

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4880463号
(P4880463)

(45) 発行日 平成24年2月22日(2012.2.22)

(24) 登録日 平成23年12月9日(2011.12.9)

(51) Int.Cl. F I
A 6 1 K 38/00 (2006.01) A 6 1 K 37/02
A 6 1 P 37/04 (2006.01) A 6 1 P 37/04

請求項の数 20 (全 22 頁)

(21) 出願番号	特願2006-527016 (P2006-527016)	(73) 特許権者	503107808
(86) (22) 出願日	平成16年9月15日(2004.9.15)		フォーライフ リサーチ エルエルシー
(65) 公表番号	特表2007-505913 (P2007-505913A)		4 L I F E R E S E A R C H
(43) 公表日	平成19年3月15日(2007.3.15)		アメリカ合衆国 84070 ユタ州 サ
(86) 国際出願番号	PCT/US2004/030307		ンディ ウェスト 300 サウス 98
(87) 国際公開番号	W02005/028622		50
(87) 国際公開日	平成17年3月31日(2005.3.31)	(74) 代理人	100140109
審査請求日	平成19年8月22日(2007.8.22)		弁理士 小野 新次郎
(31) 優先権主張番号	10/663, 353	(74) 代理人	100075270
(32) 優先日	平成15年9月15日(2003.9.15)		弁理士 小林 泰
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100080137
前置審査			弁理士 千葉 昭男
		(74) 代理人	100096013
			弁理士 富田 博行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 異なる種類のトランスファー因子を含む組成物、該組成物の製造方法、及び該組成物を用いた治療方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

個体においてT細胞を介した応答を起こすための組成物であって、
トリトランスファー因子；及び、
ウシトランスファー因子；
 を含んでなる、上記組成物。

【請求項 2】

初乳由来製品が前記ウシトランスファー因子を含んでなる、請求項 1 の組成物。

【請求項 3】

前記初乳由来製品がウシの初乳またはウシの初乳の抽出物を含んでなる、請求項 2 に記載の組成物。 10

【請求項 4】

卵由来製品が前記トリトランスファー因子を含んでなる、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 5】

前記卵由来製品がトリの卵またはトリの卵の抽出物を含んでなる、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記卵由来製品と前記初乳由来製品の割合が、治療される動物において即時に免疫応答をもたらすように調整されている、請求項 4 又は 5 に記載の組成物。 20

【請求項 7】

前記卵由来製品と前記初乳由来製品の割合が、治療される動物において免疫応答の延長をもたらすように調整されている、請求項 4 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 8】

前記卵由来製品及び前記初乳由来製品を合わせた重量が、前記初乳由来製品を 99 重量%も、及び前記卵由来製品をわずか 1 重量%含んでなる、請求項 4 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 9】

前記卵由来製品及び前記初乳由来製品を合わせた重量が、前記初乳由来製品を 85 重量%、及び前記卵由来製品を 15 重量%含んでなる、請求項 4 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

10

【請求項 10】

前記卵由来製品及び前記初乳由来製品を合わせた重量が、前記初乳由来製品を 60 重量%、及び前記卵由来製品を 40 重量%含んでなる、請求項 4 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 11】

前記卵由来製品及び前記初乳由来製品を等重量含む、請求項 4 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 12】

多糖をさらに含んでなる、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の組成物。

20

【請求項 13】

トランスファクター因子が、第一の種類の動物源によって、第一の種類の動物源が曝露されている第一の抗原体群に対する T 細胞を介した免疫応答において生成され、そしてウシトランスファクター因子が、第二の種類の動物源によって、第二の種類の動物源が曝露されている第二の抗原体群に対する T 細胞を介した免疫応答において生成され、ここで第一の抗原体群及び第二の抗原体群は、少なくとも 1 つの一般的でない抗原体群を含む、請求項 4 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 14】

請求項 4 ~ 11 又は 13 のいずれか 1 項に記載の組成物を形成するための方法であって、前記卵由来製品と前記初乳由来製品とを組み合わせることを含んでなる、前記方法。

30

【請求項 15】

前記卵由来製品と前記初乳由来製品とを組み合わせることが、前記卵由来製品を加工するために用いられる装置のクリーニング頻度を低減し、そして、前記卵由来製品をカプセル化装置に導入する前または間に、前記初乳由来製品を前記卵由来製品と組み合わせることを含んでなる、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

組み合わせることが、等重量の前記初乳由来製品と前記卵由来製品とを組み合わせることを含んでなる、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

組み合わせることが、前記卵由来製品よりも大きな重量の前記初乳由来製品を、前記卵由来製品と組み合わせることを含んでなる、請求項 15 に記載の方法。

40

【請求項 18】

組み合わせることが、前記卵由来製品よりも小さな重量の前記初乳由来製品を、前記卵由来製品と組み合わせることを含んでなる、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 19】

前記卵由来製品を脱脂することをさらに含んでなる、請求項 15 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

少なくとも 1 つの多糖を、前記卵由来製品及び前記初乳由来製品のうちの少なくとも 1 つと組み合わせることをさらに含んでなる、請求項 15 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の方

50

法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

優先権の主張

本出願は、2003年9月15日に出願された、係属中の米国特許出願第10/663,353号の出願日の利益を主張する。

【0002】

技術分野

本発明は、概して、トランスファー因子を含む組成物に関する。そしてより具体的には、異なる種類の動物源から得たトランスファー因子を含む組成物に関する。本発明はまた、異なる種類のトランスファー因子を含む組成物の製造方法、ならびに個体の免疫系によるT細胞を介した免疫応答を誘発または増強するための方法に関する。

10

【背景技術】

【0003】

背景

多くの致死性病原体が、動物界からヒトへと伝達される。例えば、サルは、後天性免疫不全症候群(AIDS)、及び天然痘に類似したサル痘を引き起こす、I型ヒト免疫不全ウイルス(HIV-I)源であり；地面に住む哺乳動物(ground-dwelling mammals)は、エボラウイルス源であると考えられており；オオコウモリ及びブタは、ニパウイルス源であり；ヘンドラウイルスは、ウマに由来し；「香港風邪(Hong Kong Flu)」に關与するウイルスは、ニワトリを起源とし；そして、野鳥(特に、カモ)は、致死性インフルエンザウイルスのうちの多くの源である。多くの疾患はまた、動物の宿主(reservoir)を有する。一例として、マウスはハンタウイルスを運び、ラットはペストを運び、そしてシカはライム病を運ぶ。

20

【0004】

免疫系

脊椎動物の免疫系は、寄生虫、細菌、真菌及びウイルスなどの侵入病原性生物体を認識し、かつこれらから身体を防御するように備わっている。脊椎動物の免疫系には、典型的には、細胞成分及び非細胞成分が含まれる。

30

【0005】

免疫系の細胞成分には、いわゆる「リンパ球」または白血球が含まれ、それにはいくつかの種類がある。病原体に対する二次的な特異的応答に關与するのみならず、典型的に侵入病原体に対する一次的な非特異的応答も開始するのは、成熟した免疫系の細胞成分である。

【0006】

病原体による感染に対する一次または初期の応答では、食細胞として公知の白血球が、侵入病原体を見つけ、そして攻撃する。典型的には、食細胞が、病原体を内部に取り込むかまたは「食べ」、次いで病原体を消化するであろう。加えて、白血球は、病原体を攻撃するかまたは病原体への攻撃の指示を補助することを目的とする化学物質を、病原性感染に

