

(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.

A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61K 31/7105 (2006.01)

F 1

A 61 K 39/00
A 61 K 39/39
A 61 P 35/00
A 61 K 45/00
A 61 K 31/7105

H

テーマコード(参考)

4 B 0 2 4
4 B 0 6 4
4 C 0 8 4
4 C 0 8 5
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) 國際出願番号 PCT/US2009/047537
(87) 國際公開番号 WO2010/005735
(87) 國際公開日 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)

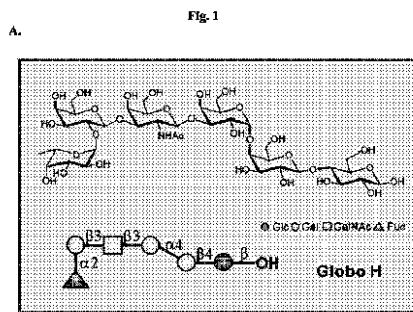
(71) 出願人 596118493
アカデミア シニカ
ACADEMIA SINICA
台灣, タイペイ, ナン-カン, アカデミア
ロード, セクション 2, 128
128 Sec 2, Academia
Road, Nankang, Taipei
11529 TW
(74) 代理人 110000671
八田国際特許業務法人
(72) 発明者 ユ, アリス, エル.
台灣, 115 タイペイ, ナン-カン, ア
カデミア ロード, セクション 2, レー
ン 61, アレイ 2, ナンバー 8, 1
エフ.

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 G lob o H および S SEA 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 lob 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 lob o H またはそのフラグメント(例えば、S SEA 3)およびアジュバント(例えば、-Gal C e r)を含む免疫組成物、それらの癌に対する治療。F UT 1およびF UT 2のいずれか、またはG lob 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) と結合している、請求項 1 に記載の免疫組成物。 10

【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。 20

【請求項 8】

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。 25

【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。 30

【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。

【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。 35

【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。 40

【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 R N A 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 R N A (s i R N A) である、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記 s i R N A は、 s i F U T 1 または s i F U T 2 である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記第一因子は F U T 1 の活性を阻害し、 F U T 2 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、 F U T 2 とその基質または F U T 2 の発現を抑制する干渉 R N A 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。

【請求項 21】

前記第一因子および第二因子は、 s i R N A 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、 s i F U T 1 または s i F U T 2 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】

【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

G l o b o 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 G l o b o 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 G l o b o H の低い抗原性のために不十分である。したがって、 G l o b o 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。

【発明の概要】

【0003】

本発明は、(1) SSEA3、すなわち G l o b o 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 G l o b o 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、 G l o b o 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。 G l o b o 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、 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 (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。

【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、 G l o b o 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、 G l o b o H またはそのフラグメントに特異的な抗

10

20

30

40

50

体を生産する方法に関する。

【0006】

他の様では、本発明は 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) の活性を抑制する第一剤 (f i r s t a g e n t) で癌を治療する方法に特徴づけられる。F U T 1 および F U T 2 双方は G l o b o H 生合成に関与する。本薬剤は、F U T 1 / I F U T 2 および、その基質または、F U T 1 もしくは F U T 2 の発現を抑制する干渉 R N A (例えば、s i F U T 1 または s i F U T 2) の間の相互作用を遮断する抗体であり得る。選択的に、F U T 1 を標的とする第一剤は、F U T 2 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 s i F U T 1 であり第二剤は s i F U T 2 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、G l o g o H (G H) 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、K L H 結合 G l o b o H 単独で免疫性を与えたマウスおよび - G a 1 C e r を伴う K L H 結合 G l o b o H で免疫性を与えたマウス中の抗 G l o b o H および抗 S S E A 3 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 F U T 1 および F U T 2 発現における s i F U T 1 および s i F U T 2 の影響を示す概略図である。パネル A : M B 1 5 7 細胞中の s i F U T 1 による F U T 1 発現の抑制。パネル B : それぞれ、T - 4 7 D 細胞中の s i F U T 1 および s i F U T 2 による F U T 1 および F U T 2 抑制。

30

【図 4】図 4 は、乳癌異種移植片の成長阻害における、s i F U T 1 および s i F U T 2 の影響を示す概略図である。パネル a : s i F U T 1 および s i F U T 2 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 : s i F U T 1 および s i F U T 2 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 G l o b o H およびその直接前駆体 S S E A 3 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。

