

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-526085

(P2005-526085A)

(43) 公表日 平成17年9月2日(2005.9.2)

(51) Int.Cl.⁷

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 39/39

A 6 1 K 39/39

4 C O 8 5

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 33/00

A 6 1 P 33/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/00

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 35 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-575997 (P2003-575997)

(86) (22) 出願日 平成15年3月18日 (2003.3.18)

(85) 翻訳文提出日 平成16年11月8日 (2004.11.8)

(86) 国際出願番号 PCT/EP2003/002878

(87) 国際公開番号 W02003/077944

(87) 国際公開日 平成15年9月25日 (2003.9.25)

(31) 優先権主張番号 0206461.6

(32) 優先日 平成14年3月19日 (2002.3.19)

(33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 397009934

グラクソ グループ リミテッド

GLAXO GROUP LIMITED

イギリス ミドルセックス ユービー6

Oエヌエヌ グリーンフォード パークレ

ー アベニュー グラクソ ウェルカム

ハウス (番地なし)

Glaxo Wellcome Hous

e, Berkeley Avenue G

reenford, Middlesex

UB6 ONN, Great Brita

in

(74) 代理人 100091096

弁理士 平木 祐輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ワクチン接種の改良

(57) 【要約】

本発明は、DNAワクチン接種、特に、疾患症状に対して哺乳動物にワクチンを接種する方法の改良、ならびに予めワクチンを接種した個体に追加免疫を施すための薬剤の製造におけるイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体アジュバントの使用に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

個体へのワクチン接種方法であって、以下のステップ：

(c) 第1ワクチン組成物を個体に1回以上接種すること、ただし、前記ワクチン組成物は抗原を含むが、イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないこと、

(d) 適切な時間の経過後、同一個体に第2ワクチンを1回以上接種すること、ただし、第2ワクチン組成物は第1ワクチンと同一の抗原を含み、かつイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体と共に投与されること、
を含んでなる方法。

【請求項 2】

ステップ(b)の後にステップ(a)を繰り返すことをさらに含む、請求項1に記載のワクチン接種方法。

【請求項 3】

イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含む第2ワクチン組成物が最終回に投与されるワクチンである、請求項1に記載のワクチン接種方法。

【請求項 4】

個体に投与するための追加抗原投与のワクチン医薬品の製造におけるイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体および抗原の使用であって、前記個体が、同一抗原を含むがイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないワクチン医薬品の初回抗原投与を予め受けていることを特徴とする、上記使用。

【請求項 5】

抗原およびイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含むワクチン投与装置であって、同一抗原を含むがイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないワクチンを予め接種した個体にのみ該ワクチン組成物を投与するために前記投与装置を用いることを知らせる取扱説明書と共に包装されている、上記装置。

【請求項 6】

第1ワクチン組成物および第2ワクチン組成物を含むキットであって、第1ワクチン組成物と第2ワクチン組成物は同一抗原を含むが、第2ワクチン組成物がイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含むことを特徴とする、上記キット。

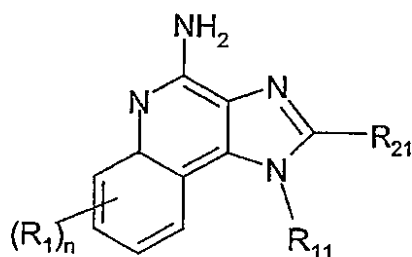
【請求項 7】

抗原とイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を実質的に同時に投与する、請求項1に記載の方法。

【請求項 8】

1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体が以下の式I~VIのうちの1つにより規定される化合物またはその製薬上許容される塩である、請求項1または2に記載の方法。

【化 1】



(I)

[式中、

R₁₁は、直鎖または分岐鎖のアルキル、ヒドロキシアルキル、アシルオキシアルキル、

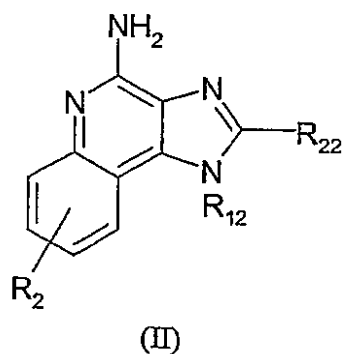
ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基は、1~約4個の炭素原子のアルキル、1~約4個の炭素原子のアルコキシおよびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によってベンゼン環上で置換されている場合にもよく、ただし、該ベンゼン環が2個の前記基で置換されている場合には、これらの基は合わせて6個以下の炭素原子を含み；

R_{21} は、水素、1~約8個の炭素原子のアルキル、ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基は、1~約4個の炭素原子のアルキル、1~約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によってベンゼン環上で置換されている場合にもよく、ただし、該ベンゼン環が2個の前記基で置換されている場合には、これらの基は合わせて6個以下の炭素原子を含み；

10

R_1 は、各々、水素、1~約4個の炭素原子のアルコキシ、ハロゲンおよび1~約4個の炭素原子のアルキルからなる群から独立して選択され、 n は0~2の整数であり、ただし、 n が2である場合、 R_1 基は合わせて6個以下の炭素原子を含む]；

【化2】



20

[式中、

R_{12} は、2~約10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルケニルおよび2~約10個の炭素原子を含む置換された直鎖または分岐鎖アルケニルからなる群から選択され、ここで該置換基は、1~約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖のアルキルおよび3~約6個の炭素原子を含むシクロアルキル、および1~約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルで置換された3~約6個の炭素原子を含むシクロアルキルからなる群から選択され；

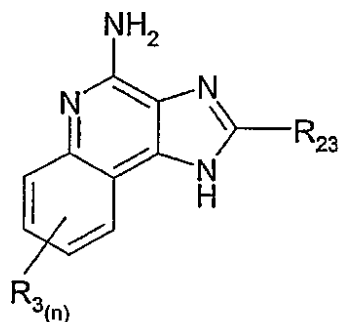
30

R_{22} は、水素、1~約8個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキル、ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基は、1~約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキル、1~約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、およびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によりベンゼン環上で置換されている場合にもよく、ベンゼン環が2個の前記基で置換される場合には、これらの基が合わせて6個以下の炭素原子を含み；

R_2 は、1~約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1~約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から独立して選択され、 n は0~2の整数であり、ただし、 n が2である場合には、これら R_2 基は合わせて6個以下の炭素原子を含む]；

40

【化 3】



(III)

10

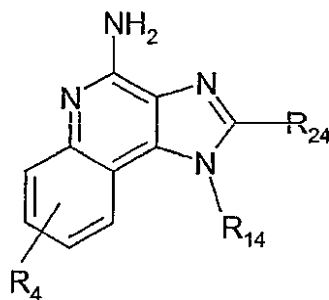
[式中、

R_{23} は、水素、1～約8個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルキル、ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基が、1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルキル、1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルコキシおよびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によりベンゼン環上で置換されていてもよく、ただし、ベンゼン環が2個の前記基で置換される場合には、これらの基が合わせて6個以下の炭素原子を含み；

20

R_3 は、1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から独立して選択され、 n は0～2の整数であり、ただし、 n が2である場合には、 R_3 基は合わせて6個以下の炭素原子を含む]；

【化 4】



(IV)

30

[式中、

R_{14} は $-\text{CHR}_A\text{R}_B$ であり、ここで R_B は水素または炭素-炭素結合であり、ただし、 R_B が水素の場合、 R_A は1～約4個の炭素原子のアルコキシ、1～約4個の炭素原子のヒドロキシアルコキシ、2～約10個の炭素原子の1-アルキニル、テトラヒドロピラニル、アルコキシアルキル(ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約4個の炭素原子を含む)、2-、3-または4-ピリジルであり、ただし、 R_B が炭素-炭素結合である場合には、 R_B および R_A は一緒になって、ヒドロキシおよび1～約4個の炭素原子のヒドロキシアルキルからなる群から独立して選択される1個以上の置換基で置換されてもよいテトラヒドロフラニル基を形成し；

40

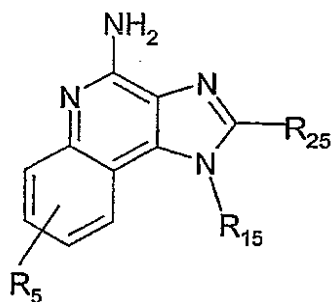
R_{24} は、水素、1～約4個の炭素原子のアルキル、フェニル、および置換フェニルからなる群から選択され、ここで、該置換基は、1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から選択され；

R_4 は、水素、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、およ

50

び1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から選択される]；

【化5】



(V)

10

[式中、

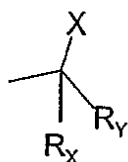
R_{15} は、水素、1～約10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルおよび1～約10個の炭素原子を含む置換された直鎖または分岐鎖アルキル（ここで、該置換基は、3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキル、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルで置換された3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキルからなる群から選択される）、2～約10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルケニルおよび2～約10個の炭素原子を含む置換された直鎖または分岐鎖アルケニル（ここで、該置換基は、3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキル、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルで置換された3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキルからなる群から選択される）、1～約6個の炭素原子のヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル（ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約6個の炭素原子を含む）、アシルオキシアルキル（ここで、アシルオキシ部分は2～約4個の炭素原子のアルカノイルオキシまたはベンゾイルオキシであり、アルキル部分は1～約6個の炭素原子を含む）、ベンジル、(フェニル)エチル、およびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基は、1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によりベンゼン環上で置換されていてもよく、ただし、該ベンゼン環が2個の前記基により置換されている場合には、これらの基は合わせて6個以下の炭素原子を含み；

20

30

R_{25} は下記式：

【化6】



40

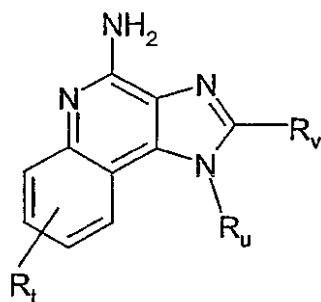
の基であり、ここで、 R_x および R_y は、水素、1～約4個の炭素原子のアルキル、フェニル、および置換フェニル（ここで、該置換基は1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から選択される）からなる群から選択され； X は、1～約4個の炭素原子を含むアルコキシ、アルコキシアルキル（ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約4個の炭素原子を含む）、1～約4個の炭素原子のハロアルキル、アルキルアミド（ここで、アルキル基は1～約4個の炭素原子を含む）、アミノ、置換アミノ（ここで、置換基は1～約4個の炭素原子のアルキルまたはヒドロキシアルキル）、アジド、1～約4個の炭素原子のアルキルチオからなる群から選択され；