40

【0007】

侵入病原体による感染が一次免疫応答を免れ続ける場合にのみ、病原体に対する特異的な二次免疫応答が必要とされる。この二次免疫応答は、典型的には遅延するため、「遅延型過敏症」としても公知である。哺乳動物は、自然には、病原体に感染後約7～約14日まで病原体に対する二次免疫応答を典型的には顕在化させないであろう。二次免疫応答はまた、特定の病原菌に対する後天性免疫とも称される。病原体は、「抗原」と称される、1またはそれより多くの特有なタンパク質を有する。二次免疫応答において、Bリンパ球もしくは「B細胞」、及びTリンパ球もしくは「T細胞」として公知の白血球は、病原体の1またはそれより多くの抗原を認識することを「習得する」。B細胞及びT細胞は、と

50

もに作用して、病原体上の1またはそれより多くの特定の抗原に特異的な（例えば、結合あるいは「認識」するように構成された）「抗体」と呼ばれるタンパク質を生成する。

【0008】

T細胞は、病原体もしくは抗原体に対する二次免疫応答または遅延型過敏性免疫応答に、主として関与する。3種類のT細胞：Tヘルパー細胞、Tサプレッサー細胞、及び抗原特異的T細胞があり、それらは、細胞傷害性（「殺細胞」を意味する）Tリンパ球（CTL）またはTキラー細胞またはナチュラルキラー（NK）細胞とも称される。Tヘルパー細胞及びTサプレッサー細胞は、特定の抗原に対して特異的ではないが、感染宿主からの病原体または抗原体の除去を補助する調節機能（例えば、感染に付随して典型的に生じる炎症）を行う。

10

【0009】

免疫系の非細胞成分のうちのほんの一部を構成する抗体は、特異的な抗原を認識し、したがって「抗原特異的」とであるといわれる。次いで、生成された抗体は、基本的には、白血球が病原体を見つけ出し、そして身体から除去することを補助する。典型的には、ひとたび白血球が病原体に対する抗体を生成すれば、白血球及びその前駆体のすべては、抗体を産生し続ける。感染が除去された後に、認識された抗原に対応する少数のT細胞及びB細胞は、「休止」状態にて保持される。対応する病原体もしくは抗原体が再び宿主に感染した場合は、「休止」しているT細胞及びB細胞が活性化し、そして約48時間以内に迅速な免疫応答を誘導する。このように応答することによって、免疫系は病原体に対する二次免疫応答を開始し、免疫系はその病原体に対する「記憶」を有するといわれる。

20

【0010】

哺乳動物の免疫系はまた、感染病原体に対する二次免疫応答の一部として、「トランスファー因子」として公知のより小さなタンパク質を産生することも知られている。トランスファー因子は、哺乳動物の免疫系の、別の非細胞部分である。抗原特異的なトランスファー因子は、抗体と構造的に類似すると考えられているが、しかしさらにより小さな分子レベルにおいてである。抗原特異的なトランスファー因子と抗体の双方は、抗原特異的な部位を含む。加えて、トランスファー因子と抗体の双方は、そのそれぞれのエフェクター細胞上の受容体部位と相互作用する、高度に保存された領域を含む。トランスファー因子及び抗体分子において、第三の「リンカー」領域は、抗原特異的な部位と高度に保存された領域とを連結する。

30

【0011】

免疫系におけるトランスファー因子の役割

トランスファー因子は、リンパ球の低分子量単離物である。狭義には、トランスファー因子は、一つの抗原に対する特異性を有してもよい。双方がKirkpatrickらについて発行された、米国特許第5,840,700号及び第5,470,835号（以下、併せて「Kirkpatrick特許」と称する）は、特定の抗原に特異的なトランスファー因子の単離を開示している。より広義には、「特異的な」トランスファー因子は、単クローン性リンパ球の細胞培養から生成される。たとえこれらのトランスファー因子が一つの病原体に対して生成されても、それらは、その病原体の多様な抗原部位に対する特異性を有する。したがって、これらのトランスファー因子は、抗原特異的というよりむしろ「病原体特異的」とあるといわれる。同様に、特定の病原体に感染している宿主から得られるトランスファー因子は、病原体特異的である。このような調製物は、特定の抗原が存在する場合に二次免疫応答を誘発するその能力によって、当該技術分野においてしばしば「抗原特異的」とであると称されるにもかかわらず、異なる特異性を有するトランスファー因子がさらに、このような調製物中に存在してもよい。このように、いわゆる「抗原特異的」な病原体特異的なトランスファー因子の調製物でさえも、多様な抗原に対して特異的であってよい。

40

【0012】

加えて、抗原特異的かつ病原体特異的なトランスファー因子は、このようなトランスファー因子分子が特異的でない病原体または抗原に対する遅延型過敏性免疫応答を宿主に誘発させてもよい。トランスファー因子は、感染病原体または抗原性作用物に対して、少な

50

くとも、非特異性T細胞であるTインデューサー細胞及びTサプレッサー細胞を「引き出し」て、感染病原体もしくは抗原性作用物に対する二次免疫応答または遅延型過敏性免疫応答を促進する。

【0013】

典型的には、トランスファー因子は、免疫学的に活性な哺乳動物源から得られた、約10,000ダルトン(D)未満の分子量を有するタンパク質の単離物を含む。トランスファー因子は、*in vitro*または*in vivo*のいずれかで哺乳動物の免疫細胞系に加えられる場合に、レシピエント哺乳動物の免疫系の応答を改善または正常化することが知られている。

【0014】

新生児の免疫系は、侵入病原体から新生児を有効に防御するのに十分なほど、典型的には発達または「成熟」していない。その上、多くの哺乳動物は、出生前は、その母親によって広範囲な病原体から保護される。したがって、多くの生まれたばかりの哺乳動物は、多様な病原体に対して即座に二次応答を誘発することができない。むしろ、生まれたばかりの哺乳動物は、典型的には、病原体に対する二次免疫をその母親より与えられる。母親が新生児の免疫系を高めることで知られる一つの方法は、新生児に一連のトランスファー因子を与えることによるものである。哺乳動物において、トランスファー因子は、初乳によって母親より新生児に与えられ、この初乳は、典型的には1または2日後に母乳に置き換わる。トランスファー因子は、基本的には、母親の後天的で特異的な(すなわち、遅延型過敏性)免疫を新生児に移行させる。この移行した免疫は、新生児の免疫系が自然に病原体から新生児を防御できるようになるまで、典型的には、新生児の免疫系の細胞を調節して、抗原もしくは病原体非特異的のみならず、抗原特異的にも、病原体に対して反応する。このように、トランスファー因子が存在する場合、新生児の免疫系は、典型的な遅延型過敏性応答で起こると同じような過敏性応答で病原体と反応するように調節される。したがって、トランスファー因子は、病原体に対する免疫系の応答性を「活性化する(jump start)」と言える。

【0015】

トランスファー因子に関する研究の多くが、近年行われている。現在のところ、トランスファー因子は、約44アミノ酸長のタンパク質であると考えられている。トランスファー因子は、典型的には、約3,000~約5,000ダルトン(Da)または約3kDa~約5kDaの範囲の分子量を有するが、しかしトランスファー因子分子がこの範囲外の分子量を有することが可能であってもよい。トランスファー因子はまた、3つの機能的な画分を含むと考えられており、そのそれぞれに、異なる種類のトランスファー因子分子：インデューサー画分；免疫サプレッサー画分；及び、抗原特異的画分が含まれてもよい。当業者の多くは、トランスファー因子が、タンパク質分子と連結するかまたはそこから分離することが可能であって、哺乳動物の免疫系に二次応答を誘発させるトランスファー因子の能力を増強する可能性のある、ヌクレオシド部分も含むと考えている。該ヌクレオシド部分は、トランスファー因子のインデューサー画分またはサプレッサー画分の一部である可能性がある。

