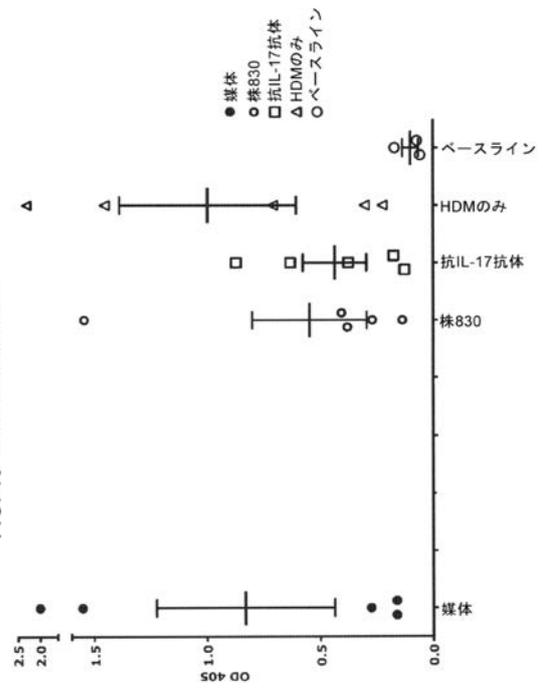
【 図 4 5 】

FIG. 45
肺組織中のMIP-2レベル

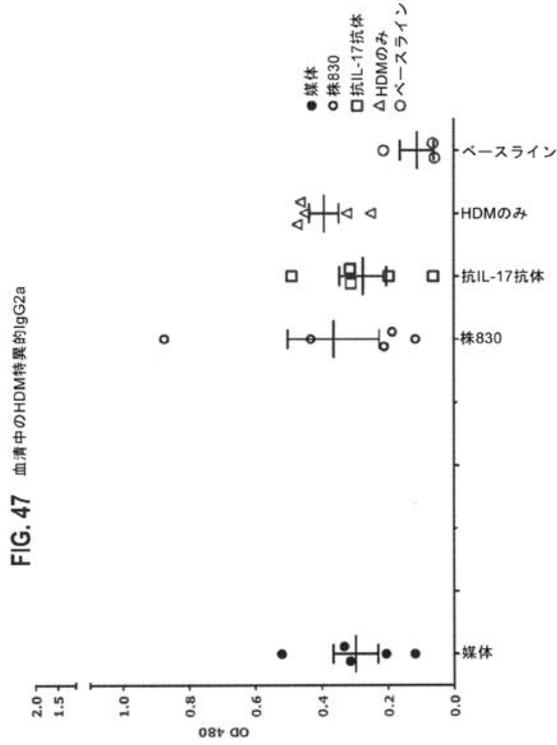


【 図 4 6 】

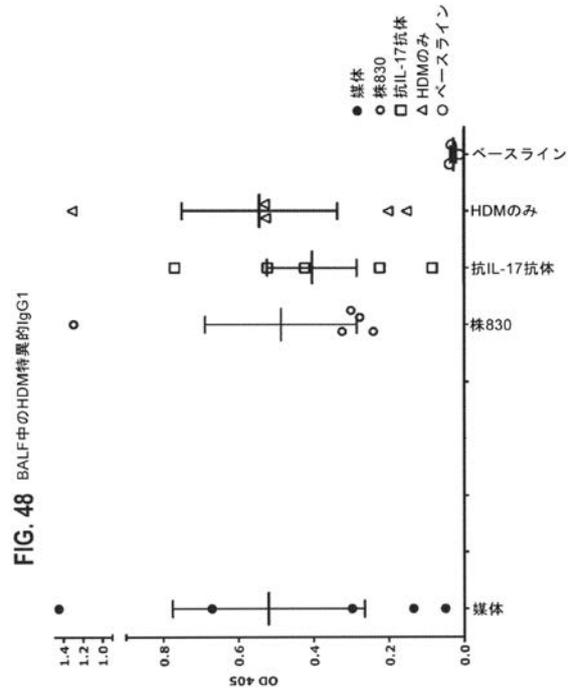
FIG. 46 血清中のHDM特異的IgG1



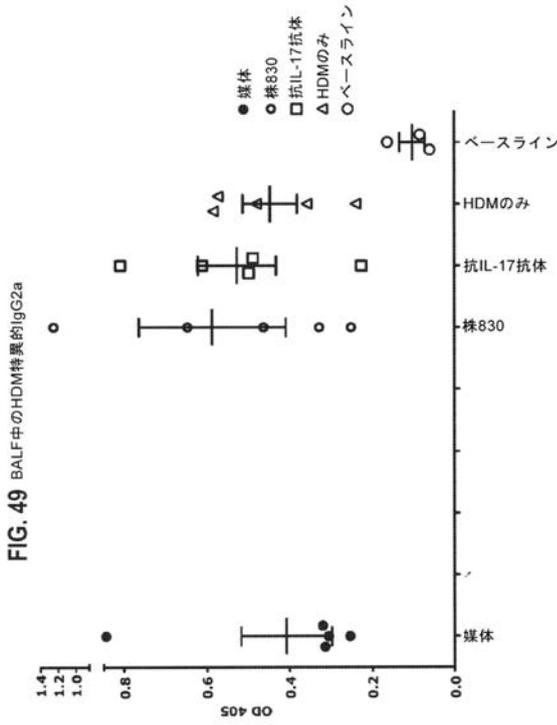
【 図 4 7 】



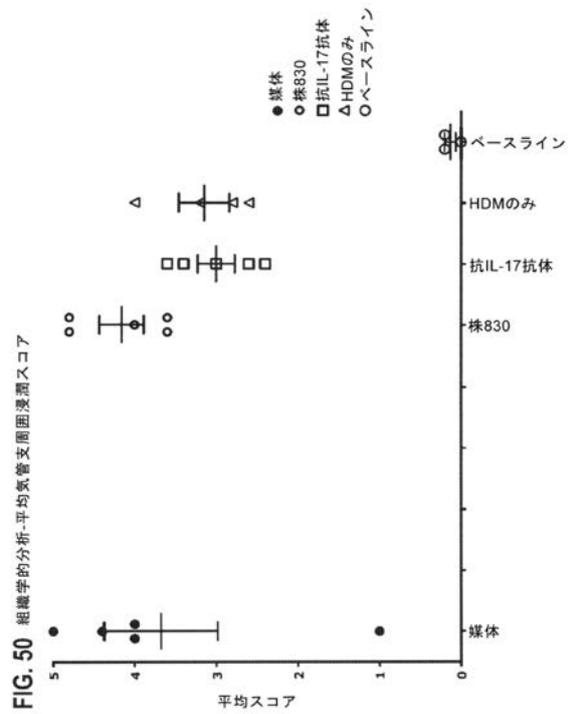
【 図 4 8 】



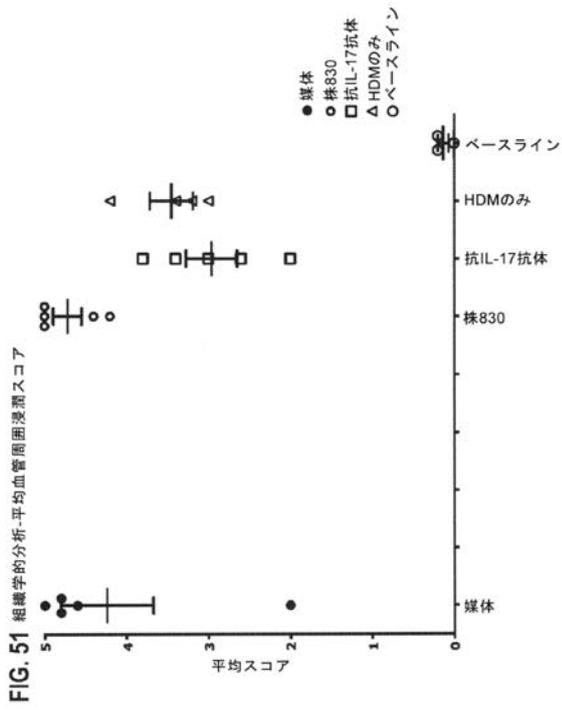
