

(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2007-528409
(P2007-528409A)**

(43) 公表日 平成19年10月11日(2007.10.11)

(51) Int.CI.	F 1	テーマコード (参考)
A61K 38/00	(2006.01) A 61 K 37/02	4 C 076
A61M 15/06	(2006.01) A 61 M 15/06	C 4 C 084
A61K 47/02	(2006.01) A 61 K 47/02	
A61K 45/00	(2006.01) A 61 K 45/00	
A61K 9/12	(2006.01) A 61 K 9/12	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 44 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2007-503004 (P2007-503004)	(71) 出願人	506158898 アリバ ファーマシューティカルズ, イ ンコーポレイテッド アメリカ合衆国 カリフォルニア 945 01, アラメダ, チャレンジャー ド ライブ 2020
(86) (22) 出願日	平成17年3月9日 (2005.3.9)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(85) 翻訳文提出日	平成18年11月1日 (2006.11.1)	(74) 代理人	100062409 弁理士 安村 高明
(86) 國際出願番号	PCT/US2005/007959	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(87) 國際公開番号	W02005/086915		
(87) 國際公開日	平成17年9月22日 (2005.9.22)		
(31) 優先権主張番号	60/551,856		
(32) 優先日	平成16年3月9日 (2004.3.9)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】プロテアーゼインヒビターの低用量吸入による慢性閉塞性肺疾患の処置

(57) 【要約】

本発明には、慢性閉塞性肺疾患(COPD)または肺気腫(典型的なものは、喫煙による肺気腫)の処置および予防のための方法および組成物が含まれる。より具体的には、本発明は、1-抗トリプシン(AAT)の吸入によるCOPDまたは肺気腫の処置および予防に関する。種々の実施形態において、処置される個体の肺は、AATを酸化し得る少なくとも1つの空気中の物質、例えば、タバコの煙に周期的にさらされる。これらの実施形態のいくつかにおいて、処置される個体は喫煙者である。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

慢性閉塞性肺疾患（COPD）の処置方法であって：

有効量のグリコシル化されていない1-抗トリプシン（ATT）またはその機能的活性のある部分を、吸入によって、COPDを発症している個体またはCOPDを発症する危険性がある個体の肺に投与する工程
を包含する、方法。

【請求項 2】

前記個体の肺が、ATTを酸化し得る少なくとも1つの空気中に浮遊している因子に周期的にさらされる、請求項1に記載の方法。 10

【請求項 3】

前記個体がタバコの煙に周期的にさらされる、請求項2に記載の方法。

【請求項 4】

前記個体が喫煙者である、請求項3に記載の方法。

【請求項 5】

前記グリコシル化されていないATTが組換え体ATTである、請求項4に記載の方法。

【請求項 6】

前記組換え体ATTがrATTである、請求項5に記載の方法。

【請求項 7】

前記ATTまたはその機能的活性のある部分が乾燥粉末組成物として投与される、請求項1に記載の方法。 20

【請求項 8】

前記乾燥粉末組成物が、ATTまたはその機能的活性のある部分と、ハライド塩とを含む、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

前記ハライド塩が、100mgのATTあたり少なくとも約10マイクロモルのレベルで存在する、請求項8に記載の方法。

【請求項 10】

前記ハライド塩が、100mgのATTあたり少なくとも約50マイクロモルのレベルで存在する、請求項9に記載の方法。 30

【請求項 11】

前記ハライド塩が、100mgのATTあたり少なくとも約100マイクロモルのレベルで存在する、請求項10に記載の方法。

【請求項 12】

前記ハライド塩が塩化物である、請求項8に記載の方法。

【請求項 13】

前記塩化物がNaClである、請求項12に記載の方法。

【請求項 14】

前記ATTがrATTまたはその機能的活性のある部分である、請求項8に記載の方法。

【請求項 15】

前記乾燥粉末組成物が炭水化物を実質的に含まない、請求項8に記載の方法。 40

【請求項 16】

前記ATTまたはその機能的活性のある部分が液体組成物として投与される、請求項1に記載の方法。

【請求項 17】

前記液体組成物が、グリコシル化されていないATTまたはその機能的活性のある部分と、ハライド塩とを含む乾燥組成物から再水和される、請求項16に記載の方法。

【請求項 18】

前記ハライド塩が、100mgのATTあたり少なくとも約10マイクロモルのレベルで存在する、請求項17に記載の方法。 50

【請求項 19】

前記ハライド塩が、100mgのAATあたり少なくとも約50マイクロモルのレベルで存在する、請求項18に記載の方法。

【請求項 20】

前記ハライド塩が、100mgのAATあたり少なくとも約100マイクロモルのレベルで存在する、請求項19に記載の方法。

【請求項 21】

前記ハライド塩が塩化物である、請求項17に記載の方法。

【請求項 22】

前記塩化物がNaClである、請求項21に記載の方法。

10

【請求項 23】

前記AATがrAATまたはその機能的活性のある部分である、請求項17に記載の方法。

【請求項 24】

前記乾燥粉末組成物が炭水化物を実質的に含まない、請求項17に記載の方法。

【請求項 25】

1日あたり約200mgを超えないグルコシル化されていないAATまたはその機能的活性のある部分が投与される、請求項1に記載の方法。

【請求項 26】

1日あたり約100mgを超えないグルコシル化されていないAATまたはその機能的活性のある部分が投与される、請求項25に記載の方法。

20

【請求項 27】

任意の単一用量中で約100mgを超えないグルコシル化されていないAATまたはその機能的活性のある部分が投与される、請求項1に記載の方法。

【請求項 28】

任意の単一用量中で約50mgを超えないグルコシル化されていないAATまたはその機能的活性のある部分が投与される、請求項27に記載の方法。

30

【請求項 29】

任意の単一用量中で約25mgを超えないグルコシル化されていないAATまたはその機能的活性のある部分が投与される、請求項28に記載の方法。

30

【請求項 30】

任意の単一用量中で約20mgを超えないグルコシル化されていないAATまたはその機能的活性のある部分が投与される、請求項29に記載の方法。

【請求項 31】

請求項1に記載の方法であって、有効量の少なくとも1つの第2のプロテアーゼインヒビターまたはその機能的活性のある部分を吸入によって投与する工程をさらに包含する、方法。

【請求項 32】

前記少なくとも1つの第2のプロテアーゼインヒビターが、少なくとも1つのマトリックスマタロプロテアーゼのインヒビターである、請求項31に記載の方法。

40

【請求項 33】

前記インヒビターが、TIMP-1、TIMP-2、TIMP-3、TIMP-4、およびアイロマstattからなる群より選択される、請求項32に記載の方法。

【請求項 34】

請求項1に記載の方法であって、有効量の気管支拡張薬またはコルチコステロイドを吸入によって投与する工程をさらに包含する、方法。

【請求項 35】

COPDを処置するためのキットであって、該キットは、

治療上活性のある因子を吸入によって送達するためのデバイス；および

少なくとも一用量のグリコシル化されていないAATまたはその機能的活性のある部分

50

を含む、キット。

【請求項 3 6】

前記送達デバイスがネブライザーである、請求項 3 5 に記載のキット。

【請求項 3 7】

前記少なくとも一用量の A A T が乾燥組成物であり、前記キットがさらに滅菌の希釀剤を含む、請求項 3 6 に記載のキット。

【請求項 3 8】

前記送達デバイスが乾燥粉末吸入器である、請求項 3 5 に記載のキット。

【請求項 3 9】

前記送達デバイスが定量吸入器である、請求項 3 5 に記載のキット。

10

【請求項 4 0】

巻きタバコであって、

タバコと

グリコシル化されていない A A T

とを含む、巻きタバコ。

【請求項 4 1】

前記グリコシル化されていない A A T が口に最も近いフィルター内に存在する、請求項 4 0 に記載の巻きタバコ。

【請求項 4 2】

前記グリコシル化されていない A A T が前記タバコと混合される、請求項 4 0 に記載の巻きタバコ。

20

【請求項 4 3】

慢性閉塞性肺疾患（C O P D）を処置する方法であって：

有効量のグリコシル化されていない 1 - 抗トリプシン（A A T）またはその機能的活性のある部分を、吸入によって、C O P D を発症している個体またはC O P D を発症する危険性がある個体の肺に投与する工程

を包含し、該個体が喫煙経験者である、方法。

【請求項 4 4】

前記グリコシル化されていない A A T が組換え体 A A T である、請求項 4 3 に記載の方法。

30

【請求項 4 5】

前記組換え体 A A T が r A A T である、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記組換え体 A A T またはその機能的活性のある部分が乾燥粉末組成物として投与される、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記乾燥粉末組成物が、A A T またはその機能的活性のある部分とハライド塩とを含む、請求項 4 6 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

（関連出願の相互参照）

本出願は、2004年3月9日に提出された米国仮特許出願番号 6 0 / 5 5 1 , 8 5 6 の利益を主張する。その開示は、その全体が参考として本明細書中に援用される。

【背景技術】

【0 0 0 2】

（発明の背景）

慢性閉塞性肺疾患（「C O P D」）は、空気の流れの制限を特徴とする疾患状態であり、完全には改善することはできず、通常は、進行性であり、かつ有害な粒子または気体に対する肺の異常な炎症反応を伴う。Global Initiative for Ch

50

ronic Obstructive Lung Disease Workshop Report (2004) (「Gold Report」)。

【0003】

COPDは、米国の慢性疾患の罹患率および死亡率の第4位の原因であり(Gold Report)、世界では第5位の死亡原因である(Rabe, 'Outcome measures in COPD', Primary Care Respiratory J. 13:177-178 (2004); World Health Organization, World Health Report 2002)。

【0004】

1993年には、米国では1570万人のCOPDの患者がいると推定され、年間23億ドルの経済的負担となっている。英国では、1996年にはCOPDについての直接的な負担はおよそ14億ドルであり、間接的な負担はおよそ34億ドルと推定された(Gold Report 2004)。世界中で罹患率が増加しており、2020年までに、COPDは、世界中で病気で苦しむ人が多い疾患の第5番目にランク付けされると予想されている。

【0005】

現在、COPDの処置は、大部分は苦痛を一時的に抑えるものであり、この疾患の進行を明らかに止めるアプローチは存在していない。

【0006】

通常、COPDの臨床症状には、肺胞の破壊として定義される、肺気腫の組織病理学的証拠が付随する。巻きタバコの喫煙による肺気腫はCOPDの発症の第一の原因である。

【0007】

喫煙により誘発される肺気腫は、肺でのプロテアーゼ活性と抗プロテアーゼ活性との間での不均衡に少なくとも一部原因があると推測される。

【0008】

好中球エラスターーゼの主要なインヒビターである1-抗トリプシン(AAT)が遺伝的に欠損している個体は、たとえ煙曝露(smoke exposure)されなくとも、汎細葉性肺気腫を発症することが知られている。巻きタバコの喫煙は、1-抗トリプシン(AAT)を酸化により不活化することが知られており、煙曝露は、肺において好中球を含むプロテアーゼを分泌する炎症性細胞の数の増加を引き起こし、これによって遺伝的なAAT欠損を有さない個体の肺において同様のプロテアーゼ-抗プロテアーゼ不均衡を引き起こすことが知られている。Churgら, Curr. Opin. Pulm. Med. 11:153-159 (2005)に概説されている。

【0009】

好中球エラスターーゼ(NE)が欠損しているマウスは、喫煙による肺気腫に対しておよそ60%防御される(Shapiro, Clin. Chest Med. 21:621-632 (2000))。反対に、NE⁺マウスへのAATの腹膜投与は、喫煙による肺気腫に対する部分的な防御を提供し、これにより、煙曝露された動物と比較して63%空間の大きさが減少し、これはTNF-αの減少と一致する。Churgら, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 168:199-207 (2003)。

【0010】

これらの結果および同様の結果から、喫煙による肺気腫およびCOPD(任意の原因のもの)がAATの補給によって処置されるという断続的な示唆が長年にわたって導かれてきた。例えば、特許文献1には、COPDを含む肺疾患の症状を、有効量の微結晶性1-抗トリプシンを吸入によって投与することによって処置するための方法が記載されており、特許請求されている。特許文献2では、COPDを含む種々の疾患をAATの投与によって処置することが提案されている。特許文献3には、特定の型の肺気腫を有する患者の肺への乾燥粉末の送達を意図されたAATの処方物が記載されている。

【0011】

プールされたヒトの血漿に由来する天然のヒトAATが市販されており、これは1-

10

20

30

40

50

抗トリプシンが遺伝的に欠損する患者への静脈内投与が承認されている。一緒に精製されるタンパク質混入物質の存在と、感染性因子の伝染のリスクは、より広い範囲での使用に不利に働くが、組換え体 AAT と操作された AAT 変異体タンパク質の開発の動機付けとなつた。組換え体 AAT は、例えば、酵母の中で（非特許文献 1；特許文献 4；非特許文献 2）、および植物の中で（非特許文献 3 および非特許文献 4）生産されている。

【0012】

Saccharomyces cerevisiae で生産された組換え体 AAT の 1 つの型である rAAT は、アミノ酸末端にある N-アセチルメチオニン残基を除いて、ヒトの血漿 AAT と同じアミノ酸配列を有する。天然のヒト AAT とは異なり、rAAT は、グリコシル化はされてない。

10

【0013】

酵母での rAAT の生産により、収量、コスト、および精製の容易さに関しては一定の利点が提供されるが、グリコシル化されていない酵母由来の rAAT は、その天然のグリコシル化された対応物よりも熱に対する耐性がかなり低い。非特許文献 2。グリコシル化されていない rAAT はまた、生物学的半減期もはるかに短い。

【0014】

喫煙による肺気腫に対する部分的な防御は、マウスにおいてはグリコシル化されたヒト AAT を腹腔内に補給することによってもたらされ、そして AAT が COPD に罹患しているかまたは COPD の危険性がある患者に対して吸入によって投与されることについての種々の示唆があるにもかかわらず、酸化力のある巻きタバコの煙が同時に存在する状況でのグリコシル化されていない組換え体タンパク質の吸入による、抗プロテアーゼの防御レベルを得る能力は予測できていない。さらに、天然の AAT は、喫煙者の肺において増加している場合が多いマトリックスメタロプロテアーゼによって不活化され；マトリックスメタロプロテアーゼが同時に存在する状況でのグリコシル化されていない組換え体 AAT の吸入による、防御レベルの抗プロテアーゼを得る能力は予測できていない。特に、肺投与によって喫煙者においてプロテアーゼの分解の危険性がある肺間質で防御レベルの抗プロテアーゼ活性を提供できるかどうかは予想できていない。

20

【特許文献 1】米国特許第 5,093,316 号明細書

【特許文献 2】米国特許第 6,489,308 号明細書

30

【特許文献 3】米国特許第 5,993,783 号明細書

【特許文献 4】米国特許第 4,752,576 号明細書

【非特許文献 1】Rosenbergら, Nature, 1984 年, 312, p. 77-80

【非特許文献 2】Travissら, J. Biol. Chem., 1985 年, 260, p. 4384-4389

【非特許文献 3】Terashimaら, Appl. Microbiol. Biotechnol., 1999 年, 52, p. 516-23

【非特許文献 4】Huangら, Biotechnol. Prog., 2001 年, 17, p. 126-33

【発明の開示】

40

【発明が解決しようとする課題】

【0015】

喫煙による肺気腫および COPD を処置する有効な方法に対する必要性が依然として存在する。特に、喫煙による肺気腫および COPD を有するか、またはそれらの危険性がある個体の空気の流れの制限を止めることができるか、またはその進行を遅らせることができる処置に対する継続的必要性が存在する。ヒトの血漿由来の因子の投与には頼らない治療方法に対するさらなる必要性が存在する。

【課題を解決するための手段】

【0016】

（発明の要旨）

50

本発明により、第1の局面において、慢性閉塞性肺疾患（COPD）を処置する方法が提供されることにより、これらの必要性および当該分野での他の必要性が満たされる。

【0017】

この方法は、有効量の 1 - 抗トリプシン（AAT）（通常はグリコシル化されていないAAT、またはその機能的活性のある部分）を、吸入によって、COPDを有するかまたはCOPDを発症する危険性のある個体の肺に投与する工程を包含する。

【0018】

種々の実施形態において、処置される個体の肺は、AATを酸化し得る少なくとも1つの空気中の物質、例えば、タバコの煙に周期的にさらされる。これらの実施形態のいくつかにおいて、処置される個体は喫煙者である。

