

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】平成22年5月6日(2010.5.6)

【公表番号】特表2002-521425(P2002-521425A)
 【公表日】平成14年7月16日(2002.7.16)
 【出願番号】特願2000-561979(P2000-561979)
 【国際特許分類】

A 6 1 K 9/16 (2006.01)
 A 6 1 K 39/00 (2006.01)
 A 6 1 K 39/102 (2006.01)
 A 6 1 K 39/21 (2006.01)
 A 6 1 K 39/39 (2006.01)
 A 6 1 K 45/00 (2006.01)
 A 6 1 K 47/32 (2006.01)
 A 6 1 K 47/34 (2006.01)
 A 6 1 P 31/16 (2006.01)
 A 6 1 P 31/18 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 9/16
 A 6 1 K 39/00 G
 A 6 1 K 39/102
 A 6 1 K 39/21
 A 6 1 K 39/39
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 K 47/32
 A 6 1 K 47/34
 A 6 1 P 31/16
 A 6 1 P 31/18

【誤訳訂正書】
 【提出日】平成22年3月15日(2010.3.15)
 【誤訳訂正1】
 【訂正対象書類名】明細書
 【訂正対象項目名】特許請求の範囲
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】
 【特許請求の範囲】

【請求項1】 吸着表面を有する微小粒子を産生する方法であって、該吸着表面には、生物学的に活性な高分子が吸着されており、該方法は以下の工程：

(a) ポリマー溶液およびイオン性界面活性剤の混合物を乳化してエマルジョンを形成する工程であって、該ポリマー溶液は、ポリ(ヒドロキシ酸)、ポリヒドロキシ酪酸、ポリプロラクトン、ポリオルトエステル、ポリ無水物およびポリシアノアクリレートからなる群より選択されるポリマーを含有し、そして該ポリマーは、1% ~ 30%の濃度で、有機溶媒中に存在し、そして該界面活性剤は、0.00001 : 1 ~ 0.1 : 1の重量対重量の界面活性剤対ポリマー比で該混合物中に存在する、工程；

(b) 該エマルジョンから該有機溶媒を除去して、該吸着表面を有する該微小粒子を形成する工程；ならびに

(c) 該微小粒子の表面に対して該高分子を吸着させる工程、を包含する、方法。

【請求項 2】 吸着表面を有する微小粒子を含有する微小粒子組成物を産生する方法であって、該吸着表面には、生物学的に活性な高分子が吸着されており、該方法は、請求項 1 に記載の (a) ~ (c) の工程を包含し、そしてさらに以下の工程：

(d) 工程 (c) からの該吸着された高分子を有する該微小粒子を薬学的に受容可能な賦形剤と合わせて該微小粒子組成物を形成する工程、を包含する、方法。

【請求項 3】 前記高分子が、医薬、ポリヌクレオチド、ポリヌクレオシド、ポリペプチド、ホルモン、酵素、転写メディエーター、翻訳メディエーター、代謝経路の中間体、免疫調節剤、抗原、およびアジュバントからなる群より選択される少なくとも 1 つのメンバーである、請求項 1 または請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】 前記高分子が、gp120、p24 gag、p55 gag およびインフルエンザ A 赤血球凝集素抗原からなる群より選択される抗原である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】 前記高分子が、gp120 をコードするポリヌクレオチドである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6】 前記高分子が、腫瘍抗原をコードするポリヌクレオチドである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 7】 前記界面活性剤が $0.0001 : 1 \sim 0.01 : 1$ の重量対重量での界面活性剤対ポリマー比で存在する、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】 前記界面活性剤が $0.001 : 1 \sim 0.01 : 1$ の重量対重量での界面活性剤対ポリマー比で存在する、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】 前記界面活性剤が $0.005 : 1 \sim 0.01 : 1$ の重量対重量での界面活性剤対ポリマー比で存在する、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】 前記界面活性剤がアニオン性界面活性剤である、請求項 1 ~ 請求項 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】 前記界面活性剤が硫酸化脂肪アルコールである、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】 前記高分子がポリペプチドである、請求項 10 または請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】 前記界面活性剤がカチオン性界面活性剤である、請求項 1 ~ 請求項 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】 前記高分子がポリヌクレオチドである、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】 前記ポリマーがポリ (L - ラクチド)、ポリ (D , L - ラクチド) およびポリ (D , L - ラクチド - コ - グリコリド) からなる群より選択されるポリ (ヒドロキシ酸) を含有する、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】 前記ポリマーがポリ (D , L - ラクチド - コ - グリコリド) を含有する、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】 前記ポリマーが $3\% \sim 10\%$ の濃度で存在するポリ (D , L - ラクチド - コ - グリコリド) を含有する、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】 前記微小粒子が直径 $100 \text{ nm} \sim 150 \mu\text{m}$ の粒子である、請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 19】 前記微小粒子が直径 $200 \text{ nm} \sim 30 \mu\text{m}$ の粒子である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】 前記微小粒子が直径 $500 \text{ nm} \sim 10 \mu\text{m}$ の粒子である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】 請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の方法に従って作製され得る微小粒子。

