

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2011-524375

(P2011-524375A)

(43) 公表日 平成23年9月1日 (2011.9.1)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 39/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/00 H	4 B 0 2 4
<b>A 6 1 K 39/39 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/39	4 B 0 6 4
<b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 K 31/7105 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/7105	4 C 0 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 21 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2011-513760 (P2011-513760)  
 (86) (22) 出願日 平成21年6月16日 (2009.6.16)  
 (85) 翻訳文提出日 平成23年2月10日 (2011.2.10)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2009/047537  
 (87) 国際公開番号 W02010/005735  
 (87) 国際公開日 平成22年1月14日 (2010.1.14)  
 (31) 優先権主張番号 61/061, 968  
 (32) 優先日 平成20年6月16日 (2008.6.16)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

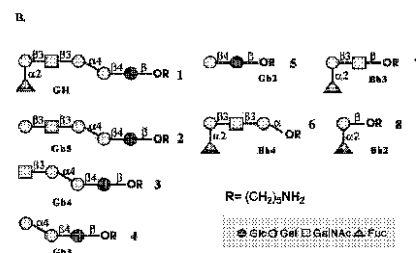
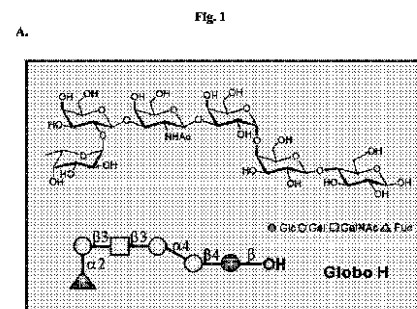
(71) 出願人 596118493  
 アカデミア シニカ  
 ACADEMIA SINICA  
 台湾, タイペイ, ナン-カン, アカデミア  
 ロード, セクション 2, 128  
 128 Sec 2, Academia  
 Road, Nankang, Taipei  
 11529 TW  
 (74) 代理人 110000671  
 八田国際特許業務法人  
 (72) 発明者 ユ, アリス, エル.  
 台湾, 115 タイペイ, ナン-カン, ア  
 カデミア ロード, セクション 2, レー  
 ン 61, アレイ 2, ナンバー 8, 1  
 エフ.

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 G l o b o H および S S E A 3 に特異的な免疫反応を誘起する組成物および癌治療におけるその使用

## (57) 【要約】

G l o b o H またはそのフラグメントを標的とする免疫反応を引き起こすための G l o b o H またはそのフラグメント (例えば、S S E A 3) およびアジュバント (例えば、- G a l C e r) を含む免疫組成物、それらの癌に対する治療。F U T 1 および F U T 2 のいずれか、または G l o b o H の生合成を包含する両方の活性を阻害することにより癌を治療する方法を開示する。



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

グリカンと、  
- ガラクトシル - セラミド ( - G a l C e r ) とからなり、前記グリ  
カンは G l o b o H またはそれらのフラグメントである、免疫組成物。

**【請求項 2】**

前記グリカンは、G l o b o H である、請求項 1 に記載の免疫組成物。

**【請求項 3】**

前記グリカンは、S S E A 3 である、請求項 1 に記載の免疫組成物。

**【請求項 4】**

前記グリカンまたはそのフラグメントは、キーホールリンペットヘモシアニン ( K L H 10  
) と結合している、請求項 1 に記載の免疫組成物。

**【請求項 5】**

S S E A 3 と、アジュバントとからなる、免疫組成物。

**【請求項 6】**

有効量の請求項 1 に記載の免疫組成物をその必要のある対象へ投与することからなる、  
癌の治療方法。

**【請求項 7】**

前記癌は、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、および肺癌からなる群から選択される、請求項 6  
に記載の癌の治療方法。

**【請求項 8】**

20

前記癌は、乳癌である、請求項 6 に記載の癌の治療方法。

**【請求項 9】**

前記グリカンは、G l o b o H であり、かつ前記免疫組成物は、G l o b o H に対  
して免疫反応を引き起こす、請求項 6 に記載の癌の治療方法。

**【請求項 10】**

前記グリカンは、S S E A 3 であり、かつ前記免疫組成物は、S S E A 3 に対して免疫  
反応を引き起こす、請求項 6 に記載の癌の治療方法。

**【請求項 11】**

有効量の請求項 5 に記載の免疫組成物をその必要のある対象へ投与することからなる、  
癌の治療方法。 30

**【請求項 12】**

前記癌は、乳癌、肺癌、肝臓癌、口腔癌、胃癌、結腸癌、鼻咽頭癌、皮膚癌、腎臓癌、  
脳腫瘍、前立腺癌、卵巣癌、子宮頸癌、および膀胱癌からなる群から選択される、請求項  
11 に記載の癌の治療方法。

**【請求項 13】**

前記癌は、乳癌である、請求項 12 に記載の癌の治療方法。

**【請求項 14】**

G l o b o H またはそのフラグメントに結合する抗体の産生を誘導するために有効量  
の G l o b o H またはそのフラグメントおよび - ガラクトシル - セラミド ( - G  
a l C e r ) を含む組成物を、ヒト以外の哺乳類に投与する、および 40  
前記抗体を単離する、G l o b o H またはそのフラグメントに特異性抗体の産生方法。

**【請求項 15】**

前記組成物は、G l o b o H を含む、請求項 14 の方法。

**【請求項 16】**

前記組成物は、S S E A 3 を含む、請求項 14 の方法。

**【請求項 17】**

2 - フコシルトランスフェラーゼ 1 ( F U T 1 ) または 2 - フコシルトランスフェラ  
ーゼ 2 ( F U T 2 ) の活性を阻害する第一因子を有効量その必要のある対象へ投与する  
ことからなり、

前記第一因子は、F U T 1 または F U T 2 と、その基質または F U T 1 もしくは F U T 50

2 の発現を抑制する干渉 RNA と、の間の相互作用を阻害する抗体である、癌の治療方法。

【請求項 18】

前記第一因子は、低分子干渉 RNA ( siRNA ) である、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記 siRNA は、 siFUT1 または siFUT2 である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記第一因子は FUT1 の活性を阻害し、FUT2 の活性を阻害する第二因子を有効量対象へ投与し、前記第二因子は、FUT2 とその基質または FUT2 の発現を抑制する干渉 RNA との間の相互作用を阻害する抗体である、請求項 17 の癌の治療方法。

10

【請求項 21】

前記第一因子および第二因子は、 siRNA である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記第一因子および第二因子は、 siFUT1 または siFUT2 である、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記癌は、乳癌である、請求項 17 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

20

【0001】

関連出願

本出願は、その内容全体を参照としてここに組み入れる、2008年6月16日出願の米国仮出願第 61 / 061、968 号について優先権を主張する。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

Glob H は、多様な上皮癌中で広範に発現する癌抗原である。これは、癌免疫療法における標的としての役割を果たし得ると提案されてきた。ワクチンが Glob H に対する抗体反応を引き起こすために開発されてきた一方で、それらの抗癌効果は Glob H の低い抗原性のために不十分である。したがって、Glob H を標的とする高レベルの免疫反応を引き起こし得る新規なワクチンが必要とされている。

30

【発明の概要】

【0003】

本発明は、(1) SSEA3、すなわち Glob H の直接前駆体、が乳癌幹細胞中に高レベルで発現し、それゆえ乳癌治療の適当な標的として機能し得る、および(2) - ガラクトシル - セラミド ( - GalCer ) は、抗 Glob H および抗 SSEA3 抗体の生産を促進する効果的なアジュバントである、という予期せぬ発見に基づく。

【0004】

したがって、本発明の一態様は、Glob H またはそのフラグメント (例えば、SSEA3) およびアジュバント (例えば、 - GalCer ) を含む免疫組成物によって特徴付けられる。Glob H またはそのフラグメントは、キーホールリンペットヘモシアニン (KLH) と結合し得る。患者 (例えばヒト) に投与されるとき、この免疫組成物は、Glob H またはそのフラグメントを標的とする免疫反応 (例えば抗体生産) を引き起こすため、癌 (例えば、乳癌、前立腺癌、卵巣癌および肺癌) 治療に効果的である。