10

【0019】

特定の実施形態において、グリコシル化されていないAATは、酵母で発現された組換え体AAT、例えば、rAATである。

【0020】

1つのシリーズの実施形態において、グリコシル化されていないAATまたはその機能的活性のある部分は乾燥粉末組成物として投与される。

【0021】

特定のこれらの実施形態において、乾燥粉末組成物には、AATまたはその機能的活性のある部分、およびハライド塩が含まれる。ハライド塩は、いくつかの実施形態において、100mgのAATあたり少なくとも約10マイクロモルのレベルで存在する。種々の実施形態において、ハライド塩は、100mgのAATあたり少なくとも約50マイクロモルのレベルで存在する。特定の実施形態において、ハライド塩は、100mgのAATあたり少なくとも約100マイクロモルのレベルで存在する。通常は、ハライド塩は塩化物であり、例えば、NaClである。

20

【0022】

乾燥粉末組成物には、いくつかの実施形態において、炭化水素は実質的には含まれない。

【0023】

別のシリーズの実施形態において、グリコシル化されていないAAT、またはその機能的活性のある部分は、例えば、エアゾールのような液体組成物として投与される。

30

【0024】

これらの実施形態のいくつかにおいて、液体組成物はグリコシル化されていないAAT、またはその機能的活性のある部分、およびハライド塩を含む乾燥組成物から再水和される。ハライド塩は、いくつかの実施形態において、100mgのAATあたり少なくとも約10マイクロモルのレベルで存在する。種々の実施形態において、ハライド塩は、100mgのAATあたり少なくとも約50マイクロモルのレベルで存在する。特定の実施形態において、ハライド塩は、100mgのAATあたり少なくとも約100マイクロモルのレベルで存在する。通常は、ハライド塩は塩化物であり、例えば、NaClである。

【0025】

特定のこれらの実施形態において、AATは、rAATまたはその機能的活性のある部分である。

40

【0026】

投与し得る液体がそれから再水和される乾燥組成物には、特定の実施形態において、炭化水素は実質的には含まれない。

【0027】

本発明の方法の種々の実施形態において、1日あたり約200mg以下のグリコシル化されていないAATまたはその機能的活性のある部分が投与される。いくつかの実施形態において、1日あたり約100mg以下のグリコシル化されていないAATまたはその機能的活性のある部分が投与される。他の実施形態において、1日あたり約50mg以下のグリコシル化されていないAATまたはその機能的活性のある部分が投与される。

50

【 0 0 2 8 】

本発明の方法の種々の実施形態において、任意の単一用量中で、約 100 mg 以下のグリコシル化されていない AAT またはその機能的活性のある部分が投与される。いくつかの実施形態において、任意の単一用量中で、約 50 mg 以下のグリコシル化されていない AAT またはその機能的活性のある部分が投与される。なおさらには、任意の単一用量中で、約 25 mg 以下のグリコシル化されていない AAT またはその機能的活性のある部分が投与される。いくつかの実施形態において、任意の単一用量中で、約 20 mg 以下のグリコシル化されていない AAT またはその機能的活性のある部分が投与される。

【 0 0 2 9 】

特定の実施形態において、この方法はさらに、有効量の少なくとも 1 つの第 2 のプロテーゼインヒビターまたはその機能的活性のある部分を、吸入によって投与する工程を包含する。

【 0 0 3 0 】

第 2 のプロテアーゼインヒビターは、例えば、少なくとも 1 つのマトリックスメタロプロテアーゼのインヒビターである。第 2 のプロテアーゼインヒビターは、例えば、TIMP - 1、TIMP - 2、TIMP - 3、TIMP - 4、およびアイロマstattからなる群より選択し得、そして TIMP - 1 またはその機能的活性のある部分が有用である。

【 0 0 3 1 】

本発明の方法はさらに、有効量の気管支拡張薬またはコルチコステロイドを吸入によって投与する工程を包含する。

【 0 0 3 2 】

別の局面において、本発明により COPD を処置するためのキットが提供される。

【 0 0 3 3 】

キットは、治療活性のある因子を吸入によって送達するためのデバイスと、少なくとも一用量のグリコシル化されていない AAT またはその機能的活性のある部分とを含む。

【 0 0 3 4 】

いくつかの実施形態において、送達デバイスはネブライザーである。特定のこれらの実施形態において、少なくとも一用量の AAT は乾燥組成物であり、キットにはさらに滅菌の希釈剤が含まれる。

【 0 0 3 5 】

他の実施形態において、送達デバイスは乾燥粉末吸入器である。なお他の実施形態において、送達デバイスは定量吸入器である。

【 0 0 3 6 】

さらなる局面において、本発明により、タバコとグリコシル化されていない AAT を含む巻きタバコが提供される。

【 0 0 3 7 】

グリコシル化されていない AAT は、巻きタバコの口に最も近いフィルター内に入れることができ、また、タバコと混ぜることもできる。

【 発明を実施するための最良の形態 】**【 0 0 3 8 】****(詳細な説明)**

第 1 の局面において、本発明により、慢性閉塞性肺疾患（「COPD」）を処置する方法が提供される。

【 0 0 3 9 】

この方法は、有効量の 1 - 抗トリプシン (AAT) またはその機能的活性のある部分を、吸入によって、COPD を有するかまたは COPD を発症する危険性のある個体の肺に投与する工程を包含する。

【 0 0 4 0 】

「処置する」によって、現在喫煙している人（「喫煙者」）および喫煙経験者の両方における、全ての臨床的に示されている介入または臨床上認められている介入が意図される

10

20

30

40

50

。これには、COPDの臨床的および／または組織学的および／または生化学的および／または病理学的症状の発症あるいはその進行の予防；短期続発症および長期続発症の両方を含むCOPDの臨床的および／または組織学的および／または生化学的および／または病理学的症状の発症あるいはその進行の予防；COPDの臨床的および／または組織学的および／または生化学的および／または病理学的兆候の処置；疾患の臨床管理；ならびに苦痛緩和が含まれるが、これらに限定はされない。

【0041】

特定の実施形態において、例えば、この方法により、現在喫煙している人において、COPDの臨床的および／または組織学的および／または生化学的および／または病理学的症状（症状と兆候の両方を含む）の発症あるいは進行の予防がもたらされ、したがって、次の煙曝露の作用と、過去の煙曝露による現在の進行中の作用の両方に対する予防である。他の実施形態において、この方法により、以前に喫煙していた人において、COPDの臨床的および／または組織学的および／または生化学的および／または病理学的症状（症状と兆候の両方を含む）の発症あるいは進行の予防がもたらされ、したがって、過去の曝露によって引き起こされた現在の進行中の作用に対する防御である。

【0042】

特定の実施形態において、例えば、この方法により、現在喫煙している人において、短期および長期の続発症を含むCOPDの臨床的および／または組織学的および／または生化学的および／または病理学的続発症の発症あるいはその進行の予防がもたらされ、したがって、次の煙曝露の作用と、過去の煙曝露による現在の進行中の作用の両方に対する予防である。他の実施形態において、この方法により、以前に喫煙していた人において、短期および長期の続発症を含むCOPDの臨床的および／または組織学的および／または生化学的および／または病理学的続発症の発症あるいはその進行の予防がもたらされ、したがって、過去の煙曝露によって引き起こされた現在の進行中の作用に対する予防である。

【0043】

特定の例示的な実施形態において、この方法により、現在喫煙している人または喫煙経験者のいずれにおいても、COPDの臨床症状の処置がもたらされる。

【0044】

限定的ではない実施例によってはさらに、本発明の方法は、したがって、この方法が、例えば、肺気量測定法によって測定し得る空気の流れの制限の発症または進行を予防するために十分である場合には、喫煙者または喫煙経験者のいずれにおいても、COPDを「処置する」ために有効である。例えば、この方法がFEV₁（1秒間の努力呼気肺活量）の減少またはその進行性の減少を予防するために十分である場合には、この方法は、喫煙者または喫煙経験者においてCOPDを処置するために有効である。限定的ではない実施例によってはさらに、この方法がFVC（強制肺活量）の減少または進行性の減少を予防するために十分である場合には、この方法は、喫煙者または喫煙経験者においてCOPDを処置するために有効である。別の例において、この方法がFEV₁ / FVCの比の減少またはその進行性の減少を予防するために十分である場合には、この方法は、喫煙者または喫煙経験者においてCOPDを処置するために有効である。

【0045】

一例として、この方法がFEV₁ / FVCの比の、正常な成人についての予想される最小値である70%以下への低下またはその進行性の低下を予防するために十分である場合には、この方法は、喫煙者または喫煙経験者においてCOPDを処置するために有効である。なお別の例としては、本発明の方法は、この方法が動脈血のPaO₂の低下または進行性の低下を予防するために十分である場合には、喫煙者または喫煙経験者においてCOPDを処置するために有効である。本発明の方法はまた、この方法が、例えば、現在喫煙している人または他の実施形態において、喫煙経験者のいずれにおいても、PaCO₂の上昇またはその進行性の上昇を予防するために十分である場合にも、COPDを処置するために有効である。本発明の方法はまた、この方法が、例えば、喫煙者、または別の実施形態において、喫煙経験者のいずれにおいて、O₂の補給の使用の増加または進行性の増

10

20

30

40

50

加を予防するために十分である場合にも、COPDを処置するために有効である。

【0046】

本発明の方法は、加えて、またはあるいは、この方法が、-- 喫煙者、または他の実施形態において、喫煙経験者においても-- COPDの臨床症状、例えば、運動時の呼吸困難または運動耐容能の低下、慢性咳（咳の頻度として、または咳の期間として測定されるかどうかは問わない）、過剰な痰の生産、または急性気管支炎の発症またはその進行の予防に有効である場合には、それらを処置するために有効である。

【0047】

本発明の方法はまた、加えて、またはあるいは、この方法が、現在喫煙している人または喫煙経験者のいずれにおいても、気管支拡張薬、および／または肺もしくは経口コルチコステロイド（例えば、経口プレドニゾロン）の必要性または使用の増加を予防するため有効である場合にも、COPDを処置するために有効である。

10

【0048】

また、実施例として、本発明の方法は、この方法が喫煙者または喫煙経験者において、肺気腫または肺での杯細胞の増殖の発症またはその進行の予防に十分である場合には、COPDを処置するために有効である。

【0049】

さらに実施例として、本発明の方法によって、喫煙者または他の実施形態において、喫煙経験者のいずれにおいても、FEV₁、FVC、またはFEV₁ / FVCの比のいずれかとして測定される空気の流れが改善される、例えば、PaO₂の上昇として測定される酸素の生産が改善される、PaCO₂の低下として測定されるCO₂の排出が改善される、安静時、運動時または呼吸器感染の併発時の呼吸困難が軽減される、あるいは、O₂の補給の使用が減少される場合には、本発明の方法はCOPDを処置するために有効である。

20

【0050】

この方法は、なおさらなる実施例としては、この方法が喫煙者または喫煙経験者の肺の内部の肺の杯細胞の数または密度を、局所的にまたは全体的のいずれかで、減少させるために十分である場合には、COPDを処置するために有効である。

【0051】

本発明の方法は、この方法が、例えば、-- 喫煙者において、または別の実施形態において、喫煙経験者において-- 臨床的な測定（例えば、肺気量測定法）によって、または臨床的な症状（例えば、呼吸困難、咳、または痰の生産）によってのいずれかで評価される、COPDの急激な悪化の頻度を低下させるために十分である場合には、COPDを処置するために有効である。

30

【0052】

本発明の方法はまた、この方法が、例えば、喫煙者または喫煙経験者において、下部呼吸器の感染の頻度を減少させるために十分である場合にも、COPDを処置するために有効である。

【0053】

さらに、限定的ではない実施例として、本発明の方法は、現在喫煙している人または喫煙経験者のいずれにおいても、この方法によって、生活の質の尺度、例えば、身体機能、体の痛み、全般的な健康状態、活力、社会的機能、疾患の処置に必要な他の医薬品（例えば、緩和ケア用医薬品または他の医薬品）の用量の減少、疾患の進行が遅くなること、二次感染および／または症状の解消に必要な時間の短縮、ならびに／あるいは患者のより長い期間の生存が改善される場合には、COPDを処置するために有効である。

40

【0054】

本発明の方法において使用される 1 - 抗トリプシン (AAT) は、通常はヒトAATである。

【0055】

ヒトAATの実施形態としては、例えば、ヒトM1V AAT対立遺伝子、ヒトM1A

50

A A T 対立遺伝子、ヒトM 2 A A T 対立遺伝子、ヒトM 3 対立遺伝子、および他の天然のヒトA A T 対立遺伝子のセリンプロテアーゼ阻害活性と配列を、N末端シグナル配列とともに有するタンパク質、または特定の実施形態において、ヒトM 1 V A A T 対立遺伝子、ヒトM 1 A A A T 対立遺伝子、ヒトM 2 A A T 対立遺伝子、ヒトM 3 対立遺伝子、および他の天然のヒトA A T 対立遺伝子のセリンプロテアーゼ阻害活性と配列を、N末端シグナル配列を含まずに有するタンパク質が挙げられる。いくつかの実施形態において、ヒトA A T は、米国特許出願公開番号2003/0073217（その開示はその全体が参考として本明細書中に援用される）に示されている配列を有する。いくつかの実施形態において、ヒトA A T は、Carrel1ら、Nature 298:329-334(1982)に示されている配列を有する。

10

【0056】

他の実施形態において、ヒトA A T は、天然のヒト対立遺伝子変異体とは異なるセリンプロテアーゼ阻害活性と一次アミノ酸配列を有するタンパク質である。

【0057】

ヒトA A T 变異体は、配列の中での1つ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、および／または置換によって、天然の対立遺伝子の配列とは異なる配列を有し得る。アミノ酸变異体は、通常、上記の対立遺伝子配列の1つに対して、デフォルトパラメーター（マトリックス：BLOSUM62；オープンギャップペナルティー：11；伸張ギャップペナルティー：1；ギャップ×ドロップオフ：50；期待値：10.0；文字列の長さ：3）を用いてblastpプログラムを使用してBLAST 2 SEQUENCESツールによって報告されるパーセント同一性によって決定すると、少なくとも約65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性がある。その全体が参考として本明細書中に援用される、Tatianaら、「blast 2 sequences - a new tool for comparing protein and nucleotide sequences」, FEMS Microbiol Lett. 174:247-250(1999)を参照のこと。このツールは、National Center for Biotechnology Information(NCBI)ウェブサイトで使用できる。上記の実施形態のいくつかにおいて、ヒトA A T 变異体は、保存的置換によってのみ、天然の対立遺伝子とは異なる。

20

30

【0058】

A A T またはその機能的活性のある部分のアミノ酸配列变異体は、天然のものである場合も、また、合成によって、例えば、以前に単離されたA A T DNAに適切なヌクレオチド変化を導入することによって、もしくは、所望される变異体ポリペプチドの生体外での合成によって調製される場合もある。このような变異体には、成熟A A T またはその機能的活性のある部分のアミノ酸配列の中に1つ以上のアミノ酸の欠失または挿入または置換が含まれる場合がある。

40

【0059】

配列变異体には、種々の実施形態において、欠失、挿入、および置換の任意の組み合せが含まれる場合がある。

【0060】

典型的な実施形態において、本発明の方法において使用される組成物のヒトA A T 变異体は、デフォルトパラメーターを用いてBLASTPツールを使用してNCBIのタンパク質データベースに対して検索配列としてヒトA A T 变異体タンパク質配列全体を使用することによって決定した場合に、任意の他の種由来のA A T オルトログよりも、既知のヒトA A T 対立遺伝子の配列により類似するタンパク質配列を有するであろう。

【0061】

本発明の方法で使用されるA A T は、例えば、ヒトの血漿から精製し得る。PROLASTIN(登録商標)(Bayer Corp.)は、正常なヒトドナーからプールされた血漿から精製された天然のグリコシル化されているヒトA A T の滅菌の凍結

50

乾燥された調製物であり、AATの先天性欠損および臨床的に明確な汎細葉性肺気腫を有する患者の処置において静脈内投与が承認されている。

【0062】

AATに加えて、PROLASTIN（登録商標）には、血漿からAATと一緒に精製されるいくつかのタンパク質が検出可能なレベルで含まれる。これには、2-プラスミンインヒビター、1-抗キモトリプシン、C1エステラーゼインヒビター、抗トロンビンIII、ハプトグロビン、アルブミン、-リポタンパク質、およびIgAが含まれる。PROLASTIN（登録商標）製品の添付文書（Bayer Corp.）；Conら, Vox. Sang. 48 : 333 - 342 (1985)。