R_5 は、水素、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、およ

50

び1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から選択される]；

【化7】



VI

10

[式中、

R₁は、水素、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から選択され、

R_uは、2-メチルプロピルまたは2-ヒドロキシ-2-メチルプロピルであり、

R_vは、水素、1～約6個の炭素原子のアルキル、またはアルコシアルキル(ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約4個の炭素原子を含む)である]。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、DNAワクチン接種、特に、疾患症状に備えて哺乳類にワクチンを接種する方法の改良、および予めワクチンを接種した個体に追加免疫を施すための薬剤の製造における特定化合物の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

動物において免疫応答を誘発し、それにより動物を感染から保護することができる抗原を動物系に導入することを含む従来のワクチン接種技術が久しく知られている。プラスミドDNAが*in vivo*にて動物細胞を直接トランスフェクトすることができたという1990年代初期の報告後、抗原性ペプチドをコードするDNAを動物に直接導入することにより免疫応答を誘発するために、DNAプラスミドを使用することに基づくワクチン接種技術を開発するための多大な研究努力がなされてきた。このような技術は、「DNA免疫化」または「DNAワクチン接種」と呼ばれるが、現在ではウイルス性疾患、細菌性疾患および寄生虫病に対する多種多様な前臨床モデルにおいて防御抗体(体液性)および細胞媒介(細胞性)免疫応答を誘発するために用いられている。さらに、癌、アレルギーおよび自己免疫疾患に対する治療および防御の際にDNAワクチン接種技術を使用することに関する研究も進められている。

30

40

【0003】

DNAワクチンは、通常、細菌プラスミドベクターからなり、その中に強力なプロモーター、抗原性ペプチドをコードする対象の遺伝子、およびポリアデニル化/転写終止配列が挿入されている。対象の遺伝子がコードする免疫原は、完全なタンパク質であってもよいし、単に病原体、腫瘍、その他の防御すべき因子に関係する抗原性ペプチド配列であってもよい。プラスミドは、細菌、例えば大腸菌中で増やした後、単離して、宿主に投与する前に、意図した投与経路に応じて適切な媒体中に調製することができる。

【0004】

DNAワクチン接種に関する有用な背景情報は、Donnelly, J ら、Annual Rev. Immunol. (1997) 15:617-648により提供され、その開示内容をそのまま参考として本明細書中に含

50

めるものとする。

【0005】

DNAワクチン接種には、従来のワクチン接種技術に比していくつかの利点がある。第一に、DNA配列によってコードされるタンパク質が宿主内で合成されるため、そのタンパク質の構造またはコンフォメーションは、疾患状態と関連した天然のタンパク質と類似していると予想される。また、保存されたタンパク質からのエピトープを認識する細胞傷害性Tリンパ球応答を生み出すことによって、DNAワクチン接種が様々なウイルス株に対する防御を与える可能性もある。さらに、抗原性タンパク質を産生することができる宿主細胞にプラスミドを直接導入するために、長期にわたる免疫応答が誘発されるであろう。また、この技術は、多岐にわたる免疫原を組み合わせることで単一製剤とし、いくつかの疾患状態に対する同時免疫を容易にする可能性も提供する。

10

【0006】

従来のワクチン接種療法に比してDNAワクチン接種には多数の利点があるにもかかわらず、動物に投与したプラスミドDNAによってコードされるタンパク質が引き出す免疫応答を増大させるために役立つアジュバント化合物を開発したいという願望は、依然として存在している。

【0007】

特にDNAを直接表皮に投与する場合、DNAワクチン接種は、免疫応答のTh1からTh2応答への不適切なシフトと関連していることがある(Fuller and Haynes Hum. Retrovir. (1994) 10:1433-41)。核酸ワクチンから望まれる免疫プロファイルは、標的とすべき疾患に左右されることが理解される。Th1応答の優先刺激は、多くのウイルス性疾患および癌に対するワクチン効力を賦与する可能性があり、優性なTh2型の応答は、一部の自己免疫疾患に関連したアレルギーおよび炎症を制限する際に有効となりうる。したがって、量的に免疫応答を増大させる方法、またはその応答のタイプを疾患兆候に対して最も有効と思われるものにシフトさせる方法は、有用であるだろう。

20

【発明の開示】

【0008】

したがって、本発明の一つの目的は、DNAワクチン接種法と共に用いることができる新しいワクチン接種プロトコルを提供することである。イミダゾキノリンアミン誘導体は、IFN- γ 、IL-6およびTNF- α を含むサイトカインの誘導物質である(例えばReiterら、J. Leukocyte Biology (1994) 55:234-240を参照のこと)。これらの化合物およびその調製法は、PCT特許出願公開番号WO 94/17043に開示されている。

30

【0009】

アジュバントとしてのイミダゾキノリンアミン誘導体の使用は、WO 02/24225に開示されている。この文献は、このようなアジュバントがDNAワクチンの初回抗原投与と追加抗原投与の両方で使用され得るという事実を開示している。しかし、免疫応答を本発明の方法によって更に増強し得るという開示は一切存在しない。

【0010】

驚いたことに、本発明者らは、イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体アジュバントをDNAワクチンの追加免疫時に用いて、イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないDNA初回抗原刺激ワクチンを用いて惹起された免疫応答を増強することが有利である、ことを見出した。

40

【0011】

本発明の好適な方法において、抗原はタンパク質(これに対して免疫応答を惹起することが求められる)をコードする核酸である。

【0012】

本発明は、個体へのワクチン接種方法を提供し、この方法は次のステップ:

(a) 第1ワクチンを個体に1回以上接種すること、ただし、前記ワクチン組成物は抗原を含むが、イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないこと、

(b) 適切な時間の経過後、同一個体に第2ワクチンを1回以上接種すること、ただし、第2

50

ワクチン組成物は同一抗原を含み、かつイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体と共に投与されること、
を含んでなる。

【0013】

本発明の実施形態において、個体へのワクチン接種方法は、更に、ステップ(b)の後にステップ(a)を繰り返すことを含む。本発明の別の実施形態において、個体へのワクチン接種方法は、ステップ(a)で第1ワクチン組成物を2回投与することを含む。

【0014】

第2ワクチン組成物の投与は、イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体と抗原の同時投与または連続投与を含むことができる。また、第2ワクチン組成物がイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体と抗原を含み、異なる部位に投与される方法も考えられる。

【0015】

本発明において、第2ワクチン中に存在する「抗原」は、免疫応答を惹起させることが望まれるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである。好ましくは、第1ワクチンと第2ワクチンの双方において、抗原はポリヌクレオチドである。

【0016】

また、個体における抗原特異的インターフェロン- (IFN-) 産生細胞の頻度を増大させる方法も本発明によって提供され、この方法は、

- (a) 第1ワクチン組成物を個体に1回以上投与すること、ただし、第1ワクチン組成物は抗原を含むが、イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないこと、
 - (b) 適切な時間の経過後、同一個体に第2ワクチン組成物を1回以上接種すること、ただし、第2ワクチン組成物は同一抗原とイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含むこと、
- を含んでなる。

【0017】

本発明の実施形態において、抗原特異的インターフェロン- 産生細胞(IFN-) の頻度を増大させる方法は、更に、ステップ(b)の後にステップ(a)を繰り返すことを含む。

【0018】

前記方法では、イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含む第2ワクチンまたは「追加免疫」ワクチンは、投与される最終回のワクチンであることが好適である。すなわち、ワクチン接種者は、イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないワクチンの1回以上の投与を受け、続いてイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含む第2ワクチン組成物の最後の追加抗原投与を受けることができる。

【0019】

本発明は、個体に投与するための追加抗原投与のワクチン医薬品の製造におけるイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体と抗原の使用を提供し、ここで、前記個体は、同一抗原を含むがイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないワクチン医薬品の1回以上の初回抗原投与を予め受けていることを特徴とする。

【0020】

本発明の関連する形態においては、抗原およびイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含むワクチン投与装置であり、この装置は、同一抗原を含むがイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないワクチンを予め接種した個体にのみ前記ワクチン組成物を投与するために前記投与装置を用いることを知らせる取扱説明書と共に包装される。

【0021】

第1ワクチン組成物および第2ワクチン組成物を含むキットも提供され、ここにおいて、第1ワクチン組成物と第2ワクチン組成物は同一抗原を含むが、第2ワクチン組成物はイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含むことを特徴とする。

【0022】

好ましくは、1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン-誘導体は、本明細書中で定義される式I~VIのうち1つによって規定された化合物である。より好ましくは、それは式VIによ

10

20

30

40

50

って規定された化合物である。1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体が以下の化合物からなる群から選択される式VIの化合物である場合に、特に好適である：

1-(2-メチルプロピル)-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン；

1-(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)-2-メチル-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン；

1-(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン；

1-(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)-2-エトキシメチル-1-H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン。最も好適な誘導体は、イミキモド(imiquimod)である。

【0023】

本明細書および添付の特許請求の範囲全体を通して、特に断らない限り、「含む」および「包含する」なる用語または「含んでなる」、「含んでいる」などの変形は包括的に解釈され、すなわち、これらの用語の使用は、具体的に記載されていない整数または要素を包含しうることを意味する。

10

【0024】

上述したように、本発明は、ワクチン接種法、すなわち抗原性タンパク質またはペプチドが哺乳類の生体内で発現され、それにより抗原性タンパク質またはペプチドに対し哺乳類内で免疫応答を誘発するように、抗原性タンパク質またはペプチドである免疫原をコードするヌクレオチド配列を哺乳類に導入することを含むワクチン接種法の改良に関する。このようなワクチン接種法は公知であり、前掲のDonnellyらの文献に詳しく記載されている。

【0025】

20

本明細書で用いる「ワクチン組成物」という用語は、第2ワクチンすなわち追加免疫ワクチン組成物との関係において、免疫原をコードするヌクレオチド配列を含む免疫原成分と1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含むアジュバント成分の組合せを意味する。その組合せは、例えば、薬学的に許容される単一製剤中での2成分の混合の形態、または別個の成分の形態であり、例えば、免疫原をコードするヌクレオチド配列を含む免疫原成分と1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミンを含むアジュバント成分とを含むキットの形態であり、この2成分は別々に、連続して、あるいは同時に投与される。好ましくは、2成分の投与は実質的に同時である。

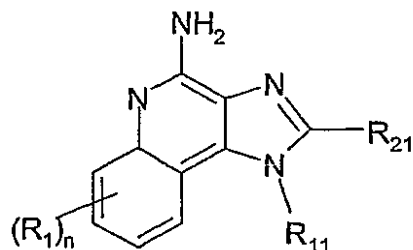
【0026】

本明細書および特許請求の範囲全体にわたって言及される1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体は、好ましくは、下記の式I~VIのうちの1つによって規定される化合物またはそれらのいずれかの化合物の製薬上許容される塩である。

30

【化1】

(I)