40

【0005】

本発明の他の態様は、非ヒト哺乳類 (例えば、マウス、ウサギ、ヤギ、ヒツジまたはウマ) に上記免疫組成物を投与し、Glob H またはそのフラグメントに結合する哺乳類の抗体から単離することにより、Glob H またはそのフラグメントに特異的な抗

50

体を生産する方法に関する。

#### 【0006】

他の態様では、本発明は2 - フコシルトランスフェラーゼ1 (FUT1) または2 - フコシルトランスフェラーゼ2 (FUT2) の活性を抑制する第一剤 (first agent) で癌を治療する方法に特徴づけられる。FUT1 および FUT2 双方は Globo H 生合成に關与する。本薬剤は、FUT1 / IFUT2 および、その基質または、FUT1 もしくは FUT2 の発現を抑制する干渉RNA (例えば、siFUT1 または siFUT2) の間の相互作用を遮断する抗体であり得る。選択的に、FUT1 を標的とする第一剤は、FUT2 の活性を阻害する第二剤と組み合わせることができる。一例として、第一剤は siFUT1 であり第二剤は siFUT2 である。

10

#### 【0007】

また、本発明の範囲には、癌治療および、癌の治療のための薬剤の製造における免疫組成物または第一および第二剤の使用も含まれる。

#### 【0008】

本発明の一以上の実施形態の詳細は、以下に説明する。本発明の他の特徴または有利な点は、以下の図面、いくつかの実施例の詳細な説明、および添付の請求の範囲から明らかになるであろう。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0009】

始めに図面を説明する。

20

【図1】図1は、Globo H (GH) 中の第六糖類エピトープおよびこのエピトープのフラグメントの構造を示す概略図である。パネルA：第六糖類エピトープの構造。パネルB：第六糖類エピトープおよびその7フラグメントの構造。

【図2】図2は、KLH結合Globo H単独で免疫性を与えたマウスおよび - GalCerを伴うKLH結合Globo Hで免疫性を与えたマウス中の抗Globo H および抗SSEA3抗体レベルを示すチャートである。

【図3】図3は、乳癌細胞中のFUT1およびFUT2発現におけるsiFUT1およびsiFUT2の影響を示す概略図である。パネルA：MB157細胞中のsiFUT1によるFUT1発現の抑制。パネルB：それぞれ、T-47D細胞中のsiFUT1およびsiFUT2によるFUT1およびFUT2抑制。

30

【図4】図4は、乳癌異種移植片の成長阻害における、siFUT1およびsiFUT2の影響を示す概略図である。パネルa：siFUT1およびsiFUT2が乳房の腫瘍の成長を阻害することを示すチャート。パネルb：siFUT1およびsiFUT2が腫瘍の重量を減少させることを示すチャート。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0010】

発明の詳細な説明

我々はGlobo Hおよびその直接前駆体SSEA3双方が癌治療における標的として機能し得ることを発見した。

#### 【0011】

40

したがって、本発明の一実施形態は、Globo Hまたはそのフラグメント (例えば、SSEA3、Gb5としても知られている) いずれかおよびアジュバントを含む免疫組成物の有効量を、必要とする患者に投与することによる癌を治療する方法である。標的の癌の種類としては、これらに限定はされないが、乳癌 (ステージ1~4を含む)、肺癌 (例えば、小細胞肺癌)、肝癌 (例えば、肝細胞癌および胆管癌)、口腔癌、胃癌 (T1~T4を含む)、結腸癌、鼻咽頭癌、皮膚癌、腎癌、脳腫瘍 (例えば、星状細胞腫、グリア芽腫および髄膜腫)、前立腺癌、卵巣癌、子宮頸癌、膀胱癌、および子宮内膜、横紋筋肉腫、骨肉腫、平滑筋肉腫、および消化管間質腫瘍が挙げられる。ここで使用される「治療」の語は、癌、癌の症状または癌傾向の体質を治療 (cure)、治癒、緩和、軽減、変化、治療 (remedy)、改善 (ameliorate)、改善 (improve) ま

50

たは影響する目的で、一以上の活性薬剤を含む組成物の、癌、癌の症状または癌傾向の体質を有する患者への適用または投与を参照する。ここで使用する「有効量」は、単独でまたは一以上の他の活性薬剤と組み合わせて、治療効果を患者に与えるのに必要とされる各活性薬剤の量を参照する。有効量は、当業者に理解されるように、投与経路、剤形の使用、および他の活性薬剤を共に使用することによって変化する。

#### 【0012】

上記の方法で使用される免疫組成物は、G l o b o Hまたはそのフラグメントおよびアジュバントである、グリカン（すなわち、糖部分を含む分子）を含み得る。G l o b o Hは、図1、パネルAに示す第六糖類エピトープおよび選択的に非糖部分を含むグリカンである。そのフラグメントは、第六糖類エピトープのフラグメント、適用可能であれば、非糖部分を含むグリカンである。第六糖類エピトープのフラグメントは、図1、パネルBに示される。これらのオリゴ糖は、通常の方法によって調製できる。例えば、H u a n g e t a l、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 103:15-20(2006)参照。もし所望であれば、それらは非糖部分と結合し得る。

10

#### 【0013】

上記のグリカンはいずれも、K L H等のタンパク質担体に結合し得る。

#### 【0014】

したがってそれらは、アジュバントおよび従来の方通して免疫組成物（例えば、ワクチン）を形成するために、選択的に製薬上許容し得る担体（例えば、リン酸緩衝生理食塩水または重炭酸塩溶液）と混合することができる。例えば、米国特許第4、601、903号、第4、599、231号、第4、599、230号および第4、596、792号参照。組成物は注射剤、液状の溶液、またはエマルジョンとして調製でき、担体は標準的な薬務の基礎に基づくと共に、投与の形態および経路の基礎に基づいて選択される。適当な医薬担体および希釈剤ならびにそれらの使用のための医薬上の必要品は、R e m i n g t o n ' s P h a r m a c e u t i c a l S c i e n c e sに記載されている。免疫組成物は、好ましくはアジュバントとして - G a l C e rを含む。アジュバントの他の例としては、これらに限定はされないが、コレラ毒素、大腸菌易熱性エンテロトキシン（L T）、リポソーム、免疫刺激複合体（I S C O M）、または免疫活性化配列オリゴデオキシヌクレオチド（I S S - O D N）が挙げられる。組成物はi n v i v oでの送達を促進するポリマーをも含んでもよい。A u d r a n R . e t a l . V a c c i n e 21:1250-5、2003およびD e n i s - M i z e e t a l . C e l l I m m u n o l、225:12-20、2003参照。必要であれば、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはp H緩衝剤等の補助的な物質を、G l o b o Hまたはそのフラグメント中の糖部分に対する免疫反応を引き起こす組成物の能力を向上するために、さらに含むことができる。

20

30

#### 【0015】

ここで説明する免疫組成物は、非経口投与（例えば、静脈注射、皮下注射または筋肉注射）することができる。そうでなければ、座薬および経口製剤を含む他の投与形態が好ましい。座薬には、例えば、ポリアルキレン（ポリa l k a l e n e）グリコールまたはトリグリセライド等の結合剤および担体が含まれてもよい。経口製剤は通常使用される初期物（i n c i p i e n t s）、例えば、医薬品グレードのサッカリン、セルロース、炭酸マグネシウム等を含んでもよい。これらの組成物は、溶液、懸濁液、錠剤、丸薬、カプセル、徐放性製剤または粉末の形態を取り、ここに記載する免疫組成物10~95%を含む。