【 図 4 9 】



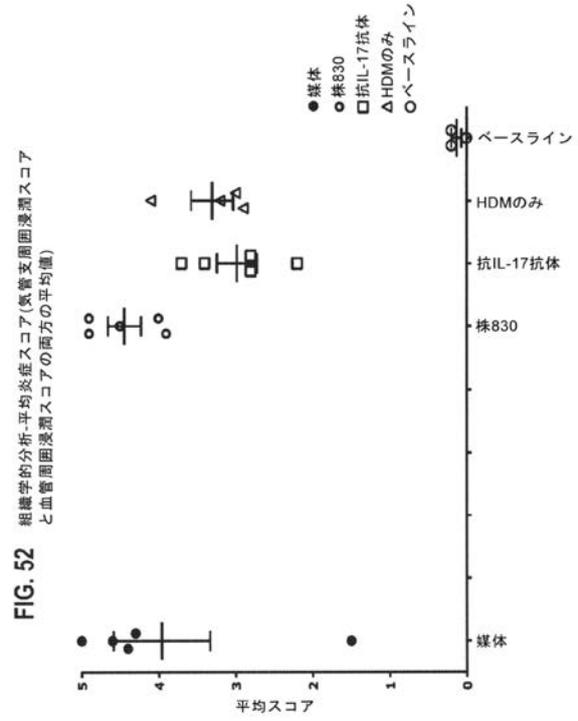
【 図 5 0 】



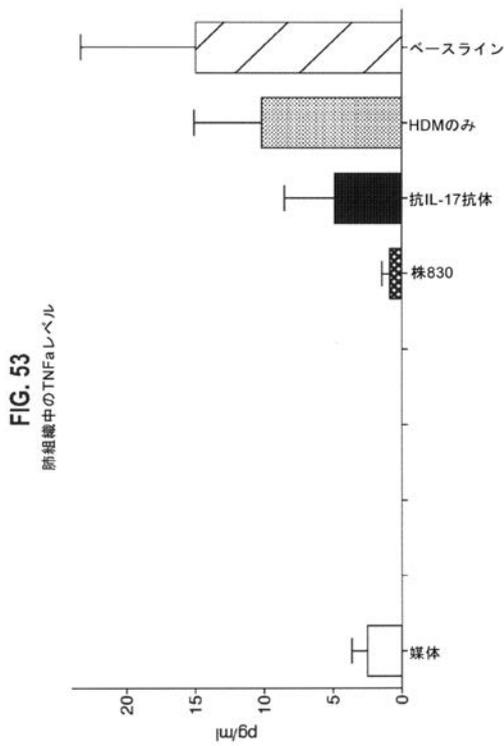
【 図 5 1 】



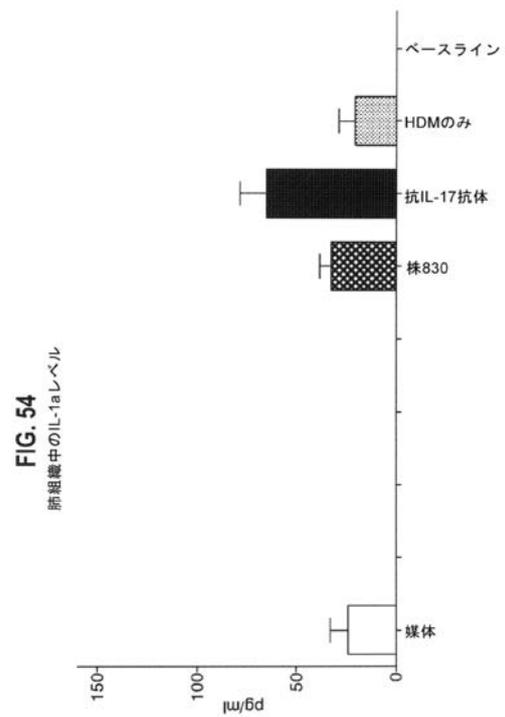
【 図 5 2 】



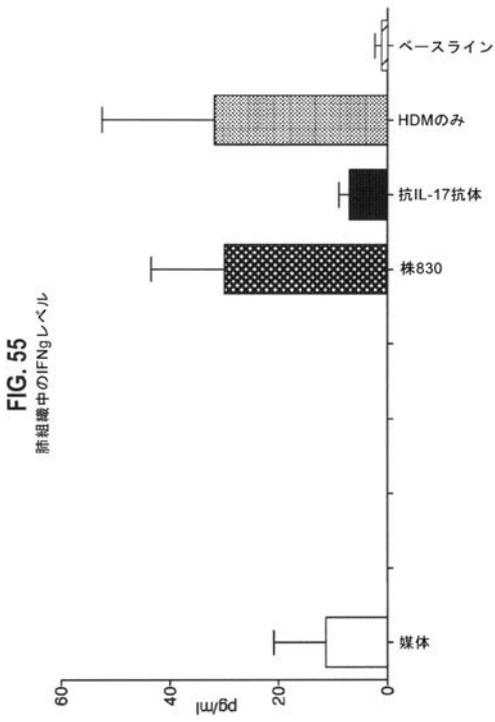
【 図 5 3 】



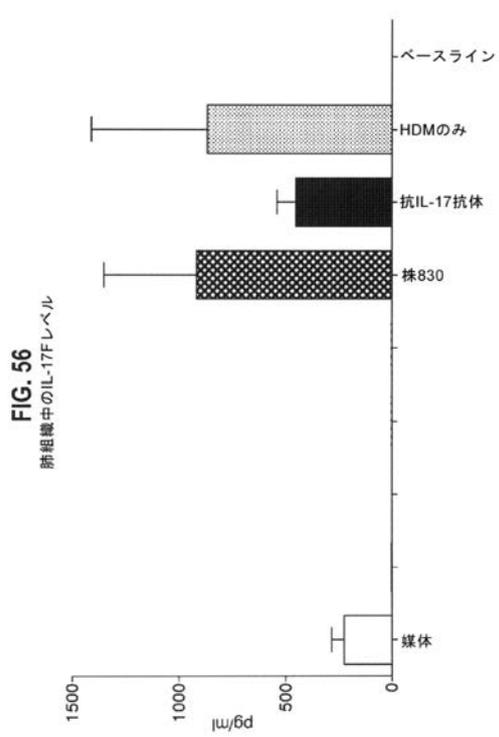
【 図 5 4 】



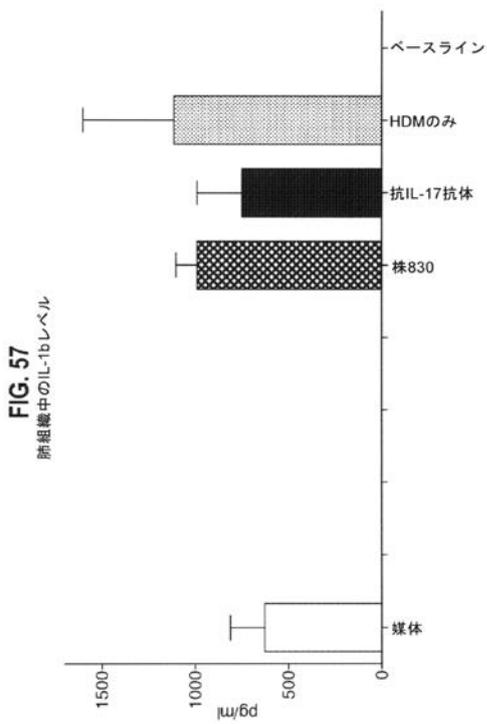
【 図 5 5 】



