

(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2018-534247

(P2018-534247A)

(43) 公表日 平成30年11月22日(2018.11.22)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00 Z N A	4 C 0 7 6
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 38/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	4 C 0 8 6
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 K 38/12 (2006.01)	A 6 1 K 38/12	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 39 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-513834 (P2018-513834)
 (86) (22) 出願日 平成28年9月16日 (2016. 9. 16)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年4月11日 (2018. 4. 11)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/052348
 (87) 国際公開番号 W02017/049242
 (87) 国際公開日 平成29年3月23日 (2017. 3. 23)
 (31) 優先権主張番号 62/220, 212
 (32) 優先日 平成27年9月17日 (2015. 9. 17)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/247, 619
 (32) 優先日 平成27年10月28日 (2015. 10. 28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 514284475
 コントラフェクト コーポレイション
 アメリカ合衆国 ニューヨーク 1070
 1, ヨンカーズ, ウェルズ アベニュー
 28 - 3アールディー フロア
 (74) 代理人 110001656
 特許業務法人谷川国際特許事務所
 (72) 発明者 ウィットキンド, ミカエル
 アメリカ合衆国 コネチカット州 068
 40、ニューケイナン、マリオミ ロード
 66
 (72) 発明者 シュッフ, レイモンド
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 107
 01、ヨンカーズ、ウェルズ アベニュー
 28、サードフロア
 最終頁に続く

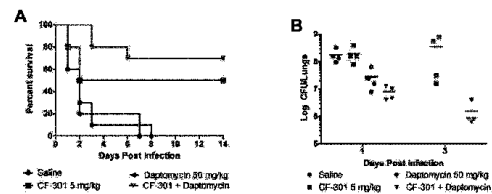
(54) 【発明の名称】 肺サーファクタントによって阻害される抗生物質の肺サーファクタントの存在下における抗細菌活性を回復/増加させるための溶解素の使用

(57) 【要約】

本開示は、肺サーファクタントが存在する器官又は組織における抗生物質の殺菌活性を回復又は増加させる方法に関する。より具体的に、本開示は、呼吸上皮などの器官又は組織における肺サーファクタントの存在などの環境因子に起因する抗生物質の阻害が回避又は克服でき、その環境における抗生物質の有効性が抗生物質と溶解素の共投与によって回復又は増加することを記載する。

【選択図】 図 5

Figure 5.



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

肺サーファクタントが存在する器官又は組織の細菌感染症を患う対象を治療する方法であって、前記方法が、順序に関係なく以下のステップ：

a．前記対象に、第 1 の量の、活性が前記肺サーファクタントによって阻害される、前記感染症の原因である前記細菌に対する抗細菌活性を有する抗生物質を投与すること；

b．前記対象に第 2 の量の溶解素ポリペプチドを共投与すること
を含み、

前記第 1 及び第 2 の量が相まって前記感染症の原因である前記細菌を死滅させるのに有効であり、それによって前記感染症を治療する方法。 10

【請求項 2】

前記溶解素が、前記感染症の原因である前記細菌に対する抗細菌活性を有する請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記第 1 の量が、もし前記抗生物質が単独療法として投与された場合に前記感染症を治療するのに効果がないと思われるようなものである請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記抗生物質が環状リポペプチド又はアミノグリコシドである請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記溶解素ポリペプチドが、配列番号 1 のアミノ酸配列又は *Staphylococcus aureus* に対する抗細菌活性及び配列番号 1 と少なくとも 80% の同一性をもつそのバリエーションを有し、且つ前記感染症の原因である前記細菌が *Staphylococcus aureus* である請求項 1 に記載の方法。 20

【請求項 6】

前記 *S. aureus* が、M R S A、M S S A、又は V I S A である請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

前記抗生物質が環状リポペプチドである請求項 3 に記載の方法。

【請求項 8】

前記抗生物質がダプトマイシンである請求項 3、4、5、又は 6 に記載の方法。 30

【請求項 9】

前記抗生物質がトブラマイシンである請求項 3 又は 4 に記載の方法。

【請求項 10】

前記第 2 の量が閾値以下の量である前述の請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記第 1 の量が閾値以下の量である請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記溶解素ポリペプチドが非経口的に又は吸入によって投与される請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記抗生物質が経口的若しくは非経口的に又は吸入によって投与される請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。 40

【請求項 14】

前記対象が哺乳類対象である請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

前記溶解素ポリペプチドが、P A L 又は C p l - 1 であり、前記感染症の原因である前記細菌が *Streptococcus pneumoniae* である請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

前記感染症の原因である前記細菌がグラム陰性である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】

前記細菌が *P. aeruginosa* である請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記抗生物質が環状リポペプチドである請求項 16 又は 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記抗生物質がコリスチンである請求項 16、17、又は 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記抗生物質がトブラマイシンである請求項 16 又は 17 に記載の方法。

【請求項 21】

前記溶解素が、1つ以上の以下の特許出願：米国特許出願公開第 20140120074号、国際公開第 2015/070912号；国際公開第 2015/071436号；国際公開第 2015/070911号；国際公開第 2015/071437号；米国特許出願公開第 20150118731号、及び国際公開第 2012/085259号に記載されている一群のエンドリシン融合タンパク質並びに配列 GN37（配列番号 6）；GN2（配列番号 7）；GN4（配列番号 8）；GN14（配列番号 9）；GN43（配列番号 10）；PGN4（配列番号 11）；FGN4-1（配列番号 12）；FGN4-2（配列番号 13）；FGN4-3（配列番号 14）；及び FGN4-4（配列番号 15）を有する以下のグラム陰性溶解素ポリペプチドから選択される請求項 18 に記載の方法。

【請求項 22】

肺サーファクタントが存在する下気道のレンサ球菌感染症又はブドウ球菌感染症を患う対象を治療する方法であって、前記方法が、順序に関係なく以下のステップ：

b. 前記対象に、第 1 の量の、活性が前記肺サーファクタントによって阻害される、前記感染症の原因である前記細菌に対する抗細菌活性を有する抗生物質を投与すること；

i. 前記対象に、第 2 の量の、CF-301、ClyS、リソスタフィン、LysK、Sal-200、LysGH15、PlyV12、ClyH、MV-L、Ply、PlyPly、PlyGBS、LambdaSa1、LambdaSa2、Cpl1、Pal、それらの活性断片、及び前述の溶解素又は断片の 1 つの結合ドメインが別の溶解素又は断片の触媒ドメインに融合されているそれらのキメラ結合体からなる群より選択される少なくとも 1 つの溶解素ポリペプチドを共投与すること

を含み、

前記第 1 及び第 2 の量が相まって前記感染症の原因である前記細菌を死滅させるのに有効であり、それによって前記感染症を治療する方法。

【請求項 23】

前記抗生物質がダプトマイシンである請求項 21 に記載の方法。

【請求項 24】

肺サーファクタントが細菌感染症に対する抗生物質の活性を阻害する、又は阻害すると思われる量で存在する器官又は組織における前記抗生物質の殺菌活性を前記器官又は組織において回復させる方法であって、前記方法が、前記器官又は組織の感染症を患う対象に、第 1 の量の前記抗生物質を投与すること及び前記対象に第 2 の量の、前記感染症の原因である前記細菌に対する抗細菌活性を有する溶解素ポリペプチドを共投与することを含み、前記量が相まって前記細菌を死滅させるのに有効であり、それによって前記感染症を治療する方法。

【請求項 25】

肺サーファクタントが存在する下気道のグラム陽性細菌感染症又はグラム陰性細菌感染症を患う対象治療する方法であって、その対象が既に前記感染症を治療するのに適した抗生物質を投与されており、前記対象への前記抗生物質の投与を続けること、及び殺菌活性を回復させる量の、前記対象における前記感染症の原因である前記細菌に対する活性をもつ溶解素ポリペプチドの前記対象への共投与を開始すること、及びそれによって前記対象の下気道の前記感染症の原因である前記細菌に対する前記抗生物質の殺菌活性を回復させることを含む方法。

10

20

30

40

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の参照

本特許出願は、2015年9月17日に出願された米国仮特許出願第62/220,212号及び2015年10月28日に出願された米国仮特許出願第62/247,619号の優先権を主張し、これらの仮出願の内容は参照により本願明細書に組み込まれる。

本開示は、細菌感染症と闘うことに関する分野、具体的には呼吸器の分野、より具体的には下気道、とりわけ上皮に肺サーファクタントが存在することを特徴とする組織及び器官の分野に関する。さらに本開示は、抗生物質耐性をもつようになるよりむしろ、肺サーファクタントなどの感染症の環境における因子に起因して、感染症との闘いにおける抗生物質の有効性が減少する問題に対処する。

【背景技術】

【0002】

バクテリオファージ溶解素ポリペプチドCF-301は、*Staphylococcus aureus* 菌血症及び心内膜炎を治療するための、開発中のファースト・イン・クラスの抗菌剤である。CF-301の顕著な特徴としては、急速な病原菌特異的溶菌、耐性がないこと、標準治療抗生物質との相乗作用、及び抗バイオフィーム活性が挙げられる (Schuch et al., *J Infect Dis.*;209(9):1469-78 (2014). doi: 10.1093/infdis/jit637. Epub 2013 Nov 28.)。CF-301はFDA管轄治験 (FDA-regulated clinical trial) に入る最初の溶解素である。CF-301 (PlySs2) は配列番号1 (ジェンバンク受託ZP03625529) に示されるアミノ酸配列をもち、米国特許第9034322号に記載されている。

【0003】

気道又は呼吸器感染症の原因である *Staphylococci* 属細菌に対して活性がある他の溶解素としては、限定されないが、PlyC、PlyGBS、LysK、リソスタフィン、キメラ溶解素ClyHが挙げられる (Cheng et al. *Antimicrob Agents Chemother.* 49(1):111-117 (2005); McGowan et al. *Proc Natl Acad Sci U S A.*,109(31):12752-7 (2012), Becker et al. *FEMS Microbiol Lett.*, 287(2):185-91 (2008), Yang et al. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(1):536-42 (2014))。Streptococcus pneumoniae に対して活性がある溶解素ポリペプチドとしては、国際公開第2008/00132号 (キメラ化のためのCHAドメインの配列を含む) 及び中国特許第102021161号 (CN102021161) にそれぞれ記載されているPAL溶解素及びCp11溶解素が挙げられる (Garcia et al. *J Virol.* 61(8):2573-80 (1987); Varea et al. *J Biol Chem.*,279(42):43697-707. (2004))。前述の特許及び参考文献の開示は、あらゆる目的のために参照によりそれらの全体が組み込まれる。気道及びより具体的に下気道の感染症の原因である細菌を含むさまざまな細菌病原体に対して活性がある溶解素が他にいくつか同定されている。溶解素のリストは、<http://www.rockefeller.edu/vaf/phagelist.php>で見ることができる。

【0004】

環状リポペプチド抗生物質ダプトマイシンは、皮膚・皮膚組織感染症に対して承認されている。ダプトマイシンはグラム陽性 (G+) 細菌に対して即効性の殺菌作用があり、G+細胞膜に入ってG+細胞膜の機能的完全性を破壊することによってその活性を発揮し、そのメカニズムは生理的レベルの遊離カルシウムの存在に強く依存する。しかし、ダプトマイシンは重症市中肺炎の治験において評価項目を満たすことができなかった。この欠陥はダプトマイシンと肺サーファクタントとの相互作用に起因することが示されている。肺サーファクタントは、特に肺環境において、より一般的に肺サーファクタントが存在する気道環境においてこの抗生物質の活性を阻害する。Surfactant Inhibition of Daptomycin, Silverman, J. A. et al, *JID*, 191: 2149-2152 (2005)。したがって、ダプトマイシンは、肺及びより一般的に、気道 (特に、下気道) 感染症の治療には適応されず、当業者なら、そのような感染症を治療するのにダプトマイシンを含む治療レジメンを使わないで

10

20

30

40

50

あろう。ダプトマイシンが肺サーファクタントの存在下で感染症と闘うことができないことは、Koplowicz et al. Clin Infect Dis. 49(8):1286-7 (2009)において非常に顕著に示されている。最近の研究では、構造的に関連のあるリポペプチドA 5 4 1 4 5のハイブリッド分子の抗細菌活性を試験及び評価することによってサーファクタント存在下でのダプトマイシン不活性を克服することに重点が置かれている (Nguyen et al. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Apr; 54(4): 1404-1413)。

