明　細　書

発明の名称 ： 免疫細胞の増殖の促進のための組成物

技術分野

[0001]　本発明は、免疫細胞の増殖の促進のための組成物に関する。

背景技術

[0002]　免疫系において重要な役割を担うT細胞は、細胞外からの種々の刺激に応じて、未熟な状態から様々な機能を有する種々のエフェクターT細胞へと分化し、病原微生物、ウイルス感染細胞、及びがん細胞等の排除に寄与することが知られる。

[0003]　エフェクターT細胞の１種である$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞（Th7R細胞）は、がんに対する免疫チェックポイント阻害薬の奏効率を予測するバイオマーカーとして用いることができる（非特許文献１）。特許文献１には、前記$CD4^{+}$ T細胞集団中の$CXCR3^{-}$細胞亜集団を選択する工程と、前記$CXCR3^{-}$細胞亜集団において、$CCR4^{-}$細胞亜集団と$CCR4^{+}$細胞亜集団との境界を設定する工程と、前記境界を用いて、$CD4^{+}$T細胞集団中の$CCR4^{-}CCR6^{+}$細胞亜集団の相対量を測定する工程とを包含する、被験体由来のサンプル中の$CD4^{+}$ T細胞集団中のTh7R細胞亜集団の相対量の決定方法が記載されている。Th7R細胞は、摘出手術後のがんの再発の抑制に寄与することも知られる（非特許文献２）。

[0004]　また、エフェクターT細胞の１種であるMAIT細胞及びNKT細胞は、獲得免疫に寄与する細胞でありながら、迅速なエフェクター活性を有し、自然免疫にも寄与する特徴を有する細胞である。MAIT細胞及びNKT細胞は、がんの予防ないしがん転移の抑制に寄与することが知られる（非特許文献３、４）。

[0005]　他方で、乳酸菌、その発酵物、又は乳酸菌由来菌体外多糖（EPS）は、いくつかの生理活性を有することが知られる。その生理活性としては、例えば、自己免疫疾患予防（特許文献２）、NK細胞活性化（特許文献３）、抗ウイルス（特許文献４）、肺炎球菌感染予防（特許文献５）、獲得免疫低下抑制（

特許文献６）、インフルエンザの予防及び／又は治療（特許文献７）、サイトカイン産生抑制（特許文献８）、細胞性免疫活性化（特許文献９）、癌悪液質抑制（特許文献１０）、免疫チェックポイント阻害療法の促進（特許文献１１）、ウイルス感染後の二次性感染症の予防又は発症リスクの低減（特許文献１２）、抗ヒトコロナウイルス（特許文献１３）、ウイルス増殖抑制（特許文献１４）、免疫バランスの調節（特許文献１５）、インターフェロンγ産生促進（特許文献１６）、T細胞の活性化（特許文献１７）、抗体価上昇（特許文献１８）、レチノイン酸産生（特許文献１９）が知られる。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特許第７３６８６７８号公報

特許文献2：特開２０００－２４７８９５号公報

特許文献3：特開２００５－１９４２５９号公報

特許文献4：国際公開ＷＯ２０１１／０６５３００号

特許文献5：国際公開ＷＯ２０１５／１３３６３８号

特許文献6：特開２０１８－２７９０４号公報

特許文献7：特開２０１８－７４９４０号公報

特許文献8：特開２０１８－１７７７４０号公報

特許文献9：特開２０１８－２０３６９８号公報

特許文献10：特開２０１９－８１７３３号公報

特許文献11：国際公開ＷＯ２０１９／２４０２１８号

特許文献12：国際公開ＷＯ２０２３／１２０５４７号

特許文献13：国際公開ＷＯ２０２３／２０４２３４号

特許文献14：特開２０２１－８０１８７号公報

特許文献15：特開２０２１－１０１６４５号公報

特許文献16：国際公開ＷＯ２０１９／１１１９０４号

特許文献17：国際公開ＷＯ２０２０／０６７４２２号

特許文献18：国際公開ＷＯ２０１５／０２９９６７号

特許文献19：国際公開ＷＯ２０１５／１３７５０１号

非特許文献

[0007] 非特許文献1：Hiroshi Kagamu et al, Single-Cell Analysis Reveals a CD4+ T-cell Cluster That Correlates with PD-1 Blockade Efficacy. Cancer Res. 2022 Dec 16;82(24):4641-4653. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-22-0112.

非特許文献2：Akitoshi Yanagihara et al, A Th1-like CD4+ T-cell Cluster That Predicts Disease-free Survival in Early-stage Lung Cancer. Cancer Res Commun. 2023 Jul 19;3(7):1277-1285. doi: 10.1158/2767-9764.CRC-23-0167.

非特許文献3：Benjamin Ruf et al, Activating Mucosal-Associated Invariant T Cells Induces a Broad Antitumor Response. Cancer Immunol Res. 2021 Sep;9(9):1024-1034. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-20-0925.

非特許文献4：Chi Ma et al, Gut microbiome-mediated bile acid metabolism regulates liver cancer via NKT cells. Science. 2018 May 25;360(6391):eaan5931. doi: 10.1126/science.aan5931.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明は、エフェクターT細胞の１種である、$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞、MAIT細胞、及びNKT細胞の１以上の増殖を促進する手段を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] 以下の発明が提供される。

［１］ 乳酸菌の菌体外多糖を含む、（ｉ）及び（ｉｉ）のいずれか一方又は双方の増殖の促進のための組成物。

（ｉ）$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞

（ｉｉ）MAIT細胞及びNKT細胞

［２］　乳酸菌の菌体外多糖を含む、免疫チェックポイント阻害療法への感受性の向上、及び摘出手術後のがんの再発の抑制のいずれか一方又は双方のための組成物。

［３］　前記免疫チェックポイント阻害療法への感受性の向上が、免疫チェックポイント阻害療法が効きにくい対象が、効きやすい対象に変化すること、又は、時間とともに免疫チェックポイント阻害療法が効かなくなった対象が再度効果を得られるようになることである、［２］に記載の組成物。

［４］　乳酸菌の菌体外多糖を含む、$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置のための組成物。

［５］　$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置が、免疫チェックポイント阻害療法への感受性の向上であり、免疫チェックポイント阻害療法を行っていない対象に摂取させるためのものである、［４］に記載の組成物。

［６］　乳酸菌の菌体外多糖を含む、MAIT細胞及びNKT細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置のための組成物。

［７］　MAIT細胞及びNKT細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置が、がん転移の抑制及びがんの予防のいずれか一方又は双方であり、がんの処置を行っていない対象に摂取させるためのものである、［６］に記載の組成物。

［８］　乳酸菌が、Lactobacillus属に属する細菌である、［１］～［７］のいずれか１つに記載の組成物。

［９］　乳酸菌が、Lactobacillus delbrueckiiに属する細菌である、［１］～［８］のいずれか１つに記載の組成物。

［１０］　乳酸菌が、Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus FERM BP-10741である、［１］～［９］のいずれか１つに記載の組成物。

［１１］　乳酸菌の菌体外多糖が、乳酸菌の発酵物として含まれる、［１］～［１０］のいずれか１つに記載の組成物。

［１２］　医薬組成物である、［１］～［１１］のいずれか１つに記載の組成物。

［１３］　食品組成物である、［１］～［１１］のいずれか１つに記載の組成物。

[0010]　また、以下の発明も提供される。

［１４］　乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物を対象に摂取させることを含む、（ｉ）及び（ｉｉ）のいずれか一方又は双方の増殖を促進する方法又は非治療的方法。（ｉ）及び（ｉｉ）のいずれか一方又は双方の増殖を促進する方法において使用するための、乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物。（ｉ）及び（ｉｉ）のいずれか一方又は双方の増殖の促進のための組成物の製造における、乳酸菌の菌体外多糖の使用、又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物の使用。（ｉ）及び（ｉｉ）のいずれか一方又は双方の増殖を促進するための、乳酸菌の菌体外多糖の使用若しくは非治療的使用、又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物の使用若しくは非治療的使用。

（ｉ）$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞

（ｉｉ）MAIT細胞及びNKT細胞

［１５］　乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物を対象に摂取させることを含む、免疫チェックポイント阻害療法への感受性を向上させる方法若しくは非治療的方法、又は摘出手術後のがんの再発を抑制する方法。免疫チェックポイント阻害療法への感受性を向上させる方法又は摘出手術後のがんの再発を抑制する方法において使用するための、乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物。免疫チェックポイント阻害療法への感受性の向上、及び摘出手術後のがんの再発の抑制のいずれか一方又は双方のための組成物の製造における、乳酸菌の菌体外多糖の使用、又は乳

酸菌の菌体外多糖を含む組成物の使用。免疫チェックポイント阻害療法への感受性を向上させるための、又は摘出手術後のがんの再発を抑制するための、乳酸菌の菌体外多糖の使用若しくは非治療的使用、又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物の使用若しくは非治療的使用。

［１６］　乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物を対象に摂取させることを含む、$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態を処置する方法又は非治療的方法。$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態を処置する方法において使用するための、乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物。$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置のための組成物の製造における、乳酸菌の菌体外多糖の使用、又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物の使用。$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態を処置するための、乳酸菌の菌体外多糖の使用若しくは非治療的使用、又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物の使用若しくは非治療的使用。

