

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成21年4月16日 (2009.4.16)

【公表番号】特表2008-531672(P2008-531672A)

【公表日】平成20年8月14日 (2008.8.14)

【年通号数】公開・登録公報2008-032

【出願番号】特願2007-557589(P2007-557589)

【国際特許分類】

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 9/16 (2006.01)

A 6 1 K 9/50 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/295 (2006.01)

A 6 1 K 39/07 (2006.01)

A 6 1 K 47/18 (2006.01)

A 6 1 K 9/19 (2006.01)

A 6 1 K 39/39 (2006.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 39/00 H

A 6 1 P 37/04

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 9/16

A 6 1 K 9/50

A 6 1 K 47/34

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 K 39/295

A 6 1 K 39/07

A 6 1 K 47/18

A 6 1 K 9/19

A 6 1 K 39/39

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成21年3月2日 (2009.3.2)

【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】

以下を含むマイクロ粒子組成物：

(a) 生分解性ポリマー；

- (b) 免疫原性一本鎖リボ核酸 (ssRNA) ;
- (c) 生物学的に活性な巨大分子 ; 及び
- (d) 安定化剤 ;

ここで前記生物学的に活性な巨大分子、一本鎖リボ核酸 (ssRNA) 及び安定化剤は生分解性ポリマーの内側及び / 又は内部に被包化されて、前記マイクロ粒子の自由な外側表面を提供する。

【請求項 2】

前記生分解性ポリマーが生体適合性であり、さらに哺乳動物組織で分解する、請求項1に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 3】

前記生分解性ポリマーが脂肪族ポリエステルである、請求項1又は2のいずれかに記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 4】

前記生分解性ポリマーがポリラクチドである、請求項1から3のいずれかに記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 5】

前記免疫原性ssRNAが、前炎症性及び / 又は抗ウイルス性サイトカインの産生を刺激することができる、請求項1から4のいずれかに記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 6】

前記ssRNAが抗ウイルス性サイトカインの産生を刺激する、請求項5に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 7】

前記抗ウイルス性サイトカインがIFN- 及び / 又はINF- 及び / 又はIL-12である、請求項6に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 8】

前記ssRNAが宿主細胞のトール様レセプター (TLR) を刺激することができる、請求項1から7のいずれかに記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 9】

前記ssRNAがTLR-7及び / 又はTLR-8を刺激する、請求項8に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 10】

前記ssRNAが、主に単一種の塩基に富む配列を有する、請求項1から9のいずれかに記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 11】

前記ssRNA配列が主にグアニン及び / 又はウラシルで構成される、請求項10に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 12】

前記ssRNAがポリウリジル酸である、請求項10又は11に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 13】

前記生物学的に活性な巨大分子がオリゴデオキシヌクレオチド又は病原体に特異的な抗原である、請求項1から12のいずれかに記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 14】

前記生物学的に活性な巨大分子が細菌病原体又はウイルス病原体に特異的な抗原である、請求項13に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 15】

前記生物学的に活性な巨大分子が炭疽菌の組換え防御抗原 (rPA) である、請求項13又は14に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 16】

前記生物学的に活性な巨大分子が腫瘍細胞上で発現される抗原である、請求項1から15に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 17】

前記安定化剤が、前記ssRNAと複合体を形成することができる医薬的に許容される化合物である、請求項1から16のいずれかに記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 18】

前記安定化剤が陽イオンポリマー又は陽イオン脂質である、請求項17に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 19】

前記安定化剤がN-[1-(2,3-ジオレオイルオキシ)プロピル]-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリドである、請求項17又は18に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 20】

前記組成物が全体として正味の陽性荷電を有する、請求項1から19のいずれかに記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 21】

前記組成物が、0から100mVの範囲、好ましくは20から80mVの範囲、さらに好ましくは30から60mVの範囲のゼータ電位を有する、請求項20に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 22】

前記生成マイクロ粒子が、0.1から5 μ mの範囲、さらに好ましくは0.2から4 μ mの範囲の平均直径を有する、請求項1から21のいずれかに記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 23】

前記マイクロ粒子が約1 μ mの平均直径を有する、請求項22に記載のマイクロ粒子組成物。

【請求項 24】

以下の工程を含む、請求項1から23のいずれかに記載のマイクロ粒子組成物を製造する方法：

(a) 生分解性ポリマー溶液を調製する工程；

(b) 免疫原性ssRNA及び生物学的に活性な巨大分子を含む溶液を(a)の溶液に添加し、エマルジョンを生成する工程；

(c) 安定化剤を含む溶液に工程(b)のエマルジョンを添加し、二重エマルジョンを生成する工程；

(d) 前記溶媒を除去する工程；及び

(e) 生成マイクロ粒子を収集する工程。

【請求項 25】

前記マイクロ粒子がさらに凍結乾燥工程に付される、請求項24に記載の方法。

【請求項 26】

請求項1から23のいずれかに記載のマイクロ粒子組成物及び医薬的に許容されるアジュバント及び/又は賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項 27】

医学分野で使用するための、請求項26に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

病原体感染の治療を目的とする医薬の製造における、請求項26に記載の医薬組成物の使用。

【請求項 29】

宿主細胞のトール様レセプターの刺激を目的とする医薬の製造における、請求項26に記載の医薬組成物の使用。

【請求項 30】

癌の治療を目的とする医薬の製造における、請求項26に記載の医薬組成物の使用。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0003

