

發明專利說明書 200406220

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：92109085

※申請日期：92-04-18

※IPC 分類：A61K39/39

壹、發明名稱：(中文/英文)

經佐劑加強之免疫療法

ADJUVANT ENHANCED IMMUNOTHERAPY

貳、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美商安德賽特公司

ENDOCYTE, INC.

代表人：(中文/英文)

P. 朗 艾利斯

P. RON ELLIS

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國印第安那州西拉法葉市肯特大道 1205 號

1205 KENT AVENUE, WEST LAFAYETTE, INDIANA 47906,
U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

參、發明人：(共 1 人)

姓 名：(中文/英文)

陸英娟

YINGJUAN LU

住居所地址：(中文/英文)

美國印第安那州西拉法葉市華瑞克街 833 號

833 WARRICK STREET, WEST LAFAYETTE, IN 47906, U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

中國 PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA

肆、聲明事項：

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項☐第一款但書或☐第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

☒ 本案申請前已向下列國家（地區）申請專利：

1. 美國；2002 年 04 月 19 日；60/373,818
2. 美國；2003 年 04 月 17 日；10/417,903
- 3.
- 4.
- 5.

☒ 主張國際優先權(專利法第二十四條)：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國；2002 年 04 月 19 日；60/373,818
2. 美國；2003 年 04 月 17 日；10/417,903
- 3.
- 4.
- 5.

☐ 主張國內優先權(專利法第二十五條之一)：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

- 1.
- 2.

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一治療其特徵為病原細胞群存在之疾病狀態之改良方法。更特定言之，係將細胞標的之配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物投藥予疾病宿主，使得宿主免疫反應導向病原細胞。此方法之改良包含使用一佐劑使得免疫反應傾向 T_{H1} 反應而加強對此免疫原之免疫反應。

【先前技術】

哺乳動物之免疫系統提供一辨識和去除腫瘤細胞、其他致病細胞和入侵之外來病原體之方法。在免疫系統於正常之情況下提供堅強之防衛線的同時，仍有許多例子在腫瘤細胞，其他病原細胞或具傳染性之作用物迴避宿主免疫反應並增殖，或與伴隨的宿主致病性持續存在。化學治療劑與放射治療以去除複製之贅瘤已發展出。然而，大部分，並非全部，目前可用之化學治療劑與放射治療法具有不利之副作用，因為它們不只摧毀腫瘤細胞且影響正常宿主細胞，例如造血系統細胞。再則，在宿主產生抗藥性之例子中，化學治療劑之效力有限。

外來病原體也可藉由迴避補體免疫反應，或是宿主免疫系統因藥物治療或其他健康問題受到抑制而在宿主體內增殖。雖然很多治療化合物已經發展出來，但很多病原體對這些治療有或已經產生抗藥性。腫瘤細胞和傳染性有機體對治療劑產生抗藥性能力，與目前可得之抗腫瘤藥物之不利的副作用，突顯發展出對病原細胞群具專一性且減低宿

主毒性之新治療法的需要。

研究者已發展出藉由標出該等細胞之專一毒性化合物而摧毀腫瘤細胞之治療方法。這些方法是利用可與腫瘤細胞之獨特或過表現之受體結合之配位體接合毒素，而企圖使遞送給正常細胞的毒素降至最低。使用該方法之免疫毒素已經發展出來，其係由對抗病原細胞特定受體之抗體，連接至如蓖麻子毒蛋白(ricin)、綠膿桿菌外毒素、白喉桿菌毒素及腫瘤壞死因子等毒素之抗體所組成。這些免疫毒素之目標為抗體所辨識具有特定受體之腫瘤細胞(Olsnes, S., Immunol. Today, 10, pp. 291-295, 1989; Melby, E.L., Cancer Res., 53(8), pp. 1755-1760, 1993; Better, M.D., PCT 公開案號WO 91/07418，公告於1991年5月30日)。

另一種選擇性標的出宿主中之腫瘤細胞群或外來病原體之方法為增強宿主對抗病原細胞之免疫反應，因此避免投予可能會具有獨立宿主毒性之化合物的需要。一公告之免疫療法策略係將抗體，例如遺傳工程之多元抗體，結合至腫瘤細胞表面而使得抗體之固定區域表露於細胞表面，藉由各種不同之免疫系統媒介之過程，因而誘導殺死腫瘤細胞(De Vita, V.T., Biologic Therapy of Cancer, 2d ed. Philadelphia, Lippincott, 1995; Soullillou, J.P., U.S. Patent 5,672,486)。然而此種方法因定義腫瘤特異抗原的困難而複雜化。另一依賴宿主免疫能力之方法為標的出抗T細胞受體之抗體或抗Fc受體抗體至腫瘤細胞表面以促使免疫細胞直接結合至腫瘤(Kranz, D.M., U.S. Patent 5,547,668)。亦有描

述以疫苗為基礎之方法，其依賴包含抗原融合至細胞激素之疫苗，此細胞激素修改疫苗抗原之免疫性因而刺激此病原作用劑之免疫反應(Pillai, S., PCT Publication Number WO 91/11146, 1991年2月7日公開)。此方法依所公告之免疫反應之非直接調節而定。另一殺死不欲之細胞群之方法為使用IL-2或與抗原連結之抗胸腺細胞球蛋白之F_{ab}片段去除不想要之T細胞；然而根據公告之實驗數據，此方法似乎只去除50%標的之細胞群且造成於活體內非特異地殺死細胞(即亦殺死50%非T細胞之周圍血液淋巴球(Pouletty, P., PCT Publication Number WO 97/37690, 1997年10月16日公開))。因此，在受感染的宿主中，對於針對特徵為致病細胞群存在之疾病狀態之治療，仍有顯著之治療需要。

免疫系統可具有專一性與非專一性之免疫，專一性免疫由B與T細胞促成，其表面展露特定抗原之受體。專一性免疫反應可包含體液免疫(即B細胞活化產生抗體)及細胞媒介免疫(即T細胞之活化，如殺手性T淋巴球，包含T_H1與T_H2之輔助性T淋巴球，與抗原呈現細胞)。T_H1反應產生補體固定抗體、殺手性T淋巴球的活化、與強延遲型過敏反應，且與產生IL-2、IL-12、TNF、淋巴毒素與 γ -干擾素相關。T_H2反應與IgE與IL-4、IL-5、IL-6與IL-10之產生相關。專一性免疫反應不只包含專一性且還有記憶性，因此之前暴露於抗原之免疫細胞可在未來對抗原的暴露中，很快地對同樣之抗原產生反應。

佐劑為刺激免疫反應之化合物或物質，例如在同抗原一

起注射，或是在抗原之前注射中加強抗原之免疫能力。佐劑可為非專一地作用，對廣大之各種不同抗原刺激免疫反應，或專一地作用(以抗原專一之方式刺激免疫反應)。加強專一性免疫之佐劑，可藉由刺激細胞媒介免疫反應，或體液性免疫反應，或兩者而作用。刺激細胞媒介免疫反應之佐劑可使免疫反應朝向 T_H1 或 T_H2 反應。刺激體液性免疫反應之佐劑可誘導產生依所使用之佐劑不同而有所不同之所有類型的同型抗體。在這方面，不同之佐劑可刺激產生1.)不同之同型抗體2.)不同量之每一同型抗體且3.)可刺激產生具有不同親合力之抗體，依所使用之佐劑而產生分歧之抗體群。

皂苷為糖苷化合物在高等植物與一些棘皮動物門之海洋無脊椎動物有廣大之分布(ApSimon et al., Stud.Org.Chem. 17:273-286 (1984))。糖苷由結合於一或多種直鏈或分枝糖鏈之糖苷配基所組成，且分子量之範圍為從600至2000道耳吞或更大。皂苷以具有佐劑活性而為人所知。

皂皮樹皂苷(quillajasaponins)為一族密切相關之O-醯化三萜烯糖苷結構，係從皮樹(*Quillaja saponaria* Molina tree)之樹皮中分離出來。皂皮樹皂苷在功能上其特徵被詳細描述且具有佐劑活性為人所知。皂皮樹皂苷刺激細胞媒介與體液免疫反應。在皂皮樹皂苷之類三萜烯上之醛基負責誘導細胞媒介免疫作用，而皂皮樹皂苷之糖類部分似乎是加強體液免疫作用。皂皮樹皂苷通常誘導強 T_H1 反應。