［１７］　$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置が、免疫チェックポイント阻害療法への感受性の向上であり、対象が、免疫チェックポイント阻害療法を行っていない対象である、［１６］に記載の方法又は非治療的方法。$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置が、免疫チェックポイント阻害療法への感受性の向上であり、免疫チェックポイント阻害療法を行っていない対象に摂取させるためのものである、［１６］に記載の乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物。$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置が、免疫チェックポイント阻害療法への感受性

の向上であり、組成物又は乳酸菌の菌体外多糖が、免疫チェックポイント阻害療法を行っていない対象に摂取させるためのものである、［１６］に記載の使用又は非治療的使用。

［１８］　乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物を対象に摂取させることを含む、MAIT細胞及びNKT細胞のいずれか一方又は双方の増殖の促進により改善される疾患又は状態を処置する方法又は非治療的方法。MAIT細胞及びNKT細胞のいずれか一方又は双方の増殖の促進により改善される疾患又は状態を処置する方法において使用するための、乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物。MAIT細胞及びNKT細胞のいずれか一方又は双方の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置のための組成物の製造における、乳酸菌の菌体外多糖の使用、又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物の使用。MAIT細胞及びNKT細胞のいずれか一方又は双方の増殖の促進により改善される疾患又は状態を処置するための、乳酸菌の菌体外多糖の使用若しくは非治療的使用、又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物の使用若しくは非治療的使用。

［１９］　MAIT細胞及びNKT細胞のいずれか一方又は双方の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置が、がん転移の抑制及びがんの予防のいずれか一方又は双方であり、対象が、がんの処置を行っていない対象である、［１８］に記載の方法又は非治療的方法。MAIT細胞及びNKT細胞のいずれか一方又は双方の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置が、がん転移の抑制及びがんの予防のいずれか一方又は双方であり、がんの処置を行っていない対象に摂取させるためのものである、［１８］に記載の乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物。がんの処置を行っていない対象においてMAIT細胞及びNKT細胞のいずれか一方又は双方の増殖の促進により改善される疾患又は状態を処置するための［１８］に記載の使用又は非治療的使用であって、MAIT細胞及びNKT細胞のいずれか一方又は双方の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置が、がん転移の抑制及びがんの予防のいずれか一方又は双方である、使用又は非治療的使用。

［２０］　乳酸菌が、Lactobacillus属に属する細菌である、［１４］～［１９］のいずれか１つに記載の方法若しくは非治療的方法、乳酸菌の菌体外多糖若しくは乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物、又は使用若しくは非治療的使用。

［２１］　乳酸菌が、Lactobacillus delbrueckiiに属する細菌である、［１４］～［２０］のいずれか１つに記載の方法若しくは非治療的方法、乳酸菌の菌体外多糖若しくは乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物、又は使用若しくは非治療的使用。

［２２］　乳酸菌が、Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus FERM BP-10741である、［１４］～［２１］のいずれか１つに記載の方法若しくは非治療的方法、乳酸菌の菌体外多糖若しくは乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物、又は使用若しくは非治療的使用。

［２３］　乳酸菌の菌体外多糖を乳酸菌の発酵物として摂取させる、［１４］～［２２］のいずれか１つに記載の方法又は非治療的方法。乳酸菌の菌体外多糖が、乳酸菌の発酵物としてとして組成物に含まれる、［１４］～［２２］のいずれか１つに記載の組成物、又は使用若しくは非治療的使用。

［２４］　乳酸菌の菌体外多糖を含む医薬組成物を摂取させる、［１４］～［２３］のいずれか１つに記載の方法又は非治療的方法。組成物が医薬組成物である、［１４］～［２３］のいずれか１つに記載の組成物、又は使用若しくは非治療的使用。

［２５］　乳酸菌の菌体外多糖を含む食品組成物を摂取させる、［１４］～［２３］のいずれか１つに記載の方法又は非治療的方法。組成物が食品組成物である、［１４］～［２３］のいずれか１つに記載の組成物、又は使用若しくは非治療的使用。

発明の効果

[0011]　本発明によれば、$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞（Th7R細胞）、MAIT細胞、及びNKT細胞の１以上の増殖が促進される。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]図１は、被験品摂取前後の被験者のPBMC中のMAIT/NKT細胞の構成率の変化量を示す。

[図2]図２は、被験品摂取後のPBMC中$CD4^+$ T細胞におけるクラスター#44347、#44352、及び#44360のそれぞれの構成率を示す。

[図3]図３は、被験品摂取後のPBMC中$CD4^+$ T細胞におけるクラスターの系統並びに各クラスターのCCR6発現強度を示す。バーの数値は相対発現量の高低を示し、バーの色と各サークルの色は対応する。

発明を実施するための形態

[0013] 以下に本発明を説明する。以下に説明する本発明の各特徴は、任意に組み合わせることができる。

[0014] ＜組成物＞

本発明は、乳酸菌の菌体外多糖（EPS）を含む組成物に関する。

[0015] ［有効成分］

本発明の組成物中の有効成分は、乳酸菌のEPSである。本発明の組成物に用いられるEPSは、目的の効果を有する限り、特に限定されない。例えば、乳酸菌により産生されるもの、及び乳酸菌由来のEPS産生遺伝子を導入した微生物（例えば大腸菌）により産生されるものを含む。ある態様では、乳酸菌のEPSは、乳酸菌により産生されるEPSである。乳酸菌のEPSは、構造的にホモ多糖であるものとヘテロ多糖であるもの（例えば、ガラクトースとグルコースから構成されるもの）に分類され、リン酸化や硫酸化等の修飾をさらに受けている場合もあるが、目的の効果を有する限りにおいては特に限定されず、いずれも本発明の組成物の有効成分として用いることができる。また、EPSは、中性多糖体であってもよく、酸性多糖体（例えば、中性多糖体にリン酸基等が付加したもの）であってもよい。このようなEPSは、ラクトバチルス・デルブルッキー・サブスピーシーズ・ブルガリカス（Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus）、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティス（Lactococcus lactis subsp. lactis）、ラクトコッカス・ラク

ティス・サブスピーシーズ・クレモリス（Lactococcus lactis subsp. cremoris）等によって産生されることが知られている。本発明に用いられるEPSは、１種でもよく、２種以上の組み合わせであってもよい。またEPSは、乳酸菌の発酵物等から精製して得られたものであってもよい。

[0016] 乳酸菌とは、ブドウ糖を資化して対糖収率で５０％以上の乳酸を生産する微生物の総称であり、生理学的性質として、グラム陽性菌の球菌又は桿菌、運動性なし、多くの場合胞子形成能なし（Bacillus coagulansのように胞子形成能のある乳酸菌もある。）、カタラーゼ陰性等の特徴を有しているものである。乳酸菌は古来、発酵乳等を介して世界各地で食されており、極めて安全性の高い微生物といえる。乳酸菌は、複数の属に分類される。本発明において、乳酸菌は、EPSを産生するものであればよく、好ましくは、Lactobacillus属に属する細菌又はLactococcus属に属する細菌である。

[0017] Lactobacillus属に属する細菌

ラクトバチルス属乳酸菌としては、例えば、ブルガリカス種、カゼイ種、アシドフィルス種、プランタラム種等が挙げられる。

本発明において「Lactobacillus属に属する細菌」とは、2020年4月15日付で発行されたINTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY, Volume 70, Issue 4における論文「A taxonomic note on the genus Lactobacillus: Description of 23 novel genera, emended description of the genus Lactobacillus Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae」において発表された乳酸菌の再編成により新たに設定された２５の属、すなわち、Lactobacillus属、Paralactobacillus属、Holzapfelia属、Amylolactobacillus属、Bombilactobacillus属、Companilactobacillus属、Lapidilactobacillus属、Agrilactobacillus属、Schleiferilactobacillus属、Loigolactobacilus属、Lacticaseibacillus属、Latilactobacillus属、Dellaglioa属、Liquorilactobacillus属、Ligilactobacillus属、Lactiplantibacillus属、Furfurilactobacillus属、Paucilactobacillus属、Limosilactobacillus属、Fructilactobacillus属、Acetilactobacillus

属、Apilactobacillus属、Levilactobacillus属、Secundilactobacillus属及びLentilactobacillus属のいずれかの属に属する細菌をいう。本発明において、Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus種に分類される乳酸菌（bulgaricus菌とも称する）であることが好ましい。さらに、Lactobacillus属に属する細菌は、Lactobacillus delbrueckiiに属する細菌であることが好ましく、Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricusに属する細菌であることがより好ましい。すなわち、本発明の組成物に用いられるEPSの特に好ましい例の一つは、Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricusに分類される乳酸菌のEPSである。

[0018] Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus FERM BP-10741

Lactobacillus属に属する細菌は、特に好ましくは、Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus FERM BP-10741、又はLactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus FERM BP-10741と分類学的に同等の菌株である。Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus FERM BP-10741は、Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus OLL1073R-1と表記されることもある。Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus FERM BP-10741は、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許生物寄託センター（ＩＰＯＤ，ＮＩＴＥ）（日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２０号室）にブタペスト条約に基づき、国際寄託されている（寄託者：株式会社 明治、寄託日：２００６年１１月２９日、受託番号：ＦＥＲＭ ＢＰ－１０７４１）。

[0019] Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus FERM BP-10741の16S rRNA遺伝子のV1～V3領域の配列（16S rRNA遺伝子の全長配列において34～535番目までの塩基配列に相当）の塩基配列を、配列表の配列番号１に示す。16S rRNA gene. Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus OLL1073R-1 (SEQ ID NO:1)

GCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAGCTGAATTCAAAGATYCCTTCGGGRTGATTTGTTGGACGCTAGCGGCGGATGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTAAAGACTGGGATACCACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGGATAACAACATGAATCGCATGATTCAAGTTTGAAAGGCGGCGYAAGCTGTCAC

TTTAGGATGAGCCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCAATGATGCGTAGC
CGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA
GGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCG
TAAAGCTCTGTTGTTGGTGAAGAAGGATAGAGGCAGTAACTGGTCTTTATTTGACGGTAATCAACCAGA
AAGTCACGGCTAACTACGT

[0020] ある菌株（以下、菌株Ｓと記載）と分類学的に同等の菌株とは、例えば、下記のいずれかをいう。

・菌株Ｓと同じ属に属する菌株、好ましくは菌株Ｓと同じ種に属する菌株であって、その16S rRNA遺伝子の配列の全部又は特徴のある一部（V1領域、V2領域、又はV1領域及びV2領域の全部又は一部、又はV1領域及びV2領域を含む一部、等）が、菌株Ｓの配列と９０％以上、好ましくは９５％以上、より好ましくは９８％以上、さらに好ましくは９８．５％以上、さらに好ましくは９８．７％より高く、さらに好ましくは９９％以上、さらに好ましくは９９．５％以上、さらに好ましくは１００％の配列同一性を有する菌株；

・菌株Ｓと同じ属に属する菌株、好ましくは菌株Ｓと同じ種、より好ましくは菌株Ｓと同じ亜種に属する菌株であって、菌株Ｓと同一の菌学的性質を有する菌株。

[0021] なお、16S rRNA遺伝子配列に基づく種の異同の判断基準に関し、当業者はStackebrandt E, Ebers J. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. Microbiology Today 2006;33:152-155を参考にすることができる。

[0022] Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus FERM BP-10741の菌学的性質を以下に示す。

（１）形態的性状

細胞の形：桿菌

運動性：なし

胞子の有無：なし

グラム染色性：陽性

[0023] （２）培地上の生育状態

ＢＬ寒天培地（栄研化学）平板上で該菌株を塗布し、スチールウール法により３７℃、４８時間培養して、不透明なラフ型コロニーの形態を示す。

[0024] （３）生理学的性状

硝酸塩の還元：陰性

インドール生成：陰性

ゼラチン液化：陰性

カタラーゼ：陰性

酸素に対する態度：通性嫌気性

グルコースよりホモ乳酸発酵によりＤ（－）乳酸を生成し、ガスを産生しないＢＬ液体培地で１０℃での生育は陰性、４５℃での生育は陽性

アルギニン分解性：陰性

リンゴ酸からのガス産生：陰性

各種炭水化物の分解性（陽性＋、陰性－）

アラビノース（－）、キシロース（－）、ラムノース（－）、リボース（－）、グルコース（＋）、マンノース（＋）、フルクトース（＋）、ガラクトース（－）、シュークロース（－）、マルトース（－）、セロビオース（－）、ラクトース（＋）、トレハロース（－）、メリビオース（－）、ラフィノース（－）、メレチトース（－）、デキストリン（－）、デンプン（－）、グリコーゲン（－）、イヌリン（－）、マンニトール（－）、ソルビトール（－）、イノシトール（－）、エスクリン（－）、サリシン（－）

[0025] （４）EPS生産性

本菌株はEPS生産性を有する。

[0026] EPS生産性を有するLactobacillus属に属する細菌して、例えば、下記の乳酸菌が存在することが知られる。

ラクチプランティバチルス・プランタルム（Lactiplantibacillus plantarum）C88（非特許文献５）；ラクトバチルス・ジョンソニイ（Lactobacillus. johnsonii）strain 151（非特許文献６）；Lactobacillus delbrueckii subsp

. bulgaricus NCFB2074（非特許文献７）；ラクトバチルス・カゼイ（Lacticaseibacillus casei）CG11（非特許文献８）；ラクチカゼイバチルス・ラムノーサス（Lacticaseibacillus rhamnosus）E/N（非特許文献９）；ラクトバチルス・ファーメンタム（Lactobacillus fermentum）TDS030603（非特許文献１０）；ラクトバチルス・ガセリ（Lactobacillus gasseri）FR4（非特許文献１１）。

[0027] このことから、例えば、上述のLactobacillus属に属する細菌から産生されるEPSは、本発明の効果を奏すると考えられる。

[0028] Lactococcus 属に属する細菌

ラクトコッカス属乳酸菌としては、例えば、ラクティス種、プランタラム種、ラフィノラクティス種等が挙げられる。これらのラクトコッカス属乳酸菌の中でも、本発明では、ラクティス種に分類される乳酸菌であることが好ましい。さらに、ラクトコッカス属乳酸菌の中でも、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティス（Lactococcus lactis subsp. lactis）又はラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリス（Lactococcus lactis subsp. cremoris）に分類されるものであることがより好ましい。すなわち、本発明の組成物に用いられるEPSの特に好ましい例の一つは、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティス又はラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリスに分類される乳酸菌のEPSである。

[0029] ラクトコッカス属乳酸菌の産生するEPSには、例えば、ガラクトースとグルコースが含まれることが知られる。例えば、Lactococcus lactis NIZO B40が産生するEPSの繰り返し単位は、グルコース、ガラクトース、ラムノース、リン酸からなり、その比率は２：２：１：１である（非特許文献１２、非特許文献１３）。また、Lactococcus lactis subsp. cremoris FC（「フジッコカスピ海ヨーグルト（登録商標）」より分離できる。）は、ラムノース、ガラクトース、グルコースを１：１：３のモル比で含むリン酸多糖類を産生する（非特許文献１４）。Lactococcus lactis subsp. lactis YZ1は、マンノ

ース、ガラクトース、グルコースを構成等とする多糖を産生する（非特許文献１５）。これらのことから、ラクトコッカス属乳酸菌の産生するEPSも、本発明の効果を奏すると考えられる。

[0030] その他、下記（ａ）～（ｄ）のタンパク質のうちのいずれかをコードするＤＮＡ（曳糸性向上ＤＮＡ）からなる群から選択される少なくとも１種のＤＮＡを有する乳酸菌を用いることもできる。

（ａ）配列番号２に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質、

（ｂ）配列番号２に示されるアミノ酸配列において、第４０位のチロシン以外のアミノ酸の１若しくは複数個が置換、欠失、挿入及び／又は付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、発酵乳の曳糸性の向上作用を有するタンパク質、

（ｃ）配列番号２に示されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、配列番号２に示されるアミノ酸配列の第４０位に対応するアミノ酸がチロシンであり、かつ、発酵乳の曳糸性の向上作用を有するタンパク質、及び

（ｄ）配列番号３に示されるヌクレオチド配列からなるＤＮＡの相補鎖と厳密な条件下でハイブリダイズするＤＮＡによってコードされるアミノ酸配列からなり、配列番号２に示されるアミノ酸配列の第４０位に対応するアミノ酸がチロシンであり、かつ、発酵乳の曳糸性の向上作用を有するタンパク質

[0031] 本発明において、「発酵乳の曳糸性」とは、発酵乳の粘性及び／又は弾性によって、糸をひく性質のことを示し、「発酵乳の曳糸性の向上作用」とは、前記曳糸性を発酵乳に付与、又は発酵乳における前記曳糸性を向上せしめる作用（本明細書中、場合により「曳糸性向上作用」という）を示す。前記タンパク質が前記曳糸性向上作用を有する理由は定かではないが、本発明者らは、乳酸菌によるＥＰＳの生合成の過程において本発明のタンパク質が作用して、曳糸性の高い構造のＥＰＳが生成されるためではないかと推察する。

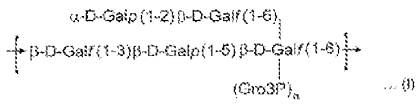
[0032] 乳酸菌が本発明の曳糸性向上ＤＮＡを有するか否かは、当該ＤＮＡを検出

することにより判定することができる。曳糸性向上ＤＮＡの検出方法としては、公知の方法又はそれに準じた方法を適宜採用することができる。

[0033]（EPSの構成糖等）

一態様では、本発明の組成物に含まれる乳酸菌のEPSは、以下の式（Ｉ）で表される繰り返し単位が連なった繰り返し構造を有する酸性菌体外多糖を含みうる。

[0034][化1]



式（Ｉ）中、

ｎは、０又は１であり；

α－Ｄ－Ｇａｌｐはピラノース型のα－Ｄ－ガラクトース残基を表し；

β－Ｄ－Ｇａｌｐはピラノース型のβ－Ｄ－ガラクトース残基を表し；

β－Ｄ－Ｇａｌｆはフラノース型のβ－Ｄ－ガラクトース残基を表し；

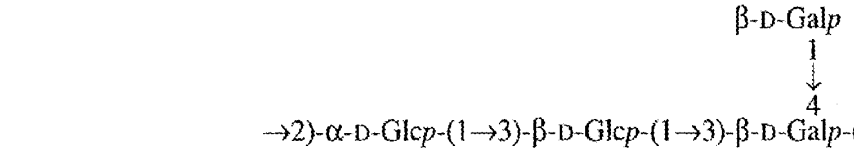
Ｇｒｏ３ＰはグリセロールＳ－リン酸基を表し；

（１－２）、（１－３）、（１－５）、及び（１－６）はそれぞれ、残基間の１－２結合（すなわち、１位炭素－２位炭素結合）、１－３結合、１－５結合、及び１－６結合を表す。