40

【0027】

[式中、

R_{11} は、直鎖または分岐鎖のアルキル、ヒドロキシアリル、アシルオキシアリル、ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基は、1~約4個の炭素原子のアルキル、1~約4個の炭素原子のアルコキシおよびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によってベンゼン環上で置換されていてもよく、ただし、該ベンゼン環が2個の前記基で置

50

換されている場合には、これらの基は合わせて6個以下の炭素原子を含み；

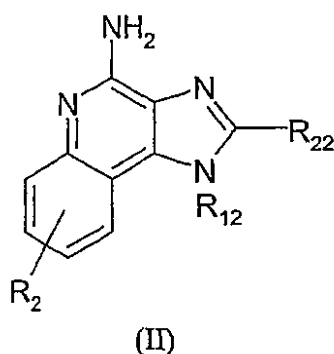
R_{21} は、水素、1～約8個の炭素原子のアルキル、ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基は、1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によってベンゼン環上で置換されているもよく、ただし、該ベンゼン環が2個の前記基で置換されている場合には、これらの基は合わせて6個以下の炭素原子を含み；

R_1 は、各々、水素、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、ハロゲンおよび1～約4個の炭素原子のアルキルからなる群から独立して選択され、 n は0～2の整数であり、ただし、 n が2である場合、 R_1 基は合わせて6個以下の炭素原子を含む]

10

【0028】

【化2】



20

【0029】

[式中、

R_{12} は、2～約10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルケニルおよび2～約10個の炭素原子を含む置換された直鎖または分岐鎖アルケニルからなる群から選択され、ここで該置換基は、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖のアルキルおよび3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキル、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルで置換された3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキルからなる群から選択され；

30

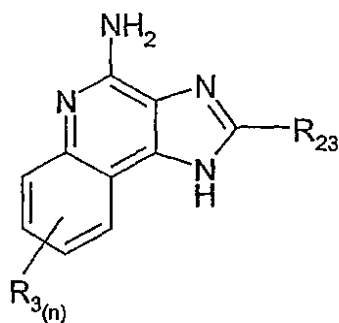
R_{22} は、水素、1～約8個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキル、ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基は、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキル、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、およびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によりベンゼン環上で置換されているもよく、ベンゼン環が2個の前記基で置換される場合には、これらの基が合わせて6個以下の炭素原子を含み；

R_2 は、各々、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から独立して選択され、 n は0～2の整数であり、ただし、 n が2である場合には、これら R_2 基は合わせて6個以下の炭素原子を含む]

40

【0030】

【化 3】



(III)

10

【 0 0 3 1 】

[式中、

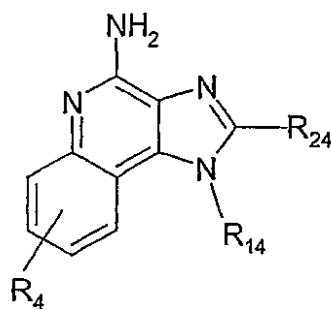
R_{23} は、水素、1～約8個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルキル、ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基が、1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルキル、1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルコキシおよびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によりベンゼン環上で置換されていてもよく、ただし、ベンゼン環が2個の前記基で置換される場合には、これらの基が合わせて6個以下の炭素原子を含み；

20

R_3 は、各々、1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から独立して選択され、 n は0～2の整数であり、ただし、 n が2である場合には、 R_3 基は合わせて6個以下の炭素原子を含む]

【 0 0 3 2 】

【化 4】



(IV)

30

【 0 0 3 3 】

[式中、

R_{14} は $-\text{CHR}_A\text{R}_B$ であり、ここで R_B は水素または炭素-炭素結合であり、ただし、 R_B が水素の場合、 R_A は1～約4個の炭素原子のアルコキシ、1～約4個の炭素原子のヒドロキシアルコキシ、2～約10個の炭素原子の1-アルキニル、テトラヒドロピラニル、アルコキシアルキル(ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約4個の炭素原子を含む)、2-、3-または4-ピリジルであり、ただし、 R_B が炭素-炭素結合である場合には、 R_B および R_A は一緒になって、ヒドロキシおよび1～約4個の炭素原子のヒドロキシアルキルからなる群から独立して選択される1個以上の置換基で置換されてもよいテトラヒ

50

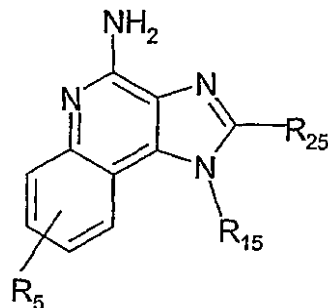
ドロフラニル基を形成し；

R_{24} は、水素、1～約4個の炭素原子のアルキル、フェニル、および置換フェニルからなる群から選択され、ここで、該置換基は、1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から選択され；

R_4 は、水素、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から選択される]

【0034】

【化5】



(V)

10

20

【0035】

[式中、

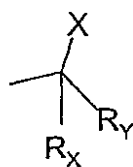
R_{15} は、水素、1～約10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルおよび1～約10個の炭素原子を含む置換された直鎖または分岐鎖アルキル（ここで、該置換基は、3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキル、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルで置換された3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキルからなる群から選択される）、2～約10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルケニルおよび2～約10個の炭素原子を含む置換された直鎖または分岐鎖アルケニル（ここで、該置換基は、3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキル、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルで置換された3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキルからなる群から選択される）、1～約6個の炭素原子のヒドロキシアリル、アルコキシアリル（ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約6個の炭素原子を含む）、アシルオキシアリル（ここで、アシルオキシ部分は2～約4個の炭素原子のアルカノイルオキシまたはベンゾイルオキシであり、アルキル部分は1～約6個の炭素原子を含む）、ベンジル、（フェニル）エチル、およびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、（フェニル）エチルまたはフェニル置換基は、1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によりベンゼン環上で置換されていてもよく、ただし、該ベンゼン環が2個の前記基により置換されている場合には、これらの基は合わせて6個以下の炭素原子を含み；

30

40

R_{25} は下記式：

【化6】



50

【 0 0 3 6 】

(式中、 R_X および R_Y は、水素、1～約4個の炭素原子のアルキル、フェニル、および置換フェニル(ここで、該置換基は1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から選択される)からなる群から選択され； X は、1～約4個の炭素原子を含むアルコキシ、アルコキシアルキル(ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約4個の炭素原子を含む)、1～約4個の炭素原子のハロアルキル、アルキルアミド(ここで、アルキル基は1～約4個の炭素原子を含む)、アミノ、置換アミノ(ここで、置換基は1～約4個の炭素原子のアルキルまたはヒドロキシアルキル)、アジド、1～約4個の炭素原子のアルキルチオからなる群から選択される)の基であり；

10

R_5 は、水素、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から選択される]。

【 0 0 3 7 】

好ましいアルキル基は、 C_1 - C_4 アルキル、例えばメチル、エチル、プロピル、2-メチルプロピルおよびブチルである。最も好ましいアルキル基は、メチル、エチルおよび2-メチルプロピルである。好ましいアルコキシ基は、メトキシ、エトキシおよびエトキシメチルである。

【 0 0 3 8 】

上記の化合物とその調製法は、PCT特許出願公開番号W094/17043に開示されている。

【 0 0 3 9 】

n が0、1または2となり得る場合には、好ましくは n は0または1である。

20

【 0 0 4 0 】

上記置換基 $R_1 \sim R_5$ は、本明細書中では一般に「ベンゾ置換基」と称される。好ましいベンゾ置換基は水素である。

【 0 0 4 1 】

上記置換基 $R_{11} \sim R_{15}$ は、本明細書中では一般に「1-置換基」と称される。好ましい1-置換基は2-メチルプロピルまたは2-ヒドロキシ-2-メチルプロピルである。

【 0 0 4 2 】

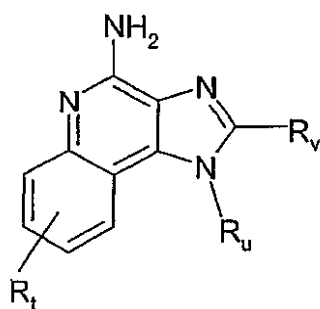
上記置換基 $R_{21} \sim R_{25}$ は、本明細書中では一般に「2-置換基」と称される。好ましい2-置換基は、水素、1～約6個の炭素原子のアルキル、アルコキシアルキル(ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約4個の炭素原子を含む)である。最も好ましくは、2-置換基は水素、メチルまたはエトキシメチルである。

30

【 0 0 4 3 】

特に好ましいものは、1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミンが下記の式VIで規定される化合物またはそれらのいずれかの製薬上許容される塩である。

【 化 7 】



(VI)

40

【 0 0 4 4 】

[式中、

50

R_1 は、水素、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から選択され、

R_u は、2-メチルプロピルまたは2-ヒドロキシ-2-メチルプロピルであり、

R_v は、水素、1～約6個の炭素原子のアルキル、またはアルコシアルキル(ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約4個の炭素原子を含む)である]。

【0045】

式VIにおいて、 R_1 は、好ましくは水素、 R_u は、好ましくは2-メチルプロピルまたは2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル、 R_v は、好ましくは水素、メチルまたはエトキシメチルである。

10

【0046】

好ましい1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミンには以下の化合物またはその生理学的に許容される塩が含まれる：

1-(2-メチルプロピル)-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン(式VIの化合物、式中、 R_1 は水素、 R_u は2-メチルプロピル、 R_v は水素である)、

1-(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)-2-メチル-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン(式VIの化合物、式中、 R_1 は水素、 R_u は2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル、 R_v はメチルである)、

1-(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン(式VIの化合物、式中、 R_1 は水素、 R_u は2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル、 R_v は水素である)、

20

1-(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)-2-エトキシメチル-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン(式VIの化合物、式中、 R_1 は水素、 R_u は2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル、 R_v はエトキシメチルである)。

【0047】

本発明のワクチン接種法および組成物は、様々な疾患症状、例えば、ウイルス性疾患、細菌性疾患、寄生虫病、癌、アレルギーおよび自己免疫疾患等に対して哺乳動物を防御または治療するために適合させることが可能である。

【0048】

抗原応答を惹起させるために哺乳動物系内で発現される、本出願において述べるヌクレオチド配列は、完全なタンパク質をコードしてもよいし、または抗原応答を開始することができるより短いペプチド配列をコードしてもよい。本明細書および添付の特許請求の範囲全体にわたって、「抗原性ペプチド」または「免疫原」なる語句は、関係する動物内で免疫応答を誘発することができるすべてのペプチドまたはタンパク質配列を含むものである。しかしながら、動物系内の全長タンパク質の発現は天然の抗原提示を模倣し、従って完全な免疫応答を惹起する可能性があるため、該ヌクレオチド配列は疾患症状に関連する全長タンパク質をコードすることが最も好ましい。

