

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6512568号
(P6512568)

(45) 発行日 令和1年5月15日(2019.5.15)

(24) 登録日 平成31年4月19日(2019.4.19)

(51) Int. Cl.	F 1		
A 6 1 K 39/00	(2006.01)	A 6 1 K 39/00	Z N A H
A 6 1 K 39/39	(2006.01)	A 6 1 K 39/39	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/04	(2006.01)	A 6 1 P 37/04	

請求項の数 8 (全 91 頁)

(21) 出願番号	特願2014-14802 (P2014-14802)	(73) 特許権者	000003964
(22) 出願日	平成26年1月29日 (2014.1.29)		日東電工株式会社
(65) 公開番号	特開2014-169277 (P2014-169277A)		大阪府茨木市下穂積 1 丁目 1 番 2 号
(43) 公開日	平成26年9月18日 (2014.9.18)	(73) 特許権者	504176911
審査請求日	平成29年1月27日 (2017.1.27)		国立大学法人大阪大学
(31) 優先権主張番号	特願2013-20906 (P2013-20906)		大阪府吹田市山田丘 1 番 1 号
(32) 優先日	平成25年2月5日 (2013.2.5)	(74) 代理人	100081422
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		弁理士 田中 光雄
		(74) 代理人	100084146
			弁理士 山崎 宏
		(74) 代理人	100106518
			弁理士 松谷 道子
		(74) 代理人	100122301
			弁理士 富田 憲史

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 経皮投与用WT 1ペプチド癌ワクチン組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) WT 1 ペプチドおよび / または 改変 WT 1 ペプチド ; ここで、改変 WT 1 ペプチドは、WT 1 ペプチドのアミノ酸配列において、1 個、2 個、3 個または 4 個のアミノ酸が置換、欠失、付加または修飾されたアミノ酸配列からなるペプチドである、ならびに (i i) 細胞性免疫誘導促進剤としての、エトドラク、ロキソプロフェンおよび / またはその塩、インドメタシン、アスピリン、ジクロフェナク、ケトプロフェン、セレコキシブおよびバルデコキシブよりなる群から選ばれたシクロオキシゲナーゼ阻害剤を含む、細胞性免疫誘導のための経皮投与用癌ワクチン組成物。

【請求項 2】

細胞性免疫誘導促進剤として、さらに T L R 7 リガンドを含む、請求項 1 の経皮投与用癌ワクチン組成物。

【請求項 3】

シクロオキシゲナーゼ阻害剤がロキソプロフェンおよび / またはその塩である、請求項 1 または 2 の経皮投与用癌ワクチン組成物。

【請求項 4】

T L R 7 リガンドがイミキモドである、請求項 2 または 3 の経皮投与用癌ワクチン組成物。

【請求項 5】

細胞性免疫誘導促進剤として、さらにヘルパーペプチドを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれ

か1項の経皮投与用癌ワクチン組成物。

【請求項6】

低刺激条件下で投与されるものである、請求項1～5のいずれか1項の経皮投与用癌ワクチン組成物。

【請求項7】

低刺激条件が、皮膚刺激評価用モデル動物における該組成物の投与前の経皮水分蒸散量(TEWL)が $50\text{ g/h}\cdot\text{m}^2$ 以下の条件である、請求項6の経皮投与用癌ワクチン組成物。

【請求項8】

低刺激条件が、皮膚刺激評価用モデル動物における該組成物の投与終了時の皮膚内TSLPレベルが 10000 pg/mg タンパク質以下の条件である、請求項6または7の経皮投与用癌ワクチン組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、医薬組成物、より具体的にはワクチン組成物に関する。さらに具体的には、本発明は、WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチド、ならびに細胞性免疫誘導促進剤を含む経皮投与用癌ワクチンに関する。

【背景技術】

【0002】

癌ワクチンは、ウイルスによって引き起こされる癌を予防するためにウイルス感染を防止するという観点のもの、癌特異的抗原を免疫機構、特に細胞障害性T細胞(CTL)が重要な役割を果たす細胞性免疫機構に認識させることによって、癌細胞を免疫系によって特異的に攻撃するという観点のものがある。前者はウイルスが関与しない癌には全く有効でないが、後者は癌細胞自体が有する抗原をターゲットとする癌治療戦略であるため、抗原を特定することによって、その抗原を有する癌に広く有効であると考えられている。とりわけ後者の観点に基づく癌ワクチンは、外科手術によって切除が困難なサイズの腫瘍を治療でき、化学療法や放射線療法などの従来の治療と比較して副作用が低い。

【0003】

WT1(Wilm's腫瘍)遺伝子は多くの造血器腫瘍や固形癌、例えば急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形性症候群、多発性骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、肺癌、乳癌、胃癌、大腸・直腸癌、膵臓癌、胆管癌、頭頸部扁平上皮癌、甲状腺癌、腎臓癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮癌、骨軟部肉腫、悪性黒色腫、悪性中皮腫、精巣胚細胞腫瘍および悪性グリオーマにおいて過剰発現されて、WT1遺伝子産物であるWT1蛋白を癌細胞内で過剰産生する。WT1蛋白は癌細胞内で断片化され、8～12個のアミノ酸からなる部分ペプチドであるWT1ペプチドが生じる。WT1ペプチドは、癌細胞内でMHC class I分子と結合したものが癌細胞表面に移動し、癌細胞表面にてMHC class I分子に結合した形で抗原として提示され、癌細胞の目印となる。WT1ペプチドのアミノ酸配列は、細胞のMHC class I分子の型に適合した配列となる。例えばHLA-A*0201型MHCを有する細胞の場合は、WT1ペプチドとして、9アミノ酸からなるDb126ペプチド等のHLA-A*0201型MHC拘束性ペプチドが生じ、HLA-A*2402型MHCを有する細胞の場合は、WT1ペプチドとして9アミノ酸からなるDb235ペプチド等のHLA-A*2402型MHC拘束性ペプチドが生じる。HLA-A26型(WO2005/095598)、HLA-A*3303型(WO2007/097358)、HLA-A*1101型(WO2008/081701)など、他のMHCを有する細胞の場合は、それぞれのMHC拘束性のWT1ペプチドが生じる。抗原として、WT1ペプチド、あるいはその一部アミノ酸を置換あるいは修飾した改変WT1ペプチドを生体に投与した場合(ここで、抗原として投与されたWT1ペプチドまたは改変WT1ペプチドを“WT1抗原ペプチド”と称する)、WT1抗原ペプチドは、抗原提示細胞である樹状細胞の表面でMHC class I分

10

20

30

40

50

子に結合するか、一旦樹状細胞に取り込まれて樹状細胞内でMHC class I分子と結合したものが樹状細胞表面に移動してくるかして、樹状細胞表面にてMHC class I分子に結合した形で抗原として提示される。WT1抗原ペプチド/MHC class I分子複合体を持つ活性化樹状細胞は所属リンパ節に移動し、そのWT1抗原ペプチド/MHC class I分子複合体を認識するCD8陽性Tリンパ球を活性化し、細胞障害性T細胞(CTL)に分化、増殖させる。CTLは、WT1抗原ペプチドと同じアミノ酸配列のWT1ペプチド(内因性WT1蛋白由来)とMHC class I分子の複合体を持つ腫瘍細胞、あるいはWT1抗原ペプチドと交叉免疫反応性を有するアミノ酸配列のWT1ペプチド(内因性WT1蛋白由来)とMHC class I分子の複合体を持つ腫瘍細胞を認識し、その腫瘍細胞を攻撃する。したがって、Db126ペプチド、Db235ペプチドのような、上記の各種MHC拘束性のWT1ペプチド、それらの一部アミノ酸を置換あるいは修飾した改変WT1ペプチドは、癌ワクチンとして有用である(非特許文献1)。

10

【0004】

WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドの癌ワクチンとしての作用を高めるために、アジュバントを利用することも知られている。WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドのアジュバントとして、例えば水酸化アルミニウムのごとき鉱物ゲル; リソレシチン、プルロニックポリオールのごとき界面活性剤; ポリアニオン; ペプチド; または油乳濁液(特許文献1)、あるいはGM-CSF、BCG-CWSまたはモンタナイド(Montanide)ISA51(非特許文献1)が知られている。これら以外にも

20

【0005】

様々なワクチンアジュバントが知られており、例えば1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン、例えばイミキモド(特許文献2)、環状ジGMP(c-di-GMP)のような環状ジヌクレオチド類似体(特許文献3および特許文献4)、TLR2,3,7,8,9リガンド(特許文献5)が挙げられる。また、イミキモド含有ペプチド経皮免疫にPeptide-25を加えることで、さらに免疫が増強されることも知られている(非特許文献2)。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特許第4422903号公報

【特許文献2】特表平7-505883号公報

【特許文献3】特表2007-529531号公報

【特許文献4】米国特許出願公開US2008/0286296号

【特許文献5】米国特許出願公開US2008/0193487号

【特許文献6】特表2002-531415号公報

【特許文献7】米国特許出願公開US2008/0112974号

40

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Yoshihiro Oka et al., Current Opinion in Immunology, 20: 211-220 (2008)

【非特許文献2】Hosoi Akihiro et al., Cancer Research, 68, 3941-3949 (2008)

【非特許文献3】Zhengrong Cui et al., Pharmaceutical Research, Vol.19, No.7, 947-953 (2002)

50

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

ワクチンの効能を高めるためにアジュバントを用いることが周知であるが、好適なアジュバントは、一般に、抗原の種類、投与経路、誘導したい免疫（すなわち細胞性免疫か液性免疫か）等に依存して変化する。また、アジュバント以外にも免疫誘導を促進する種々の物質が存在する。そこで本発明は、より効能が高く、利便性の高い癌ワクチン用組成物を提供することを目的とする。

【0009】

広く使用されているワクチンは、免疫を誘導するために、微生物もしくはウイルスそのものまたはそれらの一部を投与するものである。通常微生物やウイルスはそのサイズの為に皮膚によって侵入が阻止されるため、ワクチンは、侵襲的に体内に投与される必要がある。したがって、免疫には注射が一般的に利用される。しかし、注射には、痛み、恐怖心、注射痕およびそれに続く癬痕化、医療従事者にしか許されていないこと、免疫効果の高い皮内注射は投与手技が難しいこと、医療従事者の針刺し感染事故のリスクがあること、繰返し投与を行う場合は通院が患者の生活の負担となること、注射針など特殊廃棄の必要な医療廃棄物が生じること等の問題があるため、それは必ずしも最適な投与経路とはいえない。

【0010】

WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドはMHC class I分子を介してCTL（細胞傷害性T細胞）を活性化し得る、すなわち細胞性免疫を誘導し得る。またWT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドは、8~12アミノ酸からなる分子量約700~約1600の分子であり、低分子とはいえないが微生物やウイルスそのものよりもかなり小さいので、注射以外の投与経路で投与できる可能性も考えられたが、未だそのような製剤は開発されていない。その理由は、好適な細胞性免疫誘導促進剤が不明であったこと、細胞性免疫誘導に適した組織に抗原を送達できるか不明であったことなど多岐にわたる。とりわけ、注射以外の投与経路において細胞性免疫を誘導するために抗原を投与する場合に用いることができる細胞性免疫誘導促進剤が不明であった。

【課題を解決するための手段】

【0011】

経皮投与により、良好な細胞性免疫誘導効果が得られることを見出した。そしてWT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドの経皮投与による細胞性免疫誘導に好適な物質を探索した結果、TLR1/2リガンド、TLR2およびDectin1リガンド、TLR2/6リガンド、TLR3リガンド、TLR4リガンド、TLR5リガンド、TLR7および/またはTLR8リガンド、ならびにTLR9リガンドのようなTLRリガンド；環状ジGMP及び環状ジAMPのような環状ジヌクレオチド；ベスタチン、ピドチモドおよびレバミゾール塩酸塩のような免疫調節低分子薬物；エトドラクおよびロキソプロフェンのようなシクロオキシゲナーゼ阻害剤；EP2受容体拮抗薬、EP4受容体拮抗薬、DP受容体拮抗薬、IP受容体拮抗薬のようなプロスタグランジン受容体拮抗薬；EP3受容体作動薬のようなプロスタグランジン受容体作動薬；塩化ベルベリンおよびナリンゲニンのようなTSLP産生抑制剤；2',5'-ジデオキシアデノシンおよびナイアシンのようなアデニル酸シクラーゼ阻害剤；エイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸のようなオメガ3脂肪酸；PPAR- α 作動薬、PPAR- β 作動薬、PPAR- γ 作動薬のようなPPAR作動薬；D1受容体拮抗薬、D5受容体拮抗薬のようなドーパミン受容体拮抗薬；D2受容体作動薬、D3受容体作動薬、D4受容体作動薬のようなドーパミン受容体作動薬；H1受容体拮抗薬、H2受容体拮抗薬のようなヒスタミン受容体拮抗薬；H1受容体作動薬、H3受容体作動薬、H4受容体作動薬のようなヒスタミン受容体作動薬；5-HT2受容体拮抗薬、5-HT4受容体拮抗薬、5-HT6受容体拮抗薬、5-HT7受容体拮抗薬のようなセロトニン受容体拮抗薬；5-HT1受容体作動薬、5-HT2受容体作動薬のようなセロトニン受容体作動薬；V2受容体拮抗薬のようなバソプ

10

20

30

40

50

レシン受容体拮抗薬；V1受容体作動薬のようなバソプレシン受容体作動薬；M1受容体拮抗薬、M3受容体拮抗薬、M5受容体拮抗薬のようなムスカリン受容体拮抗薬；M1受容体作動薬、M2受容体作動薬、M3受容体作動薬、M4受容体作動薬、M5受容体作動薬のようなムスカリン受容体作動薬；1受容体拮抗薬、1受容体拮抗薬、2受容体拮抗薬、3受容体拮抗薬のようなアドレナリン受容体拮抗薬；1受容体作動薬、2受容体作動薬のようなアドレナリン受容体作動薬；AT2受容体作動薬のようなアンジオテンシン受容体作動薬；GABA_B受容体作動薬のようなGABA受容体作動薬；PAR-1受容体拮抗薬のようなトロンピン受容体拮抗薬；PAR-1受容体作動薬のようなトロンピン受容体作動薬；プレンルフィンのようなオピオイド受容体作動薬；CysLT1受容体拮抗薬、CysLT2受容体拮抗薬のようなロイコトリエン受容体拮抗薬；BLT受容体作動薬のようなロイコトリエン受容体作動薬；アデノシンニリン酸のようなADP受容体作動薬；メラトニンのようなメラトニン受容体作動薬；オクトレオチドのようなソマトスタチン受容体作動薬；ドロナビノールのようなカンナビノイド受容体作動薬；フィンゴリモドのようなスフィンゴシン1リン酸受容体作動薬；mGluR2受容体作動薬、mGluR3受容体作動薬、mGluR4受容体作動薬、mGluR6受容体作動薬、mGluR7受容体作動薬、mGluR8受容体作動薬のような代謝型グルタミン酸受容体作動薬；グリチルリチン酸のようなホスホリパーゼA2阻害剤；ビルフェニドンのようなTGF- β 産生抑制剤；トシル酸プラタストのようなTh2サイトカイン阻害剤；の使用が好適であることを見出した。さらに、Peptide-25、およびhWT1₃₅のようなヘルパーペプチドをそれらに代えてまたはそれらに加えて用いることによって、WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドの経皮投与による細胞性免疫誘導が促進されることを見出した。すなわち、TLRリガンドとヘルパーペプチドの組合せ、環状ジヌクレオチドとヘルパーペプチドの組合せ、免疫調節低分子薬物とヘルパーペプチドの組合せ、シクロオキシゲナーゼ阻害剤とヘルパーペプチドの組合せ、プロスタグランジン受容体拮抗薬とヘルパーペプチドの組合せ、プロスタグランジン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、TSLP産生抑制剤とヘルパーペプチドの組合せ、アデニル酸シクラーゼ阻害剤とヘルパーペプチドの組合せ、オメガ3脂肪酸とヘルパーペプチドの組合せ、PPAR作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、ドーパミン受容体拮抗薬とヘルパーペプチドの組合せ、ドーパミン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、ヒスタミン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、ヒスタミン受容体拮抗薬とヘルパーペプチドの組合せ、セロトニン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、セロトニン受容体拮抗薬とヘルパーペプチドの組合せ、バソプレシン受容体拮抗薬とヘルパーペプチドの組合せ、バソプレシン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、ムスカリン受容体拮抗薬とヘルパーペプチドの組合せ、ムスカリン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、アドレナリン受容体拮抗薬とヘルパーペプチドの組合せ、アドレナリン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、アンジオテンシン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、GABA受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、トロンピン受容体拮抗薬とヘルパーペプチドの組合せ、トロンピン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、オピオイド受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、ADP受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、ロイコトリエン受容体拮抗薬とヘルパーペプチドの組合せ、ロイコトリエン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、メラトニン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、ソマトスタチン受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、カンナビノイド受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、代謝型グルタミン酸受容体作動薬とヘルパーペプチドの組合せ、ホスホリパーゼA2阻害剤とヘルパーペプチドの組合せ、TGF- β 産生抑制剤とヘルパーペプチドの組合せ、Th2サイトカイン阻害剤とヘルパーペプチドの組合せによって顕著に細胞性免疫が増強されることを見出した。特に好適な態様において、TLRリガンドとヘルパーペプチドの組合せ、または環状ジヌクレオチドとヘルパーペプチドの組合せによって、顕著に細胞性免疫が増強された。さらに、低刺激条件下で投与することによって高い細胞性免疫誘導効果が得られることを見出した。具体的には、経皮投与用癌ワクチン組成物を投与する前の皮

10

20

30

40

50

膚刺激評価用モデル動物の皮膚の状態の指標となる経皮水分蒸散量 (TEWL) (g/h・m²) が50以下となる低刺激状態を選択した上で、経皮投与用癌ワクチン組成物を投与することによって、高い細胞性免疫誘導効果が得られる。あるいは、経皮投与用癌ワクチン組成物の皮膚刺激特性を、投与終了時の皮膚刺激評価用モデル動物の皮膚内TSLPレベル (pg/mg タンパク質) が10000以下となるような低刺激特性とすることによっても、高い細胞性免疫誘導効果が得られる。

【0012】

したがって本発明は、第一の態様において、次に列挙する態様を提供する：

- (1) (i) WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチド；ならびに
- (ii) TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、Th2サイトカイン阻害剤、およびそれらの2種以上の組合せから選択される細胞性免疫誘導促進剤を含む、細胞性免疫誘導のための経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (2) 細胞性免疫誘導促進剤がTLRリガンドである、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (3) 細胞性免疫誘導促進剤が環状ジヌクレオチドである、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (4) 細胞性免疫誘導促進剤が免疫調節低分子薬物である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (5) 細胞性免疫誘導促進剤がシクロオキシゲナーゼ阻害剤である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (6) 細胞性免疫誘導促進剤がプロスタグランジン受容体拮抗薬であり、更にプロスタグランジン受容体拮抗薬が、EP2受容体拮抗薬、EP4受容体拮抗薬、DP受容体拮抗薬、IP受容体拮抗薬である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (7) 細胞性免疫誘導促進剤がプロスタグランジン受容体作動薬であり、更にプロスタグランジン受容体作動薬が、EP3受容体作動薬である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (8) 細胞性免疫誘導促進剤がTSLP産生抑制剤である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (9) 細胞性免疫誘導促進剤がアデニル酸シクラーゼ阻害剤である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (10) 細胞性免疫誘導促進剤がオメガ3脂肪酸である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (11) 細胞性免疫誘導促進剤がPPAR作動薬であり、更にPPAR作動薬がPPAR- α 作動薬、PPAR- β 作動薬、PPAR- γ 作動薬である(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (12) 細胞性免疫誘導促進剤がドーパミン受容体拮抗薬であり、更にドーパミン受容体拮抗薬が、D1受容体拮抗薬、D5受容体拮抗薬である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；
- (13) 細胞性免疫誘導促進剤がドーパミン受容体作動薬であり、更にドーパミン受容体

作動薬が、D 2 受容体作動薬、D 3 受容体作動薬、D 4 受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(1 4) 細胞性免疫誘導促進剤がヒスタミン受容体拮抗薬であり、更にヒスタミン受容体拮抗薬が、H 1 受容体拮抗薬、H 2 受容体拮抗薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(1 5) 細胞性免疫誘導促進剤がヒスタミン受容体作動薬であり、更にヒスタミン受容体作動薬が、H 1 受容体作動薬、H 3 受容体作動薬、H 4 受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(1 6) 細胞性免疫誘導促進剤がセロトニン受容体拮抗薬であり、更にセロトニン受容体拮抗薬が、5 - H T 2 受容体拮抗薬、5 - H T 4 受容体拮抗薬、5 - H T 6 受容体拮抗薬、5 - H T 7 受容体拮抗薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

10

(1 7) 細胞性免疫誘導促進剤がセロトニン受容体作動薬であり、更にセロトニン受容体作動薬が、5 - H T 1 受容体作動薬、5 - H T 2 受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(1 8) 細胞性免疫誘導促進剤がバソプレシン受容体拮抗薬であり、更にバソプレシン受容体拮抗薬が、V 2 受容体拮抗薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(1 9) 細胞性免疫誘導促進剤がバソプレシン受容体作動薬であり、更にバソプレシン受容体作動薬が、V 1 受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(2 0) 細胞性免疫誘導促進剤がムスカリン受容体拮抗薬であり、更にムスカリン受容体拮抗薬が、M 1 受容体拮抗薬、M 3 受容体拮抗薬、M 5 受容体拮抗薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

20

(2 1) 細胞性免疫誘導促進剤がムスカリン受容体作動薬であり、更にムスカリン受容体作動薬が、M 1 受容体作動薬、M 2 受容体作動薬、M 3 受容体作動薬、M 4 受容体作動薬、M 5 受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(2 2) 細胞性免疫誘導促進剤がアドレナリン受容体拮抗薬であり、更にアドレナリン受容体拮抗薬が、 α 1 受容体拮抗薬、 α 1 受容体拮抗薬、 β 2 受容体拮抗薬、 β 3 受容体拮抗薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(2 3) 細胞性免疫誘導促進剤がアドレナリン受容体作動薬であり、更にアドレナリン受容体作動薬が、 α 1 受容体作動薬、 β 2 受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

30

(2 4) 細胞性免疫誘導促進剤がアンジオテンシン受容体作動薬であり、更にアンジオテンシン受容体作動薬が、A T 2 受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(2 5) 細胞性免疫誘導促進剤がG A B A 受容体作動薬であり、更にG A B A 受容体作動薬が、G A B A_B 受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(2 6) 細胞性免疫誘導促進剤がトロンビン受容体拮抗薬であり、更にトロンビン受容体拮抗薬が、P A R - 1 受容体拮抗薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(2 7) 細胞性免疫誘導促進剤がトロンビン受容体作動薬であり、更にトロンビン受容体作動薬が、P A R - 1 受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(2 8) 細胞性免疫誘導促進剤がオピオイド受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

40

(2 9) 細胞性免疫誘導促進剤がロイコトリエン受容体拮抗薬であり、更にロイコトリエン受容体拮抗薬が、C y s L T 1 受容体拮抗薬、C y s L T 2 受容体拮抗薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(3 0) 細胞性免疫誘導促進剤がロイコトリエン受容体作動薬であり、更にロイコトリエン受容体作動薬が、B L T 受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物。

(3 1) 細胞性免疫誘導促進剤がメラトニン受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物。

(3 2) 細胞性免疫誘導促進剤がソマトスタチン受容体作動薬である、(1) の経皮投与用癌ワクチン組成物。

50

(33) 細胞性免疫誘導促進剤がカンナビノイド受容体作動薬である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物。

(34) 細胞性免疫誘導促進剤がスフィンゴシン1リン酸受容体作動薬である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物。

(35) 細胞性免疫誘導促進剤が代謝型グルタミン酸受容体作動薬であり、更に代謝型グルタミン酸受容体作動薬が、mGluR2受容体作動薬、mGluR3受容体作動薬、mGluR4受容体作動薬、mGluR6受容体作動薬、mGluR7受容体作動薬、またはmGluR8受容体作動薬である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物。

(36) 細胞性免疫誘導促進剤がADP受容体作動薬である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(37) 細胞性免疫誘導促進剤がホスホリパーゼA2阻害剤である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(38) 細胞性免疫誘導促進剤がTGF- β 産生抑制剤である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(39) 細胞性免疫誘導促進剤がTh2サイトカイン阻害剤である、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(40) 細胞性免疫誘導促進剤がヘルパーペプチドである、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(41) 細胞性免疫誘導促進剤が、TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、およびTh2サイトカイン阻害剤からなる群より選択される1種以上とヘルパーペプチドとの組み合わせである、(1)の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(42) 低刺激条件下で投与されるものである、(1)~(41)のいずれか1項の経皮投与用癌ワクチン組成物；

(43) 低刺激条件が、皮膚刺激評価用モデル動物における該組成物の投与前の経皮水分蒸散量(TEWL)が $50\text{ g/h}\cdot\text{m}^2$ 以下の条件である、(42)の経皮投与用癌ワクチン組成物；および

(44) 低刺激条件が、皮膚刺激評価用モデル動物における該組成物の投与終了時の皮膚内TSLPレベルが 10000 pg/mg タンパク質以下の条件である、(42)または(43)の経皮投与用癌ワクチン組成物。

【0013】

別の態様において、本発明の癌ワクチンは、癌の処置または予防のために使用することができる。したがって本発明は、次に列挙する態様も提供する：

(45) 治療上有効量の(i)WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチド、ならびに(ii)TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ム

10

20

30

40

50

スカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、Th2サイトカイン阻害剤、およびそれらの2種以上の組合せから選択される細胞性免疫誘導促進剤を対象に経皮投与することを含む、癌の処置または予防方法；