【0016】

抗原特異的トランスファー因子の抗原特異的な領域は、約8~約12アミノ酸を含んできると考えられている。第二の高度に保存された約10アミノ酸の領域は、非常に高親和性なT細胞受容体結合領域であると考えられている。残りのアミノ酸は、2つの活性領域を連結する働きをするか、あるいは、今のところ発見されていない特性をさらに有する可能性がある。トランスファー因子分子の抗原特異的な領域は、抗体の公知の抗原特異的な構造に類似しているが、しかしさらに小さな分子量スケールにおいては、超可変であるように見え、そして1またはそれより多くの病原体上の特有のタンパク質を認識するように構成されている。インデューサー画分及び免疫サプレッサー画分は、トランスファー因子に、免疫系の種々の細胞がその環境において病原体の刺激に対してより十分応答するように調節するその能力を受けると、考えられている。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 7 】

非細胞免疫系成分の源

慣用的に、トランスファー因子は、Wilsonらによる米国特許第4,816,563号(以下、「Wilson」)に記載される方法などによって、乳牛の初乳から得られている。乳牛は、典型的には大量の初乳、そして従って、大量のトランスファー因子を比較的短期間に産生するが、一方で、乳牛は、毎年約1日または1日半の間に初乳を産生するのみである。このように、乳牛は、トランスファー因子の定常的な源でもなく、トランスファー因子の効率的な源でもない。

【 0 0 1 8 】

トランスファー因子は、幅広く多様な他の哺乳動物源からも得られている。例えば、トランスファー因子の研究において、マウスがトランスファー因子の源として用いられている。典型的には、抗原をマウスに皮下から導入し、次いでマウスを該抗原に対する遅延型過敏性反応の後に屠殺する。次いで、トランスファー因子を、マウスの脾臓細胞から得る。

10

【 0 0 1 9 】

異なるメカニズムが、抗体の産生を起こすために典型的には用いられるが、一方で、抗体の元の源もまた哺乳動物であってよい。例えば、モノクローナル抗体を、マウス、ウサギまたは別の哺乳動物に抗原を注射し、該哺乳動物から抗体産生細胞を得て、次いで抗体産生細胞を不死化細胞と融合させて、ハイブリドーマ細胞株を作出することによって得てもよく、該細胞株は、細胞の数世代の間中、すなわち長期間、モノクローナル抗体を産生し続けるであろう。

20

【 0 0 2 0 】

哺乳動物の病原体に対する抗体は、マウス、ウサギ、ブタ、ウシ及び他の哺乳動物を含む幅広く多様な源から得られている。加えて、一般的な風邪などのあるヒト疾患を引き起こす病原体は、鳥綱(birds)を起源とすることが知られている。トリ(avian)(すなわち、鳥綱)の免疫系と哺乳動物の免疫系は非常に類似していることが認識されるようになってきたため、一部の研究者は、抗体を生成するための源として鳥綱に転向している。

【 0 0 2 1 】

哺乳動物に感染する病原体または「哺乳動物の病原体」に特異的なトリ抗体は、抗原を卵に導入することによって得られている。あるいは、抗体は、哺乳動物の病原体の抗原を含む抗原に動物源を曝露した後に、卵中に存在する可能性がある。1992年1月14日に発行されたTokoroによる米国特許第5,080,895号(以下、「'895特許」)は、新生哺乳動物において腸感染性疾患を引き起こす病原体をメンドリ(hen)に注射することを含む方法を、開示している。次いで、メンドリは、これらの病原体に特異的な抗体を産生するが、それらはメンドリが産んだ卵中に存在する。'895特許は、これらの病原体特異的な抗体を含む組成物、ならびに、新生子ブタ及び子ウシにおいて腸疾患を治療及び予防するためのその使用法を、開示している。しかしながら、哺乳動物の免疫系は、大きなトリ抗体分子に対して、抗体自体に対する免疫応答を誘発することによって負に応答する可能性があることから、トリ抗体を用いた哺乳動物の病原性感染の治療は、望ましくない結果となる可能性がある。その上、哺乳動物の免疫系は、トリ抗体を特定の病原体を認識する能力に役立つと認識しないか、またはこのような病原体の抗原に対するトリ抗体の特異性を認識しないため、トリ抗体は哺乳動物において望ましい免疫応答を誘発しないことが多い。

30

40

【 0 0 2 2 】

トランスファー因子を卵から得てもよいこともまた知られている。Hennenらによる米国特許第6,468,534号(以下、「Hennen」)は、雌ニワトリ(すなわち、メンドリ)を1またはそれより多くの抗原に曝露し、ニワトリにより二次免疫応答を含む免疫応答の誘発をもたらす方法を、記載している。二次免疫応答の結果として、トランスファー因子分子が、ニワトリの卵内に存在する。次いで、卵を、トランスファー因子が存在する製品が提供されるように加工してもよい。このような製品は、噴霧乾燥もしく

50

は凍結乾燥 (freeze dried) または凍結乾燥 (lyophilized) された卵粉の形状を取ってもよく、そして卵の全部または一部を含んでもよい。次いで、卵粉を、直接ゼラチンカプセルに組み入れるか、または他の物質と混合してゼラチンカプセルに導入してもよい。

【 0 0 2 3 】

図 2 は、卵粉の形状の卵由来トリトランスファー因子をカプセル化するのに現在のところ有用な型のカプセル化装置を、図に示したものである。カプセル化装置 20 は、組成物供給ホッパー 24、フィードステーション 28、及び、各組成物供給ホッパー 24 とフィードステーション 28 との間を連絡するオーガー (auger) 26 を含む。オーガー 26 は、全卵粉を組成物供給ホッパー 24 からフィードステーション 28 へ移送する。

【 0 0 2 4 】

オーガー 26 は、作動する時に、卵粉中の卵の黄身に由来するコレステロールの比較的低い融点を超える温度に加熱される。温められたコレステロールは、粘着性で、オーガー 26、それと連絡する導管、及びフィードステーション 28 をコーティングし、それによってカプセル化装置 20 の作動効率を減少させる。結論として、カプセル化装置を定期的に分解しそしてクリーニングしなければならず、これにはかなりの時間 (例えば、約 8 時間以下) がかかる可能性があり、カプセル化装置 20 の生産性、すなわちそれを用いて形成されてもよいカプセル数の有意な減少をもたらす。このように、全卵粉を処理してトランスファー因子を含有する製品を得ることは、若干望ましくない。

【 0 0 2 5 】

加えて、一つの動物源から得た製品 (例えば、卵または初乳) に由来する組成物は、典型的には、該動物源が曝露される抗原に対する特異性を有するトランスファー因子分子のみを含む。このような限定的な曝露の結果として、特定の種類の感染もしくは状態を予防または治療する場合におけるこのようなトランスファー因子含有組成物の有効性もまた、限られる可能性がある。

【 0 0 2 6 】

したがって、治療される個体の免疫系により幅広い病原体群に対する免疫応答を誘発させるのに有用な組成物、ならびに、カプセル化装置及び他の組成物形成装置が作動するその効率性及び生産性を向上させるための方法が、必要である。

【 発明の開示 】

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 2 7 】

発明の開示

本発明は、個体において T 細胞を介した免疫応答を誘発するための組成物を含む。該組成物は、少なくとも 2 つの異なる種類の動物源から得られたトランスファー因子を含む。本明細書で動物源に関して用いられる「種類」の語は、トランスファー因子を得てもよい動物源を説明し、そして異なる綱 (class) (例えば、哺乳綱、鳥綱、爬虫綱、両生綱、昆虫綱) の動物源を指す。本明細書では、「種類」の語はまた、異なる亜綱 (subclass)、目 (order) (例えば、偶蹄目、霊長目、食肉目等)、科 (family) (例えば、ウシ科、ヒト科、ネコ科等)、亜科 (subfamily)、属 (genus) (例えば、ウシ属、ヒト属、イエネコ属等)、さらに種 (even species) 及び亜種 (subspecies) の動物源も指す。本明細書では、トランスファー因子に関する「種類」の語の使用は、トランスファー因子を得た動物源の種類を示す。