30

【0049】

ヒト病原体に対する免疫応答を誘発することができる抗原または抗原組成物は、以下のものに由来する。すなわち、HIV-1由来(例えば、tat、nef、gp120またはgp160、gp40、p24、gag、env、vif、vpr、vpu、revなど)、ヒトヘルペスウイルス由来(gH、gL、gM、gB、gC、gK、gEもしくはgDまたはその誘導体)、HSV1またはHSV2に由来するICP27、ICP47、ICP4、ICP36などの前初期タンパク質、サイトメガロウイルス、特にヒト由来(例えば、gBまたはその誘導体)、エプスタインバーウイルス由来(例えば、gp350またはその誘導体)、水痘-帯状疱疹ウイルス由来(例えば、gpl、II、IIIおよびIE63)、または肝炎ウイルス由来、例えば、B型肝炎ウイルス(例えば、B型肝炎表面抗原または肝炎コア抗原またはpol)、C型肝炎ウイルス抗原、およびE型肝炎ウイルス抗原、あるいはその他のウイルス病原体由来、例えば、パラミクソウイルス：呼吸器合胞体ウイルス(例えば、FおよびGタンパク質またはその誘導体)、またはパラインフルエンザウイルス、麻疹ウイルス、おたふく風邪ウイルス、ヒトパピローマウイルス(例えば、HPV6、11、16、18、egL1、L2、E1、E2、E3、E4、E5、E6、E7など)、フラビウイルス(例えば、黄熱病ウイルス、デング熱ウイルス、

40

50

ダニ媒介脳炎ウイルス、日本脳炎ウイルス)またはインフルエンザウイルス細胞由来(例えば、HA、NP、NAもしくはMタンパク質またはこれらの組合せ)、あるいは、細菌病原体由来の抗原、例えば、*Neisseria* spp、例えば*N. gonorrhea*および*N. meningitidis* (例えば、トランスフェリン結合タンパク質、ラクトフェリン結合タンパク質、PilC、付着因子); *S. pyogenes* (例えば、Mタンパク質またはその断片、C5Aプロテアーゼ、*S. agalactiae*、*S. mutans*); *H. ducreyi*; *Moraxella* spp、例えば*M. catarrhalis*、*Branhamella catarrhalis*としても知られている (例えば、高分子量および低分子量付着因子および侵入因子); *Bordetella* spp.、例えば*B. pertussis* (例えば、パータクチン(pertactin)、百日咳毒素またはその誘導体、繊維状血球凝集素、アデニル酸シクラーゼ、線毛(fimbriae))、*B. parapertussis*および*B. bronchiseptica*; *Mycobacterium* spp.、例えば*M. tuberculosis* (10
 例えば、ESAT6、抗原85A、-Bまたは-C、MPT44、MPT59、MPT45、HSP10、HSP65、HSP70、HSP75、HSP90、PPD 19kDa[Rv3763]、PPD 38kDa[Rv0934]など)、*M. bovis*、*M. leprae*、*M. avium*、*M. paratuberculosis*、*M. smegmatis*; *Legionella* spp.、例えば*L. pneumophila*; *Escherichia* spp.、例えば腸管毒性大腸菌 (例えば、コロニー形成因子、熱不安定性毒素またはその誘導体、熱安定性毒素またはその誘導体)、腸管出血性大腸菌、腸管病原性大腸菌 (例えば、シガ毒素様毒素またはその誘導体); *Vibrio* spp.、例えば*V. cholera* (例えば、コレラ毒素またはその誘導体); *Shigella* spp.、例えば*S. sonnei*、*S. dysenteriae*、*S. flexnerii*; *Yersinia* spp.、例えば*Y. enterocolitica* (例えば、Yopタンパク質)、*Y. pestis*、*Y. pseudotuberculosis*; *Campylobacter* spp.、例えば*C. jejuni* (例えば、毒素、付着因子および侵入因子)および*C. coli*; *Salmonella* spp.、例えば*S. typhi*、*S. paratyphi*、*S. choleraesuis*、*S. enteritidis*; *Listeria* spp.、例えば*L. monocytogenes*; *Helicobacter* spp.、例えば*H. pylori* (例えば、ウレアーゼ、カタラーゼ、空胞化毒素など); *Pseudomonas* spp.、例えば*P. aeruginosa*; *Staphylococcus* spp.、例えば*S. aureus*、*S. epidermidis*; *Enterococcus* spp.、例えば*E. faecalis*、*E. faecium*; *Clostridium* spp.、例えば*C. tetani* (例えば、破傷風毒素およびその誘導体)、*C. botulinum* (例えば、ボツリヌス毒素およびその誘導体)、*C. difficile* (例えば、クロストリジウム毒素AまたはBおよびその誘導体); *Bacillus* spp.、例えば*B. anthracis* (例えば、ボツリヌス毒素およびその誘導体); *Corynebacterium* spp.、例えば*C. diphtheriae* (例えば、ジフテリア毒素およびその誘導体); *Borrelia* spp.、例えば*B. burgdorferi* (例えば、OspA、OspC、DbpA、DbpB)、*B. garinii* (例えば、OspA、OspC、DbpA、DbpB)、*B. afzelii* (10
 30
 (例えば、OspA、OspC、DbpA、DbpB)、*B. andersonii* (例えば、OspA、OspC、DbpA、DbpB)、*B. hermsii*; *Ehrlichia* spp.、例えば*E. equi*およびヒト顆粒球性エールリヒア病(Human Granulocytic Ehrlichiosis)の病原体;*Rickettsia* spp.、例えば*R. rickettsii*; *Chlamydia* spp.、例えば*C. trachomatis* (例えば、MOMP、ヘパリン結合タンパク質)、*C. pneumoniae* (例えば、MOMP、ヘパリン結合タンパク質など)、*C. psittaci*; *Leptospira* spp.、例えば*L. interrogans*; *Treponema* spp.、例えば*T. pallidum* (例えば、稀な外膜タンパク質)、*T. denticola*、*T. hyodysenteriae*; あるいは寄生虫由来、例えば、*Plasmodium* spp.、例えば*P. falciparum*; *Toxoplasma* spp.、例えば*T. gondii* (例えば、SAG2、SAG3、Tg34); *Entamoeba* spp.、例えば*E. histolytica*; *Babesia* spp.、例えば*B. microti*; *Trypanosoma* spp.、例えば*T. cruzi*; *Giardia* spp.、例えば*G. lamblia*; *Leshmania* spp.、40
 40
 例えば*L. major*; *Pneumocystis* spp.、例えば*P. carinii*; *Trichomonas* spp.、例えば*T. vaginalis*; *Schistosoma* spp.、例えば*S. mansoni*、あるいは酵母由来、例えば、*Candida* spp.、例えば*C. albicans*; *Cryptococcus* spp.、例えば*C. neoformans*。

【0050】

*M. tuberculosis*に特異的なその他の好適な抗原には、例えば、Rv2557、Rv2558、RPFs : Rv0837c、Rv1884c、Rv2389c、Rv2450、Rv1009、aceA(Rv0467)、PstS1、(Rv0932)、SodA (Rv3846)、Rv2031c 16kDa、Tb Ra12、Tb H9、Tb Ra35、Tb38-1、Erd14、DPV、MTI、MSL、mTTC2およびhTCC1が挙げられる(W099/51748)。*M. tuberculosis*のタンパク質には、少なくとも2つ、好ましくは3つの*M. tuberculosis*のポリペプチドがより大きいタンパク質へと融合している融合タンパク質およびその変異体が含まれる。好適な融合タンパク質に 50

は以下のものが含まれる：Ra12-TbH9-Ra35、Erd14-DPV-MTI、DPV-MTI-MSL、Erd14-DPV-MTI-MSL-mTCC2、Erd14-DPV-MTI-MSL、DPV-MTI-MSL-mTCC2、TbH9-DPV-MTI(W099/51748)。

【0051】

クラミジアの最も好適な抗原には、例えば、高分子量タンパク質(HWMP)(W099/17741)、ORF3(EP 366 412)、および推定膜タンパク質(Pmps)がある。ワクチン製剤用のその他のクラミジア抗原はW099/28475に記載された群から選択できる。

【0052】

好適な細菌性ワクチンには、*S. pneumoniae*を始めとする *Streptococcus* spp.由来の抗原(PsaA、PspP、ストレプトリシン、コリン結合タンパク質)およびタンパク質抗原Pneumolysin(Biochem Biophys Acta, 1989, 67, 1007; Rubinsら、Microbial Pathogenesis, 25, 337-342)、およびその変異型解毒誘導体(W090/06951;W099/03884)が含まれる。その他の好適な細菌性ワクチンには、*H. influenzae* B型(例えば、PRPおよびそのコンジュゲート)、型別不能 *H. influenzae*を始めとする *Haemophilus* spp.由来の抗原、例えば、OMP26、高分子量付着因子、P5、P6、タンパク質Dおよびリポタンパク質Dおよびフィンブリンおよびフィンブリン由来ペプチド(米国特許第5843464号)またはその複数コピー変異体もしくは融合タンパク質が含まれる。

【0053】

本発明で用いることができる抗原にはさらに、マラリアを引き起こす寄生虫由来の抗原も含まれる。例えば、*Plasmodia falciparum*からの好適な抗原には、RTS,SおよびTRAPが含まれる。RTS,Sは *P. falciparum*のサーカムスポロゾイト(CS)タンパク質の実質的に全てのC-末端部分が、B型肝炎表面抗原のpreS2部分の4個のアミノ酸を介して、B型肝炎ウイルスの表面(S)抗原に結合しているハイブリッドタンパク質である。その全長の構造は、英国特許出願第9124390.7号から優先権を主張してW093/10152として公開された国際特許出願PCT/EP92/02591に記載されている。RTS,Sは、酵母において発現されると、リポタンパク質粒子として産生され、HBV由来のS抗原と共発現される場合は、RTS,Sとして知られる混合粒子を産生する。TRAP抗原は、国際特許出願PCT/GB89/00895(W090/01496として公開)に記載されている。本発明の好ましい実施形態はマラリアワクチンであり、その抗原製剤はRTS,SとTRAP抗原の組合せを含む。多段階マラリアワクチンの成分の候補であると考えられるその他のマラリア原虫抗原には、*P. falciparum* MSP1、AMA1、MSP3、EBA、GLURP、RAP1、RAP2、Sequestrin、PfEMP1、Pf332、LSA1、LSA3、STARP、SALSA、PfEXP1、Pfs25、Pfs28、PFS27/25、Pfs16、Pfs48/45、Pfs230および *Plasmodium* spp.におけるその類似体が挙げられる。

