

[19] Patents Registry
The Hong Kong Special Administrative Region
香港特別行政區
專利註冊處

[11] 1103631 B
CN 100546650 C

[12]

STANDARD PATENT SPECIFICATION
標準專利說明書

[21] Application No. 申請編號
07107996.2

[51] Int.Cl.⁸ A61K

[22] Date of filing 提交日期
24.07.2007

[54] COMPOSITIONS INCLUDING DIFFERENT TYPES OF TRANSFER FACTOR, METHODS FOR MAKING THE COMPOSITIONS, AND METHODS OF TREATMENT USING THE COMPOSITIONS 包括不同類型轉移因子的組合物，製備該組合物的方法，以及使用該組合物的治療方法

[30] Priority 優先權

15.09.2003 US 10/663,353

[43] Date of publication of application 申請發表日期

28.12.2007

[45] Publication of the grant of the patent 批予專利的發表日期

19.03.2010

CN Application No. & Date 中國專利申請編號及日期

CN 200480030905.8 15.09.2004

CN Publication No. & Date 中國專利申請發表編號及日期

CN 1901925 24.01.2007

Date of Grant in Designated Patent Office 指定專利當局批予專利日期

07.10.2009

[73] Proprietor 專利所有人

4LIFE RESEARCH, LC

9850 SOUTH 300 WEST

SANDY, UT 84070-3262

UNITED STATES/UNITED STATES OF AMERICA

4LIFE 研究有限公司

美國/美利堅合眾國

猶他

[72] Inventor 發明人

D.LISONBEE D·裡森比

W.J.HENNEN W·J·漢南

F.J.DAUGHERTY F·J·道爾蒂

[74] Agent and / or address for service 代理人及/或送達地址

CLT Patent & Trademark (H.K.) Ltd.

Unit 09, 34/F, Office Tower

Convention Plaza, No. 1 Harbour Road

Wanchai, Hong Kong

誠通專利商標(香港)有限公司

香港灣仔港灣道1號會展廣場

辦公大樓34樓09室

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480030905.8

[51] Int. Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 35/24 (2006.01)

A61K 35/02 (2006.01)

A61K 35/20 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009年10月7日

[11] 授权公告号 CN 100546650C

[22] 申请日 2004.9.15

[21] 申请号 200480030905.8

[30] 优先权

[32] 2003.9.15 [33] US [31] 10/663,353

[86] 国际申请 PCT/US2004/030307 2004.9.15

[87] 国际公布 WO2005/028622 英 2005.3.31

[85] 进入国家阶段日期 2006.4.20

[73] 专利权人 4LIFE 研究有限公司

地址 美国犹他

[72] 发明人 D·里森比 W·J·汉南

F·J·道尔蒂

[56] 参考文献

CN5080895B1 1998.3.10

审查员 王荣霞

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 李 瑛

权利要求书 2 页 说明书 22 页 附图 2 页

[54] 发明名称

包括不同类型转移因子的组合物,制备该组合物的方法,以及使用该组合物的治疗方法

[57] 摘要

引发患者中 T-细胞介导的免疫应答的组合物包括来自至少两种不同类型来源动物的转移因子。例如,该组合物可包括哺乳动物转移因子和非哺乳动物转移因子。例如,该组合物包括含有哺乳动物转移因子的初乳衍生产物和含有非哺乳动物转移因子的蛋衍生产物的组合。此外,蛋衍生产物基本上无脂肪。还公开了形成组合物的方法和引发已经用组合物治疗的患者中 T-细胞介导的免疫应答的方法。

1. 启动患者中 T-细胞介导的应答的组合物, 包括:

包含第一种类型的转移因子的哺乳动物初乳衍生的产物; 和
包含第二种类型的转移因子的鸟蛋衍生的产物。

2. 权利要求 1 的组合物, 其中所述的第一种类型的转移因子与所述的第二种类型的转移因子的比例为至少约 50:50 以在所治疗的动物中提供即时免疫应答。

3. 权利要求 1 的组合物, 其中所述的第一种类型的转移因子与所述的第二种类型的转移因子的比例为至多约 50:50 以在所治疗的动物中提供延长的免疫应答。

4. 权利要求 1 的组合物, 其中所述的第一种和第二种类型的转移因子的总重包括多达约 99%重量的所述的第一种类型的转移因子, 和少至约 1%重量的所述的第二种类型的转移因子。

5. 权利要求 1 的组合物, 其中所述的第一种和第二种类型的转移因子的总重包括约 85%重量的所述的第一种类型的转移因子, 和约 15%重量的所述的第二种类型的转移因子。

6. 权利要求 1 的组合物, 其中所述的第一种和第二种类型的转移因子的总重包括约 60%重量的所述的第一种类型的转移因子, 和约 40%重量的所述的第二种类型的转移因子。

7. 权利要求 1 的组合物, 包括按重量计约等量的所述的第一种类型的转移因子和所述的第二种类型的转移因子。

8. 权利要求 1-7 任一项的组合物, 进一步包括多糖。

9. 权利要求 1-7 任一项的组合物, 其中通过第一种类型的来源动物在对所述第一种类型的来源动物所暴露的第一套抗原物质的 T-细胞介导的免疫应答中产生所述的第一种类型的转移因子, 和通过第二种类型的来源动物在对所述第二种类型的来源动物所暴露的第二套抗原物质的 T-细胞介导的免疫应答中产生所述的第二种类型的转移因子, 所述第一套抗原物质和所述第二套抗原物质包括至少一种非共同的抗原物质。

10. 形成根据权利要求 1-7 任一项的组合物的方法，包括将所述的第一种类型的转移因子和所述的第二种类型的转移因子组合。

11. 根据权利要求 1-7 任一项的组合物用于制备提高或引发患者中 T-细胞介导的免疫应答的药物的用途。

包括不同类型转移因子的组合物，制备该组合物的方法，
以及使用该组合物的治疗方法

优先权声明

本申请要求美国专利申请系列号 10/663,353 之申请日的权益，
该申请于 2003 年 9 月 15 日递交，未决。

技术领域

本发明总地涉及包括转移因子的组合物，更具体地，涉及包括来自不同类型来源动物的转移因子的组合物。本发明还涉及制备包括不同类型转移因子的组合物的方法以及涉及引发或提高患者免疫系统的 T-细胞介导的免疫应答的方法。

背景技术

许多致命的病原体从动物界传到人类。例如，猴子是 I 型人免疫缺陷病毒 (HIV-I) 的来源，该病毒导致获得性免疫缺陷综合征 (AIDS) 和猴痘，后者与天花相似；认为居住地面的哺乳动物是埃博拉病毒的来源；果蝠和猪是 Nipah 病毒的来源；Hendra 病毒来自马；引起“香港流感”的病毒源自鸡；以及野生鸟类，尤其是鸭，是许多致命流感病毒的来源。许多疾病也具有动物储存库。例如，小鼠携带汉坦病毒，大鼠携带黑鼠疫，以及鹿携带莱姆病。