[0035] 一態様では、酸性菌体外多糖においては、式（Ｉ）で表される繰り返し単位が連なった繰り返し構造において、繰り返し単位１個当たり平均約１個（例えば、各繰り返し単位に対し１個（ｎ＝１）又は０個であり、かつ、酸性ＥＰＳ全体での加重平均で繰り返し単位１個当たり約１個）のグリセロールＳ－リン酸基が付加されていることが好ましいが、それに限定されない。

[0036] 別の一態様では、本発明の組成物に含まれる乳酸菌のEPSは、以下の式（ＩＩ）で表される繰り返し単位が連なった繰り返し構造を有する中性多糖体を含みうる。

[化2]



式（II）

[0037] 発酵物

EPSは、乳酸菌の発酵物（好ましくは、獣乳の発酵物）として本発明の組成物中に含まれていてもよい。乳酸菌の発酵物には、乳酸菌による発酵物自体のほか、その処理物が含まれる。乳酸菌発酵物自体には、例えば発酵乳（具体的には、ヨーグルト等）が含まれる。処理物には、例えば、粗精製物、発酵物をろ過、遠心分離、又は膜分離で除菌して得られた沈殿物、液体成分を低減させた培養濃縮液、培養濾液や培養上清液、培養濾液・培養上清液を濃縮した濃縮物、濃縮物の乾燥物が含まれる。あるいは、培養液、培養濃濃縮液、培養濾液、培養上清液を、バインダー（結合剤）液を噴霧してえられる粉粒体の凝集造粒物でもよい。

なお、発酵における基質は、特に制限されないが、一般的な乳酸菌増殖用培地でもよいし、好ましくは獣乳であり、マメ科植物の抽出物を含まないことが好ましい。本発明の組成物は、菌体を含んでいても含まなくてもよい。

[0038] 乳酸菌のEPSの調製方法は、例えば前掲特許文献４等に記載の従来の方法に従うものであってよいし、化学合成で製造してもよい。また、乳酸菌のEPSを乳酸菌の発酵物として調製する場合は、EPSを産生する乳酸菌をスターターとして原料乳に添加し、発酵させ、EPSを発酵物中に産生させることで、EPSを含む発酵乳が製造できる。発酵の際の条件、例えば、原料乳、発酵温度、発酵時間は、用いる乳酸菌がEPSを産生することができれば特に制限されず、当業者であれば、適宜設定することができる。

[0039] スターターとしては、例えば、Lactobacillus属に属する細菌、Lactobacillus属に属する細菌に加えて、Streptococcus thermophilusに属する細菌を用いることができる。したがって、ある態様では、乳酸菌の発酵物は、Lactoba

cillus属に属する細菌とStreptococcus thermophilusに属する細菌との発酵物である。Streptococcus thermophilusに属する細菌は、好ましくは、Streptococcus thermophilus 1131である。Streptococcus thermophilus 1131は、明治ブルガリアヨーグルトLB81（株式会社 明治）より単離することができ、市販品より入手することができる。

[0040] ［用途］

（機能）

$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進

本発明の組成物は、$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する細胞（以下、Th7R細胞または、TH7Rまたは、$CXCR3^{+}/CCR4^{lo}/CCR6^{hi}$とも表記）の増殖の促進のために用いることができる。$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞とは、少なくとも$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有していればよく、たとえば、実施例に記載のクラスター44352などがある。

なお、本明細書における、ケモカインレセプターの発現レベルを示す、+、low（lo）、high（hi）、-の定義は下記のとおりである。

＋とは、ケモカインレセプターの発現が陽性であること、すなわち、フローサイトメトリー等による細胞表面マーカーの発現解析における測定値がある測定限界値以上であることを示す。

lowとは、ケモカインレセプターの発現レベルが、解析対象集団のＰＢＭＣ中の細胞当たりの細胞表面マーカーの発現強度の中央値以下であることを示す。なお、”以下”とは、発現が陰性も含みうる。

Highとは、ケモカインレセプターの発現レベルが、解析対象集団のＰＢＭＣ中の細胞当たりの細胞表面マーカーの発現強度の中央値以上であることを示す。あるいは、より高値の任意の値以上としてもよい。

-とは、ケモカインレセプターの発現が陰性であること、すなわち、フローサイトメトリー等による細胞表面マーカーの解析における測定値が、測定限界

値未満、すなわち発現が陽性であると言えないことであることを示す。

ここで、発現強度は、例えば、細胞表面マーカー特異的な蛍光標識抗体を利用して細胞を直接フローサイトメトリーで解析し、実施例のように、細胞表面マーカー特異的な金属同位体標識抗体を利用して細胞を直接マスサイトメトリーで解析し、当該金属同位体元素の定量により発現強度を測定することができる。前記の解析で困難である場合には、当該蛍光標識抗体の蛍光強度により発現強度を測定することができる。いずれも困難である場合、そのほかの当業者において周知の方法であればよい。

[0041] Th7R細胞の増殖の促進とは、例えば、本実施例に示されるように、$CD4^+$ T細胞のクラスタリングにより、対象から採取されたPBMC（末梢血単核球）に含まれる$CD4^+$ T細胞中のTh7R細胞の集団の構成率が、評価したい成分の摂取後において、適切な対照と比較して大きくなることによって評価することができる。Th7R細胞の増殖の促進は、Th7R細胞自体が増えること、Th7R細胞への分化が促進されること、Th7R細胞の死滅を防いで集団の構成率が高まること、及び別の組織からの流入を促進して集団の構成率が高まることを含むものであり得る。ある態様では、Th7R細胞の増殖の促進は、血中のTh7R細胞の増殖の促進である。Th7R細胞集団の検出は、クラスタリングのみならず他の科学的に許容される方法も選択できる。

[0042] 本発明の組成物は、Th7R細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置のために用いることができる。本発明において、処置とは、疾患ないし状態の予防、改善、及び進行の抑制を含む。

[0043] Th7R細胞は、がんに対する免疫チェックポイント阻害薬の奏効率を予測するバイオマーカーとして用いることができる（非特許文献１）。したがって、Th7R細胞の増殖を促進し得る本発明の組成物は、免疫チェックポイント阻害療法への感受性の向上のために用いることができる。また、本発明の組成物は、Th7R細胞の増殖を促進することにより免疫チェックポイント阻害療法への感受性を向上させるために用いることができる。免疫チェックポイント阻害療法への感受性の向上とは、免疫チェックポイント阻害療法が効きにく

い対象が、効きやすい対象に変化すること（付与）、時間とともに免疫チェックポイント阻害療法が効かなくなった対象が再度効果を得られるようになること（回復）である。免疫チェックポイント阻害療法による効果は、例えば、担がん患者の生存期間を延長させること、がん細胞を殺傷してがんを縮小させること（腫瘍体積を縮小すること）、がんの成長を遅らせること（腫瘍体積の増加を抑制すること）、がんを治癒させること、がんが転移・再発するのを防ぐこと、転移しているかもしれないがん細胞を殺傷することである。

[0044] 免疫チェックポイント阻害療法は、免疫チェックポイント阻害療法であれば特に制限はないが、例えばPD-1阻害療法、PD-L1阻害療法、CTLA-4阻害療法、LAG-3阻害療法、TIGIT阻害療法、CSF-1/CSF-1R阻害療法、TIM-3阻害療法、または、それらの併用療法でもよく、免疫チェックポイント阻害療法と化学療法、放射線治療、外科治療などの抗がん治療との組み合わせであってよく、好ましくはPD-1阻害療法である。PD-1阻害療法、PD-L1阻害療法、CTLA-4阻害療法、LAG-3阻害療法とは、それぞれPD-1阻害薬、PD-L1阻害薬、CTLA-4阻害薬、LAG-3阻害薬を用いる療法をいう。PD-1阻害薬としては、例えば、ペムブロリズマブ、ニボルマブが挙げられる。PD-L1阻害薬としては、例えば、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブが挙げられる。CTLA-4阻害薬としては、例えば、イピリムマブ、トレメリムマブが挙げられる。LAG-3阻害薬としては、レラトリマブが挙げられる。また、複数の免疫チェックポイント阻害としては、抗PD-1抗体ニボルマブと抗LAG-3抗体レラトリマブの2剤の混合剤（たとえば、オプドゥアラグ）、も挙げられる。

[0045] また、Th7R細胞は、摘出手術後のがんの再発の抑制に寄与することが知られる（非特許文献２）。したがって、Th7R細胞の増殖を促進し得る本発明の組成物は、摘出手術後のがん（特に肺がん）の再発の抑制のために用いることができる。また、本発明の組成物は、Th7R細胞の増殖を促進することにより摘出手術後のがん（特に肺がん）の再発を抑制するために用いることができる。

[0046] MAIT細胞及びNKT細胞（以下、MAIT/NKT細胞とも記載）の増殖の促進

本発明の組成物は、MAIT（Mucosal-Associated Invariant T Cells）細胞及びNKT（Natural Killer T Cells）細胞の増殖の促進のために用いることができる。MAIT細胞及びNKT細胞はそれぞれ、エフェクターT細胞の１種であり、獲得免疫に寄与する細胞でありながら、迅速なエフェクター活性を有し、自然免疫にも寄与する特徴を有する。MAIT細胞及びNKT細胞は、例えば、PBMC中においてCD3^{+}、CD4^{-}、CD28^{+}、かつCD161^{+}の細胞表面マーカーの発現パターンを有する細胞として、たとえば実施例に記載の方法により検出、測定することができる。