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0003】

形質細胞様樹状突起細胞は、極めて高レベル（通常の細胞よりも1000倍まで）のI型インターフェロンを産生することができる。形質細胞様樹状突起細胞は、多くのウイルス感染に対する全身的インターフェロン応答に必要であると考えられている。ある種のCpGオリゴヌクレオチドによる形質細胞様樹状突起細胞の刺激は、高レベルのインターフェロンの産生をもたらす。CpG DNAはエンドソーム区画内でTLR9と相互作用すると考えられている。最近になって、ネズミの形質細胞様樹状突起細胞は、高グアニン及びウラシル一本鎖RNA配列（ssRNA）による刺激後に、高レベルのIFN- γ を産生することができることが示された（Diebold et al. Science, 2004, 303:1529）。前記の作用は（マウスでは）TLR7によって仲介されることを示す良好な証拠が存在する。TLR9と同様に、TLR7は、エンドソーム区画内で病原体関連分子型と相互作用すると考えられる。TLR7の細胞内分布（すなわちエンドソーム区画における分布）は、細胞質ゾル中の“自己”ssRNAによる活性化を妨げる。しかしながら、ssRNA単独では形質細胞様樹状突起細胞からのIFN- γ 産生を効率的に刺激することができないことは一般的に容認されている。これは、ssRNAはヌクレアーゼ攻撃に特に感受性を有し、さらにまたssRNAの形質膜からの取り込みは特に貧弱であるためである。

したがって、そのようなssRNA分子が免疫療法での使用に適切であるように、それらを安定化させる手段を提供することが希求されている。ssRNAを安定化させるための手段は、ssRNAの免疫刺激特性を維持しながらヌクレアーゼ攻撃から前記RNAを保護しなければならない。さらにまた、ssRNAを安定化させるための手段は、理想的には、ssRNAによって誘引される一般的な免疫応答が投与又は同時投与され得るいずれの特定の治療法も妨害することがないように、免疫原性化合物をデリバーする時点で存在している手段と相互に補足しあう形態でなければならない。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

本方法で使用されるssRNAは、本明細書に既に記載したリストから選択され、水性溶液（例えば蒸留水又は水性緩衝液）に都合よく溶解され、さらに生分解性ポリマーは水に非混和性の溶媒、例えば有機溶媒（たとえばジクロロメタン）に溶解されるが、ただし、それらを混合したときにエマルジョンを形成することができることを条件として、任意の溶媒の組合せを用いることができることは当業者には理解されよう。生分解性ポリマーは本明細書で既に提供された選択肢リストから都合よく選択される。さらにまた、安定化剤も既に上記に記載した安定化剤から選択することができ、さらに、安定化剤の溶液を第一の溶液（すなわち工程（b）で生成したエマルジョン）に添加したときに二重エマルジョンが生成されるように任意の溶媒に溶解させることができることは理解されよう。したがって、工程（c）で安定化剤を溶解させるために、水性又は水に混和性の溶媒を用いることが好ましい。そのような組合せは、水-油-水（w-o-w）二重エマルジョンを生成するが、油-水-油（o-w-o）二重エマルジョンも同等に適切であり得ることは理解されよう。第一のエマルジョン（すなわち工程（b）で生成されたエマルジョン）は、工程（c）の安定化剤溶液に添加される。添加はこの順序で実施されることが好ましいが、安定化剤の溶液を工程（b）のエマルジョンに添加することによって適切な二重エマルジョン（及びしたがってミクロ粒子）を生成することも可能である。工程（b）のエマルジョンを安定化剤の溶液に攪拌しながら添加することが好ましい。なぜならば、本発明者らはこれによってより良好なミクロ粒子が提供されることを見出したからである。工程（b）のエマルジョンは激しく攪拌しながら安定化剤の溶液に滴々と添加するのがより好ましい。溶媒除去工程（d）は、任意の通常的手段（例えば定常的攪拌、真空又は加熱蒸発）によって実施し、さらに生成ミクロ粒子は、例えばろ過又は遠心によって収集することができる。ミクロ粒子は超遠心によって収集されるのがより好ましい。続いて、ミクロ粒子を収集して直接使

用するか、又は更なる処理、加工又は処方に付し、例えば医薬的に許容される化合物と一緒にして医薬組成物を生成することができる。更なる加工はいくつかの応用については望ましいかもしれないが、ほとんどの事例で更なる加工は不要であろう。なぜならば生成マイクロ粒子は更なる加工を加えずに用いられるときに有効なサイズを有するからである。

本発明の方法にしたがって調製したマイクロ粒子組成物は、長期にわたって乾燥粉末として保存することができるようにさらに凍結乾燥工程に付すことができる。本発明者らは、そのような凍結乾燥組成物は数ヶ月間安定であり、さらに、例えば通常の吸入装置による粘膜投与のために、乾燥粉末として直接それらを用いることができるという利点を有することを見出した。また別には、乾燥粉末は、必要に応じて及び必要なときに再水和させることができ、このことは非経口投与に適した組成物の調製に特に有利である。

本発明は、これから添付の図面を参照しながら例示によって詳細に説明されるであろう。