【 0 0 2 8 】

組成物の例示的な実施態様には、哺乳動物と非哺乳動物の両方の動物源から得られたトランスファー因子が含まれ、この種類のトランスファー因子は、本明細書では、それぞれ「哺乳動物のトランスファー因子」、「非哺乳動物のトランスファー因子」とも称される。非限定的な一例として、哺乳動物のトランスファー因子は、初乳または画分もしくは抽出物として組成物に含まれてもよく、これらは、本明細書では「初乳由来製品」、あるいは当該技術分野において公知のように (例えば、白血球 (leukocyte) (白血球細胞 (white blood cell)) 抽出物、脾臓 (「脾臓由来」) 抽出物等と) 総称される。また、一例

10

20

30

40

50

として、例示的な組成物の非哺乳動物のトランスファー因子は、本明細書では「卵由来製品」とも称される、卵、またはその画分もしくは抽出物から得られてもよい。異なる種類のトランスファー因子を組み合わせ、そして治療される動物（例えば、哺乳動物）に投与する場合に、いくらかの相乗効果が生じることが、発見されている。

【0029】

本発明の組成物が初乳由来製品と卵由来製品とを含む場合、両製品は、ほぼ等量で、または初乳由来製品と卵由来製品のうちの一方が他方よりも多い量で（混合物全体のうち、例えば重量、容量等により）、混合物中に含まれてもよい。実験結果により、ウシなどの高度に依存性の子を持つ動物源から得たトランスファー因子は、比較的迅速に二次免疫応答を誘導し、アレルギー（すなわち、白血球によってトランスファー因子分子に対する感応性を欠くこと）を比較的迅速に起こすことが、示される。ニワトリまたは他の「家禽」鳥綱などの、独立性の子を持つ動物源から得たトランスファー因子は、それほど迅速な二次免疫応答を誘導しないが、しかしより持続した二次免疫応答をもたらす。したがって、初乳由来トランスファー因子製品と卵由来製品の相対濃度は、二次免疫応答の発現または特定期間の持続を誘発するように調整されてもよい。

【0030】

追加の原料が、本発明の教示を取り入れる組成物中にさらに含まれてもよい。例えば、本発明の組成物は、1またはそれより多くのビタミン、無機物、タンパク質または天然産物（例えば、ハーブ、キノコ、根等）もしくはその抽出物を含んでもよい。具体的には、多糖類は、治療される動物にて二次免疫応答を誘発する際に、本発明の組成物の有効性においてさらなる相乗効果を提供すると考えられている。多糖類の例は、 β -グルカン及びキノコ抽出物（これはもちろん他の成分を含む）の形態で利用可能である。

【0031】

別の側面において、本発明は、トランスファー因子を含む卵由来製品を加工または製造するための方法を含む。発明された加工または製造の方法は、卵由来製品を製造装置または他の加工装置に導入する前または間に、トランスファー因子を含んでもまたは含まなくてもよい初乳由来製品などの実質的に無脂肪の組成物を、卵由来製品と混合することを、含む。カプセル化は、このような技術が用いられてもよい加工または製造方法の一例である。

【0032】

加えて、本発明は、カプセル化装置などの、卵由来製品を加工するために用いられる製造装置または他の加工装置のクリーニング頻度を低減するための方法を、含む。この方法は、卵由来製品を加工装置に導入する前または間に、初乳由来製品などの脂肪がより少ないかまたは実質的に無脂肪の物質を、卵由来製品と混合することを含む。

【0033】

本発明はまた、個体を治療するための方法も含む。本発明の教示を取り入れる治療方法は、本発明による組成物を個体に投与することを含む。該組成物はトランスファー因子を含むため、該組成物の個体への投与は、個体の免疫系にT細胞を介した免疫応答を誘発させるか、あるいはすでに進行中の個体の免疫系によってT細胞を介した免疫応答を増強するであろう。

【0034】

本発明の他の特徴及び利点は、裏付けの説明、付随の図面、及び添付の請求の範囲を考慮することを通じて、当業者に明らかとなるであろう。

【発明を実施するための最良の形態】

【0035】

発明を実施するための最良の形態

本発明の教示を取り入れる組成物の例示的な実施態様には、少なくとも2つの異なる種類の動物源から得たトランスファー因子が含まれる。非限定的な一例として、本発明による組成物は、哺乳動物のトランスファー因子と非哺乳動物のトランスファー因子とを含んでもよい。

10

20

30

40

50

【0036】

本発明の組成物の異なる種類のトランスファー因子は、任意の適切な源から得られてもよい。例えば、哺乳動物のトランスファー因子は、Wilsonに記載されるように、初乳から、あるいは当該技術分野において公知のように（例えば、白血球（leukocyte、white blood cell）抽出物、脾臓（「脾臓由来」）抽出物等）得られてもよい。非哺乳動物のトランスファー因子の源の一例は、Hennenに記載されているように、ニワトリなどの動物の卵である。このように、本発明による組成物は、本明細書では「初乳由来製品」と総称される初乳またはその画分もしくは抽出物を含んでなる第一の組成物、ならびに、本明細書では「卵由来製品」とも称される卵またはその画分もしくは抽出物を含んでなる第二の組成物を含んでもよい。

10

【0037】

本発明の教示を取り入れる組成物は、異なる種類の動物源から得たトランスファー因子を含むため、慣用のトランスファー因子含有組成物よりも幅広い一連の抗原特異性または病原体特異性を伴うトランスファー分子を含む可能性がある。このように、本発明による組成物は、治療される動物の免疫系に協力して、慣用のトランスファー因子含有組成物が有効な病原体よりも幅広い一連の病原体に対して、T細胞を介した免疫応答を誘発することが可能である。これは、異なる種類の動物が、ワクチン接種、動物の環境等などによって、異なる種類の抗原または病原体に曝露される可能性があるためである。その上、特定の動物におけるある状態が、多重感染によって引き起こされて、本発明による組成物の特異性をさらにいっそう広げることが、知られている。例えば、1またはそれより多くの病原体が宿主の免疫系に悪影響を及ぼしてもよく（例えば、抑制するか、または独占する）、一方で、1またはそれより多くの別の病原体が宿主における疾患状態を引き起こすことが可能となってもよい。別の例として、ある疾患状態は、病原体の組み合わせによって引き起こされる。

20

【0038】

一例として、ウシとニワトリ双方から得たトランスファー因子含有構成物を含む組成物は、ウシが曝露される抗原または病原体に特異的なトランスファー因子分子、及び、ニワトリが曝露される抗原または病原体に対する特異性を有するトランスファー因子分子を含むであろう。ウシとニワトリの双方は、他方が曝露されていない抗原または病原体に曝露される可能性があるため、このような組成物は、ウシから得たトランスファー因子（例えば、初乳由来製品を介して）またはニワトリから得たトランスファー因子（例えば、卵由来製品を介して）のみを含む組成物中には存在しないであろう抗原または病原体への特異性を有するトランスファー因子分子を含む可能性がある。

30

【0039】

本発明の組成物は、初乳由来製品と卵由来製品を、重量または容量の点から測定されるほぼ同量で含んでもよい（すなわち、約50%の初乳由来製品と約50%の卵由来製品）。あるいは、本発明の教示を取り入れる組成物は、卵由来製品（約15重量%または40重量%）よりも多くの初乳由来製品（例えば、初乳由来製品と卵由来製品を合わせた重量の、約85%または60%）を含んでもよい。別の選択肢として、本発明の組成物は、初乳由来製品（例えば、約40重量%または15重量%）よりも多くの卵由来製品（例えば、約60重量%または85重量%）を含んでもよい。別の一例として、本発明の教示を取り入れる組成物は、初乳由来製品と卵由来製品のうちの一方を約1重量%、及び、初乳由来製品と卵由来製品のうちのもう一方を約99重量%含んでもよい。初乳由来製品及び卵由来製品の具体的な量を提供したが、そのいずれの組み合わせも本発明の範囲内である。