40

#### 【0016】

免疫組成物は、投与処方に適合する方法で、治療として有効な、保護し得る、かつ免疫原性の量で投与される。投与量は、例えば、抗体を生産しかつ必要であれば細胞性免疫反応を生じるための、個々の免疫系の許容量を含む、治療しようとする患者に依存する。投与が求められる活性成分の正確な量は、施術者の判断に委ねられる。しかしながら、適当な投与量範囲は、当業者によって容易に決定され得る。初期投与および追加抗原投与量の

50

ための適当な投与計画も変化し得るが、しかし、その後の投与を伴う初期投与を含み得る。ワクチンの投与量は、投与経路に依存し、かつ、ホストの大きさによって変化する。

#### 【0017】

本発明の免疫組成物は、癌治療および診断の両方に使用できる、抗体生産のための動物中で、抗体を生産するために使用することができる。動物（例えば、マウス、ウサギ、ヤギ、ヒツジまたはウマ）中で、モノクローナルおよびポリクローナル抗体およびそのフラグメントを作る方法は、この技術分野において周知である。例えば、Harlow and Lane、(1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*、Cold Spring Harbor Laboratory、New York 参照。「抗体」の語は、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv（一本鎖抗体）および dAb（ドメイン抗体；Ward、et al. (1989) *Nature*、341、544）等の、フラグメントと共に、無傷の免疫グロブリン分子を含む。

10

#### 【0018】

本発明の他の実施形態は、Globo H 生合成に両方が影響する FUT1 および / または FUT2 の活性を阻害することによる、癌を治療する方法である。FUT1 および FUT2 は、オリゴ糖基質の還元末端に 1、2 結合を介してフコースユニットを転移する、周知の 2 - フコシルトランスフェラーゼである。例えば、NCBI Gene ID: 2523 および NCBI Gene ID: 2524 参照。

#### 【0019】

一つの例では、上記記載した方法は、FUT1 / FUT2 およびこれらの基質間に相互作用を及ぼす抗体、換言すると、FUT1 / FUT2 またはこれらの基質に特異的な抗体を有効量その必要のある対象へ投与することにより機能するものである。

20

#### 【0020】

一般的に、抗体、FUT1 / FUT2、それらのフラグメント、またはそれらの基質を産生するということは、キャリアタンパク（例えば、KLH）に結合されうることであり、もし必要であれば、アジュバントを混合する、および宿主動物に注入されう。動物で産生される抗体は、クロマトグラフィーなどの便利な方法で精製されう。

一般的に使用される宿主動物としては、ウサギ、マウス、モルモット、およびラットを含む。免疫学的応答を増大させる種々のアジュバントは、宿主種に依存し、フロインドアジュバント（不完全および完全を含む）、水酸化アルミニウム、CpG、リゾレシチンなどの天然ゲルや、ブルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、オイルエマルジョン、キーホールリンペットヘモシアニン、およびジニトロフェノールなどの界面活性成分を含む。有益な人のアジュバントは、BCG（BCG ワクチン）およびコリネバクテリウム パルヴム（*Corynebacterium parvum*）を含む。

30

#### 【0021】

ポリクローナル抗体や、抗体分子の不均一集合は、免疫性を与えられた目的物の血清内に存在する。モノクローナル抗体や、FUT1 / FUT2 またはこれらの基質への抗体の不均一集合は、一般的なハイブリドーマ技術（例えば、Kohler et al. (1975) *Nature* 256, 495; Kohler et al. (1976) *Eur. J. Immunol.* 6, 511; Kohler et al. (1976) *Eur. J. Immunol.* 6, 292; および Hammerling et al. (1981) モノクローナル抗体および T 細胞ハイブリドーマ、Elsevier、N.Y. 参照）を用いて調製される。

40

#### 【0022】

特に、モノクローナル抗体は、Kohler et al. (1975) *Nature* 256, 495、および米国特許 4376110 号；ヒト B 細胞ハイブリドーマ技術（Kosbor et al. (1983) *Immunol Today* 4, 72; Cole et al. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80, 2026、および EBV - ハイブリドーマ技術（Cole et al. (1983) *Monoclonal Antibodies and Cancer Therap*

50

y, Alan R. Liss, Inc., pp. 77 - 96 などに記載されているように、培養液中で連続細胞株によって抗体分子の産出を提供するいかなる技術を用いてもよい。

#### 【0023】

かかる抗体は、IgG、IgM、IgE、IgA、IgD、およびそれらのいずれかのサブクラスを含む免疫グロブリンクラスであってもよい。本発明のモノクローナル抗体はハイブリドーマ法により調製するが、インビトロでもインビボでもよい。インビボで高い力価のモノクローナル抗体を調製することができると、それは、特に有益な調製方法になりうる。さらに、キメラ抗体の産生を開発する技術は、有益になりうる。例えば、Morrisson et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. US A 81, 6851; Neuberger et al. (1984) Nature 312, 604; および Takeda et al. (1984) Nature 314: 452 を参照。キメラ抗体は、異なる動物種から由来の異なる部分を備えた分子であり、例えば、マウスのモノクローナル抗体およびヒト免疫グロブリンの定常部から由来の種々の領域を有する。またあるいは、一本鎖抗体の産生について記載された技術（米国特許 4946778 号および 4704692 号）を、一本鎖 Fv 抗体のファージライブラリーに提供しても良い。一本鎖抗体は、アミノ酸架橋を介して Fv 領域の重鎖および L 鎖フラグメントに結合することにより形成される。さらに、抗体フラグメントは公知の方法で調製されうる。例えば、抗体分子のペプシン消化を促しうる F(ab')<sub>2</sub> フラグメント、および F(ab')<sub>2</sub> フラグメントのジスルフィド架橋を減少させうる Fab フラグメントなどを含むが、これらに限定されるわけではない。抗体は公知の技術の方法によりヒト化されうる。例えば、所望の特異性を結合したモノクローナル抗体は、ヒト化されたものが市販されている（Scotgene, Scotland; および Oxford Molecular, Palo Alto, Calif）。完全にヒト化抗体、形質転換動物に発現された抗体群は、本発明の特徴である。例えば、Green et al. (1994) Nature Genetics 7, 13; および米国特許 5545806 号および米国特許 5569825 号を参照。

10

20

#### 【0024】

その他の例としては、上記記載した方法は、RNA 干渉を介し、Globo H の発現量を低減させることにより FUT1 および / または FUT2 の発現を阻害する 1 つ以上にダブルストランド RNA (dsRNA) を有効量その必要のある対象へ投与することにより機能するものである。RNA 干渉 (RNAi) は、メッセンジャー RNA の相同性配列に特異的な分解を管理する方法である。哺乳類細胞において、RNAi は、宿主インタフェロン応答を活性化することなしに、低分子干渉 RNA (siRNA) の 21 - ヌクレオチド 2 本鎖によりきっかけとなりうる。

30

#### 【0025】

dsRNA は、公知の技術で合成されうる。Caruthers et al., 1992, Methods in Enzymology 211, 3 - 19; Wincott et al., 1995, Nucleic Acids Res. 23, 2677 - 2684; Wincott et al., 1997, Methods Mol Biol. 74, 59; Brennan et al., 1998, Biotechnol Bioeng., 61, 33 - 45, および Brennan, 米国特許 6001311 号参照。発現ベクターから転写され、通常の方法を用いて単離されうる。

40

#### 【0026】

上記の dsRNA またはベクターは、例えば、Akhtar et al., 1992, Trends Cell Bio. 2, 139 に記載の方法により癌細胞に運ばれうる。例えば、リポソーム、ハイドロゲル、シクロデキストリン、生分解性ナノカプセル、または生体接着マイクロスフェアを用いて細胞に取り込まれる。あるいは、dsRNA またはベクターは、直接注入や点滴ポンプを用いて直接輸送されうる。他のアプローチは、種々のトランスポートおよびキャリアシステム、例えば会合および生分解性ポリマーを用

50

いる手法を採用することを含む。

【0027】

例えば、上記 dsRNA は、CGCGGACTTGAGAGATCCTTT に相補的な第一ストランドまたはその相補体（例えば、下記実施例 2 に記載の siFUT1）を含む。その他の例としては、当該 dsRNA は、CTATGTC CATGTC ATGCCA A に相補的な第一ストランドまたはその相補体（例えば、下記実施例 2 に記載の siFUT2）を含む。