【0063】

ARALAST（登録商標）（Baxter Healthcare Corp.から分離したAlpha Therapeutic Corporation）は、プールされたヒト血漿から精製された天然のヒトのグリコシル化されているAATの滅菌の凍結乾燥された調製物であり、これもまた、遺伝性の肺気腫の全身的治療について承認されている。

【0064】

ZEMAIRA（登録商標）（Aventis Behring LLC）は、AATの欠損と、肺気腫の臨床的な証拠を有する個体において長期的な増強および維持療法について承認された、プールされたヒト血漿から精製された天然のヒトのグリコシル化されているAATの滅菌の凍結乾燥された調製物である。

【0065】

上記の3つのFDAで承認されているヒトAATの処方物のいずれかを含む天然の供給源から精製されたAATは、本発明の方法で使用し得るが、組換え体AATが現在は好ましく、その理由は、血漿から精製されたAATは、一緒に精製された血漿タンパク質を含み、そして伝染性の感染性因子を示すからである。

【0066】

本発明の方法において有用である組換え体AATには、典型的な実施形態において、2-プラスミンインヒビター、1-抗キモトリプシン、C1エステラーゼインヒビター、抗トロンビンIII、ハプトグロビン、アルブミン、-リポタンパク質、およびIgAのいずれか1つ以上が、10%以下、より好ましくは、5%以下、最も好ましくは、1%以下、そしていくつかの実施形態において、0.5%以下、0.4%以下、0.3%以下、0.2%以下、さらには、0.1%以下（組成物中のタンパク質の重量パーセントとして）含まれる。好ましい実施形態において、本発明の方法で使用されるAAT組成物には、2-プラスミンインヒビター、1-抗キモトリプシン、C1エステラーゼインヒビター、抗トロンビンIII、ハプトグロビン、アルブミン、-リポタンパク質、またはIgAの1つ以上は全く含まれないであろう。

【0067】

いくつかの実施形態において、本発明の治療方法で使用されるAAT組成物には、2-プラスミンインヒビター、1-抗キモトリプシン、C1エステラーゼインヒビター、抗トロンビンIII、ハプトグロビン、アルブミン、-リポタンパク質、およびIgAが10%以下、5%以下、最も好ましくは、1%以下、そしていくつかの実施形態において、0.5%以下、0.4%以下、0.3%以下、0.2%以下、さらにいくつかの実施形態において、0.1%以下（組成物中のタンパク質の累積重量パーセントとして）が含まれる。特に好ましい実施形態において、組成物には、2-プラスミンインヒビター、

1-抗キモトリプシン、C1エステラーゼインヒビター、抗トロンビンIII、ハプトグロビン、アルブミン、-リポタンパク質、およびIgAのそれぞれは全く含まれない。

【0068】

種々の実施形態において、本発明の方法で使用される組成物中のAAT以外の全てのタンパク質の累積重量パーセントは、10%以下、5%以下、最も好ましくは、1%以下で

あり、そしていくつかの実施形態において、0.5%以下、0.4%以下、0.3%以下、0.2%以下であり、さらにいくつかの実施形態において、0.1%以下である。特に好ましい実施形態において、組成物には、AAT以外のヒト血漿タンパク質は全く含まれない。いくつかの実施形態において、組成物には、ヒトまたは動物のいずれかのものである、天然のサーファクタントタンパク質または組換え体サーファクタントタンパク質は含まれない。

【0069】

したがって、本発明の方法において投与される組成物には、タンパク質の重量パーセントとして、通常、AATはまたその活性のある部分が、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、なおさらには、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、99%以上、そしていくつかの実施形態において、なおさらに99.5%以上が含まれる。

【0070】

本発明の方法で使用される組換え体AATは、任意の当該分野で認識されている宿主細胞、例えば、大腸菌(*E. coli*)（例えば、Kwonら, *Biochim Biophys Acta*. 1247(2) : 179 - 84 (1995)を参照のこと）を含む細菌；*Saccharomyces cerevisiae*または*Pichia*種を含む酵母のような真菌（例えば、Rosenbergら, *Nature* 312 : 77 - 80 (1984) ; Kangら, *Yeast* 14 : 371 - 381 (1998) ; およびKwonら, *J Biotechnol.* 42(3) : 191 - 5 (1995)を参照のこと）；植物細胞（例えば、Terashimaら, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52 : 516 - 23 (1999) およびHuangら, *Biotechnol. Prog.* 17 : 126 - 33 (2001)を参照のこと）、昆虫細胞、または哺乳動物細胞（例えば、Garverら, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA*, 84 : 1050 - 4 (1987)を参照のこと）で調製し得る。これらの開示は、それらの全体が参考として本明細書中に援用される。

【0071】

本発明の方法で使用されるAATは、--血漿由来のものであるか、または組換え体であるかにはかかわらず--グリコシル化されているものであっても、また、グリコシル化されていないものであっても、いずれでもよい。

【0072】

「グリコシル化されていない」によって、AATタンパク質が、血漿から得られたヒトAATのN結合炭水化物のパターンを有していないことが意図される。典型的な実施形態において、AATタンパク質は、翻訳後に付加される糖部分を全て欠いている。他の実施形態において、AATタンパク質には糖部分が含まれるが、これは、ヒト血漿から得られるヒトAATの重量/重量基準での糖含有量の約50%以下、40%以下、35%以下、30%以下、25%以下、20%以下、15%以下、10%以下、5%以下、4%以下、3%以下、2%以下、さらには約1%以下である。

【0073】

グリコシル化されていない組換え体AATは、細菌（例えば、大腸菌(*E. coli*)または特定の酵母）のような、発現されたタンパク質をグリコシル化することはない宿主での組換え発現によって、あるいは、1つ以上のグリコシラーゼでグリコシル化する能力のある宿主の中で発現させた組換えによって発現されたタンパク質を処理することによって、得ることができる。グリコシル化されていないAATはまた、グリコシラーゼでの血漿由来のAATの処理によって得ることもできる。

【0074】

例えば、本発明の方法の種々の実施形態において、グリコシル化されていない組換え体ヒトAATは、例えば、Rosenbergら, *Nature* 312 : 77 - 80 (1984)（その全体が参考として本明細書中に援用される）に記載されているように、真菌、特に、*Saccharomyces cerevisiae*のような酵母で生産させ

10

20

30

40

50

ことができる。グリコシル化されていない組換え体ヒトAATは、2004年8月9日に提出された共有にかかる同時係属中の米国特許出願番号10/914,863、およびWO2005/014825（これらの開示はそれらの全体が参考として本明細書中に援用される）に詳細に示されている方法にしたがって、*Saccharomyces cerevisiae*で効率よく生産させることができる。

【0075】

本発明の方法で使用されるAATには、上記に記載される配列のバリエーション以外の、またはそれらに加えて、種々の型の変更または誘導と、変更された（すなわち、自然界には存在しないパターンの）グリコシル化を持たせることができる。

【0076】

1つのシリーズの実施形態において、例えば、グリコシル化されていないAATは、*Saccharomyces cerevisiae*で発現されたヒト組換え体AATである、rAATである。rAATは、アミノ末端にあるN-アセチルメチオニン残基を除いて、ヒトの血漿AATと同一のアミノ酸配列を有する、395アミノ酸のグリコシル化されていないタンパク質である。Rosenbergら, Nature 312:77-80 (1984)（その全体が参考として本明細書中に援用される）。

【0077】

別の実施形態において、AATは、アミノ酸末端にN-アセチルメチオニン残基を維持しており、358位でのバリンのメチオニンでの置換によってrAATとは異なる配列を有する、*Saccharomyces cerevisiae*で生産された、酸化に対して安定であるグリコシル化されていないAATであるrAAT-valである。

【0078】

本発明の方法のいくつかの実施形態において、AATは、プロテアーゼ阻害活性を有する短縮型（断片、一部、またはドメインと同義）であり；このような機能的活性のある部分は、上記のヒトAATタンパク質の機能的活性のある部分である場合も、また、ヒトAATタンパク質変異体である場合もある。

【0079】

種々の実施形態において、本発明の方法で使用されるAATの機能的活性のある部分は、エラスターーゼ、カリクレイン、カテプシン-G、トリプシン、肥溝細胞チマーゼ、およびキモトリプシンからなる群より選択される少なくとも第1のプロテアーゼに対して阻害性である。種々の実施形態において、本発明の方法で使用されるAATの機能的活性のある部分は、さらに、エラスターーゼ、カリクレイン、カテプシン-G、トリプシン、肥溝細胞チマーゼ、およびキモトリプシンからなる群より選択される少なくとも第2のプロテアーゼに対して阻害性である。典型的な実施形態において、AAT部分は、ヒト型のそれぞれの酵素に対して阻害性である。いくつかの実施形態において、機能的活性のある部分は、完全なタンパク質よりも小さいプロテアーゼ阻害活性を有する。他の実施形態において、機能的活性のある部分は、全長のタンパク質よりもプロテアーゼの阻害においてより活性が高い。

【0080】

AATの機能的活性のある部分は当該分野で公知であり（Schasteenら, Mol. Immunol. 28:17-26 (1991)（その開示はその全体が参考として本明細書中に援用される）、AATの短縮型および断片は、当該分野の標準的な方法を日常的に行われているように使用することにより、プロテアーゼ阻害活性について容易に評価し得る。例えば、AATの一部分は、Beattyら, J. Biol. Chem. 255:3931 (1980)（その全体が参考として本明細書中に援用される）によって報告されているようなブタの臍臓エラスターーゼ阻害アッセイを使用して、エラスターーゼ阻害活性について容易に評価し得る。

【0081】

特定の実施形態において、AATの機能的活性のある部分は、米国特許第6,068,994号および同第4,732,973号に、ならびにA. Hercz, 「Proteo

10

20

30

40

50

lytic cleavages in alpha-one antitrypsin and microheterogeneity」, Biochem, Biophys. Res. Comm. 128: 199 - 203 (1985) (これらの開示はそれらの全体が参考として本明細書中に援用される)に記載されている部分である。

【0082】

他の実施形態において、AATまたはその機能的活性のある部分は、別のタンパク質またはその一部に融合され、そして、有効量の融合タンパク質が吸入によって投与される。

【0083】

種々の実施形態において、AATだけによって阻害されるものに加えて、融合タンパク質はプロテアーゼも阻害する。いくつかの実施形態において、AATに融合されたタンパク質またはその一部は、融合タンパク質に標的化活性を付与する。

【0084】

特定の実施形態において、融合は、2001年12月18日に提出され、米国特許出願公開番号2003/0073217として公開された共有にかかる同時係属中の米国特許出願番号10/025,514(その開示はその全体が参考として本明細書中に援用される)に記載されているように、別のプロテアーゼインヒビターへの融合である。

【0085】

例えば、AATまたはその機能的活性のある部分は、分泌型の白血球プロテアーゼインヒビター(SLPI)またはその機能的活性のある部分に融合される場合がある。典型的なそのような実施形態において、SLPIタンパク質またはその一部はヒトSLPIである。

【0086】

ヒトSLPIのDNA配列およびアミノ酸配列は、Heinzelら, Eur. J. Biochem. 160: 61 - 67 (1987)(その全体が参考として本明細書中に援用される)によって報告されている。いくつかの特許に、SLPI、その核酸、および/またはSLPIの機能的活性のある部分が記載されており(例えば、米国特許第4,760,130号;同第5,464,822号;同第4,845,076号;同第5,633,227号;同第5,851,983号;同第5,871,956号;同第5,900,400号;同第6,017,880号;および同第6,291,662号(これらの開示はそれらの全体が参考として本明細書中に援用される)、その任意のものを、本発明の方法の実施形態においてAAT/SLPI融合タンパク質に使用し得る。

【0087】

AATまたはその機能的活性のある部分がSLPIの機能的活性のある部分に融合される実施形態において、SLPIの機能的活性のある部分は、好中球エラスター、肥満細胞チマーゼ、トリプターゼ、およびキモトリプシンからなる群より選択される少なくとも第1のプロテアーゼに対して阻害性である。

【0088】

特定の実施形態において、AATをコードするタンパク質配列またはその機能的活性のある部分は、そのC末端が、SLPIまたはその機能的活性のある部分のN末端に連結される。他の実施形態において、AATをコードするタンパク質配列またはその機能的活性のある部分は、そのN末端が、SLPIまたはその機能的活性のある部分のC末端に連結される。

【0089】

融合タンパク質の2つのタンパク質の融合には、1つのペプチド結合を用いることができ、また、融合タンパク質の2つのタンパク質の間に融合連結を含んでいる1つ以上のさらなるアミノ酸を存在させることもできる。1つの実施形態において、AATとSLPIの間にメチオニンが存在する。AATまたはSLPIに由来するものではないさらなる配列(単数または複数)が、本発明の融合タンパク質の1つ以上の位置に存在する場合もある。

【0090】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、本発明の方法は、有効量の 1 - 抗トリプシン (AAT) / SLP I 融合タンパク質を吸入によって COPD を発症しているか、または COPD を発症する危険性のある個体の肺に投与する工程を包含する。融合タンパク質には、AAT の約 1 位から約 394 位までのアミノ酸と、SLP I の約 1 位から約 107 位までのアミノ酸が含まれる。1 つのこのような実施形態において、AAT の約 1 位から約 394 位までのアミノ酸のカルボキシ末端が、SLP I の約 1 位から約 107 位までのアミノ酸のアミノ末端に連結される（すなわち、融合タンパク質には、そのアミノ末端からカルボキシ末端の方向に向かって、SLP I の約 1 位から約 107 位までのアミノ酸に融合された、AAT の約 1 位から約 394 位までのアミノ酸が含まれる）。別の実施形態において、SLP I の約 1 位から約 107 位までのアミノ酸のカルボキシ末端は、AAT の約 1 位から約 394 位までのアミノ酸のアミノ末端に連結される（すなわち、融合タンパク質には、そのアミノ末端からカルボキシ末端の方向に向かって、AAT の約 1 位から約 394 位までのアミノ酸に融合された、SLP I の約 1 位から約 107 位までのアミノ酸が含まれる）。

10

【0091】

種々の他の実施形態において、AAT またはその機能的活性のある部分は、メタロプロテイナーゼインヒビターまたはその機能的活性のある部分に融合され、有効量の融合タンパク質が吸入によって投与される。

【0092】

いくつかの実施形態において、例えば、AAT またはその機能的活性のある部分が、マトリックスメタロプロテアーゼの組織インヒビター（「マトリックスメタロプロテイナーゼの組織インヒビター」と同義）（TIMP）またはその機能的活性のある部分に融合される。

20

【0093】

種々の実施形態において、TIMP は、TIMP-1、TIMP-2、TIMP-3、および TIMP-4 から選択される。全ての 4 つのヒト TIMP のアミノ酸配列とヌクレオチド配列は特性決定されている：TIMP-1 (Dochertyら, Nature 318 : 66 - 69, 1985) ; TIMP-2 (Booneら, Proc. Natl. Acad. Sci. 87 : 2800 - 2804) ; TIMP-3 (Wildら, DNA Cell Biol. 13 : 711 - 718) ; および TIMP-4 (Hawkins ら, 米国特許第 5,643,752)。これらの参考文献の開示は、それらの全体が参考として本明細書中に援用される。

30

【0094】

AAT またはその機能的活性のある部分が TIMP の機能的活性のある部分に融合される実施形態において、TIMP の機能的活性のある部分は、活性化された間質コラゲナーゼ、92kDa の IV 型コラゲナーゼ、ストロメリシン、ゼラチナーアおよび B、72kDa の IV 型コラゲナーゼ、コラゲナーゼ 1、他のゼラチナーゼ、および他のコラゲナーゼからなる群より選択される少なくとも第 1 のプロテアーゼに対して阻害性である。他の実施形態において、TIMP の機能的活性のある部分は、同じ群から選択される少なくとも第 2 のプロテアーゼに対して阻害性である。

40

【0095】

1 つのシリーズの実施形態において、例えば、AAT またはその機能的活性のある部分は、TIMP-1 またはその機能的活性のある部分に融合される。TIMP-1 の機能的活性のある部分は、プロテアーゼ阻害活性、標的化活性、またはその両方を有する場合がある。いくつかの実施形態において、標的化活性は、マクロファージ標的化活性である。

【0096】

種々の実施形態において、TIMP-1 の N 末端部分が使用される。いくつかの実施形態において、最初のメチオニンを含む、したがって、127 個のアミノ酸（最初のメチオニンと TIMP-1 の N 末端の 1 ~ 126 位のアミノ酸）を含む TIMP-1 断片が使用される。この断片は、本明細書中では N-TIMP-1-127（配列番号 22 を参照の