【 0 0 0 5 】

上皮被覆液の主要構成成分である肺サーファクタントは、気道の内面を被覆し、肺胞内の表面張力を下げる複合脂質タンパク質混合物である。サーファクタントは主にジパルミトイルホスファチジルコリン (哺乳類種すべてにおいて ~ 80%) から成り、それにくわえて、相当量のホスファチジルグリセロール (PG) 及び少量の少数のリン脂質、中性脂質、及びコレステロールを含む。4つのタンパク質構成成分: 親水性タンパク質SP-A及びSP-D並びに疎水性タンパク質SP-B及びSP-Cが存在する。Goerke J. Pulmonary surfactant: functions and molecular composition. Biochim Biophys Acta 1998; 1408:79-89。ダプトマイシンは、ホスファチジルコリン (PC) 及びPC/PGから成る人工膜小胞に挿入される。Lakey JH, et al: Fluorescence indicates a calcium-dependent interaction between the lipopeptide antibiotic LY146032 and phospholipid membranes. Biochemistry 1988; 27:4639-45; Jung D, et al. Structural transitions as determinants of the action of the calcium-dependent antibiotic daptomycin. Chem Biol 2004; 11:949-57。

【 0 0 0 6 】

医学における大きな問題は、より多くの抗生物質がさまざまな病気及び他の状態に使用されるにつれて薬剤耐性菌がでてくることである。病院感染は米国で8番目に多い死因であり、その主因は薬剤耐性及び新興病原体である。例えば、米国では年間500,000例を超えるStaphylococcus aureusの症例があり、65%を超える株が多剤耐性であり、例えば、メチシリン耐性S. aureus (MRSA)のいくつかの株も多剤耐性でもある。より多くの抗生物質の使用及び耐性を示す細菌の数が、治療期間をより長いものになっている。さらに、患者に有害な影響をもつものがいくつかあるが、広いスペクトラムの抗生物質が高い頻度で今日使用されている。この使用の増加に関連する問題は、多くの抗生物質は容易に粘膜内層に浸透しないことや上記のようにこれらの内層に存在する因子によって阻害されることである。くわえて、抗生物質にアレルギーをもつ人の数は増加しているようである。それ故に、新規の抗菌方法、特に、新しいモダリティーを介してそう察したり、新たな手段若しくは改良手段を提供したりして、病原菌を死滅させ、それによって感染症を治療するものに対して商業上のニーズが存在する。

【 0 0 0 7 】

溶解素ポリペプチドは、細菌細胞壁又は外膜を貫通でき、直接細菌を溶解できる又は細菌を宿主免疫系及び/若しくは抗生物質などの殺菌作用物質に曝露できるバクテリオファージ由来の酵素であり、その発見は感染症の分野で大きな進歩であった。特に、抗生物質と併せて投与された溶解素は、それらの抗生物質と相乗作用があり、耐性病原菌に対しても抗生物質の有効性の増加をもたらすことが見出されている。この相乗作用は、抗生物質及び/又は溶解素の投与量を減らして使用し、副作用の可能性を減らす道を開いている。例えば、米国特許第9,034,322号を参照されたい。

【 0 0 0 8 】

しかし、抗生物質が、環境因子がなければ感受性がある病原菌によって引き起こされる特定の感染症の治療において、耐性よりむしろサーファクタント阻害などの環境因子に起因して効果がないことがみられた場合に、これまで溶解素の使用が提案されたことはなかった。実際、肺サーファクタントによる阻害に直面して溶解素が抗生物質の有効性を上げることになると考える理由はなかった。それゆえに、下で開示される方法の効果は予期せぬものであった。

【 0 0 0 9 】

10

20

30

40

50

グラム陽性細菌は、ポリペプチド及び多糖類を含有する細胞壁に囲まれている。グラム陽性細菌細胞壁は、厚さが20～80nmの幅の広い緻密な壁として現れ、ペプチドグリカンの相互に連結した多数の層からなる。グラム陽性細菌細胞壁の60%～90%はペプチドグリカンであり、細胞の形、剛構造、及び浸透圧衝撃に対する耐性をもたらす。細胞壁はグラム染色クリスタルバイオレットを遮断せず、細胞が紫色に染色され、したがって「グラム陽性」であることを可能にする。グラム陽性細菌としては、Actinomyces属、Bacillus属、Listeria属、Lactococcus属、Staphylococcus属、Streptococcus属、Enterococcus属、Mycobacterium属、Corynebacterium属、及びClostridium属が挙げられるが、これらに限定されない。医学的に関連する種としては、Streptococcus pyogenes、Streptococcus pneumoniae、Staphylococcus aureus、及びEnterococcus faecalisが挙げられる。Bacillus属の種は芽胞を形成し、炭疽及び胃腸炎を引き起こす。芽胞形成クロストリジウム属の種は、ボツリヌス中毒症、破傷風、ガス壊疽、及び偽膜性大腸炎の原因である。Clostridium属の種はジフテリアを引き起こし、リステリア属の種は髄膜炎を引き起こす。Staphylococcus aureus及びStreptococcus pneumoniaeは、市中肺炎、院内肺炎、誤嚥に続く肺炎、又は日和見性の肺炎に関係なく、肺炎の2大原因病原菌である。

10

【0010】

したがって、肺又は他の気道の感染症及びより一般的に呼吸器の感染症の場合に、普通なら有効な抗生物質が、感染症の部位である器官又は組織に存在する因子、例えば肺サーファクタントによって阻害される範囲内において、そのような抗生物質の活性を回復させる且つ増大させさせると思われる治療レジメンは、商業的かつ公衆衛生的に大いに価値があると思われる。

20

【0011】

上記のダプトマイシンの他に、肺サーファクタントによって阻害されることが知られている他の抗生物質としては、限定されないが、以下が挙げられる。肺炎の一般的な原因であるグラム陰性細菌Pseudomonas aeruginosaによって起こる感染症を治療するのに使用されるアミノグリコシドであるトブラマイシン (van 't Veen A et al. Antimicrob. Agents Chemother. 39:329-333 (1995)) 及びP. aeruginosaを含むグラム陰性菌に対して幅広く活性がある環状リポペプチド (ポリミキシン (polymixin)) であるコリスチン。Schwameis, R. et al, Effect of Pulmonary Surfactant on Antimicrobial Activity In Vitro, October 2013 Volume 57 Number 10 Antimicrobial Agents and Chemotherapy p. 5151-5154。

30

【発明の概要】

【0012】

1つの態様では、本開示は、肺サーファクタントが存在する器官又は組織の細菌感染症を患う対象を治療する方法に関し、その方法は、順序に関係なく以下のステップ：

a. 対象に、第1の量の、活性が肺サーファクタントによって阻害される、感染症の原因である細菌に対する抗細菌活性を有する抗生物質を投与すること；

b. 対象に第2の量の溶解素ポリペプチドを共投与すること

を含み、

前記第1及び第2の量は相まって感染症の原因である細菌を死滅させるのに有効であり、それによって感染症を治療する。

40

【0013】

いくつかの実施形態では、溶解素は感染症の原因である細菌に対する抗細菌活性を有する。

【0014】

いくつかの実施形態では、第1の量は、もし抗生物質が単独療法として投与された場合に感染症を治療するのに効果がないと思われるようなものである。

【0015】

いくつかの実施形態では、抗生物質は環状リポペプチド又はアミノグリコシドである。

【0016】

50

さらに具体的な実施形態では、溶解素ポリペプチドは、配列番号1のアミノ酸配列又は *Staphylococcus aureus* に対する抗細菌活性及び配列番号1と少なくとも80%の同一性をもつそのバリエーションを有し、かつ感染症の原因である細菌は *Staphylococcus aureus* である。

【0017】

いくつかの実施形態では、*S. aureus* は、M R S A、M S S A、又はV I S Aである。

【0018】

いくつかの実施形態では、抗生物質は、環状リポペプチド、例えば、ダプトマイシンである。

【0019】

他の実施形態では、抗生物質は、アミノグルコシド (aminoglycoside)、例えば、トブラマイシンである。

【0020】

いくつかの実施形態では、第2の量若しくは第1の量は閾値以下の量である（又はそれらの量は共に閾値以下である）。

【0021】

いくつかの実施形態では、溶解素ポリペプチドは非経口的に又は吸入によって投与され、いくつかの実施形態では、抗生物質は経口的若しくは非経口的に又は吸入によって投与される。

【0022】

いくつかの実施形態では、対象は哺乳類対象である。

【0023】

いくつかの実施形態では、溶解素ポリペプチドはP A L又はC p l - 1であり、感染症の原因である細菌は *Streptococcus pneumoniae* である。

【0024】

いくつかの実施形態では、感染症の原因である細菌はグラム陰性、例えば、*P. aeruginosa* である。

【0025】

いくつかの実施形態では、溶解素は、1つ以上の以下の特許出願：米国特許出願公開第20140120074号、国際公開第2015/070912号、国際公開第2015/071436号、国際公開第2015/070911号、国際公開第2015/071437号、米国特許出願公開第20150118731号、及び国際公開第2012/085259号に記載されている *artilysin* であり、1つ以上の以下の特許出願：米国特許出願公開第20140120074号、国際公開第2015/070912号、国際公開第2015/071436号、国際公開第2015/070911号、国際公開第2015/071437号、米国特許出願公開第20150118731号、及び国際公開第2012/085259に記載されている一群の *Artilyns* から選択される配列をもつGN溶解素、並びに写しがこの特許出願に付属書類Aとして添付され、参照によりその全体が組み込まれる、2015年10月28日に出願された米国仮特許出願第62/247,619号に開示されている以下のグラム陰性溶解素：GN37（配列番号6）、GN2（配列番号7）、GN4（配列番号8）、GN14（配列番号9）、GN43（配列番号10）、PGN4（配列番号11）、FGN4-1（配列番号12）、FGN4-2（配列番号13）、FGN4-3（配列番号14）、及びFGN4-4（配列番号15）である。

【0026】

さまざまなより具体的な実施形態では、抗生物質は、コリスチンなどの環状リポペプチド又はトブラマイシンなどのアミノグリコシドである。

【0027】

別の態様では、本開示は、肺サーファクタントが存在する下気道のレンサ球菌感染症又はブドウ球菌感染症を患う対象を治療する方法に関し、その方法は、順序に関係なく以下

10

20

30

40

50

のステップ：

a. 対象に、第1の量の、活性が肺サーファクタントによって阻害される、感染症の原因である細菌に対する抗細菌活性を有する抗生物質を投与すること；

i. その対象に、第2の量の、CF-301、ClyS、リソスタフィン、LysK、Sal-200、LysGH15、PlyV12、ClyH、MV-L、Ply、PlyPly、PlyGBS、LambdaSa1、LambdaSa2、Cpl1、Pal、それらの活性断片、及び前述の溶解素又は断片の1つの結合ドメインが別の溶解素又は断片の触媒ドメインに融合されているそれらのキメラ結合体からなる群より選択される少なくとも1つの溶解素ポリペプチドを共投与すること
を含み、

前記第1及び第2の量が相まって感染症の原因である細菌を死滅させるのに有効であり、それによって感染症を治療する。

【0028】

いくつかの実施形態では、抗生物質はダプトマイシンである。

【0029】

肺サーファクタントが細菌感染症に対する抗生物質の活性を阻害する、又は阻害すると思われる量で存在する器官又は組織における前記抗生物質の殺菌活性を前記器官又は組織において回復させる方法であって、その方法が、前記器官又は組織の感染症を患う対象に、第1の量の前記抗生物質を投与すること及び前記対象に第2の量の、前記感染症の原因である細菌に対する抗細菌活性を有する溶解素ポリペプチドを共投与することを含み、前記量が相まって前記細菌を死滅させるのに有効であり、それによって感染症を治療する方法。

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1】図1は、CF-301はウシ由来サーファクタント中で活性がある一方で、DAPは活性がないことを示す。図1は、MRSA株MW2（図1A）、MSSA株ATCC29213（図1B）、及びVISA株ATCC700699（図1C）に対するCF-301及びDAPのMIC値を示す。