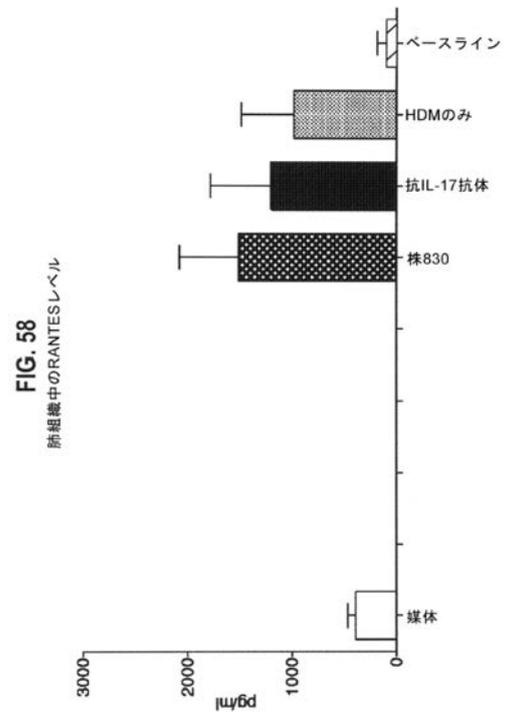
【 図 5 6 】



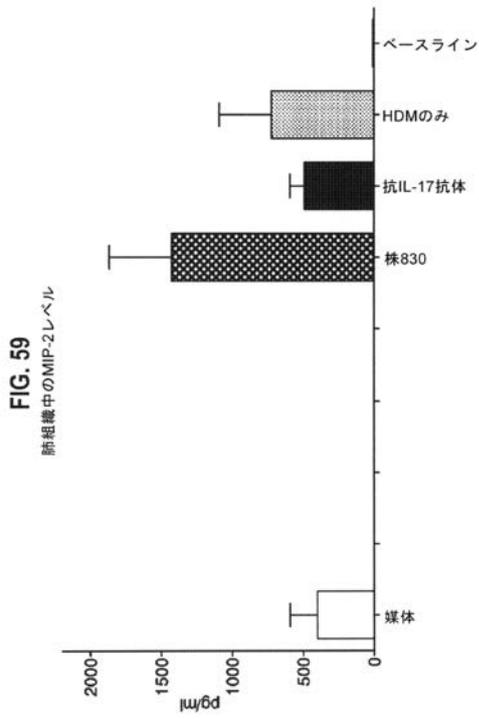
【 図 5 7 】



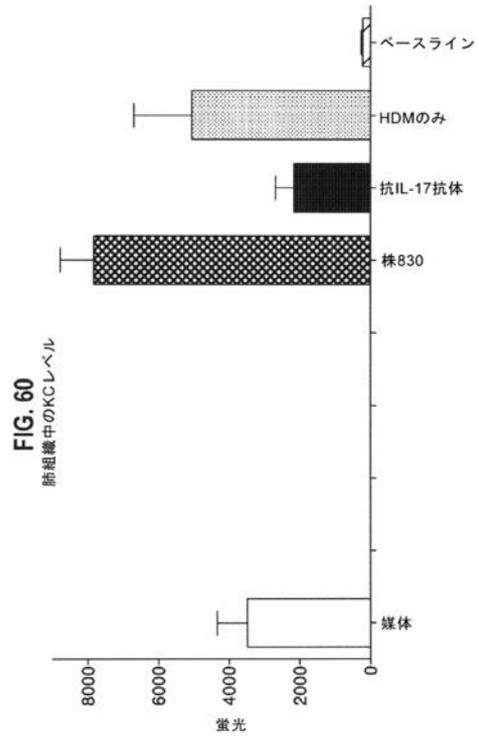
【 図 5 8 】



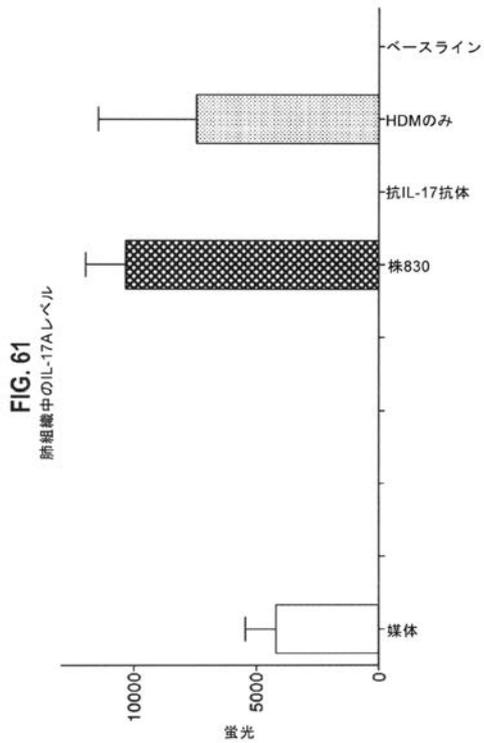
【 図 5 9 】



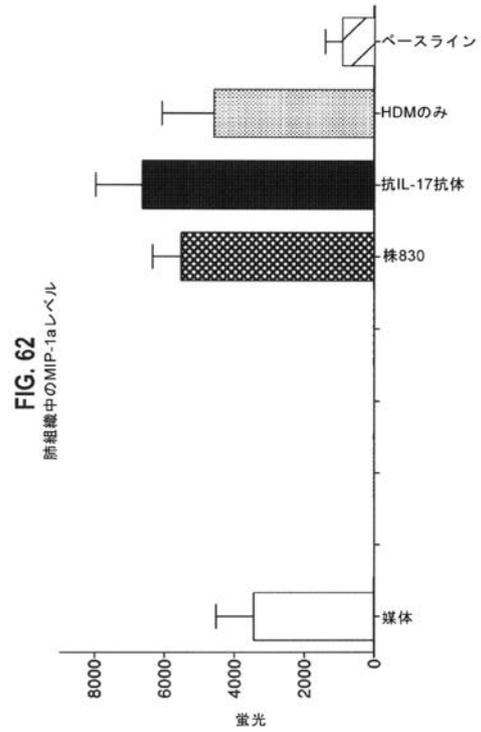
【 図 6 0 】



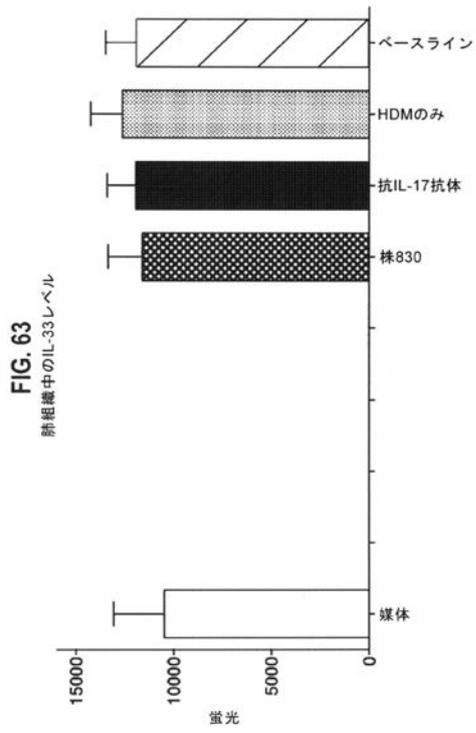
【 図 6 1 】



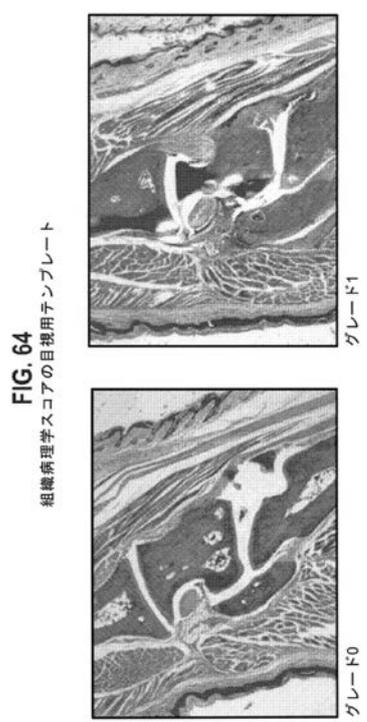
