

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6082174号  
(P6082174)

(45) 発行日 平成29年2月15日(2017.2.15)

(24) 登録日 平成29年1月27日(2017.1.27)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 31/716	(2006.01)
A 61 K 39/395	(2006.01)
A 61 K 45/00	(2006.01)
A 61 P 31/00	(2006.01)
A 61 P 31/04	(2006.01)
A 61 K	31/716
A 61 K	39/395
A 61 K	45/00
A 61 P	31/00
A 61 P	31/04

請求項の数 24 (全 69 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2009-536266 (P2009-536266)
(86) (22) 出願日	平成19年11月6日 (2007.11.6)
(65) 公表番号	特表2010-527906 (P2010-527906A)
(43) 公表日	平成22年8月19日 (2010.8.19)
(86) 國際出願番号	PCT/US2007/023307
(87) 國際公開番号	W02008/057501
(87) 國際公開日	平成20年5月15日 (2008.5.15)
審査請求日	平成22年11月6日 (2010.11.6)
審判番号	不服2014-2433 (P2014-2433/J1)
審判請求日	平成26年2月8日 (2014.2.8)
(31) 優先権主張番号	60/856,834
(32) 優先日	平成18年11月6日 (2006.11.6)
(33) 優先権主張国	米国(US)
(31) 優先権主張番号	60/880,384
(32) 優先日	平成19年1月16日 (2007.1.16)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	500482810 ホワイトヘッド・インスティテュート・フォー・バイオメディカル・リサーチ アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 O 2 1 4 2 ケンブリッジ、ナイン・ケンブリッジ・センター(番地なし)
(73) 特許権者	596060697 マサチューセッツ インスティテュート オブ テクノロジー アメリカ合衆国マサチューセッツ州 O 2 1 3 9 ケンブリッジ、マサチューセッツ・アヴェニュー・77

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫調節組成物及びその使用方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

抗体または抗体フラグメントに結合した - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物であつて、対象における癌又は感染を治療、それらの進行を遅延させる、それらの寛解を引き延ばす、或いはそれらの発症率或いは重症度を抑制するために使用するための、組成物。

## 【請求項 2】

請求項 1 記載の組成物において、当該組成物は、癌を治療、その進行を遅延させる、その寛解を引き延ばす、或いはその発症率或いは重症度を抑制するために使用されるものである、組成物。

## 【請求項 3】

請求項 2 記載の組成物において、

前記対象は、過形成又は前癌性病変を有するものである  
組成物。

## 【請求項 4】

請求項 2 または 3 記載の組成物において、前記抗体または抗体フラグメントは、腫瘍抗原、腫瘍性細胞、または前癌性細胞と結合するものである、組成物。

## 【請求項 5】

請求項 4 記載の組成物において、前記抗体または抗体フラグメントは、腫瘍性細胞または前癌性細胞上に特異的に発現した抗原を標的とするものである、組成物。

## 【請求項 6】

10

20

請求項 2～5 のいずれか一項記載の組成物において、前記使用は、ホスト抗癌反応の促進、腫瘍細胞の溶解の促進、またはホスト抗腫瘍反応の向上を含む、組成物。

【請求項 7】

請求項 2～6 のいずれか一項記載の組成物において、前記抗体または抗体フラグメントは、癌細胞の補体仲介性溶解を向上させるものである、組成物。

【請求項 8】

請求項 2～7 のいずれか一項記載の組成物において、この組成物は、補体仲介性溶解に耐性を示す腫瘍を治療するのに使用されるものである、組成物。

【請求項 9】

請求項 2～8 のいずれか一項記載の組成物において、前記抗体または抗体フラグメントは、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、ゲムツズマブ、イブリツモマブ、パニツムマブ、リツキシマブ、トシツモマブ、トラスツズマブ、又はパリビズマブである、組成物。 10

【請求項 10】

請求項 1 記載の組成物において、当該組成物は、対象における感染を治療、その進行を遅延させる、その寛解を引き延ばす、或いはその発症率或いは重症度を抑制するために使用されるものである、組成物。

【請求項 11】

請求項 10 記載の組成物において、前記抗体または抗体フラグメントは、感染細胞、或いは病原体又はそれらの成分と結合するものである、組成物。 20

【請求項 12】

請求項 11 記載の組成物において、前記抗体または抗体フラグメントは、病原体上に特異的に発現した抗原を標的とするものである、組成物。

【請求項 13】

請求項 10～12 のいずれか一項記載の組成物において、当該組成物は、前記病原体に対する免疫反応を向上させるものである、組成物。

【請求項 14】

請求項 10～12 のいずれか一項記載の組成物において、当該組成物は、前記病原体に対する貪食及び／又は細胞傷害反応を向上させるものである、組成物。

【請求項 15】

請求項 10～12 のいずれか一項記載の組成物において、当該組成物は、前記病原体の補体仲介性溶解を向上させるものである、組成物。 30

【請求項 16】

請求項 10～12 のいずれか一項記載の組成物において、前記病原体が、細菌、ウイルス又は寄生虫である、組成物。

【請求項 17】

請求項 1～16 のいずれか一項記載の組成物において、

(a) 前記グルカンは、地衣類、真菌、酵母又はイワタケ (Umbilicaria c 20  
cae) から単離されるか又は由来であるか、或いは

(b) 前記グルカンは、遺伝子操作されたもの、化学合成されたもの、又はアセチル化されたものである

組成物。

【請求項 18】

請求項 1～17 のいずれか一項記載の組成物において、

(a) 前記抗体はモノクローナル抗体またはヒト抗体であり、

(b) 前記抗体フラグメントは、Fab フラグメント、Fab' フラグメント、(Fab') 2 フラグメント、Fv フラグメント、一本鎖抗体、又は単一の相補性決定領域をコードするペプチドである、

組成物。

【請求項 19】

50

20

30

40

50

請求項 1 ~ 18 のいずれか一項記載の組成物において、前記抗体はヒト化抗体である、組成物。

【請求項 20】

請求項 1 ~ 19 のいずれか一項記載の組成物において、当該組成物中に含まれるグルカンの乾燥重量の少なくとも 90 % が - 1 , 6 - グルカンである、組成物。

【請求項 21】

請求項 1 ~ 19 のいずれか一項記載の組成物において、当該組成物中の全グルカンの重量で 10 % 未満が - 1 , 3 - グルカンである、組成物。

【請求項 22】

請求項 1 ~ 21 のいずれか一項記載の組成物において、当該組成物が実質的に - 1 , 10 3 - グルカンを含まない、組成物。

【請求項 23】

請求項 1 ~ 22 のいずれか一項記載の組成物において、前記 - 1 , 6 - グルカンが前記抗体または抗体フラグメントに直接結合される、組成物。

【請求項 24】

請求項 1 ~ 22 のいずれか一項記載の組成物において、前記 - 1 , 6 - グルカンがリンクカーモーティー分子を介して前記抗体または抗体フラグメントに結合される、組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

20

(米国政府利権の記載)

本発明の全体又は一部は、米国国立衛生研究所により認可された認可番号 G M 0 3 5 0 10 - 22 に基づく米国政府の支援を受けてなされたものである。米国政府は、本発明に一定の権利を有し得る。

【背景技術】

【0002】

真菌の細胞壁は、強力な免疫刺激応答を引き起こすため、抗感染薬及び抗腫瘍薬として使用することが提案されている。真菌細胞はまた、樹状細胞及び主要クラス I I 拘束性抗原特異的 T 細胞反応を活性化することもできる。病原性真菌 (カンジダ・アルビカンス) 及び非病原性真菌 (サッカロマイセス・セレヴィシエ) の細胞壁の大部分 (50 ~ 60 %) は、様々な細胞表面マンナン糖タンパク質と共有結合した グルカン ( - 1 , 3 - グルカン及び - 1 , 6 - グルカン) の内層から構成されている (Klis, F. M. et al. *Med Mycol* 39 Suppl 1, 1-8, 2001; Klis, F. M. et al. *FEMS Microbiol Rev* 26, 239-56, 2002)。

【0003】

マクロファージによる グルカンの認識は、T L R (T L R 2 を含む) の協力を得て、主にデクチン 1 を介して行われる (Brown, G. D. et al. *Nature* 413, 36-7, 2001)。デクチン 1 の活性は、 - 1 , 3 - グルカン及び - 1 , 6 - グルカンにより抑制される。その内、 - 1 , 3 - グルカンラミナリンが最も抑制効果が高い。また一方、オリゴ糖のマイクロアレイ分析によって、デクチン 1 が - 1 , 3 - グルカンと特異的に結合することが示された。好中球は、細菌及び真菌を貪食及び殺滅するプロフェッショナルキラーであり、バクテリア及び真菌に対する食作用及び貪食作用におけるその役割はかなり明らかにされている。個々の好中球は細菌感染及び真菌感染の影響を非常に受けやすく、感染の治癒に重要な役割を果し、感染治癒後には正常な数に戻る。好中球は、マクロファージとは異なり、貪食及び殺滅を最適に行うためには血清を必要とする。主なオプソニン受容体は、補体受容体 C R 3 及び免疫グロブリン結合受容体 F<sub>c</sub> R である。C R 3 は、 - 1 , 3 - グルカン及び - 1 , 6 - グルカンの混合物 (P G G グルカン) (Wakshull, E. et al. *Immunopharmacology* 41, 89-107, 1999) に向かっての好中球の運動性増加を仲介するレクチン領域 (Brown, G. D. et al. *Immunity* 19, 31 1-5, 2003) を有する。好中球はデクチン 1 を発現するが (Taylor, P. R. et al. *J Immunol* 169, 3876-82, 2002) 50

、その真菌認識における役割はまだ明らかになっていない。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明は、ある実施形態では、O-アセチル化基について富化された - 1, 6 - グルカンを含有する組成物を提供する。ある実施形態では、前記グルカンは、少なくとも 25 重量%のO-アセチル化グルカンを含む。ある実施形態では、前記グルカンは、地衣類から単離される又は得られる。ある実施形態では、前記グルカンは、イワタケ科から単離される又は得られる。ある実施形態では、前記グルカンは、真菌から単離される又は得られる。ある実施形態では、前記グルカンは、酵母から単離される。他の実施形態では、前記グルカンは、化学的に合成若しくはアセチル化される。他の実施形態では、前記グルカンは、粒子と結合する。

10

【0005】

他の実施形態では、前記組成物は、アジュバント、抗原、免疫調節化合物、又はそれらの組み合わせを含む。

【0006】

他の実施形態では、本発明は、対象における免疫応答を調節する方法であって、O-アセチル化基について富化された - 1, 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。

20

【0007】

本発明のこの態様によれば及びある実施形態では、前記免疫応答の調節は、前記免疫応答の促進を含む。ある実施形態では、前記免疫応答は、抗原特異的応答である。ある実施形態では、前記組成物は、免疫促進化合物をさらに含む。他の実施形態では、前記組成物は、化学療法化合物をさらに含む。他の実施形態では、前記免疫応答は、感染性病原体、癌若しくは他の種類の腫瘍、前癌病変、又はそれらの組み合わせに対するものである。他の実施形態では、前記免疫応答は、癌若しくは他の種類の腫瘍に対するものではない。

【0008】

他の実施形態では、前記免疫応答の調節は、前記免疫応答の下方制御又は抑制を含む。この態様によれば及びある実施形態では、前記組成物は、免疫抑制剤をさらに含む。ある実施形態では、前記免疫応答は、自己抗原に対するものである。他の実施形態では、前記免疫応答は、アレルゲンに対するものである。他の実施形態では、前記免疫応答は、移植された組織若しくは細胞に対するものである。ある実施形態では、前記組成物は、自己免疫疾患を患っている対象に投与される。ある実施形態では、前記自己免疫疾患は、好中球の過剰な活性、浸潤、脱顆粒などと関連する。ある実施形態では、前記疾患は皮膚に影響を及ぼす疾患であり、前記組成物は皮膚に直接的に塗布される。

30

【0009】

他の実施形態では、本発明は、粒子に結合した - 1, 6 - グルカンを含有する組成物を提供する。この態様によれば及びある実施形態では、前記グルカンはO-アセチル化基について富化されており、ある実施形態では前記グルカンは少なくとも 25 重量%のO-アセチル化グルカンを含む。他の実施形態では、前記グルカンは、地衣類又は酵母から単離される又は得られる。ある実施形態では、前記グルカンは、イワタケ科から単離される又は得られる。他の実施形態では、前記グルカンは、化学的に合成若しくはアセチル化されたものである。ある実施形態では、前記グルカンは、ミクロスフェアと結合したものである。前記ミクロスフェアは、ある実施形態では、約 0.1 ~ 15 ミクロンの直径を有する。

40

【0010】

他の実施形態では、前記組成物は、アジュバント、抗原、免疫調節化合物、又はそれらの組み合わせを含む。

【0011】

他の実施形態では、本発明は、対象における免疫応答を調節する方法であって、粒子に

50

結合した - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。

【 0 0 1 2 】

他の実施形態では、本発明は、 - 1 , 6 - グルカンを含有する粒子を提供する。特定の実施形態では、乾燥重量で前記粒子の少なくとも 10 %、 20 %、 30 %、 40 %、 50 %、 60 %、 70 %、 80 %、 90 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 又は 99 %が - 1 , 6 - グルカンから成る。特定の実施形態では、前記粒子は、実質的に - 1 , 6 - グルカンから成る。特定の実施形態では、前記 - 1 , 6 - グルカンが随意的に O - アセチル化基について富化されている。本発明は、哺乳類の対象における免疫応答を調節する方法であって、前述したいすかの粒子又は前述したいすかの粒子を含む化合物を、前記対象に接触させる方法を提供する。

10

【 0 0 1 3 】

ある実施形態では、前記免疫応答の調節は、免疫応答の促進を含む。ある実施形態では、前記免疫応答は、抗原特異的応答である。本発明のこの態様によれば、前記組成物は、ある実施形態では免疫促進化合物を、他の実施形態では化学療法化合物をさらに含む。ある実施形態では、前記免疫応答は、感染性病原体、癌若しくは他の種類の腫瘍、前癌病変、又はそれらの組み合わせに対するものである。

【 0 0 1 4 】

他の実施形態では、前記免疫応答の調節は、前記免疫応答の下方制御又は抑制を含む。本発明のこの態様によれば及びある実施形態では、前記組成物は、免疫抑制剤をさらに含む。ある実施形態では、前記免疫応答は、自己抗原に対するものである。他の実施形態では、前記免疫応答は、アレルゲンに対するものである。他の実施形態では、前記免疫応答は、移植された組織に対するものである。他の実施形態では、前記免疫応答は、移植された細胞に対するものである。ある実施形態では、前記組成物は、自己免疫疾患を患っている対象に投与される。ある実施形態では、前記自己免疫疾患は、好中球の過剰な活性、浸潤、脱顆粒などと関連する。ある実施形態では、前記疾患は皮膚に影響を及ぼす疾患であり、前記組成物は皮膚に直接的に塗布される。

20

【 0 0 1 5 】

他の実施形態では、本発明は、対象における癌を治療する、癌の進行を遅延させる、癌の寛解を延長する、又は癌の発生率若しくは重症度を低減させる方法であって、精製された - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。他の実施形態では、本発明は、対象における腫瘍を治療する、腫瘍の進行を遅延させる、腫瘍の寛解を延長する、又は腫瘍の発生率若しくは重症度を低減させる方法であって、精製された - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。

30

【 0 0 1 6 】

ある実施形態では、前記 - 1 , 6 - グルカンは O - アセチル化基について富化されており、ある実施形態では前記 - 1 , 6 - グルカンは少なくとも 25 重量 % の O - アセチル化グルカンを含む。他の実施形態では、前記組成物は、アジュvant、抗原、ペプチド、免疫促進化合物、化学療法剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む。

40

【 0 0 1 7 】

ある実施形態では、前記抗原は、腫瘍関連抗原である。他の実施形態では、前記ペプチドは、腫瘍関連抗原から得られる。

【 0 0 1 8 】

ある実施形態では、前記対象は、過形成病変又は前癌病変を有する。他の実施形態では、前記対象は、癌を有する。他の実施形態では、前記対象は、癌であると診断されていない。他の実施形態では、前記対象は、腫瘍があるとは診断されていない。

【 0 0 1 9 】

他の実施形態では、本発明は、対象における感染症を治療する、感染症の進行を遅延させる、又は感染症の発生率若しくは重症度を低減させる方法であって、精製された - 1

50

, 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。

【0020】

ある実施形態では、前記 - 1 , 6 - グルカンは O - アセチル化基について富化されており、ある実施形態では前記 - 1 , 6 - グルカンは少なくとも 25 重量 % の O - アセチル化グルカンを含む。他の実施形態では、前記組成物は、アジュvant、抗原、ペプチド、免疫促進化合物、化学療法剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む。

【0021】

ある実施形態では、前記抗原又はペプチドは、感染源から得られる。ある実施形態では、前記免疫促進化合物は、サイトカインである。他の実施形態では、前記化学療法化合物は、抗生物質又は抗ウイルス性化合物である。ある実施形態では、前記組成物は、ステロイドを含む。他の実施形態では、前記組成物は、 - 1 , 6 - グルカン分岐を有する - 1 , 3 - グルカン ( 1 , 3 / 1 , 6 グルカン、又は 1 , 6 分岐 - 1 , 3 グルカンとも呼ばれる ) を含有し、 - 1 , 6 - グルカン分岐の少なくともいくつかは O - アセチル化基について富化されている。他の実施形態では、本発明は、( i ) O - アセチル化基について富化された - 1 , 6 - グルカンと、( ii ) 1 , 6 分岐 - 1 , 3 グルカンとを含有する組成物を提供する。

【0022】

ある実施形態では、本発明は、O - アセチル化基について富化された - 1 , 6 - グルカンを含有する食品サプリメントを提供する。ある実施形態では、本発明は、O - アセチル化基について富化された - 1 , 6 - グルカンを含有する食品を提供する。ある実施形態では、本発明は、O - アセチル化基について富化された - 1 , 6 - グルカンを含有する化粧品組成物を提供する。

【0023】

他の実施形態では、本発明は、好中球内での熱ショックタンパク質の発現を誘導する方法であって、 - 1 , 6 - グルカンを含有し、前記 - 1 , 6 - グルカンが随意的に O - アセチル化基について富化されている組成物を好中球に接触させるステップを含む方法を提供する。他の実施形態では、本発明は、好中球の貪食及び好中球内での活性酸素種生成を誘導する方法であって、 - 1 , 6 - グルカンを含有し、前記 - 1 , 6 - グルカンが随意的に O - アセチル化基について富化されている組成物を好中球に接触させるステップを含む方法を提供する。他の実施形態では、本発明は、好中球内での熱ショックタンパク質の発現を誘導する方法であって、 - 1 , 6 - グルカンを含有し、前記グルカン分子の少なくとも 5 % においてグルコース単位の少なくとも 25 % が O - アセチル化基について富化された組成物を好中球に接触させるステップを含む方法を提供する。

【0024】

前述したいずれの実施形態においても、前記接触は、対象の体外でも体内でも行われ得る。ある実施形態では、細胞 ( いくつかの実施形態では好中球である ) が対象から取り出され、前記組成物と接触させられ、そしてその後、対象に投与される。ある実施形態では、前記細胞は組成物と、熱ショックタンパク質の発現を誘導するのに十分な時間接触させられる。特定の実施形態では、前記細胞は、血清又は 1 つ以上の血清成分とも接触させられる。ある実施形態では、前記対象は、前記細胞を投与する前に、免疫抑制療法を受ける。例えば、対象が、臓器移植又は他の目的 ( 例えば、癌、白血病、リンパ腫若しくは様々な種類の腫瘍に対する化学療法若しくは放射線治療 ) のために免疫抑制療法を必要とする場合があるが、そのような療法は、対象に免疫障害をもたらす傾向がある。本発明のある実施形態では、免疫抑制療法を施す前に、前記対象から免疫系細胞が取り出される。前記細胞は、前記対象の体外で本発明の組成物と接触させられ、その後、前記対象が免疫抑制療法を受けた後の適切な時期に前記対象の体内に戻される。前記細胞は、ある実施形態では好中球、他の実施形態ではプロフェッショナル抗原提示細胞 ( 例えば、マクロファージ、樹枝状細胞、単球、NK 細胞、B 細胞など ) などの他の免疫系細胞であり。前記適切な時期は、対象が感染症の症状又はその兆候を示す危険があるとき ( 例えば、免疫抑制療法が施された後、又は免疫抑制によって細胞傷害効果が減少した後 ) である。

10

20

30

40

50

## 【0025】

ある実施形態では、本発明は、対象における熱ショックタンパク質の発現を誘導する方法であって、-1,6-グルカンを含有し、前記-1,6-グルカンが随意的にO-アセチル化グルカンについて富化された組成物を前記対象に、前記対象の細胞（例えば好中球）内の熱ショックタンパク質の発現を誘導するのに十分な量で接触させるステップを含む方法を提供する。ある実施形態では、本発明は、対象における活性酸素種生成を誘導する方法であって、-1,6-グルカンを含有し、前記-1,6-グルカンが随意的にO-アセチル化グルカンについて富化された組成物を前記対象に、前記対象の細胞（例えば好中球）による活性酸素種の生成を誘導するのに十分な量で接触させるステップを含む方法を提供する。ある実施形態では、本発明は、対象における貪食を促進する方法であって、-1,6-グルカンを含有し、前記-1,6-グルカンが随意的にO-アセチル化グルカンについて富化された組成物を前記対象に、前記対象の細胞（例えば好中球）による貪食を促進するのに十分な量で接触させるステップを含む方法を提供する。10

## 【0026】

本発明はさらに、(a)基材と、(b)-1,6-グルカンを含有する化合物又は組成物とを含む被覆材料を提供する。特定の実施形態では、前記-1,6-グルカンは、O-アセチル化グルカンについて富化されている。特定の実施形態では、前記被覆材料は、-1,6-グルカンが物理的に結合した被覆層（例えばゲル又は膜）を有する。特定の実施形態では、前記被覆層は、前記-1,6-グルカンに加えて、前記-1,6-グルカンと物理的に結合した高分子（例えば有機高分子）を有する。ある実施形態では、前記高分子は、前記-1,6-グルカンと共有結合している。他の実施形態では、前記高分子は、前記-1,6-グルカンと混合している又は前記-1,6-グルカンが含浸している。特定の実施形態では、前記被覆層は、乾燥重量で1~99%の-1,6-グルカンを含む。特定の実施形態では、前記被覆層は、乾燥重量で少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%又は90%の-1,6-グルカンを含む。特定の実施形態では、前記被覆層は、乾燥重量で10%、20%、30%、40%、50%未満の-1,6-グルカンを含む。20

## 【0027】

様々な高分子が本発明に使用される。いくつかの適切な高分子が本明細書中に開示されている。特定の実施形態では、前記高分子は、生分解性を有する。そのような実施形態では、化合物又は組成物は、高分子分解されたときに放出され得る。特定の実施形態では、前記高分子は、ポリ(ピラノース)、ポリ(ヒドロキシル酸)、ポリ(ラクトン)、ポリ(アミノ酸)、ポリ(無水物)、ポリ(ウレタン)、ポリ(オルトエステル)、ポリ(ホスファジン)、ポリ(リン酸エステル)、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリ乳酸コグリコール酸、ポリエーテルエステル、ポリアミド酸、合成ポリアミド酸、ポリカーボネート、ポリ(ヒドロキシアルカノエート)、ポリ(-カプロラクトン)、又はポリ(サツカリド)、或いはそれらの混合物である。特定の実施形態では、前記高分子は共重合体である。前記共重合体は、特定の実施形態では、前述のいずれかの高分子のサブユニットを有するブロック共重合体である。特定の実施形態では、本発明で使用される高分子は、少なくとも10、25、50、100、200又は300kD、或いはそれらのいずれかの範囲に入る平均分子量（例えば、数平均分子量又は重量平均分子量）を有する。特定の実施形態では、本発明で使用される高分子は、平均100~10,000単量体サブユニット、又はその範囲に入る任意の数のサブユニットから成る。特定の実施形態では、前記高分子は、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、ポリエチレンテレフタート、ポリスチレン、及びポリカーボネートから選択される。30

## 【0028】

ある実施形態では、基材は、ミクロ粒子、ナノ粒子、包帯、縫合糸、カテーテル、ステント、バルブ、ベースメーカー、埋め込み型除細動器、コンジット、カニューレ、器具(appliance)、骨格(scaffold)、セントラルライン(末梢から中心静脈まで挿入したカテーテル(PICC又はPICCライン))、ペッサリー、チューブ、ドレイン、シャント40

、トロカール、プラグ、又は他のインプラント、或いは医療用若しくは外科用器具の形態又はその一部である。ある実施形態では、前記カテーテルは、肺動脈カテーテル、心臓カテーテル、尿カテーテル、又は腹腔内カテーテルである。ある実施形態では、前記ドレインは、脳脊髄液ドレインである。ある実施形態では、前記チューブは、気管切開チューブ、気管内チューブ、又は胸腔チューブである。他の実施形態では、前記基材は、インプラント、ロッド（例えば、後脊髄ロッドなどの脊髄ロッド）、プレート、スクリュー、ワッシャ、ワイヤ、ピン、内部固定器具（例えば骨折固定器具）、又は当業者に知られている他の埋め込み可能な整形外科用ハードウェアの形態又はその一部である。

【0029】

また、本発明により、インプラント又は他の器具の使用方法も提供される。前記インプラント又は器具は、当該技術分野で知られている、従来のインプラント又は器具は（例えば、本明細書中に開示された組成物を含まない及び／又は被覆されていないインプラント又は器具）の使用方法を用いて使用することができる。いくつかの実施形態では、本発明の方法は、本発明のインプラント又は器具による任意の疾患又は病状の治療を含むと理解されるべきである。また、本発明は、本明細書中に開示された - 1, 6 - グルカンを含有する化合物又は組成物を対象に送達する方法であって、前記化合物又は組成物を含む被覆されたインプラント又は他の器具を前記対象の体内に埋め込む又は導入するステップを含む方法を提供する。また、 - 1, 6 - グルカンを含むインプラント又は他の器具（例えば、カテーテル、埋込型ポンプ、留置静脈ラインなど）を使用して、 - 1, 6 - グルカンを含まない治療剤を対象に送達する方法が本発明により提供される。

【0030】

他の実施形態では、本発明は、ターゲティング部分（例えば、食細胞と特異的に相互作用する又は食細胞を引き寄せる部分）と物理的に結合した - 1, 6 - グルカンを含有する組成物を提供する。本発明のこの態様によれば及びある実施形態では、前記ターゲティング部分は、感染細胞、腫瘍性細胞、前癌細胞、病原体又はそれらの成分と特異的に相互作用する、或いは、食細胞を例えば腫瘍、前癌、感染部位などへ動員する。本発明のこの態様によれば及びある実施形態では、前記ターゲティング部分は、感染細胞、腫瘍性細胞、前癌細胞、病原体、又はそれらの成分と特異的に相互作用する。ある実施形態では、前記グルカンはO-アセチル化基について富化されており、ある実施形態では前記グルカンは少なくとも25重量%のO-アセチル化グルカンを含む。他の実施形態では、前記グルカンは、地衣類又は酵母から単離される又は得られる。ある実施形態では、前記グルカンは、イワタケ科から単離される又は得られる。ある実施形態では、前記グルカンは、化学的に合成若しくはアセチル化される。他の実施形態では、前記組成物は、アジュバント、抗原、免疫調節化合物又はそれらの組み合わせをさらに含む。他の実施形態では、前記食細胞は、プロフェッショナル抗原提示細胞である。他の実施形態では、前記食細胞は、好中球である。

【0031】

ある実施形態では、前記ターゲティング部分は、抗体又は抗体断片である。

【0032】

他の実施形態では、本発明は、対象における免疫応答を調節する方法であって、例えばターゲティング部分と物理的に結合した - 1, 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。前記ターゲティング部分は、食細胞と相互作用する又は食細胞を引き寄せる、又は、本明細書中で説明されたいずれかの実施形態を含む。

【0033】

ある実施形態では、前記免疫応答の調節は、前記免疫応答の促進を含む。前記免疫応答は、ある実施形態では、抗原特異的応答である。ある実施形態では、前記組成物は、免疫促進化合物をさらに含む。他の実施形態では、前記組成物は、化学療法化合物をさらに含む。ある実施形態では、前記免疫応答は、感染性病原体、癌、前癌病変又はそれらの組み合わせに対するものである。他の実施形態では、前記免疫応答は、補体依存性である。

10

20

30

40

50

## 【0034】

ある実施形態では、本発明は、対象における感染症を治療する、感染症の進行を遅延させる、又は感染症の発生率若しくは重症度を低減させる方法であって、例えばターゲティング部分と物理的に結合した - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。前記ターゲティング部分は、食細胞と相互作用する又は食細胞を引き寄せる、又は、本明細書中で説明されたいずれかの実施形態を含む。他の実施形態では、前記組成物は、アジュバント、抗原、ペプチド、免疫促進化合物、化学療法剤又はそれらの組み合わせをさらに含む。ある実施形態では、前記抗原又はペプチドは、感染源から得られる。ある実施形態では、前記免疫促進化合物は、サイトカインである。他の実施形態では、前記化学療法化合物は、抗生物質又は抗ウイルス性化合物である。

10

## 【0035】

ある実施形態では、本発明は、細胞内での熱ショックタンパク質の発現を促進又は増進させる方法であって、例えばターゲティング部分と物理的に結合した - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を好中球に接触させるステップを含む方法を提供する。前記ターゲティング部分は、食細胞と相互作用する又は食細胞を引き寄せる、又は、本明細書中で説明されたいずれかの実施形態を含む。

## 【0036】

他の実施形態では、本発明は、対象における免疫応答を調節する方法であって、本明細書中で説明された粒子に結合した - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。

20

## 【0037】

他の実施形態では、本発明は、対象における癌を治療する、癌の進行を遅延させる、癌の寛解を延長する、又は癌の発生率若しくは重症度を低減させる方法であって、本明細書中で説明されたグルカン（例えば、精製された - 1 , 6 - グルカン、事前にO - アセチル化グルカンについて富化された - 1 , 6 - グルカン、粒子と結合した - 1 , 6 - グルカン、ターゲティング部分と結合した - 1 , 6 - グルカン、又はそれらの組み合わせ）を含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。

## 【0038】

他の実施形態では、本発明は、随意的にO - アセチル化基について富化された - 1 , 6 - グルカンを含むミセルを提供する。他の実施形態では、本発明は、 - 1 , 6 - グルカン及び生分解性高分子を含有する組成物であって、前記生分解性高分子が分解して生物活性サリチル酸塩又はアルファヒドロキシ酸部分を形成し、前記 - 1 , 6 - グルカンが、随意的にO - アセチル化グルカンについて富化されたことを特徴とする組成物を提供する。他の実施形態では、本発明は、任意のグルカン、任意の組成物、任意のミセル、又はそれらの組み合わせの、本明細書中で説明された方法への使用を提供する。

30

## 【0039】

本明細書で引用される刊行物、特許及び特許出願はいずれも、参照することで、個々の刊行物、特許又は特許出願が具体的かつ個別に参照によって組み込まれるものと示されている場合と同程度にその全体が本明細書に組み込まれる。本明細書と組み込まれた引用物との間に不一致がある場合は、本明細書を優先する。本明細書内において、数値の範囲の終端は、前記範囲に含まれるものとする。さらに、別途に示されない又は文脈及び当業者の理解から明らかにされない限り、範囲として示された値は、その範囲無内の特定の値又は部分的な範囲と想定でき、異なる実施形態では、随意的に前記範囲の両端を含む又は含まず、文脈が明確に示さない限り前記範囲の下限の単位の十分の1まで含むことを理解されたい。元々の単位が整数である値に関連して記載されたパーセンテージでは、端数は最も近い整数に丸められる。

40

## 【図面の簡単な説明】

## 【0040】

【図1】 - 1 , 6 - グルカンは、好中球における熱ショックタンパク質（HSP）の発現を促進する。HSPの誘導は、定量リアルタイムPCRによって判定した。データは、