(46) 治療上有効量の(1)~(44)のいずれか1項の経皮投与用癌ワクチン組成物を対象に投与することを含む、癌の処置または予防方法。

10

【0014】

別の態様において、本発明は、WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドの経皮投与用細胞性免疫誘導促進剤として使用するための、TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、Th2サイトカイン阻害剤、またはそれらの2種以上の組合せも提供する。したがって、本発明は、次の態様も提供する。

20

(47) WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドの経皮投与用細胞性免疫誘導促進剤として使用するための、TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、Th2サイトカイン阻害剤、またはそれらの2種以上の組合せ。

30

40

【0015】

また、本発明は、次に記載する態様も提供する：

(48) (i) WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチド、ならびに(ii) TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容

50

体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、Th2サイトカイン阻害剤およびそれらの2種以上の組合せから選択される細胞性免疫誘導促進剤を対象に経皮投与することを含む、細胞性免疫誘導方法；

(49) WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドの経皮投与による細胞性免疫誘導の促進のために使用するための、TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、Th2サイトカイン阻害剤、またはそれらの2種以上の組合せ；

(50) WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドの経皮投与による細胞性免疫誘導のために使用するための、(i) WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドと(ii) TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、Th2サイトカイン阻害剤およびそれらの2種以上の組合せから選択される細胞性免疫誘導促進剤との組合せ；

(51) 癌の処置または予防に用いるための、(i) WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドと(ii) TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤

10

20

30

40

50

、 T h 2 サイトカイン阻害剤およびそれらの 2 種以上の組合せから選択される細胞性免疫誘導促進剤との組合せ； および

(5 2) 細胞性免疫誘導のための経皮投与用癌ワクチン組成物の製造における、 (i) W T 1 ペプチドおよび/または改変 W T 1 ペプチド、ならびに (i i) T L R リガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、 T S L P 産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ 3 脂肪酸、 P P A R 作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、 G A B A 受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、 A D P 受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン 1 リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼ A 2 阻害剤、 T G F - 産生抑制剤、 T h 2 サイトカイン阻害剤およびそれらの 2 種以上の組合せから選択される細胞性免疫誘導促進剤の使用。

【発明の効果】

【 0 0 1 6 】

本発明の癌ワクチンは、経皮投与が可能であるため、優れたコンプライアンス、例えば非侵襲的投与、無痛、注射の恐怖からの解放、投与が簡便なため患者が自ら投与可能であり、医療従事者の針刺し感染事故のリスクも回避でき、繰返し投与を行う場合の通院頻度の低減が可能となり患者の生活の質の向上に貢献でき、注射針のような特殊廃棄の必要な医療廃棄物が生じないという利点を有する。また、パップ剤やテープ剤等の貼付剤の形態であれば、所定の投与量を確実に投与でき、薬物放出速度を任意に制御でき、また投与に際して他の部位に付着することがないという利点がある。さらに、貼付剤は容易に着脱可能であるため、副作用が生じた場合等に適用部位から貼付剤を除去することによって患者自らが即座に投与を中止することができるという利点も有する。さらに、本発明の癌ワクチンの効能が、 W T 1 ペプチドおよび/または改変 W T 1 ペプチドの単独投与と比較して、顕著に向上するという利点も有する。さらに、本発明の癌ワクチンの経皮投与は注射投与と比較して強い細胞性免疫を誘導するという利点も有する。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 7 】

【図 1】イミキモドの免疫賦活効果及び P e p t i d e - 2 5 との相乗効果を示す図である。

【図 2】 c - d i - G M P の免疫賦活効果及び P e p t i d e - 2 5 との相乗効果を示す図である。

【図 3】細胞性免疫誘導レベルに対する物理的刺激（皮膚前処理）の影響を示す図である。

【図 4】抗原ペプチド（ D b 1 2 6 ペプチド）および細胞性免疫誘導促進剤（イミキモド）の皮膚透過性に対する物理的刺激（皮膚前処理）の影響を示す図である。

【図 5】細胞性免疫誘導レベルに対する化学的刺激（界面活性剤）の影響を示す図である。

【図 6】抗原ペプチド（ D b 1 2 6 ペプチド）および細胞性免疫誘導促進剤（イミキモド）の皮膚透過性に対する化学的刺激（界面活性剤）の影響を示す図である。

【図 7】正常皮膚あるいは物理的損傷皮膚にテープ剤を投与した場合の免疫比較を示す図である。

【図 8】イミキモドとロキソプロフェン N a の相乗効果を示す図である。

【図 9】注射による細胞性免疫誘導レベルと、本発明の経皮投与用癌ワクチン組成物による細胞性免疫誘導レベルを示す図である。

10

20

30

40

50

【発明を実施するための形態】

【0018】

本発明がより容易に理解されるように、まず本明細書で用いる用語を定義する。定義のない用語は、特に文脈が異なることを示唆しない限り、当業者、特に医学、薬学、免疫学、細胞生物学、生化学、高分子化学等の分野における当業者が通常理解する意味を有する。

【0019】

I. 定義

本明細書において使用するとき、用語「WT1ペプチド」は、癌遺伝子WT1 (Wilms' tumor) の産物であるWT1蛋白が断片化された、約8～約15個、好ましくは約8～約12個のアミノ酸からなる部分ペプチドを意味し、Db126ペプチド、Db235ペプチド等がこれに含まれる。また、WO-2000/06602にて開示されているWT1産物の部分ペプチド、WO2005/095598に記載のWT1由来HLA-A26結合性癌抗原ペプチド、WO2007/097358に記載のHLA-A*3303拘束性WT1ペプチド、およびWO2008/081701に記載のHLA-A*1101拘束性WT1ペプチドも本発明の「WT1ペプチド」に含まれる。

【0020】

用語「Db126ペプチド」は、配列Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号1) からなるWT1ペプチドを意味する。用語「Db235ペプチド」は、配列Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号2) からなるWT1ペプチドを意味する (特許文献1)。

【0021】

本明細書において使用するとき、用語「改変WT1ペプチド」は、WT1ペプチドの全部または一部のアミノ酸が置換や修飾等により改変されたペプチドを意味する。

改変WT1ペプチドには、例えば、

(a) WT1ペプチドのアミノ酸配列において、1個から数個、例えば1個、2個、3個、4個または5個のアミノ酸が置換、欠失または付加されたアミノ酸配列からなるペプチド; および

(b) WT1ペプチドのアミノ酸配列において、全部または一部のアミノ酸、例えば1個または複数個、例えば1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個または12個のアミノ酸が修飾されたアミノ酸配列からなるペプチドが含まれる。

改変WT1ペプチドが有し得るアミノ酸の「修飾」としては、これらに限定されないが、例えば、アセチル化、メチル化などのアルキル化、グリコシル化、ヒドロキシル化、カルボキシル化、アルデヒド化、リン酸化、スルホニル化、ホルミル化、ミリストイル化やパルミトイル化やステアロイル化のような脂肪鎖付加修飾、オクタノイル化、エステル化、アミド化、脱アミド化、シスチン修飾やグルタチオン修飾やチオグリコール酸修飾のようなジスルフィド結合形成修飾、糖化、ユビキチン化、スクシンイミド形成、グルタミル化、プレニル化等が挙げられる。改変WT1ペプチドは、1個以上のアミノ酸の置換、欠失または付加と、1個以上のアミノ酸の修飾を組み合わせるものであってもよい。

【0022】

具体的な例として、Db235ペプチドの一部を改変したDb235mペプチドは、配列Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (配列番号3) からなる改変WT1ペプチドであり (WO2002/079253)、本発明における改変WT1ペプチドに含まれる。WO2004/026897に記載のWT1置換型ペプチド、WO2007/063903A1にて開示されているWT1₂₃₅-243ペプチド誘導体、WO2003/106682にて開示されているHLA-A24拘束性癌抗原ペプチドも本発明における改変WT1ペプチドに含まれる。WO2003/106682に記載のHLA-A24拘束性の改変WT1ペプチドの具体例としては、配列Arg Tyr Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (配列番号4) の

R Y F ペプチド、配列 A l a T y r L e u P r o A l a V a l P r o S e r L e u (配列番号 5) の A Y L ペプチドが挙げられる。

【 0 0 2 3 】

W T 1 ペプチドおよび/または改変 W T 1 ペプチドは、遊離形または薬理的に許容される任意の塩形、例えば酸塩(酢酸塩、T F A 塩、塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、シュウ酸塩、臭化水素酸塩、コハク酸塩、硝酸塩、リンゴ酸塩、クエン酸塩、オレイン酸塩、パルミチン酸塩、プロピオン酸塩、蟻酸塩、安息香酸塩、ピクリン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ドデシル硫酸塩、メタンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩、グルタル酸塩、種々のアミノ酸塩など)、金属塩(アルカリ金属塩(例えば、ナトリウム塩、カリウム塩)、アルカリ土類金属塩(例えば、カルシウム塩、マグネシウム塩)、アルミニウム塩など)、アミン塩(トリエチルアミン塩、ベンジルアミン塩、ジエタノールアミン塩、t - ブチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、アルギニン塩、ジメチルアンモニウム塩、アンモニウム塩など)の形態でありうる。好ましい薬理的に許容される塩は、酢酸塩または T F A 塩である。W T 1 ペプチドおよび/または改変 W T 1 ペプチドは周知の方法で合成または産生し、単離および精製したものを使用できる。

10

【 0 0 2 4 】

本明細書において使用するとき、用語「細胞性免疫誘導促進剤」は、共に投与された抗原の細胞性免疫を誘導する効率を、それなしでの効率と比較して、改善しうるあらゆる物質を意味するものであり、細胞性免疫誘導を促進する作用機構によって限定されないが、本願明細書で特定されたものを意味する。

20

【 0 0 2 5 】

本明細書において使用するとき、用語「T L R リガンド」は、T o l l 様受容体(T L R)のリガンドを意味し、例えば T L R 1 ~ 9 のリガンドを含む。T L R リガンドとしては、T L R 1 / 2 リガンド、T L R 2 / 6 リガンド、T L R 2 および D e c t i n 1 リガンド、T L R 3 リガンド、T L R 4 リガンド、T L R 5 リガンド、T L R 7 および/または T L R 8 リガンド、T L R 9 リガンドなどが挙げられる。本発明の好ましい態様において、T L R リガンドは、T L R 1 / 2 リガンド、T L R 2 および D e c t i n 1 リガンド、T L R 3 リガンド、T L R 4 リガンド、T L R 7 および/または T L R 8 リガンド、および/または T L R 9 リガンドである。

30

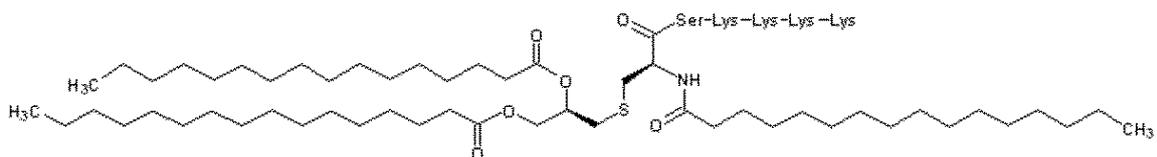
【 0 0 2 6 】

本明細書において使用するとき、用語「T L R 1 / 2 リガンド」は、T o l l 様受容体(T L R) 1 及び T o l l 様受容体(T L R) 2 のヘテロダイマーのリガンドを意味し、例えば細菌の細胞壁由来のトリアシル化リポタンパク及びその塩が含まれるが、これらは抽出物、生成物または合成品であってもよく、またこれらに限定されない。

【 0 0 2 7 】

本発明の好ましい態様において、T L R 1 / 2 リガンドは、P a m ₃ C S K ₄ である。P a m ₃ C S K ₄ は、式

【 化 1 】



40

を有する。

【 0 0 2 8 】

本明細書において使用するとき、用語「T L R 2 および D e c t i n 1 リガンド」は、T o l l 様受容体(T L R) 2 及び 1 , 3 - グルカン受容体(D e c t i n 1)のリガンドを意味し、例えば真菌の細胞壁由来の 1 , 3 - グルカン及びその塩が含まれるが、

50

これらは抽出物、生成物または合成品であってもよく、またこれらに限定されない。本発明の好ましい態様において、TLR2およびDectin1リガンドは、酵母細胞壁由来のZymosanである。

【0029】

本明細書において使用するとき、用語「TLR3リガンド」は、Toll様受容体(TLR)3のリガンドを意味し、例えばウイルス由来の二本鎖RNA(dsRNA)及びその塩が含まれるが、これらは抽出物、生成物または合成品であってもよく、またこれらに限定されない。本発明の好ましい態様において、TLR3リガンドは、合成品であるポリイノシンポリシチジン酸(Poly(I:C))及び/またはその塩である。

【0030】

本明細書において使用するとき、用語「TLR4リガンド」は、Toll様受容体(TLR)4のリガンドを意味し、例えば細菌もしくは植物由来のリポポリサッカライド(LPS)、特にリピドA誘導体、例えばモノホスホリルリピドA、3脱アシル化モノホスホリルリピドA(3D-MPL)、OM174、OM294DPもしくはOM197MP-AcDP等、アルキルグルコサミニドホスフェート(AGP)、例えばWO9850399もしくはUS6303347に開示されるAGPまたはUS6764840に開示されるようなAGPの塩を含み、また、パントエア菌由来リポポリサッカライド、グルコピラノシルリピッド、ヒアルロン酸ナトリウムを含むがこれらに限定されない。

【0031】

本発明の好ましい態様において、TLR4リガンドは、Acetobacter属(例えばAcetobacter acetii、Acetobacter xylinum、Acetobacter orientalis等)、Zymomonas属(例えばZymomonas mobilis等)、Xanthomonas属(例えばXanthomonas campestris等)、Enterobacter属(例えばEnterobacter cloacae等)、Pantoea属(例えばPantoea agglomerans等)由来のリポポリサッカライドが好ましい。これらのリポポリサッカライド由来の抽出物または精製したリポポリサッカライドをそのまま用いる事も可能である。また、例えばPantoea agglomerans由来のリポポリサッカライド(IP-PA1)はフナコシから購入できる。また、本発明の好ましい態様において、TLR4リガンドは、パントエア菌由来リポポリサッカライド、グルコピラノシルリピッド、および/またはヒアルロン酸ナトリウムである。

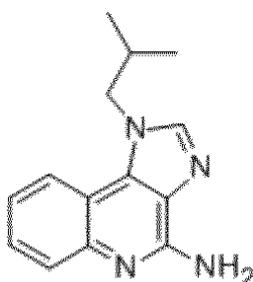
【0032】

本明細書において使用するとき、用語「TLR7および/またはTLR8リガンド」は、Toll様受容体(TLR)7および/またはTLR8のリガンドを意味し、例えば一本鎖RNA、イミキモド、レシキモド(R848)、TLR7-IIおよび他の化合物、例えばロキソリピンおよびプロピリミンを含むがこれらに限定されない。

【0033】

本発明の好ましい態様において、TLR7および/またはTLR8リガンドは、イミキモドである。イミキモドは式

【化2】



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

10

20

30

40

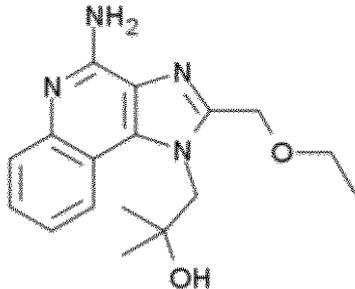
50

あり、例えば特表平7-505883号公報(特許文献2)にその特徴および製造法が記載されている。

【0034】

別の好ましい態様において、TLR7および/またはTLR8リガンドは、レシキモドである。レシキモドは式

【化3】



10

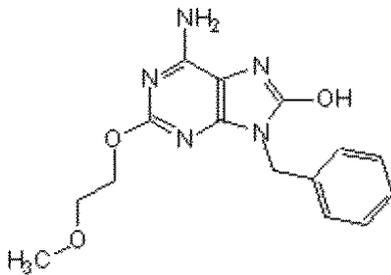
の4-アミノ-2-(エトキシメチル)-, -ジメチル-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-1-エタノールである。

【0035】

別の好ましい態様において、TLR7および/またはTLR8リガンドはTLR7-I Iである。TLR7-IIは式、

20

【化4】



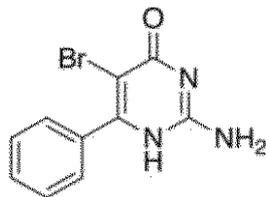
で表される。

30

【0036】

別の好ましい態様において、TLR7および/またはTLR8リガンドはプロピリミンである。プロピリミンは式、

【化5】



40

で表される。

【0037】

本明細書において使用するとき、用語「TLR9リガンド」は、Toll様受容体(TLR)9のリガンドを意味し、例えば、ODN1826等が含まれる。本発明において用いるTLR9リガンドは抽出物、生成物または合成物であってもよく、またこれらに限定されない。本発明の好ましい態様において、TLR9リガンドは、ODN1826である。

【0038】

ODN1826は、以下の配列(配列番号6)からなるオリゴデオキシヌクレオチドである。

50

【化6】

5' — t c c a t g a c g t t c c t g a c g t t — 3'

【0039】

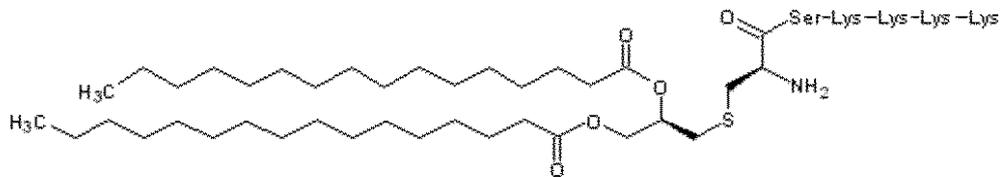
本明細書において使用するとき、用語「TLR2/6リガンド」は、Toll様受容体(TLR)2及びToll様受容体(TLR)6のヘテロダイマーのリガンドを意味し、例えばマイコプラズマの細胞壁由来のジアシル化リポタンパク及びその塩が含まれるが、これらは抽出物、生成物または合成品であってもよく、またこれらに限定されない。本発明の好ましい態様において、TLR2/6リガンドは、Pam₂CSK₄、MALP-2及び/またはFSL-1である。

10

【0040】

Pam₂CSK₄は、次の式で表される。

【化7】

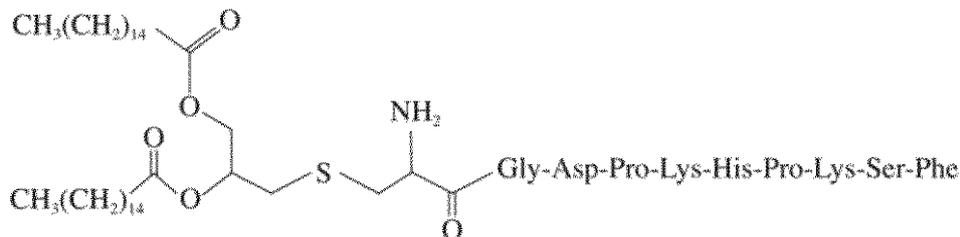


【0041】

FSL-1は、次の式で表される。

20

【化8】



30

【0042】

本明細書において使用するとき、用語「TLR5リガンド」は、Toll様受容体(TLR)5のリガンドを意味し、例えば、フラジェリン等が含まれる。本発明において用いるTLR5リガンドは抽出物、生成物または合成品であってもよく、またこれらに限定されない。本発明の好ましい態様において、TLR5リガンドは、フラジェリンである。

【0043】

Toll様受容体(TLR)は、その*in vivo*活性化によって特異的サイトカイン、ケモカインおよび成長因子が関与する先天性免疫応答を開始させる、I型膜貫通タンパク質のファミリーである。全てのTLRが一定の細胞内シグナル伝達分子、例えば核因子B(NF- κ B)およびマイトジェン活性化プロテインキナーゼ(MAPキナーゼ)などを活性化することができる一方で、放出されるサイトカインおよびケモカインの特異的集合物は各TLRに固有なようである。TLR3、7、8、および9は、免疫細胞(樹状細胞および単球など)のエンドソーム区画またはリソソーム区画中に存在するTLRのサブファミリーを含む。具体的には、TLR3は、樹状細胞や繊維芽細胞など広範囲な細胞によって発現され、TLR7は、形質細胞様樹状細胞によって発現され、且つより少ない程度で単球によって発現され、TLR8は、単球ならびに単球由来樹状細胞および骨髓性樹状細胞によって発現され、TLR9は、形質細胞様樹状細胞によって発現される。このサブファミリーは、微生物核酸(一本鎖RNA、二本鎖RNA、一本鎖DNAなど)の認識を媒介する。TLR3、TLR7および/またはTLR8、TLR9のアゴニストは、種々の炎症性サイトカイン(例えばインターロイキン-6、インターロイキン-12

40

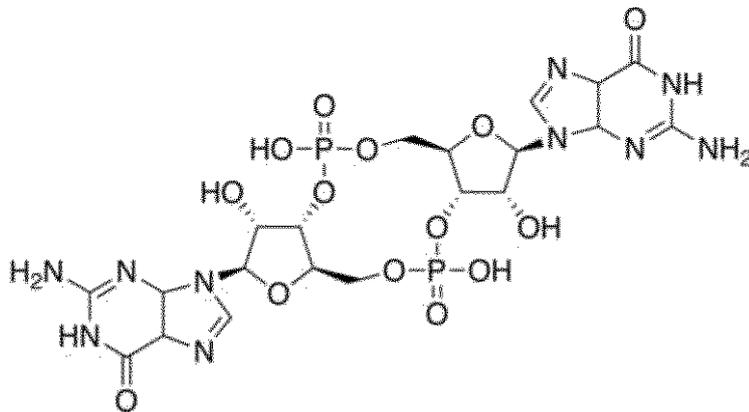
50

、TNF- α 、およびインターフェロン- γ （が含まれる）の産生を刺激する。かかるアゴニストはまた、共刺激分子（例えばCD40、CD80、およびCD86など）、主要組織適合性複合体分子、およびケモカイン受容体の発現の増加を促進する。I型インターフェロン（IFN α およびIFN β ）はまた、TLR7および/またはTLR8アゴニストでの活性化の際に細胞によって産生される。

【0044】

本明細書において使用するとき、用語「環状ジヌクレオチド」は、2個のヌクレオチドの糖部分のOH基2個が、各々同一のリン酸分子に対してエステルを生成し、環状化した分子およびその類似体を意味し、例えば環状ジAMP（c-di-AMP）、環状ジGMP（c-di-GMP）、c-dGpGp、c-dGpdGp、c-GpAp、c-GpCp、c-GpUp等を含むが、これらに限定されない。環状ジヌクレオチドは、樹状細胞またはT細胞を活性化する。環状ジヌクレオチドのさらなる例、それらをアジュバントとして使用できること、およびそれらの製造方法は、特表2007-529531号公報（特許文献3）に記載されている。本発明の好ましい態様において、環状ジヌクレオチドは、環状ジGMP及び/又は環状ジAMPである。環状ジGMPは式

【化9】



を有し、Kawai et al., *Nucleic Acids Research* Suppl. 3: 103-4にその合成方法が記載されている。

【0045】

本明細書において使用するとき、用語「ヘルパーペプチド」は、ヘルパーT細胞を活性化するあらゆるペプチドを意味し、例えば結核菌由来ヘルパーペプチド、麻疹ウイルス由来ヘルパーペプチド、B型肝炎ウイルス由来ヘルパーペプチド、C型肝炎ウイルス由来ヘルパーペプチド、トラコーマクラミジア由来ヘルパーペプチド、熱帯性マラリア原虫スポロゾイド由来ヘルパーペプチド、keyhole limpet haemocyanin由来ヘルパーペプチド、破傷風毒素由来ヘルパーペプチド、百日咳毒素由来ヘルパーペプチド、ジフテリア毒素由来ヘルパーペプチド、癌細胞由来ヘルパーペプチド（例えば、WT1₃₃₂₋₃₄₇ヘルパーペプチド（特許第4621142号「WT1由来のHLA-DR結合性抗原ペプチド」に記載）、hWT1₃₅ヘルパーペプチド、hWT1₈₆ヘルパーペプチド、hWT1₂₉₄ヘルパーペプチド（以上3種、WO2010123065「癌抗原ヘルパーペプチド」に記載）、IMA-MMP-001ヘルパーペプチド、CEA-006ヘルパーペプチド、MMP-001ヘルパーペプチド、TGFBI-004ヘルパーペプチド、HER-2/neu(aa776-790)ヘルパーペプチド、AE36ヘルパーペプチド、AE37ヘルパーペプチド、MET-005ヘルパーペプチド、BIR-002ヘルパーペプチドなど）、およびユニバーサルヘルパーアナログ（例えばPADRE）を含む。本発明の好ましい態様において、ヘルパーペプチドは、10~20個のアミノ酸、好ましくは12~19個のアミノ酸、より好ましくは13~18個のアミノ酸からなるものである。本発明の好ましい態様において、ヘルパーペプチドはPeptide-25、hWT1₃₅、PADRE、またはWT1₃₃₂₋₃₄₇である。Peptide-25は、ヒト型結核菌（*Mycobacterium tube*

rculosis)によって分泌される主要タンパク質の一つであるAg85Bのアミノ酸残基240~254に対応する、配列Phe Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Gly Gly His Asn Ala Val Pheからなる15アミノ酸のペプチド(配列番号7)である。hWT1₃₅は、WO2010/123065「癌抗原ヘルパーペプチド」に記載されている、配列Trp Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leuからなる18アミノ酸のペプチドである(本願において、配列番号8として示す)。PADREは、配列D-Ala Lys cyclohexyl-Ala Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala D-Alaからなる13アミノ酸のペプチドである(本願において、配列番号9として示す)。WT1₃₃₂₋₃₄₇は特許第4621142号「WT1由来のHLA-DR結合性抗原ペプチド」に記載されている、配列Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys Hisからなる16アミノ酸のペプチドである(本願において、配列番号10として示す)。