【0054】

本発明には、抗腫瘍抗原の使用も含まれ、これは癌の免疫療法による治療に有用である。例えば、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、肺癌、膵臓癌、腎臓癌または黒色腫などの癌の腫瘍拒絶抗原が挙げられる。これら抗原には例えば、MAGE1、3およびMAGE4またはW099/40188に開示されているものなどのその他のMAGE抗原、PRAME、BAGE、Lage(NY Eos1としても知られている)SAGEおよびHAGE(W099/53061)またはGAGE(RobbinsおよびKawakami, 1996, Current Opinions in Immunology 8, pps 628-636; Van den Eyndeら、International Journal of Clinical & Laboratory Research (1997年に提出); Correaleら、(1997), Journal of the National Cancer Institute 89, p293)が挙げられる。実際、これらの抗原は黒色腫、肺癌、肉腫および膀胱癌などの広範なタイプの腫瘍において発現している。

【0055】

本発明で用いるMAGE抗原は、発現エンハンサーまたは免疫学的融合パートナーとの融合タンパク質として発現させることができる。特に、MAGEタンパク質を *Haemophilus influenzae* B由来のタンパク質Dに融合させる。具体的には、該融合パートナーはタンパク質Dの最初の3分の1を含みうる。そのような構築物はW099/40188に開示されている。癌特異的エピトープを含みうる融合タンパク質のその他の例としては、bcr/abl融合タンパク質が挙げられる。

【0056】

好適な実施形態においては、前立腺抗原が用いられ、例えば、前立腺特異的抗原(PSA)、PAP、PSCA(PNAS 95(4) 1735 -1740 1998)、PSMAまたはプロスターゼとして公知の抗原がある。

【0057】

プロスターゼは、254アミノ酸長の前立腺特異的セリンプロテアーゼ(トリプシン様)であり、保存されたセリンプロテアーゼ触媒三連構造H-D-Sおよびアミノ末端プレプロペプチド配列を有しており、これは潜在的な分泌機能を示している(P. Nelson, Lu Gan, C. Ferguson, P. Moss, R. Gelinas, L. Hood & K. Wand, "Molecular cloning and characterisation of prostate, an androgen-regulated serine protease with prostate restricted expression," (プロスターゼの分子クローニングおよび特徴付け：発現が前立腺に限られるアンドロゲン調節セリンプロテアーゼ) Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1999) 96, 3114-3119)。推定グリコシル化部位が記載されている。予測された構造はその他の公知のセリンプロテアーゼと非常に似ており、成熟ポリペプチドが折り畳まれて単一のドメインとなることを示す。成熟タンパク質は224アミノ酸長であり、1つのA2エピトープが天然でプロセシングされることがわかっている。

10

【0058】

プロスターゼのヌクレオチド配列および推定ポリペプチド配列ならびに相同体は、Fergusonら(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96, 3114-3119)および国際特許出願W098/12302(および対応する米国特許第5955306号)、W098/20117(および対応する米国特許第5840871号および米国特許第5786148号)(前立腺特異的カリクレイン)およびW000/04149(P703P)に開示されている。

20

【0059】

本発明は、プロスターゼタンパク質およびその断片および相同体(「誘導体」)に基づくプロスターゼタンパク質融合体を含む抗原を提供する。そのような誘導体は前立腺腫瘍の治療に好適な治療用ワクチン製剤で使用するのに適している。典型的には、その断片は、上記の特許および特許出願に開示されている、少なくとも20個、好ましくは50個、より好ましくは100個連続したアミノ酸を含む。

【0060】

さらに好適な前立腺抗原はP501Sとして知られているものであり、これはW098/37814の配列番号113に示される。上記特許出願に開示されている、少なくとも20個、好ましくは50個、より好ましくは100個連続したアミノ酸を含む、その遺伝子によってコードされた免疫原性の断片および部分が意図される。特定の断片はPS108である(W098/50567)。

30

【0061】

その他の前立腺特異的抗原は、W098/37418およびW0/004149から公知である。その他にはSTEAP PNAS 96 14523 14528 7-12 1999がある。

【0062】

本発明に有用なその他の腫瘍関連抗原には、Plu-1(J Biol. Chem 274 (22) 15633-15645, 1999)、HASH-1、Hash-2、Cripto(Salomonら、Bioessays 199, 21 61-70、米国特許第5654140号)、クリプチン(Criptin)(米国特許第5981215号)が含まれる。さらに、癌治療用のワクチンに特に好適な抗原には、チロシナーゼおよびサーバイビン(survivin)も含まれる。

40

【0063】

本発明は、Muc-1、Muc-2、EpCAM、her2/Neu、マンマグロビン(米国特許第5668267号)またはW0/0052165、W099/33869、W099/19479、W098/45328に開示されているもののような乳癌抗原と組み合わせても有用である。Her 2 neu抗原は、とりわけ、米国特許第5,801,005号に開示されている。好ましくは、Her 2 neuは、全細胞外ドメイン(およそアミノ酸1-645を有する)またはその断片と、C末端のおよそ580アミノ酸からなる全細胞内ドメインの少なくとも免疫原性部分とを含む。特に、細胞内部分はリン酸化ドメインまたはその断片を含むべきである。そのような構築物はW000/44899に開示されている。特に好ましい構築物はECD PDとして公知であり、第2構築物はECD PDとして公知である(W0/0044899を参照のこ

50

と)。

【0064】

本明細書で用いるHer 2 neuはラット、マウスまたはヒト由来のものでありうる。

【0065】

ワクチンは、腫瘍支援機構(例えば、血管新生、腫瘍浸潤など)に関連する抗原、例えば、tie2、VEGFなどを含んでいてもよい。

【0066】

本発明のワクチンはアレルギー、癌または感染性疾患に加えて慢性疾患の予防または治療にも用いることができる。そのような慢性疾患は、例えば、喘息、アテローム性動脈硬化症、アルツハイマー病、およびその他の自己免疫疾患などの疾患である。避妊薬として

10

【0067】

アルツハイマー型神経変性疾患にかかりやすい、あるいはかかっている患者の予防および治療に関連する抗原は、特に、アミロイド前駆体タンパク質のN末端の39-43アミノ酸断片およびより小さい断片である。この抗原は、国際特許出願W099/27944 (Athena Neurosciences)に開示されている。

【0068】

自己免疫疾患に対するワクチンとして、あるいは避妊用ワクチンとしての可能性のある自己抗原には以下のものが含まれる：サイトカイン、ホルモン、増殖因子または細胞外タンパク質、より好ましくは4-ヘリックスサイトカイン、最も好ましくはIL13である。サイトカインには例えば、IL1、IL2、IL3、IL4、IL5、IL6、IL7、IL8、IL9、IL10、IL11、IL12、IL13、IL14、IL15、IL16、IL17、IL18、IL20、IL21、TNF、TGF、GMCSF、MCSFおよびOSMが含まれる。4-ヘリックスサイトカインには、IL2、IL3、IL4、IL5、IL13、GMCSFおよびMCSFが含まれる。ホルモンには、例えば、黄体形成ホルモン(LH)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、絨毛膜性腺刺激ホルモン(CG)、VGF、グレリン、アグーチ、アグーチ関連タンパク質および神経ペプチドYが含まれる。増殖因子には例えば、VEGFが含まれる。

20

【0069】

本発明のワクチンは慢性疾患および癌などの疾患の免疫療法による治療に特に好適であるが、持続性感染症の治療にも好適である。したがって本発明によるワクチンは特に、結核(TB)、AIDSなどのHIV感染、およびB型肝炎(HepB)ウイルス感染などの感染性疾患の免疫療法に好適である。

30

【0070】

ヌクレオチド配列は、RNA、またはゲノムDNA、合成DNAもしくはcDNAを含むDNAでありうる。好ましくは、ヌクレオチド配列はDNA配列であり、最も好ましくはcDNA配列である。哺乳動物細胞内にて抗原性ペプチドの発現を得るためには、抗原性ペプチドをコードするヌクレオチド配列が適切なベクター系において提示される必要がある。本明細書中で用いる「適切なベクター」とは、免疫応答を生じさせるために十分な量の抗原性ペプチドを哺乳動物内で発現させることができるあらゆるベクターを意味する。

【0071】

例えば、選択されるベクターは、抗原性ペプチドの発現を得るために正しい順序で配置されたプラスミド、プロモーターおよびポリアデニル化/転写終止配列を含むことができる。これらの成分と適宜に他の成分(例えば、エンハンサー、制限酵素部位および選択遺伝子、例えば抗生物質耐性遺伝子)を含むベクターの構築は、当業者に周知であり、Maniatisら、"Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbour Laboratory, Cold Spring Harbour Press, Vols 1-3, 2nd Edition, 1989に詳細に説明されている。

40

【0072】

プラスミドが哺乳動物宿主内で複製されたり、動物の染色体DNA内に組み込まれたりするのを防ぐことが好ましいので、真核細胞内で機能する複製起点を含まないプラスミドを作製することが有利である。

50

【0073】

本発明の方法および組成物は、例えば、家畜、実験動物、養殖動物、捕獲された野生動物および、最も好ましくはヒトを含めて、すべての哺乳動物の予防または治療法に関連して用いることができる。

【0074】

本発明者らは、本発明のワクチン接種法がTh1とTh2の両方のサイトカインプロファイルを向上させることができることを立証した。しかしながら、Th1タイプの応答の方に優先的にシフトされる。

【0075】

TH1タイプの免疫応答の優先的誘導物質は、細胞性応答を生じさせることができる。高レベルのTh1タイプのサイトカインは、所定の抗原に対する細胞性免疫応答の誘導に有利である傾向にあるが、高レベルのTh2タイプのサイトカインは抗原に対する体液性免疫応答の誘導を促進する傾向にある。

【0076】

Th1およびTh2タイプの免疫応答の区別は絶対的なものでないことに留意するのは重要である。実際に、個体は主にTh1または主にTh2であると説明される免疫応答を支持するであろう。しかしながら、サイトカインのファミリーを、MosmannおよびCoffman(Mosmann, T. R.およびCoffman, R.L. (1989) TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties (TH1およびTH2細胞: リンホカイン分泌の異なるパターンが異なる機能的特性をもたらす). Annual Review of Immunology, 7, p145-173)によりマウスCD4+ve T細胞クローンにおいて記載されているものから考慮することが好都合である場合が多い。伝統的に、Th1タイプの応答はTリンパ球によるINF- およびIL-2サイトカインの産生と関連する。Th1タイプの免疫応答の誘導に直接関連する他のサイトカインは、IL-12のようにT細胞により産生されない。対照的に、Th2タイプの応答は、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10の分泌と関連する。