[0047] MAIT細胞及びNKT細胞の増殖の促進は、例えば、本実施例に示されるように、対象から採取されたPBMC中の細胞に発現するマーカーを網羅的に解析するマスサイトメトリーにより、評価したい成分の摂取前後におけるPBMC中のMAIT/NKT細胞（MAIT細胞及びNKT細胞の合計）の構成率の変化量が、適切な対照と比較して大きくなることによって評価することができる。MAIT細胞及びNKT細胞の増殖の促進は、MAIT細胞及びNKT細胞自体が増えること、MAIT細胞及びNKT細胞への分化が促進されること、MAIT細胞及びNKT細胞の死滅を防いで集団の構成率が高まること、並びに別の組織からの流入を促進して集団の構成率が高まることを含むものであり得る。ある態様では、MAIT細胞及びNKT細胞の増殖の促進は、血中のMAIT細胞及びNKT細胞の促進である。

[0048] 本発明の組成物は、MAIT細胞及びNKT細胞の促進により改善される疾患又は状態の処置のために用いることができる。

[0049] MAIT細胞はがん転移の抑制に寄与し（非特許文献３）、NKT細胞はがん（特に肝臓がん）の予防に寄与することが知られる（非特許文献４）。したがって、MAIT細胞及びNKT細胞の増殖を促進し得る本発明の組成物は、がん転移の抑制及びがんの予防のいずれか一方又は双方のために用いることができる。また、本発明の組成物は、MAIT細胞の増殖を促進することによりがん転移を抑制するために用いることができ、又はNKT細胞の増殖を促進することによりがん（特に肝臓がん）を予防するために用いることができる。

[0050] （対象）

本発明の組成物を摂取させる対象は、例えば哺乳動物であってよく、好ましくはヒトである。対象の年齢及び性別は特に限定されない。ヒトの場合、対象には、乳児、幼児、小児、成人、及び高齢者が含まれる。

[0051] 末梢血中のTh7R細胞クラスターの存在割合が所定以上である場合に、免疫チェックポイント阻害療法への感受性が向上することが知られる（非特許文献１）。そのため、免疫チェックポイント阻害療法への感受性を向上させるためには、Th7R細胞の増殖を促進することが好ましいと考えられる。したがって、本発明の組成物を免疫チェックポイント阻害療法への感受性のために用いる場合に、本発明の組成物を摂取させるのに適している対象は、Th7R細胞の増殖を促進することが必要であるか又は望ましい対象であり得る。Th7R細胞の増殖を促進することが必要であるか又は望ましい対象は、例えば、PBMCに含まれる$CD4^+$ T細胞中のTh7R細胞の構成率が6.0%以下、好ましくは5.0%以下、より好ましくは4.0%以下の対象であってよい。

[0052] MAIT細胞はがん転移の抑制に寄与し（非特許文献３）、NKT細胞はがん（特に肝臓がん）の予防に寄与することが知られる（非特許文献４）。そのため、本発明の組成物は、がん転移の抑制及びがんの予防のいずれか一方又は双方のために用いられる場合、特にMAIT細胞及びNKT細胞の増殖を促進することが必要であるか又は望ましい対象に摂取させるのが好ましいといえる。また、本実施例において、本発明の組成物の摂取により、PBMC中のMAIT細胞及びNKT細胞の構成率が約2.56%から約0.14%増加することが示されている。MAIT細胞及びNKT細胞の増殖を促進することが必要であるか又は望ましい対象は、例えば、PBMC中のMAIT細胞及びNKT細胞の構成率が4.0%以下、好ましくは3.5%以下、より好ましくは3.0%以下、さらに好ましくは2.5%以下である対象であってよい。

[0053] または、本発明の組成物を投与するのに適している対象のさらなる例として、以下が挙げられる：

健常な対象であってTh7R細胞、MAIT細胞及びNKT細胞のいずれか１以上の増殖

を促進することが必要であるか又は望ましい対象；健常な対象であって血中又はPBMC中のTh7R細胞、MAIT細胞及びのNKT細胞のいずれか１以上が少ないと認められた対象；健常な対象であって血液又はPBMCに含まれるCD4+ T細胞中のTh7R細胞が少ないと認められた対象；健常な対象であってがんの治療を行っていない対象；健常な対象であって免疫チェックポイント阻害療法を行っていない対象；健常な対象であってがんの摘出手術を行っていない対象；健常な対象であってがん転移または再発を抑制することが必要であるか又は望ましい対象（がんの治療後の対象等）；健常な対象であってがん（特に肝臓がん）の発症リスクが高い対象（アルコール摂取をしている者、喫煙者、B型肝炎、C型肝炎、肥満、脂肪肝、糖尿病等の基礎疾患を有する者、高齢者等）；健常な対象であってがんの治療（外科療法、放射線療法、化学療法等）を行っていない対象

なお本発明に関し、投与は、医薬品を対象に投与する場合のほか、医薬品以外の食品等を対象に摂取させる（対象が摂取する）意味でも用いられる。

健常な対象とは、いずれの疾患の診断をも受けていない（未病）であるヒト又は後述のコンパニオンアニマルをいう。すなわち、これらの健常な対象に対して本発明の組成物を用いる場合、本発明の組成物は治療目的で供されるものではない。

[0054] 本発明の組成物は、健常な対象に対して、非治療的な用途で用いることもできる。一実施態様において、本発明の組成物は、食品等の形態で（例えば、食品組成物として）、用いることができる。上記態様において、本組成物は医薬ではなく、例えば後述の食品の形態で提供される。非治療的な用途とは、状態の維持、一時的な軽減、サポート（補助）、状態に配慮した用途を意味する。

[0055] 本発明の組成物を摂取させるのに適している対象のさらなる例として、以下が挙げられる：

疾患を有する対象であって、Th7R細胞、MAIT細胞及びのNKT細胞のいずれか１以上の増殖を促進することが必要であるか又は望ましい対象；疾患を有する

対象であって、血中又はPBMC中のTh7R細胞、MAIT細胞及びのNKT細胞のいずれか１以上が少ないと認められた対象；疾患を有する対象であって、血液又はPBMCに含まれるCD4+ T細胞中のTh7R細胞が少ないと認められた対象；疾患を有する対象であって、がんの治療を行っていない対象；疾患を有する対象であって、免疫チェックポイント阻害療法を行っているか又は行うのが望ましい対象；疾患を有する対象であって、免疫チェックポイント阻害療法を行っていない対象；疾患を有する対象であって、免疫チェックポイント阻害療法を行う予定の対象；疾患を有する対象であって、免疫チェックポイント阻害療法の効果が十分に得られない対象（例えば、免疫チェックポイント阻害療法によってもがんの進行が認められる対象；疾患を有する対象であって、免疫チェックポイント阻害療法の効果がPD（progressive disease）と判定された対象）；疾患を有する対象であって、がんの摘出手術を行っているか又は行うのが望ましい対象；疾患を有する対象であって、がんの摘出手術を行っていない対象；疾患を有する対象であって、がんの摘出手術を行う予定の対象；疾患を有する対象であって、がん転移を抑制することが必要であるか又は望ましい対象（がんと診断された対象；がんの治療中又は治療後の対象等）；疾患を有する対象であって、がん（特に肝臓がん）の発症リスクが高い対象（アルコール摂取をしている者、喫煙者、B型肝炎、C型肝炎、肥満、脂肪肝、糖尿病等の基礎疾患を有する者、高齢者等）；疾患を有する対象であって、がんの治療（外科療法、放射線療法、化学療法等）を行っていない対象；疾患を有する対象であって、がんの治療を行う予定の対象。

疾患を有する対象とは、いずれかの疾患の診断を受けたヒト又は後述のコンパニオンアニマルをいう。これらの疾患を有する対象に対して本発明の組成物を用いる場合、本発明の組成物は治療目的で供されるものでなく、治療の補助など非治療的な目的で供されるものである。

[0056] 本発明の組成物は、疾患を有する対象に対して、非治療的な目的で用いることができる。一実施態様において、本発明の組成物は、食品等の形態で（例えば、食品組成物として）、治療を補助するための組成物として用いるこ

とができる。ここで、治療の補助とは、疾患、疾病の処置であって非治療的な用途であるものをいう。治療の補助としては、例えば、疾患、疾病の治療が行われている対象に対して、その治療効果の増大、治療時の栄養補助を目的として用いる態様、疾患、疾病の治療が行われた対象に対して、その予後の改善、予後良好の維持、治療後の栄養補助を目的として用いる態様、疾患、疾病の治療が行われることが予定された対象に対して、後に行われる治療効果の増大、治療前の栄養補助を目的として用いる態様などが挙げられる。これらの態様において、本組成物は医薬ではなく、例えば後述の食品の形態で提供される。疾患、疾病の処置であって非治療的な用途には、特別な配慮が必要な対象の栄養管理のための使用、病院食としての使用、状態の維持、一時的な軽減、サポート（補助）、状態に配慮した用途が含まれる。