【0031】

【図2】図2は、CF-301が7.5%サーファクタント中でMRSAへのボディピー-DAP（DAP^{B D}）結合を促進することを示す画像を含む。倍率1000倍。

【0032】

【図3】図3は、CF-301が7.5%サーファクタント中でVISAへのDAP^{B D}結合を促進することを示す画像を含む。倍率2000倍。

【0033】

【図4】図4は、CF-301とDAPが相まって作用して、7.5%サーファクタント中でS. aureusを死滅させ、バイオフィルム様構造体を減らすことを示すTEM（図4A）及びSEM（図4B）分析画像を含む。図4Aではスケールバーは0.5µmである。図4Bでは、スケールバーは2µm（5,000倍像）及び1µm（20,000倍像）。

【0034】

【図5】図5Aは、 5×10^8 CFUのS. aureus（MRSA株ATCCBAA-42）に鼻腔内感染させ、生理食塩水、CF-301（静脈内）、DAP（皮下）、又はCF-301/DAPで治療したマウスの生存曲線である。（n=10頭のマウス/群；p<0.05対DAP）。図5Bは、感染の1日後及び3日後の肺あたりCFUの対数のプロットである。

【発明を実施するための形態】

【0035】

本発明においては、従来分子生物学、微生物学、及び組み換えDNA技法が、当業者の技能範囲内で用いることができる。そのような技法は文献で十分に説明されている。例

10

20

30

40

50

えば、Sambrook et al, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" (1989); "Current Protocols in Molecular Biology" Volumes I-III [Ausubel, R. M., ed. (1994)]; "Cell Biology: A Laboratory Handbook" Volumes I-III [J. E. Celis, ed. (1994)]; "Current Protocols in Immunology" Volumes I-III [Coligan, J. E., ed. (1994)]; "Oligonucleotide Synthesis" (M. J. Gait ed. 1984); "Nucleic Acid Hybridization" [B. D. Hames & S. J. Higgins eds. (1985)]; "Transcription And Translation" [B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984)]; "Animal Cell Culture" [R. I. Freshney, ed. (1986)]; "Immobilized Cells And Enzymes" [IRL Press, (1986)]; B. Perbal, "A Practical Guide To Molecular Cloning" (1984)を参照されたい。

定義

【0036】

以下の用語及び句は、文脈が明らかにそうではないと示されない限り、下で与えられる意味を包含する。

【0037】

「治療」という用語は、いずれの方法、行為、適用、療法などを指し、そこにおいて、ヒトを含む対象は、障害に対する治療を提供する若しくは傷害を治癒させる目的、又は病原体を死滅させる若しくは根絶する目的、又は対象の病気を直接的若しくは間接的に改善する目的で医学的な助けに供される。治療はまた、発生を減らすこと、又は症状を緩和すること、再発をなくすこと、再発を予防すること、発生を予防すること、症状を改善すること、予後を改善すること、又はそれらの組み合わせを指す。さらに「治療」は、対象における細菌の集団、増殖速度、又は病原性を減少させること及びにそれによって対象における細菌感染又は器官若しくは組織若しくは環境の細菌混入を制御する又は減らすことを包含する。したがって、発生を減らす「治療」は、特定の環境において、それが対象であろうと環境であろうと少なくとも1つのグラム陽性菌の増殖又は少なくとも1つのグラム陰性菌の増殖を阻害するのに有効である。他方では、既存の感染症又は雑菌混入の「治療」は、集団を減らすこと又は感染症又は雑菌混入であるグラム陽性細菌又はグラム陰性細菌を根絶することも含めて、それら細菌を死滅させることを指す。

【0038】

「予防すること」は、細菌感染症などの疾患の発生、再発、蔓延、発症、又は定着の予防を含む。本開示が完全な予防又は感染症の定着の予防に限定されることを意図しない。いくつかの実施形態では、発症が遅らされ、又は続いて罹患する疾患の重症度が下がり、そのようなことは予防の例を構成する。本開示との関連で罹患疾患は、臨床症状又は不顕性症状が現れているもの、例えば、かかる病状に関連する症状がまだ現れていないときの細菌病原体の検出及び細菌病原体の増殖の検出などを包含する。

【0039】

「有効量」という用語は、適切な頻度又は投与レジメンで適用又は投与されたときに、細菌増殖を予防若しくは阻害する、治療される疾患（ここでは、細菌病原体増殖若しくは感染症）の発症、重症度、期間、若しくは進行を予防、軽減、若しくは改善する、治療される疾患の進行を予防する、治療される疾患の退縮を引き起こす、又は抗生物質若しくは静菌治療などの別の治療の予防効果若しくは治療効果を増大若しくは向上させるのに充分である量を指す。

【0040】

「共投与する」は、溶解素ポリペプチドと抗生物質若しくは他の抗菌剤を順次別々に投与すること、又は単一混合物/組成物又は別々に与えられるが、それでもなお実質的に同時に対象に、例えば、同じ日又は24時間（又は抗生物質の投与が溶解素の共投与に利する限りそれより短い間隔若しくは長い間隔）における異なる時点で投与される適用量などで実質的に同時にこれらの薬剤を投与すること包含することを意図する。溶解素ポリペプチドと1つ以上の抗生物質などの追加の抗菌剤とのそのような共投与は、最高で数日、数週間、又は数か月続く継続的な治療として提供することができる。くわえて、肺サーファクタントによる投与抗生物質の阻害が弱まり、肺サーファクタントが存在する器官又は組

10

20

30

40

50

織の感染症の治療における抗生物質の有効性が回復又は増加する限り、共投与は継続される又はともに延長される必要はない。

【0041】

「対象」は治療される対象を指し、とりわけ、哺乳類を含み、例えば、限定されないが、ヒト、植物、下等動物、単細胞生物、又は細胞培養物が挙げられる。例えば、「対象」という用語は、グラム陰性細菌又はグラム陽性細菌に感染しやすい又は感染する生物、例えば、原核生物及び真核生物を包含することを意図する。対象の例としては、哺乳類、例えば、ヒト、イヌ、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ネコ、マウス、ウサギ、ラット、及びトランスジェニック非ヒト動物が挙げられる。ある実施形態では、対象は、ヒト、例えば、細菌感染症が、全身性であるか特定の器官又は組織に限られるかに関係なく、細菌感染症を患うヒト、細菌感染症罹患のリスクがあるヒト、又は感染症に罹患しやすいヒトである。

10

【0042】

「ポリペプチド」は、「タンパク質」や「ペプチド」という用語と交換可能に用いられ、アミノ酸残基からなり、少なくとも約30個のアミノ酸残基をもつポリマーを指す。この用語は、単離された形でのポリペプチドだけではなく、(下で定義される)その活性断片や誘導体も包含する。「ポリペプチド」という用語はまた、下に記載の溶解素ポリペプチドを含み、かつ溶解素機能を維持する融合タンパク質又は融合ポリペプチドを包含する。ポリペプチドは天然ポリペプチドであることもでき、組換えポリペプチド又は合成的に作られたポリペプチドであることもできる。特定の溶解素ポリペプチドは、例えば、酵素的切断若しくは化学的切断によって天然タンパク質から派生できる若しくは取り外すことができ、又は従来ペプチド合成技術(例えば、固相合成)又は分子生物学的技術(例えば、Sambrook, J. et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)に開示のもの)を用いて作製でき、又は例えば、本明細書において、GN4の両親媒性ドメインを含むGN4の断片及び同じ標的細菌又は少なくとも1つの共通する標的細菌に対する溶解素活性を維持するそのトランケート型(付属書類Aを参照されたい)で例示されるように、戦略的にトランケート又は断片化して活性断片を得ることができる。天然溶解素ポリペプチドと、少なくとも80%、又は少なくとも85%、又は少なくとも90%、又は少なくとも95%、又は少なくとも98%の配列同一性をもつ天然溶解素ポリペプチドのパリアント(上述したように、天然溶解素タンパク質の活性断片を含む)も包含される。

20

30

【0043】

薬剤又は化合物に関連して「殺菌性」とは、細菌の死を引き起こす性質又は細菌の最初の集団のうち少なくとも3ログ(3-log)(99.9%)若しくはより大きな減少の程度まで細菌を死滅できる性質を有することを慣習的に意味する。

【0044】

本開示の文脈の中で「増加させること」とは、抗生物質抗の抗菌活性の程度は、肺サーファクタントの存在した場合に考えられる程度と比べて高いことを意味する。例えば、本開示に関連して抗生物質活性は、少なくとも5倍、少なくとも10倍、少なくとも16倍、少なくとも20倍、少なくとも24倍、少なくとも30倍、少なくとも40倍、少なくとも50倍、少なくとも70倍、少なくとも80倍、少なくとも100倍、10倍を超えて、20倍を超えて、50倍を超えて、100倍を超えて回復又は増加することができる。くわえて、本開示に関連して溶解素の活性は、少なくとも2倍、少なくとも4倍、少なくとも8倍、少なくとも10倍、最大で10倍、最大で16倍、最大で20倍、2倍を超えて、4倍を超えて、8倍を超えて、10倍を超えて、20倍を超えて増加することができる。

40

【0045】

「吸入可能な」は、組成物を通常呼吸又は補助呼吸の間又はそれに併せて呼吸器に直接送達する方法(例えば、気管気管支内投与、肺内投与、及び/又は経鼻投与による)を指す。吸入可能製剤としては、微粒化製剤、噴霧製剤、乾燥粉末製剤、及び/又はエアロゾ

50

ル製剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0046】

「バイオフィルム」は、多糖類、糖タンパク質、又は核酸の自己形成マトリックス内にぎっしりと取り囲まれた細菌の凝集体を指す。この状態において、細菌は抗生物質に対する耐性が高い。

[発明を実施するための形態]

【0047】

いくつかの実施形態では、本開示は、CF-301を抗生物質ダプトマイシン(DAP)と組み合わせて、両薬物の適応を、肺サーファクタントが存在する器官又は組織の感染症、例えば、気道の感染症に拡大することを記載する。いくつかの実施形態では、肺サーファクタントは呼吸器系以外の器官又は組織に発現する(Madsen et al. Am J Respir Cell Mol Biol., 29(5):591-7 (2000))。DAPは菌血症及び心内膜炎に対する強力な治療選択肢である一方で、肺サーファクタントによる選択的阻害のため肺感染症に対しては使用することができない(Silverman et al., J Infect Dis., 191(12):2149-52. (2005))。DAPのサーファクタントによって媒介される阻害に伴う臨床上の限界を鑑みて、本開示は、DAP活性が普通は肺サーファクタントによって阻害される肺(及び肺サーファクタントが存在する呼吸器の他の部分、例えば、気管支経路だけでなく気管や咽頭も含む)において、CF-301がDAP活性を回復又は増加させることを記載し、すなわち、ブドウ球菌肺炎、気管支肺炎、肺炎球菌肺炎、及び非定型肺炎などの気道感染症、とりわけ下気道感染症を治療するための新しい選択肢を提供する。

10

20

【0048】

より広義には、本開示は、呼吸上皮などの器官又は組織における肺サーファクタントの存在などの環境因子に起因する抗生物質の阻害が回避又は克服でき、その環境における抗生物質の有効性が抗生物質と溶解素の共投与によって回復又は増加すること記載する。

【0049】

抗生物質は、治療される感染症の原因病原菌が通常は感受性のあるものでありうる。溶解素は同じ生物に対して活性があるものでありうる。抗生物質は実質的にサーファクタントによる干渉から免れ、かつ相乗作用を与えるよう利用できることになるので、抗生物質は典型的には、サーファクタントの非存在下で単独療法として使用される場合の有効量と思われる量又はそれより少ない量、例えば、ある実施形態では、閾値以下の量などの第1の量で投与されることになる。したがって、使用される抗生物質量は、十分に当業者の技能範囲内である微調整に供されることになる。溶解素と抗生物質は相乗作用を示すので、溶解素は典型的には、溶解素が単独療法として用いられたら使用されると思われる量又はそれより少ない量、例えば、ある実施形態では、閾値以下の量などの第2の量で投与される。やはり、溶解素の量は十分に当業者の技能範囲内である最適化に供されることになる。第1及び第2の量は、少なくとも相まって(そうでなければ個々でも)、感染症の原因である細菌を死滅させ、それによって感染症を治療するのに有効であることになり、それによって、感染症を根絶する又は感染症の部分的若しくは完全な根絶に寄与するようなものである。

