(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2017-200925
(P2017-200925A)
(43)公開日　平成29年11月9日(2017.11.9)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 45/00	(2006.01)	A61K	45/00		4C084
A61K 39/00	(2006.01)	A61K	39/00	A	4C085
A61P 37/04	(2006.01)	A61P	37/04		4C086
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00	121	
A61K 31/4353	(2006.01)	A61K	31/4353		

審査請求 有　請求項の数 1　ＯＬ　外国語出願　（全 64 頁）

(21)出願番号　特願2017-104002 (P2017-104002)
(22)出願日　平成29年5月25日 (2017.5.25)
(62)分割の表示　特願2015-197067 (P2015-197067)の分割
原出願日　平成22年5月26日 (2010.5.26)
(31)優先権主張番号　61/217,117
(32)優先日　平成21年5月27日 (2009.5.27)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/217,124
(32)優先日　平成21年5月27日 (2009.5.27)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/217,116
(32)優先日　平成21年5月27日 (2009.5.27)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　511254321
セレクタ　バイオサイエンシーズ　インコーポレーテッド
ＳＥＬＥＣＴＡ　ＢＩＯＳＣＩＥＮＣＥＳ，ＩＮＣ．
アメリカ合衆国　マサチューセッツ州　０２４７２、ウォータータウン、ビルディング　ワン、アーセナル　ストリート　４８０
４８０　Ａｒｓｅｎａｌ　Ｓｔｒｅｅｔ，Ｂｕｉｌｄｉｎｇ　Ｏｎｅ，Ｗａｔｅｒｔｏｗｎ，ＭＡ　０２４７２，Ｕ．Ｓ．Ａ．
(74)代理人　100102842
弁理士　葛和　清司

最終頁に続く

(54)【発明の名称】異なる放出速度の構成要素を有するナノキャリア

(57)【要約】　（修正有）
【課題】差次的に合成ナノキャリアから放出される、免疫調節薬及び抗原を含んでなる、合成ナノキャリア組成物の提供。
【解決手段】（ａ）合成ナノキャリアと共役している免疫調節薬、及び（ｂ）該合成ナノキャリアと共役している抗原を含む、該免疫調節薬及び該抗原が、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．２の関係式に従って該合成ナノキャリアから分離し、放出される合成ナノキャリア組成物。[式中、ＩＡ（ｒｅｌ）％は、生体外水性環境に対する該合成ナノキャリアの曝露に際して放出される該免疫調節薬の重量と、該合成ナノキャリア中に保持される該免疫調節薬の重量との和によって除した、放出される該免疫調節薬の重量であり、Ａ（ｒｅｌ）％は、生体外水性環境に対する該合成ナノキャリアの曝露に際して放出される該抗体の重量と、該合成ナノキャリア中に保持される該抗体の重量との和によって除した、放出される該抗体の重量を表す]
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
（ａ）合成ナノキャリアと共役している免疫調節薬、および
（ｂ）前記合成ナノキャリアと共役している抗原
を含むナノキャリア
を含んでなる組成物であって、前記免疫調節薬および抗体が、
ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．２
の関係式に従って前記合成ナノキャリアから分離し、
式中、
ＩＡ（ｒｅｌ）％は、重量％として表され、前記合成ナノキャリアのサンプル全体を平均した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して放出される前記免疫調節薬の重量と、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して前記合成ナノキャリア中に保持される前記免疫調節薬の重量との和によって除した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して放出される前記免疫調節薬の重量と定義され、
Ａ（ｒｅｌ）％は、重量％として表され、前記合成ナノキャリアのサンプル全体を平均した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して放出される抗体の重量と、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して合成ナノキャリア中に保持される前記抗体の重量との和によって除した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して放出される前記抗体の重量と定義される、組成物。
【請求項２】
前記免疫調節薬が、免疫調節薬共役部分を通じて前記合成ナノキャリアと共役している、請求項１に記載の組成物。
【請求項３】
前記免疫調節薬が前記合成ナノキャリアと共有結合的に共役している、請求項２に記載の組成物。
【請求項４】
前記免疫調節薬が前記合成ナノキャリア中にカプセル化される、請求項１または２に記載の組成物。
【請求項５】
前記抗原が抗原共役部分を通じて前記合成ナノキャリアと共役している、請求項１～４のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項６】
前記抗原が前記合成ナノキャリアと共有結合的に共役している、請求項５に記載の組成物。
【請求項７】
前記抗原が前記合成ナノキャリア中にカプセル化される、請求項１または５に記載の組成物。
【請求項８】
前記抗原がＢ細胞抗原である、請求項１～７のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項９】
前記Ｂ細胞抗原が感染性因子に由来する抗原である、請求項８に記載の組成物。
【請求項１０】
前記Ｂ細胞抗原が免疫原性に劣る抗原である、請求項８に記載の組成物。
【請求項１１】
前記Ｂ細胞抗原が、乱用物質またはその一部あるいは常習性薬物またはその一部である、請求項８に記載の組成物。
【請求項１２】

前記Ｂ細胞抗原が毒素または有害な環境因子である、請求項８に記載の組成物。
【請求項１３】
前記Ｂ細胞抗原が、アレルゲン、変性疾患抗原、がん抗原、アトピー性疾患抗原、または代謝疾患抗原である、請求項８に記載の組成物。
【請求項１４】
前記抗原がＴ細胞抗原である、請求項１～７のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１５】
前記Ｔ細胞抗原がＭＨＣクラスＩ抗原である、請求項１４に記載の組成物。
【請求項１６】
前記免疫調節薬がアジュバントである、請求項１～１５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１７】
前記アジュバントがＴｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）作動薬を含んでなる、請求項１６に記載の組成物。
【請求項１８】
前記ＴＬＲ作動薬がＴＬＲ３作動薬、ＴＬＲ７作動薬、ＴＬＲ８作動薬、ＴＬＲ７／８作動薬、またはＴＬＲ９作動薬である、請求項１７に記載の組成物。
【請求項１９】
前記ＴＬＲ作動薬がイミダゾキノリンである、請求項１７または１８に記載の組成物。
【請求項２０】
前記イミダゾキノリンがレシキモドまたはイミキモドである、請求項１９に記載の組成物。
【請求項２１】
前記ＴＬＲ作動薬が免疫賦活性核酸である、請求項１７または１８に記載の組成物。
【請求項２２】
前記免疫賦活性核酸が免疫賦活性ＤＮＡまたは免疫賦活性ＲＮＡである、請求項２１に記載の組成物。
【請求項２３】
前記免疫賦活性核酸がＣｐＧ含有免疫賦活性核酸である、請求項２１または２２に記載の組成物。
【請求項２４】
前記アジュバントが普遍的Ｔ細胞抗原を含んでなる、請求項１６に記載の組成物。
【請求項２５】
前記合成ナノキャリアが１つ以上の生分解性ポリマーを含んでなる、請求項１～２４のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２６】
前記免疫調節薬が前記免疫調節薬共役部分を通じて前記１つ以上の生分解性ポリマーと共役している、請求項２５に記載の組成物。
【請求項２７】
前記免疫調節薬が前記１つ以上の生分解性ポリマーと共有結合的に共役している、請求項２６に記載の組成物。
【請求項２８】
前記免疫調節薬共役部分がアミド結合を含んでなる、請求項２７に記載の組成物。
【請求項２９】
前記免疫調節薬共役部分がエステル結合を含んでなる、請求項２７に記載の組成物。
【請求項３０】
前記免疫調節薬共役部分が静電結合を含んでなる、請求項２６に記載の組成物。
【請求項３１】
前記生分解性ポリマーが、ポリ（ラクチド）、ポリ（グリコリド）、またはポリ（ラクチド－コ－グリコリド）を含んでなる、請求項２５～２９に記載の組成物。

【請求項３２】
前記生分解性ポリマーが、ゲル透過クロマトグラフィーを使用した測定で、８００ダルトン～１０，０００ダルトンの範囲の重量平均分子量を有する、請求項２５～２９および３１のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項３３】
前記合成ナノキャリアが抗原提示細胞（ＡＰＣ）標的特性をさらに含んでなる、請求項１～３２のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項３４】
前記合成ナノキャリアが、脂質ベースナノ粒子、ポリマーナノ粒子、金属ナノ粒子、界面活性剤ベースエマルジョン、デンドリマー、バッキーボール、ナノワイヤ、ウィルス様粒子、ペプチドもしくはタンパク質ベース粒子、ナノ材料の組み合わせを含んでなるナノ粒子、球状ナノ粒子、立方体ナノ粒子、錐体のナノ粒子、長円形ナノ粒子、円柱状ナノ粒子、またはドーナツ型ナノ粒子を含んでなる、請求項１～３３のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項３５】
薬学的に許容できる賦形剤をさらに含んでなる、請求項１～３４のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項３６】
請求項１～３５のいずれか一項に記載の組成物を含んでなる、ワクチンを含んでなる組成物。
【請求項３７】
請求項１～３６のいずれか一項に記載の組成物を対象に投与するステップを含んでなる方法。
【請求項３８】
前記組成物が免疫応答を誘発するか、または増強するのに効果的な量である、請求項３７に記載の方法。
【請求項３９】
前記対象が、がん、感染症、非自己免疫代謝疾患、変性疾患、または依存症を有する、請求項３８に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本明細書は、米国特許法第１１９条の下に、そのそれぞれの内容全体を参照によって本明細書に援用する、それぞれ２００９年５月２７日に出願された、米国仮特許出願第６１／２１７１２９号、米国仮特許出願第６１／２１７１１７号、米国仮特許出願第６１／２１７１２４号、および米国仮特許出願第６１／２１７１１６号の優先権を主張する。
【０００２】
本発明は、差次的に合成ナノキャリアから放出される免疫調節薬および抗原を含んでなる合成ナノキャリア組成物と、関連方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
一般的なワクチン接種ストラテジーとしては、アジュバント添加抗原の投与が挙げられる。しかしこれらの２種の薬剤間の生物学的相互作用、そしてそれらの送達の制御がどのように最適生体内効果を提供し得るかに関する情報が欠けている。最適生体内効果を可能にするアジュバント添加抗原を送達する新しい方法、ならびに関連組成物に対する必要性がある。
【０００４】
本発明の態様は、合成ナノキャリアと共役している免疫調節薬、および合成ナノキャリアと共役した抗原を含んでなる合成ナノキャリアを含んでなる組成物に関し、免疫調節薬

および抗原は以下の関係式に従って合成ナノキャリアから分離する。ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．２；式中、ＩＡ（ｒｅｌ）％は、重量％として表され、合成ナノキャリアのサンプル全体を平均した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される免疫調節薬の重量と、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して合成ナノキャリア中に保持される免疫調節薬の重量との和によって除した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される免疫調節薬の重量と定義され、Ａ（ｒｅｌ）％は、重量％として表され、合成ナノキャリアのサンプル全体を平均した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される抗原の重量と、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して合成ナノキャリア中に保持される抗体の重量との和によって除した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される抗原の重量と定義される。

【０００５】

いくつかの実施形態では、免疫調節薬は、免疫調節薬共役部分を通じて合成ナノキャリアと共役している。特定の実施形態では、免疫調節薬は、合成ナノキャリアと共有結合的に共役している。いくつかの実施形態では、免疫調節薬は、合成ナノキャリア中にカプセル化される。特定の実施形態では、抗原は抗原共役部分を通じて合成ナノキャリアと共役している。いくつかの実施形態では、抗原は合成ナノキャリアと共有結合的に共役している。特定の実施形態では、抗原は合成ナノキャリア中にカプセル化される。

【０００６】

いくつかの実施形態では、抗原はＢ細胞抗原である。特定の実施形態では、Ｂ細胞抗原は感染性因子に由来する抗原である。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞抗原は免疫原性に劣る抗原である。特定の実施形態では、Ｂ細胞抗原は乱用物質またはその一部、あるいは常習性薬物またはその一部である。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞抗原は毒素または有害な環境因子である。特定の実施形態では、Ｂ細胞抗原はアレルゲン、変性疾患抗原、がん抗原、アトピー性疾患抗原、または代謝疾患抗原である。

【０００７】

いくつかの実施形態では、抗原はＴ細胞抗原である。特定の実施形態では、Ｔ細胞抗原はＭＨＣクラスＩ抗原である。いくつかの実施形態では、免疫調節薬はアジュバントである。いくつかの実施形態では、アジュバントは、ＴＬＲ３作動薬、ＴＬＲ７作動薬、ＴＬＲ８作動薬、ＴＬＲ７／８作動薬、またはＴＬＲ９作動薬などのＴｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）作動薬を含んでなる。いくつかの実施形態では、ＴＬＲ作動薬はイミダゾキノリンである。特定の実施形態では、イミダゾキノリンはレシキモドまたはイミキモドである。いくつかの実施形態では、ＴＬＲ作動薬は、免疫賦活性ＤＮＡまたは免疫賦活性ＲＮＡなどの免疫賦活性核酸である。特定の実施形態では、免疫賦活性核酸はＣｐＧ含有免疫賦活性核酸である。

【０００８】

いくつかの実施形態では、アジュバントは普遍的Ｔ細胞抗原を含んでなる。特定の実施形態では、合成ナノキャリアは１つ以上の生分解性ポリマーを含んでなる。いくつかの実施形態では、免疫調節薬は免疫調節薬共役部分を通じて１つ以上の生分解性ポリマーと共役している。特定の実施形態では、免疫調節薬は１つ以上の生分解性ポリマーと共有結合的に共役している。いくつかの実施形態では、免疫調節薬共役部分はアミド結合を含んでなる。特定の実施形態では、免疫調節薬共役部分はエステル結合を含んでなる。いくつかの実施形態では、免疫調節薬は静電結合を含んでなる。

【０００９】

いくつかの実施形態では、生分解性ポリマーは、ポリ（ラクチド）、ポリ（グリコリド）、またはポリ（ラクチド－コ－グリコリド）を含んでなる。特定の実施形態では、生分解性ポリマーはゲル透過クロマトグラフィーを使用した測定で、８００ダルトン～１０，０００ダルトンの範囲の重量平均分子量を有する。いくつかの実施形態では、合成ナノキ

ャリアは抗原提示細胞（ＡＰＣ）標的特性をさらに含んでなる。
【００１０】
いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、脂質ベースナノ粒子、ポリマーナノ粒子、金属ナノ粒子、界面活性剤ベースエマルジョン、デンドリマー、バッキーボール、ナノワイヤ、ウィルス様粒子、ペプチドもしくはタンパク質ベース粒子、ナノ材料の組み合わせを含んでなるナノ粒子、球状ナノ粒子、立方体ナノ粒子、錐体のナノ粒子、長円形ナノ粒子、円柱状ナノ粒子、またはドーナツ型ナノ粒子を含んでなる。特定の実施形態では、本発明と関係がある組成物は、薬学的に許容できる賦形剤をさらに含んでなる。
【００１１】
本発明のさらなる態様は、本発明と関係がある組成物のいずれかを含んでなるワクチンを含んでなる組成物に関する。
【００１２】
本発明のさらなる態様は、本発明と関係がある組成物のいずれかを対象に投与するステップを含んでなる方法に関連する。いくつかの実施形態では、組成物は免疫応答を誘発するか、または増強するのに効果的な量である。いくつかの実施形態では、対象はがん、感染症、非自己免疫性代謝障害、変性疾患、または依存症を有する。
【図面の簡単な説明】
【００１３】
【図１】ニコチン抗原およびアジュバントを有して２４時間目に抗原でなくアジュバントを検出可能に放出する合成ナノキャリアによって、ニコチン特異的抗体が誘発されたことを示す。
【発明を実施するための形態】
【００１４】
具体的に例証される材料または方法パラメーターはもちろん変動してもよいので、本発明を詳細に説明する前に、本発明がこれらに限定されるものではないことを理解すべきである。また本明細書で使用される用語法は、本発明の特定の実施形態について述べることのみを目的とし、本発明に記載される用語法の代案の使用を制限することは、意図されないこともまた理解すべきである。
【００１５】
本明細書に引用される全ての出版物、特許、および特許出願は、前出または後述に関わらず、あらゆる目的のためにその内容全体を参照によってここに援用する。
【００１６】
本明細書および添付の特許請求範囲の用法では、単数形「ａ」、「ａｎ」、および「ｔｈｅ」は、別段の明確な指示がない限り複数の指示対象を含む。例えば「ａ　ｐｏｌｙｍｅｒ（ポリマー）」への言及は、２つ以上のこのような分子の混合物を含み、「ａ　ｓｏｌｖｅｎｔ（溶剤）」への言及は、２つ以上のこのような溶剤の混合物を含み、「ａｎ　ａｄｈｅｓｉｖｅ（接着剤）」への言及は、２つ以上のこのような材料の混合物を含む。
【００１７】
序論
本発明は、抗原に対する免疫応答をより最適に誘発する免疫調節薬を伴う抗原を送達する方法を提供することから、有用である。提供される組成物および方法は、抗原に先だってまたはそれと同時に免疫調節薬を放出させる。このような放出は、強力な長期の免疫応答を提供し得るので、予防的なおよび治療目的のワクチンの使用において特に興味深い。抗原は実施形態によっては、それらが合成ナノキャリア表面に存在するように、ナノキャリア中にカプセル化されるように、または双方であるように、合成ナノキャリアと共役し得る。実施形態では、免疫調節薬は抗原に対する免疫応答を増強する。
【００１８】
本発明者らは、意外にもそして驚いたことに、本明細書で開示される本発明を実施することにより、上記の問題および制限を克服し得ることを発見した。具体的には本発明者らは、（ａ）合成ナノキャリアと共役している免疫調節薬、および（ｂ）合成ナノキャリア

と共役している抗原を含んでなる、組成物および関連方法を提供することが可能であることを意外にも発見し、免疫調節薬および抗体は、以下の関係式に従って合成ナノキャリアから分離する。

ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．２

式中、ＩＡ（ｒｅｌ）％は、重量％として表され、合成ナノキャリアのサンプル全体を平均した、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される免疫調節薬の重量と、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して合成ナノキャリア中に保持される免疫調節薬の重量との和によって除した、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される免疫調節薬の重量と定義され、Ａ（ｒｅｌ）％は、重量％として表され、合成ナノキャリアのサンプル全体を平均した、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される抗体の重量と、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して合成ナノキャリア中に保持される抗体の重量との和によって除した、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される抗体の重量と定義され、式中、ｔは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１２、１８、２４、３０、３６、４２または４８時間である。好ましい実施例では、ｔは、１２、２４、または４８時間である。

【００１９】

実施形態では、免疫調節薬および抗原は、以下の関係式に従って合成ナノキャリアから分離する。ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．３、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．４、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．５、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．６、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．７、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．８、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．９、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧２、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧２．５、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧３、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧３．５、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧４、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧４．５、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧５、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧６、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧７、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧８、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧９、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１０、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１５、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧２０、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧２５、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧３０、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧４０、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧５０、ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧７５、またはＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１００、式中、ＩＡ（ｒｅｌ）％、Ａ（ｒｅｌ）％、およびｔは上で定義されるとおりである。

【００２０】

いくつかの実施形態では、組成物、および関連方法は、（ａ）合成ナノキャリアと共役している免疫調節薬と、（ｂ）合成ナノキャリアと共役している抗原とを含んでなる合成ナノキャリアを含んでなり、免疫調節薬の少なくとも１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１２％、１５％、１７％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、６０％、７０％、８０％または９０％が放出されるのに対し、抗原は検出可能に放出されない。これらの実施形態では、％放出は１００×（合成ナノキャリアのサンプル全体を平均した、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される免疫調節薬の重量と、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して合成ナノキャリア中に保持される免疫調節薬の重量との和によって除した、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される免疫調節薬の重量）である。これらの実施形態では、ｔは上で定義されるとおりである。好ましい実施形態では、ｔは、１２、２４、または４８時間である。

【００２１】

特に本発明者らは、免疫細胞リソソームが、細胞によってエンドサイトーシスされた後、２４～４８時間以内に「消化」されない粒子状物質を含有すると、それらの性格が変化することに気付いた。典型的に、ほとんどのエンドサイトーシスされた生物由来物質は、細胞代謝または細胞外廃棄で利用できるようなより小さな分子（アミノ酸、小型ペプチド、または核酸など）に消化される。しかし含有する粒子を２４～４８時間以内に分解できないリソソームは、細胞によって修飾される。シグナル伝達受容体およびその他のシステムは失われて、リソソームは「行き止まり（ｄｅａｄ　ｅｎｄ）」小胞に変換され、それはやがて細胞からの除去のために処理される。したがって免疫系細胞による粒子飲食作用に続いて、時間の制限枠がある。合成ナノキャリアがこの２４～４８時間の制限枠内、好ましくは１２時間内に免疫調節薬の装填を放出しないと、それが標的にすることを意図するシグナル伝達受容体は、小胞から除去されるかもしれない。これは次に免疫原性応答に影響する上で、その小胞内でのあらゆる引き続く免疫調節薬の放出をほとんど無意味なものにする。

【００２２】

本発明者らはまた、抗原取り込み中のＴｏｌｌ様受容体などのシグナル伝達受容体の存在および会合が、免疫細胞活性化および／または成熟（例えば食胞成熟）の動態および結果を制御し得ることに気付いた。シグナル伝達受容体の存在および会合は、より高速な免疫細胞成熟をもたらすだけでなく、主要組織適合性複合体（ＭＨＣ）分子による認識のためにペプチドを提供する、免疫細胞の優れた能力をもたらす（Ｂｌａｎｄｅｒ，Ａｎｎ　Ｒｈｅｕｍ　Ｄｉｓ　２００８年：６７（Ｓｕｐｐｌ　ＩＩＩ）：ｉｉｉ４４～ｉｉｉ４９））。

【００２３】

免疫細胞中の受容体シグナル伝達は、抗原取り込みに先だってまたはそれと同時に起きることが望ましい。本明細書で提供される組成物および方法は、合成ナノキャリアの一部として免疫調節薬および抗原を送達することで、このような受容体シグナル伝達を提供し、それによって抗原に先だつまたはそれと同時の免疫調節薬の放出が可能になる。実施形態では、免疫調節薬またはペプチドもしくは抗原の合成ナノキャリアへの共役が顕著に低下しまたは消失した場合に、免疫調節薬または抗原の放出が起きる。このような共役は、免疫調節薬または抗原と、共役部分との間の結合（それぞれ免疫調節薬または抗原共役部分）の低下または消失によって、低下または消失し得る。このような共役はまた、免疫調節薬または抗原が合成ナノキャリア内「格納」状態から放出されるように、合成ナノキャリアの分解によって低下または消失し得る。このような実施形態では、免疫調節薬または抗原は、前記分解に先だつ結合の結果として合成ナノキャリアと共役していない。さらにこのような共役は、免疫調節薬または抗原が（例えばそれぞれ免疫調節性または抗原共役部分を通じて）なおも合成ナノキャリアの一部と共役しているが、前記部分が免疫応答を誘発するのには十分に分解しているような、合成ナノキャリアの分解によって低下または消失し得る。実施形態では、免疫応答は、合成ナノキャリアの一部と共役していない免疫調節薬または抗原によって同一環境内で誘発される免疫応答と同様であり、またはそれと同じである。

【００２４】

好ましくは、免疫調節薬または抗原の放出はリソソームまたはエンドソーム内で起きる。したがって免疫調節薬または抗原の放出は、好ましくはｐＨ４．５で起きる。時間の制限枠内の免疫調節薬放出の効率は、およそ４．５の環境ｐＨ下において、合成ナノキャリアからの抗原の生体外放出速度と、免疫調節薬の生体外放出速度とを比較することで近似し得る。合成ナノキャリアからの抗原放出は、免疫系細胞のリソソームによって、どれくらいの速さで合成ナノキャリアが消化されるかの指標として役立つ。実際、抗原はｐＨ４．５の生体外では放出が検出されず、代わりに非常に塩基性の条件で検出されるような様式で、合成ナノキャリアと共役し得ることが分かった。このような場合、これは、合成ナノキャリアに対する抗原の結合が生理学的条件下において（例えばｐＨ７．４または４．５で）非常に安定していること、そして一般に、合成ナノキャリアが生体内で消化される

と抗原の放出が起きることを実証する。従ってこのような合成ナノキャリアは、より迅速な免疫調節薬の放出を可能にする。

【００２５】

免疫調節薬が、リソソームの低ｐＨの模擬条件下で適切な時間の制限枠内に、抗原よりも迅速に合成ナノキャリアから放出されれば、それは活性リソソーム、ひいては免疫系細胞が、免疫調節薬によって影響されるかもしれないことの徴候である。逆が真であれば、それは免疫調節薬装填量のいくらかまたは全てが、細胞に対して最適効果を有さないかもしれない徴候である。したがって本発明に従った合成ナノキャリアは、より大きな免疫応答を提供してもよく、その結果、改善された治療的な利点を対象に提供してもよい。

【００２６】

定義

「乱用物質」は、指定された目的以外の目的で、または医師によって指示された以外の様式または量で、対象（例えばヒト）によって摂取されるあらゆる物質である。いくつかの実施形態では、乱用物質は非合法薬物などの薬物である。特定の実施形態では、乱用物質は一般用医薬品である。いくつかの実施形態では、乱用物質は処方薬である。乱用物質は、いくつかの実施形態では、常習性薬物である。いくつかの実施形態では、乱用物質は気分を変える効果を有し、したがって吸入剤および溶剤を含む。別の実施形態では、乱用物質は、気分を変える効果または陶酔特性を有さず、したがってタンパク同化ステロイドを含む。乱用物質としては、カンナビノイド（例えばハシシュ、マリファナ）、抑制剤（例えばバルビツール、ベンゾジアゼピン、フルニトラゼパム（ロヒプノール）、ＧＨＢ、メタカロン（クエールード））、解離性麻酔薬（例えばケタミン、ＰＣＰ）、幻覚剤（例えばＬＳＤ、メスカリン、シロシビン）、オピオイドおよびモルフィン誘導体（例えばコデイン、フェンタニル、ヘロイン、モルフィン、アヘン）、賦活薬（アンフェタミン、コカイン、エクスタシー（ＭＤＭＡ）、メタンフェタミン、メチルフェニデート（リタリン）、ニコチン）、タンパク同化ステロイド、および吸入剤が挙げられるがこれに限定されるものではない。いくつかの実施形態では、ナノキャリア中に包含するための乱用物質は、完全な分子またはその一部である。

【００２７】

「常習性薬物」は、強迫観念、強迫衝動、または生理的依存症もしくは心理的依存症を引き起こす物質である。いくつかの実施形態では、常習性薬物は非合法薬物である。別の実施形態では、常習性薬物は一般用医薬品である。なおも別の実施形態では、常習性薬物は処方薬である。常習性薬物としては、コカイン、ヘロイン、マリファナ、メタンフェタミン、およびニコチンが挙げられるがこれに限定されるものではない。いくつかの実施形態では、ナノキャリアに包含するための常習性薬物は、完全な分子またはその一部である。

【００２８】

「アジュバント」は、特異的抗原を構成しないが、抗原の免疫応答の強度および寿命を増進する作用薬を意味する。このようなアジュバントとしては、以下が挙げられるがこれに限定されるものではない。Ｔｏｌｌ様受容体、ＲＩＧ－１、およびＮＯＤ様受容体（ＮＬＲ）などのパターン認識受容体の刺激薬；ミョウバンなどの無機塩類；大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ）、サルモネラ・ミネソタ（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｍｉｎｎｅｓｏｔａ）、ネズミチフス菌（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｔｙｐｈｉｍｕｒｉｕｍ）、もしくはフレクスナー赤痢菌（Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｆｌｅｘｎｅｒｉ）などの腸内細菌のモノホスホリル脂質（ＭＰＬ）Ａと組み合わせられるか、または特に上述の細菌のＭＰＬＡであるＭＰＬ（登録商標）（ＡＳ０４）と別々に組み合わせられたミョウバン；ＱＳ－２１、Ｑｕｉｌ－Ａ、ＩＳＣＯＭ、ＩＳＣＯＭＡＴＲＩＸ™などのサポニン；ＭＦ５９™、Ｍｏｎｔａｎｉｄｅ（登録商標）ＩＳＡ ５１、およびＩＳＡ ７２０、ＡＳ０２（ＱＳ２１＋スクアレン＋ＭＰＬ（登録商標））などのエマルジョン；ＡＳ０１などのリポソームおよびリポソーム製剤；淋菌（Ｎ．ｇｏｎｏｒｒｈｏｅａｅ）、トラコーマクラミジア（Ｃｈｌａｍｙｄｉａ ｔｒａｃｈｏｍａｔｉｓ）その他の細菌由来の外膜小胞

（ＯＭＶ）、またはキトサン粒子などの、合成されるか、または特異的に調製される微粒子およびマイクロキャリア；プルロニック（Ｐｌｕｒｏｎｉｃ）（登録商標）ブロックコーポリマーなどの貯蔵形成剤、ムラミルジペプチドなどの特異的に修飾されるか、または調製されたペプチド、ＲＣ５２９などのアミノアルキルグルコサミニド４－ホスフェート；あるいは細菌類毒素または毒素断片などのタンパク質。実施形態では、アジュバントは、Ｔｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）、具体的にはＴＬＲ ２、３、４、５、７、８、９および／またはそれらの組み合わせをはじめとするが、これに限定されるものではない、パターン認識受容体（ＰＲＲ）のための作動薬を含んでなる。別の実施形態では、アジュバントは、Ｔｏｌｌ様受容体３の作動薬、Ｔｏｌｌ様受容体７および８の作動薬、またはＴｏｌｌ様受容体９の作動薬を含んでなり；好ましくは、上記アジュバントは、レシキモド（Ｒ８４８としてもまた知られている）などのイミダゾキノリン類；米国特許第６，３２９，３８１号明細書（住友製薬株式会社）で開示されるものなどのアデニン誘導体；免疫賦活性ＤＮＡ；または免疫賦活性ＲＮＡを含んでなる。特定の実施形態では、合成ナノキャリアは、アジュバント化合物としてＴｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）７および８（「ＴＬＲ ７／８作動薬」）の作動薬を包含する。有用なのは、イミダゾキノリンアミン、イミダゾピリジンアミン、６，７－縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン、および１，２－架橋イミダゾキノリンアミンをはじめとするが、これに限定されるものではない、Ｔｏｍａｉらに付与された米国特許第６，６９６，０７６号明細書で開示されるＴＬＲ７／８作動薬化合物である。好ましいアジュバントは、イミキモドおよびレシキモドを含んでなる。特定の実施形態では、アジュバントはＤＣ表面分子ＣＤ４０の作動薬であってもよい。特定の実施形態では、合成ナノキャリアは、ＤＣ成熟（未感作Ｔ細胞の効果的な初回刺激のために必要とされる）およびＩ型インターフェロンなどのサイトカインの産生を促進するアジュバントを包含し、それは次に所望の抗原に対する抗体および細胞毒性免疫応答を刺激する。実施形態では、アジュバントはまた、ｄｓＲＮＡまたはポリＩ：Ｃ（ＴＬＲ３賦活薬）および／またはＦ．Ｈｅｉｌら、「Ｓｐｅｃｉｅｓ－Ｓｐｅｃｉｆｉｃ Ｒｅｃｏｇｎｉｔｉｏｎ ｏｆ Ｓｉｎｇｌｅ－Ｓｔｒａｎｄｅｄ ＲＮＡ ｖｉａ Ｔｏｌｌ－ｌｉｋｅ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ ７ ａｎｄ ８」Ｓｃｉｅｎｃｅ ３０３（５６６３），１５２６～１５２９（２００４年）；Ｊ．Ｖｏｌｌｍｅｒら、「Ｉｍｍｕｎｅｍｏｄｕｌａｔｉｏｎ ｂｙ ｃｈｅｍｉｃａｌｌｙ ｍｏｄｉｆｉｅｄ ｒｉｂｏｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ａｎｄ ｏｌｉｇｏｒｉｂｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ」国際公開第２００８０３３４３２Ａ２号パンフレット；Ａ．Ｆｏｒｓｂａｃｈら、「Ｉｍｍｕｎｏｓｔｉｍｕｌａｔｏｒｙ ｏｌｉｇｏｒｉｂｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｍｏｔｉｆ（ｓ）ａｎｄ ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｔｈｅ Ｔｏｌｌ－ｌｉｋｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ８ ｐａｔｈｗａｙ」国際公開第２００７０６２１０７Ａ２号パンフレット；Ｅ．Ｕｈｌｍａｎｎら、「Ｍｏｄｉｆｉｅｄ ｏｌｉｇｏｒｉｂｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ ａｎａｌｏｇｓ ｗｉｔｈ ｅｎｈａｎｃｅｄ ｉｍｍｕｎｏｓｔｉｍｕｌａｔｏｒｙ ａｃｔｉｖｉｔｙ」米国特許出願公開第２００６２４１０７６号明細書；Ｇ．Ｌｉｐｆｏｒｄら、「Ｉｍｍｕｎｏｓｔｉｍｕｌａｔｏｒｙ ｖｉｒａｌ ＲＮＡ ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ａｎｄ ｕｓｅ ｆｏｒ ｔｒｅａｔｉｎｇ ｃａｎｃｅｒ ａｎｄ ｉｎｆｅｃｔｉｏｎｓ」国際公開第２００５０９７９９３Ａ２号パンフレット；Ｇ．Ｌｉｐｆｏｒｄら、「Ｉｍｍｕｎｏｓｔｉｍｕｌａｔｏｒｙ Ｇ，Ｕ－ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ｏｌｉｇｏｒｉｂｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎｓ，ａｎｄ ｓｃｒｅｅｎｉｎｇ ｍｅｔｈｏｄｓ」国際公開第２００３０８６２８０Ａ２号パンフレットで開示されるものなどであるが、これに限定されるものではない、免疫賦活性ＲＮＡ分子を含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、アジュバントは、細菌性リポ多糖（ＬＰＳ）、ＶＳＶ－Ｇ、および／またはＨＭＧＢ－１などのＴＬＲ－４作動薬であってもよい。いくつかの実施形態では、アジュバントは、米国特許第６，１３０，０８２号明細書、米国特許第６，５８５，９８０号明細書、および米国特許第７，１９２，７２５号明細書で開示されるものをはじめとするが、これに限定されるものではない、フラジェリン、またはその一部もしくは誘導体などのＴＬＲ