50

2つ(A)又は少なくとも3つの実験の平均及び標準偏差を表す。カンジダ(Ca)又はビーズを、プールしたヒト血清でオプソニン化し、好中球で2時間培養した。(A)カンジダ・アルビカンスは好中球においてHSPを誘発する。発光量比は、好中球+カンジダ/好中球単独の比を表す。(B)熱殺菌されたカンジダは、より高レベルのHSPを誘発する。熱殺菌されたカンジダに対する結果をUV殺菌されたカンジダに正規化した。(C~E) -1,6-グルカンは、HSPの発現を促進する。ポリビーズ(Polybead)ポリスチレンの6ミクロンのミクロスフェア(beads)を、等量の、次のグルカンのうちの1つでコーティングした:ラミナリン(1am, 藻類-1,3-グルカン)、カンジダ・アルビカンスから精製した-1,6-グルカン(Ca-1,6-グルカン)、プスツラン(pus, 苔癬-1,6-グルカン)、オオムギグルカン(bar, 30%の-1,3-グルカン及び70%の-1,4-グルカン)、又はデキストラン(dex, -1,6-グルカン)。ビーズを、プールしたヒト血清で、又は加熱不活性化した(HI)プールしたヒト血清(D)でオプソニン化した。発光量比は、好中球+グルカンでコーティングされたビーズ/好中球+未処理ビーズの比を表す。(C)真菌-1,6-グルカンは、HSPの発現を促進する。ビーズを、カンジダ・アルビカンスから精製した-1,3-グルカン(Ca-1,3-グルカン)、又はカンジダ・アルビカンスから精製した-1,6-グルカン(Ca-1,6-グルカン)でコーティングした。(D)標準-1,6-グルカンは、HSPの発現を促進する。ビーズは、ラミナリン(1am, 藻類-1,3-グルカン)、又はプスツラン(pus, 苔癬-1,6-グルカン)でコーティングされた。(E)可溶性-1,6-グルカン及び他のグルカンでコーティングされたビーズはHSPの発現を促進しない。ビーズは、オオムギ(bar, 30%の-1,3-グルカン及び70%の-1,4-グルカン)から単離された-1,6-グルカンで、又はデキストラン(dex, -1,6-グルカン)でコーティングされた。好中球を、5mg/mlの可溶性ラミナリン(sol1am)、5mg/mlの可溶性プスツラン(solpus)、又はビーズで培養した。発光量比は、好中球+可溶性グルカン/好中球単独の比、又は好中球+グルカンでコーティングされたビーズ/好中球+未処理ビーズの比を表す。

【図2】プスツランによるHSPの誘発は、-1,6-グルカンに起因する。A及びFにおいて、好中球を、オプソニン化したビーズで37で2時間培養した。(A)エンド-1,6-グルカナーゼは、プスツランによるHSPの誘導を減少させる。ビーズを、等量のプスツラン(pus)又はエンド-1,6-グルカナーゼで消化したプスツランでコーティングした。酵素で処理したプスツランを用いたHSPの誘導は、未処理のものと相關している。データは、幾つかの実験の平均及び標準偏差を表す。(B)プスツランをBioGel P6カラム上でクロマトグラフ分析した。(C)プスツランを先ずエンド-1,6-グルカナーゼで消化し、P6カラムに送液すると、大小のピークを生じた。小さいピークは、酵素消化(Vo)に耐性がある本来のプスツランのほんの一部分を表している。(D)Cにおける大きいピークは、薄層クロマトグラフィーによって、期待された分解産物、ゲンチオビオース及びゲンチオトリオースであることが示された。レーン1は、対照として標準的なオリゴ糖(G1~G5)を含む。レーン2は、グルコース(G)を加えたプスツランである。レーン3は、エンド-1,6-グルカナーゼで消化したpusである。Or=起源。(E)脱アセチル化プスツランのクロマトグラフィー。挿入図は、C及びEから得られたVoを重ね書きしたものである。(F)プスツランの脱アセチル化及びそれに続くエンド-1,6-グルカナーゼでの消化は、HSPの誘導をなくす。脱アセチル化プスツラン又はエンド-1,6-グルカナーゼで消化した脱アセチル化プスツランにおけるHSPの誘導は、未処理プスツランによるものに相關している。

【図3】-1,6-グルカンは、好中球における活性酸素種(ROS)の食作用及び生成を促進する。ポリビーズポリスチレンの6μmのミクロスフェア(beads)を等量の示されている-1,6-グルカンでコーティングし、その後オプソニン化した。(A) -1,6-グルカンは、食作用を促進する。ラミナリン(a及びb)又はプスツラン(c及び

d) でコーティングされたビーズに対して、食作用を経時的顕微鏡検査法によって評価した。a 及び c での画像は、時間 0 で撮ったものである。画像 b 及び d は好中球で 40 分間培養した後に撮ったものである。(B) - 1, 6 - グルカンは、食作用を促進する。(a) 未処理ビーズ、(b) カンジダ由来の - 1, 3 - グルカンでコーティングされたビーズ、(c) ラミナリン (1 a m, - 1, 3 - グルカン) でコーティングされたビーズ、(d) オオムギ (b a r) 由来のグルカンでコーティングされたビーズ、(e) プスツラン (p u s, - 1, 6 - グルカン) でコーティングされたビーズ、(f) 可溶性プスツランで処理した好中球に対する食作用を、蛍光励起細胞分取 (F A C S) により側方散乱の変化によって評価した。(C) - 1, 6 - グルカンは、R O S 生成を促進する。D H R 1 2 3 を用いて F A C S によって R O S 生成をアッセイした。 - 1, 3 - グルカンは、適度の刺激だけを示す。 10

【図 4】C 3 タンパク質分解断片が - 1, 6 - グルカン上に沈着されている。ビーズは、未処理 (b e a d s)、或いは等量のラミナリン (1 a m, - 1, 3 - グルカン) 又はプスツラン (p u s, - 1, 6 - グルカン) でコーティングした。オプソニン化に続いて、ビーズを 2 % S D S 1 M 水酸化アンモニウム緩衝液中で懸濁し、37 で 1 時間インキュベートした。上清を 4 ~ 20 % アクリルアミド S D S ゲル上に置いた。分子量タンパク質スタンダード (molecular weight protein standard) の移動が示されている。(A) ゲルを銀染色剤とインキュベートし、バンドを取り出して質量分析による分析を行った。(B) C 3 の (a) 鎖又は (b) 鎖に対するモノクローナル抗体を用いてウエスタン分析を行った。 20

【図 5】血清を可溶性プスツラン (- 1, 6 - グルカン) とプレインキュベートすると、好中球の刺激を消失するが、可溶性ラミナリン (- 1, 3 - グルカン) はしない。(A) プスツランでコーティングされたビーズの食作用を、F A C S により側方散乱の変化によって評価した。血清は、未処理 (a)、或いは 37 で 5 分間 1 m g の (フェノール硫酸法により定量化) の可溶性ラミナリン (1 a m) (b) 又はプスツラン (p u s) (c) とインキュベートした。(B) プスツランでコーティングされたビーズに反応しての活性酸素種の生成を、D H R 1 2 3 を用いて F A C S によってアッセイした。血清は、未処理 (赤色)、或いは可溶性ラミナリン (緑色) 又はプスツラン (青色) とインキュベートした。(C) プスツランでコーティングされたビーズ上における C 3 沈着を、可溶性プスツラン (しかしラミナリンではない) による血清のプレインキュベーションによって除去した。C 3 の (a) 鎖又は (b) 鎖に対するモノクローナル抗体を用いてウエスタン分析によって C 3 沈着をアッセイした。血清を可溶性プスツラン (1) またはラミナリン (2) とプレインキュベートしたか、或いは未処理 (3) であった。分子量タンパク質スタンダードの移動が示されている。(D) 血清を可溶性プスツランとプレインキュベートすると、カンジダの死滅が減少した。血清は、未処理、或いはカンジダのオプソニン化の前に可溶性 p u s 又は 1 a m とプレインキュベートした。好中球との 30 分間のインキュベーションに続いて、X T T を用いてカンジダ生存度をアッセイした。 30

【図 6】C R 3 は、好中球の - 1, 6 - グルカン刺激を媒介する。ポリビーズポリスチレンの 6.0 ミクロンのミクロスフェア (b e a d s) を - 1, 6 - グルカンプスツラン (p u s) でコーティングされたビーズを、プールしたヒト血清でオプソニン化し、好中球で 15 分間培養した。プスツランでコーティングされたビーズで培養する前に、好中球を C R 3 阻止抗体又は I g G アイソタイプ対照と氷上で 30 分間プレインキュベートした。(A) C R 3 阻止抗体は、- 1, 6 - グルカンにより促進される食作用を減少させる。(a) アイソタイプ対照 I g G 又は (b) 抗 C R 3 阻止抗体とプレインキュベートした好中球に対し、プスツランでコーティングされたビーズの食作用を、F A C S により側方散乱の変化によってアッセイした。(B) C R 3 阻止抗体は、- 1, 6 - グルカンにより促進される R O S 生成を減少させる。プスツランでコーティングされたビーズに反応しての R O S の生成を D H R 1 2 3 を用いて F A C S によってアッセイした。好中球をアイソタイプ対照 I g G (緑色) 又は抗 C R 3 阻止 A b (赤色) とプレインキュベートした。 40

。 50

【図7】 - 1 , 6 - グルカンは、単球においてケモカインを誘発する。ポリビーズポリスチレンの 6 . 0 ミクロンのミクロスフェア ( b e a d s ) を等量の - 1 , 3 - グルカンラミナリン ( l a m ) 又は - 1 , 6 - グルカンプスツラン ( p u s ) でコーティングされたビーズを、プールしたヒト血清でオブソニン化した。5 mg / ml の可溶性 l a m 又は p u s で、又は上述のビーズで、単球を 2 時間培養した。ケモカインの誘導を定量リアルタイム P C R によって判定した。結果を平均し、標準偏差を計算した。

【図8】好中球貪食を招く細胞ターゲティング及び相補体沈着におけるプスツラン - 抗体キメラ活性の概略的な描写。抗体 ( A b ) は、多糖 ( P S ) に物理的に結合されている。相補体 ( C 3 ) 沈着は、抗体特異性に応じて標的細胞へ好中球を補充する。

【図9】プスツラン - 抗カンジダ・アルビカンスモノクローナル抗体キメラへの暴露後のヒト好中球による高活性酸素種の誘発。30 ~ 100 k D a 又は h 100 k D a 以上 (> 100) の大きさの抗カンジダ・アルビカンス抗体 ( A b ) - プスツラン ( p u s ) ( A b - p u s ) 複合体をポリアクリルアミドゲル上に置き、銀染色した ( A ) 。R O S 生成を、D H R 123 を用いて蛍光励起細胞分取によってアッセイした ( B ) 。

【図10】 - 1 , 6 - グルカンは、カンジダ・アルビカンスの効率的な食作用、R O S の生成及びH S P の発現に必要である。カンジダ・アルビカンス細胞を熱殺菌し、エンド - - 1 , 6 - グルカナーゼで消化し、オブソニン化した。 ( A ) - 1 , 6 - グルカンは、効率的な食作用に必要である。食作用を蛍光励起細胞分取 ( F A C S ) により側方散乱の変化によってアッセイした。 ( B ) 効率的なR O S 生成のために - 1 , 6 - グルカンが必要である。R O S 生成をD H R 123 を用いてF A C S によってアッセイした。 ( C ) - 1 , 6 - グルカンは、H S P の誘導に必要である。H S P 誘導を定量リアルタイム P C R によって判定した。 - 1 , 6 - グルカナーゼで消化したカンジダに対する結果を未消化カンジダに正規化した。データは、2つの実験の平均及び標準偏差を表す。

【図11】 ( A ) マウス血清は、相補体を活性化する。ビーズは、未処理 ( 1 ) 、或いは等量のプスツラン ( - 1 , 6 - グルカン ) ( 2 ) 又はラミナリン ( - 1 , 3 - グルカン ) ( 3 ) でコーティングした。マウス ( C 57 B L / 6 ) 血清でのオブソニン化に続いて、ビーズを 2 % S D S 1 M 水酸化アンモニウム緩衝液中で懸濁し、37 °C で 1 時間インキュベートした。上清を 4 ~ 20 % アクリルアミド S D S ゲル上に置いた。分子量タンパク質スタンダードの移動が示されている。抗マウス C 3 抗体を用いてウエスタン分析を行った。 ( B ) - 1 , 6 - グルカンでコーティングされたビーズは、マウスを全身性真菌感染症から保護する。カンジダ・アルビカンス細胞 ( 10<sup>6</sup> ) を C 57 B L / 6 マウスの尾静脈に注入した。翌日、10<sup>5</sup> 個の - 1 , 6 - グルカンでコーティングされたビーズ又は未処理ビーズを同じマウスの尾静脈に注入した。生存を毎日モニタした。

【図12】 - 1 , 6 - グルカン封入 P L G A ビーズは、活性酸素種の生成を誘発し、マウスを全身性真菌感染症から保護する。1 mg の P L G A につき 250 mg の多糖を用いて P L G A ビーズを作った。 ( A ) - 1 , 3 - グルカン ( b , e ) 又は - 1 , 6 - グルカン ( c , f ) を封入した P L G A ビーズ ( a , d ) 又は P L G A ビーズの 0 日目 ( a ~ c ) 又は 3 日後 ( d ~ f ) の S E M 画像。 ( B ) 分解 P L G A ビーズの表面上で - 1 , 6 - グルカンが検出される。ポリクローナル抗 - 1 , 6 - グルカン抗体を用いて P B S で 3 日間インキュベーションした後、分解 P L G A ビーズ上で - 1 , 6 - グルカンが検出された。 ( C ) - 1 , 6 - グルカン ( 7 . 17 mg - グルコース / mg - P L G A ) ( 緑色 ) 封入 P L G A ビーズは、 - 1 , 3 - グルカン ( 37 . 1 mg - グルコース / mg - P L G A ) ( 赤色 ) 封入 P L G A ビーズより高レベルの活性酸素種を誘発する。 ( D ) - 1 , 6 - グルカン封入 P L G A ビーズは、マウスを全身性真菌感染症から保護する。カンジダ・アルビカンス細胞 ( 10<sup>6</sup> ) を C 57 B L / 6 マウスの尾静脈に注入した。10<sup>5</sup> 個の - 1 , 6 - グルカンビーズ封入 P L G A ビーズ、 - 1 , 3 - グルカン封入 P L G A ビーズ、又は P L G A ビーズを翌日同じマウスの尾静脈に注入した。生存を毎日モニタした。

【図13】 - 1 , 6 - グルカン上で高レベルの I g G が検出される。ビーズは、未処理 ( 赤色 ) 、或いは等量のラミナリン ( - 1 , 3 - グルカン ) ( 緑色 ) 又はプスツラン (

10

20

30

40

50

- 1 , 6 - グルカン）（青色）でコーティングした。オプソニン化に続いて、抗ヒト Ig M 及び Ig G 抗体を用いて Ig M 及び Ig G 沈着を検出した。

【発明を実施するための形態】

【0041】

説明を簡単かつ明瞭にするために、図面に示す構成要素は必ずしも縮尺通りに描かれていない。例えば、構成要素のうちの幾つかは、明確にするために、他の構成要素に対して寸法が誇張されていることがある。さらに、適切であると考えられる場合には、対応する構成要素または類似の構成要素を示すために図面間で符号が繰り返し用いられていることがある。

【0042】

下記の説明では、本発明を完全に理解するために、本発明の様々な詳細について説明する。しかしながら、本発明はこれらの詳細なしで実施可能され得ることは、当業者は理解されたい。他の例では、本発明を不明瞭にしないために、周知の方法、工程、及び構成物については説明しない。

【0043】

グルカンは、地衣化真菌における研究されている種の全てに見られる多糖である。部分的に O - アセチル化されたブストラン (pustulan) は、典型的なイワタケ科であり、例えば、U. pustulata、U. hirsute、U. angulata、U. caroliniana、及び U. polyphylla などのイワタケの様々な種について説明されている。

【0044】

- 1 , 6 - グルカンは、 - 1 , 3 - グルカンとは対照的に、免疫応答を調節するのに有用な作用を呈し得る特異的な遺伝子発現を誘導することが分かっている。これに限定するものではないが、O - アセチル化された - 1 , 6 - グルカンは、これに関して有用であることが分かっている。また、これに限定するものではないが、 - 1 , 6 - グルカンは、好中球による貪食及び活性酸素種生成を誘導することも分かっている。活性酸素種は好中球における殺滅機構の重要な要素であり、それ故に、 - 1 , 6 - グルカンのこの活動は免疫応答を調節するのに有用であり得る。ある実施形態では、本発明は、対象における活性酸素種の生成を誘導する方法であって、 - 1 , 6 - グルカンを前記対象に、前記対象の細胞（例えば好中球）による貪食及び活性酸素種生成を誘導するのに十分な量で投与するステップを含み、前記 - 1 , 6 - グルカンが随意的に O - アセチル化グルカンとなるように富化していることを特徴とする方法を提供する。活性酸素種 (Reactive oxygen species : ROS) としては、例えば、酸素イオン、遊離基、過酸化物（無機過酸化物又は有機過酸化物の）などの分子がある。特定の実施形態では、活性酸素種は小分子であり、不対の電子殻電子が存在することが原因で、極めて反応性に富む。ある実施形態では、前記 ROS は、超酸化物である。

【0045】

本発明は、精製された - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を提供する。前記組成物は、本発明の様々な実施形態では、医薬組成物、食品若しくは食品製品、食品サプリメント、又は化粧品組成物である。前記組成物は、一部の実施形態では、例えばブストランや真菌細胞壁の製剤などの組成物とは異なる。本発明の特定の実施形態では、前記組成物内に含有されるグルカンのうちの、少なくとも 10 重量%、20 重量%、30 重量%、40 重量%、50 重量%、60 重量%、70 重量%、80 重量%、90 重量%、95 重量%、98 重量%、99 重量% 又はそれ以上が - 1 , 6 - グルカンである。特定の実施形態では、前記組成物内に含有されるグルカンのうちの 20 ~ 50 重量% が、 - 1 , 6 - グルカンである。特定の実施形態では、前記組成物内に含有されるグルカンのうちの 50 ~ 100 重量% が、 - 1 , 6 - グルカンである。ある実施形態では、本発明の任意の組成物又は方法では、前記グルカンは、約 15 ~ 30 重量% の - 1 , 6 - グルカンを含む。他の実施形態では、本発明の任意の組成物又は方法では、前記グルカンは、約 10 ~ 35 重量% の - 1 , 6 - グルカン、又は他の実施形態では約 20 ~ 50 重量% の - 1 , 6 - グルカン、又は他の実施形態では約 25 ~ 60 重量% の - 1 , 6 - グルカン、又は他の

10

20

30

40

50

実施形態では約 35 ~ 80 重量% の - 1, 6 - グルカン、又は他の実施形態では約 18 ~ 35 重量% の - 1, 6 - グルカン、又は他の実施形態では約 15 ~ 75 重量% の - 1, 6 - グルカンを含む。本発明の特定の実施形態では、「重量」は「乾燥重量」を意味する。他の実施形態では、「重量」は総重量を意味する。本発明の特定の実施形態では、前記 - 1, 6 - グルカンは処理される。前記処理としては、例えば、脱アセチル化、 - 1, 6 - グルカン以外のグルカンを消化する酵素による処理、 - 1, 6 - グルカンを消化する酵素による限定消化、特定の分子重量範囲の選択などがある。特定の実施形態では、前記処理は、他のグルカン（例えば、 - 1, 6 - グルカンや - 1, 3 - グルカンなど）からの分離を含む。特定の実施形態では、前記処理は、 - 1, 3 - グルカンからの - 1, 6 - グルカン側鎖の除去、及び随意的に - 1, 6 - グルカン側鎖の分離を含む。特定の実施形態では、処理された - 1, 6 - グルカンを含有する組成物は、免疫応答を望ましく調節する能力が、未処理のグルカン又は未処理の - 1, 6 - グルカンと比較して向上する。  
10

#### 【 0046 】

本発明は、ある実施形態では、O - アセチル化基について富化された - 1, 6 - グルカンを含有する組成物を提供する。本発明の任意の組成物又は方法のある実施形態では、前記グルカンは、少なくとも 25 重量% の O - アセチル化グルカンを含む。本発明の任意の組成物又は方法のある実施形態では、前記グルカンは、約 15 ~ 30 重量% の O - アセチル化グルカンを含む。本発明の組成物又は方法の他の実施形態では、前記グルカンは、約 10 ~ 35 重量% の、又は他の実施形態では約 20 ~ 50 重量% の、又は他の実施形態では約 25 ~ 60 重量% の、他の実施形態では約 35 ~ 80 重量% の、又は他の実施形態では約 18 ~ 35 重量% の、又は他の実施形態では約 15 ~ 75 重量% の O - アセチル化グルカンを含む。他の実施形態では、前記グルカンは、約 75 ~ 100 重量%、例えば 75 ~ 90 重量% 又は 90 ~ 100 重量% の O - アセチル化グルカンを含む。本発明の任意の組成物又は方法のある実施形態では、前記グルカンは、天然発生的 - 1, 6 - グルカン（例えば、pustulan 又は本明細書中で言及された任意の他の - 1, 6 - グルカン）を - 1, 6 - エンドグルカナーゼで前記 - 1, 6 - グルカンの少なくとも 90 重量% を消化するのに十分な時間で消化して、5 個以下のグルコースユニットを含むオリゴ糖を生成することによって生じる O - アセチル化グルコースユニットを適切なパーセンテージ（本発明の様々な実施形態では重量又は数で）で含んでおり、その後、（i）前記組成物から 5 個以下のグルコース残基を含む前記オリゴ糖を除去する、又は（ii）5 kD 以上、一部の実施形態では 10、20、30、50 又は 100 kD 以上の分子量を有する得られた組成物の一部を単離する。  
20  
30

#### 【 0047 】

一部の実施形態では、「O - アセチル化残基についての富化」という表現は、天然グルカン分子と比較して、前記グルカン分子内の個々のグルコースユニットにおける O - アセチル化部位のパーセントが増加したこと、前記グルカン分子内の O - アセチル化グルコースユニットのパーセントが増加したこと、又はそれらの組み合わせを意味する。ある実施形態では、特定の重量パーセントで O - アセチル化グルカンについて富化されたグルカン製剤は、天然グルカン分子と比較して、前記グルカン分子内の個々のグルコースユニットにおける O - アセチル化部分のパーセントが増加した、前記グルカン分子内の O - アセチル化グルコースユニットのパーセントが増加した、又はそれらの組み合わせの製剤を意味する。  
40

#### 【 0048 】

異なるソースから得られるグルカンは、前記グルカン分子内の個々のグルコースユニットにおける O - アセチル化部位、前記グルカン分子内の O - アセチル化グルコースユニット、又はそれらの組み合わせについて、様々な量の O - アセチル化を有する。本発明のこの態様によれば、「O - アセチル化グルカンについて富化された」という表現は、ある実施形態では、ここに説明されるように、前記グルカンが得られる基準ソースと比較しての O - アセチル化の増加を意味しており、任意のグルカン源と比較しての全体的な富化は意  
50

味していない。

【0049】

ある実施形態では、「O-アセチル化グルカンについて富化された」という表現は、少なくとも25重量%のグルカン鎖が富化されたこと（少なくとも1つのグルコースユニットにおけるO-アセチル化）、又は前記組成物内の前記グルカン内に存在する少なくとも25%のグルコースユニットがO-アセチル化されたこと、又はそれらの組み合わせを意味する。ある実施形態では、前記-グルカン鎖の少なくとも1%、又は他の実施形態では少なくとも5%において、前記グルコースユニットの少なくとも25%がO-アセチル化される。他の実施形態では、前記-グルカン鎖の少なくとも5%のグルコースユニットにおける、25~35%、25~50%、25~75%、15~45%、20~60%、35~80%、又はその他がO-アセチル化される。他の実施形態では、前記-グルカン鎖の少なくとも15%、又は他の実施形態では前記-グルカン鎖の少なくとも20%のグルコースユニットにおける、25~35%、25~50%、25~75%、15~45%、20~60%、35~80%、又はその他がO-アセチル化される。

【0050】

ある実施形態では、前記グルカンは、地衣類から（ある実施形態ではイワタケ科から）単離される又は得られる。ある実施形態では、前記グルカンは、真菌から単離される又は得られる。ある実施形態では、前記真菌は食用菌であり、とりわけ、グリフォラフロンドサ（*Grifola frondosa*）、（マイタケ）、コルディセプシネンシス（*Cordyceps sinensis*）、アガリクス・ブラジリエンシス（*Agaricus brasiliensis*）、イノノツオブリキュア（*Inonotus obliquus*）（チャガ）である。ある実施形態では、前記グルカンは、酵母から単離される。他の実施形態では、前記グルカンは、化学的に合成若しくはアセチル化される。ある実施形態では、短い-1,6-グルカン合成高分子がリンカー（例えばジアミン）を介して結合され、長い高分子が形成される。他の実施形態では、前記グルカンは、固体支持体と結合する。

【0051】

グルカンは、グルコース含有多糖であり、とりわけ、真菌細胞壁、グルコースサブユニット間に1つ若しくは複数の結合を有する-グルカン、及び、グルコースサブユニット間に1つ若しくは複数の結合を有するグルカンに見られる。

【0052】

-1,6-グルカンは、真菌内に多く存在し、真菌の外側にはあまり存在しない。本発明に従って使用される前記グルカンは、-1,6-グルカンを含む。一部の実施形態では、前記-1,6-グルカンは、例えばU. *pustulata*、Hirsute、U. *angulata*、U. *caroliniana*、U. *polyphylla*などのイワタケ科から得られる。

【0053】

一部の実施形態では、前記-1,6-グルカンは、例えばカンジダ・アルビカンスなどのカンジダ菌から得られる。-1,6-グルカンが得られる他の有機体としては、例えば、コクシジオイデス・イミティス、トリコフィトン・ベルコーズム、プラストミセス・デルマティディス、クリプトコックス・ネオフォルマンス、ヒストプラスマ・カプスラーツム、サッカロマイセス・セレヴィシエ、パラコクシジオイデス・プラジルエンシス、及びピチウム・インシジオサムなどがある。一部の実施形態では、前記-グルカンは、当該技術分野で既知のように、化学的又は酵素的に合成される。他の実施形態では、-グルカンは、それを生成する任意の種から得られ、化学的又は酵素的に改変され、例えば分子のO-アセチル化が増加させられる。

【0054】

一部の実施形態では、前記-グルカンは、真菌性のグルカンである。「真菌性のグルカン」は一般的に真菌から得られるが、特定のグルカン構造は真菌及び非真菌（例えば、細菌、下等植物又は藻）の両方において見られるので、非真菌有機体は代わりのソースとして使用され得る。

10

20

30

40

50

## 【0055】

完全長の天然の - グルカンは、不溶性であり、メガダルトンの範囲の分子量を有する。一部の実施形態では、本発明は、溶解性の - 1 , 6 - グルカンを提供する。一部の実施形態では、本発明は、溶解性の O - アセチル化 - 1 , 6 - グルカンを提供する。一部の実施形態では、可溶化は、長い不溶性のグルカンを断片化することにより達成される。このことは、例えば、加水分解により、又は一部の実施形態ではグルカナーゼ（例えば、 - 1 , 3 - グルカナーゼにより、又は - 1 , 3 - グルカナーゼによる限定消化により）による消化により達成される。他の実施形態では、グルカンは、例えば合成により作成することができ、ある実施形態では単糖構成要素を連結することにより作成することができる。そのようなグルカンの O - アセチル化は、当該技術分野で既知の方法により、容易に達成することができる。そのような方法としては、当該技術分野で知られているような、化学的及び / 又は酵素的なアセチル化がある。10

## 【0056】

真菌性 - グルカンのソースは、様々なものがある。例えば、市販されている純粋な - グルカン（例えば、pustulan (Calbiochem) ）は、Umbilicaria papullosa から精製された - 1 , 6 - グルカンである。 - グルカンは、例えば「Tokunaka et al. (1999) Carbohydr Res 316: 161-172」に説明されている様々な方法によって、真菌細胞壁から精製することができる。そして、前記生成物は、当該技術分野で既知の様々な方法により、 - 1 , 6 - グルカン部分又は O - アセチル化 - 1 , 6 - グルカン部分について富化することができる。20

## 【0057】

当業者であれば、 - 1 , 6 - グルカン部分及び / 又は O - アセチル化 - 1 , 6 - グルカン部分について富化するための適切な方法を特定又は選択することができるであろう。ある実施形態では、 - グルカンの O - アセチル化は化学的に行われる。例えば、多糖 (50 mg) をスピードバック (speed vac) 遠心分離機内で乾燥させ、その後、1.5 ml の無水酢酸 (Mallindcrockdt) 内で再懸濁する。再懸濁した後、触媒として、4 - ジメチルアミノピリジン (Avocado Research Chemist, Ltd) の結晶を少量加える。この反応は、室温で、5、20 又は 120 分間行われ、その後、2 容量の水によって止められる。その後、前記サンプルは、水に対して一晩透析される。当業者には明白であるように、この処理は、変更又は大規模化できることに留意されたい。他の実施形態では、O - アセチル化 - 1 , 6 - グルカンを分離する方法は、様々な順番で行うことができる次の (a) ~ (d) のステップを 1 つ以上含む。(a) 例えば任意の疎水性マトリックス / 樹脂への結合などの、高疎水性に基づいた分離。(b) O - アセチル化 - 1 , 6 - グルカンが消化に耐性を示す場合の、適切なエンドグルカナーゼ若しくはエゴグルカナーゼ又はそれらの組み合わせによる消化に基づいた分離。(c) - 1 , 6 - グルカン又はその O - アセチル化基に結合する適切な抗体又は他の部分を使用した親和性分離。(d) 分子量に基づいた分離。ある実施形態では、 - 1 , 6 - グルカンは、アセチル化されていない及び / 又はアセチル化の度合いが低い - 1 , 6 - グルカンを消化する酵素により消化される。その結果得られた物質は、サイズ又は分子量に基づいて分離され、大量にアセチル化されたグルカンを含む部分が単離される。一部の実施形態では、 - 1 , 6 - グルカン製剤が得られ、消化され、O - アセチル化オリゴ糖が分離され（他の実施形態では単離され）、新しい組成物の調製に使用される。そのような組成物は、本発明の O - アセチル化残基について富化された - 1 , 6 - グルカン製剤の実施形態を示す。30

## 【0058】

富化された O - アセチル化 - 1 , 6 - グルカンを作成するための任意の処理により得られた生成物は、本発明の一部と見なされることを理解されたい。

## 【0059】

一部の実施形態では、本発明の組成物、製剤、ミセル及び / 又は方法に使用する前記グルカンは、天然のグルカン製剤には存在しない構造的改変を含み得る。そのような改変としては、ここに説明されるように、O - アセチル化がある。他の実施形態では、そのよう40

な改変としては、メチル化、アルキル化、硫酸化、リン酸化、脂質結合、又は当業者には既知の他の改変がある。一部の実施形態では、前記改変は、例えばギ酸、コハク酸、クエン酸、又は当該技術分野で既知のその他の酸などの酸による改変（例えばエステル化）を含む。

【 0 0 6 0 】

一部の実施形態では、遊離ヒドロキシル基の任意の又は全ての脂質結合は、例えば「Dr ouillat B, et al., Pharm Sci. 1998 Jan; 87(1):25-30」や「B. N. A. Mbadugha, et al., Org. Lett., 5 (22), 4041-4044, 2003」に記載されているような、当該技術分野で既知の様々な手段により達成される。

【 0 0 6 1 】

一部の実施形態では、メチル化は、「Mischnick et al. 1994 Carbohydr. Res., 264, 293-304」、「Bowie et al. 1984, Carbohydr. Res., 125, 301-307」、「Sherman and Gray 1992, Carbohydr. Res., 231, 221-235」、「Stankowski and Zeller 1992, Carbohydr. Res., 234, 337-341」、「Harris, P.J., et al. (1984) Carbohydr. Res. 127, 59-73」、「Carpita, N.C. & Shea, E.M. (1989) Linkage structure of carbohydrates by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) of partially methylated alditol acetates. In Analysis of Carbohydrates by GLC and MS (Biermann, C.J. & McGinnis, G.D., eds), pp. 157-216. CRC Press, Boca Raton, FL.」に記載されているような、当該技術分野で既知の様々な手段により達成される。

