



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103961698 A

(43) 申请公布日 2014. 08. 06

(21) 申请号 201410042825. X

A61P 37/04 (2006. 01)

(22) 申请日 2014. 01. 29

A61P 35/00 (2006. 01)

(30) 优先权数据

2013-020731 2013. 02. 05 JP

(71) 申请人 日东电工株式会社

地址 日本大阪府

(72) 发明人 前田佳己 大久保胜之 浅利大介

冈崎有道 宍户卓矢 松下恭平

李文婧 堀光彦 杉山治夫

(74) 专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事

务所(普通合伙) 11277

代理人 刘新宇 李茂家

(51) Int. Cl.

A61K 39/39 (2006. 01)

A61K 39/00 (2006. 01)

A61K 9/00 (2006. 01)

A61K 47/12 (2006. 01)

权利要求书2页 说明书57页

序列表5页

(54) 发明名称

经皮或粘膜给予用疫苗组合物

(57) 摘要

本发明涉及经皮或粘膜给予用疫苗组合物。提供一种疫苗组合物,其包含在利用抗原的经皮或经粘膜给予来进行的细胞免疫诱导中能够相对于各种抗原普遍地进行使用的细胞免疫刺激剂,该疫苗组合物的便利性高、且通过经皮或经粘膜给予而发挥高的细胞免疫诱导效果。本发明提供经皮或经粘膜给予用疫苗组合物,其用于细胞免疫诱导,所述组合物包含:(i) 抗原;以及(ii) 作为第一细胞免疫诱导促进剂的、药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐。

1. 一种经皮或经粘膜给予用疫苗组合物,其用于细胞免疫诱导,所述组合物包含:
  - (i) 抗原;以及
  - (ii) 作为第一细胞免疫诱导促进剂的、药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐。
2. 根据权利要求1所述的疫苗组合物,其中,药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐为有机酸或其药理学上容许的盐。
3. 根据权利要求2所述的疫苗组合物,其中,有机酸或其药理学上容许的盐为包含羧基的有机化合物或包含磺酸基的有机化合物、或其药理学上容许的盐。
4. 根据权利要求2所述的疫苗组合物,其中,有机酸或其药理学上容许的盐是饱和直链部分的碳数为8~20的饱和或不饱和的直链或支链脂肪酸或乳酸或苹果酸或水杨酸或马来酸或柠檬酸、或者包含磺酸基的有机化合物、或其药理学上容许的盐。
5. 根据权利要求2所述的疫苗组合物,其中,有机酸或其药理学上容许的盐为选自由癸酸、月桂酸、肉豆蔻酸、异硬脂酸、棕榈酸、硬脂酸以及油酸组成的组中的脂肪酸或乳酸或水杨酸或柠檬酸或甲磺酸、或其药理学上容许的盐。
6. 根据权利要求1~5中任一项所述的疫苗组合物,其还包含选自由TLR配体、环状二核苷酸、辅助肽、免疫调节低分子药物、环氧酶抑制剂、前列腺素受体拮抗剂、前列腺素受体激动剂、TSLP产生抑制剂、腺苷酸环化酶抑制剂、 $\omega$ -3脂肪酸、PPAR激动剂、多巴胺受体拮抗剂、多巴胺受体激动剂、组胺受体激动剂、组胺受体拮抗剂、血清素受体激动剂、血清素受体拮抗剂、加压素受体拮抗剂、加压素受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂、毒蕈碱受体激动剂、肾上腺素受体拮抗剂、肾上腺素受体激动剂、血管紧张素受体激动剂、GABA受体激动剂、凝血酶受体拮抗剂、凝血酶受体激动剂、阿片类受体激动剂、ADP受体激动剂、白三烯受体拮抗剂、白三烯受体激动剂、褪黑素受体激动剂、生长抑素受体激动剂、大麻素受体激动剂、鞘氨醇1-磷酸受体激动剂、代谢型谷氨酸受体激动剂、磷脂酶A2抑制剂、TGF- $\beta$ 产生抑制剂、以及Th2细胞因子抑制剂组成的组中的1种以上第二细胞免疫诱导促进剂。
7. 根据权利要求6所述的疫苗组合物,其中,第二细胞免疫诱导促进剂为辅助肽。
8. 根据权利要求6所述的疫苗组合物,其中,第二细胞免疫诱导促进剂为选自由TLR配体、环状二核苷酸、免疫调节低分子药物、环氧酶抑制剂、前列腺素受体拮抗剂、前列腺素受体激动剂、TSLP产生抑制剂、腺苷酸环化酶抑制剂、 $\omega$ -3脂肪酸、PPAR激动剂、多巴胺受体拮抗剂、多巴胺受体激动剂、组胺受体激动剂、组胺受体拮抗剂、血清素受体激动剂、血清素受体拮抗剂、加压素受体拮抗剂、加压素受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂、毒蕈碱受体激动剂、肾上腺素受体拮抗剂、肾上腺素受体激动剂、血管紧张素受体激动剂、GABA受体激动剂、凝血酶受体拮抗剂、凝血酶受体激动剂、阿片类受体激动剂、ADP受体激动剂、白三烯受体拮抗剂、白三烯受体激动剂、褪黑素受体激动剂、生长抑素受体激动剂、大麻素受体激动剂、鞘氨醇1-磷酸受体激动剂、代谢型谷氨酸受体激动剂、磷脂酶A2抑制剂、TGF- $\beta$ 产生抑制剂、以及Th2细胞因子抑制剂组成的组中的1种以上与辅助肽的组合。
9. 根据权利要求1~8中任一项所述的疫苗组合物,其中,抗原为选自由生存素2B肽和/或经改变的生存素2B肽、GPC3肽和/或经改变的GPC3肽、HER2/neu\_A24肽和/或经改变的HER2/neu\_A24肽、MAGE3\_A24肽和/或经改变的MAGE3\_A24肽、IPEP87肽和/或经改变的IPEP87肽、PR1肽和/或经改变的PR1肽、HER2/neu\_A02肽和/或经改变的HER2/neu\_A02肽、MAGE3\_A02肽和/或经改变的MAGE3\_A02肽、HBVenv肽和/或经改变的HBVenv

肽、以及 MUC1 肽和 / 或经改变的 MUC1 肽组成的组中的肽。

10. 根据权利要求 1 ~ 9 中任一项所述的经皮给予用疫苗组合物,其在低刺激条件下进行给予。

11. 根据权利要求 10 所述的经皮给予用疫苗组合物,其中,低刺激条件是皮肤刺激评价用动物模型的该组合物的给予前的经皮水分散发量即 TEWL 为  $50\text{g/h} \cdot \text{m}^2$  以下的条件。

12. 根据权利要求 10 或 11 所述的经皮给予用疫苗组合物,其中,低刺激条件是皮肤刺激评价用动物模型的该组合物的给予结束时的皮肤内胸腺基质淋巴细胞生成素即 TSLP 水平为  $10000\text{pg/mg}$  蛋白质以下的条件。

## 经皮或粘膜给予用疫苗组合物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及经皮或经粘膜给予用疫苗组合物。

### 背景技术

[0002] 通常广泛使用的疫苗为了诱导免疫而给予微生物或病毒等病原体或其一部分。除此之外,还有癌症疫苗,其目的在于使细胞免疫系统识别癌细胞特异性抗原,从而通过免疫体系诱导对癌细胞的特异性攻击,其用作癌症治疗手段之一。

[0003] 通常,微生物、病毒由于其尺寸的原因,其侵入会被皮肤阻止,因此,疫苗需要侵入式地给予到体内。因而,免疫通常使用注射。但是,注射存在如下的问题:疼痛、恐惧心理、注射伤痕及注射伤痕发展而成的疤痕、只有医疗工作者才能进行注射、免疫效果高的皮内注射的给予手艺难、存在医疗工作者的针扎感染事故的风险、进行反复给予时需要经常去医院而成为患者的生活负担、产生注射针等需要特殊废弃的医疗废弃物等问题,因此,其并不能说是最佳的给予途径。

[0004] 作为疫苗的给予途径,皮下或皮内注射是最一般的,除此以外,也尝试了利用各种各样的给予途径例如经皮给予(专利文献 1 及非专利文献 1)、颊部给予、鼻腔给予、舌下给予等(非专利文献 2、专利文献 2 以及专利文献 3)的免疫诱导。

[0005] 作为利用注射来进行的免疫中通常使用的佐剂,实际使用氢氧化铝、磷酸铝、氯化铝这样的铝盐;MF59、AS03 这样的包含角鲨烯的乳液等,除了这些之外,还广泛研究了鞭毛成分、核酸、细胞因子、阳离子聚合物、多肽等。作为在注射以外的途径例如利用经皮给予、经粘膜给予来进行的免疫中进行研究的佐剂,可列举出氢氧化铝、磷酸铝、氯化铝这样的铝盐;霍乱毒素、大肠杆菌不耐热肠毒素这样的毒素类等,但尚未投入使用。它们基本上都用作为了预防由病毒、细菌等引发的感染症而诱导使抗体产生的体液免疫的佐剂。另一方面,仅在细胞免疫诱导范畴内,对注射而言,研究了弗氏佐剂、Montanide、GM-CSF、IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$ ,但尚未投入使用,就经皮给予、粘膜给予而言,霍乱毒素、大肠杆菌不耐热肠毒素这样的毒素类、核酸类也处于仅存在少量报告的程度。

[0006] 现有技术文献

[0007] 专利文献

[0008] 专利文献 1:美国专利申请公开 US2008/0193487 号

[0009] 专利文献 2:日本特表 2002-531415 号公报

[0010] 专利文献 3:美国专利申请公开 US2008/0112974 号

[0011] 专利文献 4:日本特表平 7-505883 号公报

[0012] 专利文献 5:日本特表 2007-529531 号公报

[0013] 非专利文献

[0014] 非专利文献 1:Hosoi Akihiro et al., Cancer Research, 68, 3941-3949 (2008)

[0015] 非专利文献 2:Zhengrong Cui et al., Pharmaceutical Research, Vol. 19, No. 7, 947-953 (2002)

## 发明内容

### [0016] 发明要解决的问题

[0017] 作为解决与注射相关的各种问题点的手段,考虑了经皮给予和经粘膜给予。但是,尚未报告有能够在利用抗原的经皮或经粘膜给予来进行的细胞免疫诱导中使用的有效的细胞免疫诱导促进剂,经皮或经粘膜给予与注射相比有可能无法获得充分的细胞免疫诱导效果。

[0018] 因而,本发明的目的在于,提供便利性高、且通过经皮或经粘膜给予而发挥高的细胞免疫诱导效果的疫苗组合物。

### [0019] 用于解决问题的方案

[0020] 本发明人等对在利用抗原的经皮或经粘膜给予来进行的细胞免疫诱导中适合的物质进行了探索,结果发现,药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐会发挥促进细胞免疫诱导的效果。进而还发现:通过将所述酸或盐与选自 TLR 配体、环状二核苷酸、辅助肽、免疫调节低分子药物、环氧酶抑制剂、前列腺素受体拮抗剂、前列腺素受体激动剂、TSLP 产生抑制剂、腺苷酸环化酶抑制剂、 $\omega$ -3 脂肪酸、PPAR 激动剂、多巴胺受体拮抗剂、多巴胺受体激动剂、组胺受体激动剂、组胺受体拮抗剂、血清素受体激动剂、血清素受体拮抗剂、加压素受体拮抗剂、加压素受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂、毒蕈碱受体激动剂、肾上腺素受体拮抗剂、肾上腺素受体激动剂、血管紧张素受体激动剂、GABA 受体激动剂、凝血酶受体拮抗剂、凝血酶受体激动剂、阿片类受体激动剂、ADP 受体激动剂、白三烯受体拮抗剂、白三烯受体激动剂、褪黑素受体激动剂、生长抑素受体激动剂、大麻素受体激动剂、鞘氨醇 1-磷酸受体激动剂、代谢型谷氨酸受体激动剂、磷脂酶 A2 抑制剂、TGF- $\beta$  产生抑制剂、以及 Th2 细胞因子抑制剂组成的组中的 1 种以上细胞免疫诱导促进剂组合使用,细胞免疫得到显著增强。进而还发现:通过本发明的疫苗制剂的经皮或经粘膜给予,能够获得比注射给予更强的细胞免疫诱导效果。

[0021] 另外,在本发明的一个实施方式中,本发明的疫苗组合物为经皮给予用的制剂时,通过在低刺激条件下进行给予,能够进一步提高细胞免疫诱导效果。具体而言,通过在选择作为给予经皮给予用疫苗组合物前的皮肤刺激评价用动物模型的皮肤的指标的、经皮水分散发量(TEWL)( $\text{g/h} \cdot \text{m}^2$ )为 50 以下的低刺激状态的基础上,给予经皮给予用疫苗组合物,能够获得高的细胞免疫诱导效果。或者,通过将经皮给予用疫苗组合物的皮肤刺激特性设为给予结束时的皮肤刺激评价用动物模型的皮肤内 TSLP 水平( $\text{pg/mg}$  蛋白质)为 10000 以下的低刺激特性,也能够获得高的细胞免疫诱导效果。

[0022] 因此,本发明提供以下列举的实施方式:

[0023] (1) 一种经皮或经粘膜给予用疫苗组合物,其用于细胞免疫诱导,所述组合物包含:

[0024] (i) 抗原;以及

[0025] (ii) 药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐;

[0026] (2) 根据(1)所述的疫苗组合物,其中,药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐为有机酸或其药理学上容许的盐;

[0027] (3) 根据(2)所述的疫苗组合物,其中,有机酸或其药理学上容许的盐为包含羧基

的有机化合物或包含磺酸基的有机化合物、或其药理学上容许的盐；

[0028] (4) 根据(2)所述的疫苗组合物,其中,有机酸或其药理学上容许的盐是饱和直链部分的碳数为8~20的饱和或不饱和的直链或支链脂肪酸或乳酸或苹果酸或水杨酸或马来酸或柠檬酸、或者包含磺酸基的有机化合物、或其药理学上容许的盐；

[0029] (5) 根据(2)所述的疫苗组合物,其中,有机酸或其药理学上容许的盐为选自癸酸、月桂酸、肉豆蔻酸、异硬脂酸、棕榈酸、硬脂酸以及油酸组成的组中的脂肪酸或乳酸或水杨酸或柠檬酸或甲磺酸、或其药理学上容许的盐；

[0030] (6) 根据(1)~(5)中任一项所述的疫苗组合物,其还包含选自TLR配体、环状二核苷酸、辅助肽、免疫调节低分子药物、环氧酶抑制剂、前列腺素受体拮抗剂、前列腺素受体激动剂、TSLP产生抑制剂、腺苷酸环化酶抑制剂、 $\omega$ -3脂肪酸、PPAR激动剂、多巴胺受体拮抗剂、多巴胺受体激动剂、组胺受体激动剂、组胺受体拮抗剂、血清素受体激动剂、血清素受体拮抗剂、加压素受体拮抗剂、加压素受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂、毒蕈碱受体激动剂、肾上腺素受体拮抗剂、肾上腺素受体激动剂、血管紧张素受体激动剂、GABA受体激动剂、凝血酶受体拮抗剂、凝血酶受体激动剂、阿片类受体激动剂、ADP受体激动剂、白三烯受体拮抗剂、白三烯受体激动剂、褪黑素受体激动剂、生长抑素受体激动剂、大麻素受体激动剂、鞘氨醇1-磷酸受体激动剂、代谢型谷氨酸受体激动剂、磷脂酶A2抑制剂、TGF- $\beta$ 产生抑制剂、以及Th2细胞因子抑制剂组成的组中的1种以上细胞免疫诱导促进剂；

[0031] (7) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为TLR配体；

[0032] (8) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为环状二核苷酸；

[0033] (9) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为免疫调节低分子药物；

[0034] (10) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为环氧酶抑制剂；

[0035] (11) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为前列腺素受体拮抗剂,进而,前列腺素受体拮抗剂为EP2受体拮抗剂、EP4受体拮抗剂、DP受体拮抗剂、IP受体拮抗剂；

[0036] (12) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为前列腺素受体激动剂,进而,前列腺素受体激动剂为EP3受体激动剂；

[0037] (13) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为TSLP产生抑制剂；

[0038] (14) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为腺苷酸环化酶抑制剂；

[0039] (15) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为 $\omega$ -3脂肪酸；

[0040] (16) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为PPAR激动剂,进而,PPAR激动剂为PPAR- $\alpha$ 激动剂、PPAR- $\delta$ 激动剂、PPAR- $\gamma$ 激动剂；

[0041] (17) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为多巴胺受体拮抗剂,进而,多巴胺受体拮抗剂为D1受体拮抗剂、D5受体拮抗剂；

[0042] (18) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为多巴胺受体激动剂,进而,多巴胺受体激动剂为D2受体激动剂、D3受体激动剂、D4受体激动剂；

[0043] (19) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为组胺受体拮抗剂,进而,组胺受体拮抗剂为H1受体拮抗剂、H2受体拮抗剂；

[0044] (20) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为组胺受体激动剂,进而,组胺受体激动剂为 H1 受体激动剂、H3 受体激动剂、H4 受体激动剂;

[0045] (21) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为血清素受体拮抗剂,进而,血清素受体拮抗剂为 5-HT2 受体拮抗剂、5-HT4 受体拮抗剂、5-HT6 受体拮抗剂、5-HT7 受体拮抗剂;

[0046] (22) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为血清素受体激动剂,进而,血清素受体激动剂为 5-HT1 受体激动剂、5-HT2 受体激动剂;

[0047] (23) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为加压素受体拮抗剂,进而,加压素受体拮抗剂为 V2 受体拮抗剂;

[0048] (24) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为加压素受体激动剂,进而,加压素受体激动剂为 V1 受体激动剂;

[0049] (25) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为毒蕈碱受体拮抗剂,进而,毒蕈碱受体拮抗剂为 M1 受体拮抗剂、M3 受体拮抗剂、M5 受体拮抗剂;

[0050] (26) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为毒蕈碱受体激动剂,进而,毒蕈碱受体激动剂为 M1 受体激动剂、M2 受体激动剂、M3 受体激动剂、M4 受体激动剂、M5 受体激动剂;

[0051] (27) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为肾上腺素受体拮抗剂,进而,肾上腺素受体拮抗剂为  $\alpha$  1 受体拮抗剂、 $\beta$  1 受体拮抗剂、 $\beta$  2 受体拮抗剂、 $\beta$  3 受体拮抗剂;

[0052] (28) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为肾上腺素受体激动剂,进而,肾上腺素受体激动剂为  $\alpha$  1 受体激动剂、 $\alpha$  2 受体激动剂;

[0053] (29) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为血管紧张素受体激动剂,进而,血管紧张素受体激动剂为 AT2 受体激动剂;

[0054] (30) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为 GABA 受体激动剂,进而, GABA 受体激动剂为 GABA<sub>B</sub> 受体激动剂;

[0055] (31) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为凝血酶受体拮抗剂,进而,凝血酶受体拮抗剂为 PAR-1 受体拮抗剂;

[0056] (32) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为凝血酶受体激动剂,进而,凝血酶受体激动剂为 PAR-1 受体激动剂;

[0057] (33) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为阿片类受体激动剂;

[0058] (34) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为白三烯受体拮抗剂,进而,白三烯受体拮抗剂为 CysLT1 受体拮抗剂、CysLT2 受体拮抗剂;

[0059] (35) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为白三烯受体激动剂,进而,白三烯受体激动剂为 BLT 受体激动剂。

[0060] (36) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为褪黑素受体激动剂。

[0061] (37) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为生长抑素受体激动剂。

[0062] (38) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为大麻素受体激动剂。

[0063] (39) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为鞘氨醇 1- 磷酸受体激动剂。

[0064] (40) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为代谢型谷氨酸受体激动剂,进而,代谢型谷氨酸受体激动剂为 mGluR2 受体激动剂、mGluR3 受体激动剂、mGluR4 受体激动剂、mGluR6 受体激动剂、mGluR7 受体激动剂、mGluR8 受体激动剂。

[0065] (41) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为 ADP 受体激动剂;

[0066] (42) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为磷脂酶 A2 抑制剂;

[0067] (43) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为 TGF- $\beta$  产生抑制剂;

[0068] (44) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为 Th2 细胞因子抑制剂;

[0069] (45) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为辅助肽;

[0070] (46) 根据(6)所述的疫苗组合物,其中,细胞免疫诱导促进剂为选自由 TLR 配体、环状二核苷酸、免疫调节低分子药物、环氧酶抑制剂、前列腺素受体拮抗剂、前列腺素受体激动剂、TSLP 产生抑制剂、腺苷酸环化酶抑制剂、 $\omega$ -3 脂肪酸、PPAR 激动剂、多巴胺受体拮抗剂、多巴胺受体激动剂、组胺受体激动剂、组胺受体拮抗剂、血清素受体激动剂、血清素受体拮抗剂、加压素受体拮抗剂、加压素受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂、毒蕈碱受体激动剂、肾上腺素受体拮抗剂、肾上腺素受体激动剂、血管紧张素受体激动剂、GABA 受体激动剂、凝血酶受体拮抗剂、凝血酶受体激动剂、阿片类受体激动剂、ADP 受体激动剂、白三烯受体拮抗剂、白三烯受体激动剂、褪黑素受体激动剂、生长抑素受体激动剂、大麻素受体激动剂、鞘氨醇 1- 磷酸受体激动剂、代谢型谷氨酸受体激动剂、磷脂酶 A2 抑制剂、TGF- $\beta$  产生抑制剂、以及 Th2 细胞因子抑制剂组成的组中的 1 种以上与辅助肽的组合;

[0071] (47) 根据(1)~(46)中任一项所述的疫苗组合物,其中,抗原为选自由生存素 2B 肽和 / 或经改变的生存素 2B 肽、GPC3 肽和 / 或经改变的 GPC3 肽、HER2/neu\_A24 肽和 / 或经改变的 HER2/neu\_A24 肽、MAGE3\_A24 肽和 / 或经改变的 MAGE3\_A24 肽、IPEP87 肽和 / 或经改变的 IPEP87 肽、PR1 肽和 / 或经改变的 PR1 肽、HER2/neu\_A02 肽和 / 或经改变的 HER2/neu\_A02 肽、MAGE3\_A02 肽和 / 或经改变的 MAGE3\_A02 肽、HBVenv 肽和 / 或经改变的 HBVenv 肽、以及 MUC1 肽和 / 或经改变的 MUC1 肽组成的组中的肽;

[0072] (48) 根据(1)~(47)中任一项所述的经皮给予用疫苗组合物,其在低刺激条件下进行给予;

[0073] (49) 根据(48)所述的经皮给予用疫苗组合物,其中,低刺激条件是皮肤刺激评价用动物模型的给予前的经皮水分散发量(TEWL)为  $50\text{g/h} \cdot \text{m}^2$  以下的条件;以及

[0074] (50) 根据(48)或(49)所述的经皮给予用疫苗组合物,其中,低刺激条件是皮肤刺激评价用动物模型的给予结束时的皮肤内 TSLP 水平为  $10000\text{pg/mg}$  蛋白质以下的条件。

[0075] 在其它的实施方式中,本发明的疫苗组合物可以用于疾病的治疗或预防。因此,本发明还提供以下列举的实施方式:

[0076] (51) 一种癌症的治疗或预防方法,其包括将对治疗有效的量的(i) 癌抗原、以及

(ii) 药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐经皮或经粘膜给予到对象；

[0077] (52)根据(51)所述的方法,其中,癌抗原为选自由生存素 2B 肽和 / 或经改变的生存素 2B 肽、GPC3 肽和 / 或经改变的 GPC3 肽、HER2/neu\_A24 肽和 / 或经改变的 HER2/neu\_A24 肽、MAGE3\_A24 肽和 / 或经改变的 MAGE3\_A24 肽、PR1 肽和 / 或经改变的 PR1 肽、HER2/neu\_A02 肽和 / 或经改变的 HER2/neu\_A02 肽、MAGE3\_A02 肽和 / 或经改变的 MAGE3\_A02 肽、以及 MUC1 肽和 / 或经改变的 MUC1 肽组成的组中的癌抗原肽；

[0078] (53)一种病毒性疾病的治疗或预防方法,其包括将对治疗有效的量的(i)病毒抗原、以及(ii)药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐经皮或经粘膜给予到对象；以及

[0079] (54)根据(53)所述的方法,其中,病毒抗原为选自由 IPEP87 肽和 / 或经改变的 IPEP87 肽以及 HBVenv 肽和 / 或经改变的 HBVenv 肽组成的组中的肽。

[0080] 在其它的实施方式中,本发明还提供药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐作为抗原的经皮或经粘膜给予用细胞免疫刺激剂的应用。因而,本发明还提供以下的实施方式：

[0081] (55)药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐在利用经皮或经粘膜给予来进行的免疫中作为细胞免疫刺激剂的应用；以及

[0082] (56) (i)药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐与(ii)选自由 TLR 配体、环状二核苷酸、辅助肽、免疫调节低分子药物、环氧酶抑制剂、前列腺素受体拮抗剂、前列腺素受体激动剂、TSLP 产生抑制剂、腺苷酸环化酶抑制剂、 $\omega$ -3 脂肪酸、PPAR 激动剂、多巴胺受体拮抗剂、多巴胺受体激动剂、组胺受体激动剂、组胺受体拮抗剂、血清素受体激动剂、血清素受体拮抗剂、加压素受体拮抗剂、加压素受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂、毒蕈碱受体激动剂、肾上腺素受体拮抗剂、肾上腺素受体激动剂、血管紧张素受体激动剂、GABA 受体激动剂、凝血酶受体拮抗剂、凝血酶受体激动剂、阿片类受体激动剂、ADP 受体激动剂、白三烯受体拮抗剂、白三烯受体激动剂、褪黑素受体激动剂、生长抑素受体激动剂、大麻素受体激动剂、鞘氨醇 1-磷酸受体激动剂、代谢型谷氨酸受体激动剂、磷脂酶 A2 抑制剂、TGF- $\beta$  产生抑制剂、以及 Th2 细胞因子抑制剂组成的组中的 1 种以上物质的组合在利用经皮或经粘膜给予来进行的免疫中作为细胞免疫刺激剂的应用。

[0083] 另外,本发明还提供以下记载的实施方式：

[0084] (57)一种细胞免疫诱导方法,其包括将(i)抗原以及(ii)药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐经皮或经粘膜给予到对象；

[0085] (58)药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐在刺激利用抗原的经皮或经粘膜给予来进行的细胞免疫中的应用；

[0086] (59) (i)药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐与(ii)细胞免疫诱导促进剂的组合在刺激利用抗原的经皮或经粘膜给予来进行的细胞免疫中的应用,所述细胞免疫诱导促进剂选自由 TLR 配体、环状二核苷酸、辅助肽、免疫调节低分子药物、环氧酶抑制剂、前列腺素受体拮抗剂、前列腺素受体激动剂、TSLP 产生抑制剂、腺苷酸环化酶抑制剂、 $\omega$ -3 脂肪酸、PPAR 激动剂、多巴胺受体拮抗剂、多巴胺受体激动剂、组胺受体激动剂、组胺受体拮抗剂、血清素受体激动剂、血清素受体拮抗剂、加压素受体拮抗剂、加压素受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂、毒蕈碱受体激动剂、肾上腺素受体拮抗剂、肾上腺素受体激动剂、血管紧张素受体激动剂、GABA 受体激动剂、凝血酶受体拮抗剂、凝血酶受体激动剂、阿片类受体激动剂、

ADP 受体激动剂、白三烯受体拮抗剂、白三烯受体激动剂、褪黑素受体激动剂、生长抑素受体激动剂、大麻素受体激动剂、鞘氨醇 1- 磷酸受体激动剂、代谢型谷氨酸受体激动剂、磷脂酶 A2 抑制剂、TGF- $\beta$  产生抑制剂以及 Th2 细胞因子抑制剂组成的组中的 1 种以上；

[0087] (60) (i) 抗原与(ii) 药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐的组合在对抗原进行细胞免疫诱导中的应用, 该组合进行经皮或经粘膜给予；

[0088] (61) (i) 抗原、(ii) 药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐、以及(iii) 细胞免疫诱导促进剂的组合在对抗原进行细胞免疫诱导中的应用, 该组合进行经皮或经粘膜给予, 所述细胞免疫诱导促进剂选自 TLR 配体、环状二核苷酸、辅助肽、免疫调节低分子药物、环氧酶抑制剂、前列腺素受体拮抗剂、前列腺素受体激动剂、TSLP 产生抑制剂、腺苷酸环化酶抑制剂、 $\omega$ -3 脂肪酸、PPAR 激动剂、多巴胺受体拮抗剂、多巴胺受体激动剂、组胺受体激动剂、组胺受体拮抗剂、血清素受体激动剂、血清素受体拮抗剂、加压素受体拮抗剂、加压素受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂、毒蕈碱受体激动剂、肾上腺素受体拮抗剂、肾上腺素受体激动剂、血管紧张素受体激动剂、GABA 受体激动剂、凝血酶受体拮抗剂、凝血酶受体激动剂、阿片类受体激动剂、ADP 受体激动剂、白三烯受体拮抗剂、白三烯受体激动剂、褪黑素受体激动剂、生长抑素受体激动剂、大麻素受体激动剂、鞘氨醇 1- 磷酸受体激动剂、代谢型谷氨酸受体激动剂、磷脂酶 A2 抑制剂、TGF- $\beta$  产生抑制剂以及 Th2 细胞因子抑制剂组成的组中的 1 种以上；

[0089] (62) (i) 癌抗原与(ii) 药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐的组合在癌症的治疗或预防中的应用, 该组合进行经皮或经粘膜给予；

[0090] (63) (i) 病毒抗原与(ii) 药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐的组合在病毒性疾病的治疗或预防中的应用, 该组合进行经皮或经粘膜给予；

[0091] (64) (i) 抗原和(ii) 药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐在用于诱导细胞免疫的经皮或经粘膜给予用疫苗组合物的制造中的应用；

[0092] (65) (i) 癌抗原和(ii) 药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐在用于癌症的治疗或预防的经皮或经粘膜给予用疫苗组合物的制造中的应用；以及

[0093] (66) (i) 病毒抗原和(ii) 药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐在用于病毒性疾病的治疗或预防的经皮或经粘膜给予用疫苗组合物的制造中的应用。

#### [0094] 发明的效果

[0095] 本发明的疫苗组合物由于能够经皮给予或经粘膜给予(尤其是包括舌下粘膜的口腔粘膜给予)而具有以下优点: 优异的依从性, 例如非侵入式给予、无痛、不产生对注射的恐惧、因给予方便而患者可以自行给予、还可以避免医务工作者的针扎感染事故的风险、能够减少反复给予时的去医院的频率而有助于提高患者的生活品质、不产生注射针这样的需要特殊废弃的医疗废弃物。另外, 为巴布剂、带状制剂(tapes) 等贴剂形态时, 具有能够可靠地给予规定的给予量、能够任意地控制药物释放速度、并且给予时不会附着在其它部位的优点。进而, 贴剂可以容易地贴附 / 撕除, 因此, 还具有在产生副作用时等自应用部位除去贴剂从而患者自己便能立即终止给予的优点。进而, 本发明的疫苗组合物还具有与单独给予抗原相比效能显著提高的优点。进而, 本发明的疫苗组合物的效能还具有与注射给予相比诱导更强的细胞免疫的优点。

## 具体实施方式

[0096] 为了更容易理解本发明,定义本说明书中使用的术语。未进行定义的术语只要没有上下文不同的启示就表示本领域技术人员、尤其是医学、药学、免疫学、细胞生物学、生物化学、高分子化学等领域的从业者所通常理解的意思。

### [0097] I. 定义

[0098] 在本说明书中使用,术语“抗原”是指能够诱导免疫应答的所有物质,例如可列举出蛋白质、肽等。在要求抗原的皮肤渗透性或粘膜渗透性的经皮或经粘膜给予中,优选使用分子量小的抗原,例如可以使用由约 8 ~ 约 12 个氨基酸构成的肽。在本发明中,例如可以将以下记载的生存素 2B 肽、GPC3 肽、HER2/neu\_A24 肽、MAGE3\_A24 肽、IPEP87 肽、PR1 肽、HER2/neu\_A02 肽、MAGE3\_A02 肽、HBVenv 肽、HER2/neu E75 肽、MUC1 肽等用作抗原。在一个实施方式中,本发明的疫苗组合物中使用的抗原不包含选自由癌症疫苗用途的 WT1 肽、以及癌症疫苗用途的经改变的 WT1 肽组成的组中的 1 种以上的肽。在一个实施方式中,本发明的疫苗组合物中使用的抗原不包括选自由癌症疫苗用途的 HER2/neu E75 肽和 / 或癌症疫苗用途的经改变的 HER2/neu E75 肽组成的组中的 1 种以上的肽。

[0099] 在本说明书中使用,术语“生存素 2B 肽”是指由序列 Ala Tyr Ala Cys Asn Thr Ser Thr Leu (序列号 1) 构成的、来源于癌基因产物生存素的肽。

[0100] 在本说明书中使用,术语“GPC3 肽”是指由序列 Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu Glu Leu (序列号 2) 构成的、来源于癌基因产物 GPC3 的肽。

[0101] 在本说明书中使用,术语“HER2/neu\_A24 肽”是指由序列 Thr Tyr Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu (序列号 3) 构成的、来源于癌基因产物 HER2/neu 的 HLA-A24 限制性肽。

[0102] 在本说明书中使用,术语“MAGE3\_A24 肽”是指由序列 Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile (序列号 4) 构成的、来源于癌基因产物 MAGE3 的 HLA-A24 限制性肽。

[0103] 在本说明书中使用,术语“IPEP87 肽”是指由序列 Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Ala Val (序列号 5) 构成的、来源于丙型肝炎病毒(HCV)蛋白质的肽。

[0104] 在本说明书中使用,术语“PR1 肽”是指由序列 Val Leu Gln Glu Leu Asn Val Thr Val (序列号 6) 构成的、来源于癌基因产物蛋白酶 -3 的肽。

[0105] 在本说明书中使用,术语“HER2/neu\_A02 肽”是指由序列 Lys Val Phe Gly Ser Leu Ala Phe Val (序列号 7) 构成的、来源于癌基因产物 HER2/neu 的 HLA-A02 限制性肽。

[0106] 在本说明书中使用,术语“MAGE3\_A02 肽”是指由序列 Lys Val Ala Glu Ile Val His Phe Leu (序列号 8) 构成的、来源于癌基因产物 MAGE3 的 HLA-A02 限制性肽。

[0107] 在本说明书中使用,术语“HBVenv 肽”是指由序列 Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val (序列号 9) 构成的、来源于乙型肝炎病毒(HBV)蛋白质的肽。

[0108] 在本说明书中使用,术语“HER2/neu E75 肽”是指由序列 Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu (序列号 10) 构成的、来源于癌基因 HER2/neu 的产物(HER2 蛋白质)的肽。

[0109] 在本说明书中使用,术语“MUC1 肽”是指由序列 Ser Thr Ala Pro Pro Val His Asn Val (序列号 11) 构成的、来源于在多个癌细胞上高度表达的糖蛋白即 MUC1 蛋白的肽。

[0110] 在本说明书中使用,术语“WT1 肽”是指由癌基因 WT1 (Wilm's 肿瘤)的产物 WT1 蛋白片段化而得到的、由约 8 ~ 约 15 个、优选约 8 ~ 约 12 个氨基酸构成的部分肽,其中包括 Db126 肽、Db235 肽(均记载在日本专利第 4422903 号公报中)等。另外,W02000/06602 中公

开的 WT1 产物的部分肽、W02005/095598 中记载的来源于 WT1 的 HLA-A26 结合性癌抗原肽、W02007/097358 中记载的 HLA-A \* 3303 限制性 WT1 肽、及 W02008/081701 中记载的 HLA-A \* 1101 限制性 WT1 肽也包含在本说明书的“WT1 肽”中。

[0111] 在本说明书中使用时,术语“经改变的 XX 肽”(XX 为任意肽的名称)是指 XX 肽的全部或部分氨基酸通过置换、修饰等而被改变了的肽。

[0112] 经改变的 XX 肽包括例如:

[0113] (a)由在 XX 肽的氨基酸序列中置换、缺失或附加 1 个~数个、例如 1 个、2 个、3 个、4 个或 5 个氨基酸而得到的氨基酸序列构成的肽;及

[0114] (b)由在 XX 肽的氨基酸序列中全部或部分氨基酸、例如 1 个或多个、例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个、9 个或 10 个氨基酸经过修饰而得到的氨基酸序列构成的肽。

[0115] 作为经改变的 XX 肽可以具有的氨基酸的“修饰”,并不限于此,例如可以列举出乙酰化、甲基化等烷基化、糖基化、羟基化、羧基化、醛化、磷酸化、磺酰化、甲酰化、豆蔻酰化、棕榈酰化、硬脂酰化这样的脂肪链附加修饰、辛酰化、酯化、酰胺化、脱酰胺化、胱氨酸修饰、谷胱甘肽修饰、巯基乙酸修饰这样的二硫键形成修饰、糖化、泛素化、琥珀酰亚胺形成、谷酰化、异戊二烯化等。经改变的 XX 肽也可以包含组合 1 个以上氨基酸的置换、缺失或附加、和 1 个以上氨基酸的修饰。

[0116] 在优选的实施方式中,本发明的经皮给予用疫苗组合物所含有的抗原为选自由生存素 2B 肽和 / 或经改变的生存素 2B 肽、GPC3 肽和 / 或经改变的 GPC3 肽、HER2/neu\_A24 肽和 / 或经改变的 HER2/neu\_A24 肽、MAGE3\_A24 肽和 / 或经改变的 MAGE3\_A24 肽、IPEP87 肽和 / 或经改变的 IPEP87 肽、PR1 肽和 / 或经改变的 PR1 肽、HER2/neu\_A02 肽和 / 或经改变的 HER2/neu\_A02 肽、MAGE3\_A02 肽和 / 或经改变的 MAGE3\_A02 肽、HBVenv 肽和 / 或经改变的 HBVenv 肽、以及 MUC1 肽和 / 或经改变的 MUC1 肽组成的组中的肽。或者,作为抗原可以使用 HER2/neu E75 肽和 / 或经改变的 HER2/neu E75 肽。

[0117] 上述列举的肽可以为游离形态或药理学上容许的任意的盐形态,例如酸盐(醋酸盐、TFA 盐、盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、马来酸盐、富马酸盐、草酸盐、氢溴酸盐、琥珀酸盐、硝酸盐、苹果酸盐、柠檬酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、丙酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、苦味酸盐、苯磺酸盐、十二烷基硫酸盐、甲磺酸盐、对甲苯磺酸盐、戊二酸盐、各种氨基酸盐等)、金属盐(碱金属盐(例如钠盐、钾盐)、碱土金属盐(例如钙盐、镁盐)、铝盐等)、胺盐(三乙胺盐、苄胺盐、二乙醇胺盐、叔丁胺盐、二环己胺盐、精氨酸盐、二甲基铵盐、铵盐等)的形态。优选的药理学上容许的盐为醋酸盐或 TFA 盐。本发明中能够用作抗原的上述肽可以使用利用公知的方法来合成或生产、并进行分离及精制而得到的肽。

[0118] 在本说明书中使用时,术语“细胞免疫诱导促进剂”是指能够使一同给予的抗原的诱导细胞免疫的效率与没有给予其时的效率相比得到改善的所有物质,不受促进细胞免疫诱导的作用机制限定,是指本申请说明书中特定的物质。

[0119] 在本说明书中使用时,本发明的组合物含有的作为第一细胞免疫诱导促进剂的、“药理学上容许的酸”是指不对给予对象产生有害的作用、且不会使该组合物中的成分的药理活性消失的酸。本发明的优选的实施方式中,药理学上容许的酸为有机酸,更优选为包含羧基的有机化合物或包含磺酸基的有机化合物,进一步优选为饱和直链部分的碳数为 8 ~

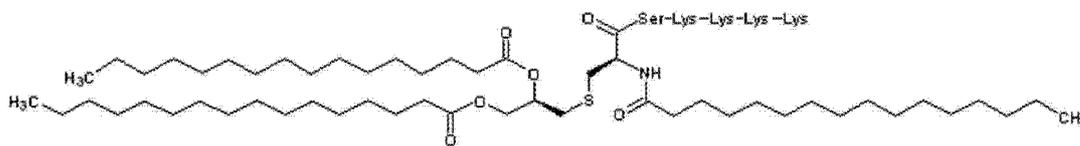
20 的饱和或不饱和的直链或支链脂肪酸或乳酸或苹果酸或水杨酸或马来酸或柠檬酸、或包含磺酸基的有机化合物,更进一步优选为饱和直链部分的碳数为 8 ~ 16 的饱和或不饱和的直链或支链脂肪酸或乳酸或苹果酸或水杨酸或马来酸或柠檬酸、或包含磺酸基的有机化合物,再进一步优选为选自自由癸酸、月桂酸、肉豆蔻酸、异硬脂酸、棕榈酸、硬脂酸以及油酸组成的组中的脂肪酸、或乳酸或水杨酸或柠檬酸或甲磺酸。

[0120] 在本说明书中使用,本发明的组合物中可含有的“药理学上容许的盐”是指不对给予对象产生有害的作用、且不会使该组合物中的成分的药理活性消失的盐,包括无机酸盐(例如盐酸盐、磷酸盐)、有机酸盐(例如醋酸盐、邻苯二甲酸盐、TFA 盐)、金属盐(碱金属盐(例如钠盐、钾盐)、碱土金属盐(例如钙盐、镁盐)、铝盐等)、胺盐(三乙胺盐、苄胺盐、二乙醇胺盐、叔丁胺盐、二环己胺盐、精氨酸盐、二甲基铵盐、铵盐等),但并不限于此。

[0121] 在本说明书中使用,术语“TLR 配体”是指 Toll 样受体(TLR)的配体,例如包括 TLR1 ~ 9 的配体。作为 TLR 配体,可列举出 TLR1 及 TLR2 的异质二聚体配体(TLR1/2 配体)、TLR2 及 TLR6 的异质二聚体配体(TLR2/6 配体)、TLR2 及 Dectin1 配体、TLR3 配体、TLR4 配体、TLR5 配体、TLR7 和 / 或 TLR8 配体、TLR9 配体等,在本发明中均可用作细胞免疫诱导促进剂。本发明的优选的实施方式中,TLR 配体为 TLR1/2 配体、TLR2 及 Dectin1 配体、TLR3 配体、TLR4 配体、TLR7 和 / 或 TLR8 配体、和 / 或 TLR9 配体。

[0122] 在本说明书中使用,术语“TLR1/2 配体”是指 Toll 样受体(TLR) 1 及 Toll 样受体(TLR) 2 的异质二聚体的配体,例如包括来源于细菌的细胞壁的三酰化脂蛋白及其盐,它们也可以是提取物、生成物或合成品,但并不限于它们。

[0123] 本发明的优选的实施方式中,TLR1/2 配体为 Pam3CSK4。Pam3CSK4 具有式 [0124]



[0125] 在本说明书中使用,术语“TLR2 及 Dectin1 配体”是指 Toll 样受体(TLR) 2 及  $\beta$  1, 3- 葡聚糖受体(Dectin1)的配体,例如包括来源于真菌的细胞壁的  $\beta$  1, 3- 葡聚糖及其盐,它们也可以是提取物、生成物或合成品,但并不限于它们。本发明的优选的实施方式中,TLR2 及 Dectin1 配体为来源于酵母细胞壁的酵母多糖。

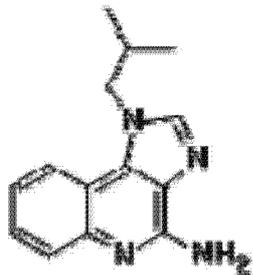
[0126] 在本说明书中使用,术语“TLR3 配体”是指 Toll 样受体(TLR) 3 的配体,例如包括来源于病毒的双链 RNA(dsRNA)及其盐,它们也可以是提取物、生成物或合成品,但并不限于它们。本发明的优选的实施方式中,TLR3 配体为作为合成品的聚肌胞苷酸(Poly (I : C)) 和 / 或其盐。

[0127] 在本说明书中使用,术语“TLR4 配体”是指 Toll 样受体(TLR) 4 的配体,包括例如来源于细菌或者植物的脂多糖(LPS)、特别是脂质 A 衍生物例如单磷酸基脂质 A、3- 脱酰基单磷酸基脂质 A (3D-MPL)、OM174、OM294DP 或者 OM197MP-Ac DP 等、烷基氨基葡萄糖苷磷酸酯(AGP)、例如 W09850399 或者 US6303347 中公开的 AGP 或 US6764840 中公开的 AGP 的盐,另外,还包括来源于成团泛菌的脂多糖、吡喃葡萄糖基脂(glucopyranosyl lipid)、透明质酸钠,但并不限于这些。

[0128] 本发明的优选的实施方式中, TLR4 配体优选来源于醋酸杆菌属(例如醋化醋酸杆菌、木醋杆菌、东方醋酸菌等)、发酵单胞菌属(例如运动发酵单胞菌等)、黄单胞菌属(例如野油菜黄单胞菌等)、肠杆菌属(例如阴沟肠杆菌等)、泛菌属(例如成团泛菌等)的脂多糖。来源于这些脂多糖的提取物或精制的脂多糖也可以直接使用。另外,例如来源于成团泛菌的脂多糖(IP-PA1)可以自 Funakoshi Corporation 买入。另外,本发明的优选的实施方式中, TLR4 配体为来源于成团泛菌的脂多糖、吡喃葡萄糖基脂、和 / 或透明质酸钠。

[0129] 在本说明书中使用时, 术语“TLR7 和 / 或 TLR8 配体”是指 Toll 样受体(TLR) 7 和 / 或 TLR8 的配体, 包括例如单链 RNA、咪喹莫特、雷西莫特(R848)、TLR7-II 及其它化合物、例如洛索立宾及溴匹立明, 但并不限于这些。