【發明內容】

提供一去除宿主之病原細胞群之改良方法。本方法以增加宿主免疫系統對病原細胞群之辨識與反應為基礎，藉由增加病原細胞之抗原性，加強內源性免疫反應媒介之病原細胞群之清除。根據本方法，為結合至腫瘤細胞或病原有機體之表面而將配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物施予宿主，此共軛物以免疫原或半抗原標幟標的細胞群之細胞，因而引發對抗標幟細胞群之免疫媒介反應。存在或產生於宿主之抗體結合至免疫原或半抗原，然後引發內生性之免疫反應。或者，免疫原或半抗原可直接由宿主之免疫細胞辨識。該改良方法包含使用傾向 T_H1 -之佐劑以加強對免疫原/半抗原之免疫反應。

此方法包含一配位體-免疫原共軛物或配位體-半抗原共軛物之施予，其中配位體能夠在活體內專一地結合至一群病原細胞，且與配位體結合之免疫原/半抗原能夠被宿主之抗體或直接由免疫細胞辨識。藉由免疫原/半抗原結合之配位體對受體、運輸蛋白，或由致病細胞單獨表現、過表現、特別表現之其他表面呈現蛋白之結合，清除病原細胞之免疫系統媒介。由病原細胞單獨表現、過度表現或特別表現之表面呈現蛋白為一不存在或以低量存在於非病原細胞之受體，此提供了選擇性清除致病細胞之方法。

標的之病原細胞群可以是腫瘤細胞群、病毒感染之內源性細胞、或外源性有機體群如細菌、黴漿菌、酵母菌或真菌。結合至細胞結合之配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物之抗體導致補體媒介之細胞毒殺、抗體依賴性細胞媒介

之細胞毒殺、抗體調理作用和吞噬作用、抗體誘導受體聚集訊息細胞死亡或靜息，或受抗體結合至細胞結合之配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物而刺激產生之任何其他體液或細胞免疫反應。此免疫反應亦可包含宿主細胞直接辨識免疫原/半抗原。

至少一種額外之治療因子，如免疫系統刺激劑，細胞殺害作用劑，腫瘤穿透加強劑，化學治療劑，細胞毒殺免疫細胞或抗微生物劑可投藥予宿主動物以加強治療效率。在一具體實施例中，將細胞毒殺免疫細胞群分離出來，於體外活體擴增，然後注射入宿主動物中。在另一具體實施例中，使用免疫刺激劑，且免疫刺激劑可以為介白素如IL-2、IL-12或IL-15，或干擾素如IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 或GM-CSF。在另一具體實施例中，免疫刺激劑可以為包含細胞激素共軛物之細胞激素組合物，如IL-2、IL-12或IL-15結合IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 或GM-CSF、或其任何有效之組合，或任何其他有效之細胞激素之組合。

因此，在一具體實施例中，提供一方法以加強內源性免疫反應媒介之病原細胞群專一性之清除，於隱藏有此群細胞之免疫前宿主動物中，其中該細胞群之成員具有配位體可進入之結合部位。此方法包括將一包含與配位體結合之免疫原或半抗原組合物投藥予宿主之步驟，其中免疫原或半抗原由宿主之內生性抗體所辨識或直接由宿主之免疫細胞辨識，此改良包含以免疫原或可產生免疫之半抗原-載體共軛物預先免疫宿主並以傾向 T_H1 -之佐劑激發先存免疫

(preexisting immunity)的步驟。

在另一具體實施例中，提供一方法，加強隱藏有致病細胞群之宿主動物之免疫反應以清除所述之病原細胞群，其中病原細胞具有配位體可進入之結合部位。該方法包括將傾向 T_H1 -之佐劑投藥予宿主及將包含結合配位體之免疫原投藥予宿主之步驟。

在另一具體實施例中，提供一包含治療上有效量之傾向 T_H1 -佐劑與半抗原-載體共軛物之組成物，其中半抗原係由螢光黃(fluorescein)與二硝基苯所組成之基選出。

於再另一具體實施例中，提供一包括治療上有效量之 T_H1 -傾向佐劑與配位體-免疫原共軛物之組合物。

於又另一具體實施例中，提供一包含 T_H1 -傾向之佐劑與半抗原-載體共軛物套組，其中半抗原從由螢光黃與二硝基苯所組成之基選出。

於另一具體實施例，提供一包含 T_H1 -傾向之佐劑，半抗原-載體共軛物，與配位體-半抗原共軛物之套組。或者，該套組可包括 T_H1 -傾向之佐劑，與配位體-免疫原共軛物或可進一步包括一免疫原。

【實施方式】

本發明提供一去除宿主中病原細胞群之改良方法。該方法以增加宿主免疫系統對病原細胞群之辨識與反應為基礎，藉由增加致病細胞之抗原性，而加強內源性免疫系統媒介之病原細胞群之去除。根據本方法，將配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物投藥予宿主以結合至腫瘤細胞或

病原有機體之表面，此共軛物以免疫原或半抗原「標定」標的細胞群之細胞，因而引發對標定細胞群之免疫媒介反應。存在於宿主中或由宿主產生之抗體或免疫細胞結合至免疫原/半抗原並且引發內源性免疫反應。根據本發明之改進方法包含使用一 T_H1 -傾向之佐劑加強對免疫原/半抗原之免疫反應。

使用改進之方法係加強隱藏有致病細胞群之宿主其內生性免疫反應媒介對致病細胞群之清除。本發明可應用於造成各種不同病狀之病源細胞群，如癌症或傳染性疾病。因此病原細胞群可以是會發生腫瘤之癌症細胞群，包含良性與惡性腫瘤，或可以是非產生腫瘤的。癌症細胞群可自發性地，或經由存在於宿主動物性系之突變或體細胞突變之過程，或可由化學病毒或輻射誘導產生。本發明可用來治療該等癌症，如癌，肉瘤，淋巴瘤，何傑金氏病，黑色素瘤，間皮瘤，伯爾基特氏淋巴瘤，鼻咽癌，白血病與骨髓瘤。癌症細胞群可包括但不限於口、甲狀腺、內分泌、皮膚、胃、食道、喉、胰臟、大腸、膀胱、骨、卵巢、子宮頸、子宮、乳房、睪丸、前列腺、直腸、腎、肝與肺癌。

病原細胞群亦可為外源性病原或含有外源性病原，如病毒之細胞群。本發明可應用於這些外源性病原，如細菌、真菌、病毒，黴漿菌與寄生蟲。可用本發明治療之傳染性作用物為造成動物體疾病之任何技術認可的傳染性有機體，包括有機體如革蘭氏陰性或革蘭氏陽性之球菌或桿菌之細菌、DNA或RNA病毒，包含但不限於如乳突瘤病毒、

小病毒、腺病毒、疱疹病毒、痘病毒之DNA病毒；RNA病毒如沙粒病毒、冠狀病毒、鼻病毒、呼吸道融合病毒、流行感冒病毒、小RNA病毒、副黏液病毒、輪病毒、反轉錄病毒與棒狀病毒。特別有利的為對抗生素具抗藥性之細菌，如抗-抗生素之鏈球菌種與葡萄球菌種，或對抗生素敏感，但造成間歇感染，用抗生素治療最終出現抗藥性之細菌。這些有機體可用本發明之配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物結合低於正常給予病患之劑量的抗生素治療以避免抗藥性細菌株之發生。本發明亦可應用於任何真菌、黴漿菌種、寄生蟲或於動物中造成疾病之其他傳染性有機體。可用本發明之方法治療之真菌實例，包括如黴菌生長或類似酵母菌之真菌，例如造成疾病之真菌，如錢癬、組織胞漿菌病、芽生黴菌病、麴黴病、隱球菌病、孢子絲菌病、球孢子菌病、副球孢子菌病與念珠菌病。可使用本發明治療寄生蟲感染，包括但不限於由體條蟲、血吸蟲、組織蛔蟲、阿米巴原蟲、瘧原蟲、錐蟲、萊什曼原蟲、弓形體物種造成之感染。特別有利之寄生蟲為表現葉酸受體且結合葉酸之寄生蟲；然而，文獻中關於對傳染性有機體具有高親和力配位體有很多。例如，以抗生素活性與對細菌細胞壁先質有專一性結合著稱之盤尼西林和頭孢菌素可類似作為製備配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物以配合本發明使用之配位體使用。本發明之配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物亦可針對含有內源性病原體之細胞群，其中特殊病原體之抗原特別表現於含有病原體之細胞表面，

並且以配位體專一地結合於抗原上作為配位體之受體。

本發明之方法可使用於人類臨床醫學與獸醫應用。因此，隱藏有病原有機體且以配位體-免疫原或配位體-半抗原治療之宿主動物可為人類，或，於獸醫應用之情況下，可為實驗用、農用、家用或野生動物。可應用於本發明之宿主動物包括但不限於人類、實驗動物如齧齒類動物(如小鼠，大鼠，倉鼠等)、兔、猴、黑猩猩；家畜如狗、貓與兔；農業動物如牛、馬、豬、綿羊、山羊；與囚禁之野生動物如熊、熊貓、獅、虎、豹、象、斑馬、長頸鹿、大猩猩、海豚與鯨。