【 0 0 6 2 】

一部の実施形態では、メチル化は、TMSエステル、アセテート又は他のエステルにさらに由来するGLC、結合したMS、又は単糖への消化、ジ-O-メチル化によって確認され、誘導体化及びGLC/MSにより分析される。そのような方法は、例えば、「Pazur 1986, Carbohydrate Analysis - A Practical Approach, IRL Press, Oxford, pp. 55-96」、「Montreuil et al. 1986, Glycoproteins. In M. F. Chaplin and J.F. Kennedy, (eds.), Carbohydrate Analysis - a Practical Approach, IRL Press, Oxford, pp. 143-204」、「Sellers et al. 1990, Carbohydr. Res., 207, C1-C5」、「O'Neill et al. 1990, Pectic polysaccharides of primary cell walls. In P.M. Dey (ed.), Methods in Plant Biochemistry, Volume 2, Carbohydrates, Academic Press, London, pp. 415-441」、「Stephen et al. 1990, Methods in Plant Biochemistry, Volume 2, Carbohydrates, Academic Press, London, pp. 483-522」、又は「Churms 1991, CRC Handbook of Chromatography. Carbohydrates, Volume II, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA」に記載されている。

【 0 0 6 3 】

一部の実施形態では、リン酸化（随意的に他の改変の導入を含む）及び得られた生成物の確認は、当該技術分野で公知の方法により実現される。例えば、「Brown, D. H., Bioc hem. Biophys. Acta, 7, 487 (1951)」、「Roseman, S., and Daffner, L, Anal. Chem., 28, 1743 (1956)」、「Kornberg, A., and Horecker, B. L., in Methods in enzymology, Vol. I, Academic Press, New York, 1955, p. 323」、米国特許第4,818,752号を参照されたい。

【 0 0 6 4 】

一部の実施形態では、グルカンの硫酸化及び得られた生成物の確認は、当該技術分野で公知の方法により実現される。そのような方法は、例えば、「Alban, S., and Franz, G. (2001), Biomacromolecules 2, 354-361」、「Alban, et al. (1992) Arzneimittelforschung 42, 1005-1008」又は「Alban, S., et al. (2001). Carbohydr. Polym. 47, 267-276」に記載されている。

【 0 0 6 5 】

また、本発明によれば、-1,6-グルカンを含有するミセルが提供される。一部の実施形態では、前記ミセルは、液体コロイド内に分散され得る-1,6-グルカンを含有する界面活性剤分子から構成される複合体を含む。一部の実施形態では、前記界面活性

10

20

30

40

50

剤分子は両親媒性である。すなわち、前記界面活性剤分子は、疎水基（それらの「尾部」）と親水基（それらの「頭部」）とを両方とも含む。一部の実施形態では、前記親水性成分は、-1,6-グルカンを含み、前記-1,6-グルカンは、隨意的にここで説明された1つ以上の方に従って改変される。一部の実施形態では、水溶液中のミセルは、周囲の溶媒と接触して前記親水性「頭部」領域と凝集体を形成し、前記ミセルの中心に位置する前記疎水性の尾部領域を隔離する。前記ミセルの形状は、球形及びほぼ球形で有り得る。しかし、一部の実施形態では、前記ミセルの形状は、橢円、円筒状又は二重層で有り得る。一部の実施形態では、前記ミセルは、例えば米国公開第2002/0035217号に開示されているような高分子ミセルである。一部の実施形態では、前記ミセルは、活性物質（例えば疎水性分子）をカプセル化する。例示的な活性物質としては、例えば、抗感染症剤（例えば、抗細菌剤、抗ウイルス剤、抗真菌剤、抗寄生虫剤）、癌を治療するための化学療法剤、免疫促進化合物、抗原、アジュバントなどが挙げられる。  
10

#### 【0066】

本発明は、脂質と結合することにより改変された-1,6-グルカンをさらに提供する。前記改変は、一部の実施形態では、脂質が結合された-1,6-グルカンを含有するミセルの形成を可能にする。前記脂質は、直鎖又は分鎖状の、隨意的に置換された炭化水素であり得る。一部の実施形態では、前記脂質は脂肪酸を含む。一部の実施形態では、前記脂質（例えば脂肪酸）は、4~26個又は4~40個の炭素原子を含む。

#### 【0067】

また、本発明は、酵母グルカンを含む又は実質的に酵母グルカンから成る粒子と共有結合又は非共有結合された-1,6-グルカンを含有する粒子を提供する。また、共有結合を形成すべく酵母グルカンの官能基と反応可能な反応性部分を有する-1,6-グルカンが提供される。前記酵母グルカンは、-1,6-グルカン、-1,3-グルカン、他のグルカン、又はそれらの組み合わせを含み得る。  
20

#### 【0068】

また、本発明によれば、-1,6-グルカン及び生分解性高分子を含有する組成物が提供される。一部の実施形態では、前記生分解性高分子は、生物学的に活性なサブユニットを有する。「生分解性」という用語は、細胞又は対象が存在している生物環境において分解される（すなわち、小さい断片に分解される）物質を意味する。ある実施形態では、生分解性は、例えば酵素若しくは非酵素加水分解や消化などによって、高分子をその構成サブユニットへ分解することを含む。ある実施形態では、生分解性は、高分子骨格における結合（共有結合であろうと非共有結合であろうと）の切断を含む。他の実施形態では、生分解性は、側鎖の内部の結合、又は側鎖と高分子骨格とを接続する結合（共有結合であろうと非共有結合であろうと）の切断を含む。一部の実施形態では、分解生成物は、対象によって代謝可能である。一部の実施形態では、分解生成物は、より長い生体分子を合成するために対象によって使用可能である。一部の実施形態では、分解生成物は、対象によって排出又は排泄される。一部の実施形態では、前記高分子及び/又はその分解生成物は生体適合性を有し、本発明に適切な量で対象に投与（又は別の方法で対象の体内に導入）した際に、実質的に非毒性であり、許容できない炎症や免疫応答を発生しない。  
30

#### 【0069】

一部の実施形態では、本発明のグルカンをカプセル化する生分解性高分子は、本発明の粒子を含む。一部の実施形態では、そのような高分子としては、例えば、ポリ（乳酸-c-o-グリコール酸）（PLGA）、疎水性生体吸収性高分子（例えば、ポリグリコライド）、ポリラクチド（D,L,D,L）、ポリジオキサン、炭酸ポリエステル、ポリヒドロキシアルカン酸、ポリカプロラクトン（ポリラクトン）、ポリエチレングリコール、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、酢酸フタル酸セルロース、Ludragit R、L、及びEシリーズの高分子及びそれらの共重合体混合物、並びに、例えば米国特許第7,060,299号、第6,998,115号、第6,048,551号（これらの文献は、全文を引用することを以って本明細書の一部となす）に開示されているような当該技術分野で公知の方法により作成された、上記の前駆体の2つ以上からなる共重合体などが  
40  
50

ある。

【0070】

「生物学的な活性物質」という用語は、有効量で動物（例えば、ヒトなどの哺乳類）に投与したときに治療的に望ましい効果を提供する治療剤を含む。なお、全ての対象が前記物質の利益を受けるわけではないことを理解されたい。一部の実施形態では、前記高分子は、ポリ酸無水物である。前記ポリ酸無水物は、随意的に、生物活性サリチル酸塩及び - ヒドロキシ酸を含む。前記高分子を分解すると、前記生物活性サリチル酸塩及び / 又は - ヒドロキシ酸を放出する。一部の実施形態では、 - 1 , 6 - グルカンは、前記生分解性高分子と、共有結合的又は非共有結合的に結合している。適切な高分子及びその製造方法は、米国特許特許出願第 2003 / 0035787 号及び第 2005 / 0053577 号に開示されている。<sup>10</sup> 一部の実施形態では、前記高分子は、10 ~ 1000 個、又は 50 ~ 500 個、又は約 100 個の単量体を含む。ある実施形態では、前記高分子は、ポリアスピリン（登録商標）である。前記高分子に - 1 , 6 - グルカンが共有結合された組成物を形成する方法は、当業者には周知である。前記 - 1 , 6 - グルカンは、重合前に単量体と共有結合することができる、又は重合後に前記高分子の官能基と結合することができる。一部の実施形態では、前記 - 1 , 6 - グルカンは、結合基を介して共有結合する。例示的な結合基は、特許特許公開第 2005 / 0053577 号及び当業者に周知のその他の文献に開示されている。

【0071】

一部の実施形態では、前記組成物は、 - 1 , 6 - グルカン及び生分解性高分子を含有する粒子を含む。一部の実施形態では、前記粒子に、 - 1 , 6 - グルカンにより被覆される又は - 1 , 6 - グルカンが含浸される。一部の実施形態では、前記 - 1 , 6 - グルカンは、前記高分子と共有結合する。一部の実施形態では、本明細書の他の箇所で説明されるように、前記組成物は、インプラント又は他の医療用若しくは外科用器具を被覆する。<sup>20</sup>

【0072】

- 1 , 6 - グルカン及び生物活性サリチル酸塩若しくは - ヒドロキシ酸を対象に投与する方法であって、 - 1 , 6 - グルカン及び生分解性高分子（生物活性サリチル酸塩及び / 又は - ヒドロキシ酸を含む）を含有する組成物を対象に投与するステップ、又は、前記高分子及び / 又は生物活性サリチル酸塩及び / 又は - ヒドロキシ酸を含む器具を対象に埋め込む又は導入するステップを含む方法がさらに提供される。<sup>30</sup>

【0073】

一部の実施形態では、本発明は、100 kDa 未満（例えば、80、70、60、50、40、30、25、20、又は 15 kDa 未満）の分子量を有する低分子量グルカンを提供する。一部の実施形態では、本発明は、例えば、85 個以下（例えば、85、84、83、82、81、80、79、78、77、76、75、74、73、72、71、70、69、68、67、66、65、64、63、62、61、60、59、58、57、56、55、54、53、52、51、50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4 個）のグルコース単糖ユニットを含むオリゴ糖提供する。<sup>40</sup>

【0074】

- 1 , 6 - グルカンを含む本発明の任意の組成物、粒子、被覆材料質又は機器における一部の実施形態では、前記 - 1 , 6 - グルカンは、低分子量グルカンを含有する又は低分子量グルカンから実質的に構成される。 - 1 , 6 - グルカンが使用される本発明の一部の実施形態では、前記 - 1 , 6 - グルカンは、低分子量グルカンを含有する又は低分子量グルカンから実質的に構成される。本発明の任意の実施形態における少なくともいくつかの低分子量の - 1 , 6 - グルカンは、随意的に、O - アセチル化基について富化される。<sup>50</sup>

## 【0075】

グルカンの結合タイプ及び構造を測定する一般的な技術は、炭素13核磁気共鳴分光学(<sup>13</sup>C-NMR)である。所与のスペクトラムにおける<sup>13</sup>C信号の数及び相対強度を使用して、グルカン高分子内の結合構造及び位置を測定することができる。例えば、前記グリコシド結合に結合した炭素原子の化学シフト(信号)が、未結合の炭素と比較すると、ダウンフィールドに向かって大きくシフトする(最大で9ppm)。

## 【0076】

本発明は、一部の実施形態では、固体支持体に結合した-1,6-グルカンを含有する組成物を提供する。ある実施形態では、前記固体支持体は、ビーズ又は粒子である。

## 【0077】

ある実施形態では、前記グルカンが結合する前記ビーズ又は粒子としては、変性タンパク質(例えば、ヒト血清アルブミン(「Benacerraf et al. y 1957 Brit. J. Exp. Path, 38:35」を参照)、不溶性物質(例えば、カーボンブラック、シリカ、二酸化ケイ素、ポリスチレン、ラテックス)、金属酸化物(例えば、酸化チタン、酸化鉄)、墨汁(すなわち、コロイド状炭素粒子の懸濁液)(「Reichard and Filkins, 1984, The Reticuloendothelial System; A Comprehensive Treatise, pp. 73-101 (Plenum Press)」を参照)、ヒドロゲル(例えば、米国公開第2005/0191361号に開示されているヒドロゲル)、セファロース又はアガロースのビーズ又は微粒子がある。一部の実施形態では、前記ビーズ又は微粒子は、生分解性を有する非毒性の物質から形成される。そのような物質としては、例えばポリ(-ヒドロキシ酸)、すなわち、例えば、ポリ(ラクチド-コ-グリコリド)、ポリヒドロキシ酪酸、ポリオルトエステル、ポリ酸無水物、ポリカプロラクトンなどがある。本発明の前記ビーズ又は粒子としては、例えば、「ゴーストRBC」として知られる細胞質が除去された赤血球(RBC)や、細菌(RES)により消去される細菌、例えば、「Benacerraf and Miescher, 1960, Ann NY Acad Sci, 88: 184-195」を参照)、細胞断片、リポソーム、バクテリオファージ、バクテリオファージ断片、及びウイルス性核酸を欠いているウイルスカプシド(例えば、肝炎Bウイルス表面抗原粒子)などがある。

## 【0078】

ある実施形態では、粒子又は固体支持体の本発明のグルカンへの結合は、化学的な架橋結合によりなされる。化学的な架橋結合は、は当該技術分野で公知である。前記グルカンと固体(例えばビーズ又は粒子)とを結合するのに使用される架橋結合剤の種類は、当該技術分野で既知の任意の適切な架橋結合剤で有り得る。前記グルカンの活性が維持されるように気を付けながら、任意の適切な架橋結合剤が使用され得ることを理解されたい。

## 【0079】

一部の実施形態では、本明細書中でさらに説明されるように、前記グルカンは、ターゲティング部分と結合する。一部の実施形態では、「結合(conjugate, linked)」という用語及びそれらの文法的な形態は、示された分子のあらゆる結合を意味する。一部の実施形態ではそのような結合は共有結合であり、他の実施形態ではそのような結合は非共有結合である。一部の実施形態ではそのような結合は直接的であり、他の実施形態ではそのうな結合はリンカー分子を介してなされる。

## 【0080】

一部の実施形態では、そのような結合は、当該技術分野で既知の及び本明細書中で説明される任意の手段を介してなされる。例えば、ある実施形態では、結合は、アミド形成、各分子間のウレタン、イミン又はジスルフィド結合、又は各分子間のリンカー部分を介してなされる。前記リンカー分子の化学的バックボーンに関しては限定されるものでないことを理解されたい。一部の実施形態では、前記リンカーのバックボーンは、生体適合性、非免疫原性、及び/又は水溶性を有する。一部の実施形態では、前記リンカーは、本明細書中で説明されるように、結合を容易にする活性化学基を有するポリエチレングリコール(PEG)を含む。

## 【0081】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、そのような目的のために容易に使用される他のリンカーとしては、アルカン、ポリエステル、ポリイミン、ポリ酸、タンパク質、ペプチド、DNA、RNA、他のグルカン、脂質、単糖、多糖、カーボンナノチューブ、デンドリマー、又は固体粒子（例えば、高分子、金属、塩、無機物質など）がある。

## 【0082】

前記粒子は、バクテリオファージ又は細菌の断片であり得る。

## 【0083】

一部の実施形態では、粒子は、マクロファージ、好中球又はその両方による摂取に適するサイズを有する。前記粒子は、本明細書中で説明される任意の組成物を有し得る。特定の実施形態では、本発明は、粒子の集団であって、少なくとも50%の粒子がマクロファージ、好中球、又はその両方による摂取に適するサイズを有する粒子の集団を提供する。本発明は、粒子の少なくとも50%、75%又90%が、所望のサイズの範囲におさまる粒子の集団を提供する。特定の実施形態では、前記所望のサイズの範囲は、所与の値の±10%、±20%、±30%、±40%又は±50%内である。前記値は、例えば、20nm、100nm、500nm、1ミクロン、5ミクロン、10ミクロン、20ミクロン、50ミクロンで有り得る。これらの実施形態のいずれにおいても、前記粒子は、本明細書中で説明される組成物のいずれかを有することができる。前記粒子の集団は、異なる粒子を任意の割合で含むことができる。本明細書中で説明されるいずれかの目的の使用し得る前記粒子の集団、及びそのような使用のための方法は、本発明の一態様である。

## 【0084】

使用可能な架橋剤としては、これらに限定されるものではないが、例えば、p-アジドベンゾイルヒドラジド、N-(4-[p-アジドサリチルアミド]-ブチル)-3'-(2'-ピリジルジチオ)-プロピオニアミド、ビス(ベータ-[4-アジドサリチルアミド]-エチル)ジスルフィド、1,4-ビスマレイミジル-2,3-ジヒドロキシブタン、1,6-ビスマレイミドヘキサン、1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン、アジブイミド酸ジメチル-2HCl、スペルイミノ酸ジメチル-2HCl、ジメチルアジボジミデート-2HCl、ピメルイミド酸ジメチル-2HCl、グルタル酸ジサクシンイミジル、酒石酸ジサクシンイミジル、1-エチル-3-[3-ジメチルアミノプロピル]カルボジイミド塩酸塩、(N-ヒドロキシスクシンイミジル)-4-アジドサリチル酸、スルホスクシンイミジル2-[7-アジド-4-メチル-クマリン-3-アセトアミドメチル-1,3-アミノプロピオン酸、N-スクシンイミジル-4-ヨードアセチルアミノ安息香酸、N-スクシンイミジル-3-[2-ピリジルチオ]プロピオン酸、及び6-[3-(2-ピリジルアチオ)-プロピオニアミド]ヘキサン酸スクシンイミジル(Pierce Chemical Co., Rockford, IL.)などがある。ある実施形態では、前記グルカンは、「Nature Methods Vol 2 No. 11, p., 845, 2005」に記載されている方法又はそれと同様の方法により誘導される。ある実施形態では、グルカンは、例えば2,6-ジアミノピリジンなどの薬剤を使用して自由な反応性一級アミンを提供する部分により誘導化される。シップ(Schiff)塩基アゾメチレンは、例えばシアノ水素化ホウ素ナトリウムにより、安定した二級アミンに還元することができる。ある実施形態では、前記誘導化されたグルカンは、その後、例えばNHS-ビオチンなどのN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)エステルと反応させられる。

## 【0085】

他の架橋剤としては、アルデヒド、イミド、シアノ、ハロゲン、カルボキシル、活性カルボキシル、無水物、及びマレイミド官能基がある。一部の実施形態では、前記架橋剤は、例えばABH、M2C2H、MPBH及びPDPH(Pierce Chemical Co., Rockford, IL.)などのヘテロ二官能性架橋剤を含む。例えば、「Hermanson, G. T. (1996). Biocoujugate Techniques, Academic Press, Inc., for further discussion of cross-linking methods and reagents」を参照されたい。

## 【0086】

他の実施形態では、グルカンのビーズ又は粒子への結合は、例えば「Brumeau et al.

10

20

30

40

50

Genetic Engineering News, Oct. 1, 1995, p. 16」に開示されている方法に従って結合することができる官能基を含有するビーズを使用して行うことができる。

【0087】

また、前記ビーズ／粒子／固体／ターゲティング部分を前記グルカンに、非共有結合手段により結合させることも可能である。非共有結合するための従来の方法の1つは、共有的又は非共有的に前記粒子やビーズと結合する、グルカンに対する抗体を使用する方法である。他の実施形態では、非共有結合は、ビオチン・アビジンを使用して達成される（「アビジン」は、アビジンのあらゆる形態を意味すると理解すべきである）。例えば、アビジン被覆された又は結合されたビーズは、ビオチン分子により誘導化されたグルカンと接觸することができる。

10

【0088】

一部の実施形態では、前記結合されたグルカンの作成は、非結合反応物質を実質的に含まない最終的な結合体の精製を含む。精製は、親和性、ゲルろ過、疎水クロマトグラフィー、接線限外ろ過、ダイアフィルトレーション、又は、結合体のいずれかの成分の性質に基づいたイオン交換クロマトグラフィーにより達成される。例えば、精製することにより、1つ以上の非結合反応物質（グルカン又は固体支持体）の量を、前記非結合反応物質の当初の存在量の10%以下、5%以下、1%以下に減少させることができる。

【0089】

一部の実施形態では、本発明は、-1,6-グルカンを含有する粒子を提供する。前記-1,6-グルカンは、一部の実施形態では、O-アセチル化基について富化されている。一部の実施形態では、前記粒子は、少なくとも50重量%の-1,6-グルカンを含有する。一部の実施形態では、前記-1,6-グルカンは、前記粒子内に均一に分布している。本発明の-1,6-グルカンを含有している前記粒子は、本明細書中で説明されるように、それについて適切な任意の実施形態を包含することを理解されたい。

20

【0090】

ある実施形態では、前記結合されたグルカンは、O-アセチル化基について富化され、ある実施形態では、少なくとも25重量%のO-アセチル化グルカン（又は本明細書中で説明される任意の関連する実施形態のグルカン）を含有する、ある実施形態では、前記グルカンは、ミクロスフェアと結合する。前記ミクロスフェアは、ある実施形態では、約1~100ミクロンの直径を有する。ある実施形態では、前記ミクロスフェアは、約10~50ミクロンの直径を有する。他の実施形態では、前記ミクロスフェアは、約5~40ミクロンの直径を有する。他の実施形態では、前記直径の範囲は、0.1~5ミクロンである。他の実施形態では、前記直径の範囲は、0.5~1ミクロンである。他の実施形態では、前記粒子又はビーズは、ナノメータの範囲内であり、例えば、100~500nmである。

30

【0091】

ある実施形態では、「ビーズ」又は「粒子」又は「固体支持体(solid support)」という用語は、球形の物質を意味する。他の実施形態では、「ビーズ」又は「粒子」又は「固体支持体」という用語は、非球形の物質を意味する。ある実施形態では、非球形のビーズ又は粒子は、それらの表面における任意の2点間で、上記した任意の範囲内で、最長軸又は最長直径を有する。ある実施形態では、前記粒子の寸法（例えば直径）は、食細胞（例えば、好中球、マクロファージ又は樹枝状細胞）による前記粒子の貪食を促進するように選択される。

40

【0092】

ある実施形態では、「ビーズ」又は「粒子」又は「固体支持体」という用語は、前記グルカンと結合することができ、食細胞に取り込まれることができるサイズ及び組成物の、固形、ゲル状又はゾルゲルベースの任意の物質を意味する。

【0093】

ある実施形態では、本発明の組成物又は方法は、異なる寸法及び/又は表面密度のグルカンを有する粒子と比べると、抗原提示細胞によって効率的に貪食される寸法及び表面密

50

度のグルカン（例えば、 - 1 , 6 - グルカン、随意的に O - アセチル化基について富化される）を有するビーズ又は粒子を含む又は使用する。

【 0 0 9 4 】

ある実施形態では、前記固体支持体への結合は、反応性官能基を有する固体支持体との反応による直接結合により達成され得る。

【 0 0 9 5 】

前記リンカーを - 1 , 6 - グルカンと結合するため、及び / 又は前記リンカーを前記抗体と結合するための化学結合は、とりわけ、アミノ形成、ウレタン、イミン若しくはジスルフィド結合である。

【 0 0 9 6 】

リンカー分子のための化学的バックボーンは、限定されるものではない。ある実施形態では、前記バックボーンは、生体適合性、非免疫原性、及び水溶性を有する。ある実施形態では、前記リンカーは、ポリエチレングリコール（ P E G ）である。他のリンカーとしては、とりわけ、アルカン、ポリエステル、ポリイミン、ポリ酸、タンパク質、ペプチド、D N A 、R N A 、グルカン、脂質、单糖、多糖、カーボンナノチューブ、又はデンドリマーがある。ある実施形態では、前記リンカーは、固体粒子であり、とりわけ、ポリマー、金属、塩、天然材料、又は例えばシリカなどの無機材料であり得る。

【 0 0 9 7 】

リンカー基を介しての結合は、任意の既知の手法を用いて行うことができ、そのような手法は、例えば、特許文献第 6 , 6 4 2 , 3 6 3 号、第 4 , 8 8 2 , 3 1 7 号又は第 4 , 6 9 5 , 6 2 4 号に開示されている。有用なタイプの結合は、アジピン酸リンカーである。アジピン酸リンカーは、アミノ化グルカン上に（例えば、ジミド活性を使用して）アジピン酸により遊離 N H <sub>2</sub> 基を結合させ、その後、得られた单糖・アジピン酸中間体にタンパク質を結合させることにより形成される。別のタイプの結合は、カルボニルリンカーである。カルボニルリンカーは、変性グルカンの遊離ヒドロキシル基の C D I との反応と、それに続いて行われるカルバメート結合を形成するためのタンパク質との反応により形成される。他のリンカーとしては、例えば、B - プロピオンアミド、ニトロフェニル - エチルアミン、ハロアキルハロゲン化物、グリコシド結合、6 - アミノカプロン酸、A D H 、C 4 - C 1 2 部分などがある。

【 0 0 9 8 】

他の実施形態では、本発明は、 - 1 , 6 - グルカンを含有する粒子を提供する。特定の実施形態では、前記粒子は、乾燥重量で、少なくとも 1 0 % 、 2 0 % 、 3 0 % 、 4 0 % 、 5 0 % 、 6 0 % 、 7 0 % 、 8 0 % 、 9 0 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、又は 9 9 % の - 1 , 6 - グルカンを含む。特定の実施形態では、前記粒子は、実質的に - 1 , 6 - グルカンから成る。特定の実施形態では、前記粒子は、実質的に - 1 , 6 - グルカンから成り、水などの他の溶媒成分を含まない。特定の実施形態では、前記 - 1 , 6 - グルカンは、O - アセチル化基について富化されている。特定の実施形態では、前記粒子は、乾燥重量で、 5 0 % 、 4 0 % 、 3 0 % 、 2 0 % 、 1 0 % 、又は 5 % 未満の - 1 , 3 - グルカンを含む。本発明は、 - 1 , 6 - グルカンを含有する又は実質的に - 1 , 6 - グルカンから成り、前記グルカンが随意的に O - アセチル化基について富化された、上述したいずれかの粒子を含有する組成物をさらに提供する。前記組成物は、薬学的に許容される担体又はアジュvantをさらに含む。本発明は、哺乳類の対象における免疫応答を調節する方法であって、上述したいずれかの粒子又は上述したいずれかの粒子を含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法をさらに提供する。前記粒子は、当該技術分野で既知の任意の方法を用いて作成される。前記粒子は、所望のサイズを得るために、粉碎される又はふるいにかけられる。特定の実施形態では、前記 - 1 , 6 - グルカンは、前記粒子内に均等に又は均一に分布する。特定の実施形態では、「均等に分布する」は、前記 - 1 , 6 - グルカンが異なる材料内にカプセル化されていないこと、異なる材料から成る粒子の表面を単純に被覆していないこと、又は異なる材料から成る粒子の表面に共有的又は非共有的に結合していないことを意味する。代わりに、特定の実施形態で

10

20

30

40

50

は、前記 - 1 , 6 - グルカンが実質的に前記粒子の全体積を通じて存在するように、前記 - 1 , 6 - グルカンは隨意的に別の材料と混合されて粒子状に形成される。前記 - 1 , 6 - グルカンの密度は変化し得るが、一般的に前記粒子を通じて突然ではなく徐々に及び連続的に変化することに留意されたい。

【 0 0 9 9 】

他の実施形態では、本発明は、ターゲティング部分と物理的に結合した - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を提供する。ある実施形態では、前記ターゲティング部分は、食細胞と特異的に結合する又は食細胞を引き寄せる。

【 0 1 0 0 】

この態様によれば及びある実施形態では、「物理的に結合した」という表現は、共有結合の形成を意味する。ある実施形態では、「物理的に結合した」という表現は、強力な非共有結合を意味する。一部の実施形態では、そのような結合は、以下に例示及び説明されるいくつかの手法を含む、当業者に既知の任意の手法により達成される。一部の実施形態では、そのような目的のために、市販の結合剤が使用される。

【 0 1 0 1 】

本発明のこの態様によれば及びある実施形態では、前記 - 1 , 6 - グルカンは、ターゲティング部分と結合する。そのようなターゲティング部分は、所望の標的と特異的に相互作用する任意の分子を含み得、ある実施形態では食細胞との相互作用を促進する、又は一部の実施形態では食細胞を引き付ける若しくは動員する。

【 0 1 0 2 】

一部の実施形態では、前記ターゲティング部分は、特定の食細胞の種類に対するものであり、例えば、一部の実施形態では感染細胞、一部の実施形態では腫瘍細胞、一部の実施形態では前癌細胞に対するものである。一部の実施形態では、例えば、ウイルス感染した細胞を標的にすることは、前記グルカンのウイルス性のコレセプターと結合により達成される。一部の実施形態では、ターゲティング部分としては、例えばプロフェッショナル抗原提示細胞などの感染細胞において上方制御され得る、インテグリン、又はMHCのクラスII分子がある。

【 0 1 0 3 】

一部の実施形態では、感染細胞を標的とすることにより、対象における感染に対する治療反応を高めることができる。例えば、一部の実施形態では、感染細胞を標的とすることにより、病原体に対する貪食及び/又は細胞傷害反応を高めることができる、又は一部の実施形態では、病原体の補体仲介性溶解を高めることができる。一部の実施形態では、感染細胞を標的とすることにより、病原体に対する免疫応答を高めることができる。

【 0 1 0 4 】

一部の実施形態では、本明細書中で説明されるように、前記ターゲティング部分は、腫瘍若しくは前癌細胞と特異的に相互作用する、及びその任意の実施形態を含む。一部の実施形態では、腫瘍若しくは前癌細胞を標的にする、ターゲティング部分と結合した - 1 , 6 - グルカンの使用は、ホスト抗腫瘍反応を促進する。一部の実施形態では、そのように標的にすることにより、腫瘍細胞の溶解を促進する、又は一部の実施形態では、ホスト抗腫瘍反応を向上させる。

【 0 1 0 5 】

一部の実施形態では、これに限定するものではないが、ターゲティング部分と結合した - 1 , 6 - グルカン及び/又は本発明の組成物の使用は、とりわけ、補体仲介性溶解に耐性を示す腫瘍を治療するのに有用である。

【 0 1 0 6 】

一部の実施形態では、これに限定するものではないが、ターゲティング部分と結合した - 1 , 6 - グルカン及び/又は本発明の組成物の使用により、多糖が癌細胞上に特異的に発現した抗原を標的とし、それにより、前記細胞の補体仲介性溶解を向上させる。

【 0 1 0 7 】

一部の実施形態では、本明細書中で説明されるように、腫瘍若しくは前癌細胞若しくは

10

20

30

40

50

組織又は腫瘍を標的とすることは、腫瘍抗原を標的とすることにより達成することができる。一部の実施形態では、本明細書中で説明されるように、そのような細胞は、アドレノメデュリン受容体（ADM R）、カルシトニン受容体様受容体（C R L R）、C D 1 1 7、又は腫瘍関連抗原の任意の組み合わせを発現し得る。

【 0 1 0 8 】

ある実施形態では、前記ターゲティング部分は、糖付加不十分のムチン - 1 タンパク質に結合するペプチドである。ムチン - 1 ( M U C - 1 ) は、例えばヒト乳癌、卵巣癌、膵臓癌、結腸直腸癌、肺癌、前立腺癌、結腸癌、胃癌の 9 0 % 以上を含む、ほとんど全てのヒト上皮細胞腺癌の細胞表面及び細胞内コンパートメントにおいて過剰発現する膜貫通分子である。通常は覆われている免疫原性エピトープが剥き出しになった糖付加不十分の形態での発現は、非上皮性癌細胞株（例えば、星状細胞腫、黒色腫、神経芽細胞腫）や血液悪性疾患（例えば、多発性骨髄腫、一部の B 細胞非ホジキンリンパ腫）において、ヒトの全ての癌の 5 0 % 以上を構成していることが実証されている。

【 0 1 0 9 】

この態様によれば及びある実施形態では、アドレノメデュリン受容体発現細胞又はムチン - 1 発現細胞を、本発明の結合されたグルカンで標的にすることにより、肺癌、膵臓癌、卵巣癌、乳癌及び他の関連する癌を治療することができる。一部の実施形態では、本発明の結合されたグルカンにより C 、 R L R 及び / 又は C D 1 1 7 発現する細胞を標的にすることにより、血管腫瘍、神経膠腫及び / 又は他の関連する癌を治療することができる。