40

【0040】

トランスファー因子の源（例えば、初乳由来製品、卵由来製品等）を含むことに加えて、本発明の教示を取り入れる組成物は、非限定的にビタミン、無機物、タンパク質、天然産物（例えば、ハーブ、キノコ、根等、またはその抽出物）等を含む、1またはそれより多くの他の成分を含んでもよい。追加の成分は、組成物が投与される個体にさらなる利益をもたらすために有用であつてもよく、あるいは、組成物中のトランスファー因子が二次

50

免疫応答もしくは遅延型過敏性免疫応答を誘発または増強する能力を増強してもよい。

【0041】

図1に示すように、本発明の範囲を限定することなく、本発明による組成物10は、複数の種類のトランスファー因子を含む(示さず)、粉末状または粒子状物質の形状をとってもよい。組成物10の適切かつ的確な投与量が個体に投与されること(示さず)を確実にするために、組成物10は、当業者に周知でかつ容易に入手可能な種類のゼラチンカプセル12の内部に含有されてもよい。その結果は、図に示されているカプセル14である。あるいは、本発明による組成物は、錠剤、いわゆる「カプレット」、カプセル化されていない粉末、液体、ジェル、または任意の他の医薬的に許容可能な形状で、包含されてもよい。本発明の組成物を任意のこのような形状に組み込むための適切な方法は、当業者に容易に明らかである。

10

【0042】

本発明による組成物の製造または形成方法についての例示的な実施態様において、第一の種類のトランスファー因子を、第二の種類のトランスファー因子と組み合わせてもよい。加えて、1またはそれより多くの他の種類のトランスファー因子を、第一及び第二の種類のトランスファー因子と組み合わせてもよい。組み合わせられる異なる種類のトランスファー因子は、実質的には、精製されたトランスファー因子、トランスファー因子を含む成分または「製品」、あるいはその任意の組み合わせであってもよい。

【0043】

図2に再び戻ると、図1に示されるもののような、組成物が充填されたカプセル14を形成する方法は、本発明の教示を取り入れる組成物を作製するための方法の単なる一例として提供される。図解されるように、組成物10が製造され、そして該組成物が充填されたカプセル14が、アリゾナ州フェニックスのCapPlusテクノロジーズ社から入手可能なSF-135カプセル充填機などの、その業界では公知の種類の標準的なカプセル化装置20を用いて形成される。

20

【0044】

1またはそれより多くの組成物供給ホッパー24、各組成物供給ホッパー24に付随するオーガー26、ならびに各オーガー26及びオーガー26を内部に含有する導管27が連絡するフィードステーション28に加えて、カプセル化装置20は、1またはそれより多くのカプセルホッパー30、ならびに、カプセル体12a及び/またはキャップ12bをフィードステーション28に移送するための空気圧式フィードシステム32を、含む。

30

【0045】

カプセル化装置は、混合物を、個体に嚥下されてもよいカプセル内に導入することになるため、実質的に無脂肪の組成物と卵由来製品とが粉末形状にてカプセル化装置に導入されることが、現在のところ好ましい。実質的に無脂肪の組成物は、卵由来製品中に存在する脂肪の濃度と比べて、混合物中に存在する(例えば、卵の黄身由来の)脂肪の量または濃度を薄める。したがって、実質的に無脂肪の製品と卵由来製品との相対量は、カプセル化装置の動作を妨げることを最小にするであろう脂肪濃度を提供するように、調節されてもよい。

【0046】

40

実質的に無脂肪の組成物としての初乳由来製品10aと卵由来製品10bとを含む組成物10の例に続いて、初乳由来製品10a及び卵由来製品10bは、同時に、カプセル化装置20の単一の組成物供給ホッパー24に導入されてもよい。例えば、初乳由来製品10a及び卵由来製品10bは、それを組成物供給ホッパー24に導入する際に、示されるように混合されるか、あるいは予め混合されていてもよい。卵由来製品10bよりも低い脂肪含量を有する物質を、卵由来製品10bとともに組成物供給ホッパー24に導入することによって、得られる混合物の脂肪含量(例えば、濃度)は卵由来製品10bよりも少なく、組成物供給ホッパー24、オーガー26、導管27、フィードステーション28、またはカプセル化装置20の任意の他の部品がコレステロールまたは脂肪によってコーティングされる可能性を、低減または消失させる。

50

【0047】

予め決定された量の組成物10を、フィードステーションにてカプセル体12aに導入した後、充填されたカプセル体12aはカプセル密閉ステーション34に移送され、ここでカプセルキャップ12bが、カプセル12内に組成物10を完全に含有するようにこれと組み立てられる。

【0048】

かさねて、組成物が充填されたカプセル14は、本発明の教示を取り入れる組成物が包含されてもよい様式のほんの一例である。本発明の組成物はまた、錠剤、カプレット、散状粉末、液体、ジェル、液体充填もしくはジェル充填カプセル、当該技術分野において公知の任意の他の医薬的に許容可能な形状などの他の形状を取ってもよく、ここでその各々は、公知の方法によって製造されてもよい。

10

【0049】

本発明の組成物は、当然ながらその形状に応じた任意の適切な方法によって（例えば、経腸的に、非経口的に、等）、個体（例えば、ヒト、イヌまたはネコなどの哺乳動物、鳥類、爬虫類、魚類等）に投与されてもよい。例えば、組成物が、組成物中に含まれるトランスファー因子分子の有効性を実質的に妨げることなく個体の消化管内に持続する状態によって、トランスファー因子分子の分解または破壊を防ぐであろう、当該技術分野において公知の種類の医薬的に許容可能なキャリアーを含むという条件で、事実上、任意の形状の組成物（例えば、カプセル、錠剤、カプレット、粉末、液体、ジェル等）は経口投与（すなわち、個体の口を介して）されてもよい。

20

【0050】

個体に投与される組成物または組成物内のトランスファー因子の投与量は、非限定的に個体の重量、個体の健康、または個体が曝露されている状態（例えば、病原体）を含む、多様な因子に依存してもよい。

【0051】

組成物の個体への投与は、個体の免疫系に、1またはそれより多くの抗原または病原体に対するT細胞を介した免疫応答を誘発させてもよい。したがって、該組成物を、個体が経験している疾患状態を治療するために、あるいは個体が特定の病原体によって引き起こされる疾患状態を呈することを防ぐために、あるいは個体の免疫系の全般的な健全性、及び感染病原体または侵入病原体を撃退する能力をただ増強するために、個体へ投与してもよい。

30

【0052】

以下の実施例は、複数の種類の動物源から得たトランスファー因子を含む組成物の、治療される個体の免疫系に標的細胞の形態での様々な種類の病原体に対するT細胞を介した免疫応答を誘発させる能力が、増強されることを示す。実施例で用いられる割合は、特定の試験試料において用いられる材料（例えば、卵粉、初乳粉）の重量に基づく。

【実施例】

【0053】

（実施例1）

予備試験である実施例1において、標的細胞には、細菌（例えば、クラミジア・ニューモニエ（*C.pneumoniae*）及びヘリコバクター・ピロリ（*H.pylori*）、及びウイルス感染細胞の形態でのウイルス（例えば、単純ヘルペスウイルス-1（*HSV-1*）及び単純ヘルペスウイルス-2（*HSV-2*））、ならびに癌細胞または悪性腫瘍細胞（例えば、K562赤白血球細胞）が含まれた。