－５作動薬を含んでなってもよい。特定の実施形態では、合成ナノキャリアは、Ｉ型インターフェロン分泌を誘発してＴおよびＢ細胞活性化を刺激し、抗体産生増大と細胞毒性Ｔ細胞応答をもたらす、ＣｐＧを含んでなる、免疫賦活性ＤＮＡ分子などのＴｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）－９のリガンドを包含する（Ｋｒｉｅｇら、ＣｐＧ ｍｏｔｉｆｓ ｉｎ ｂａｃｔｅｒｉａｌ ＤＮＡ ｔｒｉｇｇｅｒ ｄｉｒｅｃｔ Ｂ ｃｅｌｌ ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ．Ｎａｔｕｒｅ．１９９５年．３７４：５４６～５４９；Ｃｈｕら ＣｐＧ ｏｌｉｇｏｄｅｏｘｙｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ａｃｔ ａｓ ａｄｊｕｖａｎｔｓ ｔｈａｔ ｓｗｉｔｃｈ ｏｎ Ｔ ｈｅｌｐｅｒ １（Ｔｈ１）ｉｍｍｕｎｉｔｙ．Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１９９７年．１８６：１６２３～１６３１；Ｌｉｐｆｏｒｄら ＣｐＧ－ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ｓｙｎｔｈｅｔｉｃ ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ｐｒｏｍｏｔｅ Ｂ ａｎｄ ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ｔ ｃｅｌｌ ｒｅｓｐｏｎｓｅｓ ｔｏ ｐｒｏｔｅｉｎ ａｎｔｉｇｅｎ：ａ ｎｅｗ ｃｌａｓｓ ｏｆ ｖａｃｃｉｎｅ ａｄｊｕｖａｎｔｓ．Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９９７年．２７：２３４０～２３４４；Ｒｏｍａｎら、Ｉｍｍｕｎｏｓｔｉｍｕｌａｔｏｒｙ ＤＮＡ ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｆｕｎｃｔｉｏｎ ａｓ Ｔ ｈｅｌｐｅｒ－１－ｐｒｏｍｏｔｉｎｇ ａｄｊｕｖａｎｔｓ．Ｎａｔ．Ｍｅｄ．１９９７年．３：８４９～８５４；Ｄａｖｉｓら、ＣｐＧ ＤＮＡ ｉｓ ａ ｐｏｔｅｎｔ ｅｎｈａｎｃｅｒ ｏｆ ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｉｍｍｕｎｉｔｙ ｉｎ ｍｉｃｅ ｉｍｍｕｎｉｚｅｄ ｗｉｔｈ ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ ｈｅｐａｔｉｔｉｓ Ｂ ｓｕｒｆａｃｅ ａｎｔｉｇｅｎ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９９８年．１６０：８７０～８７６；Ｌｉｐｆｏｒｄら、Ｂａｃｔｅｒｉａｌ ＤＮＡ ａｓ ｉｍｍｕｎｅ ｃｅｌｌ ａｃｔｉｖａｔｏｒ．Ｔｒｅｎｄｓ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．１９９８年．６：４９６～５００）。いくつかの実施形態では、アジュバントは壊死細胞から放出された炎症促進性刺激（例えば尿酸結晶）であってもよい。いくつかの実施形態では、アジュバントは、補体カスケードの活性化構成要素であってもよい（例えばＣＤ２１、ＣＤ３５など）。いくつかの実施形態では、アジュバントは、免疫複合体の活性化構成要素であってもよい。アジュバントはまた、ＣＤ２１またはＣＤ３５に結合する分子などの補体受容体作動薬を含む。いくつかの実施形態では、補体受容体作動薬は、合成ナノキャリアの内因性補体オプソニン作用を誘発する。いくつかの実施形態では、アジュバントはサイトカインであり、それは細胞によって放出され、細胞－細胞相互作用、情報交換、およびその他の細胞の行動に対して特定の効果を有する、小型タンパク質または生物学的因子（５ｋＤ～２０ｋＤの範囲）である。いくつかの実施形態では、サイトカイン受容体作動薬は、小分子、抗体、融合タンパク質、またはアプタマーである。

【００２９】

「投与する」または「投与」は、薬理学的に有用な様式で薬剤を患者に提供することを意味する。

【００３０】

「アレルゲン」は、対象中でアレルギー性応答を引き起こし得るあらゆる作用因子を指す。アレルゲンとしては、一般的なほこり、花粉、植物、動物の鱗屑、薬剤（例えばペニシリン）、食物アレルゲン、昆虫毒、真菌胞子、ウィルス、および細菌が挙げられるがこれに限定されるものではない。

【００３１】

「抗原共役部分」は、それを通じて抗原が合成ナノキャリアに結合するあらゆる部分を意味する。このような部分としては、アミド結合またはエステル結合などの共有結合、ならびに抗原を（共有結合的にまたは非共有結合的に）合成ナノキャリアに結合する分離した分子が挙げられる。このような分子としては、リンカーまたはポリマーあるいはその単位が挙げられる。例えば抗原共役部分は、それに抗原が静電的に結合する荷電ポリマーを含んでなり得る。別の例として、抗原共役部分は、それに抗原が共有結合するポリマーまたはその単位を含んでなり得る。いくつかの実施形態では、上記部分はポリエステルを含んでなる。別の実施形態では、上記部分は、ポリ（エチレングリコール）（ＰＥＧ）、ポリ（乳酸）、ポリ（グリコール酸）、ポリ（乳酸－コ－グリコール酸）、またはポリカプ

ロラクトンを含んでなる。上記部分はまた、ラクチドまたはグリコリドなどの前述のポリマーのいずれかの単位を含んでなってもよい。

【００３２】

「ＡＰＣ標的徴群」は、樹状細胞、ＳＣＳマクロファージ、濾胞性樹状細胞、およびＢ細胞をはじめとするが、これに限定されるものではない、本発明の合成ナノキャリアを構成する１つ以上の部分を意味し、それは合成ナノキャリアの標的指向性をプロフェッショナル抗原提示細胞（「ＡＰＣ」）に向かわせる。実施形態では、ＡＰＣ標的徴群は、ＡＰＣ上の既知の標的に結合する、免疫特性表面および／または標的部分を含んでなってもよい。実施形態では、ＡＰＣ標的徴群は、合成ナノキャリア表面に存在する１つ以上のＢ細胞抗原を含んでなってもよい。実施形態では、ＡＰＣ標的徴群はまた、ＡＰＣによる取り込みを促進するように選択された、合成ナノ粒子の１つ以上の寸法を含んでなってもよい。

【００３３】

実施形態では、マクロファージ（「Ｍｐｈ」）上の既知の標的を指向する部分は、マクロファージ上に顕著に発現されおよび／または存在する（すなわち被膜下洞－Ｍｐｈマーカー）あらゆる実体（例えばタンパク質、脂質、炭水化物、小分子など）と特異的に結合する、あらゆる標的部分を含んでなる。例示的なＳＣＳ－Ｍｐｈマーカーとしては、ＣＤ４（Ｌ３Ｔ４、Ｗ３／２５、Ｔ４）；ＣＤ９（ｐ２４、ＤＲＡＰ－１、ＭＲＰ－１）；ＣＤ１１ａ（ＬＦＡ－１α、αＬインテグリン鎖）；ＣＤ１１ｂ（αＭインテグリン鎖、ＣＲ３、Ｍｏ１、Ｃ３ｎｉＲ、Ｍａｃ－１）；ＣＤ１１ｃ（αＸインテグリン、ｐ１５０、９５、ＡＸｂ２）；ＣＤｗ１２（ｐ９０－１２０）；ＣＤ１３（ＡＰＮ、ｇｐ１５０、ＥＣ３．４．１１．２）；ＣＤ１４（ＬＰＳ－Ｒ）；ＣＤ１５（Ｘ－Ｈａｐｔｅｎ、Ｌｅｗｉｓ　Ｘ、ＳＳＥＡ－１、３－ＦＡＬ）；ＣＤ１５ｓ（シアリルＬｅｗｉｓ　Ｘ）；ＣＤ１５ｕ（３’スルホＬｅｗｉｓ　Ｘ）；ＣＤ１５ｓｕ（６スルホ－シアリルＬｅｗｉｓ　Ｘ）；ＣＤ１６ａ（ＦＣＲＩＩＩＡ）；ＣＤ１６ｂ（ＦｃｇＲＩＩＩｂ）；ＣＤｗ１７（ラクトシルセラミド、ＬａｃＣｅｒ）；ＣＤ１８（インテグリンβ２、ＣＤ１１ａ，ｂ，ｃ　β－サブユニット）；ＣＤ２６（ＤＰＰ　ＩＶ外酵素、ＡＤＡ結合タンパク質）；ＣＤ２９（血小板ＧＰＩＩａ、β－１インテグリン、ＧＰ）；ＣＤ３１（ＰＥＣＡＭ－１、Ｅｎｄｏｃａｍ）；ＣＤ３２（ＦＣγＲＩＩ）；ＣＤ３３（ｇｐ６７）；ＣＤ３５（ＣＲ１、Ｃ３ｂ／Ｃ４ｂ受容体）；ＣＤ３６（ＧｐＩＩＩｂ、ＧＰＩＶ、ＰＡＳＩＶ）；ＣＤ３７（ｇｐ５２－４０）；ＣＤ３８（ＡＤＰ－リボシルシクラーゼ、Ｔ１０）；ＣＤ３９（ＡＴＰデヒドロゲナーゼ、ＮＴＰデヒドロゲナーゼ－１）；ＣＤ４０（Ｂｐ５０）；ＣＤ４３（シアロホリン、ロイコシアリン）；ＣＤ４４（ＥＭＣＲＩＩ、Ｈ－ＣＡＭ、Ｐｇｐ－１）；ＣＤ４５（ＬＣＡ、Ｔ２００、Ｂ２２０、Ｌｙ５）；ＣＤ４５ＲＡ；ＣＤ４５ＲＢ；ＣＤ４５ＲＣ；ＣＤ４５ＲＯ（ＵＣＨＬ－１）；ＣＤ４６（ＭＣＰ）；ＣＤ４７（ｇｐ４２、ＩＡＰ、ＯＡ３、ニューロフィリン）；ＣＤ４７Ｒ（ＭＥＭ－１３３）；ＣＤ４８（Ｂｌａｓｔ－１、Ｈｕｌｙｍ３、ＢＣＭ－１、ＯＸ－４５）；ＣＤ４９ａ（ＶＬＡ－１α、α１インテグリン）；ＣＤ４９ｂ（ＶＬＡ－２α、ｇｐＩａ、α２インテグリン）；ＣＤ４９ｃ（ＶＬＡ－３α、α３インテグリン）；ＣＤ４９ｅ（ＶＬＡ－５α、α５インテグリン）；ＣＤ４９ｆ（ＶＬＡ－６α、α６インテグリン、ｇｐＩｃ）；ＣＤ５０（ＩＣＡＭ－３）；ＣＤ５１（インテグリンα、ＶＮＲ－α、ビトロネクチン－Ｒα）；ＣＤ５２（ＣＡＭＰＡＴＨ－１、ＨＥ５）；ＣＤ５３（ＯＸ－４４）；ＣＤ５４（ＩＣＡＭ－１）；ＣＤ５５（ＤＡＦ）；ＣＤ５８（ＬＦＡ－３）；ＣＤ５９（１Ｆ５Ａｇ、Ｈ１９、Ｐｒｏｔｅｃｔｉｎ、ＭＡＣＩＦ、ＭＩＲＬ、Ｐ－１８）；ＣＤ６０ａ（ＧＤ３）；ＣＤ６０ｂ（９－Ｏ－アセチルＧＤ３）；ＣＤ６１（ＧＰＩＩＩａ、β３インテグリン）；ＣＤ６２Ｌ（Ｌ－セレクチン、ＬＡＭ－１、ＬＥＣＡＭ－１、ＭＥＬ－１４、Ｌｅｕ８、ＴＱ１）；ＣＤ６３（ＬＩＭＰ、ＭＬＡ１、ｇｐ５５、ＮＧＡ、ＬＡＭＰ－３、ＭＥ４９１）；ＣＤ６４（ＦｃγＲＩ）；ＣＤ６５（セラミド、ＶＩＭ－２）；ＣＤ６５ｓ（シアル酸付加－ＣＤ６５、ＶＩＭ２）；ＣＤ７２（Ｌｙ－１９．２、Ｌｙ－３２．２、Ｌｙｂ－２）；ＣＤ７４（Ｉｉ、不変鎖）；ＣＤ７５（シアロマスク（ｓｉａｌｏ－ｍａｓｋ

ｅｄ）ラクトサミン）；ＣＤ７５Ｓ（α２，６シアル酸付加ラクトサミン）；ＣＤ８０（Ｂ７、Ｂ７－１、ＢＢ１）；ＣＤ８１（ＴＡＰＡ－１）；ＣＤ８２（４Ｆ９、Ｃ３３、ＩＡ４、ＫＡＩ１、Ｒ２）；ＣＤ８４（ｐ７５、ＧＲ６）；ＣＤ８５ａ（ＩＬＴ５、ＬＩＲ２、ＨＬ９）；ＣＤ８５ｄ（ＩＬＴ４、ＬＩＲ２、ＭＩＲ１０）；ＣＤ８５ｊ（ＩＬＴ２、ＬＩＲ１、ＭＩＲ７）；ＣＤ８５ｋ（ＩＬＴ３、ＬＩＲ５、ＨＭ１８）；ＣＤ８６（Ｂ７－２／Ｂ７０）；ＣＤ８７（ｕＰＡＲ）；ＣＤ８８（Ｃ５ａＲ）；ＣＤ８９（ＩｇＡＦｃ受容体、ＦｃαＲ）；ＣＤ９１（α２Ｍ－Ｒ、ＬＲＰ）；ＣＤｗ９２（ｐ７０）；ＣＤｗ９３（ＧＲ１１）；ＣＤ９５（ＡＰＯ－１、ＦＡＳ、ＴＮＦＲＳＦ６）；ＣＤ９７（ＢＬ－ＫＤＤ／Ｆ１２）；ＣＤ９８（４Ｆ２、ＦＲＰ－１、ＲＬ－３８８）；ＣＤ９９（ＭＩＣ２、Ｅ２）；ＣＤ９９Ｒ（ＣＤ９９　Ｍａｂ制限型）；ＣＤ１００（ＳＥＭＡ４Ｄ）；ＣＤ１０１（ＩＧＳＦ２、Ｐ１２６、Ｖ７）；ＣＤ１０２（ＩＣＡＭ－２）；ＣＤ１１１（ＰＶＲＬ１、ＨｖｅＣ、ＰＲＲ１、Ｎｅｃｔｉｎ１、ＨＩｇＲ）；ＣＤ１１２（ＨｖｅＢ、ＰＲＲ２、ＰＶＲＬ２、Ｎｅｃｔｉｎ２）；ＣＤ１１４（ＣＳＦ３Ｒ、Ｇ－ＣＳＲＦ、ＨＧ－ＣＳＦＲ）；ＣＤ１１５（ｃ－ｆｍｓ、ＣＳＦ－１Ｒ、Ｍ－ＣＳＦＲ）；ＣＤ１１６（ＧＭＣＳＦＲα）；ＣＤｗ１１９（ＩＦＮγＲ、ＩＦＮγＲＡ）；ＣＤ１２０ａ（ＴＮＦＲＩ、ｐ５５）；ＣＤ１２０ｂ（ＴＮＦＲＩＩ、ｐ７５、ＴＮＦＲｐ８０）；ＣＤ１２１ｂ（タイプ２ＩＬ－１Ｒ）；ＣＤ１２２（ＩＬ２Ｒβ）；ＣＤ１２３（ＩＬ－３Ｒα）；ＣＤ１２４（ＩＬ－４Ｒα）；ＣＤ１２７（ｐ９０、ＩＬ－７Ｒ、ＩＬ－７Ｒα）；ＣＤ１２８ａ（ＩＬ－８Ｒａ、ＣＸＣＲ１、（暫定的にＣＤ１８１と改名））；ＣＤ１２８ｂ（ＩＬ－８Ｒｂ、ＣＳＣＲ２、（暫定的にＣＤ１８２と改名））；ＣＤ１３０（ｇｐ１３０）；ＣＤ１３１（一般的なβサブユニット）；ＣＤ１３２（一般的なγ鎖、ＩＬ－２Ｒγ）；ＣＤｗ１３６（ＭＳＰ－Ｒ、ＲＯＮ、ｐ１５８－ｒｏｎ）；ＣＤｗ１３７（４－１ＢＢ、ＩＬＡ）；ＣＤ１３９；ＣＤ１４１（トロンボモジュリン、フェトモジュリン）；ＣＤ１４７（バシジン、ＥＭＭＰＲＩＮ、Ｍ６、ＯＸ４７）；ＣＤ１４８（ＨＰＴＰ－η、ｐ２６０、ＤＥＰ－１）；ＣＤ１５５（ＰＶＲ）；ＣＤ１５６ａ（ＣＤ１５６、ＡＤＡＭ８、ＭＳ２）；ＣＤ１５６ｂ（ＴＡＣＥ、ＡＤＡＭ１７、ｃＳＶＰ）；ＣＤｗ１５６Ｃ（ＡＤＡＭ１０）；ＣＤ１５７（Ｍｏ５、ＢＳＴ－１）；ＣＤ１６２（ＰＳＧＬ－１）；ＣＤ１６４（ＭＧＣ－２４、ＭＵＣ－２４）；ＣＤ１６５（ＡＤ２、ｇｐ３７）；ＣＤ１６８（ＲＨＡＭＭ、ＩＨＡＢＰ、ＨＭＭＲ）；ＣＤ１６９（シアロアドヘシン、シグレック－１）；ＣＤ１７０（シグレック５）；ＣＤ１７１（Ｌ１ＣＡＭ、ＮＩＬＥ）；ＣＤ１７２（ＳＩＲＰ－１α、ＭｙＤ－１）；ＣＤ１７２ｂ（ＳＩＲＰβ）；ＣＤ１８０（ＲＰ１０５、Ｂｇｐ９５、Ｌｙ６４）；ＣＤ１８１（ＣＸＣＲ１、（以前はＣＤ１２８ａとして知られていた））；ＣＤ１８２（ＣＸＣＲ２、（以前はＣＤ１２８ｂとして知られていた））；ＣＤ１８４（ＣＸＣＲ４、ＮＰＹ３Ｒ）；ＣＤ１９１（ＣＣＲ１）；ＣＤ１９２（ＣＣＲ２）；ＣＤ１９５（ＣＣＲ５）；ＣＤｗ１９７（ＣＣＲ７（以前はＣＤｗ１９７であった））；ＣＤｗ１９８（ＣＣＲ８）；ＣＤ２０４（ＭＳＲ）；ＣＤ２０５（デカ－２５）；ＣＤ２０６（ＭＭＲ）；ＣＤ２０７（ランゲリン）；ＣＤｗ２１０（ＣＫ）；ＣＤ２１３ａ（ＣＫ）；ＣＤｗ２１７（ＣＫ）；ＣＤ２２０（インシュリンＲ）；ＣＤ２２１（ＩＧＦ１Ｒ）；ＣＤ２２２（Ｍ６Ｐ－Ｒ、ＩＧＦＩＩ－Ｒ）；ＣＤ２２４（ＧＧＴ）；ＣＤ２２６（ＤＮＡＭ－１、ＰＴＡ１）；ＣＤ２３０（プリオンタンパク質（ＰｒＰ））；ＣＤ２３２（ＶＥＳＰ－Ｒ）；ＣＤ２４４（２Ｂ４、Ｐ３８、ＮＡＩＬ）；ＣＤ２４５（ｐ２２０／２４０）；ＣＤ２５６（ＡＰＲＩＬ、ＴＡＬＬ２、ＴＮＦ（リガンド）スーパーファミリー、メンバー１３）；ＣＤ２５７（ＢＬＹＳ、ＴＡＬＬ１、ＴＮＦ（リガンド）スーパーファミリー、メンバー１３ｂ）；ＣＤ２６１（ＴＲＡＩＬ－Ｒ１、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１０ａ）；ＣＤ２６２（ＴＲＡＩＬ－Ｒ２、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１０ｂ）；ＣＤ２６３（ＴＲＡＩＬ－Ｒ３、ＴＮＢＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１０ｃ）；ＣＤ２６４（ＴＲＡＩＬ－Ｒ４、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１０ｄ）；ＣＤ２６５（ＴＲＡＮＣＥ－Ｒ、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１１ａ）；ＣＤ２７７（ＢＴ３．１、Ｂ７ファミリー：ブチロフィリン３）；ＣＤ２８０（ＴＥＭ２２、ＥＮＤＯ１８０）；ＣＤ２８１（Ｔ

ＬＲ１、Ｔｏｌｌ様受容体１）；ＣＤ２８２（ＴＬＲ２、Ｔｏｌｌ様受容体２）；ＣＤ２８４（ＴＬＲ４、Ｔｏｌｌ様受容体４）；ＣＤ２９５（ＬＥＰＲ）；ＣＤ２９８（ＡＴＰ１Ｂ３、Ｎａ　Ｋ　ＡＴＰアーゼ、β３サブユニット）；ＣＤ３００ａ（ＣＭＲＦ－３５Ｈ）；ＣＤ３００ｃ（ＣＭＲＦ－３５Ａ）；ＣＤ３００ｅ（ＣＭＲＦ－３５Ｌ１）；ＣＤ３０２（ＤＣＬ１）；ＣＤ３０５（ＬＡＩＲ１）；ＣＤ３１２（ＥＭＲ２）；ＣＤ３１５（ＣＤ９Ｐ１）；ＣＤ３１７（ＢＳＴ２）；ＣＤ３２１（ＪＡＭ１）；ＣＤ３２２（ＪＡＭ２）；ＣＤｗ３２８（シグレック７）；ＣＤｗ３２９（シグレック９）；ＣＤ６８（ｇｐ　１１０、マクロシアリン）；および／またはマンノース受容体が挙げられるが、これに限定されるものではなく、括弧内に列挙した名称は代案の名称を表す。

【００３４】

実施形態では、樹状細胞（「ＤＣ」）上の既知の標的を指向する部分は、ＤＣ上に顕著に発現されおよび／または存在する（すなわちＤＣマーカー）あらゆる実体（例えばタンパク質、脂質、炭水化物、小分子など）と特異的に結合するあらゆる標的部分を含んでなる。例示的なＤＣマーカーとしては、ＣＤ１ａ（Ｒ４、Ｔ６、ＨＴＡ－１）；ＣＤ１ｂ（Ｒ１）；ＣＤ１ｃ（Ｍ２４１、Ｒ７）；ＣＤ１ｄ（Ｒ３）；ＣＤ１ｅ（Ｒ２）；ＣＤ１１ｂ（αＭインテグリン鎖、ＣＲ３、Ｍｏ１、Ｃ３ｎｉＲ、Ｍａｃ－１）；ＣＤ１１ｃ（αＸインテグリン、ｐ１５０、９５、ＡＸｂ２）；ＣＤｗ１１７（ラクトシルセラミド、ＬａｃＣｅｒ）；ＣＤ１９（Ｂ４）；ＣＤ３３（ｇｐ６７）；ＣＤ３５（ＣＲ１、Ｃ３ｂ／Ｃ４ｂ受容体）；ＣＤ３６（ＧｐＩＩＩｂ、ＧＰＩＶ、ＰＡＳＩＶ）；ＣＤ３９（ＡＴＰデヒドロゲナーゼ、ＮＴＰデヒドロゲナーゼ－１）；ＣＤ４０（Ｂｐ５０）；ＣＤ４５（ＬＣＡ、Ｔ２００、Ｂ２２０、Ｌｙ５）；ＣＤ４５ＲＡ；ＣＤ４５ＲＢ；ＣＤ４５ＲＣ；ＣＤ４５ＲＯ（ＵＣＨＬ－１）；ＣＤ４９ｄ（ＶＬＡ－４α、α４インテグリン）；ＣＤ４９ｅ（ＶＬＡ－５α、α５インテグリン）；ＣＤ５８（ＬＦＡ－３）；ＣＤ６４（ＦｃγＲＩ）；ＣＤ７２（Ｌｙ－１９．２、Ｌｙ－３２．２、Ｌｙｂ－２）；ＣＤ７３（エクト－５’－ヌクレオチダーゼ）；ＣＤ７４（Ｉｉ、不変鎖）；ＣＤ８０（Ｂ７、Ｂ７－１、ＢＢ１）；ＣＤ８１（ＴＡＰＡ－１）；ＣＤ８３（ＨＢ１５）；ＣＤ８５ａ（ＩＬＴ５、ＬＩＲ３、ＨＬ９）；ＣＤ８５ｄ（ＩＬＴ４、ＬＩＲ２、ＭＩＲ１０）；ＣＤ８５ｊ（ＩＬＴ２、ＬＩＲ１、ＭＩＲ７）；ＣＤ８５ｋ（ＩＬＴ３、ＬＩＲ５、ＨＭ１８）；ＣＤ８６（Ｂ７－２／Ｂ７０）；ＣＤ８８（Ｃ５ａＢ）；ＣＤ９７（ＢＬ－ＫＤＤ／Ｆ１２）；ＣＤ１０１（ＩＧＳＦ２、Ｐ１２６、Ｖ７）；ＣＤ１１６（ＧＭ－ＣＳＦＲα）；ＣＤ１２０ａ（ＴＭＦＲＩ、ｐ５５）；ＣＤ１２０ｂ（ＴＮＦＲＩＩ、ｐ７５、ＴＮＦＲｐ８０）；ＣＤ１２３（ＩＬ－３Ｒα）；ＣＤ１３９；ＣＤ１４８（ＨＰＴＰ－η、ＤＥＰ－１）；ＣＤ１５０（ＳＬＡＭ、ＩＰＯ－３）；ＣＤ１５６ｂ（ＴＡＣＥ、ＡＤＡＭ１７、ｃＳＶＰ）；ＣＤ１５７（Ｍｏ５、ＢＳＴ－１）；ＣＤ１６７ａ（ＤＤＲ１、ｔｒｋＥ、ｃａｋ）；ＣＤ１６８（ＲＨＡＭＭ、ＩＨＡＢＰ、ＨＭＭＲ）；ＣＤ１６９（シアロアドヘシン、シグレック－１）；ＣＤ１７０（シグレック－５）；ＣＤ１７１（Ｌ１ＣＡＭ、ＮＩＬＥ）；ＣＤ１７２（ＳＩＲＰ－１α、ＭｙＤ－１）；ＣＤ１７２ｂ（ＳＩＲＰβ）；ＣＤ１８０（ＲＰ１０５、Ｂｇｐ９５、Ｌｙ６４）；ＣＤ１８４（ＣＸＣＲ４、ＮＰＹ３Ｒ）；ＣＤ１９３（ＣＣＲ３）；ＣＤ１９６（ＣＣＲ６）；ＣＤ１９７（ＣＣＲ７（ｗｓＣＤｗ１９７））；ＣＤｗ１９７（ＣＣＲ７、ＥＢＩ１、ＢＬＲ２）；ＣＤ２００（ＯＸ２）；ＣＤ２０５（デカ－２０５）；ＣＤ２０６（ＭＭＲ）；ＣＤ２０７（ランゲリン）；ＣＤ２０８（ＤＣ－ＬＡＭＰ）；ＣＤ２０９（ＤＣＳＩＧＮ）；ＣＤｗ２１８ａ（ＩＬ１８Ｒα）；ＣＤｗ２１８ｂ（ＩＬ８Ｒβ）；ＣＤ２２７（ＭＵＣ１、ＰＵＭ、ＰＥＭ、ＥＭＡ）；ＣＤ２３０（プリオンタンパク質（ＰｒＰ））；ＣＤ２５２（ＯＸ４０Ｌ、ＴＮＦ（リガンド）スーパーファミリー、メンバー４）；ＣＤ２５８（ＬＩＧＨＴ、ＴＮＦ（リガンド）スーパーファミリー、メンバー１４）；ＣＤ２６５（ＴＲＡＮＣＥ－Ｒ、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１１ａ）；ＣＤ２７１（ＮＧＦＲ、ｐ７５、ＴＮＦＲスーパーファミリー、メンバー１６）；ＣＤ２７３（Ｂ７ＤＣ、ＰＤＬ２）；ＣＤ２７４（Ｂ７Ｈ１、ＰＤＬ１）；ＣＤ２７５（Ｂ７Ｈ２、ＩＣＯＳＬ）；ＣＤ２７６（Ｂ７Ｈ３）；ＣＤ２７７（ＢＴ３．１、Ｂ７ファミリー：ブチロフィリン３）；ＣＤ２８３

（ＴＬＲ３、Ｔｏｌｌ様受容体３）；ＣＤ２８９（ＴＬＲ９、Ｔｏｌｌ様受容体９）；ＣＤ２９５（ＬＥＰＲ）；ＣＤ２９８（ＡＴＰ１Ｂ３、Ｎａ　Ｋ　ＴＰアーゼβ３サブユニット）；ＣＤ３００ａ（ＣＭＲＦ－３５Ｈ）；ＣＤ３００ｃ（ＣＭＲＦ－３５Ａ）；ＣＤ３０１（ＭＧＬ１、ＣＬＥＣＳＦ１４）；ＣＤ３０２（ＤＣＬ１）；ＣＤ３０３（ＢＤＣＡ２）；ＣＤ３０４（ＢＤＣＡ４）；ＣＤ３１２（ＥＭＲ２）；ＣＤ３１７（ＢＳＴ２）；ＣＤ３１９（ＣＲＡＣＣ、ＳＬＡＭＦ７）；ＣＤ３２０（８Ｄ６）；およびＣＤ６８（ｇｐ１１０、マクロシアリン）；ｃｌａｓｓ　ＩＩ　ＭＨＣ；ＢＤＣＡ－１；シグレック－Ｈが挙げられるがこれに限定されるものではなく、括弧内に列挙した名称は代案の名称を表す。

【００３５】

実施形態では、標的技術は、Ｂ細胞上に顕著に発現されおよび／または存在する（すなわちＢ細胞マーカー）あらゆる実体（例えばタンパク質、脂質、炭水化物、小分子など）と特異的に結合するあらゆる標的部分によって達成され得る。例示的なＢ細胞マーカーとしては、ＣＤ１ｃ（Ｍ２４１、Ｒ７）；ＣＤ１ｄ（Ｒ３）；ＣＤ２（ＥロゼットＲ、Ｔ１１、ＬＦＡ－２）；ＣＤ５（Ｔ１、Ｔｐ６７、Ｌｅｕ－１、Ｌｙ－１）；ＣＤ６（Ｔ１２）；ＣＤ９（ｐ２４、ＤＲＡＰ－１、ＭＲＰ－１）；ＣＤ１１ａ（ＬＦＡ－１α、αＬインテグリン鎖）；ＣＤ１１ｂ（αＭインテグリン鎖、ＣＲ３、Ｍｏ１、Ｃ３ｎｉＲ、Ｍａｃ－１）；ＣＤ１１ｃ（αＸインテグリン、Ｐ１５０、９５、ＡＸｂ２）；ＣＤｗ１７（ラクトシルセラミド、ＬａｃＣｅｒ）；ＣＤ１８（インテグリンβ２、ＣＤ１１ａ、ｂ、ｃβ－サブユニット）；ＣＤ１９（Ｂ４）；ＣＤ２０（Ｂ１、Ｂｐ３５）；ＣＤ２１（ＣＲ２、ＥＢＶ－Ｒ、Ｃ３ｄＲ）；ＣＤ２２（ＢＬ－ＣＡＭ、Ｌｙｂ８、シグレック－２）；ＣＤ２３（ＦｃｅＲＩＩ、Ｂ６、ＢＬＡＳＴ－２、Ｌｅｕ－２０）；ＣＤ２４（ＢＡ－１、ＨＳＡ）；ＣＤ２５（Ｔａｃ抗原、ＩＬ－２Ｒα、ｐ５５）；ＣＤ２６（ＤＰＰＩＶ外酵素、ＡＤＡ結合タンパク質）；ＣＤ２７（Ｔ１４、Ｓ１５２）；ＣＤ２９（血小板ＧＰＩＩａ、β－１インテグリン、ＧＰ）；ＣＤ３１（ＰＥＣＡＭ－１、Ｅｎｄｏｃａｍ）；ＣＤ３２（ＦＣγＲＩＩ）；ＣＤ３５（ＣＲ１、Ｃ３ｂ／Ｃ４ｂ受容体）；ＣＤ３７（ｇｐ５２－４０）；ＣＤ３８（ＡＤＰリボシルシクラーゼ、Ｔ１０）；ＣＤ３９（ＡＴＰデヒドロゲナーゼ、ＮＴＰデヒドロゲナーゼ－１）；ＣＤ４０（Ｂｐ５０）；ＣＤ４４（ＥＣＭＲＩＩ、Ｈ－ＣＡＭ、Ｐｇｐ－１）；ＣＤ４５（ＬＣＡ、Ｔ２００、Ｂ２２０、Ｌｙ５）；ＣＤ４５ＲＡ；ＣＤ４５ＲＢ；ＣＤ４５ＲＣ；ＣＤ４５ＲＯ（ＵＣＨＬ－１）；ＣＤ４６（ＭＣＰ）；ＣＤ４７（ｇｐ４２、ＩＡＰ、ＯＡ３、ニューロピリン）；ＣＤ４７Ｒ（ＭＥＭ－１３３）；ＣＤ４８（Ｂｌａｓｔ－１、Ｈｕｌｙｍ３、ＢＣＭ－１、ＯＸ－４５）；ＣＤ４９ｂ（ＶＬＡ－２α、ｇｐｌａ、α２インテグリン）；ＣＤ４９ｃ（ＶＬＡ－３α、α３インテグリン）；ＣＤ４９ｄ（ＶＬＡ－４α、α４インテグリン）；ＣＤ５０（ＩＣＡＭ－３）；ＣＤ５２（ＣＡＭＰＡＴＨ－１、ＨＥＳ）；ＣＤ５３（ＯＸ－４４）；ＣＤ５４（ＩＣＡＭ－１）；ＣＤ５５（ＤＡＦ）；ＣＤ５８（ＬＦＡ－３）；ＣＤ６０ａ（ＧＤ３）；ＣＤ６２Ｌ（Ｌ－セレクチン、ＬＡＭ－１、ＬＥＣＡＭ－１、ＭＥＬ－１４、Ｌｅｕ８、ＴＱ１）；ＣＤ７２（Ｌｙ－１９．２、Ｌｙ－３２．２、Ｌｙｂ－２）；ＣＤ７３（エクト－５’－ヌクレオチダーゼ）；ＣＤ７４（Ｉｉ、不変鎖）；ＣＤ７５（シアロマスク（ｓｉａｌｏ－ｍａｓｋｅｄ）ラクトサミン）；ＣＤ７５Ｓ（α２，６シアル化ラクトサミン）；ＣＤ７７（Ｐｋ抗原、ＢＬＡ、ＣＴＨ／Ｇｂ３）；ＣＤ７９ａ（Ｉｇα、ＭＢ１）；ＣＤ７９ｂ（Ｉｇβ、Ｂ２９）；ＣＤ８０；ＣＤ８１（ＴＡＰＡ－１）；ＣＤ８２（４Ｆ９、Ｃ３３、ＩＡ４、ＫＡＩ１、Ｒ２）；ＣＤ８３（ＨＢ１５）；ＣＤ８４（Ｐ７５、ＧＲ６）；ＣＤ８５ｊ（ＩＬＴ２、ＬＩＲ１、ＭＩＲ７）；ＣＤｗ９２（ｐ７０）；ＣＤ９５（ＡＰＯ－１、ＦＡＳ、ＴＮＦＲＳＦ６）；ＣＤ９８（４Ｆ２、ＦＲＰ－１、ＲＬ－３８８）；ＣＤ９９（ＭＩＣ２、Ｅ２）；ＣＤ１００（ＳＥＭＡ４Ｄ）；ＣＤ１０２（ＩＣＡＭ－２）；ＣＤ１０８（ＳＥＭＡ７Ａ、ＪＭＨ血液型抗原）；ＣＤｗ１１９（ＩＦＮγＲ、ＩＦＮγＲａ）；ＣＤ１２０ａ（ＴＮＦＲＩ、ｐ５５）；ＣＤ１２０ｂ（ＴＮＦＲＩＩ、ｐ７５、ＴＮＦＲｐ８０）；ＣＤ１２１ｂ（タイプ２ＩＬ－１Ｒ）；ＣＤ１２２（ＩＬ２Ｒβ）；ＣＤ１２４（ＩＬ－４Ｒα）；ＣＤ１３０（