免疫系统

脊椎动物的免疫系统是配备用来识别侵入的病原性生物如寄生虫、细菌、真菌和病毒并保护身体免遭其侵害的。脊椎动物的免疫系统通常包括细胞组分和非细胞组分。

免疫系统的细胞组分包括通常所说的“淋巴细胞”或白细胞，其存

在几种类型。成熟免疫系统的细胞组分通常引起对入侵病原体的初次、非特异性应答，以及参与对病原体的二次、特异性应答。

对病原体感染的初次或初始应答中，称为吞噬细胞的白细胞定位并攻击入侵病原体。通常，吞噬细胞将内在化，或“吃掉”病原体，然后消化病原体。此外，白细胞在应答致病感染中生产并分泌化学物质，预期该化学物质攻击病原体或有助于指导对病原体的攻击。

只有当入侵病原体感染持续逃避初次免疫应答时，才需要对病原体的特异性、二次免疫应答。因为这种二次免疫应答通常是延迟的，因此也称为“迟发型超敏反应”。哺乳动物，靠其自身，通常直至病原体感染后约七(7)至约十四(14)天才引发对病原体的二次免疫应答。二次免疫应答也被称为对特异性病原体的获得性免疫。病原体具有一种或多种特征蛋白，其称为“抗原”。二次免疫应答中，称为B淋巴细胞或“B-细胞”和T淋巴细胞或“T-细胞”的白细胞“学习”识别病原体的一种或多种抗原。B-细胞和T-细胞一起起作用来产生称为“抗体”的蛋白质，其对于病原体上的一种或多种特定抗原是特异性的(例如，经构造来结合或“识别”所述抗原)。

T-细胞主要引起对病原体或抗原物质的二次免疫应答或迟发型超敏反应。存在三种类型的T-细胞：T-辅助细胞、抑制性T-细胞和抗原特异性T-细胞，后者还称为细胞毒性(意思是“细胞杀伤”)T-淋巴细胞(CTL)或T-杀伤细胞或天然杀伤(NK)细胞。T-辅助细胞和抑制性T-细胞，尽管对某些抗原不是特异性的，但是执行调节功能(例如，通常伴随感染的炎症)，该调节功能帮助从感染宿主除去病原体或抗原物质。

抗体，其只构成免疫系统非细胞组分的一部分，识别特异性抗原并因此认为是“抗原特异性的”。然后产生的抗体主要帮助白细胞定位并消除身体中的病原体。通常，一旦白细胞产生针对病原体的抗体，白细胞及其所有的远祖细胞持续产生抗体。消除感染后，少量与所识别抗原对应的T-细胞和B-细胞保持于“休眠”状态。当相应的致病物质或抗原物质再次感染宿主时，“休眠”T-细胞和B-细胞激活并在约

四十八(48)小时内诱导快速的免疫应答。通过如此的应答,免疫系统引发对病原体的二次免疫应答,认为免疫系统具有对该病原体的“记忆”。

还知道哺乳动物的免疫系统产生较小的蛋白,称为“转移因子”,作为对感染病原体二次免疫应答的一部分。转移因子是哺乳动物免疫系统的另一种非细胞组分。认为抗原特异性转移因子结构上与抗体类似,但是分子大小小得多。抗原特异性转移因子和抗体都包括抗原特异性位点。此外,转移因子和抗体都包括与其各自效应细胞上受体位点相互作用的高度保守区域。转移因子和抗体分子中,第三个区域,“衔接物”,连接抗原特异性位点和高度保守区域。

转移因子在免疫系统中的作用

转移因子是淋巴细胞的低分子量分离物。狭义地说,转移因子可具有对单个抗原的特异性。美国专利 5,840,700 和 5,470,835,两者都是颁发给 Kirkpatrick 等的(此后共同称为“Kirkpatrick 专利”),公开了对某些抗原具有特异性的转移因子的分离。更广义地说,已经从单克隆淋巴细胞的细胞培养物产生“特异性”转移因子。即使这些转移因子是针对单个病原体产生的,它们也具有对该病原体多个抗原位点的特异性。因此,认为这些转移因子是“病原体特异性的”,而不是抗原特异性的。同样地,从已经感染特定病原体的宿主得到的转移因子是病原体特异性的。尽管由于当特定抗原存在时它们引发二次免疫应答的能力通常在本领域中将这样的制品称为“抗原特异性的”,但是具有不同特异性的转移因子也可以存在于这样的制品中。因此,甚至所称的“抗原特异性的”,病原体特异性转移因子制品也可以对多种抗原是特异性的。

此外,认为抗原特异性和病原体特异性转移因子可以导致宿主来引发对病原体或抗原的迟发型超敏反应免疫应答,该转移因子分子对所述病原体或抗原不是特异性的。转移因子至少“招引”非特异性 T-细胞、诱导性 T-细胞和抑制性 T-细胞至感染病原体或抗原物质,以促进

对感染病原体或抗原物质的二次免疫应答或迟发型超敏反应。

通常，转移因子包括蛋白质的分离物，该蛋白质是从免疫活性哺乳动物来源获得的，分子量小于约 10,000 道尔顿 (D)。已知当体外或体内加入哺乳动物免疫细胞系统中时，转移因子提高或正常化受体哺乳动物免疫系统的应答。

新生儿的免疫系统通常没有足够发育或“成熟”来有效保护新生儿免遭入侵病原体的侵害。此外，在出生前，许多哺乳动物通过其母亲使之不受各种病原体的侵害。因此，许多新生哺乳动物不能立即引发对各种病原体的二次应答。相反地，通常其母亲给予了新生哺乳动物对病原体的二次免疫。已知母亲加强新生儿免疫系统的一种方式是为新生儿提供一套转移因子。哺乳动物中，母亲在初乳中给新生儿提供转移因子，初乳通常在一天或两天后由母亲的乳汁替代。转移因子主要将母亲的获得性、特异性（即，迟发型超敏）免疫性传递给新生儿。该传递的免疫性通常调节新生儿免疫系统的细胞以抗原特异性方式以及以抗原或病原体非特异性方式反应来对抗病原体，直至新生儿的免疫系统能够独立地保护新生儿免遭病原体的侵害。因此，当转移因子存在时，调节新生儿的免疫系统以超敏应答对病原体作出反应，如以典型的迟发型超敏应答发生的超敏反应。因此，认为转移因子“助推起动”了免疫系统对病原体的反应性。

近些年已经进行了许多涉及转移因子的研究。通常，认为转移因子是具有约四十四 (44) 个氨基酸长度的蛋白质。转移因子通常具有约 3,000 至约 5,000 道尔顿 (Da)，或约 3kDa 至约 5kDa 的分子量，但是转移因子分子可能具有该范围外的分子量。还认为转移因子包括三个功能部分，其中每个部分包括不同类型的转移因子分子：诱导部分；免疫抑制部分；和抗原特异性部分。本领域中许多人认为转移因子还包括核苷部分，其可以连接蛋白分子或与其分开，该核苷部分可以提高转移因子导致哺乳动物免疫系统引发二次免疫应答的能力。核苷部分可以是转移因子的诱导部分或抑制部分的一部分。