50

こと)と記載される。種々の実施形態において、T I M P - 1 の N 末端断片は、天然の形態の最初の 127 個の N 末端アミノ酸である。この後者の断片の 127 番目のアミノ酸は遊離のシステインであり、したがって、ジスルフィド結合を形成させて沈殿させることができ、これは、本発明の融合タンパク質を構築するための 1 つの方法である。種々の実施形態において、最初のメチオニンを有しており、したがって、128 個のアミノ酸(最初のメチオニンと T I M P - 1 の N 末端の 1 ~ 127 位のアミノ酸)を含む、この後者の断片が使用される。この断片は、本明細書中では N - T I M P - 1 - 128 と記載される(配列番号 24 を参照のこと)。

【0097】

本発明の A A T - T I M P 融合タンパク質において、A A T は T I M P の N 末端に対して C 末端で連結させることができ、または T I M P は、A A T の N 末端に対して C 末端で融合させることができる。2つの部分 - - A A T に由来する部分と、T I M P に由来する部分 - - の融合は、1つのペプチド結合を用いることができ、また、融合タンパク質の 2 つのタンパク質の間に融合連結を含んでいる 1 つ以上のさらなるアミノ酸を存在させることもできる。

【0098】

いくつかの実施形態において、本発明の方法は、1 - 抗トリプシンの約 1 位から約 394 位までのアミノ酸と、メタロプロテアーゼ - 1 の組織インヒビターの約 1 位から約 184 位までのアミノ酸を含む、A A T - T I M P 1 融合タンパク質を投与する工程を包含する。1つのこのような実施形態において、A A T の約 1 位から約 394 位までのアミノ酸のカルボキシ末端は、メタロプロテアーゼ - 1 の組織インヒビターの約 1 位から約 184 位までのアミノ酸のアミノ末端に連結される(すなわち、融合タンパク質には、そのアミノ末端からそのカルボキシ末端の方向に向かって、メタロプロテアーゼ - 1 の組織インヒビターの約 1 位から約 184 位までのアミノ酸に融合された、A A T の約 1 位から約 394 位までのアミノ酸が含まれる)。別の実施形態において、メタロプロテアーゼ - 1 の組織インヒビターの約 1 位から約 184 位までのアミノ酸のカルボキシ末端が、A A T の約 1 位から約 394 位までのアミノ酸のアミノ末端に連結される(すなわち、融合タンパク質には、そのアミノ末端からそのカルボキシ末端の方向に向かって、A A T の約 1 位から約 394 位までのアミノ酸に融合された、メタロプロテアーゼ - 1 の組織インヒビターの約 1 位から約 184 位までのアミノ酸が含まれる)。

【0099】

さらに他の実施形態において、本発明の方法は、T I M P - 2 の機能的活性のある部分に融合された A A T またはその機能的活性のある部分を投与する工程を包含する。T I M P - 2 の機能的活性のある部分は、Willenbrockら, Biochemistry 32 : 4330 - 4337 (1993) に開示されている部分であり得る。

【0100】

他の実施形態において、A A T またはその機能的活性のある部分は、システインプロテアーゼまたはその機能的活性のある部分に融合される。

【0101】

いくつかの実施形態において、A A T またはその機能的活性のある部分は、シスタチン、ステフィン、またはキニノゲン、あるいはそれらの機能的活性のある部分に連結される。

【0102】

特定の実施形態において、A A T またはその機能的活性のある部分は、ペプスタチンまたはその機能的活性のある部分のような、アスパルチルプロテアーゼインヒビターに連結される。

【0103】

種々の実施形態において、本発明の方法において有用である A A T 融合タンパク質の配列は、その全体が参考として本明細書中に援用される、添付の配列表に示される配列のグループから選択される配列を有する。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 4 】

種々の実施形態において、融合タンパク質を構成する個々のタンパク質（例えば、A A T および T I M P - 1 ）またはその機能的活性のある部分の自然界での配列が、必ずしも融合タンパク質において使用される必要はない。

【 0 1 0 5 】

このような実施形態において、アミノ酸配列変異体を、融合パートナーまたはそれらの機能的活性のある部分のうちの1つまたは両方について使用し得、これらは通常、デフォルトパラメーター（マトリックス：B L O S U M 6 2 ; オープンギャップペナルティー：1 1 ; 伸張ギャップペナルティー：1 ; ギャップ×_ドロップオフ：5 0 ; 期待値：1 0 . 0 ; 文字列の長さ：3 ）を用いて b l a s t p プログラムを使用して B L A S T 2 10 S E Q U E N C E S ツールによって報告されるパーセント同一性によって決定すると、天然のタンパク質--例えば、Carrel11ら, Nature 298: 329 - 334 , 1982 および Dochertyら, Nature 318: 66 - 69 , 1985 に示されている成熟ヒトA A T または T I M P - 1 --に対し少なくとも約65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の配列同一性を有する。その全体が参考として本明細書中に援用される、Tatianaら, 「Blast 2 sequences - a new tool for comparing protein and nucleotide sequences」, FEMS Microbiol Lett. 174: 247 - 250 (1999) を参照のこと。このツールは、National Center of Biotechnology 20 Information (NCBI) ウェブサイトで使用できる。

【 0 1 0 6 】

上記の融合タンパク質の生産は、2001年12月18日に提出され、米国特許出願公開番号 2003 / 0073217 として公開された共有にかかる米国特許出願番号 10 / 025 , 514 (その開示はその全体が参考として本明細書中に援用される) において具体的にさらに記載されているように、周知の当該分野で受け入れられている手順によって行われる。

【 0 1 0 7 】

本発明の方法において、1 - 抗トリプシン (A A T) またはその機能的活性のある部分は、吸入によって C O P D を発症している個体または C O P D を発症する危険性のある個体の肺に投与される。

【 0 1 0 8 】

「吸入」は、処置される個体による目的の化合物の吸入により下気道の組織に投与され、それによって化合物が肺に送り込まれる、有効量の化合物を送達する化合物の投与方法を意味する。本明細書中で使用される場合は、「投与 (a d m i n i s t r a t i o n) 」は「送達 (d e l i v e r y) 」と同義である。

【 0 1 0 9 】

吸入（肺投与）により治療活性のある因子を投与するための当該分野で公知の任意の種々の手段を、本発明の方法で使用し得る。

【 0 1 1 0 】

このような送達方法は当該分野で周知である。例えば、M . Keller (1999) I n t . J . P h a r m a c e u t i c s 186: 81 - 90 ; M . Everard (2001) J . A e r o s o l M e d . 14 (S u p p l 1) : S - 59 - S - 64 ; Togger and Brenner (2001) A m . J . N u r s i n g 1 0 1 : 26 - 32 を参照のこと。ジェットネプライザーおよび超音波ネプライザーを含む液体処方物用の市販されているエアロゾル化装置 (A e r o s o l i z e r) が本発明の方法に有用である。液体形態での送達については、液体処方物を直接エアロゾル化し得、そして凍結乾燥された粉末は、再構成の後にエアロゾル化し得る。乾燥粉末形態での送達については、処方物は、凍結乾燥され、粉碎された粉末として調製し得る。さらに、処方物は、過フッ化炭化水素処方物または他の高圧ガスと、定量ディスペンサーを使用して送 40 50

達し得る。送達デバイスおよび方法については、例えば、米国特許第4,137,914号；同第4,174,712号；同第4,524,769号；同第4,667,688号；同第5,672,581号；同第5,709,202号；同第5,780,014号；同第5,672,581号；同第5,915,378号；同第5,997,848号；同第6,123,068号；同第6,123,936号；同第6,397,838号（これらの開示はそれらの全体が参考として本明細書中に援用される）を参照のこと。

【0111】

特定の実施形態において、例えば、液体を、下気道に吸入させることができる大きさのエアロゾルに変化させるネブライザーが、マスクまたはマウスピースのいずれかと組み合わせて使用される。本発明の方法の特定の実施形態での使用に適するネブライザーは、空気式または超音波式の、連続型または間欠型のいずれかであり得る。本発明の方法での使用に適する種々のネブライザーは、Aerogen, Inc. (Mountain View, CA) から市販されている。10

【0112】

他の実施形態において、当該分野で公知の定量吸入装置（MDI）が使用される。なお他の実施形態において、乾燥粉末送達装置もまた公知であり、使用し得る。

【0113】

他の実施形態において、AATまたはその機能的活性のある部分は、大きさおよび／または形状が巻きタバコとほぼ同じであるデバイスを使用して、肺に送達される。例えば、AATまたはその機能的活性のある部分は、米国特許第6,637,430号；同第6,810,883号；同第6,595,209号；同第6,178,969号；同第6,178,969号；同第5,746,227号；同第5,687,746号；同第5,441,060号；同第5,287,850号；同第5,159,940号；同第5,113,855号；同第4,892,109号；同第4,765,348号；同第4,735,217号；同第4,393,884号；および同第4,083,372号（これらの開示はそれらの全体が参考として本明細書中に援用される）に開示されているデバイスのようなデバイスを使用して送達し得る。20

【0114】

特定のこれらの実施形態において、AATまたはその機能的活性のある部分はタバコと混合される。特定の実施形態において、AATまたはその機能的活性のある部分は、デバイスの口と接するフィルターまたは容器部分に存在される。30

【0115】

用量の投与経路に応じて、AAT--またはその機能的活性のある部分もしくはその融合体（以下の目的については、まとめて「AAT」とする）--は、液体組成物として投与される場合も、また、乾燥組成物として投与される場合もある。

【0116】

AATの液体組成物は、通常は、凍結している液体組成物を融解させることによって、またはより一般的には、乾燥組成物を再水和（再構成）させることによって、肺（すなわち、吸入）投与のために調製される。

【0117】

例えば、本発明の方法での使用に適するAATの液体組成物は、血漿由来のグリコシル化されているヒトAATの凍結乾燥された調製物、例えば、PROLASTIN（登録商標）、ARALAST（登録商標）、またはZEMAIRA（登録商標）を再水和（再構成）させることによって調製し得る。40

【0118】

しかし、他の実施形態において、本発明の方法での使用に適するAATの液体組成物は、組換え体AAT、通常は、ヒトAAT（これには、rAAT、ならびに、ヒトAATの短縮型および融合体のような、グリコシル化されていないヒトAATが含まれる）を含む乾燥組成物を再水和（再構成）させることによって調製し得る。

【0119】

1つのシリーズの実施形態において、例えば、本発明の方法での使用に適するAATの液体組成物は、グリコシル化されていない組換え体 1 - 抗トリプシン(AAT)と少なくとも1つのハライド塩を含む乾燥組成物を再水和させることによって調製し得る。組換え体AATは、典型的な実施形態において、組換え体であるヒトAATであり、多くの場合にはrAATである。

【0120】

1つのシリーズの実施形態において、例えば、乾燥組成物には、100mgのグリコシル化されていないAAT(例えば、ヒトAAT、特に、rAAT)あたり0.1から200ミリ等量のハライド塩、100mgのグリコシル化されていないAAT(例えば、ヒトAAT、特に、rAAT)あたり50～500ミリ等量、さらには、100～200ミリ等量のハライド塩が含まれ得る。10

【0121】

乾燥組成物の典型的な実施形態において、ハライド塩は、100mgのAATあたり少なくとも約10マイクロモル、100mgのAATあたり少なくとも約50マイクロモル、100mgのAATあたり少なくとも約100マイクロモル、さらには、100mgのAATあたり少なくとも約200マイクロモルのレベルで存在する。いくつかの実施形態において、ハライド塩は、100mgのAATあたり約200マイクロモルのレベルで存在する。

【0122】

通常は、ハライド塩は、100mgのAATあたり約2000ミリモルを超えないレベルで、100mgのAATあたり約1500ミリモル、100mgのAATあたり約100ミリモル以下、100mgのAATあたり約100ミリモル以下、100mgのAATあたり約10ミリモル以下、さらには、100mgのAATあたり約1ミリモル以下のレベルで存在する。20

【0123】

特定の実施形態において、ハライド塩は、100mgのAATあたり約100～500マイクロモルのレベルで、乾燥組成物中に存在する。

【0124】

ハライド塩は、例えば、塩化物、臭化物、またはヨウ化物であり得る。陽イオンは、例えば、Na⁺、K⁺、または他の一価もしくは二価の陽イオンである。30

【0125】

特定の実施形態において、ハライド塩はNaClである。種々のこのような実施形態において、本発明の乾燥組成物には、rAATとNaClが含まれる。

【0126】

特定のこれらの実施形態において、NaClは、100mgのrAATあたり少なくとも約10マイクロモル、100mgのrAATあたり50マイクロモル、さらには、100mgのrAATあたり少なくとも約100マイクロモルのレベルで存在する。いくつかの実施形態において、NaClは、100mgのrAATあたり約1000ミリモル以下、100mgのrAATあたり約500ミリモル以下、さらには、100mgのrAATあたり約250ミリモル以下のレベルで存在する。種々の実施形態において、NaClは、100mgのrAATあたり約200マイクロモルのレベルで存在する。40

【0127】

乾燥組成物には、グリコシル化されていないAATと少なくとも1種のハライド塩に加えて、複数の成分が含まれる場合がある。

【0128】

いくつかの実施形態において、組成物にはさらに、少なくとも1つの還元剤が含まれる。少なくとも1つの還元剤は、例えば、ジチオスレイトール、システイン、グルタチオン、およびN-アセチルシステイン(NAC)からなる群より選択し得る。

【0129】

特定の実施形態において、還元剤はNACである。

【0130】

NACは、例えば、100mgのAATあたり少なくとも約1マイクロモル、100mgのAATあたり少なくとも約10マイクロモル、さらには、100mgのAATあたり少なくとも約100マイクロモルのレベルで存在し得る。NACは、通常、そのような実施形態において、100mgのAATあたり約1000マイクロモル以下、100mgのAATあたり約500マイクロモル以下、さらには、100mgのAATあたり約100マイクロモル以下のレベルで存在する。

【0131】

組成物には、加えてまたは代わりに、例えば、アスコルビン酸またはL-Metのような抗酸化剤が、例えば、50mg/m1のAATへと再構成された際に10mMまでの量で、さらに含まれる場合がある。10

【0132】

組成物には、加えてまたは代わりに、それから組成物が乾燥される溶液のpHの緩衝化に有用であり、組成物がその後に再水和された液体組成物のpHの緩衝化に有用である物質がさらに含まれる場合がある。

【0133】

緩衝液の量は、50mg/m1のAATとするような脱イオン水中での組成物の例示的な再水和の際に、再構成された溶液が、少なくとも約6.0、約6.1、約6.2、約6.3、約6.4、約6.5、約6.6、約6.7、約6.8、約6.9、さらには約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4、約7.5、またはそれ以上のpHを有するような量であり得る。いくつかの実施形態において、緩衝液の量は、50mg/m1のAATとするような脱イオン水中の組成物の例示的な再水和の際に、再構成された溶液が、約7.5以下、約7.4以下、約7.3以下、約7.2以下、約7.1以下、約7.0以下、さらには、約6.9以下、約6.8以下、またさらには、約6.7以下、約6.6以下、あるいは約6.5以下のpHを有するような量である。20

【0134】

例えば、組成物にはさらに、リン酸塩、クエン酸塩、ヒスチジン、またはそれらの混合物が、いくつかの実施形態において、50mg/m1のAATとするような例示的な再構成の際に、5~50mM、好ましくは、10~20mMの量で含まれる場合がある。

【0135】

いくつかの実施形態において、組成物にはさらに、乳酸、アスコルビン酸、マレイン酸、シュウ酸、マロン酸、リンゴ酸、コハク酸、グルコン酸、およびグルタミン酸の1つ以上を含む、クエン酸以外の有機酸（および有機酸の塩）が含まれる。30

【0136】

いくつかの実施形態において、組成物にはさらに、グリコシル化されていないAATと少なくとも1種のハライド塩に加えて、1つ以上の界面活性剤または他の表面活性剤が含まれる場合がある。

【0137】

本発明の乾燥組成物にはさらに、キレート化剤（例えば、EDTA）、好ましくは、組成物のハライド塩の陽イオンまたは陰イオンのいずれをも有意にはキレート化することはない型のものであり、そのような量のキレート化剤が含まれる場合がある。40