於一改進方法之具體實施例中，宿主以免疫原或半抗原-載體(如KLH或BSA)共軛物與傾向 T_H1 -之佐劑作前接種以引發對免疫原或半抗原之先存免疫。接著將配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物施予宿主，結果針對結合於標的病原細胞之配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物，形成體液性或細胞媒介免疫反應，或兩者。

於另一具體實施例中，先存免疫可為對抗免疫原(如超級抗原或胞壁醯雙胜之免疫原)之先天性免疫作用。於本具體實施例， T_H1 -傾向之佐劑與配位體-免疫原共軛物可共施予，以加強先天性免疫所衍生(至少部分衍生)之免疫反應。

於另一具體實施例中，先存免疫可由正常排定之疫苗接種或之前自然暴露於抗原(例如脊髓灰質炎病毒、破傷風、流行性感冒及其類似病症)發展而來。於此具體實施例中，免疫原包含引發先前存在免疫之抗原及 T_H1 -傾向之佐劑，

並且共施予配位體-免疫原共軛物以加強從先前存在之免疫所產生之免疫反應。

於另一具體實施例中，配位體-免疫原共軛物與傾向 T_{H1} -之佐劑可共施予以引發免疫反應但其中並無先存免疫。於此具體實施例，因佐劑與配位體-免疫原共軛物之共施予，而使傾向 T_{H1} -之佐劑加強對免疫原之免疫反應。

於另一具體實施例中，無先存免疫，配位體-免疫原共軛物、傾向 T_{H1} -之佐劑與被動施予之抗體可共施予。於此具體實施例中，被動施予抗體幫助增強對免疫原之免疫反應。

對本文所述之所有具體實施例，「共施予」係定義為於施予配位體-免疫原、配位體-半抗原，或配位體-載體共軛物、或免疫原之前，同時或之後施予。根據本發明，「共施予」亦可指於相同或不同溶液施予。

根據本發明適合使用之佐劑為使免疫反應傾向 T_{H1} -反應之佐劑。佐劑誘導傾向 T_{H1} -免疫力可由同型免疫球蛋白分布分析於小鼠中測量。使免疫反應傾向 T_{H1} -反應之佐劑為於小鼠中相較於IgG1抗體量，特別增加IgG2a抗體量之佐劑。專一抗原之IgG2a/IgG1比例 ≥ 1 可表示類- T_{H1} -抗體亞型型態。然而，根據本發明，任何增加抗原特異抗體產量且同時增加IgG2a/IgG1相對比例至約 ≥ 0.3 之佐劑，使得免疫反應朝偏向 T_{H1} -免疫反應進行。這類佐劑可包括皂苷佐劑(如皂皮樹皂苷，其包含脂質改性之皂皮樹皂苷佐劑)，CpG，3-去醯基單磷酸脂質A (3-deacylated monophosphoryl lipid A, MPL)，卡介苗(BCG)，雙莖圈免疫調節寡去氧核糖核酸

(d-SLIM)，熱殺死流產布魯氏桿菌(HKBA)，熱殺死母牛分枝桿菌(SRL172)，不活化痘病毒，環磷酯胺，催乳激素，沙利竇邁(thalidomide)，actimid，revimid與類似物。皂苷佐劑與製備與使用之方法詳細敘述於美國專利案號5,057,540，5,273,965，5,443,829，5,508,310，5,583,112，5,650,398，5,977,081，6,080,725，6,231,859與6,262,029以引用的方式併入本文中。

配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物可選自廣大不同之配位體、免疫原與半抗原。配位體應能特別標的宿主動物之病原細胞群，因為病原細胞上對該配位體受體之特別表現或過度表現，容易與配位體結合。可接受之配位體包括葉酸、葉酸類似物，或其他葉酸抗體結合分子、其他維生素、由集合庫篩選之胜肽配位體，腫瘤特異胜肽，腫瘤特異適合體(aptamer)，腫瘤特異糖類，腫瘤特異單株或多株抗體，抗體之Fab或scFv(即單鏈變化區域)片段，例如對抗EphA2或其他特異表現於或獨能接近於轉移癌細胞上之蛋白質抗體之Fab片段，從來自組合化學庫之小有機分子，生長因子如EGF、FGF、胰島素、類-胰島素生長因子，與同源多肽，生長激素釋放抑制因子及其類似物、轉鐵蛋白、脂蛋白複合體、膽鹽、選擇蛋白(selectins)、類固醇荷爾蒙、含有精胺酸-甘胺酸-天冬胺酸之胜肽、類維生素A、不同之Galectins、 δ -類鴉片受體配位體、胰酶分泌素A受體配位體、血管加壓素AT1或AT2受體專一配位體、過氧化體增殖劑活化受體 γ 配位體、 β -內醯胺抗生素、包含抗微生物藥物

之小有機分子、或專一地結合於特別表現於腫瘤細胞表面或傳染性有機體上之受體、或任何該等分子之片段之其他分子。在與傳染性有機體結合之配位體的情況中，有利的為特別與微生物結合之任何於此項技藝所已知之分子如抗生素或其他藥物。本發明亦適用於如抗微生物藥物，根據受體之晶體結構，設計使之剛好容納於特殊受體之結合小袋，或其他細胞表面蛋白質之分子之配位體，其中該等受體可特別表顯於腫瘤、細菌、病毒、黴漿菌、真菌、生蟲或其他病原體之表面。於一具體實施例中，亦可考慮使用與任何特別表現於腫瘤細胞之腫瘤抗原或其他分子結合之配位體。

於一具體實施例中，此配位體為一維生素或類似物或其衍生物。可接受之維生素包括菸鹼酸、泛酸、葉酸、核黃素、維生素B₁、生物素、維生素B₁₂與脂溶性維生素A、D、E與K。這些維生素及其受體結合類似物及衍生物形成依照本發明使用之配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物之標的實體。較佳之維生素部分包含葉酸、生物素、核黃素、維生素B₁、維生素B₁₂與這些維生素分子之受體結合類似物及衍生物、及其他相關之維生素受體結合分子。(見美國專利案號5,108,921，5,416,016與5,635,382以引用的方式併入本文中)。具代表性之維生素類似物為一包含D組態麩胺酸之葉酸類似物(葉酸正常包含一個連結於蝶酸之L組態麩胺酸)。

配位體之結合部位可包括任何能夠專一結合於一受體分

子之受體，其中該受體或其他蛋白質係特別表現於病原細胞群，包括例如生長因子、維生素、胜肽、包含類鴉片胜肽、荷爾蒙、抗體、醣類與小有機分子之受體。結合部位可為任何分子，如抗生素或其他藥物，對特別存在於微生物上之此項技藝所已知之結合位置。例如，主要結合部位可為細菌細胞壁中 β -內醯胺抗生素之結合部位如青黴素，或特殊存在於病毒表面之抗病毒作用劑之結合部位。本發明亦適用於配位體之結合部位，如抗微生物藥物，根據受體之晶體結構，設計符合於受體結合部位，其中受體為特別表現於病原細胞或有機體之表面。

腫瘤特異抗原亦可考慮可作為配位體之結合部位。可作為配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物之結合部位之腫瘤特異抗原之實例，為蛋白質艾弗林(Ephrin)族其成員之細胞外抗原簇，如EphA2。EphA2之表現侷限於正常細胞之細胞-細胞結合處，但EphA2卻分布於轉移腫瘤細胞之整個細胞表面。因此，轉移細胞上之EphA2可進入與例如某一結合於免疫原或半抗原之抗體之Fab片段結合，但於正常細胞上的蛋白卻不能進入與Fab片段結合，結果造成配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物對腫瘤細胞具專一性。本發明進一步考慮使用結合配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物，使藉由免疫反應去除、病原細胞達到最大標的。

合適之免疫原包括先存免疫經由正常排定之疫苗接種，或之前自然暴露於這些作用物如脊髓灰質炎病毒、破傷風、斑疹傷寒、德國麻疹、麻疹、流行性腮腺炎、百日咳、

結核病、與流行性感感冒抗原、 α -半乳糖基已經發展對抗之抗原或抗原胜肽。於這些情況，使用配位體-免疫原共軛物將先前獲得之體液性或細胞性免疫再導向宿主動物之病原細胞以去除外來細胞或病原有機體，且 T_H1 傾向之佐劑加強免疫反應而增強病原細胞之去除。

宿主動物已發展一先天性免疫針對之抗原或抗原胜肽(如超級抗原與胞壁醯雙肽)也是符合本發明使用之適合免疫原。於此具體實施例中，共施予 T_H1 傾向佐劑與配位體-免疫原共軛物，且佐劑增加對從先天性免疫而來免疫原之免疫反應。