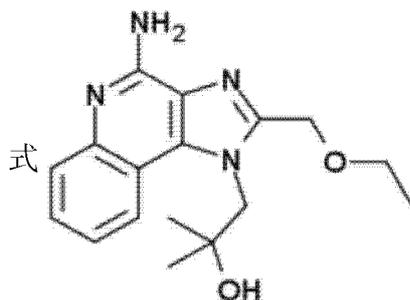
[0130] 本发明的优选的实施方式中, TLR7 和 / 或 TLR8 配体为咪喹莫特。咪喹莫特为式



的 1-(2-甲基丙基)-1H-咪唑并 [4,5-c] 喹啉-4-胺, 例如日本特表

平 7-505883 号公报(专利文献 4) 中记载有其特征及制造方法。

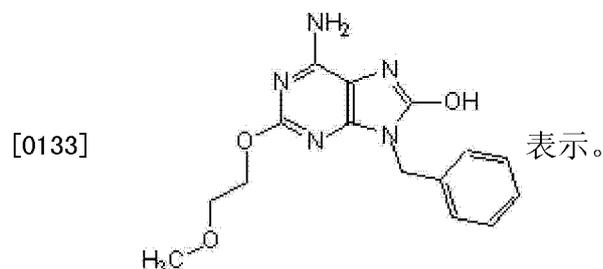
[0131] 在其它的优选的实施方式中, TLR7 和 / 或 TLR8 配体为雷西莫特。雷西莫特为



式 的 4-氨基-2-(乙氧基甲基)- $\alpha, \alpha$ -二甲基-1H-咪唑并

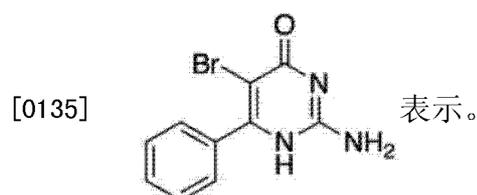
[4,5-c] 喹啉-1-乙醇。

[0132] 在其它的优选的实施方式中, TLR7 和 / 或 TLR8 配体为 TLR7-II。TLR7-II 用式



[0133] 表示。

[0134] 在其它的优选的实施方式中, TLR7 和 / 或 TLR8 配体为溴匹立明。溴匹立明用式



[0135] 表示。

[0136] 在本说明书中使用时,术语“TLR9 配体”是指 To11 样受体(TLR)9 的配体,例如包括 ODN1826 等。本发明中使用的 TLR9 配体可以是提取物、生成物或合成品,但并不限于它们。本发明的优选的实施方式中,TLR9 配体为 ODN1826。

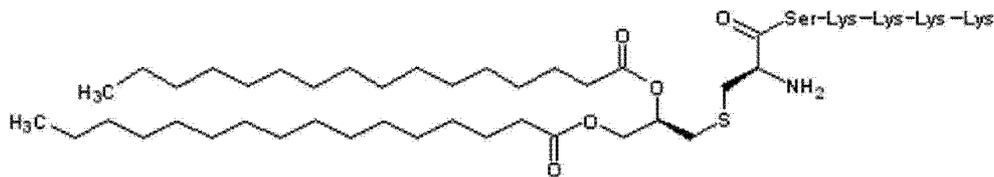
[0137] ODN1826 是包含以下的序列(序列号 12)的寡聚脱氧核苷酸。

[0138] 5' - t c c a t g a c g t t c c t g a c g t t - 3'

[0139] 在本说明书中使用时,术语“TLR2/6 配体”是指 To11 样受体(TLR)2 及 To11 样受体(TLR)6 的异质二聚体的配体,例如包括来源于支原体的细胞壁的二酰化脂蛋白及其盐,它们可以是提取物、生成物或合成品,但并不限于它们。本发明的优选的实施方式中,TLR2/6 配体为 Pam<sub>2</sub>CSK<sub>4</sub>、MALP-2 和 / 或 FSL-1。

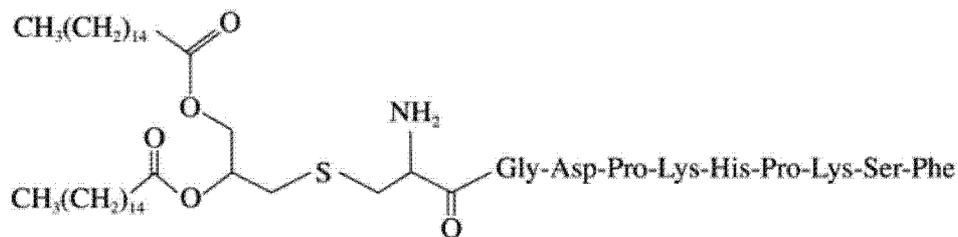
[0140] Pam<sub>2</sub>CSK<sub>4</sub> 用下式表示。

[0141]



[0142] FSL-1 用下式表示。

[0143]



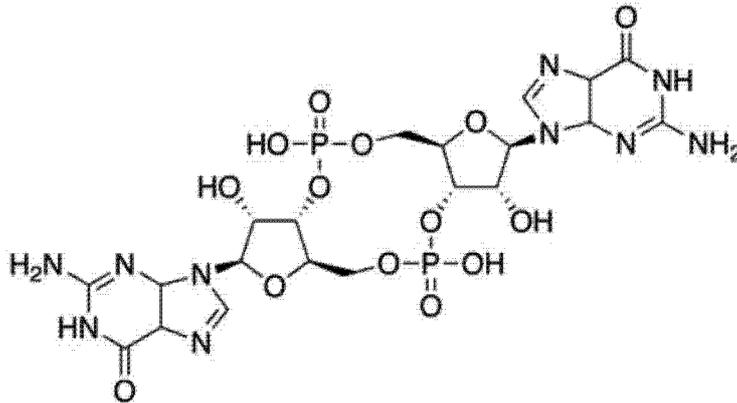
[0144] 在本说明书中使用时,术语“TLR5 配体”是指 To11 样受体(TLR)5 的配体,例如包括鞭毛蛋白等。本发明中使用的 TLR5 配体可以是提取物、生成物或合成品,但并不限于它们。本发明的优选的实施方式中,TLR5 配体为鞭毛蛋白。

[0145] To11 样受体(TLR)是通过其体内激活而引发特异性细胞因子、趋化因子及生长因子参与的先天性免疫应答的 I 型跨膜蛋白的家族。所有的 TLR 都能够激活固定的细胞内信号传递分子、例如核因子  $\kappa$  B (NF- $\kappa$  B) 及丝裂原激活蛋白激酶(MAP 激酶)等,并且,释放出的细胞因子及趋化因子的特异性集合体是各 TLR 特有的。TLR3、7、8、及 9 包含存在于免疫细胞(树突状细胞及单核细胞等)的内涵体区室或溶酶体区室中的 TLR 的亚族。具体而言,TLR3 由树突状细胞、成纤维细胞等大范围的细胞表达,TLR7 由浆细胞样树突状细胞表达,并且较少的程度由单核细胞表达,TLR8 由单核细胞以及来源于单核细胞的树突状细胞及髓样树突状细胞表达,TLR9 由浆细胞样树突状细胞表达。该亚族介导微生物核酸(单链 RNA、双链 RNA、单链 DNA 等)的识别。TLR3、TLR7 和 / 或 TLR8、TLR9 的激动剂刺激各种促炎细胞因子(例如包括白介素 -6、白介素 -12、TNF- $\alpha$ 、及干扰素 - $\gamma$ )的产生。该激动剂还促进协同刺激分子(例如 CD40、CD80、及 CD86 等)、主要组织相容性复合体分子、及趋化因子受体的表达的增加。I 型干扰素(IFN $\alpha$  及 IFN $\beta$ )在利用 TLR7 和 / 或 TLR8 激动剂激活时由细胞产生。

[0146] 在本说明书中使用时,术语“环状二核苷酸”是指 2 个核苷酸的糖部分的 2 个

OH 基分别与同一磷酸分子生成酯并环化而得到的分子及其类似物,例如包括环状二 AMP (c-di-AMP)、环状二 GMP (c-di-GMP)、c-dGpGp、c-dGpdGp、c-GpAp、c-GpCp、c-GpUp 等,但并不限于它们。环状二核苷酸激活树突状细胞或 T 细胞。环状二核苷酸的进一步的例子、能够将它们作为佐剂使用、及它们的制造方法记载在日本特表 2007-529531 号公报(专利文献 5)中。本发明的优选的实施方式中,环状二核苷酸为环状二 GMP 和 / 或环状二 AMP。环状二 GMP 具有下式

[0147]



[0148] 在 Kawai et al., *Nucleic Acids Research Suppl.* 3 :103-4 中记载有其合成方法。

[0149] 在本说明书中使用时,术语“辅助肽”是指激活辅助性 T 细胞的所有肽,例如包括来源于结核菌的辅助肽、来源于麻疹病毒的辅助肽、来源于乙型肝炎病毒的辅助肽、来源于丙型肝炎病毒的辅助肽、来源于沙眼衣原体的辅助肽、来源于热带恶性疟原虫孢子的辅助肽、来源于钥孔虫凝血蛋白的辅助肽、来源于破伤风毒素的辅助肽、来源于百日咳毒素的辅助肽、来源于白喉毒素的辅助肽、来源于癌细胞的辅助肽(例如,IMA-MMP-001 辅助肽、CEA-006 辅助肽、MMP-001 辅助肽、TGFBI-004 辅助肽、HER-2/neu (aa776-790)辅助肽、AE36 辅助肽、AE37 辅助肽、MET-005 辅助肽、BIR-002 辅助肽等)、通用辅助类似物(例如 PADRE)。本发明的优选的实施方式中,辅助肽由 10 ~ 18 个氨基酸、优选 12 ~ 16 个氨基酸、更优选 13 ~ 15 个氨基酸构成。

[0150] 本发明的优选的实施方式中,辅助肽为 Peptide-25 或经改变的 Peptide-25 或 PADRE。经改变的 Peptide-25 的一例是 Peptide-25B。Peptide-25 是与作为由人型结核菌(结核分枝杆菌)分泌的主要蛋白质之一的 Ag85B 的氨基酸残基 240 ~ 254 相对应的、由序列 Phe Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Gly Gly His Asn Ala Val Phe (序列号 13) 构成的 15 个氨基酸的肽。Peptide-25B 是为了提高细胞免疫刺激效果而改变了 Peptide-25 的一部分氨基酸的、经改变的 Peptide-25 的一例,是由序列 Phe Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Val His Ala Ala His Ala Val Phe (序列号 14) 构成的 15 个氨基酸的肽。PADRE 是由序列 D-Ala Lys 环己基 -Ala Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala D-Ala 构成的 13 个氨基酸的肽(本申请中,表示为序列号 15)。

[0151] 另外,本发明中,也可以代替上述的辅助肽、或与其组合而使用该辅助肽的全部或部分氨基酸通过置换、修饰等而被改变了的肽(以下称为“经改变的辅助肽”)。

[0152] 经改变的辅助肽包括例如:

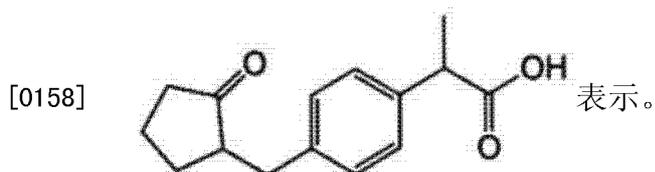
[0153] (a) 由在原始的辅助肽的氨基酸序列中置换、缺失或附加 1 个~数个、例如 1 个、2 个、3 个、4 个或 5 个氨基酸而得到的氨基酸序列构成的肽；及

[0154] (b) 由在原始的辅助肽的氨基酸序列中全部或部分氨基酸、例如 1 个或多个、例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个、9 个、10 个、11 个、12 个、13 个、14 个或 15 个氨基酸经过修饰而得到的氨基酸序列构成的肽。

[0155] 作为经改变的辅助肽可以具有的氨基酸的“修饰”，并不限于于此，例如可以列举出：乙酰化、甲基化等烷基化、糖基化、羟基化、羧基化、醛化、磷酸化、磺酰化、甲酰化、豆蔻酰化、棕榈酰化、硬脂酰化这样的脂肪链附加修饰、辛酰化、酯化、酰胺化、脱酰胺化、胱氨酸修饰、谷胱甘肽修饰、巯基乙酸修饰这样的二硫键形成修饰、糖化、泛素化、琥珀酰亚胺形成、谷酰化、异戊二烯化等。另外，经改变的辅助肽也可以包含组合 1 个以上氨基酸的置换、缺失或附加、和 1 个以上氨基酸的修饰。

[0156] 在本说明书中使用时，术语“环氧酶抑制剂”是抑制环氧酶(COX)的功能的物质。以下也称为“COX 抑制剂”。COX 抑制剂有选择性作用于特定的环氧酶(例如 COX-1、COX-2)的抑制剂、不具有选择性的抑制剂。作为本发明中可以使用的 COX 抑制剂，可以列举出：依托度酸、洛索洛芬、塞来昔布、伐地昔布、帕瑞昔布、罗美昔布、美洛昔康、替诺昔康、双氯芬酸、甲芬那酸、托芬那酸、氟芬那酸、甲氯芬那酸、尼氟灭酸、苄达明、吲哚布芬、三氟醋柳酸、托美丁、非诺洛芬、噻洛芬酸、联苯乙酸、奈帕芬胺、氨芬酸、普拉朵林、扎托布洛芬、舒林酸、萘丁美酮、二氟尼柳、吡罗昔康、布洛芬、萘普生、非诺洛芬、阿司匹林、水杨酸甲酯、水杨酸酰胺、双水杨酸酯、阿洛普令、托美丁、吲哚美辛、丙谷美辛、阿西美辛、氟比洛芬、普拉洛芬、对乙酰氨基酚、夫洛非宁、氯诺昔康、替诺昔康、噻洛芬酸、奥沙普秦、酮洛芬、右酮洛芬、右布洛芬、阿明洛芬、酮咯酸、莫苯唑酸、保泰松、羟基保泰松、酮基保泰松、非普拉宗、Phenbutazone、乙柳酰胺、噻拉米特、替诺立定、依匹唑、依莫法宗及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。本发明的优选的实施方式中，COX 抑制剂为依托度酸和 / 或洛索洛芬。

[0157] 洛索洛芬用式

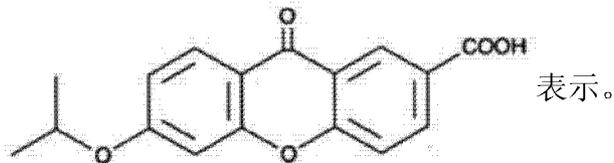


[0159] 在本说明书中使用时，术语“前列腺素受体拮抗剂”是指具有妨碍前列腺素作用于受体的功能的物质，例如包括 EP2 受体拮抗剂、EP4 受体拮抗剂、DP 受体拮抗剂、IP 受体拮抗剂。

[0160] 在本说明书中使用时，术语“EP2 受体拮抗剂”是指具有妨碍前列腺素 E2 作用于 EP2 受体的功能的物质。作为 EP2 受体拮抗剂，可以列举出 AH6809 及其衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0161] AH6809 用式

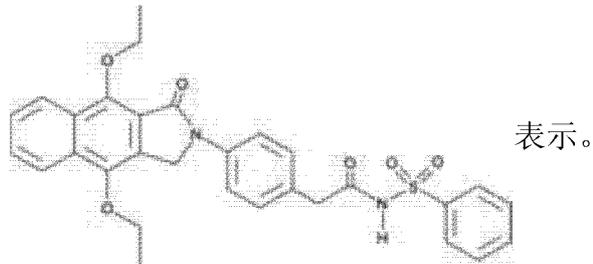
[0162]



[0163] 在本说明书中使用时,术语“EP4 受体拮抗剂”是指具有妨碍前列腺素 E2 作用于 EP4 受体的功能的物质。作为 EP4 受体拮抗剂,可以列举出 GW627368X 及其衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0164] GW627368X 用式

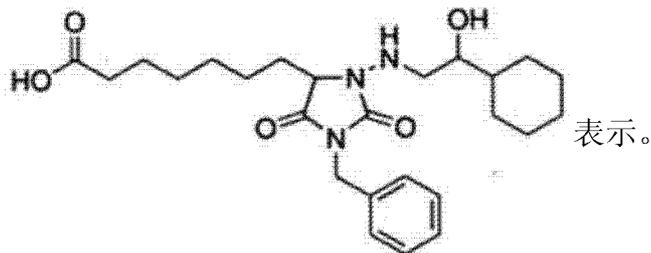
[0165]



[0166] 在本说明书中使用时,术语“DP 受体拮抗剂”是指具有妨碍前列腺素 D2 作用于 DP 受体的功能的物质。作为 DP 受体拮抗剂,可以列举出 S-5751、BWA868C 及其衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0167] BWA868C 用式

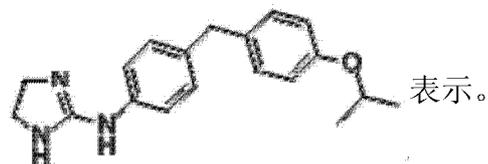
[0168]



[0169] 在本说明书中使用时,术语“IP 受体拮抗剂”是指具有妨碍前列腺素 I2 作用于 IP 受体的功能的物质。作为 IP 受体拮抗剂,可以列举出 R01138452 及其衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0170] R01138452 用式

[0171]

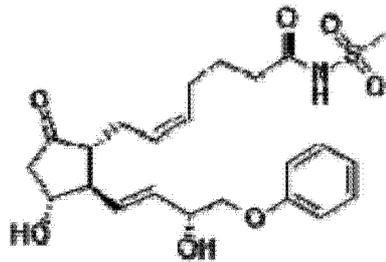


[0172] 在本说明书中使用时,术语“前列腺素受体激动剂”是指具有该物质自身作用于前列腺素受体的功能的物质,例如包括 EP3 受体激动剂。

[0173] 在本说明书中使用时,术语“EP3 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 EP3 受体的功能的物质。作为 EP3 受体激动剂,可以列举出:噻普酮、GR63799、氯前列醇、ONO-AE-248、卡巴环素、及其衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0174] 噻普酮用式

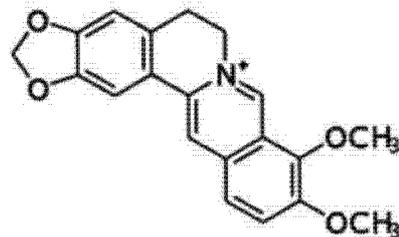
[0175]



表示。

[0176] 在本说明书中使用时,术语“TSLP 产生抑制剂”是指具有抑制 TSLP 产生的功能的物质。作为 TSLP 产生抑制剂,可以列举出柚皮素、小檗碱、白藜芦醇、木樨草素、芹黄素、金圣草黄素、维露汀(velutin)、芦丁、橙皮苷、槲皮素、大豆苷元、染料木素及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0177] 小檗碱用式

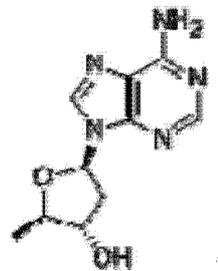


[0178]

表示。

[0179] 在本说明书中使用时,术语“腺苷酸环化酶抑制剂”是指具有抑制腺苷酸环化酶的活性的功能的物质。作为腺苷酸环化酶抑制剂,可以列举出 2', 5' - 双脱氧腺苷、烟酸、胰岛素、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0180] 2', 5' - 双脱氧腺苷用式

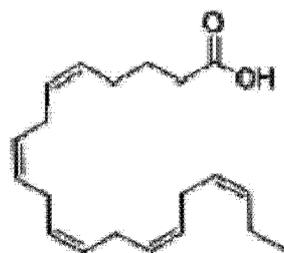


[0181]

表示。

[0182] 在本说明书中使用时,术语“ $\omega$ -3 脂肪酸”为不饱和脂肪酸的分类的一种,表示在  $\omega$ -3 位具有碳-碳双键的物质。作为  $\omega$ -3 脂肪酸,可以列举出二十碳五烯酸、 $\alpha$ -亚麻酸、二十二碳六烯酸、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0183] 二十碳五烯酸用式



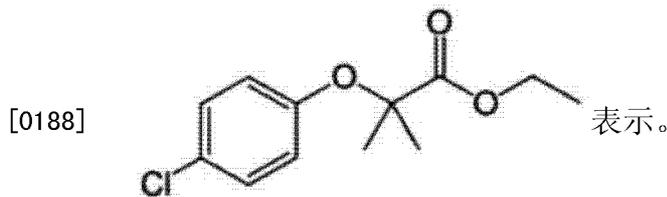
[0184]

表示。

[0185] 在本说明书中使用时,术语“PPAR 激动剂”是指具有该物质自身作用于过氧化物酶体增植物激活受体的功能的物质,例如包括 PPAR- $\alpha$  激动剂、PPAR- $\delta$  激动剂、PPAR- $\gamma$  激动剂。

[0186] 在本说明书中使用时,术语“PPAR- $\alpha$  激动剂”是指具有该物质自身作用于  $\alpha$  型过氧化物酶体增殖物激活受体的功能的物质。术语“PPAR- $\delta$  激动剂”是指具有该物质自身作用于  $\delta$  型过氧化物酶体增殖物激活受体的功能的物质。术语“PPAR- $\gamma$  激动剂”是指具有该物质自身作用于  $\gamma$  型过氧化物酶体增殖物激活受体的功能的物质。作为 PPAR- $\alpha$  激动剂、和 / 或 PPAR- $\delta$  激动剂、和 / 或 PPAR- $\gamma$  激动剂,可以列举出:氯贝特、非诺贝特、苯扎贝特、环丙贝特、依托贝特、替米沙坦、油基乙醇酰胺、十四烷基巯基乙酸、曲格列酮、吡格列酮、罗格列酮、巴格列酮、来格列酮、环格列酮、达格列酮、依格列宗、耐格列酮 (netoglitazone)、英格列扎、替格列扎、莫格他唑、阿格列扎及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

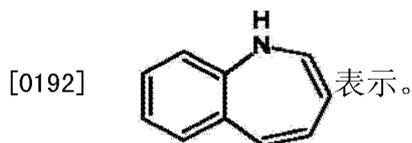
[0187] 氯贝特用式



[0189] 在本说明书中使用时,术语“多巴胺受体拮抗剂”是指具有妨碍多巴胺作用于受体的功能的物质,例如包括 D1 受体拮抗剂、D5 受体拮抗剂。

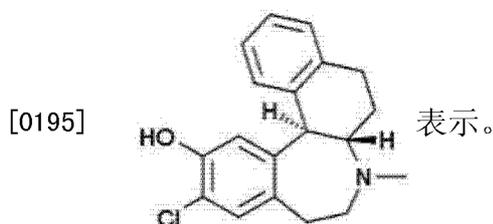
[0190] 在本说明书中使用时,术语“D1 受体拮抗剂”是指具有妨碍多巴胺作用于 D1 受体的功能的物质。作为 D1 受体拮抗剂,可以列举出苯并氮杂卓 (benzazepine)、非诺多泮、氯卡色林、SCH23390、SCH39166、LE300 及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0191] 苯并氮杂用式



[0193] 在本说明书中使用时,术语“D5 受体拮抗剂”是指具有妨碍多巴胺作用于 D5 受体的功能的物质。作为 D5 受体拮抗剂,可以列举出 SCH39166 及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