【 0 1 1 0 】

一部の実施形態では、ここで言及するターゲティング部分は、本明細書中で説明されるような抗体又はその断片、言及した受容体に対する自然発生的ペプチドリガンド、又はそれらの変形態様（例えば、切断生成物）を包含することを理解されたい。一部の実施形態では、ここで言及するターゲティング部分は、人工ペプチドや小分子などを包含することを理解されたい。

【 0 1 1 1 】

一部の実施形態では、多様なモノクローナル抗体（m A b ）が様々な治療において使用される。そのようなモノクローナル抗体としては、例えば、アレムツズマブ（キャンパス）、ベバシズマブ（アバストン）、セツキシマブ（エルビタックス）、ゲムツズマブ（マイロターゲ）、イブリツモマブ（ゼヴァリン）、パニツムマブ（ベクチビックス）、リツキシマブ（リツキサン）、トシツモマブ（ベクサール）、トラスツズマブ（ハーセプチン）、パリビズマブ（シナジス）などがある。これらの m A b はどれも、本発明のグルカンと結合すること、又は本明細書中で説明される組成物に含めることができ、ターゲティング部分又は免疫刺激化合物の本明細書中で説明されるいずれかの方法での使用を含む。任意のモノクローナル抗体若しくは他のターゲティング部分又は免疫促進化合物を、本発明のグルカンに結合させること、或いは、本発明の組成物及び本発明の一部と見なされる物質に含めることができ、本明細書中で説明した方法のすべてへの使用を包含することを理解されたい。

【 0 1 1 2 】

一部の実施形態では、本発明は、グルカン、ターゲティング部分と結合した - 1 , 6 - グルカン及び / 又は本発明の組成物（本明細書中で説明される組成物、その全ての実施形態を含む）の、治療計画に対する、腫瘍又は前癌細胞（又は組織）の反応性を測定する手段としての使用を提供する。一部の実施形態では、そのような方法は、腫瘍性又は前癌細胞を含んでいる対象又は生検材料から腫瘍サンプルを取得するステップと、前記細胞のインビトロ溶解に対する感度又は耐性を評価する、及び / 又は内因性補体制御タンパク質の発現及び / 又は分泌レベルを測定するステップとを含む。

【 0 1 1 3 】

一部の実施形態では、腫瘍細胞は、例えば補体受容体 1 ( C R 1 又は C D 3 5 ) 、分解促進因子 ( D A F 又は C D 5 5 ) 、膜補助因子タンパク質 ( M C P 又は C D 4 6 ) 、補体因子 H ( f H ) ( 又は F H L - 1 ) 、及び / 又は C 4 b 結合タンパク質 ( C 4 B P ) など

10

20

30

40

50

の内因性補体制御タンパク質を発現又は過剰発現する。

【0114】

一部の実施形態では、本発明は、ターゲティング部分と結合した - 1 , 6 - グルカン、及び / 又は本発明の組成物（本明細書中で説明した組成物、その全ての実施形態を含む）の使用であって、血管疾患（アテローム硬化性血管疾患）、或いはある実施形態では、新生血管（例えば、腫瘍関連の新生血管）を標的にして、そのような血管系の除去の向上を目的とした手段としての使用を提供する。

【0115】

本発明のこの態様によれば及び一部の実施形態では、前記ターゲティング部分は、とりわけ、前記血管系の構成要素と特異的に相互作用する抗体若しくはその断片又はリガンドを含み、そのようなものとしては、例えば、VEGFと特異的に相互作用する物質、組織因子、凝固因子、血管細胞接着分子、インテグリン、セレクチン、又は内皮細胞の表面上で発現する任意の他のマーカーがある。

【0116】

ある実施形態では、ターゲティング部分は、ペプチド、抗体、抗体断片、受容体、タンパク質A、タンパク質G、タンパク質L、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジン、金属イオンキレート、酵素補助因子、核酸、又はリガンドである。

【0117】

ある実施形態では、そのようなターゲティング部分は、抗体又は抗体断片を含む。一部の実施形態では、本明細書中で説明されるように、そのような抗体又は抗体断片は、前記抗体又は抗体断片と前記グルカンとの結合が前記相互作用を妨げないように、食細胞と相互作用することにより、所望の標的と特異的に相互作用する。

【0118】

一部の実施形態では、「抗体」という用語は、無傷分子並びにその機能的断片を意味し、そのようなものとしては、例えば、本明細書中で説明されるような所望の標的と特異的に相互作用可能な（例えば食細胞と結合する）Fab、F(ab')2及びFvなどがある。一部の実施形態では、前記抗体断片は、下記の(1)～(5)を含む。(1)Fab：抗体分子の一価抗原 - 結合断片を含む断片。抗体全体をパパイン酵素により消化し、無傷軽鎖及び1つの重鎖の一部を生じさせることにより作成される。(2)Fab'：抗体全体をペプシンで処理し、その後還元させ、無傷軽鎖及び1つの重鎖の一部を生じさせることにより得られる抗体分子の断片。1つの抗体分子につき、2つのFab'断片が得られる。(3)F(ab')2：抗体全体をペプシンで処理し、その後還元させないことにより得られる抗体分子の断片。F(ab')2は、2つのジスルフィド結合により互いに結合した2個のFab'断片の二量体である。(4)Fv：遺伝子操作された断片であり、軽鎖の可変領域及び二本鎖として発現する重鎖の可変領域を含んでいる。(5)一本鎖抗体（SCA）：遺伝子操作された断片であり、遺伝子的に融合された一本鎖分子としての適切なポリペプチドリンクにより結合された、軽鎖の可変領域及び重鎖の可変領域を含んでいる。

【0119】

これらの断片を作成する方法は、当該技術分野において既知である（例えば、「Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1988」（引用することを以って本明細書の一部となす）を参照されたい）。

【0120】

一部の実施形態では、前記抗体断片は、抗体のタンパク質の加水分解により、或いは、大腸菌若しくは哺乳類細胞（チャイニーズハムスター卵巣細胞又は他のタンパク質発現系）におけるDNAをエンコードしている断片の発現により作成される。

【0121】

抗体断片は、一部の実施形態では、従来の方法により、ペプシン又はパパインで抗体全体を消化することにより得られる。例えば、抗体断片は、抗体をペプシンで酵素切断して、F(ab')2で表される5S断片を作成することにより得ることができる。この断片

10

20

30

40

50

は、チオール還元剤を使用して、及び隨意的にスルフヒドリル基のための保護基を使用してさらに切断することができ、ジスルフィド結合の決断により、3.5S F a b' 一価断片を作成することができる。或いは、ペプシンを使用した酵素切断により、2つのF a b' 一価断片と1つのF c 断片を直接的に作成することができる。これら的方法は、例えば、米国特許第4,036,945号及び第4,331,647号に開示されている（これらの文献は、全文を引用することを以って本明細書の一部となす）。また、「Porter, R. R., Biochem. J., 73: 119-126, 1959」も参照されたい。抗原に結合する断片が無傷抗体により認識できる限りは、例えば、重鎖を分離して一価の軽鎖-重鎖の断片を作成し、断片をさらに切断する方法や、酵素的、化学的若しくは遺伝子学的方法などの、抗体を切断する他の方法も使用することができる。

10

## 【0122】

F v は、V H 鎖とV L 鎖との結合を含む。この結合は、「Inbar et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 69:2659-62, 1972」に記載されているように、非共有結合である。或いは、前記可変鎖は、分子間ジスルフィド結合により結合することができる、又は、例えばグルタルアルデヒドなどの化学物質により交差結合することができる。好ましくは、F v 断片は、ペプチドリンカーにより結合されたV H 鎖及びV L 鎖を含む。これらの単鎖抗原結合タンパク質(s F v)は、オリゴヌクレオチドにより結合されたV H 及びV L 領域をエンコードするDNA配列を含有する構造遺伝子を構築することにより作成される。この構造遺伝子は発現ベクター内に挿入され、発現ベクターはその後、例えば大腸菌などのホスト細胞に導入される。前記組み替え型ホスト細胞は、2つのV 領域を架橋するリンカーペプチドにより、一本鎖ポリペプチドを合成する。s F v を作成する方法は、例えば、「Whitlow and Filpula, Methods, 2: 97-105, 1991」、「Bird et al., Science 242:423-426, 1988」、「Pack et al., Bio/Technology 11:1271-77, 1993」及び「Ladner et al., U.S. Pat. No. 4,946,778」に開示されている（これらの文献は、全文を引用することを以って本明細書の一部となす）。

20

## 【0123】

抗体断片の他の形態は、単一の相補性決定領域(C D R)をコードしているペプチドである。C D Rペプチド（「最小認識単位」）は、対象とする抗体のC D Rをエンコードしている遺伝子を構成することにより得ることができる。そのような遺伝子は、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応を使用して、抗体産生細胞のRNAから可変領域を合成することにより作成することができる。例えば、「Larrick and Fry, Methods, 2: 106-10, 1991」を参照されたい。

30

## 【0124】

一部の実施形態では、本明細書中で説明されるような前記抗体又は断片は、抗体の「ヒト化形態」を含む。一部の実施形態では、「抗体のヒト化」という表現は、免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、又はそれらの断片（例えば、F v、F a b、F a b'、F (a b')、s u b . 2 又は他の抗原結合配列など）のキメラ分子であり、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含む、非ヒト（例えばネズミ）抗体を意味する。ヒト化抗体は、所望の特異性、親和性及び性質を有する、例えばマウス、ラット、ウサギなどの非ヒト種の相補性決定領域(C D R)からの残基により置換されるヒト免疫グロブリン（受容抗体）を含む。ある場合では、ヒト免疫グロブリンのF v フレームワーク残基は、対応する非ヒト残基に置換される。ヒト化抗体はまた、受容抗体にも移入されたC D R若しくはフレームワーク配列にも見られない残基を含み得る。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ及び典型的には2つの可変領域の実質的に全てを含み得る。C D R領域の全て又は実質的に全ては、非ヒト免疫グロブリンの前記領域に対応し、F R領域の全て又は実質的に全ては、ヒト免疫グロブリン共通配列の前記領域に対応する。また、最適なヒト化抗体は、少なくとも1つの免疫グロブリンの定常領域(F c)、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域を含み得る。「Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986)」、「Riechmann et al., Nature, 332:323-329 (1988)」及び「Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2:593-596 (1992)」を参照されたい。

40

50

## 【0125】

非人抗体をヒト化する方法は、当該技術分野では公知である。一般に、ヒト化された抗体は、非ヒトのソースから導入された1つ以上のアミノ酸配列残基を有する。これらの非ヒトアミノ酸配列残基は、典型的には重要な可変領域から採取される重要な残基を指す場合が多い。ヒト化は実質的に、「Jones et al., *Nature*, 321:522-525 (1986)」、「Riechmann et al., *Nature* 332:323-327 (1988)」、「Verhoeyen et al., *Science*, 239:1534-1536 (1988)」に記載されているウインター (Winter) 及び協力者による方法に従って、げっ歯類のCDR又はCDR配列を対応するヒト抗体の配列と置換することにより行うことができる。したがって、そのようなヒト化抗体は、キメラ抗体（米国特許第4,816,567号）であり、非ヒト種由来の対応する配列によって置換された無傷のヒト可変領域よりも実質的に少ない。実際には、ヒト化抗体は、典型的には、いくつかのCDR残基及び場合によってはいくつかのFR残基を、げっ歯類の抗体内の類似部位由来の残基によって置換したヒト抗体である。10

## 【0126】

ヒト抗体はまた、例えば「Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991)」及び「Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991)」に開示されているファージ提示法などの当該技術分野で既知の様々な技術を使用して作成することができる。また、「Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985)」及び「Boerner et al., *J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991)」に開示されている技術も、ヒトモノクローナル抗体の作成に使用することができる。同様に、ヒト抗体は、内因性免疫グロブリン遺伝子が部分的に又は完全に不活性されたトランスジェニック動物（例えばマウス）に、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を導入することにより作成することができる。チャレンジすると、遺伝子再構成、集合、及び抗体レパートリーを含むあらゆる点でヒトにおいて見られるのと酷似した、ヒト抗体の生成が観察される。この方法は、例えば、米国特許第5,545,807号、第5,545,806号、第5,569,825号、第5,625,126号、第5,633,425号、第5,661,016号、「Marks et al., *Bio/Technology* 10, 779-783 (1992)」、「Lonberg et al., *Nature* 368 856-859 (1994)」、「Morrison, *Nature* 368 812-13 (1994)」、「Fishwild et al., *Nature Biotechnology* 14, 845-51 (1996)」、「Neuberger, *Nature Biotechnology* 14, 826 (1996)」、「Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13 65-93 (1995)」に開示されている。20

## 【0127】

ある実施形態では、当業者であれば理解できよう、前記ターゲティング部分は、例えば、好中球により特異的に認識される抗体又はその断片、及び、L-セレクチン、2-インテグリン、補体受容体-1(CR-1)、分解促進因子(DAF)、C5a受容体、細胞間接着分子-1(ICAM-1)、ICAM-3、及びその他のものを特異的に認識する抗体である。

## 【0128】

ある実施形態では、当業者であれば理解できよう、食細胞は、Fc受容体、ケモカイン受容体、CD40、CD80、CD86、MHCクラスII分子、CD69、ADAM8、CD14、CD163、CD33、CD63、CD68、CD74、CHIT1、CHST10、CSF1R、DPP4、FABP4、FCGR1A、ICAM2、IL1R2、ITGA1、ITGA2、S100A8、TNFRSF8などとの分子相互作用により標的にされる又は結合する。40

## 【0129】

他の実施形態では、前記ターゲティング部分は、例えばアプタマー、自然発生的若しくは人工的リガンド、又は改変結合タンパク質などの任意の適切な部分であり得、本明細書中で説明されるようなターゲティング部分を含み得、本明細書中で説明されるようなこれらのグルカンとの物理的結合は、選択されたターゲティング部分の特性に適合するよう、例えば後述する方法やその変形例などの当該技術分野で既知のあらゆる手段によって達成される。50

成することができる。

【0130】

ある実施形態では、前記ターゲティング部分は、細胞への結合を促進する。または、他の実施形態では、細胞へのホーミングを促進する。ある実施形態では、前記ターゲティング部分は、エネルギー源の供給後の結合を促進する。ある実施形態では、前記ターゲティング部分は、化学的架橋基を介して、グルカンと化学的に結合する。または、他の実施形態では、前記ターゲティング部分は、グルカンと安定的な結合を形成する。または、他の実施形態では、前記ターゲティング部分はグルカンとの間に、環境条件における例えば塩濃度又はpHなどのその後の変化を防ぐ結合を形成する。

【0131】

10

ある実施形態では、前記ターゲティング部分は、例えばタンパク質や核酸などの対象となる分子を特異的に認識する抗体であり得る。他の実施形態では、前記抗体は、対象となる分子に結合したレポーター分子を特異的に認識し得る。他の実施形態では、前記ターゲティング部分は、抗体断片、タンパク質A、タンパク質G、タンパク質L、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジン、金属イオンキレート、酵素補助因子、核酸、又はリガンドである。他の実施形態では、前記ターゲティング部分は、対象となる同族リガンドと結合する或いは対象となる細胞若しくは分子と結合する受容体であり得る。他の実施形態では、前記ターゲティング部分は、その同族受容体との相互作用を介して細胞へ結合させるのに使用されるリガンドであり得る。

【0132】

20

本発明のグルカンへの前記ターゲティング部分の結合は、当該技術分野で既知のあらゆる手段によって実現することができ、例えば、実施例7に記載されているような方法、米国特許第5,965,714号、米国特許公開第2007/0141084号、「Schneerson et al, Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Jul 22;100(15):8945-50」又は「Lees et al, Vaccine. 1996 Feb;14(3):190-8」に記載されているような方法、本明細書中で説明されるように架橋物質の使用によって、又は当業者に理解されるであろう他の方法によって実現される。

【0133】

一部の実施形態では、グリコシル化抗体が使用され、前記抗体のグリコシル化残基に-1,6-グルカンが結合する。または、他の実施形態では、当業者には理解されるよう、結合は複数で有り得、前記抗体又は標的部位の複数の部位に結合する。

30

【0134】

ある実施形態では、前記グルカンをターゲティング部分へ結合させることにより、標的細胞又は有機体の貪食及び/又は殺滅を向上させることができる。一部の実施形態では、そのような溶解は、任意のプロフェッショナル抗原提示細胞又はキラー細胞（例えば、好中球、マクロファージ、樹枝状細胞、天然キラー細胞、細胞傷害性Tリンパ球など）により仲介される。

【0135】

ある実施形態では、任意のO-アセチル化グルカンは、ターゲティング部分と物理的に結合され、その実施形態を表す本発明の前記グルカン又は組成物を含む。免疫応答を調節する、癌又は前癌病変を治療する、感染の消散を促進するためのそのようなO-アセチル化グルカン（例えば、O-アセチル化された-1,3-グルカン）の使用は、又は本明細書中で説明された任意の方法は、本発明の一部を見なされる。

40

【0136】

一部の実施形態では、本発明の任意のグルカン製剤は、前記グルカンの検出を容易にするために、標識物質と結合され得る。ある実施形態では、「標識物質」という用語は、標識物質と接触したものを容易に検出できるようにする分子を意味する。ある実施形態では、前記標識物質は、マーカーペプチドである。マーカーペプチドとしては、例えば、緑色蛍光タンパク質（GFP）、D5-R6d（赤色蛍光タンパク質）、分泌型アルカリホスファターゼ（SEAP）、-ガラクトシダーゼ、発光酵素、又は当業者に知られている他の様々なレポータータンパク質がある。例えば、ある実施形態では、当業者には容易に

50

理解されるように、前記標識物質は、所与の標的分子と特異的に結合する抗体（他の実施形態では、標的分子と結合した他の抗体と特異的に結合する抗体）に結合する蛍光色素である。一部の実施形態では、当業者には容易に理解されるように、抗体に結合する前記グルカンは、前記抗体内の蛍光色素を取り込む。

【0137】

ある実施形態では、前記グルカンは、O-アセチル化基について富化される。ある実施形態では、前記グルカンは、少なくとも25重量%のO-アセチル化グルカンを含む。他の実施形態では、前記グルカンは、ある実施形態ではイワタケ科である地衣類又は酵母から単離される又は得られる。ある実施形態では、前記グルカンは、化学的に合成若しくはアセチル化される。他の実施形態では、前記組成物は、アジュバント、抗原、免疫調節化合物又はそれらの組み合わせをさらに含む。他の実施形態では、前記食細胞は、プロフェッショナル抗原提示細胞である。他の実施形態では、前記食細胞は、好中球である。

10

【0138】

ある実施形態では、前記ターゲティング部分は、抗体又は抗体断片である。

【0139】

本発明は、(a)基材と、(b) - 1, 6 - グルカンを含有する化合物又は組成物とを含む被覆材料を提供する。特定の実施形態では、前記 - 1, 6 - グルカンは、O-アセチル化グルカンとなるように富化されている。特定の実施形態では、前記被覆材料は、インプラント又は他の外科用若しくは医療用器具の形態又は構成要素である。特定の実施形態では、前記被覆材料は、先行予備特許出願USSN 60/817, 075, (出願日2006年6月29日、発明の名称「エフェクター化合物による器具の被覆」(エフェクター化合物は、 - 1, 6 - グルカンである、又は - 1, 6 - グルカンを含む)に開示されている被覆材料である。

20

【0140】

本発明は、本発明の被覆材料を含んでいるインプラント及び外科用若しくは医療用器具を提供する。本明細書中で使用される「医療用器具」という用語は、インプラント及び対象における外科的若しくは医療的な管理に使用されるあらゆる器具を包含する。前記器具は、対象の体内と接触させられ又は体内に導入され、少なくとも2時間の期間(例えば、少なくとも、4、8、12、又は24時間)、典型的には接触したままにされる、又は少なくともその一部が体内に留置したままにされる。特定の実施形態では、「器具」という用語は、器具全体又はその器具の一部若しくは一構成要素を意味する。例えば、多くの用途では、器具の一部を本発明に従って処理し、その後、他の部分と組み合わせて完全な器具にする。

30

【0141】

特定の実施形態では、前記期間は、1日～1週間、1～4週間、4～8週間、1～6月、6～12月、又はそれ以上である。特定の実施形態では、前記器具は、患者の生涯に渡って(例えば感染が原因、前記器具が故障したり取り出す必要が生じたりしない限り)、対象の身体と接触したままにする、又は身体内に留置したままにする目的としている。特定の実施形態では、本発明は、 - 1, 6 - グルカンを含む本明細書中で説明される化合物又は組成物で被覆された或いは前記化合物又は組成物を含有及び/又は放出するように構成された、インプラント及び外科用若しくは医療用器具(例えば、カテーテル、留置静脈若しくは動脈ライン、ステント、グラフト)を提供する。前記 - 1, 6 - グルカンは、随意的に、O-アセチル化グルカンとなるように富化されている。特定の実施形態では、 - 1, 6 - グルカンで被覆された又は - 1, 6 - グルカンを含む前記器具は、前記化合物又は組成物で被覆されていない又は前記化合物又は組成物含んでいない場合よりも、生物膜形成に対する耐性がより高い。特定の実施形態では、インプラント又は他の器具は、先行予備特許出願USSN 60/817, 075, (出願日2006年6月29日、発明の名称「エフェクター化合物による器具の被覆」(エフェクター化合物は、 - 1, 6 - グルカンである、又は - 1, 6 - グルカンを含む)に開示されている。

40

【0142】

50

特定の実施形態では、前記被覆材料、インプラント、又は他の器具は、先行予備特許出願 U S S N 6 0 / 8 1 7 , 0 7 5 , (出願日 2 0 0 6 年 6 月 2 9 日、発明の名称「エフェクター化合物による器具の被覆」(エフェクター化合物は、 - 1 , 6 - グルカンである、又は - 1 , 6 - グルカンを含む)に開示されているようにして作製される。

【 0 1 4 3 】

ある実施形態では、 - 1 , 6 - グルカンは、長時間に渡って(例えば、1日～1週間以上、1～4週間以上、4～12週間以上、12～24週間以上、24～36週間以上、36～48週間以上)、ゆっくりと放出される。特定の実施形態では、放出期間の終わりまでに、放出が実質的に終了する。特定の実施形態では、放出期間の終わりまでに、放出速度は、放出ピーク速度の約5%未満、又は放出期間中の放出平均速度の約5%未満、及び/又は、基材と結合している化合物の残りが5、10又は20%未満となる。他の実施形態では、 - 1 , 6 - グルカンは急速に放出され、例えば、 - 1 , 6 - グルカンの少なくとも約50%が最初の24時間で放出される。特定の実施形態では、放出は、対象となる期間(例えば、1日～1週間、1～4週間、4～12週間、12～24週間、24～36週間、36～48週間)に渡って最小限に抑えられる。特定の実施形態では、対象となる期間の終わりに、 - 1 , 6 - グルカン残基の少なくとも50、60、70、80、90、95%以上が前記基材と結合する。放出は、哺乳類の対象の体内の生理学的条件に近い塩濃度、pH及び温度の条件下でインピトロで及び/又はインピボで測定することができる。特定の実施形態では、放出速度は制御可能であり、例えば、被覆層の成分及び/又は前記成分の濃度の適切な選択により制御される。特定の実施形態では、被覆層の厚さは、所望の持続期間に渡って放出が行われるように選択される。例えば、器具の被覆層の厚さ又は組成物は、予想される使用期間(例えば、対象の身体と断続的に又は継続的に接触することが予想される間の時間)の間、放出を提供するように選択される。

【 0 1 4 4 】

被覆材料、インプラント、又は本明細書中に開示された他の器具はいずれも、 - 1 , 6 - グルカン、及び対象における病状の治療に有用な1つ若しくは複数の治療物質を含み得る。「病状」は、医療介入及び/又は外科介入が必要とされる、あらゆる後天性若しくは遺伝子性の疾患、障害又は損傷などを包含する。

【 0 1 4 5 】

本発明のインプラント及び他の外科用若しくは医療用器具の例としては、例えば、心血管用器具(例えば、埋込型静脈カテーテル、静脈ポート、トンネル型静脈カテーテル、慢性注入ライン又はポート(肝動脈注入カテーテルを含む)、ペースメーカーのワイヤ、埋込型除細動器)；神経/脳神経外科用器具(例えば、心室腹膜シャント、心室心房シャント、神経刺激装置、椎弓切除後硬膜外線維症を予防するための硬膜パッチ及びインプラント、連続くも膜下注入するための器具)；胃腸用器具(例えば、長期留置カテーテル、栄養チューブ、門脈体静脈シャント、腹水用シャント、薬剤供給用腹膜インプラント、腹膜透析カテーテル、ヘルニア用埋込型メッシュ、外科的接着を防止するためのサスペンション又は固体インプラント(メッシュを含む)；泌尿生殖器用器具(例えば、子宮インプラント(子宮内器具(IUD)及び子宮内膜増殖症を予防するための器具を含む)、卵管インプラント(可逆性不妊器具を含む)、卵管ステント、失禁用の人工的括約筋及び尿道周囲インプラント)、尿管ステント、短期又は長期留置カテーテル、膀胱拡大器、又は精管吻合用のラップ若しくはスプリント)；フタルモノロジックインプラント(phthalomonologic implants)(例えば、モルテノインプラント及び血管新生縁内障又は他の眼疾患用の他のインプラント、翼状片用の薬剤溶出コンタクトレンズ、弱った涙嚢鼻腔吻合(failed dacrocystorhinostomy)用のスプリント、薬剤溶出コンタクトレンズ(例えば角膜血管新生用の)、糖尿病性網膜症用のインプラント、高リスクの角膜移植用の薬剤溶出コンタクトレンズ)；耳鼻咽喉用器具(例えば、耳小骨インプラント、中耳炎又は慢性耳炎用の耳管スプリント又はステント)；形成外科用インプラント、及び整形外科用インプラント(例えば、脊髄用ロッド、スクリュー、整形外科用人工器官)がある。他の埋込型器具としては、インシュリンや鎮痛剤などを送達するためのポンプがある。そのようなポンプと

10

20

30

40

50

しては、例えば、髄腔内ポンプがある。また、例えば身体の欠損部位の代わりとなる、任意の種類の人工器官も含まれる。さらに、縫合に有用な材料も含まれる。

【0146】

特定の実施形態では、インプラント又は医療用若しくは外科用器具は、「Hunter, T.B. and Taljanovic, M.S., Glossary of Medical Devices and Procedures: Abbreviations, Acronyms, and Definitions Radiographics. 23: 195-213, 2003.」に列記されている（ただし、これらに限定されるわけではない）。

【0147】

特定の実施形態では、前記器具は、ルーメンを有するチューブ状の構造体を含む。前記構造体の壁部は内面及び外面を有し、前記内面及び外面は一方又は両方が被覆される。または、前記内面及び外面は、 - 1 , 6 - グルカンを含む化合物又は組成物を含有するように構成され、随意的に、前記化合物又は組成物を放出する。

【0148】

インプラント及び他の外科用若しくは医療用器具は、例えば下記の ( a ) ~ ( f ) などの様々な方法によって、本発明の組成物で被覆される（或いは、本発明の組成物を含有し、随意的に放出するように構成される）。( a ) インプラント又は器具に、化合物又は組成物を塗布する方法（例えば、インプラント若しくは器具に本発明の化合物又は組成物を含む組成をスプレーすることにより、インプラント若しくは器具を本発明の化合物又は組成物を含有する溶液中に浸漬させることにより、又は、他の共有結合手段若しくは非共有手段により）。( b ) インプラント又は器具に、本発明の化合物又は組成物をその後に吸収する、例えばヒドロゲルなど物質を塗布する方法。( c ) インプラント又は器具に、化合物又は組成物で被覆された糸又は他の物質を織り交ぜる方法。( d ) インプラント又は器具を、本明細書中で説明される化合物又は組成物から成る又は前記化合物又は組成物により被覆されたスリーブ又はメッシュに挿入する方法。( e ) インプラント又は器具自身を、本明細書中で開示した化合物又は組成物で構成する方法。( f ) 他の方法によって、インプラント又は器具を前記化合物又は組成物を放出するように構成する方法。

【0149】

ある実施形態では、「被覆された」という用語は、物理的な結合を意味する。他の実施形態では、「被覆された」という用語は、「コーティング」が所望される物体の表面の少なくとも一部への、 - 1 , 6 - グルカンを含有するゲル、膜、発泡体、粒子及び / 又は組成物の結合を意味する。ある実施形態では、前記コーティングは、前記物体の少なくとも 1 つの面における 1 % 未満、他の実施形態では 1 から 1 ~ 10 % 、他の実施形態では 1 ~ 25 % 、他の実施形態では 1 ~ 50 % 、他の実施形態では 1 ~ 75 % 、他の実施形態では 1 ~ 100 % の露出面を含む。

【0150】

ある実施形態では、そのような「コーティング」は、特定の目的に適合するように、パターンで塗布される、又は物体の特定の領域に塗布される。例えば、及び一部の実施形態では、例えばカテーテルなどのチューブ状の器具は、その内腔の露出面上に 1 つの物質のコーティング（例えば、抗炎症又は抗増殖化合物を含むコーティング）を含む。一部の実施形態では、前記チューブ状の器具は異なる物質により被覆され、ある実施形態では、例えば、生体膜形成を抑制する D - 1 , 6 - グルカンを含むコーティングにより被覆される。ある実施形態では、前記コーティングは、前記物体の少なくとも 1 つ面に形成される。他の実施形態では、前記コーティングは、前記物体の 2 つ以上の面に形成される。他の実施形態では、前記コーティングは、前記物体のすべての露出面に形成される。他の実施形態では、前記コーティングは、前記物体の全ての面に形成される。

【0151】

一部の実施形態では、「被覆された材料」という用語は、物体の表面が被覆されたものだけではなく、 - 1 , 6 - グルカンを含む本明細書中で説明されるゲル、膜、発泡体、粒子及び / 又は組成物の、前記物体の全体又は一部への埋め込み及び / 又は含浸を包含すると理解されたい。一部の実施形態では、前記物質の埋め込み及び / 又は含浸は、特定の

10

20

30

40

50

目的又は用途に適合するように、所望のパターン及び／又はデザインに従って行われる。一部の実施形態では、複数のコーティングが物体内に含浸される又は埋め込まれ、複数のコーティングのそれぞれは、同一の又は互いに異なる特定のパターン又はデザインに従つて塗布される。

#### 【0152】

一部の実施形態では、前記物質埋め込み及び／又は含浸は、特定の目的又は用途に適合するように、物体の特定の面に対して特定のパターン又はデザインで行われる。一部の実施形態では、前記物質の埋め込み及び／又は含浸は、特定の目的又は用途に適合するように、物体の2つ以上の面に対して特定のパターン又はデザインで行われる（前記パターン又はデザインは、埋め込まれる及び／又は含浸される面に応じて異なり得る）。 10

#### 【0153】

器具は、その使用目的に適した様々な物質から作成される。特定の実施形態では、本発明の前記器具は、その少なくとも一部を、任意の適切な熱可塑性又は感熱性（例えば熱硬化性）ポリマーから作成することができる。適切なポリマーとしては、例えば、シリコン及びウレタン（例えばポリウレタン）がある。ある実施形態では、前記基材、物体又は器具は、その少なくとも一部を、ポリ塩化ビニルから作成することができる。特定の実施形態では、前記器具は、その少なくとも一部を、ポリエチレンから作成することができる。これらの材料が、例えばカテーテルなどのチューブ状器具に一般的に使用されることは、当業者であれば容易に理解できるであろう。 20

#### 【0154】

特定の実施形態では、前記化合物又は組成物は、保管時及び体内への導入時（例えば挿入時に）に前記器具が所定の処理に耐えることができ、かつ化合物又は組成物を著しく失うことなく保管されるように（例えば、損失が、前記化合物又は組成物の10%、20%又は30%を超えないように）、前記インプラント又は他の器具に十分に結合する。特定の実施形態では、前記化合物又は組成物は、保管中に、挿入前に、又は（挿入を行った場合に）体内への挿入後に体温まで暖められたときに、著しく劣化しない。本発明の特定の実施形態では、本発明のインプラント又は器具は、ひとたび配置されると、本発明の化合物又は組成物の前記インプラント又は器具の周囲の液体又は組織への均一な、予測可能な、長期に渡る放出を提供する。特定の実施形態では、例えば血管ステント又は血液に曝され得る他の器具の場合、組成物又は化合物及びコーティングを形成するのに使用される物質は、表面の血液凝固（血液凝固を引き起こす）を示さない、及び、血流中の著しい乱流を引き起こす（器具が被覆されていない場合や、器具の表面が本明細書中に説明される化合物又は組成物を含まない場合に予期される以上の乱流を引き起こす）。 30