【0028】

輸送を容易にするために、上記の dsRNA、またはそれを発現する DNA プラスミドをシャペロン剤とコンジュゲートさせてもよい。ここで用いる「コンジュゲート」とは、関連のある 2 つの構成要素を意味し、好ましくは、2 つの構成要素間の関連性の治療効果の実現される十分な親和性をいう。コンジュゲートとは、共有結合または非共有結合であってもよく、一つの構成要素が他の構成要素の上や内に取り込まれた形態や、第三の構成要素（例えば、ミセル）上や内にどちらかの構成要素か両構成要素が取り込まれてもよいといった他の形態も含む概念である。

10

【0029】

前記シャペロン剤は、タンパク質（例えば、ヒト血清アルブミン、低密度リボプロテイン、または、グロブリン）、糖質（例えば、デキストラン、プルラン、キチン、キトサン、イヌリン、シクロデキストリン、またはヒアルロン酸）、または脂質のように自然と作用する物質であってもよい。また、シャペロン剤は、ポリアミノ酸高分子（例えば、ポリリジン、ポリ L - アスパラギン酸、ポリ L - グルタミン酸、スチレン - マレイン酸無水物共重合体、ポリ（L - ラクチド - co - グリコイル）共重合体、ジビニルエーテル - マレイン酸無水物共重合体、N - （2 - ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド共重合体、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリウレタン、ポリ（2 - エチルアクリル酸）、N - イソプロピルアクリルアミド重合体、およびポリフォスファジン）などの組み換えまたは合成分子であってもよい。あるいは、シャペロン剤は、ミセル、リボソーム、ナノ粒子、またはマイクロスフェアであってもよく、これらに dsRNA または DNA プラスミドが包摂されうる。

20

【0030】

一事例として、シャペロン剤は、1 以上の融合誘導因子、凝集剤、または標的剤の付着する基質として作用する。

30

【0031】

融合誘導因子は、局所的 pH に応答する。例えば、エンドソーム内の pH に遭い、周囲の環境（浸透圧の変化、つまりエンドソーム膜の浸透圧を崩壊させたり増加させたりする）に物理的变化を起こし、それにより dsRNA または DNA プラスミドが宿主細胞のサイトプラズムにリリースすることを促進させる。好ましい融合誘導因子は電荷を変化するものであり、例えば生理学的範囲（例えば、pH 4.5 - 6.5）より低い pH でプロトン化されるものである。

【0032】

融合誘導因子は、特定の pH 範囲にさらされると電荷変化能を示すアミノ基（例えばプロトン化）を有する分子であってもよい。これらの融合誘導因子は、ポリアミノ鎖（例えば、ポリエチレンジイミン）および膜崩壊剤（例えば、メルリチン（melittin））を含むポリマーを包含する。他の例としては、ポリヒスチジン、ポリイミダゾール、ポリピリジン、ポリプロピレンジイミン、メルリチン（melittin）、およびポリアセタール基質（例えば、カチオン性ポリアセタール）。

40

【0033】

凝集剤は、dsRNA または DNA プラスミドと何らかの相互作用（例えば、引きつけたり、包含したり、または結合したり）する、そして dsRNA または DNA プラスミドを凝集させ（例えば、dsRNA / プラスミドの大きさを減少させる）、その結果 dsRNA / プラスミドの分解を抑制する。好ましくは、凝集剤は、例えば、イオン性相互作用

50



を介して dsRNA または DNA プラスミドと相互作用する部分（例えば、荷電性部分）を含む。前記凝集剤の例は、ポリリジン、スペルミン、スペルミジン、ポリアミンまたはそれらの 4 級塩、擬ペプチド - ポリアミン、ペプチド模倣薬ポリアミン、デンドリマーポリアミン、アルギニン、アミジン、プロタミン、カチオン性脂質、カチオン性ポルフィリン、およびアルファヘリカルペプチドを含む。

#### 【0034】

更なる苦勞を必要とすることなく、当業者であれば上記の詳細な説明の基づき、本発明の最大限の範囲を用いることができる。本発明の好ましい実施態様を記載するものであり、説明のために示したものである。本発明を開示されている形態のみに限定するものではない。本明細書で引用している文献のすべての内容は、本願に包含されている。

10

#### 【実施例】

#### 【0035】

実施例 1：KLH - コンジュゲート Globo H および - GalCer による Globo H および SSEA3 に特異的抗体の誘導。

#### 【0036】

Globo H - KLH は、オプティマーマーマシューティカルズから購入した。6 週齢雌 BALB / b マウス (BioL ASCO) を、それぞれの群を二匹ずつの 3 群に対して、PBS ( “ コントロールマウス ” )、 $0.6 \mu\text{g}$  KLH - Globo H ( “ Globo H マウス ” )、および  $0.6 \mu\text{g}$  KLH - Globo H と  $2 \mu\text{g}$  - GalCer を混合したもの ( “ Globo H - GalCer マウス ” ) を、それぞれの群に 1 週間に 1 回 3 週間皮下注射した。最後の皮下注射から 10 日後、それぞれの群のマウスから血清を採取し、「Huang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103: 15 - 20 (2006)」に記載の方法で、Globo H および SSEA3 に特異的な抗体を検出した。つまり、血清を 3 % の BSA / PBS バッファーで 1 : 25 の割合で希釈し、それぞれの希釈した血清 50 ml を、加湿チャンバー内で 1 時間ゆっくりスライドでインキュベートさせ、Globo H および SSEA3 に加えた。前記スライドを 0.05 % PBS / Tween 20 (PBST) 溶液で 3 回洗浄し、次いで同じチャンバー内において Cy5 - conjugated goat 抗マウス IgG 抗体 (1 : 200) 100  $\mu\text{l}$  でインキュベートさせた。自然乾燥の後、前記スライドをそれぞれ 3 回ずつ、PBST および水で洗浄し、そしてマイクロアレイスキャナー (Gen Pix 4000B; Molecular Devices) で蛍光強度を測定した。その結果は、ジーンピクスプロソフトウェアで解析した。

20

30

#### 【0037】

Globo H マウスの場合、抗 - Globo H IgG 抗体は、低レベルだけ検出され、抗 - SSEA IgG 抗体は、検出できなかった (図 2 を参照)。それとは異なり、Globo H - GalCer マウスの場合、高レベルの抗 - Globo H 及び抗 - SSEA3 IgG 抗体を示した (図 2 参照)。- GalCer と Globo H - KLH とを混合すると、抗 - Globo H および抗 - SSEA3 抗体も両方を誘導する効果的なワクチンであることがこれらの結果から確認された。

#### 【0038】

実施例 2：Globo H レベルを低減させる RNA 干渉を用いた FUT1 および FUT2 の阻害。

40

#### 【0039】

3 つの乳癌細胞株である、MCF - 7、MB157、および T - 47D における FUT1 および FUT2 mRNA の発現量は、以下の定量 RT - PCR によって決定される。全 RNA を、これらの乳癌細胞株から抽出し、かつ cDNA を、テンプレートとしての RNA やプライマーとしてのオリゴ (dT) を用いて逆転写から調製した。50 ナノグラムの cDNA は、以下のプライマー：L - fut1 : CCTGCCAGACTCTGAGTTCC および AGGCTTAGCCAAATGTCCAGA と、さらに、L - fut2 : GGGAGTTACCGGTGCAGATA および R - fut2 : GTCCTCAGTG