认为抗原特异性转移因子的抗原特异性区域包括约八个 (8) 至约

十二(12)个氨基酸。认为约十个(10)氨基酸的第二个高度保守区域是非常高亲合性的T-细胞受体结合区域。剩余的氨基酸可以用来连接两个活性区域或可以具有另外的,至今未发现的特性。转移因子分子的抗原特异性区域,其与抗体已知的抗原特异性结构类似,但是分子量大小小得多,看来似乎是高变区并适合识别一种或多种病原体上的特征蛋白。认为诱导部分和免疫抑制部分给予了转移因子调节免疫系统各种细胞的能力,使得细胞更充分地应答其环境中的病原刺激。

非细胞免疫系统组分的来源

按照惯例,已经从奶牛的初乳中获得转移因子,如通过Wilson等的美国专利4,816,563中所述的方法(下文中称为“Wilson”)。尽管奶牛通常产生大量初乳且因此在相对短的时间段内产生大量转移因子,但是奶牛每年只有约一天或一天半产初乳。因此,奶牛既不是转移因子的恒定来源也不是转移因子的有效来源。

还从多种其它哺乳动物来源获得了转移因子。例如,在研究转移因子中,已经将小鼠用作转移因子的来源。通常将抗原皮下引入小鼠中,然后在对抗原产生迟发型超敏反应后将小鼠处死。此后从小鼠的脾细胞中获得转移因子。

尽管通常使用不同机理来产生抗体,抗体的原始来源也可以是哺乳动物。例如,可以通过如下方法获得单克隆抗体,给小鼠、兔子或另一种哺乳动物注射抗原,从哺乳动物获得产生抗体的细胞,然后将产生抗体的细胞与无限增殖化细胞融合来产生杂交瘤细胞系,其将在细胞几个世代的整个过程中,因此在长时间内持续产生单克隆抗体。

已经从多种来源获得针对哺乳动物病原体的抗体,这些来源包括小鼠、兔子、猪、牛和其它哺乳动物。此外,导致一些人类疾病如感冒的病原体,已知起源于鸟类。因为已经认识到鸟类(即,鸟)免疫系统和哺乳动物免疫系统非常相似,一些研究者已经转向将鸟作为产生抗体的来源。

通过将抗原引入蛋中已经获得对感染哺乳动物的病原体或“哺乳动

物病原体”具有特异性的鸟抗体。或者，将来源动物暴露于抗原后，抗体可以存在于蛋中，抗原包括哺乳动物病原体的抗原。美国专利 5,080,895，于 1992 年 1 月 14 日颁发给 Tokoro（下文中称为“895 专利”），公开了一种方法，包括给母鸡注射导致新生哺乳动物肠感染疾病的病原体。然后母鸡产生对这些病原体具有特异性的抗体，其将存在于母鸡产的蛋中。“895”专利公开了包括这些病原体特异性抗体的组合物及其治疗和预防新生小猪和牛犊肠疾病的用途。然而，用鸟抗体治疗哺乳动物的病原体感染可能具有不良结果，因为哺乳动物的免疫系统可以通过引发针对体自身的免疫应答来消极地应答大的鸟抗体分子。此外，由于哺乳动物的免疫系统不因鸟抗体识别某些病原体的能力或鸟抗体对这类病原体的抗原的特异性而将其识别为有用的，鸟抗体通常不能在哺乳动物中引发所需的免疫应答。

还已知可以从蛋获得转移因子。Hennen 等的美国专利 6,468,534（下文中称为“Hennen”）描述了一种方法，通过该方法将雌性小鸡（即，母鸡）暴露于一种或多种抗原，导致小鸡引发免疫应答，免疫应答包括二次免疫应答。二次免疫应答的结果是，转移因子分子存在于鸡的蛋中。然后将蛋进行加工来提供其中存在转移因子的产品。这样的产品可以采取喷雾干燥或冷冻干燥或冻干蛋粉的形式，并可以包括蛋的全部或部分。然后将蛋粉直接掺入明胶胶囊中或与其它物质混合然后引入明胶胶囊。

图 2 图示了通常用于将蛋粉形式的蛋衍生的鸟转移因子包入胶囊的一种类型的装胶囊设备。该装胶囊设备 20 包括组分供料斗 24，进料站 28，以及每个组分供料斗 24 和进料站 28 之间传送的推进加料器 26。推进加料器 26 将全蛋粉从组分供料斗 24 传送至进料站 28。

当推进加料器 26 运行时，其发热至超过胆固醇相对低熔点的温度，胆固醇来自蛋粉中的蛋黄。温热的胆固醇是粘性的，覆盖了推进加料器 26，与此连通的管道，和进料站 28，因此降低了装胶囊设备 20 运转的效率。因此，必须定期拆卸并清洗装胶囊设备，可能花费相当长的时间（例如，长达约 8 小时），使得装胶囊设备 20 的生产力显著降

低，并因此显著降低以此形成的胶囊数量。因此，加工全蛋粉来获得含有转移因子的产品稍微有些不理想。

此外，源自单个来源动物产品（例如，蛋或初乳）的组合物通常只包括对来源动物所暴露的抗原具有特异性的转移因子分子。这样有限暴露的结果可能是含有这样转移因子的组合物在预防或治疗某些类型的感染或病症中的有效性也是有限的。

因此，需要可用于促使所治疗患者的免疫系统引发对更宽范围病原体的免疫应答的组合物，以及需要提高装胶囊和其它形成组合物设备的运转效率和生产力的方法。

发明内容

本发明包括引发患者中 T-细胞介导的免疫应答的组合物。该组合物包括来自至少两种不同类型来源动物的转移因子。如在此所用的关于来源动物的术语“类型”，描述了可以从其获得转移因子的来源动物并涉及不同纲的来源动物（例如，哺乳动物、鸟类、爬行动物、两栖动物、昆虫，等）。如在此所用的术语“类型”，也涉及来自不同亚纲、目（例如，偶蹄目、灵长目、食肉动物等）、科（牛科、人科、猫科，等）、亚科、属（例如，牛、人、家猫，等），甚至种和亚种的来源动物。在此使用关于转移因子的术语“类型”表示从其获得转移因子的来源动物的类型。

组合物的示范性实施方案包括来自哺乳动物和非哺乳动物来源动物两者的转移因子，转移因子的类型在此也分别称为“哺乳动物转移因子”和“非哺乳动物转移因子”。作为非限制性实例，哺乳动物转移因子可以以初乳或其部分或提取物包括于组合物中，其在此总地称为“初乳衍生产物”或如本领域已知的其它形式（例如，作为白血球（白细胞）提取物，作为脾的（“来自脾的”）提取物，等）。还例如，示范性组合物的非哺乳动物转移因子可以从蛋或其部分或提取物获得，其在此也称为“蛋衍生产物”。已经发现当将不同类型的转移因子组合并给药于所治疗的动物（例如，哺乳动物）时，发生了一定