40

【0011】

したがって、本発明の一実施形態は、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 、G b 5 としても知られている) いずれかおよびアジュvant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 (T 1 ~ T 4 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、グリア芽腫および髓膜腫) 、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 (c u r e) 、治癒、緩和、軽減、変化、治療 (r e m e d y) 、改善 (a m e l i o r a t e) 、改善 (i m p r o v e) 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质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、臍形剤の使用、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、G1ob0 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。G1ob0 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、Huang et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 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、KLH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法を通して免疫組成物（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、Remington's Pharmaceutical Sciences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-GalCer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(LT)、リポソーム、免疫刺激複合体(ISCOM)、または免疫活性化配列オリゴデオキシヌクレオチド(ISS-ODN)が挙げられる。組成物はin vivoでの送達を促進するポリマーをも含んでもよい。Audran R. et al. Vaccine 21: 1250-5, 2003およびDenis-Mize et al. Cell Immunol. 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pH緩衝剤等の補助的な物質を、G1ob0 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

【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（polialkalene）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（incipients）、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。

30

【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、抗体を生産しつ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

40

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')2、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、Glob o H生合成に両方が影響するUT1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。 20

【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产生するということは、キャリアタンパク（例えば、KLH）に結合されうるということであり、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る。動物で產生される抗体は、クロマトグラフィーなどの便利な方法で精製されうる。

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、フロイントアジュバント（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. Liess, 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。インビボで高い力値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、Morrison et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.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') フラグメント、および $F(ab') 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（Scotogene、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。$$

【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、Globbo 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。

【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。

【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

いる手法を採用することを含む。

【0027】

例えば、上記 d s R N A は、 C G C G G A C T T G A G A G A T C C C T T T 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 s i F U T 1 ）を含む。その他の例としては、当該 d s R N A は、 C T A T G T C C A T G T C A T G C C A A 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 s i F U T 2 ）を含む。

【0028】

輸送を容易にするために、上記の d s R N A 、またはそれを発現する D N A 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が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、低密度リポrotein 、または、グロブリン）、糖質（例えば、デキストラン、ブルラン、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 - c o - 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分子であってもよい。あるいは、シャペロン剤は、ミセル、リポソーム、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 d s R N A または D N A 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 p H に応答する。例えば、エンドソーム内の p H 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）に物理的変化を起こし、それにより d s R N A または D N A 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、 p H 4 . 5 - 6 . 5 ）より低い p H 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 p H 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、ポリエチレンイミン）および膜崩壊剤（例えば、メルリチン（ m e l l i t t i n ））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、ポリプロピレンイミン、メルリチン（ m e l l i t i n ）、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、 d s R N A または D N A 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 d s R N A または D N A プラスミドを凝集させ（例えば、 d s R N A / プラスミドの大きさを減少させる）、その結果 d s R N A / 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 d s R N A または D N A 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】

更なる苦労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 : K L H - コンジュゲート G l o b o H および - G a l c e r による G l o b o H および S S E A 3 に特異的抗体の誘導。

【0036】

G l o b o H - K L H は、オプティマーファーマシューティカルズから購入した。6 週齢雌 B A L B / b マウス (B i o L A S C O) を、それぞれの群を二匹づつの 3 群に対して、P B S (“コントロールマウス”)、0.6 μ g K L H - G l o b o H (“G l o b o H マウス”)、および 0.6 μ g K L H - G l o b o H と 2 μ g - G a l C e r を混合したもの (“G l o b o H - G a l C e r 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、「H u a n g e t a l . 、 P r o c . N a t l . A c a d . S c i e n c e s 1 0 3 : 1 5 - 2 0 (2 0 0 6) 」に記載の方法で、G l o b o H および S S E A 3 に特異的な抗体を検出した。つまり、血清を 3 % の B S A / P B S バッファーで 1 : 2 5 の割合で希釈し、それぞれの希釈した血清 5 0 m l 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、G l o b o H および S S E A 3 に加えた。前記スライドを 0.05 % P B S / T w e e n 2 0 (P B S T) 溶液で 3 回洗浄し、次いで同じチャンバー内において C y 5 - c o n j u g a t e d g o a t 抗マウス Ig G 抗体 (1 : 2 0 0) 1 0 0 μ 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 回づつ、P B S T および水で洗浄し、そしてマイクロアレイスキャナ - (G e n P i x 4 0 0 0 B ; M o l e c u l a r D e v i c e s) で蛍光強度を測定した。その結果は、ジーンピクスソフトウェアで解析した。