在無先存免疫存在之情況下，先存免疫可由預先接種一免疫原或半抗原發展而來。於這些情況下，一新穎的先存免疫可從接種一免疫原或半抗原(如螢光黃、二硝基苯、三硝基苯、 α -gal抗原簇、合成胜肽、或從常見病毒衍生而來之醣胜肽、細菌、醣類、寡糖、神經結苷脂與低分子量藥物)發展而來。於使用半抗原之具體實施例中，半抗原通常與載體結合形成半抗原-載體共軛物。宿主預先接種半抗原-載體共軛物與 T_H1 -傾向佐劑。 T_H1 -傾向佐劑因隨後之配位體-半抗原之施予而增強對半抗原之免疫反應。於免疫原不是半抗原之具體實施例中，先存免疫可由預先接種免疫原與 T_H1 -傾向佐劑發展而來。

於無先存免疫存在之具體實施例中，可使用任何因 T_H1 傾向佐劑與配位體-免疫原共軛物之共施予而誘導出免疫反應之免疫原。

可依照本發明可使用之載體包含透孔螺(keyhole limpet)血氫蛋白(KLH)，結瘤鮑螺(haliotis tuberculata)血氫蛋白(HtH)、不活化白喉桿菌毒素，不活化破傷風類毒素，結核桿菌純化蛋白衍生物(PPD)、牛血清白蛋白(BSA)、卵白蛋白(OVA)、g球蛋白(g-globulin)、甲狀腺球蛋白(thyroglobulin)、胜肽抗原、合成載體如聚L型離胺酸、樹狀聚合物(dendrimer)與微脂體(liposome)。

配位體或載體可使用任何技藝認可形成複合體之方法與免疫原或載體結合。其可包括載體或配位體之共價、離子或氫鍵直接地或間接地經由連結基，如二價連結子與免疫原或半抗原連結。通常經由在共軛物個別組份上之酸、醛、羥、胺或聯胺基之間形成醯胺、酯或亞胺鍵之共價鍵而形成半抗原-載體、配位體-免疫原與配位體-半抗原共軛物。於使用連結子(linker)之具體實施例中，連結子通常包含約1至30個碳原子，更典型為約2至20個碳原子。通常使用低分子量連結子(即具有約20至500之低分子量)。又，根據本發明，此連結子可包括一間接裝置，使配位體或載體連結免疫原或半抗原，如經由中間連結子、間隔臂、或橋聯分子。對本發明方法之運作來說，作為連結之直接及間接裝置兩者不應阻止配位體與細胞膜上受體的結合。

於一具體實施例中，配位體為葉酸、葉酸類似物，或其他任何葉酸受體結合分子，且葉酸配位體與免疫原或半抗原結合係藉由一使用三氟乙酸酐經由pteroyl azide中間產物去製備葉酸 γ -酯之方法。該方法造成葉酸配位體之合成，

且只由葉酸之麩胺酸基上的 γ -梭基與免疫原或半抗原結合，其中 γ -共軛物以高親合力與葉酸受體結合以避免 α -共軛物與 γ -共軛物混合物之形成。或者，純的 α -共軛物可由中間產物製備，其中選擇性地保護 γ -梭基，形成 α -共軛物，然後使用技藝認可之有機合成之方法與程序將 γ -梭基去保護。

以接種 T_H1 -傾向之佐劑加強內源性免疫反應媒介之致病細胞之去除。內源性免疫反應可包括體液性免疫反應、細胞媒介免疫反應、與任何其他宿主動物之內源性免疫反應，包括補體媒介細胞溶解作用、抗體依賴型細胞媒介細胞毒性作用(ADCC)、導致細胞吞噬之抗體調理作用、抗體結合受體聚集造成細胞凋亡之訊息傳遞、抗增殖作用、分化作用、傳遞之免疫原/半抗原直接之免疫細胞辨識作用。內源性免疫反應將運用細胞激素的分泌，調節如免疫細胞的複製與移行之過程亦應考慮。內源性免疫反應可包括如B細胞、T細胞之免疫細胞類型，如輔助性T細胞與殺手型T細胞、巨噬細胞、自然殺手細胞、嗜中性球、LAK細胞及其類似物。

藉由配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物特別與這些入侵細胞或有機體結合，先存抗體、誘導抗體或被動施予之抗體，將再導向腫瘤細胞或傳染性有機體，且病原細胞將被上述之免疫反應殺死。細胞毒殺過程亦可包括被攻擊之抗原呈現細胞吞噬了不欲的細胞，且將自然腫瘤抗原或外來病原體之抗原表現於免疫系統之細胞臂以去除帶有該等抗原之細胞或有機體，而產生之二級反應。

如以上之討論，免疫反應可由該等方法誘導，如正常排定之疫苗接種，或用一自然免疫原或誘導一新的免疫之非自然免疫原或半抗原(如螢光黃或二硝基苯)主動接種。主動接種可包括排定於一正常疫苗接種計劃外的自然免疫原或非自然免疫原或半抗原(如半抗原-載體共軛物)之多重注射以誘導免疫。 T_H1 -傾向佐劑可用免疫原或半抗原施予，使用任何接種日程表，如於自然抗原或不自然免疫原或半抗原之前，同時或之後施予。 T_H1 傾向佐劑可於與免疫原或半抗原相同溶液或不同溶液施予。免疫反應可由具有自然先存之先天性免疫之宿主動物的先天免疫產生而來，例如對 α -半乳糖基之免疫，並且，於先天性免疫的情況中， T_H1 -傾向佐劑增加由先天性免疫而來之免疫反應。

包含一治療因子之至少一種額外之組合物可與以上之詳細方法系統結合而施予宿主，以加強內源性免疫反應媒介病原細胞之清除，或一種以上額外的治療因子施予。治療因子可選自能夠刺激內源性免疫反應之化合物、化學治療作用劑、抗微生物作用劑、或其他能夠互補施予之配位體-免疫原或配位體-半抗原之效力之其他治療因子，如細胞毒殺型免疫細胞。於一具體實施例中，該細胞毒殺型免疫細胞為一被分離出、於活體外擴增，且接著注射入宿主動物之細胞毒殺型免疫細胞群。亦可藉由施予宿主上述之共軛物、能夠刺激內源性免疫反應之化合物或組合物，包括(但不限於)細胞激素、或免疫細胞生長因子，如介白素1-18、IL-23、幹細胞生長因子、鹼性bFGF、EGF、G-CSF、GM-CSF、

FLK-2 配位體、FLT-3 配位體、HILDA、MIP-1 α 、TGF- α 、TGF- β 、M-CSF、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、可溶解之CD23、LIF與其組合，而實施本發明之方法。

亦可使用治療上有效之細胞激素組合。於一具體實施例中，可使用例如治療上有效量之IL-2，例如於每天多次劑量療法中，範圍從0.1 MIU/m²/每次劑量/每天至60 MIU/m²/每次劑量/每天之量，與例如於每天多次劑量療法中，範圍從0.1 MIU/m²/每次劑量/每天至10 MIU/m²/每次劑量/每天之量之IFN- α (MIU=百萬國際單位；m²=正常人之大約體表面積)。於另一具體實施例中，使用治療上有效量之IL-12與IFN- α ，且於另一具體實施例中，使用治療上有效量之IL-15與IFN- α 。於另一替代之具體實施例中，結合使用IL-2、IFN- α 或IFN- γ 與GM-CSF。使用之治療因子如IL-2，IL-12，IL-15，IFN- α ，IFN- γ 與GM-CSF，包括其組合，可活化自然殺手細胞與/或T細胞。或者，治療因子或其組合，包括一介白素結合一干擾素與GM-CSF可活化其他免疫作用細胞如巨噬細胞、B細胞、嗜中性球、NK細胞、NKT細胞、T細胞、LAK細胞等等。本發明亦考慮使用任何其他有效之細胞激素組合，包括其他介白素與干擾素與群落刺激因子之組合。

具細胞毒性且可用以加強腫瘤之滲透性，適合作為依照本發明治療因子使用之化學治療劑包含腎上腺皮質素、烷化劑、抗雄激素、抗雌激素、雄性激素、動情激素、抗代謝物質如胞嘧啶阿拉伯糖、嘌呤類似物、嘧啶類似物、與