【0077】

抗原性ペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むベクターを含む免疫原成分は、様々な方法で投与することができる。裸の形態(すなわち、リポソーム製剤、ウイルスベクターまたはトランスフェクション促進タンパク質を伴わない裸のヌクレオチド配列)でベクターを投与することが可能であり、適切な媒体、例えば、緩衝生理食塩溶液(例えばPBS)中に懸濁し、次いで筋肉内、皮下、腹腔内または静脈内に注射することができる。もっともこれまでのいくつかのデータは、筋肉内または皮下注射が好ましいことを示唆している[Brohmら、Vaccine 16 No. 9/10, pp949-954 (1998)(その開示を参照によりそのまま本明細書に含めるものとする)]。上記の経路に加えて、経口、鼻腔内または肺経路により投与するために例えばリポソームまたはポリラクチドコグリコリド(PLG)粒子(25)内にベクターを封入することも可能である。

【0078】

本発明の好ましい実施形態によれば、免疫原成分の皮内投与が、好ましくは遺伝子銃(特に微粒子銃)投与技術の使用により可能となる。かかる技術は、免疫原成分を金ビーズ上にコーティングし、これを次いで高圧下で表皮中に、例えば、Haynesら、J. Biotechnology 44: 37-42(1996)に記載されているようにして投与することを含む。この場合、抗原とイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体は同一ビーズの上に同時調製してもよいし、あるいはまた、抗原とイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体は別々であってもよい。例えば、イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を、一般的にはDNAビーズの投与部位に、クリームとして、DNAビーズの投与前または後に投与する。

【0079】

抗原性ペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むベクターは、予防上または治療上有効な量で投与される。投与量は、一般に、1回あたり粒子媒介送達の場合には1ピコグラム~1ミリグラム、好ましくは1ピコグラム~10マイクログラムの範囲のヌクレオチドであり、他の経路の場合には10マイクログラム~1ミリグラムの範囲である。正確な量は、免

10

20

30

40

50

疫化される哺乳類の種類および体重、投与経路、1H-イミダゾ-[4,5-c]キノリン誘導体の効力および用量、治療または防御される疾患状態の性質、患者の免疫系が免疫応答を生じる能力、および望まれる防御または治療効力の程度によって相当変わり得る。これらの変動要因に基づいて、医師または獣医師は適切な投与量レベルを容易に決定することができるであろう。

【0080】

本明細書において特定したイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体アジュバント成分は、同様に、様々な異なる投与経路、例えば、経口、鼻腔内、肺、筋肉内、皮下、皮内または局所経路により投与することができる。好ましくは、該成分は皮内または局所経路により投与される。この投与は、ヌクレオチド配列の投与前約14日から投与後約14日間行うことができ、好ましくはヌクレオチド配列の投与前約1日から投与後約3日間行う。アジュバント成分をヌクレオチド配列の投与と実質的に同時に投与する場合がもっとも好ましい。「実質的に同時」とは、アジュバント成分の投与がヌクレオチド配列の投与と好ましくは同時であること、同時でない場合はヌクレオチド配列の投与の前後いずれかの少なくとも2,3時間以内であることを意味する。最も好ましい治療プロトコルにおいて、アジュバント成分はヌクレオチド配列の投与と実質的に同時に投与される。明らかに、このプロトコルは必要に応じて、上記変動要因の種類に従って変えることができる。

10

【0081】

上記と同様に、かかる変動要因に応じて、誘導体の投与量も変化するが、例えば、約0.1mg/kg～約100mg/kgの範囲であり得る(ここで、「kg」とは、関係する哺乳動物の体重をさす)。この1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体の投与は、好ましくはヌクレオチド配列の後続の投与すなわち追加免疫投与により繰り返される。最も好ましくは、投与量は約1mg/kg～約50mg/kgの間である。

20

【0082】

アジュバント成分は未加工の化学状態で投与される1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体のみを含むことができるが、医薬製剤の形態で投与するのが好ましい。すなわち、アジュバント成分は、1種以上の薬学的または獣医学的に許容される担体および適宜に他の治療成分と組み合わせた1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミンを含むことが好ましい。担体は、その製剤に含まれる他の成分と適合し、かつそのレシピエントに対して有害でないという意味で、「許容」されなければならない。製剤の性質は、当然のことながら、意図する投与経路により変化し、製薬分野において周知の方法により調製することができる。すべての方法には、1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を1種以上の適切な担体と接触させる工程が含まれる。一般的には、製剤を調製するには、該誘導体を液状担体または微粉碎された固形担体、あるいはその両者と均一かつ緊密に接触させ、次いで必要に応じて該混合物を成形して所望の製剤にする。経口投与に好適な本発明の製剤は、個別の単位、例えば、カプセル剤、カシェ剤または錠剤(それぞれはあらかじめ決められた量の活性成分を含む);粉末剤または顆粒剤;水性液体または非水性液体中の溶液剤または懸濁液剤;あるいは水中油型液体エマルジョンまたは油中水型エマルジョンとして提供することができる。活性成分はボーラス剤、舐剤またはペースト剤として提供することもできる。

30

40

【0083】

錠剤は、適宜に1種以上の補助成分と共に、圧縮または成形することにより製造することができる。圧縮錠剤は、粉末または顆粒などの易流動性形態の活性成分を、適宜に結合剤、滑沢剤、不活性希釈剤、潤滑剤、界面活性剤または分散助剤と混合して、適切な打錠機で圧縮することにより製造することができる。成形錠剤は、不活性液体希釈剤で湿らせた粉末化合物の混合物を適切な機械で成形することにより製造することができる。

【0084】

錠剤は、コーティングまたは刻み目を施してもよく、活性成分が持続放出または制御放出されるように製剤化することができる。

【0085】

50

筋肉内、腹腔内、または皮下投与経路などによる注射用の製剤には、水性および非水性の無菌注射溶液(酸化防止剤、緩衝剤、制菌剤、および製剤を対象のレシピエントの血液と等張にする溶質を含んでもよい);ならびに水性および非水性の無菌懸濁液(懸濁化剤および増粘剤が存在してもよい)が含まれる。製剤は、1回量または複数回量の容器、例えば密封されたアンプルおよびバイアルに入れて提供することができ、また、使用直前に無菌の液状担体(例えば、注射用水)を添加するだけでよい凍結乾燥状態で貯蔵することもできる。即時注射溶液および懸濁液は、上述した種類の無菌の粉末剤、顆粒剤および錠剤から調製してもよい。口腔または鼻腔からの肺投与に適した製剤は、活性成分を含む(望ましくは0.5~7ミクロンの範囲の直径を有する)粒子がレシピエントの気管支に送達されるように提供される。かかる製剤は、それらが微粉末の形態をしている必要があり、こうした微粉末は、吸入装置で使用するために、適切にはゼラチンなどから製造した穿孔可能なカプセル内に封入して、あるいは活性成分、適切な液体プロペラントおよび、適宜、界面活性剤および/または固体希釈剤のような他の成分を含む自己噴射型製剤(self-propelling formulation)として提供することが好ましい。活性成分が溶液または懸濁液の液滴の形で分配される自己噴射型製剤も用いることができる。かかる自己噴射型製剤は、当該分野において公知なものと類似し、確立された方法により調製することができる。これらは適切には、所望の噴霧特性を有する手動式または自動式のバルブを備えている。こうしたバルブは操作ごとに一定容量(例えば50~100 μ L)を送達する計量タイプのものが有利である。

10

【0086】

20

さらには、アジュバント成分はアトマイザーまたはネブライザーで使用するための溶液の形態で存在することもでき、この場合には吸入のための微細な液滴を生成するために加速気流または超音波攪拌が用いられる。

【0087】

鼻腔内投与に好適な製剤は、一般に、肺投与について上述したものと類似した提示形態を含むが、鼻腔内での停留を可能にするために、かかる製剤は約10~約200ミクロンの範囲の粒径を有することが好ましい。これは、適宜、適切な粒子サイズの粉末を使用するか、または適切なバルブを選択することにより達成することができる。他の好適な製剤には、鼻の近くに保持させた容器から鼻腔を通して急速に吸入することにより投与するために、約20~約500ミクロンの範囲の粒径を有する粗粉剤、および水性または油性溶液中に約0.2~5% w/wの活性成分を含む点鼻剤が含まれる。本発明の1つの実施形態においては、抗原性ペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むベクターを、1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体と同一の製剤内に入れて投与することが可能である。従って、この実施形態では、免疫原成分とアジュバント成分が同一製剤内に存在する。

30

【0088】

好ましい実施形態においては、アジュバント成分を遺伝子銃投与に好適な形態で調製して、ヌクレオチド配列の投与と実質的に同時に該経路により投与する。この方法での使用に好適な製剤を調製するためには、1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を凍結乾燥して、遺伝子銃投与に適した金ビーズなどの上に付着させる必要があるかもしれない。

40

【0089】

もう一つの実施形態においては、アジュバント成分を乾燥粉末として、高圧気体推進力により投与することができる。これは、ヌクレオチド配列の投与と実質的に同時であることが好ましい。

【0090】

アジュバント成分は、たとえ一緒に製剤化されなくても、ヌクレオチド配列と同じ投与部位またはその付近に投与することが適切である。

【0091】

医薬製剤の詳細は、他に、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania (1985)に見出すことができ、この開示を参照によりその

50

まま本明細書中に含めるものとする。

【0092】

本発明を以下の実施例を参照しながらさらに説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されない。

【実施例】

【0093】

実施例1. イミキモド(imiquimod)は核酸ワクチンに対する細胞傷害性T細胞応答の強さを増大させる

プラスミドの構築およびDNA調製

pVAC1.ova.cyt

使用するプラスミドは、Michelle Young (GlaxoWellcome, UK) から入手した、哺乳動物発現ベクター-pCI (Promega) を改変したものであるpVAC1に基づくものであり、このベクターではEcoRIからBstZIまでの多重クローニング部位が、5'側のユニークなNheI、RsrIIおよびXhoI制限酵素部位および3'側のユニークなPacI、AscI、NotI制限酵素部位によって挟まれたEMCV IRES配列で置換されている。

【0094】

卵アルブミン(OVA)発現プラスミドpVAC1.ova.cytは、OVA配列を発現ベクターpVAC1に連結させることにより構築した。

【0095】

プラスミドDNAを大腸菌において増殖させ、プラスミド精製キット(QIAGEN Ltd, Crawley, UK)を用いて調製し、10mM Tris/EDTA緩衝液1mlあたり約1mgのプラスミドDNAにおいて-20℃で貯蔵した。