30

【0050】

1つの実施形態では、溶解素は第1の量で投与され、抗生物質は第2の量で投与される。

40

【0051】

抗生物質は、非経口、経口などのいずれの適切な経路によっても、ある特定の場合では、吸入によっても投与されうる。溶解素は、いずれの適切な経路によっても、(非経口的に)注射によっても、又は吸入によっても投与されうる。治療の期間は、治療の有効性の評価によって、例えば、症状の減衰及び/又は消失、病原菌の力価の減少又は消滅、治療対象の健康状態の改善など並びに1つ以上のそのような評価パラメータの改善の速度によって決定されることになる。年齢、感染症の種類、随伴合併症、や患者の全身健康状態などの因子に応じて対象によってさまざまでありうる。抗生物質単独療法の通常の期間が

50

、本開示による併用治療の期間を決めるための基準になるであろう。

【 0 0 5 2 】

肺サーファクタントの存在に起因して、気道の内部は体内で独特の環境をもつ。研究により、ある特定の例では、抗生物質の器官特異的阻害が起こることがあり、その特有の器官において特定の抗生物質の効力がなくなりうることが示されている。そのような器官特異的阻害がダプトマイシン（DAP）の場合において見られ、少量の肺サーファクタントがStaphylococcus aureusに対するDAP活性を阻害でき、DAPがこの病原菌によって引き起こされる肺感染症の治療に適さないものにする（Silverman et al., J Infect Dis., 191(12):2149-52. (2005)）。Studies by Silverman et al.による研究は、S. aureusに起因する気管支肺胞肺炎に対してDAPで治療した患者（Koplowicz et al. Clin Infect Dis. 49(8):1286-7 (2009)）においてさらに裏付けられた。両研究は（Silverman et al., and Koplowicz et al.）、肺サーファクタントの存在がDAPの抗微生物作用を損なうことを確立した。これに基づいて、DAPが、肺サーファクタントの非存在下で（例えば、インビトロ又は感染症が、肺サーファクタントがない若しくは実質的にない器官又は組織で罹病した場合に）他の病原菌に対して活性があるならば、DAPは活性があり、そのような呼吸器病原菌に起因する感染症を治療するのに利用可能であることが予想される。そのような病原菌の非限定的な例は、コアグラエゼ陰性ブドウ球菌属細菌、Streptococcus pneumoniae、及びStreptococcus pyogenesである。

10

【 0 0 5 3 】

環状リポペプチド抗生物質の類に属するDAPにくわえて、肺サーファクタントによって誘導される抗生物質活性の阻害は、リポペプチドであるコリスチンやアミノグリコシドであるトブラマイシンなどのさらなる抗生物質についても見られている。したがって、本開示の方法は、肺サーファクタントが存在する器官又は組織に感染する感受性がある細菌病原体に対するこれらの抗生物質の活性を回復又は増加させるのに使用することができる。

20

【 0 0 5 4 】

現在、DAPは以下のグラム陽性細菌の感受性がある分離株によって引き起こされる複雑性皮膚・皮膚組織感染症（cSSSI）の治療に適応がある。Staphylococcus aureus（メチシリン耐性分離株を含む）、Streptococcus pyogenes、Streptococcus agalactiae、Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis、及びEnterococcus faecalis（バンコマイシン感受性分離株のみ）。また、DAPはメチシリン感受性やメチシリン耐性分離株によって引き起こされる右心系感染性心内膜炎を伴うものを含むStaphylococcus aureus血流感染症の治療にも使用される。さらに、インビトロの研究により、ペニシリン耐性Streptococcus pneumoniaeがDAPによって阻害されることが示されている（Piper et al. J Infect Chemother (2005) 11:207-209）。

30

【 0 0 5 5 】

1つの実施形態では、本開示は、溶解素と1つ以上の抗生物質の組み合わせを肺サーファクタントが存在する器官又は組織に投与することを含む、サーファクタントによって阻害される抗生物質活性を回復また増加させる方法を提供する。肺サーファクタントは肺組織で存在し、本開示は、サーファクタントによって阻害される抗生物質の抗菌活性を回復させる溶解素の能力に関するインビトロ及び生体内での証拠を提供するので、下気道の感染症を引き起こす他の細菌が、これらの細菌に対して活性があるDAP及び溶解素の組み合わせによって死滅するであろうことが予想される。

40

【 0 0 5 6 】

表1から表3を含む本明細書において例示される溶解素が、その活性断片及び1つの溶解素の結合ドメインと別の溶解素の触媒ドメインのキメラ結合体で代替できることが理解されよう。例えば、Cheng et al. Appl Microbiol Biotechnol. 74(6):1284-91 (2007)を参照されたい。

実際に、いくつかの例は既に溶解素ポリペプチドの断片やキメラである。表1（肺サーファクタントの非存在における）DAP治療に感受性がある細菌、肺サーファクタントの

50

存在下で起こる感染症の種類、及び列挙された各細菌を死滅できる又はその増殖を阻害できる溶解素化合物の例

【 0 0 5 7 】

【 表 1 】

細菌	感染症の種類	前記細菌の増殖を阻害できる溶解素
Staphylococcus aureus	呼吸器感染症、肺炎	CF-301 (配列番号1)、ClyS (配列番号2)、リソスタフィン、LysK (配列番号4) [ジェンバンク: AFN38929.1]、Sa1-200及びLysGH15 (LysKの誘導体)、PlyV12 (配列番号3)、ClyH、並びにMV-L [ジェンバンク: AB254389.1]
Streptococcus pyogenes	上気道の感染症、肺炎(Steer et al. Drugs. 2012 Jun 18;72(9):1213-27)	CF-301 (Gilmer et al. Antimicrob. Agents Chemother. June 2013 vol. 57 no. 6 2743-2750) PlyC (Nelson et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Jul 11; 103(28): 10765-10770.) PlyGBS (Cheng et al. Antimicrob Agents Chemother. 2005 Jan; 49(1): 111-117.) PlyGBS変異体 (Cheng et al. Appl Microbiol Biotechnol. 74(6):1284-91 (2007) PlyPly (Lood et al. Antimicrob Agents Chemother. 2014 Jun; 58(6): 3073-3084.)
Streptococcus agalactiae	上気道の感染症、肺炎	CF-301 (Schuch et al. J Infect Dis. 2014 May 1; 209(9): 1469-1478.) Lambda Sa1、Lambda Sa2 (Pritchard et al. Appl Environ Microbiol. 2007 Nov; 73(22): 7150-7154.)
Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis	上気道の感染症、肺炎 (Preziuso et al. J Vet Sci. 2010 Mar; 11(1): 67-72.)	PlySK1249 (Oechslin et al. Antimicrob Agents Chemother. 2013 Dec; 57(12): 6276-6283)
vancomycin-resistant Enterococcus faecalis	呼吸器感染症、肺炎	PlyV12 (配列番号3)
Streptococcus pneumoniae	呼吸器感染症、肺炎	Cp1-1 (配列番号5) [NC_001825.1]、二量体型のCp1-1、Pa1 (Fenton et al. Bioeng Bugs. 2010 Jan-Feb; 1(1): 9-16.)

10

20

30

40

【 0 0 5 8 】

上表に引用された全文献の開示はすべて、あらゆる目的のために参照によりそれら全体が組み込まれる。

【 0 0 5 9 】

アミノグリコシド系抗生物質には、多くのさまざまな薬剤が含まれる。ゲンタマイシン、トブラマイシン、アミカシン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、及びパロモマイシ

50

ンが、米国食品医薬品局（FDA）によって承認されている。トブラマイシンは、限定されないが、*P. aeruginosa*、*E. coli*、*Acinetobacter* spp.、*Citrobacter* spp.、*Enterobacter* spp. などを含むさまざまなグラム陰性細菌に対して活性がある。特に、トブラマイシンは、市中肺炎と院内肺炎の両方の共通病原菌である*P. aeruginosa*に対して高い活性を示す。

【0060】

グラム陽性細菌に関して、トブラマイシンは狭いスペクトルの活性を示し、*S. aureus* 及び *S. epidermidis* を除いて、大部分のグラム陽性細菌はトブラマイシンに耐性がある。しかし、DAPと同様に、*Klebsiella pneumoniae*、*Pseudomonas aeruginosa*、*S. aureus*、及び *S. pneumoniae* に対するトブラマイシン活性は、サーファクタントの存在下で低下する（van 't Veen A et al. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:329-333 (1995)）。*Klebsiella pneumoniae*、*Pseudomonas aeruginosa*、*S. aureus*、及び *S. pneumoniae* に関連する感染症並びにこれらの細菌に対して活性がある溶解素を表2に列挙する。

10

【0061】

したがって、本開示の方法は、グラム陽性細菌、又はグラム陰性細菌、又は両方によって引き起こされる感染症を治療するために、サーファクタントによって阻害される抗生物質活性を回復又は増加させるために使用することができる。一般に、感染症はグラム陽性種とグラム陰性種が混じった複数の微生物による（Citron et al. *J Clin Microbiol.* 45 (9): 2819-2828 (2007)）。いくつかの実施形態では、本開示の方法は、複数の微生物による感染症を治療するために、サーファクタントによって阻害される抗生物質活性を回復又は増加させるために使用することができる。表2。（サーファクタントの非存在における）トブラマイシン治療に感受性がある細菌、肺サーファクタントの存在下で起こる感染症の種類、及び列挙された各細菌を死滅できる又はその増殖を阻害できる溶解素化合物の例

20

【0062】

【表 2】

細菌	感染症	前記細菌の増殖を阻害できる溶解素
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	肺炎、下気道感染症	Artilynsins、1つ以上の以下の特許出願に記載されている：米国特許出願公開20140120074号、国際公開第2015/070912号、国際公開第2015/071436号、国際公開第2015/070911号、国際公開第2015/071437号、米国特許出願公開20150118731号、及び国際公開第2012/085259号 GN37（配列番号6） GN2（配列番号7） GN4（配列番号8） GN14（配列番号9） GN43（配列番号10） PGN4（配列番号11） FGN4-1（配列番号12） FGN4-2（配列番号13） FGN4-3（配列番号14） FGN4-4（配列番号15）
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,	呼吸器系感染症、肺炎	Artilynsins、1つ以上の以下の特許出願に記載されている：米国特許出願公開20140120074号、国際公開第2015/070912号、国際公開第2015/071436号、国際公開第2015/070911号、国際公開第2015/071437号、米国特許出願公開20150118731号、及び国際公開第2012/085259号 さらに、本発明の発明者らによって同定された以下のグラム陰性溶解素： GN37（配列番号6） GN2（配列番号7） GN4（配列番号8） GN14（配列番号9） GN43（配列番号10） PGN4（配列番号11） FGN4-1（配列番号12） FGN4-2（配列番号13） FGN4-3（配列番号14） FGN4-4（配列番号15）
<i>S. aureus</i>	呼吸器系感染症、肺炎	CF-301、ClyS（配列番号2）、リソスタフィン、LysK（配列番号4）、Sal-200及びLysGH15（LysKの誘導体）、PlyV12（配列番号3）、ClyH(Yang et al. Antimicrob Agents Chemother. 2014 Jan; 58(1): 536-542)
<i>S. pneumoniae</i>	呼吸器感染症、肺炎	Cp1-1（配列番号5）（二量体型のCp1-1を含む）、Pal（配列番号16）

10

20

30

40

【0063】

上表に引用された全文献の開示はすべて、あらゆる目的のために参照によりそれら全体が組み込まれる。

【0064】

コリスチン（ポリミキシンEとしても知られる）はポリミキシン系の抗生物質に属する。コリスチンは狭い抗菌性物質スペクトルをもち、主に*P. aeruginosa*及び*A. baumannii*