甲氨蝶呤 (methotrexate)、硫酸布他卡因 (busulfan)、carboplatin、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、順鉑 (cisplatin)、與其他鉑化合物、塔莫西芬 (tamoxiphen)、紫杉醇 (taxol)、環磷醯胺 (Cyclophosphamide)、植物鹼、去氫可的松 (prednisone)、羥基尿素 (hydroxyurea)、替尼泊苷 (teniposide)、抗生素如絲裂黴素 (mitomycin-c)、博來黴素 (bleomycin)、氮芥 (nitrogen mustard)、亞硝脲 (nitrosureas)、長春新鹼 (vincristine)、長春鹼 (vinblastine)、發炎與前發炎作用劑，及任何其他技藝認可之化學治療劑。其他可與本共軛物共施予之治療因子，包括青黴素 (penicillin)、頭孢菌素 (cephalosporin)、萬古黴素 (vancomycin)、紅黴素 (erythromycin)、克林達黴素 (clindamycin)、利福平 (rifampin)、氯黴素 (chloramphenicol)、胺基糖苷 (aminoglycoside)、建它黴素 (gentamicin)、雙性黴素 B (amphotericin B)、無環烏苷 (Acyclovir)、三氟尿苷 (trifluridine)、更昔洛偉 (ganciclovir)、齊多夫定 (zidovudine)、金剛烷胺 (amantadine)、利巴偉林 (ribavirin) 或其他技藝認可之抗微生物化合物。

治療因子亦可為針對免疫原或半抗原之抗體，如由血清收集而來之自然抗體，或可以是遺傳工程抗體或非遺傳工程之單株抗體，包括人類化抗體，且可被動注射於宿主動物以增強病原細胞之去除。被動注射之抗體可與配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物共施予。

病原細胞群之去除可包含減少或去除腫瘤塊或病原體所導致治療反應。因此，根據本發明病原細胞之「去除」係

指部份或完全去除細胞。以腫瘤而言，去除可為初級腫瘤細胞或已經轉移或正從初級腫瘤脫離之細胞的去除。以任何治療方式包括外科移除腫瘤、放射治療、化學治療、生物治療移除腫瘤後之防止腫瘤再出現之預防性的治療，依據本發明亦已考慮到並且可當作一種病源細胞去除。預防性治療可是一種於使用 T_{H1} -傾向佐劑與半抗原-載體共軛物或免疫原，隨後以配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物治療之起始治療，例如在每日多次劑量療法中之治療，及/或是一種於施予或不施予 T_{H1} 傾向佐劑之起始治療幾天或幾個月的間隔後，使用配位體-免疫源或配位體-半抗原共軛物之額外或連續治療。

本發明亦關於包含治療上有效量之 T_{H1} 傾向佐劑與半抗原-載體共軛物之組合物。於此具體實施例中，半抗原可為螢光黃或二硝基苯或任何其他半抗原。於另一具體實施例中，則提供一包含治療上有效量之 T_{H1} 傾向佐劑與配位體-免疫原共軛物之組合物。該組合物可進一步包含一可有效加強去除病原細胞之量的治療因子。該治療因子係由一細胞殺死作用劑、腫瘤穿透加強劑、化學治療作用劑、抗微生物作用劑、細胞毒殺免疫細胞、與能夠刺激內源性免疫反應之化合物所組成之群體中選出。於治療因子為能夠刺激內源性免疫反應之化合物之具體實施例中，治療因子可包含一細胞激素，如IL-2、IL-12、IL-15、或IL-23、或細胞激素之組合，包括IL-2、IL-12、IL-15或IL-23、與干擾素，如IFN- α 、IFN- β 、與IFN- γ 、與干擾素、介白素與群落刺激

因子如 GM-CSF 的組合。包含上述組份的套組亦可考慮。包含 T_H1 -傾向佐劑、半抗原-載體共軛物與配位體-半抗原共軛物之套組亦可考慮。於另一具體實施例，此套組可包含免疫原、 T_H1 -傾向佐劑，與配位體-免疫原共軛物。此套組可進一步包含一治療因子。

佐劑、免疫原、半抗原-載體共軛物、配位體-免疫原共軛物、配位體-半抗原共軛物之劑量可依宿主情況、治療之疾病狀態、共軛物或免疫原之分子量、接種途徑與組織分布、及與其他治療方法如放射治療併用之可能性而變化。施予病患之有效量以體表面積、病患重量、與醫生對病況之評估為基礎。佐劑之有效量之範圍可從每位病患約 0.01 μg 至約 100 mg，或每位病患約 100 μg 至約 50 mg，或每位病患約 500 μg 至約 10 mg。半抗原-載體或免疫原之有效劑量範圍可從每位病患約 1 μg 至約 100 mg，或每位病患約 10 μg 至約 50 mg，或每位病患約 50 μg 至約 10 mg。配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物之有效劑量，範圍可從約 1 ng/kg 至約 1 mg/kg，或約 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，或約 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

任何施予 T_H1 -傾向佐劑、免疫原、半抗原-載體共軛物、配位體-免疫原共軛物、配位體-半抗原共軛物與治療因子以將免疫反應再導向腫瘤細胞或傳染性有機體之有效療法皆可使用。例如， T_H1 -傾向佐劑、免疫原、共軛物與治療因子可以單一劑量施予，或以每日多劑量療法分次施予。此外，可使用相互交替之療法，如每星期 1 至 3 天作為每日治

療之另一種選擇，且為定義本發明，這間歇或相互交替之每日療法被認為與每日治療相當且在本發明之範疇內。例如，於本發明之一具體實施例中，在三次 T_H1 -傾向佐劑與半抗原-載體起初劑量後，宿主以多次注射配位體-半抗原共軛物與治療因子治療以清除病原細胞群。於另一具體實施例中，宿主於例如每12-72小時或48-72小時之間隔以配位體-半抗原共軛物多次注射(如約2至約50次)。配位體-半抗原共軛物之額外注射可於一或多次的起初注射後以幾天或幾月之間隔施予宿主並且該額外注射避免疾病之再發生。或者，該一或多次之配位體-半抗原共軛物之起初注射可避免疾病之再發生。

於先存免疫係由先前接種 T_H1 傾向佐劑與一免疫原或一半抗原-載體共軛物發展而來之另一具體實施例中，配位體-免疫原共軛物或配位體-半抗原共軛物可隨後接種一治療因子。治療因子可於配位體-免疫原共軛物或配位體-半抗原共軛物之前，之後或同時施予宿主動物，且治療因子可以施予作為含有配位體-免疫原共軛物或配位體-半抗原共軛物之部份相同組合物，或與該共軛物不同之部分組合物。任何包含具有治療上有效劑量之治療因子之治療組合物皆可使用於本發明中。於另一並無發展出先存免疫之具體實施例中，治療因子可與 T_H1 -傾向佐劑與配位體-免疫原共軛物共施予。

此外，可使用一種以上的免疫原、半抗原-載體共軛物、配位體-免疫原共軛物或配位體-半抗原共軛物。例如，宿主

動物可預先接種螢光黃-載體與二硝基苯-載體共軛物兩者，接著以同劑量之連接相同或不同配位體的螢光黃與二硝基苯治療。於化學治療與抗微生物作用劑的情況中，治療因子在與配位體-免疫原共軛物或配位體-半抗原共軛物之聯合治療中可以低於最佳劑量施予，以避免宿主動物對化學治療或抗微生物劑之抗藥性的發展。

T_H1 -傾向佐劑、免疫原、半抗原-載體共軛物、配位體-免疫原共軛物、配位體-半抗原共軛物與治療因子以非經腸注射較佳，而這些注射可為皮內注射、腹腔內注射、皮下注射、肌肉注射、靜脈注射、或脊髓腔注射。或者， T_H1 -傾向佐劑、免疫原、與這些共軛物可經其他醫學上有用方式施予宿主動物，如口服，及可使用任何適合之治療劑型。非經腸劑型之實例包括活性劑之水溶液、等張鹽水、5%葡萄糖或其他熟知醫藥上可接受之液體載體如液態醇、乙二醇、酯類與醯胺。根據本發明非經腸劑型亦可為可還原之凍乾物型式。於一具體實施例中，可接種任何此項技藝中已知之延長釋放劑型，例如於美國專利案號4,713,249；5,266,333；與5,417,982所述之可生物分解的醣類基質，該案所揭示的內容以引用的方式併入本文中。於另一具體實施例，可使用一低速幫浦。

本發明之方法可結合額外的治療使用，例如外科移除腫瘤、放射治療、化學治療、或生物治療如其他免疫治療，其包含但不限於單株抗體治療、免疫調節劑治療、免疫作用細胞之授受移轉(adoptive transfer)，造血生長因子治療、