【 図 6 2 】



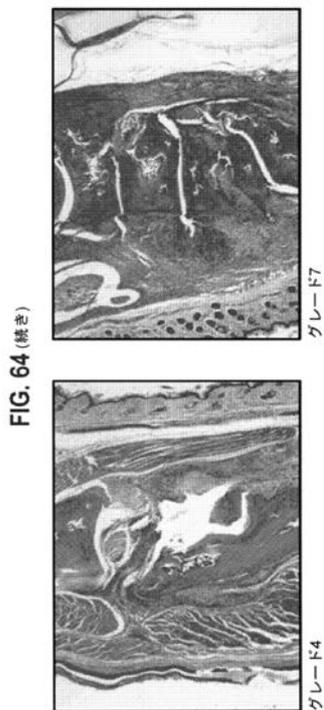
【 図 6 3 】



【 図 6 4 - 1 】



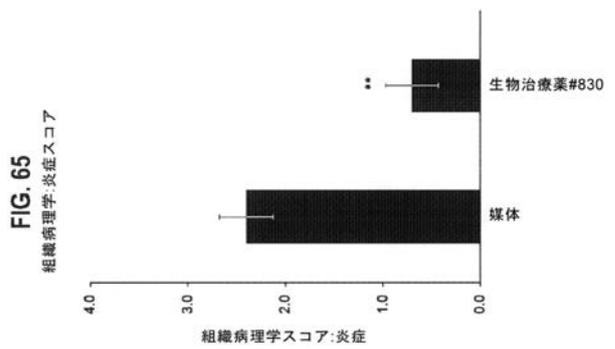
【 図 6 4 - 2 】



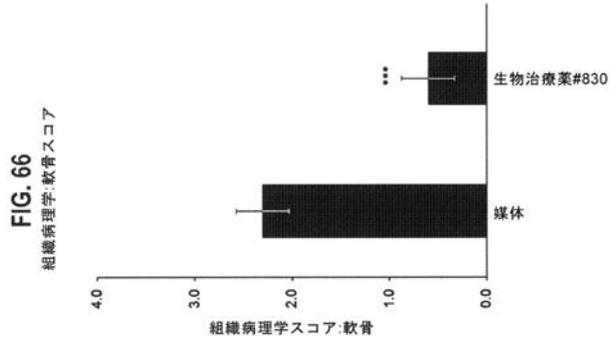
【 図 6 4 - 3 】



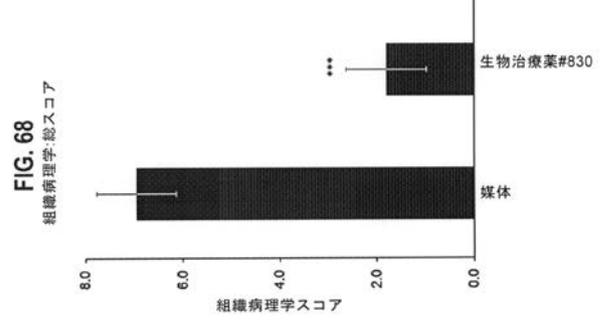
【 図 6 5 】



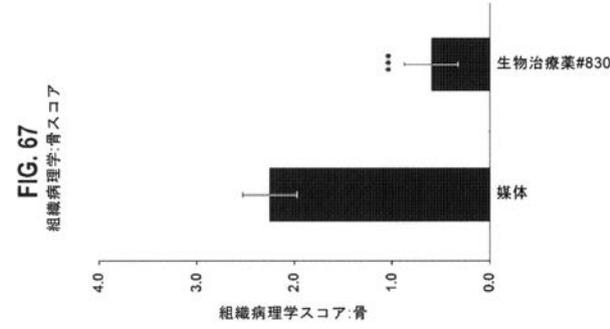
【 図 6 6 】



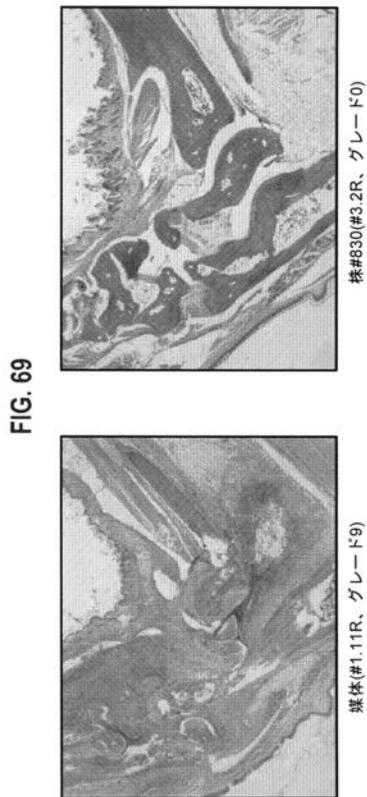