10

【0046】

また、本発明においては、上記のようなヘルパーペプチドに代えて、またはこれと組み合わせ、該ヘルパーペプチドの全部または一部のアミノ酸が置換や修飾等により改変されたペプチド(以下、「改変ヘルパーペプチド」と称する)も使用することができる。

改変ヘルパーペプチドには、例えば、

20

(a)元のヘルパーペプチドのアミノ酸配列において、1個から数個、例えば1個、2個、3個、4個または5個のアミノ酸が置換、欠失または付加されたアミノ酸配列からなるペプチド;および

(b)元のヘルパーペプチドのアミノ酸配列において、全部または一部のアミノ酸、例えば1個または複数個、例えば1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、または18個のアミノ酸が修飾されたアミノ酸配列からなるペプチドが含まれる。

改変ヘルパーペプチドの一例は、Peptide-25Bである。Peptide-25Bは、免疫賦活効果を高めるためにPeptide-25の一部アミノ酸を改変した、改変Peptide-25の一例であり、配列Phe Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Val His Ala Ala His Ala Val Phe(配列番号11)からなる15アミノ酸のペプチドである。

30

改変ヘルパーペプチドが有し得るアミノ酸の「修飾」としては、これらに限定されないが、例えば、アセチル化、メチル化などのアルキル化、グリコシル化、ヒドロキシル化、カルボキシル化、アルデヒド化、リン酸化、スルホニル化、ホルミル化、ミリストイル化やパルミトイル化やステアロイル化のような脂肪鎖付加修飾、オクタノイル化、エステル化、アミド化、脱アミド化、シスチン修飾やグルタチオン修飾やチオグリコール酸修飾のようなジスルフィド結合形成修飾、糖化、ユビキチン化、スクシンイミド形成、グルタミル化、プレニル化等が挙げられる。また、改変ヘルパーペプチドは、1個以上のアミノ酸の置換、欠失または付加と、1個以上のアミノ酸の修飾を組み合わせるものであってもよい。

40

【0047】

本明細書において使用するとき、用語「シクロオキシゲナーゼ阻害剤」は、シクロオキシゲナーゼ(COX)の機能を阻害する物質を意味する。以下、「COX阻害剤」とも称する。COX阻害剤には、特定のシクロオキシゲナーゼ(例えばCOX-1、COX-2)に選択的に作用するものや、選択性を有しないものがある。本発明において用い得るCOX阻害剤としては、エトドラク、ロキソプロフェン、セレコキシブ、バルデコキシブ、パレコキシブ、ルミラコキシブ、メロキシカム、テノキシカム、ジクロフェナク、メフェナム酸、トルフェナム酸、フルフェナム酸、メクロフェナム酸、ニフルム酸、ベンジダミ

50

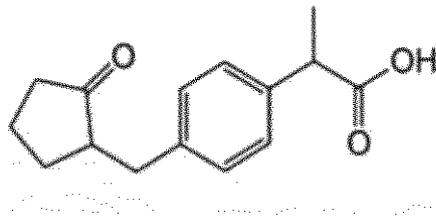
ン、インドブフェン、トリフルサル、トルメチン、フェノプロフェン、チアプロフェン酸、フェルピナク、ネパフェナク、アンフェナク、プラバドリン、ザルトプロフェン、スリンダク、ナブメトン、ジフルニサル、ピロキシカム、イブプロフェン、ナプロキセン、フェノプロフェン、アスピリン、サリチル酸メチル、サリチルアミド、サルサラート、アロキシブリン、トルメチン、インドメタシン、プログルメタシン、アセメタシン、フルルビプロフェン、プラノプロフェン、アセトアミノフェン、フロクタフェニン、ロルノキシカム、テノキシカム、チアプロフェン酸、オキサプロジン、ケトプロフェン、デクスケトプロフェン、デキシブプロフェン、アルミノプロフェン、ケトロラク、モフェゾラク、フェニルブタゾン、オキシフェニルブタゾン、ケトフェニルブタゾン、フェプラゾン、フェンブタゾン、エテンザミド、チアラミド、チノリジン、エピリゾール、エモルファゾンおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。本発明の好ましい態様において、COX阻害剤は、エトドラクおよび/またはロキソプロフェンである。

10

【0048】

ロキソプロフェンは式

【化10】



20

で表される。

【0049】

本明細書において使用するとき、用語「プロスタグランジン受容体拮抗薬」は、プロスタグランジンが受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味し、例えばEP2受容体拮抗薬、EP4受容体拮抗薬、DP受容体拮抗薬、IP受容体拮抗薬、を含む。

【0050】

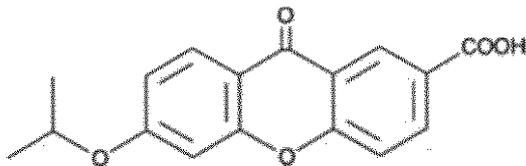
本明細書において使用するとき、用語「EP2受容体拮抗薬」は、プロスタグランジンE2がEP2受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。EP2受容体拮抗薬としては、AH6809およびその誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

30

【0051】

AH6809は式

【化11】



40

で表される。

【0052】

本明細書において使用するとき、用語「EP4受容体拮抗薬」は、プロスタグランジンE2がEP4受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。EP4受容体拮抗薬としては、GW627368Xおよびその誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容

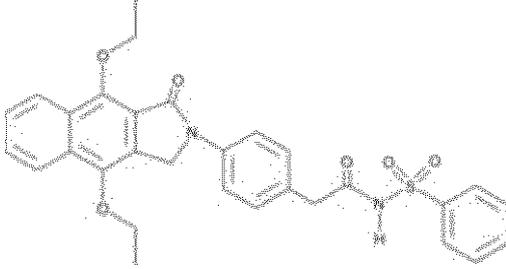
50

される塩などが挙げられる。

【0053】

GW627368Xは式

【化12】



10

で表される。

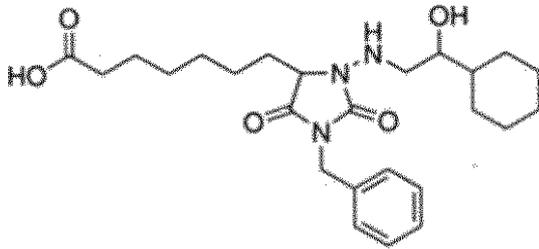
【0054】

本明細書において使用するとき、用語「DP受容体拮抗薬」は、プロスタグランジンD₂がDP受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。DP受容体拮抗薬としては、S-5751、BWA868Cおよびその誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0055】

BWA868Cは式

【化13】



20

で表される。

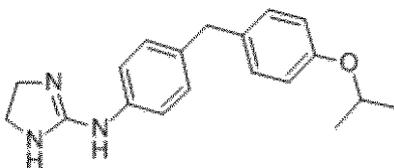
【0056】

本明細書において使用するとき、用語「IP受容体拮抗薬」は、プロスタグランジンI₂がIP受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。IP受容体拮抗薬としては、RO1138452およびその誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0057】

RO1138452は式

【化14】



30

40

で表される。

【0058】

本明細書において使用するとき、用語「プロスタグランジン受容体作動薬」は、当該物質自体がプロスタグランジン受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えばEP3受容体作動薬、を含む。

【0059】

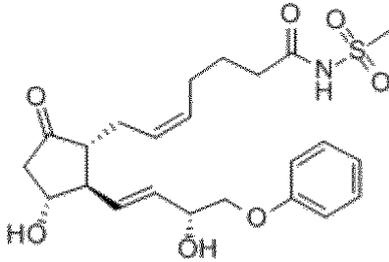
50

本明細書において使用するとき、用語「E P 3 受容体作動薬」は、当該物質自体が E P 3 受容体に作用する機能を有する物質を意味する。E P 3 受容体作動薬としては、スルプロストン、G R 6 3 7 9 9、クロプロステノール、O N O - A E - 2 4 8、カルバサイクリン、およびその誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0060】

スルプロストンは式

【化15】



10

で表される。

【0061】

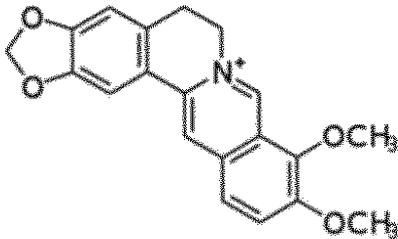
本明細書において使用するとき、用語「T S L P 産生抑制剤」は、T S L P の産生を抑制する機能を有する物質を意味する。N F - k B を抑制するような薬剤も間接的に T S L P 産生を抑制すると考えられる為、当該カテゴリーに含まれる。T S L P 産生抑制剤としては、ナリンゲニン、ベルベリン、レスベラトロール、ルテオリン、アピゲニン、クリソエリオール、ベルチン、ルチン、ヘスペリジン、ケルセチン、ダイゼイン、ゲニステイン、ノスカピン、ジンドリルメタン、キサントン、パルテノリドおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

20

【0062】

ベルベリンは式

【化16】



30

で表される。

【0063】

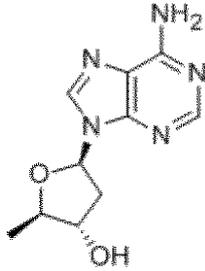
本明細書において使用するとき、用語「アデニル酸シクラーゼ阻害剤」は、アデニル酸シクラーゼの活性を抑制する機能を有する物質を意味する。アデニル酸シクラーゼ阻害剤としては、2', 5'-ジデオキシアデノシン、ナイアシン、インスリン、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

40

【0064】

2', 5'-ジデオキシアデノシンは式

【化17】



で表される。

10

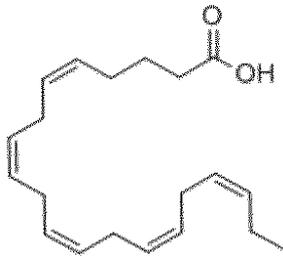
【0065】

本明細書において使用するとき、用語「オメガ3脂肪酸」は、不飽和脂肪酸の分類の1つで、 ω -3位に炭素-炭素二重結合をもつ物を示す。オメガ3脂肪酸としては、エイコサペンタエン酸、 ω -リノレン酸、ドコサヘキサエン酸、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0066】

エイコサペンタエン酸は式

【化18】



20

で表される。

【0067】

本明細書において使用するとき、用語「PPAR作動薬」は、当該物質自体がペルオキシソーム増殖因子活性化受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えばPPAR- α 作動薬、PPAR- β 作動薬、PPAR- γ 作動薬、を含む。

30

【0068】

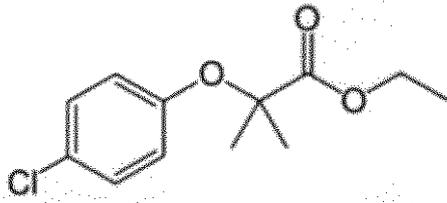
本明細書において使用するとき、用語「PPAR- α 作動薬」は、当該物質自体が α 型ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「PPAR- β 作動薬」は、当該物質自体が β 型ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「PPAR- γ 作動薬」は、当該物質自体が γ 型ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体に作用する機能を有する物質を意味する。PPAR- α 作動薬、および/またはPPAR- β 作動薬、および/またはPPAR- γ 作動薬としては、クロフィブラート、フェノフィブラート、ベザフィブラート、シプロフィブラート、エトフィブラート、テルミサルタン、オレイルエタノールアミド、テトラデシルチオ酢酸、トログリタゾン、ピオグリタゾン、ロシグリタゾン、バラグリタゾン、リボグリタゾン、シグリタゾン、ダルグリタゾン、エダグリタゾン、ネトグリタゾン、インデグリタザル、テサグリタザル、ムラグリタザル、アレグリタザルおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

40

【0069】

クロフィブラートは式

【化19】



10

で表される。

【0070】

本明細書において使用するとき、用語「ドーパミン受容体拮抗薬」は、ドーパミンが受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味し、例えばD1受容体拮抗薬、D5受容体拮抗薬、を含む。

【0071】

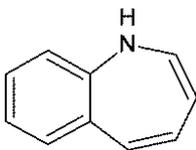
本明細書において使用するとき、用語「D1受容体拮抗薬」は、ドーパミンがD1受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。D1受容体拮抗薬としては、ベンザゼピン、フェノルドパム、ロルカセリン、SCH23390、SCH39166、LE300およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

20

【0072】

ベンザゼピンは式

【化20】



で表される。

【0073】

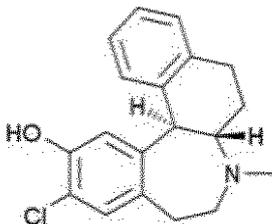
本明細書において使用するとき、用語「D5受容体拮抗薬」は、ドーパミンがD5受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。D5受容体拮抗薬としては、SCH39166およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

30

【0074】

SCH39166は式

【化21】



40

で表される。

【0075】

本明細書において使用するとき、用語「ドーパミン受容体作動薬」は、当該物質自体がドーパミン受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えばD2受容体作動薬、D3受容体作動薬、D4受容体作動薬、を含む。

【0076】

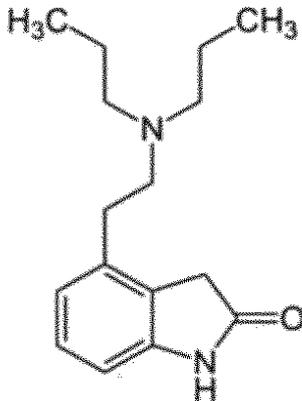
50

本明細書において使用するとき、用語「D2受容体作動薬」は、当該物質自体がD2受容体に作用する機能を有する物質を意味する。D2受容体作動薬としては、カベルゴリン、プロモクリプチン、ベルゴリド、ロピニロール、タリペキソール、アリピプラゾール、ルラシドン、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0077】

ロピニロールは式

【化22】



10

20

で表される。

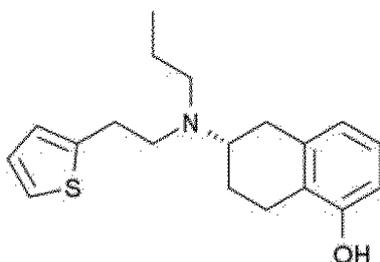
【0078】

本明細書において使用するとき、用語「D3受容体作動薬」は、当該物質自体がD3受容体に作用する機能を有する物質を意味する。D3受容体作動薬としては、ピリベジル、ロチゴチン、PD1289077、OH-DPATおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0079】

ロチゴチンは式

【化23】



30

で表わされる。

【0080】

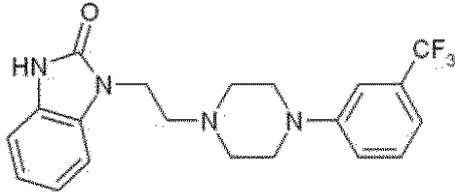
本明細書において使用するとき、用語「D4受容体作動薬」は、当該物質自体がD4受容体に作用する機能を有する物質を意味する。D4受容体作動薬としては、フリバンセリン、ABT724、PD168077、CP226269およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0081】

フリバンセリンは式

40

【化 2 4】



で表される。

【 0 0 8 2】

本明細書において使用するとき、用語「ヒスタミン受容体拮抗薬」は、ヒスタミンが受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味し、例えばH1受容体拮抗薬、H2受容体拮抗薬、を含む。

10

【 0 0 8 3】

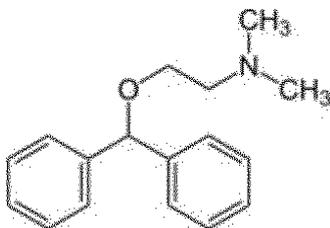
本明細書において使用するとき、用語「H1受容体拮抗薬」は、ヒスタミンがH1受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。H1受容体拮抗薬としては、ケタンセリン、トンジルアミン、メピラミン、トリペレナミン、ジメチンデン、クレマスチン、バミピン、イソチペンジル、クロルフェノキサミン、ジメトチアジン、クロルプロマジン、ヒドロキシジン、オピプラモール、ベタヒスチン、シンナリジン、レボカバスチン、アンタゾリン、ジフェニルピラリン、カルビノキサミン、ドキシラミン、アリメマジン、シクリジン、メクロジン、レボセチリジン、シプロヘプタジン、フェニンダミン、トリプロリジン、アザタジン、アステミゾール、テルフェナジン、アクリバスチン、エバスチン、デスロラタジン、ルパタジン、ピラスチン、ミゾラスチン、ノベラスチン、ロカスチン、テメラスチン、ベボタスチン、ジフェンヒドラミン、クロルフェニラミン、ケトチフェン、プロメタジン、シプロヘプタジン、エピナスチン、オロパタジン、ベボタスチン、アステミゾール、エメダスチン、メキタジン、オキサトミド、ロラタジン、フェキソフェナジン、セチリジン、アゼラスチン、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

20

【 0 0 8 4】

ジフェンヒドラミンは式

【化 2 5】



で表される。

【 0 0 8 5】

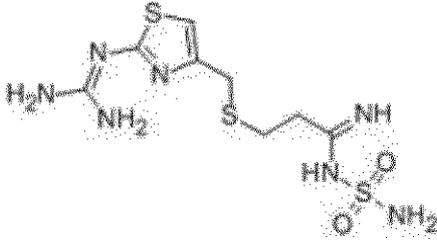
本明細書において使用するとき、用語「H2受容体拮抗薬」は、ヒスタミンがH2受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。H2受容体拮抗薬としては、シメチジン、ラニチジン、ファモチジン、ニザチジン、ロキサチジン、ラフチジン、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

40

【 0 0 8 6】

ファモチジンは式

【化26】



で表される。

【0087】

10

本明細書において使用するとき、用語「ヒスタミン受容体作動薬」は、当該物質自体がヒスタミン受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えばH1受容体作動薬、H3受容体作動薬、H4受容体作動薬、を含む。

【0088】

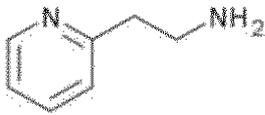
本明細書において使用するとき、用語「H1受容体作動薬」は、当該物質自体がH1受容体に作用する機能を有する物質を意味する。H1受容体作動薬としては、2-ピリジルエチルアミン、2-チアゾリルエチルアミンおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0089】

2-ピリジルエチルアミンは式

20

【化27】



で表される。

【0090】

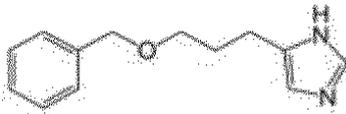
本明細書において使用するとき、用語「H3受容体作動薬」は、当該物質自体がH3受容体に作用する機能を有する物質を意味する。H3受容体作動薬としては、Immethridine、Imetit、Immepip、メチルヒスタミン、プロキシファン、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

30

【0091】

プロキシファンは式

【化28】



で表される。

【0092】

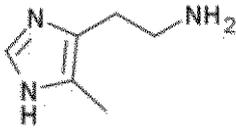
40

本明細書において使用するとき、用語「H4受容体作動薬」は、当該物質自体がH4受容体に作用する機能を有する物質を意味する。H4受容体作動薬としては、4-メチルヒスタミン、VUF8430、Immepipおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0093】

4-メチルヒスタミンは式

【化 29】



で表される。

【0094】

本明細書において使用するとき、用語「セロトニン受容体拮抗薬」は、セロトニンが受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味し、例えば5-HT₂受容体拮抗薬、5-HT₄受容体拮抗薬、5-HT₆受容体拮抗薬、5-HT₇受容体拮抗薬、を含む。

10

【0095】

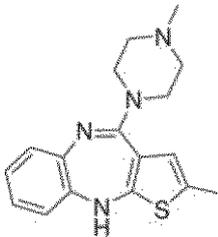
本明細書において使用するとき、用語「5-HT₂受容体拮抗薬」は、セロトニンが5-HT₂受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。5-HT₂受容体拮抗薬としては、ピゾチフェン、リスペリドン、オランザピン、クエチアピン、アリピプラゾール、プロナンセリン、クロザピン、パリペリドン、リタンセリン、ヨヒンビン、メスレルギン、アゴメラチン、シクロベンザプリン、サルボグレラート、メチセルギド、ケタンセリンおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0096】

オランザピンは式

20

【化 30】



で表される。

30

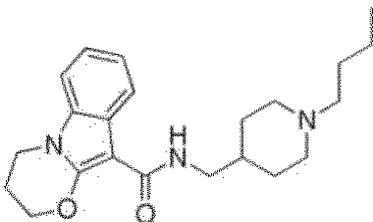
【0097】

本明細書において使用するとき、用語「5-HT₄受容体拮抗薬」は、セロトニンが5-HT₄受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。5-HT₄受容体拮抗薬としては、ピボセロド、GR113808、GR125487、RS39604、SB204070およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0098】

ピボセロドは式

【化 31】



40

で表される。

【0099】

本明細書において使用するとき、用語「5-HT₆受容体拮抗薬」は、セロトニンが5-HT₆受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。5-HT₆受容体拮

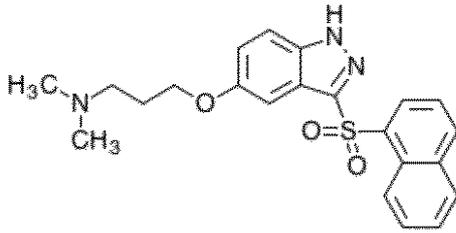
50

抗薬としては、セルラピルジン、クロザピンおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【 0 1 0 0 】

セルラピルジンは式

【化 3 2】



10

で表される。

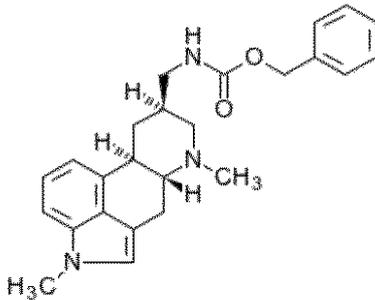
【 0 1 0 1 】

本明細書において使用するとき、用語「5 - H T 7 受容体拮抗薬」は、セロトニンが 5 - H T 7 受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。5 - H T 7 受容体拮抗薬としては、ルラシドン、メテルゴリンおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【 0 1 0 2 】

メテルゴリンは式

【化 3 3】



30

で表される。

【 0 1 0 3 】

本明細書において使用するとき、用語「セロトニン受容体作動薬」は、当該物質自体がセロトニン受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えば 5 - H T 1 受容体作動薬、5 - H T 2 受容体作動薬、を含む。

【 0 1 0 4 】

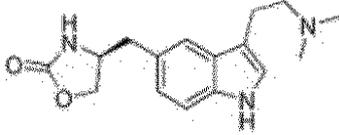
本明細書において使用するとき、用語「5 - H T 1 受容体作動薬」は、当該物質自体が 5 - H T 1 受容体に作用する機能を有する物質を意味する。5 - H T 1 受容体作動薬としては、ピクロゾタン、タンドスピロン、スマトリプタン、ゾルミトリプタン、エレトリプタン、リザトリプタン、ナラトリプタン、アルモトリプタン、フロバトリプタン、アビトリプタン、エルゴタミン、麦角アルカロイドおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

40

【 0 1 0 5 】

ゾルミトリプタンは式

【化 3 4】



で表される。

【 0 1 0 6】

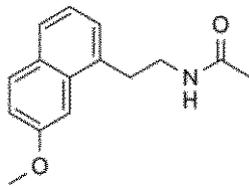
本明細書において使用するとき、用語「5-HT₂受容体作動薬」は、当該物質自体が5-HT₂受容体に作用する機能を有する物質を意味する。5-HT₂受容体作動薬としては、メチル-5-HT、アゴメラチン、ノルフェンフルラミン、メタクロロフェニルピペラジンおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

10

【 0 1 0 7】

アゴメラチンは式

【化 3 5】



で表される。

【 0 1 0 8】

本明細書において使用するとき、用語「バソプレシン受容体拮抗薬」は、バソプレシンが受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味し、例えばV₂受容体拮抗薬、を含む。

【 0 1 0 9】

本明細書において使用するとき、用語「V₂受容体拮抗薬」は、バソプレシンがV₂受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。V₂受容体拮抗薬としては、トルバプタン、モザバプタン、コニバプタン、リキシバプタン、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

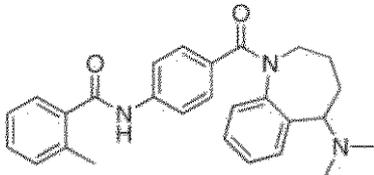
20

30

【 0 1 1 0】

モザバプタンは式

【化 3 6】



で表される。

【 0 1 1 1】

本明細書において使用するとき、用語「バソプレシン受容体作動薬」は、当該物質自体がバソプレシン受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えばV₁受容体作動薬、を含む。

40

【 0 1 1 2】

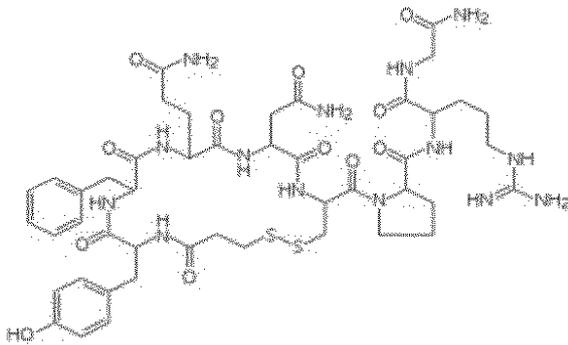
本明細書において使用するとき、用語「V₁受容体作動薬」は、当該物質自体がV₁受容体に作用する機能を有する物質を意味する。V₁受容体作動薬としては、バソプレシン、フェリプレシン、デスモプレシン、ライプレシン、テルリプレシン、オルニプレシン、アルギプレシン、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

50

【 0 1 1 3 】

デスモプレシンは式

【 化 3 7 】



10

で表される。

【 0 1 1 4 】

本明細書において使用するとき、用語「ムスカリン受容体拮抗薬」は、アセチルコリンがムスカリン受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味し、例えばM1受容体拮抗薬、M3受容体拮抗薬、M5受容体拮抗薬、を含む。