50

による感染症に使用される。P. aeruginosa及びA. baumanniiに関連する感染症及びこれらの細菌に対して活性のある溶解素を表3に列挙する。表3. (サーファクタントの非存在における)トブラマイシン治療に感受性がある細菌、肺サーファクタントの存在下で起こる感染症の種類、及び列挙された各細菌を死滅できる又はその増殖を阻害できる溶解素化合物の例

【0065】

【表3】

細菌	感染症	前記細菌の増殖を阻害できる溶解素
P. aeruginosa	呼吸器系感染症、肺炎	Artilynsins、1つ以上の以下の特許出願に記載されている：米国特許出願公開20140120074号、国際公開第2015/070912号、国際公開第2015/071436号、国際公開第2015/070911号、国際公開第2015/071437号、米国特許出願公開20150118731号、及び国際公開第2012/085259号 くわえて、本発明の発明者らによって同定された以下の溶解素も使用することができる。GN37 (配列番号6) GN2 (配列番号7) GN4 (配列番号8) GN14 (配列番号9) GN43 (配列番号10) PGN4 (配列番号11) FGN4-1 (配列番号12) FGN4-2 (配列番号13) FGN4-3 (配列番号14) FGN4-4 (配列番号15)
A. baumannii	呼吸器感染症、肺炎	P1yF307 [ジェンバンク：KJ740396.1]

10

20

30

【0066】

上表に引用された全文献の開示はすべて、あらゆる目的のために参照によりそれら全体が組み込まれる。

【0067】

S. aureusに起因する肺感染症は、病院外地域 (community) 又は病院環境のいずれかにおける個人間で起こる可能性がある。さらに、S. aureusに起因する肺感染症は、皮膚又は鼻孔にS. aureusを保菌する個人間で発症する可能性がある。多くの場合、S. aureusに起因する肺感染症は挿管又は他の呼吸器具の使用という状況の中で起こる。また、S. aureus肺炎は、ウイルス性肺炎の後又は肺塞栓を伴う右心系心内膜炎の状態においても起こる可能性がある。

40

【0068】

通常の宿主における細菌性肺感染症の最も一般的な病原菌としては、Streptococcus pneumoniae、Haemophilus属の種、Staphylococcus aureus、及びMycobacterium tuberculosisが挙げられる。

【0069】

嚢胞性線維症 (CF) をもつ患者における罹病及び死亡の主因は、気管支拡張症及び閉

50

塞性肺疾患である。CF患者が成人するときまでにその98%に肺疾患がある。この疾患の管理における大きな進歩にもかかわらず、大部分の患者が呼吸器合併症のために死亡する。S. aureusは、CF患者の気道に最もよく見られる病原菌の1つである。したがって、1つの実施形態では、本開示は、ダプトマイシンと、CF-301などのその病原菌に対して活性がある溶解素を投与することによるCFをもつ対象のS. aureus肺感染症治療を対象とする。

【0070】

上述したように、本開示は、溶解素と1つ以上の抗生物質の組み合わせを肺サーファクタントが存在する器官又は組織に投与することを含む、サーファクタントによって阻害される抗生物質活性を回復又は増加させる方法を提供する。

10

【0071】

1つの実施形態では、本開示は、対象に第1の量の通常肺サーファクタントによって阻害される抗生物質を投与すること及びその対象に第2の量の溶解素ポリペプチドを共投与することを含む、肺又はより一般的に呼吸器などの、肺サーファクタントが存在する器官又は組織の細菌感染症を患う対象の治療方法を提供し、第1及び第2の量は相まって感染症を治療するのに有効である（この記載は、組み合わせの個々の構成要素がそれ自体の効果をもつことを排除しない）。溶解素は好ましくは感染症の原因である細菌を標的にする、すなわち、溶解素は感染症の原因である細菌に対して活性がある。感染症の原因である病原菌は、少なくとも1つの標準治療抗生物質耐性があってもよいが、溶解素と組み合わせで使用される抗生物質に感受性がなければならない。

20

【0072】

別の実施形態では、本開示は、対象に第1の量の溶解素ポリペプチドを投与すること及びその対象に第2の量の通常肺サーファクタントによって阻害される抗生物質を共投与することを含む、肺又はより一般的に呼吸器などの、肺サーファクタントが存在する器官又は組織の細菌感染症を患う対象の治療方法を提供し、第1及び第2の量は相まって感染症を治療するのに有効である（この記載は、組み合わせの個々の構成要素がそれ自体の効果をもつことを排除しない）。

【0073】

別の実施形態では、気道の感染症は、ブドウ球菌関連疾患又は状態（例えば、ブドウ球菌感染症によって起こるもの又はブドウ球菌感染症が移植若しくはがん若しくは化学療法などのがん治療などの別の疾患又は状態の続発症であるものを含むStaphylococcus属細菌の存在に関連する疾患又は状態）である。

30

【0074】

いくつかの実施形態では、本開示は、肺サーファクタントが、対象における細菌感染症に対する抗生物質の活性を阻害する量又は阻害すると思われる量で存在する器官又は組織の細菌感染症を患う対象における抗生物質の殺菌活性を回復又は増加させる方法を提供し、その方法は、前記器官又は組織の感染症を患う対象に、第1の量の前記抗生物質を投与すること及びその対象に第2の量の、感染症の原因である細菌に対する抗細菌活性溶解素ポリペプチドを共投与することを含み、それらの量は相まってその細菌を死滅させるのに有効であり、それによって感染症を治療する。

40

【0075】

本開示はさらに、抗生物質と溶解素の組み合わせ（例えば、DAP及びCF-301溶解素）を投与することを含む、CF-301などの溶解素の活性を回復又は増加させる方法を提供する。その態様において、溶解素CF-301溶解素の活性は、少なくとも2倍、少なくとも4倍、少なくとも8倍、少なくとも10倍、最高で10倍、最高で16倍、最高で20倍、又はそれを超えて増強される。

【実施例】

【0076】

実施例1

肺サーファクタント中でCF-301は活性があり、DAPは活性がない

50

サーファクタントの存在下における *Staphylococcus aureus* のさまざまな株に対する CF - 301 及び DAP の個々の活性を決定するために、発明者らは、3つの異なる *S. aureus* 株を調べ、ヒトサーファクタントの機能的等価物であるウシ由来サーファクタント (*Survanta*, AbbVie Inc) を使用した。漸増濃度のサーファクタントの存在下でメチシリン耐性株 (MRS A) MW2 (図1A)、メチシリン感受性 (MSS A) 株 ATCC 29213 (図1B)、及びバンコマイシン低度耐性黄色ブドウ球菌 (VISA) 株 ATCC 700699 (図1C) を用いて最小発育阻止濃度 (MIC) の決定を前もって形成した (preformed) (図1)。MIC 値は、Clinical and Laboratory Standards Institute. M07-A9. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard. 8th ed. Wayne, PA: CLSI, 2012 に従って微量液体希釈で決定した。簡潔に説明すると、細菌の各株をカルシウム調整ミューラー・ヒントン液体培地を用いて 5×10^5 コロニー形成単位 [CFU] / mL の濃度に成長培地に懸濁し、96 ウェルポリプロピレンマイクロタイタープレート (Becton, Dickinson, and Company) 中に一連の2倍段階希釈で CF - 301 又は DAP に曝露した。35 にて周囲空気中で24時間インキュベーションした後、MIC 値を、各株の細菌増殖を阻害した各化合物 (CF - 301 又は DAP) の最大希釈濃度として記録した (Schuch et al, J Infect Dis.; 209(9):1469-78 (2014))。CF - 301 及び DAP の開始 MIC 値 (すなわち、サーファクタントなし) は (それぞれ)、MW2 に対しては 32 及び $1 \mu\text{g} / \text{mL}$ (図1A)、ATCC 29213 に対しては 16 及び $1 \mu\text{g} / \text{mL}$ (図1B)、並びに ATCC 700699 に対しては 64 及び $2 \mu\text{g} / \text{mL}$ (図1C) であった。

10

20

【0077】

図1A~Cに示されるように、CF - 301は、試験した株の各々において肺サーファクタントの存在下で抗菌活性を示したが、DAPは示さなかった。1.25~15%のサーファクタント濃度範囲にわたって、CF - 301のMICは、最高で2倍 (MRS A 及び MSS A 株に対して) 及び4倍 (VISA に対して) に増加した (図1A~C)。しかし、CF - 301 試験に用いた範囲と同じサーファクタントの範囲にわたって、DAPのMICは256倍増加した。まとめると、これらの結果は、CF - 301はサーファクタントの存在下で *S. aureus* の MRS A、MSS A、及び VISA 株に対して活性があり、その一方で DAP は活性がないことを示す。

実施例 2

30

肺サーファクタントにおける DAP 活性は CF - との併用時に可能になる

【0078】

DAP がサーファクタントの存在下で活性がないという結果に続いて、発明者らは、CF - 301 がサーファクタントの存在下で DAP 活性を促進し、DAP が肺サーファクタントの存在下でもその抗菌機能を発揮できる可能性を評価しようとした。サーファクタントの存在下での CF - 301 と DAP の相まった抗菌活性を2つの異なる方法：組み合わせ MIC アッセイ及びチェッカーボードアッセイで評価した。チェッカーボード希釈試験は、複数の化合物間のインビトロ相乗作用を試験するために広く使用されている方法である (White et al. Antimicrob Agents Chemother. 40(8):1914-8 (1996))。チェッカーボードは、7.5%サーファクタント中で MIC を超えない CF - 301 と MIC を超えないダプトマイシンの組み合わせを用いて20個の MRS A 株と20個の MSS A 株のパネルに対して作製した。組み合わせ MIC アッセイは微量希釈法の変形であり、(単一化合物よりむしろ) 2つの化合物を組み合わせる96ウェルプレートのx軸にわたって2倍に希釈して (Schuch et al, J Infect Dis.; 209(9):1469-78 (2014))、細菌の発育を阻止するのに要する化合物の組み合わせ (この例では、CF - 301 と DAP) の最低濃度を決定する。

40

実験デザインのために、相乗作用は、2つの化合物を一緒に加えることによって予想されるであろうものより大きい阻害活性 (すなわち、最小分別阻止濃度 (fractional inhibitory concentration) [FIC_{min}] 0.5) として定義された (Moody J. 2007. Synergism testing: broth microdilution checkerboard and broth macrodilution method

50

s, p 1-23 In Garcia LS, Isenberg HD, editors. (ed), Clinical microbiology procedures handbook, 2nd ed. ASM Press, Washington, DC)。

【 0 0 7 9 】

表 4 に示されるように、7.5%サーファクタントの存在下でCF-301とDAPとを組み合わせることにより、単剤として使用した場合と比べて、それぞれ16~32倍及び512~1024倍低い発育阻止濃度がもたらされた。重要なことには、CF-301とDAPとを組み合わせることは、サーファクタントが存在するにもかかわらずDAPの活性を回復させ、溶解素の添加がなければサーファクタントによって阻害される抗生物質に、溶解素を加えることがそのような抗生物質の阻害を克服することを示した。該結果は、MRSAの5つの株(MW2、BAA-1720、NRS-192、NRS-265、NRS-255)、並びにMSSAの5つの株(ATCC-29213、NRS-131、ATCC25923、ATCC49521、及びNewman)を含むさまざまな株の間で一致した(表4、データは各薬物単独のMIC値及び併用でのMIC値である)。

10

【 0 0 8 0 】

さらに、7.5%サーファクタントを補充したMHBを用いたチェッカーボードアッセイによって明らかのように、MICを超えない濃度のCF-301及びDAPは、20個のMRSA及びMSSA株のパネルに対して強力な相乗作用(FIC 0.5)を示した(表5及び表6)。表2及び表3に列挙されている値については、個々のMIC及び組み合わせ分別阻止濃度(FIC)が示されており、FIC値0.5が強い相乗作用を示す。

20

まとめると、これらの結果は、CF-301が肺サーファクタントの存在下でDAP活性を回復及び促進させることを示す。

表4 CF-301とDAPの併用はサーファクタントの存在下でDAP活性を回復させ、7.5%サーファクタント中でCF-301とDAPは相まってS. aureusに対して高い活性がある。