【 図 6 8 】



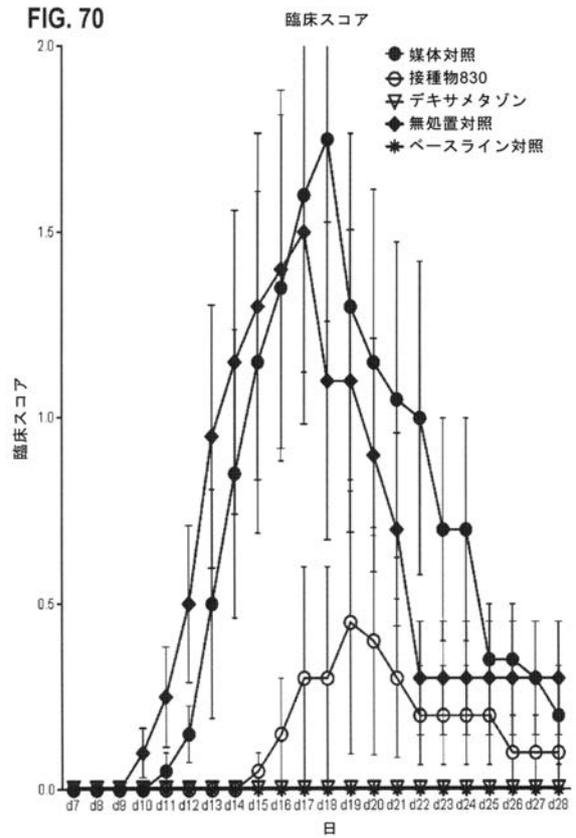
【 図 6 7 】



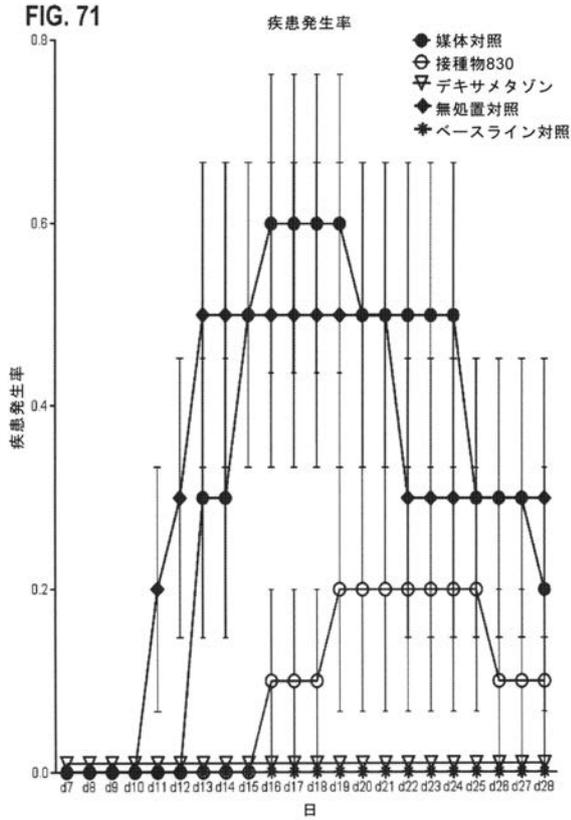
【 図 6 9 】



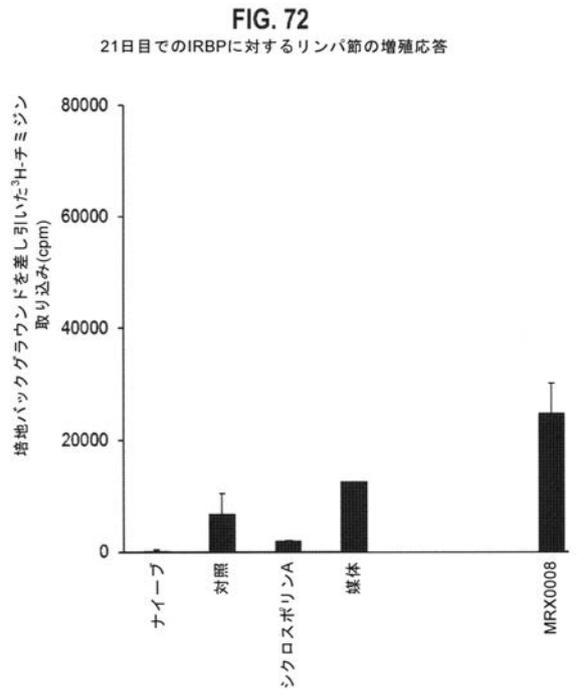
【 図 7 0 】



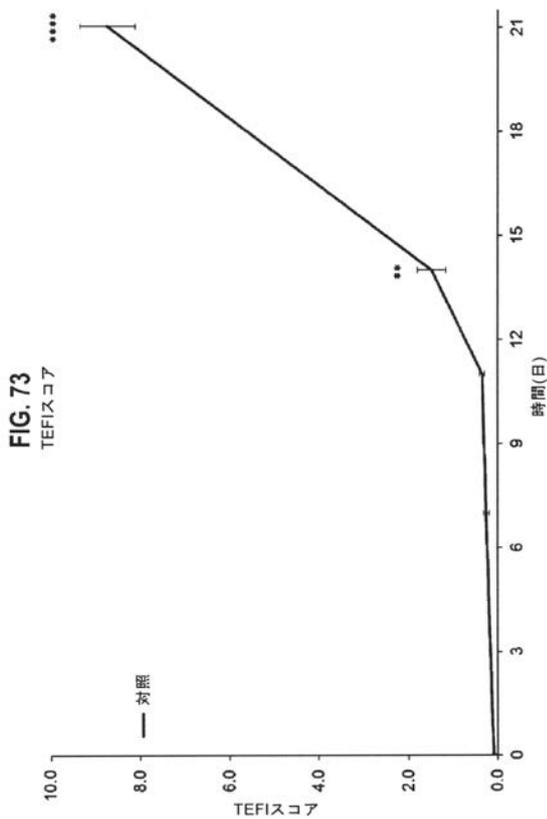
【 図 7 1 】



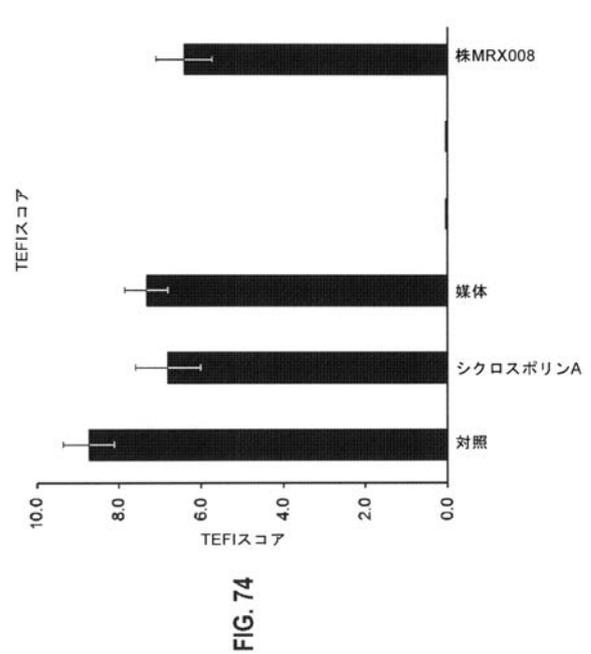
【 図 7 2 】



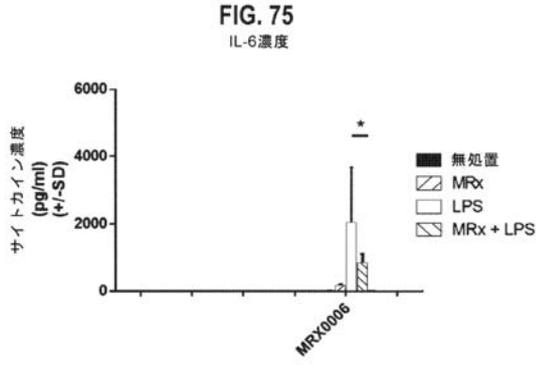
【 図 7 3 】