#### 【0155】

一部の実施形態では、「ゲル」という用語は、当該技術分野における一般的な意味を包含する。ある実施形態では、「ゲル」という用語は、室温において液体と個体の中間の流動性を有する高分子を含有する組成物を意味する。ある実施形態では、「ゲル」という用語は、連続的固相及び液相（不連続的又は連続的又は混合された）から作成された、一部の実施形態ではゲル状の外観から識別することができ及び／又は例えば可塑性、弾力性又は剛性などの固形性質を示す、固形又は半固形のコロイド系を意味する。一部の実施形態では、前記液相は、「分散」相であり得る。他の実施形態では、前記液相は、連続的であり得る。一部の実施形態では、前記ゲル化成分（固相）は親油性であり、10%未満、他の実施形態では15%未満、他の実施形態では20%未満、他の実施形態では25%未満、他の実施形態では30%未満、他の実施形態では40%未満の濃度で存在する。一部の実施形態では、「ゲル」という用語は、シリカゲル、アルミノケイ酸塩ゲル、又は主として固形及び／又は微粒子状、微小球状、球状などの他の物質を包含する、或いは、二相系の破壊を示す記述的な性質、用語、表現（例えば、孔、体積、直径、表面積）により説明される。特定の実施形態では、前記ゲルは、重量%で少なくとも70%、80%、90%、95%、98%又はそれ以上の水を含むヒドロゲルである。他の実施形態では、前記ゲルは、水又は水溶液以外の溶媒内に拡散された高分子を含む。 40 50

## 【0156】

一部の実施形態では、「発泡体」という用語は、当該技術分野における一般的な意味を包含する。一部の実施形態では、「発泡体」という用語は、液体内の気体のコロイド状懸濁液を意味する。ある実施形態では、「発泡体」という用語は、液体又は固体の外相内に気体の内相を含む組成物を意味する。液胞の場合は、一部の実施形態では、コロイド状の吸着物質が、気泡と結合する膜を形成し、前記発泡体内におけるコロイドの寸法が、気泡のサイズではなく膜の厚さに影響を与える。

## 【0157】

一部の実施形態では、「膜」という用語は、当該技術分野における一般的な意味を包含する。ある実施形態では、「膜」という用語は、寸法が一次元に制限された層を意味する。一部の実施形態では、前記膜の平均厚さは、10 μm ~ 100 μmである。一部の実施形態では、前記膜の平均厚さは、1 μm ~ 10 μmである。前記膜の厚さは、変更することや、実質的に均一にすることができる（例えば、様々な実質的において、表面上の約1、5又は10 %未満に変更される）。

10

## 【0158】

本発明は、被覆材料（例えば - 1 , 6 - グルカンを含む組成物）の前駆体、及び、基材に塗布されたときに被覆層を形成するのに使用できる又は基材に含浸させるのに使用できる前駆物質を包含する。前記組成物は、随意的に、溶媒（例えば、蒸発して被覆層を形成する）を含む。一部の実施形態では、溶媒は、水性溶媒である。ある実施形態では、前記溶媒は、有機溶媒である。一部の実施形態では、前記溶媒は、極性又は若干の極性を有する。一部の実施形態では、前記溶媒は、無極性又は実質的に無極性である。適切な溶媒としては、とりわけ、ジメチルスルホキシド（DMSO）、アセトン、アルコール、メチルエチルケトン、トルエン、キシレン、N , N - ジメチルホルムアミド（DMF）、テトラヒドロフランなどがある。一部の実施形態では、前記溶媒は、水である。

20

## 【0159】

また、本発明の前記被覆された材料、インプラント又は他の器具を作成する方法も提供される。

## 【0160】

本発明の前記被覆された基材、材料及び／又は器具は、金属材料、セラミック材料又はポリマー材料、或いはそれらの組み合わせから構成され得る。前記基材、材料及び／又は器具は、様々な物理的性質を有し得る。例えば、前記基材等は、使用条件下で所望の形状又は構造に対して容易に一致する又は曲がるように可撓性を有し得る。または、前記基材等は、変形させるのに大きな力が必要となるように剛性を有し得る。一部の実施形態では、前記器具は、その一端又は端部でのみ支持されたときに、その形状を維持する。前記表面は、実質的に平滑であり得るまたは、前記表面は、凸凹であり得る及び／又は裂け目を有し得る。

30

## 【0161】

ある実施形態では、前記金属材料としては、チタンベースの金属及び／合金（例えば、ニチノール、ニッケル - チタン合金、熱記憶合金材料）、ステンレス鋼、タンタル、ニッケルクロム、いくつかのコバルト合金（例えばE 1 g i l o y（登録商標）及びPh y n o x（登録商標）などのコバルト - クロム - ニッケル合金）がある。また、金属材料としては、PCT国際特許出願第94/16646号公報に開示されているような、金属被覆複合繊維もある。

40

## 【0162】

一部の実施形態では、セラミック材料としては、これに限定するものではないが、例えば遷移元素の酸化物、炭化物、窒化物などがあり、そのようなものとしては、例えば、酸化チタン、酸化ハフニウム、酸化インジウム、酸化クロム、酸化アルミニウム及び酸化ジルコニウムなどがある。例えばシリカなどのシリコンベースの材料も使用され得る。これらの材料は、本発明の器具の一部又は基材を作成するのに使用することができ、本明細書中で説明される、 - 1 , 6 - グルカンを含むゲル、発泡体、膜又は他の組成物により被

50

覆され得る。

【0163】

また、本発明によって、前記器具の使用方法が提供される。前記器具は、従来の同等物（例えば、本明細書中で説明した化合物又は組成物を含む又は前記化合物などで被覆された同等物）が使用されるあらゆる方法で使用され、そのような方法は当該技術分野では知られている。また、本発明によって、本明細書中で説明される - 1, 6 - グルカンを含む化合物又は組成物を対象に送達する方法であって、本発明の化合物又は組成物を含む被覆された材料又は器具を、対象の体内に埋め込む又は導入するステップを含む方法が提供される。

【0164】

他の実施形態では、本発明の任意の組成物は、アジュバント、抗原、免疫調節化合物又はそれらの組み合わせを含む。

【0165】

ある実施形態では、本発明は、 - グルカンとアジュバントとを組み合わせた使用、或いはそれらを含有する組成物を提供する。一部の実施形態では、前記アジュバントとしては、これに限定するものではないが、例えば、(A) アルミニウム化合物（例えば、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、ヒドロキシリソルビタン酸アルミニウム、オキシ水酸化物、オルトリソルビタン酸塩、硫酸塩など（「chapters 8 & 9 of ref. 96」参照）、又は様々なアルミニウム化合物の混合物（前記化合物は適切な形態を取り（例えば、ゲル、結晶質、非結晶質など）、吸着性を有することが好ましい）；(B) MF 59 (5% のスクアレン、0.5% のトウイーン 80、及び 0.5% のスパン 85。マイクロフルイダイザーを使用してサブミクロン粒子に製剤化される)；(C) リポソーム；(D) I S C O M (追加的な洗浄剤を欠き得る)；(E) S A F (10% のスクアレン、0.4% のトウイーン 80、5% のブルロニック - ブロックポリマ L 121、及び t h r - M D P を含有する。サブミクロン乳剤にマイクロ流動化又はボルテックスし、粒径が大きい乳剤を作成する)；(F) R i b i (登録商標) アジュバントシステム (R A S) (Ribi Immunochem) (2% のスクアレン、0.2% のトウイーン 80、及び、モノホスホリリピド A (M P L)、トレハロースジミコレート (T D M) 及び細胞壁骨格 (C W S) (好ましくは、M P L + C W S (Detox (登録商標) から成る群より選択される 1 つ以上の細菌細胞壁成分を含有する)；(G) サポニンアジュバント（例えば、Q u i l A 又は Q S 2 1、スティミュロン (Stimulon (登録商標)) とも呼ばれる)；(H) キトサン；(I) 完全フロイントアジュバント (C F A) 及び不完全フロイントアジュバント (I F A)；(J) サイトカイン、（例えば、インターロイキン (I L - 1、I L - 2、I L - 4、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 12)）、インターフェロン（例えば、インターフェロン）、マクロファージコロニー刺激因子、腫瘍壞死因子など）；(K) モノホスホリリピド A (M P L) 又は 3 - O - 脱アシル化 M P L (3 d M P L)；(L) 3 d M P L と、例えば Q S 2 1 及び / 又は水中油型乳剤との組み合わせ；(M) C p G モチーフを含むオリゴヌクレオチド（すなわち、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチドを含み、随意的にシントンの代わりに 5 - メチルシトシンが使用される）；(N) ポリオキシエチレンエーテル又はポリオキシエチレンエステル；(O) ポリオキシエチレンソルビタンエステル界面活性剤とオクトキシノール若しくはポリオキシエチレンアルキルエーテルとの組み合わせ、或いは、エステル界面活性剤と少なくとも 1 つの非イオン性界面活性剤（例えばオクトキシノール）との組み合わせ；(P) 免疫刺激オリゴヌクレオチド（例えば G p G オリゴヌクレオチド）及びサポニン；(Q) 免疫刺激剤及び金属塩の粒子；(R) サポニン及び水中油型乳剤；(S) サポニン（例えば Q S 2 1）+ 3 d M P L + I L 1 2（随意的に + ステロール）；(T) 大腸菌熱性エンテロトキシン（「L T」）、又はその無毒化突然変異体、例えば、K 6 3 又は R 7 2 突然変異体；(U) コレラ毒素（「C T」）又はジフテリア毒素（「D T」）或いはそれらの無毒化突然変異体；(V) 二本鎖 R N A；(W) モノホスホリリピド A 模倣体、例えばアミノアルキルグルコサミニドリン酸誘導体（例えば R C - 5 2 9）；(X) ポリホスファゼン (P C P P)；又は(Y) 生体接着剤（例えば、エス

10

20

30

40

50

テル化ヒアルロン酸ミクロスフェア又は粘膜付着剤（例えば、ポリ（アクリル酸）、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、多糖及びカルボキシメチルセルロース）の架橋誘導体）などがある。

【0166】

ムラミルペプチドとしては、例えば、N-アセチル-ムラミル-L-スレオニル-イソグルタミン（thr-MDP）、N-アセチル-ノルムラミル-L-アラニル-イソグルタミン（nor-MDP）、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミニル-L-アラニン-2-（1'-2'-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ヒドロキシホスホリルオキシ）エチルアミン（MTP-PE）などがある。

【0167】

他の実施形態では、本発明は、-グルカン及び抗原を組み合わせた使用、又は-グルカン及び抗原を含む組成物を提供する。

【0168】

様々な実施形態では、前記抗原は、対象の免疫系により異物として認識される任意の分子であり得る。例えば、前記抗原は、例えば、タンパク質（糖タンパク質やムコタンパク質などの変性性タンパク質）、核酸、炭水化物、プロテオグリカン、脂質、ムチン分子、又はそれらの組み合わせを含む他の類似分子などの、任意の異質分子であり得る。前記抗原は、他の実施形態では、細胞又はその一部であり得、例えば、細胞表面分子であり得る。他の実施形態では、前記抗原は、感染性ウイルス、細菌、真菌、又は他の有機体（例えば、原生生物）、或いはその一部に由来し得る。これらの感染性生物は活性で有り得、ある実施形態では、前記感染性生物を熱に曝すことにより、又は前記生物の複製に必要なタンパク質又は遺伝子を少なくとも1つ除去することにより、不活性にすることができる。ある実施形態では、前記抗原性タンパク質又はペプチドは単離される、他の実施形態では、合成される。

【0169】

ある実施形態では、「抗原」という用語は、抗原に曝した又は接触させた後に、免疫応答を刺激又は促進するタンパク質、ペプチド、又は他の断片などの物質を意味する。ある実施形態では、前記抗原は、対象の免疫系によって免疫応答を開始又は強化すべきだと解釈される「危険」信号である。他の実施形態では、前記抗原は、「非自己」分子の存在を識別するホストの能力を表す。

【0170】

ある実施形態では、前記抗原は、病原体、感染した細胞、腫瘍、又は前癌細胞に由来する。他の実施形態では、前記抗原は、自己免疫応答を開始する又は強化する自己抗原又は分子である。

【0171】

ある実施形態では、前記抗原は、その生涯の少なくともある時期において細胞内に存在する寄生虫に由来する。前記細胞内の寄生虫は、例えば、原生動物で有り得る。細胞を感染させる原生動物としては、例えば、マラリア原虫属（熱帯熱マラリア原虫、三日熱マラリア原虫、卵形マラリア原虫、及び四日熱マラリア原虫）、トリパノソーマ属、トキソプラズマ属、リーシュマニア属、住血吸虫属、及びクリプトスピリジウム属の寄生虫がある。他の実施形態では、寄生虫は、その生涯の少なくともある時期において細胞外に存在する。例としては、例えば、線虫、吸虫、及び条虫がある。一部の実施形態では、前記抗原は、当業者には容易に理解できるように、前記した原生動物による感染の副生成物に由来する（例えば、住血吸虫属の抗原、トキソプラズマ囊胞からユニークに発現する抗原など）。

【0172】

ある実施形態では、前記抗原は、病気及び/又は異常細胞から得られる。前記病気及び/又は異常細胞としては、例えば、感染細胞、腫瘍細胞、前癌細胞、炎症性の病巣、良性腫瘍若しくはポリープ、カフェオレ斑点、白板症、他の皮膚モル、自己反応性細胞（T細胞及び/又はNK細胞を含む）などがある。

10

20

30

40

50

## 【0173】

ある実施形態では、前記抗原は、感染性ウイルスから得られる。前記ウイルスとしては、とりわけ、例えば、レトロウイルス科（例えば、ヒト免疫不全ウイルス、例えば、HIV - I (HTLV - I II とも呼ばれる)、LAV若しくはHTLV - I II / LAV、又は、HIV - I II；及び他の分離株、例えばHVI - LP；ピコルナウイルス科（例えば、ポリオウイルス、A型肝炎ウイルス；エンテロウイルス、ヒトコクサッキーウィルス、ライノウイルス、エコーウイルス）；カルシウイルス科（例えば、胃腸炎を引き起こす菌株）；トガウイルス科（例えば、ウマ脳炎ウイルス、風疹ウイルス）；フラビウイルス科（例えば、デングウイルス、脳炎ウイルス、黄熱病ウイルス）；コロナウイルス科（例えば、コロナウイルス）；ラブドウイルス科（例えば、水疱性口内炎ウイルス、狂犬病ウイルス）；フィロウイルス科（例えば、エボラウイルス）；パラミクソウイルス科（例えば、パラインフルエンザウイルス、ムンブスウイルス、麻疹ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス）；オルトミクソウイルス科（例えば、インフルエンザウイルス）；ブンガウイルス科（例えば、ハンターンウイルス、ブンガウイルス、フレボウイルス及びナイロウイルス）；アレナウイルス科（出血熱ウイルス）；レオウイルス科（例えば、レオウイルス、オルビウイルス及びロタウイルス）；ビルナウイルス科；ヘパドナウイルス科（B型肝炎ウイルス）；パルボウイルス科（パルボウイルス）；パポバウイルス科（乳頭腫ウイルス、ポリオーマウイルス）；アデノウイルス科（大部分のアデノウイルス）；ヘルペスウイルス科（単純ヘルペスウイルス(HSV) 1及び2、水痘帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス(CMV)、ヘルペスウイルス）；ポックスウイルス科（天然痘ウイルス、ワクシニアウイルス、ポックスウイルス）；イリドウイルス科（例えば、アフリカブタ熱ウイルス）；分類不能ウイルス（例えば、海綿状脳症の病原因子、デルタ型肝炎の因子（B型肝炎ウイルスの欠損サテライトとなり得る）、非A非B型肝炎の因子（クラス1 = 経口的に感染）；クラス2 = 非経口的に感染（すなわち、C型肝炎）；ノーウォーク及び関連ウイルス、及びアストロウイルスなどがある。

## 【0174】

ある実施形態では、前記抗原は、細菌から得られる。前記細菌としては、とりわけ、例えば、ヘリコバクターピロリ、ライム病ボレリア、レジオネラニューモフィラ、マイコバクテリア spp (例えば、ヒト結核菌、トリ結核菌、細胞内結核菌、カンサシ菌、マイコバクテリウムゴルドナエ)、黄色ブドウ球菌、淋菌、髄膜炎菌、リステリア菌、化膿連鎖球菌(A群連鎖球菌)、ストレプトコッカスアガラクティエ(B群連鎖球菌)、連鎖球菌(緑色連鎖球菌)、大便連鎖球菌、ストレプトコッカスボビス、連鎖球菌(嫌気性 spp.)、肺炎連鎖球菌、病原性カンピロバクター spp.、腸球菌 spp.、クラミジア spp.、インフルエンザ菌、バチルスアントラシス、コリネバクテリウムジフテリエ、コリネバクテリウム spp.、ブタ丹毒菌、ウェルシュ菌、破傷風菌、エンテロバクターエロゲネス、肺炎桿菌、パストレラマルトシダ、バクテロイデス spp.、フソバクテリウムヌクレアタム、モニリホルム連鎖桿菌、梅毒トレボネーマ、フランベジアトレボネーマ(*Treponema pertenue*)、レプトスピラ、イスラエル放線菌、及び野兎病菌などがある。

## 【0175】

ある実施形態では、前記抗原は、真菌から得られる。そのような真菌としては、とりわけ、例えば、アブシディア属（例えば、アブシディアコリンビフェラ）、アジェロミセス属（例えば、アジェロミセスカプスラータ、アジェロミセスデルマティティジス）、アルスロデルマ属（例えば、アルスロデルマベンハミアエ、アルスロデルマフルブム、アルスロデルマギブセウム、アルスロデルマインクルバーツム、アルスロデルマオタエ、アルスロデルマバンブルースゲミイ）、アスペルギルス属（例えば、アスペルギルスフラバス、アスペルギルスフミガータス、アスペルギルスニゲル）、ブラストミセス属（例えば、ブラストミセスデルマティティジス）、カンジダ属（例えば、カンジダ・アルビカンス、カンジダグラブラタ、カンジダギリエルモンディ、カンジダクルセイ(*Candida krusei*)、カンジダパラプシローシス、カンジダトロピカリ、カンジダペリキュローザ）、クラドフィアロフォラ属（例えば、クラドフィアロフォラキャリオニー）、コクシジオイデス属（

例えば、コクシジオイデス・イミティス)、クリプトコッカス属(例えば、クリプトコックス・ネオフォルマンス)、クスマカビ属、表皮菌属(例えば、有毛表皮菌)、エクソフィアラ属(例えば、エキソフィアラデルマティティジス)、フィロバジディエラ属(例えば、フィロバジディエラネオフォルマンス)、フォンセカヤ属(例えば、フォンセカヤペドロソイ)、フザリウム属(例えば、フザリウムソラニ)、ゲオトリクム属(例えば、ゲオトリクムキャンディダム)、ヒストプラスマ属(例えば、ヒストプラスマ・カプスラーツム)、ホルタエア属(例えば、ホルタエアウェルネッキイ)、イサチェンキア属(例えば、イサチェンキアオリエンタリス)、マズレラ属(例えば、マズレラグリサエ(Madurella grisea))、マラセチア属(例えば、マラセチアフルフル、マラセチアグロボーサ、マラセチアオブチューズ(Malassezia obtuse)、マラセチアパチデルマティス、マラセチアレストリクタ、マラセチアスルーフィエ(Malassezia slooffiae)、マラセチアシンポディアリス)、小胞子菌属(例えば、イヌ小胞子菌、小胞子菌フルブム(Microsporum fulvum)、石こう状小胞子菌)、ケカビ属(例えば、ムコールシルシネロイデス)、ネクトリア属(例えば、ネクトリアヘマトコッカ)、ペシロミセス属(例えば、ペシロミセスバリオッティ)、パラコクシジオイデス属(例えば、パラコクシジオイデス・プラジルエンシス)、ペニシリウム属(例えば、ペニシリウムマルネッフィ)、ピキア属(例えば、ピキアアノマラ、ピキアギリエルモンディ)、ニューモシスチス属(例えば、ニューモシスチスカリニ)、シードアレシェリア属(例えば、シードアレシェリアボイディ)、クモノスカビ属(例えば、リゾプスオリザエ)、ロドトルラ属(例えば、ロドトルラルブラ)、セドスボリウム属(例えば、セドスボリウムアピオスペルマン)、スエヒロタケ属(例えば、シゾフィラムコムネ)、スポロトリクス属(例えば、スポロトリクスシェンキー)、白癬菌属(例えば、毛瘡白癬菌、紅色白癬菌、トリコフィトン・ベルコーズム、紫色白癬菌)、トリコスボロン属(例えば、トリコスボロンアサヒ、トリコスボロンクタネウム、トリコスボロンインキントリコスボロンムコイデス)などがある。  
10

#### 【0176】

ある実施形態では、前記病原菌は、ヒト宿主に感染する。ある実施形態では、前記病原菌は、ヒト以外の動物に感染する。

#### 【0177】

一部の実施形態では、本発明の前記組成物及び方法は、同一のソースに由来する複数の抗原、同一の種類の有機体に由来する複数の抗原、異なる種類の有機体に由来する複数の抗原、又はそれらの組み合わせを、組み合わせた使用を可能にする。  
30

#### 【0178】

他の実施形態では、本発明は、本発明は、対象における感染症を治療する、感染症の進行を遅延させる、又は感染症の発生率若しくは重症度を低下させる方法であって、精製された - 1, 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。本発明の特定の実施形態では、前記感染症は、病原性真菌が原因の感染症である。本発明の特定の実施形態では、前記感染症は、病原性の細菌、ウイルス又は寄生虫が原因の感染症である。本発明の特定の実施形態では、前記対象には、本発明の組成物に加えて、感染者から感染する危険性がある感染症の治療又は予防に有用であることが当該技術分野で知られている任意の薬剤が投与される。したがって、ある実施形態では、前記方法は、(i) - 1, 6 - グルカンを含有する組成物と、(ii)既知の抗真菌物質、抗細菌物質、抗ウイルス物質又は抗寄生虫物質とを対象に投与するステップを含む。前記組成物及び抗真菌物質は、単一の組成物として投与することも別々に投与することもできる。一部の実施形態では、そのような別々の投与は、最大で 24 時間の間隔を置いて、又は最大で 48 時間の間隔を置いて、及び一部の実施形態では 1 時間の間隔を置いて行われる。前記組成物は、ヒトへの使用、獣医的用途、又はその両方に適し得る。  
40

#### 【0179】

一部の実施形態では、本発明の粒子、グルカン、組成物又はそれらの組み合わせは、補体結合を促進、増強又は助長する。

#### 【0180】

50

この態様によれば及び一部の実施形態では、本発明の被覆された基材、材料、粒子、ビーズ、グルカン及び／又はデバイスは、補体結合に関与しその結果として対象に治療効果をもたらす免疫応答を、促進、増大又は推進する方法に使用され得る。一部の実施形態では、前記感染症は、本明細書中で説明される任意の病原体による感染を含む。一部の実施形態では、前記免疫応答は、対象における敗血症を対象にし得る。一部の実施形態では、前記免疫応答は、対象におけるシャーガス病、肺病原体、又は寄生虫若しくは蠕虫を対象にし得る。一部の実施形態では、前記免疫応答は、例えばH S Vなどのウイルス性感染を対象にする。

#### 【0181】

一部の実施形態では、本発明のこの態様による前記方法は、補体カスケードの生成を促進する物質を投与するステップをさらに含む。一部の実施形態では、本発明のこの態様では、前記方法は、対象が感染した病原性物質を特異的に認識する抗体を投与するステップをさらに含む。 10

#### 【0182】

ある実施形態では、 - 1 , 6 - グルカンは、O - アセチル化基について富化される。ある実施形態では、 - 1 , 6 - グルカンは、少なくとも 25 重量% のO - アセチル化グルカンを含む。特定の実施形態では、 - 1 , 6 - グルカンは、10 ~ 20 重量%、又は 20 ~ 25 重量% のO - アセチル化グルカンを含む。他の実施形態では、前記組成物は、アジュバント、抗原、免疫調節化合物又はそれらの組み合わせをさらに含む。ある実施形態では、前記抗原又はペプチドは、感染源から得られる。ある実施形態では、前記免疫促進化合物は、サイトカインである。他の実施形態では、前記化学療法化合物は、抗生物質又は抗ウイルス性化合物である。 20

#### 【0183】

他の実施形態では、本発明は、対象における癌を治療する、癌の進行を遅延させる、癌の寛解を延長する、又は癌の発生率若しくは重症度を低減させる方法であって、精製された - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。 30

#### 【0184】

ある実施形態では、前記抗原は、腫瘍関連抗原である。ある実施形態では、前記ペプチドは、腫瘍関連抗原から得られる。 30

#### 【0185】

ある実施形態では、前記対象は、過形成病変又は前癌病変を有する。他の実施形態では、前記対象は、癌を有する。 40

#### 【0186】

ある実施形態では、下記の癌抗原に関連する癌は、本発明の方法及び組成物により治療又は予防することができる。K S 1 / 4 腺臓癌抗原 (Perez and Walker, 1990, J. Immunol. 142:32-37 ; Bumal, 1988, Hybridoma 7(4):407-415) 、卵巣癌抗原 (C A 1 2 5) (Yu et al, 1991, Cancer Res. 51(2):48-475) 、前立腺性酸性ホスファターゼ (Tailor et al, 1990, Nucl. Acids Res. 18(1):4928) 、前立腺特異抗原 (Henttu and Vihko, 1989, Biochem. Biophys. Res. Comm. 10(2):903-910 ; Israeli et al., 1993, Cancer Res. 53:227-230) 、メラノーマ関連抗原 p 9 7 (Estin et al., 1989, J. Natl. Cancer Inst. 81 (6):445-44) 、メラノーマ抗原 g p 7 5 (Vijayasardahl et al, 1990, J. Exp. Med. 171 (4): 1375-1380) 、高分子量メラノーマ抗原 (H M W - M A A) (Natali et al., 1987, Cancer 59:55-3 ; Mittelman et al., 1990, J. Clin. Invest. 86:2136-2144) 、前立腺特異的膜抗原、癌胎児性抗原 (C E A) (Foon et al., 1994, Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 13:294) 、多形性上皮ムチン抗原、ヒト乳脂肪小球抗原、結腸直腸腫瘍関連抗原 (例えば、C E A、T A G - 7 2 (Yokata et al., 1992, Cancer Res. 52: 3402-3408) 、C O 1 7 - 1 A (Ragnhammar et al., 1993, Int. J. Cancer 53:751-758) ) 、G I C A 1 9 - 9 (Herlyn et al., 1982, J. Clin. Immunol. 2:135) 、C T A - 1 及びL E A ) 、バーキットリンパ腫抗原 - 3 8 . 1 3 , C D 1 9 (Ghetie et al, 1994, 50

Blood 83: 1329-1336)、ヒトBリンパ腫抗原 - C D 2 0 (Reffet et al., 1994, Blood 83:4 35-445)、C D 3 3 (Sgouros et al., 1993, J. Nucl. Med. 34:422-430)、メラノーマ特異抗原(例えば、ガングリオシドG D 2 (Saleh et al., 1993, J. Immunol., 151, 33 90-3398)、ガングリオシドG D 3 (Shitara et al., 1993, Cancer Immunol. Immunother. 36:373-380)、ガングリオシドG M 2 (Livingston et al., 1994, J. Clin. Oncol. 12 : 1036-1044)、ガングリオシドG M 3 (Hoon et al., 1993, Cancer Res. 53:5244-5250 ) )、腫瘍特異的移植タイプの細胞表面抗原(T S T A)(例えば、ウイルス誘導腫瘍抗原(R N A腫瘍ウイルスの、T抗原D N A腫瘍ウイルス及びエンベロープ抗原を含む) )、腫瘍胎児抗原 - フェトプロテイン(例えば、結腸のC E A)、膀胱腫瘍胎児抗原(Hellstrom et al., 1985, Cancer. Res. 45:2210-2188)、分化抗原(例えば、ヒト肺癌抗原L 6、L 2 0 (Hellstrom et al., 1986, Cancer Res. 46:3917-3923) )、線維肉腫の抗原、ヒト白血病T細胞抗原 - G p 3 7 (Bhattacharya-Chatterjee et al., 1988, J. of Immun. 141:1398-1403)、ネオ糖タンパク質、スフィンゴリビド、乳癌抗原(例えば、E G F R(上皮成長因子受容体) )、H E R 2抗原(p 1 8 5 H E R 2)、多型性上皮ムチン(P E M)(Hilkens et al., 1992, Trends in Bio. Chem. Sci. 17:359)、悪性ヒトリンパ球抗原 - A P O - 1 (Bernhard et al., 1989, Science 245:301-304)、分化抗原(Feizi, 1985, Nature 314:53- 57) (例えば、I抗原胎児赤血球及び初期内胚葉に見られる、胃腺癌に見られるI(M a)、乳房上皮に見られるM 1 8 及びM 3 9、骨髄性細胞に見られるS S E A - 1、V E P 8、V E P 9、M y 1、V I M - D 5、及び結腸直腸癌に見られるD 1 5 6 - 2 2、T R A - 1 - 8 5 (血液型H)、結腸腺癌に見られるC 1 4 、肺腺癌に見られるF 3、胃癌に見られるA H 6、Yハプテン、胚性癌腫細胞に見られる血液型L e y、T L 5 (血液型A)、A 4 3 1細胞に見られるE G F受容体、脾臓癌に見られるE 1シリーズ(血液型B)、胃腺癌、胚性癌腫細胞に見られるF C 1 0 . 2、腺癌に見られるC O - 5 1 4 (血液型L e a)、腺癌に見られるN S - 1 0 、C O - 4 3 (血液型L e b)、G 4 9 、E G F受容体、結腸腺癌に見られる(血液型A L e b / L e y) 、胃癌ムチン、結腸癌に見られる1 9 . 9 、骨髄性細胞に見られるT 5 A 7 、メラノーマに見られるR 2 4 、胚性癌腫細胞に見られる4 . 2 、G D 3 、D 1 . 1 、O F A - 1 、G M 2 、O F A - 2 、G D 2 、M 1 : 2 2 : 2 5 : 8 、及び4 - 8の細胞期の胚に見られるS S E A - 3 、S S E A - 4 )。他の実施形態では、前記抗原は、皮膚T細胞性リンパ腫由来のT細胞受容体誘導ペプチドである(「Edelson, 1998, The Cancer Journal 4:62」を参照)。

#### 【0187】

他の実施形態では、前記抗原性ペプチド若しくはタンパク質は、それらの抗原を発現する、乳癌、卵巣癌、脾臓癌、結腸癌、前立腺癌及び肺癌の抑制 / 抑止のためのH E R 2 / n e u又は癌胎児性抗原(C E A)から得られる。同様に、例えばM U C - 1などのムチン型抗原が、様々な癌に対して使用することができる。M A G E、B A G E、及びM a r t - 1抗原が、黒色腫に対して使用することができる。ある実施形態では、前記方法は、対象が有する特定の癌に合わせて調整され、対象の癌細胞において発現する抗原(外科生検又は血液細胞サンプルの免疫組織化学検査により予め決定される)に基づいて抗原性ペプチド若しくはタンパク質が選択される。

#### 【0188】

他の実施形態では、本発明は、- 1 , 6 - グルカンと免疫調節化合物とを組み合わせた使用、或いはそれらを含有する組成物を提供する。

#### 【0189】

有用な免疫調整タンパク質の例としては、サイトカイン、ケモカイン、補体成分、免疫系アクセサリー及び接着分子、及びヒト又は非ヒト動物に特異的なそれらのレセプターがある。有用な例は、これに限定するものではないが、G M - C S F、E L - 2、I L - 1 2、O X 4 0 、O X 4 0 L (g p 3 4 )、リンフォタクチン、C D 4 0 、及びC D 4 0 L がある。さらなる有用な例は、これに限定するものではないが、インターロイキン(例えばインターロイキン1 ~ 1 5 )、インターフェロン(アルファ、ベータ又はガンマ)、腫