[0057] 本発明の組成物を非治療的な目的で用いる場合、望ましいかどうか、必要かどうかの判断としては、医師、看護師、薬剤師、助産師、臨床検査技師等の医療従事者による診断以外での助言等の非治療行為としての判断、栄養士（管理栄養士、スポーツ栄養士を含む）、保健師、スポーツ指導員、医薬品製造者、医薬品販売者、食品製造者、食品販売者等の非治療的行為に携わるものによる判断、対象自身や家族による判断等が挙げられる。また、上記判断には、生活習慣、食習慣、栄養状態、自覚症状アンケート、免疫系に関する健康診断データのアウトプット結果等に基づく判断、及び自覚症状（肥満や生活習慣病が気になる、等）による判断等が含まれる。

[0058] 対象は、ヒトでもよいし、非ヒト動物であってもよい。非ヒト動物としては、哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、魚類などが挙げられる。非ヒト動物は、商用動物、研究用動物、コンパニオンアニマルでもよい。「コンパニオンアニマル」という語句は、家庭内コンパニオンとして、または一人もしくは複数の人間と日々密接に関係することで、身体的、感情的、行動的、および社会的ニーズを容易に満たすことができる、家畜または家庭内で飼育される動物を指す。一実施形態では、コンパニオンアニマルの定義に含まれる種は、イヌ（ｄｏｇｓ）、イヌ（ｃａｎｉｎｅｓ）、ネコ（ｃａｔｓ）、ネコ（

ｆｅｌｉｎｅｓ）、ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、霊長類（サル等）、ウサギ、フェレット、げっ歯類（モルモット、ハムスター、マウス、ラット等）、および他の小型哺乳類を含む。別の実施形態では、コンパニオンアニマルの定義に含まれる種は、イヌ、ネコ、ウマ、ウサギ、フェレット、モルモット、および他の小型哺乳類、鳥類、小型爬虫類、魚類、および家畜動物である。

[0059] 対象の年齢は特に制限されず、対象がヒトである場合、例えば、新生児（生後28日以内）；乳児（生後1年未満）；幼児（生後1～6年）；小児（7 歳以上、15 歳未満）；成人（15歳以上）；40歳以上の者、50歳以上の者、60歳以上の者；65歳以上の者であり得る。

[0060] 本発明のある実施形態は、対象においてTh7R細胞の増殖を促進する方法；対象において免疫チェックポイント阻害療法への感受性を向上させる方法；又は、対象において摘出手術後のがんの再発を抑制する方法に関し、これらの方法は以下の工程を含むものであってよい：

（ａ）対象の血中又はPBMC中のTh7R細胞の情報を取得する工程

（ｂ）前記情報に基づき、乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物の摂取の必要性の有無を決定する工程。

[0061] 本発明のある実施形態は、対象においてMAIT細胞及びのNKT細胞の増殖を促進する方法；対象においてがん転移を抑制する方法；又は、対象においてがんを予防する方法に関し、これらの方法は以下の工程を含むものであってよい：

（ａ）対象の血中又はPBMC中のMAIT細胞及びのNKT細胞の情報を取得する工程

（ｂ）前記情報に基づき、乳酸菌の菌体外多糖又は乳酸菌の菌体外多糖を含む組成物の摂取の必要の有無を決定する工程。

[0062] 上記した方法において、血中又はPBMC中のTh7R細胞の情報、又はMAIT細胞及びのNKT細胞の情報は、例えば、血中又はPBMC中のTh7R細胞、又はMAIT細胞及びのNKT細胞の細胞数、構成率、濃度等であってよい。また、これらの情報

の取得は任意の方法によって行われてよく、例えば、各細胞の情報が血中又はPBMC中での構成率である場合、本実施例に示されるような細胞表面マーカーに基づく免疫学的手法を用いて取得することができる。

[0063] （その他）

本発明の組成物の用途からは次のものを除いてもよい：

関節リウマチの処置；NK細胞の活性化；NK細胞のYAC-1細胞死滅活性の促進；抗ウイルス；IFN-αで刺激されたNK細胞のYAC-1細胞死滅活性の促進；肺炎球菌感染予防；抗インフルエンザ薬による獲得免疫機能低下抑制；インフルエンザの予防及び／又は治療；インフルエンザウイルスに交叉するIgAの唾液中での増加；サイトカイン（IL-1β、TNF-α、CXCL1）産生制御；細胞性免疫活性化；メラノーマ抗原、インフルエンザ抗原、又はHBV抗原に対する細胞性免疫活性化；癌性悪液質抑制；免疫チェックポイント阻害療法促進；インフルエンザ感染後の二次性感染症の予防又は発症リスクの低減；インフルエンザウイルス感染後の細胞接着分子（特にCEACAM-1等のタイトジャンクション分子）発現の上昇の抑制；ヒトコロナウイルス（特にHCoV-229E）の増殖抑制；ノロウイルスの増殖抑制；Th1、Th2、及びTregの働きの亢進；Th17の働きの維持；T細胞によるIFN-γ産生の促進；T細胞の活性化；T細胞のCD69発現率の増加；CD8+TEMからCD8+TEMRAへの成熟の促進；抗体価上昇；アジュバントとしての使用；レチノイン酸産生。

[0064] ［組成物の形態等］

本発明の組成物は、食品組成物又は医薬組成物とすることができる。食品及び医薬品は、特に記載した場合を除き、ヒトのためのもののみならず、ヒト以外の動物のためのものを含む。食品は、特に記載した場合を除き、一般食品、機能性食品、栄養組成物を含み、また治療食（治療の目的を果たすもの。医師が食事箋を出し、それに従い栄養士等が作成した献立に基づいて調理されたもの。）、食事療法食、成分調整食、介護食、治療支援用食品、プレシジョンニュートリション（個別化栄養、個人の体質に合わせて提案された適切な食事（栄養））を含む。食品は、特に記載した場合を除き、固形物

のみならず、液状のもの、例えば飲料、ドリンク剤、流動食、及びスープを含む。機能性食品とは、生体に所定の機能性を付与できる食品をいい、例えば、特定保健用食品（条件付きトクホ［特定保健用食品］を含む）、機能性表示食品、栄養機能食品を含む保健機能食品、特別用途食品、栄養補助食品、健康補助食品、ダイエタリーサプリメント、フードサプリメント、メディカルフード（アメリカ食品医薬品局（Food and Drug Administration: FDA）の定義に従う）、サプリメント（例えば、錠剤、被覆錠、糖衣錠、カプセル、液剤等の各種の剤型のもの）、美容食品（例えば、ダイエット食品）等の、健康食品の全般を包含している。また、本発明において「機能性食品」とは、コーデックス（FAO/WHO合同食品規格委員会）の食品規格に基づく健康強調表示（Health claim）が適用される健康食品を包含している。フードサプリメントとは、通常の食事を補充し、栄養学的又は生理学的な効果を持つ栄養素或いはその他の物質を単独又は組み合わせて濃縮したものであり、製品にFood Supplementと記載されているものである。ダイエタリーサプリメントとは、食事を補充することを目的とした製品（タバコを除く）で、対象とされている成分を１種類以上含み、製品にDietary supplementと記載されているものである。

[0065] ［摂取経路］

本発明の組成物は、経口的に摂取してもよく、非経口的に、例えば、経管的（胃瘻、腸瘻）に摂取してもよく、経鼻的に摂取してもよいが、経口的に摂取するのが好ましい。

[0066] ［有効成分の含有量・用量］

本発明の組成物における、乳酸菌のEPSの含有量は、目的の効果が発揮される量であればよい。組成物は、対象の年齢、体重、症状、代謝・排泄機能、併用薬等の種々の要因を考慮して、その摂取量を適宜設定することができるが、一日量あたりの乳酸菌のEPSの量は、例えば0.1 mg以上とすることができ、0.6 mg以上とすることが好ましく、3 mg以上とすることがより好ましく、3.3 mg以上又は6 mg以上とすることがさらに好ましい。一日量あたりのEPSの

量の上限値は、下限値がいずれの場合であっても、4800 mg以下とすることができ、3600 mg以下とすること好ましく、1800 mg以下とすることがより好ましく、900 mg以下とすることが特に好ましい。

また、本発明においては、組成物中の各成分について、各国の食品の安全性に関する法律を優先し、安全性が担保されている摂取量以下や、一日摂取許容量（ＡＤＩ）以下で使用する。

[0067] １摂取又は１食あたり、すなわち一回量あたりの乳酸菌のEPSの量は、例えば0.03 mg以上とすることができ、0.2 mg以上とすることが好ましく、1 mg以上とすることがより好ましい。一回量あたりのEPSの量の上限値は、下限値がいずれの場合であっても、1600 mg以下とすることができ、1200 mg以下とすることが好ましく、600 mg以下とすることがより好ましく、300 mg以下とすることが特に好ましい。

[0068] 本発明の組成物が、EPSを乳酸菌の発酵物（発酵乳）として含む場合、発酵乳としての一日量は、例えば10 g以上とすることができ、30 g以上とすることが好ましく、60 g以上とすることがより好ましく、100 g以上とすることがさらに好ましく、112 g以上とすることが特に好ましい。発酵乳としての一日量の上限値は、下限値がいずれの場合であっても、例えば1500 g以下とすることができ、1200 g以下とすることが好ましく、600 g以下とすることがより好ましい。