【請求項 22】 吸着表面を有する微小粒子であって、該微小粒子は、以下：
生分解性ポリマー；
イオン性界面活性剤；および

該微小粒子の表面に吸着した第一の生物学的に活性な高分子を含有し、ここで、該第一の生物学的に活性な高分子は、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、ポリヌクレオシド、抗原、医薬、ホルモン、酵素、転写メディエーター、翻訳メディエーター、代謝経路の中間体、免疫調節剤、およびアジュバントからなる群より選択される少なくとも1つのメンバーである、微小粒子。

【請求項23】 さらに、以下：

前記微小粒子内にカプセル化された第二の生物学的に活性な高分子であって、ここで、該第二の生物学的に活性な高分子が、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、ポリヌクレオシド、抗原、医薬、ホルモン、酵素、転写メディエーター、翻訳メディエーター、代謝経路の中間体、免疫調節剤、およびアジュバントからなる群より選択される少なくとも1つのメンバーである、第二の生物学的に活性な高分子を含有する、請求項22に記載の微小粒子。

【請求項24】 前記第二の生物学的に活性な高分子がアジュバントである、請求項23に記載の微小粒子。

【請求項25】 前記第一の生物学的に活性な高分子が抗原である、請求項24に記載の微小粒子。

【請求項26】 前記第二の生物学的に活性な高分子が抗原である、請求項23に記載の微小粒子。

【請求項27】 前記第一の生物学的に活性な高分子がアジュバントである、請求項26に記載の微小粒子。

【請求項28】 前記界面活性剤がカチオン性界面活性剤である、請求項22～27のいずれか1項に記載の微小粒子。

【請求項29】 前記高分子がポリヌクレオチドである、請求項28に記載の微小粒子。

【請求項30】 前記界面活性剤がアニオン性界面活性剤である、請求項22～27のいずれか1項に記載の微小粒子。

【請求項31】 前記界面活性剤が硫酸化脂肪アルコールである、請求項30に記載の微小粒子。

【請求項32】 前記高分子がポリペプチドである、請求項30または請求項31に記載の微小粒子。

【請求項33】 前記第一の生物学的に活性な高分子が、gp120、p24gag、p55gagおよびインフルエンザA赤血球凝集素抗原からなる群より選択される抗原である、請求項22～32のいずれか1項に記載の微小粒子。

【請求項34】 前記第一の生物学的に活性な高分子がgp120をコードするポリヌクレオチドである、請求項22～31のいずれか1項に記載の微小粒子。

【請求項35】 前記高分子が腫瘍抗原をコードするポリヌクレオチドである、請求項22～31のいずれか1項に記載の微小粒子。

【請求項36】 前記ポリマーがポリ(ヒドロキシ酸)、ポリヒドロキシ酪酸、ポリカプロラクトン、ポリオルトエステル、ポリ無水物およびポリシアノアクリレートからなる群より選択される、請求項22～35のいずれか1項に記載の微小粒子。

【請求項37】 前記微小粒子がポリ(L-ラクチド)、ポリ(D, L-ラクチド)およびポリ(D, L-ラクチド-コ-グリコリド)からなる群より選択されるポリ(ヒドロキシ酸)を含有する、請求項36に記載の微小粒子。

【請求項38】 前記微小粒子がポリ(D, L-ラクチド-コ-グリコリド)を含有する、請求項37に記載の微小粒子。

【請求項39】 前記微小粒子が直径100nm～150μmの粒子である、請求項22～38のいずれか1項に記載の微小粒子。

【請求項40】 前記微小粒子が直径200nm～30μmの粒子である、請求項39に記載の微小粒子。

【請求項41】 前記微小粒子が直径500nm～10μmの粒子である、請求項4

0 に記載の微小粒子。

【請求項 4 2】 請求項 1 8 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の微小粒子および薬学的に受容可能な賦形剤を含有する、微小粒子組成物。

【請求項 4 3】 請求項 2 2 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の微小粒子を含有する微小粒子組成物または請求項 4 2 に記載の微小粒子組成物であって、さらにアジュバントを含有する、微小粒子組成物。

【請求項 4 4】 前記アジュバントが CpG オリゴヌクレオチド、LT K 6 3、LT R 7 2、MPL およびアルミニウム塩からなる群より選択されるメンバーである、請求項 2 2 ~ 4 1 の微小粒子または請求項 4 3 に記載の微小粒子組成物。