【 0 1 1 5 】

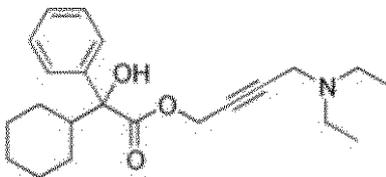
本明細書において使用するとき、用語「M1受容体拮抗薬」は、アセチルコリンがM1受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。用語「M3受容体拮抗薬」は、アセチルコリンがM3受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。用語「M5受容体拮抗薬」は、アセチルコリンがM5受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。M1受容体拮抗薬、および/またはM3受容体拮抗薬、および/またはM5受容体拮抗薬としては、ピレンゼピン、アトロピン、トリメブチン、ピペリドレート、オキシブチニン、トロピカミド、プロピペリン、トルテロジン、ソリフェナシン、ダリフェナシン、イミダフェナシン、オキシフェンサイクリミン、チオトロピウム臭化物、エスオキシブチニン、チキジウム、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

20

【 0 1 1 6 】

オキシブチニンは式

【 化 3 8 】



で表される。

【 0 1 1 7 】

本明細書において使用するとき、用語「ムスカリン受容体作動薬」は、当該物質自体がムスカリン受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えばM1受容体作動薬、M2受容体作動薬、M3受容体作動薬、M4受容体作動薬、M5受容体作動薬、を含む。

40

【 0 1 1 8 】

本明細書において使用するとき、用語「M1受容体作動薬」は、当該物質自体がM1受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「M2受容体作動薬」は、当該物質自体がM2受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「M3受容体作動薬」は、当該物質自体がM3受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「M4受容体作動薬」は、当該物質自体がM4受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「M5受容体作動薬」は、当該物質自体がM5受容体に作用する機能を有する物質を意味する

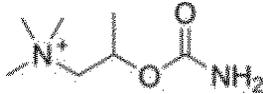
50

。M 1 受容体作動薬、および/またはM 2 受容体作動薬、および/またはM 3 受容体作動薬、および/またはM 4 受容体作動薬、および/またはM 5 受容体作動薬としては、アセチルコリン、アセクリジン、アルバメリン、タルサクリジン、キサノメリン、ピロカルピン、セビメリン、ベタネコール、マザチコール、ムスカリンおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0119】

ベタネコールは式

【化39】



で表される。

【0120】

本明細書において使用するとき、用語「アドレナリン受容体拮抗薬」は、アドレナリンが受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味し、例えば 1 受容体拮抗薬、1 受容体拮抗薬、 2 受容体拮抗薬、 3 受容体拮抗薬を含む。

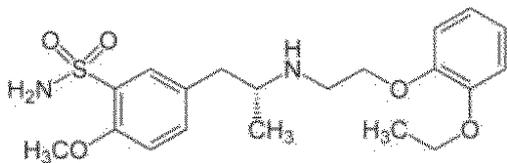
【0121】

本明細書において使用するとき、用語「 1 受容体拮抗薬」は、アドレナリンが 1 受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。 1 受容体拮抗薬としては、プラゾシン、ドキサゾシン、ブナゾシン、トリマゾシン、アルフゾシン、シロドシン、テラゾシン、タムスロシン、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0122】

タムスロシンは式

【化40】



で表される。

【0123】

本明細書において使用するとき、用語「 1 受容体拮抗薬」は、アドレナリンが 1 受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。用語「 2 受容体拮抗薬」は、アドレナリンが 2 受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。用語「 3 受容体拮抗薬」は、アドレナリンが 3 受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。 1 受容体拮抗薬、および/または 2 受容体拮抗薬、および/または 3 受容体拮抗薬としては、ポピンドロール、ピンドロール、チモロール、ジクロロイソプレナリン、アルプレノロール、カルテオロール、インデノロール、ブニトロロール、ペンブトロール、プロプラノロール、ナドロール、ニブラジロール、チリソロール、アセプトロール、セリプロロール、メトプロロール、アテノロール、ピソプロロール、ベタキソロール、プラクトロール、ベバントロール、プトキサミン、カルベジロール、アモスラロール、アロチノロール、ラベタロール、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0124】

プロプラノロールは式

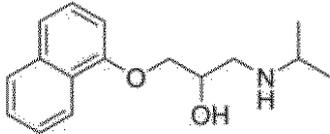
10

20

30

40

【化 4 1】



で表される。

【 0 1 2 5】

本明細書において使用するとき、用語「アンジオテンシン受容体作動薬」は、当該物質自体がアンジオテンシン受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えば A T 2 受容体作動薬、を含む。

10

【 0 1 2 6】

本明細書において使用するとき、用語「アドレナリン受容体作動薬」は、当該物質自体がアドレナリン受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えば 1 受容体作動薬、2 受容体作動薬、を含む。

【 0 1 2 7】

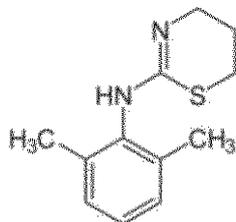
本明細書において使用するとき、用語「1 受容体作動薬」は、当該物質自体が 1 受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「2 受容体作動薬」は、当該物質自体が 2 受容体に作用する機能を有する物質を意味する。1 受容体作動薬、および/または 2 受容体作動薬としては、ノルエピネフリン、ノルフェネフリン、エチレフリン、ナファゾリン、フェニレフリン、ミドドリン、メトキサミン、オキシドリン、メタラミノール、アルブタミン、エフェドリン、オキシメタゾリン、テトリゾリン、キシロメタゾリン、トラマゾリン、プソイドエフェドリン、ジピペフリン、アミデフリン、メチルエフェドリン、リルメニジン、プリモニジン、メドトミジン、キシラジン、チザニジン、グアンファシン、メチルドーパ、グアナベンス、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

20

【 0 1 2 8】

キシラジンは式

【化 4 2】



で表わされる。

【 0 1 2 9】

本明細書において使用するとき、用語「アンジオテンシン受容体作動薬」は、当該物質自体がアンジオテンシン受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えば A T 2 受容体作動薬、を含む。

40

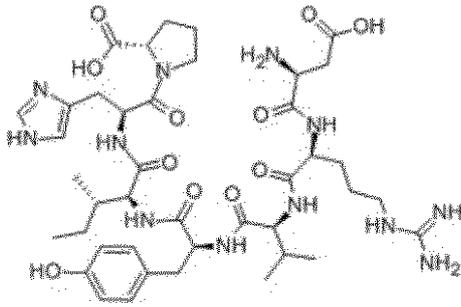
【 0 1 3 0】

本明細書において使用するとき、用語「A T 2 受容体作動薬」は、当該物質自体が A T 2 受容体に作用する機能を有する物質を意味する。A T 2 受容体作動薬としては、ノボキニン、アンジオテンシンおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【 0 1 3 1】

アンジオテンシンは式

【化43】



で表される。

10

【0132】

本明細書において使用するとき、用語「GABA受容体作動薬」は、当該物質自体がGABA受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えばGABA_B受容体作動薬、を含む。

【0133】

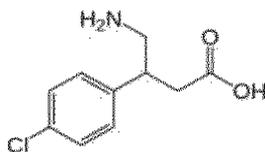
本明細書において使用するとき、用語「GABA_B受容体作動薬」は、当該物質自体がGABA_B受容体に作用する機能を有する物質を意味する。GABA_B受容体作動薬としては、バクロフェン、 γ -アミノ酪酸、アルバクロフェンおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0134】

20

バクロフェンは式

【化44】



で表される。

【0135】

本明細書において使用するとき、用語「トロンビン受容体拮抗薬」は、トロンビンが受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味し、例えばPAR-1受容体拮抗薬、を含む。

30

【0136】

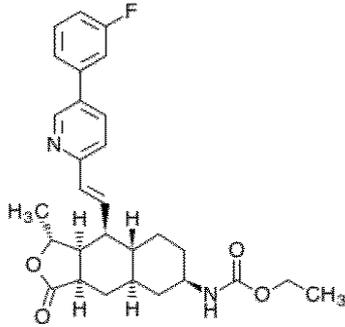
本明細書において使用するとき、用語「PAR-1受容体拮抗薬」は、トロンビンがPAR-1受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。PAR-1受容体拮抗薬としては、ボラパクサル、アトパキサ、FR171113、RWJ56110、ダビガトラン、ダビガトランエテキシレート、メラガトラン、キシメラガトラン、ヒルジン、ヒロログ、アルガトロバンおよびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0137】

40

ボラパクサルは式

【化 4 5】



10

で表される。

【 0 1 3 8 】

本明細書において使用するとき、用語「トロンピン受容体作動薬」は、当該物質自体がトロンピン受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えば P A R - 1 受容体作動薬、を含む。

【 0 1 3 9 】

本明細書において使用するとき、用語「P A R - 1 受容体作動薬」は、当該物質自体が P A R - 1 受容体に作用する機能を有する物質を意味する。P A R - 1 受容体作動薬としては、T R A P - 6、T R A P - 1 4、N A T 6 - N H ₂ およびそれらの誘導体、ならび

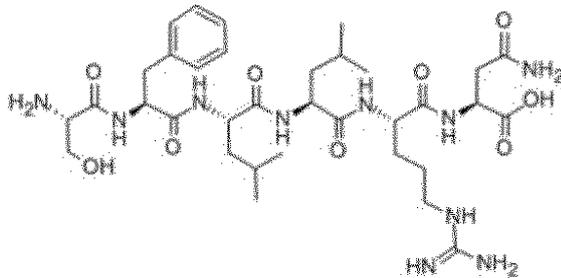
20

にそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【 0 1 4 0 】

T R A P - 6 は式

【化 4 6】



30

で表される。

【 0 1 4 1 】

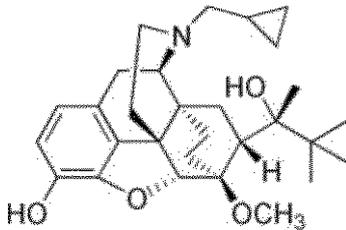
本明細書において使用するとき、用語「オピオイド受容体作動薬」は、当該物質自体がオピオイド受容体に作用する機能を有する物質を意味する。オピオイド受容体作動薬としては、トリメブチン、アルピモパン、モルフィン、オキシコドン、ジヒドロコデイン、ジアモルフィン、ペチジン、ペンタゾシン、ブプレノルフィン、ブトルファノール、ナルブフィン、チリジン、デゾシン、メブタジノール、タペンタドール、ナルトレキソン、メタドン、エチルモルフィン、ヒドロコドン、アセチルジヒドロコデイン、ナロルフィン、ロペラミド、レモキシプリド、オピブラモール、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

40

【 0 1 4 2 】

ブプレノルフィン は式

【化47】



で表される。

【0143】

本明細書において使用するとき、用語「ロイコトリエン受容体拮抗薬」は、ロイコトリエンが受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味し、例えばCysLT1受容体拮抗薬、CysLT2受容体拮抗薬を含む。

10

【0144】

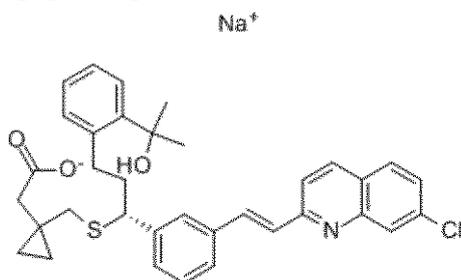
本明細書において使用するとき、用語「CysLT1受容体拮抗薬」は、ロイコトリエンがCysLT1受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。用語「CysLT2受容体拮抗薬」は、ロイコトリエンがCysLT2受容体に作用するのを妨げる機能を有する物質を意味する。CysLT1受容体拮抗薬、および/またはCysLT2受容体拮抗薬としては、モンテルカスト、ザフィルルカスト、プラナルカスト、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。例えば、モンテルカストの薬理的に許容される塩としては、モンテルカストナトリウムなどが挙げ

20

【0145】

モンテルカストナトリウムは式

【化48】



30

で表される。

【0146】

本明細書において使用するとき、用語「ロイコトリエン受容体作動薬」は、当該物質自体がロイコトリエン受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えばBLT受容体作動薬を含む。

【0147】

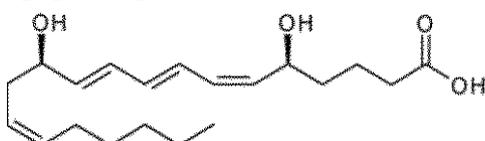
本明細書において使用するとき、用語「BLT受容体作動薬」は、当該物質自体がBLT受容体に作用する機能を有する物質を意味する。BLT受容体作動薬としては、ロイコトリエンB4、CAY10583およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

40

【0148】

ロイコトリエンB4は式

【化49】



で表される。

50

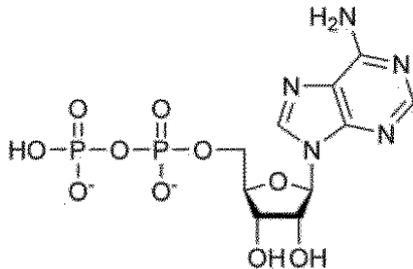
【 0 1 4 9 】

本明細書において使用するとき、用語「ADP受容体作動薬」は、当該物質自体がADP受容体に作用する機能を有する物質を意味する。ADP受容体作動薬としては、アデノシン二リン酸、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【 0 1 5 0 】

アデノシン二リン酸は式

【 化 5 0 】



10

で表される。

【 0 1 5 1 】

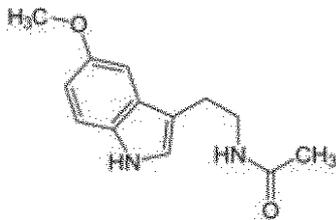
本明細書において使用するとき、用語「メラトニン受容体作動薬」は、当該物質自体がメラトニン受容体に作用する機能を有する物質を意味する。メラトニン受容体作動薬としては、メラトニン、ペルラピン、タシメルテオン、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

20

【 0 1 5 2 】

メラトニンは式

【 化 5 1 】



30

で表される。

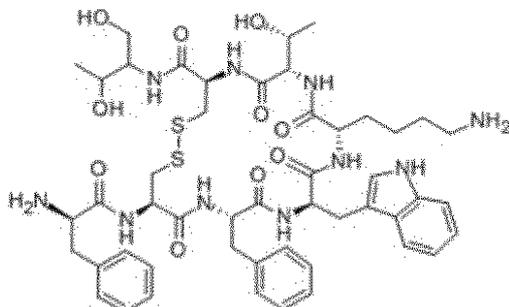
【 0 1 5 3 】

本明細書において使用するとき、用語「ソマトスタチン受容体作動薬」は、当該物質自体がソマトスタチン受容体に作用する機能を有する物質を意味する。ソマトスタチン受容体作動薬としては、ソマトスタチン、ソマトスタチン-14、オクトレオチド、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【 0 1 5 4 】

オクトレオチドは式

【 化 5 2 】



40

で表される。

【 0 1 5 5 】

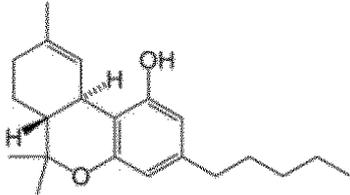
50

本明細書において使用するとき、用語「カンナビノイド受容体作動薬」は、当該物質自体がカンナビノイド受容体に作用する機能を有する物質を意味する。カンナビノイド受容体作動薬としては、ドロナビノール、ナビロン、レボナントラドール、オテナバント、GW833972A、GW405833、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0156】

ドロナビノールは式

【化53】



10

で表される。

【0157】

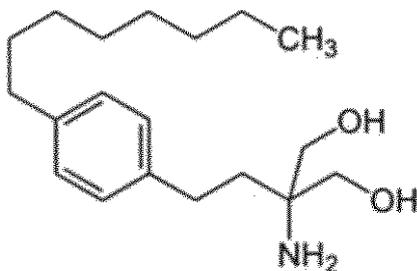
本明細書において使用するとき、用語「スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬」は、当該物質自体がスフィンゴシン1リン酸受容体に作用する機能を有する物質を意味する。スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬としては、フィンゴリモド、ボネシモド、RPC-1063、ONO-4641、SEW2871、スフィンゴシン1リン酸およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

20

【0158】

フィンゴリモドは式

【化54】



30

で表される。

【0159】

本明細書において使用するとき、用語「代謝型グルタミン酸受容体作動薬」は、当該物質自体が代謝型グルタミン酸受容体に作用する機能を有する物質を意味し、例えばmGluR2受容体作動薬、mGluR3受容体作動薬、mGluR4受容体作動薬、mGluR6受容体作動薬、mGluR7受容体作動薬、mGluR8受容体作動薬、を含む。

40

【0160】

本明細書において使用するとき、用語「mGluR2受容体作動薬」は、当該物質自体がmGluR2受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「mGluR3受容体作動薬」は、当該物質自体がmGluR3受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「mGluR4受容体作動薬」は、当該物質自体がmGluR4受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「mGluR6受容体作動薬」は、当該物質自体がmGluR6受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「mGluR7受容体作動薬」は、当該物質自体がmGluR7受容体に作用する機能を有する物質を意味する。用語「mGluR8受容体作動薬」は、当該物質自体がmGluR8受容体に作用する

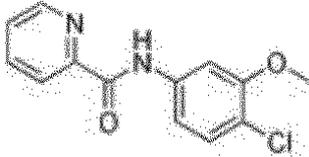
50

機能を有する物質を意味する。mGluR2受容体作動薬、および/またはmGluR3受容体作動薬、および/またはmGluR4受容体作動薬、および/またはmGluR6受容体作動薬、および/またはmGluR7受容体作動薬、および/またはmGluR8受容体作動薬、としては、VU0361737、VU0155041、ピフェニルイндаノンA、PBDA、L-AP4、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0161】

VU0361737は式

【化55】



10

で表される。

【0162】

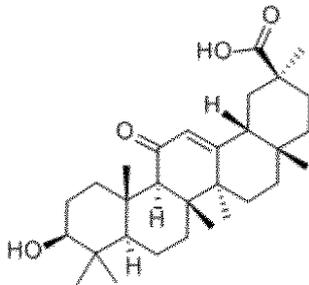
本明細書において使用するとき、用語「ホスホリパーゼA2阻害剤」は、ホスホリパーゼA2の活性を抑制する機能を有する物質を意味する。ホスホリパーゼA2阻害剤としては、グリチルリチン酸、グリチルレチン酸、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

20

【0163】

グリチルレチン酸は式

【化56】



30

で表される。

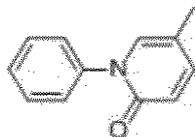
【0164】

本明細書において使用するとき、用語「TGF- β 産生抑制剤」は、TGF- β の産生を抑制する機能を有する物質を意味する。TGF- β 産生抑制剤としては、ピルフェニドン、トラニラスト、およびその誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

【0165】

ピルフェニドンは式

【化57】



40

で表される。

【0166】

本明細書において使用するとき、用語「Th2サイトカイン阻害剤」は、IL-4、IL-5といったTh2サイトカインの産生を抑制する機能を有する物質を意味する。Th2サイトカイン阻害剤としては、スプラタストおよびその誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。スプラタストの薬理的に許容される塩としては

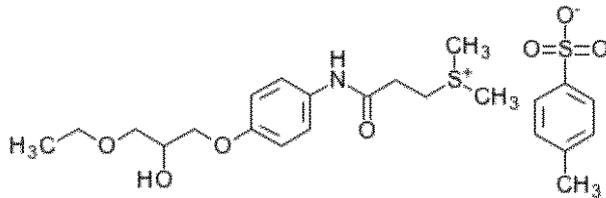
50

、例えばトシル酸プラタストが挙げられる。本発明の好ましい態様において、Th2 サイトカイン阻害剤はトシル酸プラタストである。

【0167】

トシル酸プラタストは式

【化58】



10

で表される。

【0168】

本明細書において使用するとき、用語「免疫調節低分子薬物」は、T細胞、NK細胞、マクロファージ等の免疫細胞を活性化または抑制する物質のうち、上述したTLRリガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、およびTh2サイトカイン阻害剤のいずれにも該当しないものを意味する。免疫調節低分子薬物としては、例えば、ベスタチン、ピドチモド、レバミゾール、ゴロチモド、ホルフェニシノール、およびそれらの誘導体、ならびにそれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。例えば、レバミゾールの薬理的に許容される塩としては、レバミゾール塩酸塩などが挙げられる。

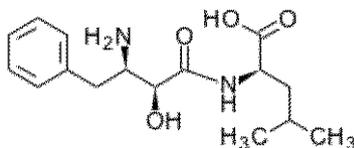
20

30

【0169】

ベスタチンは式

【化59】



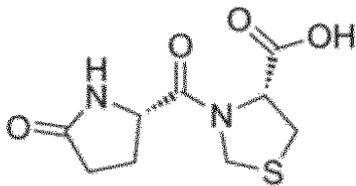
40

で表される。

【0170】

ピドチモドは式

【化60】



で表される。

【0171】

レバミゾール塩酸塩は式

【化61】



で表される。

【0172】

本発明において、免疫調節低分子薬物は、通常、分子量1000未満、好ましくは500未満の化合物である。本発明の好ましい態様において、免疫調節低分子薬物は、ベスタチン、ピドチモドおよびレバミゾール塩酸塩からなる群より選択される1種以上の化合物である。

【0173】

本発明は、上記の通り、種々の細胞性免疫誘導促進剤の中でもTLRリガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体拮抗薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、およびTh2サイトカイン阻害剤がWT1ペプチド抗原および/または改変WT1ペプチド抗原の経皮投与により誘導される免疫応答の増強にとりわけ好適であることを見出したものであり、したがって、一つの態様において、本願発明の細胞性免疫誘導促進剤は、それらから選択される1種以上である。WT1ペプチド抗原および/または改変WT1ペプチド抗原による免疫誘導促進効果の点から、好ましい細胞性免疫誘導促進剤は、TLR3リガンド、TLR4リガンド、TLR7および/またはTLR8リガンド、TLR9リガンド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤および環状ジヌクレオチドからなる群より選択される1種以上であり、より好ましい細胞性免疫誘導促進剤は、TLR7および/またはTLR8リガンド、環状ジヌクレオチド、TLR9リガンドおよびシクロオキシゲナーゼ阻害剤からなる群より選択される1種以上である。細胞性免疫の誘導を定量的に測定する方法としては様々なものが開発されており、そのいずれか1つまたはそれ以上、例えば実施例に記載のELISPOT法を用いてよい。

【0174】

本明細書において使用するとき、非侵襲的投与とは、物理的刺激および/または化学的

10

20

30

40

50

刺激、好ましくは物理刺激（例えばテープストリッピング、マイクロニードル）を積極的に皮膚に与えることなく、投与することを意味する。

【0175】

本明細書において使用するとき、用語「低刺激条件」は、皮膚に与えられる刺激が、従来のワクチンに含まれる抗原の皮膚透過性を向上させるために皮膚に通常与えられる刺激よりも低い条件または皮膚に刺激を与えない条件を意味する。従来のワクチン組成物を経皮投与する際、投与前または投与時に皮膚に物理的および/または化学的刺激を与えて抗原の皮膚透過性を向上させている。好ましい態様において、低刺激条件としては、物理的10 刺激が低い条件および化学的刺激が低い条件が挙げられる。物理的刺激が低い条件は、例えば、ワクチン投与前の皮膚刺激評価用モデル動物での経皮水分蒸散量（TEWL）（ $g/h \cdot m^2$ ）が50以下、好ましくは45以下、より好ましくは40以下、さらに好ましくは35以下、さらにより好ましくは30以下の条件である。無処置の皮膚ではTEWLレベルは約2（ $g/h \cdot m^2$ ）であるから、投与前のTEWLレベルは2（ $g/h \cdot m^2$ ）以上となる。化学的20 刺激が低い条件は、例えば、皮膚刺激評価用モデル動物の皮膚内における胸腺間質性リンパ球新生因子（TSLP）レベル（ pg/mg タンパク質）が10000以下、好ましくは9000以下、より好ましくは8000以下、さらに好ましくは7000以下の条件である。無処置の皮膚ではTSLPレベルは約1（ pg/mg タンパク質）であるから、投与終了時にはTSLPレベルは1（ pg/mg タンパク質）を超え、好ましくは2（ pg/mg タンパク質）を超え、より好ましくは3（ pg/mg タンパク質）を超える。「胸腺間質性リンパ球新生因子（TSLP）」はT細胞の分化やリクルート20 に関連するサイトカインであり、本発明において皮膚刺激の程度の指標として利用可能である（値が大きいほど刺激が強い）。物理的刺激が低い条件を達成するための手段は例えば、通常行われている投与前の皮膚の前処理、例えばテープストリッピング、マイクロニードル穿刺等を行わないことが挙げられる。化学的刺激が低い条件を達成するための手段は例えば、刺激性を有する化学成分、例えばエタノール、界面活性剤等を特定量以上に投与しないことが挙げられる。所望の対象への本発明のワクチン組成物の投与においては、皮膚刺激評価用モデル動物を用いて上記低刺激条件を達成するための具体的手段を決定し、かかる手段を所望の対象、例えばヒト等への投与の際に適用することができる。

【0176】

本明細書において使用するとき、用語「癌」は、WT1遺伝子の異常な発現、例えば過剰発現を伴う癌、例えば造血器腫瘍や固形癌を意味する。WT1遺伝子の異常な発現を伴う造血器腫瘍には、例えば急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病および慢性骨髄性白血病のような白血病、骨髄異形性症候群、多発性骨髄腫ならびに非ホジキンリンパ腫のような悪性リンパ腫が含まれるが、これらに限定されない。WT1遺伝子の異常な発現を伴う固形癌には、例えば肺癌、乳癌、胃癌、大腸・直腸癌、胚細胞癌、肝癌、皮膚癌、膵臓癌、胆管癌、頭頸部扁平上皮癌、甲状腺癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮癌、子宮頸癌、骨軟部肉腫、悪性黒色腫、悪性中皮腫、精巣胚細胞腫瘍および悪性グリオーマ30 が含まれるが、これらに限定されない。