[0069] １摂取又は１食あたり、すなわち発酵乳としての一回量は、例えば3 g以上とすることができ、10 g以上とすることが好ましく、20 g以上とすることがより好ましい。発酵乳としての一回量の上限値は、下限値がいずれの場合であっても、例えば800 g以下とすることができ、400 g以下とすることが好ましく、200 g以下とすることがより好ましい。

[0070] 組成物は、一日１回の摂取としてもよいし、一日複数回、例えば食事毎の３回の摂取としてもよい。組成物は、食経験豊富な乳酸菌のEPSを有効成分としている。そのため、本発明の組成物は、繰り返し、又は長期間にわたって摂取してもよく、例えば１週間以上、好ましくは２週間以上、より好ましく

は３週間以上、さらに好ましくは４週間以上、続けて摂取することができる。

[0071] 本発明の実施の形態に係る発酵乳の調製方法としては、例えば、「原料乳を殺菌して冷却した後、その原料乳に、上述の乳酸菌を含む乳酸菌スターターを添加して、その乳酸菌スターター入り原料乳を所定の乳酸酸度となるような発酵温度と発酵時間で発酵させる方法」が挙げられる。菌体外多糖は、発酵中にLactobacillus属乳酸菌により生成される。同方法において、乳酸酸度は、例えば、０．６～１．２である。なお、乳酸酸度は０．６～０．８であることが好ましい。また、発酵温度は、例えば、４０～４５℃である。また、発酵時間は、例えば２～１２時間である。なお、発酵時間は３～８時間であることが好ましい。

[0072] ［他の成分、添加剤］

本発明の組成物は、食品又は医薬品として許容可能な他の有効成分や栄養成分を含んでいてもよい。そのような成分の例は、アミノ酸類（例えば、リジン、アルギニン、グリシン、アラニン、グルタミン酸、ロイシン、イソロイシン、バリン）、糖質（グルコース、ショ糖、果糖、麦芽糖、トレハロース、エリスリトール、マルチトール、パラチノース、キシリトール、デキストリン）、電解質（例えば、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム）、ビタミン（例えば、ビタミンＡ、ビタミンＢ１、ビタミンＢ２、ビタミンＢ６、ビタミンＢ１２、ビタミンＣ、ビタミンＤ、ビタミンＥ、ビタミンＫ、ビオチン、葉酸、パントテン酸及びニコチン酸類）、ミネラル（例えば、銅、亜鉛、鉄、コバルト、マンガン）、抗生物質、食物繊維、タンパク質、脂質等である。

[0073] 本発明の組成物は、食品又は医薬として許容される添加物をさらに含んでいてもよい。そのような添加物の例は、不活性担体（固体や液体担体）、賦形剤、界面活性剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、溶解補助剤、懸濁化剤、コーティング剤、着色剤、保存剤、緩衝剤、pH調整剤、乳化剤、安定剤、甘味料、酸化防止剤、香料、酸味料、天然物である。より具体的には、水、他の水

性溶媒、製薬上で許容される有機溶媒、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、水溶性デキストリン、カルボキシメチルスターチナトリウム、ペクチン、キサンタンガム、アラビアゴム、カゼイン、ゼラチン、寒天、グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ワセリン、パラフィン、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン、マンニトール、塩化ナトリウム、プロピレングリコール、グリセリン、塩化ベンザルコニウム、パラオキシ安息香酸メチル、乳糖、デンプン、マルトース、ソルビトール、ラクトース、スクラロース、ステビア、アスパルテーム、アセスルファムカリウム、クエン酸、乳酸、りんご酸、酒石酸、リン酸、酢酸、果汁、野菜汁等である。

[0074] ［剤形・形態］

本発明の医薬組成物は、経口摂取に適した、錠剤、顆粒剤、散剤、丸剤、カプセル剤等の固形製剤、液剤、懸濁剤、シロップ剤等の液体製剤、ジェル剤、エアロゾル剤等の任意の剤形にすることができる。

[0075] 本発明の食品組成物は、固体、液体、混合物、懸濁液、粉末、顆粒、ペースト、ゼリー、ゲル、カプセル等の任意の形態に調製されたものであってよい。また、本発明に係る食品組成物は、乳製品、サプリメント、菓子、飲料、ドリンク剤、調味料、加工食品、惣菜、スープ等の任意の形態にすることができる。より具体的には、本発明の組成物は、乳飲料、清涼飲料、発酵乳、ヨーグルト、アイスクリーム、タブレット、チーズ、パン、ビスケット、クラッカー、ピッツァクラスト、調製粉乳、流動食、病者用食品、栄養食品、冷凍食品、加工食品等の形態とすることができ、また飲料や食品に混合して摂取するための、顆粒、粉末、ペースト、濃厚液等の形態とすることができる。

[0076] ［その他］

本発明の組成物の製造において、乳酸菌のEPSの配合の段階は、適宜選択することができる。乳酸菌のEPSの特性を著しく損なわない限り配合の段階は特

に制限されない。例えば、製造の初期の段階に、原材料に混合して配合することができる。あるいは、本発明の組成物が、EPSを乳酸菌の発酵物として含む場合は、EPSを産生する乳酸菌をスターターとして原料乳に添加し、発酵させ、EPSを産生させることで、EPSを含む発酵乳が製造できる。

または、乳酸菌を、乳酸菌培養に適した培地、EPSの増産・製造に適した培地、又は乳(獣乳、豆乳等が含まれ、獣乳が好ましい)等で培養し、培養液自体を遠心分離、変性タンパク質除去や濾過等の食品分野において公知の方法で濃縮した濃縮培養液、培養液の乾燥物、培養液または濃縮培養液の造粒物(結着剤を用いた噴霧乾燥など)を、そのままEPSを含む本発明の組成物として用いること、または様々な剤型の組成物に配合することで、EPSを含む本発明の組成物が製造できる。

または、乳酸菌を、乳酸菌培養に適した培地、EPSの増産・製造に適した培地、又は乳(獣乳、豆乳等が含まれ、獣乳が好ましい)で培養し、培養物をろ過、遠心分離、又は膜分離で除菌して得られた培養濾液、培養上清液又は培養分離物、培養濾液濃縮液、上記培養濾液、・上記培養上清液、又は、上記培養分離物を濃縮した濃縮物、濃縮物の乾燥物など、EPSの粗精製物、精製物、凍結乾燥物、乾燥濃縮物を、機能性素材として用いること、様々な組成物に配合することで、EPSを含む組成物が製造できる。

なお、ここで示す精製とは、精製物において精製前よりもEPS濃度が増大していればよく、純度９９～１００％である必要はないし、誤算の範囲（培養物からの持ち越し等）で菌体や菌体成分、培地成分を含んでもよい。

[0077] 本発明の組成物には、使用目的（用途）を表示することができ、また特定の対象に対して摂取を薦める旨を表示することができる。使用目的及び対象はそれぞれ、上記の［用途］及び［対象］の項に記載した通りに選択することができる。表示は、直接的に又は間接的にすることができ、直接的な表示の例は、製品自体、パッケージ、容器、ラベル、タグ等の有体物への記載であり、間接的な表示の例は、添付文書、医薬品インタビューフォーム（IF）、ウェブサイト、店頭、パンフレット、展示会、メディアセミナー等のセミ

ナー、書籍、新聞、雑誌、テレビ、ラジオ、郵送物、電子メール、セールストーク、動画配信サイト、ＳＮＳ、インフルエンサーマーケティング、音声等の、場所又は手段による、広告・宣伝活動を含む。

[0078] 本発明の組成物からは次のものを除いてもよい：

ラクトバチルスおよび酵母、またはラクトバチルス、酵母およびラクトコッカスを、水性ダイズ抽出物を含有する培地中で培養し、ろ過して固形物を除去し、滅菌して調製した液体溶液を濃縮することにより生成した組成物；微生物によるダイズ抽出物の発酵を可能にする条件下で、水性ダイズ抽出物を含有する培地中で乳酸菌および酵母を含む混合物を発酵させた発酵物。

実施例

[0079] 以下に実施例を挙げて本発明を説明する。なお、実施例は本発明の例示的な説明にすぎず、本発明を限定するものではない。

[0080] 35歳以上60歳未満の健常な日本人男女（具体的には、次の者を除いた対象：糖尿病、腎・肝疾患、心疾患等の重篤な疾患、甲状腺疾患、副腎疾患、その他代謝性疾患に罹患している者、治療中の者、既往歴のある者；慢性疾患を有し、薬剤を常用している者；並びに消化吸収に影響を与える消化器疾患及び消化器の手術歴がある者）を対象としたランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験において得られた、試験期間前後に採血した血液から分離したPBMC（末梢血単核球）検体を用いた解析研究を行った。なお本試験では、被験品としてLactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus OLL1073R-1株を用いた発酵乳（製造例１に記載のヨーグルト）（112 g、EPS含有量3.3 mg以上）と、プラセボとして酸性乳（112 g、EPSを含まない）を被験者に4週間毎日摂取させた。