【0138】

種々の実施形態には、通常、遊離の糖（すなわち、組成物のAATに共有結合されていない糖）は含まれない。

【0139】

したがって、投与される液体組成物がそれから再水和される乾燥組成物の典型的な実施形態では、ガラクトース、D-マンノース、およびソルボースのような单糖；乳糖およびトレハロースのような二糖；2-ヒドロキシプロビル- - -シクロデキストリンのようなシクロデキストリン；ならびに、ラフィノース、マルトデキストリン、およびデキストランのような多糖；ポリエチレングリコールのような多価高分子；ならびに、イノシトール50

、リビトール、ガラクシチトール、およびリビトールのようなアルジトールのいずれか1つ以上が、重量パーセント基準で、0.5%以下、0.4%以下、0.3%以下、0.2%以下、さらには、0.1%以下、0.05%以下、さらに、約0.01%以下含まれる。本発明の好ましい実施形態において、乾燥組成物には遊離の糖は全く含まれない。

【0140】

グリコシリ化されていないAATに糖部分が全く含まれないいくつかの実施形態において、乾燥組成物には、任意の糖または炭水化物が、重量パーセント基準で、約0.5%以下、約0.4%以下、約0.3%以下、約0.2%以下、さらには、約0.1%以下、約0.05%以下、さらに、約0.01%以下含まれる。いくつかの実施形態において、組成物には検出可能な糖または炭水化物は全く含まれない。

10

【0141】

本発明のAAT組成物にはまた、当該分野で公知であるように、肺投与に適切な賦形剤と他の成分もまた含まれる場合がある。保存剤が、状況に応じて、組成物の完全性を維持するために、本発明で使用される組成物に含められる。

【0142】

本発明の組成物には、グリコシリ化されていないAATと少なくとも1種のハライド塩に加えて、1つ以上の物質が含まれる場合があるが、典型的な実施形態には、通常、残留水分量、粒子の大きさ、再水和の容易さ、および安定性を含む所望される物理的形態を得るために不可欠なわずか数種のそのようなさらなる成分が含まれる。

20

【0143】

種々の実施形態において、組成物は滅菌性である。これは、例えば、滅菌の濾過膜に通過させる濾過によって、容易に得られる。

【0144】

以下にさらに記載されるように、本発明の方法で有用な乾燥組成物は、凍結乾燥および噴霧乾燥を含む種々の公知の技術によって簡単に調製される。

【0145】

調製される手段にはかかわらず、乾燥組成物には、典型的な実施形態において、例えば、乾燥組成物の無水メタノールでの抽出の際に簡単に行われるKarl Fischer電量分析法によって評価した場合には、約5%以下の残留水分量が含まれる。

30

【0146】

種々の実施形態において、乾燥組成物には、約4.5%以下、約4%以下、約3.5%以下、約3%以下、約2.5%以下、約2.0%以下、約1.5%以下、約1%以下の残留水分量が含まれる。特定の実施形態において、乾燥組成物には、約0.9%以下、約0.8%以下、約0.7%以下、約0.6%以下、約0.5%以下、そしてさらに、いくつかの実施形態において、約0.4%以下の残留水分量が含まれる。

【0147】

使用前に再水和するように--例えば、滅菌水、生理食塩水、デキストロース溶液、D5生理食塩水、またはリンガー溶液のような臨床的に許容される滅菌性の希釈剤の添加によって--意図される乾燥組成物の実施形態において、粒子の大きさの範囲は、以下にさらに記載される乾燥粉末の吸入による投与のために意図される実施形態における大きさの範囲よりも大きい場合がある。

40

【0148】

液体組成物になるように再水和されることが意図される実施形態において、例えば、10 μm まで、20 μm まで、30 μm まで、40 μm まで、さらには50 μm まで、またはそれ以上の中央粒径(MMD)を有する粒子が有用であり得る。

【0149】

投与の前に液体組成物になるように再水和されることが意図される実施形態において、乾燥組成物は易溶性である。

【0150】

いくつかの実施形態において、例えば、固形分の少なくとも80%が、十分な脱イオン

50

水（または注射用滅菌水）の添加後1時間以内に、室温で溶解し、50mg/mlの名目上のAAT濃度が得られる。他の実施形態において、固体分の少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、そしてさらには、86%、87%、88%、89%も、なおさらには、90%もが、50mg/mlの名目上のAAT濃度を生じるために十分な容量の脱イオン水の添加により1時間以内に溶解する。本発明の好ましい実施形態において、固体分の少なくとも91%、92%、93%、94%、さらには、95%、96%も、またはそれ以上が、50mg/mlの名目上のAAT濃度を生じるために十分な脱イオン水の添加により1時間以内に溶解する。

【0151】

典型的な実施形態において、本発明の乾燥組成物は、50で3ヶ月間、またはそれと同等の条件下での保存後の再水和の際に、最初のプロテアーゼ阻害活性の少なくとも約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、さらには、少なくとも約85%、約86%、約87%、約88%、および約89%を保持する。特定の実施形態において、本発明の乾燥組成物は、50で3ヶ月間、またはそれと同等の条件下での保存後の再水和の際に、最初のプロテアーゼ阻害活性の少なくとも90%、さらには、91%、92%、93%、94%の、そして最も好ましい実施形態において、さらに少なくとも約95%またはそれ以上を保持する。

【0152】

最初の活性の保持の割合（安定性）は、例えば、発色基質を使用する生体外でのエラスターーゼ阻害アッセイのような当業者に公知のアッセイを使用して評価し得る。例えば、Beatyら、J. Biol. Chem. 255: 3931 (1980)（その全体が参考として本明細書中に援用される）によって報告されたブタの臍臓エラスターーゼ阻害アッセイを参照のこと。

【0153】

種々の実施形態において、乾燥組成物は、5で2年間、またはそれと同等の条件下での保存後の再水和の際に、最初のセリンプロテアーゼ阻害活性の少なくとも約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、さらには、少なくとも約85%、約86%、約87%、約88%、および約89%を保持する。特定の実施形態において、5で2年間、またはそれと同等の条件下での保存後の再水和の際に、最初のセリンプロテアーゼ阻害活性の少なくとも90%、さらに、少なくとも91%、92%、93%、94%の、そして最も好ましい実施形態において、さらに、少なくとも約95%またはそれ以上の保持を示す。

【0154】

好ましい実施形態において、乾燥組成物は、5で2年以上、さらには、5で3年間の間、最初のセリンプロテアーゼ阻害活性の少なくとも90%を保持する。

【0155】

種々の実施形態において、乾燥組成物は低いAAT変性レベルを示す。変性は、凝集の形成の評価によってモニターし得、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）HPLC法を使用して単量体の割合（%）として有効な変性していないAATが報告される。

【0156】

典型的な実施形態において、AATは、50で3ヶ月間、またはそれと同等の条件下での保存後に、約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、さらには、少なくとも約85%、約86%、約87%、約88%、および約89%の単量体を保持する。いくつかの実施形態において、50で3ヶ月間、またはそれと同等の条件下での保存後に、少なくとも約90%、さらには、少なくとも約91%、約92%、約93%、約94%の、そして最も好ましい実施形態において、さらに少なくとも約95%またはそれ以上の単量体を保持する。

【0157】

典型的な実施形態において、AATは、5で2年間、またはそれと同等の条件下での保存後に、約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、さらには、少なくと

10

20

30

40

50

も約 8 5 %、約 8 6 %、約 8 7 %、約 8 8 %、および約 8 9 %の単量体を保持する。特定の実施形態において、A A T は、5 で 2 年間、またはそれと同等の条件下での保存後に、少なくとも約 9 0 %、さらに、少なくとも約 9 1 %、約 9 2 %、約 9 3 %、約 9 4 %の、そして最も好ましい実施形態において、さらに少なくとも約 9 5 %またはそれ以上の単量体を保持する。

【 0 1 5 8 】

上記の乾燥組成物は、グリコシル化されていない A A T と少なくとも 1 種のハライド塩を含む液体組成物を、残留水分含有量が約 2 % 以下になるまで十分に乾燥させることによって調製し得る。

【 0 1 5 9 】

典型的な実施形態において、液体組成物は、約 2 . 0 % 以下、約 1 . 9 % 以下、約 1 . 8 % 以下、約 1 . 7 % 以下、約 1 . 6 % 以下、約 1 . 5 % 以下、約 1 . 4 % 以下、約 1 . 3 % 以下、約 1 . 2 % 以下、約 1 . 1 % 以下、さらには、約 1 . 0 % 以下の残留水分量となるまで十分に乾燥され、種々の実施形態において、さらに低い残留水分量を有する。このような実施形態では、約 0 . 9 % 以下、約 0 . 8 % 以下、約 0 . 7 % 以下、約 0 . 6 % 以下、さらには、約 0 . 5 % 以下、あるいはさらに低い残留水分量を有する場合もある。

【 0 1 6 0 】

広く理解されているように、液体組成物中に存在するグリコシル化されていない A A T は、得られる乾燥組成物中に存在するとして上記に記載された種のいずれであってもよく、これには、グリコシル化されていないヒト A A T、例えば、r A A T、ヒト A A T の機能的活性のある部分、ならびに、A A T またはその機能的活性のある部分と、S L P I、T I M P - 1、T I M P - 2、T I M P - 3、T I M P - 4、システインプロテアーゼインヒビター、およびアスパルチルプロテアーゼインヒビターからなる群より選択されるプロテアーゼインヒビター、またはそれらの機能的活性のある部分を含むタンパク質のような A A T 融合タンパク質（グリコシル化されているもの、およびグリコシル化されていないものの両方）が含まれる。

【 0 1 6 1 】

典型的な実施形態において、グリコシル化されていない A A T は、少なくとも 1 0 m g / m l、少なくとも 2 5 m g / m l、少なくとも 3 0 m g / m l、少なくとも 3 5 m g / m l、少なくとも 4 0 m g / m l、少なくとも 4 5 m g / m l、さらには、少なくとも約 5 0 m g / m l、またはなあそれ以上の濃度で、乾燥される液体組成物中に存在する。特定の実施形態において、グリコシル化されていない A A T は、少なくとも 6 0 m g / m l、少なくとも 7 0 m g / m l、少なくとも 8 0 m g / m l、少なくとも 9 0 m g / m l、さらには 1 0 0 m g / m l またはそれ以上の濃度で、乾燥されることが意図される液体組成物中に存在する。

【 0 1 6 2 】

通常、グリコシル化されていない A A T は、約 2 0 0 m g / m l 以下の濃度で、より典型的には、1 0 0 m g / m l またはそれ以下、さらには、7 5 m g / m l またはそれ以下の濃度で、乾燥されることが意図される液体組成物中に存在する。

【 0 1 6 3 】

特定の実施形態において、組成物がそれから乾燥される液体組成物には、3 0 ~ 7 0 m g / m l、より好ましくは、4 0 ~ 6 0 m g / m l、最も好ましくは、約 5 0 m g / m l の濃度でグリコシル化されていない A A T が含まれる。

【 0 1 6 4 】

少なくとも 1 種のハライド塩は、本発明の得られる乾燥組成物中に存在するとして上記に記載されたハライド塩のいずれであってもよく、これには N a C l が含まれる。

【 0 1 6 5 】

典型的な実施形態において、乾燥の前には、少なくとも 1 種のハライド塩が、少なくとも約 1 m M、約 5 m M、1 0 m M、約 1 5 m M、約 2 0 m M、約 2 5 m M、約 3 0 m M、約 3 5 m M、約 4 0 m M、約 4 5 m M、さらには、少なくとも約 5 0 m M、約 6 0 m M、

10

20

30

40

50

約 7 0 m M、約 8 0 m M、約 9 0 m M の濃度、およびさらに高い濃度(1 0 0 m M、1 1 0 m M、1 2 0 m M、1 3 0 m M、1 4 0 m M、1 5 0 m M、1 6 0 m M、1 7 0 m M、1 8 0 m M、1 9 0 m M、2 0 0 m M、またはそれ以上が含まれる)で液体組成物中に存在する。種々の実施形態において、ハライド塩は、約 3 0 0 m M 以下、通常は、約 2 5 0 m M 以下、約 2 0 0 m M 以下、約 1 5 0 m M 以下、約 1 0 0 m M 以下、またはさらに低い濃度で最初の溶液中に存在する。特定の特に有用な実施形態において、組成物がそれから乾燥される溶液には、ハライド塩が、5 0 ~ 1 5 0 m M の濃度、より好ましくは、7 5 ~ 1 2 5 m M、最も好ましくは、約 1 0 0 m M の濃度で含まれる。

【 0 1 6 6 】

いくつかの実施形態において、少なくとも 1 種のハライド塩が、液体組成物中に、少なくとも 1 1 0 m M、少なくとも 1 2 0 m M、少なくとも 1 3 0 m M、少なくとも 1 4 0 m M、少なくとも 1 5 0 m M、少なくとも 1 6 0 m M、少なくとも 1 7 0 m M、少なくとも 1 8 0 m M、少なくとも 1 9 0 m M、さらには少なくとも約 2 0 0 m M、少なくとも約 2 5 0 m M、少なくとも約 3 0 0 m M、少なくとも約 3 5 0 m M、少なくとも約 4 0 0 m M、少なくとも約 4 5 0 m M、少なくとも約 5 0 0 m M の濃度、またはそれ以上の濃度で存在する。

【 0 1 6 7 】

通常は、少なくとも 1 種のハライド塩は、液体組成物中に、約 5 0 0 m M 以下、約 4 5 0 m M 以下、約 4 0 0 m M 以下、約 3 5 0 m M 以下、さらには、約 3 0 0 m M 以下の濃度で存在する。いくつかの実施形態において、少なくとも 1 種のハライド塩が、液体組成物中に、約 2 5 0 m M 以下、約 2 0 0 m M 以下、約 1 5 0 m M 以下、さらには、いくつかの例においては約 1 0 0 m M 以下の濃度で存在する。

【 0 1 6 8 】

いくつかの実施形態において、液体組成物の pH は緩衝化され、乾燥組成物は、少なくとも 6 . 5、6 . 6、6 . 7、6 . 8、6 . 9、さらには少なくとも 7 . 0、7 . 1、7 . 2、7 . 3、7 . 4、または 7 . 5 の pH となるように緩衝化された、グリコシル化されていない A A T と少なくとも 1 種のハライド塩を含む溶液を乾燥させることによって調製される。種々の実施形態において、乾燥される溶液は、約 7 . 5 以下、約 7 . 4 以下、約 7 . 3 以下、約 7 . 2 以下、約 7 . 1 以下、さらには、約 7 . 0 以下、約 6 . 9 以下、約 6 . 8 以下、約 6 . 7 以下、約 6 . 6 以下、あるいは約 6 . 5 以下の pH となるように緩衝化される。本発明の好ましい実施形態において、本発明の組成物は、6 . 6 ~ 7 . 0、より好ましくは、6 . 7 ~ 6 . 9、最も好ましくは、6 . 8 ± 0 . 1 の pH になるように緩衝化された溶液から乾燥される。

【 0 1 6 9 】

緩衝液は、いくつかの実施形態において、リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、ヒスチジン緩衝液、またはそれらの組み合わせであり得る。

【 0 1 7 0 】

上記の乾燥組成物の記載から理解されるように、乾燥組成物がそれから調製される液体組成物にはさらに、還元剤、例えば、ジチオスレイトール、システイン、グルタチオン、および N - アセチルシステイン (N A C) からなる群より選択される還元剤、ならびに / または、抗酸化剤が含まれる場合がある。

【 0 1 7 1 】

本明細書中の上記の本発明の乾燥組成物の記載からも理解されるように、典型的な実施形態において、乾燥組成物がそれから調製される液体組成物には、遊離の糖および / または A A T タンパク質から共有結合によってぶら下がっている糖を含む検出可能な糖は含まれず、A A T 以外のヒトの血清タンパク質(例えば、2 - プラスミンインヒビター、1 - 抗キモトリプシン、C 1 エステラーゼインヒビター、抗トロンビン I I I 、ハプトグロビン、アルブミン、- リポタンパク質、および I g A) は含まれない。

【 0 1 7 2 】

組換えによって発現されたグリコシル化されていない A A T (例えば、r A A T) が使

10

20

30

40

50

用される実施形態において、乾燥される液体組成物には、例えば、60または65での加熱によるか、あるいは、溶媒界面活性剤混合物および／またはナノ濾過を用いた処理によるウイルスの不活化は必要ない。乾燥とその後の再水和の後にそれから得られた溶液にもまた、その必要はない。

【0173】

表1A、表1B、および表1Cには、凍結乾燥または噴霧乾燥によってうまく乾燥させることができる例示的なAAT処方物が示される。これはその後、(i)液体投与で使用されるように(例えば、ネブライザーによる投与、またはエアロゾル化される定用量吸入装置による投与)再構成されるか、あるいは、(ii)本発明の方法での乾燥粉末の吸入により投与される用量に直接使用される。