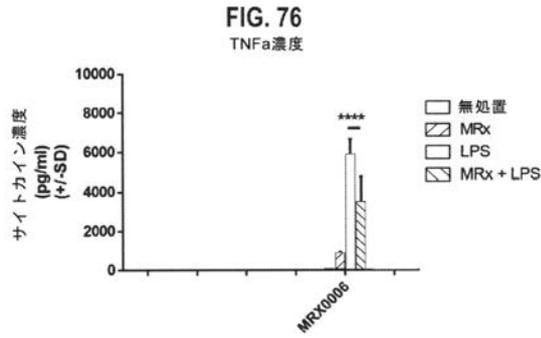
【 図 7 4 】



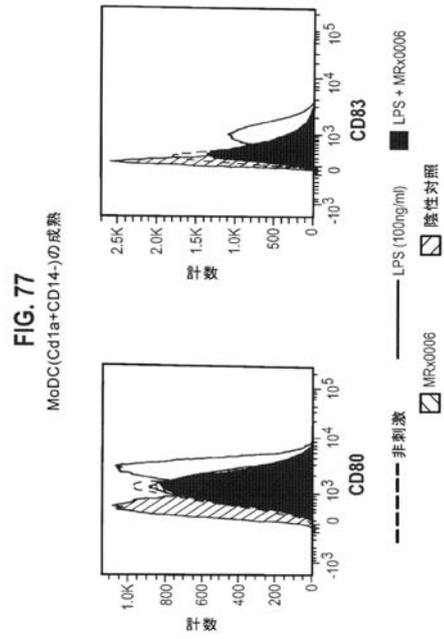
【 図 7 5 】



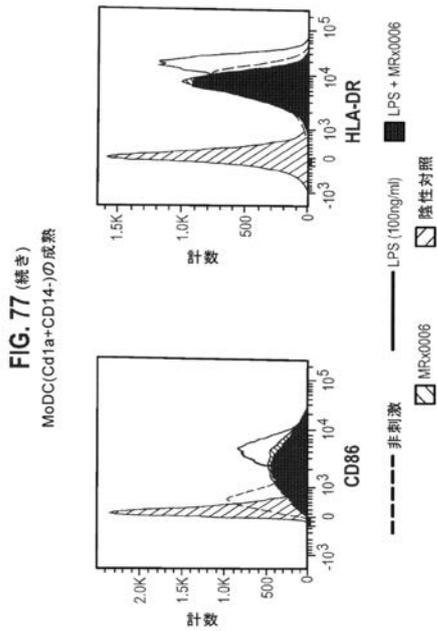
【 図 7 6 】



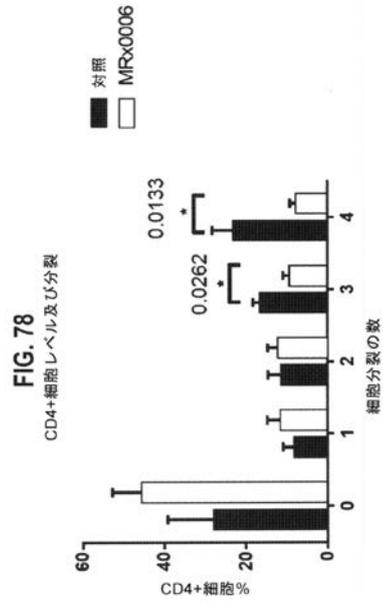
【 図 7 7 - 1 】



【 図 7 7 - 2 】



【 図 7 8 】



【配列表】

2017535511000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成29年5月1日(2017.5.1)