ｇｐ１３０）；ＣＤ１３２（一般的なγ鎖、ＩＬ－２Ｒγ）；ＣＤｗ１３７（４－１ＢＢ、ＩＬＡ）；ＣＤ１３９；ＣＤ１４７（バシジン、ＥＭＭＰＲＩＮ、Ｍ６、ＯＸ４７）；ＣＤ１５０（ＳＬＡＭ、ＩＰＯ－３）；ＣＤ１６２（ＰＳＧＬ－１）；ＣＤ１６４（ＭＧＣ－２４、ＭＵＣ－２４）；ＣＤ１６６（ＡＬＣＡＭ、ＫＧ－ＣＡＭ、ＳＣ－１、ＢＥＮ、ＤＭ－ＧＲＡＳＰ）；ＣＤ１６７ａ（ＤＤＲ１、ｔｒｋＥ、ｃａｋ）；ＣＤ１７１（Ｌ１ＣＭＡ、ＮＩＬＥ）；ＣＤ１７５ｓ（シアリル－Ｔｎ（Ｓ－Ｔｎ））；ＣＤ１８０（ＲＰ１０５、Ｂｇｐ９５、Ｌｙ６４）；ＣＤ１８４（ＣＸＣＲ４、ＮＰＹ３Ｒ）；ＣＤ１８５（ＣＸＣＲ５）；ＣＤ１９２（ＣＣＲ２）；ＣＤ１９６（ＣＣＲ６）；ＣＤ１９７（ＣＣＲ７（以前はＣＤｗ１９７であった））；ＣＤｗ１９７（ＣＣＲ７、ＥＢＩ１、ＢＬＲ２）；ＣＤ２００（ＯＸ２）；ＣＤ２０５（デカ－２０５）；ＣＤｗ２１０（ＣＫ）；ＣＤ２１３ａ（ＣＫ）；ＣＤｗ２１７（ＣＫ）；ＣＤｗ２１８ａ（ＩＬ１８Ｒα）；ＣＤｗ２１８ｂ（ＩＬ１８Ｒβ）；ＣＤ２２０（インシュリンＲ）；ＣＤ２２１（ＩＧＦ１Ｒ）；ＣＤ２２２（Ｍ６Ｐ－Ｒ、ＩＧＦＩＩ－Ｒ）；ＣＤ２２４（ＧＧＴ）；ＣＤ２２５（Ｌｅｕ１３）；ＣＤ２２６（ＤＮＡＭ－１、ＰＴＡ１）；ＣＤ２２７（ＭＵＣ１、ＰＵＭ、ＰＥＭ、ＥＭＡ）；ＣＤ２２９（Ｌｙ９）；ＣＤ２３０（プリオンタンパク質（Ｐｒｐ））；ＣＤ２３２（ＶＥＳＰ－Ｒ）；ＣＤ２４５（ｐ２２０／２４０）；ＣＤ２４７（ＣＤ３　ζ鎖）；ＣＤ２６１（ＴＲＡＩＬ－Ｒ１、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１０ａ）；ＣＤ２６２（ＴＲＡＩＬ－Ｒ２、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１０ｂ）；ＣＤ２６３（ＴＲＡＩＬ－Ｒ３、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１０ｃ）；ＣＤ２６４（ＴＲＡＩＬ－Ｒ４、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１０ｄ）；ＣＤ２６５（ＴＲＡＮＣＥ－Ｒ、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１１ａ）；ＣＤ２６７（ＴＡＣＩ、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１３Ｂ）；ＣＤ２６８（ＢＡＦＦＲ、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１３Ｃ）；ＣＤ２６９（ＢＣＭＡ、ＴＮＦ－Ｒスーパーファミリー、メンバー１６）；ＣＤ２７５（Ｂ７Ｈ２、ＩＣＯＳＬ）；ＣＤ２７７（ＢＴ３．１．Ｂ７ファミリー：ブチロフィリン３）；ＣＤ２９５（ＬＥＰＲ）；ＣＤ２９８（ＡＴＰ１Ｂ３　Ｎａ　Ｋ　ＡＴＰアーゼβ３サブユニット）；ＣＤ３００ａ（ＣＭＲＦ－３５Ｈ）；ＣＤ３００ｃ（ＣＭＲＦ－３５Ａ）；ＣＤ３０５（ＬＡＩＲ１）；ＣＤ３０７（ＩＲＴＡ２）；ＣＤ３１５（ＣＤ９Ｐ１）；ＣＤ３１６（ＥＷ１２）；ＣＤ３１７（ＢＳＴ２）；ＣＤ３１９（ＣＲＡＣＣ、ＳＬＡＭＦ７）；ＣＤ３２１（ＪＡＭ１）；ＣＤ３２２（ＪＡＭ２）；ＣＤｗ３２７（シグレック６、ＣＤ３３Ｌ）；ＣＤ６８（ｇｐ１００、マクロシアリン）；ＣＸＣＲ５；ＶＬＡ－４；クラスＩＩ　ＭＨＣ；表面ＩｇＭ；表面ＩｇＤ；ＡＰＲＬ；および／またはＢＡＦＦ－Ｒが挙げられるがこれに限定されるものではなく、括弧内に列挙した名称は代案の名称を表す。マーカーの例は、本明細書の他の部分で提供されるものを含む。

【００３６】

いくつかの実施形態では、Ｂ細胞標的技術は、活性化に際してＢ細胞上に顕著に発現されおよび／または存在するあらゆる実体（すなわち活性化Ｂ細胞マーカー）（例えばタンパク質、脂質、炭水化物、小分子など）と特異的に結合するあらゆる標的部分によって達成され得る。例示的な活性化Ｂ細胞マーカーとしては、ＣＤ１ａ（Ｒ４、Ｔ６、ＨＴＡ－１）；ＣＤ１ｂ（Ｒ１）；ＣＤ１５ｓ（シアリルＬｅｗｉｓ　Ｘ）；ＣＤ１５ｕ（３’スルホＬｅｗｉｓ　Ｘ）；ＣＤ１５ｓｕ（６スルホ－シアリルＬｅｗｉｓ　Ｘ）；ＣＤ３０（Ｂｅｒ－Ｈ２、Ｋｉ－１）；ＣＤ６９（ＡＩＭ、ＥＡ１、ＭＬＲ３、ｇｐ３４／２８、ＶＥＡ）；ＣＤ７０（Ｋｉ－２４、ＣＤ２７リガンド）；ＣＤ８０（Ｂ７、Ｂ７－１、ＢＢ１）；ＣＤ８６（Ｂ７－２／Ｂ７０）；ＣＤ９７（ＢＬＫＤＤ／Ｆ１２）；ＣＤ１２５（ＩＬ－５Ｒα）；ＣＤ１２６（ＩＬ－６Ｒα）；ＣＤ１３８（シンデカン－１、ヘパラン硫酸プロテオグリカン）；ＣＤ１５２（ＣＴＬＡ－４）；ＣＤ２５２（ＯＸ４０Ｌ、ＴＮＦ（リガンド）スーパーファミリー、メンバー４）；ＣＤ２５３（ＴＲＡＩＬ、ＴＮＦ（リガンド）スーパーファミリー、メンバー１０）；ＣＤ２７９（ＰＤ１）；ＣＤ２８９（ＴＬＲ９、Ｔｏｌｌ様受容体９）；およびＣＤ３１２（ＥＭＲ２）が挙げられるがこれに限定されるものではなく、括弧内に列挙した名称は代案の名称を表す。マーカーの例は

、本明細書の他の部分で提供されるものを含む。
【００３７】
「Ａ（ｒｅｌ）％」は、重量％として表され、合成ナノキャリアサンプル全体を平均した、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される抗原重量と、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる、生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して、合成ナノキャリア中に保持される抗原重量の和によって除した、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される抗原重量と定義される。ｔは本明細書では、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１２、１８、２４、３０、３６、４２または４８時間と定義される。好ましい実施形態では、ｔは、１２、２４、または４８時間である。
【００３８】
「Ｂ細胞抗原」は、天然でＢ細胞によって認識され、または認識されるように遺伝子操作されて、Ｂ細胞中において（天然で、または当該技術分野で知られているように遺伝子操作されて）免疫応答を作動させるあらゆる抗原を意味する（例えばＢ細胞上のＢ細胞受容体によって特異的に認識される抗原）。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞抗原である抗原はまたＢ細胞抗原でもある。別の実施形態では、Ｔ細胞抗原はＢ細胞抗原でない。Ｂ細胞抗原としては、タンパク質、ペプチド、小分子、および炭水化物が挙げられるがこれに限定されるものではない。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞抗原は非タンパク質抗原である（すなわちタンパク質またはペプチド抗原でない）。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞抗原は感染性因子に付随する炭水化物である。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞抗原は感染性因子に付随する糖タンパク質またはグリコペプチドである。感染性因子は、細菌、ウィルス、真菌、原生動物、寄生生物またはプリオンであり得る。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞抗原は、免疫原性に劣る抗原である。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞抗原は乱用物質またはその一部である。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞抗原は、常習性薬物またはその一部である。常習性薬物としては、ニコチン、麻薬、咳止め薬、精神安定剤、および鎮静薬が挙げられるがこれに限定されるものではない。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞抗原は化学兵器または天然原料からの毒素、あるいは汚染物質などの毒素である。Ｂ細胞抗原はまた、有害な環境因子であってもよい。別の実施形態では、Ｂ細胞抗原は、アロ抗原、アレルゲン、接触感作性物質、変性疾患抗原、ハプテン、感染症抗原、がん抗原、アトピー性疾患抗原、常習性薬物、異種抗原、または代謝疾患酵素あるいはその酵素生成物である。
【００３９】
「生分解性ポリマー」は、対象の身体に取り込まれると時間経過と共に分解するポリマーを意味する。生分解性ポリマーとしては、ポリエステル、ポリカーボネート、ポリケタール、またはポリアミドが挙げられるがこれに限定されるものではない。このようなポリマーはポリ（乳酸）、ポリ（グリコール酸）、ポリ（乳酸－コ－グリコール酸）、またはポリカプロラクトンを含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、生分解性ポリマーは、ポリ（エチレングリコール）などのポリエーテルのブロック－コ－ポリマー、およびポリエステル、ポリカーボネート、またはポリアミドまたはその他の生分解性ポリマーを含んでなる。実施形態では、生分解性ポリマーはポリ（エチレングリコール）とポリ（乳酸）、ポリ（グリコール酸）、ポリ（乳酸－コ－グリコール酸）、またはポリカプロラクトンとのブロック－コ－ポリマーを含んでなる。しかしいくつかの実施形態では、生分解性ポリマーはポリ（エチレングリコール）などのポリエーテルを含まないか、またはポリエーテルのみからなる。一般に、合成ナノキャリアの一部として使用するためには、生分解性ポリマーはｐＨ＝７．４および２５℃で水不溶性である。生分解性ポリマーは、実施形態では、ゲル透過クロマトグラフィーを使用した測定で、約８００～約５０，０００ダルトンの範囲の重量平均分子量を有する。いくつかの実施形態では、重量平均分子量は、ゲル透過クロマトグラフィーを使用した測定で約８００ダルトン～約１０，０００ダルトン、好ましくは８００ダルトン～１０，０００ダルトンである。別の実施形態では、重量平均分子量は、ゲル透過クロマトグラフィーによる測定で１０００ダルトン～１０，００

０ダルトンである。一実施形態では、生分解性ポリマーはポリケタールもその単位も含まない。

【００４０】

「共役する（Ｃｏｕｐｌｅ）」または「共役した（Ｃｏｕｐｌｅｄ）」または「共役（Ｃｏｕｐｌｅｓ）」（など）は、合成ナノキャリアへの付着またはその中への包含を意味する。いくつかの実施形態では、共役は共有結合である。いくつかの実施形態では、共有共役は、１つ以上のリンカーによって仲介される。いくつかの実施形態では、共役は非共有結合である。いくつかの実施形態では、非共有共役は、電荷相互作用、親和力相互作用、金属配位、物理吸着、ホストゲスト相互作用、疎水性相互作用、ＴＴスタッキング相互作用、水素結合相互作用、ファンデルワールス相互作用、磁気相互作用、静電相互作用、双極子－双極子相互作用、および／またはそれらの組み合わせによって仲介される。実施形態では、共役は、従来の技術を使用した、合成ナノキャリア内へのカプセル封入の文脈で起きてもよい。前述の共役のいずれかは、本発明の合成ナノキャリアの表面またはその中にあるように配置されてもよい。

【００４１】

「由来する」は、元の起源から適合され、または改変されたことを意味する。例えば非限定的例として、感染性株に由来するペプチド抗原は、感染性株中に見られる元の抗原に見られる天然のアミノ酸残基から置換された、いくつかの非天然アミノ酸残基を有してもよい。適合または改変は、特異性の増大、より容易な抗原処理、または安全性の改善をはじめとするがこれに限定されるものではない、多様な理由のためであってもよい。

【００４２】

「剤形」は、媒体、キャリア、ビヒクル、または対象への投与に適した装置内の薬剤を意味する。

【００４３】

本発明の組成物の「有効量」は、特定の目的のために効果的な量である。例えば有効量が治療目的である場合、量は本明細書で提供される疾患、障害、および／または病状を治療し、緩和し、寛解し、軽減し、１つ以上の症状または徴群の発症を遅延させ、進行を抑制して、重篤性を減少させおよび／または発生率を低下させるのに効果的である。

【００４４】

「カプセル化する」は、合成ナノキャリア内に封入する、好ましくは合成ナノキャリア内に完全に封入することを意味する。カプセル化された大部分のまたは全ての物質は、合成ナノキャリアの外部の局所的環境に曝露しない。カプセル封入は、大部分のまたは全ての物質を合成ナノキャリアの表面に配置させて、物質を合成ナノキャリアの外部の局所的環境に露出したままにする吸収とは異なる。

【００４５】

「ｐＨ感応性解離を示す」は、それぞれ免疫調節薬もしくは抗原と合成ナノキャリアまたは免疫調節薬もしくは抗原共役部分などの２つの実体間の共役が、環境ｐＨを変化させることで顕著に減少するか、または排除されることを意味する。実施形態では、妥当なｐＨ感応性解離は、本明細書で提供される関係式のいずれかを満たしてもよい。一般に、ｐＨ４．５では、免疫調節薬と合成ナノキャリアの間の共役は、抗原と合成ナノキャリア間の共役よりも大きく低下し、または消失した。免疫調節剤と抗原の解離を定義する関係式は、本明細書の他の部分で提供される。

【００４６】

「ＩＡ（ｒｅｌ）％」は、重量％として表され、合成ナノキャリアのサンプル全体を平均した、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される免疫調節薬の重量と、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して合成ナノキャリア中に保持される免疫調節薬の重量との和によって除した、ｐＨ＝４．５でｔ時間にわたる生体外水性環境に対する合成ナノキャリアの曝露に際して放出される免疫調節薬の重量と定義される。ｔは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１２、１８、２４、３０、３６，４２、または４８

時間である。好ましい実施形態では、ｔは１２、２４、または４８時間である。
【００４７】
「免疫調節薬」は、免疫応答を調節する薬剤を意味する。「調節する」は、本明細書での用法では、免疫応答を誘発し、増強し、刺激して、または指示することを指す。このような薬剤としてはアジュバントが挙げられ、それは抗原に対する免疫応答を刺激する（またブーストする）が、抗原ではなくまた抗原に由来しない。いくつかの実施形態では、免疫調節薬は合成ナノキャリアの表面にあり、および／または合成ナノキャリア内に組み込まれる。実施形態では、免疫調節薬はポリマーまたはその単位を通じて、合成ナノキャリアと共役している。
【００４８】
いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアの全ての免疫調節薬が、互いに同一である。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアはいくつかの異なるタイプの免疫調節薬を含んでなる。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは複数の個々の免疫調節薬を含んでなり、それらは全て互いに同一である。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは厳密に１つのタイプの免疫調節薬を含んでなる。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは厳密に２つの異なるタイプの免疫調節薬を含んでなる。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは２つを超える異なるタイプの免疫調節薬を含んでなる。
【００４９】
「免疫調節薬共役部分」は、免疫調節薬がそれを通じて合成ナノキャリアに結合するあらゆる部分である。このような部分としては、アミド結合またはエステル結合などの共有結合、ならびに免疫調節薬を合成ナノキャリアに（共有結合的にまたは非共有結合的に）結合させる別々の分子が挙げられる。このような分子としては、リンカーまたはポリマーあるいはその単位が挙げられる。例えば免疫調節薬共役部分は、免疫調節薬（例えば免疫賦活性核酸）がそれに静電的に結合する荷電ポリマーを含んでなり得る。別の例として、免疫調節薬共役部分は、免疫調節薬がそれに共有結合的に結合するポリマーまたはその単位を含んでなり得る。いくつかの実施形態では、上記部分はポリエステルを含んでなる。別の実施形態では、上記部分はポリ（エチレングリコール）、ポリ（乳酸）、ポリ（グリコール酸）、ポリ（乳酸－コ－グリコール酸）、またはポリカプロラクトンを含んでなる。上記部分はまた、ラクチドまたはグリコリドなどの前述のポリマーのいずれかの単位を含んでなってもよい。
【００５０】
「感染性因子」は、細菌、真菌、ウィルス、原生動物、または寄生生物に由来するあらゆる作用因子を指す。いくつかの実施形態では、ウィルスは、ポックスウィルス、天然痘ウィルス、エボラウィルス、マールブルグウィルス、デング熱ウィルス、インフルエンザウィルス、パラインフルエンザウィルス、呼吸器合胞体ウィルス、麻疹ウィルス、ヒト免疫不全症ウィルス、ヒトパピローマウィルス、水痘帯状疱疹ウィルス、単純ヘルペスウィルス、サイトメガロウィルス、エプスタイン・バーウィルス、ＪＣウィルス、ラブドウィルス、ロタウィルス、ライノウィルス、アデノウィルス、パピローマウィルス、パルボウィルス、ピコルナウィルス、ポリオウィルス，おたふく風邪を引き起こすウィルス、狂犬病を引き起こすウィルス、レオウィルス、風疹ウィルス、トガウィルス、オルソミクソウィルス、レトロウィルス、ヘパドナウィルス、コクサッキーウィルス、ウマ脳炎ウィルス、日本脳炎ウィルス、黄熱病ウィルス、リフトバレー熱ウィルス、肝炎Ａウィルス、肝炎Ｂウィルス、肝炎Ｃウィルス、肝炎Ｄウィルス、または肝炎Ｅウィルスである。
【００５１】
「合成ナノキャリアの最大寸法」は、合成ナノキャリアのいずれかの軸に沿って測定されるナノキャリアの最大寸法を意味する。「合成ナノキャリアの最小寸法」は、合成ナノキャリアのいずれかの軸に沿って測定されるナノキャリアの最小寸法を意味する。例えば球状合成ナノキャリアでは、合成ナノキャリアの最大および最小寸法は実質的に同一であり、その直径のサイズである。同様に立方体合成ナノキャリアでは、合成ナノキャリアの最小寸法は、その高さ、幅または長さの内最小のものである一方、合成ナノキャリアの最

大寸法は、その高さ、幅または長さの内最大のものである。一実施形態では、サンプル中の合成ナノキャリアの総数を基準にして、サンプル中の合成ナノキャリアの最小寸法の少なくとも７５％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも９０％は１００ｎｍを超える。実施形態では、サンプル中の合成ナノキャリアの総数を基準にして、サンプル中の合成ナノキャリアの最大寸法の少なくとも７５％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも９０％は５μｍ以下である。好ましくは、サンプル中の合成ナノキャリアの総数を基準にして、サンプル中の合成ナノキャリアの最小寸法の少なくとも７５％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも９０％は、１１０ｎｍ以上、より好ましくは１２０ｎｍ以上、より好ましくは１３０ｎｍ以上、なおもより好ましくは１５０ｎｍ以上である。好ましくは、サンプル中の合成ナノキャリアの総数を基準にして、サンプル中の合成ナノキャリアの最大寸法の少なくとも７５％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも９０％は、３μｍ以下、より好ましくは２μｍ以下、より好ましくは１μｍ以下、より好ましくは８００ｎｍ以下、より好ましくは６００ｎｍ以下、なおもより好ましくは５００ｎｍ以下である。好ましい実施形態では、サンプル中の合成ナノキャリアの総数を基準にして、サンプル中の合成ナノキャリアの最大寸法の少なくとも７５％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも９０％は、１００ｎｍ以上、より好ましくは１２０ｎｍ以上、より好ましくは１３０ｎｍ以上、より好ましくは１４０ｎｍ以上、なおもより好ましくは１５０ｎｍ以上である。合成ナノキャリアサイズの測定は、合成ナノキャリアを（通常は水性の）液体媒体に懸濁して動的光散乱を使用して（例えばＢｒｏｏｋｈａｖｅｎ　ＺｅｔａＰＡＬＳ装置を使用して）得られる。

【００５２】

「得られる」は、元の起源から適応または修正なしに取らたことを意味する。例えば実施形態では、起源から得られる抗原は、その起源中に見られる元のアミノ酸残基配列を含んでなってもよい。別の実施形態では、例えば起源から得られる抗原は、その起源中に見られる元の分子構造を含んでなってもよい。

【００５３】

「薬学的に許容できる賦形剤」は、組成物の投与をさらに容易にするために、本発明の組成物に添加される薬理学的不活性物質を意味する。薬学的に許容できる賦形剤の例としては、制限なしに、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、様々な希釈剤、様々な糖および各種デンプン、セルロース誘導体、ゼラチン、植物油、およびポリエチレングリコールが挙げられる。

【００５４】

「免疫原性に劣る抗原」は、所望の免疫応答を全く引き起こさず、または十分なレベルで引き起こさない抗原を指す。「十分な」は、本明細書での用法では、本明細書に記載されるナノキャリアを用いない組成物中で、例えばナノキャリアの不在下でアジュバントと混合された遊離抗原として投与されると、検出可能なまたは防御免疫応答を誘発する能力を指す。いくつかの実施形態では、所望の免疫応答は、疾患または病状を治療または予防する。特定の実施形態では、所望の免疫応答は、疾患または病状の１つ以上の症状を軽減する。免疫原性に劣る抗原性抗原としては、小分子および炭水化物が挙げられるがこれに限定されるものではない。

【００５５】

「放出速度」は、生体外放出試験において、共役した免疫調節薬または抗原が粒子から周囲の媒体に流れ出す速度を意味する。最初に、適切な生体外放出媒体に入れることで、放出試験のための合成ナノキャリアを調製する。これは一般に遠心分離後に合成ナノキャリアをペレット化し、穏和な条件下で合成ナノキャリアを水戻して、緩衝液を交換することにより実施される。３７℃で適切な温度制御された装置にサンプルを入れることにより、アッセイを開始する。サンプルは様々な時点で取り出される。一般に、生理学的ｐＨ（例えばｐＨ４．５）では、免疫調節薬共役部分を通じた合成ナノキャリアへの免疫調節薬の結合よりも、抗原共役部分を通じた合成ナノキャリアへの抗原の結合の方がより安定し

ている。実施形態では、合成ナノキャリアへの免疫調節薬の結合よりも、合成ナノキャリアへの抗原の結合の方が、ｐＨ感応性がより低い。実施形態では、合成ナノキャリアから放出される抗原量を測定して、合成ナノキャリアへの抗原の結合安定性を判定する。実施形態では、合成ナノキャリアから放出される抗原の量は、ｐＨ４．５とｐＨ７．４で顕著に異ならない。実施形態では、ｐＨ４．５で合成ナノキャリアから放出される抗原の量は、合成ナノキャリアから放出される免疫調節薬の量より少ない。実施形態では、放出される抗原量はｐＨ７．４においても４．５においても検出できない。

【００５６】

遠心分離して合成ナノキャリアをペレット化することにより、合成ナノキャリアを放出媒体から分離する。合成ナノキャリアから分散した免疫調節薬または抗原について、放出媒体をアッセイする。ＨＰＬＣを使用して免疫調節薬または抗原を測定し、免疫調節薬または抗原の含量および質を判定する。残留する捕捉された免疫調節薬または抗原を含有するペレットを溶剤に溶解するか、または塩基によって加水分解して、捕捉された免疫調節薬または抗原を合成ナノキャリアから遊離させる。次にペレットに含有される免疫調節薬または抗原もまたＨＰＬＣによって測定し、所定の時点で放出されなかった免疫調節薬または抗原の含量および質を判定する。

【００５７】

放出媒体中に放出された免疫調節薬または抗原と、合成ナノキャリア中に残留したものとの間では質量平衡が閉じている。データは経時的に放出された割合として、または放出されたマイクログラムとして示される正味放出として示される。

【００５８】

「小分子」は、当該技術分野でサイズが約２０００ｇ／ｍｏｌ未満の有機分子と理解される。いくつかの実施形態では、小分子は約１５００ｇ／ｍｏｌ未満または約１０００ｇ／ｍｏｌ未満である。いくつかの実施形態では、小分子は約８００ｇ／ｍｏｌ未満または約５００ｇ／ｍｏｌ未満である。いくつかの実施形態では、小分子は高分子でなくおよび／またはオリゴマーでない。いくつかの実施形態では、小分子はタンパク質、ペプチド、またはアミノ酸でない。いくつかの実施形態では、小分子は核酸またはヌクレオチドでない。いくつかの実施形態では、小分子は糖類または多糖類でない。

【００５９】

「対象」は、ヒトおよび霊長類などの哺乳類；鳥類；ネコ、イヌ、ヒツジ、ヤギ、畜牛、ウマ、およびブタなどの愛玩動物または家畜；マウス、ラット、およびモルモットなどの実験動物；魚などをはじめとする動物を意味する。

【００６０】

「合成ナノキャリア」は自然界に見られず、５μｍ以下のサイズの少なくとも１つの寸法を有する離散した物体を意味する。アルブミンナノ粒子は、合成ナノキャリアとして明示的に含まれる。

【００６１】

合成ナノキャリアとしては、ポリマーナノ粒子が挙げられる。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは１つ以上のポリマーマトリックスを含んでなり得る。しかし合成ナノキャリアはまたその他のナノ材料も含んでなり得て、例えば脂質－ポリマーナノ粒子であってもよい。いくつかの実施形態では、ポリマーマトリックスは、被覆層（例えばリポソーム、脂質単層、ミセルなど）で取り囲まれ得る。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアはミセルでない。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、脂質層（例えば脂質二重層、脂質単層など）で取り囲まれるポリマーマトリックスを含んでなるコアを含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアの様々な要素は、ポリマーマトリックスと共役され得る。

【００６２】

合成ナノキャリアは、１つ以上の脂質を含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアはリポソームを含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは脂質二重層を含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキ

ャリアは脂質単層を含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアはミセルを含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは脂質層（例えば脂質二重層、脂質単層など）で取り囲まれる非高分子コア（例えば金属粒子、量子ドット、セラミック粒子、骨の粒子、ウィルス粒子、タンパク質、核酸、炭水化物など）を含んでなってもよい。

【００６３】

合成ナノキャリアは、脂質ベースナノ粒子、金属ナノ粒子、界面活性剤ベースエマルジョン、デンドリマー、バッキーボール、ナノワイヤ、ウィルス様粒子、ペプチドもしくはタンパク質ベース粒子（アルブミンナノ粒子など）を含んでなってもよい。合成ナノキャリアは、球状、立方体、錐体、長方形、円柱状、ドーナツ型などをはじめとするがこれに限定されるものではない、多様な異なる形状であってもよい。本発明に従った合成ナノキャリアは、１つ以上の表面を含んでなる。本発明の実施における仕様に適応させ得る例示的な合成ナノキャリアとしては、以下が挙げられる。（１）Ｇｒｅｆらに付与された米国特許第５，５４３，１５８号明細書で開示される生分解性ナノ粒子、（２）Ｓａｌｔｚｍａｎらに付与された米国特許出願公開第２００６０００２８５２号明細書のポリマーナノ粒子、（３）ＤｅＳｉｍｏｎｅらに付与された米国特許出願公開第２００９００２８９１０号明細書のリソグラフィーによって構築されたナノ粒子、（４）ｖｏｎ Ａｎｄｒｉａｎらに付与された国際公開第２００９／０５１８３７号パンフレットの開示、または（５）Ｐｅｎａｄｅｓらに付与された米国特許出願公開第２００８／０１４５４４１号明細書で開示されるナノ粒子。

【００６４】

約１００ｎｍ以下、好ましくは１００ｎｍ以下の最小寸法を有する本発明に従った合成ナノキャリアは、補体を活性化する水酸基がある表面を含まないか、または代案としては、補体を活性化する水酸基でない部分から本質的になる表面を含んでなる。好ましい実施形態では、約１００ｎｍ以下、好ましくは１００ｎｍ以下の最小寸法を有する本発明に従った合成ナノキャリアは、実質的に補体を活性化する表面を含まないか、または代案としては、実質的に補体を活性化しない部分から本質的になる表面を含んでなる。より好ましい実施形態では、約１００ｎｍ以下、好ましくは１００ｎｍ以下の最小寸法を有する本発明に従った合成ナノキャリアは、補体を活性化する表面を含まないか、または代案としては、補体を活性化しない部分から本質的になる表面を含んでなる。実施形態では、合成ナノキャリアは、１：１、１：１．２、１：１．５、１：２、１：３、１：５、１：７を超えるか、または１：１０を超える縦横比を有してもよい。

【００６５】

いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは球体または回転楕円体である。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは扁平または円盤状である。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは正六面体または立方体である。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは卵形または長円である。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、円柱、錐体、またはピラミッドである。

【００６６】

各合成ナノキャリアが類似した特性を有するように、サイズ、形状、および／または組成に関して比較的一様の合成ナノキャリア集団を使用することが望ましいことが多い。例えば少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％の合成ナノキャリアは、平均直径または平均寸法の５％、１０％、または２０％以内に入る最小寸法または最大寸法を有してもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリア集団は、サイズ、形状、および／または組成に関して不均一であってもよい。

【００６７】

合成ナノキャリアは中実または中空であり得て、１つ以上の層を含んでなり得る。いくつかの実施形態では、各層はその他の層と比較してユニークな組成およびユニークな特性を有する。一例として、合成ナノキャリアは、コアが第１層（例えば高分子コア）でシェルが第２層（例えば脂質二重層または単層）であるコア／シェル構造を有してもよい。合

成ナノキャリアは、複数の異なる層を含んでなってもよい。

【００６８】

「Ｔ細胞抗原」は、Ｔ細胞によって認識され、免疫応答を引き起こすあらゆる抗原を意味する（例えばクラスＩまたはクラスＩＩ主要組織適合遺伝子複合体分子（ＭＨＣ）に結合するか、またはＣＤ１複合体に結合する、抗原またはその一部の提示を通じて、Ｔ細胞またはＮＫＴ細胞上のＴ細胞受容体によって特異的に認識される抗原）。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞抗原である抗原はＢ細胞抗原でもある。別の実施形態では、Ｔ細胞抗原はＢ細胞抗原ではない。Ｔ細胞抗原は、一般にタンパク質またはペプチドである。Ｔ細胞抗原は、ＣＤ８＋Ｔ細胞応答、ＣＤ４＋Ｔ細胞応答、または双方を刺激する抗原であってもよい。したがってＴ細胞抗原は、いくつかの実施形態では双方のタイプの応答を効果的に刺激し得る。

【００６９】

いくつかの実施形態ではＴ細胞抗原はＴヘルパー抗原であり、それはＴ細胞ヘルプの刺激を通じて、無関係のＢ細胞抗原に対する増強された応答を発生させ得るＴ細胞抗原である。実施形態では、Ｔヘルパー抗原は、破傷風類毒素、エプスタイン・バーウィルス、インフルエンザウィルス、呼吸器合胞体ウィルス、はしかウィルス、おたふく風邪ウィルス、風疹ウィルス、サイトメガロウィルス、アデノウィルス、ジフテリア類毒素、またはＰＡＤＲＥペプチドに由来する１つ以上のペプチドを含んでなってもよい。別の実施形態では、Ｔヘルパー抗原は、α－ガラクトシルセラミド（α－ＧａｌＣｅｒ）、α－結合スフィンゴ糖脂質（スフィンゴモナス（Ｓｐｈｉｎｇｏｍｏｎａｓ）種からの）、ガラクトシルジアシルグリセロール（ボレリア・ブルグドルフェリ（（Ｂｏｒｒｅｌｉａ ｂｕｒｇｄｏｒｆｅｒｉ）からの）、リポホスホグリカン（熱帯リーシュマニア（Ｌｅｉｓｈｍａｎｉａ ｄｏｎｏｖａｎｉ）からの）、およびホスファチジルイノシトールテトラマンノシド（ＰＩＭ４）（ライ菌（Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｌｅｐｒａｅ）からの）をはじめとするがこれに限定されるものではない、１つ以上の脂質または糖脂質を含んでなってもよい。Ｔヘルパー抗原として有用な追加的脂質および／または糖脂質については、Ｖ．Ｃｅｒｕｎｄｏｌｏら、「Ｈａｒｎｅｓｓｉｎｇ ｉｎｖａｒｉａｎｔ ＮＫＴ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ｖａｃｃｉｎａｔｉｏｎ ｓｔｒａｔｅｇｉｅｓ」Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎ，９：２８～３８（２００９年）を参照されたい。実施形態では、ＣＤ４＋Ｔ細胞抗原は、天然原料などの起源から得られるＣＤ４＋Ｔ細胞抗原の誘導体であってもよい。このような実施形態では、ＭＨＣＩＩに結合するペプチドなどのＣＤ４＋Ｔ細胞抗原配列は、原料から得られる抗原と少なくとも７０％、８０％、９０％、または９５％の同一性を有してもよい。実施形態では、Ｔ細胞抗原、好ましくは、Ｔヘルパー抗原は、合成ナノキャリアと共役していても、または共役していなくてもよい。

【００７０】

「その単位」は、一般に一連の連結されたモノマーで構成されるポリマーのモノマー単位を指す。

【００７１】

「ワクチン」は、特定の病原体または疾患に対する免疫応答を改善する組成物を意味する。ワクチンは、典型的に、対象の免疫系が特異的抗原を外来性として認識し、それを対象の身体から排除するように刺激する因子を含有する。ワクチンはまた、個人が再攻撃された場合に抗原が迅速に認識して反応するように、免疫「記憶」も確立する。ワクチンは予防的（例えばあらゆる病原体による将来の感染症を予防する）、または治療的（例えばがん治療のための腫瘍特異的抗原に対するワクチン）であり得る。本発明に従ったワクチンは、本明細書で提供される合成ナノキャリアまたは組成物の１つ以上を含んでなってもよい。

【００７２】

本発明の化合物、抱合体、または合成ナノキャリアを作成する方法

免疫調節薬および抗原は、合成ナノキャリアからの免疫調節薬および抗原の解離が、本明細書で提供される解離関係式を満たすような、あらゆる様式で合成ナノキャリアと共役

し得る。解離関係式が満たされるかどうかを判断する方法は、上の他の部分および実施例で提示される。

【００７３】

いくつかの実施形態では、免疫調節薬および／または抗原は、それぞれ免疫調節薬共役部分または抗原共役部分を通じて、合成ナノキャリアと（例えば共有結合的に）共役し得る。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、生分解性ポリマーなどのポリマー（例えば低分子量生分解性ポリマー）を含んでなり、免疫調節薬および／または抗原は、それぞれ免疫調節薬共役部分または抗原共役部分を通じて、ポリマーと共役する。免疫調節薬および抗原をポリマーに共役して本発明の合成ナノキャリアを形成する方法は、下ならびに実施例をはじめとして本明細書の他の部分に提供される。