【0174】

【表1A】

表1A 凍結乾燥した候補物の処方物									
処方物	mg/ml		MM	mM	%	mM	mM	mM	%
	rAAT	pH	NaPi	NaCl	トレハロース	L-met	NAC	クエン酸	Tween 80
1	50	7.4	10	0	2.5	5	0	0	0.1
2	50	6.8	10	100	0	0	0	0	0
3	50	6.8	20	100	0	0	5	1	0
4	50	6.8	10	100	0	3	0	0	0

【0175】

【表1B】

表1B 処方物								
サンプル ID	[rAAT] mg/ml	pH	NaPi mM	His MM	NaCl mM	クエン酸 MM	NAC mM	L-met mM
917-1	50	7	20	0	175	5	2.5	3
917-3	50	7	20	0	100	5	2.5	3
917-4	50	7	20	0	50	5	2.5	3
917-11	50	7.4	20	0	0	0	0	0

【0176】

【表1C】

表1C 処方物							
処方物	pH	[rAAT] mg/mL	NaPi Mm	NaCl Mm	NAC mm	クエン酸 Mm	L-Met Mm
ARV-8	6.8	10	10	100	0	0	3
ARV-9	6.8	10	10	100	2.5	5	3
ARV-13	6.8	10	10	100	5	1	

。

【0177】

他の実施形態において、乾燥組成物にはさらに、AATに加えて糖が含まれる。

【0178】

このような実施形態において、乾燥AAT組成物には、通常、簡単な炭水化物(例えば、単糖、二糖、または三糖)が含まれる。炭水化物は、数ある中でも、無定形の抗凍結剤および凍結防止剤としての機能を果たし、したがって、室温での保存が容易になる。炭水化物は肺組織と適合するように選択され、再水和の後にネブライザーによって投与される処方物については、ネブライザーによる投与と適合するように選択される。種々の炭水化物を、特定の別の処方物において使用し得る。他の適切な炭水化物としては、乳糖、スク

10

20

30

40

50

ロース、ラフィノース、およびマルトデキストリンが挙げられるが、これらに限定はされない。なお他の処方物には、ソルボースまたはガラクトースのような单糖、あるいは、キシリトールまたはマンニトールのようなアルジトールが含まれる。

【0179】

これらの実施形態において、乾燥前の液体処方物中の炭水化物の濃度は、一般的には、約1mg/mlから約50mg/mlまでの範囲であり、他の例において、約10mg/mlから約50mg/mlの範囲である。種々の処方物には、少なくとも1、5、10、15、20、25、30、35、40、または45mg/mlの炭水化物が含まれるが、一般的には、約50mg/ml以下である。

【0180】

糖を含まないか、または糖を含むかにはかかわらず、乾燥組成物は、当該分野で周知の方法を使用する液体組成物の乾燥、例えば、凍結乾燥；噴霧乾燥；凍結乾燥と、その後の凍結乾燥物を微粉化するための粉碎；冷たい表面上への噴霧、その後の凝華と微粉化させた粉末の回収；真空オーブンの中での、または溶液が凍結しない温度に維持した遠心分離蒸発装置の中での凍結していない溶液の蒸発乾燥と、その後の粉碎；噴霧コーティング；噴霧凍結乾燥；流動層乾燥機；超臨界流体乾燥機；凝集；押し出し成型、ならびにこれらの組み合わせを使用して、液体組成物を乾燥させることによって調製し得る。例えば、Maaら、「Biopharmaceutical powders: particle formation and formulation considerations」, Curr. Pharm. Biotechnol. 1: 283 - 302 (2000) (20その開示はその全体が参考として本明細書中に援用される)を参照のこと。

【0181】

凍結乾燥は、本発明の方法において、直接使用するためのAAT、またはその後再水和されて液体として使用されるAATを調製するために有用であり得る。凍結乾燥は、乾燥組成物が使用前に再水和されることが意図される実施形態において、格別の用途が見出されている。

【0182】

タンパク質の凍結乾燥方法は当該分野で公知である。例えば、Carpenterら、「Rational design of stable lyophilized protein formulations: theory and practice」, Pharm. Biotechnol. 13: 109 - 133 (2002); Carpenterら、「Rational design of stable lyophilized protein formulations: some practical advice」, Pharm. Res. 14 (8): 969 - 75 (1997); Rayら,(eds.), Freeze-Drying / Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products (Drugs and the Pharmaceutical Sciences: a Series of Textbooks and Monographs), Marcel Dekker (2nd rev. & ex. edition, 2004) (ISBN: 0824748689) (これらの開示がそれらの全体が参考として本明細書中に援用される)を参照のこと。

【0183】

凍結乾燥装置は市販されている。

【0184】

例えば、凍結乾燥は、3つのストッパー棚と外部冷却機を備えたGenesis Pilot-scale Virtis 12XL lyophilizerを使用して行うことができる。傾斜率、棚の温度、時間、および減圧のようなパラメーターは、Virtis Companyによって提供されるWizard制御システムソフトウェアによる4つの利用可能な熱電温度計を使用して記録されるサイクルの実行と生成物の温度になるようにプログラムし得る。

【0185】

凍結乾燥サイクルは、以下の表2に示されるように、無定形の処方物に通常使用されるものであることが有用であり得る。

【0186】

【表2】

表2 例示的な凍結乾燥サイクル			
工程	温度	時間(分)	傾斜/維持
凍結	+5°C	60	維持
	-45°C	100	傾斜
	-45°C	240	維持
100mTのチャンバー圧での乾燥	-45°C	60	維持
	-15°C	240	傾斜
	-15°C	1150	維持
	+40°C	240	傾斜
	+40°C	600	維持

10

。

【0187】

このような凍結乾燥サイクルは、生成物の温度を、本発明の典型的な処方物の崩壊温度(NaClの共晶融点)よりも十分に低い-30付近で維持する、-15の棚温度で行われる最初の乾燥を含む保存的サイクルである。このサイクルにおいて、水分量は、二次乾燥温度を10時間の間40に上昇させることによって最小にされる。

20

【0188】

生産規模の凍結乾燥装置もまた、市販されている。

【0189】

噴霧乾燥もまた、本発明の調製方法において有効に使用し得、少なくとも一用量のATTが乾燥粉末の吸入により投与される実施形態に特段の用途がある。

【0190】

噴霧乾燥には、通常、3工程のプロセスが含まれ、これによって乾燥粒子処方物が得られる。このプロセスは、高圧ガスを使用して細かい液滴の噴霧を生じるように供給された液体を噴霧することによって開始され、その後、液滴の水分量を蒸発させることによって液滴を乾燥させるために媒体が加熱される。最終的な粒子は乾燥粉末の形態であり、生成物として回収される。気体と過剰な細塵が排出される。これらの工程は、3つの構成要素:ノズルの形のアトマイザー;乾燥室;およびサイクロンおよびポットとして知られている回収システムを使用して行われる。

30

【0191】

噴霧乾燥機は市販されている。例えば、本発明の方法での噴霧乾燥は、Buchi(登録商標)spray drier B-191またはB-290(Brinkmann Instruments, Inc.)を使用して有効に行うことができる。

【0192】

噴霧乾燥は、状況に応じて、その後さらに乾燥される場合があり、また、状況によつては、凝集される場合もある。噴霧乾燥は、例えば、米国特許第5,780,014号;同第6,258,341号;同第6,309,671号、および同第6,589,560号、ならびに、欧州特許EP 0941067 B1(それらの開示はそれらの全体が参考として本明細書中に援用される)に記載されているように有効に行うことができる。

40

【0193】

噴霧コーティングもまた、本発明の方法で使用される乾燥ATT組成物を調製するために行うことができ、これは標準的な技術を使用して行うことができる。例えば、その全体が参考として本明細書中に援用されるMaaia, 'Spray-coating for biopharmaceutical powder formulations: beyond the conventional scale and its app

50

lication」, Pharm Res. 21(3):515-23(2004)を参考のこと。

【0194】

乾燥AAT組成物は、ネブライザーによる投与かまたは定量吸入器によりエアロゾル化によって用量を投与するためには、滅菌の希釈剤 - - 例えば、滅菌水、生理食塩水、D5、D5生理食塩水、またはリンガー溶液 - - の添加によって液体形態に再構成され得る。

【0195】

乾燥AAT組成物は、あるいは、乾燥粉末吸入器による用量の投与に直接使用される場合もある。

【0196】

他の実施形態において、AATは、米国特許第5,780,014号；同第5,993,783号；同第6,258,341号；同第6,309,671号；および同第6,589,560号、ならびに対応する欧州特許EP 0941067 B1（これらの開示はそれらの全体が参考として本明細書中に援用される）のいずれか1つに従う乾燥粉末の吸入のために処方される。10

【0197】

液体のエアロゾルとして送達されるか、または乾燥粉末として送達されるかにはかかわらず、吸入の際のAAT粒子の大きさは、約5μm以下のMMAD（空気力学的中央径）が有用であるが、約6μm、約7μm、約8μm、さらには、約9μm、約10μmのMMAD、あるいはそれ以上の大きさの粒子を含む、約5μmより大きいMMADの粒子を使用し得る。種々の実施形態において、約4μm以下のMMAD、約3μm以下のMMA Dの粒子が有用であり、さらには、約2μm以下のMMAD、約1.9μm以下のMMAD、約1.8μm以下のMMAD、約1.7μm以下のMMAD、約1.6μm以下のMMAD、さらには、約1.5μm以下のMMADの粒子、あるいはそれより小さいものを使用し得る。いくつかの実施形態において、約1.4μm以下のMMAD、約1.3μm以下のMMAD、約1.2μm以下のMMAD、約1.1μm以下のMMAD、さらには、約1.0μm以下のMMADの粒子、あるいはそれより小さいものが有効である。乾燥粒子については、MMADの決定は、カスケードインパクタを使用して有効に行われる。20

【0198】

種々のこのような実施形態において、少なくとも約0.5μm、少なくとも約0.6μm、少なくとも約0.7μm、少なくとも約0.8μm、少なくとも約0.9μm、またはさらに、少なくとも約1μmのMMAD、少なくとも約2μmのMMAD、さらには、少なくとも約3μmのMMADの粒子、あるいはそれより大きい粒子であり得る。通常は、粒子は、乾燥粉末の吸入により投与される用量については、1μmから5μmのMMADの範囲である。30

【0199】

種々の実施形態において、約5μm以下のMMD（中央粒径）が有用であり得る。他のこのような実施形態において、約4μm以下のMMD、約3μm以下のMMDであることが有効であり、さらには、約2μm以下のMMD、約1μm以下のMMD、約0.9μm以下のMMD、約0.8μm以下のMMD、約0.7μm以下のMMD、約0.6μm以下のMMD、さらには、約0.5μm以下のMMD、あるいはそれよりも小さいものであり得る。種々のこのような実施形態において、少なくとも約0.5μmのMMD、少なくとも約0.6μmのMMD、少なくとも約0.7μmのMMD、少なくとも約0.8μmのMMD、少なくとも約0.9μmのMMD、少なくとも約1μmのMMD、少なくとも約2μmのMMD、さらには、少なくとも約3μmのMMD、あるいは、それより大きいものであり得る。通常、粒子は、1μmから5μmのMMDの範囲である。乾燥粒子の実施形態については、MMDの決定は、遠心分離沈殿技術（例えば、Horiba Particle Size Analyzer--モデルCAPA-700を使用して）有効に行うことができる。40

【0200】

乾燥粉末粒子は、さらに、例えば、米国特許第5,780,014および同第5,993,783号（それらの開示はそれらの全体が参考として本明細書中に援用される）に記載されるように、吸入器による送達を容易にするためにさらに凝集される場合がある。このような実施形態において、凝集物は、約1μm～約5μmの粒子径（MMA D）を有する構成粒子に分散される場合がある。

【0201】

本発明の方法には、有効量の1-抗トリプシン（AAT）またはその機能的活性のある部分もしくは融合体を、COPDを発症しているかまたはCOPDを発症する危険性のある個体に投与することが含まれる。種々の実施形態において、個体は脊椎動物である。特定のこれらの実施形態において、個体は哺乳動物である。哺乳動物には、家畜、競技用動物、ペット、靈長類、ウマ、イヌ、ネコ、マウス、およびラットが含まれるが、これに限定はされない。しかし、典型的な実施形態において、個体はヒトである。10

【0202】

本発明の種々の実施形態において、AATまたはその機能的活性のある部分は、その肺がAATを酸化し得る少なくとも1つの空気中に浮遊している因子に周期的にさらされる個体に投与される。例えば、特定の実施形態において、個体は、受動喫煙またはタバコ製品の喫煙により直接のいずれかで、タバコの煙に周期的にさらされる。特定の実施形態において、個体は巻きタバコを吸う。20

【0203】

適切な投与レジュメ、すなわち、AATの用量、タイミング、および反復は、種々の実施形態において、AATが、以下に記載されるような他の有効成分と組み合わせて投与されるかどうか、使用される処方物（特に、処方物が液体であるかまたは乾燥粉末であるかどうか）、AATが防御的目的で（予防と同義）投与されるか、または治療の目的で投与されるかどうか、処置または予防されるCOPDの型および重篤度（肺気腫が潜在しているかまたは肺気腫が潜在していないか）、以前の治療、患者の臨床的な病歴および薬剤に対する応答、遺伝的要因（AAT欠損が公知である）、および個体が医師の治療を受けている場合には掛かりつけの医師の判断によって、投与されるAATタンパク質（例えば、グリコシル化されているか、またはグリコシル化されていない、全体であるかその機能的活性のある部分もしくは融合体であるかどうかにはかかわらず）の任意の1つ以上の特性に応じて種々である。30

【0204】

単一用量のAATが投与される場合も、また、反復用量のAATが投与される場合もある。

【0205】

数日間またはそれ以上の期間にわたる反復投与については、条件に応じて、処置は、所望される疾患の症状の抑制が生じるまで、あるいは、十分なレベルのAATおよび他の有効成分（使用される場合）によって、治療効果が得られる、および/または処置される個体がさらされる環境条件下でCOPDまたは肺気腫のリスクを低下されるまで行われる。いくつかの実施形態において、投与レジュメは、喫煙者のCOPDのリスクを下げるよう設計される。40

【0206】

「喫煙者」は、本明細書中で使用される場合は、タバコの煙にさらされる（時折であるか、または頻繁にであるかにはかかわらず、そしてタバコ製品の直接の使用の結果であるか、または受動喫煙によるタバコの煙の吸入の結果であるかにはかかわらず）個体である。「喫煙経験者」は、過去にタバコの煙にさらされていた（時折であるか、または頻繁にであるかにはかかわらず、そしてタバコ製品の直接の使用の結果であるか、または受動喫煙によるタバコの煙の吸入の結果であるかにはかかわらず）個体である。

【0207】

いくつかの実施形態において、投与レジュメは、喫煙者または喫煙経験者の肺気腫のリスクを下げるよう設計される。確立されたCOPD（肺気腫が潜在しているもの、また50

は肺気腫が潜在していないもの)の処置の場合には、治療の進行は、従来技術とアッセイによって容易にモニターし得る。

【0208】

例えば、喫煙者におけるCOPDまたは肺気腫の予防の場合には、処置は、無期限に続けられ、例えば、タバコの煙にさらされ続ける限りは続けられる。

【0209】

投与レジュメは、時間と共に変更し得、COPDまたは肺気腫、あるいはこれらの併発を生じるまたはこれらを悪化される環境要因にさらされることによる、疾患の進行、一時的な回復、または悪化にしたがって調節し得る。