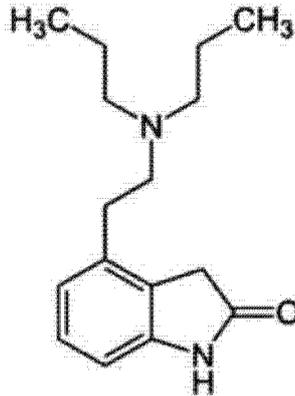
[0194] SCH39166 用式



[0196] 在本说明书中使用时,术语“多巴胺受体激动剂”是指具有该物质自身作用于多巴胺受体的功能的物质,例如包括 D2 受体激动剂、D3 受体激动剂、D4 受体激动剂。

[0197] 在本说明书中使用时,术语“D2 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 D2 受体的功能的物质。作为 D2 受体激动剂,可以列举出卡麦角林、溴麦角环肽、培高利特、罗匹尼罗、他利克索、阿立哌唑、鲁拉西酮、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

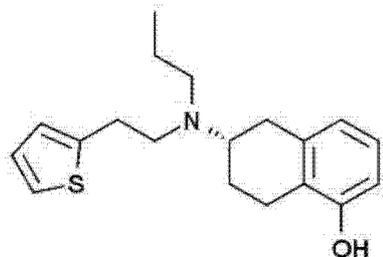
[0198] 罗匹尼罗用式



[0199] 表示。

[0200] 在本说明书中使用时,术语“D3 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 D3 受体的功能的物质。作为 D3 受体激动剂,可以列举出吡贝地尔、罗替戈汀、PD1289077、OH-DPAT 及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

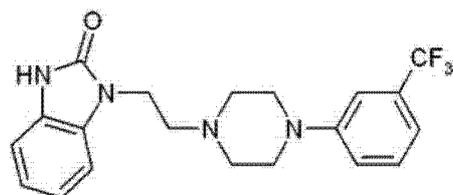
[0201] 罗替戈汀用式



[0202] 表示。

[0203] 在本说明书中使用时,术语“D4 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 D4 受体的功能的物质。作为 D4 受体激动剂,可以列举出氟班色林、ABT724、PD168077、CP226269 及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0204] 氟班色林用式

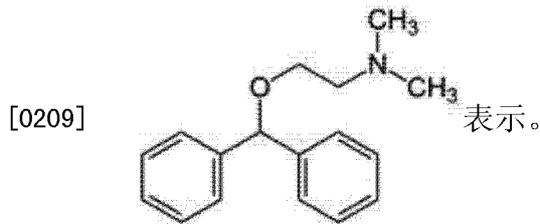


[0205] 表示。

[0206] 在本说明书中使用时,术语“组胺受体拮抗剂”是指具有妨碍组胺作用于受体的功能的物质,例如包括 H1 受体拮抗剂、H2 受体拮抗剂。

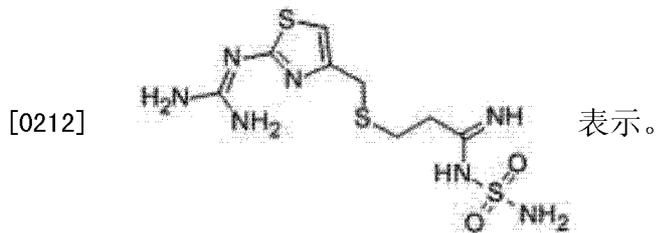
[0207] 在本说明书中使用时,术语“H1 受体拮抗剂”是指具有妨碍组胺作用于 H1 受体的功能的物质。作为 H1 受体拮抗剂,可以列举出:酮色林、松齐拉敏、美吡拉敏、曲吡那敏、二甲茛定、氯马斯汀、巴米品、氮异丙嗪、氯苯沙明、二甲替嗪、氯丙嗪、羟嗪、奥匹哌醇、倍他司汀、桂利嗪、左卡巴斯汀、安他唑啉、双苯拉林、卡比沙明、多西拉敏、阿列马嗪、赛克利嗪、美克洛嗪、左西替利嗪、赛庚啶、苯茛胺、曲普利啶、阿扎他啶、阿司咪唑、特非那定、阿伐斯汀、依巴斯汀、地洛他定、卢帕他定、比拉斯汀、咪唑斯汀、诺贝斯汀、柔卡斯啶、替美斯汀、贝他斯汀、苯海拉明、氯苯那敏、酮替芬、异丙嗪、赛庚啶、依匹斯汀、奥洛他定、贝托斯汀、阿司咪唑、依美斯汀、美喹他嗪、奥沙米特、氯雷他定、非索非那定、西替利嗪、氮卓斯汀、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0208] 苯海拉明用式



[0210] 在本说明书中使用时,术语“H2 受体拮抗剂”是指具有妨碍组胺作用于 H2 受体的功能的物质。作为 H2 受体拮抗剂,可以列举出西咪替丁、雷尼替丁、法莫替丁、尼扎替丁、罗沙替丁、拉呋替丁、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

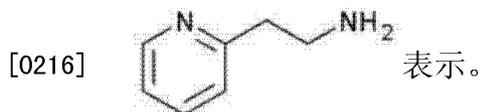
[0211] 法莫替丁用式



[0213] 在本说明书中使用时,术语“组胺受体激动剂”是指具有该物质自身作用于组胺受体的功能的物质,例如包括 H1 受体激动剂、H3 受体激动剂、H4 受体激动剂。

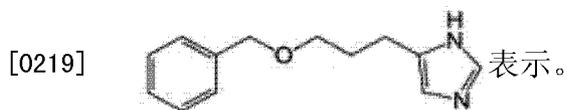
[0214] 在本说明书中使用时,术语“H1 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 H1 受体的功能的物质。作为 H1 受体激动剂,可以列举出 2-吡啶基乙胺、2-噻唑基乙胺及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0215] 2-吡啶基乙胺用式



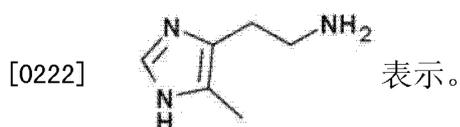
[0217] 在本说明书中使用时,术语“H3 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 H3 受体的功能的物质。作为 H3 受体激动剂,可以列举出 Immethridine、Imetit、Imnepip、 $\alpha$ -甲基组胺、Proxifan、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0218] Proxifan 用式



[0220] 在本说明书中使用时,术语“H4 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 H4 受体的功能的物质。作为 H4 受体激动剂,可以列举出 4-甲基组胺、VUF8430、Imnepip 及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0221] 4-甲基组胺用式

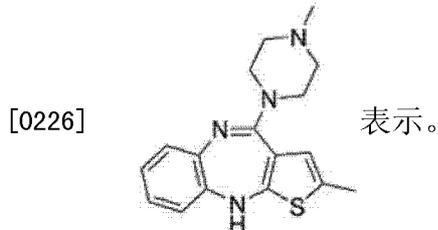


[0223] 在本说明书中使用时,术语“血清素受体拮抗剂”是指具有妨碍血清素作用于受体

的功能的物质,例如包括5-HT<sub>2</sub>受体拮抗剂、5-HT<sub>4</sub>受体拮抗剂、5-HT<sub>6</sub>受体拮抗剂、5-HT<sub>7</sub>受体拮抗剂。

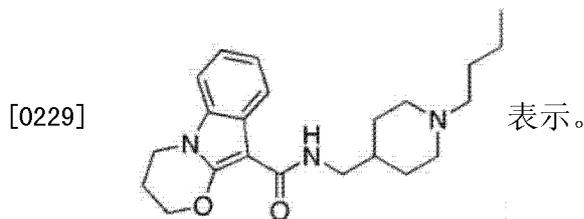
[0224] 在本说明书中使用时,术语“5-HT<sub>2</sub>受体拮抗剂”是指具有妨碍血清素作用于5-HT<sub>2</sub>受体的功能的物质。作为5-HT<sub>2</sub>受体拮抗剂,可以列举出苯噻啶、利培酮、奥氮平、喹硫平、阿立哌唑、布南色林、氯氮平、帕潘立酮、利坦色林、育亨宾、美舒麦角、阿戈美拉汀、环苯扎林、沙格雷酯、美西麦角、酮色林及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0225] 奥氮平用式



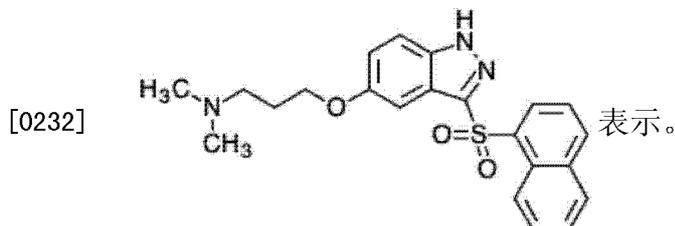
[0227] 在本说明书中使用时,术语“5-HT<sub>4</sub>受体拮抗剂”是指具有妨碍血清素作用于5-HT<sub>4</sub>受体的功能的物质。作为5-HT<sub>4</sub>受体拮抗剂,可以列举出哌波色罗(piboserod)、GR113808、GR125487、RS39604、SB204070及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0228] 哌波色罗用式



[0230] 在本说明书中使用时,术语“5-HT<sub>6</sub>受体拮抗剂”是指具有妨碍血清素作用于5-HT<sub>6</sub>受体的功能的物质。作为5-HT<sub>6</sub>受体拮抗剂,可以列举出Cerlapirdine、氯氮平及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

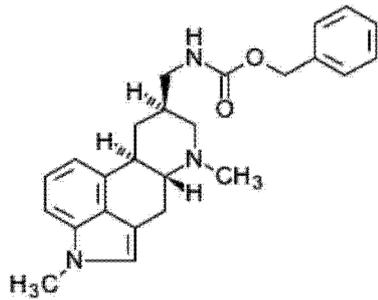
[0231] Cerlapirdine用式



[0233] 在本说明书中使用时,术语“5-HT<sub>7</sub>受体拮抗剂”是指具有妨碍血清素作用于5-HT<sub>7</sub>受体的功能的物质。作为5-HT<sub>7</sub>受体拮抗剂,可以列举出鲁拉西酮、甲麦角林及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0234] 甲麦角林用式

[0235]



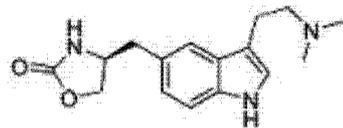
表示。

[0236] 在本说明书中使用时,术语“血清素受体激动剂”是指具有该物质自身作用于血清素受体的功能的物质,例如包括 5-HT<sub>1</sub> 受体激动剂、5-HT<sub>2</sub> 受体激动剂。

[0237] 在本说明书中使用时,术语“5-HT<sub>1</sub> 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 5-HT<sub>1</sub> 受体的功能的物质。作为 5-HT<sub>1</sub> 受体激动剂,可以列举出吡氯佐坦(piclozotan)、坦度螺酮、舒马曲坦、佐米曲坦、依立曲坦、利扎曲坦、那拉曲坦、阿莫曲坦、夫罗曲坦、阿维曲坦、麦角胺、麦角生物碱及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0238] 佐米曲坦用式

[0239]

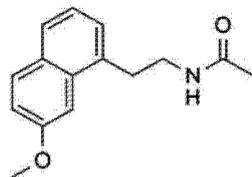


表示。

[0240] 在本说明书中使用时,术语“5-HT<sub>2</sub> 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 5-HT<sub>2</sub> 受体的功能的物质。作为 5-HT<sub>2</sub> 受体激动剂,可以列举出  $\alpha$ -甲基-5-HT、阿戈美拉汀、去乙芬氟拉明、间氯苯哌嗪及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0241] 阿戈美拉汀用式

[0242]



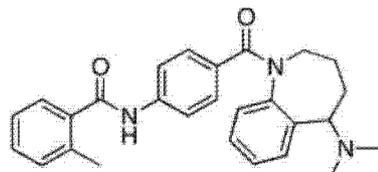
表示。

[0243] 在本说明书中使用时,术语“加压素受体拮抗剂”是指具有妨碍加压素作用于受体的功能的物质,例如包括 V<sub>2</sub> 受体拮抗剂。

[0244] 在本说明书中使用时,术语“V<sub>2</sub> 受体拮抗剂”是指具有妨碍加压素作用于 V<sub>2</sub> 受体的功能的物质。作为 V<sub>2</sub> 受体拮抗剂,可以列举出托伐普坦(tolvaptan)、莫扎伐普坦、考尼伐坦、利希普坦、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0245] 莫扎伐普坦用式

[0246]



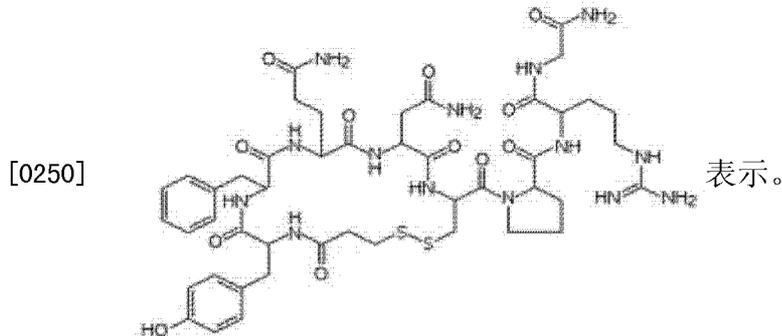
表示。

[0247] 在本说明书中使用时,术语“加压素受体激动剂”是指具有该物质自身作用于加压素受体的功能的物质,例如包括 V<sub>1</sub> 受体激动剂。

[0248] 在本说明书中使用时,术语“V<sub>1</sub> 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 V<sub>1</sub> 受体的功能的物质。作为 V<sub>1</sub> 受体激动剂,可以列举出加压素、苯赖加压素、去氨加压素、赖氨加

压素、特利加压素、鸟氨酸加压素、精氨酸加压素、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

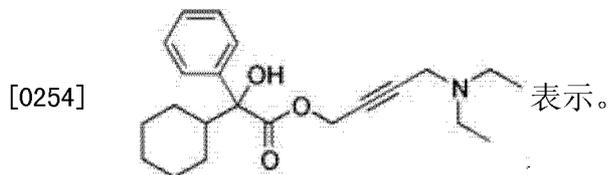
[0249] 去氨加压素用式



[0251] 在本说明书中使用时,术语“毒蕈碱受体拮抗剂”是指具有妨碍乙酰胆碱作用于毒蕈碱受体的功能的物质,例如包括 M1 受体拮抗剂、M3 受体拮抗剂、M5 受体拮抗剂。

[0252] 在本说明书中使用时,术语“M1 受体拮抗剂”是指具有妨碍乙酰胆碱作用于 M1 受体的功能的物质。术语“M3 受体拮抗剂”是指具有妨碍乙酰胆碱作用于 M3 受体的功能的物质。术语“M5 受体拮抗剂”是指具有妨碍乙酰胆碱作用于 M5 受体的功能的物质。作为 M1 受体拮抗剂、和 / 或 M3 受体拮抗剂、和 / 或 M5 受体拮抗剂,可以列举出哌仑西平、阿托品、曲美布汀、哌立度酯、奥昔布宁、托吡卡胺、丙哌维林、托特罗定、索非那新、达非那新、咪达那新、羟苯利明、噻托溴铵、艾司奥昔布宁、替喹溴铵、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

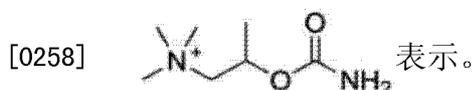
[0253] 奥昔布宁用式



[0255] 在本说明书中使用时,术语“毒蕈碱受体激动剂”是指具有该物质自身作用于毒蕈碱受体的功能的物质,例如包括 M1 受体激动剂、M2 受体激动剂、M3 受体激动剂、M4 受体激动剂、M5 受体激动剂。

[0256] 在本说明书中使用时,术语“M1 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 M1 受体的功能的物质。术语“M2 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 M2 受体的功能的物质。术语“M3 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 M3 受体的功能的物质。术语“M4 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 M4 受体的功能的物质。术语“M5 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 M5 受体的功能的物质。作为 M1 受体激动剂、和 / 或 M2 受体激动剂、和 / 或 M3 受体激动剂、和 / 或 M4 受体激动剂、和 / 或 M5 受体激动剂,可以列举出乙酰胆碱、醋克利定、阿伐美林(alvameline)、他沙利定、咕诺美林、毛果芸香碱、西维美林、氨甲酰甲胆碱、马扎替可、毒蕈碱及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

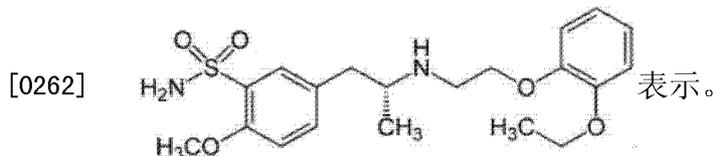
[0257] 氨甲酰甲胆碱用式



[0259] 在本说明书中使用时,术语“肾上腺素受体拮抗剂”是指具有妨碍肾上腺素作用于受体的功能的物质,例如包括  $\alpha 1$  受体拮抗剂、 $\beta 1$  受体拮抗剂、 $\beta 2$  受体拮抗剂、 $\beta 3$  受体拮抗剂。

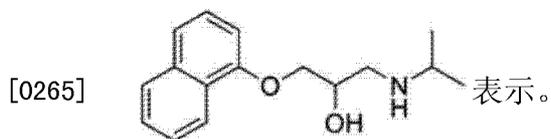
[0260] 在本说明书中使用时,术语“ $\alpha 1$  受体拮抗剂”是指具有妨碍肾上腺素作用于  $\alpha 1$  受体的功能的物质。作为  $\alpha 1$  受体拮抗剂,可以列举出哌唑嗪、多沙唑嗪、布那唑嗪、曲马唑嗪、阿夫唑嗪、西洛多辛、特拉唑嗪、坦索罗辛、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0261] 坦索罗辛用式



[0263] 在本说明书中使用时,术语“ $\beta 1$  受体拮抗剂”是指具有妨碍肾上腺素作用于  $\beta 1$  受体的功能的物质。术语“ $\beta 2$  受体拮抗剂”是指具有妨碍肾上腺素作用于  $\beta 2$  受体的功能的物质。术语“ $\beta 3$  受体拮抗剂”是指具有妨碍肾上腺素作用于  $\beta 3$  受体的功能的物质。作为  $\beta 1$  受体拮抗剂、和 / 或  $\beta 2$  受体拮抗剂、和 / 或  $\beta 3$  受体拮抗剂,可以列举出波吡洛尔、吲哚洛尔、噻吗洛尔、二氯异丙肾上腺素、阿普洛尔、卡替洛尔、茛诺洛尔、布尼洛尔、喷布洛尔、普萘洛尔、纳多洛尔、尼普洛尔、替利洛尔、醋丁洛尔、塞利洛尔、美托洛尔、阿替洛尔、比索洛尔、倍他洛尔、普拉洛尔、贝凡洛尔、布托沙明、卡维地洛、氨磺洛尔、阿罗洛尔、拉贝洛尔、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0264] 普萘洛尔用式



[0266] 在本说明书中使用时,术语“血管紧张素受体激动剂”是指具有该物质自身作用于血管紧张素受体的功能的物质,例如包括 AT<sub>2</sub> 受体激动剂。

[0267] 在本说明书中使用时,术语“肾上腺素受体激动剂”是指具有该物质自身作用于肾上腺素受体的功能的物质,例如包括  $\alpha 1$  受体激动剂、 $\alpha 2$  受体激动剂。

[0268] 在本说明书中使用时,术语“ $\alpha 1$  受体激动剂”是指具有该物质自身作用于  $\alpha 1$  受体的功能的物质。术语“ $\alpha 2$  受体激动剂”是指具有该物质自身作用于  $\alpha 2$  受体的功能的物质。作为  $\alpha 1$  受体激动剂、和 / 或  $\alpha 2$  受体激动剂,可以列举出:去甲肾上腺素、去甲苯福林、依替福林、萘甲唑林、苯肾上腺素、米多君、甲氧胺、辛弗林、间羟胺、阿布他明、麻黄碱、羟甲唑啉、四氢唑啉、赛洛唑啉、曲马唑啉、伪麻黄碱、地匹福林、阿米福林、甲基麻黄碱、利美尼定、溴莫尼定、美托咪定、甲苯噻嗪、替扎尼定、胍法辛、甲基多巴、胍那苄、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0269] 甲苯噻嗪用式

[0270]

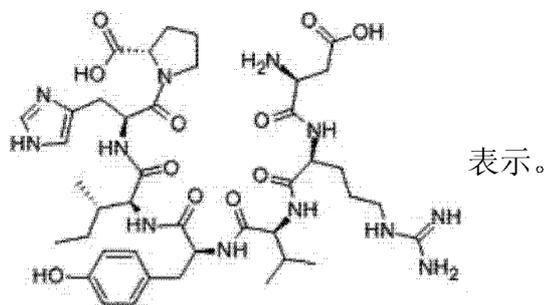


[0271] 在本说明书中使用时,术语“血管紧张素受体激动剂”是指具有该物质自身作用于血管紧张素受体的功能的物质,例如包括 AT<sub>2</sub> 受体激动剂。

[0272] 在本说明书中使用时,术语“AT<sub>2</sub> 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 AT<sub>2</sub> 受体的功能的物质。作为 AT<sub>2</sub> 受体激动剂,可以列举出 Novokinin、血管紧张素及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0273] 血管紧张素用式

[0274]

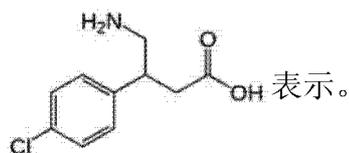


[0275] 在本说明书中使用时,术语“GABA 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 GABA 受体的功能的物质,例如包括 GABA<sub>B</sub> 受体激动剂。

[0276] 在本说明书中使用时,术语“GABA<sub>B</sub> 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 GABA<sub>B</sub> 受体的功能的物质。作为 GABA<sub>B</sub> 受体激动剂,可以列举出巴氯芬、γ-氨基丁酸、阿巴氯芬 (Arbaclofen) 及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0277] 巴氯芬用式

[0278]

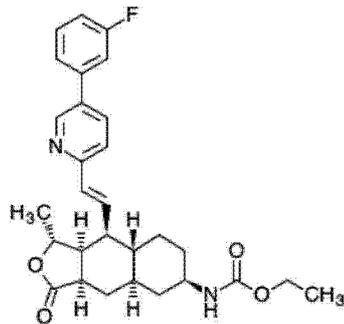


[0279] 在本说明书中使用时,术语“凝血酶受体拮抗剂”是指具有妨碍凝血酶作用于受体的功能的物质,例如包括 PAR-1 受体拮抗剂。

[0280] 在本说明书中使用时,术语“PAR-1 受体拮抗剂”是指具有妨碍凝血酶作用于 PAR-1 受体的功能的物质。作为 PAR-1 受体拮抗剂,可以列举出 Vorapaxar、Atopaxar、FR171113、RWJ56110、达比加群、达比加群酯、美拉加群、希美加群、水蛭素、哈艾劳格 (hirolog)、阿加曲班及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0281] Vorapaxar 用式

[0282]