【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】

IL-17又はTh17経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア属の細菌株を含む組成物。

【請求項2】

喘息；関節炎；多発性硬化症；視神経脊髄炎（デビック病）；強直性脊椎炎；脊椎関節炎；乾癬；全身性紅斑性狼瘡；炎症性腸疾患；セリアック病；慢性閉塞性肺疾患（COPD）；がん；ブドウ膜炎；強膜炎；血管炎；ベーチェット病；アテローム性動脈硬化症；アトピー性皮膚炎；肺気腫；歯周炎；アレルギー性鼻炎；及び同種異系移植片拒絶からなる群から選択される疾患又は状態を治療又は予防する方法に使用するための、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

喘息が、アレルギー性喘息又は好中球性喘息であり、
関節炎が、関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、又は若年性特発性関節炎であり

炎症性腸疾患が、クローン病又は潰瘍性大腸炎であり、
がんが、乳がん、結腸がん、肺がん、又は卵巣がんである、請求項2に記載の組成物。

【請求項4】

喘息を治療又は予防する方法に使用するための、請求項2又は3に記載の組成物。

【請求項5】

喘息の治療において好中球増加又は好酸球増加を低減させる方法に使用するための、請求項4に記載の組成物。

【請求項6】

関節リウマチを治療又は予防する方法に使用するための、請求項2に記載の組成物。

【請求項7】

関節リウマチにおける関節の腫脹を低減させる方法に使用するための、請求項6に記載の組成物。

【請求項8】

多発性硬化症を治療又は予防する方法に使用するための、請求項2に記載の組成物。

【請求項9】

疾患の発生率又は疾患の重症度を低減させる方法に使用するための、請求項8に記載の組成物。

【請求項10】

ブドウ膜炎を治療又は予防する方法に使用するための、請求項2に記載の組成物。

【請求項11】

ブドウ膜炎における網膜損傷を低減又は予防する方法に使用するための、請求項10に記載の組成物。

【請求項12】

がんを治療又は予防する方法に使用するための、請求項2又は3に記載の組成物。

【請求項13】

がんが、肺がん、乳がん、又は肝臓がんである、請求項12に記載の組成物。

【請求項 14】

腫瘍のサイズを低減させる、腫瘍の増殖を低減させる、転移を予防する、又は血管新生を予防する方法に使用するための、請求項 12 又は 13 に記載の組成物。

【請求項 15】

IL-17 又は Th17 経路によって媒介される疾患又は状態の治療又は予防において、IL-17 の産生を低減させる又は Th17 細胞の分化を低減させる方法に使用するための、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 16】

IL-17 レベル又は Th17 細胞が上昇している患者に使用するための、請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 17】

細菌株が、ブラウチア・ステルコリスの細菌株である、請求項 1 ~ 16 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 18】

細菌株が、ブラウチア・ウェクスレエの細菌株である、請求項 1 ~ 16 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 19】

細菌株が、ブラウチア・ステルコリスの細菌株の 16 s rRNA 配列と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 又は 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有する、請求項 1 ~ 17 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 20】

細菌株が、配列番号 1 又は 2 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 又は 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有する、請求項 1 ~ 17 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 21】

細菌株が、配列番号 2 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 又は 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有するか、又は細菌株が、配列番号 2 によって表される 16 s rRNA 配列を有する、請求項 20 に記載の組成物。

【請求項 22】

細菌株が、ブラウチア・ウェクスレエの細菌株の 16 s rRNA 配列と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 又は 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有する、請求項 1 ~ 16 及び 18 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 23】

細菌株が、配列番号 3 又は 4 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 又は 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有する、請求項 1 ~ 16 及び 18 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 24】

細菌株が、配列番号 4 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、若しくは 99.9% 同一である 16 s rRNA 配列を有するか、又は細菌株が、配列番号 4 によって表される 16 s rRNA 配列を有する、請求項 21 に記載の組成物。

【請求項 25】

関節リウマチを治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 26】

喘息を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む、請求項 1 又は 3 に記載の組成物。

【請求項 27】

多発性硬化症を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 28】

ブドウ膜炎を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 29】

がんを治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ステルコリス種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 30】

関節リウマチを治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ウェクスレラエ種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 31】

喘息を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ウェクスレラエ種の細菌株を含む、請求項 1 又は 3 に記載の組成物。

【請求項 32】

多発性硬化症を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ウェクスレラエ種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 33】

ブドウ膜炎を治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ウェクスレラエ種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 34】

がんを治療又は予防する方法に使用するための、ブラウチア・ウェクスレラエ種の細菌株を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 35】

経口投与用である、請求項 1 ~ 34 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 36】

1 又は 2 以上の薬学的に許容される賦形剤又は担体を含む、請求項 1 ~ 35 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 37】

細菌株が凍結乾燥されている、請求項 1 ~ 36 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 38】

食品である、請求項 1 ~ 37 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 39】

ワクチン組成物である、請求項 1 ~ 37 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 40】

ブラウチア属の細菌株を含む組成物を含む、IL - 17 又は Th 17 経路によって媒介される疾患又は状態の治療又は予防剤。

【請求項 41】

受託番号 N C I M B 4 2 3 8 1 として寄託されたブラウチア・ステルコリス株又はその派生物の細胞。

【請求項 42】

請求項 41 に記載の細胞を含む組成物。

【請求項 43】

薬学的に許容される担体又は賦形剤を含む、請求項 42 に記載の組成物。

【請求項 44】

受託番号 N C I M B 4 2 3 8 1 として寄託されたブラウチア・ステルコリス株又はその派生物の生物学的に純粋な培養物。

【請求項 45】

受託番号 N C I M B 4 2 3 8 1 として寄託されたブラウチア・ステルコリス株又はその派生物の細胞を含む、治療に使用するための組成物。

【請求項 46】

受託番号 N C I M B 4 2 4 8 6 として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株又は

その派生物の細胞。

【請求項 47】

請求項 46 に記載の細胞を含む組成物。

【請求項 48】

薬学的に許容される担体又は賦形剤を含む、請求項 47 に記載の組成物。

【請求項 49】

受託番号 N C I M B 4 2 4 8 6 として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株又はその派生物の生物学的に純粋な培養物。

【請求項 50】

受託番号 N C I M B 4 2 4 8 6 として寄託されたブラウチア・ウェクスレラエ株又はその派生物の細胞を含む、治療に使用するための組成物。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