的协同作用。

当本发明的组合物包括初乳衍生产物和蛋衍生产物时，这两种产物可以以大约相等的量（例如，以总混合物的重量、体积等计），或初乳衍生产物和蛋衍生产物中的一种比另一种多的量包括在混合物中。实验结果表明来自具有高度依赖性幼崽的来源动物如奶牛的转移因子，诱导了相对快的二次免疫应答，伴随相对快的无反应性（即，白细胞对转移因子分子敏感性的缺乏）建立。来自具有独立幼崽的来源动物如鸡或其它“鸚鸡类”鸟类的转移因子，没有诱导快的二次免疫应答，但是确实提供了更持久的二次免疫应答。因此，可以调整初乳衍生的转移产物和蛋衍生产物的相对浓度来引发二次免疫应答发生或持续特定的时间段。

引入本发明教导的组合物中还可以包括另外的成分。例如，本发明的组合物可以包括一种或多种维生素、矿物质、蛋白质或天然产物（例如，草药、蘑菇、根，等）或其提取物。特别地，认为多糖在本发明组合物引发治疗动物二次免疫应答的有效性中提供进一步的协同作用。示范性多糖以 β -葡聚糖和蘑菇提取物（当然，其包括其它成分）的形式可获得。

另一方面，本发明包括加工或制造包括转移因子的蛋衍生产物的方法。本发明的加工或制造方法包括在将蛋衍生产物引入制造或其它加工设备之前或同时，将基本上无脂肪的成分如初乳衍生产物和蛋衍生产物混合，初乳衍生产物可以包括或不包括转移因子。装胶囊是其中可以使用这样技术的加工或制造方法的一个实例。

另外，本发明包括降低用于加工蛋衍生产物的制造或其它加工设备如装胶囊设备的清洗频率的方法。该方法包括在蛋衍生产物引入加工设备之前或同时，将少脂肪或基本上无脂肪的物质如初乳衍生产物和蛋衍生产物混合。

本发明还包括治疗患者的方法。引入本发明教导的治疗方法包括将根据本发明的组合物给药于患者。因为组合物包括转移因子，所以将组合物给药于患者将促使患者的免疫系统引发 T-细胞介导的免疫应

答或将通过已经在进行中的患者的免疫系统来提高 T-细胞介导的免疫应答。

根据随后的说明、附图和所附的权利要求，对本领域普通技术人员来说本发明的其它方面和优势将变得显而易见。

附图说明

在附图中，描绘了本发明各个方面的示范性实施方案：

图 1 描绘了可以使引入本发明教导的组合物具体化的方式的实例；

图 2 是装胶囊设备的图示，该装胶囊设备可以用于将本发明组合物的粉末状实施方案引入明胶胶囊中；和

图 3 图示说明了示范性测试实验方案，进行该测试实验方案来测定本发明各方面的功效。

实施本发明的最佳方式

引入本发明教导的组合物的示范性实施方案包括来自至少两种不同类型来源动物的转移因子。作为非限制性实例，根据本发明的组合物可以包括哺乳动物转移因子和非哺乳动物转移因子。

本发明组合物不同类型的转移因子可以从任何合适的来源获得。例如，可以从初乳获得哺乳动物转移因子，如 Wilson 中所述的或如本领域已知的（例如，白细胞（白血球）提取物，脾的（即，“来自脾的”）提取物，等）。非哺乳动物转移因子的示范性来源是动物如鸡的蛋，如 Hennen 中所述的。因此，根据本发明的组合物可以包括第一种成分，其包括初乳或其部分或提取物，在此将其总地称为“初乳衍生产物”，以及第二种成分，包括蛋或其部分或提取物，在此也称为“蛋衍生产物”。

由于引入本发明教导的组合物包括来自不同类型来源动物的转移因子，所以它们可以包括具有比常规含有转移因子的组合物更宽阵列抗原特异性或病原体特异性的转移分子。因此，根据本发明的组合物能够使得治疗动物的免疫系统来引发 T-细胞介导的免疫应答以对抗

比常规含有转移因子的组合物有效对抗的那些更宽阵列的病原体。这是因为不同类型的动物可以暴露于不同类型的抗原或病原体，如通过接种疫苗，动物的环境，等等。此外，已知某些动物中的一些病症通过多重感染引起，甚至进一步扩展根据本发明的组合物的特异性。例如，一种或多种病原体对宿主的免疫系统可以具有不利影响（例如，抑制或垄断），同时可以允许一种或多种其它病原体来引起宿主的病况。作为另一实例，一些病况由病原体的组合引起。

例如，包括来自奶牛和鸡两者的含有转移因子成分的组合物将包括对奶牛所暴露的抗原和病原体具有特异性的转移因子分子，以及对鸡所暴露的抗原或病原体具有特异性的转移因子分子。因为奶牛和鸡两者均可能暴露于另一者所未暴露的抗原或病原体，这样的组合物可以包括具有只包括来自奶牛的转移因子（例如，通过初乳衍生产物）或来自鸡的转移因子（例如，通过蛋衍生产物）的组合物中不存在的抗原或病原体特异性的转移因子分子。

就重量或体积测量而言，本发明的组合物可以包括约相同量的初乳衍生产物和蛋衍生产物（即，约50%的初乳衍生产物和约50%的蛋衍生产物）。或者，引入本发明教导的组合物可以包括比蛋衍生产物（约15%或40%，以重量计）多量的初乳衍生产物（例如，约85%或60%，以初乳衍生产物和蛋衍生产物的总重来计）。作为另一可供选择的方案，本发明的组合物包括比初乳衍生产物（例如，约40%或15%重量）多量的蛋衍生产物（例如，约60%或85%重量）。作为另一实施例，引入本发明教导的组合物包括约1%重量的初乳衍生产物和蛋衍生产物中的一种，和约99%重量的初乳衍生产物和蛋衍生产物中的另一种。尽管提供了初乳衍生产物和蛋衍生产物的特定量，其任意组合是在本发明范围之内。

除了包括转移因子的来源（例如，初乳衍生产物，蛋衍生产物，等），引入本发明教导的组合物可以包括一种或多种其它成分，包括但不限于，维生素、矿物质、蛋白质、天然产物（例如，草药，蘑菇，根，等，或其提取物），等等。其它成分可以用于对施用该组合物的患者

提供更多的优势，或可以提高组合物中转移因子引发或增强二次免疫应答或延迟型超敏反应的能力。

如图1中所示，在不限制本发明的范围的情况下，根据本发明的组合物10可以采取粉末或颗粒物质的形式，其包括多种类型的转移因子（未显示）。为了确保将合适和精确剂量的组合物10给药于患者（未显示），可以将组合物10包含于公知类型且本领域技术人员容易获得的明胶胶囊12中。结果是图示的胶囊14。或者，根据本发明的组合物可以具体化为片剂，所谓的“囊片”，未包胶的粉末、液体、凝胶或任何其它药物学上可接受的形式。将本发明的组合物放入任何这样形式中的合适方法对本领域技术人员而言是显而易见的。