【 0 0 8 1 】

【表4】

株	CF-301			ダプトマイシン			
	MIC 単独	MIC 組合せ	倍率減少	MIC 単独	MIC 組合せ	倍率減少	
MRSA	MW2	64	2	32	256	0.25	1024
	BAA-1720	64	2	32	256	0.25	1024
	NRS-192	64	4	16	256	0.5	512
	NRS-265	64	4	16	256	0.25	1024
	NRS-255	64	2	16	512	0.5	1024
MSSA	ATCC 29213	128	4	32	256	0.5	512
	NRS-131	64	4	16	512	0.5	1024
	ATCC 25923	128	4	32	256	0.5	512
	ATCC 49521	64	2	32	256	0.5	512
	Newman	128	4	32	256	0.5	512

30

40

表5 CF-301は7.5%サーファクタント中でMRSA分離株に対してDAPと相乗作用を示す。

【 0 0 8 2 】

50

【表 5】

CFS# (株名)	CF-301 MIC	DAP MIC	FIC
269 (MW2)	64	256	0.375
223 (BAA-1720)	64	256	0.375
738 (NRS-192)	64	256	0.312
735 (NRS-265)	64	256	0.500
743 (NRS-255)	64	256	0.375
218 (BAA-42)	64	256	0.375
836 (BAA-1688)	128	256	0.312
958 (JMI-227)	128	256	0.375
962 (JMI-1004)*	64	256	0.500
981 (JMI-3346)*	64	256	0.312

*呼吸器分離株

10

20

表 6 CF-301 は 7.5%サーファクタント中で MSSA 分離株に対して DAP と相乗作用を示す。

【0083】

【表 6】

CFS# (株名)	CF-301 MIC	DAP MIC	FIC
554 (ATCC 25923)	128	256	0.5
581 (ATCC 29213)	128	256	0.5
919 (ATCC 49521)	64	256	0.5
28 (Newman)	128	256	0.5
258 (NRS-153)	128	256	0.5
766 (NRS-106)	64	256	0.375
757 (NRS-131)	64	256	0.375
960 (JMI-316)*	128	256	0.312
964 (JMI-1040)*	128	256	0.5
966 (JMI-1173)*	128	256	0.375

*呼吸器分離株

30

40

実施例 3

CF-301 は DAP の *Staphylococcus aureus* への結合を促進 (又は可能に) する

【0084】

50

CF-301がサーファクタントの存在下でDAPの活性を回復させるということ(実施例2)から、発明者らは、CF-301がStaphylococcus aureusへのDAP結合を促進すると推論した。以前に報告(Tran et al. MBio.,23;4(4) (2013))されているように、ポディピー標識ダプトマイシン(BDP-DAP)アッセイを使ってDAPの細菌細胞膜(CM)との相互作用を評価した。簡潔に説明すると、対数期中期のMRSA MW2(図2)及びVISAATCC700699(図3)株細胞をDAPIで染色し、洗浄して、50 µg/ml CaCl₂及び7.5%サーファクタントを含むpH7.2の25 mMトリスに再懸濁した。次いでポディピー-DAPを加え(4 µg/ml)、続いてCF-301を加えた(4又は8 µg/ml)。対照にはCF-301を入れなかった。室温で30分間又は60分間インキュベーションした後、0.01%リジンをコーティングしたスライド上で、細胞を希釈、洗浄、固定、及び播種し、蛍光顕微鏡観察で視覚化した(図2、1000倍;図3、倍率2000倍)。

【0085】

図2に示されるように、CF-301(8 µg/ml)は、7.5%サーファクタントの存在下で、MRSAへのポディピー-DAP(DAP^{B^D})結合を促進した。同様に、CF-301(4 µg/ml)は、7.5%サーファクタント中で、VISAへのDAP^{B^D}結合を促進した(図3、DAPIで標識し、緩衝液(図3A)、DAP^{B^D}(4 µg/ml; 1/64 MIC)(図3B)、又はDAP^{B^D}及びCF-301(4 µg/ml; 1/128 MIC)(図3C~G)で30分間処理したVISA株ATCC700699)。まとめると、これらの結果はCF-301が細菌CMへのDAP結合を促進することを示す。

実施例4

CF-301及びDAPと一緒に作用して、7.5%サーファクタント中で、S. aureusを死滅させ、バイオフィーム様構造体を減少/崩壊させる

【0086】

次に、発明者らは、CF-301とDAPが一緒になって、(50 µg/ml CaCl₂及び7.5%サーファクタントを含む)pH7.2の25 mMトリス中のサーファクタントの存在下で、S. aureusを死滅させ、且つバイオフィーム様構造体を減少及び崩壊させる能力を調べた。VISA株ATCC700699を、単独(対照)、DAP(4 µg/ml; 1/64 MIC)、CF-301(4 µg/ml; 1/128 MIC)、又はDAPとCF-301の組み合わせで20分間処理した。透過電子顕微鏡(TEM)分析(図4A)及び走査電子顕微鏡(SEM)(図4B)分析は、CF-301とDAPを組み合わせた場合に、効率的にS. aureusを死滅させること(図4A)及びバイオフィーム形成(図4B)を減少させることを示す。したがって、先の例で見られたのと同様に、これらの観察結果は、CF-301は、DAPがサーファクタントの阻害効果を克服できるようにすることを示す。

実施例5

S. aureus肺炎のマウスモデルにおいてCF-301とDAPとの併用療法は単独療法に優る

【0087】

CF-301とDAPを組み合わせたときインビトロで見られた利点を考慮して、CF-301とDAPを生体内で一緒に使用することの効果の評価した。この問題に取り組むために、マウスを5 × 10⁸ CFUのS. aureus(MRSA株ATCC BAA-42)に鼻腔内感染させ、感染の開始後4時間後から、生理食塩水、CF-301(静脈内)、DAP(皮下)、又はCF-301/DAP併用で1日1回治療した(n = 10頭のマウス/群; p < 0.05対DAP)。実験は感染後14日間行なった。CF-301とDAPの組み合わせでの治療は14日で70%の生存の結果をもたらし、併用療法がどちらの薬物単独より優れたことを示した(P < 0.05対DAP)。

【0088】

図5Aに示されるように、S. aureus肺炎のマウスモデルにおいて、CF-301とD

A Pでの併用療法は単独療法より優れた。生体外で見られたのと同様に、D A PにくわえてC F - 3 0 1を使用することは、D A P抗菌活性の回復をもたらした。ここで得られた生体内データはそれらの結果をさらに支持する。例えば、D A P単独で治療した動物は生理食塩水で治療した動物（対照）と同じ生存パターンを示す。しかし、C F - 3 0 1をD A P治療に追加することにより、C F - 3 0 1の抗菌活性が回復する。

【 0 0 8 9 】

さらに、4頭の感染動物群の各々の肺における細菌C F Uの総数（感染の1日後及び3日後に測定）は、C F - 3 0 1とD A Pの組み合わせで治療した後に著しく減少した（図5 B）。

【 0 0 9 0 】

本明細書に記載の実施例によって示されるように、C F - 3 0 1はD A P活性を促進し、サーファクタントの存在下でその抗菌効果が達成できるようになる。これらの知見はインビトロと生体内の両方で裏付けられた。

【 0 0 9 1 】

要約すれば、発明者らは、ウシ肺サーファクタント（ヒトサーファクタント機能的等価物）有り無し両方で、最小値（及びいくつの実験では最小値を超えない）濃度（M I C）及びチェッカーボードアッセイを用いて、M R S A、M S S A、及びV I S A Staphylococcus aureus分離株に対するC F - 3 0 1とD A Pの間の強力な相乗相互作用を示した。最高で1 0 2 4倍のM I Cの減少がサーファクタント中のC F - 3 0 1の存在下でD A Pについて観察された。さらに、生存及びC F Uレベルに続いて、C F - 3 0 1及び/又はD A Pの効力がB A L B / cマウス肺感染症モデルで示された。実施例1～5に示されたインビトロ及び生体内結果は、D A PとC F - 3 0 1の組み合わせがS. aureus肺感染症を標的とする有効な治療でありうることを示唆する。

【 0 0 9 2 】

M I Cを超えないレベルにおいて、C F - 3 0 1はD A Pと相乗作用を示して肺サーファクタント（D A Pの阻害剤）の存在下でさまざまなM S S A及びM R S A分離株を死滅させる。結果から、C F - 3 0 1の存在下における細菌細胞内のD A Pの急速な蓄積が示される。特に注意すべきは、併用療法は感染マウスの肺環境で非常に有効であり、C F - 3 0 1とD A Pが、両方の薬物の新規適応症であるブドウ球菌肺炎を治療するのに有効であることを示唆する。これらの薬剤の相補的且つ相乗的な活性は、C F - 3 0 1の新規特徴によって強化される。該新規特徴としては、急速な溶菌、S. aureusに対する特異性、耐性がないこと、及び強力な抗バイオフィルム活性が挙げられる。

【 0 0 9 3 】

本明細書において引用されている参考文献はすべて、あらゆる目的のために参照によりそれらの全体が組み込まれる。前述の例は例示かつ非限定的である。特定の実施形態が上で記載されているが、当業者なら、均等なものを含む下記特許請求の範囲内の追加実施形態、修正、及び変形をすべて想定することが容易に可能であろう。

配列番号1（C F - 3 0 1、ジェンバンク受託番号：Z P _ 0 3 6 2 5 5 2 9）

10

20

30

【化 1】

ATGACAACAG TAAATGAAGC ATTAAATAAT GTAAGAGCTC AGGTTGGGTC
 CGGTGTGTCT GTTGGCAACG GCGAATGCTA CGCTTTGGCT AGTTGGTACG
 AGCGCATGAT TAGTCCGGAT GCAACTGTCT GACTTGGCGC TGGTGTGGGC
 TGGGTCAGCG GTGCAATCGG CGATACAATC TCTGCCAAA ACATCGGCTC
 ATCATAACAAC TGGCAAGCTA ACGGCTGGAC AGTTTCCACA TCTGGTCCAT
 TAAAGCAGG TCAGATTGTG ACGCTTGGGG CAACACCAGG AAACCCCTTAC
 GGACATGTGG TAATCGTCGA AGCAGTGGAC GCGGATAGAT TGACTATTTT
 GGAGCAAAAC TACGGCGGGA AACGTTATCC CGTCCGTAAT TATTACAGCG
 CTGCAAGCTA TCGTCAACAG GTCGTGCATT ACATCACACC GCCTGGCACG
 GTCGCACAGT CAGCACCCAA CCTTGCAGGC TCTCGTTCCT ATCGCGAGAC
 GGGCACTATG ACTGTCACGG TCGATGCCTT CAATGTTCCG AGGGCGCCAA
 ATACTTCAGG CGAGATTGTA GCAGTATACA AGCGTGGTGA ATCATTTGAC
 TATGATACTG TCATCATCGA TGTCAATGGC TATGTCTGGG TGTCTTACAT
 AGGCGGCAGC GGCAAACGTA ACTACGTTGC GACGGGCGCT ACCAAAGACG
 GTAAGCGTTT CGGCAATGCT TGGGGTACAT TTAAATAA

10

20

配列番号 2 (C 1 y S)

【化 2 - 1】

Met Glu Thr Leu Lys Gln Ala Glu Ser Tyr Ile Lys Ser Lys Val Asn 1 5 10
 15
 Thr Gly Thr Asp Phe Asp Gly Leu Tyr Gly Tyr Gln Cys Met Asp Leu 20 25 30
 Ala Val Asp Tyr Ile Tyr His Val Thr Asp Gly Lys Ile Arg Met Trp 35 40 45
 Gly Asn Ala Lys Asp Ala Ile Asn Asn Ser Phe Gly Gly Thr Ala Thr 50 55 60
 Val Tyr Lys Asn Tyr Pro Ala Phe Arg Pro Lys Tyr Gly Asp Val Val 65 70 75
 80
 Val Trp Thr Thr Gly Asn Phe Ala Thr Tyr Gly His Ile Ala Ile Val 85 90 95
 Thr Asn Pro Asp Pro Tyr Gly Asp Leu Gln Tyr Val Thr Val Leu Glu 100 105 110
 Gln Asn Trp Asn Gly Asn Gly Ile Tyr Lys Thr Glu Leu Ala Thr Ile 115 120 125
 Arg Thr His Asp Tyr Thr Gly Ile Thr His Phe Ile Arg Pro Asn Phe 130 135 140