				International application No PCT/GB2016/051770	
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER					
INV.	A61K35/74	C12N1/20	A61P1/00	A61P11/06	A61P29/00
ADD.	A61P19/02	A61P25/28	A61P35/00	A61K35/745	
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) A61K C12N A61P					
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) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data					
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT					
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages				Relevant to claim No.
X	WO 2014/121298 A2 (SERES HEALTH INC [US]) 7 August 2014 (2014-08-07)				1,2, 13-20, 33-49
Y	abstract paragraphs [0123], [0124], [0144], [0163], [0213] table 1 claims 1,4,15				1-49
X	US 2014/199281 A1 (HENN MATTHEW R [US] ET AL) 17 July 2014 (2014-07-17)				1,2,13, 14,16, 20-22, 33-49
Y	abstract paragraphs [0095], [0121], [0124], [0141], [0220] tables 1-3				1-49
	----- -/--				
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> 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			"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		
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date			"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		
"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)			"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		
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means			"&" document member of the same patent family		
"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 18 August 2016			Date of mailing of the international search report 06/09/2016		
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 6818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016			Authorized officer Weisser, Dagmar		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/GB2016/051770

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. forming part of the international application as filed:
- in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- on paper or in the form of an image file.
- b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2016/051770

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2014/201037 A2 (UNIV NEW YORK [US]) 18 December 2014 (2014-12-18) abstract paragraphs [0030], [0032], [0074], [0148], [0153], [0154] claims 15,16,20-23 -----	1-8,13, 14,33-49 1-49
X Y	US 2014/341921 A1 (HONDA KENYA [JP] ET AL) 20 November 2014 (2014-11-20) abstract paragraphs [0097] - [0099], [0106], [0109], [0112], [0113], [0127], [0128] -----	1-8,13, 14,33-49 1-49
X Y	US 2003/147858 A1 (RENAUD MICHEL [FR] ET AL) 7 August 2003 (2003-08-07) abstract paragraphs [0040], [0045], [0060], [0100] claims 1,2,15 -----	1,2,13, 14,33-49 1-49

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2016/051770

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014121298 A2	07-08-2014	AU 2014212003 A1	24-09-2015
		AU 2014212004 A1	24-09-2015
		CA 2899925 A1	07-08-2014
		CA 2899926 A1	07-08-2014
		CN 105451561 A	30-03-2016
		EP 2951285 A1	09-12-2015
		EP 2953474 A2	16-12-2015
		EP 2956006 A2	23-12-2015
		JP 2016509002 A	24-03-2016
		JP 2016509003 A	24-03-2016
		KR 20150115888 A	14-10-2015
		US 2014328803 A1	06-11-2014
		US 2015093360 A1	02-04-2015
		US 2016158294 A1	09-06-2016
		US 2016184370 A1	30-06-2016
		US 2016199423 A1	14-07-2016
		WO 2014121298 A2	07-08-2014
		WO 2014121301 A1	07-08-2014
		WO 2014121302 A2	07-08-2014
		US 2014199281 A1	17-07-2014
US 2014199281 A1	17-07-2014		
US 2015190435 A1	09-07-2015		
WO 2014201037 A2	18-12-2014	US 2016120915 A1	05-05-2016
		WO 2014201037 A2	18-12-2014
US 2014341921 A1	20-11-2014	CA 2892588 A1	06-06-2013
		CN 104160014 A	19-11-2014
		EP 2785828 A1	08-10-2014
		HK 1204008 A1	06-11-2015
		JP 2015500792 A	08-01-2015
		US 2014341921 A1	20-11-2014
		US 2016193256 A1	07-07-2016
		US 2016193257 A1	07-07-2016
		WO 2013080561 A1	06-06-2013
US 2003147858 A1	07-08-2003	AT 322902 T	15-04-2006
		AU 6040001 A	20-11-2001
		AU 2001260400 B2	26-10-2006
		CA 2411563 A1	15-11-2001
		CY 1107467 T1	19-12-2012
		DE 60118723 T2	28-12-2006
		DK 1280541 T3	17-07-2006
		EP 1280541 A1	05-02-2003
		ES 2262650 T3	01-12-2006
		FR 2808689 A1	16-11-2001
		JP 5183848 B2	17-04-2013
		JP 2004501095 A	15-01-2004
		PT 1280541 E	30-06-2006
		US 2003147858 A1	07-08-2003
		US 2010316617 A1	16-12-2010
		WO 0185187 A1	15-11-2001

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 P	27/02 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P	19/00 (2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P	17/06 (2006.01)	A 6 1 P 19/00	
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P	11/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/16	
A 6 1 P	27/14 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P	9/14 (2006.01)	A 6 1 P 27/14	
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/14	
A 6 1 P	17/02 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P	37/08 (2006.01)	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P	1/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P	11/02 (2006.01)	A 6 1 P 1/02	
A 6 1 P	37/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/02	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 K	9/19 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 K	39/02 (2006.01)	A 6 1 K 9/19	
A 6 1 K	35/74 (2015.01)	A 6 1 K 39/02	
A 6 1 P	11/06 (2006.01)	A 6 1 K 35/74	G
C 1 2 N	15/09 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
C 1 2 R	1/01 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	A
		C 1 2 N 1/20	A
		C 1 2 R 1:01	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

- (74)代理人 100188352
弁理士 松田 一弘
- (74)代理人 100131093
弁理士 堀内 真
- (74)代理人 100150902
弁理士 山内 正子
- (74)代理人 100141391
弁理士 園元 修一
- (74)代理人 100198074
弁理士 山村 昭裕
- (74)代理人 100145920
弁理士 森川 聡
- (74)代理人 100096013

- 弁理士 富田 博行
- (72)発明者 グラント ジョージ
イギリス国 エイビー25 2ゼットエス アバディーンシャー アバディーン コーンヒルロード ライフサイエンスイノベーションビルディング
- (72)発明者 バターソン アンジェラ マーガレット
イギリス国 エヌアール4 7ジェイティー イーストアングリア ノリッチ ユニバーシティオブイーストアングリア ファカルティーオブメディスンアンドヘルスサイエンス ノリッチメディカルスクール
- (72)発明者 ムルダー イムケ
イギリス国 エイビー25 2ゼットエス アバディーンシャー アバディーン コーンヒルロード ライフサイエンスイノベーションビルディング
- (72)発明者 マックルスキー ショーニン
イギリス国 エルエス1 2ジェイゼット ウェストヨークシャー リーズ ボンドコート9 3階 フォーディー ファーマ ピーエルシー気付
- (72)発明者 ラフティス エマ
イギリス国 エルエス1 2ジェイゼット ウェストヨークシャー リーズ ボンドコート9 3階 フォーディー ファーマ ピーエルシー気付

F ターム(参考) 4B018 MD85 ME07 ME08 ME14 MF05
4B065 AA01X AC20 BD09 BD10 CA44
4C076 AA29 BB01 FF68 GG06
4C085 AA03 BA07 CC07 EE01 GG08
4C087 AA01 AA02 AA03 BC55 CA04 MA52 NA14 ZA01 ZA33 ZA34
ZA44 ZA45 ZA59 ZA60 ZA62 ZA67 ZA68 ZA89 ZA96 ZB08
ZB13 ZB15 ZB26 ZC02