【0177】

本明細書において使用するとき、用語「遺伝子の異常な発現」は、ある細胞におけるその遺伝子の発現レベルが、同じ組織の他の細胞と比較して、顕著に、例えば2倍以上、例えば4倍以上、上昇または低下していることを意味する。用語「過剰発現」は、異常な発現が発現レベルの上昇であることを意味する。遺伝子の発現レベルは、当該技術分野で周知のいずれかの方法を用いて、容易に測定できる。

【0178】

本明細書において使用するとき、用語「対象」は、実用段階において経皮投与用癌ワクチン組成物を投与して免疫応答を誘導しうる動物であって、WT1遺伝子を有するいずれかの動物、典型的にはヒトを含む哺乳類、例えばマウス、ラット、イヌ、ネコ、ウサギ、ウマ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、サル、チンパンジー等を意味する。特に好ましい対象は、ヒトである。

10

20

30

40

50

【0179】

本明細書において使用するとき、用語「免疫評価用モデル動物」は、経皮投与用癌ワクチン組成物の免疫誘導特性を評価するためのモデル動物を意味し、具体的には細胞性免疫誘導レベルを評価するためのモデル動物を意味する。免疫評価用モデル動物としては、ワクチン組成物中の抗原と、動物のMHCクラス1分子との適合性を考慮し、ワクチン組成物中の抗原による細胞性免疫誘導が評価可能な動物を用いる。例えばHLA-A*24型MHC拘束性クラス1ペプチドを含むワクチン組成物の場合は、BALB/cマウスで評価する。HLA-A*02型MHC拘束性ペプチドを含むワクチン組成物の場合は、HLA-A*02型MHC拘束性ペプチドによる細胞性免疫誘導を評価可能な遺伝子改変マウスで評価する。他のHLA型のMHC拘束性ペプチドを含むワクチン組成物の場合は、そのHLA型のMHC拘束性ペプチドによる細胞性免疫誘導を評価可能な動物で評価する。蛋白抗原を含むワクチン組成物の場合は、蛋白抗原のアミノ酸配列中に含まれるクラス1エピトープのうち、細胞性免疫誘導したいクラス1エピトープと適合性のあるMHCを有する動物で評価する。なおDb126ペプチドを用いた経皮投与用癌ワクチン組成物の場合は、Db126ペプチドがHLA-A*02型だけでなくMHC-H-2Db型にも適合することから、HLA-A*0201型MHC拘束性ペプチドによる細胞性免疫誘導を評価可能な遺伝子改変マウスだけでなく、MHC-H-2Db型を有する動物であるC57BL/6マウスも免疫評価用モデルマウスとして用いることができる。経皮投与部位を確保するために毛刈りをした場合は、毛刈りによる皮膚ダメージを十分に回復させた状態の動物を用いる。

10

20

【0180】

本明細書において使用するとき、用語「皮膚刺激評価用モデル動物」は、皮膚の物理的刺激的指標としての経皮水分蒸散量(TEWL)、経皮投与用癌ワクチン組成物の皮膚刺激特性としてのTSLPを評価するためのモデル動物を意味する。経皮投与用癌ワクチン組成物に含まれる抗原の種類に関わらず、皮膚刺激評価用モデル動物としてはC57BL/6マウスを用いる。経皮投与部位を確保するために毛刈りをした場合は、毛刈りによる皮膚ダメージを十分に回復させた状態の動物を用いる。

【0181】

II. 経皮投与用癌ワクチン組成物

WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドが癌ワクチンとして有用なことは、既に明らかにされている(例えば特許文献1)。

30

【0182】

本明細書において使用するとき、用語「経皮投与用」組成物は、経皮投与に通常使用されるいずれかの製剤、例えばリニメント剤もしくはローション剤のような外用液剤、エアゾール剤のような外用スプレー剤、軟膏剤、硬膏剤、クリーム剤、ゲル剤またはテープ剤もしくはパップ剤のような貼付剤であってよい。これらの組成物の区分、定義、性質、製法等は、当該技術分野において周知であり、例えば日本薬局方第16版を参照されたい。

【0183】

例えばリニメント剤用基剤としては、水、エタノール、脂肪油、例えば硬パラフィン、軟パラフィン、液パラフィン、グリセリン、パラフィン油、蜜蝋、金属石鹼;粘液(mucilage);天然油[例:アーモンド油、コーン油、ピーナッツ油、ヒマシ油、オリーブ油、またはそれらの誘導體(例えば、ポリオキシヒマシ油)];羊脂若しくはその誘導體、脂肪酸及び/又はエステル(例:ステアリン酸、オレイン酸、ミリスチン酸イソプロピル)が挙げられる。

40

ローション剤は、活性成分を水性の液中に微細に均質分散した製剤であり、懸濁性ローション剤と、乳濁性ローション剤とがある。懸濁化剤としては、例えばアラビアゴム、アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ペントナイト等が挙げられる。乳化剤としては、例えばラウリル硫酸ナトリウム、ソルビタン脂肪酸エステル等が挙げられる。

【0184】

50

例えば軟膏基剤としては、一般に疎水性基剤としての油脂類、ロウ、炭化水素化合物等を用いることができる。具体的には、軟膏基剤としては、黄色ワセリン、白色ワセリン、パラフィン、流動パラフィン、プラスチックベース、シリコーン等の鉱物性基剤、ミツロウ、動植物性油脂等の動植物性基剤等が挙げられる。

例えばクリーム剤用基剤としては、親水軟膏、バニシングクリーム等の水/油型基剤；親水ワセリン、精製ラノリン、アクアホール、オイセリン、ネオセリン、加水ラノリン、コールドクリーム、親水プラスチック等の油/水型基剤が挙げられる。

例えばゲル基剤としては、ヒドロゲル基剤としてのカルボキシビニルポリマー、ゲルベース、無脂肪性軟膏、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリアクリル酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、デンプン、キサンタンガム、カラヤガム、アルギン酸ナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート（HPMCP）、酢酸フタル酸セルロース（CAP）、カルボキシメチルエチルセルロース（CMC）、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシビニルポリマー、トラガント、アラビアゴム、タラガム、タマリンドシードガム、サイリウムシードガム、寒天、ジェランガム、グルコマンナン、ローカストビーンガム、グアーガム、カラギーナン、デキストリン、デキストラン、アミロース、カルボキシメチルセルロースカリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、プルラン、キトサン、カルボキシメチルスターチナトリウム、ブランタゴ種皮、ガラクトマンナン、アミノアルキルメタクリレートコポリマーE、アミノアルキルメタクリレートコポリマーRS、メタクリル酸コポリマーL、メタクリル酸コポリマーLD、メタクリル酸コポリマーS、メチルアクリレート・メタクリル酸・メチルメタアクリレートコポリマー、アクリル酸エチル・メタクリル酸メチルコポリマー、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート、カゼイン、アルギン酸アルキルエステル、ゼラチン、ポリエチレングリコール等を用いることができる。

【0185】

例えばパップ剤用基剤としては、ゼラチン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ポリアクリル酸ナトリウム、カオリン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、グリセリン、プロピレングリコール、水等が挙げられる。

例えばテープ剤は、アクリル系粘着剤、天然ゴム系粘着剤、合成ゴム系粘着剤（合成イソプレンゴム、ポリイソブチレン（PIB）、スチレン-ブタジエンゴム、スチレン-イソプレン-スチレン（SIS）ゴムなどのゴム系エラストマーを含む）、シリコーン系粘着剤、ビニルエステル系粘着剤、ビニルエーテル系粘着剤等を含む粘着剤層と、粘着剤層を支持する支持体とを含む。所望により、使用前に粘着剤層を露出させず、使用時に粘着剤層から容易に剥離できる剥離ライナーをさらに含んでいてもよい。

【0186】

本発明の癌ワクチン組成物中におけるWT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドならびに細胞性免疫誘導促進剤の割合は、特に限定されない。一つの態様において、本発明の癌ワクチン組成物は、WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドを、組成物の総重量に基づき、好ましくは0.01~40重量%、より好ましくは0.1~30重量%含む。一つの態様において、本発明の癌ワクチン組成物は、細胞性免疫誘導促進剤を、組成物の総重量に基づき、好ましくは0.001~30重量%、より好ましくは0.01~20重量%含む。

【0187】

本発明の組成物がテープ剤の形態である場合、テープ剤は、マトリクス型テープ剤の場合、WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドである有効成分等を含む粘着剤層と、粘着剤層を支持する支持体を含む。テープ剤は、リザーバー型テープ剤の場合、有効成分等を含むリザーバーおよび粘着剤層と、リザーバーおよび粘着剤層を支持する支持体を含む。テープ剤は、後述するように、所望により、使用前に粘着剤層を露出させず、使用時に粘着剤層から容易に剥離できる剥離ライナーをさらに含んでいてもよい。以下、代

10

20

30

40

50

表的にテープ剤について詳細に説明する。該テープ剤（以下、「本発明のテープ剤」とも称する）の粘着剤層は、WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドならびに細胞性免疫誘導促進剤を含む。一つの態様において、本発明のテープ剤の粘着剤層は、WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドを、粘着剤層の総重量に基づき、好ましくは0.01~40重量%、より好ましくは0.1~30重量%含む。一つの態様において、本発明のテープ剤の粘着剤層は、細胞性免疫誘導促進剤を、粘着剤層の総重量に基づき、好ましくは0.001~30重量%、より好ましくは0.01~20重量%含む。

【0188】

本発明のテープ剤の粘着剤層を形成すべき粘着剤は特に限定されず、例えば、アクリル系重合体からなるアクリル系粘着剤；スチレン-ジエン-スチレンブロック共重合体（例えばスチレン-イソプレン-スチレンブロック共重合体、スチレン-ブタジエン-スチレンブロック共重合体など）、ポリイソプレン、ポリイソブチレン、ブチルゴム、ポリブタジエン等のゴム系エラストマーを含むゴム系粘着剤；シリコーンゴム、ジメチルシロキサンベース、ジフェニルシロキサンベース等のシリコーン系粘着剤；ポリビニルメチルエーテル、ポリビニルエチルエーテル、ポリビニルイソブチルエーテル等のビニルエーテル系粘着剤；酢酸ビニル-エチレン共重合体等のビニルエステル系粘着剤；ジメチルテレフタレート、ジメチルイソフタレート、ジメチルフタレート等のカルボン酸成分と、エチレングリコール等の多価アルコール成分とからなるポリエステル系粘着剤等が挙げられる。特に好ましい粘着剤は、アクリル系粘着剤、ゴム系粘着剤、シリコーン系粘着剤である。

これらの粘着剤はその固形分として、粘着剤層中に、粘着剤層の総重量に基づき、好ましくは10~90重量%、より好ましくは20~80重量%含まれる。

【0189】

アクリル系粘着剤の例としては、(メタ)アクリル酸C2~18アルキルエステルを第1の単量体として含む重合体を主成分とするアクリル酸エステル系粘着剤が挙げられる。上記(メタ)アクリル酸アルキルエステル(第1の単量体)の例としては、アルキル基の炭素数が1~18の直鎖状、分岐鎖状又は環状アルキル基(例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、シクロヘキシル、ヘプチル、オクチル、2-エチルヘキシル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシルなど)である(メタ)アクリル酸アルキルエステルなどが挙げられ、アルキル基の炭素数が4~18の直鎖状、分岐鎖状又は環状アルキル基(例えば、ブチル、ペンチル、ヘキシル、シクロヘキシル、ヘプチル、オクチル、2-エチルヘキシル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシルなど)である(メタ)アクリル酸アルキルエステルが好ましい。さらに、常温で粘着性を与えるために、重合体のガラス転移温度を低下させるモノマー成分の使用がさらに好適であることから、アルキル基の炭素数が4~8の直鎖状、分岐鎖状又は環状アルキル基(例えば、ブチル、ペンチル、ヘキシル、シクロヘキシル、ヘプチル、オクチル、2-エチルヘキシルなど、好ましくは、ブチル、2-エチルヘキシル、シクロヘキシル、特に好ましくは2-エチルヘキシル)である(メタ)アクリル酸アルキルエステルがより好ましい。具体的にはアクリル酸ブチル、アクリル酸2-エチルヘキシル、メタクリル酸2-エチルヘキシル、アクリル酸シクロヘキシル、メタクリル酸シクロヘキシルなどがより好ましく、中でも、アクリル酸2-エチルヘキシルが最も好ましい。これら(メタ)アクリル酸アルキルエステル(第1単量体成分)は1種又は2種以上を組み合わせる用いることができる。

【0190】

また、アクリル系粘着剤は、上記(メタ)アクリル酸アルキルエステルと共重合可能な第2の単量体を含有してもよく、このような第2の単量体としては、架橋剤を用いる際の架橋点となりうる官能基を有する単量体が挙げられる。架橋反応に關与できる官能基としては、水酸基、カルボキシル基、ビニル基などが挙げられ、水酸基及びカルボキシル基が好ましい。当該単量体(第2単量体成分)の具体例としては、(メタ)アクリル酸ヒドロキシエチルエステル、(メタ)アクリル酸ヒドロキシプロピルエステル、N-ヒドロキシアルキル(メタ)アクリルアミド、(メタ)アクリル酸、イタコン酸、マレイン酸、無水

マレイン酸、メサコン酸、シトラコン酸、グルタコン酸などが挙げられる。これらのうち、入手の容易性の観点から、アクリル酸、メタクリル酸、アクリル酸ヒドロキシエチルエステル（特に、アクリル酸 2 - ヒドロキシエチル）が好ましく、アクリル酸が最も好ましい。これらの単量体（第 2 単量体成分）は 1 種又は 2 種以上を組み合わせる用いることができる。

【 0 1 9 1 】

さらに、アクリル系粘着剤は、所望により、第 2 の単量体以外に第 3 の単量体を含してもよい。第 3 の単量体（第 3 単量体成分）としては、例えば、酢酸ビニル、プロピオン酸ビニルなどのビニルエステル類；メチルビニルエーテル、エチルビニルエーテルなどのビニルエーテル類；N - ビニル - 2 - ピロリドン、N - ビニルカプロラクタムなどのビニルアミド類；（メタ）アクリル酸メトキシエチルエステル、（メタ）アクリル酸エトキシエチルエステル、（メタ）アクリル酸テトラヒドロフルフリルエステルなどの（メタ）アクリル酸アルコキシエステル；ヒドロキシプロピル（メタ）アクリレート、 β - ヒドロキシメチルアクリレートなどの水酸基含有モノマー（第 3 単量体成分としての使用なので架橋点とはしない）；（メタ）アクリルアミド、ジメチル（メタ）アクリルアミド、N - ブチル（メタ）アクリルアミド、N - メチロール（メタ）アクリルアミドなどのアミド基を有する（メタ）アクリル酸誘導体；（メタ）アクリル酸アミノエチルエステル、（メタ）アクリル酸ジメチルアミノエチルエステル、（メタ）アクリル酸 t - ブチルアミノエチルエステルなどの（メタ）アクリル酸アミノアルキルエステル；（メタ）アクリル酸メトキシエチレングリコールエステル、（メタ）アクリル酸メトキシジエチレングリコールエステル、（メタ）アクリル酸メトキシポリエチレングリコールエステル、（メタ）アクリル酸メトキシポリプロピレングリコールエステルなどの（メタ）アクリル酸アルコシアルキレングリコールエステル；（メタ）アクリロニトリル；スチレンスルホン酸、アリルスルホン酸、スルホプロピル（メタ）アクリレート、（メタ）アクリロイルオキシナフタレンスルホン酸、アクリルアミドメチルスルホン酸などのスルホン酸を有するモノマー；ビニルピペリドン、ビニルピリミジン、ビニルピペラジン、ビニルピロール、ビニルイミダゾール、ビニルオキサゾール、ビニルモルホリンなどのビニル基含有モノマーなどが挙げられる。これらの中でも、ビニルエステル類、ビニルアミド類が好ましく、ビニルエステル類は酢酸ビニルが好ましく、ビニルアミド類は N - ビニル - 2 - ピロリドンが好ましい。これらの単量体（第 3 単量体成分）は 1 種又は 2 種以上を組み合わせる用いることができる。

【 0 1 9 2 】

当該アクリル系粘着剤は、（メタ）アクリル酸アルキルエステル（第 1 単量体成分）と、架橋反応に関与できる官能基を有するビニルモノマー（第 2 単量体成分）との共重合体である場合、（メタ）アクリル酸アルキルエステルと、架橋反応に関与できる官能基を有するビニルモノマーとは、（メタ）アクリル酸アルキルエステル：架橋反応に関与できる官能基を有するビニルモノマー = 99 ~ 85 : 1 ~ 15 の重量比で配合して共重合させることが好ましく、99 ~ 90 : 1 ~ 10 の重量比がより好ましい。

【 0 1 9 3 】

また、当該アクリル系粘着剤が、（メタ）アクリル酸アルキルエステル（第 1 単量体成分）と、架橋反応に関与できる官能基を有するビニルモノマー（第 2 単量体成分）と、これら以外の他のモノマー（第 3 単量体成分）との共重合体である場合、（メタ）アクリル酸アルキルエステルと、架橋反応に関与できる官能基を有するビニルモノマーと、これら以外の他のモノマーとは、（メタ）アクリル酸アルキルエステル：架橋反応に関与できる官能基を有するビニルモノマー：これら以外の他のモノマー = 40 ~ 94 : 1 ~ 15 : 5 ~ 50 の重量比で配合して共重合させることが好ましく、50 ~ 89 : 1 ~ 10 : 10 ~ 40 の重量比がより好ましい。

【 0 1 9 4 】

重合反応は、自体公知の方法で行えばよく特に限定されないが、例えば、上記のモノマーを、重合開始剤（例えば、過酸化ベンゾイル、アゾビスイソブチロニトリルなど）を添

10

20

30

40

50

加して、溶媒（例えば、酢酸エチルなど）中で、50～70 で5～48時間反応させる方法が挙げられる。

【0195】

本発明における特に好ましいアクリル系粘着剤としては、例えば、アクリル酸2-エチルヘキシルエステル/アクリル酸/N-ビニル-2-ピロリドンの共重合体、アクリル酸2-エチルヘキシルエステル/N-(2-ヒドロキシエチル)アクリルアミド/N-ビニル-2-ピロリドンの共重合体、アクリル酸2-エチルヘキシルエステル/アクリル酸2-ヒドロキシエチルエステル/酢酸ビニルの共重合体、アクリル酸2-エチルヘキシルエステル/アクリル酸の共重合体等であり、より好ましくは、アクリル酸2-エチルヘキシルエステル/アクリル酸/N-ビニル-2-ピロリドンの共重合体である。

10

【0196】

所望により、これらのアクリル系粘着剤に、紫外線照射や電子線照射などの放射線照射による物理的架橋、三官能性イソシアネートなどのイソシアネート系化合物や有機過酸化物、有機金属塩、金属アルコラート、金属キレート化合物、多官能性化合物（多官能性外部架橋剤やジアクリレートやジメタクリレートなどの多官能性内部架橋用モノマー）などの各種架橋剤を用いた化学的架橋処理を施してもよい。

【0197】

ゴム系粘着剤としては、ゴム系エラストマーとして例えば、ポリイソブチレン・ポリブテン系、スチレン・ジエン・スチレンブロック共重合体、スチレン・ブタジエン系、ニトリル系、クロロプレン系、ビニルピリジン系、ポリイソブチレン系、ブチル系、イソブレン・イソブチレン系等のエラストマーが配合されたゴム系粘着剤が挙げられる。中でも、ペプチドおよびその細胞性免疫誘導促進剤に対する溶解性および皮膚接着性の点から、ポリイソブチレン（PIB）、スチレン・ジエン・スチレンブロック共重合体〔例えば、スチレン・ブタジエン・スチレンブロック共重合体（SBS）、スチレン・イソブレン・スチレンブロック共重合体（SIS）等〕等が好ましく使用され、これらは混合して用いてもよい。

20

【0198】

また、ゴム系粘着剤は、適度な粘着力および薬剤溶解性を得るために、同一成分または異なる成分で平均分子量の異なるゴム系エラストマーを混合して使用することができる。例えば、ポリイソブチレンを例に挙げて説明すると、平均分子量150,000～5,500,000の高分子量のポリイソブチレンと、平均分子量10,000～150,000の中分子量のポリイソブチレンおよび/または平均分子量500～4,000の低分子量のポリイソブチレンとの混合物が好ましい。ここで、高分子量、中分子量および低分子量のポリイソブチレンを、高分子量：中分子量：低分子量=10～80、好ましくは20～70：0～90、好ましくは10～80：0～80、好ましくは10～60の重量比で配合することが好適である。

30

【0199】

本発明における平均分子量とは、Floryの粘度式から計算される粘度平均分子量を意味し、シュタウディングーインデックス（ J_0 ）を、20にてウベローデ粘度計のキャピラリー1のフロータイムからSchulz-Blaschke式により算出し、この J_0 値を用いて下記式により求めるものである。

40

【数1】

(式)

$$J_0 = \eta_{sp} / c (1 + 0.31 \eta_{sp}) \quad (\text{Schulz-Blaschke式})$$

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

t : 溶液のフロータイム (Hagenbach-Couette補正式による)

t₀ : 溶媒のフロータイム (Hagenbach-Couette補正式による)

c : 溶液の濃度 (g/cm³)

$$J_0 = 3.06 \times 10^{-2} \overline{M}_v^{0.65}$$

\overline{M}_v : 粘度平均分子量

10

【0200】

当該ゴム系粘着剤には、適度な粘着性を付与するために、例えば、ロジン系樹脂、ポリテルペン樹脂、クマロン-インデン樹脂、石油系樹脂、テルペン-フェノール樹脂、キシレン樹脂、脂環族飽和炭化水素樹脂等の粘着付与剤が配合されていてもよい。粘着付与剤は、これら1種または2種以上をゴム系粘着剤の総重量に基づいて、50重量%以下、好ましくは5~40重量%の割合で配合することができる。

【0201】

シリコン系粘着剤としては、ポリオルガノシロキサン系、ポリジメチルシロキサン系、又はポリジメチルジフェニル-シロキサン系等からなるシリコン系粘着剤が挙げられる。中でも、Dow Corning CorporationからのBIO PSAのような商業的に入手可能なシリコン系粘着剤等が好ましく使用される。

20

【0202】

粘着剤層を支持する支持体としては特に限定されるものではないが、実質的にペプチドや細胞性免疫誘導促進剤を不透過なもの、即ち粘着剤層中に含まれるペプチド、細胞性免疫誘導促進剤、添加剤等が支持体中を通過して背面から失われて含有量の低下を引き起こさないものが好ましい。

【0203】

支持体としては、例えば、ポリエステル、ポリアミド、ポリ塩化ビニリデン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、エチレン-アクリル酸エチル共重合体、ポリテトラフルオロエチレン、アイオノマー樹脂、金属箔等の単独フィルム又はこれらの積層フィルム等を用いることができる。これらのうち、支持体と粘着剤層との接着性(投錨性)を良好とするために、支持体を上記材質からなる無孔のプラスチックフィルムと、多孔質フィルムとの積層フィルムとすることが好ましい。この場合、粘着剤層は多孔質フィルム側に形成することが望ましい。このような多孔質フィルムとしては、粘着剤層との投錨性が向上するものが採用されるが、具体的には紙、織布、不織布、編布、機械的に穿孔処理を施したシート等が挙げられる。これらのうち、取り扱い性等の観点から、特に紙、織布、不織布が好ましい。多孔質フィルムは、投錨性向上、テープ剤の柔軟性及び貼付操作性等の点から、厚み1~200μmの範囲のものが採用される。また、多孔質フィルムとして織布や不織布を用いる場合、目付量を好ましくは5~30g/m²、より好ましくは6

30

40

【0204】

最も好適な支持体としては、厚さ1.5~6μmのポリエステルフィルム(好ましくは、ポリエチレンテレフタレートフィルム)と、目付量6~15g/m²のポリエステル(好ましくは、ポリエチレンテレフタレート)製不織布との積層フィルムが挙げられる。

【0205】

本発明のテープ剤は、使用時まで粘着剤層の粘着面を保護するために、粘着面に剥離ライナーを積層することが望ましい。剥離ライナーとしては、剥離処理され、十分に軽い剥離力を確保できれば特に限定されるものではないが、例えば、粘着剤層との接触面にシリコン樹脂、フッ素樹脂等を塗布することによって剥離処理が施された、ポリエステル、

50

ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリエチレンテレフタレート等のフィルム、上質紙、グラシン紙等の紙、又は上質紙若しくはグラシン紙等とポリオレフィンとのラミネートフィルム等が用いられる。剥離ライナーの厚みは、好ましくは10～200 μm 、より好ましくは25～100 μm である。剥離ライナーとしては、バリアー性、価格等の点から、ポリエステル（特に、ポリエチレンテレフタレート）樹脂からなるものが好ましい。さらに、この場合、取り扱い性の点から、25～100 μm 程度の厚みを有するものが好ましい。

【0206】

また、本発明の組成物は、必要に応じて、添加剤を含んでいてもよい。添加剤は、基剤の主成分、WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチド、およびその細胞性免疫誘導促進剤との適合性、意図する投与レジメン等に応じて、例えば、等張化剤、防腐・殺菌剤、酸化防止剤、溶解剤、溶解補助剤、懸濁化剤、充填剤、pH調節剤、安定化剤、吸収促進剤、放出速度制御剤、着色剤、可塑剤、架橋剤、粘着剤等、あるいはそれらの2種以上の組合せから選択される。また、本発明の組成物がテープ剤の形態である場合、該テープ剤は添加剤として皮膚透過性増強剤を含み得る。

10

【0207】

本明細書において使用するとき、用語「皮膚透過性増強剤」は、経皮投与される抗原が皮膚を透過する効率を、それなしでの効率と比較して、改善しうるあらゆる物質を意味する。皮膚透過性増強剤としては、室温（25 $^{\circ}\text{C}$ ）で液状、すなわち流動性を有するもの、または2種以上を混合して用いる場合には、最終的に混合物が室温（25 $^{\circ}\text{C}$ ）で液状となり、吸収促進効果を有するものであれば特に限定されない。かかる有機液状成分としては粘着剤層との相溶性の観点から疎水性液状成分が好ましい。