細胞激素與疫苗接種治療。

實例 1

皂苷加強之免疫治療(與細胞激素)於具有腹腔內L1210A白血病之DBA小鼠之治癒效果

六至八週大(~20-22克)之DBA母小鼠以2週之間隔皮下接種3次與100 μg GPI-0100一同調配之35 μg 螢光黃異硫氰酸酯(FITC)-標定之一種低等無脊椎動物之血藍蛋白(Keyhole limpet hemocyanin, KLH; 參見圖8)。GPI-0100為部分純化之皂皮樹皂苷之脂質改性衍生物之皂甘苷佐劑。GPI-0100之製備與使用描述於美國專利案號6,080,725, 該案以引用的方式併入本文中。於第三次接種約一個星期後, 收集治療動物之血液樣本, 且使用ELISA檢定決定抗FITCIgG與IgG2a存在之量(參見圖1)。確定抗FITC抗體效價於所有小鼠皆高之後, 於第一次接種約五週之後, 每隻動物腹腔內注射 2.5×10^4 L1210A細胞, 這是表現高量之高親和性葉酸受體之同基因型小鼠血癌細胞株。接著讓癌細胞於活體內增殖生長七天。其後, 於腫瘤細胞埋植第7、8、9、11與14天, 以磷酸緩衝鹽水(PBS)腹腔內治療帶癌小鼠、或以PBS、IL-2 (250,000 IU/劑量)與IFN- α (75,000 IU/劑量)、或以葉酸-FITC共軛物(EC17; 見圖7; 1800 nmol/kg)、IL-2 (250,000 IU/劑量)與IFN- α (75,000 IU/劑量)一同注射。每天監測動物整體形態、行為與存活率。如圖2所示, 當細胞激素單獨延長具腫瘤小鼠之存活至某一程度時, 以EC17, IL-2與IFN- α 治療之小鼠已經痊癒(以組織病理分析確定)。

實例2

皂苷加強之免疫治療(與細胞激素)延長了腹腔注射M109腫瘤細胞之Balb/c小鼠的存活

六至八週大(~20-22克)Balb/c母小鼠以2週之間隔，皮下接種3次100 μg GPI-0100調配之35 μg KLH-FITC。如實例1所述，確定所有小鼠之抗FITC抗體效價皆高之後，於第一次接種後約5週，每隻動物腹腔注射 7.5×10^5 M109細胞，這是表現高量高親合性葉酸受體之同基因型小鼠肺癌細胞株。接著讓癌細胞於活體內增殖7天。其後，於埋植腫瘤後第7-11、14-18與21-25天，於帶腫瘤小鼠腹腔注射PBS或一同注射PBS、IL-2 (5,000 IU/劑量)、與IFN- α (25,000 IU/劑量)、或PBS、EC17 (1800 nmol/kg)、IL-2 (5,000 IU/劑量)、與IFN- α (25,000 IU/劑量)。EC17與IFN- α 給予每週3次之劑量。IL-2給予每週5次劑量。每日監測動物整體形態、行為與存活。如圖3所示，當細胞激素單獨延長帶腫瘤小鼠之存活至某一程度，但以EC17、IL-2與IFN- α 治療之小鼠其存活實質上延長。

實例3

於帶有一天大的腹腔內M109腫瘤之Balb/c小鼠中，單獨以皂苷-加強之EC17免疫治療(無細胞激素)之效果

六至八週大(~20-22克)Balb/c母小鼠以2週之間隔，皮下接種3次100 μg GPI-0100調配之35 μg KLH-FITC。如實例1所述，確定所有小鼠之抗FITC抗體效價皆高之後，於第一次接種後約5週，每隻動物腹腔注射 7.5×10^5 M109細胞。一天

後，帶腫瘤小鼠皮下注射PBS或於埋植腫瘤細胞後第1、2、5、7、9、12、14與16天一同注射PBS與EC17 (1800 nmol/kg)。每日監測動物整體形態、行為與存活。於圖4所示，當於埋植腫瘤後約24-25天PBS對照組之小鼠皆死亡，以EC17治療之小鼠其存活實質上延長。

實例4

於帶有7天大的腹腔內M109腫瘤之Balb/c小鼠中，單獨以皂苷加強之EC17免疫治療之效果

六至八週大(~20-22克)Balb/c母小鼠以1週之間隔，皮下接種3次100 μ g GPI-0100調配之35 μ g KLH-FITC。如實例1所述，確定所有小鼠之抗FITC抗體效價皆高之後，每隻動物腹腔注射 0.5×10^5 M109細胞。接著讓癌細胞於活體內增殖7天。其後，於埋植腫瘤細胞後第7-11、14-18與21-25天，帶腫瘤小鼠腹腔注射PBS或PBS與EC17 (1800 nmol/kg/day)。EC17與IFN- α 給予每週3次劑量。IL-2給予每週5次劑量。每日監測動物整體形態、行為與存活。於圖5所示，與PBS對照組比較，單獨EC17顯示帶腫瘤小鼠生命期之延長較短。因此，綜合圖4與圖5所示之結果，證明單獨EC17於腫瘤發展之早期階段有顯著地抗腫瘤效果。更重要的，綜合圖3與圖5所示之結果，與單獨使用EC17或細胞激素治療比較，證明EC17與細胞激素如IL-2與IFN- α ，使帶腫瘤小鼠生命期協同性地增加。

實例5

皂苷加強之免疫治療(與細胞激素)防止帶有皮下M109腫瘤

之 Balb/c 小鼠之腫瘤生長

六至八週大 (~20-22 克) Balb/c 母小鼠以 1 週之間隔，皮下接種 3 次 100 μg 以 GPI-0100 調配之 35 μg KLH-FITC。如實例 1 所述，確定所有小鼠之抗 FITC 抗體效價皆高之後，每隻動物於肩膀皮下注射 1×10^6 M109 細胞。接著讓癌細胞生長一週至 30-50 mm^3 。其後，帶腫瘤小鼠於埋植腫瘤細胞後第 7-11、14-18 與 21-25 天腹腔注射 PBS 或 PBS、IL-2 (40,000 IU/劑量) 與 IFN- α (25,000 IU/劑量) 或 PBS、EC17 (1800 nmol/kg)、IL-2 (40,000 IU/劑量)、與 IFN- α (25,000 IU/劑量) 一同注射。EC17 與 IL-2 給予每週 5 次劑量。IFN- α 給予每週 3 次劑量。使用測徑器每兩天測量腫瘤體積。如圖 6 所示，於埋植後 35 天之中，注射 EC17、IL-2 與 IFN- α 之小鼠顯示皮下腫瘤體積減小，而注射 PBS、IL-2 與 IFN- α 之小鼠其腫瘤顯著增長。

【圖式簡單說明】

圖 1 顯示用皂苷佐劑調配 KLH-FITC 接種之小鼠中，抗 FITC 之總 IgG 與抗 FITC IgG2a 之反應 (亦即 GPI-0100)。

圖 2 顯示，以 KLH-FITC/皂苷佐劑接種，接著注射 PBS (對照組)，IL-2+IFN- α ，或葉酸-FITC+IL-2+IFN- α 之已建立腹腔內 L1210A 白血病模式之小鼠的生存百分比。

圖 3 顯示，以 KLH-FITC/皂苷佐劑接種，接著注射 PBS，IL-2+IFN- α ，或葉酸-FITC+IL-2+IFN- α 之帶有建立腹腔內 M109 腫瘤之小鼠生存百分比。

圖 4 顯示，以 KLH-FITC/皂苷佐劑接種，接著注射 PBS，或葉酸-FITC 之帶有早期腹腔內 M109 腫瘤之小鼠生存百分

比。

圖 5 顯示，以 KLH-FITC/皂苷佐劑接種，接著注射 PBS，或葉酸-FITC 之帶有建立之腹腔內 M109 腫瘤之小鼠生存百分比。

圖 6 顯示以 KLH-FITC/皂苷佐劑接種，接著注射 PBS，IL-2+IFN- α ，或葉酸-FITC+IL-2+IFN- α 之小鼠皮下 M109 腫瘤之腫瘤體積。

圖 7 顯示葉酸-FITC (EC17) 之結構。

圖 8 顯示 KLH-FITC (EC90) 之結構。

伍、中文發明摘要：

本發明提供一改良之方法治療特徵為有病原細胞群存在之疾病狀態。根據該改良方法，係將細胞標的之配位體-免疫原或配位體-半抗原複合體對疾病宿主投藥，使得宿主之免疫反應重新導向對此配位體具有可接近之結合部位之病原細胞。此方法包含將含有配位體與免疫原或半抗原複合體之配位體-免疫原或配位體-半抗原之共軛物組合物施予宿主之步驟，其中免疫原/半抗原乃由宿主之內源性抗體或直接由宿主之免疫細胞所辨識。此方法之改進包含使用傾向 T_H -1反應之佐劑以加強對細胞結合之配位體-免疫原或配位體-半抗原共軛物之免疫反應的步驟。

陸、英文發明摘要：

An improved method is provided for treating disease states characterized by the existence of pathogenic cell populations. In accordance with the improved method, cell-targeted ligand-immunogen or ligand-hapten complexes are administered to a diseased host to redirect the host immune response to the pathogenic cells which have an accessible binding site for the ligand. The method comprises the step of administering to the host a ligand-immunogen or ligand-hapten conjugate composition comprising a complex of the ligand and the immunogen or hapten wherein the immunogen/hapten is recognized by an endogenous antibody in the host or directly by an immune cell in the host. The improvement to the method comprises the step of using a T_H 1-biasing adjuvant to enhance the immune response to cell-bound / ligand-immunogen or ligand-hapten conjugates.