【0096】

GagおよびNef抗原を発現するプラスミド(すなわちWRG7077Gag/Nef)は、WRG7077に基づいて構築した。オリジナルのWRG7077プラスミドは、T4 DNAポリメラーゼを使用して下記の両断片を平滑末端とした後で、pUC19(Amersham Pharmacia Biotech UK Ltd., Amersham Place, Little Chalfont, Bucks, HP7 9NAより入手可能)の-lacZマーカー遺伝子含有Eam1105I-PstI断片を、カナマイシン耐性遺伝子を含むpUC4K(Amersham-Pharmacia)のEcoRI断片と置換することにより構築した。ヒト・サイトメガロウイルスIE1プロモーター/エンハンサーであるイントロンAを、Harriet Robinson博士(Massachusetts大学)より入手したプラスミドJW4303から誘導し、XhoI-SalI断片として、ウシ成長ホルモンポリアダニル化シグナルを組み込んでいるpUC19のSalI部位に挿入した。HIV-1株248A(Genbank登録番号L15518、G. Thompsonから寄贈)由来の、該遺伝子の5'末端から195bpを欠失させた(最初の65アミノ酸を除去する)トランケート型Nefと、プラスミドpHXB Pr(Mascheraら、1995)を含むHIV-1 clade B株HXB2(Genbank登録番号K03455)由来のp17p24(Gag)とのPCRスティッチング(stitching)によりGag-Nef融合物を作製した。その後、得られたGag-Nef融合物を、NotI-BamHI断片として、WRG7077中に連結させた。プラスミドDNAおよびカートリッジの調製は、実施例1に記載するように行った。

【0097】

DNA免疫化のためのカートリッジの製造

Accell遺伝子導入装置のカートリッジの製造は、記載のとおりに行った(Eisenbraunら、DNA and Cell Biology, 1993 Vol 12 No 9 pp791-797; Pertnerら)。簡潔に説明すると、プラスミドDNAを2μmの金粒子(DeGussa Corp., South Plainfield, N.J., USA)上にコーティングし、Tefzelチューブ中に入れ、次にこれをカートリッジとして使用するために1.27cmの長さに切断し、使用するまで4℃で乾燥貯蔵した。典型的なワクチン接種において、各カートリッジは、約0.05μgのpVAC1.ova.cyt(全量0.5μgのDNA/カートリッジを供給するために空のpVAC1ベクターを補給した)または0.5μgのWRG7077.gag/nefのいずれかでコーティングされた金ビーズ0.5mgを含んでいた。

【0098】

実施例2. 卵アルブミンワクチン接種

10

20

30

40

50

イミキモド投与のタイミングが、脾細胞中の抗原特異的サイトカイン産生細胞の数に影響するか否かを調べるために、pVAC1.ova.cyt(実施例1に従って調製)をマウスの皮膚に粒子媒介遺伝子導入(0.05 µg/カートリッジ)によって投与した。C57Bl/6マウス(Charles River United Kingdom Ltd, Margate, UKから購入)の毛を剃った腹部皮膚の標的部位に、Accell遺伝子導入装置を使って500ポンド/平方インチで、2本のカートリッジからプラスミドを送達した(McCabe WO 95/19799)。

【0099】

投与する場合には、ワクチン接種後すぐに、イミキモド(滅菌水中0.3%(w/v)のメチルセルロースと0.1%(v/v)のTweenを含むビヒクル中の懸濁液として調製)を、一回の皮下注射(0.05ml/10g(体重)、30mg/kgの用量を与えるように製剤化した)によって免疫化部位に投与した。プラスミドとイミキモドの対照は、それぞれ空のベクター(pVAC1)とビヒクルであった。

【0100】

全てのマウスは、0日目と4週目にpVAC1.ova.cytまたは空のベクターpVAC1を受け取った。第1群のマウスは、0日目にのみイミキモドを受け取り(Im prime)、第2群のマウスは4週目にのみイミキモドを受け取り(Im boost)、別の群のマウスは0日目と4週目にイミキモドを受け取った(im pr + boost)。

【0101】

12日目で、脾細胞を収集し、IFN- およびIL-2産生細胞をELISPOTによって評価した。結果を、図1および図2に示す。

【0102】

実施例3. HIVワクチン接種

実施例1に記載するとおりに調製したWRG7077Gag/Nefプラスミドを用いてカートリッジを製造し、免疫化およびサイトカイン産生細胞応答を、WRG7077ベクター単独またはWRG7077.gag/nefのいずれかを用いて実施例2に記載するとおりに行った。30mg/kgの用量でイミキモドを皮下投与した。追加免疫後6および11日目に、分析用に脾臓を収集した。結果を図3に示す。

【図面の簡単な説明】

【0103】

【図1】抗ova IFN- 産生脾細胞をELISPOTによって評価した結果である。

【図2】抗ova IL-2産生脾細胞をELISPOTによって評価した結果である。

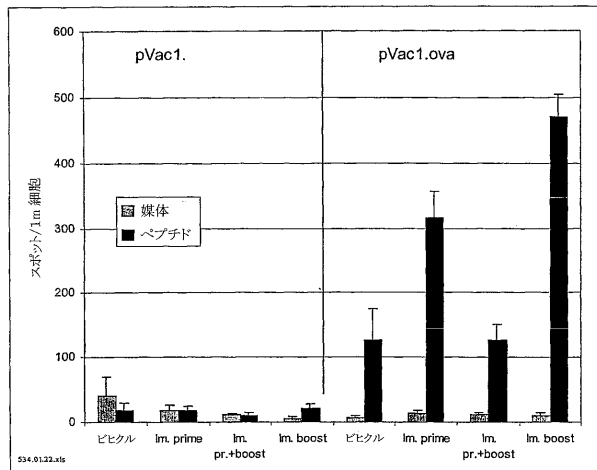
【図3】HIV特異的IFN- 産生脾細胞をELISPOTによって評価した結果である。

10

20

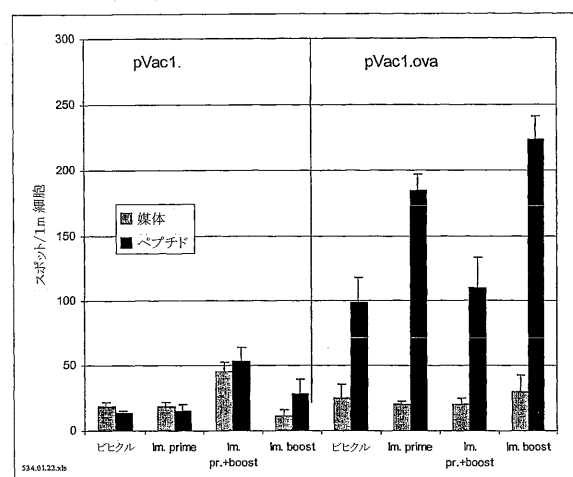
30

【図 1】

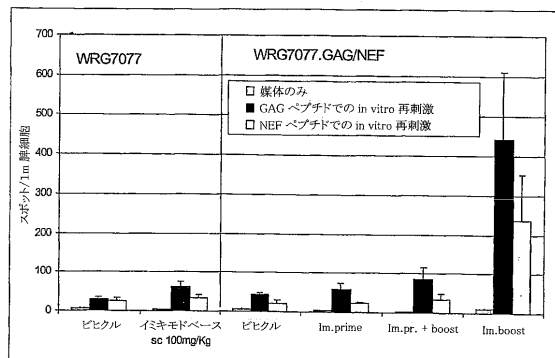
図1. 抗 OVA IFN- γ 産生脾細胞

【図 2】

図2. 抗 OVA IL-2 産生脾細胞



【図 3】

図3. 抗 HIV 特異的 IFN- γ 産生脾細胞

【手続補正書】

【提出日】平成16年2月27日(2004.2.27)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

個体へのワクチン接種方法であって、以下のステップ：

(a) 第1ワクチン組成物を個体に1回以上接種すること、ただし、前記ワクチンは抗原を含むが、イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないこと、

(b) 適切な時間の経過後、同一個体に第2ワクチン組成物を1回以上接種すること、ただし、第2ワクチン組成物は第1ワクチンと同一の抗原を含み、かつイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体と共に投与されること、

を含んでなり、前記抗原がタンパク質またはポリペプチドをコードする核酸である、上記方法。

【請求項2】

ステップ(b)の後にステップ(a)を繰り返すことをさらに含む、請求項1に記載のワクチン接種方法。

【請求項3】

イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含む第2ワクチン組成物が最終回に投与されるワクチンである、請求項1に記載のワクチン接種方法。

【請求項4】

個体に投与するための追加抗原投与のワクチン医薬品の製造におけるイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体およびタンパク質またはポリペプチドをコードする核酸からなる抗原の使用であって、前記個体が、同一抗原を含むがイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないワクチン医薬品の初回抗原投与を予め受けていることを特徴とする、上記使用。

【請求項5】

タンパク質またはポリペプチドをコードする核酸からなる抗原およびイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含むワクチン投与装置であって、同一抗原を含むがイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まないワクチンを予め接種した個体にのみ該ワクチン組成物を投与するために前記投与装置を用いることを知らせる取扱説明書と共に包装されている、上記装置。

【請求項6】

第1ワクチン組成物および第2ワクチン組成物を含むキットであって、第1ワクチン組成物と第2ワクチン組成物はタンパク質またはポリペプチドをコードする核酸からなる同一の抗原を含むが、第1ワクチン組成物はイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含まず、第2ワクチン組成物はイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を含むことを特徴とする、上記キット。

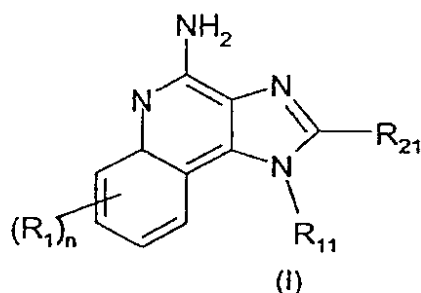
【請求項7】

抗原とイミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体を実質的に同時に投与する、請求項1に記載の方法。

【請求項8】

1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン誘導体が以下の式I~VIのうちの1つにより規定される化合物またはその製薬上許容される塩である、請求項1または2に記載の方法。

【化 1】



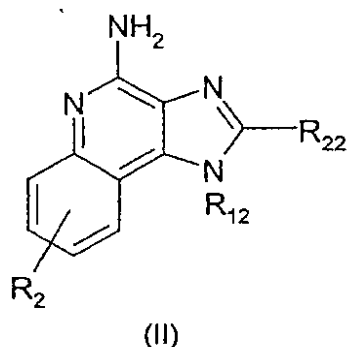
[式中、

R_{11} は、直鎖または分岐鎖のアルキル、ヒドロキシアルキル、アシルオキシアルキル、ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基は、1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシおよびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によってベンゼン環上で置換されていてもよく、ただし、該ベンゼン環が2個の前記基で置換されている場合には、これらの基は合わせて6個以下の炭素原子を含み；