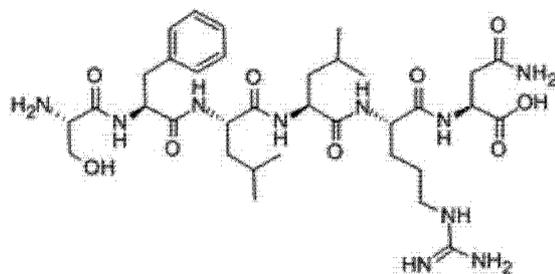
表示。

[0283] 在本说明书中使用时,术语“凝血酶受体激动剂”是指具有该物质自身作用于凝血酶受体的功能的物质,例如包括 PAR-1 受体激动剂。

[0284] 在本说明书中使用时,术语“PAR-1 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 PAR-1 受体的功能的物质。作为 PAR-1 受体激动剂,可以列举出 TRAP-6、TRAP-14、NAT6-NH<sub>2</sub> 及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0285] TRAP-6 用式

[0286]

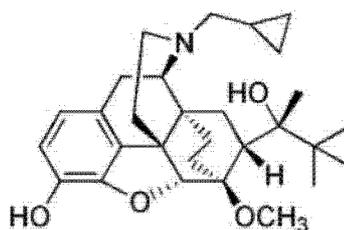


表示。

[0287] 在本说明书中使用时,术语“阿片类受体激动剂”是指具有该物质自身作用于阿片类受体的功能的物质。作为阿片类受体激动剂,可以列举出曲美布汀、爱维莫潘、吗啡、羟考酮、二氢可待因、海洛因、哌替啶、喷他佐辛、丁丙诺啡、布托啡诺、纳布啡、替利定、地佐辛、美普他酚、他喷他多、纳曲酮、美沙酮、乙基吗啡、氢可酮、乙酰基二氢可待因、烯丙吗啡、洛哌丁胺、瑞莫必利、奥匹哌醇、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0288] 丁丙诺啡用式

[0289]

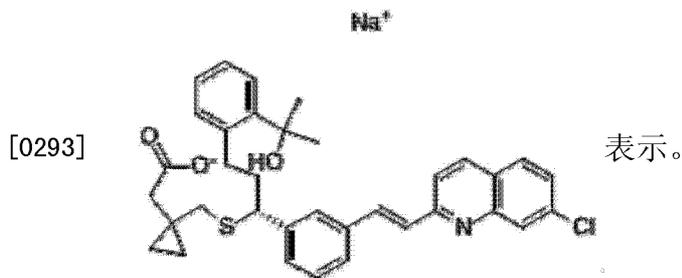


表示。

[0290] 在本说明书中使用时,术语“白三烯受体拮抗剂”是指具有妨碍白三烯作用于受体的功能的物质,例如包括 CysLT1 受体拮抗剂、CysLT2 受体拮抗剂。

[0291] 在本说明书中使用时,术语“CysLT1 受体拮抗剂”是指具有妨碍白三烯作用于 CysLT1 受体的功能的物质。术语“CysLT2 受体拮抗剂”是指具有妨碍白三烯作用于 CysLT2 受体的功能的物质。作为 CysLT1 受体拮抗剂、和 / 或 CysLT2 受体拮抗剂,可以列举出孟鲁司特、扎鲁司特、普仑司特、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。例如,作为孟鲁司特的药理学上容许的盐,可以列举出孟鲁司特钠等。

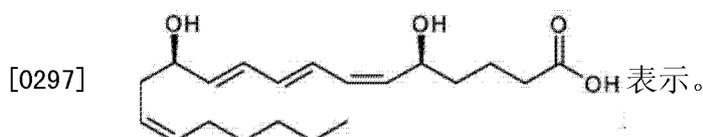
[0292] 孟鲁司特钠用式



[0294] 在本说明书中使用时,术语“白三烯受体激动剂”是指具有该物质自身作用于白三烯受体的功能的物质,例如包括 BLT 受体激动剂。

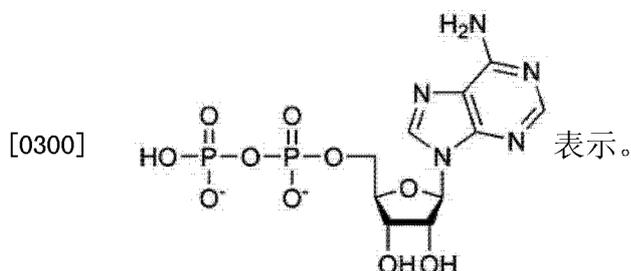
[0295] 在本说明书中使用时,术语“BLT 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 BLT 受体的功能的物质。作为 BLT 受体激动剂,可以列举出白三烯 B4、CAY10583 及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0296] 白三烯 B4 用式



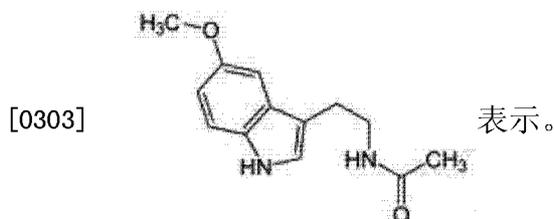
[0298] 在本说明书中使用时,术语“ADP 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 ADP 受体的功能的物质。作为 ADP 受体激动剂,可以列举出腺苷二磷酸、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0299] 腺苷二磷酸用式



[0301] 在本说明书中使用时,术语“褪黑素受体激动剂”是指具有该物质自身作用于褪黑素受体的功能的物质。作为褪黑素受体激动剂,可以列举出褪黑素、哌拉平、他司美琼、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

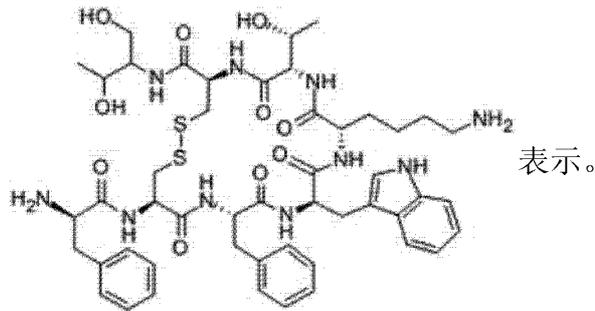
[0302] 褪黑素用式



[0304] 在本说明书中使用时,术语“生长抑素受体激动剂”是指具有该物质自身作用于生长抑素受体的功能的物质。作为生长抑素受体激动剂,可以列举出生长抑素、生长抑素-14、奥曲肽、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0305] 奥曲肽用式

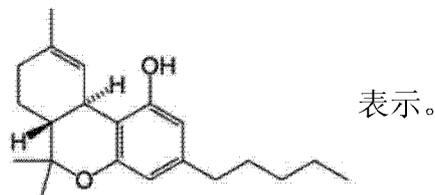
[0306]



[0307] 在本说明书中使用时,术语“大麻素受体激动剂”是指具有该物质自身作用于大麻素受体的功能的物质。作为大麻素受体激动剂,可以列举出屈大麻酚、大麻隆、左南曲朵、奥特那班(otenabant)、GW833972A、GW405833、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0308] 屈大麻酚用式

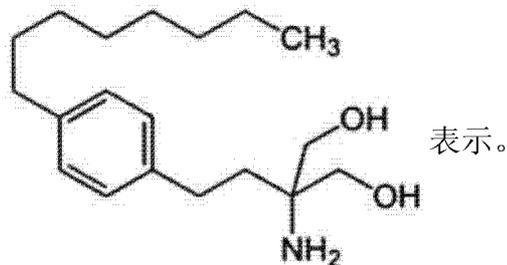
[0309]



[0310] 在本说明书中使用时,术语“鞘氨醇 1-磷酸受体激动剂”是指具有该物质自身作用于鞘氨醇 1-磷酸受体的功能的物质。作为鞘氨醇 1-磷酸受体激动剂,可列举出芬戈莫德及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0311] 芬戈莫德用式

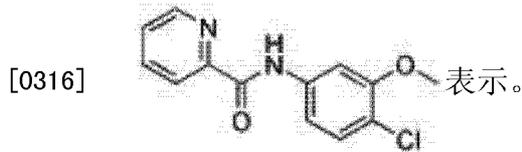
[0312]



[0313] 在本说明书中使用时,术语“代谢型谷氨酸受体激动剂”是指具有该物质自身作用于代谢型谷氨酸受体的功能的物质,例如包括 mGluR2 受体激动剂、mGluR3 受体激动剂、mGluR4 受体激动剂、mGluR6 受体激动剂、mGluR7 受体激动剂、mGluR8 受体激动剂。

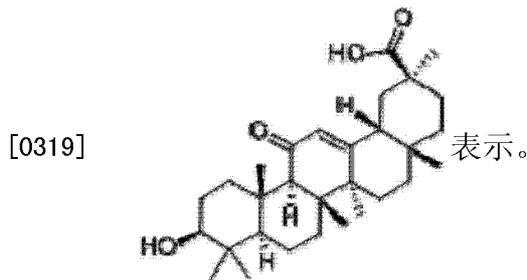
[0314] 在本说明书中使用时,术语“mGluR2 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 mGluR2 受体的功能的物质。术语“mGluR3 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 mGluR3 受体的功能的物质。术语“mGluR4 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 mGluR4 受体的功能的物质。术语“mGluR6 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 mGluR6 受体的功能的物质。术语“mGluR7 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 mGluR7 受体的功能的物质。术语“mGluR8 受体激动剂”是指具有该物质自身作用于 mGluR8 受体的功能的物质。作为 mGluR2 受体激动剂、和 / 或 mGluR3 受体激动剂、和 / 或 mGluR4 受体激动剂、和 / 或 mGluR6 受体激动剂、和 / 或 mGluR7 受体激动剂、和 / 或 mGluR8 受体激动剂,可以列举出 VU0361737、VU0155041、联苯茚酮 A、PBDA、L-AP4、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0315] VU0361737 用式



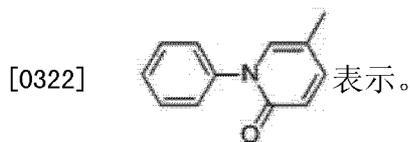
[0317] 在本说明书中使用时,术语“磷脂酶 A2 抑制剂”是指具有抑制磷脂酶 A2 的活性的功能的物质。作为磷脂酶 A2 抑制剂,可以列举出甘草酸、甘草次酸、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0318] 甘草次酸用式



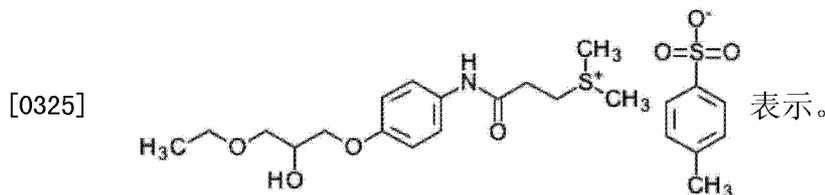
[0320] 在本说明书中使用时,术语“TGF- $\beta$  产生抑制剂”是指具有抑制 TGF- $\beta$  产生的功能的物质。作为 TGF- $\beta$  产生抑制剂,可以列举出吡非尼酮、曲尼司特、及其衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。

[0321] 吡非尼酮用式



[0323] 在本说明书中使用时,术语“Th2 细胞因子抑制剂”是指具有抑制 IL-4、IL-5 这样的 Th2 细胞因子产生的功能的物质。作为 Th2 细胞因子抑制剂,可以列举出 Suplatast 及其衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。作为 Suplatast 的药理学上容许的盐,例如可以列举出甲磺司特。本发明的优选的实施方式中, Th2 细胞因子抑制剂为甲磺司特。

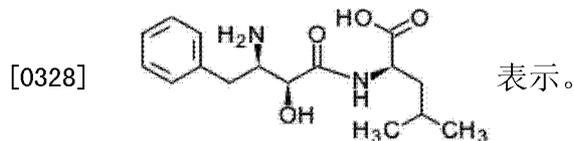
[0324] 甲磺司特用式



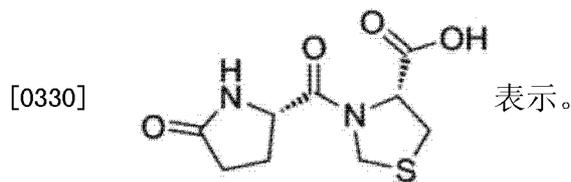
[0326] 在本说明书中使用时,术语“免疫调节低分子药物”是指激活或抑制 T 细胞、NK 细胞、巨噬细胞等免疫细胞的物质中不属于上述 TLR 配体、环状二核苷酸、辅助肽、环氧酶抑制剂、前列腺素受体拮抗剂、前列腺素受体激动剂、TSLP 产生抑制剂、腺苷酸环化酶抑制剂、 $\omega$ -3 脂肪酸、PPAR 激动剂、多巴胺受体拮抗剂、多巴胺受体激动剂、组胺受体激动剂、组胺受体拮抗剂、血清素受体激动剂、血清素受体拮抗剂、加压素受体拮抗剂、加压素受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂、毒蕈碱受体激动剂、肾上腺素受体拮抗剂、肾上腺素受体激动剂、血管紧张素受体激动剂、GABA 受体激动剂、凝血酶受体拮抗剂、凝血酶受体激动剂、阿片类受

体激动剂、ADP 受体激动剂、白三烯受体拮抗剂、白三烯受体激动剂、褪黑素受体激动剂、生长抑素受体激动剂、大麻素受体激动剂、鞘氨醇 1- 磷酸受体激动剂、代谢型谷氨酸受体激动剂、磷脂酶 A2 抑制剂、TGF- $\beta$  产生抑制剂、及 Th2 细胞因子抑制剂中的任一种的药物。作为免疫调节低分子药物，例如可以列举出贝他定、匹多莫德、左旋咪唑、戈洛莫德、福芬诺尔、及它们的衍生物、以及它们的药理学上容许的盐等。例如，作为左旋咪唑的药理学上容许的盐，可以列举出左旋咪唑盐酸盐等。

[0327] 贝他定用式



[0329] 匹多莫德用式



[0331] 左旋咪唑盐酸盐用式



[0333] 本发明中，免疫调节低分子药物通常为分子量不足 1000、优选不足 500 的化合物。本发明的优选的实施方式中，免疫调节低分子药物为选自由贝他定、匹多莫德及左旋咪唑盐酸盐组成的组中的 1 种以上化合物。

[0334] 在一个实施方式中发现：本发明在经皮或经粘膜给予期望的抗原时，TLR 配体、环状二核苷酸、辅助肽、免疫调节低分子药物、环氧酶抑制剂、前列腺素受体拮抗剂、前列腺素受体激动剂、TSLP 产生抑制剂、腺苷酸环化酶抑制剂、 $\omega$ -3 脂肪酸、PPAR 激动剂、多巴胺受体拮抗剂、多巴胺受体激动剂、组胺受体激动剂、组胺受体拮抗剂、血清素受体激动剂、血清素受体拮抗剂、加压素受体拮抗剂、加压素受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂、毒蕈碱受体激动剂、肾上腺素受体拮抗剂、肾上腺素受体激动剂、血管紧张素受体激动剂、GABA 受体激动剂、凝血酶受体拮抗剂、凝血酶受体激动剂、阿片类受体激动剂、ADP 受体激动剂、白三烯受体拮抗剂、白三烯受体激动剂、褪黑素受体激动剂、生长抑素受体激动剂、大麻素受体激动剂、鞘氨醇 1- 磷酸受体激动剂、代谢型谷氨酸受体激动剂、磷脂酶 A2 抑制剂、TGF- $\beta$  产生抑制剂、以及 Th2 细胞因子抑制剂的使用适合于细胞免疫诱导。因而，在一个实施方式中，本申请发明中能够与药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐组合使用的第二细胞免疫诱导促进剂为选自它们中的 1 种以上物质。本申请发明的特别优选的实施方式中，第二细胞免疫诱导促进剂为选自 TLR 配体、环状二核苷酸、免疫调节低分子药物、环氧酶抑制剂、前列腺素受体拮抗剂、前列腺素受体激动剂、TSLP 产生抑制剂、腺苷酸环化酶抑制剂、 $\omega$ -3 脂肪酸、PPAR 激动剂、多巴胺受体拮抗剂、多巴胺受体激动剂、组胺受体激动剂、组胺受体拮抗剂、血清素受体激动剂、血清素受体拮抗剂、加压素受体拮抗剂、加压素受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂、毒蕈碱受体激动剂、肾上腺素受体拮抗剂、肾上腺素受体激动剂、血管紧张素

受体激动剂、GABA 受体激动剂、凝血酶受体拮抗剂、凝血酶受体激动剂、阿片类受体激动剂、ADP 受体激动剂、白三烯受体拮抗剂、白三烯受体激动剂、褪黑素受体激动剂、生长抑素受体激动剂、大麻素受体激动剂、鞘氨醇 1- 磷酸受体激动剂、代谢型谷氨酸受体激动剂、磷脂酶 A2 抑制剂、TGF- $\beta$  产生抑制剂、以及 Th2 细胞因子抑制剂中的 1 种以上物质与辅助肽的组合。作为定量测定细胞免疫的诱导的方法,开发了很多方法,可以使用其中的任 1 种或 1 种以上、例如实施例中记载的 ELISPOT 法。

[0335] 在优选的实施方式中,本发明的疫苗组合物所含有的第二细胞免疫诱导促进剂为选自由 TLR 配体、环状二核苷酸以及辅助肽组成的组中的 1 种以上,更优选为选自由 TLR 配体以及环状二核苷酸组成的组中的 1 种以上与辅助肽的组合。在特别优选的实施方式中,第二细胞免疫诱导促进剂为选自由 TLR4 配体、TLR7 和 / 或 TLR8 配体以及环状二 GMP 组成的组中的 1 种以上与选自由 Peptide-25 和 Peptide-25B 组成的组中的辅助肽的组合。

[0336] 在本说明书中使用,非侵入式给予是指不主动对皮肤、粘膜赋予物理刺激和 / 或化学刺激、优选不主动对皮肤、粘膜赋予物理刺激(例如胶带粘贴(tape stripping)、微针、剥离处理、损伤处理、穿孔处理)地进行给予。

[0337] 在本说明书中使用,术语“低刺激条件”是指,赋予皮肤的刺激比为了提高现有疫苗中所含的抗原的皮肤渗透性而通常对皮肤赋予的刺激低的条件或不对皮肤赋予刺激的条件。将现有的疫苗组合物经皮给予时,给予前或给予时对皮肤赋予物理刺激和 / 或化学刺激从而提高抗原的皮肤渗透性。在优选的实施方式中,作为低刺激条件,可以列举出物理刺激低的条件及化学刺激低的条件。物理刺激低的条件为例如疫苗给予前的皮肤刺激评价用动物模型的经皮水分散发量(TEWL) ( $\text{g/h} \cdot \text{m}^2$ ) 为 50 以下、优选 45 以下、更优选 40 以下、进一步优选 35 以下、更进一步优选 30 以下的条件。对于未经治疗的皮肤,TEWL 水平为约 2 ( $\text{g/h} \cdot \text{m}^2$ ),因此,给予前的 TEWL 水平为 2 ( $\text{g/h} \cdot \text{m}^2$ ) 以上。化学刺激低的条件为例如皮肤刺激评价用动物模型的皮肤内的胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP) 水平( $\text{pg/mg}$  蛋白质) 为 10000 以下、优选 9000 以下、更优选 8000 以下、进一步优选 7000 以下的条件。对于未经治疗的皮肤,TSLP 水平为约 1 ( $\text{pg/mg}$  蛋白质),因此,给予结束时,TSLP 水平超过 1 ( $\text{pg/mg}$  蛋白质),优选超过 2 ( $\text{pg/mg}$  蛋白质),更优选超过 3 ( $\text{pg/mg}$  蛋白质)。胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP) 是参与 T 细胞的分化、募集(recruit) 的细胞因子,本发明中,可以用作皮肤刺激的程度的指标(值越大刺激越强)。作为用于达成物理刺激低的条件的手段,例如可以列举出不进行通常进行的给予前的皮肤的预处理、例如胶带粘贴、微针穿刺等。作为用于达成化学刺激低的条件的手段,例如可以列举出不给予特定量以上的具有刺激性的化学成分、例如乙醇、表面活性剂等。向目标对象给予本发明的疫苗组合物时,可以使用皮肤刺激评价用动物模型确定用于达成上述低刺激条件的具体手段,将该手段适用于向目标对象、例如对人等给予时。

[0338] 在本说明书中使用,术语“癌症”是指伴随癌基因的正常表达、例如过表达的癌症,例如造血器官肿瘤、实体肿瘤。作为癌基因,例如可列举出生存素基因、GPC3 基因、HER2/neu 基因、MAGE3 基因、MAGE A1 基因、MAGEA3/A6 基因、MAGE A4 基因、MAGE12 基因、蛋白酶-3 基因、AFP 基因、CA-125 基因、CD44 基因、CEA 基因、c-Kit 基因、c-met 基因、c-myc 基因、L-myc 基因、COX2 基因、细胞周期蛋白 D1 基因、细胞角蛋白 -7 基因、细胞角蛋白 -19 基因、细胞角蛋白 -20 基因、E2F1 基因、E2F3 基因、EGFR 基因、Gli1 基因、hCG  $\beta$  基因、HIF-1  $\alpha$  基

因、HnRNP A2/B1 基因、hTERT 基因、MDM 基因、MDR-1 基因、MMP-2 基因、MMP-9 基因、Muc-1 基因、Muc-4 基因、Muc-7 基因、NSE 基因、ProGRP 基因、PSA 基因、RCAS1 基因、SCC 基因、即复宁基因、VEGF-A 基因、VEGF-A 基因等。伴随着生存素基因的异常表达的癌症包括恶性淋巴瘤、膀胱癌、肺癌、大肠癌等,但并不限于此。伴随着 GPC3 基因的异常表达的癌症包括肝癌、胆管癌、胃癌等,但并不限于此。伴随着 HER2/neu 基因的异常表达的癌症包括乳腺癌、胃癌、卵巢癌、子宫癌、膀胱癌、非小细胞肺癌、前列腺癌等,但并不限于此。伴随着 MAGE3 基因的异常表达的癌症包括黑色素瘤、肺癌、头颈部癌、膀胱癌、胃癌、食道癌、肝癌,但并不限于此。伴随着蛋白酶 -3 基因的异常表达的癌包括急性骨髓性白血病、胰腺癌,但并不限于此。

[0339] 在本说明书中使用时,术语“基因的异常表达”是指某个细胞的基因的表达水平与相同组织的其它细胞相比显著升高或降低例如 2 倍以上、例如 4 倍以上。术语“过表达”是指异常表达为表达水平之上。基因的表达水平可以使用该技术领域公知的任意方法来容易地测定。

[0340] 在本说明书中使用时,术语“对象”是指在实际应用阶段给予疫苗组合物而能够诱导免疫应答的任意动物,典型的为包括人在内的哺乳类、例如小鼠、大鼠、狗、猫、兔子、马、牛、绵羊、猪、山羊、猴、黑猩猩等。特别优选的对象为人。