制造或形成根据本发明的组合物的方法的示范性实施方案中，可以将第一种类型的转移因子与第二种类型的转移因子组合。此外，可以将一种或多种其它类型的转移因子与第一种和第二种类型的转移因子组合。组合的不同类型的转移因子可以是基本上纯化的转移因子，包括转移因子的成分或“产物”，或其任何组合。

再次转向图2，提供了形成如图1中所示的填充了组合物的胶囊14的方法，只是作为制造引入本发明教导的组合物的方法的实例。如所示的，使用工业中已知类型的标准装胶囊设备20，如从CapPlus Technologies of Phoenix, Arizona可获得的SF-135胶囊填充机制得组合物10和形成填充了组合物的胶囊14。

除了一个或多个组分供料斗24，与每个组分供料斗24连接的推进加料器26，以及与每个推进加料器26和其中包含推进加料器26的导管27连通的进料站28之外，装胶囊设备20还包括一个或多个胶囊料斗30，以及用于将胶囊体12a和/或胶囊帽12b运送至进料站28的风力给料系统32。

因为装胶囊设备将混合物引入患者可以吞咽的胶囊中，通常优选以粉末形式将基本上无脂肪的成分和蛋衍生产物引入装胶囊设备中。相对于蛋衍生产物中存在的脂肪浓度，基本上无脂肪的成分稀释了混合物中存在的脂肪（例如，来自蛋黄）的量或浓度。因此，可以调整基

基本上无脂肪产物和蛋衍生产物的相对量来提供最小化装胶囊设备堵塞的脂肪浓度。

继续组合物 10 的实例，其包括作为基本上无脂肪成分如初乳衍生产物 10a 和蛋衍生产物 10b，初乳衍生产物 10a 和蛋衍生产物 10b 可以同时引入装胶囊设备 20 的单个组分供料斗 24 中。例如，初乳衍生产物 10a 和蛋衍生产物 10b 可以在其引入组分供料斗 24 时混合，如所示的，或预混合。通过将脂肪含量比蛋衍生产物 10b 低的物质与蛋衍生产物 10b 一起引入组分供料斗 24 中，所得到混合物的脂肪含量（例如，浓度）低于蛋衍生产物 10b 的脂肪含量，降低或消除了组分供料斗 24、推进加料器 26、管道 27、进料站 28 或装胶囊设备 20 的任何其它部件将被胆固醇或脂肪覆盖的可能性。

将预定量的组合物 10 引入在进料站的胶囊体 12a 后，将装满的胶囊体 12a 运送至胶囊封闭站 34，在那里装配胶囊帽 12b 以将组合物 10 完全包含在胶囊 12 中。

另外，填充了组合物的胶囊 14 只是可以使引入本发明教导的组合物具体化的方式的一个实例。本发明的组合物还可以采取其它形式，如片剂、囊片、松散的粉末、液体、凝胶、填充了液体或填充了凝胶的胶囊，本领域已知的任何其它药物学上可接受的形式，每种形式都可以通过已知的方法制得。

可以通过任何合适的方法（例如，肠内、胃肠外等）将本发明的组合物给药于患者（例如，哺乳动物，如人、狗或猫，鸟，爬行动物，鱼，等），当然，取决于组合物的形式。例如，实际上任何形式的组合物（例如，胶囊、片剂、囊片、粉末、液体、凝胶，等）都可以口服给药（即，通过患者的口），只要该组合物包括本领域已知类型的药物学上可接受的载体，该载体将防止由于持续存在于患者消化道中的条件而引起的转移因子分子的降解或破坏而基本上不会影响组合物中所含转移因子分子的功效。

给药于患者的组合物或组合物中转移因子的剂量取决于各种因素，包括但不限于，患者的体重，患者的健康状况，或患者已经暴露的环

境（例如，病原体）。

将组合物给药于患者可以促使患者的免疫系统引发针对一种或多种抗原或病原体的 T-细胞介导的免疫应答。因此，可以将组合物给药于患者来治疗患者经受的病况，预防患者呈现由特定病原体引起的病况，或只是提高患者免疫系统的整体健康和击退感染或入侵病原体的能力。

具体实施方案

以下实施例说明了包括来自多种类型来源动物的转移因子的组合物促使所治疗患者的免疫系统引发对靶细胞形式的各种病原体的 T-细胞介导的免疫应答的提高了的能力。实施例中所用的比例基于特定测试样品中所用材料（例如，蛋粉，初乳粉）的重量。

实施例 1

实施例 1 中，初步试验，靶细胞包括细菌（例如，肺炎衣原体（*C. pneumoniae*）和幽门螺杆菌（*H. pylori*））和病毒（例如，单纯疱疹病毒-1（HSV-1）和单纯疱疹病毒-2（HSV-2），以病毒感染细胞的形式存在，以及癌，或恶性细胞（例如，K562 红白血病细胞）。

用于进行这些测定的体外技术为所谓的“铬-51 释放测定法”，其包括测量由受到 NK 细胞攻击的细胞所释放的放射性铬-51（Cr-51）的量。例如，可以使用 Beckman 2000 Gamma Counter 获得放射性测量，其可以从 Beckman Coulter, Inc., Fullerton, California 获得。

初步试验的实施例 1 中，营养培养基和细胞环境中提供了固定量（每毫升营养培养基和细胞环境 5 微克）的粉末状组合物，以及基本上固定量的 NK 细胞。所用的粉末状组合物的实例包括漂白的小麦粉，转移因子™（TF），从 4Life Research, LLC, Sandy, Utah 可获得，转移因子 Plus™（TFP 或 TF+），也可以从 4Life Research 获得，冻干（即，冷冻干燥的）全蛋粉中可获得的鸟转移因子，以及 TF 和 TFP（在美国销售的配方和在国际上销售的配方）与鸟转移因子的混合物，

比例为约 85%重量的 TF 或 TFP (即, 牛转移因子) 对约 15%重量的鸟转移因子。将粉末状组合物、营养培养基、NK 细胞和靶细胞混合并在测量通过 NK 细胞对靶细胞的破坏所释放的放射性原子之前孵育四小时。每个示范性反应重复进行三次, 将三次反应的结果进行平均。

除了包括一种或多种类型的转移因子之外, TF+还包括多种其它成分, 包括灰树花和香菇、冬虫夏草、肌醇六磷酸、 β 葡聚糖、 β 谷甾醇和橄榄叶提取物。已知灰树花和香菇是多糖的良好来源并促进 T-细胞的功能。冬虫夏草也富含多糖。 β 葡聚糖, 另一类多糖, 也已知是重要的免疫细胞刺激剂。

下表包括用靶细胞和粉末状组合物的每种组合获得的每分钟计数的数据, 以及每种粉末状组合物在引发 NK 细胞介导的针对靶细胞的免疫应答相对于在漂白小麦粉存在下对相同类型和浓度的靶细胞的 NK 细胞介导的免疫应答 (以百分比增加测量) 的功效。