50

CCTTTGATGTTを用いてRT-PCR反応を受けた。

【0040】

当該RT-PCR反応は、次の条件で行った。：50 2.5分、95 10分、その後95 10分および60 1分を40サイクル、ABIプリズム7000配列検出システム（ABI Prism 7000 Sequence Detection System）を使用、実験結果の解析はABI プリズム 7000 SDS（ABI Prism 7000 SDS software（Applied Biosystems））を使用して、それぞれの細胞株におけるFUT1およびFUT2のmRNA量に対するCt値、すなわち閾値に達した時のサイクル数（threshold cycle number）を算出した。前記Ct値は、同一細胞株におけるHPRT1のmRNA発現量に対して標準化してCt値を算出した。MCF-7におけるFUT1のCt値は、同一細胞株内のFUT1またはFUT2のいずれかのCt値を標準化するために用いられた。mRNA発現量の増減の変化（fold-change）を、以下の式を元に算出した。

10

【0041】

【数1】

$$2^{-[\Delta Ct(\text{目標遺伝子}) - \Delta Ct(\text{MCF-7におけるFUT1})]}$$

【0042】

HPRT1およびGADHのmRNA発現量は、内部コントロールとして使用した。

20

【0043】

上記3つの乳癌細胞株のうち、FUT1のmRNA発現量における有意差が見られた。一方、FUT2 mRNAは、MCF-7およびMB157細胞でかろうじて検出することができたが、T47D細胞中におけるFUT2 mRNAの発現量は、他の2つの細胞株と比較して6000 fold以上の発現差がみられた。

【0044】

FUT1またはFUT2の発現量は、以下のRNA干渉を介して減少した。siFUT1（CGCGGACTTGAGAGATCCTTTに相補的な配列を含む）およびsiFUT2（containing CTA TGTCCATGTCATGCCAAに相補的な配列を含む）をコードするヌクレオチド配列をVSV-G-偽型レンチウイルスベクターに複製し、かつパッケージングプラスミド pMD.GおよびpCMV R8.91とともに293T cellsを取り込んだ。トランスフェクションの48時間後および72時間後に、レンチウイルスベクター粒子を、それ故採取し、遠心分離機（25、000 rpm、90分）で濃縮した。siFUT1またはsiFUT2の発現能があるこれらのウイルス粒子は、8 μg/mLポリブレン（シグマ-アルドリッチ社製）の存在下で、ThT-47DまたはMB 157（6-ウェルプレート中、 $2 \times 10^5$  cells/well固定）とインキュベートした。96時間後この細胞を採取し、FUT1およびFUT2の発現量を上記の定量RT-PCRで測定した。図3に示すように、siFUT1は、MB157細胞のFUT1 mRNAの発現量を減少させることに成功した（パネルA参照）。同様に、siFUT1およびsiFUT2は各々、T-47DにおけるFUT1およびFUT2 mRNAの発現量を低減させている（パネルB参照）。

30

40

【0045】

MB157およびT-47D細胞におけるGlobo Hの発現量を、以下のAlexaFluor488-VK-9抗体を用いて、フローサイトメトリにより測定した。それぞれ $1 \times 10^5$ 細胞を含むアリコートで、氷上において抗-GloboH-Alexa488（Vk9；Chang et al、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105：11667-11672（2008）参照）でまず1時間インキュベートし、次いで、氷上においてビオチン化された-UEA1（Vector Laboratories）で1時間インキュベートし、そして最後に氷上においてFITC-コンジュゲートストレプトアビジン（Jackson ImmunoResearch）で1時間イン

50

キュベートした。この細胞を、FACS Cantoflowサイトメーターによりフローサイトメトリーを行い、実験データをセルクエストプログラム(BD Biosciences)で解析した。この研究による結果から、MB157細胞におけるRNA干渉を介するFUT1の発現の抑制が、Globo Hの発現量の減少をもたらし、かつFUT2の発現の抑制が、T-47D細胞におけるGlobo Hの発現量の減少をもたらすことが確認された。

#### 【0046】

実施例3: siFUT1 および siFUT2の抗癌作用。

#### 【0047】

癌細胞の増殖を阻害

乳癌細胞MB157およびT-47Dを、96穴プレート(Corning)1ウェルあたり $1 \times 10^4$ 細胞で播種した。これらを、siFUT1またはsiFUT2を発現した上記実施例2のウイルス粒子と混合した、または混合しなかったものを調製し、300gを5分間スピニンフェクションに遠心分離した。24時間後、アラマブルー(alamar blue (AbD Serotec))は、細胞に添加し、最終濃度を1:10に希釈し、37℃、5%CO<sub>2</sub>、3時間で培養した。その後、SpectraMax M2リーダーを用いて、544nmおよび590nmでの吸収を測定した。細胞を新しい培地で同じ条件下培養し、当初の培地に播種してから48時間、72、および96時間後、再度544nmおよび590nmでの吸収を測定した。前記ウイルス粒子で感染されたMB157およびT-47D細胞は、ウイルスに感染しなかったものと比較して成長速度が減少したことが測定結果から確認された。これらのデータは、siRNAによりFUT1またはFUT2の発現を阻害されることから癌細胞の成長を抑制することが確認された。

10

20

#### 【0048】

mammosphere形態の阻害

siFUT1またはsiFUT2を発現させるウイルス粒子で感染させたMB157およびT-47D細胞を、0.4%BSA、20ng/ml EGF、20ng/ml bFGF、5ug/mlインスリン、1μM hydrocortisone、4μg/mlヘパリン、1x B27サプリメント、および1%メチルセルロース(シグマ-アルドリッチ社製)を添加したDMEM/F12培地にけん濁させ、1000cells/mlに調製した。このけん濁した細胞溶液をウルトラローアタッチメントプレート(Costar)上にまき、mammosphere形態に許容な好ましい条件下で培養した。当初のmammosphereは、週が進むにつれて培養培地であった。次のmammosphere培養に対しては、当初のmammosphereを採取し、トリプシン(Gibco)で分散し、球状のけん濁された上記の1000cells/mlの培養培地であった。けん濁した細胞を上記の方法に従って、第二のmammosphereの形態が許容する条件で培養した。siFUT1を発現するMB157およびT-47D細胞により形成されたmammosphereの数は、感染していないmammosphereの数の50%程度であったが、siFUT1は、癌細胞のmammosphere形態能を顕著に低減させることが確認された。siFUT2を発現するT-47D細胞により形成されたmammosphereの数は、感染していないmammosphereの数の17%程度であった。この結果から、siFUT1、siFUT2などは、顕著に癌細胞のmammosphere形態能を顕著に低減させることが確認された。

30

40

#### 【0049】

腫瘍発生の減少

6週齢balb/c nudeマウスおよびNOD/SCIDマウスに、17-β-エストラジオール(1.7mg/ml)をそれぞれのマウスの側面から皮下注射した。50%マトリゲル(BD Biosciences)0.1mlおよび50%添加培地RPMI-1640に浮遊している、(i)MB157細胞( $1 \times 10^7$ )安定発現siFUT、(ii)賦形剤コントロールMB157細胞( $1 \times 10^7$ )、(iii)T-47D細胞

50

細胞 ( $5 \times 10^6$ ) 安定発現 *siFUT1*、(*iv*) *T-47D* 細胞 ( $5 \times 10^6$ ) 安定発現 *siFUT2*、および (*v*) 賦形剤コントロール *T-47D* 細胞 ( $5 \times 10^6$ ) を 6 週齢雌 *balb/c nude* マウスの乳腺上皮周辺の脂肪帯に注入した。これらの処置をしたマウスに形成された腫瘍の大きさは、種々の異なる点で正しく長さ ( $l$ ) および幅 ( $w$ ) を測定することにより監視された。腫瘍容積は、以下の式： $V = \pi / 6 \times l \times w \times [l + w] / 2$  で計算される。動物は最終的に屠殺されて、腫瘍は摘出および秤量された。

#### 【0050】

図4のパネルaで示すように、時間経過とともに賦形剤コントロールを投与されたマウスの腫瘍は成長を続けた。マウスに *siFUT1* または *siFUT2* を発現する細胞で処理した間、腫瘍の成長は急激に減少した。これらのマウス群の腫瘍重量は、賦形剤コントロールを投与されたマウスと比較して明らかに減少した (図4 パネルbを参照)。

