

【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20年8月14日(2008.8.14)

【公表番号】特表2003-535146(P2003-535146A)

【公表日】平成15年11月25日(2003.11.25)

【出願番号】特願2002-501476(P2002-501476)

【国際特許分類】

C 0 7 H 21/04 (2006.01)

A 6 1 K 31/712 (2006.01)

A 6 1 K 39/39 (2006.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

【F I】

C 0 7 H 21/04 Z

A 6 1 K 31/712

A 6 1 K 39/39

A 6 1 P 37/04

【手続補正書】

【提出日】平成20年6月26日(2008.6.26)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

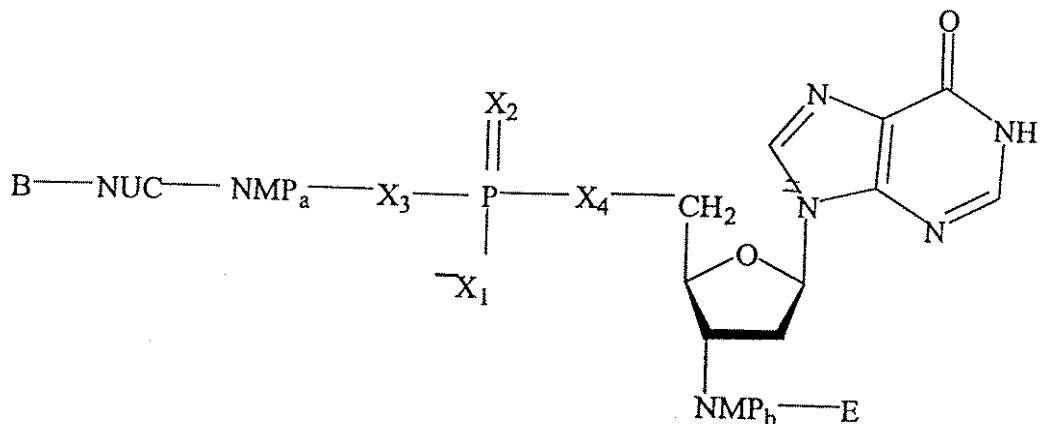
【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 免疫促進性医薬組成物の製造のための、式 (I) :

【化 1】



(I)

(式中、Xはいずれも O または S、

NMP はいずれも、デオキシアデノシンー、デオキシグアノシンー、デオキシイノシンー、デオキシシトシンー、デオキシウリジンー、デオキシチミジンー、2-メチルデオキシイノシンー、5-メチルデオキシシトシンー、デオキシプソイドウリジンー、デオキシリボースプリンー、2-アミノデオキシリボースプリンー、6-S-デオキシグアニンー、2-ジメチルデオキシグアノシンーまたは N-イソペンテニルデオキシアデノシンーモノホスフェートまたはモノチオホスフェートよりなる群から選ばれた 2' デオキシヌクレオシドモノホスフェートまたはモノチオホスフェート、

NUCは、デオキシアデノシンー、デオキシグアノシンー、デオキシイノシンー、デオキシシトシンー、デオキシウリジンー、デオキシチミジンー、2-メチルデオキシイノシンー、5-メチルデオキシシトシンー、デオキシプソイドウリジンー、デオキシリボースプリンー、2-アミノデオキシリボースプリンー、6-S-デオキシグアニンー、2-ジメチルデオキシグアノシンーまたはN-イソペンテニルデオキシアデノシンよりなる群から選ばれた2'デオキシヌクレオシド、

aおよびbは0～100の整数であり、ただしa+bは4～150である、

BおよびEは核酸分子の5'末端または3'末端の一般的な基)
の構造を有するオリゴデオキシ核酸分子(ODN)の使用。

【請求項2】 NMPが、デオキシアデノシンー、デオキシグアノシンー、デオキシイノシンー、デオキシシトシンー、デオキシウリジンー、デオキシチミジンー、2-メチルデオキシイノシンー、5-メチルデオキシシトシンーモノホスフェートまたはモノチオホスフェートよりなる群から選ばれる、請求項1に記載の使用。

【請求項3】 a+bが10～60、好ましくは15～40である、請求項1または2に記載の使用。

【請求項4】 X_1 および X_2 の少なくとも一方がSであり、 X_3 および X_4 の少なくとも一方がOであり、好ましくはNMPがいずれもヌクレオシドモノチオホスフェートである、請求項1ないし3のいずれかに記載の使用。