20

【0037】

G l o b o H マウスの場合は、抗 - G l o b o H I g G 抗体は、低レベルだけ検出され、抗 - S S E A I g G 抗体は、検出できなかった（図 2 を参照）。それとは異なり、G l o b o H - G a l C e r マウスの場合は、高レベルの抗 - G l o b o H 及び抗 - S S E A 3 I g G 抗体を示した（図 2 参照）。 - G a l C e r と G l o b o H - K L H とを混合すると、抗 - G l o b o H および抗 - S S E A 3 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。

30

【0038】

実施例 2 : G l o b o H レベルを低減させる R N A 干渉を用いた F U T 1 および F U T 2 の阻害。

40

【0039】

3 つの乳癌細胞株である、M C F - 7、M B 1 5 7、および T - 4 7 D における F U T 1 および F U T 2 m R N A の発現量は、以下の定量 R T - P C R によって決定されうる。全 R N A を、これらの乳癌細胞株から抽出し、かつ c D N A を、テンプレートとしての R N A やプライマーとしてのオリゴ (d T) を用いて逆転写から調製した。5 0 ナノグラムの c D N A は、以下のプライマー : L - f u t 1 : C C T G C C A G A C T C T G A G T T C C および A G G C T T A G C C A A T G T C C A G A と、さらに、L - f u t 2 : G G G A G T T A C C G G T G C A G A T A および R - f u t 2 : G T C C C A G T G

50

C C T T T G A T G T T を用いて R T - P C R 反応を受けた。

【0040】

当該 R T - P C R 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、 A B I プリズム 7000 配列検出システム (A B I Prism 7000 Sequence Detection System) を使用、実験結果の解析は A B I Prism 7000 SDS (A B I Prism 7000 SDS software (Applied Biosystems)) を使用して、それぞれの細胞株における F U T 1 および F U T 2 の m R N A 量に対する C t 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 C t 値は、同一細胞株における H P R T 1 の m R N A 発現量に対して標準化して C t 値を算出した。 M C F - 7 における F U T 1 の C t 値は、同一細胞株内の F U T 1 または F U T 2 のいずれかの C t 値を標準化するために用いられた。 m R N A 発現量の増減の変化 (fold - change) を、以下の式を元に算出した。

【0041】

【数1】

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

【0042】

H P R T 1 および G A G D H の m R N A 発現量は、内部コントロールとして使用した。

【0043】

上記 3 つの乳癌細胞株のうち、 F U T 1 の m R N A 発現量における有意差が見られた。一方、 F U T 2 m R N A は、 M C F - 7 および M B 1 5 7 細胞でからうじて検出することができたが、 T 4 7 D 細胞中における F U T 2 m R N A の発現量は、他の 2 つの細胞株と比較して 6 0 0 0 fold 以上の発現差がみられた。

【0044】

F U T 1 または F U T 2 の発現量は、以下の R N A 干渉を介して減少した。 s i F U T 1 (C G C G G A C T T G A G A G A T C C T T T に相補的な配列を含む) および s i F U T 2 (containing C T A T G T C C A T G T C A T G C C A A A 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 V S V - 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 p M D . G および p C M V R 8 . 9 1 とともに 2 9 3 T c e l l s を取り込んだ。トランスフェクションの 4 8 時間後および 7 2 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 (2 5 、 0 0 0 r p m 、 9 0 分) で濃縮した。 s i F U T 1 または s i F U T 2 の発現能があるこれらのウイルス粒子は、 8 μ g / m L ポリブレン (シグマ - アルドリッチ社製) の存在下で、 T h T - 4 7 D または M B 1 5 7 (6 - ウエルプレート中、 2 × 1 0 5 c e l l s / w e l l 固定) とインキュベートした。 9 6 時間後この細胞を採取し、 F U T 1 および F U T 2 の発現量を上記の定量 R T - P C R で測定した。図 3 に示すように、 s i F U T 1 は、 M B 1 5 7 細胞の F U T 1 m R N A 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、 s i F U T 1 および s i F U T 2 は各々、 T - 4 7 D における F U T 1 および F U T 2 m R N A s の発現量を低減させている (パネル B 参照) 。