40

【0054】

これらの測定を行うのに用いられた*in vitro*技術は、いわゆる「クロム-51放出アッセイ」であって、NK細胞に攻撃されている細胞が放出する放射活性クロム-51（*Cr-51*）の量を測定することを含む。放射活性の測定は、例えば、カリフォルニア州FullertonのBeckman Coulter, Inc.から入手可能なベックマン2000ガンマ計数器を用いて得てもよい。

50

【0055】

予備試験であった実施例1において、一定量（培養液及び細胞環境1mlにつき5 μ g）の粉末状組成物が、実質的に一定量のNK細胞とともに、培養液及び細胞環境中に提供された。用いられた粉末状組成物の例には、漂白小麦粉、ユタ州Sandyの4Life Research, LLCより入手可能なTransfer Factor（商標登録）（TF）、4Life Research, LLCよりさらに入手可能なTransfer Factor Plus（商標登録）（TFPまたはTF+）、凍結乾燥された（lyophilized）（すなわち、凍結乾燥された（freeze-dried））全卵粉において利用可能なトリトランスファール因子、ならびに、トリトランスファール因子が約15重量%に対してTFまたはTFP（すなわち、ウシトランスファール因子）が約85重量%の割合の、TF及びTFP（米国内で販売されている処方品と国際的に販売されている処方品の両方）とトリトランスファール因子との混合物が、含まれる。粉末状組成物、培養液、NK細胞及び標的細胞を混合し、そしてNK細胞による標的細胞の破壊によって放出される放射活性原子の測定前に、4時間インキュベートした。それぞれの例示的な反応をトリプレットにて行い、3回の反応の結果を平均した。

10

【0056】

1またはそれより多くの種類のトランスファール因子を含むことに加え、TF+には、マイタケ及びシイタケ、cordyceps属、イノシトール-6リン酸、 β -グルカン、 β -シトステロール、ならびにオリーブ葉抽出物を含む、多様な他の構成物が含まれる。マイタケ及びシイタケは、多糖類を豊富に含み、そしてT細胞の機能を促進することが公知である。cordyceps属もまた多糖類に富む。別分類の多糖類である β -グルカンもまた、重要な免疫細胞刺激物質として公知である。

20

【0057】

以下の表には、標的細胞と粉末状組成物との各組み合わせにおいて得られた1分間あたりのカウントのデータ、ならびに、漂白小麦粉存在下での同じ種類及び濃度の標的細胞に対する（%増加にて測定）NK細胞を介した免疫応答と比較した、標的細胞に対してNK細胞を介した免疫応答を誘発するときの各粉末状組成物の有効性が、含まれる。

【0058】

【表 1】

組成物	標的細胞					
	C. Pneu	H. Pyl	K562	HSV-1	HSV-2	
自発的	1,256/	1,875/	1,620/	974/	1,476	
小麦粉	1,323/	1,121/	1,267/	2,017/	1,262/	
平均	1,290/	1,498/	1,444/	1,496/	1,365/	10
TF	2,593/	2,499/	2,445/	2,240/	2,473	
小麦粉と比べた%増加	96%	123%	93%	11%	96%	
平均と比べた%増加	101%	67%	69%	50%	81%	
TF+	3,386/	2,701/	3,243/	2,944/	1,956/	
小麦粉と比べた%増加	156%	141%	156%	46%	55%	
平均と比べた%増加	163%	80%	125%	97%	43%	20
ウシートリ TF	14,857/	11,434/	6,639/	17,910/	10,626/	
小麦粉と比べた%増加	1023%	920%	424%	788%	742%	
平均と比べた%増加	1052%	663%	360%	1098%	679%	
ウシートリ TF+ 米国	6,196/	5,543/	4,008/	8,050/	4,693/	
小麦粉と比べた%増加	458%	485%	306%	389%	362%	
平均と比べた%増加	380%	270%	178%	438%	244%	30
ウシートリ TF+ 国際	5,747/	4,786/	3,640/	7,366/	4,269/	
小麦粉と比べた%増加	424%	417%	277%	355%	328%	
平均と比べた%増加	346%	219%	152%	393%	213%	
100%トリ TF	2,553/	1,860/	2,483/	2,985/	2,183/	
小麦粉と比べた%増加	93%	66%	96%	48%	73%	
平均と比べた%増加	98%	24%	72%	100%	60%	40

【0059】

とりわけ、「TF+」と記される処方物は、「TF」と記される処方物中に存在するトランスファクター因子の約半分(0.466667)のみを含む。したがって、当業者は、「ウシートリ TF+ 米国」及び「ウシートリ TF+ 国際」として識別される製品によって誘導される細胞傷害性に相当するデータが、ウシートリ TFとして識別される製品によって誘導される細胞傷害性よりも若干少ないことを、予測するであろう。それどころか、これらの数値は、かなり高い。実際に、「ウシートリ TF+ 米国」及び「ウシ

- トリ TF + 国際」に相当するデータは、約 10 倍も高いようにみえる。したがって、適切な補正が、表 1 に対して行われている。加えて、裏付けの実施例から明白のように、異なる種類のトランスファー因子の組み合わせが治療される動物において T 細胞の応答を誘発する能力を評価及び実証するために、さらなる試験が行われている。

【 0 0 6 0 】

表 1 に記載されている予備結果は、本発明の組成物を個体に投与することによって、初乳由来トランスファー因子のみ及び卵由来トランスファー因子のみの双方によって起こる NK 細胞活性をはるかに超える程度に、NK 細胞によって影響されるような、1 またはそれより多くの病原体に対する個体の二次免疫応答または遅延型過敏性免疫応答が増加する可能性があり得ることを、示している。実際に、その結果は、本発明の教示を取り入れる組成物が、予想外の程度の相乗効果によって NK 細胞の活性の促進をもたらす可能性があることを、示している。

【 0 0 6 1 】

これらの結果を考慮して、より幅広い範囲の本発明の側面の有効性を判定するために、さらなる実験を行った。

【 0 0 6 2 】

(実施例 2)

本発明の教示を取り入れる組成物を含む種々のトランスファー因子組成物が、癌細胞を攻撃する際のリンパ球の活性に及ぼす影響を、評価した。図 3 は、評価のためのプロトコールを図に示したものである。健常なドナー由来の血液を得た (参照番号 4 0) 。ナチュラルキラー細胞を含む単核細胞を、密度勾配 $\rho = 1.077 \text{ g/cm}^3$ を用いた標準的なフィコール - ウログラフィン方法論によって、他の血液構成成分から分離した (参照番号 4 2) 。次いで、参照番号 4 4 に示すように、約 $60,000$ 細胞 / $100 \mu\text{l}$ 培地に希釈した単離された単核細胞または「エフェクター細胞」を、 $100 \mu\text{l}$ のアリコットで、COSTER (商標登録) の商品名でニューヨーク州 Corning の Corning Incorporated から入手可能なものなどの 96 ウェルマイクロタイタープレートのウェルに導入した。

【 0 0 6 3 】

その後、以下の表 2 ~ 5 に記すようにトランスファー因子を含有する試験試料または「添加剤」を各ウェルに導入し、ここで得られた試験試料の濃度は、参照番号 4 4 においても示されるように、 1 mg/ml 、 0.1 mg/ml 、 0.01 mg/ml 、 0.001 mg/ml 、 0.0001 mg/ml 、及び 0.00001 mg/ml であった。トランスファー因子製品を含まない対照も、さらに用いられた。次いで、マイクロタイタープレートを、5% CO_2 雰囲気、100% 湿度、及び 37 の温度の条件で CO_2 インキュベーター内に置き、そして 24 時間及び 48 時間、インキュベートした。各試験のバリエーションを、トリPLICATEで行った。