30

【化 2 - 2】

Ala Thr Glu Ser Ser Val Lys Lys Lys Asp Thr Lys Lys Lys Pro Lys 145 150 155
160

Pro Ser Asn Arg Asp Gly Ile Asn Lys Asp Lys Ile Val Tyr Asp Arg 165 170 175

Thr Asn Ile Asn Tyr Asn Met Val Leu Gln Gly Lys Ser Ala Ser Lys 180 185 190

Ile Thr Val Gly Ser Lys Ala Pro Tyr Asn Leu Lys Trp Ser Lys Gly 195 200 205

Ala Tyr Phe Asn Ala Lys Ile Asp Gly Leu Gly Ala Thr Ser Ala Thr 210 215 220

Arg Tyr Gly Asp Asn Arg Thr Asn Tyr Arg Phe Asp Val Gly Gln Ala 225 230 235

240

Val Tyr Ala Pro Gly Thr Leu Ile Tyr Val Phe Glu Ile Ile Asp Gly 245 250 255

Trp Cys Arg Ile Tyr Trp Asn Asn His Asn Glu Trp Ile Trp His Glu 260 265 270

Arg Leu Ile Val Lys Glu Val Phe 275

10

配列番号 3 (P l y V 1 2)

MTRRYTKMNVQSLVNWVFNHRNLLTYSMYGSRNGSDGTADCSGMSQALKEAGIP IQGLPSTVTLGQQLAKNGFYR IS
RNEDWNAETGDIVLMSWGADMASGGAGGHVGVMMDSVNF I SCDYSTQGAAGQA I NTYPWNDYYEANKPAY I EVW RYSE
SAPQTKNQANTAVTPQQKAYYEANEVKYVNG I WQ I KCDYLSP I GFDYLENG I PVTMVNWVDKGDNDLPDGADQ DLKAGM
YFSFSSDETNI VDTGNGGGYGGYYWRLFEFGQFGPVWLSCWNKDDL VNYFQ

20

配列番号 4 (L y s K)

MAKTQAE I NK RLDAYAKGTV DSPYRVKKAT SYDPSFGVME AGA I DADGYY
HAQCQDL I TD YVLWLTDNKV RTWGNAKDQI KQSYGTGFKI HENKPSTVPK
KGW I AVFTSG SYEQWGH I G I VYDGGNTSTF T I LEQNWNGY ANKKPTKRVD
NYYGLTHF I E I PVKAGTTVK KKTAKKSASK TPAPKKKATL KVSKNH I NYT
MDKRGKKPEG MVIHNDAGRS SGQQYENSLA NAGYARYANG I AHYYGSEGY
VWEA I DAKNQ I AWHGTGDGTG ANSGNFRFAG I EVCQSMSAS DAQFLKNEQA
VFQFTA EKFK EWGLTPNRKT VRLHMEFVPT ACPHRSMVLH TGFNPVTQGR
PSQA I MNK LK DYF I KQ I KNY MDKGTSSSTV VKDGKTSSAS TPATR PVTGS
WKKNQYGTWY KPENATFVNG NQPIVTRIGS PFLNAPVGGN LPAGAT I VYD
EVC I QAGH I W I GYNAYNGNR VYCPVRTCQG VPPNQ I PGVA WGVFK

30

配列番号 5 (C p l - 1)

MVKKNDLFVD VSSHNGYDIT GILEQMGTN T I I K I SESTT YLNPCLSAQVEQSNPIGFYH FARFGGDVAE AERE
AQFFLD NVPMQVKYLV LDYEDDPSGD AQANTNACLR FMQMIADAGYKPIYYSYKPF THDNVDYQQI LAQFPNSL
WI AGYGLNDGTA NFEYFPSMDG I RWWQYSSNP FDKN I VLLDDEEDDKPKTAG TWKQDSKGWW FRRNNGSFPY N
KWEKIGGVW YYFDSKGYCL TSEWLKDNEK WYYLKDNGAMATGWVLVGSE WYYMDDSGAM VTGWVKYKNN WYYMT
NERGN MVSNEF I KSG KGWYFMNTNG ELADNPSFTKEPDGL I TVA

40

配列番号 6

G N 3 7

ポリペプチド配列

MTYTLSKRSLDNLKGVHPDLVAVVHRA I QLTVPVDFAV I EGLRSVSRQKEL VAAGASKTMNSRHLTGHAVDLAAYVNG I R
WDWPLYDA I AVAVKAAAKELG VA I VWGGDWTTFKDGPHELD RSKYR

50

配列番号 7

G N 2

ポリペプチド配列

MKISLEGLSLIKKFEGCKLEAYKCSAGVWTIGYGHTAGVKEGDVCTQEEAEKLLRGDIFKFEEYVQDSVKVDLDQSQFDA
LVAWTFNLGPGNLRSSSTMLKLLNNGEYESVPFEMRRWNKAGGKTL DGLIRRRQAESLLFESKEWHQV

配列番号 8

G N 4

ポリペプチド配列

MRTSQRGIDLKSFEGRLRSAYQDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPELDR LAKVPLNQNQWDA 10
LMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKGDYQGAADQFPRWWNAGGKRLDGLVKRRAAERALFLEPLS

配列番号 9

G N 1 4

ポリペプチド配列

MNNELPWVAEARKYIGLREDTSKTSHPKLLAMLDRMGEFSNESRAWWHDETPWCGLFVGYCLGVAGRYVREWYRARA
WEAPQLTKLDRPAYGALVTFTSRGGGHVGFIVGKDARGNLMVLGGNQSNVSIAPFAVSRVTGYFWPSFWRNKTAVKSV
FEERYSLPLLKSNGELSTNEA

配列番号 10

G N 4 3

ポリペプチド配列

MKR TTLNLELESNTDRLLQEKDDLLPQSVTNSSDEGTPFAQVEGASDDNTAEQDSDKPGASVADADTKPVDPEWKTITVA
SGDTLSTVFTKAGLSTSAMHDMLTSSKDAKRFTHLKVQGEVKLKLDPKGELQALRVKQSELETIGLDKTDKGYSFKREKA
QIDLHTAYAHGRITSSLFVAGR NAGLPYNLVTLSNIFGYDIDFALDLREGDEFDVIEYQHKVNGKQVATGNI LAARFVN
RGKTYTAVRYTNKQGN TSYRADGSSMRKAFIRTPVDFARISSRFSLGRRHPILNKIRAHKGV DYAAPIGTPIKATGDGK
ILEAGRKGGYGNVVIQHGQRYRTIYGHMSRFAKGI RAGTSVKQGGIIGYVGMTGLATGPHLHYEFQINGRHVDPLSAKL
PMADPLGGADRKR FMAQTQPMI ARMDQEKKTLLALNKQR 20

配列番号 1 1

P G N 4

ポリペプチド配列

NKGDYQGAADQFPRWWNAGGKRLDGLVKRRASQSRESQC 30

配列番号 1 2

F G N 4 - 1

ポリペプチド配列

NKGDYQGAADQFPRWWNAGGKRLDGLVKRRAAERALFLEPLS

配列番号 1 3

F G N 4 - 2

ポリペプチド配列

NKGDYQGAADQFPRWWNAGGKRLDGLVKRRA 40

配列番号 1 4

F G N 4 - 3

ポリペプチド配列

NKGDYQGAADQFPRWWNAGGKRLDGLVKRRK

配列番号 1 5

50

F G N 4 - 4

ポリペプチド配列

NKGDYQGAADQFPRWVNAGGKRLDGLVKRRAAERALFLEPLSC

配列番号 16 : P A L 配列

【化3 - 1】

Met Ala Lys Thr Gln Ala Glu Ile Asn Lys Arg Leu Asp Ala Tyr
Ala 1 5 10 15Lys Gly Thr val Asp Ser Pro Tyr Arg val Lys Lys Ala Thr Ser
Tyr 20 25 30

10

Asp Pro Ser Phe Gly Val Met Glu Ala Gly Ala Ile Asp Ala Asp
Gly 35 40 45Tyr Tyr His Ala Gln cys Gln Asp Leu Ile Thr Asp Tyr Val Leu
Trp 50 55 60Leu Thr Asp Asn Lys val Arg Thr Trp Gly Asn Ala Lys Asp Gln
Ile 65 70 75
80

20

Lys Gln Ser Tyr Gly Thr Gly Phe Lys Ile His Glu Asn Lys Pro
Ser 85 90 95Thr val Pro Lys Lys Gly Trp Ile Ala val Phe Thr Ser Gly Ser
Tyr 100 105 110

Glu Gln Trp Gly His Ile Gly Ile val Tyr Asp Gly Gly Asn Thr Ser

【化 3 - 2】

. 115	120	125	
Thr Phe Thr Ile Leu Glu Gln Asn Trp Asn Gly Tyr Ala Asn Lys			
Lys 130	135	140	
Pro Thr Lys Arg val Asp Asn Tyr Tyr Gly Leu Thr His Phe Ile Glu			
u 145	150	155	
	160		
Ile Pro val Lys Ala Gly Thr Thr val Lys Lys Glu Thr Ala Lys			10
Lys 165	170	175	
Ser Ala Ser Lys Thr Pro Ala Pro Lys Lys Lys Ala Thr Leu Lys			
Val 180	185	190	
Ser Lys Asn His Ile Asn Tyr Thr Met Asp Lys Arg Gly Lys Lys			
Pro 195	200	205	
Glu Gly Met val Ile His Asn Asp Ala Gly Arg Ser Ser Gly Gln			
Gln 210	215	220	
Tyr Glu Asn Ser Leu Ala Asn Ala Gly Tyr Ala Arg Tyr Ala Asn			20
Gly 225	230	235	
	240		
Ile Ala His Tyr Tyr Gly Ser Glu Gly Tyr val Trp Glu Ala Ile			
Asp 245	250	255	
Ala Lys Asn Gln Ile Ala Trp His Thr Gly Asp Gly Thr Gly Ala			
Asn 260	265	270	
Ser Gly Asn Phe Arg Phe Ala Gly Ile Glu Val Cys Gln Ser Met			
Ser 275	280	285	30
Ala ser Asp Ala Gln Phe Leu Lys Asn Glu Gln Ala Val Phe Gln			
Phe 290	295	300	
Thr Ala Glu Lys Phe Lys Glu Trp Gly Leu Thr Pro Asn Arg Lys			
Thr 305	310	315	
	320		
Val Arg Leu His Met Glu Phe Val Pro Thr Ala Cys Pro His Arg			
Ser 325	330	335	
Met Val Leu His Thr Gly Phe Asn Pro Val Thr Gln Gly			40
Arg Pro ser 340	345	350	
Gln Ala Ile Met Asn Lys Leu Lys Asp Tyr Phe Ile Lys			
Gln Ile Lys 355	360	365	
Asn Tyr, Met Asp Lys Gly Thr Ser Ser Ser Thr Val Val			
Lys Asp Gly 370	375	380	

【化3 - 3】

Lys Thr Ser Ser Ala Ser Thr Pro Ala Thr Arg Pro Val
 Thr Gly Ser 385 390 395 400

Trp Lys Lys Asn Gln Tyr Gly Thr Trp Tyr Lys Pro Glu
 Asn Ala Thr 405 410 415

Phe val Asn Gly Asn Gln Pro Ile Val Thr Arg Ile Gly
 Ser Pro Phe 420 425 430

Leu Asn Ala Pro Val Gly Gly Asn Leu Pro Ala Gly Ala
 Thr Ile Val 435 440 445

Tyr Asp Glu Val cys Ile Gln Ala Gly His Ile Trp Ile
 Gly Tyr Asn 450 455 460

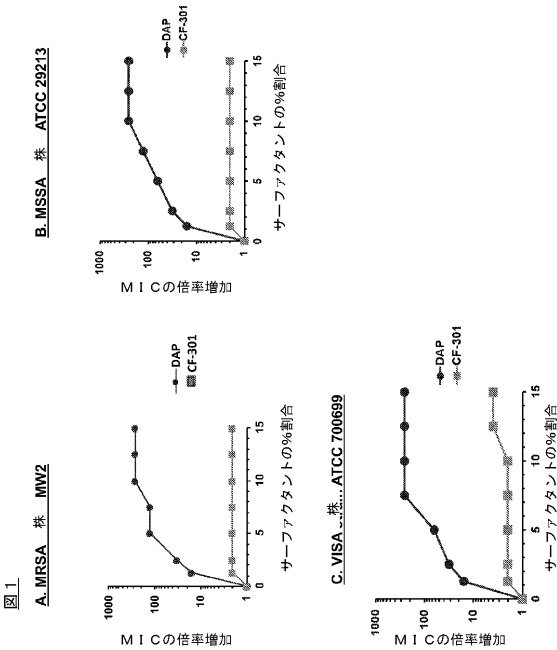
Ala Tyr Asn Gly Asn Arg Val Tyr cys Pro Val Arg Thr
 cys Gln Gly 465 470 475 480