【0045】

M B 1 5 7 および T - 4 7 D 細胞における G l o b o H の発現量を、以下の A l e x a F l u o r 4 8 8 - V K - 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 × 1 0 5 細胞を含むアリコートを、氷上において抗 - G l o b o H - A l e x a 4 8 8 (V k 9 ; C h 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 1 0 5 : 1 1 6 6 7 - 1 1 6 7 2 (2 0 0 8) 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 - U E A 1 (V e c t o r L a b o r o r i e s) で 1 時間インキュベートし、そして最後に氷上において F I T C - コンジュゲートストレプトアビシン (J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h) で 1 時間イン

10

20

30

40

50

キュベートした。この細胞を、FACSCantoフロー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、GlobobH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GlobobH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 1×10^4 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分間スピニングフェクションに遠心分離した。24時間後、アラマーブルー(alamar blue (ABD Serotec))は、細胞に添加し、最終濃度を1:10に希釈し、37°C、5%CO₂、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

30

40

50

【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/mlEGF、20ng/mlbFGF、5ug/mlインスリン、1μMhydrocortisone、4μg/mlヘパリン、1xB27サプリメント、および1%メチルセルロース(シグマ-アルドリッヂ社製)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形態を顕著に低減させることができた。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形態を顕著に低減させることができた。

【0049】

腫瘍発生の減少

6週齢bab/cnudeマウスおよびNOD/SCIDマウスに、17-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(1×10^7)安定発現siFUT1、(ii)賦形剤コントロールMB157細胞(1×10^7)、(iii)T-47D細

胞 (5 × 10⁶) 安定発現 siFUT1、(iv) T-47D細胞 (5 × 10⁶) 安定発現 siFUT2、および(v) 賦形剤コントロールT-47D細胞 (5 × 10⁶) 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: $V = p / 6 \times l \times w \times [l + w] / 2$ 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、ACEA BIO)を用いて決定した。簡単に説明すると、ACEA's 96マイクロティーブレートをフィブロネクチン(25ug/ml、シグマ社製)、type IVコラーゲン(2ug/ml、BD biosciences)、またはラミニン(5ug/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マイクロティーブレート内に培養培地100μlに対して2.5 × 10⁴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。Globob-Hセラミド(50μg/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、Globob-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

【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穴プレートにいれる。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を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20u1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

Globob-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Globob-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