R_{21} は、水素、1～約8個の炭素原子のアルキル、ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基は、1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によってベンゼン環上で置換されていてもよく、ただし、該ベンゼン環が2個の前記基で置換されている場合には、これらの基は合わせて6個以下の炭素原子を含み；

R_1 は、各々、水素、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、ハロゲンおよび1～約4個の炭素原子のアルキルからなる群から独立して選択され、 n は0～2の整数であり、ただし、 n が2である場合、 R_1 基は合わせて6個以下の炭素原子を含む]；

【化 2】



[式中、

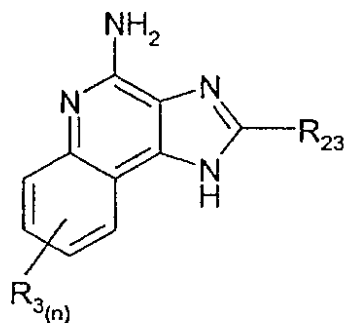
R_{12} は、2～約10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルケニルおよび2～約10個の炭素原子を含む置換された直鎖または分岐鎖アルケニルからなる群から選択され、ここで該置換基は、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖のアルキルおよび3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキル、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルで置換された3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキルからなる群から選択され；

R_{22} は、水素、1～約8個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキル、ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基は、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキル、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、およびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によりベンゼン環上で置換されていてもよく、ベンゼン環が2

個の前記基で置換される場合には、これらの基が合わせて6個以下の炭素原子を含み；

R_2 は、各々、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から独立して選択され、 n は0～2の整数であり、ただし、 n が2である場合には、これら R_2 基は合わせて6個以下の炭素原子を含む]；

【化3】



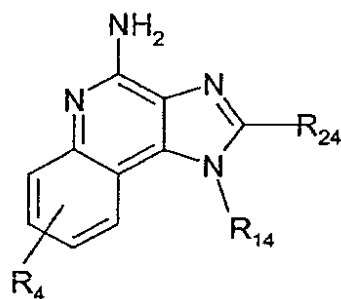
(III)

[式中、

R_{23} は、水素、1～約8個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルキル、ベンジル、(フェニル)エチルおよびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基が、1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルキル、1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルコキシおよびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によりベンゼン環上で置換されていてもよく、ただし、ベンゼン環が2個の前記基で置換される場合には、これらの基が合わせて6個以下の炭素原子を含み；

R_3 は、各々、1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子の直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から独立して選択され、 n は0～2の整数であり、ただし、 n が2である場合には、 R_3 基は合わせて6個以下の炭素原子を含む]；

【化4】



(IV)

[式中、

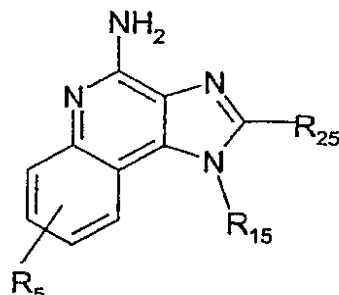
R_{14} は $-CHR_A R_B$ であり、ここで R_B は水素または炭素-炭素結合であり、ただし、 R_B が水素の場合、 R_A は1～約4個の炭素原子のアルコキシ、1～約4個の炭素原子のヒドロキシアルコキシ、2～約10個の炭素原子の1-アルキニル、テトラヒドロピラニル、アルコキシアルキル(ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約4個の炭素原子を含む)、2-、3-または4-ピリジルであり、ただし、 R_B が炭素-炭素結合である場合には、 R_B および R_A は一緒になって、ヒドロキシおよび1～約4個の炭素原子のヒドロキシアルキルからなる群から独立して選択される1個以上の置換基で置換されてもよいテトラヒ

ドロフラニル基を形成し；

R_{24} は、水素、1～約4個の炭素原子のアルキル、フェニル、および置換フェニルからなる群から選択され、ここで、該置換基は、1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から選択され；

R_4 は、水素、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から選択される]；

【化5】



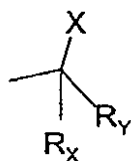
(V)

[式中、

R_{15} は、水素、1～約10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルおよび1～約10個の炭素原子を含む置換された直鎖または分岐鎖アルキル（ここで、該置換基は、3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキル、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルで置換された3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキルからなる群から選択される）、2～約10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルケニルおよび2～約10個の炭素原子を含む置換された直鎖または分岐鎖アルケニル（ここで、該置換基は、3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキル、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルで置換された3～約6個の炭素原子を含むシクロアルキルからなる群から選択される）、1～約6個の炭素原子のヒドロキシルアルキル、アルコキシルアルキル（ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約6個の炭素原子を含む）、アシルオキシルアルキル（ここで、アシルオキシ部分は2～約4個の炭素原子のアルカノイルオキシまたはベンゾイルオキシであり、アルキル部分は1～約6個の炭素原子を含む）、ベンジル、（フェニル）エチル、およびフェニルからなる群から選択され、該ベンジル、（フェニル）エチルまたはフェニル置換基は、1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から独立して選択される1または2個の基によりベンゼン環上で置換されていてもよく、ただし、該ベンゼン環が2個の前記基により置換されている場合には、これらの基は合わせて6個以下の炭素原子を含み；

R_{25} は下記式：

【化6】

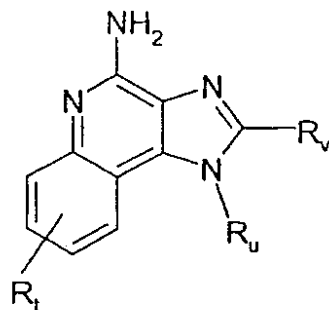


の基であり、ここで、 R_x および R_y は、水素、1～約4個の炭素原子のアルキル、フェニル、および置換フェニル（ここで、該置換基は1～約4個の炭素原子のアルキル、1～約4個の炭素原子のアルコキシ、およびハロゲンからなる群から選択される）からなる群から選択され； X は、1～約4個の炭素原子を含むアルコキシ、アルコキシルアルキル（ここで、アルコキ

シ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約4個の炭素原子を含む)、1～約4個の炭素原子のハロアルキル、アルキルアミド(ここで、アルキル基は1～約4個の炭素原子を含む)、アミノ、置換アミノ(ここで、置換基は1～約4個の炭素原子のアルキルまたはヒドロキシアルキル)、アジド、1～約4個の炭素原子のアルキルチオからなる群から選択され;

R_5 は、水素、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から選択される];

【化7】



VI

[式中、

R_t は、水素、1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルコキシ、ハロゲン、および1～約4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキルからなる群から選択され、

R_u は、2-メチルプロピルまたは2-ヒドロキシ-2-メチルプロピルであり、

R_v は、水素、1～約6個の炭素原子のアルキル、またはアルコキシアルキル(ここで、アルコキシ部分は1～約4個の炭素原子を含み、アルキル部分は1～約4個の炭素原子を含む)である]。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		PCT/EP 03/02878
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K39/39		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 083 505 A (BERNSTEIN DAVID I ET AL) 4 July 2000 (2000-07-04) the whole document	1-8
X	BERNSTEIN D I ET AL: "ADJUVANT EFFECTS OF IMIQUIMOD ON A HERPES SIMPLEX VIRUS TYPE 2 GLYCOPROTEIN VACCINE IN GUINEA PIGS" JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES, CHICAGO, IL, US, vol. 167, no. 3, March 1993 (1993-03), pages 731-735, XP001037924 ISSN: 0022-1899 abstract; figure 1; table 1 page 732, column 1 --- -/--	1-8
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *& document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
30 July 2003		12/08/2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Pinheiro Vieira, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/EP 03/02878

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HARRISON CHRISTOPHER J ET AL: "Reduction of recurrent HSV disease using imiquimod alone or combined with a glycoprotein vaccine." VACCINE, vol. 19, no. 13-14, 2001, pages 1820-1826, XP002249629 ISSN: 0264-410X abstract; figures 1,2 page 1821	1-8
X	VASILAKOS J P ET AL: "ADJUVANT ACTIVITIES OF IMMUNE RESPONSE MODIFIER R-848: COMPARISON WITH CPG ODN" CELLULAR IMMUNOLOGY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, US, vol. 204, no. 1, 25 August 2000 (2000-08-25), pages 64-74, XP001037913 ISSN: 0008-8749 abstract; figures 1-6 page 66 -page 68	1-8
A	WO 00 47719 A (3M INNOVATIVE PROPERTIES CO) 17 August 2000 (2000-08-17) the whole document	1-8
P,X	WO 02 24225 A (GLAXO GROUP LTD ;TOPLEY PETER (GB); THOMSEN LINDY LOUISE (GB); TIT) 28 March 2002 (2002-03-28) cited in the application the whole document	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/EP 03/02878

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: —
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP 03 02878

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.1

Although claims 1-4, 7 and 8 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the composition.

Continuation of Box I.1

Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/EP 03/02878

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6083505	A	04-07-2000	AT 142110 T	15-09-1996
			AU 674313 B2	19-12-1996
			AU 4048093 A	18-11-1993
			DE 69304521 D1	10-10-1996
			DE 69304521 T2	20-02-1997
			DK 636031 T3	24-02-1997
			EP 0636031 A1	01-02-1995
			ES 2092306 T3	16-11-1996
			HK 1007962 A1	30-04-1999
			HU 69993 A2	28-09-1995
			HU 9500752 A3	28-11-1995
			IL 105325 A	14-11-1996
			JP 7505883 T	29-06-1995
			KR 263804 B1	16-08-2000
			MX 9302199 A1	31-08-1994
			NO 943920 A	14-10-1994
			NZ 252020 A	21-12-1995
			NZ 280098 A	26-06-1998
			WO 9320847 A1	28-10-1993
			ZA 9302627 A	14-10-1994
WO 0047719	A	17-08-2000	US 6558951 B1	06-05-2003
			AU 2504300 A	29-08-2000
			CA 2362377 A1	17-08-2000
			EP 1153122 A2	14-11-2001
			JP 2002536013 T	29-10-2002
			NO 20013875 A	08-10-2001
			WO 0047719 A2	17-08-2000
WO 0224225	A	28-03-2002	AU 8790801 A	02-04-2002
			CA 2422863 A1	28-03-2002
			EP 1318835 A1	18-06-2003
			WO 0224225 A1	28-03-2002
			NO 20031274 A	19-05-2003

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 37/00	A 6 1 P 37/00	
A 6 1 P 37/08	A 6 1 P 37/08	

(81) 指定国 AP (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74) 代理人 100096183
弁理士 石井 貞次

(74) 代理人 100118773
弁理士 藤田 節

(72) 発明者 トムセン, リンディー, ルイーズ
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン

(72) 発明者 タイト, ジョン, フィリップ
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン

F ターム (参考) 4C085 AA38 FF12 GG01