拾、申請專利範圍：

1. 一種組合物，其包含治療上有效量之 T_H1 -傾向佐劑及半抗原-載體共軛物，其中半抗原由螢光黃(fluorescein)及二硝基苯組成之群中選出。
2. 一種包含治療上有效量之 T_H1 -傾向佐劑及配位體-免疫原共軛物之組合物。
3. 如申請專利範圍第1或2項之組合物，進一步包含至少一種額外治療因子，其中該因子係由細胞殺死作用劑、腫瘤穿透加強劑，化學治療劑、抗微生物劑、細胞毒殺免疫細胞、與能夠刺激內源性免疫反應之化合物組成之群中選出。
4. 如申請專利範圍第1或2項之組合物，其中佐劑係由未經改質皂苷佐劑與改質皂苷佐劑組成之群中選出。
5. 如申請專利範圍第4項之組合物，其中改質皂苷佐劑為經脂質改質。
6. 如申請專利範圍第1或2項之組合物，其中佐劑為皂皮樹皂苷佐劑。
7. 如申請專利範圍第6項之方法，其中改質皂苷佐劑為脂質改質皂皮樹皂苷佐劑。
8. 一種套組，其包含 T_H1 -傾向佐劑與半抗原-載體共軛物，其中半抗原係由螢光黃及二硝基苯組成之群中選出。
9. 一種套組，其包含 T_H1 -傾向佐劑、半抗原-載體共軛物、及配位體-半抗原共軛物。
10. 一種套組，其包含 T_H1 -傾向佐劑與配位體-免疫原共軛物。

11. 如申請專利範圍第10項之套組，其中免疫原為半抗原。
12. 如申請專利範圍第11項之套組，其中半抗原係由螢光黃或二硝基苯組成之群中選出。
13. 一種套組，其包含 T_H1 -傾向佐劑、免疫原、及配位體-免原共軛物。
14. 如申請專利範圍第8至13項中任一項之套組，進一步包含至少一種額外治療因子，其中該因子係由細胞殺死作用劑、腫瘤穿透加強劑，化學治療劑、抗微生物劑、細胞毒殺免疫細胞、與能夠刺激內源性免疫反應之化合物組成之群中選出。
15. 如申請專利範圍第14項之套組，其中治療因子包含細胞激素。
16. 如申請專利範圍第8至13項中任一項之套組，其中佐劑係由未經改質皂苷佐劑與改質皂苷佐劑組成之群中選出。
17. 如申請專利範圍第16項之套組，其中改質皂苷佐劑為經脂質改質。
18. 如申請專利範圍第8至13項中任一項之套組，其中佐劑為皂皮樹皂苷佐劑。
19. 如申請專利範圍第18項之套組，其中改質皂苷佐劑為脂質改質皂皮樹皂苷佐劑。