【請求項5】 該ODNが、下記配列：

h h h w d i d h h h、
n h h h h h h w d i n h h h h h h h h h w n、
n h h w d i d i n h h h h d i n d i n h、
n h h h h h h w d i d h h h h h h h h h w nまたは
n h h w d i d i d h h h h d i d d i d h

(式中、nはいずれも、デオキシアデノシンー、デオキシグアノシンー、デオキシシトシンーまたはデオキシチミジンーモノホスフェートまたはモノチオホスフェートよりなる群から選ばれた2'-デオキシヌクレオシドモノホスフェートまたはモノチオホスフェート、

hはいずれも、デオキシアデノシンー、デオキシシトシンーまたはデオキシチミジンーモノホスフェートまたはモノチオホスフェートよりなる群から選ばれた2'-デオキシヌクレオシドモノホスフェートまたはモノチオホスフェート、

iは、デオキシイノシンーモノホスフェートまたはモノチオホスフェート、

wはいずれも、デオキシアデノシンーまたはデオキシチミジンーモノホスフェートまたはモノチオホスフェートよりなる群から選ばれた2'-デオキシヌクレオシドモノホスフェートまたはモノチオホスフェート、

dはいずれも、デオキシアデノシンー、デオキシグアノシンーまたはデオキシチミジンーモノホスフェートまたはモノチオホスフェートよりなる群から選ばれた2'-デオキシヌクレオシドモノホスフェートまたはモノチオホスフェート)
を含む、請求項1ないし4のいずれかに記載の使用。

【請求項6】 該ODNが、2'-デオキシイノシンーモノホスフェートまたはモノチオホスフェートに3'側にて隣接した2'-デオキシシトシンーモノホスフェートまたはモノチオホスフェートを少なくとも一つ含む、とりわけデオキシイノシンーデオキシシトシン26-merである、請求項1ないし5のいずれかに記載の使用。

【請求項7】 該ODNが、下記配列：

g a c i t t、
i a c i t t、
g a i c t t、
i a i c t t

(式中、aはデオキシアデノシンーモノホスフェートまたはモノチオホスフェート、

gはデオキシグアノシンーモノホスフェートまたはモノチオホスフェート、

i はデオキシイノシンーモノホスフェートまたはーモノチオホスフェート、
 c はデオキシシトシンーモノホスフェートまたはーモノチオホスフェート、
 t はデオキシチミジンーモノホスフェートまたはーモノチオホスフェート)
 を含む、とりわけ t c c a t g a c i t t c c t g a t g c t である、請求項 1 ないし 6 のいずれかに記載の使用。

【請求項 8】 該 ODN が、下記配列：

w d i、
 w d i d、
 w d i d i n または
 w d i d i d

(式中、w、d、i および n は前記と同じ)
 を含む、請求項 1 ないし 7 のいずれかに記載の使用。

【請求項 9】 B および E が、 $-H$ 、 $-CH_3$ 、 $-COH$ 、 $-COCH_3$ 、 $-OH$ 、 $-CHO$ 、 $-PO_4$ 、 $-PSO_3$ 、 $-PS_2O_2$ 、 $-PS_3O$ 、 $-PS_4$ 、 $-SO_3$ 、 $-PO_4-(CH_2)_{1-6}-NH_2$ または $-PO_4-(CH_2)_{1-6}-NH$ 標識よりなる群から独立に選ばれる、請求項 1 ないし 8 のいずれかに記載の使用。

【請求項 10】 該免疫促進性医薬組成物がワクチンである、請求項 1 ないし 9 のいずれかに記載の使用。

【請求項 11】 請求項 1 ないし 9 のいずれかに記載の ODN を含む医薬組成物。

【請求項 12】 請求項 1 ないし 9 のいずれかに記載の ODN および抗原を含む医薬組成物。

【請求項 13】 さらにポリカチオン性ポリマー、好ましくはポリカチオン性ペプチド、とりわけポリアルギニン、ポリリシンまたは抗菌性ペプチド、とりわけカテリシジン由来の抗菌性ペプチド、3～7 の疎水性アミノ酸のリンカーによって隔てられた少なくとも 2 つの K L K モチーフを含む合成ペプチドまたは成長ホルモン、とりわけヒト成長ホルモンを含む、請求項 11 または 12 に記載の医薬組成物。