【請求項 4 5】 前記アジュバントがアルミニウム塩である、請求項 4 4 に記載の微小粒子または微小粒子組成物。

【請求項 4 6】 前記アルミニウム塩がリン酸アルミニウムである、請求項 4 5 に記載の微小粒子組成物。

【請求項 4 7】 請求項 2 1 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の 2 つ以上の別個の微小粒子を含み、各々が異なる高分子を吸着している、微小粒子組成物。

【請求項 4 8】 治療において使用するための、請求項 4 2 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の微小粒子組成物。

【請求項 4 9】 疾患の診断において使用するための、請求項 4 2 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の微小粒子組成物。

【請求項 5 0】 疾患の処置において使用するための、請求項 4 2 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の微小粒子組成物。

【請求項 5 1】 ワクチンとして使用するための、請求項 4 2 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の微小粒子組成物。

【請求項 5 2】 免疫応答を惹起する際に使用するための、請求項 4 2 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の微小粒子組成物。

【請求項 5 3】 前記生物学的に活性な高分子が、前記微小粒子中に閉じ込められていない、請求項 4 2 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の微小粒子組成物。

【請求項 5 4】 前記生物学的に活性な高分子が、前記微小粒子中に閉じ込められていない、請求項 1 に記載の方法。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 0 6

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 0 6】

粒子キャリアはまた、適切な免疫応答を誘発するための試みにおいて吸着されたかまたは閉じ込められた抗原とともに使用されてきた。このようなキャリアは、免疫系に対する選択された抗原の複数のコピーを提示し、そして局所的なリンパ節における抗原の捕捉および保持を促進する。この粒子は、マクロファージによって食菌され得、そしてサイトカイン放出を通して抗原提示を増強し得る。例えば、1998年1月29日に出願された、共有に係る、同時係属中の出願番号09/015,652は、細胞媒介免疫応答を刺激するための、抗原を吸着させた微小粒子および抗原をカプセル化させた微小粒子の使用、ならびにその微小粒子を作製する方法を記載する。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 2 9

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 2 9】

非消耗性の以前に記載された吸着微小粒子の各々はまた、必要に応じて、それらの中に

閉じ込められた高分子を有し得る。

【誤訳訂正 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0079

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0079】

本発明の微小粒子は、その上に吸着された高分子を有すると同様に、その中に閉じ込められたまたはカプセル化された高分子を有する。従って、例えば、当業者は、本発明に従って、その上に吸着されたタンパク質を伴うカプセル化されたアジュバントを有する微小粒子、またはその上に吸着されたアジュバントを有するカプセル化されたタンパク質を有する微小粒子を調製し得る。

【誤訳訂正 5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0090

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0090】

(実施例 1)

(エマルジョン安定剤として PVA を用いるブランク微小粒子の調製)

ブランク微小粒子 (例えば、高分子を吸着または閉じ込めていない) を以下のようにポリビニルアルコール (PVA) を用いて作製した。用いた溶液は以下である: (1) ジクロロメタン中の 6% RG 504 PLG (Boehringer Ingelheim)

(2) 水中の 10% ポリビニルアルコール (PVA) (ICN)。

【誤訳訂正 6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0126

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0126】

【表 13】

表 13

微小粒子型	インビボルシフェラーゼ [®] 発現 1日目 (pg)	インビボルシフェラーゼ [®] 発現 14日目 (pg)
吸着された PLG-CTAB ルシフェラーゼ [®] DNA (50 ug)	9.51	44.95
ルシフェラーゼ [®] DNA 単独 (50 ug)	6.78	9.29

(実施例 18)

(閉じ込められた抗原を有する微小粒子の免疫原性に対する、吸着された抗原を有する微小粒子の免疫原性)

微小粒子を、以前の実施例において議論された手順を使用して調製した。次いで、E2タンパク質を、上記のようにこの微小粒子上に吸着させた。微小粒子をまた、上記のように、E2をこの微小粒子上に吸着させるのではなくこの微小粒子中に閉じ込めるように調製した。この微小粒子を、各々の型の微小粒子を用いる10匹のマウスの免疫後にIgG抗体を誘導する能力について評価した。各マウス由来の血清の相乗平均力価(GMT)を測定し、次いで、10匹の動物の群について平均した。標準誤差(SE)もまた算出した。FisherのPLSD(有意レベル5%)を、 $p = 0.0006$ で測定した。この結果を、以下の表14に示す：この結果は、本発明の吸着された微小粒子を使用して体液性免疫応答が優位に誘導されることを明確に実証する。

【誤訳訂正7】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0127

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0127】

【表14】

表 14

処方物	GMT	SE
閉じ込められたE2を有するPLG	293	270
吸着したE2を有するPLG	3122	1310

(実施例19)

(その上にスレオニンを吸着したHCV E1E2タンパク質を有する微小粒子の免疫原性)