【0210】

本発明の種々の実施形態において、AAT(またはその機能的活性のある部分もしくは融合体)の一日量は、少なくとも約1mg、少なくとも約2mg、少なくとも約3mg、少なくとも約4mg、少なくとも約5mg、少なくとも約6mg、少なくとも約7mg、少なくとも約8mg、少なくとも約9mg、少なくとも約10mg、少なくとも約15mg、少なくとも約20mg、少なくとも約25mg、少なくとも約30mg、少なくとも約40mg、少なくとも約50mg、少なくとも約60mg、少なくとも約70mg、少なくとも約80mg、少なくとも約90mg、少なくとも約100mg、少なくとも約150mg、少なくとも約160mg、少なくとも約170mg、少なくとも約180mg、少なくとも約190mg、少なくとも約200mg、少なくとも約210mg、少なくとも約220mg、少なくとも約230mg、少なくとも約240mg、少なくとも約250mg、少なくとも約260mg、少なくとも約270mg、少なくとも約280mg、少なくとも約290mg、少なくとも約300mg、少なくとも約310mg、少なくとも約320mg、少なくとも約330mg、少なくとも約340mg、少なくとも約350mg、少なくとも約360mg、少なくとも約370mg、少なくとも約380mg、少なくとも約390mg、少なくとも約400mg、さらに、少なくとも約410mg、少なくとも約420mg、少なくとも約430mg、少なくとも約440mg、少なくとも約450mg、少なくとも約460mg、少なくとも約470mg、少なくとも約480mg、少なくとも約490mg、少なくとも約500mgである。いくつかの実施形態において、AATの一日量は、少なくとも約510mg、少なくとも約520mg、少なくとも約530mg、少なくとも約540mg、少なくとも約550mg、少なくとも約560mg、少なくとも約570mg、少なくとも約580mg、少なくとも約590mg、少なくとも約600mg、少なくとも約610mg、少なくとも約620mg、少なくとも約630mg、少なくとも約640mg、少なくとも約650mg、またはそれ以上である。

【0211】

いくつかの実施形態において、AAT(またはその機能的活性のある部分もしくは融合体)の一日量は、約700mg以下、約690mg以下、約680mg以下、約670mg以下、約660mg以下、約650mg以下、約640mg以下、約630mg以下、約620mg以下、約610mg以下、約600mg以下、いくつかの実施形態において、さらに、約590mg以下、約580mg以下、約570mg以下、約560mg以下、約550mg以下、約540mg以下、約530mg以下、約520mg以下、約510mg以下、約500mg以下、約490mg以下、約480mg以下、約470mg以下、約460mg以下、約450mg以下、約440mg以下、約430mg以下、約420mg以下、約410mg以下、約400mg以下、さらにいくつかの実施形態においてはそれ以下である。

【0212】

種々の実施形態において、AAT(またはその機能的活性のある部分もしくは融合体)の一日量は、液体溶液中、または乾燥粉末として、約1mgから約650mg、または約5mgから約200mg、または約5mgから約100mg、または約10mgから約8

10

20

30

40

50

0 mg、または約 25 mg から約 70 mg、または約 65 mg である。1つの実施形態において、AAT の一日量は約 65 mg である。

【0213】

AAT が TIMP または SLP I との融合タンパク質の一部として存在する実施形態において、投与量は、TIMP または SLP I 部分のさらなる存在を考慮して調節し得る。

【0214】

当業者に明らかであるように、肺投与により送達（「吸入による」と同義）される AAT の一用量の大きさは、使用される AAT の形態（すなわち、液体または乾燥粉末）、おそらくは、吸入される容量、および液体の場合には、AAT の溶解性に応じて様々である。
10

【0215】

本発明の方法の種々の実施形態において、少なくとも 1 つの個々の用量は、少なくとも約 0.05 mg、少なくとも約 0.1 mg、少なくとも約 0.2 mg、少なくとも約 0.3 mg、少なくとも約 0.4 mg、少なくとも約 0.5 mg、少なくとも約 0.6 mg、少なくとも約 0.7 mg、少なくとも約 0.8 mg、少なくとも約 0.9 mg、少なくとも約 1.0 mg、少なくとも約 1.1 mg、少なくとも約 1.2 mg、少なくとも約 1.3 mg、少なくとも約 1.4 mg、少なくとも約 1.5 mg、少なくとも約 1.6 mg、少なくとも約 1.7 mg、少なくとも約 1.8 mg、少なくとも約 1.9 mg、少なくとも約 2 mg、少なくとも約 3 mg、少なくとも約 4 mg、少なくとも約 5 mg、少なくとも約 6 mg、少なくとも約 7 mg、少なくとも約 8 mg、少なくとも約 9 mg、少なくとも約 10 mg、少なくとも約 15 mg、少なくとも約 20 mg、少なくとも約 25 mg、少なくとも約 30 mg、少なくとも約 40 mg、少なくとも約 50 mg、少なくとも約 60 mg、少なくとも約 70 mg、少なくとも約 80 mg、少なくとも約 90 mg、少なくとも約 100 mg、少なくとも約 110 mg、少なくとも約 120 mg、少なくとも約 130 mg、少なくとも約 140 mg、少なくとも約 150 mg、少なくとも約 160 mg、少なくとも約 170 mg、少なくとも約 180 mg、少なくとも約 190 mg、少なくとも約 200 mg、少なくとも約 210 mg、少なくとも約 220 mg、少なくとも約 230 mg、少なくとも約 240 mg、少なくとも約 250 mg、少なくとも約 260 mg、少なくとも約 270 mg、少なくとも約 280 mg、少なくとも約 290 mg、少なくとも約 300 mg、少なくとも約 310 mg、少なくとも約 320 mg、少なくとも約 330 mg、少なくとも約 340 mg、少なくとも約 350 mg、少なくとも約 360 mg、少なくとも約 370 mg、少なくとも約 380 mg、少なくとも約 390 mg、少なくとも約 400 mg、さらに、少なくとも約 410 mg、少なくとも約 420 mg、少なくとも約 430 mg、少なくとも約 440 mg、少なくとも約 450 mg、少なくとも約 460 mg、少なくとも約 470 mg、少なくとも約 480 mg、少なくとも約 490 mg、少なくとも約 500 mg である。いくつかの実施形態において、AAT の一日量は、少なくとも約 510 mg、少なくとも約 520 mg、少なくとも約 530 mg、少なくとも約 540 mg、少なくとも約 550 mg、少なくとも約 560 mg、少なくとも約 570 mg、少なくとも約 580 mg、少なくとも約 590 mg、少なくとも約 600 mg、少なくとも約 610 mg、少なくとも約 620 mg、少なくとも約 630 mg、少なくとも約 640 mg、少なくとも約 650 mg、またはそれ以上である。
20
30
40

【0216】

本発明の方法の種々の実施形態において、少なくとも 1 つの個々の用量は、約 700 mg 以下、約 690 mg 以下、約 680 mg 以下、約 670 mg 以下、約 660 mg 以下、約 650 mg 以下、約 640 mg 以下、約 630 mg 以下、約 620 mg 以下、約 610 mg 以下、約 600 mg 以下、いくつかの実施形態において、さらに、約 590 mg 以下、約 580 mg 以下、約 570 mg 以下、約 560 mg 以下、約 550 mg 以下、約 540 mg 以下、約 530 mg 以下、約 520 mg 以下、約 510 mg 以下、約 500 mg 以下、約 490 mg 以下、約 480 mg 以下、約 470 mg 以下、約 460 mg 以下、約 450 mg 以下、約 440 mg 以下、約 430 mg 以下、約 420 mg 以下、約 410 mg 50

以下、約400mg以下、さらにいくつかの実施形態においてはそれ以下である。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの個々の用量は、約300mg以下、約200mg以下、約100mg以下、約50mg以下、約20mg以下、約12mg以下、約8mg以下、約6mg以下、約4mg以下、約2mg以下、いくつかの実施形態において、さらに約1.0mg以下、約0.5mg以下、およびさらに、いくつかの実施形態において、約0.1mg以下である。

【0217】

特定の実施形態において、AAT（またはその機能的活性のある部分もしくは融合体）は自己投与される。個体、例えば、喫煙者は、例えば、朝にAAT処方物を投与し得、また、1日を通じて周期的に投与し得、また、タバコの煙への各曝露の前に投与することもできる。用量の大きさを、AATの投与頻度およびタイミングを考慮して調節できること、ならびに、一日量が、タバコの煙に対する予想される曝露および曝露の型（例えば、受動的であるかまたは能動的であるか）に基づいて、使用される送達システム（例えば、乾燥粉末処方物に必要な投与量は異なる場合があり、例えば、液体のネプライザーでの投与量よりも、例えば少なく、定量吸入器での投与量にもまた調節が必要である場合がある）に基づいて、そして他のリスク因子（例えば、COPDまたは肺気腫についての遺伝的危険因子、あるいは、職業上の危険因子および/または大気汚染への曝露のような他の環境的な危険因子）があるかないかに基づいて、ある程度は、個体または医師によって決定し得ることは、当業者には容易に明らかであろう。

【0218】

種々の実施形態において、単一用量および/または一日量に上限が設けられることが望ましい場合がある。個体による過剰摂取の可能性を防ぐために、肺に投与される薬剤および他の物質の自己投与を制限するかまたは調節する投与デバイスもまた当該分野で周知である。

【0219】

投与頻度は、1日1回、1日2回、または1日3回から、1日2回、1日4回、1日6回、1日8回、あるいは1日に8回以上であり得る。いくつかの実施形態において、投与頻度は、1日1回から1日6回、または1日1回から1日4回、あるいは、1日1回、または1日2回である。投与頻度は、処置または予防全体を通じて決定し、調節し得、一般的には（必ずしもそうではないが）、症状および臨床所見の処置および/または抑制および/または緩和および/または遅延に基づく。COPD（肺気腫が潜在しているかもの、または肺気腫が潜在していないもの）の予防の場合には、COPDまたは肺気腫の可能性を増大させる環境条件にさらされた個体において、投与頻度は、曝露の頻度および/または重篤度に基づいて調節し得る。

【0220】

本発明の1つの実施形態において、喫煙者は、タバコの喫煙または受動喫煙への曝露の頻度に応じた頻度で、本発明の処方物を自己投与する。投与量の大きさおよび頻度は、上記で議論された要因に応じて、医師の判断で決定され得る。

【0221】

いくつかの実施形態において、本発明の方法にはさらに、有効量の少なくとも1つの第2のプロテアーゼインヒビターまたはその機能的活性のある部分を、吸入によって肺に投与することが含まれる。

【0222】

いくつかの実施形態において、第2のプロテアーゼインヒビターは、メタロプロテアーゼ、例えば、マトリックスマタロプロテアーゼの、インヒビターである。いくつかの実施形態において、インヒビターは、SLPI、TIMP-1、TIMP-2、TIMP-3、およびTIMP-4からなる群より選択される。別の実施形態において、インヒビターはアイロマstattである。

【0223】

いくつかの実施形態において、第2のプロテアーゼインヒビターまたはその機能的活性

10

20

30

40

50

のある部分は、AATまたはその機能的活性のある部分と同じ処方物において投与される。

【0224】

他の実施形態において、第2のプロテアーゼインヒビターまたはその機能的活性のある部分は、AATまたはその機能的活性のある部分を含む組成物とは別の組成物において投与される。これらの後者の実施形態のいくつかにおいて、投与スケジュールは、AATまたはその機能的活性のある部分の投与のための投与スケジュールと同じである。他のこれらの実施形態において、第2のプロテアーゼインヒビターは、AATまたはその機能的活性のある部分に使用されるスケジュールとは異なる投与スケジュールで投与される。

【0225】

いくつかの実施形態において、本発明の方法にはさらに、COPDの1つ以上の症状を緩和する少なくとも1つの第1の活性のある因子を投与することが含まれる。

【0226】

少なくとも第1の活性のある因子は、いくつかの実施形態において、気管支拡張薬であり得る。

【0227】

いくつかの実施形態において、気管支拡張薬は、AATまたはその機能的活性のある部分もしくは融合体と同じ処方物において投与される。他の実施形態において、気管支拡張薬は、AATまたはその機能的活性のある部分もしくは融合体を含む組成物とは別の組成物において投与される。これらの後者の実施形態のいくつかにおいて、気管支拡張薬は、AATまたはその機能的活性のある部分もしくは融合体の投与のための投与スケジュールと同じ投与スケジュールで吸入によって投与される。他のこれらの実施形態において、気管支拡張薬は、AATまたはその機能的活性のある部分もしくは融合体に使用されるスケジュールとは異なる投与スケジュールで投与される。種々の実施形態において、気管支拡張薬は経口投与される。

【0228】

種々の実施形態において、気管支拡張薬は、COPDの処置において現在臨床的に使用されている気管支拡張薬から選択される。気管支拡張薬は、例えば、表3に列挙される薬から選択し得る。

【0229】

10

20

30

【表3】

表3 COPDの処置のための気管支拡張薬					
薬物	吸入器 (μg)	ネブライザー用 の溶液 (mg/ml)	経口	注射用の バイアル (mg)	作用期間 (時間)
短時間作用型					
β_2 -アゴニスト					
フェノテロール	100-200 (MDI)	1	0.05% (シロップ剤)		4-6
サルブタモール (アルブテロール)	100, 200 (MDI & DPI)	5	5mg (丸剤) シロップ剤 0.024%	0.1, 0.5	4-6
テルブタリン	400, 500 (DPI)	-	2.5, 5 (丸剤)	0.2, 0.25	4-6
長期間作用型					
β_2 -アゴニスト					
フォルモテロール	4.5-12 (MDI & DPI)				12+
サルメテロール	25-50 (MDI & DPI)				12+
短期間作用型 抗コリン作用薬					
臭化イプラトビウム	20, 40 (MDI)	0.25-0.5			6-8
臭化オキシトロ ビウム	100 (MDI)	1.5			7-9
長期間作用型 抗コリン作用薬					
チオトロピウム	18 (DPI)				24+
短期間作用型 β_2 -アゴニストと抗コリン作用薬の1つの吸入器での併用					
フェノテロール/ イプラトロピウム	200/80 (MDI)	1.25/0.5			6-8
サルブタモール/ イプラトロピウム	75/15 (MDI)	0.75/4.5			6-8
メチルキサンチン					
アミノフィリン			200-600 mg (丸剤)	240 mg	可変性, 24まで
テオフィリン (SR)			100-600 mg (丸剤)		可変性, 24まで

MDI=定量吸入器；DPI=乾燥粉末吸入器

10

20

30

40

50

【0230】

本明細書中で使用される場合は、用語「イプラトロピウム」および「チオトロピウム」には、COPDまたは肺気腫に罹患している患者において所望される気管支拡張作用を生じができる、イプラトロピウムまたはチオトロピウムの任意の形態が含まれるが、これらに限定はされない。これには、イプラトロピウムまたはチオトロピウムの、互変異性の形態、光学異性体の形態、立体異性体の形態、無水物、酸付加塩、塩基塩、溶媒和物、類似体および誘導体の全てが含まれるが、これらに限定はされない。本発明において、イプラトロピウムまたはチオトロピウムの許容される塩としては、臭化物、塩化物、およびヨウ化物のようなハライド塩が挙げられるが、これらに限定はされない。本発明の1つの実施形態において、イプラトロピウムまたはチオトロピウムの好ましい塩は臭化物である。

【0231】

いくつかの実施形態において、少なくとも1つの第1の活性のある因子は、コルチコステロイドである。

【0232】

いくつかの実施形態において、コルチコステロイドは、AATまたはその機能的活性のある部分もしくは融合体と同じ処方物において投与される。他の実施形態において、コルチコステロイドは、AATまたはその機能的活性のある部分もしくは融合体を含む組成物とは別の組成物において投与される。これらの後者の実施形態のいくつかにおいて、コルチコステロイドは、AATまたはその機能的活性のある部分もしくは融合体の投与のための投与スケジュールと同じ投与スケジュールで吸入によって投与される。他のこれらの実施形態において、コルチコステロイドは、AATまたはその機能的活性のある部分もしくは融合体に使用される投与スケジュールとは異なる投与スケジュールで投与される。種々の実施形態において、コルチコステロイドは経口投与される。

10

【0233】

種々の実施形態において、コルチコステロイドは、COPDの処置において現在臨床的に使用されているコルチコステロイドから選択される。コルチコステロイドは、例えば、表4に列挙される薬から選択し得る。

【0234】

【表4】

表4 COPDの処置のためのコルチコステロイド					
吸入されるグルココルチコステロイド					
ベクロメタゾン	100, 250, 400 (MDI & DPI)	0.2-0.4			
ブデソニド	100, 200, 400 (DPI)	0.20, 0.25, 0.5			
フルチカゾン	50-500 (MDI & DPI)				
トリアムシノロン	100 (MDI)	40		40	
長期間作用型 β_2 -アゴニストとグルココルチコステロイドの1つの吸入器での併用					
フォルモテロール/ ブデソニド	4.5/80, 160 (DPI) (9/320) (DPI)				
サルメテロール/ フルチカゾン	50/100, 250, 500 (DPI) 25/50, 125, 250 (MDI)				
全身用グルココルチコステロイド					
プレドニゾンメチル -プレドニゾロン	10-2000 mg		5-60 mg (丸剤) 4, 8, 16 mg (丸剤)		