Val Pro Pro Asn Gln Ile Pro Gly Val Ala Trp Gly
 Val Phe Lys 485 490 495

10

20

【図1】



【図2】

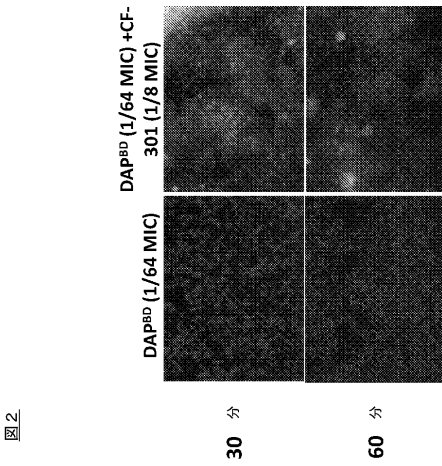


図2

図 3

【 図 3 】

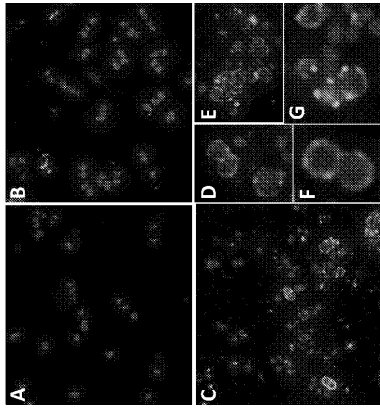


図 5

【 図 5 】

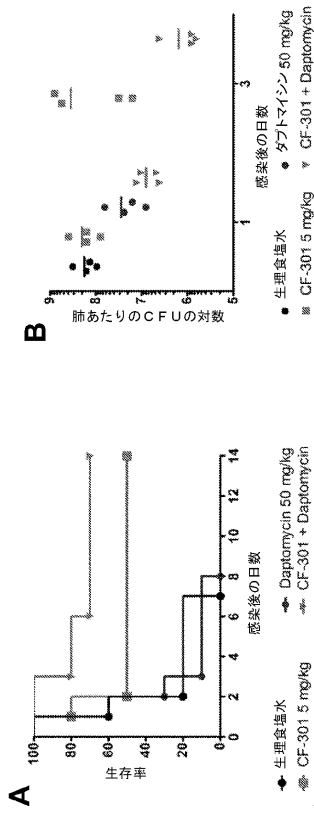
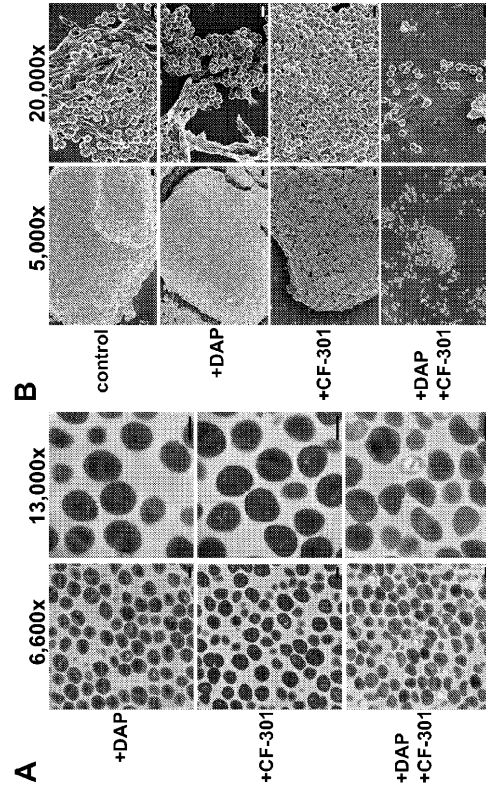


図 4

【 図 4 】



【配列表】

2018534247000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2016/052348

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. forming part of the international application as filed:
- in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- on paper or in the form of an image file.
- b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2016/052348**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.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
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:

see additional sheet

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 fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
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.:
1-4, 6-14, 16-21, 24, 25(all partially)
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

International application No

PCT/US2016/052348

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	A61K38/16	A61K38/46
	A61K38/12	A61K31/7036
	A61P31/04	
ADD.		
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)		
A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-Internal, BIOSIS, INSPEC, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	W0 2013/170015 A1 (CONTRAFECT CORP [US]) 14 November 2013 (2013-11-14)	1-8, 22-25
Y	the whole document paragraphs [0016], [0151]; claims; examples	1-14, 16-25
X	US 2013/302306 A1 (SCHUCH RAYMOND [US] ET AL) 14 November 2013 (2013-11-14)	1-8, 22-25
Y	the whole document paragraphs [0017], [0158], [0168], [0178]; claims; examples	1-14, 16-25
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* 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 another 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		*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 *Z* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
28 March 2017		21/04/2017
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Orlando, Michele

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2016/052348

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JACQUES VOUILLAMOZ ET AL: "Bactericidal synergism between daptomycin and the phage lysin Cpl-1 in a mouse model of pneumococcal bacteraemia", INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS, vol. 42, no. 5, 1 November 2013 (2013-11-01), pages 416-421, XP055189531, ISSN: 0924-8579, DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2013.06.020 the whole document pages 419-420, paragraph 4.Discussion -----	1-14, 16-20, 22-25
A	JARED A SILVERMAN ET AL: "Inhibition of Daptomycin by Pulmonary Surfactant: In Vitro Modeling and Clinical Impact", THE JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES, vol. 191, 5 May 2005 (2005-05-05), pages 2149-2152, XP55331286, the whole document -----	1-14, 16-20, 22-25
A	R. SCHUCH ET AL: "Combination Therapy With Lysin CF-301 and Antibiotic Is Superior to Antibiotic Alone for Treating Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus-Induced Murine Bacteremia", JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES. JID, vol. 209, no. 9, 28 November 2013 (2013-11-28), pages 1469-1478, XP055330867, CHICAGO, IL. ISSN: 0022-1899, DOI: 10.1093/infdis/jit637 the whole document -----	1-14, 16-20, 22-25
A	K. T. NGUYEN ET AL: "Genetically Engineered Lipopeptide Antibiotics Related to A54145 and Daptomycin with Improved Properties", ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 54, no. 4, 1 April 2010 (2010-04-01), pages 1404-1413, XP055082313, ISSN: 0066-4804, DOI: 10.1128/AAC.01307-09 the whole document ----- -/--	1-14, 16-20, 22-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2016/052348

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>A Van 't Veen ET AL: "Influence of pulmonary surfactant on in vitro bactericidal activities of amoxicillin, ceftazidime, and tobramycin", Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1 February 1995 (1995-02-01), pages 329-333, XP055331407, UNITED STATES Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC162536/pdf/390329.pdf [retrieved on 2016-12-22] the whole document</p> <p>-----</p>	1-14, 16-20, 22-25
A	<p>R. SCHWAMEIS ET AL: "Effect of Pulmonary Surfactant on Antimicrobial Activity In Vitro", ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 57, no. 10, 22 July 2013 (2013-07-22), pages 5151-5154, XP055331408, US ISSN: 0066-4804, DOI: 10.1128/AAC.00778-13 the whole document</p> <p>-----</p>	1-14, 16-20, 22-25
T	<p>WITTEKIND MICHAEL ET AL: "Cell wall hydrolases and antibiotics: exploiting synergy to create efficacious new antimicrobial treatments", CURRENT OPINION IN MICROBIOLOGY, vol. 33, 31 May 2016 (2016-05-31), pages 18-24, XP029782228, ISSN: 1369-5274, DOI: 10.1016/J.MIB.2016.05.006 the whole document</p> <p>-----</p>	1-25
Y	<p>Anonymous: "putative endolysin [Pseudomonas phage PAJU2]", NCBI, 18 February 2009 (2009-02-18), XP055359505, Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/Y_P_002284361.1 [retrieved on 2017-03-28] abstract</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-4, 6-14, 16-21, 24,25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2016/052348

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	& UCHIYAMA J ET AL: "Characteristics of a novel Pseudomonas aeruginosa bacteriophage, PAJU2, which is genetically related to bacteriophage D3", VIRUS RESEARCH, AMSTERDAM, NL, vol. 139, no. 1, 1 January 2009 (2009-01-01), pages 131-134, XP025816719, ISSN: 0168-1702, DOI: 10.1016/J.VIRUSRES.2008.10.005 [retrieved on 2008-12-02] the whole document -----	1-4, 6-14, 16-21, 24,25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2016/052348

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013170015	A1	14-11-2013	
		AU 2013259512 A1	11-12-2014
		CA 2872902 A1	14-11-2013
		CN 104736172 A	24-06-2015
		EP 2849782 A1	25-03-2015
		HK 1208799 A1	18-03-2016
		HK 1211484 A1	27-05-2016
		JP 2015523964 A	20-08-2015
		KR 20150035587 A	06-04-2015
		RU 2014149351 A	10-07-2016
		US 2015290299 A1	15-10-2015
		WO 2013170015 A1	14-11-2013

US 2013302306	A1	14-11-2013	NONE

International Application No. PCT/ US2016/ 052348

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 5(completely); 1-4, 6-14, 16-20, 22-25(partially)

A method according to claims 1, 22 and 25, wherein the lysin polypeptide co-administered in the step (b) corresponds to SEQ ID NO: 1, i.e. GF-301. A method of restoring bactericidal activity according to claim 24 by co-administering said polypeptide.

2. claims: 1-4, 6-20, 22-25(all partially)

A method according to claims 1, 22 and 25, wherein the lysin polypeptide co-administered in the step (b) corresponds to SEQ ID NO: 16, i.e. PAL. A method of restoring bactericidal activity according to claim 24 by co-administering said polypeptide.

3. claims: 1-4, 6-20, 22-25(all partially)

A method according to claims 1, 22 and 25, wherein the lysin polypeptide co-administered in the step (b) corresponds to SEQ ID NO: 5, i.e. Cpl-1. A method of restoring bactericidal activity according to claim 24 by co-administering said polypeptide.

4-13. claims: 1-4, 6-14, 16-21, 24, 25(all partially)

A method according to claims 1 and 25, wherein the lysin polypeptide co-administered in the step (b) corresponds to one of the lysin polypeptides listed in claim 21 (starting from SEQ ID NO: 6, i.e. GN37). A method of restoring bactericidal activity according to claim 24 by co-administering said polypeptide.

14-26. claims: 1-4, 6-14, 16-20, 22-25(all partially)

A method according to claims 1, 22 and 25, wherein the lysin polypeptide co-administered in the step (b) corresponds to one of the lysin polypeptides listed in claim 22 (starting from SEQ ID NO: 2, i.e. ClyS). A method of restoring bactericidal activity according to claim 24 by co-administering said polypeptide.

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 31/7036 (2006.01)	A 6 1 K 31/7036	
A 6 1 K 9/12 (2006.01)	A 6 1 K 9/12	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, 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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG

Fターム(参考) 4C076 AA24 AA93 BB01 BB27 CC15 CC32 FF70
 4C084 AA02 AA19 BA01 BA17 BA18 BA22 BA23 BA27 BA28 BA44
 CA04 MA13 MA52 MA55 MA56 NA05 ZA59 ZB35 ZC75
 4C086 AA01 AA02 EA09 MA02 MA04 MA13 MA52 MA55 MA56 NA05
 ZA59 ZB35 ZC75