【００７４】

抗原共役部分は、ｐＨ感応性に解離するそれらの傾向を低下させる技術を使用して合成し得る。このような技術としては、抗原共役部分に存在する、環境ｐＨ効果に起因する切断に感応性の化学結合を除去し、またはその数を減少させることが挙げられる。その代わりに感応性の低い結合で置換してもよい。その他の技術としては、酸性または塩基性分解に感応性の立体障害化学結合の使用が挙げられる。

【００７５】

酸／塩基安定性の抗原共役部分を合成する方法としては、アルキンとアジ化物との１，３－双極性環状付加を通じてトリアゾールを形成するクリックケミストリー；六員環複素環を形成するディールス・アルダー付加環化；イオウ－炭素結合を形成するチオール基によるマイケル付加もしくはエポキシド開環；アミンによるエポキシド開環またはアルデヒドまたはケトンによるアミンの還元性アミノ化による窒素－炭素結合；アミンとイソシアネートまたはシアネートの反応による尿素およびカルバメート形成；酸化によるイオウ－イオウ結合；またはアミンによるエポキシド開環が挙げられる。実施形態では、チオール、アミン、アルキンまたはアジ化物などの反応性基または二重結合が、抗原の一部であり得る。実施形態では、このような反応性基は、例えばシステイン（チオール）またはリジン（アミノ基）などのアミノ酸の１つの一部であり得て、あるいはペプチドまたは同様の化学現象を通じて抗原に添加される。

【００７６】

さらに抗原は、免疫調節薬が環境に曝露した後にそれが曝露するように、合成ナノキャリア内に含有されてもよい。例えば合成ナノキャリアは２つ以上の層から構成され得て、免疫調節薬が外層と共役していてもよいのに対して、抗原は内層と共役し得る。別の例として、抗原が合成ナノキャリア中にカプセル化される一方で、免疫調節薬は合成ナノキャリア表面と共役し得る。

【００７７】

対照的に免疫調節薬共役部分は、それらのｐＨ感応性解離傾向を増大させる技術を使用して合成され得る。このような技術としては、抗原共役部分に、環境ｐＨ効果に起因する切断に感応性の化学結合を含め、またはその数を増大させることが挙げられる。このような結合については、下でより詳細に記載する。

【００７８】

提供される以下の方法、または方法のあらゆる工程は例示的であり、あらゆる適切な条件下で実施してもよい。場合によっては、提供される方法の反応またはあらゆる工程は、溶剤または溶剤混合物の存在下で実施してもよい。本発明で使用するのに適するかもしれない溶剤の非限定的例としては、ｐ－クレゾール、トルエン、キシレン、メシチレン、ジエチルエーテル、グリコール、石油エーテル、ヘキサン、シクロヘキサン、ペンタン、ジクロロメタン（または塩化メチレン）、クロロホルム、ジオキサン、テトラヒドロフラン（ＴＨＦ）、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）、ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）、酢酸エチル（ＥｔＯＡｃ）、トリエチルアミン、アセトニトリル、メチル－ｔ－ブチルエーテル（ＭＴＢＥ）、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ）、ジメチルアセトアミド（ＤＭＡＣ）、イソプロパノール（ＩＰＡ）、それらの混合物などが挙げられるがこれに限定される

ものではない。場合によっては、溶剤は、酢酸エチル、塩化メチレン、ＴＨＦ、ＤＭＦ、ＮＭＰ、ＤＭＡＣ、ＤＭＳＯ、およびトルエン、またはその混合物からなる群から選択される。

【００７９】

提供される方法の反応またはあらゆる工程は、あらゆる適切な温度で実施してもよい。場合によっては、提供される方法の反応またはあらゆる工程は、室温前後（例えば約２５℃、約２０℃、約２０℃～約２５℃など）で実施される。しかし場合によっては、提供される方法の反応またはあらゆる工程は、例えば約－２０℃、約－１０℃、約０℃、約１０℃、約３０℃、約４０℃、約５０℃、約６０℃、約７０℃、約８０℃、約９０℃、約１００℃、約１２０℃、約１４０℃、約１５０℃以上などの室温未満、またはそれを超える温度で実施してもよい。特定の実施形態では、提供される方法の反応またはあらゆる工程は０℃～１２０℃の温度で実施される。いくつかの実施形態では、提供される方法の反応またはあらゆる工程は、１つを超える温度で実施してもよい（例えば反応物質が第１の温度で添加され、反応混合物が第２の温度で撹拌され、第１の温度から第２の温度への移行は漸進的または迅速であってもよい）。

【００８０】

提供される方法の反応またはあらゆる工程は、あらゆる適切な期間継続してもよい。場合によっては、提供される方法の反応またはあらゆる工程は、約１０分間、約２０分間、約３０分間、約４０分間、約５０分間、約１時間、約２時間、約４時間、約８時間、約１２時間、約１６時間、約２４時間、約２日間、約３日間、約４日間以上継続される。場合によっては、中間時点で反応混合物のアリコートを取って分析し、提供される方法の反応の進展またはあらゆる段階を判定してもよい。いくつかの実施形態では、提供される方法の反応またはあらゆる工程は、無水条件の不活性雰囲気下で実施してもよい（例えば窒素またはアルゴン雰囲気下、無水溶剤など）。

【００８１】

反応生成物および／または中間体は、一般に知られている既知の技術を使用して単離し（例えば蒸留、カラムクロマトグラフィー、抽出、沈殿などを通じて）、および／または分析してもよい（例えばガス液体クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー、核磁気共鳴分光法など）。場合によっては、例えば逆相ＨＰＬＣを使用して合成ナノキャリアを分析し、免疫調節薬または抗原の装填量を測定してもよい。

【００８２】

ポリマーは、あらゆる適切な分子量を有してもよい。例えばポリマーは、低または高分子量を有してもよい。非限定的分子量値としては、１００ダルトン、２００ダルトン、３００ダルトン、５００ダルトン、７５０ダルトン、１０００ダルトン、２０００ダルトン、３０００ダルトン、４０００ダルトン、５０００ダルトン、６０００ダルトン、７０００ダルトン、８０００ダルトン、９０００ダルトン、１０，０００ダルトン以上が挙げられる。いくつかの実施形態では、ポリマーは、約８００ダルトン～約１０，０００ダルトンの重量平均分子量を有する。別の実施形態では、本明細書で提供されるポリマーのいずれかは約８００ダルトン～１０，０００ダルトン（例えば２，０００ダルトン）の重量平均分子量を有する。ポリマー分子量は、ゲル透過クロマトグラフィーを使用して測定されてもよい。

【００８３】

いくつかの実施形態では、ポリマーはｐＨ＝７．４および２５℃で水不溶性であり、生分解性であり、または双方である。別の実施形態では、ポリマーはｐＨ＝７．４および２５℃で水不溶性であるが、ｐＨ＝４．５および２５℃で可溶性である。なおも別の実施形態では、ポリマーはｐＨ＝７．４および２５℃で水不溶性であるが、ｐＨ＝４．５および２５℃で可溶性であり、生分解性である。

【００８４】

いくつかの実施形態では、ポリマーは、ポリエステル、ポリカーボネート、ポリアミド、またはポリエーテルを含んでなる。別の実施形態では、ポリマーはポリ（エチレングリ

コール）（ＰＥＧ）、ポリ（乳酸）、ポリ（グリコール酸）、ポリ（乳酸－コ－グリコール酸）、またはポリカプロラクトンを含んでなる。いくつかの実施形態では、ポリマーは生分解性であることが好ましい。したがってこれらの実施形態では、ポリマーがポリ（エチレングリコール）またはその単位などのポリエーテルを含んでなる場合、ポリマーが生分解性であるように、ポリマーが、ポリエーテルと生分解性ポリマーのブロックコ－ポリマーを含んでなることが好ましい。別の実施形態では、ポリマーは、ポリ（エチレングリコール）などのポリエーテルだけを含むことはない。したがって本明細書で提供される共役部分は、前述のポリマーまたはその単位（例えばラクチドまたはグリコリド）の１つを含んでなり得る。

【００８５】

制限を意図しない例示的な反応を下に提供する。免疫調節薬はこれらの例示的な反応の１つに従って、免疫調節薬共役部分に共役する。

【００８６】

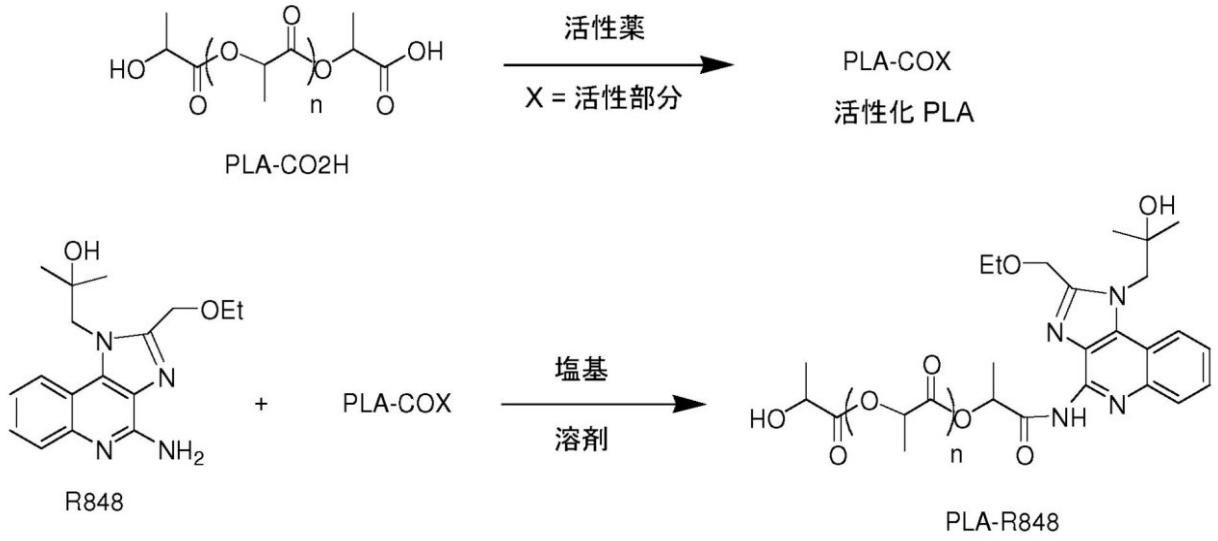
方法１

一般にアミド合成で使用される活性化試薬を使用して、少なくとも１つの酸末端基があるポリマー（例えばＰＬＡ、ＰＬＧＡ）またはその単位をアシルハロゲン化物、アシルイミダゾール、活性エステルなどの反応性アシル化剤に転換する。

【００８７】

この二段法では、例えば以下のスキームに示すように、得られる活性化ポリマーまたはその単位（例えばＰＬＡ、ＰＬＧＡ）を単離して、次に塩基存在下で免疫調節薬（例えばＲ８４８）と反応させて、所望の抱合体（例えばＰＬＡ－Ｒ８４８）を得る。

【化１】



【００８８】

ＰＬＡまたはＰＬＧＡなどのポリマーあるいはその単位を活性化アシル化形態に転換するのに使用し得る活性化試薬としては、シアヌル酸フッ化物、Ｎ，Ｎ－テトラメチルフルオロホルムアミジニウムヘキサフルオロホスファート（ＴＦＦＨ）；カルボニルジイミダゾール（ＣＤＩ）、Ｎ，Ｎ’－カルボニルビス（３－メチルイミダゾリウム）トリフレート（ＣＢＭＩＴ）などのアシルイミダゾール；およびＮ，Ｎ’－ジシクロヘキシルカルボジイミド（ＤＣＣ）、Ｎ－エチル－Ｎ’－（３－（ジメチルアミノ）プロピル）カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）またはＮ、Ｎ’－ジイソプロピルカルボジイミド（ＤＩＣ）などのカルボジイミドの存在下のＮ－ヒドロキシルスクシンイミド（ＮＨＳまたはＨＯＳｕ）などの活性エステル；炭酸Ｎ，Ｎ’－ジスクシンイミジル（ＤＳＣ）；ＤＣＣもしくはＥＤＣまたはＤＩＣの存在下のペンタフルオロフェノール；トリフルオロ酢酸ペンタフルオロフェニルが挙げられるがこれに限定されるものではない。

【００８９】

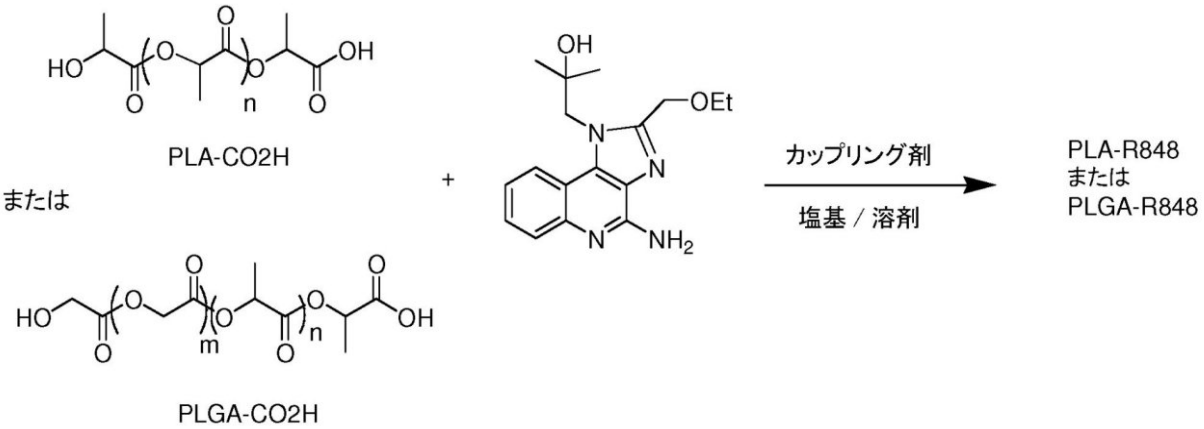
活性化ポリマーまたはその単位は、活性化に続いて、（例えば沈殿、抽出などを通じて）単離し、および／または適切な条件下で（例えば低温で、アルゴン下で）保存してもよく、あるいは即座に使用してもよい。活性化ポリマーまたはその単位は、あらゆる適切な条件下で免疫調節薬と反応させてもよい。場合によっては、反応は、塩基および／または触媒存在下で実施される。塩基／触媒の非限定的例としては、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ）および４－ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）が挙げられる。

【００９０】

方法２

酸末端基があるポリマーまたはその単位（例えばあらゆる適切な分子量を有するＰＬＡ、ＰＬＧＡ）は、活性化または共役試薬の存在下で免疫調節薬（例えばＲ８４８）と反応し、それはポリマーまたはその単位（例えばＰＬＡ、ＰＬＧＡ）を原位置で反応性アシル化剤に転換して、所望の抱合体（例えばＰＬＡ－Ｒ８４８、ＰＬＧＡ－Ｒ８４８）を与える。

【化２】



【００９１】

共役または活性化剤としては、以下が挙げられるがこれに限定されるものではない。ＥＤＣまたはＤＣＣまたはＤＩＣなどのカルボジイミドの存在下で使用される、１－ヒドロキシベンゾトリアゾール（ＨＯＢｔ）、１－ヒドロキシ－７－アザベンゾトリアゾール（ＨＯＡｔ）、３，４－ジヒドロ－３－ヒドロキシ－４－オキソ－１，２，３－ベンゾトリアジン（ＨＯ－Ｄｈｂｔ）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳもしくはＨＯＳｕ）、ペンタフルオロフェノール（ＰＦＰ）などの活性化剤；カルボジイミドのない活性化剤：Ｏ－ベンゾトリアゾール－１－イルオキシトリス（ジメチルアミノ）ホスホニウムヘキサフルオロホスファート（ＢＯＰ）、Ｏ－ベンゾトリアゾール－１－イルオキシトリス（ピロリジノ）ホスホニウムヘキサフルオロホスファート（ＰｙＢＯＰ）、７－アザベンゾトリアゾール－１－イルオキシトリス（ピロリジノ）ホスホニウムヘキサフルオロホスファート（ＰｙＡＯＰ）などのホスホニウム塩；Ｏ－ベンゾトリアゾール－１－イルオキシトリス－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルオロボラート（ＴＢＴＵ）およびヘキサフルオロホスファート（ＨＢＴＵ）、Ｏ－（７－アザベンゾトリアゾール－１－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート（ＨＡＴＵ）、Ｏ－（１，２－ジヒドロ－２－オキソ－１－ピリジル）－１，１，３，３－テトラメチル－ウロニウムテトラフルオロボラート（ＴＰＴＵ）などのウロニウム塩；ビス（テトラメチレン）フルオロホルムアミジニウムヘキサフルオロホスファート（ＢＴＦＦＨ）、ブロモトリス（ジメチルアミノ）ホスホニウムヘキサフルオロホスファート（ＢｒｏＰ）、ブロモトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスファート（ＰｙＢｒｏＰ）およびクロロトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスファート（ＰｙＣｌｏｐ）などのハロウロニウムおよびハロホスホニウム塩；Ｏ－（３，４－ジヒドロ－４－オキソ－１，２，３－ベンゾトリアジン－３－イル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウムテトラフルオロホウ酸（ＴＤＢＴＵ）および３－（ジエチルオキシホスホリルオ

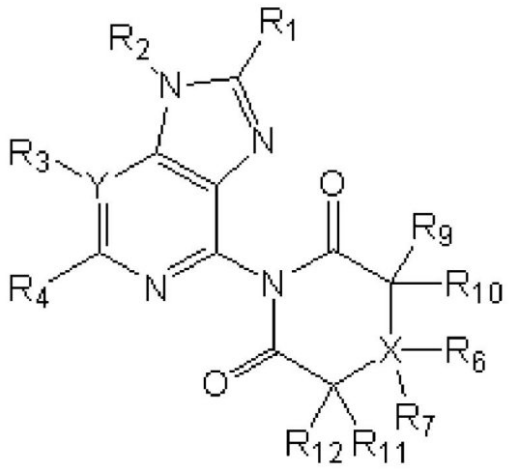
キシ）－１，２，３－ベンゾトリアジン－４（３Ｈ）－オン（ＤＥＰＢＴ）などのベンゾトリアジン誘導体。適切な溶剤の非限定的例としては、本明細書に記載されるようなＤＭＦ、ＤＣＭ、トルエン、酢酸エチルなどが挙げられる。

【００９２】

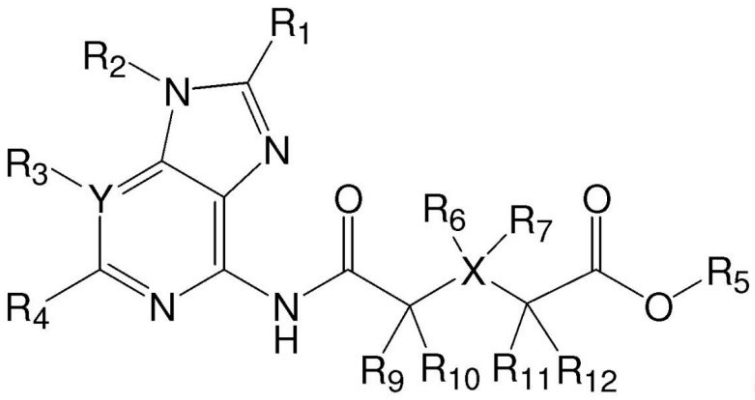
方法３

Ｒ８４８などの免疫調節薬もまた、水酸基で終結するポリマーまたはその単位と共役し得る。このようなポリマーまたはその単位としては、ポリエチレングリコール、ポリラクチド、ポリラクチド－コ－グリコリド、ポリカプロラクトン、およびポリエステルなど、またはその単位が挙げられる。一般に、反応は次のように進展し、そこではラクトン開環重合で使用される触媒を使用して、一般構造（ＩＶ）のイミドを前述のポリマーまたはその単位の末端ヒドロキシルと反応させる。得られる反応生成物（ＩＩ）は、ポリマーまたはその単位エステル結合を通じて薬剤のアミドを結合する。式（ＩＶ）および（ＩＩ）の化合物は、次のようである。

【化３】



(IV)



(II)

式中、

R_1＝Ｈ、ＯＨ、ＳＨ、NH_2、または置換もしくは非置換アルキル、アルコキシ、アルキルチオ、またはアルキルアミノであり；R_2＝Ｈ、アルキル、または置換アルキルであり；Ｙ＝ＮまたはＣであり；Ｙ＝ＮであればR_3は不在であり；またはＹ＝Ｃであれば、Ｈ、アルキル、置換アルキルであるか、またはR_4と組み合わさってそれらが結合するピリジン環の炭素原子と共に炭素環または複素環を形成し；R_4はR_3と組み合わさってそれらが結合するピリジン環の炭素原子と共に炭素環または複素環を形成しなければ、Ｈ、または置換もしくは非置換アルキル、アルコキシ、アルキルチオ、またはアルキルアミノであり；あるいはR_3と組み合わさってそれらが結合するピリジン環の炭素原子と共に炭素環または複素環を形成し；R_5はポリマーまたはその単位であり；ＸはＣ、Ｎ、Ｏ、またはＳであり；R_6およびR_7はそれぞれ独立してＨであるか、または置換されており；Ｒ

$_9$、R_{10}、R_{11}、およびR_{12}はそれぞれ独立してH、ハロゲン、OH、チオ、NH_2、または置換もしくは非置換アルキル、アリール、複素環、アルコキシ、アリールオキシ、アルキルチオ、アリールチオ、アルキルアミノ、またはアリールアミノである。

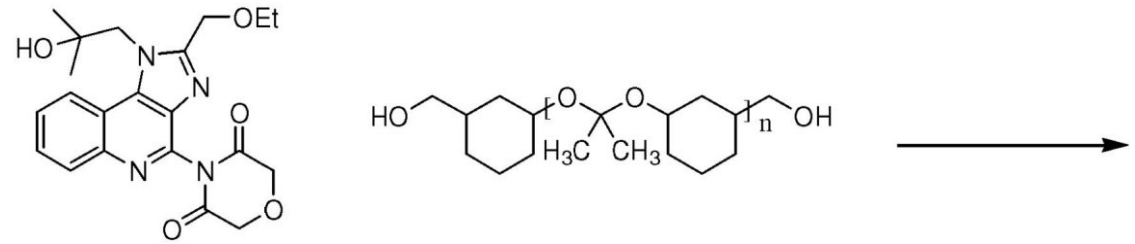
【００９３】

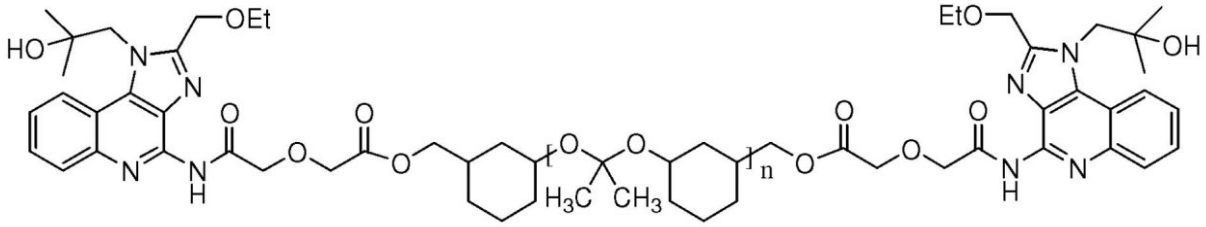
触媒としては、ホスファゼン塩基、１，８－ジアザビシクロウンデカ－７－エン（ＤＢＵ）、１，４，７－トリアザビシクロデセン（ＴＢＤ）、およびＮ－メチル－１，４，７－トリアザビシクロデセン（ＭＴＤＢ）が挙げられるがこれに限定されるものではない。その他の触媒が当該技術分野で知られており、例えばＫａｍｂｅｒら、Ｏｒｇａｎｏｃａｔａｌｙｔｉｃ Ｒｉｎｇ－Ｏｐｅｎｉｎｇ Ｐｏｌｙｍｅｒｉｚａｔｉｏｎ，Ｃｈｅｍ．Ｒｅｖ．２００７年，１０７，５８－１３－５８４０で提供される。適切な溶剤の非限定的例としては、塩化メチレン、クロロホルム、およびＴＨＦが挙げられる。

【００９４】

このような方法によって完了した反応の具体例をここに示す。

【化４】





式中、

R_5－ＯＨは、２つの水酸基（例えばジオール、ＨＯ－R_5－ＯＨ）を含有し、そのそれぞれはＲ８４８に付随するイミドとの反応によって官能化されている。場合によっては、ＨＯ－R_5－ＯＨは、ポリ（炭酸ヘキサメチル）ジオールまたはポリカプロラクトンジオールなどのポリジオールである。

【００９５】

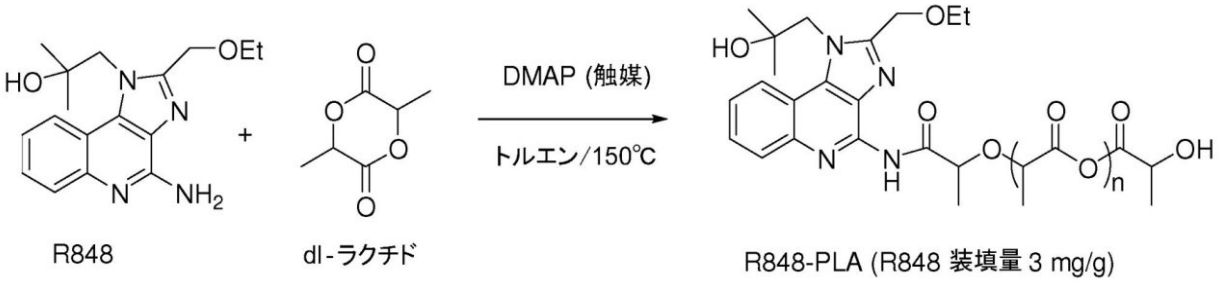
ポリジオールが用いられる実施形態では、ジオール基の１つが保護基（例えばｔ－ブチルオキシカルボニル）で保護されてもよく、したがってポリジオールは式ＨＯ－R_5－ＯＰ（式中、Ｐは保護基である）の化合物である。免疫調節薬－R_5－ＯＰ抱合体を形成する免疫調節薬との反応に続いて、保護基を除去してもよく、第２のジオール基をあらゆる適切な試薬（例えばＰＬＧＡ、ＰＬＡ）と反応させてもよい。

【００９６】

方法４

抱合体（例えばＲ８４８－ＰＬＡ）は、例えば以下のスキームに示すように、触媒存在下で、免疫調節薬（例えばＲ８４８）とポリマーまたはその単位（例えばＤ／Ｌ－ラクチド）とのワンポット開環重合を通じて形成され得る。

【化５】



【００９７】

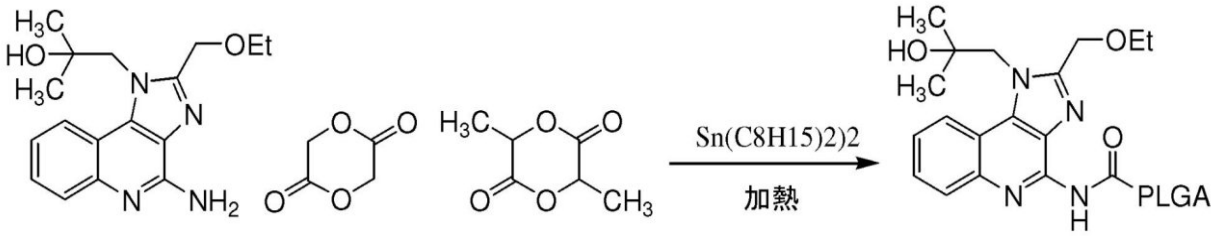
一段階法では、免疫調節薬およびポリマーまたはその単位を、触媒を含んでなる単一反応混合物に合わせてもよい。反応は適切な温度（例えば約１５０℃）で進展させてもよく、得られる抱合体を一般に知られている技術を使用して単離してもよい。適切な触媒の非限定的例としては、ＤＭＡＰおよびエチルヘキサン酸スズが挙げられる。

【００９８】

方法５

抱合体は、例えば以下のスキームに示すように、触媒存在下で、免疫調節薬（例えばＲ８４８）と１つ以上のポリマーまたはその単位（例えばＤ／Ｌ－ラクチドおよびグリコリド）との二段階開環重合によって形成し得る。

【化６】



【００９９】

ポリマーまたはその単位は、最初に合わせてもよく、場合によっては（例えば１３５℃まで）加熱して、溶液を形成する。ポリマーまたはその単位を含んでなる溶液に免疫調節薬を添加してもよく、触媒（例えばエチルヘキサン酸スズ）の添加がそれに続く。得られる抱合体を一般に知られている技術を使用して単離してもよい。適切な触媒の非限定的例としては、ＤＭＡＰおよびエチルヘキサン酸スズが挙げられる。

【０１００】

免疫調節薬（または抗原）はまた、ナノキャリア中にカプセル化し得る。したがってナノキャリアは、得られる本発明の合成ナノキャリアが、本明細書で提供される解離関係式を満たすという条件で、ｐＨ感応性のあらゆる材料であり得る。このような合成ナノキャリアについては当該技術分野で良く知られており、Ｇｒｉｓｅｔら、Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．２００９年，１３１，２４６９～２４７１に記載されるような、それらの初期状態においては疎水性であるが細胞内移行時に親水性構造（ヒドロゲル粒子）に転換する、ポリケタールナノキャリア、ｐＨ感応性リポソーム、酸膨潤架橋ナノ粒子と、Ｇｒｉｓｅｔによる「Ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｏｆ Ｐａｃｌｉｔａｘｅｌ ｖｉａ ｐＨ－Ｒｅｓｐｏｎｓｉｖｅ Ｐｏｌｙｍｅｒｉｃ Ｎａｎｏｐａｒｔｉｃｌｅｓ ｆｏｒ Ｐｒｅｖｅｎｔｉｏｎ ｏｆ Ｌｕｎｇ Ｃａｎｃｅｒ ａｎｄ Ｍｅｓｏｔｈｅｌｉｏｍａ Ｒｅｃｕｒｒｅｎｃｅ」と題された学位論文、Ｏｈｉｏ Ｓｔａｔｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ，２００３年に記載されるようなポリマーナノ粒子とが挙げられる。ｐＨ感応性合成ナノキャリアとしてはまた、ｐＨ６未満で溶解するポリマーまたは酸性ｐＨで膨潤するポリマーを含んでなるものが挙げられる。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは非ポリケタール材料である。別の実施形態では、合成ナノキャリアはミセルでない。

【０１０１】

いくつかの実施形態では、免疫調節薬、抗原、および／または標的部分は、ポリマーマトリックスと共有結合している。いくつかの実施形態では、共有結合はリンカーによって仲介される。いくつかの実施形態では、免疫調節薬、抗原、および／または標的部分は、ポリマーマトリックスと非共有結合している。例えばいくつかの実施形態では、免疫調節薬、抗原、および／または標的部分が、ポリマーマトリックス中にカプセル化され、それによって取り囲まれ、および／またはそれ全体に分散され得る。代案としては、またはそれに加えて、免疫調節薬、抗原、および／または標的部分は、疎水性相互作用、電荷相互作用、ファンデルワールス力などによって、ポリマーマトリックスと共有結合し得る。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、１つ以上のポリマーマトリックスを含んでなる。いくつかの実施形態では、このようなポリマーマトリックスは、被覆層（例えばリポソーム、脂質単層、ミセルなど）で取り囲まれ得る。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアの様々な要素が、ポリマーマトリックスと共役し得る。

【０１０２】

いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは１つ以上の脂質を任意に含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアはリポソームを含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは脂質二重層を含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは脂質単層を含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアはミセルを含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、脂質層（例えば脂質二重層、脂質単層など）で取り囲まれるポリマーマトリックスを含んでなるコアを含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、脂質層（例えば脂質二重層、脂質単層など）で取り囲まれる非高分子コア（例えば金属粒子、量子ドット、セラミック粒子、骨の粒子、ウィルス粒子、タンパク質、核酸、炭水化物など）を含んでなってもよい。

【０１０３】

それからポリマーマトリックスを形成するための多種多様なポリマーおよび方法が、従来知られている。一般に、ポリマーマトリックスは１つ以上のポリマーを含んでなる。ポリマーは、天然または非天然（合成）ポリマーであってもよい。ポリマーは、２つ以上のモノマーを含んでなるホモポリマーまたは共重合体であってもよい。配列の観点から、共重合体は、ランダム、ブロックであっても、またはランダムおよびブロック配列の組み合わせを含んでなってもよい。典型的に、本発明に従ったポリマーは有機ポリマーである。

【０１０４】

本発明で使用するのに適したポリマーの例としては、ポリエチレン、ポリカーボネート（例えばポリ（１，３－ジオキサン－２－オン））、ポリ酸無水物（例えばポリ（セバシン酸無水物））、ポリヒドロキシ酸（例えばポリ（β－ヒドロキシアルカノアート））、ポリプロピルフマラート、ポリカプロラクトン、ポリアミド（例えばポリカプロラクタム）、ポリアセタール、ポリエーテル、ポリエステル（例えばポリラクチド、ポリグリコリド）、ポリ（オルトエステル）、ポリシアノアクリレート、ポリビニルアルコール、ポリウレタン、ポリホスファゼン、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリ尿素、ポリスチレン、ポリアミン、および多糖類（例えばキトサン）が挙げられるがこれに限定されるものではない。

【０１０５】

いくつかの実施形態では、本発明に従ったポリマーとしては、ポリエステル（例えばポリ乳酸、ポリ（乳酸－コ－グリコール酸）、ポリカプロラクトン、ポリバレロラクトン、ポリ（１，３－ジオキサン－２－オン））；ポリ酸無水物（例えばポリ（セバシン酸無水物））；ポリエーテル（例えばポリエチレングリコール）；ポリウレタン；ポリメタクリレート；ポリアクリレート；およびポリシアノアクリレートをはじめとするがこれに限定されるものではない、米国食品医薬品局（ＦＤＡ）による２１Ｃ．Ｆ．Ｒ．§１７７．２６００に従った、ヒトにおける使用について認可されたポリマーが挙げられる。

【０１０６】

いくつかの実施形態では、ポリマーは親水性であり得る。例えばポリマーは、アニオン

性基（例えばリン酸基、硫酸基、カルボキシレート基）；カチオン性基（例えば四級アミン基）；または極性基（例えば水酸基、チオール基、アミン基）を含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、合成ナノキャリア内に親水性環境を作り出す親水性ポリマーマトリックスを含んでなる。いくつかの実施形態では、ポリマーは疎水性であり得る。いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、合成ナノキャリア内に疎水性環境を発生させる疎水性ポリマーマトリックスを含んでなる。ポリマーの親水性か、疎水性かの選択は、合成ナノキャリアに組み込まれる（例えば共役）材料の性質に影響を与えるかもしれない。

【０１０７】

いくつかの実施形態では、ポリマーは１つ以上の部分および／または官能基によって修飾されてもよい。本発明に従って、多様な部分または官能基を使用し得る。いくつかの実施形態では、ポリマーは、ＰＥＧによって、炭水化物によって、および／または多糖類から誘導される非環式ポリアセタール（Ｐａｐｉｓｏｖ，２００１年，ＡＣＳシンポジウムシリーズ，７８６：３０１）によって修飾されてもよい。