[0341] 在本说明书中使用时,术语“免疫评价用动物模型”是指用于评价疫苗组合物的免疫诱导特性的动物模型,具体而言是指用于评价细胞免疫诱导水平的动物模型。作为免疫评价用动物模型,考虑疫苗组合物中的抗原和动物的 MHC I 类分子的相容性,使用能够评价利用疫苗组合物中的抗原的细胞免疫诱导的动物。为例如包含 HLA-A \* 24 型 MHC 限制性 I 类肽的疫苗组合物的情况下,用 BALB/c 小鼠进行评价。为包含 HLA-A \* 02 型 MHC 限制性肽的疫苗组合物的情况下,用能评价利用 HLA-A \* 02 型 MHC 限制性肽的细胞免疫诱导的转基因小鼠进行评价。为包含其它的 HLA 型的 MHC 限制性肽的疫苗组合物的情况下,用能评价利用该 HLA 型的 MHC 限制性肽的细胞免疫诱导的动物进行评价。为包含蛋白抗原的疫苗组合物的情况下,用具备与蛋白抗原的氨基酸序列中所含的 I 类表位中想要进行细胞免疫诱导的 I 类表位具有相容性的 MHC 的动物进行评价。为了确保经皮给予部位而将毛剪掉时,使用由剪毛导致的皮肤损伤充分恢复了的状态的动物。

[0342] 在本说明书中使用时,术语“皮肤刺激评价用动物模型”是指用于评价作为皮肤的物理刺激的指标的经皮水分散发量(TEWL)、作为疫苗组合物的皮肤刺激特性的 TSLP 的动物模型。不管疫苗组合物中所含的抗原的种类如何,作为皮肤刺激评价用动物模型,使用 C57BL/6 小鼠。为了确保经皮给予部位而将毛剪掉时,使用由剪毛导致的皮肤损伤充分恢复了的状态的动物。

[0343] 在本说明书中使用时,术语“癌抗原”是指特异性地表达肿瘤细胞或癌细胞、能够诱导细胞免疫应答的蛋白质、肽等物质。

[0344] 在本说明书中使用时,术语“癌抗原肽”是指来源于癌抗原蛋白质的部分肽,其能够诱导细胞免疫应答。通常,癌抗原肽通过癌基因的产物即癌抗原蛋白质在癌细胞内分解而产生,通过 MHC I 类分子而提呈至癌细胞的表面。在癌症疫苗制剂中使用的癌抗原肽可以是从小细胞中分离·精制出的内源性的癌抗原肽,也可以是具有与内源性的癌抗原肽相同的氨基酸序列的合成肽。在本发明的优选实施方式中,为了进行细胞免疫诱导而可以使

用例如选自自由生存素 2B 肽和 / 或经改变的生存素 2B 肽、GPC3 肽和 / 或经改变的 GPC3 肽、HER2/neu\_A24 肽和 / 或经改变的 HER2/neu\_A24 肽、MAGE3\_A24 肽和 / 或经改变的 MAGE3\_A24 肽、PR1 肽和 / 或经改变的 PR1 肽、HER2/neu\_A02 肽和 / 或经改变的 HER2/neu\_A02 肽、MAGE3\_A02 肽和 / 或经改变的 MAGE3\_A02 肽、以及 MUC1 肽和 / 或经改变的 MUC1 肽组成的组中的内源性或合成的癌抗原肽。

[0345] 在本说明书中使用时,术语“病毒抗原”是指病毒或其构成成分或来源于它们的物质,其能够诱导细胞免疫应答。因而,通过将病毒抗原、优选与细胞免疫诱导促进剂一起经皮给予到对象,能够治疗或预防病毒性疾病。在本发明的优选实施方式中,例如,可以将选自自由 IPEP87 肽和 / 或经改变的 IPEP87 肽以及 HBVenv 肽和 / 或经改变的 HBVenv 肽组成的组中的的肽用作病毒抗原。

[0346] 在本说明书中使用时,术语“病毒性疾病”是指由病毒的感染、增殖等引起的疾病,例如可列举出甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎、戊型肝炎、子宫颈癌、尖锐湿疣、HIV 感染症、生殖器衣原体感染症、单纯疱疹。

[0347] II. 经皮给予用疫苗组合物

[0348] 本发明的经皮给予用疫苗组合物通过将抗原与药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐一同使用,在各种抗原的经皮给予中发挥高的细胞免疫诱导效果。

[0349] 在本说明书中使用时,术语“经皮给予用”组合物为经皮给予中通常使用的任意制剂例如搽剂或者洗剂这样的外用液体制剂、气雾剂这样的外用喷雾剂、软膏剂、硬膏剂、霜剂、凝胶剂或带状制剂或者巴布剂这样的贴剂即可。这些组合物的区分、定义、性质、制法等在本技术领域是公知的,可以参考例如日本药典第 16 版。

[0350] 例如,作为搽剂用基质,可以列举出水、乙醇、脂肪油例如固体石蜡、软石蜡、液体石蜡、甘油、石蜡油、蜜蜡、金属皂;粘液(mucilage);天然油[例如:杏仁油、玉米油、花生油、蓖麻油、橄榄油、或它们的衍生物(例如聚氧乙醚蓖麻油(Polyoxyl Castor Oil))];羊脂或其衍生物、脂肪酸和 / 或酯(例如:硬脂酸、油酸、肉豆蔻酸异丙酯)。

[0351] 洗剂是将活性成分微细地均匀分散在水性液体中而得到的制剂,有悬浮性洗剂和乳浊性洗剂。作为悬浮剂,例如可以列举出阿拉伯胶、海藻酸钠、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、膨润土等。作为乳化剂,例如可以列举出月桂基硫酸钠、山梨糖醇酐脂肪酸酯等。

[0352] 例如,作为软膏基质,可以使用通常作为疏水性基质的油脂类、蜡、烃化合物等。具体而言,作为软膏基质,可以列举出黄色凡士林、白色凡士林、石蜡、液体石蜡、液体石蜡和聚乙烯的复合软膏基质(plastibase)、有机硅等矿物性基质、蜜蜡、动植物性油脂等动植物性基质等。

[0353] 例如,作为霜剂用基质,可以列举出亲水性软膏、雪花膏(vanishing cream)等水 / 油型基质;亲水性凡士林、精制羊毛脂、阿夸弗尔(aquaphor)、优塞林(Eucerin)、Neoeserine、含水羊毛脂、冷霜(cold cream)、亲水性液体石蜡和聚乙烯的复合软膏基质(plastibase)等油 / 水型基质。

[0354] 例如,作为凝胶基质,可以使用作为水凝胶基质的羧基乙烯基聚合物、凝胶基质(gelbase)、无脂肪性软膏、聚乙烯基吡咯烷酮、聚乙烯醇、聚丙烯酸钠、羧甲基纤维素、淀粉、黄原胶、刺梧桐胶、海藻酸钠、甲基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯(HPMCP)、醋酸邻苯二甲酸纤维素(CAP)、羧甲基乙基纤维素(CMEC)、乙基纤维素、羟乙

基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧基乙烯基聚合物、黄耆胶、阿拉伯胶、塔拉胶(tara gum)、罗望子胶、车前子胶、琼脂、结冷胶、葡甘露聚糖、刺槐豆胶、瓜尔豆胶、角叉菜胶、糊精、葡聚糖、直链淀粉、羧甲基纤维素钾、羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素钙、普鲁兰多糖、壳聚糖、羧甲基淀粉钠、车前属种皮、半乳甘露聚糖、甲基丙烯酸氨基烷基酯共聚物 E、甲基丙烯酸氨基烷基酯共聚物 RS、甲基丙烯酸共聚物 L、甲基丙烯酸共聚物 LD、甲基丙烯酸共聚物 S、丙烯酸甲酯·甲基丙烯酸·甲基丙烯酸甲酯共聚物、丙烯酸乙酯·甲基丙烯酸甲酯共聚物、聚乙烯醇缩醛二乙基氨基乙酸酯、酪蛋白、海藻酸烷基酯、明胶、聚乙二醇等。

[0355] 例如,作为巴布剂用基质,可以列举出明胶、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、聚丙烯酸钠、高岭土、聚乙烯醇、聚乙烯基吡咯烷酮、甘油、丙二醇、水等。

[0356] 例如带状制剂为基体(matrix)型带状制剂时,包括:包含抗原即有效成分等的粘合剂层和用于支撑粘合剂层的支撑体。为储库(reservoir)型带状制剂时,包括:包含抗原即有效成分等的储库和粘合剂层、用于支撑储库和粘合剂层的支撑体。粘合剂层包含丙烯酸系粘合剂、天然橡胶系粘合剂、合成橡胶系粘合剂(包括合成异戊二烯橡胶、聚异丁烯(PIB)、丁苯橡胶、苯乙烯-异戊二烯-苯乙烯(SIS)橡胶等橡胶系弹性体)、有机硅系粘合剂、乙烯基酯系粘合剂、乙烯基醚系粘合剂等。带状制剂包括粘合剂层和用于支撑粘合剂层的支撑体。根据需要,可以进一步含有在使用前使粘合剂层不会露出、而在使用时能够容易地从粘合剂层剥离的剥离衬垫。

[0357] 本发明的经皮给予用疫苗组合物中的抗原、药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐以及细胞免疫诱导促进剂的比例没有特别限定。在一个实施方式中,本发明的经皮给予用疫苗组合物包含以组合物的总重量为基准优选 0.01 ~ 40 重量%、更优选 0.1 ~ 30 重量%的期望的抗原。在一个实施方式中,本发明的经皮给予用疫苗组合物包含以组合物的总重量为基准优选 0.001 ~ 30 重量%、更优选 0.01 ~ 20 重量%的药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐。另外,本发明的经皮给予用疫苗组合物含有细胞免疫诱导促进剂时,包含以组合物的总重量为基准优选 0.001 ~ 30 重量%、更优选 0.01 ~ 20 重量%的细胞免疫诱导促进剂。

[0358] 本发明的经皮给予用疫苗组合物为带状制剂的形态的情况下,该带状制剂(以下有时称为“本发明的带状制剂”)的粘合剂层包含抗原和药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐,根据期望,还包含细胞免疫诱导促进剂。在一个实施方式中,本发明的带状制剂的粘合剂层包含以粘合剂层的总重量为基准优选 0.01 ~ 40 重量%、更优选 0.1 ~ 30 重量%的抗原。在一个实施方式中,本发明的带状制剂的粘合剂层包含以粘合剂层的总重量为基准优选 0.001 ~ 30 重量%、更优选 0.01 ~ 20 重量%的药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐。本发明的带状制剂的粘合剂层包含细胞免疫诱导促进剂时,细胞免疫诱导促进剂以粘合剂层的总重量为基准优选包含 0.001 ~ 30 重量%、更优选包含 0.01 ~ 20 重量%。

[0359] 用于形成本发明的带状制剂的粘合剂层的粘合剂没有特别限定,例如为由丙烯酸系聚合物形成的丙烯酸系粘合剂;包含苯乙烯-二烯-苯乙烯嵌段共聚物(例如苯乙烯-异戊二烯-苯乙烯嵌段共聚物、苯乙烯-丁二烯-苯乙烯嵌段共聚物等)、聚异戊二烯、聚异丁烯、丁基橡胶、聚丁二烯等橡胶系弹性体的橡胶系粘合剂;有机硅橡胶、二甲基硅氧烷基料、二苯基硅氧烷基料等有机硅系粘合剂;聚乙烯基甲基醚、聚乙烯基乙基醚、聚乙烯基异丁基醚等乙烯基醚系粘合剂;醋酸乙烯酯-乙烯共聚物等乙烯基酯系粘合剂;由对苯二甲酸

二甲酯、间苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二甲酯等羧酸成分与乙二醇等多元醇成分形成的聚酯系粘合剂等。特别优选的粘合剂为丙烯酸系粘合剂、橡胶系粘合剂、有机硅系粘合剂。这些粘合剂以其固体成分计,以粘合剂层的总重量为基准,以优选 10 ~ 90 重量%、更优选 20 ~ 80 重量% 的量包含在粘合剂层中。

[0360] 作为丙烯酸系粘合剂的例子,可以列举出将以包含(甲基)丙烯酸 C2 ~ 18 烷基酯为第 1 单体的聚合物作为主成分的丙烯酸酯系粘合剂。作为上述(甲基)丙烯酸烷基酯(第 1 单体)的例子,可以列举出为烷基的碳数 1 ~ 18 的直链状、支链状或环状烷基(例如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、环己基、庚基、辛基、2-乙基己基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基等)的(甲基)丙烯酸烷基酯等,优选为烷基的碳数 4 ~ 18 的直链状、支链状或环状烷基(例如丁基、戊基、己基、环己基、庚基、辛基、2-乙基己基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基等)的(甲基)丙烯酸烷基酯。进而,为了在常温下赋予粘合性,更优选使用使聚合物的玻璃化转变温度降低的单体成分,因此,更优选为烷基的碳数 4 ~ 8 的直链状、支链状或环状烷基(例如丁基、戊基、己基、环己基、庚基、辛基、2-乙基己基等,优选丁基、2-乙基己基、环己基,特别优选 2-乙基己基)的(甲基)丙烯酸烷基酯。具体而言,更优选丙烯酸丁酯、丙烯酸 2-乙基己酯、甲基丙烯酸 2-乙基己酯、丙烯酸环己酯、甲基丙烯酸环己酯等,其中,最优选丙烯酸 2-乙基己酯。这些(甲基)丙烯酸烷基酯(第 1 单体成分)可以使用 1 种或组合使用 2 种以上。

[0361] 另外,丙烯酸系粘合剂可以含有能与上述(甲基)丙烯酸烷基酯共聚的第 2 单体,作为这样的第 2 单体,可以列举出具有能成为使用交联剂时的交联点的官能团的单体。作为能够参与交联反应的官能团,可以列举出羟基、羧基、乙烯基等,优选羟基及羧基。作为该单体(第 2 单体成分)的具体例,可以列举出(甲基)丙烯酸羟乙酯、(甲基)丙烯酸羟丙酯、N-羟烷基(甲基)丙烯酰胺、(甲基)丙烯酸、衣康酸、马来酸、马来酸酐、中康酸、柠康酸、戊烯二酸等。其中,从获得的容易性的观点考虑,优选丙烯酸、甲基丙烯酸、丙烯酸羟乙酯(尤其是丙烯酸 2-羟乙酯),最优选丙烯酸。这些单体(第 2 单体成分)可以使用 1 种或组合使用 2 种以上。

[0362] 进而,丙烯酸系粘合剂根据需要可以含有第 2 单体以外的第 3 单体。作为第 3 单体(第 3 单体成分),例如可以列举出醋酸乙烯酯、丙酸乙烯酯等乙烯基酯类;甲基乙烯基醚、乙基乙烯基醚等乙烯基醚类;N-乙烯基-2-吡咯烷酮、N-乙烯基己内酰胺等乙烯基酰胺类;(甲基)丙烯酸甲氧基乙酯、(甲基)丙烯酸乙氧基乙酯、(甲基)丙烯酸四氢糠基酯等(甲基)丙烯酸烷氧基酯;(甲基)丙烯酸羟丙酯、丙烯酸  $\alpha$ -羟甲酯等含羟基单体(由于是作为第 3 单体成分使用,因此,不作为交联点);(甲基)丙烯酰胺、二甲基(甲基)丙烯酰胺、N-丁基(甲基)丙烯酰胺、N-羟甲基(甲基)丙烯酰胺等具有酰胺基的(甲基)丙烯酸衍生物;(甲基)丙烯酸氨基乙酯、(甲基)丙烯酸二甲氨基乙酯、(甲基)丙烯酸叔丁氨基乙酯等(甲基)丙烯酸氨基烷基酯;(甲基)丙烯酸甲氧基乙二醇酯、(甲基)丙烯酸甲氧基二乙二醇酯、(甲基)丙烯酸甲氧基聚乙二醇酯、(甲基)丙烯酸甲氧基聚丙二醇酯等(甲基)丙烯酸烷氧基亚烷基二醇酯;(甲基)丙烯腈;苯乙烯磺酸、烯丙基磺酸、(甲基)丙烯酸磺丙基酯、(甲基)丙烯酰氧基萘磺酸酯、丙烯酰胺甲基磺酸等具有磺酸的单体;乙烯基哌啶酮、乙烯基嘧啶、乙烯基哌嗪、乙烯基吡咯、乙烯基咪唑、乙烯基噁唑、乙烯基吗啉等含乙烯基单体等。其中,优选乙烯基酯类、乙烯基酰胺类,乙烯基酯类优选醋酸乙烯酯,乙烯基酰胺类优选 N-乙烯基-2-吡咯烷

酮。这些单体(第3单体成分)可以使用1种或组合使用2种以上。

[0363] 该丙烯酸系粘合剂为(甲基)丙烯酸烷基酯(第1单体成分)与具有能参与交联反应的官能团的乙烯基单体(第2单体成分)的共聚物时,优选(甲基)丙烯酸烷基酯与具有能参与交联反应的官能团的乙烯基单体以(甲基)丙烯酸烷基酯:具有能参与交联反应的官能团的乙烯基单体=99~85:1~15的重量比进行配合并共聚,更优选为99~90:1~10的重量比。

[0364] 另外,该丙烯酸系粘合剂为(甲基)丙烯酸烷基酯(第1单体成分)、具有能参与交联反应的官能团的乙烯基单体(第2单体成分)、与这两种单体以外的其它单体(第3单体成分)的共聚物时,优选(甲基)丙烯酸烷基酯、具有能参与交联反应的官能团的乙烯基单体、与这两种单体以外的其它单体以(甲基)丙烯酸烷基酯:具有能参与交联反应的官能团的乙烯基单体:这两种单体以外的其它单体=40~94:1~15:5~50的重量比进行配合并共聚,更优选为50~89:1~10:10~40的重量比。

[0365] 聚合反应使用自身公知的方法进行即可,没有特别限定,例如可以列举出添加聚合引发剂(例如过氧化苯甲酰、偶氮二异丁腈等),在溶剂(例如醋酸乙酯等)中使上述单体在50~70℃下反应5~48小时的方法。

[0366] 作为本发明中特别优选的丙烯酸系粘合剂,例如为丙烯酸2-乙基己酯/丙烯酸/N-乙烯基-2-吡咯烷酮的共聚物、丙烯酸2-乙基己酯/N-(2-羟乙基)丙烯酰胺/N-乙烯基-2-吡咯烷酮的共聚物、丙烯酸2-乙基己酯/丙烯酸2-羟乙酯/醋酸乙烯酯的共聚物、丙烯酸2-乙基己酯/丙烯酸的共聚物等,更优选为丙烯酸2-乙基己酯/丙烯酸/N-乙烯基-2-吡咯烷酮的共聚物。

[0367] 根据需要,可以对这些丙烯酸系粘合剂实施利用紫外线照射、电子射线照射等辐射线照射进行的物理交联,使用三官能性异氰酸酯等异氰酸酯系化合物、有机过氧化物、有机金属盐、金属醇盐、金属螯合化合物、多官能性化合物(多官能性外部交联剂,二丙烯酸酯、二甲基丙烯酸酯等多官能性内部交联用单体)等各种交联剂的化学交联处理。

[0368] 作为橡胶系粘合剂,可以列举出配合有作为橡胶系弹性体的例如聚异丁烯·聚丁烯系、苯乙烯·二烯·苯乙烯嵌段共聚物、苯乙烯·丁二烯系、腈系、氯丁二烯系、乙烯基吡啶系、聚异丁烯系、丁基系、异戊二烯·异丁烯系等弹性体的橡胶系粘合剂。其中,从对肽及其细胞免疫诱导促进剂的溶解性及皮肤粘接性的方面考虑,优选使用聚异丁烯(PIB)、苯乙烯·二烯·苯乙烯嵌段共聚物(例如苯乙烯·丁二烯·苯乙烯嵌段共聚物(SBS)、苯乙烯·异戊二烯·苯乙烯嵌段共聚物(SIS)等)等,这些可以混合使用。

[0369] 另外,为了达到适度的粘合力及药剂溶解性,橡胶系粘合剂可以混合为相同成分或不同成分且平均分子量不同的橡胶系弹性体来使用。例如,以聚异丁烯为例进行说明时,优选为平均分子量150,000~5,500,000的高分子量的聚异丁烯与平均分子量10,000~150,000的中分子量的聚异丁烯和/或平均分子量500~4,000的低分子量的聚异丁烯的混合物。这里,适宜的是,以高分子量:中分子量:低分子量=10~80、优选20~70:0~90、更优选10~80:0~80、进一步优选10~60的重量比配合高分子量、中分子量及低分子量的聚异丁烯。

[0370] 本发明的平均分子量是指利用Flory的粘度式计算的粘均分子量,其是由20℃下的乌氏粘度计的毛细管1的流动时间利用Schulz-Blaschke式算出斯托丁格指数

(Staudinger Index) ( $J_0$ ), 使用该  $J_0$  值通过下述式求出的。

[0371] [ 数学式 1 ]

[0372] ( 式 )

[0373]  $J_0 = \eta_{sp}/c(1+0.31 \eta_{sp})$  (Schulz-Blaschke 式)

[0374]  $\eta_{sp} = t/t_0 - 1$

[0375]  $t$ : 溶液的流动时间 ( 利用 Hagenbach-couette 校正公式 )

[0376]  $t_0$ : 溶剂的流动时间 ( 利用 Hagenbach-couette 校正公式 )

[0377]  $c$ : 溶液的浓度 ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )

[0378]  $J_0 = 3.06 \times 10^{-2} \overline{M_v}^{0.65}$

[0379]  $\overline{M_v}$ : 粘均分子量

[0380] 在该橡胶系粘合剂中, 为了赋予适合的粘合性, 可以配合例如松香系树脂、聚萘烯树脂、香豆酮-茛树脂、石油系树脂、萘烯-酚醛树脂、二甲苯树脂、脂环族饱和烃树脂等赋粘剂。赋粘剂可以以橡胶系粘合剂的总重量为基准, 以 50 重量 % 以下、优选 5 ~ 40 重量 % 的比例配合上述赋粘剂中的 1 种或 2 种以上。

[0381] 作为有机硅系粘合剂, 可以列举出由聚有机硅氧烷系、聚二甲基硅氧烷系、或聚二甲基二苯基硅氧烷系等形成的有机硅系粘合剂。其中, 优选使用来自 Dow Corning Corporation 的 BIO PSA 这样的商业上能获得的有机硅系粘合剂等。

[0382] 作为支撑粘合剂层的支撑体, 没有特别限定, 优选实质上使肽、细胞免疫诱导促进剂不透过的支撑体, 即不会发生粘合剂层中所含的肽、细胞免疫诱导促进剂、添加剂等通过支撑体中而自背面流失从而含量降低的支撑体。