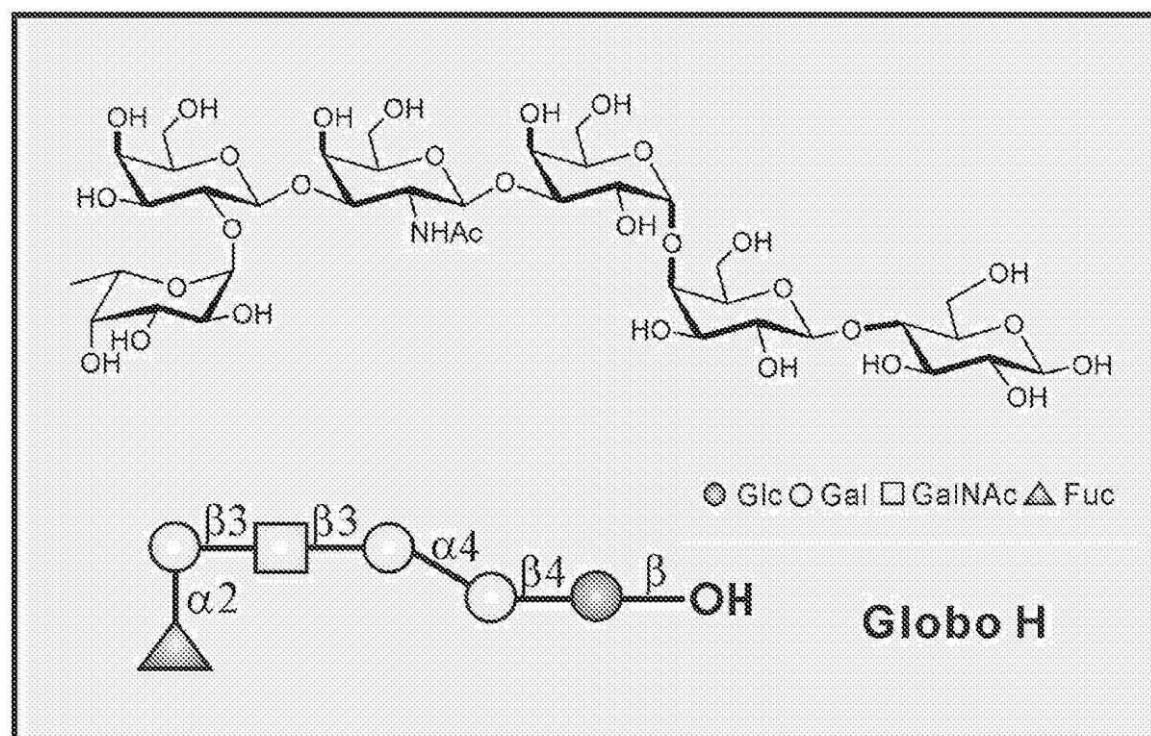
本明細書で開示された特徴の全ては、いかなるものと組み合わせをすることができる。本明細書のそれぞれの特徴は、同様の作用、目的を有する二者択一的特徴と置換することができる。したがって、本明細書に記載されていなくても、他のいかなるそれぞれの特徴は、全体の系や類似、均等の特徴の一例にすぎない。

【 0 0 5 6 】

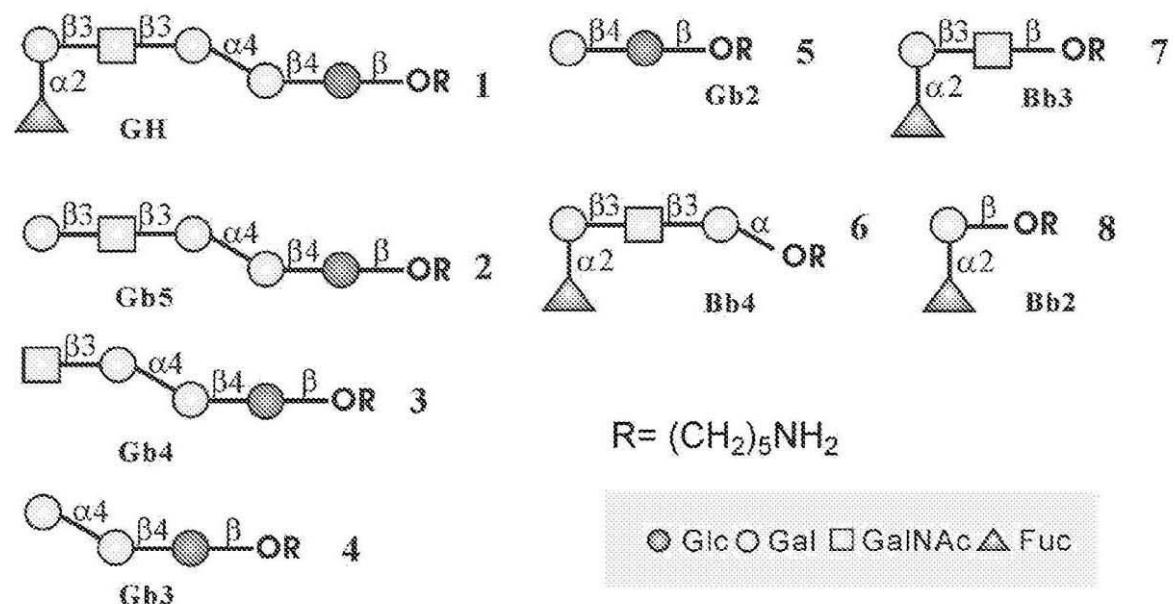
当業者であれば上記明細書の内容をみれば、本発明の意義や観点からかけ離れること無しに、本発明の本質的特徴を容易に想到できるため、本発明の種々の変化や改変してさまざまな利用や条件を本発明の範囲に採用することができる。したがって、それらの他の実施形態も本発明の権利範囲である。