10

#### 【0051】

##### 細胞形態および接着能の変化

正常な *T-47D* 細胞は、四角形状であったが、*siFUT1* および *siFUT2* を発現している *T-47D* 細胞は、小さく高密度のクラスターを形成する円状の細胞であった。類似の細胞形態の変化は、*siFUT1* を発現する *MB-157* 細胞でも観測された。

#### 【0052】

細胞接着は、*RT-CES* 機器 (*Real Time Cell Electronic Sensing*、*ACEABIO*) を用いて決定した。簡単に説明すると、*ACEA's 96* マイクロティタプレートにフィブロネクチン ( $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、シグマ社製)、*type IV* コラーゲン ( $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、*BD biosciences*)、またはラミニン ( $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、シグマ社製) でコートし、*PBS* 中ですべて適切に希釈され、7 1 時間保持し、1% *BSA* で 1 時間 37 ブロックした。*MB157* および *T-47D* 細胞を、コートされた *ACEA's 96* マイクロティタプレート内に培養培地  $100 \mu\text{l}$  に対して  $2.5 \times 10^4$  播種した。細胞接着は、*RT-CES* を用いて、10分に1回1時間モニターされた。*Globo-H* セラミド ( $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  血清培地中) を、当該細胞に添加し、*siFUT1* および *siFUT2* の効果を打ち消すか否か試験された。*siFUT1* および *siFUT2* は、*siRNA* を発現していない細胞と比較すると、癌細胞がポリスチレンへの接着を低減させることが結果から確認され、*Globo-H* セラミドが *siRNA* に起因する接着阻害を低減させることも確認された。

20

30

#### 【0053】

##### 細胞遊走の阻害

*siFUT1* または *siFUT2* を発現させる細胞の遊走能は、まず以下の外傷治癒アッセイで分析する。*MB157* および *T-47D* 細胞を、60%のコンフルエンスに達するまで血清を含む培地内の12穴プレートにのせる。細胞は、上記実施例1に記載のウイルス粒子またはコントロールプラスミドで取り込まれたものを感染させた。これらの細胞は、培地2日間で100%のコンフルエンスに達した。当該細胞を一晩飢餓状態にさせて、細胞の融合単層を鋭利な  $20 \mu\text{l}$  プラスティックピペットで外傷状態にした。血清を添加した *RPMI* 培養を洗浄した後、当該細胞を *RPMI* 培養でインキュベートし、温度と *CO* 濃度をコントロールしながら、低速度撮影のマイクロスコープを用いて分析をした。細胞のフェーズコントラストイメージを、3日間4時間毎、1日2時間撮影した。細胞の遊走率は、*Metamorph 5 software* を用いて、所定時間の間細胞が移動する距離を測定した。コントロールプラスミドをトランスフェクションした細胞と比較すると、*siFUT1* が、2.81および2.13の差をつけて、*T-47D* 細胞および *MB158* 細胞の遊走を抑制することが実験結果から確認された。

40

*Globo-H* -セラミドの外因性の添加は、*siFUT1* または *siFUT2* を発現させる細胞の遊走能を減少させた。この実験結果から、*RNA* 干渉を介して *FUT1* および *FUT2* の発現の抑制から *Globo-H* の発現量の低下により、細胞の遊走能の減少を引き起こすものであることが確認された。

#### 【0054】

50

上記の結果から、s i F U T 1およびs i F U T 2は、F U T 1およびF U T 2の発現を抑制し、結果としてG l o b o Hの発現量を低減させることで、効果的に癌を治療できることを裏付けるものであると考えられる。

【 0 0 5 5 】

一実施形態

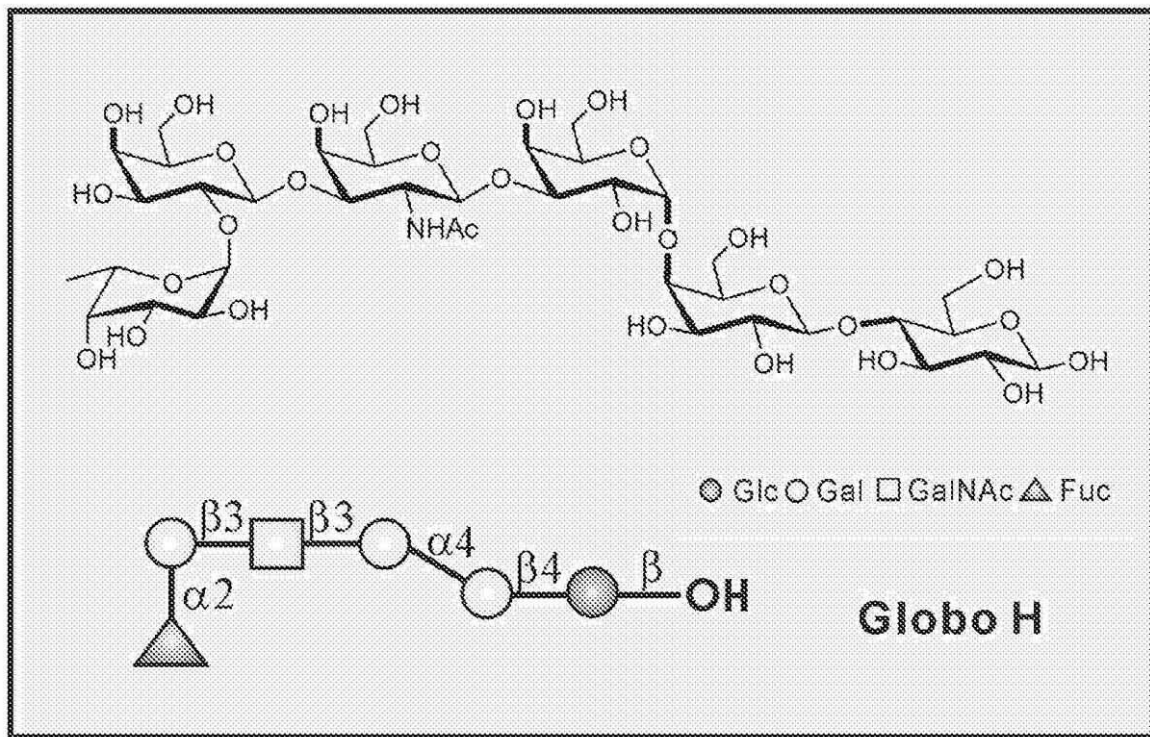
本明細書で開示された特徴の全ては、いかなるものと組み合わせをすることができる。本明細書のそれぞれの特徴は、同様の作用、目的を有する二者択一の特徴と置換することができる。したがって、本明細書に記載されていなくても、他のいかなるそれぞれの特徴は、全体の系や類似、均等の特徴の一例にすぎない。