实施例 1

表 1

组合物	靶细胞				
	C. Pneu	H. Py1	K562	HSV-1	HSV-2
自发的	1,256/	1,875/	1,620/	974/	1,476/
面粉	1,323/	1,121/	1,267/	2,017/	1,262/
平均	1,290/	1,498/	1,444/	1,496/	1,365/
TF	2,593/	2,499/	2,445/	2,240/	2,473/
相对于面粉的%增加	96%	123%	93%	11%	96%
相对于平均的%增加	101%	67%	69%	50%	81%
TF+	3,386/	2,701/	3,243/	2,944/	1,956/
相对于面粉的%增加					

	156%	141%	156%	46%	55%
相对于平均的%增加					
	163%	80%	125%	97%	43%
Bov-Av TF	14,857/	11,434/	6,639/	17,910/	10,626/
相对于面粉的%增加					
	1023%	920%	424%	788%	742%
相对于平均的%增加					
	1052%	663%	360%	1098%	679%
Bov-Av TF+US	6,196/	5,543/	4,008/	8,050/	4,693/
相对于面粉的%增加					
	458%	485%	306%	389%	362%
相对于平均的%增加					
	380%	270%	178%	438%	244%
Bov-Av TF+ Intl	5,747/	4,786/	3,640/	7,366/	4,269/
相对于面粉的%增加					
	424%	417%	277%	355%	328%
相对于平均的%增加					
	346%	219%	152%	393%	213%
100%鸟 TF	2,553/	1,860/	2,483/	2,985/	2,183/
相对于面粉的%增加					
	93%	66%	96%	48%	73%
相对于平均的%增加					
	98%	24%	72%	100%	60%

值得注意的是，“TF+”表示的制剂只包括约一半(0.466667)“TF”

表示的制剂中存在的转移因子。因此，本领域的普通技术人员期望对应于以“Bov-Av TF+US”和“Bov-Av TF+Int1”表示的产物诱导的细胞毒性的数据稍微低于以 Bov-Av TF 表示的产物诱导的细胞毒性。相反，这些数字高得多。实际上，看来对应于“Bov-Av TF+US”和“Bov-Av TF+Int1”的数据约高 10 倍多。因此，已经对表 1 进行了适当的校正。此外，从随后的实施例明显看出，已经进行了进一步的测试来评价和证明不同类型转移因子的组合来引发所治疗动物中 T-细胞应答的能力。

列于表 1 中的初步结果显示了将本发明的组合物给药于患者可能会增强通过 NK 细胞实现的，患者针对一种或多种病原体的二次免疫应答或延迟型超敏反应至远远超过由初乳衍生的转移因子和蛋衍生的转移因子单独启动的 NK 细胞活性的程度。实际上，结果显示了引入本发明教导的组合物可导致具有意想不到程度的协同作用的 NK 细胞活性的促进。

鉴于这些结果，进行了进一步的实验来测定更宽范围的本发明各方面的功效。

实施例 2

评价了各种转移因子组合物，包括引入本发明教导的组合物对淋巴细胞在攻击癌细胞中的活性的影响。图 3 图示了评价的实验方案。从健康捐献者获得血液，参照符号 40。通过标准 phycol-urographin 方法，使用密度梯度 $\rho = 1.077 \text{g/cm}^3$ ，从血液的其它成分中分离出单核细胞，包括天然杀伤细胞，参照符号 42。然后将分离的单核细胞，或“效应细胞”，以约 60,000 细胞/100 μl 培养基的稀释度，以 100 μl 的等份引入 96 孔微量滴定平板的孔中，如平板可以以 COSTAR[®] 的商品名称从 Corning Incorporated of Corning, New York 获得，如参照符号 44 所示。

此后，将含有转移因子的测试样品或“添加物”，如以下表 2 至表 5 中所注释的，引入每个孔中，所得到的测试样品浓度为 1mg/ml、0.1mg/ml、0.01mg/ml、0.001mg/ml、0.0001mg/ml 和 0.00001mg/ml，

也如参照符号 44 所示。还使用了没有包括转移因子产物的对照。然后将微量滴定平板放入 CO₂-培养箱中温育 24 小时和 48 小时，条件为 5%CO₂ 气氛，100%湿度，和 37°C 的温度。每个研究变量重复进行三次。

温育后，将约 30,000 个 K-562 肿瘤细胞（即，骨髓成红血细胞增多性人白血病）或“靶细胞”引入每个孔中，如参照符号 46 所示，提供了效应细胞与靶细胞的比例约为 2:1。然后在上述相同的条件下，将效应细胞和靶细胞在 CO₂ 培养箱中温育 18 小时和 24 小时。

此后，如参照符号 48，限定细胞培养物存活力的 MTT 方法，其使用可溶性的黄色溴化物，3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-四唑(MTT)，用于测定每个孔中杀灭的 K-562 肿瘤细胞的数量。该测试中，活细胞将 MTT 还原成 MTT-甲臍(MTT-f)的不溶性紫-蓝色胞内晶体。不能生活的死细胞不能够将 MTT 还原成 MTT-f。因此，可以评价所获得溶液的光学特性来表明各种含有转移因子产物对效应细胞杀灭 K-562 肿瘤细胞的能力的影响。更具体地，MTT 转化成 MTT-f 的强度反映出所研究细胞的脱氢酶活性的总的水平并通过所结合的发酵系统的活性来调节；例如，电子传递的呼吸链，等。

如本领域已知的，在 5mg/ml Hanks' 盐水溶液中制备该实施例中所用的 MTT 溶液。将相等体积等分的 MTT 溶液引入微量滴定平板的孔中，然后在上述相同的条件下，将平板在 CO₂ 培养箱中温育约三小时至约四小时。然后将微量滴定平板在约 1,500rpm 下离心约 5 分钟，除去上清液，并将 150μl 等份的二甲基亚砷(DMSO)引入孔中。

然后将微量滴定平板在室温下静置 30 分钟，使甲臍晶体完全溶解。此后，使用多孔分光光度计(LABSYSTEMS MultiScan MSS 340，从 Cambridge Scientific Products of Cambridge, Massachusetts 可获得)在波长 540nm 下评价每个微量滴定板中的每个孔。

如参照符号 50 所示，然后将用分光光度计获得的光密度(OD)测量值用于计算每个孔的细胞毒性指数(%) (CI (%))。根据标准的公式进行 CI (%) 的计算：

$$CI (%) = [I - (OD_{i,t} - OD_{c,t}) / OD_{c,t}] * 100,$$

其中 OD_{ext} 是实验系列中的 OD, OD_c 是只包括效应细胞的孔中的 OD, 而 OD_t 是只包括靶细胞的孔中的 OD.