20

かかる皮膚透過性増強剤としては例えば、オレイルアルコール、オクチルドデカノールなどの高級アルコール；グリセリン、エチレングリコール、ポリプロピレングリコールなどの多価アルコール；オレイン酸、カプリル酸などの高級脂肪酸；ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、オレイン酸エチルなどの脂肪酸エステル；セバシン酸ジエチル、アジピン酸ジイソプロピルなどの多塩基酸エステル；トリスステアリン酸ジグリセリル、モノオレイン酸ソルピタン、ジカプリル酸プロピレングリコール、モノラウリン酸ポリエチレングリコール、テトラオレイン酸ポリオキシエチレンソルビットなどの多価アルコール脂肪酸エステル；ポリオキシエチレンラウリルエーテルなどのポリオキシエチレンアルキルエーテル；スクアラン、流動パラフィンなどの炭化水素；オリーブ油、ヒマシ油などの植物油；シリコン油；N-メチルピロリドン、N-ドデシルピロリドンのようなピロリドン類；デシルメチルスルホキシドのようなスルホキシドなどが挙げられ、これらは1種で、または2種以上を混合して使用することができる。

30

【0208】

本発明の組成物は、低刺激条件下で対象に投与することが好ましい。低刺激条件下における投与は、例えば、(i)皮膚刺激評価用モデル動物で評価した場合の経皮水分蒸散量(TEWL)($\text{g}/\text{h}\cdot\text{m}^2$)が50以下となるような投与条件下で本発明の組成物を対象に投与すること、(ii)皮膚刺激評価用モデル動物で評価した場合の皮膚内TSLPレベル(pg/mg タンパク質)が10000以下となるような組成物を対象に投与すること等により達成し得る。

40

【0209】

また、本発明の組成物は、第二の細胞性免疫誘導促進剤としての、薬理的に許容される酸もしくはその薬理的に許容される塩をさらに含有させることにより、細胞性免疫誘導促進効果を向上させることができる。

【0210】

本明細書において使用するとき、本発明の組成物に含有させ得る「薬理的に許容される酸」とは、投与対象に有害な作用を及ぼさず、かつ、該組成物中の成分の薬理活性を消失させない酸を意味する。本発明の好ましい態様において、薬理的に許容される酸は有機酸であり、より好ましくはカルボキシル基を含む有機化合物またはスルホン酸基を含む

50

有機化合物であり、より好ましくは飽和直鎖部分の炭素数が8～20である飽和または不飽和の直鎖または分岐脂肪酸または乳酸またはリンゴ酸またはサリチル酸またはマレイン酸またはクエン酸、またはスルホン酸基を含む有機化合物であり、より好ましくは飽和直鎖部分の炭素数が8～16である飽和または不飽和の直鎖または分岐脂肪酸または乳酸またはリンゴ酸またはサリチル酸またはマレイン酸またはクエン酸、またはスルホン酸基を含む有機化合物であり、さらに好ましくはデカン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、イソステアリン酸およびオレイン酸からなる群より選択される脂肪酸、または乳酸またはサリチル酸またはクエン酸またはメタンスルホン酸である。

【0211】

本明細書において使用するとき、本発明の組成物に含有させ得る「薬理的に許容される塩」とは、投与対象に有害な作用を及ぼさず、かつ、該組成物中の成分の薬理活性を消失させない塩を意味し、無機酸塩（例えば塩酸塩やリン酸塩）、有機酸塩（例えば酢酸塩やフタル酸塩、TFA塩）、金属塩（アルカリ金属塩（例えば、ナトリウム塩、カリウム塩）、アルカリ土類金属塩（例えば、カルシウム塩、マグネシウム塩）、アルミニウム塩など）、アミン塩（トリエチルアミン塩、ベンジルアミン塩、ジエタノールアミン塩、*t*-ブチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、アルギニン塩、ジメチルアンモニウム塩、アンモニウム塩など）を含むが、これらに限定されない。

【0212】

WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドの治療上有効量は、疾患の重症度、対象の年齢および相対的な健康ならびに他の既知の要因に依存して広範に変化し得るが、一般に、1日用量約0.1μg～1g/kg体重で満足 of いく結果が得られる。細胞性免疫誘導促進剤はWT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドと同時または逐次的に、好ましくは同時に投与される。細胞性免疫誘導促進剤の有効量は、用いる具体的な細胞性免疫誘導促進剤、他の細胞性免疫誘導促進剤の有無などに依存して広範に変化し得るが、一日用量0.01μg～1g/kg体重で満足 of いく結果が得られる。1日用量は、1回で投与してもよいが、2回以上、例えば2回、3回、4回または5回などの複数回に分けて投与してもよい。1回あたり連続投与時間は、1分間～7日間の間で適宜選択される。投与間隔は毎日～1年に1回（例えば1日1回、2日に1回、3日に1回、1週間に1回、2週間に1回、1月に1回、3月に1回、6月に1回、1年に1回）またはそれより長期の投与間隔から、患者の状態、癌の重症度、治療目的か予防目的か等に応じて、適宜選択される。一般に、重度の癌を現実 to 有する患者の治療目的では、より高頻度、高用量でWT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドを投与し、癌を有さない患者の予防目的では、より低頻度、低用量でWT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドを投与する。

【0213】

本発明では、物理刺激とは擦傷や擦過を始め、角質に損傷を与えるようなあらゆる物理的な刺激を意味する。例えば、粘着テープ等で角質を除去するテープストリッピングの操作や、カッターにより皮膚に損傷を与えるような操作、また微小な針により角質に穴を開けるようなマイクロニードルを用いた操作も当該物理刺激に含まれる。

【0214】

経皮水分蒸散量とは、角質1m²から1時間あたりに蒸散される水分量(g)を意味する。経皮水分蒸散量は、水分蒸散量測定装置により容易に短時間で測定可能であり、皮膚の損傷度合を評価する指標として一般的に広く用いられている。本発明においても物理刺激レベルの指標として経皮水分蒸散量を用い得る。

【0215】

TSLP(Thymic stromal lymphopoietin)とは、皮膚のケラチノサイトや胸腺、粘膜上皮細胞から産生されるIL-7様サイトカインの1種であり、樹状細胞の成熟化や、T細胞分化に関与することが知られている。本発明においては、薬物由来の刺激である化学刺激レベルの指標としてTSLPレベルを用い得る。

【0216】

以下に実施例を示して本発明をさらに詳細かつ具体的に説明するが、本発明は実施例の範囲に限定されるものではない。

【実施例】

【0217】

クリーム剤

下記表1の組成を有するクリーム剤を製造した。具体的には、表1中に明記した配合量で、Db126ペプチド(HLA-A*02型MHC拘束性ペプチド)あるいはRYFペプチド(HLA-A*24型MHC拘束性ペプチド)あるいはAYLペプチド(HLA-A*24型MHC拘束性ペプチド)、ヘルパーペプチド以外の細胞性免疫誘導促進剤、およびヘルパーペプチドを秤取し、さらに15重量部のDMSOを配合し、そこに基材(ベースクリーム)を加えて全100重量部とし、クリーム剤を得た。なお、表1中のISAベースクリームは、表2に記載の組成にて材料を配合し、混和して調製したものである。

PETフィルム/PET不織布積層品(面積 0.7 cm^2)を固定用粘着テープの中央部にPETフィルム側をテープ側にして貼り合わせた複合基材を用意した。この複合基材の不織布部分にクリーム剤4mgを塗布したものを免疫実験の投与サンプルとした。

【0218】

マウス免疫試験1(クリーム剤)

上記クリーム剤について、免疫評価用モデル動物を用いてマウス免疫試験を行った。免疫誘導レベルの評価は、ELISPOT法によって行った。具体的には、マウス背部を毛刈りし、毛刈りによる皮膚ダメージを回復させるための飼育期間を設けた後、マウスの背部皮膚にサンプルを所定時間投与して除去し、所定日数の飼育を行い、抗原特異的な細胞性免疫の誘導レベルを評価した。投与から所定日数経過後に脾臓を摘出し、脾細胞懸濁液を調製した。抗マウスIFN-抗体を固定化したELISPOTプレートのウェルに、脾細胞($3 \times 10^6\text{ cells/well}$)と抗原ペプチド($100\text{ }\mu\text{M}$)とを培養液とともに入れ、 37°C 、 $5\%\text{ CO}_2$ の培養条件にて20時間、共培養し、ELISPOT法にてIFN-産生細胞スポット数(スポット数/ $3 \times 10^6\text{ cells}$)を評価した。クリーム剤の投与量はいずれも4mg、投与回数は(24 hr/週) \times 1回、脾臓摘出は投与から6日後とした。

【0219】

実施例5においては、ダンプロンテープ(No.375、日東電工CSシステム製)を用いてテープストリッピング(TS)を10回行った皮膚への投与を行い、実施例6および7においては、それぞれマイクロカッター(MICRO FEATHER No.7330G、FEATHER製)およびマイクロニードル(針長 $750\text{ }\mu\text{m}$ 、Micro Needle Roller System MR75、Ostar Beauty製)で傷をつけた皮膚への投与を行った。

また、一部のクリーム剤については、以下に記載する方法に従い、投与後のマウスの皮膚内TSLPレベル、投与前のマウスの経皮水分蒸散量、ならびにDb126抗原ペプチドおよびイミキモドの皮膚透過性の測定も行った。

【0220】

(TSLPレベルの測定方法)

皮膚刺激評価用モデル動物としてのC57BL/6マウスを用いてTSLPレベルを評価した。免疫評価用モデル動物に対する投与条件と同じ条件にて、皮膚刺激評価用モデル動物に対して製剤投与を行い、製剤投与終了時に、マウス背部皮膚を摘出し、抽出溶媒中(プロテアーゼ阻害剤(Protease Inhibitor Cocktail for general use, SIGMA ALDRICH製)と $10\text{ }\mu\text{M}$ インドメタシン(和光純薬製)を含むPBS溶液)でホモジナイザー(ヒスコトロン、マイクロテック・ニチオン製)を用い皮膚を破碎した。破碎した皮膚を 4°C 、 9000 g で10分間遠心分離した後、上清を回収した。上清中のTSLP量をELISA(Mouse TSLP Quantikine ELISA Kit、R&D Systems製)により測定した。また、上清中の総タンパク量をBCA法(Pierce BCA Prote

in Assay Kit、Thermo SCIENTIFIC製)により測定し、TSLP量を総タンパク量で除することで標準化した。

【0221】

(経皮水分蒸散量測定)

皮膚刺激評価用モデル動物としてのC57BL/6マウスを用いて、製剤投与前の皮膚の経皮水分蒸散量を評価した。携帯型閉鎖チャンバー方式水分蒸散量測定装置(VAPOSCAN AS-VT100RS、アサヒバイオメッド製)を用い、マウス皮膚に当該機器を5~15秒程度接触させる事により測定を行った。マウス皮膚に前処理を行った10分後に測定した値を経皮水分蒸散量(TEWL)($g/h \cdot m^2$)とした。

【0222】

(マウス皮膚透過性試験)

フランツ型拡散セルを用いて、Db126抗原ペプチドならびにイミキモドの皮膚透過試験を行った。予め毛刈りをしたC57BL/6マウスの背部より摘出した皮膚を、37のリン酸バッファー(pH7.4等張緩衝液)を循環させたフランツ型拡散セル(適用面積 $4.91cm^2$)に装着した。該装着した皮膚上に $0.7cm^2$ の製剤を貼付し、24時間後にセル内の試料を採取した。採取した試料は、高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に供し、予め定めておいた検量線より、24時間後の皮膚を透過したDb126抗原ペプチドの量(Db126抗原ペプチド透過量、 $\mu g/cm^2/24hr$)ならびにイミキモドの量(イミキモド透過量、 $\mu g/cm^2/24hr$)を算出した。

【0223】

免疫試験の結果ならびにTSLPレベルおよび経皮水分蒸散量の測定結果を、免疫試験に使用したマウスと共に下記表1に示す。表1中の「遺伝子改変マウス」は、HLA-A*0201型MHC拘束性ペプチドによる細胞性免疫誘導を評価可能なマウスである。また、皮膚透過性の測定結果を表3に示す。

【0224】

10

20

【表 1 - 1】

表 1

	組成		細胞性免疫誘導促進剤				TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット数)	% 特異的 溶解 (In vivo CT L アッセ イ)
	基材	抗原 ペプチド*	細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)							
比較例 1	ISA [®] -s クリ-4	Db126 (25)	なし	なし	なし	74	なし	10	C57BL/6	6	2	
実施例 1	ISA [®] -s クリ-4	Db126 (25)	IMQ (3)	なし	なし	93	なし	10	C57BL/6	53		
実施例 2	ISA [®] -s クリ-4	Db126 (25)	なし	PEP (10)	なし	87	なし	10	C57BL/6	87		
実施例 3	ISA [®] -s クリ-4	Db126 (25)	IMQ (1.5)	PEP (5)	なし	74	なし	12	C57BL/6	153		
実施例 4	ISA [®] -s クリ-4	Db126 (25)	IMQ (3)	PEP (0.3)	なし	835	なし	10	C57BL/6	35		
実施例 5	ISA [®] -s クリ-4	Db126 (25)	IMQ (3)	PEP (0.3)	なし	54	T/S10	58	C57BL/6	13		
実施例 6	ISA [®] -s クリ-4	Db126 (25)	IMQ (3)	PEP (0.3)	なし	42	γイロコッ ター	66	C57BL/6	8		
実施例 7	ISA [®] -s クリ-4	Db126 (25)	IMQ (3)	PEP (0.3)	なし	53	γイロコニ トル	60	C57BL/6	24		
実施例 8	ISA [®] -s クリ-4	Db126 (25)	IMQ (3)	PEP (0.3)	なし	77	なし	10	C57BL/6	192	45	

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

表 1 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤				TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CT リリース 率)
	基材	抗原 ヘプタド ヘプタド	細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)							
実施例9	ISA ⁺ -ス クリ-ム	Db126(TFA 塩)(25)	IMQ(4)	PEP(0.3)	ISA(8.5) (ヘプタド 中に含有)	なし	なし	10	C57BL/6	1500		
実施例10	ISA ⁺ -ス クリ-ム	Db126(TFA 塩)(10)	IMQ(4)	PEP(0.3)	ISA(10.3) (ヘプタド 中に含有)	なし	なし	10	C57BL/6	216		
実施例11	ISA ⁺ -ス クリ-ム	Db126 (25)	IMQ(3)	PEP(3)	ISA(8.3) (ヘプタド 中に含有)	なし	なし	10	C57BL/6	814		
実施例12	ISA ⁺ -ス クリ-ム	Db126 (25)	c-di-GMP (1)	なし	ISA(8.9) (ヘプタド 中に含有)	なし	なし	10	C57BL/6	305		
実施例13	ISA ⁺ -ス クリ-ム	Db126 (25)	c-di-GMP (1)	PEP(0.3)	ISA(8.8) (ヘプタド 中に含有)	なし	なし	10	C57BL/6	1209	63	
比較例2	ISA ⁺ -ス クリ-ム	RYF(TFA塩) (4)	なし	なし	ISA(8.5) (ヘプタド 中に含有)	なし	なし	10	BALB/c	3		
実施例14	ISA ⁺ -ス クリ-ム	RYF(TFA塩) (4)	IMQ(4)	PEPB(0.3)	ISA(8.5) (ヘプタド 中に含有)	なし	なし	10	BALB/c	81		
比較例3	ISA ⁺ -ス クリ-ム	AYL(TFA塩) (4)	なし	なし	ISA(8.5) (ヘプタド 中に含有)	なし	なし	10	BALB/c	4		
実施例15	ISA ⁺ -ス クリ-ム	AYL(TFA塩) (4)	IMQ(4)	PEPB(0.3)	ISA(8.5) (ヘプタド 中に含有)	なし	なし	10	BALB/c	471		

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

表 1 続き

	組成		細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異 的溶解(I n vivo C TL アッ セイ)
	基材	抗原 ヘアグロト*									
比較例 4	ISA ^h - クリ- ム	D _b 126 (25)	なし	ISA(9) (ヘアスクリ- ム中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	15	
実施例 16	ISA ^h - クリ- ム	D _b 126 (25)	なし	ISA(8.6) (ヘアスクリ- ム中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	55	
実施例 17	ISA ^h - クリ- ム	D _b 126 (25)	c-di-GMP (1)	ISA(8.8) (ヘアスクリ- ム中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	1500	80
実施例 18	ISA ^h - クリ- ム	D _b 126 (25)	c-di-AMP (1)	ISA(8.8) (ヘアスクリ- ム中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	1498	
実施例 19	ISA ^h - クリ- ム	D _b 126 (25)	Pam ₃ CSK ₄ (T LR1/2リガ ント) (1)	ISA(8.8) (ヘアスクリ- ム中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	141	
実施例 20	ISA ^h - クリ- ム	D _b 126 (25)	Zymosan(T LR2および Dectin 1リガント) (1)	ISA(8.8) (ヘアスクリ- ム中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	152	
実施例 21	ISA ^h - クリ- ム	D _b 126 (25)	Poly(I:C) (TLR3リガ ント) (1)	ISA(8.8) (ヘアスクリ- ム中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	265	

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

表 1 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤			TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ペプチド	細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)						
実施例 22	ISA [®] - グリア	Db126 (25)	ペントエリチン 由来リボホ リサッカライド [®] (TLR4リカ ント) (1)	PEP (0.3)	ISA (8.8) (ペ-スクリ-ム 中に含有)		なし	10	遺伝子改 変マウス	173	34
実施例 23	ISA [®] - グリア	Db126 (25)	グルコヒラジ ルビ [®] (TLR4リカ ント) (1)	PEP (0.3)	ISA (8.8) (ペ-スクリ-ム 中に含有)		なし	10	遺伝子改 変マウス	207	
実施例 24	ISA [®] - グリア	Db126 (25)	ヒドロキシ酸Na (TLR4リカ ント) (3)	PEP (0.3)	ISA (8.6) (ペ-スクリ-ム 中に含有)		なし	10	遺伝子改 変マウス	114	
実施例 25	ISA [®] - グリア	Db126 (25)	IMQ (3)	PEP (0.3)	ISA (8.6) (ペ-スクリ-ム 中に含有)		なし	10	遺伝子改 変マウス	342	
実施例 26	ISA [®] - グリア	Db126 (25)	ア [®] ペ [®] リン (TLR7お よび/ま たはTLR8 リカント) (1)	PEP (0.3)	ISA (8.8) (ペ-スクリ-ム 中に含有)		なし	10	遺伝子改 変マウス	267	

10

20

30

40

50

【 表 1 - 5 】

表 1 続き

	組成		細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ヘアプタド [*]									
実施例27	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	RS48(TLR7 および/ またはTL RSリカント [*]) (1)	ISA(8.8) (ヘ-スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	348	
実施例28	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	ODN1826 (TLR9リカ ント) (1)	ISA(8.8) (ヘ-スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	405	
実施例29	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	ヒド [*] チモ [*] (免 疫調節 低分子薬 物) (1)	ISA(8.8) (ヘ-スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	67	
実施例30	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	ヘ-スチン(免 疫調節低 分子薬物) (1)	ISA(8.8) (ヘ-スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	96	
実施例31	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	レハ [*] ミゾ [*] -ル 塩酸塩(免 疫調節低 分子薬物) (1)	ISA(8.8) (ヘ-スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	10	遺伝子改 変マウス	266	

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

表 1 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOI 平均値の 標準偏差)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ヘプアチド*									
実施例32	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	トシロ酸スプラ タスト(Th2キ トカイン阻害 剤) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	10	遺伝子改 変マウス	159	
実施例33	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	エト ^ヘ フラ(CO X阻害剤) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	10	遺伝子改 変マウス	325	
実施例34	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	ロキソ ^ヘ ロ ^ヘ ソ Na(COX阻 害剤) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	10	遺伝子改 変マウス	352	
実施例35	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	クロ ^ヘ フイ ブ ^ヘ ラート(PPAR作動 薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	315	
実施例36	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	フエ ^ヘ ノフ イ ^ヘ アラ ト(PPAR作 動薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	237	
実施例37	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	ケ ^ヘ ルセチ ン(TSLP産 生抑制剤) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	156	
実施例38	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	ペ ^ヘ ルベリ ン(TSLP産 生抑制剤) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	135	

10

20

30

40

【表 1 - 7】

表 1 続き

	組成		細胞性免疫誘導促進剤				TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ヘブ [®] チト [®]	細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)							
実施例39	ISA [®] -ス クリ-ム	Db126 (25)	ノスカピ ン(TSLP産 生抑制剤) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-ム 中に含有)	なし	なし	12	遺伝子改 変マウス	355		
実施例40	ISA [®] -ス クリ-ム	Db126 (25)	3,3'-ジイ ンドリル メタン(TS LP産生抑 制剤) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-ム 中に含有)	なし	なし	12	遺伝子改 変マウス	324		
実施例41	ISA [®] -ス クリ-ム	Db126 (25)	キサント ン(TSLP産 生抑制剤) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-ム 中に含有)	なし	なし	12	遺伝子改 変マウス	356		
実施例42	ISA [®] -ス クリ-ム	Db126 (25)	バルテノ リド(TSLP 産生抑制 剤) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-ム 中に含有)	なし	なし	12	遺伝子改 変マウス	305		
実施例43	ISA [®] -ス クリ-ム	Db126 (25)	インドメ タシン(CO X阻害剤) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-ム 中に含有)	なし	なし	12	遺伝子改 変マウス	135		
実施例44	ISA [®] -ス クリ-ム	Db126 (25)	アスピリ ン(COX阻 害剤) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-ム 中に含有)	なし	なし	12	遺伝子改 変マウス	132		

10

20

30

40

50

【 表 1 - 8 】

表 1 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ヘプタト ^o									
実施例45	ISA ^o -ス クリ-ム	Db126 (25)	ジクロフ エナク(CO X阻害剤) (3)	ISA(8.6) (ヘ ^o -スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	245	
実施例46	ISA ^o -ス クリ-ム	Db126 (25)	ケトプロ フェン(CO X阻害剤) (3)	ISA(8.6) (ヘ ^o -スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	165	
実施例47	ISA ^o -ス クリ-ム	Db126 (25)	セレコキ シブ(COX 阻害剤) (3)	ISA(8.6) (ヘ ^o -スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	303	
実施例48	ISA ^o -ス クリ-ム	Db126 (25)	バルデコ キシブ(CO X阻害剤) (3)	ISA(8.6) (ヘ ^o -スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	265	
実施例49	ISA ^o -ス クリ-ム	Db126 (25)	ドコサヘ キサエン 酸(オメガ ^o 3 脂肪酸) (3)	ISA(8.6) (ヘ ^o -スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	124	
実施例50	ISA ^o -ス クリ-ム	Db126 (25)	2',5'-ジデ オキシシ ア デノシン (ア ^o ニル酸シク ワーゼ ^o 阻 害 剤) (3)	ISA(8.6) (ヘ ^o -スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	134	

10

20

30

40

50

【 表 1 - 9 】

表 1 続き

	組成		細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ヘブ ^Δ チト ^Δ									
実施例51	ISA ^Δ -ース クリ-ム	Db126 (25)	SCH2339 0(ト ^Δ -ヘ ^Δ ミン 受容体拮 抗薬) (3)	ISA(8.6) (ヘ ^Δ -スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	遺伝子改 変マウス	110		
実施例52	ISA ^Δ -ース クリ-ム	Db126 (25)	ロピニロ ール (ト ^Δ -ヘ ^Δ ミン 受容体作 動薬) (3)	ISA(8.6) (ヘ ^Δ -スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	遺伝子改 変マウス	103		
実施例53	ISA ^Δ -ース クリ-ム	Db126 (25)	ロチゴチ ン(ト ^Δ -ヘ ^Δ ミン 受容体作 動薬) (3)	ISA(8.6) (ヘ ^Δ -スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	遺伝子改 変マウス			
実施例54	ISA ^Δ -ース クリ-ム	Db126 (25)	GW62736 8X (7 ^Δ ロスタ ク ^Δ ランジ ^Δ ン受 容体拮抗 薬) (3)	ISA(8.6) (ヘ ^Δ -スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	遺伝子改 変マウス	205		
実施例55	ISA ^Δ -ース クリ-ム	Db126 (25)	スルプロ ストン(7 ^Δ ロスタク ^Δ ランジ ^Δ ン受容体作 動薬) (3)	ISA(8.6) (ヘ ^Δ -スクリ-ム 中に含有)	なし		なし	遺伝子改 変マウス	231		

10

20

30

40

50

【表 1 - 10】

表 1 続き

	組成		細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ペプチド*									
実施例56	ISA [®] -ス グリム	Db126 (25)	クロブロー ステノール (7 [®] ロスタ グランジン受 容体作用 薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) ([®] -スグリム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	203	
実施例57	ISA [®] -ス グリム	Db126 (25)	BWA868C (7 [®] ロスタ グランジン受 容体拮抗 薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) ([®] -スグリム 中に含有)		なし		遺伝子改 変マウス		
実施例58	ISA [®] -ス グリム	Db126 (25)	RO11384 52 (7 [®] ロスタ グランジン受 容体拮抗 薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) ([®] -スグリム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	123	
実施例59	ISA [®] -ス グリム	Db126 (25)	ロイコト リエンB4(ロイコリエ受 容体作用 薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) ([®] -スグリム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	132	
実施例60	ISA [®] -ス グリム	Db126 (25)	モンテル カスト(ロイ コリエ受容 体拮抗薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) ([®] -スグリム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	132	