【 0 0 5 6 】

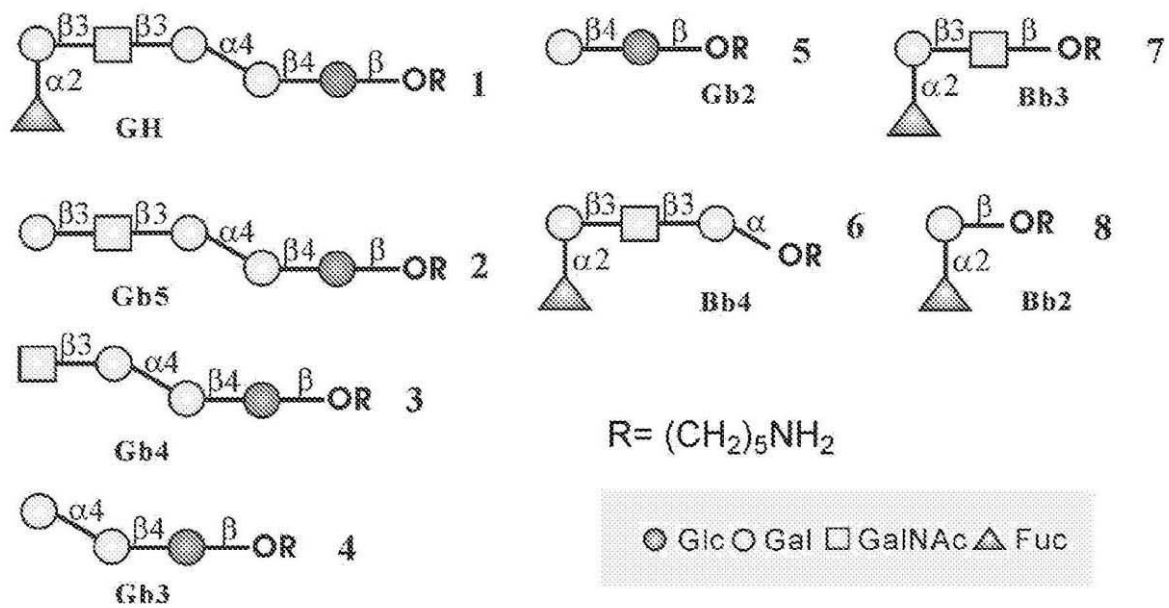
当業者であれば上記明細書の内容をみれば、本発明の意義や観点からかけ離れること無しに、本発明の本質的特徴を容易に想到できるため、本発明の種々の変化や改変してさまざまな利用や条件を本発明の範囲に採用することができる。したがって、それらの他の実施形態も本発明の権利範囲である。

【図 1】

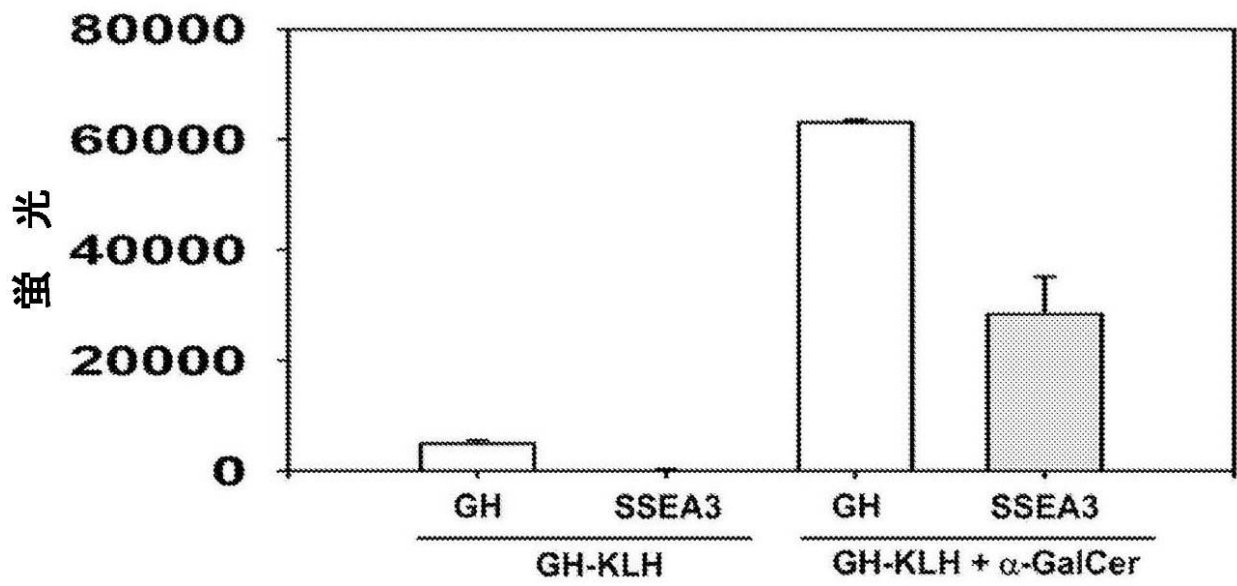
A.



B.

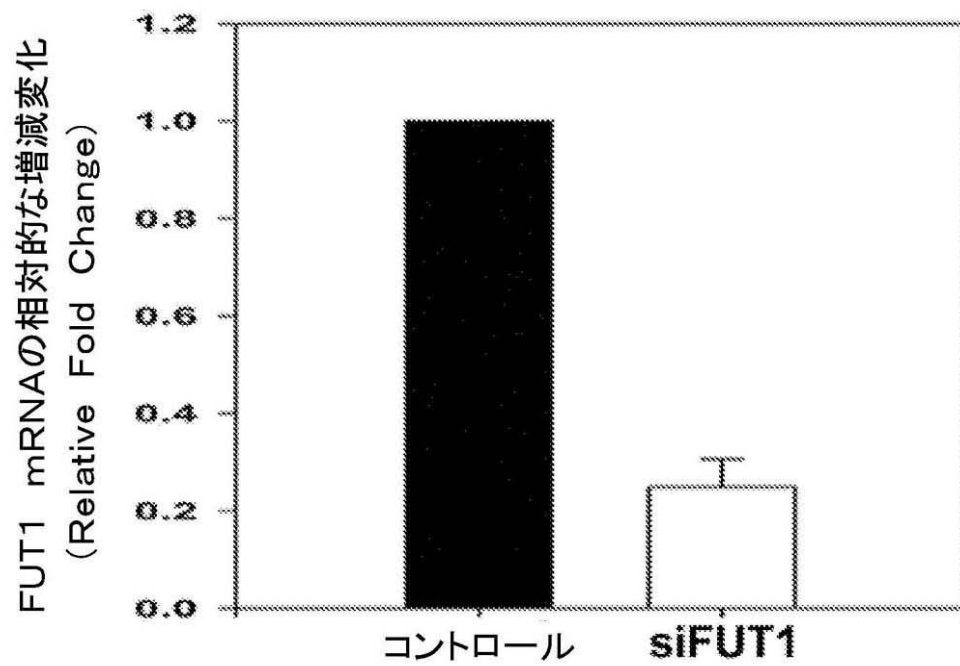


【 図 2 】

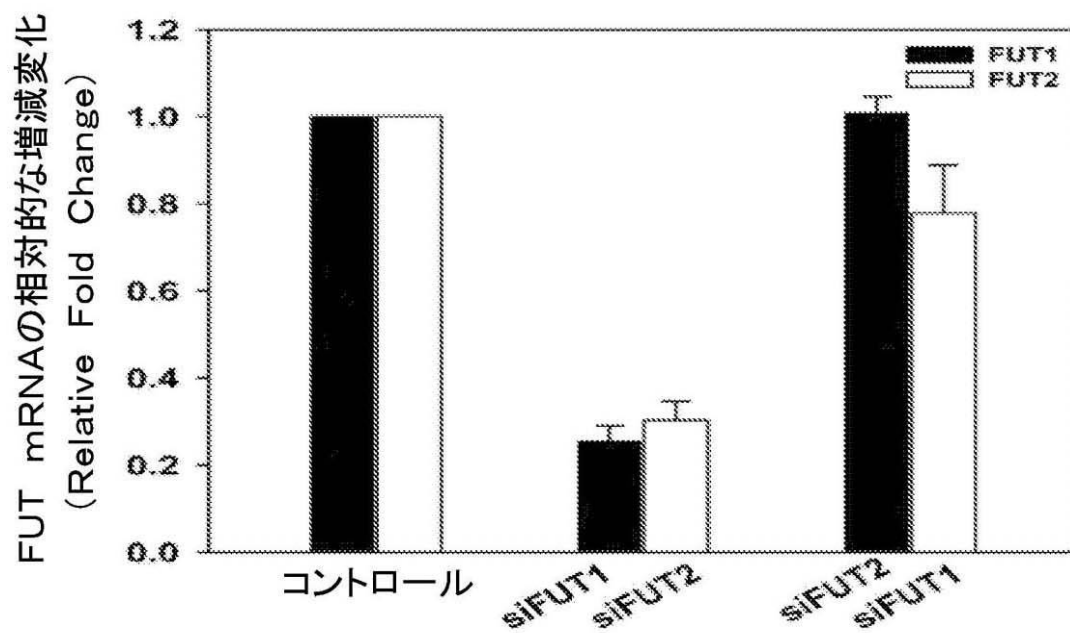


【図 3】

A.