【図1】

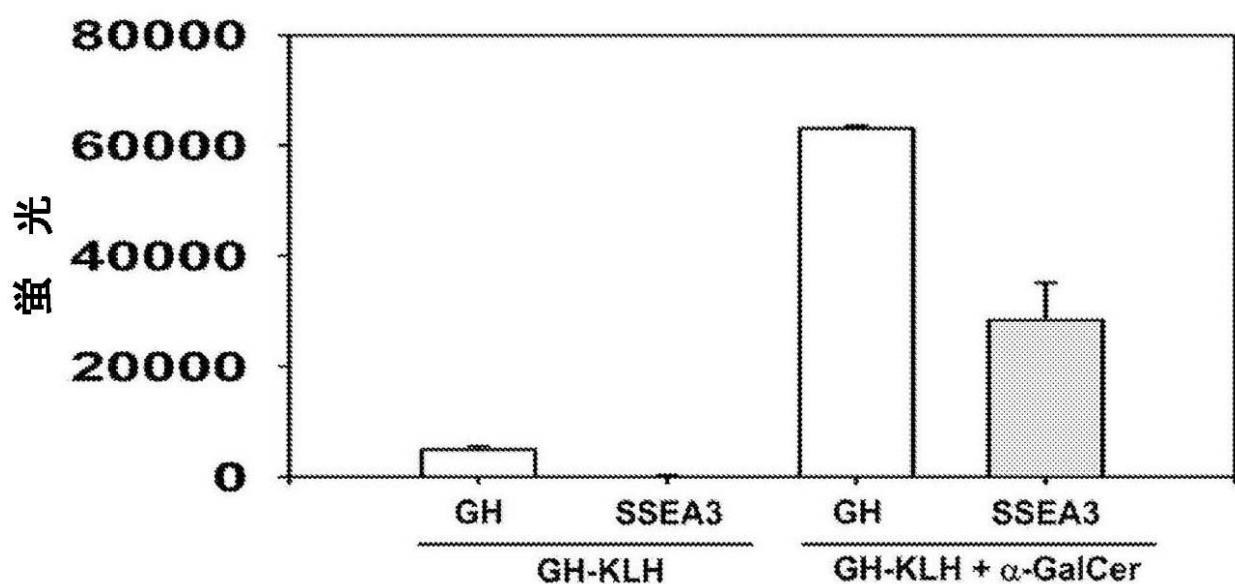
A.



B.