10

20

30

40

50

傷壞死因子、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、マクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF)、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、ケモカイン (例えば好中球活性化タンパク質 (NAP) など)、マクロファージ走化活性化因子 (MCAF)、RANTES、マクロファージ炎症性ペプチド (MIP-1a 及び MIP-1b)、補体成分及びそれらのレセプター、又はアクセサリー分子 (B7.1、B7.2、TRAP、ICAM-1, 2 若しくは 3、及びサイトカインレセプター) がある。OX40 及び OX40 リガンド (gp34) は、免疫調整タンパク質のさらなる有用な例である。本明細書中で説明される前記グルカンと協力して、免疫応答を増大、促進、又は抑制若しくは抑止する任意の化合物が、本発明の組成物内に含まれ得る、又は本発明の方法に従って使用される、及びそれらの実施形態と見なされることを理解されたい。

10

#### 【0190】

他の実施形態では、本発明は、 - グルカンと、アジュvant、抗原及び免疫調節化合物のうちの少なくとも 1 つ又はそれらの組み合わせとを組み合わせた使用、或いはそれらを含有する組成物を提供する。他の実施形態では、本発明は、複数のソースから得ることができる - グルカンと、アジュvant、抗原及び免疫調節化合物のうちの少なくとも 2 つ以上又はそれらの組み合わせとを組み合わせた使用、或いはそれらを含有する組成物を提供する。本発明の様々な実施形態では、前記 - グルカンは本明細書中で説明される任意の - グルカンであり得る。

#### 【0191】

一旦製剤化した後、本発明の組成物は、対象に直接的に投与することができる。一部の実施形態では、治療される対象は動物であり、例えば家畜を含む。一部の実施形態では、治療される対象はヒトである。一部の実施形態では、男性及び / 又は女性を、本発明の組成物及び / 又は方法に従って治療することができる。一部の実施形態では、治療される対象は子供及び / 又は 10 代の若者、及び / 又は大人である。

20

#### 【0192】

本発明の一態様では、好中球は、 - 1, 6 - グルカンへ曝したときに、熱ショックタンパク (HSP) 発現を誘導する。一部の実施形態では、 - 1, 6 - グルカンへの曝露を増やすと、HSP 発現、及び下方免疫調節が増加する。

#### 【0193】

- 1, 3 - グルカンではなく - 1, 6 - グルカンで被覆されたミクロスフェアは、HSP 発現、ROS 生成などの誘導において最も効果的である。

30

#### 【0194】

HSP は、抗原提示細胞の MHC クラス I 及び II 上に存在し得るペプチドと既に結合されている。ある実施形態では、組成物中の - 1, 6 - グルカンを認識した後、及び / 又は本発明の方法に従って、グルカンが投与された対象の好中球又は対象の細胞と接触した好中球は、HSP を発現して他の免疫細胞に対して信号を送り、抗原提示細胞上の他の抗原を提示する。

#### 【0195】

ある実施形態では、本発明は、対象における免疫応答を調節する方法であって、O-アセチル化基について富化された - 1, 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法、又は本明細書中で説明された前記方法の任意の実施形態を提供する。他の実施形態では、本発明は、対象における免疫応答を調節する方法であって、固体支持体と結合した - 1, 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法、又は本明細書中で説明された前記方法の任意の実施形態を提供する。他の実施形態では、本発明は、対象における免疫応答を調節する方法であって、 - 1, 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含む方法、本明細書中で説明された前記方法の任意の実施形態を提供する。ある実施形態では、前記組成物内の グルカンは、その他の グルカンと比較すると、少なくとも約 35 ~ 99 重量 % の、他の実施形態では約 45 ~ 99 重量 % の、他の実施形態では約 55 ~ 99 重量 % の、他の実施形態では約 65 ~ 99 重量 % の、他の実施形態では約 75 ~ 99 重量 % の、他の実施形態では

40

50

約 85 ~ 99 重量 % の、他の実施形態では約 90 ~ 99 重量 % の - 1 , 6 - グルカンを含む。ある実施形態では、「約」という用語は、前記不一致が 100 % を超える値となることを文脈が示す場合を除き、1 ~ 10 %、又は他の実施形態では 5 ~ 15 %、又は他の実施形態では最大 10 % の、又は他の実施形態では最大 25 % の表示値との不一致を意味する。

#### 【 0196 】

本発明のこの態様によれば及びある実施形態では、免疫応答の調節は、免疫応答の促進を含み、ある実施形態では、免疫応答は抗原特異的応答である。前記組成物は、ある実施形態では免疫促進化合物を、又は他の実施形態では化学療法化合物をさらに含む。他の実施形態では、前記免疫応答は、感染性病原体、癌、前癌病変又はそれらの組み合わせに対するものであり、これについては、- 1 , 6 - グルカンを含有する組成物又は - 1 , 6 - グルカンの投与が有用である。本発明のこの態様によれば、ある実施形態では追加的な薬剤が投与され得る、又は他の実施形態ではこの態様に従って使用される組成物はこれについて有用な追加的な薬剤を含有し得る。

#### 【 0197 】

本発明のこの態様のある実施形態では、前記追加的な薬剤は、抗炎症剤を含む。抗炎症剤としては、例えば、ベタメタゾン、プレドニゾロン、ピロキシカム、アスピリン、フルルビプロフェン及び( + ) - N - { 4 - [ 3 - ( 4 - フルオロフェノキシ ) フェノキシ ] - 2 - シクロペンテン - 1 - y 1 } - N - ヒドロキシウレア；抗ウイルス剤（例えば、アシクロビル、ネルフィナビル、又はビラゾール）；抗生物質（例えば、アンピシリン及びペニシリン G 又はペニシリンファミリーに属するもの、セファロスポリン、アミノグリコシド、マクロライド、カルバペネム及びペネム、単環性 ラクタム、ラクタマーゼの阻害剤、テトラサイクリン、ポリペプチド系抗生物質、クロラムフェニコール、及び誘導体、フシジン酸、リンコマイシン、ノボビオシン、スペクチノマイシン、ポリエーテル系イオノフォア、キノロン）；抗感染薬（例えば、塩化ベンザルコニウム又はクロルヘキシジン）；ダブソーン、クロラムフェニコール、ネオマイシン、セファクロル、セファドロキシル、セファレキシン、セフラジンエリスロマイシン、クリンダマイシン、リンコマイシン、アモキシシリン、アンピシリン、バカンピシリン、カルベニシリン、ジクロキサシリソ、シクラシリン、ピクロキサシリソ、ヘタシリン、メチシリン、ナフシリン、オキサシリソ、ペニシリン（ペニシリン G 及びペニシリン V を含む）、チカルシリンリファンピン及びテトラサイクリン；抗炎症薬（例えば、ジフルニサル、イブプロフェン、インドメタシン、メクロフェナム酸、メフェナム酸、ナプロキセン、オキシフェンブタゾン、フェニルブタゾン、ピロキシカム、スリンダク、トルメチン、アスピリン及びサリチル酸塩）；抗真菌剤（例えば、アムホテリシン B、グルカン合成阻害剤、例えば、カスボファンギン、ミカファンギン、又はアニデュラファンギン（LY 303366）、エコナゾール、テルコナゾール、フルコナゾール、ポリコナゾール又はグリセオフルビン）；抗原虫薬（例えば、メトロニダゾール）；イミダゾール型抗新生物薬（例えば、ツブラゾール）；駆虫薬（例えば、チアベンダゾール又はオクスフェンダゾール）；抗ヒスタミン剤（例えば、アステミゾール、レボカバスチン、セチリジン又はシンナリジン）；充血除去剤（例えば、偽エフェドリン）；抗精神病薬（例えば、フルスピリレン、ベンフルリドール、リスペリドン又はジプラシドン）；抗腫瘍薬（例えば、白金化合物（例えば、スピロプラスチン、シスプラチニン及びカルボプラチニン）、メトトレキサート、フルオロウラシル、アドリアマイシン、マイトマイシン、アンサマイシン、ブレオマイシン、シトシンアラビノシド、アラビノシルアデニン、メルカブトポリリシン、ビンクリスチン、ブスルファン、クロラムブシル、メルファラン（例えば、PAM、L - PAM 又はフェニルアラニンマスター）、メルカブトプリン、ミトタン、塩酸プロカルバジンダクチノマイシン（アクチノマイシン D）、塩酸ダウノルビシン、塩酸ドキソルビシンパクリタキセル及び他のタキサン、ラパマイシン、マニュマイシン A、TNP - 470、ブリカマイシン（ミトラマイシン）、アミノグルテチミド、エストラムスチンリン酸ナトリウム、フルタミド、酢酸ロイブロリド、酢酸メゲストロール、クエン酸タモキシフェン、テストラクトン、トリロスタン

10

20

30

40

50

、アムサクリン (m - A M S A) 、アスパラギナーゼ (L - アスパラギナーゼ) エルヴィニアスパラギナーゼ、インターフェロン - 2 a、インターフェロン 2 b、テニポシド (V M - 2 6 ) 、硫酸ビンプラスチン (V L B) 、硫酸ビンクリスチン、硫酸ブレオマイシン、ヒドロキシウレア、プロカルバジン、及びダカルバジン) ; 分裂抑制剤 (例えば、エトポシド、コルヒチン、及びビンカアルカロイド) ; 放射性医薬品 (例えば、放射性ヨウ素及びリン生成物、或いはそれらの任意の組み合わせ) などがある。

#### 【 0 1 9 8 】

ある実施形態では、免疫応答の調節は、免疫応答の促進を含む。ある実施形態では、前記免疫応答は、抗原特異的応答である。本発明のこの態様によれば、前記組成物は、ある実施形態では免疫促進化合物を、又は他の実施形態では化学療法化合物をさらに含む。他の実施形態では、前記免疫応答は、感染性病原体、癌、前癌病変又はそれらの組み合わせ、或いは本明細書中で説明されるような任意の実施形態に対するものである。

10

#### 【 0 1 9 9 】

一部の実施形態では、本発明の組成物及び / 又は方法は、本明細書中に説明されたような前記 - グルカンを含有する組成物を経口又は非経口投与することにより、個体 (動物又はヒト) の免疫系の刺激に適用され有用である。一部の実施形態では、そのような組成物及び / 又は方法は、例えば、負傷した、免疫障害を有する又はタンパク質栄養不良の個体若しくは患者の免疫応答を増強するのに効果的である。免疫障害を有する個体は、一部の実施形態では、感染性病原体 (ウイルス、細菌、真菌及び原生動物) に対する通常の細胞若しくはホルモン防御を備える能力が弱まった又は減少した者を意味する。タンパク質栄養不良の個体は、一部の実施形態では、血清アルブミン値が約 3 . 2 g / d l 未満の、及び / 又は意図的でない体重減少が健常時の体重の 10 % を超える者を意味する。

20

#### 【 0 2 0 0 】

一部の実施形態では、本発明の組成物及び / 又は方法は、緊急外科手術、負傷、疾患、放射線療法、化学療法、又は免疫系に有害な影響を与える他の状態に起因して感染する危険性の高い動物又はヒトを治療的又は予防的に治療するのに使用される。一部の実施形態では、本発明の組成物及び / 又は方法は、例えば H I V 感染症 (A I D S) などの正常な免疫応答の減少又は低下を引き起こす疾患又は障害を有する対象、又は免疫抑制治療を受けている対象 (例えば、移植候補の対象、又は移植を受けた対象、自己免疫疾患を患っている対象) を治療するのに使用される。一部の実施形態では、本発明の組成物及び / 又は方法は、化学療法又は放射線治療を受けている対象、又は、疾患、障害又は治療により感染に対する身体の正常な応答を駆動する能力が低下したことに起因して二次感染症又は手術後合併症が発症する危険性が高い対象における免疫応答を事前に開始するのに使用される。

30

#### 【 0 2 0 1 】

他の実施形態では、前記免疫応答の調節は、前記免疫応答の下方制御又は抑制を含む。この態様によれば及びある実施形態では、前記組成物は、免疫抑制剤をさらに含む。前記免疫応答は、ある実施形態では自己抗原、又は他の実施形態ではアレルゲン、又は他の実施形態では移植された組織、又は他の実施形態では移植された細胞に対するものである。

#### 【 0 2 0 2 】

40

ある実施形態では、特定の抗原に対する免疫応答は、例えば免疫応答は対象に侵入した病原体からの抗原を対象にするので、最初はホストに対して有効であり得る。ある実施形態では、そのような免疫応答は、非常に強固なもので有り得るが、病原体が根絶又は制御された後でさえも免疫応答は持続されるため、例えば最初に病原体に感染した組織内に組織壊死を引き起こすことにより、ホストにダメージをもたらす。このような又は他の状況においては、本発明の組成物及び / 又は方法は、免疫応答の持続により何らかの方法でホストが損傷しないように、免疫応答を下方制御するのに有用であり得る。

#### 【 0 2 0 3 】

他の実施形態では、免疫応答の下方制御が望まれる疾患は、宿主対移植片病である。組織及び器官 (例えば、皮膚、腎臓、肝臓、心臓、肺、脾臓及び骨髄) を対象に移植する外

50

技術の効率の向上についての主な未解決の問題は、レシピエントが備える免疫応答が、同種移植片又は器官に対して拒絶反応を示すことが多いことである。同種異系細胞又は器官がホストに移植された場合（すなわち、ドナー及びレシピエント）が、同一種の別の固体である場合）、ホストの免疫系は、移植組織における異種抗原の免疫応答を備えている可能性が高く（宿主対移植片病）、移植組織の破壊をもたらす。したがって、本発明の組成物及び／又は方法は、ある実施形態では、移植された組織又は器官の拒絶反応を防止するのに使用され得る。

#### 【0204】

他の実施形態では、免疫応答の下方制御が望まれる疾患は、移植片対宿主疾患（GVHD）である。GVHDは、免疫適格細胞が同種異形レシピエントに移植されたときに、致死的になる可能性のある疾患である。この状況では、ドナーの免疫担当細胞が、レシピエント内の組織を攻撃する。皮膚組織、内臓上皮及び肝臓が標的となることが多く、GVHDの過程中に破壊され得る。この疾患は、免疫組織が移植された場合（例えば脊髄移植の場合）、問題を特に解決するが、GVHDの場合や、心臓及び肝臓移植の場合は、解決しないことが報告されている。本発明の前記組成物及び／又は方法は、ある実施形態では、そのような疾患を予防又は改善するために使用され得る。

#### 【0205】

他の実施形態では、下方制御が望まれる免疫応答は、任意の自己免疫応答である。本発明のこの態様では及びある実施形態では、前記方法は、本明細書中で説明される組成物を自己免疫応答疾患又は障害を患っている対象に投与するステップを含む。

#### 【0206】

ある実施形態では、「自己免疫疾患」という用語は、対象における自己免疫応答の存在を意味する。ある実施形態では、「自己免疫応答」という用語は、自己抗原に対する抗原免疫応答を意味する。ある実施形態では、前記自己免疫疾患は、関節リウマチ、多発性硬化症、糖尿病、重症筋無力症、悪性貧血、アジソン病、紅斑性狼瘡、ライター症候群、アトピー性皮膚炎、乾癬、又はグレーブス病である。

#### 【0207】

本発明のこの態様では及び一部の実施形態では、本発明の前記組成物は、免疫抑制剤をさらに含有する。一部の実施形態では、本発明の方法は、免疫抑制剤の同時投与又はその後の投与を利用し得る。

#### 【0208】

ある実施形態では、前記自己免疫疾患又は障害は、好中球の過剰な活性、浸潤、脱顆粒などと関係がある。ある実施形態では、前記疾患は、皮膚に影響を及ぼす疾患である。この態様では及びある実施形態では、本明細書中で説明される前記グルカン、組成物、結合体、粒子、ミセルなどは、皮膚に直接的に塗布される。

#### 【0209】

ある実施形態では、前記組成物は、ステロイドをさらに含む。一部の実施形態では、そのような組成物は、免疫応答の下方制御又は抑制に有用であり、免疫応答の下方制御について本明細書中に説明された任意の実施形態に応用される。

#### 【0210】

ある実施形態では、「ステロイド」という用語は、自然発生的なステロイド及びその誘導体、並びに、ステロイド様活性を有する合成若しくは準合成されたステロイド類似体を意味する。ある実施形態では、ステロイドは、グルココルチコイド又はコルチコステロイドである。タンパク質、そのようなステロイドの多くは、シクロペンタノフェナントレンに基づいた縮環コア構造を有する。特定の天然及び合成ステロイドの例は、これに限定するものではないが、アルドステロン、ベクロメタゾン、ベタメタゾン、ブデソニド、クロプレドノール、コルチゾン、コルチバゾール、デオキシコルトン、デソニド、デソキシメタゾン、デキサメタゾン、ジフルオロコルトロン、フルクロロロン、フルメタゾン、フルニソリド、フルオシノロン、フルオシノニド、フルオコルチンブチル、フルオロコルチゾン、フルオロコルトロン、フルオロメトロン、フルランドレノロン、フルチカゾン、ハル

10

20

30

40

50

シノニド、ヒドロコルチゾン、イコメタゾン、メプレドニゾン、25メチルプレドニゾロン、パラメタゾン、プレドニゾロン、プレドニゾン、チキソコルトーやトリアムシノロン、或いはそれらの薬学的に許容される塩又は誘導体などがある。そのようなステロイドの組み合わせもまた、本発明に従って使用し得ることを理解されたい。

【0211】

一部の実施形態では、そのような組成物は、免疫応答を促進又は増強するのに有用であり、免疫応答を促進又は増強するために本明細書中で説明される任意の実施形態において応用される。ある実施形態では、前記ステロイドは、アンドロゲン又はアンドロゲン受容体アゴニストである。

【0212】

他の実施形態では、前記組成物は、-1,6-グルカン分岐を有する-1,3-グルカン(-1,3/1,6グルカン、又は1,6分岐-1,3グルカンとも呼ばれる)を含有し、-1,6-グルカン分岐の少なくともいくつかはO-アセチル化基について富化されている。他の実施形態では、本発明は、(i)O-アセチル化基について富化された-1,6-グルカン、及び(ii)1,6分岐-1,3グルカンを含有し組成物を提供する。他の実施形態では、前記組成物は、-1,3-グルカンを実質的に含まない。特定の実施形態では、前記組成物は、75重量%未満、又は50重量%未満、又は25重量%未満、又は10重量%未満、又は5重量%未満、又は1重量%未満、又は0重量%未満の-1,3-グルカンを含有する。特定の実施形態では、前記組成物内のグルカン全体の0重量%未満、又は25重量%未満、又は10重量%未満、又は5重量%未満、又は1重量%未満、又は0重量%未満が、-1,3-グルカンである。

10

【0213】

本発明の組成物及び/又は方法による免疫応答の下方制御は、本発明の一部及びその実施形態と見なされることを理解されたい。

【0214】

ある実施形態では、本発明の組成物及び/又は方法は、抑制的作用を仲介する物質の分泌を促進及び/又は増強する。ある実施形態では、本発明の組成物及び/又は方法は、直接的な細胞接触を必要とすることなく、バイスタンダー抑制を仲介する。ある実施形態では、抑制を仲介する物質は、IL-10、TGF-、又はそれらの組み合わせを含む、本発明のT抑制細胞集団から分泌される。

30

【0215】

他の実施形態では、免疫応答の調整は、免疫応答に参加する細胞種類、免疫応答中に產生された細胞生成物、及び/又は前記応答の総合特性の変更を含み、例えば、Th1型応答からTh2型応答への変更又はその逆を含む。ある実施形態では、本発明の組成物及び/又は方法は、対象に対して「Th1」型応答が有効である場合に、「Th2」型応答が発生している疾患において「Th1」型応答を誘発する。

【0216】

ある実施形態では、「Th2型応答」という用語は、ロバストな抗体応答の発生を支援する適応的免疫応答の一部としてTヘルパー細胞によって誘発されるサイトカイン発現のパターンを意味する。典型的なTh2型応答は、例えば、患者における蠕虫感染において有効である。典型的なTh2型応答は、例えば、インターロイキン4又はインターロイキン10の產生により認識される。

40

【0217】

他の実施形態では、「Th1型応答」という用語は、ロバストな細胞性免疫反応の発生を支援する適応的免疫応答の一部としてTヘルパー細胞によって誘発されるサイトカイン発現のパターンを意味する典型的なTh1型応答は、例えば、患者における細胞内感染において有効である。典型的なTh1型応答は、例えば、インターロイキン2又はインターフェロンの產生により認識される。

【0218】

他の実施形態では、本発明の組成物及び/又は方法は、Th2型応答がより多くの有益

50

な結果を対象に与える場合に、T h 1型応答が発現するように前記応答を調節するのに有用であり、本発明の組成物及び／又は方法はより有益なサイトカイン特性へのシフトを提供する。一例は、ハンセン病の場合であり、本発明の組成物及び／又は方法は、T h 1サイトカインシフトを促進し、T h 2型応答に関連する疾患の重症型がより高い癩腫瘍ではなく、結核型らしいをもたらす。

#### 【0219】

他の実施形態では、本発明は、細胞（例えば抗原提示細胞）内での熱ショックタンパク質の発現を誘導する方法であって、O-アセチル化基について富化された - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を前記細胞（抗原提示細胞）に接触させるステップを含む方法を提供する。

10

#### 【0220】

他の実施形態では、本発明は、細胞（例えば抗原提示細胞）内での熱ショックタンパク質の発現を誘導する方法であって、固体支持体に結合した - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を前記細胞に接触させるステップを含む方法を提供する。

#### 【0221】

本明細書中に例示されるように、 - 1 , 3 - グルカンを含有する組成物ではなく、 - 1 , 6 - グルカンを含有する粒子の貪食は、熱ショックタンパク質（HSP）発現の誘導を促進する。

#### 【0222】

ある実施形態では、前記細胞は好中球である。他の実施形態では、前記抗原提示細胞は、樹枝状細胞又はマクロファージである。

20

#### 【0223】

本発明のこの態様によれば、及びある実施形態では、本発明は、細胞（例えば、抗原提示細胞や好中球など）内での熱ショックタンパク質の発現を誘導する方法であって、 - 1 , 6 - グルカンを含有し、少なくとも 5 % の前記グルカン分子における前記グルコース単位の少なくとも 25 % がO-アセチル化基について富化されている組成物を、前記細胞（抗原提示細胞、好中球）に接触させるステップを含む方法を提供する。

#### 【0224】

他の実施形態では、本発明は、抗原提示を促進又は増強させる方法であって、 - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を、抗原提示細胞に接触させるステップを含み、前記接触により抗原提示細胞による抗原提示を促進又は誘導する方法を提供する。

30

#### 【0225】

ある実施形態では、食細胞は、 - 1 , 6 - グルカンを取り込むと細胞自然死（アポトーシス）を遂げる。本発明のこの態様では及び／又はある実施形態では、本発明は細胞のアポトーシスを推進又は促進する方法であって、 - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を細胞に接触させるステップを含み、前記組成物が前記細胞内で少なくとも 1 つの熱ショックタンパク質の発現を誘導し、それにより前記細胞をアポトーシスさせるようにした方法を提供する。本発明のこの態様では及び／又はある実施形態では、前記細胞は、感染症又は自己免疫疾患有する患者に由来し、前記細胞のアポトーシスを促進することにより、前記対象に治療効果を提供する。

40

#### 【0226】

一部の実施形態では、本発明は、マクロファージ応答性を調節する方法であって、O-アセチル化グルカンについて富化された - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物と接触させた好中球を、マクロファージに接触させるステップを含む方法を提供する。

#### 【0227】

他の実施形態では、本発明は、対象における免疫応答を調節する方法であって、ターゲティング部分と物理的に結合した - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含み、前記ターゲティング部分は食細胞と特異的に相互作用する又は食細胞を引き寄せるようにした方法を提供する。

#### 【0228】

50

ある実施形態では、前記免疫応答の調節は免疫応答の促進を含み、ある実施形態では、前記免疫応答は抗原特異的応答である。ある実施形態では、前記組成物は、免疫促進化合物をさらに含む。他の実施形態では、前記組成物は、化学療法化合物をさらに含む。ある実施形態では、前記免疫応答は、感染性病原体、癌、前癌病変又はそれらの組み合わせに対するものである。他の実施形態では、前記免疫応答は、補体依存性である。

#### 【0229】

ある実施形態では、本発明は、対象における感染症を治療する、感染症の進行を遅延させる、又は感染症の発生率若しくは重症度を低減させる方法であって、ターゲティング部分と物理的に結合した - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を前記対象に投与するステップを含み、前記ターゲティング部分が食細胞と特異的に相互作用する又は食細胞を引き寄せるようにした方法を提供する。ある実施形態では、前記組成物は、アジュバント、抗原、ペプチド、免疫促進化合物、化学療法剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む。ある実施形態では、前記抗原又はペプチドは、感染源から得られる。ある実施形態では、前記免疫促進化合物は、サイトカインである。他の実施形態では、前記化学療法化合物は、抗生物質又は抗ウイルス性化合物である。

10

#### 【0230】

ある実施形態では、本発明は、細胞内の熱ショックタンパク質の発現を促進又は増強する方法であって、ターゲティング部分と物理的に結合した - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物を前記細胞に接触させるステップを含み、前記ターゲティング部分が食細胞と特異的に相互作用する又は食細胞を引き寄せるようにした方法を提供する。

20

#### 【0231】

一部の実施形態では、本発明の方法は、一部の実施形態では好中球に加えて、又は一部の実施形態では好中球の代わりに、免疫系細胞の様々な細胞（例えば、マクロファージや樹枝状細胞など）の活性を高める働きをする。

#### 【0232】

一部の実施形態では、本発明の方法は、標的化された細胞又は物質に対して細胞傷害性を促進する一般的な方法としての役割を果し、細胞傷害反応が所望される細胞又は物質を標的とするリガンドを使用して、一部の実施形態では標的化された細胞又は物質に対して細胞傷害効果を促進する本発明のグルカンと結合させる。

30

#### 【0233】

一部の実施形態では、本明細書で説明される前記グルカン、前記グルカン及びターゲティング部分と物理的に結合した - 1 , 6 - グルカンを含有する組成物、及び前記グルカンを含有する組成物は、対象の補体仲介性溶解を向上させる働きをし得る。一部の実施形態では、そのような向上、食細胞応答、例えば好中球又はマクロファージの増大、又は他のプロフェッショナル抗原提示細胞の貪食及び細胞傷害応答と関係する。一部の実施形態では、そのような向上は、例えば、膜攻撃複合体形成及び／又は活性により増大する食細胞との関与とは独立的である。

#### 【0234】

一部の実施形態では、本発明は、対象における癌を治療する、癌の進行を遅延させる、癌の寛容を延長する、又は癌の発生率若しくは重症度を低減させる方法であって、本発明のグルカン、組成物、結合体、ミセル、製剤又は粒子を前記対象における細胞に接触させるステップを含む方法を提供する。

40

#### 【0235】

ある実施形態では、本発明は、免疫細胞（例えば好中球などの先天性免疫応答を有する細胞）の動員を促進する化合物を含有する組成物及び結合体を包含すると理解されたい。そのような化合物は、本明細書中では、とりわけ、ターゲティング部分と呼ばれ、前記ターゲティング部分は、免疫細胞活性、免疫応答、所望の標的に対する細胞傷害性を促進し、一部の実施形態では、例えば前記グルカンと結合した抗体又は断片によって特異的に決定されることにより、所望の部分を介して特異的に標的化される。

#### 【0236】

50

一部の実施形態では、本発明は、本明細書中で説明される、及び当業者には容易に理解される、特定の用途に適合する所望の特異性を有する抗体を含有する結合体及び組成物を含む。一部の実施形態では、本明細書中で説明されるそのような結合体及び組成物／製剤は、とりわけ、当該技術分野で公知の補体結合性化合物を含有する。一部の実施形態では、本明細書中で説明されるそのような結合体及び組成物／製剤は、コブラ毒要素以外の補体結合性化合物を含有する。一部の実施形態では、本明細書中で説明されるそのような結合体及び組成物／製剤は、デキストラン以外の多糖を含有する。一部の実施形態では、本明細書中で説明される結合体及び組成物／製剤は、任意のグルカン、とりわけ、アセチル化された - 1 , 6 - グルカン、 - 1 , 6 - グルカン、 - 1 , 3 - グルカンと - 1 , 6 - グルカンとの混合物、 - 1 , 3 - グルカン、 - 1 , 3 - グルカンと - 1 , 4 - グルカンとの混合物、 - 1 , 4 - グルカン、アセチル化されたグルカン及び／又はその他の修飾を含む任意のグルカンを含み得る。一部の実施形態では、本明細書中で説明される結合体及び組成物／製剤は、例えば、組換え手法により、細菌、酵母、哺乳類細胞内に合成された - グルカンなどの遺伝子操作された形態の任意のグルカンを含み得る。

#### 【 0 2 3 7 】

一部の実施形態では、本明細書中で説明される結合体及び組成物／製剤は、カンジダ・アルビカанс及び他の真菌感染に対する免疫を対象に付与するのために適用される。

#### 【 0 2 3 8 】

上述した任意の実施形態では、前記接触は、対象における体外又は体内のどちらでも行うことができる。ある実施形態では、細胞（例えば、抗原提示細胞）、一部の実施形態では好中球、マクロファージ、又は樹枝状細胞が対象から取り出され、前記組成物と接触させられ、その後、対象に投与される。ある実施形態では、前記細胞は前記組成物と、熱ショックタンパク質の発現を誘導するのに十分な時間で接触させられる。ある実施形態では、前記細胞は前記組成物と、活性酸素種の生成を誘導するのに十分な時間で接触させられる。ある実施形態では、前記対象は、前記細胞の投与前に、免疫抑制療法を受ける。例えば、対象が、臓器移植又は他の目的（例えば、癌、白血病、リンパ腫若しくは様々な種類の腫瘍に対する化学療法若しくは放射線治療）のために免疫抑制療法を必要とする場合があるが、そのような治療は個体の免疫障害を生じさせる傾向がある。本発明のある実施形態では、免疫抑制療法を施す前に、前記対象から免疫系細胞が取り出される。前記細胞（一部の実施形態では好中球、他の実施形態では例えばプロフェッショナル抗原提示細胞、マクロファージ又は樹枝状細胞などの他の免疫系細胞）は、体外で本発明の組成物と接触させられ、その後、前記対象が免疫抑制療法を受けた後の適切な時期に前記対象の体内に戻される。前記適切な時期は、例えば前記治療が施された又は前記治療の細胞傷害効果が減少した後における、前記対象が感染症の症状又は兆候を示す危険性があるときであり得る。

#### 【 0 2 3 9 】

本発明の方法及び／又は組成物により免疫応答に影響を与える又は免疫応答を調節することによる疾患の予防及び／又は疾患の改善及び／又は疾患の進行遅延は、本発明の一部と見なされることを理解されたい。

#### 【 0 2 4 0 】

一部の実施形態では、「接触」又は「投与」なる用語は両方とも、示された物質に対して直接的及び間接的に曝すことを指す。

#### 【 0 2 4 1 】

一部の実施形態では、本発明の組成物及び／又は方法は、細胞、組織又は有機体へ投与するための殺菌されていない又は殺菌された担体（例えば、個体への投与に適した医薬担体）を含む又は使用する。そのような担体としては、これに限定するものではないが、例えば、生理食塩水、緩衝食塩水、デキストロース、水、グリセロール、及びそれらの組み合わせなどがある。前記製剤は、投与形態に適したものを使用すべきである。

#### 【 0 2 4 2 】

本発明の組成物又はグルカンは、例えば血管内、筋肉内、鼻腔内、皮下、口内、直腸内

10

20

30

30

40

50

、腔内に、任意の効果的で便利な方法により、或いは、グルカン／組成物を組織に送達できる他の方法（例えばニードル又はカテーテル）により投与される。また、上皮に插入する場合は、局所投与が望ましい。他の投与方法としては、吸引やエアロゾル製剤を用いた方法がある。ある実施形態では、前記グルカンは、（例えば被覆層の成分として）前記グルカンを含むインプラント又は他の医療用若しくは外科用器具を対象の体内へ埋め込む又は導入することにより投与される。