【０１０８】

いくつかの実施形態では、ポリマーは、脂質または脂肪酸基によって修飾されてもよい。いくつかの実施形態では、脂肪酸基は、酪酸、カプロン酸、カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、ベヘン酸、またはリグノセリン酸の１つ以上であってもよい。いくつかの実施形態では、脂肪酸基は、パルミトレイン酸、オレイン酸、バクセン酸、リノール酸、α－リノール酸、γ－リノール酸、アラキドン酸、ガドレイン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、またはエルカ酸の１つ以上であってもよい。

【０１０９】

いくつかの実施形態では、ポリマーは、本明細書で集合的に「ＰＬＧＡ」と称されるポリ（乳酸－コ－グリコール酸）およびポリ（ラクチド－コ－グリコリド）などの乳酸およびグリコール酸単位を含んでなる共重合体；および本明細書で「ＰＧＡ」と称されるグリコール酸単位、および本明細書で集合的に「ＰＬＡ」と称されるポリ－Ｌ－乳酸、ポリ－Ｄ－乳酸、ポリ－Ｄ，Ｌ－乳酸、ポリ－Ｌ－ラクチド、ポリ－Ｄ－ラクチド、およびポリ－Ｄ，Ｌ－ラクチドなどの乳酸単位を含んでなるホモポリマーをはじめとする、ポリエステルであってもよい。いくつかの実施形態では、例示的なポリエステルとしては、例えばポリヒドロキシ酸；ＰＥＧ共重合体およびラクチドとグリコリドの共重合体（例えばＰＬＡ－ＰＥＧ共重合体、ＰＧＡ－ＰＥＧ共重合体、ＰＬＧＡ－ＰＥＧ共重合体、およびその誘導体が挙げられる。いくつかの実施形態では、ポリエステルとしては、例えばポリ酸無水物、ポリ（オルトエステル）、ポリ（オルトエステル）－ＰＥＧ共重合体、ポリ（カプロラクトン）、ポリ（カプロラクトン）－ＰＥＧ共重合体、ポリリジン、ポリリジン－ＰＥＧ共重合体、ポリ（エチレンイミン）、ポリ（エチレンイミン）－ＰＥＧ共重合体、ポリ（Ｌ－ラクチド－コ－Ｌ－リジン）、ポリ（セリンエステル）、ポリ（４－ヒドロキシ－Ｌ－プロリンエステル）、ポリ［α－（４－アミノブチル）－Ｌ－グリコール酸］、およびその誘導体が挙げられる。

【０１１０】

いくつかの実施形態では、ポリマーはＰＬＧＡであってもよい。ＰＬＧＡは、乳酸とグリコール酸の生体適合性かつ生分解性コポリマーであり、様々な形態のＰＬＧＡが、乳酸：グリコール酸の比率によって特徴付けられている。乳酸は、Ｌ－乳酸、Ｄ－乳酸、またはＤ，Ｌ－乳酸であり得る。ＰＬＧＡの分解速度は、乳酸：グリコール酸比率を変えることで調節し得る。いくつかの実施形態では、本発明に従って使用されるＰＬＧＡは、およそ８５：１５、およそ７５：２５、およそ６０：４０、およそ５０：５０、およそ４０：６０、およそ２５：７５、またはおよそ１５：８５の乳酸：グリコール酸比によって特徴付けられる。

【０１１１】

いくつかの実施形態では、ポリマーは、１つ以上のアクリルポリマーであってもよい。

特定の実施形態では、アクリルポリマーとしては、例えばアクリル酸およびメタクリル酸共重合体、メタクリル酸メチル共重合体、メタクリル酸エトキシエチル、メタクリル酸シアノエチル、メタクリル酸アミノアルキル共重合体、ポリ（アクリル酸）、ポリ（メタクリル酸）、メタクリル酸アルキルアミド共重合体、ポリ（メタクリル酸メチル）、ポリ（メタクリル酸無水物）、メタクリル酸メチル、ポリメタクリレート、ポリ（メタクリル酸メチル）共重合体、ポリアクリルアミド、メタクリル酸アミノアルキル共重合体、メタクリル酸グリシジル共重合体、ポリシアノアクリル酸、および前述のポリマーの１つ以上を含んでなる組み合わせが挙げられる。アクリルポリマーは、アクリル酸エステルとメタクリル酸エステルが完全に重合されて、四級アンモニウム基の含有量が低い共重合体を含んでなってもよい。

【０１１２】

いくつかの実施形態では、ポリマーはカチオン性ポリマーであり得る。一般に、カチオン性ポリマーは、負に帯電した核酸鎖（例えばＤＮＡ、ＲＮＡ、またはその誘導体）を濃縮および／または保護できる。ポリ（リジン）などのアミン含有ポリマー（Ｚａｕｎｅｒら、１９９８年、Ａｄｖ．Ｄｒｕｇ　Ｄｅｌ．Ｒｅｖ．，３０：９７；およびＫａｂａｎｏｖら、１９９５年，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．，６：７）、ポリ（エチレンイミン）（ＰＥＩ；Ｂｏｕｓｓｉｆら、１９９５年，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，ＵＳＡ，１９９５年，２：７２９７）、およびポリ（アミドアミン）デンドリマー（Ｋｕｋｏｗｓｋａ－Ｌａｔａｌｌｏら、１９９６年，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，ＵＳＡ、９３：４８９７；Ｔａｎｇら、１９９６年，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．、７：７０３；およびＨａｅｎｓｌｅｒら、１９９３年，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．，４：３７２）は、生理学的ｐＨで正に荷電して核酸とイオン対を形成し、多様な細胞系中で形質移入を仲介する。

【０１１３】

いくつかの実施形態では、ポリマーは、カチオン性側鎖がある分解性ポリエステルであり得る（Ｐｕｔｎａｍら、１９９９年，Ｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，３２：３６５８；Ｂａｒｒｅｒａら、１９９３年，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１１５：１１０１０；Ｋｗｏｎら、１９８９年，Ｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，２２：３２５０；Ｌｉｍら、１９９９年，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１２１：５６３３；およびＺｈｏｕら、１９９０年，Ｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，２３：３３９９）。これらのポリエステルの例としては、ポリ（Ｌ－ラクチド－コ－Ｌ－リジン）（Ｂａｒｒｅｒａら、１９９３年，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１１５：１１０１０）、ポリ（セリンエステル）（Ｚｈｏｕら、１９９０年，Ｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，２３：３３９９）、ポリ（４－ヒドロキシ－Ｌ－プロリンエステル）（Ｐｕｔｎａｍら、１９９９年，Ｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，３２：３６５８；およびＬｉｍら、１９９９年，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１２１：５６３３）、およびポリ（４－ヒドロキシ－Ｌ－プロリンエステル）（Ｐｕｔｎａｍら、１９９９年，Ｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，３２：３６５８；およびＬｉｍら、１９９９年，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１２１：５６３３）が挙げられる。

【０１１４】

これらおよびその他のポリマーの特性、およびそれらを調製するための方法については、当該技術分野で良く知られている（例えば米国特許第６，１２３，７２７号明細書；米国特許第５，８０４，１７８号明細書；米国特許第５，７７０，４１７号明細書；米国特許第５，７３６，３７２号明細書；米国特許第５，７１６，４０４号明細書；米国特許第６，０９５，１４８号明細書；米国特許第５，８３７，７５２号明細書；米国特許第５，９０２，５９９号明細書；米国特許第５，６９６，１７５号明細書；米国特許第５，５１４，３７８号明細書；米国特許第５，５１２，６００号明細書；米国特許第５，３９９，６６５号明細書；米国特許第５，０１９，３７９号明細書；米国特許第５，０１０，１６７号明細書；米国特許第４，８０６，６２１号明細書；米国特許第４，６３８，０４５号明細書；および米国特許第４，９４６，９２９号明細書；Ｗａｎｇら、２００１年，Ｊ．

Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１２３：９４８０；Ｌｉｍら、２００１年，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１２３：２４６０；Ｌａｎｇｅｒ，２０００年，Ａｃｃ．Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓ．，３３：９４；Ｌａｎｇｅｒ，１９９９年，Ｊ．Ｃｏｎｔｒｏｌ．Ｒｅｌｅａｓｅ，６２：７；およびＵｈｒｉｃｈら、１９９９年，Ｃｈｅｍ．Ｒｅｖ．，９９：３１８１を参照されたい）。より一般に、特定の適切なポリマーを合成する多様な方法が、「Ｃｏｎｃｉｓｅ Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ ｏｆ Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｏｌｙｍｅｒｉｃ Ａｍｉｎｅｓ ａｎｄ Ａｍｍｏｎｉｕｍ Ｓａｌｔｓ」Ｇｏｅｔｈａｌｓ編，Ｐｅｒｇａｍｏｎ Ｐｒｅｓｓ，１９８０年；「Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ Ｐｏｌｙｍｅｒｉｚａｔｉｏｎ」Ｏｄｉａｎ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，第４版，２００４年；「Ｃｏｎｔｅｍｐｏｒａｒｙ Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ」Ａｌｌｃｏｃｋら、Ｐｒｅｎｔｉｃｅ－Ｈａｌｌ，１９８１年；Ｄｅｍｉｎｇら、１９９７年，Ｎａｔｕｒｅ，３９０：３８６；および米国特許第６，５０６，５７７号明細書、米国特許第６，６３２，９２２号明細書、米国特許第６，６８６，４４６号明細書、および米国特許第６，８１８，７３２号明細書に記載される。

【０１１５】

いくつかの実施形態では、ポリマーは直鎖状または分枝状ポリマーであり得る。いくつかの実施形態では、ポリマーはデンドリマーであり得る。いくつかの実施形態では、ポリマーは実質的に互いに架橋し得る。いくつかの実施形態では、ポリマーは、実質的に架橋フリーであり得る。いくつかの実施形態では、ポリマーは架橋工程を施すことなく、本発明に従って使用し得る。本発明の化合物および合成ナノキャリアは、前述およびその他のポリマーのいずれかのブロック共重合体、グラフト共重合体、配合物、混合物、および／または付加物を含んでなってもよいことをさらに理解すべきである。当業者は、本明細書に列挙されるポリマーが、例示的であって包括的でない、本発明に従って有用であり得るポリマーの一覧を示すことを認識するであろう。

【０１１６】

いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、金属粒子、量子ドット、セラミック粒子などを含んでなってもよい。

【０１１７】

いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、１つ以上の両親媒性実体を任意に含んでなってもよい。いくつかの実施形態では、両親媒性実体は、安定性増大、均一性改善、または粘度増大によって、合成ナノキャリアの生成を促進し得る。いくつかの実施形態では、両親媒性実体は、（例えば脂質二重層、脂質単層などの）脂質膜内面と結合し得る。当該技術分野で知られている多数の両親媒性実体が、本発明に従った合成ナノキャリア作成で使用するのに適する。このような両親媒性実体としては、ホスホグリセリド；ホスファチジルコリン；ジパルミトイルホスファチジルコリン（ＤＰＰＣ）；ジオレイルホスファチジルエタノールアミン（ＤＯＰＥ）；ジオレイルオキシプロピルトリエチルアンモニウム（ＤＯＴＭＡ）；ジオレオイルホスファチジルコリン；コレステロール；コレステロールエステル；ジアシルグリセロール；ジアシルグリセロールスクシネート；ジホスファチジルグリセロール（ＤＰＰＧ）；ヘキサンデカノール；ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの脂肪アルコール；ポリオキシエチレン－９－ラウリルエーテル；パルミチン酸またはオレイン酸などの表面活性脂肪酸；脂肪酸；脂肪酸モノグリセリド；脂肪酸ジグリセリド；脂肪酸アミド；ソルビタントリオレアート（Ｓｐａｎ（登録商標）８５）；グリココレート；ソルビタンモノラウレート（Ｓｐａｎ（登録商標）２０）；ポリソルベート２０（Ｔｗｅｅｎ（登録商標）２０）；ポリソルベート６０（Ｔｗｅｅｎ（登録商標）６０）；ポリソルベート６５（Ｔｗｅｅｎ（登録商標）６５）；ポリソルベート８０（Ｔｗｅｅｎ（登録商標）８０）；ポリソルベート８５（Ｔｗｅｅｎ（登録商標）８５）；ポリオキシエチレンモノステアレート；スルファクチン；ポロキサマー；ソルビタントリオレアートなどのソルビタン脂肪酸エステル；レシチン；リゾレシチン；ホスファチジルセリン；ホスファチジルイノシトール；スフィンゴミエリン；ホスファチジルエタノールアミン（ケファリン）；カルジオリピン；ホスファチジン酸；セレブロシド；ジセチルホスフ

ェート；ジパルミトイルホスファチジルグリセロール；ステアリルアミン；ドデシルアミン；ヘキサデシル－アミン；アセチルパルミテート；グリセロールリシノレエート；ヘキサデシルステアレート；ミリスチン酸イソプロピル；チロキサポール；ポリ（エチレングリコール）５０００－ホスファチジルエタノールアミン；ポリ（エチレングリコール）４００－モノステアレート；リン脂質；高界面活性を有する合成および／または天然の洗剤；デオキシコレート；シクロデキストリン；カオトロピック塩；イオン対形成剤；およびそれらの組み合わせが挙げられるがこれに限定されるものではない。両親媒性実体構成要素は、異なる両親媒性実体の混合物であってもよい。当業者は、これが例示的であって包括的でない、界面活性のある物質の一覧であることを認識するであろう。本発明に従って使用される合成ナノキャリアを生成するために、あらゆる両親媒性実体を使用してもよい。

【０１１８】

いくつかの実施形態では、合成ナノキャリアは、任意に１つ以上の炭水化物を含んでなってもよい。炭水化物は、天然であっても合成であってもよい。炭水化物は、誘導体化された天然炭水化物であってもよい。特定の実施形態では、炭水化物は、グルコース、果糖、ガラクトース、リボース、乳糖、スクロース、マルトース、トレハロース、セロビオース、マンノース、キシロース、アラビノース、グルクロン酸、ガラクツロン酸、マンヌロン酸、グルコサミン、ガラクトサミン、およびノイラミン酸をはじめとするがこれに限定されるものではない、単糖類または二糖類を含んでなる。特定の実施形態では、炭水化物は、プルラン、セルロース、微結晶セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）、ヒドロキシセルロース（ＨＣ）、メチルセルロース（ＭＣ）、デキストラン、シクロデキストラン、グリコーゲン、デンプン、ヒドロキシエチルデンプン、カラゲナン、グリコン、アミロース、キトサン、Ｎ，Ｏ－カルボキシルメチルキトサン、アルギンおよびアルギン酸、デンプン、キチン、ヘパリン、コンニャク、グルコマンナン、プスツラン、ヘパリン、ヒアルロン酸、カードラン、およびキサンタンをはじめとするがこれに限定されるものではない多糖類である。特定の実施形態では、炭水化物は、マンニトール、ソルビトール、キシリトール、エリトリトール、マルチトール、およびラクチトールをはじめとするがこれに限定されるものではない、糖アルコールである。

【０１１９】

合成ナノキャリアは、当該技術分野で知られている多種多様な方法を使用して調製してもよい。例えば合成ナノキャリアは、ナノ沈殿、流体チャネルを使用したフロー収束、噴霧乾燥、単一および二重エマルジョン溶剤蒸発、溶剤抽出、相分離、製粉、微小エマルジョン処置、マイクロ加工、ナノ加工、犠牲層、単純および複合コアセルベーション、および当業者に良く知られているその他の方法などの方法によって形成し得る。代案としては、またはそれに加えて、単分散半導体、導電性、磁性、有機、およびその他のナノ材料の水性および有機溶媒合成について記載されている（Ｐｅｌｌｅｇｒｉｎｏら、２００５年，Ｓｍａｌｌ，１：４８；Ｍｕｒｒａｙら、２０００年，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｍａｔ．Ｓｃｉ．，３０：５４５；およびＴｒｉｎｄａｄｅら、２００１年，Ｃｈｅｍ．Ｍａｔ．，１３：３８４３）。追加的方法が文献に記載されている（Ｄｏｕｂｒｏｗ編，「Ｍｉｃｒｏｃａｐｓｕｌｅｓ ａｎｄ Ｎａｎｏｐａｒｔｉｃｌｅｓ ｉｎ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ａｎｄ Ｐｈａｒｍａｃｙ」ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，１９９２年；Ｍａｔｈｉｏｗｉｔｚら、１９８７年，Ｊ．Ｃｏｎｔｒｏｌ．Ｒｅｌｅａｓｅ，５：１３；Ｍａｔｈｉｏｗｉｔｚら、１９８７年，Ｒｅａｃｔｉｖｅ Ｐｏｌｙｍｅｒｓ，６：２７５；およびＭａｔｈｉｏｗｉｔｚら、１９８８年，Ｊ．Ａｐｐｌ．Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｓｃｉ．，３５：７５５、そしてまた米国特許第５５７８３２５号明細書および米国特許第６００７８４５号明細書を参照されたい）。

【０１２０】

特定の実施形態では、ナノ沈殿処理または噴霧乾燥によって合成ナノキャリアが調製される。合成ナノキャリアの調製で使用される条件は、所望のサイズまたは特性（例えば疎水性、親水性、外的形態、「粘性」、形状など）の粒子を生じるように変更されてもよい

。合成ナノキャリアを調製する方法および使用される条件（例えば溶剤、温度、濃度、気流速度など）は、合成ナノキャリアと共役される材料および／またはポリマーマトリックス組成に左右されるかもしれない。

【０１２１】

上記の方法のいずれかによって調製される粒子が、所望範囲外のサイズ範囲を有する場合、例えばふるいを使用して粒子を分粒し得る。

【０１２２】

共役は多様な異なるやり方で達成し得て、共有結合または非共有結合であり得る。このような共役は、本発明の合成ナノキャリアの表面または内部に配置されてもよい。本発明の合成ナノキャリアの要素（免疫特性表面がそれからなる部分、標的部分、ポリマーマトリックスなど）は、例えば１つ以上の共有結合によって互いに直接共役されてもよく、または１つ以上のリンカーの手段によって共役されてもよい。合成ナノキャリアを官能化する追加的方法は、Ｓａｌｔｚｍａｎらに付与された米国特許出願公開第２００６／０００２８５２号明細書、ＤｅＳｉｍｏｎｅらに付与された米国特許出願公開第２００９／００２８９１０号明細書、またはＭｕｒｔｈｙらに付与された国際公開第２００８／１２７５３２Ａ１号パンフレットから適合されてもよい。

【０１２３】

本発明に従って、あらゆる適切なリンカーを使用し得る。リンカーを使用して、アミド結合、エステル結合、ジスルフィド結合などを形成してもよい。リンカーは、炭素原子またはヘテロ原子（例えば窒素、酸素、イオウなど）を含有してもよい。いくつかの実施形態では、リンカーは脂肪族またはヘテロ脂肪族リンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーはポリアルキルリンカーである。特定の実施形態では、リンカーはポリエーテルリンカーである。特定の実施形態では、リンカーはポリエチレンリンカーである。特定の実施形態では、リンカーはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）リンカーである。

【０１２４】

いくつかの実施形態では、リンカーは切断可能リンカーである。例としていくつか挙げると、切断可能リンカーとしては、プロテアーゼ切断可能ペプチドリンカー、ヌクレアーゼ感応性核酸リンカー、リパーゼ感応性脂質リンカー、グリコシダーゼ感応性炭水化物リンカー、ｐＨ感応性リンカー、低酸素状態感応性リンカー、光切断可能リンカー、易熱性リンカー、酵素切断可能リンカー（例えばエステラーゼ切断可能リンカー）、超音波感応性リンカー、Ｘ線切断可能リンカーなどが挙げられる。いくつかの実施形態では、リンカーは切断可能リンカーでない。

【０１２５】

多様な方法を使用して、リンカーまたは合成ナノキャリアのその他の要素を合成ナノキャリアに共役し得る。一般ストラテジーとしては、（例えば静電相互作用を通じた）受動的吸着、多価キレート化、特異的結合対のメンバー間の高親和性非共有結合、共有結合形成などが挙げられる（Ｇａｏら、２００５年，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，１６：６３）。いくつかの実施形態では、クリックケミストリーを使用して、材料を合成ナノキャリアに共役し得る。

【０１２６】

非共有特異的結合の相互作用を用い得る。例えば粒子または生体分子のどちらかをビオチンで官能化して、もう片方をストレプトアビジンで官能化し得る。これらの２つの部分は互いに非共有性かつ高親和性に特異的に結合し、それによって粒子と生体分子が共役する。その他の特異結合対も同様に使用できる。代案としては、ニッケル－ニトリロ三酢酸（Ｎｉ－ＮＴＡ）と共役する粒子に、ヒスチジン標識生体分子を共役し得る。

【０１２７】

共役の追加的な一般情報については、Ｃｏｌｕｍｂｕｓ　ＯＨ，ＰＯ　Ｂｏｘ　３３３７，Ｃｏｌｕｍｂｕｓ，ＯＨ，４３２１０の米国化学会（Ｔｈｅ　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｓｏｃｉｅｔｙ）により発行されるＢｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ学術誌；Ｐｉｅｒｃｅウェブサイトで入手でき、元は１９９４～９５年Ｐｉ

ｅｒｃｅ Ｃａｔａｌｏｇで公開された「Ｃｒｏｓｓ－Ｌｉｎｋｉｎｇ」，Ｐｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｔｅｃｈｎｉｃａｌ Ｌｉｂｒａｒｙ，およびその中の引用文献；Ｗｏｎｇ ＳＳ，「Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｃｒｏｓｓ－ｌｉｎｋｉｎｇ」、ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，１９９１年；およびＨｅｒｍａｎｓｏｎ、Ｇ．Ｔ．、「Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ」Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，１９９６年を参照されたい。

【０１２８】

本発明の組成物は、あらゆる適切な様式で作成し得て、本発明は、本明細書に記載される方法を使用して作成し得る組成物に決して限定されないことを理解すべきである。適切な方法の選択には、共役させる特定部分の特性に対して注意を払う必要があるかもしれない。

【０１２９】

医薬組成物および使用方法

本発明に従った組成物は、薬学的に許容できる賦形剤と組み合わされた本発明の合成ナノキャリアを含んでなる。組成物は、従来の製薬および調剤技術を使用して作成し、有用な剤形にしてもよい。実施形態では、本発明の合成ナノキャリアは注射のために、保存料と共に無菌の食塩溶液に懸濁される。

【０１３０】

いくつかの実施形態では、本発明の合成ナノキャリアは無菌条件下で製造されるか、または最後に滅菌される。これは得られる組成物が無菌かつ非感染性であることを確実にし得て、したがって非無菌の組成物と比較して安全性が改善される。これは特に合成ナノキャリアを投与される対象が、免疫欠如を有し、感染症を患っており、および／または感染症に罹患しやすい場合に、有益な安全対策を提供する。いくつかの実施形態では、製剤ストラテジー次第で、本発明の合成ナノキャリアを凍結乾燥し、懸濁状態で、または凍結乾燥粉末として、長期活性を失うことなく保存してもよい。

【０１３１】

本発明の組成物は、皮下、筋肉内、皮内、経口、非経口、経鼻、経粘膜、直腸、点眼、経皮（ｔｒａｎｓｄｅｒｍａｌ）、経皮（ｔｒａｎｓｃｕｔａｎｅｏｕｓ）、またはこれらの経路の組み合わせをはじめとするがこれに限定されるものではない、多様な投与経路によって投与してもよい。

【０１３２】

本明細書に記載される組成物および方法を使用して、免疫応答を誘発し、増強し、刺激し、調節し、または誘導し得る。本明細書に記載される組成物および方法は、がん、感染症、代謝疾患、変性疾患、炎症性疾患、免疫学的疾患、またはその他の障害および／または病状などの病状の診断、予防、および／または治療で使用し得る。本明細書に記載される組成物および方法はまた、ニコチンまたは麻薬に対する依存症などの依存症の予防または治療のためにも使用し得る。本明細書に記載される組成物および方法はまた、毒素、有害物質、環境毒素、またはその他の有害な作用因子への曝露に起因する病状の予防および／または治療のためにも使用し得る。

【実施例】

【０１３３】

実施例１：活性化ポリマーの調製

ＰＬＡ（ｄｌ－ポリラクチド）（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ－ＩｎｇｅｌｈｅｉｍからのＲｅｓｏｍｅｒ Ｒ２０２Ｈ、ＫＯＨ相当酸価０．２１ｍｍｏｌ／ｇ、固有粘度（ｉｖ）：０．２１ｄｌ／ｇ）（１０ｇ、２．１ｍｍｏｌ、１．０当量）をジクロロメタン（ＤＣＭ）（３５ｍＬ）に溶解した。ＥＤＣ（２．０ｇ、１０．５ｍｍｏｌ、５当量）およびＮＨＳ（１．２ｇ、１０．５ｍｍｏｌ、５当量）を添加した。超音波処理の助けを借りて、固形物を溶解した。得られた溶液を室温で６日間撹拌した。溶液を濃縮してＤＣＭの大部分を除去し、残液を２５０ｍＬのジエチルエーテルおよび５ｍＬのＭｅＯＨ溶液に添加して

、活性化ＰＬＡ－ＮＨＳエステルを沈殿させた。溶剤を除去してポリマーをエーテルで２回洗浄し（２×２００ｍＬ）、真空下で乾燥させてＰＬＡ－ＮＨＳ活性化エステルを白色の泡状固体として得た（約８ｇを回収し、Ｈ　ＮＭＲを使用してＮＨＳエステルの存在を確認した）。ＰＬＡ－ＮＨＳエステルは、－１０度未満の冷凍庫内でアルゴン下において使用時まで保存した。

【０１３４】

代案としては、ＤＣＭの代わりにＤＭＦ、ＴＨＦ、ジオキサン、または$CHCl_3$中で反応を実施し得る。ＥＤＣの代わりにＤＣＣを使用し得る（得られるＤＣＣ－尿素は、ＰＬＡ－ＮＨＳエステルのエーテルからの沈殿の前に濾過して除去する）。ＥＤＣまたはＤＣＣおよびＮＨＳの量は、ＰＬＡの２から１０当量の範囲であり得る。

【０１３５】

同様に、ｉｖが０．３３ｄｌ／ｇで酸価が０．１１ｍｍｏｌ／ｇのＰＬＡまたはＰＬＧＡ（Ｒｅｓｏｍｅｒ　ＲＧ６５３Ｈ、６５％ラクチド－３５％グリコリド、ｉｖ：０．３９ｄｌ／ｇおよび酸価０．０８ｍｍｏｌ／ｇ）またはＰＬＧＡ（Ｒｅｓｏｍｅｒ　ＲＧ７５２Ｈ、７５％ラクチド－２５％グリコリド、ｉｖ：０．１９ｄｌ／ｇおよび酸価０．２２ｍｍｏｌ／ｇ）を対応するＰＬＡ－ＮＨＳまたはＰＬＧＡ－ＮＨＳ活性化エステルに変換し、－１０度未満の冷凍庫内でアルゴン下において使用時まで保存する。

【０１３６】

実施例２：活性化ポリマーの調製

ＰＬＡ（Ｒ２０２Ｈ、酸価０．２１ｍｍｏｌ／ｇ）（２．０ｇ、０．４２ｍｍｏｌ、１．０当量）を１０ｍＬの乾燥アセトニトリルに溶解した。Ｎ’，Ｎ－ジスクシンイミジルカーボネート（ＤＳＣ）（２１５ｍｇ、１．２６ｍｍｏｌ、３．０当量）および触媒量の４－（Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノ）ピリジン（ＤＭＡＰ）を添加した。得られた混合物をアルゴン下で１日間撹拌した。得られた溶液をほぼ乾燥するまで濃縮した。次に残留物を４０ｍＬのエーテルに添加してポリマーを沈殿させ、それをエーテルで２回洗浄し（２×３０ｍＬ）、真空下で乾燥させてＰＬＡ－ＮＨＳ活性化エステルを得た（１Ｈ　ＮＭＲはＮＨＳエステル量が約８０％であることを示した）。

【０１３７】

実施例３：活性化ポリマーの調製

ＰＬＡ（Ｒ２０２Ｈ）（５．０ｇ、１．０５ｍｍｏｌ）を２５ｍＬの無水ＤＣＭおよび２．５ｍＬの無水ＤＭＦに溶解した。ＤＣＣ（６５０ｍｇ、３．１５ｍｍｏｌ、５．０当量）およびペンタフルオロフェノール（ＰＦＰ）（５８０ｍｇ、３．１５ｍｍｏｌ、５．０当量）を添加した。得られた溶液を室温で６日間撹拌し、次に濃縮してＤＣＭを除去した。得られた残留物を２５０ｍＬのエーテルに添加して、活性化ＰＬＡポリマーを沈殿させ、それをエーテルで洗浄し（２×１００ｍＬ）、真空下で乾燥させてＰＬＡ－ＰＦＰ活性化エステルを白色の泡状固体（４．０ｇ）として得た。

【０１３８】

実施例４：免疫調節薬の共役

ＰＬＡ－ＮＨＳ（１．０ｇ）、Ｒ８４８（１３２ｍｇ、０．４２ｍｍｏｌ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ）（０．０７３ｍＬ、０．４２ｍｍｏｌ）をアルゴン下で２ｍＬの乾燥ＤＭＦに溶解した。得られた溶液を５０～６０℃で２日間加熱した。溶液を室温に冷却し、４０ｍＬの脱イオン（ＤＩ）水に添加して、ポリマー生成物を沈殿させた。次にポリマーをＤＩ水（４０ｍＬ）およびエーテル（２×４０ｍＬ）で洗浄し、真空下３０℃で乾燥させて、Ｒ８４８－ＰＬＡ抱合体を白色の泡状固体として得た（０．８ｇ、Ｈ　ＮＭＲはアミド結合を通じたＲ８４８のＰＬＡへの共役を示した）。ポリマー上のＲ８４８の共役の程度（装填量）は、次のようにしてＨＰＬＣ分析によって確認した。秤量された量のポリマーをＴＨＦ／ＭｅＯＨに溶解して１５％ＮａＯＨで処理した。得られた加水分解ポリマー生成物をＲ８４８の量について、ＨＰＬＣによって標準曲線と比較して分析した。

【０１３９】

実施例５：免疫調節薬の共役

ＰＬＡ－ＮＨＳ（１．０ｇ、０．２１ｍｍｏｌ、１．０当量）、Ｒ８４８（１３２ｍｇ、０．４２ｍｍｏｌ、２．０当量）、ＤＩＰＥＡ（０．１５ｍＬ、０．８４ｍｍｏｌ、４．０当量）、およびＤＭＡＰ（２５ｍｇ、０．２１ｍｍｏｌ、１．０当量）をアルゴン下で２ｍＬの乾燥ＤＭＦに溶解した。得られた溶液を５０～６０℃で２日間加熱した。溶液を室温に冷却して、４０ｍＬの脱イオン（ＤＩ）水に添加してポリマー生成物を沈殿させた。次にポリマーをＤＩ水（４０ｍＬ）とエーテル（２×４０ｍＬ）で洗浄し、真空下３０℃で乾燥させてＰＬＡ－Ｒ８４８抱合体を白色の泡状固体として得た（０．７ｇ；２０ｍｇのポリマーを０．２ｍＬのＴＨＦ、０．１ｍＬのＭｅＯＨ、および０．１ｍＬの１５％ＮａＯＨの溶液中で加水分解した。ポリマー上のＲ８４８の量は、逆相ＨＰＬＣ分析（Ｃ１８カラム、移動相Ａ：水中の０．１％ＴＦＡ、移動相Ｂ：CH_3CN中の０．１％ＴＦＡ、勾配）によって約３５ｍｇ／ｇと測定された）。

【０１４０】

実施例６：免疫調節薬の共役

ＰＬＡ（Ｒ２０２Ｈ）（２．０ｇ、０．４２ｍｍｏｌ、１．０当量）、ＤＣＣ（２６０ｍｇ、１．２６ｍｍｏｌ、３．０当量）、ＮＨＳ（１４５ｍｇ、１．２６ｍｍｏｌ、３．０当量）、Ｒ８４８（２００ｍｇ、０．６３ｍｍｏｌ、１．５当量）、ＤＭＡＰ（７７ｍｇ、０．６３ｍｍｏｌ、１．５当量）、およびＤＩＰＥＡ（０．２２３ｍＬ、１．２６ｍｍｏｌ、３．０当量）を４ｍＬの乾燥ＤＭＦに溶解した。混合物を５０～５５℃で３日間加熱した。混合物を室温に冷却し、ＤＣＭで希釈した。ＤＣＣ－尿素を濾過して濾液を濃縮し、ＤＣＭを除去した。得られたＤＭＦ中の残留物を水（４０ｍＬ）に添加して、ポリマー生成物を沈殿させ、それを水（４０ｍＬ）、エーテル／ＤＣＭ（４０ｍＬ／４ｍＬ）、およびエーテル（４０ｍＬ）で洗浄した。真空下３０℃で乾燥後、所望のＰＬＡ－Ｒ８４８抱合体を白色の泡状固体（１．５ｇ）として得た。

【０１４１】

実施例７：免疫調節薬の共役

ＰＬＡ（Ｒ２０２Ｈ）（２．０ｇ、０．４２ｍｍｏｌ、１．０当量）、ＥＤＣ（２４２ｍｇ、１．２６ｍｍｏｌ、３．０当量）、ＨＯＡｔ（１７１ｍｇ、１．２６ｍｍｏｌ、３．０当量）、Ｒ８４８（２００ｍｇ、０．６３ｍｍｏｌ、１．５当量）、およびＤＩＰＥＡ（０．２２３ｍＬ、１．２６ｍｍｏｌ、３．０当量）を４ｍＬの乾燥ＤＭＦに溶解した。混合物を５０～５５℃で２日間加熱した。溶液を室温に冷却して水（４０ｍＬ）に添加し、ポリマー生成物を沈殿させて、それを水（４０ｍＬ）、エーテル／ＭｅＯＨ（４０ｍＬ／２ｍＬ）、およびエーテル（４０ｍＬ）で洗浄した。オレンジ色のポリマーを４ｍＬのＤＣＭに溶解し、得られた溶液を４０ｍＬのエーテルに添加して、ポリマーをほぼオレンジ色なしに沈殿させた。淡色のポリマーをエーテル（４０ｍＬ）で洗浄した。真空下３０℃で乾燥後、所望のＰＬＡ－Ｒ８４８抱合体を淡褐色泡状固体（１．５ｇ）として得た。