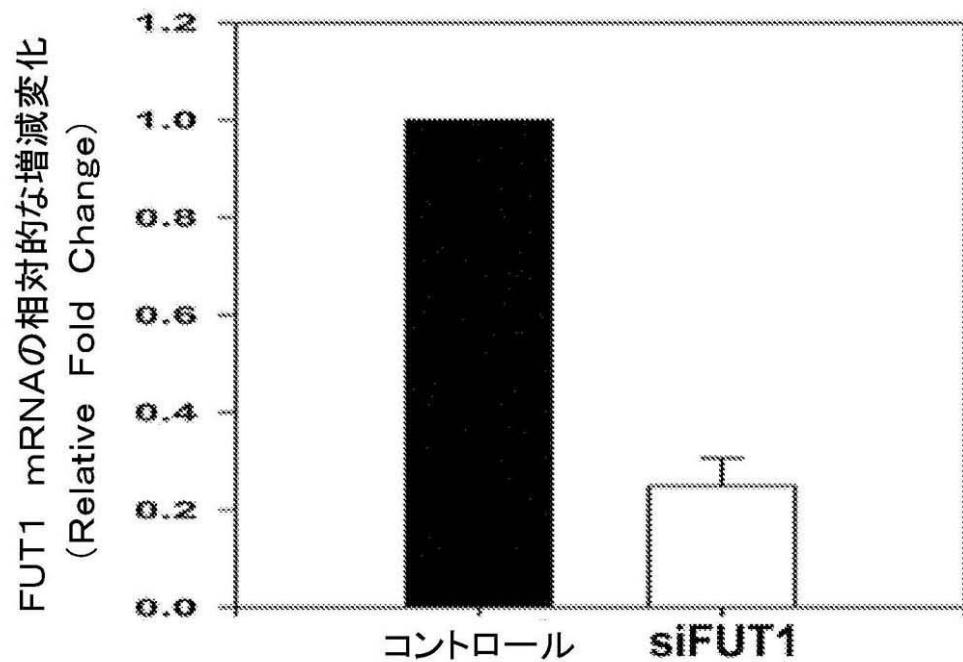


【図2】

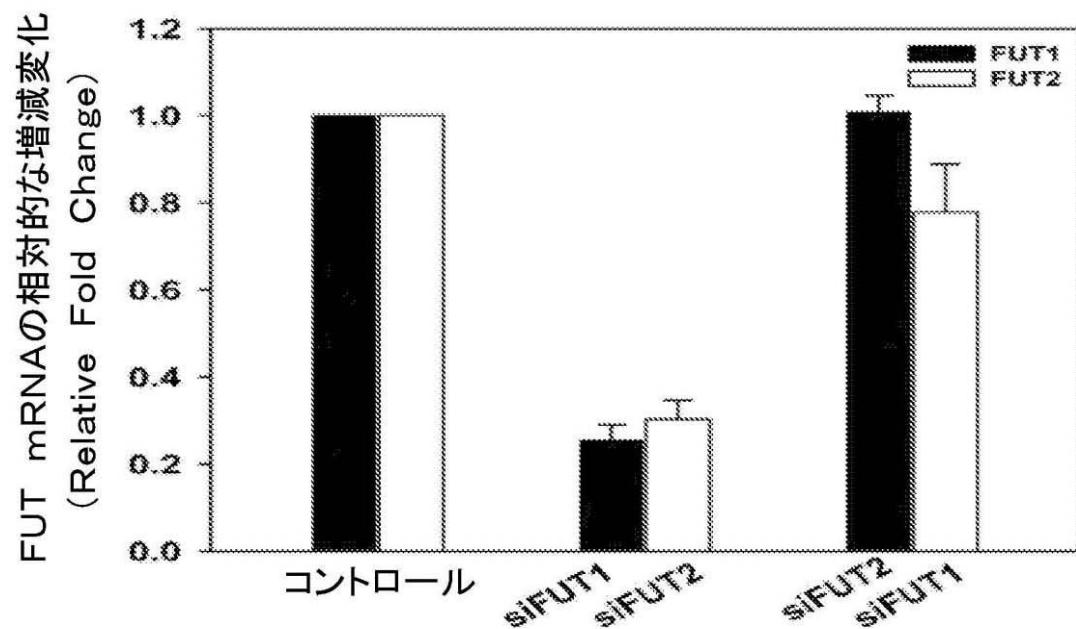


【図3】

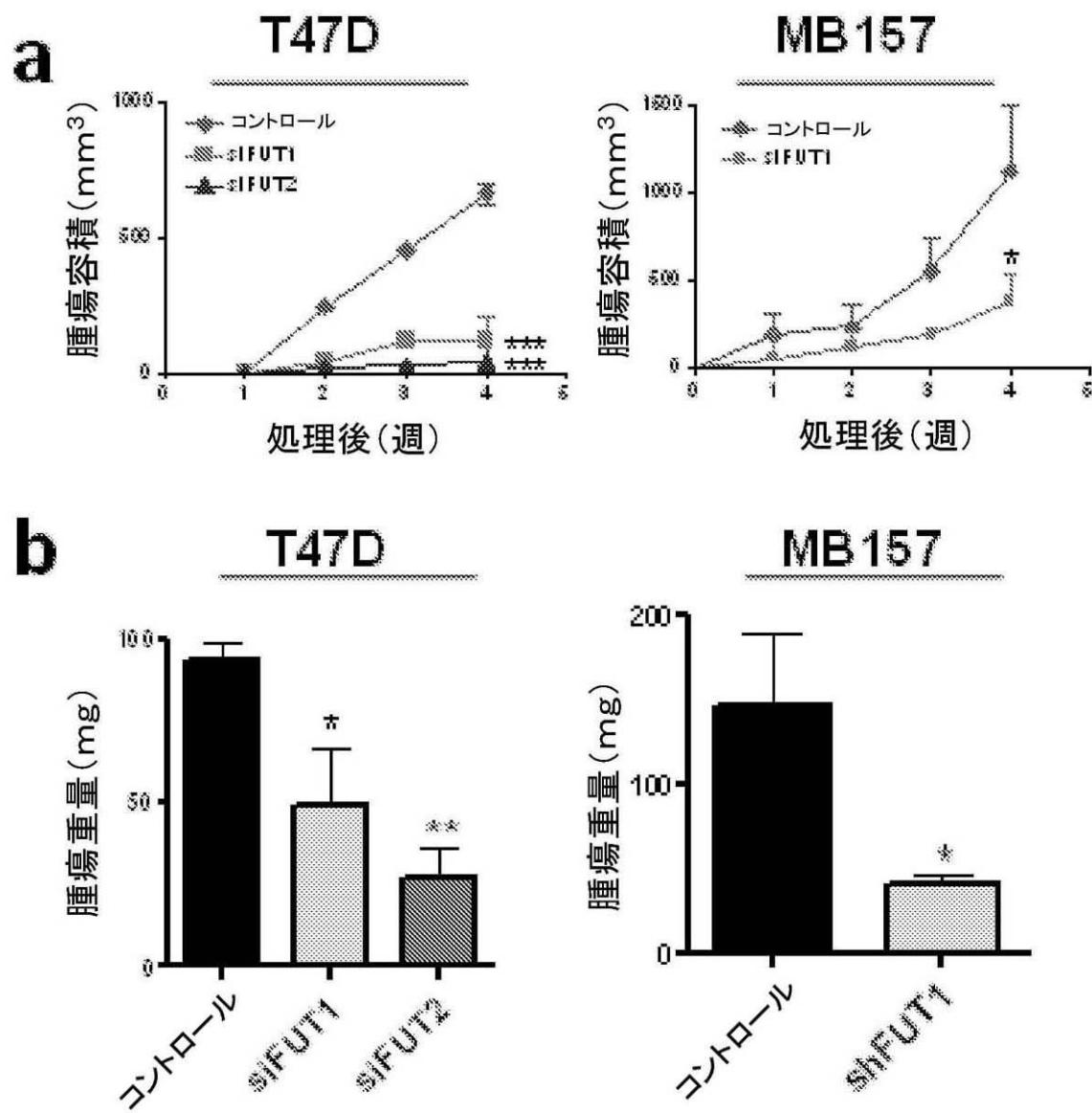
A.



B.



【図4】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2009/047537
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K 31/716(2006.01)i, A61K 31/164(2006.01)i, A61K 31/7008(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
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		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
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.
<p>* 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</p> <p>"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</p>		
Date of the actual completion of the international search 25 JANUARY 2010 (25.01.2010)		Date of mailing of the international search report 25 JANUARY 2010 (25.01.2010)
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 AU 2003-277021 A8 AU 2003-277021 A1 AU 2003-277021 A8 CA 2500478 A1 EP 1572114 A2 WO 2004-028475 A2 WO 2004-028475 A3	19.04.2004 19.04.2004 29.09.2003 29.09.2003 08.04.2004 14.09.2005 08.04.2004 08.04.2004
US 06660714 B1	09.12.2003	US 2005-0222398 A1 US 07160856 B2 US 07550146 B2 US 2003-0083235 A1	06.10.2005 09.01.2007 23.06.2009 01.05.2003
US 2006-0035267 A1	16.02.2006	CA 2521812 A1 CA 2624559 A1 EP 1615614 A4 EP 1615614 A2 EP 1941278 A2 JP 2006-522828 A US 2008-0241195 A1 WO 2007-044620 A2 WO 2004-091507 A3 WO 2004-091507 A2 WO 2007-044620 A3	28.10.2004 19.04.2007 22.08.2007 18.01.2006 09.07.2008 05.10.2006 02.10.2008 19.04.2007 28.10.2004 28.10.2004 19.04.2007
US 2008-0019968 A1	24.01.2008	WO 2006-068758 A2 WO 2006-068758 A3 WO 2006-068758 A3	29.06.2006 05.04.2007 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)
A 6 1 K 31/713 (2006.01)	A 6 1 K 31/713	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	Z N A
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/09	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, ジヨン

台湾, 115 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 61, 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, 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 3, ナンバー 11, 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