【0243】

ある実施形態では、本発明は、O-アセチル化基について富化された - 1 , 6 - グルカンを含有する食品サプリメントを提供する。ある実施形態では、本発明は、O-アセチル化基について富化された - 1 , 6 - グルカンを含有する食品製品を提供する。他の実施形態では、本発明は、O-アセチル化基について富化された - 1 , 6 - グルカンを含有する化粧品組成物を提供する。

【0244】

一部の実施形態では、食品又は食品製品は、実質的に毒性がなく、有機体により代謝されてエネルギーを与える及び組織を作成する任意の物質である。一部の実施形態では、食品又は食品製品は、動物（例えばヒト）に摂取されるための栄養価値を有する製品を意味する。一部の実施形態では、食品又は食品製品は、米国食品医薬品局（F D A）により食品又は食品製品として規定された製品を意味する。一部の実施形態では、食品又は食品製品は、その製品が食品又は食品製品であることを示す標識を有する容器にパッケージ化された製品である。一部の実施形態では、食品又は食品製品は、その製品に関する栄養情報（例えば、カロリー、脂肪、タンパク質の量、又は1つ以上のビタミン又はミネラルの他の成分）が記された標識を有する容器にパッケージ化された製品である。一部の実施形態では、食品サプリメント（「栄養補助食品」とも呼ばれる）は、食品又は食品製品に添加される任意の物質である。一部の実施形態では、食品サプリメントは、本発明のグルカンに加えて、1つ以上の必須栄養素（例えば、ビタミン、ミネラル及びタンパク質）を含む。一部の実施形態では、食品サプリメントは、食事に対する栄養補助食品としての摂取を目的とした任意の製品であり、本発明のグルカンに加えて、1つ以上のビタミン、ミネラル、ハーブ、直物及び他の植物由来物質；アミノ酸；及びそれらの物質の濃縮物、代謝生成物、構成物質及び抽出物を含み得る。一部の実施形態では、前記食品、食品製品、食品サプリメント、又は化粧品組成物は、疾患を診断、治癒、緩和、治療又は予防することを意図していない。一部の実施形態では、前記食品サプリメントは、例えば米国の現行の法律及び／又はF D Aのガイドラインに従ってその内容物が食品又は栄養補助食品であることが標示された容器又は他の包装材料内に収容される。一部の実施形態では、前記食品サプリメント又は食品製品は、前記グルカンを約0.01～30w/w%含み、ビタミン、オリゴ糖、栄養成分、タンパク質、又はそれらの組み合わせをさらに含み得る。

【0245】

一部の実施形態では、前記成分の割合は、一定ではない。他の実施形態では、前記割合は、100w/w%あたり、約0.01～30w/w%の範囲であり得る。本発明の前記グルカンを含む食品の例は、様々な食品、飲料、ガム、複合ビタミン剤、健康増進食品などがある。

【0246】

前記成分は、1つ以上の有機酸（例えば、クエン酸、フマル酸、アジピン酸、乳酸、リノゴ酸）、リン酸塩（例えば、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム、酸性ピロリン酸、ポリリン酸塩）、天然の抗酸化剤（例えば、ポリフェノール、カテキン、アルファ・トコフェロール、ローズマリー抽出物、ビタミンC、甘草抽出物、キトサン、タンニン酸、フィチン酸など）をさらに含み得る。

【0247】

一部の実施形態では、化粧用又はパーソナルケア組成物は、身体の少なくとも一部（例えば、髪、爪、皮膚など）の外見を向上又は改善する組成物である。ある実施形態では、前記組成物は、身体を美しくする。ある実施形態では、前記組成物は、外見をより若々し

10

20

30

40

50

くする。ある実施形態では、身体の少なくとも一部（例えば、髪、爪、皮膚など）の外見を向上又は改善する目的で又は外見をより若々しくする目的で、対象に塗布又は送達された任意の組成物は、化粧品と見なされる。一部の実施形態では、本発明の前記化粧用又はパーソナルケア組成物は、皮膚軟化剤、保湿剤、無痛化薬、紫外線 A 及び B 遮断剤、レチノイド、着色剤、又は芳香剤を含み得る。一部の実施形態では、前記化粧用又はパーソナルケア組成物は、本発明のグルカンに加えて、当該技術分野において外見に有益な効果を提供するのに有用と認められる任意の他の成分をさらに含む。一部の実施形態では、前記化粧用又はパーソナルケア組成物は、化粧用としての使用目的がラベル表示された、及び／又は外見用としてのみの使用目的がラベル表示された容器に収容される。

## 【0248】

10

一部の実施形態では、前記化粧用又はパーソナルケア組成物は、活性成分を例えば 0.0001 ~ 50% w / w（例えば 0.075 ~ 20% w / w（0.6% w / w、0.7% w / w … というように 0.1% w / w 単位で、活性成分を、0.1 ~ 20%、多くの場合は 0.2 ~ 15%、最も多くの場合は 0.5 ~ 10% の範囲で含む））の量で含有する局所的な軟膏、ローション、ゲル又はクリームとして製剤化される。一部の実施形態では、軟膏に製剤化される場合、前記活性成分は、パラフィン系軟膏基剤又は水混和性の軟膏基剤と共に使用される。一部の実施形態では、前記活性成分は、水中油型クリーム基剤と共にクリームに製剤化される。

## 【0249】

20

一部の実施形態では、前記クリーム基剤の水相は、例えば、少なくとも 30 w / w % の多価アルコールを含み得る。多価アルコールは、2 つ以上の水酸基を有するアルコールであり、多価アルコールとしては、例えば、プロピレン・グリコール、ブタン 1,3-ジオール、マンニトール、ソルビトール、グリセロール、ポリエチレングリコール（PEG 400 を含む）、及びそれらの組み合わせなどがある。一部の実施形態では、局所製剤は、前記活性成分の皮膚又は他の患部への吸収又は浸透を向上させる化合物を含み得る。そのような皮膚透過促進剤の例としては、ジメチルスルホキシド及び関連類似体がある。

## 【0250】

30

一部の実施形態では、本発明の組成物は、利尿剤及び／又は乳化安定剤を使用し得、そのようなものとしては、例えば、トゥイーン 60（Tween 60）（登録商標）、スパン 80（Span 80）（登録商標）、セトステアリルアルコール、ベンジルアルコール、ミリスチルアルコール、モノステアリン酸グリセリン、及び／又はラウリル硫酸ナトリウムなどがある。

## 【0251】

40

一部の実施形態では、製剤のための油又は脂肪の適切な選択は、所望の化粧品性質に基づいて行われる。クリームは、一般的に、ベタベタしない、着色しない、水で洗い流せる製品であり、チューブ又は他の容器からの漏出を避けるために適切な固体性（consistency）を有する。ジイソアジピン酸エステル、ステアリン酸イソセチル、ココナツ脂肪酸のプロピレングリコールジエステル、ミリスチン酸イソプロピル、オレイン酸デシル、パルミチン酸イソプロピル、ステアリン酸ブチル、パルミチン酸 2-エチルヘキシル又はクロダモル（Crodamol）CAP と称される分岐エステルの混合物などの直鎖又は分岐鎖の一塩基又は二塩基のアルキルエステルを用いることができる。これらは、必要とされる性質に応じて、単独でまたは組み合わせて用いることができる。一部の実施形態では、白色軟パラフィン及び／又は液体パラフィン又はその他の鉱油などの高融点脂質を用いることができる。

## 【0252】

50

一部の実施形態では、前記組成物は、点眼薬として用いるために製剤化される。前記活性成分は、適切な賦形剤（例えば、少なくとも 1 つ以上の pH 値が中性に近い（例えば約 pH 6 ~ 8）電荷を含む水性媒体）内に溶解または懸濁される。一部の実施形態では、前記活性成分は前記組成物内に、約 0.5 ~ 20% w / w、典型的には約 1 ~ 10% w / w、多くの場合は約 2 ~ 5% w / w の濃度で存在する。

## 【0253】

一部の実施形態では、本発明の組成物は、口への局所投与用に製剤化される。そのようなものとしては、例えばショ糖及びアカシア若しくはトラガカントなどの風味付けされた基剤中に活性化合物を含むトローチ剤；例えばゼラチン及びグリセリン、又はショ糖及びアカシアなどの不活性基剤中に活性化合物を含む芳香錠；又は適切な液体賦形剤中に活性化合物を含む洗口剤、或いは、当業者には理解されるであろうその他のものがある。

## 【0254】

直腸投与用の製剤は、例えばカカオバター又はサリチル酸塩などを含む適切な基剤を有する坐剤として提供することができる。

## 【0255】

肺内又は経鼻投与に適した製剤は、例えば、0.01～500ミクロン範囲の粒径（平均粒径が、0.01～500ミクロンであり、1ミクロン又はその他（例えば0.05、0.1、0.5、1、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、6、7、8、9、10、20、25、30、35、50、75、100など）で増加する）を有し、鼻道を通っての急速な吸入によって、又は肺胞囊に届くような口を通っての吸入によって投与される。適切な微粉化製剤は、前記活性成分の水性又は油性溶液又は懸濁液がある。エアロゾル、乾燥粉末又はタブレットでの投与に適した製剤は、従来の方法に従って作成され、他の治療物質（例えば、本明細書中で説明される、ウイルス又は他の感染症の治療又は予防に従来使用されている化合物など）と共に送達される。そのような組成物は、例えば、経口、非経口（血管内、筋肉内、皮下）、局所的、又は口腔経路で投与される。本発明のこの態様によれば及びある実施形態では、前記組成物に含有される

- 1 , 6 - グルカンは、本明細書中で説明されるようにO-アセチル化グルカンとなるように富化される、本明細書中で説明されるように粒子又はビーズと結合する、又はその両方が行われる。

## 【0256】

腔内投与に好適な製剤は、前記活性成分に加えて、当該技術分野で適切であることが知られている賦形剤などを含むペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、泡又はスプレー製剤噴霧剤製剤として提供することができる。

## 【0257】

非経口投与に好適な製剤としては、酸化防止剤、緩衝剤、静菌剤、及び製剤を所定のレシピエントの血液と等張にする溶質を含み得る水性及び非水性の無菌注射液；並びに懸濁剤及び増粘剤を含み得る水性及び非水性の無菌注射液がある。

## 【0258】

前記製剤は、例えばアンプル及びバイアルなどの単位用量若しくは多用量密封容器に入れて提供することができ、使用直前に例えば注射用水などの無菌液体賦形剤を加えるだけでよい冷凍乾燥（凍結乾燥）条件で保存することができる。即席の注射溶液及び懸濁液は、無菌の粉剤、粒剤及び錠剤から調製することができる。単位用量製剤は、活性成分の、本明細書中で説明されるような、一日量又は単位、分割日量（daily sub-dose）、又は適切な画分を含有するものである。

## 【0259】

ある実施形態では、本発明の前記 - グルカンは、本明細書中で説明されるいずれの形態でも、対象における体重に対して0.1～約50mg/kgの用量で対象に投与される。ある実施形態では、本発明の前記 - グルカンは、当業者には理解されるように、任意に投薬計画に従って、様々な一日当たりの投与回数、投与間隔（これらは、対象における治療過程の一部として調整される）によって投与される。

## 【0260】

上記した具体的な成分に加えて、本発明の組成物は、当該技術分野で一般的な他の物質又は賦形剤を含むことができる。前記賦形剤等は組成物の種類を考慮して選択され、例えば、経口投与に適したものとしては、香味剤が含まれ得る。

## 【0261】

10

20

30

40

50

本発明の精神及び範囲を逸脱することなく、本発明の組成物、使用及び製剤の様々な改変及び変更が可能であることを、当業者であれば理解できるであろう。

【0262】

哺乳類、特にヒトに投与する際は、医療の場合は、医師又は資格のある医療提供者が、治療対象の年齢、体重及び応答に応じて、治療対象に最も適切だと考えられる投与量及び治療期間を決定することが期待される。

処方箋が不要な（例えは市販）の薬剤、食品、食品製品、食品サプリメント、化粧品、パーソナルケア組成物の場合は、随意的にラベルの使用ガイダンスを参考にして又は適切な医療提供者又は他のアドバイザーからの助言に従って、前記量はユーザーが自由に決めることができる。

10

【0263】

例

【0264】

材料及び方法

【0265】

食細胞

【0266】

MIT（マサチューセッツ工科大学）のCOUHES（Committee on Use of Humans as Experimental Subjects）に承認されたプロトコルに準拠して健康な献血者から採取したヒトの新鮮血から好中球及び単球を文献に記載されている如く単離した（Rubin-Bejera no, L, et al, Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. 100(19): p. 11007-12）。

20

【0267】

カンジダの調製

【0268】

カンジダ菌株は、よく使われる実験用菌株CAF2-1（Ca）であった。文献に記載されている如く（Sherman, 上記参照）、標準培地（YPD）上でカンジダを成長させた。全ての実験において、一晩培養した培養物を用いた（約 $3 \times 10^8$ 細胞/m1）。その理由は、カンジダ・アルビカンス集団は中対数期よりも同質（>99%の酵母型細胞を含む）であることが分かったからである。

30

【0269】

好中球がどのように真菌を認識するかを検査するために、かつ培地又は好中球による真菌の何らかの変更或いは真菌による好中球の処置を回避するために、細胞を殺すが真菌細胞壁構造を変えないようなUVによって真菌を不活性化した（Wheeler, R.T. and G.R. Fink, PLoS Pathog, 2006. 2(4): p. e35）。

【0270】

カンジダのオプソニン化

【0271】

10人の健康な献血者から新鮮なヒト血清のプールを生成し、全ての実験に用いた。ダルベッコリン酸緩衝塩（塩化カルシウム不含、塩化マグネシウム不含）（ギブコ社製）で希釈した50%血清中で37℃で15分間攪拌機上で真菌細胞を予めオプソニン化した。その後、細胞を氷上で5分間インキュベートし、同じ緩衝液で希釈した0.04mg/mlのプロテアーゼ阻害剤AEBSF（シグマ社製）で2回洗浄し、その後、AEBSFなしの同じ緩衝液で2回洗浄した。真菌細胞を数え直した。

40

【0272】

カンジダとの食細胞のコインキュベーション

【0273】

好中球又は単球をカンジダ・アルビカンス細胞と1:5（食細胞：標的）の比で混合した。食細胞を、オプソニン化した真菌と共に、又は単独で、37℃で2時間、RPMI1640中で培養し、-80℃でTRI試薬（MRC）中で凍結させた。

【0274】

50

## マイクロアレイ手順

## 【0275】

RNAを沈殿させるために4で一晩イソプロパノールとブレインキュベートしたことを除いてTRI試薬プロトコルに従って全RNAを調製した。第1及び第2鎖合成、インビトロ転写、ハイブリダイゼーション及びスキャニングを上記の如く行った(Rubin-Bejerano, I., et al, Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. 100(19): p. 11007-12)。マイクロアレイは、ジーンチップ・ヒトゲノムU133A 2.0アッセイ(GeneChip Human Genome U133A 2.0 array)(アフィメトリクス社製)であった。

## 【0276】

## マイクロアレイ分析

10

## 【0277】

データ集合を正規化して20に切り下げる。カンジダで培養した好中球からの発現を好中球単独対照からの発現で除した比を計算した。誘導された遺伝子及び抑制された遺伝子を、所与の実験に対する平均±2(標準偏差)より大きな発現比を有する遺伝子として定義した。2つの実験用デュプリケートにおいて一貫して誘導又は抑制された遺伝子のみを、誘導又は抑制された遺伝子と考えた。

## 【0278】

## カンジダを取り込む好中球のリアルタイムPCR( RT - PCR )

## 【0279】

RNAを沈殿させるために4で一晩イソプロパノールとブレインキュベートしたことを除いてTRI試薬プロトコルに従って全RNAを調製した。大容量cDNAアーカイブキット(High Capacity cDNA Archive Kit)(アプライドバイオシステムズ社製)を用いてcDNAを作成した。タックマン(登録商標)遺伝子発現アッセイ(Gene Expression Assay)(アプライドバイオシステムズ社製)及び7500リアルタイムPCRシステム(アプライドバイオシステムズ社製)を用いて製造業者のプロトコルに従い定量RT-PCRを行った。次のタックマン(登録商標)遺伝子発現アッセイを用いた: ACTB(Hs99999903\_m1)、DNAJB1(Hs00428680\_m1)、HSPCB(Hs00607336\_gH)、HSPH1(Hs00198379\_m1)、CXCL2(Hs00236966\_m1)及びCCL3(Hs00234142\_m1)。或る実験条件において培養した食細胞からの発現を食細胞単独対照からの発現で除した比として発光量比(Fold induction)を計算した。

20

## 【0280】

## 炭水化物

## 【0281】

ラミナリン(シグマ社製)は純粋な-1,3-グルカン試料であり、ブスツラン(カルビオケム社製)は純粋な-1,6-グルカン試料である。デキストラン(フルカ社製)は-1,6-グルカンである。オオムギ(シグマ社製)由来のグルカンは、-1,3-グルカン(30%)及び-1,4-グルカン(70%)からなる。文献に記載されている如くブスツランを処理した(Lindberg, B. and J. McPherson, Acta Chem. Scand., 1954. 8: p. 985-988.)。適応があれば、エンド-1,6-グルカナーゼを用いてブスツランを特異的に消化した(Lora, J. M., De la Cruz, J., Llobell, A., Benitez, T. and Pintor-Toro, J. A. Mol Gen Genet. 1995. 247: p. 639-45.)。酵素は、ニック・ゼケルル(Nick Zecherle)博士(バイオマリン・ファーマシューティカル社)の好意により譲り受けた。反応生成物をゲルろ過クロマトグラフィー及び薄層クロマトグラフィーによって分析した。

30

## 【0282】

## ゲルろ過クロマトグラフィー

## 【0283】

BioGel P6カラム(1.5×120cm,バイオ・ラッド社製,200~400メッシュ)にブスツラン(20mg)を添加した。カラムを0.1M酢酸で平衡化し、

40

50

15 ml/h の一定流速で送液し、1.5 ml の分画を回収し、フェノール硫酸法により炭水化物を測定した。酢酸を完全除去するためにピークを含む分画を2回乾燥させ、10 ~ 20 mg/ml で水中で懸濁した。チトクローム C を排除体積のマーカーとして用い、グルコースを含有体積 (inclusion volume) のマーカーとして用いた。

## 【0284】

薄層クロマトグラフィー (TLC)

## 【0285】

20 cm 長のシリカゲル 60 プレート (メルク社製, 0.25 mm) 上にサンプル (5  $\mu$ l) を2度展開した。溶媒系は、n-ブタノール / エタノール / 水 (5:3:2) であった。フェノール - 硫酸を吹き付けた後でプレートを 80 °C で加熱することによってサンプル及び標準物質を視覚化した。プツランの部分的酸加水分解物から標準ゲンチオオリゴ糖を調製し、文献に記載されている如く Biogel P4 クロマトグラフィーによって単離した (Magnelli, P., Cipollo, J. F., and Abeijon, C. (2002). Anal Biochem 301, 136-150.)。

## 【0286】

プツランの O - 脱アセチル化

## 【0287】

プツラン (3 ml, 15 mg/ml) を 0.1 M の NaOH に調整し、37 °C で 1 時間インキュベートし、水に対して透析した。

## 【0288】

グルカンでコーティングされたミクロスフェアの調製

## 【0289】

ポリビーズ (Polybead) ポリスチレンの 6.0 ミクロンのミクロスフェア (ポリサイエンス社製) を文献に記載されている如く多糖でコーティングした (Schlesinger, L.S., S.R. Hull, and T.M. Kaufman, J Immunol, 1994, 152(8): p. 4070-9)。プツランは室温で凝固する傾向にある。

## 【0290】

プツランを熱湯中で可溶化し、ビーズに塗布する前に室温まで冷ました。フェノール硫酸法によってミクロスフェアコーティングを検出し、炭水化物を測定した (Dubois, M., et al, Anal. Biochem., 1956, 28: p. 350-356)。特に明記しない限り、分析には 1 ml 当たり 6 ~ 15  $\mu$ g グルコースを有するビーズ ( $2 \times 10^8$  個のビーズ) のみを採り入れた (表 1 を参照)。短い多糖は、この方法によってビーズを効率的にコーティングしないことが分かった。さらに、この方法によって、アセチル化グルカンはアセチル化されていないグルカンよりも良好にビーズをコーティングした。アセチル化されていないときには、同じレベルのコーティングを達成するためにより多くのグルカンをビーズに添加した。

## 【0291】

ビーズのオプソニン化

## 【0292】

カンジダに関して上記した如くビーズをオプソニン化した。

## 【0293】

ビーズとの好中球のコインキュベーション

## 【0294】

カンジダに関して上記した如くビーズを好中球とコインキュベートした。

## 【0295】

ビーズを取り込む好中球のリアルタイム PCR

## 【0296】

カンジダに関して上記した如く RT - PCR を行った。未処理ビーズで培養した好中球に対する炭水化物でコーティングされたビーズで培養した好中球からの発現の比として発光量比を計算した。

10

20

30

40

50

## 【0297】

活性酸素種 (ROS) 生成アッセイ

## 【0298】

## 【表1】

Pus 投入量 (グルコースμg)	Pus コーティング (グルコースμg/ml)	PMN 発現 ( 発光量比 )			10
		DNAJB1	HSPCB	HSPH1	
14,400	37.3	5.2	4.7	8.3	
10,800	19.6	4.6	4.9	10.3	
7,200	9.0	7.6	7.2	21.0	
3,600	9.2	2.8	2.4	3.9	
1,800	6.6	3.3	3.0	4.9	
900	6.6	3.3	2.8	5.9	

## 【0299】

酸化されると蛍光性になるD H R 1 2 3 ( モレキュラープローブス社製 ) を用いて、ROS の生成をアッセイした。5 × 10<sup>6</sup> 個の好中球を、1 ml の体積中に 1 : 5 の比で、示したビーズと共に 37℃ で 1 時間培養した。1 μl の D H R 1 2 3 ( D - 2 3 8 0 6 ) を 200 μl の培養液に添加した。室温で 30 分間培養した後、細胞を蛍光励起細胞分取 ( F A C S ) によってアッセイした。

## 【0300】

血清タンパク質結合性 - 1 , 6 - グルカンの同定

## 【0301】

ビーズを等量の - 1 , 3 - グルカン及び - 1 , 6 - グルカンでコーティングし、上記した如くオプソニン化した。ビーズを 2 % S D S 1 M 水酸化アンモニウム緩衝液中で懸濁し、37℃ で 1 時間インキュベートした。上清を 4 ~ 20 % アクリルアミド S D S ゲル上に置いた。このゲルを銀色の染色剤で染色し、質量分析による分析のためにバンドを切り取った。

## 【0302】

C 3 のウエスタン分析

## 【0303】

C 3 のウエスタン分析。C 3 b の 鎮又は 鎮に対するモノクローナル抗体 ( R D I リサーチ・ダイアグノスティックス社製 ) を用いて C 3 沈着をアッセイした。

## 【0304】

死滅アッセイ ( Killing assay )

## 【0305】

前述のように X T T を用いてカンジダ・アルビカンスの生存度を判定した ( Meshulam, T. , Levitz, S. M. , Christin, L. , and Diamond, R. D. (1995) . J Infect Dis 172, 11 53-1156 ) 。

## 【0306】

プレインキュベーション実験

## 【0307】

血清を等量の可溶性ラミナリン又はプスツランで 37℃ で 5 分間プレインキュベートした。その後、血清を用いて、プスツランでコーティングされたビーズを上記した如くオプソニン化した。

## 【0308】

C R 3 阻止 A b

## 【0309】

オプソニン化されたプスツランでコーティングされたビーズを添加する前に、好中球を抗ヒト M a c - 1 又はアイソタイプ対照 I g G ( ベンダーメッドシステムズ社 ( Bender Med Systems ) 製 ) で氷上で 30 分間プレインキュベートした。

20

30

40

50

## 【0310】

例1

## 【0311】

- 1 , 6 - グルカンは好中球を刺激する

## 【0312】

カンジダ菌株 C A F 2 - 1 を用いて真菌に対する好中球の反応を分析した。マイクロアレイ実験は、カンジダを貪食する好中球が、 I L - 8 受容体リガンド C X C L 2 及び C C L 3 などのサイトカイン及びケモカインと共に、熱ショックタンパク質 ( H S P ) ( 1 0 k D a の H S P E 1 、 4 0 k D a の D N A J B 1 D N A J B 9 、 7 0 k D a の H S P A 1 A 及び H S P A 9 B 、 9 0 k D a の H S P C A 及び H S P C B 、 1 0 5 / 1 1 0 k D a の H S P H 1 ) ( 表 2 ) を発現することを示した。

## 【0313】

【表2】

No.	アフィメリクス プローブ・セット名	遺伝子	発現1	発現2	
1	208744_x_at	HSPH1	4.3	4.9	
1	206976_s_at	HSPH1	7.2	9.6	
2	205133_s_at	HSPE1	2	9.7	
3	200064_at	HSPCB	3	6.7	
3	214359_s_at	HSPCB	3.1	7.1	20
4	211969_at	HSPCA	2.7	5.7	
4	210211_s_at	HSPCA	3	5.2	
4	211968_s_at	HSPCA	3.6	7.2	
5	200690_at	HSPA9B	2.8	3.1	
6	202581_at	HSPA1A	10.8	12	
7	202842_s_at	DNAJB9	6.8	6.6	
7	202843_at	DNAJB9	9.1	9.7	
8	200666_s_at	DNAJB1	5.8	10.1	
8	200664_s_at	DNAJB1	5.9	11.2	

30

## 【0314】

好中球による H S P の発現を定量 R T - P C R によって実証した ( 図 1 A ) 。

## 【0315】

カンジダを最初に加熱してその下にある グルカンをアンマスキングしたら、 H S P の誘導がより多かった ( 図 1 B ) が、このことは、 H S P の発現が露出 グルカンに比例することを示唆している。

## 【0316】

この誘導に関与したのはどのグルカン成分であったかをアッセイするために、好中球に様々なグルカン高分子を提供した。可溶型のグルカンは、好中球において低レベルの H S P のみを誘発した ( 図 1 E ) 。

40

## 【0317】

好中球は粒子材料に最もよく反応するので、幾つかの グルカン源を 6 ミクロンのポリスチレンビーズに接合した。6 ミクロンのポリスチレンビーズは、カンジダ・アルビカンス酵母型細胞 ( 5  $\mu$  ) と大きさが似ている。過去の研究においてスタンダードとして用いられてきた - 1 , 3 - グルカン及び - 1 , 6 - グルカンの非真菌性源 ( 図 1 D ) ( Brown, G. D. et al. Nature 413, 36-7; Palma, A. S. et al. J Biol Chem 281, 5771-9 ) のみならず、カンジダ細胞壁から精製した - 1 , 3 - グルカン及び - 1 , 6 - グルカンも用いた。

## 【0318】

カンジダ・アルビカンス由来のプスツラン即ち - 1 , 6 - グルカンでコーティングさ

50

れたビーズは、好中球において高レベルのHSPを誘発した（図1C、図1D）のに対して、カンジダ・アルビカンス由来のラミナリン即ち - 1, 3 - グルカンでコーティングされたビーズは、ビーズの効率的なコーティングにもかかわらず、HSPの最小発現を誘発した（図1C、図1D）。 - 1, 3 - グルカン（30%）及び - 1, 4 - グルカン（70%）から成るオオムギ由来の グルカンも、HSP発現を誘発しなかった（図1E）。 - 1, 6 - グルカン（デキストラン）でコーティングされたビーズはいかなる反応も誘発しなかったが（図1E）、このことは、好中球の反応が 構造に特異的であることを示唆している。プスツランでコーティングされたビーズは、加熱不活性化した（H1）血清でオプソニン化されたとき、HSPを誘発しなかったので、HSPの誘発には非耐熱性血清成分が必要であった（図1D）。アセチル化された - 1, 6 - グルカンは、アセチル化されていない - 1, 6 - グルカンより高レベルのHSPを誘発した（図1Dを図1Cと、及び図2Fと比較）。 - 1, 6 - グルカンは、 - 1, 3 - グルカンより大きな刺激能を有していた（図1C、図1D）。

## 【0319】

例2

## 【0320】

プスツランによるHSPの誘発は、 - 1, 6 - グルカン及びO - アセチル化された - 1, 6 - グルカンに起因する。

## 【0321】

プスツランによる誘発が - 1, 6 - グルカンに起因することを確認するために、プスツランを - 1, 6 - グルカン結合に特異的なエンドグルカナーゼで消化した（Lora, J. M. et al. Mol Gen Genet 247, 639-45）。

## 【0322】

消化産物は、HSPの誘発を ~ 80% 低減した（図2A）。P6サイズのカラムによるプスツランの消化産物の分析（「方法」を参照）は、TLCによって判定されるような二糖及び三糖（G2 ~ G3, レーン2を3と比較している, 図2D）から成る小さな産物の大きなピークを明らかにした（図2はBをCと比較している）。G2 ~ G3分画中のこれらの短い高分子は、ビーズを効率的にコーティングしなかった。

## 【0323】

プスツランの大部分を構成する - 1, 6 - グルカナーゼによる予期された消化産物に加えて、出発物質の4 ~ 5%に相当するような酵素に耐性を示す小さなピーク（図2C, V0と表す）があった。このピークにある物質は、抗グルカン抗体によって認識され、好中球におけるHSPの発現を誘発した。酵素消化に耐性を示す小さなピークが変更された形（例えばアセチル化された形）の高分子であったか否かを判定するために、産物を脱アセチル化した。

## 【0324】

分別前のプスツランの脱アセチル化は、この微量成分を実質的に消滅させ（図2E）、この残渣がHSPを誘発できないようにした（図2F）。これらの実験は、プスツランが、少量のO - アセチル化または別 の方法でO - 修飾した - 1, 6 - グルカンを含む - 1, 6 - グルコースの重合体であることを示している。エンド - - 1, 6 - グルカナーゼで消化したプスツランによるHSPの残りの誘導は、酵素に耐性を示しかつビーズを効率的にコーティングしたO - アセチル化プスツランに起因すると考えられ得る。

## 【0325】

例3

## 【0326】

- 1, 6 - グルカンは好中球による効率的な食作用（貧食）及び活性酸素種の生成を媒介する

## 【0327】

ポリビーズポリスチレンミクロスフェア（beads）を グルカンでコーティングし、その後オプソニン化した。ラミナリン（図3A, a及びb）又はプスツラン（図3A,

c 及び d ) でコーティングされたビーズの食作用 ( 貧食 ) を経時的顕微鏡検査法により評価した。

【 0 3 2 8 】

ラミナリンは、コーティングされていないビーズよりもインターナリゼーションをより良好に促進するのであるが、好中球を取り込むビーズの蛍光励起細胞分取 ( F A C S ) 分析は、プラスランでコーティングされたビーズはラミナリンでコーティングされたビーズより効率的に内部に取り入れられる ( インターナライズされる ) ことを明らかにした ( 図 3 B , パネル e と c 及び a をそれぞれ比較している ) 。

【 0 3 2 9 】

好中球による病原体の死滅は、活性酸素種 ( R O S ) のバースト次第なので ( Babior, B. M. et al. J Clin Invest 52, 741-4 ) 、 2 つのグルカンのいずれか一方による R O S 誘導を評価した。好中球単独において、或いは処理しなかったビーズを提供された好中球においては、 R O S を検出することができなかった ( 図 3 C , それぞれ赤色及び緑色 ) 。ラミナリン、カンジダ・アルビカヌス由来の - 1 , 3 - グルカン、またはオオムギ由来の グルカンでコーティングされたビーズにより、低レベルの R O S が検出された ( 図 3 C , それぞれ青色、褐色、紫色 ) 。しかし、プラスランでコーティングされたビーズは、かなりの量の R O S の生成を促進した ( 図 3 C , 淡青色 ) 。可溶性プラスランを加えても R O S は検出されなかった ( 図 3 C , ピンク色 ) 。これらのデータは、 - 1 , 6 - グルカンが R O S の大量生産を引き起こすのに対して、 - 1 , 3 - グルカンに対する反応は - 1 , 6 - グルカンに比べてずっと低いことを示している。