[0383] 作为支撑体, 例如可以使用聚酯、聚酰胺、聚偏氯乙烯、聚乙烯、聚丙烯、聚氯乙烯、乙烯-丙烯酸乙酯共聚物、聚四氟乙烯、离聚物树脂、金属箔等单独的薄膜或它们的层叠薄膜等。其中, 为了使支撑体和粘合剂层的粘接性(锚固性)良好, 优选将支撑体为由上述材质形成的无孔的塑料薄膜和多孔薄膜的层叠薄膜。该情况下, 理想的是, 粘合剂层形成于多孔薄膜侧。作为这样的多孔薄膜, 采用与粘合剂层的锚固性提高的多孔薄膜, 具体而言, 可以列举出纸、织布、无纺布、编织布、实施了机械穿孔处理的片等。其中, 从操作性等观点考虑, 特别优选纸、织布、无纺布。多孔薄膜从锚固性提高、带状制剂的柔软性及贴附操作性等方面考虑, 采用厚度 1 ~ 200  $\mu\text{m}$  的范围的多孔薄膜。另外, 作为多孔薄膜, 使用织布、无纺布时, 将单位面积重量设为优选 5 ~ 30  $\text{g}/\text{m}^2$ 、更优选 6 ~ 15  $\text{g}/\text{m}^2$  即可。

[0384] 作为最适合的支撑体, 可以列举出厚度 1.5 ~ 6  $\mu\text{m}$  的聚酯薄膜(优选聚对苯二甲酸乙二醇酯薄膜)和单位面积重量 6 ~ 15  $\text{g}/\text{m}^2$  的聚酯(优选聚对苯二甲酸乙二醇酯)制无纺布的层叠薄膜。

[0385] 为了保护粘合剂层的粘合面直至使用为止, 理想的是, 在本发明的带状制剂粘合面层叠剥离衬垫。作为剥离衬垫, 只要能够进行剥离处理、并确保足够轻的剥离力就没有特别限定, 例如可以使用通过在与粘合剂层的接触面涂布有机硅树脂、氟树脂等而实施了剥离处理的聚酯、聚氯乙烯、聚偏氯乙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯等薄膜、优质纸、玻璃纸等纸、或优质纸或者玻璃纸等与聚烯烃的层压薄膜等。剥离衬垫的厚度优选为 10 ~ 200  $\mu\text{m}$ 、更优选为 25 ~ 100  $\mu\text{m}$ 。作为剥离衬垫, 从阻隔性、价格等方面考虑, 优选由聚酯(尤其是聚

对苯二甲酸乙二醇酯)树脂形成的衬垫。

[0386] 进而,该情况下,从操作性方面考虑,优选具有 25 ~ 100  $\mu\text{m}$  左右的厚度的衬垫。

[0387] III. 经粘膜给予用疫苗组合物

[0388] 本发明的经粘膜给予用疫苗组合物将抗原与药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐一起使用,在各种抗原的经粘膜给予中发挥高的细胞免疫诱导效果。

[0389] 在本说明书中使用时,术语“经粘膜给予用”组合物可以为在经粘膜给予例如舌下、鼻腔、颊部、直肠或阴道给予中通常使用的任意制剂,例如凝胶剂(胶浆剂)、霜剂、软膏剂、硬膏剂等半固体制剂、液体制剂、散剂、细粒剂、颗粒剂、薄膜制剂、片剂、口腔崩解片等固体制剂、气雾剂这样的粘膜用喷雾剂、吸引剂等。这些组合物的区分、定义、性质、制法等在本技术领域是公知的,可以参考例如日本药典第 16 版。

[0390] 例如,作为液体制剂用溶剂,可以使用适量的水或乙醇、甘油、丙二醇等溶剂,可以使成分分散或溶解在该溶剂中而制备液体制剂。

[0391] 例如,作为凝胶剂(胶浆剂)用基质,可以使用作为水凝胶基质的羧基乙烯基聚合物、凝胶基质(gelbase)、无脂肪性软膏、聚乙烯基吡咯烷酮、聚乙烯醇、聚丙烯酸钠、羧甲基纤维素、淀粉、黄原胶、刺梧桐胶、海藻酸钠、甲基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯(HPMCP)、醋酸邻苯二甲酸纤维素(CAP)、羧甲基乙基纤维素(CMEC)、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧基乙烯基聚合物、黄耆胶、阿拉伯胶、塔拉胶(tara gum)、罗望子胶、车前子胶、琼脂、结冷胶、葡甘露聚糖、刺槐豆胶、瓜尔豆胶、角叉菜胶、糊精、葡聚糖、直链淀粉、羧甲基纤维素钾、羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素钙、普鲁兰多糖、壳聚糖、羧甲基淀粉钠、车前属种皮、半乳甘露聚糖、Eudragit、酪蛋白、海藻酸烷基酯、明胶、聚乙二醇等。将这些基质溶解在溶剂中能够制备具有流动性的凝胶剂、具有成型性的凝胶剂。作为溶剂,优选为水,还可以使用甘油、丙二醇。

[0392] 例如,作为霜剂用基质,可列举出亲水性软膏、雪花膏等水/油型基质;亲水性凡士林、精制羊毛脂、阿夸弗尔(aquaphor)、优塞林(Eucerin)、Neoeserine、含水羊毛脂、冷霜(cold cream)、亲水性液体石蜡和聚乙烯的复合软膏基质(plastibase)等油/水型基质。通过将这些基质投入到油脂系溶剂或水中,利用均质器等进行高速搅拌,能够制备霜剂。

[0393] 例如,作为薄膜制剂用基质,可列举出聚乙烯基吡咯烷酮、聚乙烯醇、聚丙烯酸钠、羧甲基纤维素、淀粉、黄原胶、刺梧桐胶、海藻酸钠、甲基纤维素、羧基乙烯基聚合物、琼脂、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯(HPMCP)、醋酸邻苯二甲酸纤维素(CAP)、羧甲基乙基纤维素(CMEC)、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧基乙烯基聚合物、黄耆胶、阿拉伯胶、刺槐豆胶、瓜尔豆胶、角叉菜胶、糊精、葡聚糖、直链淀粉、羧甲基纤维素钾、羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素钙、普鲁兰多糖、壳聚糖、羧甲基淀粉钠、车前属种皮、半乳甘露聚糖、甲基丙烯酸氨基烷基酯共聚物 E、甲基丙烯酸氨基烷基酯共聚物 RS、甲基丙烯酸共聚物 L、甲基丙烯酸共聚物 LD、甲基丙烯酸共聚物 S、丙烯酸甲酯·甲基丙烯酸·甲基丙烯酸甲酯共聚物、丙烯酸乙酯·甲基丙烯酸甲酯共聚物、聚乙烯醇缩醛二乙基氨基乙酸酯、酪蛋白、海藻酸烷基酯等。通过将这些基质溶解在水或乙醇等极性有机溶剂中,进行薄膜涂布后使其干燥,能够制备薄膜制剂。在一个优选的实施方式中,本发明的经粘膜给予用疫苗组合物为薄膜状制剂的形态。

[0394] 例如,作为散剂、细粒剂、颗粒剂、片剂用添加剂,使用乳糖、玉米淀粉、结晶纤维素这样的赋形剂;羟丙基纤维素、阿拉伯胶等结合剂;以及适量的水或乙醇等溶剂,进行混合搅拌后,将造粒、干燥、压片这样的工序进行组合,从而能够进行制备。根据需要还可以添加硬脂酸镁这样的润滑剂、羟丙基纤维素、蔗糖等包衣剂。

[0395] 例如,作为口腔崩解片(冷冻干燥型)用基质,可以列举出明胶、普鲁兰多糖等多糖类。另外,作为成型剂,可以使用甘露糖醇、海藻糖、山梨糖醇、甘氨酸等。通过将这些添加剂溶解在水中,分注后使其冷冻干燥,能够制备口腔崩解片(冷冻干燥型)。在一个优选的实施方式中,本发明的经粘膜给予用疫苗组合物为口腔崩解片的形态。

[0396] 例如,作为气雾剂,作为内容物可列举出液体制剂、流动性高的凝胶剂、霜剂、散剂等微粉。通过使用喷雾设备使它们在气体中分散成固体或液体的微粒,能够高效地给予至口腔粘膜、鼻腔粘膜这样的给予部位。

[0397] 本发明的经粘膜给予用疫苗组合物中的抗原、药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐以及细胞免疫诱导促进剂的比例没有特别限定。在一个实施方式中,本发明的经粘膜给予用疫苗组合物包含以组合物的总重量为基准优选 0.01 ~ 40 重量%、更优选 0.1 ~ 30 重量%的期望的抗原。在一个实施方式中,本发明的经粘膜给予用疫苗组合物包含以组合物的总重量为基准优选 0.001 ~ 30 重量%、更优选 0.01 ~ 20 重量%的药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐。另外,本发明的经粘膜给予用疫苗组合物含有细胞免疫诱导促进剂时,细胞免疫诱导促进剂以组合物的总重量为基准优选包含 0.001 ~ 30 重量%、更优选包含 0.01 ~ 20 重量%。

[0398] 另外,本发明的经皮或经粘膜给予用组合物根据需要还可以包含添加剂。添加剂根据与基质的主成分、抗原、药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐以及细胞免疫诱导促进剂的相容性、想要实施的给予方案等,可以从例如等渗剂、防腐·杀菌剂、抗氧化剂、溶解剂、助溶剂、悬浮剂、填充剂、pH 调节剂、稳定剂、吸收促进剂、释放速度控制剂、着色剂、增塑剂、交联剂、粘合剂等、或者它们的 2 种以上的组合中选择。另外,本发明的组合物为带状制剂的形态时,该带状制剂可以含有皮肤渗透性增强剂作为添加剂。

[0399] 在本说明书中使用时,术语“皮肤渗透性增强剂”是指经皮给予的抗原渗透皮肤的效率与未给予皮肤渗透性增强剂的效率相比能够得到改善的所有物质。作为皮肤渗透性增强剂,只要是在室温(25℃)为液态即具有流动性、或混合使用 2 种以上时混合物在室温(25℃)下最终变为液态、并具有促进吸收的效果的物质就没有特别限定。作为该有机液态成分,从与粘合剂层的相容性的观点考虑,优选疏水性液态成分。作为该皮肤渗透性增强剂,例如可以列举出油醇、辛基十二烷醇等高级醇;甘油、乙二醇、聚丙二醇等多元醇;油酸、辛酸等高级脂肪酸;肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、油酸乙酯等脂肪酸酯;癸二酸二乙酯、己二酸二异丙酯等多元酸酯;三异硬脂酸二甘油酯、单油酸山梨糖醇酐、二辛酸丙二醇、单月桂酸聚乙二醇、四油酸聚氧乙烯山梨糖醇等多元醇脂肪酸酯;聚氧乙烯月桂基醚等聚氧乙烯烷基醚;角鲨烷、液体石蜡等烃;橄榄油、蓖麻油等植物油;硅油;N-甲基吡咯烷酮、N-十二烷基吡咯烷酮这样的吡咯烷酮类;癸基甲基亚砷这样的亚砷等,这些增强剂可以使用 1 种或混合使用 2 种以上。

[0400] 在使用橡胶系或丙烯酸系的粘合剂的情况下,可以使用第二皮肤渗透性增强剂。具体的第二皮肤渗透性增强剂例如包含聚乙烯基吡咯烷酮、交联聚乙烯吡咯烷酮、聚丙二

醇、聚乙烯醇、羧基乙烯基聚合物、羟丙基纤维素等或它们的混合物,但并不限于此,在优选的实施方式中,本发明的第二皮肤渗透性增强剂为聚乙烯基吡咯烷酮、交联聚乙烯吡咯烷酮和 / 或聚丙二醇。

[0401] 从增强抗原肽的皮肤渗透性的观点出发,作为皮肤渗透性增强剂,可优选使用的是:高级醇,更具体而言,碳数 8 ~ 18 (优选为 8 ~ 14) 的高级醇、脂肪酸酯,更具体而言,碳数 8 ~ 18 (优选为 12 ~ 16) 的脂肪酸与碳数为 1 ~ 18 的一元醇的脂肪酸酯、多元醇脂肪酸酯等、尤其是脂肪酸酯、尤其是肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、或癸二酸二乙酯。该皮肤渗透性增强剂的量以粘合剂的总重量为基准优选为 0.1 重量% ~ 70 重量%、更优选为 1 重量% ~ 65 重量%、更优选为 5 重量% ~ 60 重量%。皮肤渗透性增强剂的比例为 0.1 重量% 以上时,可以得到高的经皮吸收促进效果。为 70 重量% 以下时,能够抑制粘合剂层整体的粘合力、凝集力的降低,并且能够获得高的经皮吸收性,因而是有利的。

[0402] 本发明的经皮给予用组合物优选在低刺激条件下给予。低刺激条件下的给予例如可以通过如下方式来达成,(i) 在皮肤刺激评价用动物模型的经皮水分散发量 (TEWL) ( $\text{g}/\text{h} \cdot \text{m}^2$ ) 为 50 以下的条件下给予本发明的经皮给予用组合物,(ii) 在皮肤刺激评价用动物模型的皮肤内 TSLP 水平 ( $\text{pg}/\text{mg}$  蛋白质) 为 10000 以下的条件下给予本发明的经皮给予用组合物。

[0403] 抗原的对治疗有效的量根据疾病的严重程度、对象的年龄以及相对的健康以及其它的已知的因素而可以大范围地变化,通常,1 日用量约  $0.1 \mu\text{g} \sim 1\text{g}/\text{kg}$  体重能够得到令人满意的结果。药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐与抗原同时或逐次给予,优选为同时给予。药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐的有效量根据要使用的具体的酸或盐、并用的细胞免疫诱导促进剂的有无等而可以大范围地变化,但 1 日用量  $0.01 \mu\text{g} \sim 1\text{g}/\text{kg}$  体重能够得到令人满意的结果。在并用细胞免疫诱导促进剂时,细胞免疫诱导促进剂与抗原同时或逐次给予,优选为同时给予。细胞免疫诱导促进剂的有效量根据要使用的具体的细胞免疫诱导促进剂、其它细胞免疫诱导促进剂的有无等而可以大范围地变化,但 1 日用量  $0.01 \mu\text{g} \sim 1\text{g}/\text{kg}$  体重能够得到令人满意的结果。1 日用量可以 1 次给予,也可以分 2 次以上例如 2 次、3 次、4 次或 5 次等多次来给予。每次的连续给予时间在 1 分钟 ~ 7 天的区间内适当选择。给予间隔可以根据患者的状态、疾病的严重程度、是治疗目的还是预防目的等从每天 ~ 1 年 1 次 (例如 1 日 1 次、2 日 1 次、3 日 1 次、1 周 1 次、2 周 1 次、1 个月 1 次、3 个月 1 次、6 个月 1 次、1 年 1 次) 或比该范围更长的给予间隔中适当选择。通常,出于实际具有重度疾病的患者的治疗的目的,以更高频率、高用量给予抗原,出于不患有疾病的患者的预防的目的,以更低频率、低用量给予抗原。

[0404] 以下示出实施例对本发明进行更详细且具体的说明,但本发明不限于实施例的范围。

[0405] 实施例

[0406] 经皮给予用带状制剂

[0407] 带状制剂中使用的粘合剂如下所示地制备。

[0408] (丙烯酸系粘合剂 A)

[0409] 在非活性气体气氛下,使丙烯酸 2-乙基己酯 75 份、N-乙烯基-2-吡咯烷酮 22 份、丙烯酸 3 份以及偶氮二异丁腈 0.2 份在醋酸乙酯中以  $60^\circ\text{C}$  进行溶液聚合,得到丙烯酸系粘

合剂 A 溶液。

[0410] (PIB 橡胶系粘合剂)

[0411] 将聚异丁烯(Opanol B200、BASF 公司制) 24 份、聚异丁烯(Opanol B12、BASF 公司制) 36 份以及脂环族系石油树脂(ALCON P-100、荒川化学公司制) 40 份溶解在甲苯中, 得到 PIB 橡胶系粘合剂溶液。

[0412] 制造具有下述表 1~3 的组成的带状制剂。具体而言, 以有机溶剂干燥后的各成分的浓度达到表 1~3 的配合的方式配合粘合剂溶液、抗原肽、药理学上容许的酸、细胞免疫诱导促进剂、皮肤渗透性增强剂、有机溶剂(醋酸乙酯等)、以及根据期望的添加剂并混合, 以干燥后的厚度为约 80  $\mu\text{m}$  的方式延展在剥离衬垫上, 通过干燥, 除去有机溶剂, 贴合支撑体, 制备带状制剂。粘合剂溶液以有机溶剂干燥后的各成分与粘合剂的总计为 100 重量份的方式配合。将该带状制剂以面积为 0.7  $\text{cm}^2$  的方式切割而成的带状制剂作为免疫实验的给予样品。在给予时剥下剥离衬垫并给予。支撑体使用聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET) 薄膜(厚度 25  $\mu\text{m}$ )。剥离衬垫使用实施了有机硅剥离处理的聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET) 制衬垫(厚度 75  $\mu\text{m}$ )。

[0413] 咪喹莫特(IMQ) 从东京化成工业购入。HER2/neu E75 肽(TFA 盐)、IPEP87 肽(TFA 盐)、PR1 肽(TFA 盐)、以及 Peptide-25 (TFA 盐)、PADRE (醋酸盐)均使用进行化学合成并用 HPLC 精制而成的制品。

[0414] 小鼠免疫试验 1 (带状制剂)

[0415] 针对上述那样制造的带状制剂, 使用免疫评价用动物模型进行小鼠免疫试验。免疫诱导水平的评价利用 ELISPOT 法进行。具体而言, 将小鼠背部的毛剪掉, 设置用于使因剪毛而导致的皮肤损伤恢复的饲养时间, 然后, 对小鼠的背部皮肤给予规定时间的样品并除去, 进行规定天数的饲养, 评价抗原特异性细胞免疫的诱导水平。自给予起经过规定天数后, 摘除脾脏, 制备脾细胞悬浮液。在固定有抗小鼠 IFN- $\gamma$  抗体的 ELISPOT 板的孔中与培养液一起加入脾细胞 ( $3 \times 10^6$  细胞/孔) 和抗原(在肽抗原的情况下为 100  $\mu\text{M}$ 、在蛋白抗原的情况下为 100  $\mu\text{g/mL}$ ), 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$  的培养条件下共培养 20 小时, 利用 ELISPOT 法评价 IFN- $\gamma$  产生细胞斑点数(斑点数/ $3 \times 10^6$  细胞)。给予次数为(24hr/周)  $\times$  1 次、脾脏摘除为自给予起 6 天后。

[0416] 另外, 对于一部分带状制剂, 还按照以下记载的方法, 使用皮肤刺激评价用动物模型, 进行给予后的小鼠的皮肤内 TSLP 水平、以及给予前的小鼠的经皮水分散发量的测定。

[0417] (TSLP 水平的测定方法)

[0418] 在制剂给予结束时, 摘除小鼠背部皮肤, 在提取溶剂中(包含蛋白酶抑制剂(Protease Inhibitor Cocktail for general use, SIGMA-ALDRICH 制造)和 10  $\mu\text{M}$  吡啶美辛(和光纯药制造)的 PBS 溶液)使用均质器(Phycotron, Micro Tech Nichion Inc. 制造)将皮肤粉碎。使粉碎的皮肤以 4 $^{\circ}\text{C}$ 、9000g 进行 10 分钟离心分离后, 回收上清液。用 ELISA (Mouse TSLP Quantikine ELISA Kit, R & D Systems 制造)测定上清液中的 TSLP 量。另外, 用 BCA 法(Pierce BCA Protein Assay Kit, Thermo SCIENTIFIC 制造)测定上清液中的总蛋白质量, 用 TSLP 量除以总蛋白质量, 进行标准化。

[0419] (经皮水分散发量测定)

[0420] 使用便携式密闭室方式水分散发量测定装置(ASAHI BIOMED 制造、VAPO SCAN

AS-VT100RS),使该设备接触小鼠皮肤 5 ~ 15 秒左右,从而进行测定。将在对小鼠皮肤进行预处理的 10 分后测定的值作为经皮水分散发量(TEWL) ( $\text{g/h} \cdot \text{m}^2$ )。

[0421] 免疫试验的结果、以及 TSLP 水平以及经皮水分散发量的测定结果与免疫评价中使用的小鼠一同示于下述表 1 ~ 3。表中的“转基因小鼠”是能够评价利用 HLA-A \* 0201 型 MHC 限制性肽的细胞免疫诱导的转基因小鼠。另外,为了进行比较,将使用了后述注射剂的免疫的结果(比较例 3)记载在各表的最后。

#### [0422] 体内 CTL 杀伤试验

[0423] 自最终免疫给予起 7 天后,按照下述要领移植脾脏细胞(靶细胞或者对照细胞(control cell)),在移植完 18 小时后取脾脏,进行 FACS 测定,从而求出 % 特异性溶解。

#### [0424] 步骤 1. 首次接受试验的小鼠的脾脏细胞采取

[0425] 自首次接受试验的小鼠(C57BL/6)摘除脾脏,在加入了 RPMI1640 培养基的培养皿中,使用载玻片磨碎。回收至 50mL 管后,进行 10℃、1100rpm、5 分钟离心分离,然后,丢弃上清液,加入 20mL 裂解缓冲液,在室温下孵育 5 分钟。加入 20mL 培养基后,进行离心分离,然后,加入培养基,通过细胞筛网。

#### [0426] 步骤 2. 脾脏细胞的抗原标记

[0427] 将步骤 1 中制备的脾脏细胞进行 10℃、1100rpm、5 分钟离心分离,然后,丢弃上清液,加入 HBSS 缓冲液,成为  $2 \times 10^7$  细胞 /mL。将该细胞液分注入 2 根 50mL 管中,在一个管的细胞液中以最终浓度为  $10 \mu\text{M}$  的方式加入  $100 \mu\text{M}$  抗原溶液(抗原为各免疫给予物中配合的抗原),作为靶细胞。另一个管的细胞为对照细胞。将两种细胞在 37℃ 下孵育 1 小时,然后,进行离心分离,丢弃上清液,加入培养基。

#### [0428] 步骤 3. 脾脏细胞的 CFSE 标记

[0429] 将步骤 2 中进行了抗原标记的细胞离心分离,以为  $1 \times 10^7$  细胞 /mL 的方式加入 0.1%BSA-PBS。在靶细胞液中以最终浓度为  $10 \mu\text{M}$  的方式加入 5mMCFSE 溶液,在对照细胞液中以最终浓度为  $1 \mu\text{M}$  的方式加入 5mM CFSE 溶液,涡流混合后在 37℃ 下孵育 10 分钟。其后进行离心分离,丢弃上清液,加入培养基。

#### [0430] 步骤 4. 脾脏细胞移植

[0431] 将步骤 3 中进行了 CFSE 标记的细胞离心分离,丢弃上清液,使用 HBSS 缓冲液,以为  $5 \times 10^7$  细胞 /mL 的方式进行制备。将靶细胞液和对照细胞液等量混合,自眼窝静脉向免疫了的小鼠每次给予 200  $\mu\text{L}$  (移植细胞数 :  $1 \times 10^7$  细胞 / 只)。

#### [0432] 步骤 5. 免疫小鼠的脾脏细胞制备和 FACS 测定

[0433] 脾脏细胞移植 18 小时后,摘除脾脏,与步骤 1 同样地制备脾脏细胞。其后,利用 FACS 检测 CFSE 阳性细胞,由 CFSE 高的细胞(靶细胞)和 CFSE 低的细胞(对照细胞)的比率,利用以下的式子评价细胞毒性。利用该指标评价抗原特异性诱导的免疫在生物体内特异性攻击抗原提呈细胞的能力,结果确认本发明的给予物质的效果高。