【 0 0 6 4 】

インキュベーション後に、約 $30,000$ 個の K - 562 腫瘍細胞 (すなわち、赤芽球形ヒト白血病) または「標的細胞」を、参照番号 4 6 に示すように各ウェルに導入し、エフェクター細胞と標的細胞との割合を約 2 : 1 にした。次いで、エフェクター細胞及び標的細胞を、18 時間及び 24 時間、上記と同じ条件下で、 CO_2 インキュベーター内でインキュベートした。

【 0 0 6 5 】

その後、参照番号 4 8 において、可溶性の黄色臭化物である 3 - (4 , 5 - ジメチルチアゾール (dimethylthiazol) - 2 - イル) - 2 , 5 - テトラゾール (MTT) を用いる、細胞培養物の生存率を定める MTT 法を用いて、各ウェルにおける死滅した K - 562 腫瘍細胞数を測定した。このような試験において、生細胞は、MTT を、MTT - ホルマザン (MTT - f) の不溶性紫青色の細胞内結晶へと還元する。生存していない死細胞は、MTT を MTT - f へと還元することができない。このように、得られた溶液の光学的性質を評価して、種々のトランスファー因子含有製品が K - 562 腫瘍細胞を死滅させる

10

20

30

40

50

エフェクター細胞の能力に及ぼす影響の指標を得てもよい。さらに具体的には、MTTのMTT - f への変換の強度は、試験した細胞のデヒドロゲナーゼ活性の一般的なレベルを反映し、そして共役発酵系（；例えば、電子伝達の呼吸鎖等）の活性によって調節される。

【0066】

この実施例で用いたMTT溶液は、Henks' 塩類溶液に5mg/mlで、当該技術分野において公知のように調製された。MTT溶液の等量のアリコットをマイクロタイタープレートのウェルに導入し、そしてプレートを、上記と同じ条件下で約3～約4時間、CO₂ インキュベーター内でインキュベートした。次いで、マイクロタイタープレートを、約1,500rpmで約5分間遠心分離し、上清を除き、そしてジメチルスルホキシド(DMSO)のアリコット150μlをウェルに導入した。

10

【0067】

次いで、マイクロタイタープレートを30分間室温に放置し、ホルマザン結晶を完全に溶解させた。その後、マルチウェル分光光度計(マサチューセッツ州CambridgeのCambridge Scientific Products社から入手可能な、LABSYSTEMS MultiScan MSS 340)を用いて、540nm波長で各マイクロタイタープレートの各ウェルを評価した。

【0068】

参照番号50に示されるように、分光光度計を用いて得られた光学濃度(OD)測定値を用いて、各ウェルの細胞傷害性指数(%) (CI(%))を算出した。CI(%)の算出を、標準的な公式：

20

$$CI(\%) = [I - (O_{e+t} - OD_e) / OD_t] * 100、$$

(ここで、OD_{e+t}は一連の実験におけるODであって、OD_eは、エフェクター細胞のみを含むウェルにおけるODであって、そしてOD_tは標的細胞のみを含むウェルにおけるODである)

にしたがって行った。

【0069】

【表2】

表2
24時間後におけるCI(%)

30

添加剤	1 mg/ml	10 ⁻¹ mg/ml	10 ⁻² mg/ml	10 ⁻³ mg/ml	10 ⁻⁴ mg/ml	10 ⁻⁵ mg/ml
TF (ウシ)	35	17	29	18	18	15
TF+ (国際的な処方物)	13.5	20.3	35	28.5	10	20.3
TF+ (85:15、初乳：トリ)	13.3	10.6	29	30	21.6	76
TF (70:30、初乳：トリ)	80	47	24	12	30	26.3
TF (トリ)	16	37	47	47	16.1	34.3
なし (自発的細胞死) (±6%)	18	18	18	18	18	18

40

【0070】

【表 3】

表 3

24 時間後における (自発的 CI と比べた) CI の%増加

添加剤	1 mg/ml	10 ⁻¹ mg/ml	10 ⁻² mg/ml	10 ⁻³ mg/ml	10 ⁻⁴ mg/ml	10 ⁻⁵ mg/ml
TF (ウシ)	94	-6	61	0	0	-17
TF+ (国際的な 処方物)	-25	13	94	58	-44	13
TF+ (85:15、 初乳:トリ)	-26	-41	61	67	20	322
TF (70:30、初 乳:トリ)	344	161	33	-33	67	46
TF (トリ)	-11	106	161	161	-11	91
なし (自発的細 胞死) (±6%)	0	0	0	0	0	0

10

20

【 0 0 7 1 】

【表 4】

表 4

48 時間後における CI (%)

添加剤	1 mg/ml	10 ⁻¹ mg/ml	10 ⁻² mg/ml	10 ⁻³ mg/ml	10 ⁻⁴ mg/ml	10 ⁻⁵ mg/ml
TF (ウシ)	19.3	50	54.7	15.3	40.7	11.3
TF+ (国際的な 処方物)	23.3	12	17	42	48	62
TF+ (85:15、 初乳:トリ)	48	82.7	96.7	69.4	54	91
TF (70:30、初 乳:トリ)	97	94	99	90	96	91
TF (トリ)	68	49	45	35	58	70
なし (自発的細 胞死) (±6%)	18	18	18	18	18	18

30

40

【 0 0 7 2 】

【表 5】

表 5
48 時間後における（自発的 CI と比べた）CI の % 増加

添加剤	1 mg/ml	10 ⁻¹ mg/ml	10 ⁻² mg/ml	10 ⁻³ mg/ml	10 ⁻⁴ mg/ml	10 ⁻⁵ mg/ml
TF (ウシ)	7	178	204	-15	126	-37
TF+ (国際的な 処方物)	29	-33	-6	133	167	244
TF+ (85:15、 初乳：トリ)	167	359	437	286	200	406
TF (70:30、初 乳：トリ)	439	422	450	400	433	406
TF (トリ)	278	172	150	94	222	289
なし (自発的細 胞死) (±6%)	0	0	0	0	0	0

10

20

【0073】

表 2 ~ 5 において提供されるデータにより、刺激された試験試料（すなわち、トランスファー因子を含有する組成物）の多くで、K - 562 腫瘍細胞に対する健常ドナーのリンパ球の抗腫瘍活性及び細胞傷害性活性が（自発的腫瘍細胞死と比較して）増加したことが確認される。

【0074】

最も大きな刺激効果は 48 時間の結果において現れ、刺激濃度の最も有効な範囲は、約 0.0001 mg/ml ~ 約 0.1 mg/ml であった。この場合も、初乳由来トランスファー因子と卵由来トランスファー因子の両方を含んだ試験試料が、所与の実験条件において最も有効なように見え、80 ~ 98% もの K - 562 腫瘍細胞を溶解させる。

30

【0075】

加えて、表 5 の結果は、具体的には TF + と卵由来トランスファー因子の割合が 85 : 15 の、異なる種類のトランスファー因子の組み合わせが、治療される動物の体から望ましくない細胞及び病原体を消失させるための他の治療コースよりも有効である可能性があることを、示している。より具体的には、本発明者が知る限りでは、同等の試験において、インターロイキン - 2 での治療によって達成され得る最良の結果は、24 時間のインキュベーションで K - 562 腫瘍細胞の細胞傷害性が 76%（このような細胞の自発的な死と比べて計 322% 増加）、及び 48 時間のインキュベーションで K - 562 腫瘍細胞の細胞傷害性が 88%（このような細胞の自発的な死と比べて計 389% 増加）であった。

40

【0076】

（実施例 3）

上述の結果を検証し、そして NK 細胞及び他の単核細胞に K - 562 腫瘍細胞の死滅を誘導させることに対する本発明のより多様な組成物の効果を評価するために、別の確認試験を行った。実施例 2 に記載されたのと同じプロトコールを、実施例 3 の試験に用いた。