10

20

30

40

50

【表 1 - 11】

表 1 続き

	組成		細胞性免疫誘導促進剤			酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ペプチド*	抗原	細胞性免疫誘導促進剤	酸								
実施例61	ISA ^h -ス クリム		Db126 (25)	ジレウト ン(ロイコトリエ ン受容体拮 抗薬) (3)	PEP (0.3)	ISA (8.6) (ヘキサクリム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	132	
実施例62	ISA ^h -ス クリム		Db126 (25)	ニコチン 酸(ナイア シン)(アテニ ル酸シクラーゼ 阻害剤) (3)	PEP (0.3)	ISA (8.6) (ヘキサクリム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	102	
実施例63	ISA ^h -ス クリム		Db126 (25)	グリチル リチン酸 ニカリウ ム(ホスホリハ ーゼ A2阻害 剤) (3)	PEP (0.3)	ISA (8.6) (ヘキサクリム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	107	
実施例64	ISA ^h -ス クリム		Db126 (25)	ピルフェ ニドン(TG F-β産生 抑制剤) (3)	PEP (0.3)	ISA (8.6) (ヘキサクリム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	197	
実施例65	ISA ^h -ス クリム		Db126 (25)	トラニラ スト(TGF- β産生抑 制剤) (3)	PEP (0.3)	ISA (8.6) (ヘキサクリム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	218	

10

20

30

40

50

【 表 1 - 1 2 】

表 1 続き

	組成		細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ペプチド*									
実施例66	ISA ^h -ス クリーム	Db126 (25)	ジフェン ヒドラミ ン(ヒスタミ ン受容体拮 抗薬)(3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘキサグリム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	54	
実施例67	ISA ^h -ス クリーム	Db126 (25)	アゼラス チン(ヒスタミ ン受容体拮 抗薬)(3)	PEP(0.3)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	286	
実施例68	ISA ^h -ス クリーム	Db126 (25)	シメチジ ン(ヒスタミ ン受容体拮 抗薬)(3)	PEP(0.3)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	187	
実施例69	ISA ^h -ス クリーム	Db126 (25)	ファモチ ジン(ヒスタミ ン受容体拮 抗薬)(3)	PEP(0.3)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	187	
実施例70	ISA ^h -ス クリーム	Db126 (25)	イムピッ プ(ヒスタミ ン受容体拮 抗薬)(3)	PEP(0.3)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	267	
実施例71	ISA ^h -ス クリーム	Db126 (25)	プロキシ ファン(ヒス タミン受容体 拮抗薬)(3)	PEP(0.3)	なし		なし		遺伝子改 変マウス		

10

20

30

40

50

【表 1 - 13】

表 1 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ヘプタト*									
実施例72	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	4-メチル ヒスタミ ン(ヒスタミン 受容体拮 抗薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	189	
実施例73	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	オランザ ピン(セロトニ ン受容体拮 抗薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	225	
実施例74	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	ヨヒンピ ン(セロトニ ン受容体拮 抗薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	235	
実施例75	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	アセチル コリン(Ax カリン受容体 拮抗薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	102	
実施例76	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	メテルゴ リン(セロトニ ン受容体拮 抗薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし		遺伝子改 変マウス		
実施例77	ISA ^ヘ -ス クリ-ム	Db126 (25)	クロザピ ン(セロトニ ン受容体拮 抗薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘ ^ヘ -スクリ-ム 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	165	

10

20

30

40

【表 1 - 14】

表 1 続き

実施例	組成		抗原 ヘアット*	細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗体										
実施例78	ISA ^h -s クリーム	DbI26 (25)	ヘアット*	スマトリ ブタン(セロ トニン受容体 作動薬) (3)	PEP(0.3) ISA(8.6) (ヘアースクリーム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	523	
実施例79	ISA ^h -s クリーム	DbI26 (25)	ヘアット*	ゾルミト リブタン(セ ロトニン受容体 作動薬) (3)	PEP(0.3) ISA(8.6) (ヘアースクリーム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	154	
実施例80	ISA ^h -s クリーム	DbI26 (25)	ヘアット*	トルバブ タン(ヘアッ プレシン受容 体拮抗薬) (3)	PEP(0.3) ISA(8.6) (ヘアースクリーム 中に含有)	なし		なし		遺伝子改 変マウス	114	
実施例81	ISA ^h -s クリーム	DbI26 (25)	ヘアット*	デスモブ レシン(ヘア ップレシン受 容体作動 薬) (3)	PEP(0.3) ISA(8.6) (ヘアースクリーム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	165	
実施例82	ISA ^h -s クリーム	DbI26 (25)	ヘアット*	オキシブ チニン(ヘア ップレシン受容 体拮抗薬) (3)	PEP(0.3) ISA(8.6) (ヘアースクリーム 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	215	

10

20

30

40

50

【表 1 - 15】

表 1 続き

実施例	組成		抗原 ヘアチト	細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ヘアチト										
実施例83	ISAヘキサ リド	Db126 (25)	ピロカル ピン(4スクリ ン受容体作 動薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘキサリド 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	134	
実施例84	ISAヘキサ リド	Db126 (25)	タムスロ シン(7トレ カリン受容体 拮抗薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘキサリド 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	203	
実施例85	ISAヘキサ リド	Db126 (25)	プロブ ラノール(ア トレナリ受 容体拮抗 薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘキサリド 中に含有)	なし		なし		遺伝子改 変マウス		
実施例86	ISAヘキサ リド	Db126 (25)	キシラジ ン(7トレカ リン受容体作 動薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘキサリド 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	87	
実施例87	ISAヘキサ リド	Db126 (25)	ノボキニ ン(7トレカ リン受容体作 動薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ヘキサリド 中に含有)	なし		なし		遺伝子改 変マウス	106	

10

20

30

40

50

【表 1 - 16】

表 1 続き

実施例	組成		抗原 ハブ抗体*	細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗体										
実施例88	ISA ^ハ - クリ-4	Db126 (25)	パクロフ エン(GABA 受容体作 動薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ハ ^ハ -スクリ-4 中に含有)	なし		なし		遺伝子改 変マウス	98	
実施例89	ISA ^ハ - クリ-4	Db126 (25)	TRAP-6(ト ロンヒン受容 体作動薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ハ ^ハ -スクリ-4 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	89	
実施例90	ISA ^ハ - クリ-4	Db126 (25)	アデノシ ンニリン 酸(ADP受 容体作動 薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ハ ^ハ -スクリ-4 中に含有)	なし		なし		遺伝子改 変マウス	95	
実施例91	ISA ^ハ - クリ-4	Db126 (25)	ソマトス タチン-14 (グマトスタチン 受容体作 動薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ハ ^ハ -スクリ-4 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	89	
実施例92	ISA ^ハ - クリ-4	Db126 (25)	GW405833(カンチノイド ^ハ 受容体作 動薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ハ ^ハ -スクリ-4 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	105	
実施例93	ISA ^ハ - クリ-4	Db126 (25)	SEW2871(ス フィンゴシン1 リン酸受容 体作動薬) (3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ハ ^ハ -スクリ-4 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	120	

10

20

30

40

50

【表 1 - 17】

表 1 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ヘブ [®] オト [®]									
実施例94	ISA [®] -ス クリ-4	Db126 (25)	トリメプチ ン(ムカリン受 容体拮抗薬) (3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-4 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	489	
実施例95	ISA [®] -ス クリ-4	Db126 (25)	ロペラミド (モ [®] オト [®] 受容体作動 薬) (3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-4 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	234	
実施例96	ISA [®] -ス クリ-4	Db126 (25)	メラトニン (メ [®] トニ [®] 受容 体作動薬) (3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-4 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	204	
実施例97	ISA [®] -ス クリ-4	Db126 (25)	ピフェニル インダノ ンA(代謝型ク ル [®] タシ [®] 酸受 容体作動薬) (3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-4 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	165	
実施例98	ISA [®] -ス クリ-4	Db126 (25)	L-AP4(代謝 型ク [®] ル [®] タシ [®] 酸 受容体作動 薬) (3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-4 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	238	
実施例99	ISA [®] -ス クリ-4	Db126 (25)	ロキソ [®] プロ [®] フェ [®] ソ [®] N a(COX阻害 剤) (3), IMQ(3)	ISA(8.6) (ヘ [®] -スクリ-4 中に含有)	なし		なし	12	遺伝子改 変マウス	803	47

10

20

30

40

50

【 表 1 - 1 8 】

表 1 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・m ²)	マウス	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセ イ)
	基材	抗原 ペプチド*									
100	ISA ^h -ス クリ-4	DbI26 (25)	ペルベリ ン(TSLP産 生抑制剤) (3), IMQ(3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ペ-スクリ-4 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	557	
101	ISA ^h -ス クリ-4	DbI26 (25)	ケルセチ ン(TSLP産 生抑制剤) (3), IMQ(3)	PEP(0.3)	ISA(8.6) (ペ-スクリ-4 中に含有)		なし	12	遺伝子改 変マウス	769	46

IMQ：イミキモド(TLR7および/またはTLR8リガンド)

PEP：Peptide-25 (配列番号7) (ヘルパーペプチド)

PEPB：Peptide-25B (配列番号11) (ヘルパーペプチド)

c-di-GMP：環状ジGMP(環状ジヌクレオチド)

c-di-AMP：環状ジAMP(環状ジヌクレオチド)

poly(I:C)：ポリイノシンポリシチジン酸 (TLR3リガンド)

R848：レシキモド (TLR7および/またはTLR8リガンド)

ISA：イソステアリン酸

SDS：ドデシル硫酸ナトリウム

T/S10：テラブストリピン10回

表中で特記した場合を除き、DbI26抗原ペプチドは酢酸塩の形態である。

RYFペプチドおよびAYLペプチドはTFA塩の形態である。

括弧内の数値は、各成分の配合割合 (重量部) である。

ISAは、ISAベースクリーム中の成分として製剤に含まれるものであるが、括弧内の数値は他の成分との配合割合 (重量部) として表した。

【 0 2 2 5 】

【表 2】

表 2

	ISAベースクリーム
白色ワセリン	60.7重量%
モノステアリン酸ソルビタン	0.7重量%
イソステアリン酸	12.0重量%
ベンジルアルコール	2.4重量%
セタノール	2.4重量%
ステアリルアルコール	3.5重量%
ポリソルベート60	3.5重量%
濃グリセリン	2.4重量%
水	12.4重量%

10

【0226】

Db126抗原ペプチドのTFA塩、RYFペプチドのTFA塩、AYLペプチドのTFA塩、Db126抗原ペプチドの酢酸塩、Peptide-25(Pep25)、Peptide-25B(Pep25B)、PADRE(ユニバーサルヘルパーペプチド)、WT1₃₅(hWT1₃₅ヘルパーペプチド)、WT1₃₃₂(WT1₃₃₂₋₃₄₇ヘルパーペプチド)は、化学合成し、HPLC精製したものをを用いた。イミキモド(IMQ)は東京化成工業社から購入した。環状ジGMP(c-di-GMP)および環状ジAMP(c-di-AMP)はBiolog Life Science Institute社から購入した。

20

Pam₃CSK₄はInvivoGen製のもの、Zymosanはナカライテスク製のもの、Poly(I:C)はInvivoGen製のもの、パントエア菌由来リポポリサッカライドは自然免疫応用技研製のもの、グルコピラノシルリピッドはInvivoGen製のもの(MPLAs)、ヒアルロン酸Naはキッコーマンバイオケミファ製のもの(マイクロヒアルロン酸FCH)、プロピリミンはTOCRIS bioscience製のもの、R848およびODN1826はInvivoGen製のもの、ピドチモドはSanta Cruz Biotechnology製のもの、ベスタチンは和光純薬製のもの、レバミゾール塩酸塩はMP Biomedical製のもの、トシル酸スプラタストはTOCRIS bioscience製のもの、エトドラクは和光純薬製のもの、ロキソプロフェンNaは陽進堂製のものそれぞれを用いた。白色ワセリン、モノステアリン酸ソルビタン、イソステアリン酸、ベンジルアルコール、ステアリルアルコール、ポリソルベート60、濃グリセリンは和光純薬工業から購入した。セタノールは東京化成工業から購入した。

30

【0227】

クロフィブラート: LKT Laboratories製、フェノフィブラート: 和光純薬製、ケルセチン: Cayman Chemical製、ベルベリン(塩化ベルベリン水和物): 和光純薬製、ノスカピン: 和光純薬製、3,3'-ジインドリルメタン: 和光純薬製、キサントン: 和光純薬製、パルテノリド: 和光純薬製、インドメタシン: 和光純薬製、アスピリン: Sigma-Aldrich製、ジクロフェナク(ジクロフェナクナトリウム): 和光純薬製、ケトプロフェン: 和光純薬製、セレコキシブ: TOCRIS bioscience製、バルデコキシブ: TOCRIS bioscience製、ドコサヘキサエン酸: Cayman Chemical製、2',5'-ジデオキシシアデノシン: BIOMOL International、SCH23390: 和光純薬製、ロピニロール(塩酸ロピニロール): Ragactives製、ロチゴチン: STARN ASCENS製、GW627368X: Cayman Chemical製、スルプロストン: Cayman Chemical製、クロプロステノール: 和光純薬製、BWA868C: Cayman Chemical製、RO1138452: Cayman Ch

40

50

emical製、ロイコトリエンB4：Cayman Chemical製、モンテルカスト（モンテルカストナトリウム）：LG Life Sciences、ジレウトン：Toronto Research Chemicals、ニコチン酸：和光純薬製、グリチルリチン酸（グリチルリチン酸二カリウム）：和光純薬製、ピルフェニドン：TOCRIS bioscience製、トラニラスト：和光純薬製、ファモチジン：和光純薬製、イムピップ（イムピップ二臭化水素酸塩）：TOCRIS bioscience製、プロキシファン：TOCRIS bioscience製、アゼラスチン（アゼラスチン塩酸塩）：LKT Labs、シメチジン：和光純薬、4-メチルヒスタミン：TOCRIS bioscience製、オランザピン：和光純薬製、ヨヒンビン（ヨヒンビン塩酸塩）：和光純薬製、アセチルコリン（塩化アセチルコリン）：和光純薬製、メテルゴリン（メテルゴリンフェニルメチルエステル）：TOCRIS bioscience製、クロザピン：和光純薬製、スマトリプタン：MYUNG IN PHARM製、ゾルミトリプタン：Cipla製、トルバプタン：Sigma-Aldrich製、デスモプレシン：Sigma-Aldrich製、ピロカルピン（塩酸ピロカルピン）：和光純薬製、プロプラノロール（塩酸プロプラノロール）：和光純薬製、キシラジン：和光純薬製、ノボキニン：Sigma-Aldrich製、バクロフェン：東京化成製、TRAP-6：Bachem製、アデノシンニリン酸：MP Biomedicals製、ソマトスタチン-14：Bachem製、GW405833：Sigma-Aldrich製、SEW2871：Cayman Chemical製、トリメブチン（マレイン酸トリメブチン）：東京化成製、ロペラミド（ロペラミド塩酸塩）：和光純薬製、メラトニン：LKT Labs、ピフェニルインダノンA：Sigma-Aldrich製、L-AP4（L-2アミノ-4-ホスホノ酪酸）：和光純薬製、ジフェンヒドラミン（ジフェンヒドラミン塩酸塩）：和光純薬製、タムスロシン（タムスロシン塩酸塩）：Cipla製、オキシブチニン（オキシブチニン塩酸塩）：SIGMA製を用いた。

抗原ペプチド、細胞性免疫誘導促進剤、酸、および添加剤等の入手元については、以下のテープ剤、外用液剤、および注射剤の調製においても同様である。

【0228】

【表3】

表3

No.	皮膚処理	Db126抗原 ^{ペプチド} 透過量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/24\text{hr}$)	イミキモド透過量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/24\text{hr}$)
実施例5	TS10回	282	10
実施例6	マイクロカッター	271	11
実施例7	マイクロニードル	179	6
実施例8	-	35	3

【0229】

テープ剤

テープ剤に用いる粘着剤を重合（アクリル系粘着剤A、B）、調合（PIBゴム系粘着剤、SIS系粘着剤A、SIS-PIB系粘着剤A）した。

（アクリル系粘着剤Aの重合）

不活性ガス雰囲気下、アクリル酸2-エチルヘキシル75部、N-ビニル-2-ピロリドン22部、アクリル酸3部およびアゾビスイソブチロニトリル0.2部を酢酸エチル中60にて溶液重合させてアクリル系粘着剤A溶液を得た。

（アクリル系粘着剤Bの重合）

不活性ガス雰囲気下、アクリル酸2-エチルヘキシル70部、N-ビニル-2-ピロリドン25部、N-(2-ヒドロキシエチル)アクリルアミド5部およびアゾビスイソブチ

ロニトリル 0.2 部を酢酸エチル中 60 にて溶液重合させてアクリル系粘着剤 B 溶液を得た。

(PIB ゴム系粘着剤の調合)

ポリイソブチレン (オパノール B 200、BASF 社製) 24 部、ポリイソブチレン (オパノール B 12、BASF 社製) 36 部および脂環族系石油樹脂 (アルコン P - 100、荒川化学社製) 40 部をトルエンに溶解して、PIB ゴム系粘着剤溶液を得た。

(SIS 系粘着剤 A の調合)

スチレン-イソブレン-スチレンブロック共重合体 (SIS 5002、JSR 社製) 60 部、および脂環族系石油樹脂 (アルコン P - 100、荒川化学社製) 40 部をトルエンに溶解して、SIS 系粘着剤 A 溶液を得た。

10

(SIS-PIB 系粘着剤 A の調合)

スチレン-イソブレン-スチレンブロック共重合体 (SIS 5002、JSR 社製) 30 部、ポリイソブチレン (オパノール B 100、BASF 社製) 30 部および脂環族系石油樹脂 (アルコン P - 100、荒川化学社製) 40 部をトルエンに溶解して、SIS-PIB 系粘着剤 A 溶液を得た。

【0230】

下記表 4 の組成を有するテープ剤を製造した。具体的には、表 4 に記載される配合量の Db 126 抗原ペプチド、細胞性免疫誘導促進剤、ならびに所望により皮膚透過性増強剤および/または薬理的に許容される酸と、粘着剤溶液および有機溶媒 (酢酸エチル、エタノール、トルエンなど) を配合、混和し、乾燥後の厚みが約 80 μm になるように剥離ライナーに展延し、乾燥により有機溶媒を除去して、支持体を貼り合わせてテープ剤を調製した。粘着剤溶液は、有機溶媒乾燥後における各成分と粘着剤の合計が 100 重量部となるように配合した。支持体にはポリエチレンテレフタレート (PET) フィルム (厚さ 25 μm) を用いた。剥離ライナーには、シリコーン剥離処理を施したポリエチレンテレフタレート (PET) 製ライナー (厚さ 75 μm) を用いた。このテープ剤を面積 0.7 cm^2 になるようカットしたものを免疫実験の投与サンプルとした。投与時には剥離ライナーを剥して投与した。

20

【0231】

マウス免疫試験 2 (テープ剤)

上記の通りに製造したテープ剤を用いて、上記マウス免疫試験 1 と同様の方法によりマウス免疫試験を行った。投与回数は (24 hr / 週) \times 1 回、脾臓摘出は投与から 6 日後とした。免疫評価用モデル動物として用いたマウスは、HLA-A*0201 型 MHC 拘束性ペプチドによる細胞性免疫誘導を評価可能な遺伝子改変マウスである。

30

実施例 111 においては、マイクロカッター (MICRO FEATHER No. 7330G、FEATHER 製) で傷をつけた皮膚への投与を行った。

【0232】

一部のテープ剤については、皮膚刺激評価用モデル動物としての C57BL/6 マウスを用いて上記クリーム剤と同様の方法により、投与後のマウスの皮膚内 TSLP レベル、投与前のマウスの経皮水分蒸散量、ならびに Db 126 抗原ペプチドおよびイミキモドの皮膚透過性の測定を行った。

40

【0233】

免疫試験の結果、ならびに TSLP レベルおよび経皮水分蒸散量の測定結果を下記表 4 に示す。また、皮膚透過性の測定結果を表 5 に示す。

【0234】

【表 4 - 1】

表 4

	組成		細胞性免疫誘導促進剤	皮膚透過性増強剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・ m ²)	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセイ)
	基材 (粘着剤)	抗原 ペプタイト									
比較例5	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	なし	IPM (36)	なし	なし		なし	12	3	
比較例6	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	なし	IPM (27)	MA (9)	なし		なし	12	10	
実施例102	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (1)	IPM (35.6)	なし	なし		なし	12	25	
実施例103	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	なし	IPM (35.6)	なし	なし	PEP (1)	なし	12	11	
実施例104	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (1)	IPM (35.2)	なし	なし	PEP (1)	なし	10	40	
実施例105	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	なし	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	PEP (1)	なし	12	18	
実施例106	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	PEP (1)	なし	10	406	
実施例107	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (1)	IPM (25.2)	MA (8.4)	BL-4.2 (4)	PEP (1)	なし	10	70	
実施例108	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (3)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	PEP (1)	なし	10	584	35

10

20

30

40

50

【 表 4 - 2 】

表 4 続き

	組成		細胞性免疫誘導促進剤	皮膚透過性増強剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・ m ²)	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセイ)
	基材 (粘着剤)	抗原 ヘプタド									
実施例109	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (3)	WT1 ₃₅ (1)	MA (8.6)	なし		なし	10	1113	55
実施例110	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (3)	WT1 ₃₅ (1)	MA (8.6)	なし		T/S10	58	56	
実施例111	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (3)	WT1 ₃₅ (1)	MA (8.6)	なし		マイクロカッ ター	66	29	
比較例7	アクリル系粘 着剤A	Db126 (10)	なし	なし	なし	なし		なし	10	2	
比較例8	アクリル系粘 着剤A	Db126 (10)	なし	なし	MA (8.8)	なし		なし	10	11	
実施例112	アクリル系粘 着剤A	Db126 (10)	IMQ (1)	なし	MA (8.8)	なし		なし	10	31	
実施例113	アクリル系粘 着剤A	Db126 (10)	IMQ (1)	PEP (1)	MA (8.8)	なし		なし	10	49	
実施例114	アクリル系粘 着剤A	Db126 (10)	なし	WT1 ₃₅ (1)	なし	なし		なし	10	20	
実施例115	アクリル系粘 着剤A	Db126 (10)	ロキソプロフェン Na(COX阻害 剤) (3)	WT1 ₃₅ (1)	なし	なし		なし	10	190	

10

20

30

40

50

【 表 4 - 3 】

表 4 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤	皮膚透過性増強剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・ m ²)	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセイ)
	基材 (粘着剤)	抗原 ヘプタト [®]									
実施例116	アクリル系粘 着剤B	Db126 (10)	IMQ(1)	PEP(1)	MA(8.8)	なし		なし	10	75	
実施例117	SIS系粘着 剤A	Db126 (10)	IMQ(1)	PEP(1)	MA(8.4)	なし		なし	10	377	
実施例118	SIS-PIB系 粘着剤A	Db126 (10)	IMQ(1)	PEP(1)	MA(8.4)	なし		なし	10	277	
実施例119	SIS-PIB系 粘着剤A	Db126 (10)	ロキソ [®] プロフェン Na(COX阻害 剤) (3)	WT1.05 (1)	なし	なし		なし	10	201	
実施例120	PIB [®] 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	オクタン酸 (1.7)	なし		なし	10	25	
実施例121	PIB [®] 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	イソステリン 酸(1.7)	なし		なし	10	146	
実施例122	PIB [®] 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	デカン酸 (8.6)	なし		なし	10	375	
実施例123	PIB [®] 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	フリン酸 (8.6)	なし		なし	10	446	

10

20

30

40

【表 4 - 4】

表 4 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤	皮膚透過性増強剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・ m ²)	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセイ)
	基材 (粘着剤)	抗原 ハプタン*									
実施例124	PIBコーム系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	ハルミン 酸 (8.6)	なし	なし	10	40	
実施例125	PIBコーム系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	イソステアリン 酸 (8.6)	なし	なし	10	494	
実施例126	PIBコーム系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	オレイン酸 (8.6)	なし	なし	10	495	
実施例127	PIBコーム系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	ステアリン酸 (8.6)	なし	なし	10	24	
実施例128	PIBコーム系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ (3)	PEP (1)	IPM (31.4)	乳酸 (3)	なし	なし	12	501	
実施例129	PIBコーム系 粘着剤	Db126 (10)	c-di-GMP (0.3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	なし	なし	450	
実施例130	PIBコーム系 粘着剤	Db126 (10)	c-di-AMP (0.3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	なし	なし		
実施例131	PIBコーム系 粘着剤	Db126 (10)	ハントエテ菌由 来リボホリチン カライト* (TLR4 リカント*) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	なし	12	103	24
実施例132	PIBコーム系 粘着剤	Db126 (10)	グリコヒラジノル ビド* (TLR4リカント*) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	なし	なし		

10

20

30

40

【 表 4 - 5 】

表 4 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤				皮膚透過性増強剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・ m ²)	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセイ)
	基材 (粘着剤)	抗原 ペプチド	細胞性免疫誘導促進剤	細胞性免疫誘導促進剤	細胞性免疫誘導促進剤	細胞性免疫誘導促進剤								
実施例133	PIBコポリマー系 粘着剤	Db126 (10)	ヒアルロン酸 Na (TLR4リガ ンド) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	なし		なし				
実施例134	PIBコポリマー系 粘着剤	Db126 (10)	ODN1826(TL R9リガンド) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	なし		なし				
実施例135	PIBコポリマー系 粘着剤	Db126 (10)	バシロトキシン 酸塩(免疫 調節低分子 薬物) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	なし		なし	12	45		
実施例136	PIBコポリマー系 粘着剤	Db126 (10)	エトアラゲ(COX 阻害剤) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	なし		なし				
実施例137	PIBコポリマー系 粘着剤	Db126 (10)	ヒトチト素(免 疫調節低 分子薬物) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	なし		なし				
実施例138	PIBコポリマー系 粘着剤	Db126 (10)	バシロトキシン(免 疫調節低分 子薬物) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	なし		なし				
実施例139	PIBコポリマー系 粘着剤	Db126 (10)	なし	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし	なし		なし	10	41		