[0434]  $r = (\% \text{CFSE 低的细胞}) / (\% \text{CFSE 高的细胞})$

[0435]  $\% \text{ 特异性溶解} = (1 - (r_{\text{非免疫}} / r_{\text{免疫}})) \times 100$

[0436]

[表1-1]  
表1

	组成								TSLP (pg/mg 蛋白质)	物理 刺激	TEWL (g/h·m <sup>2</sup> )	免疫评 价小鼠	免疫结果 (ELISPOT 平均斑点 数)	%特异性 溶解(体 内CTL杀 伤试验)
	基质	抗原 肽	细胞免疫诱导促 进剂	皮肤渗 透性增 强剂	酸	添加剂 (化学刺 激)	羧基	羧基						
比较例1	丙烯酸系	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	IPM (34.4)	无	无	无	52	无	10	转基因	78	
实施例1	丙烯酸系	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	IPM (25.8)	肉豆蔻酸 (8.6)	无	无	98	无	10	转基因	117	30
实施例2	丙烯酸系	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	IPM (25.8)	月桂酸 (8.6)	无	无		无		转基因		
实施例3	丙烯酸系	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	IPM (25.8)	异硬脂酸 (8.6)	无	无		无		转基因		
实施例4	丙烯酸系	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	IPM (25.8)	棕榈酸 (8.6)	无	无		无		转基因		
实施例5	丙烯酸系	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	IPM (25.8)	油酸(8.6)	无	无		无		转基因		

[0437]

[表1-2]  
表1续

	组成		细胞免疫诱导促进剂		皮肤渗透性增强剂	酸	添加剂(化学刺激剂)	TSLP (pg/mg 蛋白质)	物理刺激	TEWL (g/h·m <sup>2</sup> )	免疫评价小鼠	免疫结果 (ELISPOT 平均斑点数)	%特异性溶解(体内CTL杀伤试验)
	基质	抗原肽	IMQ(3)	PADRE(1)									
比较例2	丙烯酸系	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PADRE(1)	IPM (34.4)	无	无		无	12	转基因	68	
实施例6	丙烯酸系	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PADRE(1)	IPM (14.4)	乳酸 (20.0)	无		无	12	转基因	210	
比较例3	生理盐水	HER2/neu E75 (0.125)	Montanide (50)	ISAS1VG	无	无	无		无		转基因	110	28

( )内的数值为各成分的配合比例 (重量份) (以下的表中也同样)。

丙烯酸系: 丙烯酸系粘合剂

IMQ: 咪喹莫特

PIP: Peptide-25 (序列号13)

PADRE: 通用辅助肽 (序列号15)

IPM: 庚豆蔻酸异丙酯、Croda Japan KK制造

[0438]

[表2]  
表2

	组成		细胞免疫诱导剂	皮肤渗透性增强剂	酸	添加剂 (化学刺激)	TSLP (pg/mg 蛋白质)	物理刺激	TEWL (g/h·m <sup>2</sup> )	免疫评价小鼠	免疫结果 (ELISPOT 平均斑点数)
	基质	抗原肽									
比较例4	丙烯酸系	IPEP87 (10)	IMQ(3)	IPM (35.2)	无	无	50	无	10	转基因	28
实施例7	丙烯酸系	IPEP87 (10)	IMQ(3)	IPM (25.8)	肉豆蔻酸 (8.6)	无	95	无	10	转基因	132

[0439]

【表3】  
表3

	组成						TSLP (pg/mg 蛋白质)	物理刺 激	TEWL (g/h·m <sup>2</sup> )	免疫评 价小鼠	免疫结果 (ELISPOT 平均斑点数)
	基质	抗原 肽	细胞免疫诱导 剂	皮肤渗 透性增 强剂	酸	添加剂 (化学刺 激)					
比较例5	PIB	PR1(10)	IMQ(3)	PEP(1)	IPM (35.2)	无	26	无	10	转基因	14
实施例8	PIB	PR1(10)	IMQ(3)	PEP(1)	IPM (25.8)	肉豆蔻酸 (8.6)	89	无	10	转基因	33
实施例9	丙烯酸系	PR1(10)	IMQ(3)	PEP(1)	IPM (25.8)	肉豆蔻酸 (8.6)	110	无	10	转基因	16

PIB: PIB橡胶系粘合剂

[0440] 舌下给予液体制剂

[0441] 制造具有下述表 4、5 以及 6 的组成的液体制剂,作为小鼠免疫试验的给予样品。

具体而言,向表 4、5 以及 6 所记载的配合量的抗原(肽或蛋白)、细胞免疫诱导促进剂以及药理学上容许的酸中添加 20 重量份的添加剂(DMSO)以及作为基质的生理盐水,使总量为 100 重量份,进行混合而制备舌下给予液体制剂。

[0442] 生存素 2B 肽(TFA 盐)、Peptide-25B (Pep25B) (TFA 盐)使用进行化学合成并用 HPLC 精制而成的制品。OVA 蛋白从 Sigma-Aldrich 公司购买。来源于成团泛菌的脂多糖使用了自然免疫应用技研制造的制品。其它抗原肽和细胞免疫诱导促进剂的获得来源与上述带状制剂的情况相同。

[0443] 小鼠免疫试验 2 (舌下给予)

[0444] 针对上述舌下给予液体制剂,进行小鼠免疫试验。试验利用 ELISPOT 法进行。具体而言,在 1 次给予的情况下,将小鼠麻醉后,向舌下部给予液体制剂,维持 2 分钟后,饲育 6 天。在 2 次给予的情况下,自第 1 次给予起 6 天后同样地重复上述操作。自最后给予日起 6 天后摘除脾脏,利用以下记载的 ELISPOT 法评价抗原特异性细胞免疫诱导水平。ELISPOT 法与上述小鼠免疫试验 1 利用同样的方法进行。

[0445] 将免疫试验的结果与所使用的小鼠、给予量、给予次数共同示于下述表 4 和 5。表中的转基因小鼠为能够评价利用 HLA-A \* 0201 型 MHC 限制性肽的免疫诱导的转基因小鼠。另外,为了进行比较,将使用了后述注射剂的免疫的结果(比较例 3)记载在各表的最后。

[0446]

[表4]  
表4

	组成			细胞免疫诱导促进剂	酸	给予量 (/次)	给予次数	免疫评价 小鼠	免疫结果 (ELISPOT 平均斑点数)
	基质	抗原	抗原						
比较例6	生理盐水	生存素 2B (2.5)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	无	20μL	2次	BALB/c	49
实施例10	生理盐水	生存素 2B (2.5)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	肉豆蔻酸 (0.05)	20μL	2次	BALB/c	80
实施例11	生理盐水	生存素 2B (2.5)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	异硬脂酸 (0.05)	20μL	2次	BALB/c	72
实施例12	生理盐水	生存素 2B (2.5)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	乳酸(0.05)	20μL	2次	BALB/c	76
实施例13	生理盐水	生存素 2B (2.5)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	柠檬酸 (0.05)	20μL	2次	BALB/c	70
实施例14	生理盐水	生存素 2B (2.5)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	苹果酸 (0.05)	20μL	2次	BALB/c	
实施例15	生理盐水	生存素 2B (2.5)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	水杨酸 (0.05)	20μL	2次	BALB/c	
实施例16	生理盐水	生存素 2B (2.5)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	马来酸 (0.05)	20μL	2次	BALB/c	61

LPS: 来源于成团泛菌的脂多糖  
PEPB: Peptide-25B (序列号14)

[0447]

[表5]  
表5

	组成			细胞免疫诱导促进剂	酸	给予量 (/次)	给予 次数	免疫评价 小鼠	免疫结果 (ELISPOT 平均斑点数)
	基质	抗原	抗原						
比较例7	生理盐水	HER2/neu E75 (1.25)	HER2/neu E75 (1.25)	LPS(0.1)	无	20μL	2次	转基因	30
实施例17	生理盐水	HER2/neu E75 (1.25)	HER2/neu E75 (1.25)	LPS(0.1)	肉豆蔻酸 (0.05)	20μL	2次	转基因	41
实施例18	生理盐水	HER2/neu E75 (1.25)	HER2/neu E75 (1.25)	LPS(0.1)	异硬脂酸 (0.05)	20μL	2次	转基因	38
实施例19	生理盐水	HER2/neu E75 (1.25)	HER2/neu E75 (1.25)	LPS(0.1)	乳酸 (0.05)	20μL	2次	转基因	37
实施例20	生理盐水	HER2/neu E75 (1.25)	HER2/neu E75 (1.25)	LPS(0.1)	柠檬酸 (0.05)	20μL	2次	转基因	38
比较例3	生理盐水	HER2/neu E75 (0.125)	HER2/neu E75 (0.125)	Montanide ISA51VG (50)	无	200μL	1次	转基因	110

[0448]

[表6]  
表6

	组成						给予量 (/次)	给予 次数	免疫评价 小鼠	免疫结果 (ELISPOT 平均斑点数)
	基质	抗原	细胞免疫诱导促进 剂	酸	细胞免疫诱导促进 剂	酸				
比较例8	生理盐水	OVA蛋白 (1.25)	LPS(0.1)	无	无	无	20μL	2次	BALB/c	120
实施例21	生理盐水	OVA蛋白 (1.25)	LPS(0.1)	无	无	肉豆蔻酸(0.05)	20μL	2次	BALB/c	231
比较例9	生理盐水	OVA蛋白 (1.25)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	无	无	20μL	2次	BALB/c	142
实施例22	生理盐水	OVA蛋白 (1.25)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	PEPB (0.3)	肉豆蔻酸(0.05)	20μL	2次	BALB/c	405
实施例23	生理盐水	OVA蛋白 (1.25)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	PEPB (0.3)	异硬脂酸 (0.05)	20μL	2次	BALB/c	380
实施例24	生理盐水	OVA蛋白 (1.25)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	PEPB (0.3)	乳酸 (0.05)	20μL	2次	BALB/c	365
实施例25	生理盐水	OVA蛋白 (1.25)	LPS(0.1)	PEPB (0.3)	PEPB (0.3)	柠檬酸 (0.05)	20μL	2次	BALB/c	345

[0449] 皮下注射剂

[0450] 制备具有下述表 7 的组成的皮下注射剂,作为免疫实验的给予样品。具体而言,在

表 7 记载的配合量的抗原肽和作为佐剂的 Montanide ISA51VG (Freund Corp.) 中添加 0.5 重量份的添加剂 (DMSO) 以及作为基质的生理盐水, 使总量为 100 重量份, 进行混合而制备注射剂。所使用的抗原肽为 TFA 盐的形态。抗原肽的获得来源与上述带状制剂的情况相同。

[0451] 小鼠免疫试验 3 (皮下注射)

[0452] 针对上述皮下注射剂, 进行小鼠免疫试验。试验利用 ELISPOT 法进行。具体而言, 在小鼠背部皮下注射给予 200  $\mu$  L 后, 饲养 6 天。自给予日起 6 天后摘除脾脏, 利用 ELISPOT 法评价抗原特异性细胞免疫诱导水平。给予次数均为 1 次。ELISPOT 法与上述小鼠免疫试验 1 利用同样的方法进行。

[0453] 将免疫试验的结果与所使用的小鼠共同示于下述表 7。表中的转基因小鼠为能够评价利用 HLA-A \* 0201 型 MHC 限制性肽的免疫诱导的转基因小鼠。

[0454]

[表7]  
表7

比较例3	组成		细胞免疫诱导促进剂 Montanide ISA51VG (50)	免疫评价小鼠 转基因	免疫结果 (ELISPOT平均斑点数) 110
	基质	抗原肽			
	生理盐水	HER2/neu E75(0.125)			

[0455] 外用液体制剂

[0456] 制备具有下述表 8 的组成的外用液体制剂。具体而言,将表 8 记载的配合量的

HER2/neu E75 肽(TFA 盐)和细胞免疫诱导促进剂、以及 20 重量份的 DMSO 配合,向其中加入基质,使总量为 100 重量份,进行混合而得到外用液体制剂。作为基质,使用以重量比计为 98:2 的比例的量配合丙二醇(PG)和油醇(OA)并混合而制得的基质。咪喹莫特(IMQ)从东京化成工业购买。HER2/neu E75 肽(TFA 盐)及 Peptide-25 (TFA 盐)使用进行化学合成并用 HPLC 精制而成的制品。

[0457] 准备将纤维素无纺布(面积 0.8cm<sup>2</sup>)贴合在固定用粘合带的中央部而得到的复合基材。将向该复合基材的无纺布部分浸渗所制得的外用液体制剂 67 μ L 而成的物质作为免疫实验的给予样品。

#### [0458] 小鼠免疫试验 4 (外用液体制剂)

[0459] 针对上述外用液体制剂,使用免疫评价用动物模型进行小鼠免疫试验。免疫诱导水平的评价利用 ELISPOT 法进行。具体而言,将小鼠背部的毛剪掉,设置用于使因剪毛而导致的皮肤损伤恢复的饲养时间,然后,对小鼠的背部皮肤给予规定时间的样品并除去,进行规定天数的饲养,评价抗原特异性细胞免疫的诱导水平。自给予起经过规定天数后,摘除脾脏,制备脾细胞悬浮液。在固定有抗小鼠 IFN-γ 抗体的 ELISPOT 板的孔中与培养液一起加入脾细胞(3×10<sup>6</sup> 细胞/孔)和抗原肽(100 μ M),在 37℃、5%CO<sub>2</sub> 的培养条件下共培养 20 小时,利用 ELISPOT 法评价 IFN-γ 产生细胞斑点数(斑点数/3×10<sup>6</sup> 细胞)。外用液体制剂的给予量如上所述均为 67 μ L、给予次数为(24hr/周)×1 次、脾脏摘除为自给予起 6 天后。

[0460] 对于一部分外用液体制剂,还按照与上述小鼠免疫试验 1 相同的方法,进行给予后的小鼠的皮肤内 TSLP 水平、以及给予前的小鼠的经皮水分散发量的测定。TSLP 水平及经皮水分散发量的测定中使用的小鼠是作为皮肤刺激评价用动物模型的 C57BL/6 小鼠。

[0461] 将免疫试验的结果、以及 TSLP 水平和经皮水分散发量的测定结果示于下述表 8。免疫试验中使用的小鼠是能评价利用 HLA-A \* 0201 型 MHC 限制性肽的细胞免疫诱导的转基因小鼠。另外,为了进行比较,将使用了注射剂的免疫的结果(参考例 1)记载在表的最后。

[0462]

[表8]  
表8

	组成		细胞免疫诱导促进剂		化学刺激	TSLP (pg/mg 蛋白质)	物理刺激	TEWL (g/h·m <sup>2</sup> )	免疫结果 (ELISPOT 平均斑点数)
	基质	抗原肽	剂	酸					
比较例10	PG/OA[98/2]	HER2/neu E75 (10)	无	无	无		无	10	5
比较例11	PG/OA[98/2]	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PEP(0.3)	无	224	无	10	882
实施例26	PG/OA[98/2]	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PEP(0.3)	无		无	10	1150
实施例27	PG/OA[98/2]	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PEP(0.3)	无		无	10	967
实施例28	PG/OA[98/2]	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PEP(0.3)	无		无	10	933
实施例29	PG/OA[98/2]	HER2/neu E75 (10)	IMQ(3)	PEP(0.3)	无		无	10	925
比较例3	生理盐水	HER2/neu E75 (0.125)	Montanide ISA51 VG (50)	无	无		无		110

PG / OA: 丙二醇与油醇 (均为和光纯药工业株式会社) 的混合物。[]内的数值表示PG与OA的量之比。

Q内的数值为各成分的配合比例 (重量份) (以下的表中也同样)。

IMQ: 咪喹莫特

PEP: Peptide-25

[0463] 霜剂

[0464] 制造具有下述表 10 的组成的霜剂。具体而言,以表 10 中记载的配合量配合 HER2/

neu E75 肽(TFA 盐)及细胞免疫诱导促进剂、以及 15 重量份的 DMSO、以及根据期望的添加剂,向其中添加基质(不含酸的霜),使全部含量为 100 重量份,混合而得到霜剂。所使用的不含酸的霜是按照表 9 记载的组成配合材料并进行混合而制备得到的。

[0465] 准备以 PET 薄膜侧为带侧将 PET 薄膜 /PET 无纺布层叠品(面积 0.7cm<sup>2</sup>)贴合在固定用粘合带的中央部而得到的复合基材。将在该复合基材的无纺布部分涂布 4mg 霜剂而得到的材料作为免疫实验的给予样品。

[0466] HER2/neu E75 肽(TFA 盐)以及细胞免疫诱导促进剂的获得来源与上述带状制剂及外用液体制剂的情况相同。PADRE (醋酸盐)使用进行化学合成并用 HPLC 精制而成的制品。

[0467] 小鼠免疫试验 5 (霜剂)

[0468] 使用上述那样制造的霜剂,通过与上述小鼠免疫试验 4 同样的方法进行小鼠免疫试验。给予次数为(24hr/周)×1 次、脾脏摘除为自给予起 6 天后。

[0469] 通过与上述小鼠免疫试验 1 同样的方法,进行给予后的小鼠的皮肤内 TSLP 水平、以及给予前的小鼠的经皮水分散发量的测定。TSLP 水平及经皮水分散发量的测定中使用的小鼠是作为皮肤刺激评价用动物模型的 C57BL/6 小鼠。

[0470] 将免疫试验的结果、以及 TSLP 水平及经皮水分散发量的测定结果示于下述表 10。免疫试验中使用的小鼠是能够评价利用 HLA-A \* 0201 型 MHC 限制性肽的细胞免疫诱导的转基因小鼠。另外,为了进行比较,将使用了注射剂的免疫的结果(参考例 1)记载在表的最后。

[0471] [表 9]

[0472] 表 9

[0473]

	不含酸的霜
白色凡士林	69.0 重量 %
单硬脂酸山梨糖醇酐	0.8 重量 %
苯甲醇	2.7 重量 %
鲸蜡醇	2.7 重量 %
硬脂醇	4.0 重量 %
聚山梨酯 60	4.0 重量 %
浓甘油	2.7 重量 %
水	14.1 重量 %

[0474] 白色凡士林、单硬脂酸山梨糖醇酐、苯甲醇、硬脂醇、聚山梨酯 60、浓甘油从和光纯药工业购买。鲸蜡醇从东京化成工业购买。

[0475]

[表10-1]  
表10

	组成							TSLP (pg/mg 蛋白质)	物理 刺激	TEWL (g/h·m <sup>2</sup> )	免疫结果 (ELISPOT 平均斑点数)
	基质	抗原肽	细胞免疫诱导促进 剂	酸	添加剂 (化学 刺激)	不含酸的霜	不含酸的霜				
比较例12	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	无	无	无	无	12	45	
实施例30	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	肉豆蔻酸 (5)	无	无	无	12	106	
实施例31	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	异硬脂酸 (5)	无	无	无	12	65	
实施例32	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	月桂酸 (5)	无	无	无	12	110	
实施例33	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	癩酸(5)	无	无	无	12	123	
实施例34	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	油酸(5)	无	无	无	12	97	
实施例35	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	棕榈酸 (5)	无	无	无	12	143	
实施例36	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	硬脂酸 (5)	无	无	无	12	140	
实施例37	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	乳酸(5)	无	无	无	12	150	

[0476]

[表10-2]  
表10续

	组成				添加剂 (化学 刺激)	TSLP (pg/mg 蛋白质)	物理 刺激	TEWL (g/h·m <sup>2</sup> )	免疫结果 (ELISPOT 平均斑点数)
	基质	抗原肽	细胞免疫诱导促进 剂	酸					
实施例38	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	甲磺酸 (5)		无	12	138
实施例39	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	苹果酸 (5)		无	12	82
实施例40	不含酸的霜	HER2/neu E75 (5)	IMQ(3)	PADRE (1)	水杨酸 (5)		无	12	132
比较例3	生理盐水	HER2/neu E75 (0.125)	Montanide ISA51VG (50)				无		110

[0477] 由表 1、2、3、8、10 可以确认：从经皮免疫的免疫诱导促进的观点出发，肉豆蔻酸、月桂酸、异硬脂酸、癩酸、棕榈酸、油酸、硬脂酸、乳酸、甲磺酸、苹果酸、马来酸、水杨酸是适

合的,其中,优选为肉豆蔻酸、异硬脂酸、癸酸、月桂酸、油酸、棕榈酸、硬脂酸、乳酸、甲磺酸、苹果酸、马来酸、水杨酸,进而,特别优选肉豆蔻酸、月桂酸、癸酸、棕榈酸、硬脂酸、乳酸、水杨酸、甲磺酸。

[0478] 由表 4、5、6 可以确认:从粘膜疫苗的免疫诱导促进的观点出发,肉豆蔻酸、异硬脂酸、乳酸、柠檬酸、苹果酸、水杨酸、马来酸是适合的,其中,优选为肉豆蔻酸、异硬脂酸、乳酸、柠檬酸、马来酸,进而,特别优选为肉豆蔻酸、异硬脂酸、乳酸、柠檬酸。

[0479] 还可确认:实施例 1 的带状制剂在体内 CTL 杀伤试验中具有与注射免疫同等以上的效果。

[0480] 由以上的结果可以确认:包含(i)抗原以及(ii)作为第一细胞免疫诱导促进剂的药理学上容许的酸或其药理学上容许的盐的、用于细胞免疫诱导的经皮或经粘膜给予用疫苗组成物是有用的。

[0001]

## 序列表

&lt;110&gt; 日东电工株式会社 (Nitto Denko Corporation)

&lt;120&gt; 经皮或粘膜给予用疫苗组合物

&lt;130&gt; P236639

&lt;150&gt; JP 2013-020731

&lt;151&gt; 2013-02-05

&lt;160&gt; 15

&lt;170&gt; PatentIn version 3.2

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人 (Homo sapiens)

&lt;400&gt; 1

Ala Tyr Ala Cys Asn Thr Ser Thr Leu

1 5

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人 (Homo sapiens)

&lt;400&gt; 2

Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu Glu Leu

1 5

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人 (Homo sapiens)

&lt;400&gt; 3

[0002]

Thr Tyr Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu  
1 5

<210> 4  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 4

Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile  
1 5

<210> 5  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 丙型肝炎病毒

<400> 5

Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Ala Val  
1 5

<210> 6  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 6

Val Leu Gln Glu Leu Asn Val Thr Val  
1 5

<210> 7  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 7

[0003]

Lys Val Phe Gly Ser Leu Ala Phe Val  
1 5

<210> 8  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 8

Lys Val Ala Glu Ile Val His Phe Leu  
1 5

<210> 9  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 乙型肝炎病毒

<400> 9

Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val  
1 5

<210> 10  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 10

Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu  
1 5

<210> 11  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 11

[0004]

Ser Thr Ala Pro Pro Val His Asn Val  
1 5

<210> 12  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 不详

<220>  
<223> 细菌 DNA

<400> 12  
tccatgacgt tectgacgtt 20

<210> 13  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> 结核分枝杆菌

<400> 13

Phe Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Gly Gly His Asn Ala Val Phe  
1 5 10 15

<210> 14  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成肽

<400> 14

Phe Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Val His Ala Ala His Ala Val Phe  
1 5 10 15

<210> 15  
<211> 13

[0005]