【0077】

卵粉及びウシ初乳粉をそれぞれ含む多様な組成物の処方物について、24 時間及び 48 時間インキュベーション期間の結果を、表 6 ~ 9 に載せる。

【0078】

50

【表 6】

表 6
24 時間後における CI (%)

初乳：卵	1 mg/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
なし（自発的細胞死）（±6%）	18	18	18	18	18

10

【 0 0 7 9 】

【表 7】

表 7
24 時間後における（自発的 CI と比べた）CI の%増加

初乳：卵	1 mg/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
なし（自発的細胞死）（±6%）	0	0	0	0	0

20

30

【 0 0 8 0 】

【表 8】

表 8
48 時間後における CI (%)

初乳：卵	1 mg/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
なし（自発的細胞死）（±6%）	18	18	18	18	18

40

50

【 0 0 8 1 】

【 表 9 】

表 9

48 時間後における（自発的 CI と比べた）CI の % 増加

初乳：卵	1 mg/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
なし（自発的細胞死）（±6%）	0	0	0	0	0

10

【 0 0 8 2 】

表 6 ~ 9、特に表 6 及び 8 のデータは、本発明による組成物中により多くの初乳由来トランスファー因子が存在する場合に（例えば、85 : 15）、初期の（24 時間試験）応答は、より少ない初乳由来トランスファー因子を含む組成物によって生じる応答よりも大きい。しかし長期にわたっても（48 時間試験）有意に増加しないことを、示している。これらの結果は、ウシ由来トランスファー因子に対するアレルギー（すなわち、感応性の低下）が比較的迅速に生じる可能性があることを示唆している。

20

【 0 0 8 3 】

卵由来トランスファー因子をより多く含む組成物（例えば、50 : 50 及び 70 : 30）は、同等の短期の結果（24 時間試験）を提供するが、しかし長期（48 時間試験）の結果のほうがはるかに良い。

【 0 0 8 4 】

これらの結果は、異なる種類のトランスファー因子を組み合わせることで相乗効果が得られるとの理論を支持している。これらはまた、組成物中における異なる種類のトランスファー因子の比率が、所望の結果をもたらすように調節されてもよいことを、示唆している。

30

【 0 0 8 5 】

（実施例 4）

【 0 0 8 6 】

【表 10】

表 10

		CI (%)						
		1 mg/ml	10 ⁻¹ mg/ml	10 ⁻² mg/ml	10 ⁻³ mg/ml	10 ⁻⁴ mg/ml	10 ⁻⁵ mg/ml	
24 時 間	TF+ (85:15) (初乳:卵)	13.3	10.6	29	30	21.6	76	10
	85:15 (初 乳:卵)	45	29	67.5	28	50		
48 時 間	TF+ (85:15) (初乳:卵)	48	82.7	96.7	69.4	54	91	20
	85:15 (初 乳:卵)	46	60	69	67	64		

【0087】

実施例 4 は、先の実施例 2 及び 3 において得られたデータを比較して、TF+ に追加の組成物（主として、多糖類）が含まれることが、本発明の教示を取り入れる組成物がNK細胞及び他の単核血液細胞にK-562腫瘍細胞の死滅を誘導させ、それゆえに二次免疫応答を誘発する効率を向上させることを、示している。

【0088】

とりわけ、48時間試験では、細胞傷害性は、多糖類が含まれる場合に、0.0001 mg/ml を超えるすべての希釈において多糖類を含まない同等の組成物よりも大きかった。このように、多糖類は、2またはそれより多くの種類のトランスファー因子が作用する相乗効果を増加させるか、あるいは二次免疫応答の誘発においてさらなる相乗効果をもたらすと、考えられている。

【0089】

先の記載は多くの詳細を含有するが、これらは、本発明の範囲を限定するものとしてではなく、単に現在のところ好ましいいくつかの実施態様の例証を提供するものとして、解釈されるべきである。同様に、他の実施態様が、本発明の精神または範囲を逸脱することなく、考案されてもよい。異なる実施態様から得られる特徴を組み合わせて用いてもよい。したがって、本発明の範囲は、先の記載よりもむしろ、添付の請求の範囲及びその法律的な同等物によってのみ示され、そして限定される。請求の範囲の意味すること及びその範囲内にある、本明細書に開示されているような本発明に対するすべての追加、削除及び修正は、それによって包含されることになる。

【図面の簡単な説明】

【0090】

【図 1】本発明の種々の側面の例示的な実施態様を示す図面において、図 1 は、本発明の教示を取り入れる組成物が包含されてもよい様式の一例を示す。

【図 2】本発明の種々の側面の例示的な実施態様を示す図面において、図 2 は、粉末化された態様の本発明の組成物をゼラチンカプセル内に導入するために用いられてもよいカプセル化装置を、概略図に示したものである。

【図 3】本発明の種々の側面の例示的な実施態様を示す図面において、図 3 は、本発明の種々の側面の有効性を判断するために行われる試験プロトコールの一例を、概略図に示したものである。

【 図 1 】

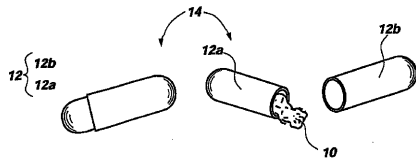


FIG. 1

【 図 2 】

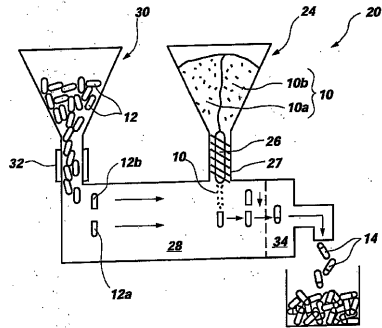
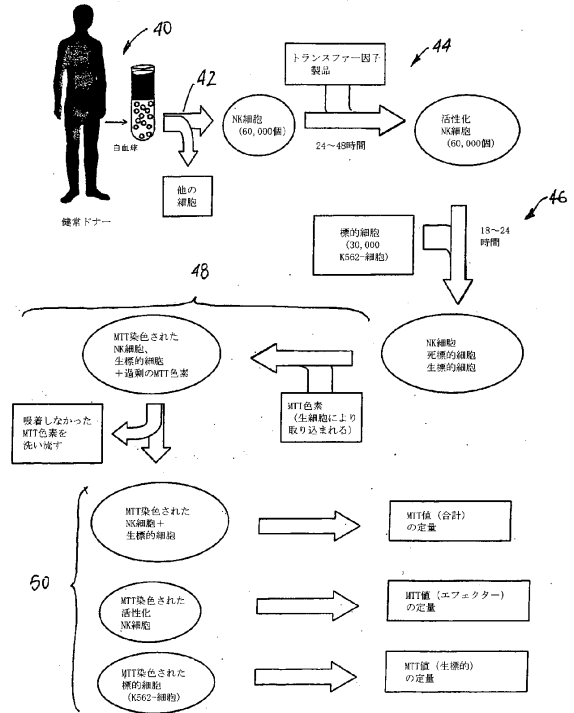


FIG. 2

【 図 3 】



フロントページの続き

(74)代理人 100107386

弁理士 泉谷 玲子

(72)発明者 リソンビー, デヴィッド

アメリカ合衆国ユタ州84070, サンディ, サウス 300 ウエスト 9850

(72)発明者 ヘネン, ウィリアム・ジェイ

アメリカ合衆国ユタ州84663, スプリングヴィル, サウス 1190 イースト 1159

(72)発明者 ドアーティ, エフ・ジョセフ

アメリカ合衆国ネブラスカ州68124, オマハ, ロックブルック・ロード 20308

審査官 吉田 佳代子

(56)参考文献 特開昭60-208919(JP, A)

国際公開第02/024746(WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/00-38/58

A61K 39/00-39/44

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580(JDreamII)