【請求項 14】 さらに活性成分、とりわけサイトカイン、抗炎症性物質、抗菌性物質またはそれらの組み合わせを含む、請求項 11 ないし 13 のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項 15】 さらに補助物質、とりわけ薬理学的に許容しうる担体、緩衝液物質、安定化剤またはそれらの組み合わせを含む、請求項 11 ないし 14 のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項 16】 請求項 1 ないし 9 のいずれかに記載の 1 またはそれ以上の ODN を $1\text{ ng} \sim 1\text{ g}$ 、好ましくは $100\text{ ng} \sim 10\text{ mg}$ 、とりわけ $10\text{ }\mu\text{ g} \sim 1\text{ mg}$ 含む、請求項 11 ないし 15 のいずれかに記載の医薬組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0044

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0044】

実施例 1：種々の I-ODN とポリ L-アルギニン (pR60) とを組み合わせた注射は卵アルブミン由来のペプチドに対する免疫応答を相乗的に促進する

マウス：

C57B1/6 (Harlan/Olac)

ペプチド：

ニワトリ卵アルブミンの MHC クラス I (H-2Kb) 拘束エピトープである OVA₂₅₇₋₂₆₄ ペプチド (S I I N F E K L) (ロットシュク (Rotzschke) ら、1991) を標準固相 Fmoc 化学合成法を用いて合成し、HPLC 精製し、ついで純度をマスマスペクトロメトリーにより分析した。投与量： $300\text{ }\mu\text{ g}$ /マウス。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0045

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0045】

ポリ L-アルギニン 60 (pR60) :

平均重合度が 60 アルギニン残基のポリ L-アルギニン ; SIGMA chemicals. 投与量 : 100 μ g / マウス。

CpG-ODN 1668 :

CpG モチーフを含むチオホスフェート置換 ODN : t c c a t g a c g t t c c
t g a t g c t を NAPS GmbH、ゲッチングゲンにより合成した。投与量 : 5 ナノモル / マウス。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0048

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0048】

第 0 日目にマウスの後ろ足に上記化合物を含む全量 100 μ l (各足当たり 50 μ l) を注射した。注射 4 日後に動物を屠殺し、膝窩リンパ節を回収した。リンパ節を 70 μ m セルストレーナーに通し、5% ウシ胎仔血清 (FCS、SIGMA chemicals) を含む DME M 培地 (GIBCO BRL) で 2 回洗浄した。細胞を DMEM / 5% / FCS 中に 3×10^6 細胞 / ml に調節した。IFN- γ ELISPOT アッセイを記載に従って (ミヤヒラ (Miyahira) ら、1995) 3 回ずつ行った。この方法は、抗原特異的な T 細胞の定量をするために広く用いられている手順である。リンパ球をイクスビポにて培地バックグラウンドコントロール、OVA₂₅₇₋₂₆₄ ペプチドまたはコンカナバリン A (ConA) で刺激した。単一の IFN- γ 産生 T 細胞を表すスポットをカウントし、バックグラウンドスポットの数を全試料から差し引いた。ConA で刺激した後に検出された多数のスポット (データは示していない) は、使用したリンパ球が良好な状態にあることを示している。マウスの各実験群について図 1 にスポット数 / 1×10^6 細胞を示す。

注射 1 時間後に尾静脈より採血し、血清を調製して全身的な TNF- α の誘発を ELISA を用いて決定した (図 2)。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0056

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0056】

w d i :

チオホスフェート置換 ODN : n h h h h h h w d i n h h h h h h w n を NAPS GmbH、ゲッチングゲンにより合成した。投与量 : 5 ナノモル / マウス。

w d i d i n :

チオホスフェート置換 ODN : n h h w d i d i n h h h h d i n d i n h を NAPS GmbH、ゲッチングゲンにより合成した。投与量 : 5 ナノモル / マウス。

w d i d :

チオホスフェート置換 ODN : n h h h h h h w d i d h h h h h h w n を NAPS GmbH、ゲッチングゲンにより合成した。投与量 : 5 ナノモル / マウス。

w d i d i d :

チオホスフェート置換 ODN : n h h w d i d i d h h h h d i d d i d h を NAPS GmbH、ゲッチングゲンにより合成した。投与量 : 5 ナノモル / マウス。

PS GmbH、ゲッチングンにより合成した。投与量：5 ナノモル／マウス。