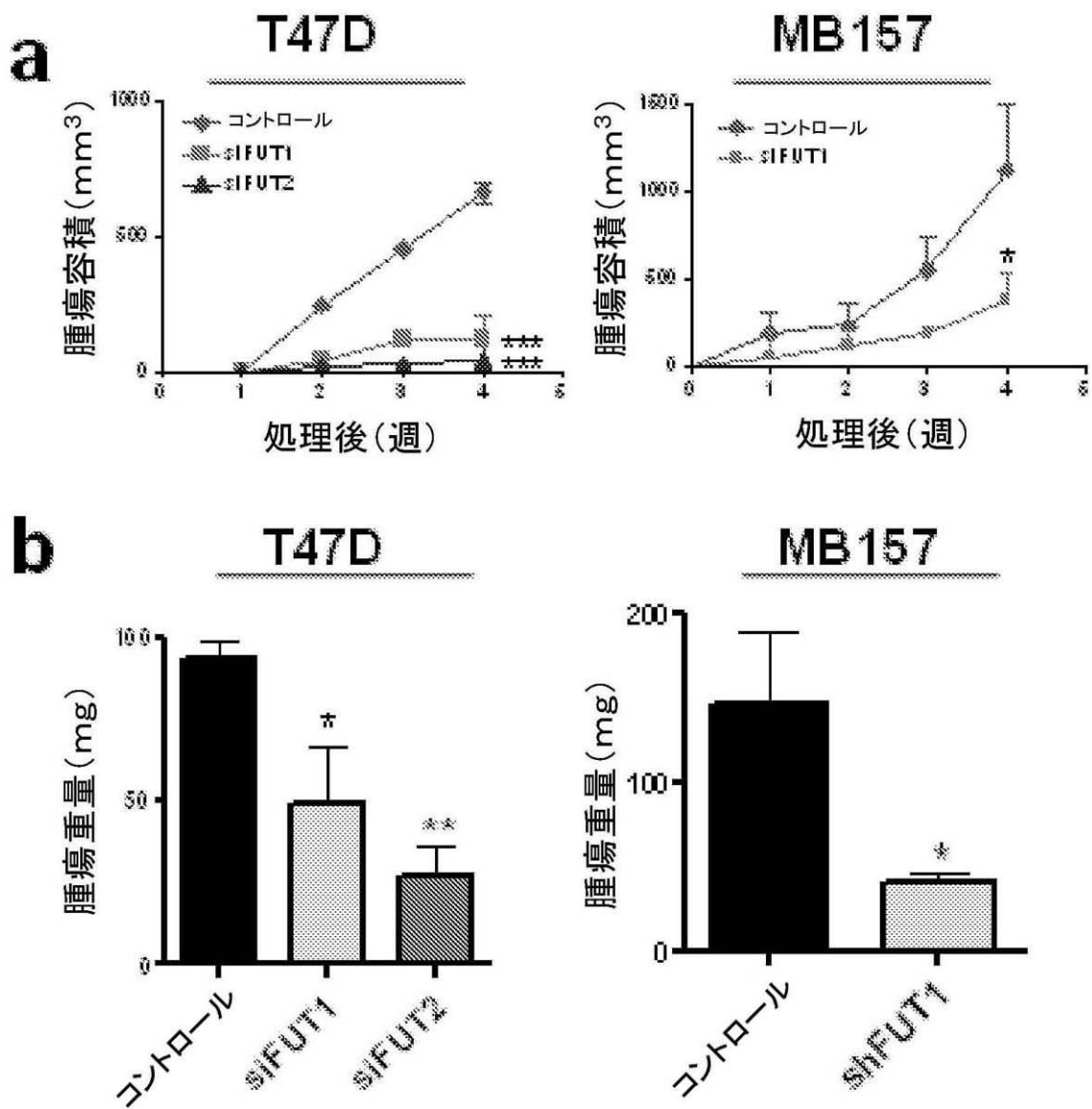


B.







【 図 4 】



## 【 国際調査報告 】

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>		International application No. <b>PCT/US2009/047537</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
<i>A61K 31/716(2006.01)i, A61K 31/164(2006.01)i, A61K 31/7008(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i</i>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC: A61K 31/716, A61K 31/164, A61K 31/7008, A61P 35/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched N/A		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) KOMPASS(KIPO net), Google Patent, PubMed		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2006/0116331 A1(JIANG, Z., et al.) 01 JUNE 2006 See abstract, fig. 1-17, and claims	1-5, 14-16
Y	US 6660714 B1(DANISHEFSKY, S.J., et al.) 09 DECEMBER 2003 See abstract, column 9, lines 32 - column 10, lines 2, and claims	1-5, 14-16
A	US 2006/0035267 A1(LIVINGSTON, P.O., et al.) 16 FEBRUARY 2006 See entire document	1-5, 14-16
A	US 2008/0019968 A1(BLIXT, O., et al.) 24 JANUARY 2008 See entire document	1-5, 14-16
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 25 JANUARY 2010 (25.01.2010)		Date of mailing of the international search report <b>25 JANUARY 2010 (25.01.2010)</b>
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer PARK, JEONG UNG Telephone No. 82-42-481-8131 

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

**PCT/US2009/047537****Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 6-13,17-23  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 6-13,17-23 pertain to methods for treatment of the human by therapy, as well as diagnostic method, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

**PCT/US2009/047537**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2006-0116331 A1	01.06.2006	AU 2003-277021 A1	19.04.2004
		AU 2003-277021 A8	19.04.2004
		AU 2003-277021 A1	29.09.2003
		AU 2003-277021 A8	29.09.2003
		CA 2500478 A1	08.04.2004
		EP 1572114 A2	14.09.2005
		WO 2004-028475 A2	08.04.2004
		WO 2004-028475 A3	08.04.2004
US 06660714 B1	09.12.2003	US 2005-0222398 A1	06.10.2005
		US 07160856 B2	09.01.2007
		US 07550146 B2	23.06.2009
		US 2003-0083235 A1	01.05.2003
US 2006-0035267 A1	16.02.2006	CA 2521812 A1	28.10.2004
		CA 2624559 A1	19.04.2007
		EP 1615614 A4	22.08.2007
		EP 1615614 A2	18.01.2006
		EP 1941278 A2	09.07.2008
		JP 2006-522828 A	05.10.2006
		US 2008-0241195 A1	02.10.2008
		WO 2007-044620 A2	19.04.2007
		WO 2004-091507 A3	28.10.2004
		WO 2004-091507 A2	28.10.2004
US 2008-0019968 A1	24.01.2008	WO 2006-068758 A2	29.06.2006
		WO 2006-068758 A3	05.04.2007
		WO 2006-068758 A3	29.06.2006

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/713 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/713	
<b>A 6 1 K 48/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 48/00	
<b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00	1 1 1
<b>C 1 2 P 21/08 (2006.01)</b>	C 1 2 P 21/08	Z N A
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/00	A

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ユ , ジョン

台湾 , 1 1 5 タイペイ シティ , ナン - カン ディストリクト アカデミア ロード , セクション 2 , レーン 6 1 , アレイ 2 , ナンバー 8 , 1 エフ .

(72)発明者 ウォン , チ - フェイ

台湾 , 1 1 5 タイペイ , ナン - カン , アカデミア ロード , セクション 2 , レーン 6 1 , アレイ 3 , ナンバー 1 1 , 5 エフ .

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA80 CA04 CA11 DA03 EA04 HA17  
 4B064 AG26 CA10 CA50 DA05  
 4C084 AA13 AA17 NA14 ZB26 ZC20  
 4C085 AA03 AA38 BB01 BB24 CC33 EE01 EE06 FF12  
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZB26 ZC20