表 2
24 小时时的 CI (%)

添加物	1	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
TF (牛)	35	17	29	18	18	15
TF+ (国际制剂)	13.5	20.3	35	28.5	10	20.3
TF+ (85:15, 初乳: 鸟)	13.3	10.6	29	30	21.6	76
TF (70:30, 初乳: 鸟)	80	47	24	12	30	26.3
TF (鸟)	16	37	47	47	16.1	34.3
无 (自发性细胞死亡) ($\pm 6\%$)	18	18	18	18	18	18

表 3
24 小时时 CI 的 %增加 (相对于自发的 CI)

添加物	1	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
TF (牛)	94	-6	61	0	0	-17
TF+ (国际制剂)	-25	13	94	58	-44	13
TF+ (85:15, 初乳: 鸟)	-26	-41	61	67	20	322
TF (70:30, 初乳: 鸟)	344	161	33	-33	67	46
TF (鸟)	-11	106	161	161	-11	91
无 (自发性细胞死亡) ($\pm 6\%$)	0	0	0	0	0	0

表 4
48 小时时的 CI (%)

添加物	1	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
TF (牛)	19.3	50	54.7	15.3	40.7	11.3
TF+ (国际制剂)	23.3	12	17	42	48	62
TF+ (85:15)	48	82.7	96.7	69.4	54	91
TF (70:30)	97	94	99	90	96	91
TF (鸟)	68	49	45	35	58	70
无 (自发性细胞死亡) ($\pm 6\%$)	18	18	18	18	18	18

表 5
48 小时时 CI 的%增加 (相对于自发的 CI)

添加物	1	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
TF (牛)	7	178	204	-15	126	-37
TF+ (国际制剂)	29	-33	-6	133	167	244
TF+ (85:15, 初乳: 蛋)	167	359	437	286	200	406
TF (70:30, 初乳: 蛋)	439	422	450	400	433	406
TF (鸟)	278	172	150	94	222	289
无 (自发性细胞死亡) ($\pm 6\%$)	0	0	0	0	0	0

表 2 至表 5 所提供的数据证实了多数测试样品 (即, 含有转移因子的组合物) 刺激了健康供体的淋巴细胞针对 K-562 肿瘤细胞的提高的 (相对于自发性肿瘤细胞死亡) 抗肿瘤活性和细胞毒性活性。

最大的刺激作用出现在 48 小时的结果中, 刺激浓度的最有效范围为约 0.1mg/ml 至约 0.0001mg/ml。包括初乳衍生的转移因子和蛋衍生的转移因子两者的测试样品在给定的实验条件中再次显示出最有效, 裂解了多达 80-98% 的 K-562 肿瘤细胞。

另外，表 5 的结果表明不同类型转移因子的组合，尤其是 85: 15 比例的 TF+和蛋衍生的转移因子，可能比从所治疗动物体内消除不良细胞和病原体的其它治疗过程更有效。更具体地，由于本发明者在等同的测试中认识到，用白细胞介素-2 治疗获得的最佳结果为对 24 小时温育的 K-562 肿瘤细胞 76%的细胞毒性（等于相对于该细胞自发性死亡的 322%增加）和对 48 小时温育的 K-562 肿瘤细胞 88%的细胞毒性（等于相对于该细胞自发性死亡的 389%增加）。

实施例 3

进行了另一证实性测试来证明上述结果并评价更多种本发明组合物对诱导 NK 细胞和其它单核细胞杀灭 K-562 肿瘤细胞的作用。在实施例 3 的测试中使用了实施例 2 中所述的相同实验方案。

每种包括蛋粉和牛初乳粉的多种组合物制剂温育 24 和 48 小时的结果列于表 6 至表 9 中。

表 6

初乳: 蛋	24 小时时的 CI (%)				
	1mg/ml	10 ⁻¹ mg/ml	10 ⁻² mg/ml	10 ⁻³ mg/ml	10 ⁻⁴ mg/ml
85: 15	45	29	67.5	28	50
50: 50	67.5	23	66	63.5	22.5
30: 70	64.6	68.8	39.1	45.6	44
15: 85	55.2	28	20.1	20	18.8
无 (自发性细胞死亡) (±6%)	18	18	18	18	18

表 7

初乳: 蛋	24 小时时 CI 的增加% (相对于自发的 CI)				
	1mg/ml	10 ⁻¹ mg/ml	10 ⁻² mg/ml	10 ⁻³ mg/ml	10 ⁻⁴ mg/ml
85: 15	150	61	275	56	178
50: 50	275	28	267	253	25
30: 70	259	282	117	153	144
15: 85	207	56	12	11	4
无 (自发性细胞死亡) (±6%)	0	0	0	0	0

表 8
48 小时时的 CI (%)

初乳: 蛋	1mg/ml	10 ⁻¹ mg/ml	10 ⁻² mg/ml	10 ⁻³ mg/ml	10 ⁻⁴ mg/ml
85: 15	46	60	69	67	64
50: 50	69	74	74	63	49
30: 70	75	83	67	63	45
15: 85	77	69	51	42	40
无 (自发性细胞死亡) (±6%)	18	18	18	18	18

表 9
48 小时时 CI 的 %增加 (相对于自发的 CI)

初乳: 蛋	1mg/ml	10 ⁻¹ mg/ml	10 ⁻² mg/ml	10 ⁻³ mg/ml	10 ⁻⁴ mg/ml
85: 15	156	233	283	272	256
50: 50	283	311	311	250	172
30: 70	317	361	272	250	150
15: 85	328	283	183	133	122
无 (自发性细胞死亡) (±6%)	0	0	0	0	0

表 6 至表 9 的数据, 尤其是表 6 和表 8 的数据, 显示了当根据本发明的组合物中存在较多的初乳衍生的转移因子时 (例如, 85: 15), 初始的 (24 小时测试) 应答高于由包括较少初乳衍生的转移因子的组合物产生的应答, 但是随着时间没有显著增强 (48 小时测试)。这些结果表明可以相对快地发生对牛衍生的转移因子的无反应性 (即, 降低的敏感性)。

包括更多蛋衍生的转移因子的组合物 (例如, 50: 50 和 30: 70) 提供了类似的短期结果 (24 小时测试), 但是提供了更好的长期 (48 小时测试) 结果。

这些结果支持组合不同类型的转移因子提供了协同效应的理论。它们还表明了可以调节组合物中不同类型转移因子的比例来提供理想的结果。

实施例 4

表 10

CI (%)

		1	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
		mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
24	TF+ (85:15) (初乳:蛋)	13.3	10.6	29	30	21.6	7
小时	85: 15 (初乳:蛋)	45	29	67.5	28	50	
48	TF+ (85:15) (初乳:蛋)	48	82.7	96.7	69.4	54	9
小时	85: 15 (初乳:蛋)	46	60	69	67	64	

实施例 4 比较了以上实施例 2 和实施例 3 中所获得的数据来说明在 TF+ 中包括另外的成分, 主要是多糖, 提高了引入本发明教导的组合物诱导 NK 细胞和其它单核血细胞杀灭 K-562 肿瘤细胞并因此引发二次免疫应答的效率。

值得注意的是, 48 小时测试中, 在其中包括多糖, 在所有高于 0.0001mg/ml 稀释度下细胞毒性大于相应的缺少多糖的组合物。因此, 认为多糖提高了两种或多种类型的转移因子的协同作用, 或在引发二次免疫应答中提供另外的协同作用。