【０１４２】

実施例８：免疫調節薬の共役

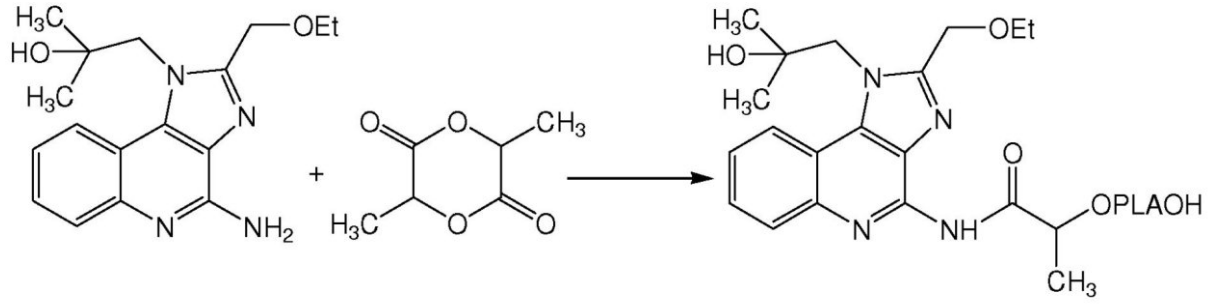
ＰＬＡ（Ｒ２０２Ｈ）（１．０ｇ、０．２１ｍｍｏｌ、１．０当量）、ＥＤＣ（１６１ｍｇ、０．８４ｍｍｏｌ、４．０当量）、ＨＯＢｔ．Ｈ２Ｏ（６５ｍｇ、０．４２ｍｍｏｌ、２．０当量）、Ｒ８４８（１３２ｍｇ、０．４２ｍｍｏｌ、２．０当量）、およびＤＩＰＥＡ（０．１５０ｍＬ、０．８４ｍｍｏｌ、４．０当量）を２ｍＬの乾燥ＤＭＦに溶解した。混合物を５０～５５℃で２日間加熱した。溶液を室温に冷却し、水（４０ｍＬ）に添加してポリマー生成物を沈殿させた。オレンジ色のポリマーを２ｍＬのＤＣＭに溶解し、得られた溶液を４０ｍＬのエーテルに添加してポリマーを沈殿させ、それを水／アセトン（４０ｍＬ／２ｍＬ）およびエーテル（４０ｍＬ）で洗浄した。真空下３０℃で乾燥後、灰色がかった泡状固体として、所望のＰＬＡ－Ｒ８４８抱合体を得た（１．０ｇ；ポリマー上のＲ８４８の装填量はＨＰＬＣ分析に基づいて約４５ｍｇ／ｇであり、^{1}Ｈ ＮＭＲによって確認された）。同様にして、ＰＬＧＡ（７５％ラクチド）－Ｒ８４８および

ＰＬＧＡ（５０％ラクチド）－Ｒ８４８を調製した。

【０１４３】

実施例９：免疫調節薬の共役

【化７】

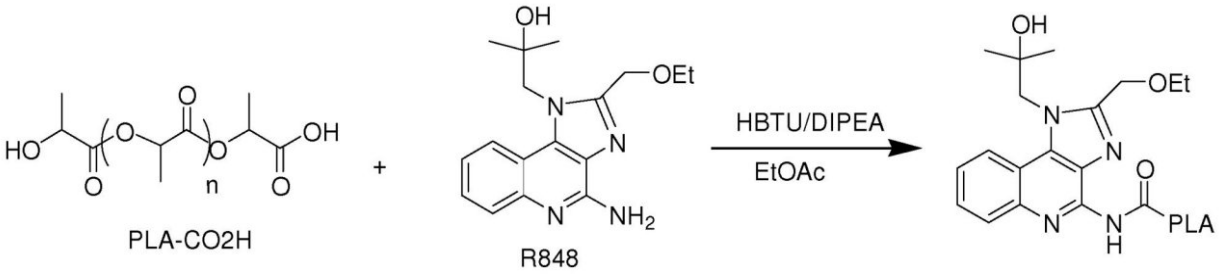


撹拌棒および冷却管を装着した丸底フラスコに、イミダゾキノリン、レシキモド（Ｒ－８４８、２１８ｍｇ、６．９３×１０$^{-4}$モル）、Ｄ／Ｌラクチド（１．０ｇ、６．９３×１０$^{-3}$モル）、および無水硫酸ナトリウム（８００ｍｇ）を添加した。フラスコおよび内容物を真空下５５℃で８時間乾燥させた。冷却後、次にフラスコをアルゴンでフラッシュしてトルエン（５０ｍＬ）を添加した。反応を全てのラクチドが溶解するまで１２０℃に設定された油浴内で撹拌し、次にピペットでエチルヘキサン酸スズ（１９ｍｇ、１５μＬ）を添加した。アルゴン下で１６時間加熱を継続した。冷却後、反応をエーテル（２００ｍＬ）で希釈して、溶液を水（２００ｍＬ）で洗浄した。溶液を硫酸マグネシウム上で乾燥させて、濾過して真空下で蒸発させて８８０ｍｇの粗製ポリ乳酸－Ｒ－８４８抱合体を得た。塩化メチレン中の１０％メタノールを溶出剤として使用して、シリカ上で粗製ポリマーをクロマトグラフ分析した。抱合体を含有する画分をプールして蒸発させ、精製抱合体を得た。これを高真空下で乾燥させ、抱合体を固体フォームとして７０２ｍｇ（５７．６％）の収率で得た。キノリンの芳香族部分のＮＭＲシグナルを統合し、これを乳酸のＣＨプロトンの統合強度と比較することで、抱合体の分子量はおよそ２ＫＤと判定された。ＧＰＣは、抱合体が５％未満の遊離Ｒ８４８を含有したことを示した。

【０１４４】

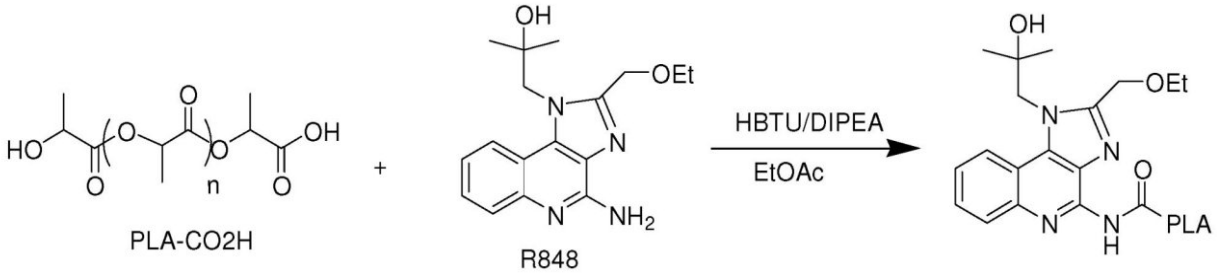
実施例１０：低分子量ＰＬＡ－Ｒ８４８抱合体の調製

【化８】



ＥｔＯＡｃ（１２０ｍＬ）中のＰＬＡ－CO_2Ｈ（平均分子量：９５０、ＤＰＩ：１．３２；５．０ｇ、５．２６ｍｍｏｌ）およびＨＢＴＵ（４．０ｇ、１０．５ｍｍｏｌ）溶液をアルゴン下室温で４５分間撹拌した。化合物Ｒ８４８（１．６５ｇ、５．２６ｍｍｏｌ）を添加して、ＤＩＰＥＡ（５．５ｍＬ、３１．６ｍｍｏｌ）がそれに続いた。混合物を室温で6時間、次に５０～５５℃で１５時間撹拌した。冷却後、混合物をＥｔＯＡｃ（１５０ｍＬ）で希釈して、１％クエン酸溶液（２×４０ｍＬ）、水（４０ｍＬ）、および鹹水溶液（４０ｍＬ）で洗浄した。溶液をNa_2SO_4（１０ｇ）上で乾燥させ、ゲル様残留物に濃縮した。次にメチルｔ－ブチルエーテル（ＭＴＢＥ）（１５０ｍＬ）を添加して、ポリマー抱合体を溶液から析出させた。次にポリマーをＭＴＢＥ（５０ｍＬ）で洗浄し、真空下室温で２日間乾燥させて白色フォームにした（５．３ｇ、ＧＰＣによる平均分子量は１２００、ＰＤＩ：１．２９；ＨＰＬＣによるＲ８４８装填量は２０％）。

【０１４５】
実施例１１：低分子量ＰＬＡ－Ｒ８４８抱合体の調製
【化９】



ＥｔＯＡｃ（１２０ｍＬ）中のＰＬＡ－ＣＯ２Ｈ（平均分子量：１８００、ＤＰＩ：１．４４；９．５ｇ、５．２６ｍｍｏｌ）およびＨＢＴＵ（４．０ｇ、１０．５ｍｍｏｌ）の溶液をアルゴン下室温で４５分間撹拌した。化合物Ｒ８４８（１．６５ｇ、５．２６ｍｍｏｌ）を添加して、ＤＩＰＥＡ（５．５ｍＬ、３１．６ｍｍｏｌ）がそれに続いた。混合物を室温で６時間、次に５０～５５℃で１５時間撹拌した。冷却後、混合物をＥｔＯＡｃ（１５０ｍＬ）で希釈して、１％クエン酸溶液（２×４０ｍＬ）、水（４０ｍＬ）、および鹹水溶液（４０ｍＬ）で洗浄した。溶液をNa_2SO_4（１０ｇ）上で乾燥させ、ゲル様残留物に濃縮した。次にメチルｔ－ブチルエーテル（ＭＴＢＥ）（１５０ｍＬ）を添加して、ポリマー抱合体を溶液から析出させた。次にポリマーをＭＴＢＥ（５０ｍＬ）で洗浄し、真空下室温で２日間乾燥させ白色フォームにした（９．５ｇ、ＧＰＣによる平均分子量は１９００、ＰＤＩ：１．５３；ＨＰＬＣによるＲ８４８装填量は１７％）。

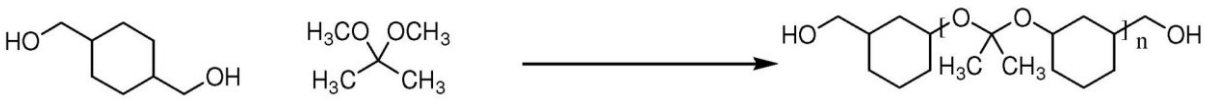
【０１４６】
実施例１２：イミド開環を通じたＰＣＡＤＫへのＲ８４８の共役
以下の実施例は、下のステップ１で例証されるような、Ｐｕｌｅｎｄｒａｎらに付与された国際公開第２００８／１２７５３２号パンフレットで提供される方法に従った、ポリケタールＰＣＡＤＫの合成について記載する。

【０１４７】
短経路蒸留ヘッドに接続された５０ｍＬ二口フラスコ内で、ＰＣＡＤＫを合成する。最初に５．５ｍｇの再結晶化ｐ－トルエンスルホン酸（０．０２９ｍｍｏｌ、Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）を６．８２ｍＬの酢酸エチルに溶解して、１，４－シクロヘキサンジメタノール（１２．９８ｇ、９０．０ｍｍｏｌ、Ａｌｄｒｉｃｈ）を含有する３０ｍＬのベンゼン溶液（１００℃に保持される）に添加する。酢酸エチルを煮沸して取り除き、蒸留２，２－ジメトキシプロパン（１０．９４ｍＬ、９０．０ｍｍｏｌ、Ａｌｄｒｉｃｈ）をベンゼン溶液に添加して重合反応を開始する。引き続いて計量漏斗を通じて、追加的用量の２，２－ジメトキシプロパン（５ｍＬ）およびベンゼン（２５ｍＬ）を６時間にわたって反応に毎時添加し、蒸留除去される２，２－ジメトキシプロパンおよびベンゼンを補う。８時間後、５００μＬのトリエチルアミンの添加によって反応を停止する。ポリマーを冷ヘキサン（－２０℃で保存される）中の沈殿によって単離し、真空濾過がそれに続く。ＵＶ検出器を装着したゲル透過クロマトグラフィー（ＧＰＣ）（日本国京都の島津製作所）によって、ＰＣＡＤＫの分子量を測定する。ＴＨＦを流速１ｍｌ／分の移動相として使用する。Ｐｏｌｙｍｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ａｍｈｅｒｓｔ，ＭＡ）からのポリスチレン標準を使用して、分子量較正曲線を確立する。この化合物を使用して、引き続く全実験においてＰＣＡＤＫ粒子を作成する。

【０１４８】
Ｒ８４８は、下に示すステップ２に従ってイミド開環を通じて、分子量６０００を有するＰＣＡＤＫの末端アルコール基に共役してもよい。

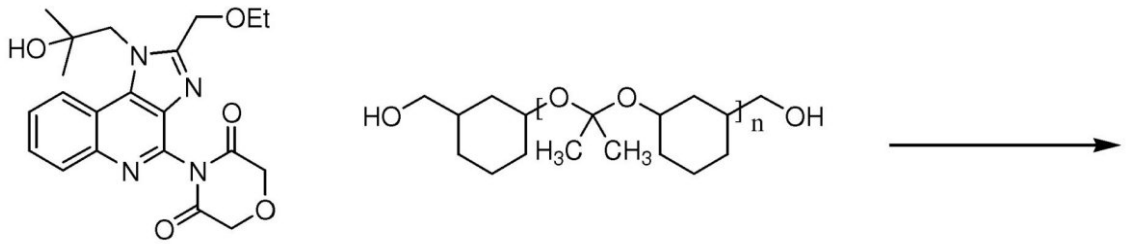
【０１４９】
ステップ１：ＰＣＡＤＫの調製

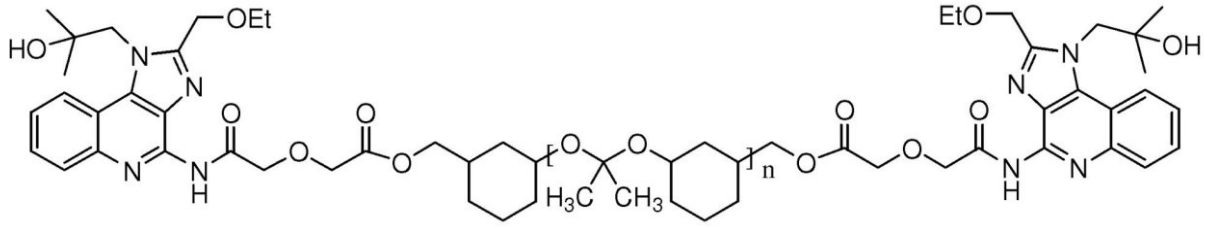
【化１０】



ステップ２：ＰＣＡＤＫのＲ８４８への共役

【化１１】





【０１５０】

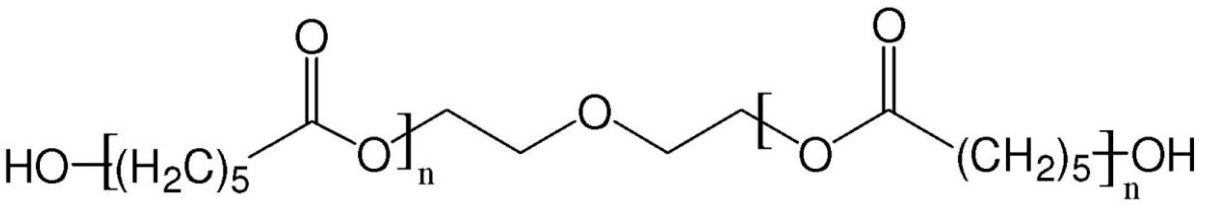
ステップ２では、ステップ１（１２ｇ、２．０×１０$^{-3}$モル）からのポリマーを塩化メチレン１００ｍＬに溶解し、Ｒ８４８のラクタム（３．３ｇ、８．０×１０$^{-3}$モル）を添加する。１，５，７－トリアザビシクロ－［４，４，０］デカ－５－エン（ＴＢＤ、０．８３５ｇ、６×１０$^{-3}$モル）を一度に添加しながら、このスラリーを撹拌する。室温で一晩の撹拌後、透明溶液が形成する。溶液を塩化メチレン（１００ｍＬ）で希釈し、溶液を５％クエン酸で洗浄する。この溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、その後それを濾過して真空下で蒸発させる。高真空下での乾燥後、１１．３グラム（８１％）のポリマーが得られる。一部を酸の中で加水分解して、Ｒ８４８含量は９重量％と測定される。

【０１５１】

実施例１３：イミド開環を通じたポリ－カプロラクトンジオールへのＲ８４８の共役

イミド開環を使用して、分子量２０００のポリ－カプロラクトンジオールの末端アルコール基にＲ８５４を付着する。ポリカプロラクトンジオールはＡｌｄｒｉｃｈ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｐａｎｙ（カタログ番号１８９４２１）から購入され、以下の構造を有する。

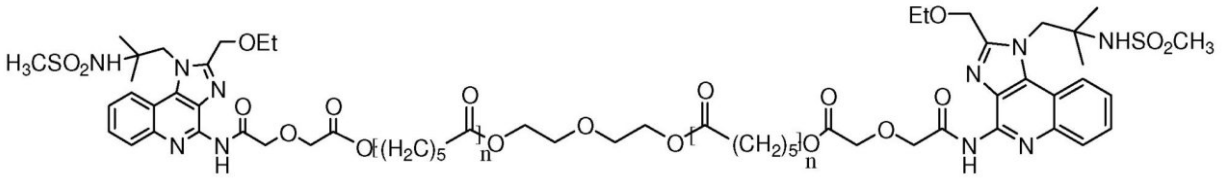
【化１２】



【０１５２】

ポリカプロラクトンジオール－Ｒ８５４抱合体は、以下の構造を有する。

【化１３】



【０１５３】

ポリマー（５ｇ、２．５×１０$^{-3}$モル）を塩化メチレン２５ｍＬに溶解し、Ｒ８５４のラクタム（２．４ｇ、５．０×１０$^{-3}$モル）を添加する。１，５，７－トリアザビシクロ－［４，４，０］デカ－５－エン（ＴＢＤ、０．５５７ｇ、４×１０$^{-3}$モル）を一度に添加しながら、このスラリーを撹拌する。室温で１５分間撹拌した後、透明な淡黄色溶液が形成する。溶液を塩化メチレン（１００ｍＬ）で希釈し、溶液を５％クエン酸で洗浄する。この溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、その後それを濾過して真空下で蒸発させる。高真空下での乾燥後、５．２グラム（７０％）のポリマーが得られる。一部を酸の中で加水分解して、Ｒ８４８含量が１８．５重量％であると判定される。

【０１５４】

実施例１４：イミド開環を通じたポリ－（ヘキサメチレンカーボネート）ジオールへのＲ８４８の共役

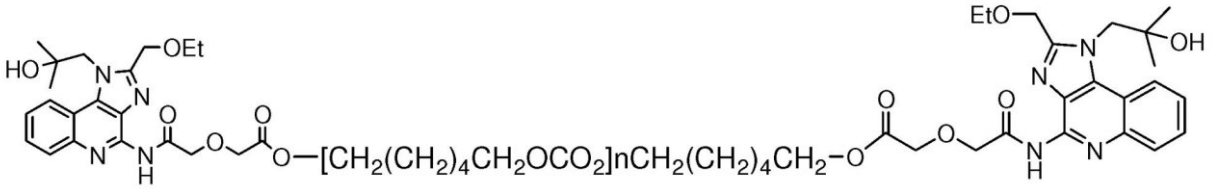
イミド開環を使用して、分子量２０００のポリ－（ヘキサメチレンカーボネート）ジオールの末端アルコール基にＲ８４８を付着する。ポリ（ヘキサメチレンカーボネート）ジオールは、Ａｌｄｒｉｃｈ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｐａｎｙ（カタログ番号４６１１６４）から購入されて、以下の構造を有する。

ＨＯ－［$CH_2(CH_2)_4CH_2OCO_2$］ｎ$CH_2(CH_2)_4CH_2$－ＯＨ

【０１５５】

ポリ（ヘキサメチレンカーボネート）ジオール－Ｒ８４８抱合体は以下の構造を有する。

【化１４】



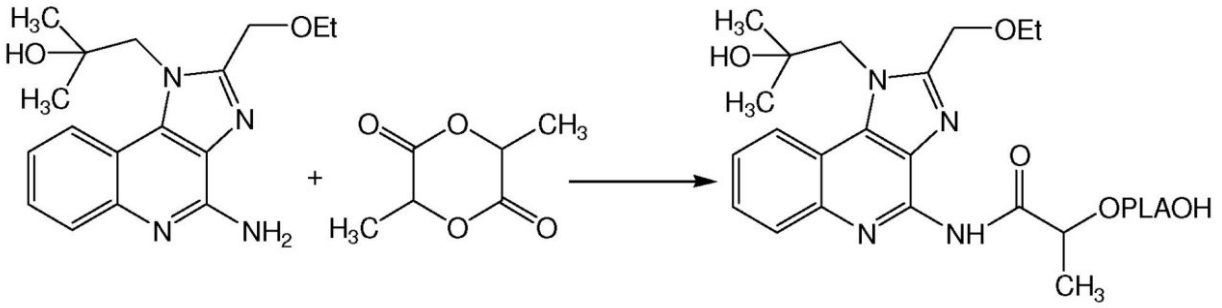
【０１５６】

ポリマー（５ｇ、２．５×１０$^{-3}$モル）を塩化メチレン２５ｍＬに溶解し、Ｒ８４８のラクタム（２．０６ｇ、５．０×１０$^{-3}$モル）を添加する。１，５，７－トリアザビシクロ－［４，４，０］デカ－５－エン（ＴＢＤ、０．５５７ｇ、４×１０$^{-3}$モル）を一度に添加しながら、このスラリーを撹拌する。室温で一晩の撹拌後、透明な淡黄色溶液が形成する。溶液を塩化メチレン（１００ｍＬ）で希釈し、溶液を５％クエン酸で洗浄する。この溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、その後それを濾過して真空下で蒸発させる。高真空下での乾燥後、５．９グラム（８４％）のポリマーが得られる。ＮＭＲを使用してＲ８４８含量を測定し、それは２１％と判定される。

【０１５７】

実施例１５：エチルヘキサン酸スズ触媒を使用したイミダゾキノリンのポリ乳酸抱合体

【化１５】

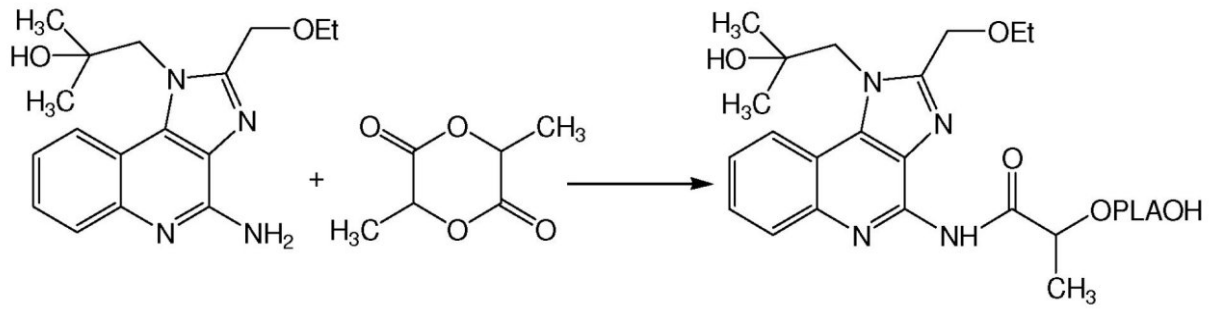


撹拌棒および冷却管を装着した二口丸底フラスコに、イミダゾキノリンレシキモド（Ｒ－８４８、１００ｍｇ、３．１８×１０$^{-4}$モル）、Ｄ／Ｌラクチド（５．６ｇ、３．８９×１０$^{-2}$モル）、および無水硫酸ナトリウム（４．０ｇ）を入れた。フラスコおよび内容物を真空下５０℃で８時間乾燥させた。次にフラスコをアルゴンでフラッシュし、トルエン（１００ｍＬ）を添加した。反応を全てのラクチドが溶解するまで、１２０℃に設定された油浴内で撹拌し、次にエチルヘキサン酸スズ（７５ｍｇ、６０μＬ）をピペットで添加した。アルゴン下で１６時間加熱を継続した。冷却後、水（２０ｍＬ）を添加し、３０分間撹拌を継続した。反応を追加的なトルエン（２００ｍＬ）で希釈して、次に水（２００ｍＬ）で洗浄した。次にトルエン溶液を５％濃塩酸（２００ｍＬ）を含有する１０％塩化ナトリウム溶液で洗浄し、飽和炭酸水素ナトリウム（２００ｍＬ）がそれに続いた。ＴＬＣ（シリカ、塩化メチレン中の１０％メタノール）は、溶液が遊離Ｒ－８４８を含有しないことを示した。溶液を硫酸マグネシウム上で乾燥させ、濾過して真空下で蒸発させて３．５９グラムのポリ乳酸－Ｒ－８４８抱合体を得た。ポリマーの一部を塩基中で加水分解し、ＨＰＬＣによってＲ－８４８含量について調べた。Ｒ－８４８濃度の標準曲線とＨＰＬＣ応答とを比較することで、ポリマーは、ポリマー１ｇあたり４．５１ｍｇのＲ－８４８を含有すると判定された。ポリマーの分子量は、ＧＰＣによって約１９，０００と測定された。

【０１５８】

実施例１６：イミダゾキノリンの低分子量ポリ乳酸抱合体

【化１６】



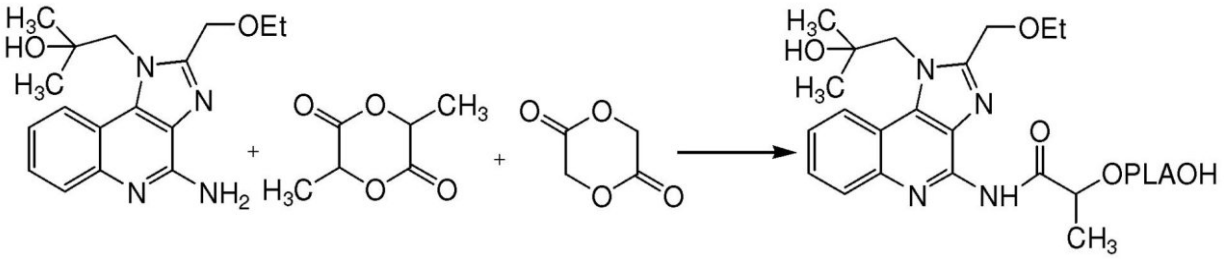
撹拌棒および冷却管を装着した丸底フラスコに、イミダゾキノリン、レシキモド（Ｒ－８４８、２１８ｍｇ、６．９３×１０$^{-4}$モル）、Ｄ／Ｌラクチド（１．０ｇ、６．９３×１０$^{-3}$モル）、および無水硫酸ナトリウム（８００ｍｇ）を添加した。フラスコおよび内容物を真空下５５℃で８時間乾燥させた。次に冷却後、フラスコをアルゴンでフラッシュしてトルエン（５０ｍＬ）を添加した。反応を全てのラクチドが溶解するまで１２０℃に設定された油浴内で撹拌し、次にエチルヘキサン酸スズ（１９ｍｇ、１５μＬ）をピペットで添加した。アルゴン下で１６時間加熱を継続した。冷却後、反応をエーテル（２００ｍＬ）で希釈して、溶液を水（２００ｍＬ）で洗浄した。溶液を硫酸マグネシウム上で乾燥させ、濾過して真空下で蒸発させて８８０ｍｇの粗製ポリ乳酸－Ｒ－８４８抱合体を得た。塩化メチレン中の１０％メタノールを溶出剤として使用して、シリカ上で粗製ポ

リマーをクロマトグラフ分析した。抱合体を含有する画分をプールして蒸発させ、精製抱合体を得た。これを高真空下で乾燥させて、抱合体を７０２ｍｇ（５７．６％）の収率で固体フォームとして得た。キノリンの芳香族部分のＮＭＲシグナルを統合し、これを乳酸のＣＨプロトンの統合強度と比較することで、抱合体の分子量はおよそ２ＫＤと判定された。ＧＰＣは、抱合体が５％未満の遊離Ｒ８４８を含有したことを示した。

【０１５９】

実施例１７：低分子量のイミダゾキノリンのポリ乳酸－コ－グリコール酸抱合体

【化１７】



撹拌棒および冷却管を装着した丸底フラスコに、イミダゾキノリン、レシキモド（Ｒ－８４８、４３６ｍｇ、１．３９×１０$^{-3}$モル）、グリコリド（４０２ｍｇ、３．４６×１０$^{-3}$モル）、Ｄ／Ｌラクチド（２．０ｇ、１．３９×１０$^{-2}$モル）、および無水硫酸ナトリウム（１．６ｇ）を入れた。フラスコおよび内容物を真空下５５℃で８時間乾燥させた。次に冷却後、フラスコをアルゴンでフラッシュしてトルエン（６０ｍＬ）を添加した。反応を全てのＲ８４８、グリコリド、およびラクチドが溶解するまで、１２０℃に設定した油浴内で撹拌し、次にエチルヘキサン酸スズ（５０ｍｇ、３９μＬ）をピペットで添加した。アルゴン下で１６時間加熱を継続した。冷却後、反応を酢酸エチル（２００ｍＬ）で希釈して、溶液を水（２００ｍＬ）で洗浄した。溶液を硫酸マグネシウム上で乾燥させて、濾過して真空下で蒸発させ、粗製ＰＬＧＡ－Ｒ－８４８抱合体を得た。塩化メチレン中の１０％メタノールを溶出剤として使用して、シリカ上で粗製ポリマーをクロマトグラフ分析した。抱合体を含有する画分をプールして蒸発させ、精製抱合体を得た。これを高真空下で乾燥させて抱合体を１．５５ｇ（５４．６％）の収率で固体フォームとして得た。キノリンの芳香族部分のＮＭＲシグナルを統合し、これを乳酸のＣＨプロトンの統合強度と比較することで、抱合体の分子量はおよそ２ＫＤと判定された。ＧＰＣは、抱合体が検出可能な遊離Ｒ８４８を含有しないことを示した。

【０１６０】

実施例１８：リチウムジイソプロピルアミド触媒作用を使用したイミダゾキノリンのポリ乳酸抱合体

イミダゾキノリン（Ｒ－８４８）、Ｄ／Ｌラクチド、および関連ガラス器具を使用に先だって、全て真空下５０℃で８時間乾燥させた。撹拌棒および冷却管を装着した丸底フラスコに、Ｒ－８４８（３３ｍｇ、１．０５×１０$^{-4}$モル）および乾燥トルエン（５ｍＬ）を入れた。これを加熱して還流し、全てのＲ－８４８を溶解した。溶液を窒素下で撹拌し、室温に冷却して超微粒子Ｒ－８４８の懸濁液を得た。この懸濁液にリチウムジイソプロピルアミド（ＴＨＦ中の２．０Ｍ、５０μＬ、１．０×１０$^{-4}$モル）の溶液を添加して、その後撹拌を室温で５分間継続した。形成された淡黄色溶液に、シリンジを通じて窒素下で、Ｄ／Ｌラクチドの熱（１２０℃）溶液（１．８７ｇ、１．３×１０$^{-2}$モル）を添加した。淡黄色溶液を冷ましてから、室温で１時間撹拌した。溶液を塩化メチレン（２００ｍＬ）で希釈して、次にそれを１％塩酸（２×５０ｍＬ）で洗浄し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液（５０ｍＬ）がそれに続いた。溶液を硫酸マグネシウム上で乾燥させて濾過し、真空下で蒸発させてポリ乳酸－Ｒ－８４８抱合体を得た。ＴＬＣ（シリカ、塩化メチレン中の１０％メタノール）は、溶液が遊離Ｒ－８４８を含有しないことを示した。ポリマーを塩化メチレン（１０ｍＬ）に溶解し、溶液を撹拌されるヘキサン（２００ｍＬ）に滴下した。沈殿したポリマーをデカンテーションによって単離し、真空下で乾燥させて１

．４７グラムのポリ乳酸-Ｒ－８４８抱合体を白色固体として得た。ポリマーの一部を塩基中で加水分解し、ＨＰＬＣによってＲ－８４８含量について調べた。Ｒ－８４８濃度の標準曲線をＨＰＬＣ応答と比較することで、ポリマーは、ポリマー１ｇあたり１０．９６ｍｇのＲ－８４８を含有すると判定された。

【０１６１】

実施例１９：低分子量ＰＬＡへの免疫調節薬の付着

分子量が５０００（１０．５ｇ、２．１ｍｍｏｌ、１．０当量）であるＰＬＡ（Ｄ／Ｌ－ポリラクチド）をジクロロメタン（ＤＣＭ）（３５ｍＬ）に溶解する。ＥＤＣ（２．０ｇ、１０．５ｍｍｏｌ、５当量）およびＮＨＳ（１．２ｇ、１０．５ｍｍｏｌ、５当量）を添加する。得られる溶液を室温で３日間撹拌する。溶液を濃縮してＤＣＭの大部分を除去し、残留物を２５０ｍＬのジエチルエーテルおよび５ｍＬのＭｅＯＨの溶液に添加して、活性化ＰＬＡ－ＮＨＳエステルを沈殿させる。溶剤を除去して、ポリマーをエーテルで２回洗浄し（２×２００ｍＬ）、真空下で乾燥させてＰＬＡ－ＮＨＳ活性化エステルを白色の泡状固体として得る（約８ｇが回収され、Ｈ　ＮＭＲを使用してＮＨＳエステルの存在を確認し得る）。ＰＬＡ－ＮＨＳエステルを－１０度未満の冷凍庫内でアルゴン下において使用時まで保存する。

【０１６２】

代案としては、反応をＤＣＭの代わりに、ＤＭＦ、ＴＨＦ、ジオキサン、またはＣＨＣｌ$_3$中で実施し得る。ＥＤＣの代わりにＤＣＣを使用し得る（得られるＤＣＣ－尿素は、エーテルからのＰＬＡ－ＮＨＳエステルの沈殿前に濾過して取り除かれる）。ＥＤＣまたはＤＣＣおよびＮＨＳの量は、ＰＬＡの２～１０当量の範囲であり得る。

【０１６３】

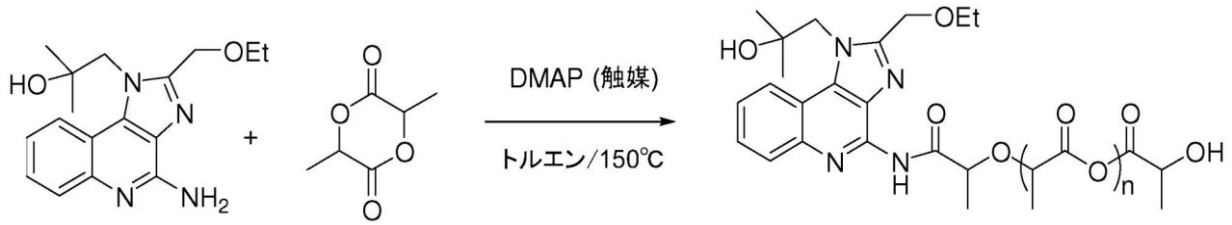
実施例２０：低分子量ＰＬＧＡへの免疫調節薬の付着

ポリマー活性化について上述したのと同様に、５０％～７５％のグリコリドがある低分子量ＰＬＧＡを対応するＰＬＧＡ－ＮＨＳ活性化エステルに変換して、－１０度未満の冷凍庫内でアルゴン下において使用時まで保存する。

【０１６４】

実施例２１：触媒存在下におけるＤ／Ｌ－ラクチドによるＲ８４８のワンポット開環重合

【化１８】



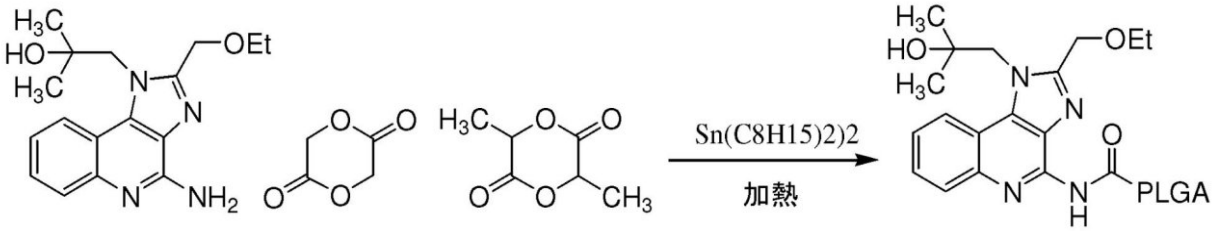
R848　　dl-ラクチド　　R848-PLA (R848 装填量 3 mg/g)