【 0 3 3 0 】

同様に、図 1 0 では、 - 1 , 6 - グルカナーゼで消化されたサンプルが低い有効性を示しており、 - 1 , 6 - グルカンは、カンジダ・アルビカヌスの効率的な食作用 ( 貧食 ) 、 R O S の生成及び H S P の発現に必要であることが示されている。

【 0 3 3 1 】

例 4

【 0 3 3 2 】

- 1 , 6 - グルカンでコーティングされたビーズ上の相補体沈着

【 0 3 3 3 】

- 1 , 6 - グルカンでコーティングされたビーズによる食作用 ( 貧食 ) 及び H S P の誘導には血清が必要なので ( 図 1 D ) 、 - 1 , 6 - グルカン又は - 1 , 3 - グルカンでコーティングされたビーズ上に差次的に沈着される血清成分があったか否かを判定することは重要であった。ビーズをラミナリン又はプラスランでコーティングし、オプソニン化した。結合タンパク質をビーズから除去し、 S D S ゲル電気泳動によって分離した。複数の血清タンパク質が - 1 , 3 - グルカン又は - 1 , 6 - グルカンの両方に結合したが、 - 1 , 6 - グルカンにより強く付着する 2 つの顕著なタンパク質があった ( 図 4 A ) 。これらのタンパク質をゲルから抽出し、質量分析によって分析した。これらのバンドからのペプチドは、両タンパク質を C 3 と見なす質量を与えた。このことは、 C 3 のタンパク質分解断片が - 1 , 3 - グルカンよりも - 1 , 6 - グルカン上に強く沈着することを示唆している。

【 0 3 3 4 】

ウエスタン分析は、実際に - 1 , 6 - グルカンにより多くの C 3 が沈着したことを明らかにした ( 図 4 B ) 。鎖に特異的な抗体は、 C 3 d の大きさ ( 31 及び 33 k D a , 図 4 B a ) の低分子二重線のみならず完全な C 3 又は C 3 b の大きさ ( それぞれ 105 及び 115 k D a ) のバンドを含む高分子量バンドを検出した。ラミナリンでコーティングされたビーズは、低レベルのこれらの C 3 断片を有していた ( 図 4 B a ) 。 C 3 鎮に特異的な抗体は、高分子量 C 3 / C 3 b のみを示した ( 図 4 B b ) 。 75 k D a の C 3 b 又は i C 3 b 鎮は検出されなかった ( 図 4 B b ) 。

【 0 3 3 5 】

例 5

10

20

30

40

50

## 【0336】

追加の相補体沈着の研究

## 【0337】

- 1 , 3 - グルカンと比較しての - 1 , 6 - グルカン上の C 3 沈着の差をさらに評価するために、血清を、プスツランでコーティングされたビーズをオプソニン化するために用いる前に、可溶性プスツラン又はラミナリンとプレインキュベートした。血清を可溶性プスツランとプレインキュベートすると、好中球による食作用（貧食）（図 5 A は c と a を比較している）及び ROS 生成（図 5 B は赤色と青色を比較している）がなくなっている。このことは、血清 C 3 が可溶性 - 1 , 6 - グルカンによって滴定されたことを示唆している。等量の可溶性ラミナリンとプレインキュベートした血清は、尚も食作用（貧食）（図 5 A は b と a を比較している）及び ROS 生成（図 5 B は赤色と緑色を比較している）を媒介し、- 1 , 3 - グルカンが、プスツランでコーティングされたビーズとの C 3 の相互作用を効率的に遮断しなかったことを示唆している。10

## 【0338】

ウエスタン分析は、可溶性プスツランとのプレインキュベーションによって、プスツランでコーティングされたビーズ上のほとんどの C 3 / C 3 b 及び C 3 d 沈着がなくなることを明らかにした（図 5 C は 1 と 3 を比較している）。ラミナリンとのプレインキュベーションは低分子量 C 3 d 二重線を消し去ったが、高分子量 C 3 / C 3 b（図 5 C は 2 を 3 と比較している）を保持しており、このことは、残りの C 3 / C 3 b が食作用（貧食）及び ROS の誘導を媒介していたことを示唆している（図 5 A 及び図 5 B）。血清を可溶性プスツランとプレインキュベートすると、カンジダの死滅が減少した（図 5 D）。20

## 【0339】

例 6

## 【0340】

食作用（貧食）における C R 3 の役割

## 【0341】

補体受容体 3 ( C R 3 ) は、ROS 生成のみならず酵母細胞壁から抽出したザイモサン及びオプソニン化された酵母の食作用（貧食）を媒介することが知られているので、C R 3 は、- 1 , 6 - グルカンでコーティングされたビーズの食作用（貧食）を媒介した。抗ヒト C R 3 阻止抗体は、食作用（貧食）（図 6 A は b を a と比較している）及び ROS 生成（図 6 B は赤色を緑色と比較している）の程度を減少させており、このことは、C R 3 が、粒子性 - 1 , 6 - グルカン上に沈着される C 3 b タンパク質分解断片 ( C 3 d ) を認識したことを示唆している。30

## 【0342】

例 7

## 【0343】

- 1 , 6 - グルカンは単球においてケモカインを誘発する

## 【0344】

単球においてケモカインを誘発する際の - 1 , 6 - グルカンの役割を評価するために、ポリビーズポリスチレンミクロスフェア ( b e a d s ) を等量の - 1 , 3 - グルカンラミナリン ( l a m ) 又は - 1 , 6 - グルカンプスツラン ( p u s ) でコーティングした。ビーズを、プールしたヒト血清でオプソニン化した。単球を、5 m g / m l の可溶性 l a m 又は p u s で、或いは上記したビーズで、2 時間培養した。ケモカインの誘導を定量リアルタイム PCR によって判定した。結果を平均し、標準偏差を計算した（図 7）。40

## 【0345】

例 8

## 【0346】

- 1 , 6 - グルカン結合体（コンジュゲート）

## 【0347】

好中球の活性が増強され得るか否かを判定するために、多糖がモノクローナル抗体など

50

の標的薬剤と適切な特異性で物理的に結合することを推進した。

【0348】

そのような状況下で、-1,6-グルカン多糖上の相補体の沈着は、好中球を補充しつつ複合体全体の貪食を増強することが期待される(図8)。相補体を不完全に結合することが特に知られている抗体もある(例えばIgG2及びIgG4)。相補体を活性化するヒトIgG1及びIgG4の分化能力はCH<sub>2</sub>ドメインのCOOH末端配列によって判定され、この技術はこれらの有効性を高めるであろう。

【0349】

多糖と抗体の間の結合は、多糖をタンパク質に結合させるために記述されたプロトコル(例えば、Bystricky S, et al. *Glycoconj J.* 2000 Oct;17 (10):677-80; and Tianhong Chen, et al. *Langmuir* 2003, 19, 9382-9386)を含めて任意の数の手段により達成されることができる。そのような結合の別の手段は、上記したようなアミノ基を含むように多糖の還元末端を修飾するステップを含む(Xia B, et al. *Nat Methods.* 2005 Nov;2(11):845-50; Valdivia A, et al. *J Biotechnol.* 2006 Apr 10;122(3):326-33)。その後、アミノ基を抗体のカルボキシル末端に結合することができよう。

10

【0350】

このような目的で、マンナンをBSAに結合させるための従前のこと(Bystricky S, et al. *Glycoconj J.* 2000 Oct;17 (10):677-80)に従って、ブスツラン(10~20%のOアセチル基を有するような、20kDaの-1,6-グルカン多糖)を抗カンジダ・アルビカンスモノクローナル抗体に結合させた。産物を水に対して透析し、適切なカットオフカラムを用いて100kDaより大きい複合体を単離した(図9A)。100kDaより大きく、かつ抗体の特徴的なバンドと多糖の存在を示すスマートを呈する分画を単離したが、このことは、この2つが同じ分画にあったことを示している。多糖の分子量は20kDaであるので、このことは、多糖と抗体が結び付いていたことを示唆している。

20

【0351】

上記フェノール硫酸法を用いて糖の定量化を達成した(Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F. (1956). *Anal Biochem* 28, 350-356)。100kDaより大きい分画中に多糖が存在することがそれによって確認された。

【0352】

カンジダ・アルビカンスで培養した好中球によるROSの生成に対する修飾抗体の効果の評価を行った。未処理抗体の存在下でカンジダ・アルビカンスで培養した好中球は、低レベルのROSを生成した(図9B)。抗体は多糖に共有結合するが、好中球による高ROS生成を誘発した。未処理抗体を多糖と共有結合することなく混合しても同等効果は得られなかった。このことは、ROS生成を誘発するために多糖は抗体に結合されなければならないことを示している。

30

【0353】

例9

【0354】

-1,6-グルカンによって媒介されるインビボ防御

【0355】

相補体の活性化はインビトロで-1,6-グルカンによって媒介されたので、マウスマodelにおいてそのような防御反応がインビボで誘発されることができるか否かを判定することは重要であった。このような目的で、マウスの血清が相補体を活性化するか否かを先ず判定した(図11)。ブスツラン(-1,6-グルカン)でコーティングされかつマウスの血清でオプソニン化されたビーズは、ラミナリン-1,3-グルカンでコーティングされたビーズに比べて相補体の活性化を示した。カンジダ・アルビカンス細胞(10<sup>6</sup>)を静注し、その後、-1,6-グルカンでコーティングされた10<sup>5</sup>個のビーズ又は未処理ビーズを注入したマウスの生存を評価したところ、処置マウスは未処置マウスに比べて有意に長い生存を示した。

40

【0356】

50

- 1 , 6 - グルカン封入 P L G A ビーズは、活性酸素種の生成を誘発し、マウスを全身性真菌感染症から保護する（図12）。- 1 , 6 - グルカン封入 P L G A ビーズは、- 1 , 3 - グルカン封入 P L G A ビーズに比べてより高レベルの活性酸素種（パネルB）及び著しく高まつた生存（パネルC）を誘発した。

## 【0357】

例 10

## 【0358】

- 1 , 6 - グルカンは免疫グロブリン沈着を媒介した

## 【0359】

相補体の活性化はインビボで - 1 , 6 - グルカンによって媒介されたので、免疫グロブリン沈着が誘発されたか否かを判定することも重要であった。このような目的で、未処理ビーズのみならずプラスチラン（- 1 , 6 - グルカン）及びラミナリン（- 1 , 3 - グルカン）で処理したビーズをオプソニン化し、I g M 及び I g G 沈着を評価した（図13）。

10

## 【0360】

I g G 沈着は、ラミナリン又は未処理ビーズと比較すると、プラスチランで処理したビーズ上で著しく高められて発生した。

## 【0361】

例 11

## 【0362】

20

- 1 , 6 - グルカンを含む P L G A 微粒子の生成の実施形態

## 【0363】

P L G A 及び P L A などの高分子の生分解性高分子微粒子を作るために溶媒蒸発カプセル化法がよく用いられる。その理由は、これらのポリ酸は、生体適合性が高く、好ましい生物分解速度を有するからである。溶媒蒸発カプセル化は、幾つかのステップ及びありふれた変形形態を含む。

1 ) 高分子を水不混和性溶媒に溶解する。

2 ) 薬物を高分子溶液に溶解し、分散又は乳化させる。

3 ) 次に、得られた溶液、分散液またはエマルションを、離散的な液滴を形成する連続的な水相において乳化させる。

30

4 ) 水不混和性溶媒は、水相を通じて拡散し、水と空気の界面で蒸発する。

高分子の沈殿及び薬物の封入を誘導する。

## 【0364】

溶媒は、水と不混和で、かつ薬物に適した溶媒でなければならいか、或いは高分子と薬物の第1のエマルションができるように薬物に適した溶媒である別の溶媒と不混和でなければならいか、或いは高分子溶液中に薬物を分散させる別の方法がなければならない。

## 【0365】

候補溶媒における - 1 , 6 - グルカンの溶解度

## 【0366】

~ 1 0 m g / m L の固体 - 1 , 6 - グルカンを室温で溶媒に加え、溶解の度合いを観察することによって、複数の溶媒マイクロエマルションプロトコルにおいて潜在的に有用な複数の溶媒における - 1 , 6 - グルカンの溶解度を決定した。水不混和性溶媒には、水、D M S O 、メタノール及びエタノールが含まれる。水不混和性溶媒には、アセトン、塩化メチレン及び酢酸エチルが含まれる。- 1 , 6 - グルカンは、D M S O にのみ > 1 0 m g / m L の溶解度を示したが、より低濃度で水に可溶であった。

40

## 【0367】

標準プロトコルによる - 1 , 6 - グルカン封入微粒子の生成

## 【0368】

W / O / W エマルションのための標準プロトコルを用い、内相として水を、油相として塩化メチレンを、外相として水を用いて、- 1 , 6 - グルカンを封入した。先ず D M S

50

Oに - 1 , 6 - グルカンを溶解し、次に水を加えることによって、内水相の濃度を 25 mg / mL にした。得られた粒子（2 % 標識）は、好中球上で検査され、活性を示さなかった。

【 0 3 6 9 】

ナノ沈殿法による - 1 , 6 - グルカン封入ナノ粒子の生成

【 0 3 7 0 】

ナノ沈殿法は、薬物封入高分子ナノ粒子を作るのに有用な簡単な方法である。ナノ沈殿法には、通常、次のステップが含まれる。

1 ) 高分子及び薬物を溶媒に溶解。

2 ) この高分子 / 薬物溶液を強制的に混合しながら非溶媒にゆっくりと加える。非溶媒は溶媒と混合できるべきであるが、高分子及び薬物は非溶媒に可溶であってはならない。 10

【 0 3 7 1 】

- 1 , 6 - グルカン及びPLGAは、DMSOには非常に溶けやすく、水には溶けないので、様々なグルカン / PLGA 比にわたるナノ粒子が可能であるべきである。次の条件で検査した。

【 0 3 7 2 】

【表 3 】

β-1,6-グルカン	PLGA	大きさ (nm)
90%	10%	35,650
80%	20%	124
50%	50%	199
25%	75%	206
10%	90%	194
0%	100%	201

20

【 0 3 7 3 】

80 % 以上の濃度では、もはや - 1 , 6 - グルカン粒子は生じないであろう。得られた粒子は、好中球上で検査され、活性を示さなかった。

【 0 3 7 4 】

30

- 1 , 6 - グルカン・ナノサスペンション - エマルションプロトコルの作成 : 標準W / O / W プロトコルの修正

【 0 3 7 5 】

- 1 , 6 - グルカン・ナノサスペンションの生成

【 0 3 7 6 】

- 1 , 6 - グルカンを室温でジメチルスルホキシドに溶解し ( 50 mg / mL ) 、等量の脱イオン水で希釈した。この混合物を、プローブソニケータでの超音波処理下で、ジクロロメタンに溶かしたPLGA溶液に加えた。

【 0 3 7 7 】

DMSO / 水 / グルカン溶液はPLGA / ジクロロメタン溶液と混合でき、単相を形成した。攪拌下で（超音波処理下ではない）DMSO / 水 / グルカン溶液をジクロロメタンに注入したとき、 - 1 , 6 - グルカンの沈殿が起り、沈殿物は纖維状ゲルを形成した（ナノ沈殿中に）。超音波処理下では、沈殿は、恐らくは第2の外部エマルション中で懸濁したナノサスペンション又はエマルションである混濁した溶液を生成しそうであった。 40

【 0 3 7 8 】

上記で生成したサスペンションを 1 % ポリビニルアルコールの水溶液に加え、均質化して高分子微粒子を生成した。ジクロロメタンの蒸発は、大気条件で 3 時間攪拌中に進行した。

【 0 3 7 9 】

得られた粒子を脱イオン水で 3 回洗浄し、凍結乾燥して乾燥粉末を得た。

50

## 【0380】

例12

## 【0381】

- 1 , 6 - グルカン結合体はモノクローナル抗体の有効性を向上させることができる

## 【0382】

一部のモノクローナル抗体 (mAb) は、標的への親和性は良いが、良好な免疫応答を誘発しない。一部のmAbは、補体結合特性が良ければ有効性も良くなることがある。本発明の一部の実施形態では、- 1 , 6 - グルカンのmAbとの結合が例えばtheir補体依存性細胞障害活性 (CDC) 特性に与える影響の変化に関して、mAbを用いる際の上記制限が扱われている。

10

## 【0383】

- 1 , 6 - グルカン多糖は、例えばメタ過ヨウ素酸ナトリウムによる多糖及び/又は抗体の酸化によって、mAbのFc部分に直接結合される。ビオチン - アビジン / ストレプトアビジンベースの結合のみならずPEGジアミンを含む様々なジアミンリンクアガーチーが検査される。結合体は、標的への特異性を保持し、多糖の補体結合特性を保持しつつ可溶性であることを保証するために、モニタされる。

## 【0384】

結合体は、例えば抗カンジダmAb又は異なるマンナン及びグルカンなどの他の細胞壁構造に対するmAbを含み得、これらが検査される。

## 【0385】

20

- 1 , 6 - グルカンは、標的細胞 (同一Fab領域)への特異性は同じであるが保存領域 (Fc) が異なる (異なる補体結合特性を有する) 一連の同種モノクローナル抗体に結合される。多糖は、IgG2a及びIgG2bに結合され、これらの抗体がインピトロでCDC及び/又はADCを達成する能力を、生細胞によって除かれる染料 (ヨウ化プロピジウムなど) を用いて、或いは、死細胞によって放出される放射性同位体 (例えば、アデニル酸キナーゼなどを検出するトキシライト (ToxiLight) , 51 - クロムなど) によって検査した。

## 【0386】

CDC増加に関して、多糖結合抗体を、それぞれの非結合抗体 (共有結合なしで多糖と混合) 又は同種IgG1と比較する。これらの細胞に対して、結合多糖に関連して強化されたCDCを示す抗体を、モデルにおいてインピトロで検査した。マウスに、標的細胞、続いて非結合抗体、結合抗体又はアイソタイプ対照抗体を注入し、生存をモニタした。

30

## 【0387】

同様に、mAbの有効性増加に関して、FDA承認mAb (アレムツズマブ (キャンパス)、ベバシズマブ (アバスチン)、セツキシマブ (エルビタックス)、ゲムツズマブ (マイロターグ)、イブリツモマブ (ゼバリン)、パニツムマブ (ベクチビックス)、リツキシマブ (リツキサン)、トシツモマブ (ベキサール)、トラスツズマブ (ハーセプチン)、パリビズマブ (シナジス)を含む)への多糖の結合を検査する。検査され得る他のmAbは、防御試験の臨床試験で適切な免疫刺激が足りないことが示されてきたmAbであって、その免疫刺激能力が、本発明のグルカンへの結合によって増強され得るようなmAbを含み得る。

40

## 【0388】

例13

## 【0389】

ガン治療のための - 1 , 6 - グルカン結合体

## 【0390】

乳ガンは、西洋の女性のガンによる死因の第2位であり、30才から70才までの女性の死因の第1位である。最高の死亡率は、所属リンパ節が侵されている患者に限定される。早期発見とそれに続く手術は、良好な予後をもたらす。潜在性リンパ節転移のあった患者では、乳ガンに対するアジュバント化学療法又はホルモン療法は効果があることが証明

50

されているが、それでも多くの患者が転移によって死亡する。

【0391】

乳ガンに関して、いくつもの腫瘍関連抗原が述べられてきた。高分子量糖タンパク質であるMUC-1ムチンは、乳ガンに高度に発現される。BA-46は、ヒトの乳ガンにおいて過剰に発現されるヒト乳脂肪球膜(HMFG)の膜貫通関連糖タンパク質である。抗BA-46放射性結合(radio-conjugated)モノクローナル抗体は、マウスに移植されたヒト乳房腫瘍をターゲティングすることに成功した。

【0392】

乳房腫瘍由来のペプチドを優先的に認識するCTLを誘発する能力に対して、MUC-1及びBA-46由来のペプチドへの-1,6-グルカンの結合が与える影響について

10

調べる。

【0393】

-1,6-グルカン多糖は、MUC-1及びBA-46由来のペプチドに直接結合される。結合体は、標的への特異性を保持し、多糖の補体結合特性を保持しあつ可溶性であることを保証するために、モニタされる。

【0394】

添付の請求項に記載の本発明の範囲及び趣旨から逸脱することなく形態及び詳細の種々の変更がなされ得ることは、当業者に理解されるであろう。当業者は、ルーチンに過ぎない実験を用いて、本明細書に記載の本発明の具体的な実施形態に相当する多くの相当形態を認識するか又は確認することができよう。そのような相当形態は、請求項の範囲に含まれることが意図されている。

20

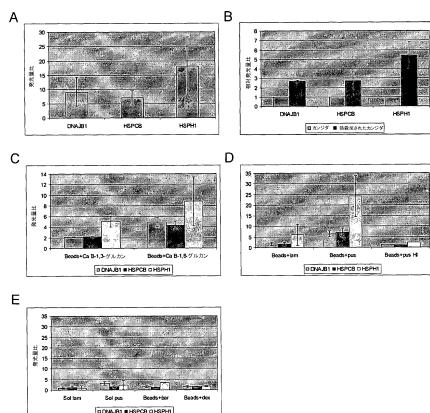
【0395】

請求項において、「或る」、「その」などの冠詞は、反対のことが示されているかさもなければ文脈から明らかである場合を除いて、1若しくは2つ以上を意味する。選択群の要素間に「又は」又は「及び/又は」を含む請求項又は明細書は、反対のことが示されているかさもなければ文脈から明らかである場合を除いて、選択群のうちの1つ、2つ以上又は全ての要素が存在するか、用いられているか、或いはそうでなければ所与の製品又はプロセスに関係があるならば、満足していると考えられる。本発明は、選択群のちょうど1つの要素が存在するか、用いられているか、或いはそうでなければ所与の製品又はプロセスに関係があるような実施形態を含む。本発明はまた、選択群のうちの2つ以上又は全ての要素が存在するか、用いられているか、或いはそうでなければ所与の製品又はプロセスに関係があるような実施形態も含む。さらに、別段の記載がなければ、或いは矛盾又は不一致が生じるであろうことが当業者に明らかになっていなければ、本発明は、種々の実施形態において、特許請求の範囲に記載されている請求項のうちの1つ若しくは複数の請求項からの1若しくは複数の制限、構成要素、文節、記述用語などが同じ引用元請求項に従属する別の請求項に組み込まれているような全ての変形形態、組合せ形態及び置換形態を提供することを理解されたい。構成要素がリストとして、例えばマーカッシュグループ形式または同様のもので提示されている場合には、構成要素の各下位群も開示されており、いかなる構成要素も群から削除されることができるなどを理解されたい。一般的に、本発明又は本発明の態様が特定の構成要素、特徴部分などを含むものと見なされる場合には、本発明の特定の実施形態又は本発明の態様は、そのような構成要素、特徴部分などから構成されるか或いは実質的に構成されることを理解されたい。簡単にするために、これらの実施形態は、本明細書中で正確に引用するとあらゆる場合において具体的に説明されている訳ではない。特定の請求項は便宜上独立形式で提示されているが、本出願人は、従属形式で書かれた任意の独立請求項を、独立請求項及びそのような請求項に従属する他の請求項の構成要素又は制限を含むように書き換える権利を保留し、そのような書き換えられた請求項は、従属形式に書き換えられる前にどのような形式で書かれていようとも(補正あり又は補正なしのいずれか)、全ての点で独立請求項と同等であると考えられるべきである。

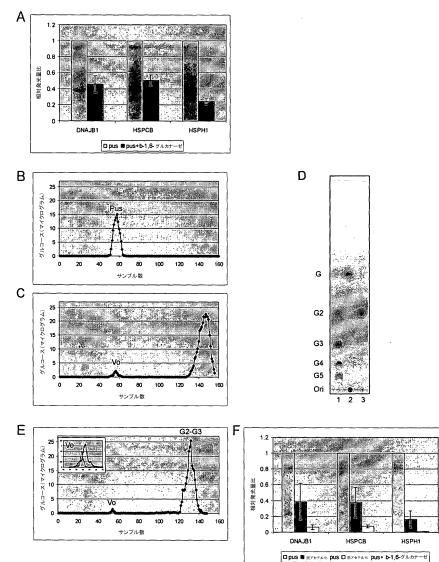
30

40

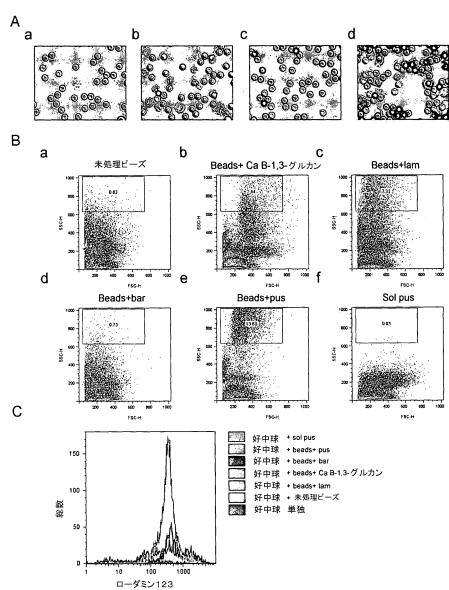
【図1】



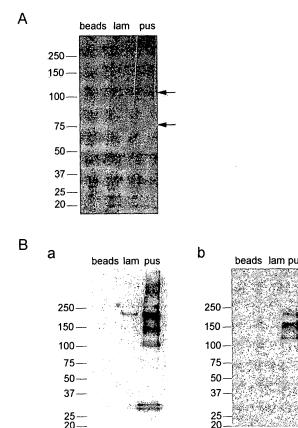
【図2】



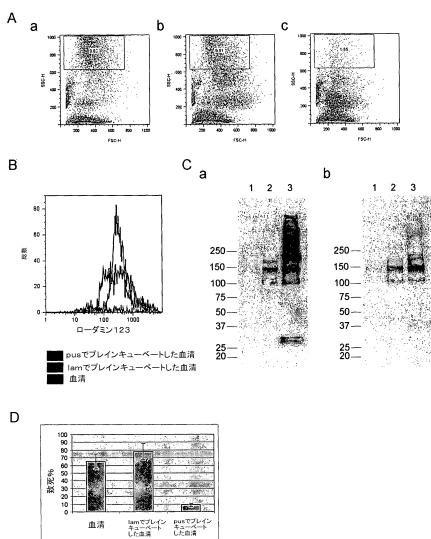
【図3】



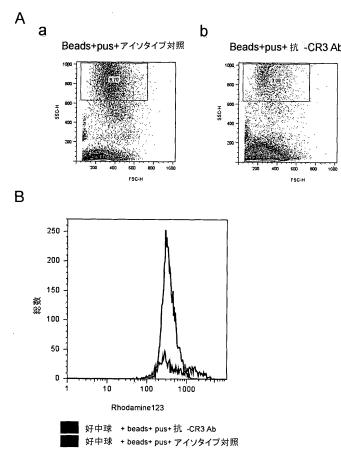
【図4】



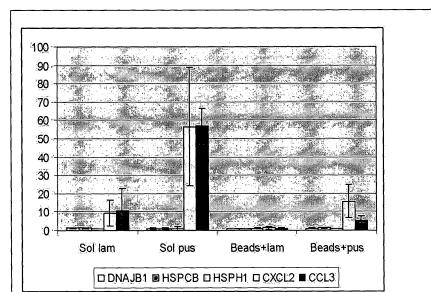
【図5】



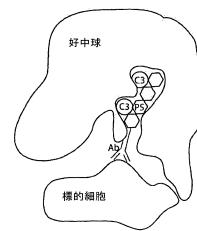
【図6】



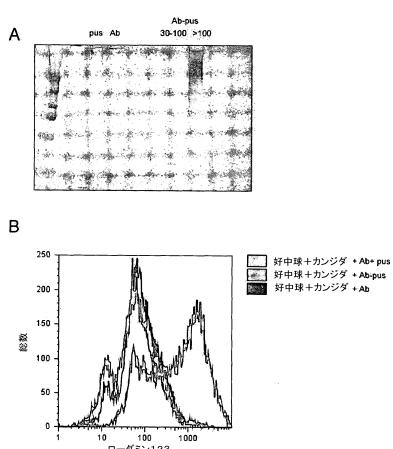
【図7】



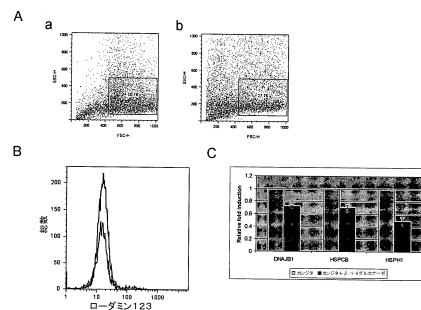
【図8】



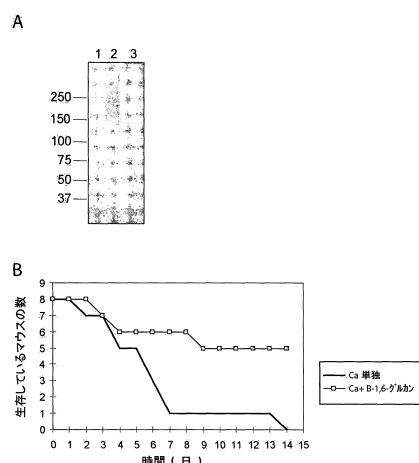
【図9】



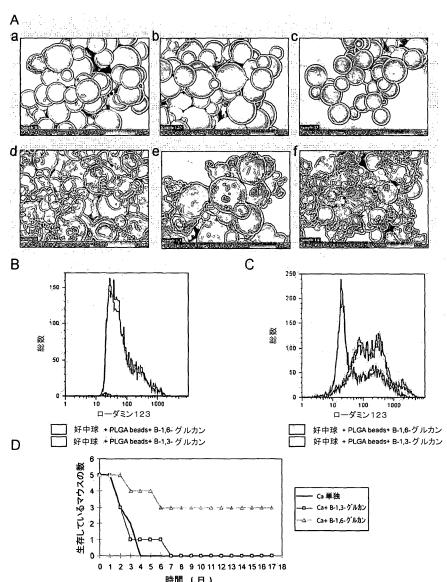
【図10】



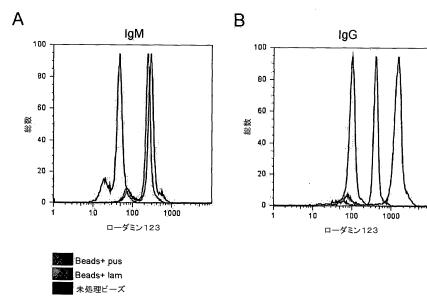
【図11】



【図12】



【図13】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P	31/10	(2006.01) A 6 1 P 31/10
A 6 1 P	31/12	(2006.01) A 6 1 P 31/12
A 6 1 P	33/00	(2006.01) A 6 1 P 33/00
A 6 1 P	35/00	(2006.01) A 6 1 P 35/00
A 6 1 P	37/02	(2006.01) A 6 1 P 37/02

(31)優先権主張番号 60/929,755

(32)優先日 平成19年7月11日(2007.7.11)

(33)優先権主張国 米国(US)

(73)特許権者 301069856

ト拉斯ティーズ オブ ボストン ユニバーシティ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02215, ボストン, ワン シルバー ウェイ

(73)特許権者 592017633

ザ ジェネラル ホスピタル コーポレイション

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ボストン フルーツ ストリート 55

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(72)発明者 ルビン ベジャー アノ、イファット

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02472・ウォータータウン・キンボールロード 18

(72)発明者 フィンク、ジェラード・アール・

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02467・チェストナット ヒル・アストンロード 40

(72)発明者 アベイホン、クラウディア

アメリカ合衆国マサチューセッツ州01605・バーンコート テラス 44

(72)発明者 コハネ、ダニエル・エス・

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02466・ニュートン・レスリー ロード 41

(72)発明者 フラー、ジェイソン

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02115・ボストン・ベーコン ストリート504・アパートメント エー

(72)発明者 ランガー、ロバート

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02459・ニュートン・モントバレー ロード 98

## 合議体

審判長 村上 騎見高

審判官 穴吹 智子

審判官 山本 吾一

(56)参考文献 特表2005-535298(JP, A)

Chem. Pharm. Bull., 1969, Vol. 17, No. 9, P. 1910-1916

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K31/716

A61K45/00

JSTPLUS

JMEDPLUS  
JST7580