10

20

30

40

【 表 4 - 6 】

表 4 続き

実施例	組成		抗原 ペプタン	細胞性免疫誘導促進剤	皮膚透過 性増強剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・ m ²)	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセイ)
	基材 (粘着剤)	抗原										
実施例140	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	ロキソプロフェン Na(COX阻害 剤) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	なし	なし		なし	10	185	40
実施例141	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	ロキソプロフェン Na(COX阻害 剤) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし		なし	10	610	
実施例142	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	ロキソプロフェン Na(COX阻害 剤) (1.5), IMQ (1.5)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし		なし	10	736	40
実施例143	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	ケルセチン (TSLP産生 抑制剤) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし		なし	12	560	
実施例144	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	ケルセチン (TSLP産生 抑制剤) (1.5), IMQ (1.5)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし		なし	12	621	35
実施例145	PIB TM 系 粘着剤	Db126 (10)	GW627368 X (プロスタグラン ジン受容体 拮抗薬) (3)	PEP (1)	IPM (25.8)	MA (8.6)	なし		なし	12	574	

10

20

30

40

50

【表 4 - 7】

表 4 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤	皮膚透過性増強剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・ m ²)	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセイ)
	基材 (粘着剤)	抗原 ペプチド*									
実施例146	PIB ⁺ 系 粘着剤	Db126 (10)	スルブプロ ストン(ア スタ グ ラ ン ジ ン 受 容 体 作 動 薬) (3)	IPM(25.8)	MA(8.6)	なし		なし	12	530	
実施例147	PIB ⁺ 系 粘着剤	Db126 (10)	クロファイ ブ ラ ー ト (PPA R 作 動 薬) (3)	IPM(25.8)	MA(8.6)	なし		なし	12	610	
実施例148	PIB ⁺ 系 粘着剤	Db126 (10)	トラニラ ス ト (TGF- β 産 生 抑 制 剤) (3)	IPM(25.8)	MA(8.6)	なし		なし	12	123	
実施例149	PIB ⁺ 系 粘着剤	Db126 (10)	イムピ ツ ブ (ヒ ス タ ミ ン 受 容 体 作 動 薬) (3)	IPM(25.8)	MA(8.6)	なし		なし	12	155	
実施例150	PIB ⁺ 系 粘着剤	Db126 (10)	アゼラ ス チ ン (ヒ ス タ ミ ン 受 容 体 拮 抗 薬) (3)	IPM(25.8)	MA(8.6)	なし		なし	12	770	

10

20

30

40

50

【表 4 - 8】

表 4 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤	皮膚透過性増強剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・ m ²)	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセイ)
	基材 (粘着剤)	抗原 ペプタイド									
実施例151	PIB ₃ 系 粘着剤	Db126 (10)	スマトリブ タン(セロニン 受容体作動 薬) (3)	IPM(25.8)	MA(8.6)	なし		なし	12	790	
実施例152	PIB ₃ 系 粘着剤	Db126 (10)	ヨヒンビン (セロニン受容 体拮抗薬) (3)	IPM(25.8)	MA(8.6)	なし		なし	12	173	
実施例153	PIB ₃ 系 粘着剤	Db126 (10)	オキシブチ ニン(ムスカリ ン受容体拮抗 薬) (3)	IPM(25.8)	MA(8.6)	なし		なし	12	185	
実施例154	PIB ₃ 系 粘着剤	Db126 (10)	タムスロシ ン(アドレナリン 受容体拮抗 薬) (3)	IPM(25.8)	MA(8.6)	なし		なし	12	171	
実施例155	PIB ₃ 系 粘着剤	Db126 (10)	ロペラミド (オピオイド受 容体作動薬) (3)	IPM(25.8)	MA(8.6)	なし		なし	12	480	
実施例156	PIB ₃ 系 粘着剤	Db126 (10)	メラトニン (メラトニン受容 体作動薬) (3)	IPM(25.8)	MA(8.6)	なし		なし	12	535	

10

20

30

40

【 表 4 - 9 】

表 4 続き

実施例	組成		細胞性免疫誘導促進剤	皮膚透過性増強剤	酸	添加剤 (化学的 刺激)	TSLP (pg/mg protein)	物理的 刺激	TEWL (g/h・ m ²)	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット 数)	% 特異的 溶解 (In vivo CTL アッセイ)
	基材 (粘着剤)	抗原 ペプチド*									
実施例157	PIB _{3.5} 系 粘着剤	Db126 (10)	L-AP4(代謝 型グルタミン酸 受容体作用 薬) (3)	PEP(1)	MA(8.6)	なし		なし	12	111	
実施例158	PIB _{3.5} 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ(3)	PADRE (1)	MA(8.6)	なし		なし	12	613	
実施例159	PIB _{3.5} 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ(3)	WT1 ₃₃₂ (1)	MA(8.6)	なし		なし			
実施例160	PIB _{3.5} 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	MA(8.6)	なし		なし	12	560	
実施例161	PIB _{3.5} 系 粘着剤	Db126 (10)	IMQ(3)	PEP(1)	MA(8.6)	なし		なし	12	54	

PADRE : ユニバーサルヘルパーペプチド (配列番号9) (ヘルパーペプチド)
 WT1_{3.5} : hWT1_{3.5}ヘルパーペプチド (配列番号8) (ヘルパーペプチド)
 WT1₃₃₂ : WT1₃₃₂₋₃₄₇ヘルパーペプチド (配列番号10) (ヘルパーペプチド)
 IPM : ミリスチン酸イソプロピル、クローダジヤパン社製
 IPP : パルミチン酸イソプロピル、和光純薬工業社製
 MA : ミリスチン酸

BL-4, 2 : ポリオキシエチレン (4, 2) ラウリルエーテル、日光ケミカルズ社製
 Db126 抗原ペプチドはいずれも酢酸塩の形態である。
 括弧内の数値は、各成分の配合割合 (重量部) である。

【表 5】

No.	特徴	Db126抗原ペプチド透過量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/24\text{hr}$)	イミキモト透過量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/24\text{hr}$)
実施例106	界面活性剤なしテーパー	2.8	4.5
実施例107	BL-4.2配合テーパー	13.4	5.8

表 5

【 0 2 3 6 】

外用液剤

下記表 6 の組成を有する外用液剤を製造した。表 6 中に明記した配合量で、Db126 抗原ペプチド、ヘルパーペプチド以外の細胞性免疫誘導促進剤、ヘルパーペプチド、および 15 重量部の DMSO を配合し、そこに基材を加えて全 100 重量部とし、混和して外

10

20

30

40

50

用液剤を得た。基材としては、プロピレングリコール（PG）とオレイルアルコール（OA）を重量比で98：2あるいは90：10の割合となる量で配合、混合して調製したものをを用いた。セルロース不織布（面積 0.8 cm^2 ）を固定用粘着テープの中央部に貼り合わせた複合基材を用意した。この複合基材の不織布部分に調製した外用液剤 $67\text{ }\mu\text{L}$ を含浸させたものを免疫実験の投与サンプルとした。

【0237】

マウス免疫試験3（外用液剤）

上記の通りに製造した外用液剤を用いて、上記マウス免疫試験1と同様の方法によりマウス免疫試験を行った。投与量は上記の通り $67\text{ }\mu\text{L}$ 、投与回数は（ 24 hr/週 ） $\times 1$ 回、脾臓摘出は投与から6日後とした。免疫評価用モデル動物として使用したマウスはC57BL/6である。

10

【0238】

一部の外用液剤については、皮膚刺激評価用モデル動物としてのC57BL/6マウスを用いて上記クリーム剤と同様の方法により、投与後のマウスの皮膚内TSLPレベル、および投与前のマウスの経皮水分蒸散量の測定を行った。

【0239】

免疫試験の結果、ならびにTSLPレベルおよび経皮水分蒸散量の測定結果を下記表6に示す。

【0240】

【 表 6 】

表 6

比較例	組成		細胞性免疫誘導促進剤	化学的刺激	TSLP (pg/mg protein)	物理的刺激	TEWL (g/h・m ²)	免疫結果 (ELISPOT平均 スポット数)
	基材	抗原 ペプチド*						
比較例9	PG/OA[98/2]	Db126(10)	なし	なし		なし	10	8
実施例162	PG/OA[98/2]	Db126(10)	IMQ(10)	なし		なし	10	350
実施例163	PG/OA[98/2]	Db126(10)	なし	PEP(0.3)		なし	10	97
実施例164	PG/OA[98/2]	Db126(10)	IMQ(10)	なし	174	なし	10	503
実施例165	PG/OA[90/10]	Db126(10)	IMQ(10)	有り (OA比増)	270	なし	10	435

PG/OA：プロピレングリコールとオレイアルコロール（いずれも和光純薬工業）の混合物。

[]内の数値はPGとOAの重量比を表す。

Db126抗原ペプチドは、いずれも酢酸塩の形態である。

[]内の数値は、各成分の配合割合（重量部）である。

注射剤

下表 7 の組成を有する皮内注射剤を製造した。具体的には、表 7 に記載される配合量の Db126 抗原ペプチドおよびアジュバントとしての Montanide ISA51VG (フロイント産業) に、基剤としての生理食塩水を添加して合計 100 重量部とし、ホモジナイザーにて混和してエマルジョン状の注射剤を調製した。

【0242】

マウス免疫試験 4 (注射剤)

上記の通りに製造した注射剤を用いて、上記マウス免疫試験 1 と同様の方法によりマウス免疫試験を行った。注射剤をマウスの背部に皮内注射投与した。投与量は 30 μ L、投与回数は 1 回、脾臓摘出は投与から 6 日後とした。使用したマウスは HLA-A*0201 型 MHC 拘束性ペプチドによる細胞性免疫誘導を評価可能な遺伝子改変マウスである。免疫試験の結果を下記表 7 に示す。

比較例 10 ~ 14 に関しては、皮内注射免疫の為、注射した Db126 ペプチド量を皮膚内導入量として算出した。また、実施例 109 の製剤については、マウス皮膚透過性試験を行い、Db126 抗原ペプチド 24 時間皮膚透過量の総量を皮膚内導入量とした。注射とテープ剤での皮膚内導入量を比較した結果を表 8 に示す。

【0243】

【表 7】

表 7

	基材	抗原ペプチド	細胞性免疫誘導促進剤	免疫結果 (ELISPOT 平均スポット数)	% 特異的溶解 (In vivo CTL アッセイ)
比較例 10	生理食塩水	Db126 (0.033)	Montanide ISA51VG (50)	33	
比較例 11	生理食塩水	Db126 (0.1)	Montanide ISA51VG (50)	28	
比較例 12	生理食塩水	Db126 (0.33)	Montanide ISA51VG (50)	335	
比較例 13	生理食塩水	Db126 (1)	Montanide ISA51VG (50)	347	
比較例 14	生理食塩水	Db126 (3.3)	Montanide ISA51VG (50)	461	32

Db126 抗原ペプチドはいずれも酢酸塩の形態である。
括弧内の数値は、各成分の配合割合 (重量部) である。

【0244】

【表 8】

表 8

No.	Db126 抗原ペプチドの皮膚内導入量 (μ g)
実施例 109	7
比較例 10	9.9
比較例 11	30
比較例 12	99
比較例 13	300
比較例 14	990

【0245】

In vivo CTL アッセイ

最終免疫投与から 7 日後に下記の要領で脾臓細胞 (ターゲット細胞あるいはコントロール細胞) を移植し、その 18 時間後に脾臓を採取し、FACS 測定を行うことにより %

特異的溶解を求めた。

【0246】

手順1．ナイーブマウスの脾臓細胞採取

ナイーブマウス（免疫試験に用いたのと同じ種類の免疫評価用モデル動物）から脾臓を摘出し、RPMI1640培地を入れたシャーレ中でスライドガラスを用いてすりつぶした。50 mLチューブに回収後、10、1100rpm、5分遠心分離した後、上清を捨て、Lysis Buffer 20 mLを加え、室温で5分インキュベートした。培地を20 mL加えた後、遠心分離した後、培地を加え、セルストレーナーに通した。

【0247】

手順2．脾臓細胞の抗原標識

手順1で調製した脾臓細胞を10、1100rpm、5分遠心分離した後、上清を捨て、HBSS bufferを加えて 2×10^7 cells/mLとした。この細胞液を2本の50mLチューブに分注し、一方の細胞液に最終濃度 $10 \mu\text{M}$ となるように $100 \mu\text{M}$ 抗原溶液（抗原は各免疫投与物に配合した抗原）を加えてターゲット細胞とした。もう一方の細胞はコントロール細胞とした。両方の細胞を37で1時間インキュベートした後、遠心分離し、上清を捨て、培地を加えた。

【0248】

手順3．脾臓細胞のCFSE標識

手順2で抗原標識した細胞を遠心分離し、0.1% BSA-PBSを 1×10^7 cells/mLとなるように加えた。ターゲット細胞液に5 mM CFSE溶液を最終濃度 $10 \mu\text{M}$ となるように加え、コントロール細胞液に5 mM CFSE溶液を最終濃度 $1 \mu\text{M}$ となるように加え、ボルテックスした後37

【0249】

手順4．脾臓細胞移植

手順3でCFSE標識した細胞を遠心分離し、上清を捨て、HBSS bufferを用い、 5×10^7 cells/mLとなるように調製した。ターゲット細胞液とコントロール細胞液を等量混合し、免疫したマウスに200 μL ずつ眼窩静脈から投与した（移植細胞数： 1×10^7 cells/匹）。

【0250】

手順5．免疫マウスの脾臓細胞調製とFACS測定

脾臓細胞移植の18時間後、脾臓を摘出し、手順1と同様に脾臓細胞を調製した。その後、FACSによりCFSE陽性細胞を検出し、CFSE high細胞（ターゲット細胞）とCFSE low細胞（コントロール細胞）の比率から、以下の式より細胞傷害活性を評価した。この指標により抗原特異的に誘導した免疫が生体内で抗原提示細胞を特異的に攻撃する能力を評価し、本発明の投与物の効果が高いことを確認した。

$$r = (\% \text{ CFSE low 細胞}) / (\% \text{ CFSE high 細胞})$$

$$\% \text{ 特異的溶解} = (1 - (r_{\text{非免疫}} / r_{\text{免疫}})) \times 100$$

【0251】

比較例1、実施例1および実施例11の結果を図1に示す。イミキモドを用いることによって細胞性免疫が増強されており、イミキモドとPeptide-25を併用することによって細胞性免疫が顕著に増強されている。同様に、比較例1、実施例12および実施例13の結果を図2に示す。環状ジGMPを用いることによって細胞性免疫が増強されており、環状ジGMPとPeptide-25を併用することによって細胞性免疫が顕著に増強されている。また、比較例1および実施例2から、細胞性免疫誘導促進剤としてヘルパーペプチドであるPeptide-25のみを添加した場合も細胞性免疫誘導ができることが示された。さらに、実施例1および実施例2と、実施例11との比較から、ヘルパーペプチド以外の細胞性免疫誘導促進剤と該ヘルパーペプチドとの組み合わせによって相乗効果が発揮されることがわかる。実施例2の結果から、ヘルパーペプチドの配合量を増やしても細胞性免疫誘導効果はさほど増強されないことが分かる。また、テープ剤や液剤でもクリーム剤と同様に、マウスの細胞性免疫誘導ができた。

【0252】

物理的刺激の影響を検討した実施例5～8のマウス免疫試験およびマウス皮膚透過性試

10

20

30

40

50

験の結果を図3および図4に示した。物理的指標としてのTEWLの結果は表1に示した。表1および図3より、物理的刺激により細胞性免疫が減弱し、低刺激条件下で投与することが有効であることがわかる。すなわち、TEWLの値が低いほど強い細胞性免疫が誘導するのに有効であることがわかる。図4では、物理的刺激によりDb126およびイミキモドの皮膚透過量は増加しており、皮膚透過量を増やしても細胞性免疫を増強できないことがわかる。

【0253】

化学的刺激（界面活性剤）の影響を検討した実施例106、107のマウス免疫試験およびマウス皮膚透過性試験の結果を図5および図6に示した。図5より、化学的刺激により細胞性免疫が減弱し、低刺激条件下で投与することが有効であることがわかる。図6では、化学的刺激によりDb126およびイミキモドの皮膚透過量は増加しており、皮膚透過量を増やしても細胞性免疫を増強できないことがわかる。

10

【0254】

物理的刺激の影響を検討した実施例109、111のマウス免疫試験の結果を図7に示した。物理刺激を与えた皮膚にテープ剤を投与すると免疫誘導レベルが減弱し、低刺激条件下で投与することが有効であることがわかる。

【0255】

イミキモドとロキソプロフェンNaの相乗効果を検討した実施例139、108、141、142のマウス免疫試験の結果を図8に示した。イミキモド単独（3%）やロキソプロフェンNa単独（3%）よりもイミキモド（1.5%）とロキソプロフェンNa（1.5%）の両方を添加した方が免疫誘導レベルが高いことがわかる

20

【0256】

表1および表4において、WT1ペプチドおよび/または改変WT1ペプチドを含む経皮ワクチンにおいて細胞性免疫誘導促進剤を比較した。その結果、TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、ヘルパーペプチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、Th2サイトカイン阻害剤およびそれらの2種以上の組合せから選択される細胞性免疫誘導促進剤が有効であることが明らかになった。

30

好ましくは、TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、TSLP産生抑制剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、オメガ3脂肪酸、PPAR作動薬、ドーパミン受容体拮抗薬、ドーパミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体拮抗薬、バソプレシン受容体作動薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体作動薬、アドレナリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体作動薬、アンジオテンシン受容体作動薬、GABA受容体作動薬、トロンピン受容体作動薬、オピオイド受容体作動薬、ADP受容体作動薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、ソマトスタチン受容体作動薬、カンナビノイド受容体作動薬、スフィンゴシン1リン酸受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬、ホスホリパーゼA2阻害剤、TGF- β 産生抑制剤、Th2サイトカイン阻害剤およびそれらの2種以上の組合せから選択される細胞性免疫誘導促進剤、並びにヘルパーペプチド以外のそれらの第一

40

50

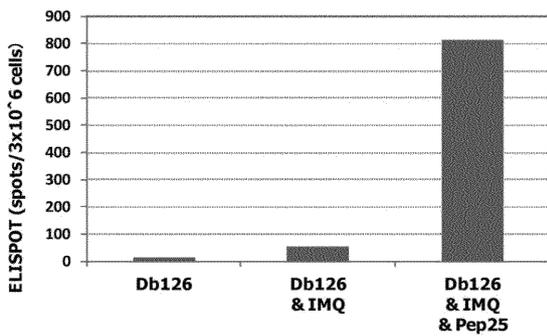
の細胞性免疫誘導促進剤とヘルパーペプチドの組合せが有効であった。

さらに好ましくは、TLRリガンド、環状ジヌクレオチド、免疫調節低分子薬物、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、TSLP産生抑制剤、プロスタグランジン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体作動薬、PPAR作動薬、TGF-産生抑制剤、ヒスタミン受容体作動薬、ヒスタミン受容体拮抗薬、セロトニン受容体作動薬、セロトニン受容体拮抗薬、ムスカリン受容体拮抗薬、アドレナリン受容体拮抗薬、オピオイド受容体作動薬、メラトニン受容体作動薬、代謝型グルタミン酸受容体作動薬およびそれらの2種以上の組合せから選択される第一の細胞性免疫誘導促進剤、並びにヘルパーペプチド以外のそれらの第一の細胞性免疫誘導促進剤とヘルパーペプチドとの組合せが有効であった。

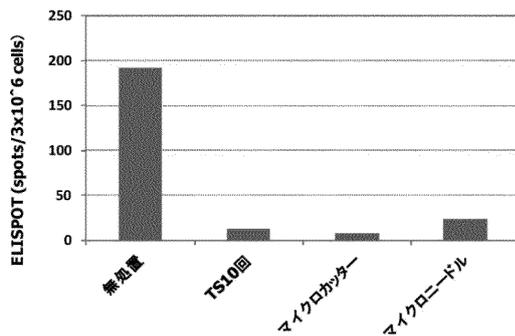
【0257】

表1、表4、表6、表7に示すように、経皮投与によって、注射と同等もしくはそれ以上の細胞性免疫誘導効果を得ることができた。臨床研究に関する論文(Current Opinion in immunology 2008, 20:211-220)によると、WT1ワクチンはヒトでの注射免疫において、がんワクチンとしての効果が確認されている。本発明の経皮ワクチンは、マウスの系において、注射免疫と同等以上の細胞性免疫誘導効果を示したことより、ヒトに投与した場合も注射と同等以上の細胞性免疫を誘導し、がんワクチンとしての効果を発揮することが十分に期待される。

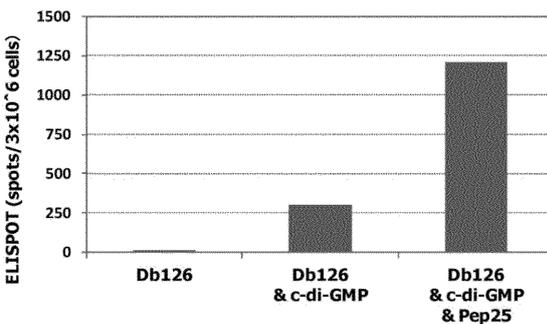
【図1】



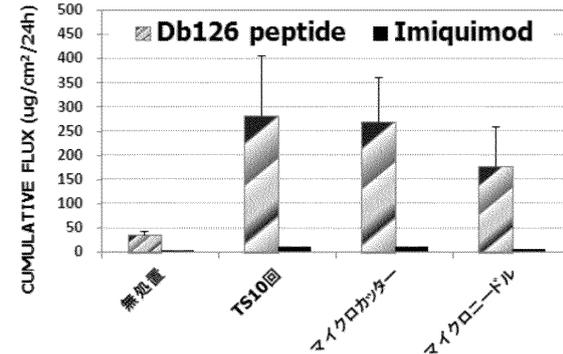
【図3】



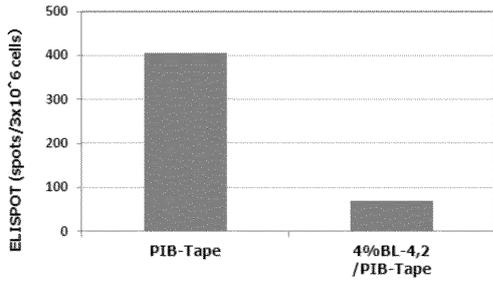
【図2】



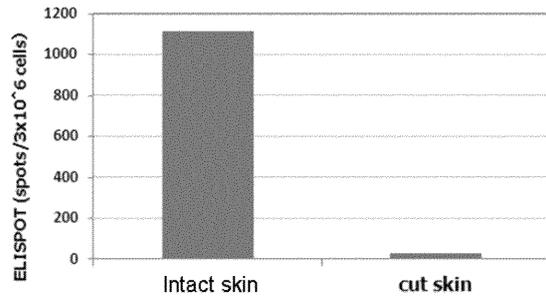
【図4】



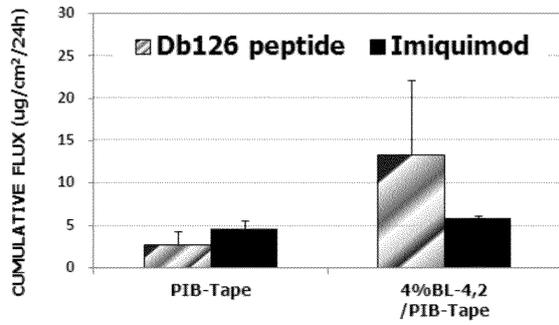
【 5 】



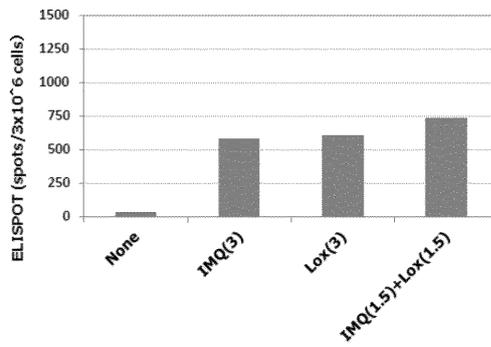
【 7 】



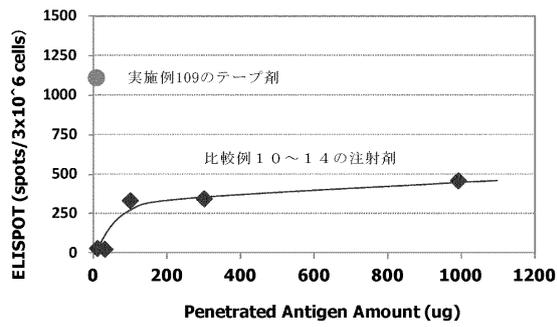
【 6 】



【 8 】



【 9 】



【配列表】

0006512568000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 大久保 勝之
大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 日東電工株式会社内
- (72)発明者 前田 佳己
大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 日東電工株式会社内
- (72)発明者 岡崎 有道
大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 日東電工株式会社内
- (72)発明者 浅利 大介
大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 日東電工株式会社内
- (72)発明者 穴戸 卓矢
大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 日東電工株式会社内
- (72)発明者 堀 光彦
大阪府茨木市下穂積1丁目1番2号 日東電工株式会社内
- (72)発明者 杉山 治夫
大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内

審査官 鳥居 福代

- (56)参考文献 国際公開第2009/072610(WO, A1)
特表2009-519234(JP, A)
特開2014-169279(JP, A)
特開2014-169281(JP, A)
特開2014-169278(JP, A)
国際公開第2000/006602(WO, A1)
国際公開第2003/106682(WO, A1)
特開2008-074763(JP, A)
米国特許出願公開第2008/0193487(US, A1)
Cancer Research, 2008年, Vol.68, No.10, p.3941-3949
Journal of Investigative Dermatology, 2007年, Vol.127, pp.614-621
日本薬学会第131年会要旨集4, 2011年 3月 5日, p.206 [29P-0299]

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 39/00 - 39/44

A61K 9/00 - 9/72

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)