２ｍＬの無水トルエン中のＲ８４８（０．２ｍｍｏｌ、６３ｍｇ）、Ｄ／Ｌ－ラクチド（４０ｍｍｏｌ、５．８ｇ）、および４－ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）（５０ｍｇ、０．４ｍｍｏｌ）の混合物を１５０℃（油浴温度）に緩慢に加熱して、１８時間この温度に保った（３時間後、Ｒ８４８は残留しなかった）。混合物を周囲温度に冷却し、得られた混合物を水（５０ｍＬ）で急冷して、結果として生じるポリマーＲ８４８－ＰＬＡを沈殿させた。次にポリマーを各４５ｍＬのＭｅＯＨ、ｉＰｒＯＨ、およびエチルエーテルで逐次洗浄した。ポリマーを真空下３０℃で乾燥させて、灰色がかった膨脹性固体（５．０ｇ）を得た。ポリマー構造をＣＤＣｌ$_3$中で^{1}Ｈ　ＮＭＲによって確認した。ポリマーの少量のサンプルをＴＨＦ／ＭｅＯＨ中の２Ｎ　ＮａＯＨ　ａｑで処理し、逆相ＨＰＬＣによってポリマー上のＲ８４８の装填量を測定した。Ｒ８４８の装填量は、１グラムのポリマーあたり３ｍｇであった（０．３％装填量－理論量の２７．５％）。

【０１６５】

実施例２２：Ｄ／Ｌ－ラクチドおよびグリコリドによるＲ８４８の二段階開環重合

【化１９】

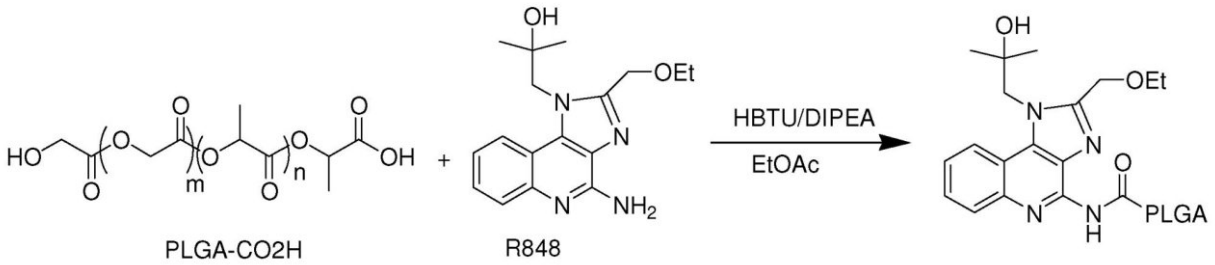


Ｄ／Ｌ－ラクチド（１０．８ｇ、０．０７５モル）およびグリコリド（２．９ｇ、０．０２５モル）の混合物をアルゴン下で１３５℃に加熱した。ひとたび全ての材料が溶解して透明溶液が得られたら、Ｒ８４８（１．０８ｇ、３．４３×１０$^{-3}$モル）を添加した。この溶液を緩慢なアルゴン流の下において、１３５℃で１時間撹拌した。エチルヘキサン酸スズ（１５０μＬ）を添加し、加熱を４時間継続した。冷却後、固体淡褐色の塊を塩化メチレン（２５０ｍＬ）に溶解して、溶液を５％酒石酸溶液（２×２００ｍＬ）で洗浄した。塩化メチレン溶液を硫酸マグネシウム上で乾燥させ、濾過して次に真空下で濃縮した。残留物を塩化メチレン（２０ｍＬ）に溶解し、２－プロパノール（２５０ｍＬ）を撹拌しながら添加した。分離したポリマーを２－プロパノールのデカンテーションによって単離し、高真空下で乾燥させた。ＮＭＲはポリマーが分子量４０００であり、ラクチドが７１．４％およびグリコリドが２８．６％であることを示した。ＮＭＲによるＲ８４８の装填量は、理論量に近かった。

【０１６６】

実施例２３：ＰＬＧＡ－Ｒ８４８抱合体の調製

【化２０】

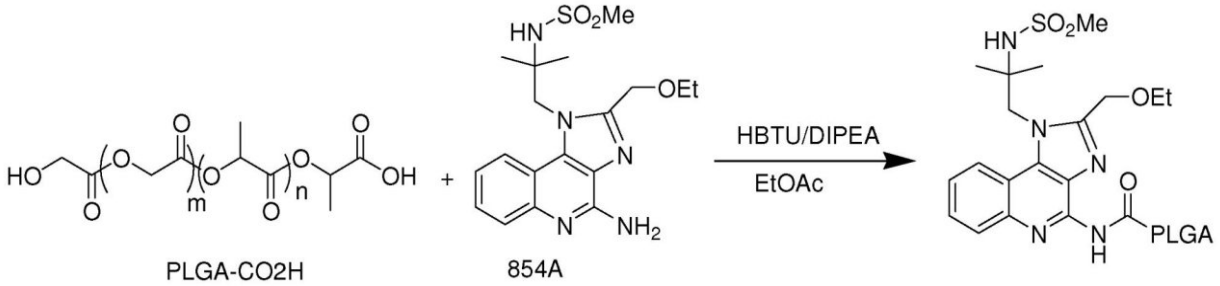


無水ＥｔＯＡｃ（１６０ｍＬ）中のＰＬＧＡ（Ｌａｋｅｓｈｏｒｅｓ Ｐｏｌｙｍｅｒｓ、分子量約５０００、７５２５ＤＬＧ１Ａ、酸価０．７ｍｍｏｌ／ｇ、１０ｇ、７．０ｍｍｏｌ）およびＨＢＴＵ（５．３ｇ、１４ｍｍｏｌ）の混合物をアルゴン下室温で５０分間撹拌した。化合物Ｒ８４８（２．２ｇ、７ｍｍｏｌ）を添加して、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ）（５ｍＬ、２８ｍｍｏｌ）がそれに続いた。混合物を室温で６時間、次に５０～５５℃で一晩（約１６時間）撹拌した。冷却後、混合物をＥｔＯＡｃ（２００ｍＬ）で希釈して、飽和NH_4Cl溶液（２×４０ｍＬ）、水（４０ｍＬ）、および鹹水溶液（４０ｍＬ）で洗浄した。溶液をNa_2SO_4（２０ｇ）上で乾燥させて、ゲル様残留物に濃縮した。次にイソプロピルアルコール（ＩＰＡ）（３００ｍＬ）を添加して、ポリマー抱合体を溶液から析出させた。次にポリマーをＩＰＡ（４×５０ｍＬ）で洗浄して残留試薬を除去し、真空下３５～４０℃で３日間乾燥させて白色粉末にした（１０．２６ｇ、ＧＰＣによる分子量は５２００、ＨＰＬＣによるＲ８４８装填量は１２％）。

【０１６７】

実施例２４：ＰＬＧＡ－８５４Ａ抱合体の調製

【化２１】

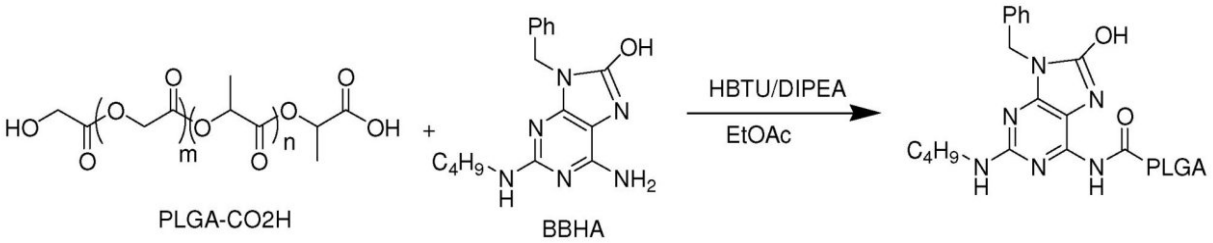


無水ＥｔＯＡｃ（２０ｍＬ）中のＰＬＧＡ（Ｌａｋｅｓｈｏｒｅｓ　Ｐｏｌｙｍｅｒｓ、分子量約５０００、７５２５ＤＬＧ１Ａ、酸価０．７ｍｍｏｌ／ｇ、１．０ｇ、７．０ｍｍｏｌ）およびＨＢＴＵ（０．８ｇ、２．１ｍｍｏｌ）の混合物をアルゴン下室温で４５分間撹拌した。化合物８４５Ａ（０．２９ｇ、０．７ｍｍｏｌ）を添加して、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ）（０．７３ｍＬ、４．２ｍｍｏｌ）がそれに続いた。混合物を室温で６時間、次に５０～５５℃で一晩（約１５時間）撹拌した。冷却後、混合物をＥｔＯＡｃ（１００ｍＬ）で希釈し、飽和NH_4Cl溶液（２×２０ｍＬ）、水（２０ｍＬ）、および鹹水溶液（２０ｍＬ）で洗浄した。溶液をNa_2SO_4（１０ｇ）上で乾燥させてゲル様残留物に濃縮した。次にイソプロピルアルコール（ＩＰＡ）（４０ｍＬ）を添加して、ポリマー抱合体を溶液から析出させた。次にポリマーをＩＰＡ（４×２５ｍＬ）で洗浄して残留試薬を除去し、真空下３５～４０℃で２日間乾燥させて白色粉末にした（１．２１ｇ、ＧＰＣによる分子量は４９００、ＨＰＬＣによる８５４Ａ装填量は１４％）。

【０１６８】

実施例２５：ＰＬＧＡ－ＢＢＨＡ抱合体の調製

【化２２】

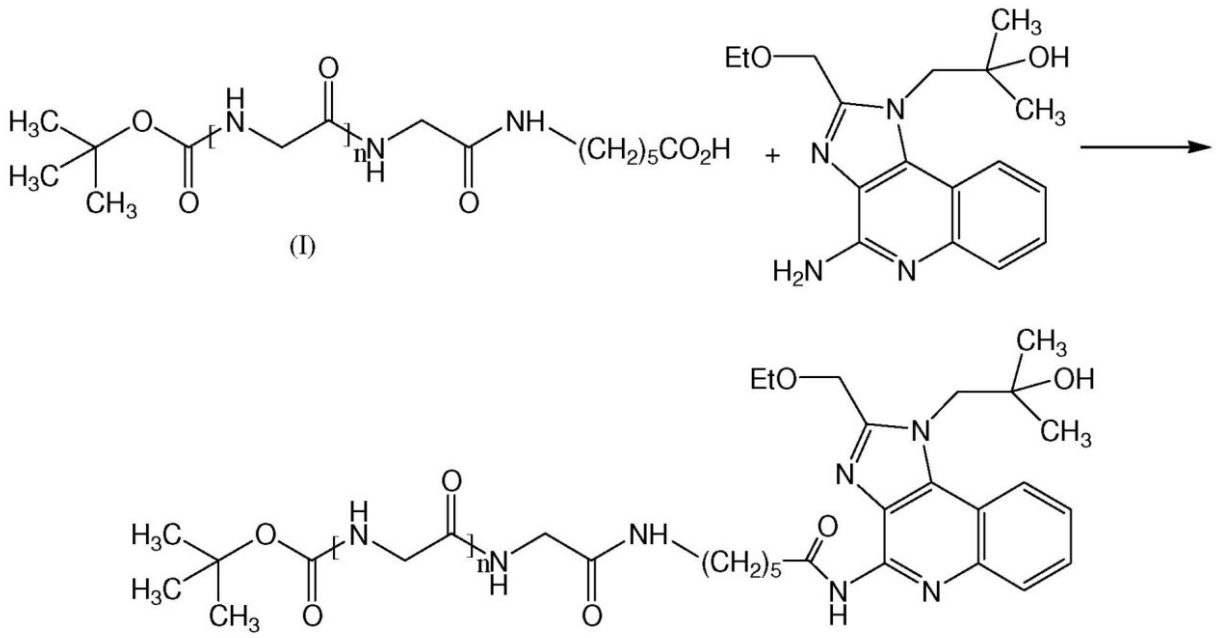


無水ＥｔＯＡｃ（３０ｍＬ）中のＰＬＧＡ（Ｌａｋｅｓｈｏｒｅｓ　Ｐｏｌｙｍｅｒｓ、分子量約５０００、７５２５ＤＬＧ１Ａ、酸価０．７ｍｍｏｌ／ｇ、１．０ｇ、７．０ｍｍｏｌ）およびＨＢＴＵ（０．８ｇ、２．１ｍｍｏｌ）の混合物をアルゴン下室温で３０分間撹拌した。２ｍＬの乾燥ＤＭＳＯ中の化合物ＢＢＨＡ（０．２２ｇ、０．７ｍｍｏｌ）を添加して、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ）（０．７３ｍＬ、４．２ｍｍｏｌ）がそれに続いた。混合物を室温で２０時間撹拌した。追加量のＨＢＴＵ（０．５３ｇ、１．４ｍｍｏｌ）およびＤＩＰＥＡ（０．５ｍＬ、２．８ｍｍｏｌ）を添加し、混合物を５０～５５℃で４時間加熱した。冷却後、混合物をＥｔＯＡｃ（１００ｍＬ）で希釈し、飽和NH_4Cl溶液（２０ｍＬ）、水（２×２０ｍＬ）、および鹹水溶液（２０ｍＬ）で洗浄した。溶液をNa_2SO_4（１０ｇ）上で乾燥させて、ゲル様残留物に濃縮した。次にイソプロピルアルコール（ＩＰＡ）（３５ｍＬ）を添加して、茶色がかったポリマー抱合体を溶液から析出させた。次にポリマーをＩＰＡ（２×２０ｍＬ）で洗浄して残留試薬を除去し、真空下３５～４０℃で２日間乾燥させて、茶色がかった粉末（１．１ｇ）にした。

【０１６９】

実施例２６：ポリアミドであるポリグリシンへのＲ８４８の共役

【化２３】



Ａｌｉｆｅｒｉｓら（Ｂｉｏｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，５，１６５３，（２００４年））の方法によって、６－アミノヘキサン酸ベンジルエステル（Ａｌｄｒｉｃｈ、カタログ番号Ｓ３３４６５）を使用して、グリシンＮ－カルボキシ無水物（Ａｌｄｒｉｃｈ、カタログ番号３６９７７２）の開環重合によって、ｔ－ブチルオキシカルボニル（ｔＢＯＣ）で保護されるポリグリシンカルボン酸（Ｉ）を調製する。ｔ－ＢＯＣカルバメートとしての末端アミノ基の保護と、それに続くパラジウム炭素への水素付加がベンジルエステルを除去して、ＢＯＣ保護ポリグリシンカルボン酸（Ｉ）の合成が完了する。

【０１７０】

無水ＤＭＦ（１００ｍＬ）中のＢＯＣ保護ポリグリシンカルボン酸（５ｇｍ、分子量＝２０００、２．５×１０$^{-3}$モル）およびＨＢＴＵ（３．７９ｇｍ、１．０×１０$^{-2}$モル）の混合物をアルゴン下室温で５０分間撹拌する。次にＲ８４８（１．６ｇｍ、５．０×１０$^{-3}$モル）を添加して、ジイソプロピルエチルアミン（４ｍＬ、２．２×１０$^{-2}$モル）がそれに続く。混合物を室温で６時間、次に５０～５５℃で一晩（１６時間）撹拌する。冷却後、ＤＭＦを真空下で蒸発させて、残留物をＥｔＯＡｃ（１００ｍＬ）中で磨砕する。ポリマーを濾過によって単離し、次にポリマーを２－プロパノール（４×２５ｍＬ）で洗浄して、残留試薬を除去して真空下３５～４０℃で３日間乾燥させる。ポリマーは灰色がかった固体として、５．１ｇ（８８％）の収率で単離される。Ｒ８４８装填量はＮＭＲによって測定され得て、１０．１％である。

【０１７１】

トリフルオロ酢酸を使用してｔ－ＢＯＣ保護基を除去し、得られたポリマーを従来の方法によってカルボキシル末端基を用いて、ＰＬＡにグラフトする。

【０１７２】

実施例２７：ポリグリシン／Ｒ８４８ポリマーのＰＬＧＡ抱合体の調製

ステップ１：ｔ－ＢＯＣ保護ポリグリシン／Ｒ８４８抱合体（５ｇ）をトリフルオロ酢酸（２５ｍＬ）に溶解し、この溶液を５０℃で１時間加温する。冷却後、トリフルオロ酢酸を真空下で除去し、残留物を酢酸エチル（２５ｍＬ）中で磨砕する。ポリマーを濾過によって単離し、２－プロパノールで十分洗浄した。真空下で乾燥後、４．５グラムのポリマーが灰色がかった固体として得られる。

【０１７３】

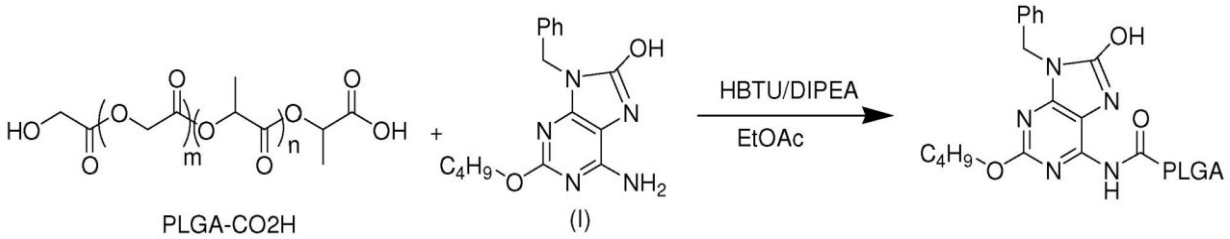
ステップ２：無水ＤＭＦ（１００ｍＬ）中のＰＬＧＡ（Ｌａｋｅｓｈｏｒｅｓ　Ｐｏｌｙｍｅｒｓ、分子量約５０００、７５２５ＤＬＧ１Ａ、酸価０．７ｍｍｏｌ／ｇ、１０ｇ

、７．０ｍｍｏｌ）およびＨＢＴＵ（５．３ｇ、１４ｍｍｏｌ）の混合物をアルゴン下室温で５０分間撹拌する。乾燥ＤＭＦ（２０ｍＬ）に溶解させた上からのポリマー（１．４ｇ、７ｍｍｏｌ）を添加し、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ）（５ｍＬ、２８ｍｍｏｌ）がそれに続く。混合物を室温で６時間、次に５０～５５℃で一晩（１６時間）撹拌する。冷却後、ＤＭＦ真空下で蒸発させ、残留物を塩化メチレン（５０ｍＬ）に溶解する。ポリマーを２－プロパノール（２００ｍＬ）の添加によって沈殿させる。ポリマーをデカンテーションによって単離し、２－プロパノール（４×５０ｍＬ）で洗浄して残留試薬を除去し、次に真空下３５～４０℃で一晩乾燥させる。９．８ｇ（８６％）のブロック共重合体が得られる。

【０１７４】

実施例２８：ＰＬＧＡ－２－ブトキシ－８－ヒドロキシ－９－ベンジルアデニン抱合体の調製

【化２４】

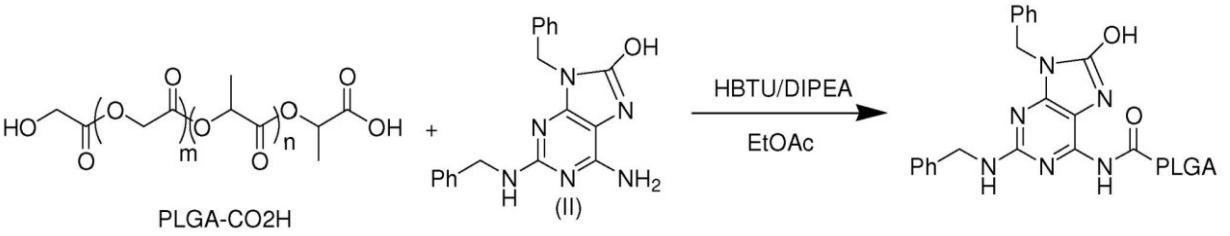


無水ＥｔＯＡｃ（３０ｍＬ）中のＰＬＧＡ（Ｌａｋｅｓｈｏｒｅｓ　Ｐｏｌｙｍｅｒｓ、分子量約５０００、７５２５ＤＬＧ１Ａ、酸価０．７ｍｍｏｌ／ｇ、１．０ｇ、７．０ｍｍｏｌ）およびＨＢＴＵ（０．８ｇ、２．１ｍｍｏｌ）の混合物をアルゴン下室温で３０分間撹拌する。２ｍＬの乾燥ＤＭＳＯ中の化合物（Ｉ）（０．２２ｇ、０．７ｍｍｏｌ）を添加して、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ）（０．７３ｍＬ、４．２ｍｍｏｌ）がそれに続く。混合物を室温で２０時間撹拌する。追加量のＨＢＴＵ（０．５３ｇ、１．４ｍｍｏｌ）およびＤＩＰＥＡ（０．５ｍＬ、２．８ｍｍｏｌ）を添加して、混合物を５０～５５℃で４時間加熱する。冷却後、混合物をＥｔＯＡｃ（１００ｍＬ）で希釈して、飽和NH_4Cl溶液（２０ｍＬ）、水（２×２０ｍＬ）、および鹹水溶液（２０ｍＬ）で洗浄する。溶液をNa_2SO_4（１０ｇ）上で乾燥させて、ゲル様残留物に濃縮する。次にイソプロピルアルコール（ＩＰＡ）（３５ｍＬ）を添加して、茶色がかったポリマー抱合体を溶液から析出させる。次にポリマーをＩＰＡ（２×２０ｍＬ）で洗浄して残留試薬を除去し、真空下３５～４０℃で２日間乾燥させて、茶色がかった粉末（１．０ｇ）にする。

【０１７５】

実施例２９：ＰＬＧＡ－２，９－ジベンジル－８－ヒドロキシアデニン抱合体の調製

【化２５】



無水ＥｔＯＡｃ（３０ｍＬ）中のＰＬＧＡ（Ｌａｋｅｓｈｏｒｅｓ　Ｐｏｌｙｍｅｒｓ、分子量約５０００、７５２５ＤＬＧ１Ａ、酸価０．７ｍｍｏｌ／ｇ、１．０ｇ、７．０ｍｍｏｌ）およびＨＢＴＵ（０．８ｇ、２．１ｍｍｏｌ）の混合物をアルゴン下室温で３０分間撹拌する。２ｍＬの乾燥ＤＭＳＯ中の化合物（ＩＩ）（０．２４ｇ，０．７ｍｍｏｌ）を添加して、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ）（０．７３ｍＬ、４．２ｍｍｏｌ）がそれに続く。混合物を室温で２０時間撹拌する。追加量のＨＢＴＵ（０．５３

ｇ、１．４ｍｍｏｌ）およびＤＩＰＥＡ（０．５ｍＬ、２．８ｍｍｏｌ）を添加して、混合物を５０～５５℃で４時間加熱する。冷却後、混合物をＥｔＯＡｃ（１００ｍＬ）で希釈して、飽和NH_4Cl溶液２０ｍＬ）、水（２×２０ｍＬ）および鹹水溶液（２０ｍＬ）で洗浄する。溶液をNa_2SO_4（１０ｇ）上で乾燥させて、ゲル様残留物に濃縮する。次にイソプロピルアルコール（ＩＰＡ）（３５ｍＬ）を添加して、茶色がかったポリマー抱合体を溶液から析出させる。次にポリマーをＩＰＡ（２×２０ｍＬ）で洗浄して残留試薬を除去し、真空下３５～４０℃で２日間乾燥させて、茶色がかった粉末（１．２ｇ）にする。

【０１７６】

実施例３０：２－ペンチル－８－ヒドロキシ－９－ベンジルアデニンを分子量２０００のポリ（ヘキサメチレンカーボネート）ジオールの末端アルコール基に付着させるために使用されるイミド開環

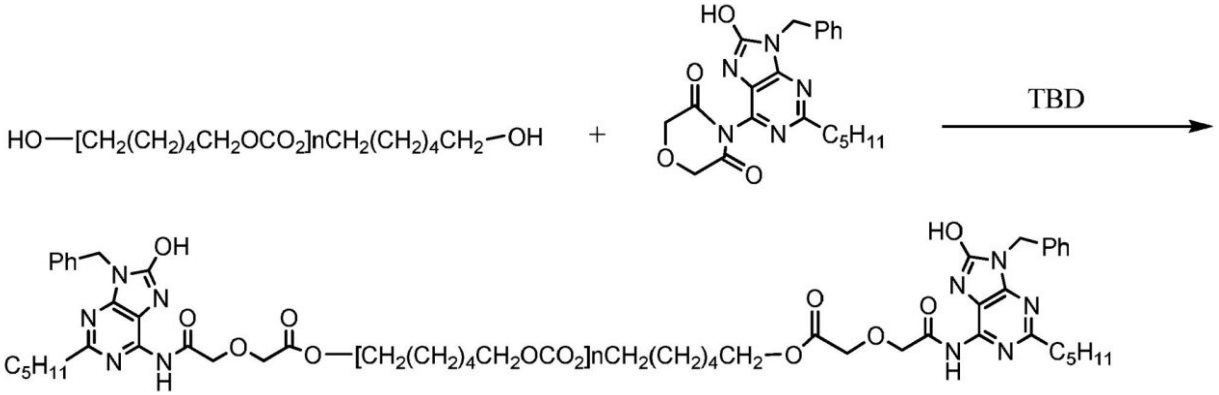
ポリ（ヘキサメチレンカーボネート）ジオールは、Ａｌｄｒｉｃｈ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏｍｐａｎｙ（カタログ番号４６１１６４）から購入される。

ポリ（ヘキサメチレンカーボネート）ジオール

$HO-[CH_2(CH_2)_4CH_2OCO_2]nCH_2(CH_2)_4CH_2-OH$

ポリ（ヘキサメチレンカーボネート）ジオール-８－オキソアデニン抱合体

【化２６】



【０１７７】

ポリマー（５ｇ、２．５×10^{-3}モル）を塩化メチレン２５ｍＬに溶解し、２－ペンチル－８－ヒドロキシ－９－ベンジルアデニンのラクタム（２．０５ｇ、５．０×10^{-3}モル）を添加する。１，５，７－トリアザビシクロ－［４，４，０］デカ－５－エン（ＴＢＤ、０．５５７ｇ、４×10^{-3}モル）を一度に添加しながら、このスラリーを撹拌する。室温で一晩の撹拌後、透明な淡黄色溶液が形成する。溶液を塩化メチレン（１００ｍＬ）で希釈し、溶液を５％クエン酸で洗浄する。この溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、その後それを濾過して真空下で蒸発させる。高真空下での乾燥後、５．５グラム（７８％）のポリマーが得られる。ＮＭＲを使用して、ベンジルアデニン含量が１８％と測定される。

【０１７８】

実施例３１：ニコチン－ＰＥＧ－ＰＬＡ抱合体

３－ニコチン－ＰＥＧ－ＰＬＡポリマーは、次のように合成した。

最初に分子量３．５ＫＤ（０．２０ｇｍ、５．７×10^{-5}モル）のＪｅｎＫｅｍ（登録商標）からのモノアミノポリ（エチレングリコール）と過剰な４－カルボキシコチニン（０．１２６ｇｍ、５．７×10^{-4}モル）をジメチルホルムアミド（５．０ｍＬ）に溶解した。溶液を撹拌して、ジシクロヘキシルカルボジイミド（０．１２４ｇｍ、６．０×10^{-4}モル）を添加した。この溶液を室温で一晩撹拌した。水（０．１０ｍＬ）を添加し、さらに１５分間撹拌を継続した。ジシクロヘキシル尿素沈殿物を濾過により除去して、濾液を真空下で蒸発させた。残留物を塩化メチレン（４．０ｍＬ）に溶解し、この溶液をジエチルエーテル（１００ｍＬ）に添加した。溶液を冷蔵庫内で２時間冷却して、沈殿

したポリマーを濾過により単離した。ジエチルエーテルでの洗浄後、固体白色ポリマーを高真空下で乾燥させた。収率は０．１８８ｇｍであった。このポリマーをさらなる精製なしに、次のステップで使用した。

【０１７９】

コチニン／ＰＥＧポリマー（０．２０ｇｍ、５．７×１０$^{-5}$モル）を乾燥テトラヒドロフラン（１０ｍＬ）に窒素下で溶解し、テトラヒドロフラン中の水素化アルミニウムリチウムの溶液（１．４３ｍＬの２．０Ｍ、２．８５×１０－３モル）を添加しながら、溶液を撹拌した。水素化アルミニウムリチウムの添加は、ポリマーをゼラチン様の塊として沈殿させた。反応を緩慢な窒素流の下で８０℃に加熱して、テトラヒドロフランを蒸発させた。次に残留物を８０℃で２時間加熱した。冷却後、水（０．５ｍＬ）を注意深く添加した。ひとたび水素の発生が停止したら塩化メチレン（５０ｍＬ）中の１０％メタノールを添加し、ポリマーが溶解するまで反応混合物を撹拌した。この混合物をＣｅｌｉｔｅ（登録商標）銘柄の珪藻土（ＥＭＤ　Ｉｎｃ．からＣｅｌｉｔｅ（登録商標）５４５、パーツ番号ＣＸ０５７４－３として入手できる）を通して濾過し、乾燥するまで濾液を真空下で蒸発させた。残留物を塩化メチレン（４．０ｍＬ）に溶解し、この溶液をジエチルエーテル（１００ｍＬ）に緩慢に添加した。ポリマーは白色綿状の固体として分離し、遠心分離によって単離された。ジエチルエーテルでの洗浄後、固体を真空下で乾燥させた。収率は０．１２９グラムであった。

【０１８０】

次撹拌棒および還流冷却管に装着した１００ｍＬの丸底フラスコに、ＰＥＧ／ニコチンポリマー（０．０８１ｇｍ、２．２×１０$^{-5}$モル）、Ｄ／Ｌラクチド（０．４１０ｇｍ、２．８５×１０$^{-3}$モル）、および無水硫酸ナトリウム（０．３８０ｇｍ）を装入した。これを真空下５５℃で８時間乾燥させた。フラスコを冷却し、アルゴンでフラッシュして次に乾燥トルエン（１０ｍＬ）を添加した。フラスコを１２０℃に設定された油浴に入れて、ひとたびラクチドが溶解したらエチルヘキサン酸スズ（５．５ｍｇ、１．３６×１０$^{-5}$モル）を添加した。反応を１２０℃で１６時間進行させた。室温に冷却後、水（１５ｍＬ）を添加して３０分間撹拌を継続した。塩化メチレン（２００ｍＬ）を添加して分液漏斗内で撹拌後、相を十分安定させた。塩化メチレン層を単離して、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させた。濾過して乾燥剤を除去した後、濾液を真空下で蒸発させてポリマーを無色のフォームとして得た。ポリマーをテトラヒドロフラン（１０ｍＬ）に溶解し、この溶液を撹拌しながら緩慢に水（１５０ｍＬ）に添加した。沈殿したポリマーを遠心分離によって単離し、固体を塩化メチレン（１０ｍＬ）に溶解した。塩化メチレンを真空下で除去し、残留物を真空下で乾燥させた。３－ニコチン－ＰＥＧ－ＰＬＡポリマーの収率は０．３８グラムであった。

【０１８１】

実施例３２：合成ナノキャリア製剤

Ｇｅｒｓｔｅｒらに付与された米国特許第５，３８９，６４０号明細書の実施例９９に提供される合成に従って、カプセル化アジュバント製剤のためにレシキモド（別名Ｒ８４８）を合成した。

【０１８２】

Ｒ８４８は上で提供される方法によってＰＬＡに共役され、ＰＬＡ構造はＮＭＲによって確認された。

【０１８３】

ＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン抱合体を実施例３１に従って調製した。

【０１８４】

ＰＬＡは購入した（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ　Ｉｎｇｅｌｈｅｉｍ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．，２８２０　Ｎｏｒｔｈ　Ｎｏｒｍａｎｄｙ　Ｄｒｉｖｅ，Ｐｅｔｅｒｓｂｕｒｇ，ＶＡ　２３８０５）。ポリビニルアルコール（Ｍｗ＝１１ＫＤ～３１ＫＤ、８５～８９％加水分解）は、ＶＷＲ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃから購入した。オボアルブミンペプチド３２３－３３９は、Ｂａｃｈｅｍ　Ａｍｅｒｉｃａｓ　Ｉｎｃ．（３１３２　Ｋａｓ

ｈｉｗａ Ｓｔｒｅｅｔ，Ｔｏｒｒａｎｃｅ ＣＡ ９０５０５．パーツ番号４０６４５６５）から得られた。

【０１８５】

上の材料を使用して、以下の溶液を調製した。

１．塩化メチレン中のレシキモド（Ｒ８４８）（１０ｍｇ／ｍＬ）およびＰＬＡ（１００ｍｇ／ｍＬ）、または塩化メチレン中のＰＬＡ－Ｒ８４８抱合体（１００ｍｇ／ｍＬ）

２．塩化メチレン中のＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン（１００ｍｇ／ｍＬ）

３．塩化メチレン中のＰＬＡ（１００ｍｇ／ｍＬ）

４．水中のオボアルブミンペプチド３２３－３３９（１０または６９ｍｇ／ｍＬ）

５．水中のポリビニルアルコール（５０ｍｇ／ｍＬ）

【０１８６】

溶液＃１（０．２５～０．７５ｍＬ）、溶液＃２（０．２５ｍＬ）、溶液＃３（０．２５～０．５ｍＬ）および溶液＃４（０．１ｍＬ）を小型バイアル内で合わせて、Ｂｒａｎｓｏｎ Ｄｉｇｉｔａｌ Ｓｏｎｉｆｉｅｒ ２５０を使用して、混合物を５０％振幅で４０秒間超音波処理した。このエマルジョンに溶液＃５（２．０ｍＬ）を添加して、Ｂｒａｎｓｏｎ Ｄｉｇｉｔａｌ Ｓｏｎｉｆｉｅｒ ２５０を使用して３５％振幅で４０秒間超音波処理し、第２のエマルジョンを形成した。これをリン酸緩衝液溶液（３０ｍＬ）を含有するビーカーに入れて、この混合物を室温で２時間撹拌してナノ粒子を形成した。

【０１８７】

粒子を洗浄するため、ナノ粒子分散体の一部（７．４ｍＬ）を遠心管に移し、５，３００ｇで１時間遠沈させて上清を除去し、ペレットを７．４ｍＬのリン酸緩衝食塩水に再懸濁した。遠心分離処置を繰り返して、ペレットを２．２ｍＬのリン酸緩衝食塩水に再懸濁して、約１０ｍｇ／ｍＬの最終ナノ粒子分散体にした。