[0081] PBMC検体に発現するマーカーを網羅的に測定し、免疫学的なディーププロファイリングを実施するため、全30マーカーを染色するMaxpar Direct Immune Profiling Assay（スタンダードバイオツールズ社）によるマスサイトメトリー解析を行った。なお、CD11a、Tim-3、CD69、PD-1、ICOS、CXCR4、TIGITの7種類のT細胞関連マーカーを追加した。QCを通過した全174検体（発酵乳群

n=44、プラセボ群n=43）について以下の2種類の方法でそれぞれ解析を行った。

[0082] ＜解析１：マニュアルゲーティング解析＞

スタンダードバイオツールズ社のテクニカルノート「Approach to Bivariate Analysis of Data Acquired Using the Maxpar Direct Immune Profiling Assay」に従ってPBMCのゲーティングを行い、導かれた各免疫細胞集団の構成率について被験品摂取前後の変化量をプラセボと比較した。その結果、MAIT/NKT細胞の摂取前後変化量が有意に大きかった（図１、発酵乳群：PBMC中のMAIT/NKT細胞の構成率平均値が2.56％（被験品摂取前）から2.7％（摂取後）に変化（0.14％増加）、プラセボ群：PBMC中のMAIT/NKT細胞の構成率平均値が2.71％（被験品摂取前）から2.33％（摂取後）に変化（0.38％減少））。なお、MAIT/NKT細胞は、上記テクニカルノートに従い、PBMC中においてCD3^{+}、CD4^{-}、CD28^{+}、かつCD161^{+}の細胞表面マーカーの発現パターンを有する細胞として検出された。

[0083] ＜解析２：マシンラーニング解析＞

種々のマシンラーニング解析が可能なサイトメトリー解析ソフトウェアを用いてPBMCのクラスタリングと検体集団間の比較を行った。試験期間後（摂取後）の発酵乳群とプラセボ群検体中のCD4^{+} T細胞について、CITRUS（cluster identification, characterization, and regression：相関又は予測のアルゴリズムを用いた統計的な群間比較）を実施したところ、有意（FDR<0.01かつp<0.05）に構成率が異なるクラスターが3つ（#44347, #44352, #44360）確認された。そのうち、クラスター#44352は、被験品摂取後の構成率の方が大きいクラスターであり（図２）、CCR6強発現かつ、他のCCR6強発現クラスターとは系統的に全く異なることが判明した（図３）。さらに、ケモカインレセプターCXCR3・CCR4のケモカインレセプター発現パターン（CXCR3^{+}、CCR4^{low}）や、CD45RA・IL-7Raの分化度マーカー発現パターン（CD45RA^{-}、IL-7Ra^{+}）、また、CD25^{+}CD127^{-}で規定されるTreg細胞でも無いことから考えると、系統的に特異な新たなCCR6^{+}CD4^{+} T細胞集団として近年発見されたTh7R（非特許文献

１等）と酷似しているとわかった。したがって、本発明の組成物には、クラスター#44352に分類される細胞集団(細胞表面マーカーの発現パターンが、CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}である)増殖促進作用を有しうると推察された。

[0084] ［製造例］

製造例１．EPS含有ヨーグルト

脱脂粉乳培地に、乳酸菌スターターとして、Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus OLL1073R-1およびStreptococcus thermophilusを添加して、脱脂粉乳培地を43℃の温度環境下、2.5時間発酵させて調製し、ヨーグルトを得た。

[0085] 製造例２．EPSの調製

10質量％脱脂粉乳培地でLactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus OLL1073R-1を37℃で18時間培養した培養物に対し、終濃度10質量%になるようトリクロロ酢酸を加えて変性タンパク質を除去し、冷エタノールを加えて4℃で2時間静置してEPSを含む沈殿物を得た。これを、透析膜（分画分子量6～8 kDa）を用いてMilliQ水に対して透析し、核酸とタンパク質を酵素分解した後、再度エタノール沈殿を行って沈殿物を得た。これをMilliQ水に溶解し、再度透析を行った後に凍結乾燥を行って精製し、EPSを得た。

[0086] （明細書中で引用した文献）

非特許文献５：Zhang, L., Liu, C., Li, D., Zhao, Y., Zhang, X., Zeng, X., Yang, Z., Li, S., 2013. Antioxidant activity on exopolysaccharide isolated from Lactobacillus plantarum C88. Int. J. Biol. Macromol. 54, 270-275.

非特許文献６：Gorska-Froczek, S., Sandstrom, C., Kenne, L., Paociak, M., Brzozowska, E., Strus, M., Heczko, P., Gamian, A., 2013. The structure and immunoreactivity of exopolysaccharide isolated from Lactobacillus johnsonii strain 151. Carbohydr. Res. 378, 148-153.

非特許文献７：Harding, L.P., Marshall, V.M., Hernandez, Y., Gu, Y., Maqsood, M., Mclay, N., Laws, A.P., 2005. Structural characterisation

of a highly branched exopolysaccharide produced by Lactobacillus delb rueckii ssp. bulgaricus NCFB2074. Carbohydr. Res. 340, 1107-1111.

非特許文献８：J. C. M. C. Cerning, C. M. G. C. Renard, J. F. Thibault , C. Bouillanne, M. Landon, M. Desmazeaud & L. Topisirovic: Carbon So urce Requirements for Exopolysaccharide Production by Lactobacillus c asei CG11 and Partial Structure Analysis of the Polymer Appl. Environ . Microbiol., 60, 3914 (1994).

非特許文献９：M. Polak-Berecka, A. Wasko, D. Szwajgier & A. Choma: Bi fidogenic and antioxidant activity of exopolysaccharides produced by Lactobacillus rhamnosus E/N cultivated on different carbon sources. P ol. J. Microbiol., 62, 181 (2013).

非特許文献１０：K. Fukuda, T. Shi, K. Nagami, F. Leo, T. Nakamura, K. Yasuda, A. Senda, H. Motoshima & T. Urashima: Effects of carbohydrat e source on physicochemical properties of the exopolysaccharide produ ced by Lactobacillus fermentum TDS030603 in a chemically defined medi um. Carbohydr. Polym., 79, 1040 (2010).

非特許文献１１；Rizwana Parveen RaniMarimuthu AnandharajAbraham David Ravindran: Characterization of a novel exopolysaccharide produced by Lactobacillus gasseri FR4 and demonstration of its in vitro biologic al properties. International Journal of Biological Macromolecules Vol ume 109, 1 April 2018, Pages 772-783.

非特許文献１２：Van Casteren W H M, Dijkema C, Schols H A, Beldman G, Voragen A G J. Characterisation and modification of the exopolysacch aride produced by Lactococcus lactis subsp. cremoris B40. Carbohydr P olym. 1998;37:123-130.

非特許文献１３：Van Kranenburg R, Marugg J D, Van Swam I I, Willem J, De Vos W M. Molecular characterization of the plasmid-encoded eps ge ne cluster essential for exopolysaccharide biosynthesis in Lactococcu

s lactis. Mol Microbiol. 1997;24:387-397.

非特許文献１４：後藤, 弥生: 菌体外多糖生産乳酸菌Lactococcus lactis subsp. cremoris FCに関する研究 2021.11.19 https://doi.org/10.24729/00017528

非特許文献１５：Y. Zakaria et al., A Polysaccharide Produced by Lactococcus lactis subsp. lactis YZ1 Isolated from Traditional Indonesian Fermented Milk, "Dadih". Milk Science Vol. 47, No.1 1998

請求の範囲

[請求項1] 乳酸菌の菌体外多糖を含む、（ｉ）及び（ｉｉ）のいずれか一方又は双方の増殖の促進のための組成物。

（ｉ）$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞

（ｉｉ）MAIT細胞及びNKT細胞

[請求項2] 乳酸菌の菌体外多糖を含む、免疫チェックポイント阻害療法への感受性の向上、及び摘出手術後のがんの再発の抑制のいずれか一方又は双方のための組成物。

[請求項3] 前記免疫チェックポイント阻害療法への感受性の向上が、免疫チェックポイント阻害療法が効きにくい対象が、効きやすい対象に変化すること、又は、時間とともに免疫チェックポイント阻害療法が効かなくなった対象が再度効果を得られるようになることである、請求項２に記載の組成物。

[請求項4] 乳酸菌の菌体外多糖を含む、$CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置のための組成物。

[請求項5] $CXCR3^{+}/CCR4^{low}/CCR6^{high}$の細胞表面マーカーの発現パターンを有する$CD4^{+}$ T細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置が、免疫チェックポイント阻害療法への感受性の向上であり、免疫チェックポイント阻害療法を行っていない対象に摂取させるためのものである、請求項４に記載の組成物。

[請求項6] 乳酸菌の菌体外多糖を含む、MAIT細胞及びNKT細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置のための組成物。

[請求項7] MAIT細胞及びNKT細胞の増殖の促進により改善される疾患又は状態の処置が、がん転移の抑制及びがんの予防のいずれか一方又は双方であり、がんの処置を行っていない対象に摂取させるためのものである、請求項６に記載の組成物。

[請求項8] 乳酸菌が、Lactobacillus属に属する細菌である、請求項１～７のいずれか１項に記載の組成物。

[請求項9] 乳酸菌が、Lactobacillus delbrueckiiに属する細菌である、請求項１～７のいずれか１項に記載の組成物。

[請求項10] 乳酸菌が、Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus FERM BP-10741である、請求項１～７のいずれか１項に記載の組成物。

[請求項11] 乳酸菌の菌体外多糖が、乳酸菌の発酵物として含まれる、請求項１～７のいずれか１項に記載の組成物。

[請求項12] 医薬組成物である、請求項１～７のいずれか１項に記載の組成物。

[請求項13] 食品組成物である、請求項１～７のいずれか１項に記載の組成物。