PLG-CTAB微小粒子を、以前の実施例において議論された手順を使用して調製した。C型肝炎ウイルス(HCV)由来のE1E2タンパク質を、この微小粒子上に吸着させた。この粒子を使用して、アジュバントミョウバンを用いてかまたは用いないで、10 μ gまたは100 μ gのタンパク質のいずれかを提供するために算出した微小粒子の用量でマウスを免疫した。相乗平均力価を測定し、そしてこの結果を以下の表15に示す。

【誤訳訂正8】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0135

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0135】

群5は、吸着CpGを有するPLG/CTAB粒子と混合した、粒子中に閉じ込められたp55 gagを有するPLG/PVA粒子を使用した。

【誤訳訂正9】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0140

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0140】

【表 17】

表 17

血清 IgG カイ価			
番号	p55 gag タンパク質抗原の形態	GpG アジバントの形態	血清カイ価
1	可溶性	PLG/CTAB 粒子上に吸着	43250
2	PLG/SDS 粒子上に吸着	PLG/CTAB 粒子上に吸着	49750
3	PLG/SDS 粒子上に吸着	可溶性	62750
4	PLG/SDS 粒子上に吸着	なし	7550
5	PLG/PVA 粒子内に閉じ込め	PLG/CTAB 粒子上に吸着	127000
6	可溶性	可溶性	38
7	可溶性	なし	2913
8	77シニアウイルス (vv gag)	なし	938

【誤訳訂正 10】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0141

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0141】

【表 18】

表 18

標的の特異的溶解の百分率					
群	p55 gag タンパク質抗原の形態	CpG アジバントの形態	標的比	SvB pGAG ^a	SvB P7g ^b
1	可溶性	PLG/CTAB 粒子 上に吸着	60	3	41
			15	0	15
			4	-1	8
2	PLG/SDS 粒子 上に吸着	PLG/CTAB 粒子 上に吸着	60	7	77
			15	4	49
			4	2	26
3	PLG/SDS 粒子 上に吸着	可溶性	60	6	51
			15	3	30
			4	4	11
4	PLG/SDS 粒子 上に吸着	なし	60	4	48
			15	2	21
			4	1	7
5	PLG/PVA 粒子 内に閉じ込め	PLG/CTAB 粒子 上に吸着	60	3	37
			15	2	17
			4	0	4
6	可溶性	可溶性	60	4	23
			15	4	7
			4	2	3
7	可溶性	なし	60	1	4
			15	-1	1
			4	0	2
8	ワグシニアウイルス (vv gag)	なし	60	3	52
			15	2	25
			4	3	16

^aSvB 細胞株を無関係の p55 タンパク質でインキュベートした。

^bSvB 細胞株を p7g タンパク質でインキュベートした。

(実施例 22)

(p55 DNA の吸着 対 閉じ込め)

吸着 p55 DNA を有する PLG/CTAB 微小粒子、および微小粒子中に閉じ込められた p55 DNA を有する PLG/CTAB 微小粒子を、先の実施例において上記されたように形成した。マウスの IM 免疫および抗体の誘導（血清の収集および分析）を、1 回目の免疫の 4 週間後（4 wp 1）、および 2 回目の免疫の 2、4、6、13、および 15 週間後（それぞれ、2 wp 2、4 wp 2、6 wp 2、13 wp 2、および 15 wp 2）に、先の実施例において記載されたように実施した。以下の表 19 に示される結果は、閉じ込められた p55 および遊離 p55 の両方に優る吸着微小粒子の明白な利点を実証する。

【誤訳訂正 11】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0142

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0142】

【表 19】

表 19

処方	4wp1	2wp2	4wp2	6wp2	13wp2	15wp2
吸着 p55 DNA を有する PLG/CTAB (1 µg)	576	79300	156000	227000	988000	123000
閉じ込められた p55 DNA を有する PLG/PVA (1 µg)	996	1915	2215	1376	25100	1084
p55 プラスミド 単独 (1 µg)	912	1149	1360	701	1075	742
p55 プラスミド 単独 (10 µg)	1489	10700	7885	26300	31600	17300

(実施例 23)

(モルモットにおける免疫応答の微小粒子誘導)

吸着 gp120 DNA を有する PLG/CTAB 微小粒子を、先の実施例において上記のように形成した。他のサンプルは、以下の表 20 に示される通りである。そしてこれは、リン酸アルミニウムを伴うかまたは伴わない微小粒子、リン酸アルミニウムを伴うかまたは伴わない遊離の可溶性 gp120 のコントロール、および gp120 DNA によってコードされる MF59 タンパク質を含む。モルモットの IM 免疫および抗体の誘導（血清の収集および分析）を、先の実施例において記載のように実施した。この結果を、以下の表 20 に示す。