【０１８８】

実施例３３：複数の一次エマルジョンがある二重エマルジョン

材料

オボアルブミンタンパク質のＴ細胞エピトープであることが知られている、アミノ酸１７個のペプチドであるオボアルブミンペプチド３２３－３３９は、Ｂａｃｈｅｍ Ａｍｅｒｉｃａｓ Ｉｎｃ．（３１３２ Ｋａｓｈｉｗａ Ｓｔｒｅｅｔ，Ｔｏｒｒａｎｃｅ ＣＡ ９０５０５）から購入した。

【０１８９】

レシキモド（別名Ｒ８４８）は、米国特許第６，６０８，２０１号明細書で提供される方法に従って合成された。

【０１９０】

ＰＬＡ－Ｒ８４８、レシキモドは、上で提供される方法に従って、分子量がおよそ２，５００ダルトンのＰＬＡに共役された。

【０１９１】

ＰＬＧＡ－Ｒ８４８、レシキモドは、上で提供される方法に従って、分子量がおよそ４，１００ダルトンのＰＬＧＡに共役された。

【０１９２】

ナトリウム対イオンがある、ヌクレオチド配列５’－ＴＣＣ ＡＴＧ ＡＣＧ ＴＴＣ ＣＴＧ ＡＣＧ ＴＴ－３’を有する完全にホスホロチオ化（ｐｈｏｓｐｈｏｒｏｔｈｉｏａｔｅｄ）された主鎖があるＰＳ－１８２６ ＤＮＡオリゴヌクレオチドは、Ｏｌｉｇｏｓ Ｅｔｃ（９７７５ ＳＷ Ｃｏｍｍｅｒｃｅ Ｃｉｒｃｌｅ Ｃ－６，Ｗｉｌｓｏｎｖｉｌｌｅ，ＯＲ ９７０７０）から購入した。

【０１９３】

ナトリウム対イオンがある、ヌクレオチド配列５’－ＴＣＣ ＡＴＧ ＡＣＧ ＴＴＣ ＣＴＧ ＡＣＧ ＴＴ－３’を有するリン酸ジエステル主鎖があるＰＯ－１８２６ ＤＮＡオリゴヌクレオチドは、Ｏｌｉｇｏｓ Ｅｔｃ（９７７５ ＳＷ Ｃｏｍｍｅｒｃｅ Ｃｉｒｃｌｅ Ｃ－６，Ｗｉｌｓｏｎｖｉｌｌｅ，ＯＲ ９７０７０）から購入した。

【０１９４】
インヘレント粘度が０．２１ｄＬ／ｇであるＰＬＡは、ＳｕｒＭｏｄｉｃｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ（７５６ Ｔｏｍ Ｍａｒｔｉｎ Ｄｒｉｖｅ，Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ，ＡＬ ３５２１１．製品コード１００ ＤＬ ２Ａ）から購入した。
【０１９５】
インヘレント粘度が０．７１ｄＬ／ｇであるＰＬＡは、ＳｕｒＭｏｄｉｃｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ（７５６ Ｔｏｍ Ｍａｒｔｉｎ Ｄｒｉｖｅ，Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ，ＡＬ ３５２１１．製品コード１００ ＤＬ ７Ａ）から購入した。
【０１９６】
インヘレント粘度が０．１９ｄＬ／ｇであるＰＬＡは、Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ Ｉｎｇｅｌｈｅｉｍ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．（Ｐｅｔｅｒｓｂｕｒｇ，ＶＡ．製品コードＲ２０２Ｈ）から購入した。
【０１９７】
分子量がおよそ１８，５００～２２，０００ダルトンであるＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチンは、上で提供される方法に従って調製された。
【０１９８】
分子量がおよそ１５，０００ダルトンであるＰＬＡ－ＰＥＧ－Ｒ８４８は合成され、上で提供される方法に従って調製された。
【０１９９】
ポリビニルアルコール（Ｍｗ＝１１，０００～３１，０００、８７～８９％加水分解）はＪ．Ｔ．Ｂａｋｅｒ（パーツ番号Ｕ２３２－０８）から購入した。
【０２００】
二重エマルジョン法を使用し、複数の一次エマルジョンを用いてバッチを製造した。下の表は溶液の添え字（例えば溶液＃１の縦列中のＢは、溶液＃１Ｂが使用されたことを示す）、および使用された溶液の体積を参照する。
【０２０１】
【表１】

サンプル番号	溶液#1 (体積)	溶液#2 (体積)	溶液#3 (体積)	溶液#4 (体積)	溶液#5 (体積)
1	B (0.1 ml)	C (1.0 ml)	A (0.1 ml)	C (1.0 ml)	A (2.0 ml)
2	A (0.2 ml)	A (1.0 ml)	A (0.1 ml)	A (1.0 ml)	A (3.0 ml)
3	A (0.2 ml)	B (1.0 ml)	A (0.1 ml)	B (1.0 ml)	A (3.0 ml)
4	A (0.2 ml)	B (1.0 ml)	A (0.1 ml)	B (1.0 ml)	A (3.0 ml)

【０２０２】
溶液１Ａ：希塩酸溶液中のオボアルブミンペプチド３２３－３３９（３５ｍｇ／ｍＬ）。オボアルブミンペプチドを０．１３Ｎ塩酸溶液に室温で溶解して、溶液を調製した。
【０２０３】
溶液１Ｂ：希塩酸溶液中のオボアルブミンペプチド３２３－３３９（７０ｍｇ／ｍＬ）。オボアルブミンペプチドを０．１３Ｎ塩酸溶液に室温で溶解して、溶液を調製した。
【０２０４】
溶液２Ａ：塩化メチレン中の０．２１－ＩＶ ＰＬＡ（７５ｍｇ／ｍＬ）およびＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン（２５ｍｇ／ｍｌ）。最初に２種の別々の溶液を室温で調製して、溶液を調製した。純粋塩化メチレン中の０．２１－ＩＶ ＰＬＡ（１００ｍｇ／ｍＬ）、および純粋塩化メチレン中のＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン（１００ｍｇ／ｍＬ）。各１部のＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン溶液に３部のＰＬＡ溶液を添加して、最終溶液を調製した。
【０２０５】
溶液２Ｂ：塩化メチレン中の０．７１－ＩＶ ＰＬＡ（７５ｍｇ／ｍＬ）およびＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン（２５ｍｇ／ｍｌ）。最初に２種の別々の溶液を室温で調製して、溶液を調製した。純粋塩化メチレン中の０．７１－ＩＶ ＰＬＡ（１００ｍｇ／ｍＬ）、お

よび純粋塩化メチレン中のＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン（１００ｍｇ／ｍＬ）。各１部のＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン溶液に３部のＰＬＡ溶液を添加して、最終溶液を調製した。

【０２０６】

溶液２Ｃ：塩化メチレン中の０．１９－ＩＶ　ＰＬＡ（７５ｍｇ／ｍＬ）およびＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン（２５ｍｇ／ｍｌ）。最初に２種の別々の溶液を室温で調製して、溶液を調製した。純粋塩化メチレン中の０．１９－ＩＶ　ＰＬＡ（１００ｍｇ／ｍＬ）、および純粋塩化メチレン中のＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン（１００ｍｇ／ｍＬ）。各１部のＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン溶液に３部のＰＬＡ溶液を添加して、最終溶液を調製した。

【０２０７】

溶液３Ａ：精製水中のオリゴヌクレオチド（ＰＳ－１８２６またはＰＯ－１８２６のどちらか）（２００ｍｇ／ｍｌ）。オリゴヌクレオチドを精製水に室温で溶解して、溶液を調製した。

【０２０８】

溶液４Ａ：溶液＃２Ａと同じ。

【０２０９】

溶液４Ｂ：溶液＃２Ｂと同じ。

【０２１０】

溶液４Ｃ：溶液＃２Ｃと同じ。

【０２１１】

溶液５Ａ：１００ｍＭ　ｐＨ８のリン酸緩衝液中のポリビニルアルコール（５０ｍｇ／ｍＬ）。

【０２１２】

２種の別々の油中水エマルジョンを調製した。Ｗ１／Ｏ２は、小型圧力管内で溶液１および溶液２を合わせて、Ｂｒａｎｓｏｎ　Ｄｉｇｉｔａｌ　Ｓｏｎｉｆｉｅｒ２５０を使用して５０％振幅で４０秒間超音波処理して調製した。Ｗ３／Ｏ４は、小型圧力管内で溶液３および溶液４を合わせて、Ｂｒａｎｓｏｎ　Ｄｉｇｉｔａｌ　Ｓｏｎｉｆｉｅｒ２５０を使用して５０％振幅で４０秒間超音波処理して調製した。２種の内部エマルジョン（［Ｗ１／Ｏ２、Ｗ３／Ｏ４］／Ｗ５）がある第３のエマルジョンは、０．５ｍＬの各一次エマルジョン（Ｗ１／Ｏ２およびＷ３／Ｏ４）と溶液５を合わせ、Ｂｒａｎｓｏｎ　Ｄｉｇｉｔａｌ　Ｓｏｎｉｆｉｅｒ２５０を使用して３０％振幅で４０～６０秒間超音波処理して調製した。

【０２１３】

７０ｍＭリン酸緩衝液溶液（３０ｍＬ）を含有するビーカーに、第３のエマルジョンを入れて室温で２時間撹拌し、塩化メチレンを蒸発させてナノキャリアを形成した。ナノキャリア懸濁液を遠心管に移し、１３，８２３ｇで１時間遠沈して上清を除去し、ペレットをリン酸緩衝食塩水に再懸濁して、ナノキャリアの一部を洗浄した。洗浄処置を繰り返し、ペレットをリン酸緩衝食塩水に再懸濁して、約１０ｍｇ／ｍＬの最終ナノキャリア分散体にした。

【０２１４】

ナノキャリア中のオリゴヌクレオチドおよびペプチドの量をＨＰＬＣ分析によって測定した。

【０２１５】

実施例３４：標準二重エマルジョン

材料

上の実施例３３で提供されるのと同じ。

標準二重エマルジョン法を使用して、バッチを製造した。下の表は溶液の添え字（例えば溶液＃１の縦列中のＢは、溶液＃１Ｂが使用されたことを示す）、および使用された溶液の体積を参照する。

【０２１６】

【表２】

サンプル番号	溶液#1 (体積)	溶液#2 (体積)	溶液#3 (体積)	溶液#4 (体積)	溶液#5 (体積)
1	A (0.1 ml)	A (0.75 ml)	A (0.25 ml)	なし	A (2.0 ml)
2	A (0.1 ml)	なし	A (0.25 ml)	A (0.75 ml)	A (2.0 ml)
3	A (0.1 ml)	B (0.75 ml)	A (0.25 ml)	なし	A (2.0 ml)
4	B (0.1 ml)	C (0.75 ml)	A (0.25 ml)	なし	B (2.0 ml)
5	B (0.1 ml)	D (0.25 ml)	A (0.25 ml)	A (0.50 ml)	B (2.0 ml)
6	C (0.2 ml)	なし	A (0.25 ml)	A (0.75 ml)	B (2.0 ml)
7	D (0.1 ml)	なし	A (0.25 ml)	A (0.75 ml)	B (2.0 ml)

【０２１７】
溶液１Ａ：脱イオン水中のオボアルブミンペプチド３２３－３３９（６９ｍｇ／ｍＬ）。室温で混合しながらオボアルブミンペプチドを水に緩慢に添加して、溶液を調製した。
【０２１８】
溶液１Ｂ：希塩酸溶液中のオボアルブミンペプチド３２３－３３９（７０ｍｇ／ｍＬ）。オボアルブミンペプチドを室温で０．１３Ｎ塩酸溶液に溶解して、溶液を調製した。
【０２１９】
溶液１Ｃ：精製水中のオリゴヌクレオチド（ＰＳ－１８２６）（５０ｍｇ／ｍｌ）。オリゴヌクレオチドを室温で精製水に溶解して、溶液を調製した。
【０２２０】
溶液１Ｄ：希塩酸溶液中のオボアルブミンペプチド３２３－３３９（１７．５ｍｇ／ｍＬ）。オボアルブミンペプチド（７０ｍｇ／ｍｌ）を室温で０．１３Ｎ塩酸溶液に溶解し、次に溶液を１部の開始溶液あたり３部の精製水で希釈して、溶液を調製した。
【０２２１】
溶液２Ａ：室温で調製された純粋塩化メチレン中のＲ８４８（１０ｍｇ／ｍｌ）および０．１９－ＩＶ　ＰＬＡ（１００ｍｇ／ｍＬ）。
【０２２２】
溶液２Ｂ：室温で調製された純粋塩化メチレン中のＰＬＡ－Ｒ８４８（１００ｍｇ／ｍｌ）。
【０２２３】
溶液２Ｃ：室温で調製された純粋塩化メチレン中のＰＬＧＡ－Ｒ８４８（１００ｍｇ／ｍｌ）。
【０２２４】
溶液２Ｄ：室温で調製された純粋塩化メチレン中のＰＬＡ－ＰＥＧ－Ｒ８４８（１００ｍｇ／ｍｌ）。
【０２２５】
溶液３Ａ：室温で調製された純粋塩化メチレン中のＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン（１００ｍｇ／ｍｌ）。
【０２２６】
溶液４Ａ：室温で調製された純粋塩化メチレン中の０．１９－ＩＶ　ＰＬＡ（１００ｍｇ／ｍＬ）。
【０２２７】
溶液５Ａ：脱イオン水中のポリビニルアルコール（５０ｍｇ／ｍＬ）。
【０２２８】
溶液５Ｂ：１００ｍＭ　ｐＨ８リン酸緩衝液中のポリビニルアルコール（５０ｍｇ／ｍＬ）。
【０２２９】
溶液１および溶液２、溶液３、および溶液４を小型圧力管内で合わせ、Ｂｒａｎｓｏｎ　Ｄｉｇｉｔａｌ　Ｓｏｎｉｆｉｅｒ　２５０を使用して５０％振幅で４０秒間超音波処

理して、油中水（Ｗ／Ｏ）一次エマルジョンを調製した。溶液５を一次エマルジョンに添加して、Ｂｒａｎｓｏｎ Ｄｉｇｉｔａｌ Ｓｏｎｉｆｉｅｒ ２５０を使用して３０％～３５％振幅で４０秒間超音波処理して、水／油／水（Ｗ／Ｏ／Ｗ）二重エマルジョンを調製した。

【０２３０】

リン酸緩衝液溶液（３０ｍＬ）を含有するビーカーに二重エマルジョンを入れて、室温で２時間撹拌して塩化メチレンを蒸発させ、ナノキャリアを形成した。ナノキャリア懸濁液を遠心管に移して５，０００～９，５００ＲＰＭで１時間遠沈し、上清を除去してペレットをリン酸緩衝食塩水に再懸濁して、ナノキャリアの一部を洗浄した。洗浄処置を繰り返し、ペレットをリン酸緩衝食塩水に再懸濁して、約１０ｍｇ／ｍＬの最終ナノキャリア分散体にした。

【０２３１】

実施例３５：薬剤量の測定

Ｒ８４８およびペプチド（例えばｏｖａペプチド、ヒトペプチド、ＴＴ２ｐＤＴ５ｔ）のための方法

Ａｇｉｌｅｎｔ Ｚｏｒｂａｘ ＳＢ－Ｃ１８カラム（３．５μｍ．７５×４．６ｍｍ．カラム温度＝４０℃（パーツ番号８６６９５３－９０２））を装着した、Ａｇｉｌｅｎｔ １１００システム上の逆相ＨＰＬＣを使用して、適切な波長（Ｒ８４８ではλ＝２５４ｎｍ、ｏｖａペプチドでは２１５ｎｍ）で、９５％水／５％アセトニトリル／０．１％ＴＦＡの移動相Ａ（ＭＰＡ）、および９０％アセトニトリル／１０％水／０．０９％ＴＦＡの移動相Ｂ（ＭＰＢ）を使用して、Ｒ８４８（免疫賦活剤）およびｏｖａペプチド（Ｔ細胞抗原）の量を測定した。（勾配：７分間でＢ＝５～４５％；９分間で９５％Ｂに上昇させ；９．５分間で５％のＢに低下させて、終わりまで平衡を保った。総実行時間は、流速１ｍＬ／分で１３分間であった）。

【０２３２】

ＣｐＧのための方法

Ｗａｔｅｒｓ ＸＢｒｉｄｇｅ Ｃ－１８（２．５μｍ粒子、５０×４．６ｍｍ内径（パーツ番号１８６００３０９０）、カラム温度６００℃）を装着した、Ａｇｉｌｅｎｔ １１００システム上の逆相ＨＰＬＣを使用して、２６０ｎｍで、１００ｍＭ ＴＥＡ－酢酸緩衝液中の２％アセトニトリル、ｐＨ約８．０の移動相Ａ、および９０％アセトニトリルと１０％水の移動相Ｂを使用して、ＣｐＧ（免疫賦活剤）量を測定した。（カラムを５％のＢで平衡化させ、８．５分間で５５％のＢに増大させて、次に１２分間で９０％のＢに上昇させた。Ｂの濃度を１分間で迅速に５％に低下させ、停止時点まで１６分間平衡化させた。流速は、方法終了時まで１６分間１ｍＬ／分であった）。

【０２３３】

ニコチン類似体のための方法

Ｗａｔｅｒｓ Ｘ－Ｂｒｉｄｇｅ Ｃ－１８（５μｍ粒子、１００×４．６ｍｍ内径、カラム温度４００℃）を装着した、Ａｇｉｌｅｎｔ １１００システム上の逆相ＨＰＬＣを使用して、２５４ｎｍで、９５％水／５％アセトニトリル／０．１％ＴＦＡの移動相Ａ（ＭＰＡ）、および９０％アセトニトリル／１０％水／０．０９％ＴＦＡの移動相Ｂ（ＭＰＢ）を使用して、ニコチン類似体を測定した。（勾配：カラムを５％のＢで平衡化させ、１４分間で４５％のＢに増大させた。次に１４～２０分間で９５％Ｂに上昇させた。移動相Ｂの濃度を迅速に５％に低下させ、方法終了時まで平衡化した。方法の流速は、２５分間の総実行時間０．５ｍＬ／分に保った。ＮＣ懸濁液を１４０００ｒｐｍで粒度に応じて約１５～３０分間分遠心分離した。収集されたペレットを撹拌しながら溶液が透明になるまで、２００μＬの濃NH_4OH（８Ｍ）で２時間処理した。２００μＬの１％ＴＦＡを添加して混合物溶液を中和すると、ペレット溶液の総体積は２００μＬになった。溶液の５０μＬのアリコートをＭＰＡ（または水）で２００μＬに希釈して、上と同様にＨＰＬＣ上で分析し、ペレット中に存在する量を測定した。

【０２３４】

ナノキャリア中のカプセル化遊離Ｒ８４８

０．５ｍＬのＮＣ懸濁液を１４０００ｒｐｍで約１５分間遠心分離した。収集されたペレットを０．３ｍＬのアセトニトリルで溶解して、１４０００ｒｐｍで短時間遠心分離して、あらゆる残留不溶性物質を除去した。透明溶液をＭＰＡの４倍相当体積でさらに希釈して、上述の逆相ＨＰＬＣ上でアッセイした。

【０２３５】

ナノキャリア中のカプセル化ＣｐＧ

製造からの３３０μＬのＮＣ懸濁液（ＰＢＳ中の約１０ｍｇ／ｍＬの懸濁液）を１４０００ｒｐｍで粒度に応じて１５～３０分間遠沈した。収集されたペレットを５００μＬの水に再懸濁し、３０分間超音波処理して粒子を完全に分散させた。次にＮＣを６００℃で１０分間加熱した。追加的な２００μＬの１Ｎ　ＮａＯＨを混合物に添加してさらに５分間加熱したところ、混合物は透明になった。加水分解されたＮＣ溶液を１４０００ｒｐｍで短時間遠心分離した。次に水を使用して透明溶液の最終２倍希釈を行い、上述の逆相ＨＰＬＣ上でアッセイした。

【０２３６】

カプセル化Ｔ細胞抗原（例えばｏｖａペプチド、またはヒトペプチド、ＴＴ２ｐＤＴ５ｔ）

製造からの３３０μＬのＮＣ懸濁液（ＰＢＳ中の約１０ｍｇ／ｍＬ懸濁液）を１４０００ｒｐｍで１５～３０分間遠沈した。１００μＬのアセトニトリルをペレットに添加して、ＮＣのポリマー構成要素を溶解した。混合物をボルテックスして１～５分間超音波処理した。１００μＬの０．２％ＴＦＡを混合物に添加してペプチドを抽出し、さらに５分間超音波処理して、凝集体の崩壊を確実にした。混合物を１４０００ｒｐｍで１５分間遠心分離して、あらゆる不溶性物質（例えばポリマー）を分離した。１５０μＬのＭＰＡ（または水）で希釈された上清の５０μＬのアリコートを取って、上述のように逆相ＨＰＬＣでアッセイした。

【０２３７】

ナノキャリア中の抱合型ニコチン類似体（Ｂ細胞抗原）量

１．５ｍＬのＮＣ懸濁液を１４０００ｒｐｍで約１５分間遠沈して、１５０μＬの濃NH_4OH（８Ｍ）を使用して約２～３時間、溶液が透明になるまでペレットを加水分解した。１５０μＬの２％ＴＦＡ（ａｑ）溶液をペレット混合物に添加して、溶液を中和した。混合物の１００μＬのアリコートを２００μＬの水で希釈し、上述の逆相ＨＰＬＣ上でアッセイし、製造で使用されるＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチン前駆物質（ＰＥＧ－ニコチン）を使用して確立された標準曲線に基づいて、定量化した。

【０２３８】

実施例３６：放出速度試験

３７℃におけるリン酸緩衝食塩水溶液（ＰＢＳ）（１００ｍＭ、ｐＨ＝７．４）およびクエン酸緩衝液（１００ｍＭ、ｐＨ＝４．５）中での合成ナノキャリアからの抗原（ニコチン類似体）および免疫賦活剤（Ｒ８４８）の放出を次のように実施する。

【０２３９】

分析法：放出されたＲ８４８およびニコチン類似体の量は、λ＝２１５ｎｍでＡｇｉｌｅｎｔ　Ｚｏｒｂａｘ　ＳＢ－Ｃ１８カラム（３．５μｍ。７５×４．６ｍｍ。カラム温度＝４０℃（パーツ番号８６６９５３－９０２））を装着したＡｇｉｌｅｎｔ　１１００システム上の逆相ＨＰＬＣを使用して、９８％水／２％アセトニトリル／０．１％ＴＦＡの移動相Ａ（ＭＰＡ）、および９０％アセトニトリル／１０％水／０．０９％ＴＦＡの移動相Ｂ（ＭＰＢ）を使用して測定される（勾配：７分間でＢ＝５～４５％；９分間で９５％のＢに上昇させ；終わりまで再平衡化させる、１３分間の実行時間、流速＝１ｍＬ／分）。

【０２４０】

合成ナノキャリア中に存在するＲ８４８およびニコチン類似体の総量は、最初に合成ナノキャリア中のＲ８４８およびニコチン類似体の装填量に基づいて推定される。次に試験

された合成ナノキャリアの水性懸濁液をＰＢＳで最終貯蔵体積４．４ｍＬに希釈する。

【０２４１】

ＰＢＳ（ｐＨ＝７．４）中の生体外放出速度測定：

Ｔ０サンプルでは、２００μＬのアリコートをＮＣの各サンプルから即座に取って、微量遠心機（型名：Ｇａｌａｘｙ　１６）を使用して微小遠心管内で１４０００ｒｐｍで遠心分離する。１００μＬの上清を取ってＨＰＬＣ移動相Ａ（ＭＰＡ）で２００μＬに希釈し、放出されたＲ８４８およびニコチン類似体の量について逆相ＨＰＬＣ上でアッセイする。

【０２４２】

各時点の測定では、９×２００μＬ（非抱合型では３×２００）の各サンプルを微小遠心管に入れて、上記各アリコートに３００μＬの３７℃のＰＢＳを添加して、サンプルを即座に３７℃のオーブンに入れる。（抱合型Ｒ８４８では）２時間、１２時間、２４時間、４８時間、９６時間、および１４４時間、または（非抱合型（カプセル化）Ｒ８４８では）２時間、１２時間、１６時間、および２４時間の時点でサンプルを遠心分離して、放出されたＲ８４８およびニコチン類似体の量について、上のＴ０サンプルと同様にしてアッセイする。

【０２４３】

クエン酸緩衝液（ｐＨ＝４．５）中の生体外放出速度測定：

Ｔ０サンプルでは、各サンプルから２００μＬのアリコートを取って６０００ｒｐｍで２０分間遠心分離し、上清を除去する。残留合成ナノキャリアを２００μＬのクエン酸緩衝液に再懸濁し、１４０００ｒｐｍで１５分間遠心分離する。１００μＬの上清を取ってＭＰＡで２００μＬに希釈し、上記のようにＲ８４８およびニコチン類似体についてアッセイする。

【０２４４】

各時点の測定では、９×２００μＬ（非抱合型では３×２００）の各サンプルを微小遠心管に入れて６０００ｒｐｍで２０分間遠心分離し、上清を除去する。次に残留ＮＣを５００μＬのクエン酸緩衝液に再懸濁して、３７℃のオーブンに入れる。（抱合型Ｒ８４８では）１２時間、２４時間、４８時間、９６時間、および１４４時間、または（非抱合型（カプセル化）Ｒ８４８では）２時間、１２時間、１６時間、および２４時間の時点でサンプルを遠心分離し、上のＴ０サンプルと同様にして、放出されたＲ８４８およびニコチン類似体の量についてアッセイする。

【０２４５】

上のＰＢＳおよびクエン酸緩衝液中の測定からの質量平衡を完結するために、各サンプルからの残留ペレットを混合しながら、２００μＬの濃NH_4OH（８Ｍ）で3時間処理する。混合物が沈降した後、２００μＬの１％ＴＦＡを添加して、ペレット溶液の総体積を４００μＬにする。５０μＬのアリコートの溶液をＭＰＡで２００μＬに希釈して、上記のようにＨＰＬＣで分析し、生体外放出後にペレット中に残留する未放出Ｒ８４８およびニコチン類似体の量を測定して質量平衡を閉じる。非抱合型サンプルでは、サンプルをアセトニトリル中のＴＦＡで希釈し、上のＲ８４８およびペプチドと同様にしてアッセイする。

【０２４６】

実施例３７：放出速度試験

３７℃におけるリン酸緩衝食塩水溶液（ＰＢＳ）（１００ｍＭ、ｐＨ＝７．４）およびクエン酸緩衝液（１００ｍＭ、ｐＨ＝４．５）中での合成ナノキャリアからの抗原（例えばｏｖａペプチド、Ｔ細胞抗原）および免疫賦活剤（例えばＲ８４８、ＣｐＧ）の放出を次のようにして測定した。

【０２４７】

抱合型Ｒ８４８およびｏｖａペプチドから構成されるナノキャリアからのＲ８４８の放出は、製造から得られた試験する合成ナノキャリアの所望量の水性懸濁液（例えばＰＢＳ中の約１０ｍｇ／ｍＬ）を遠心分離および再懸濁することで、同一体積の適切な放出媒体

（クエン酸緩衝液１００ｍＭ）と交換して達成した。

【０２４８】

ＰＢＳ（ｐＨ＝７．４）中の生体外放出速度測定

１ｍＬのＰＢＳ懸濁ＮＣを微小遠心管内で１４０００ｒｐｍで、粒度に応じて一般に１５～３０分間遠心分離した。次に収集された上清を等体積の移動相Ａ（ＭＰＡ）または水で希釈して、保存中に放出されたＲ８４８の量について逆相ＨＰＬＣ上でアッセイした。残留するペレットを１ｍＬのＰＢＳ中で均質な懸濁液に再懸濁し、絶えず穏やかに撹拌しながら３７℃の加温チャンバーに入れた。

【０２４９】

Ｔ０サンプルは、ＮＣ懸濁液を３７℃加温チャンバーに入れるのに先立って、ＮＣ懸濁液から１５０μＬのアリコートを即座に取り出して、微量遠心機（Ｍｏｄｅｌ：Ｇａｌａｘｙ　１６）を使用して微小遠心管内で１４０００ｒｐｍで遠心分離した。１００μＬの上清を取り出してＨＰＬＣ移動相Ａ（ＭＰＡ）または水で２００μＬに希釈し、放出されたＲ８４８およびｏｖａペプチド量について、逆相ＨＰＬＣ上でアッセイした。

【０２５０】

時点測定では、３７℃のＮＣサンプル懸濁液から１５０μＬのアリコートを取り出して、サンプルを遠心分離し、Ｔ０サンプルと同様に、放出されたＲ８４８およびｏｖａペプチドの量についてアッセイした。放出されたＲ８４８およびｏｖａペプチドを通例のモニタリングのために6時間、２４時間で試験し、完全な放出プロフィールを確立するために、2時間、４８時間、９６時間、および１４４時間で追加的に試験した。

【０２５１】

クエン酸緩衝液（ｐＨ＝４．５）中の生体外放出速度測定

ｐＨ＝７．４のＰＢＳ緩衝液の代わりに１００ｍＭクエン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ＝４．５）を用いて、元のＮＣ保存溶液（例えばＰＢＳ）を交換した。上のＰＢＳおよびクエン酸緩衝液中における測定からの質量平衡を完結するために、各時点で残留したペレットを溶液が透明になるまで、１００μＬのNH_4OH（８Ｍ）で撹拌しながら2時間（または2時間以上）処理した。１００μＬの１％ＴＦＡを添加して混合物を中和し、ペレット溶液の総体積を２００μＬにした。混合物の５０μＬのアリコートをＭＰＡ（または水）で２００μＬに希釈して、上記のようにＨＰＬＣ上で分析し、生体外放出後にペレット中に残留する未放出のＲ８４８量を測定して、質量平衡を閉じた。非抱合型サンプルでは、サンプルをアセトニトリル中のＴＦＡで希釈し、上のＲ８４８と同様にしてアッセイした。

【０２５２】

ＣｐＧの放出を試料調製およびモニター時点に関しては、Ｒ８４８およびｏｖａペプチドと同様にして測定した。しかし放出媒体中のＣｐＧの量は、上述の逆相ＨＰＬＣ方法によってアッセイした。

【０２５３】

実施例３８：Ｒ８４８を有するＮＣ－Ｎｉｃによる免疫化

一群の5匹のマウスを2週間間隔で（０、１４、および２８日目）、１００μｇのＮＣ－Ｎｉｃで3回免疫化した（皮下、後肢）。ナノキャリアは上述の製剤ストラテジーを使用して作成され、ｏｖａペプチドと、その５０％がＰＬＧＡ－Ｒ８４８であり、その２５％がＰＬＡであり、その２５％がＰＬＡ－ＰＥＧ－Ｎｉｃであるポリマーとを含有した。次に２６、４０、５４、および６９日目に、血清抗ニコチン抗体を測定した。ポリリジン－ニコチンに対して標準ＥＬＩＳＡで測定された、抗ニコチン抗体のEC_{50}値を図１に示す。

【０２５４】

ＮＣ－ＮｉｃからのＲ８４８の放出速度は、３７℃で２４時間のインキュベーション（ｐＨ＝４．５）で、１ｍｇのＮＣ－Ｎｉｃあたり１９．８μｇであった。同様の処置は、ＮＣ－Ｎｉｃからのいかなる検出可能なＰＥＧ－ニコチン抗原の放出ももたらさなかった。ＰＥＧ－ニコチンは（NH_4OHまたはＴＦＡでの処理時に）極端なｐＨ値においての

みＮＣ－Ｎｉｃから放出され、５．２％の放出を示した（１ｍｇのＮＣ－Ｎｉｃあたり５２μｇ）。

【０２５５】

この実験は、生理学的条件（ｐＨ＝４．５）で抗原（ＰＥＧ－ニコチン）よりもはるかにより高速にＮＣ－Ｎｉｃから放出されるＲ８４８（Ｔｈ１アジュバント、ＴＬＲ７／８作動薬）を有するＮＣ－Ｎｉｃの利用が、ＮＣの保有抗原に対する強力で長期にわたる体液性免疫応答を生じさせることを実証する。アジュバントＲ８４８もまた保有するＮＣ－Ｎｉｃ（ＰＬＡ－ＰＥＧ－ニコチンの形態で外面にニコチンを提示するナノキャリア）による免疫化後の抗体誘導。

【図１】

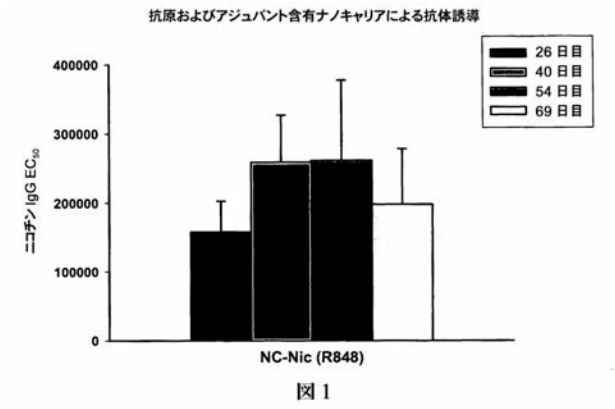


図１

【手続補正書】
【提出日】平成29年6月26日(2017.6.26)
【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】
（ａ）合成ナノキャリアと共役している免疫調節薬、および
（ｂ）前記合成ナノキャリアと共役している抗原
を含むナノキャリア
を含んでなる組成物であって、前記免疫調節薬および抗体が、
ＩＡ（ｒｅｌ）％／Ａ（ｒｅｌ）％≧１．２
の関係式に従って前記合成ナノキャリアから分離し、
式中、
ＩＡ（ｒｅｌ）％は、重量％として表され、前記合成ナノキャリアのサンプル全体を平均した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して放出される前記免疫調節薬の重量と、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して前記合成ナノキャリア中に保持される前記免疫調節薬の重量との和によって除した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して放出される前記免疫調節薬の重量と定義され、
Ａ（ｒｅｌ）％は、重量％として表され、前記合成ナノキャリアのサンプル全体を平均した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して放出される抗体の重量と、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して合成ナノキャリア中に保持される前記抗体の重量との和によって除した、ｐＨ＝４．５で２４時間にわたる生体外水性環境に対する前記合成ナノキャリアの曝露に際して放出される前記抗体の重量と定義される、組成物。

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 61/217,129
(32)優先日 平成21年5月27日(2009.5.27)
(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 リプフォード，グレイソン，ビー.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２４７２、ウォータータウン、グレンビル ロード ４５
(72)発明者 ゼップ，チャールズ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０１０３７、ハードウィック、ノース ロード ９４０、ピー．オー．ボックス ３４７
(72)発明者 ガオ，ユン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０１７７２、サウスバーロウ、デーヴィス ロード ７
(72)発明者 キーガン，マーク，ジェイ.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０１４５０、グロトン、ノースウォッズ ロード １３７
(72)発明者 ボールドウィン，サム
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０１８８６、ウェストフォード、アルメリア サークル １２
(72)発明者 フウ，フェンーニイ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０１５３２、ノースバーロウ、ブックヒル ロード ２
(72)発明者 ジョンストン，ロイド
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２４７８、ベルモント、オークレー ロード ２４

Ｆターム(参考) 4C084 AA17 MA02 NA05 ZB072 ZB091 ZB092 ZC751
4C085 AA03 AA25 BA01 CC03 DD51 EE01 EE06 FF17
4C086 AA01 AA02 CB05 MA02 MA04 NA05 ZB07 ZC75

【外国語明細書】
2017200925000001.pdf