拾壹、圖式：

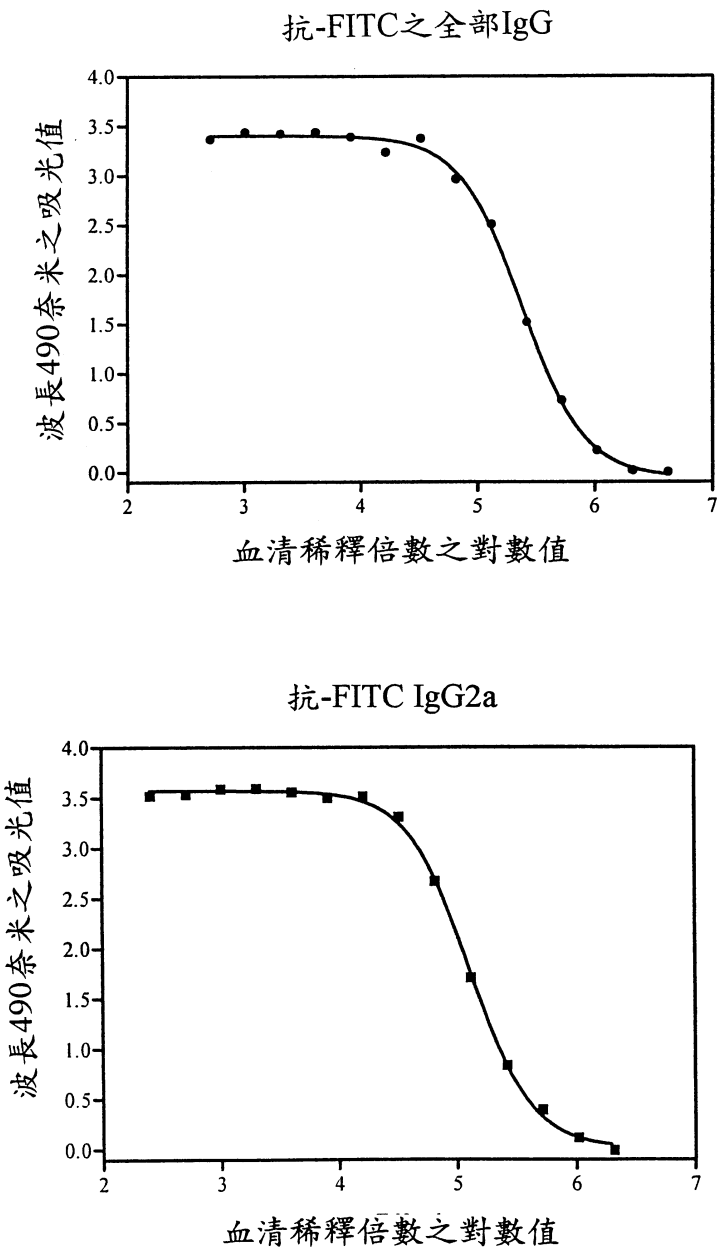


圖 1

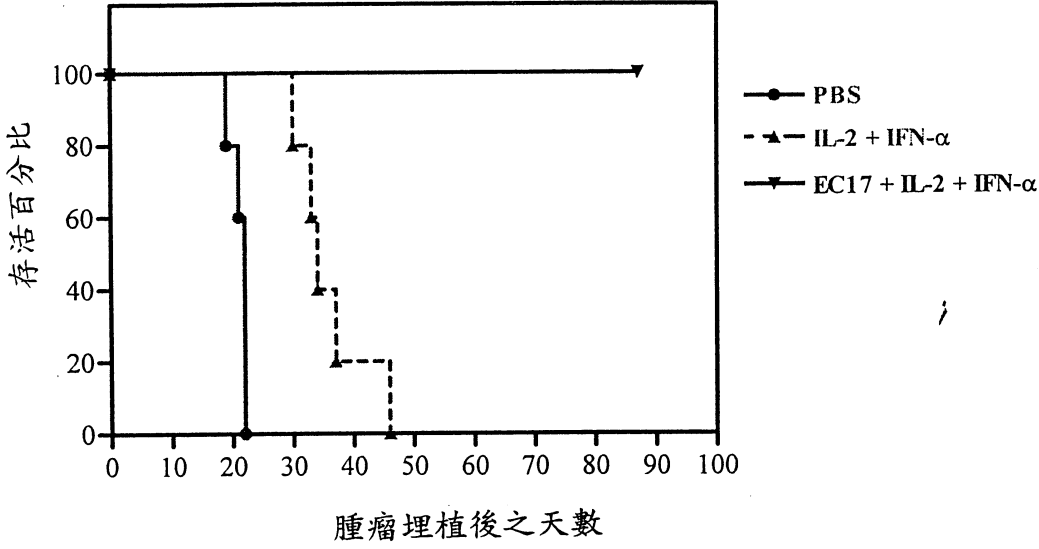


圖 2

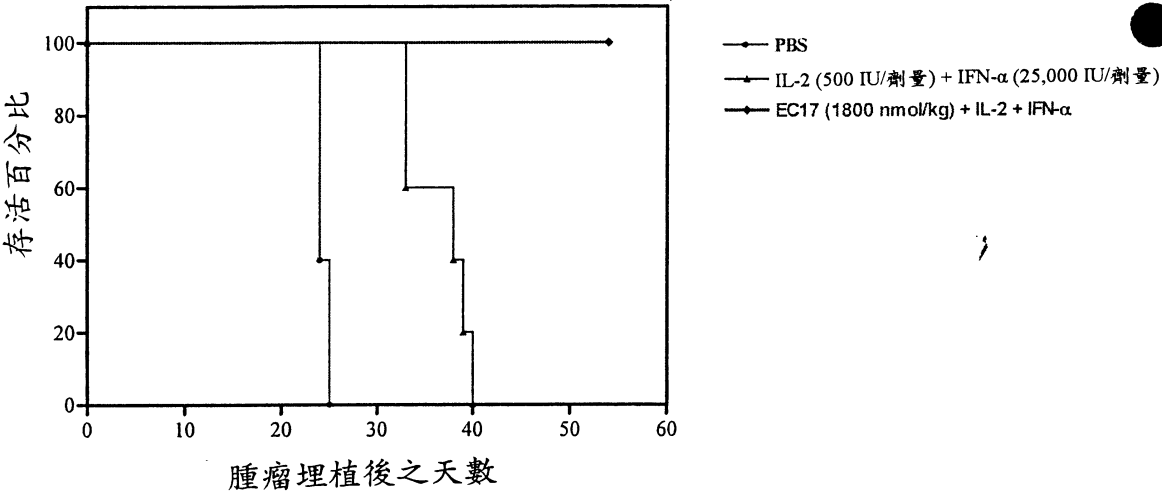


圖 3

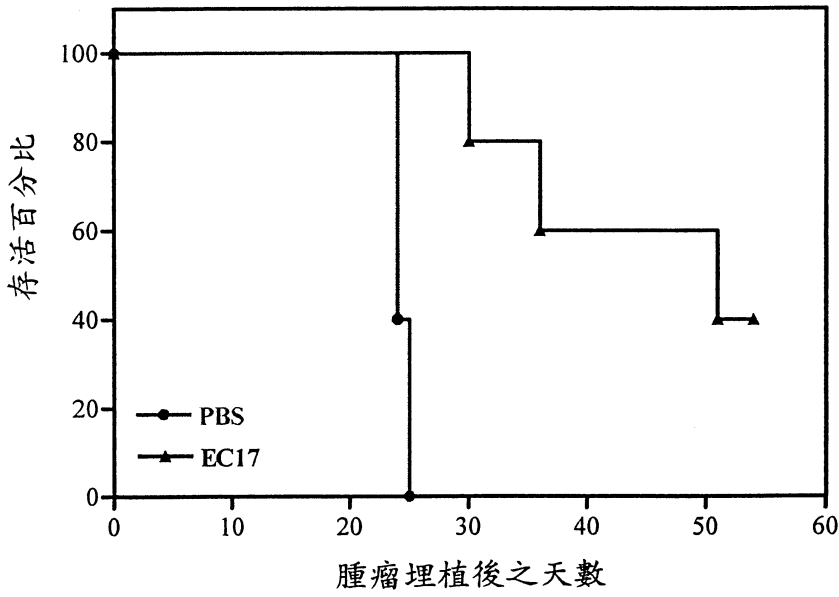


圖 4

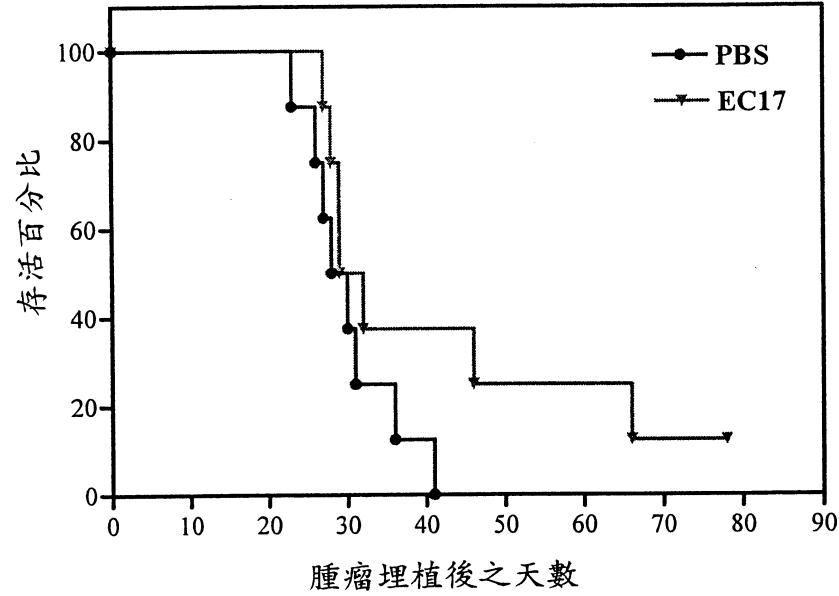


圖 5

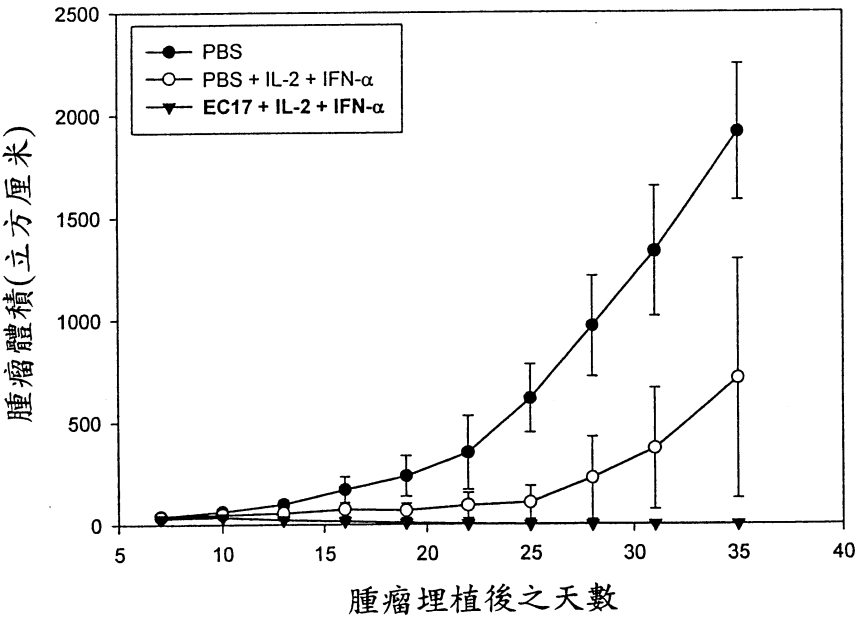


圖 6

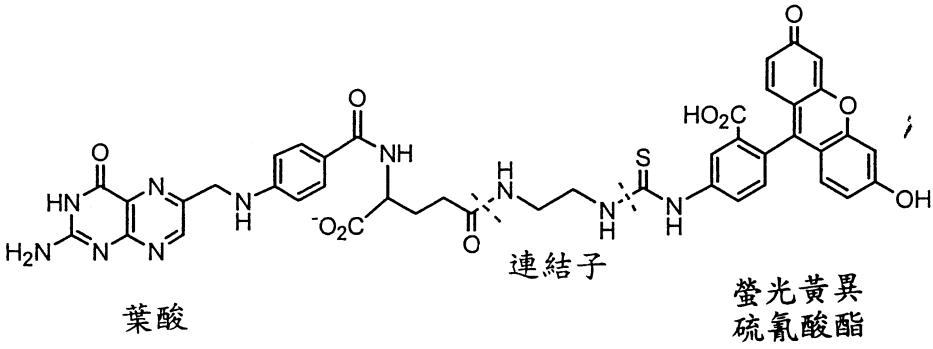


圖 7

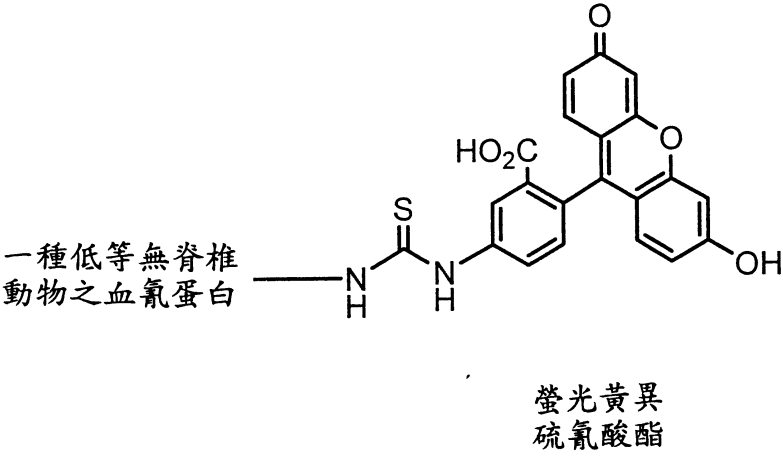


圖 8

柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（ 2 ）圖。

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：