尽管以上的描述包含许多细节, 但是这些不应认为构成对本发明范围的限制, 而仅仅是提供了一些本发明优选实施方案的说明。同样地, 可以设计其它实施方案而不脱离本发明的精神或范围。可以结合使用不同实施方案的特征。因此, 本发明的范围只通过附加的权利要求及其法律等价物, 而不是通过之前的描述来表明和限定。因此包括对在此公开的落入权利要求的意思和范围内的本发明的所有添加、删除和修改。

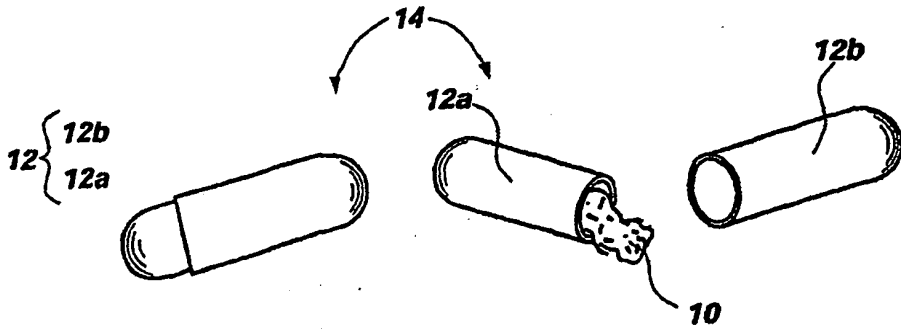


图1

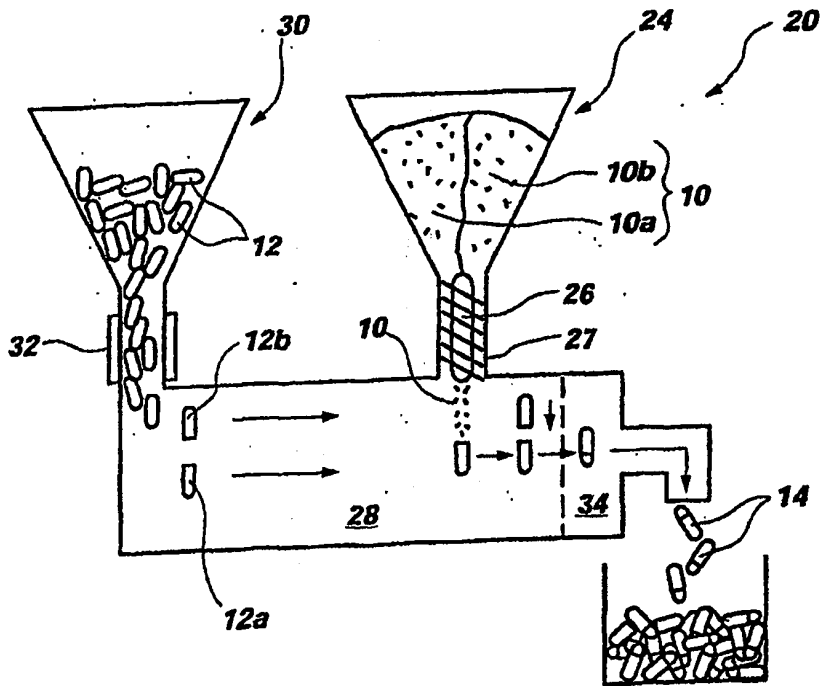


图2

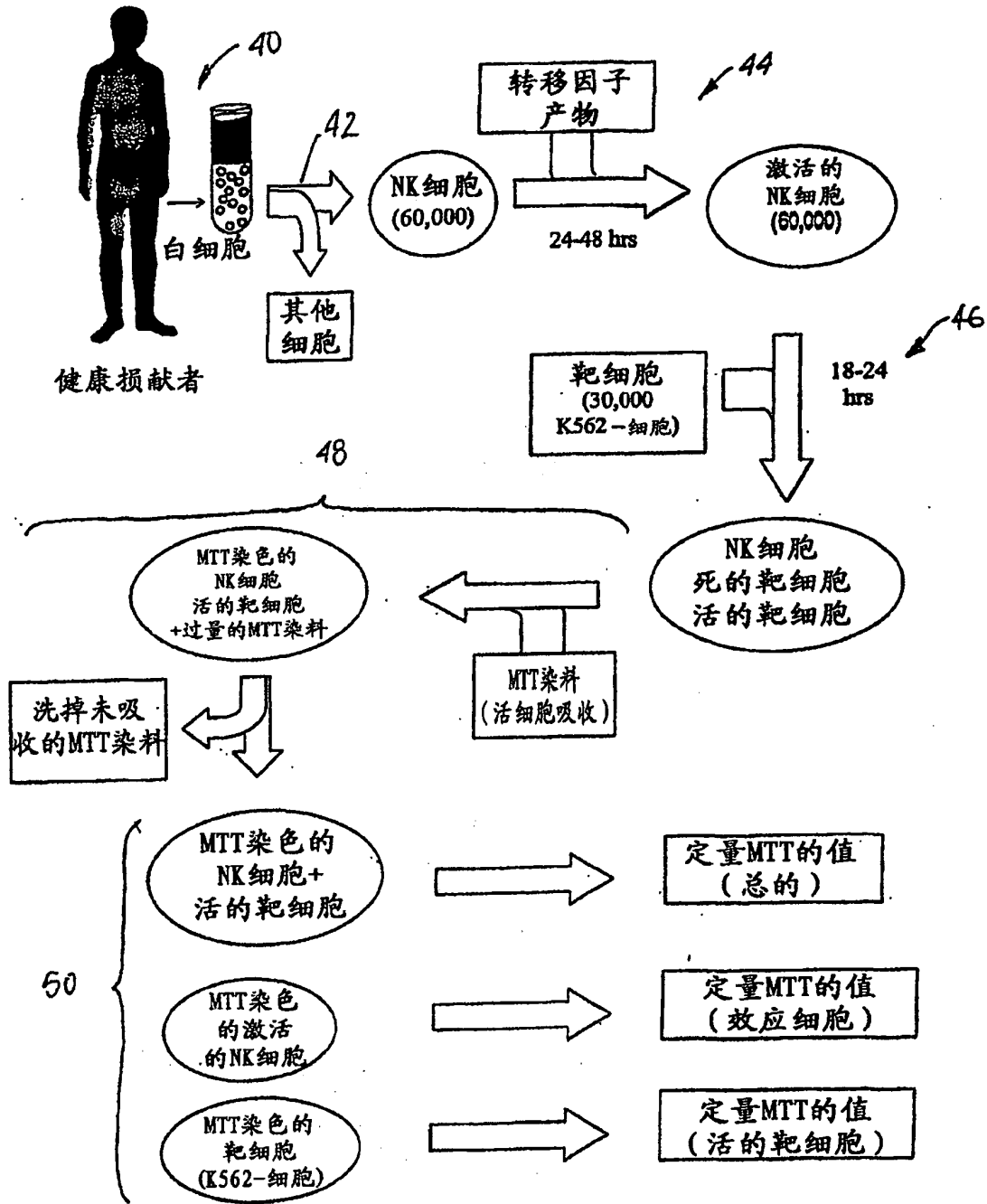


图 3