MDI=定量吸入器；DPI=乾燥粉末吸入器

20

30

【0235】

本発明の方法の種々の実施形態において有用なコルチコステロイドとしては、例えば、ニプロピオン酸ベクロメタゾン、トリアムシノロンアセトニド、プロピオン酸フルチカゾンが挙げられる。種々の実施形態において、コルチコステロイドの組み合わせが使用される。

40

【0236】

他の実施形態において、この方法にはさらに、粘液の調節のための1種以上の粘液溶解薬/去痰薬、および存在する場合には、感染の管理のための抗生物質の投与が含まれる。

【0237】

他の実施形態において、この方法にはさらに、アラキドン酸経路の種々の工程の、またはそれらの同族受容体とのその経路の代謝物の相互作用の、1つ以上のインヒビターを投

50

与することが含まれる。

【0238】

例えば、種々の実施形態において、本発明の方法にはさらに、1つ以上のロイコトリエンの合成または活性に影響を与える物質が含まれる。

【0239】

いくつかの実施形態において、例えば、この物質は、ロイコトリエンの合成のインヒビターである。種々のこれらの実施形態において、この物質は、5-リポオキシゲナーゼのインヒビターである、多数のこれらの後者の実施形態において、この物質は、ジレウトン(ZYFLO)である。特定の実施形態において、この物質は経口投与される。

【0240】

他の実施形態において、この物質はロイコトリエン受容体アンタゴニストである。いくつかのこれらの実施形態において、この物質はモンテルカスト(SINGULAIR)であり、システニルロイコトリエン CysLT1 受容体を阻害する選択的ロイコトリエン受容体アンタゴニスト、またはザフィルルカスト(ACCOLATE)、合成の選択的ペプチドロイコトリエン受容体アンタゴニストである。種々の実施形態において、この物質は経口投与される。

【0241】

いくつかの実施形態において、この物質は、ホスホジエステル4(PDE4)のインヒビターである。特定のこれらの実施形態において、この物質は、ロフルミラスト(DAXAS)である。他の実施形態において、インヒビターは、シロミラストである。さらに他の実施形態において、インヒビターは BAY 19-8004 である。いくつかの例示的な実施形態において、PDE4 インヒビターは経口投与される。

【0242】

他の実施形態において、本発明の方法にはさらに、クロモリンまたはネドクロミルを投与することが含まれる。特定の実施形態において、この物質は吸入によって投与される。

【0243】

本発明の方法で使用されるプロテアーゼインヒビター組成物は、当該分野で公知であるかまたは当業者に明らかである任意の適切な容器の中に提供される場合がある。組成物は、例えば、上記の投与量の単位投与量形態で、または多用量のこれらの投与量で、例えば、当該分野で一般的である、ネブライザー、定量吸入器、および乾燥粉末吸入器のような吸入送達用デバイスでの使用のために調製し得る。例えば、米国特許第4,137,914号；同第4,174,712号；同第4,524,769号；同第4,667,688号；同第5,780,014号；同第5,672,581号；同第5,915,378号；および同第5,997,848号（これらの開示はそれらの全体が参考として本明細書中に援用される）を参照のこと。

【0244】

別の局面において、本発明により、慢性閉塞性肺疾患(COPD)を処置するためのキットが提供される。

【0245】

このキットには、本発明の方法で使用される少なくとも1つの組成物の少なくとも一用量が含まれる。特定の実施形態において、例えば、キットには、少なくとも一用量の AAT 、その機能的活性のある部分、または AAT もしくはその機能的活性のある部分を含む融合体が含まれる。特定のこれらの実施形態において、融合体には SLPI またはその機能的活性のある部分が含まれ、他の実施形態において、融合体には TIMP-1 またはその機能的活性のある部分が含まれる。

【0246】

種々の実施形態において、キットにはさらに、少なくとも一用量を吸入によって送達するための少なくとも1つのデバイスが含まれる。

【0247】

例えば、キットには、組成物のエアロゾル化に適するネブライザーが含まれる場合があ

10

20

30

40

50

る。他の実施形態において、キットには、定量吸入器が含まれる。さらに他の実施形態において、キットには乾燥粉末吸入器が含まれる。1以上の用量を送達デバイスに予め充填し得、また、別々にパッケージすることもできる。

【0248】

ネブライザーを含む実施形態において、1以上の用量は乾燥のものであり得、キットにはさらに、乾燥している組成物を再水和するために使用される滅菌の希釈液が含まれる。滅菌の希釈液は通常、アンプルまたはバイアルのような、滅菌性を維持する容器に別々にパッケージされる。種々の実施形態において、希釈剤は、滅菌水、生理食塩水、デキストロース溶液、D5生理食塩水、およびリンガー溶液を含む群より選択される。

【0249】

定量吸入器を含む実施形態において、定量吸入器には、少なくとも一用量の本発明の組成物をあらかじめ充填し得る。通常、定量吸入器には、複数の用量があらかじめ充填される。特定の他の実施形態において、定量吸入器には、定量吸入器にかみ合うような寸法のカートリッジの中に通常存在する複数の用量の組成物が別々にパッケージされる。

【0250】

乾燥粉末吸入器を含む実施形態において、定量吸入器には、1以上の用量の乾燥組成物を予め充填し得、他の実施形態において、1以上の用量の乾燥粉末が別々にパッケージされる。

【0251】

本発明のキットの種々の実施形態にはさらに、含まれる組成物の使用のための説明書のセットが含まれる。説明書により、本発明の組成物の投与方法、示唆される投与量、およびCOPDまたは肺気腫を促進する環境条件（例えば、喫煙または大気汚染）に対する曝露の種々レベルについてのスケジュール、予防措置、期待される結果、不適切な使用に関する警告などに関する情報を使用者に提供し得る。説明書は任意の形態であってよく、例えば、別個の添付文書、または容器もしくはパッケージングに貼り付けられた表示として提供される。説明書には、本明細書中に記載される方法の任意のものについての説明が含まれる。

【0252】

いくつかの実施形態において、説明書により、COPDまたは肺気腫の予防または処置における、吸入によるAATの使用が指示される。いくつかの実施形態において、説明書により、COPDの予防または処置における、吸入によるAATの使用が指示される。いくつかの実施形態において、説明書により、肺気腫の予防または処置における、吸入によるAATの使用が指示される。

【0253】

いくつかの実施形態において、キットにはさらに、COPDの処置のための上記の1つ以上のさらなる物質が含まれ、これには、1つ以上の気管支拡張薬、1つ以上のコルチコステロイド、および／または1つ以上の粘液溶解薬、去痰薬、抗生物質が含まれる。

【0254】

別の局面において、本発明により、巻きタバコのフィルターが提供される。巻きタバコのフィルターは、喫煙の際に吸入によってAATまたはその機能的活性のある部分もしくは融合体を送達するように構成される。医薬品の送達のための巻きタバコのフィルターは公知である。米国特許第6,789,546号；同第6,145,511号；同第5,472,002号（これらの開示はそれらの全体が参考として本明細書中に援用される）を参照のこと。

【0255】

種々の実施形態において、AATを、フィルター内に均一に染み込ませる。他の実施形態において、AATは不均一に存在し、1つ以上の分離している小胞、チャンバー、ビーズ、または他の高濃度の容器に含まれる。

【0256】

種々の実施形態において、AATタンパク質は、上記AATタンパク質、上記機能的活

10

20

30

40

50

性のある部分、または上記融合体のいずれかである。1つのシリーズの実施形態において、AATタンパク質は組換え体である。いくつかの実施形態において、組換え体AATはグリコシル化されていない。いくつかのこれらの後者の実施形態において、グリコシル化されていない組換え体AATはrAATである。

【0257】

フィルターは、巻きタバコとは物理的に別である場合があり、巻きタバコには、合法的に消費される可燃物、例えば、タバコと、それに係合可能ものが含まれるか、あるいは、フィルターが可燃物を含む巻きタバコに一体化される場合もある。

【0258】

AATは、上記のように、喫煙の間に有効量を送達するために十分な量でフィルターに含まれる。 10

【0259】

さらに別の局面において、本発明により、タバコとAATを含む組成物が提供される。この組成物は巻きタバコとして形作られ得る。

【0260】

種々の実施形態において、AATタンパク質は上記のAATタンパク質、機能的活性のある部分、上記の融合体のいずれかである。1つのシリーズの実施形態において、AATタンパク質は組換え体である。いくつかの実施形態において、組換え体AATタンパク質はグリコシル化されていない。これらの後者の実施形態のいくつかにおいて、グリコシル化されていない組換え体AATはrAATである。 20

【0261】

本発明は、以下の実施例によってさらに説明され、これらの実施例は、例示のために示され、限定のために示されない。

【実施例】

【0262】

(実施例1)

本実施例は、確立されたモデルである、巻きタバコの喫煙による肺気腫のマウスモデルにおける肺気腫の指標の予防において、肺送達によって投与されるAATの効力を示す。

【0263】

処置グループ:

5つのグループの成体マウス（開始時で12週齢）について試験した。 30

【0264】

グループ1の動物（32匹の動物）を、コントロールの煙を吸わせない動物とした。

【0265】

グループ2～5の動物は、6ヶ月の間、6日／週で、1日あたり2本の巻きタバコに曝露させた。

【0266】

グループ2の動物（32匹の動物）には、エアロゾル化したビヒクリ緩衝液（10mMのNaCl、20mMのリン酸ナトリウム、5mMのN-アセチルシステイン、1mMのクエン酸ナトリウム、pH7.4；10ml/5匹の動物）を投与し、その後、タバコの煙を吸わせた。 40

【0267】

グループ3の動物（32匹の動物）には、低用量のエアロゾル化したrAAT（ビヒクリ緩衝液中で1.15mg/ml；10ml/5匹の動物；用量1）を投与し、その後、煙を吸わせた。

【0268】

グループ4の動物（32匹の動物）には、中程度の用量のエアロゾル化したAAT（ビヒクリ緩衝液中で5.75mg/ml；10ml/5匹の動物；用量2）を投与し、その後、煙を吸わせた。

【0269】

グループ5の動物(32匹の動物)には、高用量のエアロゾル化したAAT(ビヒクル緩衝液中で11.5mg/ml; 10ml/5匹の動物; 用量3)を30分かけて投与し、その後、煙を吸わせた。

【0270】

ビヒクル(グループ2)または薬剤を送達するために、動物(一度に5匹)を薬剤送達デバイスに入れ、ここで、5匹に別々に等用量のAATを、それぞれにエアロゾル化した液体として送達した。10mLの滅菌の生理食塩水または薬剤をネブライザーに入れ、各グループの5匹の動物に送達した。送達は、ネブライザーが乾燥するまで(約30分間)行った。

【0271】

ネブライザー(Aerogen, Inc., Mountain View, CA)によつては、3~4μmのMMAADの粒子が、90%の効率で生産された。ネブライザーにより投与された薬剤のおよそ6%が動物の呼吸ゾーンに送達され、呼吸ゾーンに入った薬剤の約5%が、肺深部に堆積し、全体としておよそ0.27%の効率と推定される。

【0272】

各処置グループにおいて、3つの時点で分析を行つた：1週間、3ヶ月、および6ヶ月。試験の1週間後、3ヶ月後、および6ヶ月後、各グループからそれぞれ、10匹の動物、10匹の動物、および12匹の動物を屠殺し、肺および肺サンプルについて分析作業を行つた(下記を参照のこと)。

【0273】

分析：

各動物において、右肺を摘出し、固定/膨張に使用し、形態計測の試験のためにパラフィンに包埋してmean linear intercept(L_m)を決定した。mean linear interceptは、肺胞の壁間の距離であり、これは、プロテアーゼ(例えば、エラスターーゼ)によって肺構造が崩壊されると大きくなる。

【0274】

左肺は、気管支肺胞洗浄(BAL)して、炎症性細胞の型、マクロファージ、および好中球のレベルを決定した。これらは、形態によってカウントした。BALサンプルは、左肺の0.5mLの洗浄処理を使用して回収した。

【0275】

結果

以下の表(表5)には、6ヶ月の時点での、 L_m (未処置の喫煙者と比較した増大の減少の割合として)、処置した動物と未処置の動物の肺の中のマクロファージおよび好中球についての結果をまとめた。

【0276】

【表5】

表5

グループ	L_m (喫煙者に対するP値)	マクロファージ、細胞 数 /ml BAL 流体	好中球、細胞 数 /ml BAL 流体
非喫煙者	100 (0.01)	35,720	924
喫煙者	0 (-)	48,538	2012
AAT, 用量1	70 (0.02)	38,398	698
AAT, 用量2	73 (0.01)	43,367	832
AAT, 用量3	43 (0.08)	42,073	1638

。

【0277】

以下の表(表6)には、マトリックスメタロプロテアーゼ9(MMP9)活性のアッセイについての結果をまとめた。

【0278】

10

20

30

40

【表6】

表6		
処置	MMP 9 活性を有する動物の数	平均活性 (mAU/分 ± SD)
非喫煙者	2/10	0.38 ± 0.16
ビヒクルの喫煙者	4/10	0.57 ± 0.32
1.15 mg rAAT/mL	1/10	0.69
5.75 mg rAAT/mL	3/10	0.56 ± 0.18
11.5 mg rAAT/mL	5/9	0.78 ± 0.49

。

10

【0279】

この実施例では、肺気腫についての立証されている原因である巻きタバコの煙に慢性的にさらされた動物において、rAATの吸入による肺気腫の指標の有意な減少が明らかになった。

【0280】

具体的には、データは、エアロゾル化されたrAATが、巻きタバコの煙に対する慢性的曝露の設定においてもなお、生物学的活性を維持することを示した。データはまた、吸入されたrAATは喫煙によって誘導された炎症性細胞の流入を正常化し得、気腔の拡大を緩和し得ることも明らかにした。気腔の拡大を有意に阻害するには、肺胞に送達された低いμg量のrAATで十分である。驚くべきことに、さらに多量のrAATの吸入は、これらの実験においては良くなかった。これらの所見により、好中球エラスターが喫煙による肺の損傷の原因である鍵となるプロテアーゼであることが確認された。

20

【0281】

データはさらに、進行性の肺気腫を有する喫煙経験者において、吸入によるrAATの標的化された送達により、全ての全身的な安全性の問題を回避し得、薬剤の必要量を減少させることができることを示唆する。

【0282】

本明細書中で引用された全ての刊行物、特許、および特許出願は、個々の刊行物、特許、または特許出願が参照により引用されると具体的かつ個々に示されている場合と同程度に、全ての目的のためにそれらの全体が参考として本明細書中に援用される。

30

【0283】

本明細書中で使用される場合は、単数形の不定冠詞および定冠詞「a」、「a n」、および「t h e」には、他の場所で明確に示されていない限りは、複数形についての言及も含まれる。例えば、「1つの症状(a symptom)」には、1つ以上の症状が含まれる。

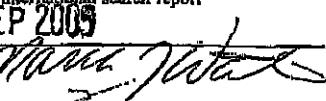
【0284】

本明細書中に記載される実施例および実施形態は、説明の目的のためのものにすぎず、その様々な改変または変更が当業者に示唆され、本出願の精神および範囲、ならびに添付の特許請求の範囲に含まれることが理解される。

【配列表】

2007528409000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US05/07959																								
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61K 49/00, 38/00; C07K 14/00 US CL : 530/350; 514/12+24/9.1; 435/69.1, 23, 252.8, 320.1; 536/23.1 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) U.S. : A61K 49/00, 38/00; C07K 14/00																										
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) Please See Confirmation Sheet																										
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Category *</th> <th style="text-align: left;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>BARNES, P. J., Novel Approaches and Targets for Treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Am. J. Respir. Crit. Care Med., November 1999, Vol. 160, S72-S79, see page S76.</td> <td>1-7 and 43-46</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>TRAVIS, J. et al., Isolation and properties of Recombinant DNA Produced Variants of Human alpha1-Proteinase Inhibitor, J. Biol. Chem. April 1985, Vol. 260, No. 7, pages 4384-4389, see pages 4385-4388.</td> <td>1-7 and 43-46</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2003/0073217 A1 (BARR et al.) 17 April 2003 (17.04.2003), see paragraphs [0010], [0019] and [0117]</td> <td>1-7, 35-39 and 43-46</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 6,489,308 B1 (SHAPIRO) 3 December 2002 (03.12.2002), columns 5, 6 and 13.</td> <td>1-34 and 43-47</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 5,993,783 A (ELJAMAL et al.) 30 November 1999 (30.11.1999) , columns 1-4.</td> <td>1-39 and 43-47</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>ROCHE, N. et al., Current Issues in the Management of Chronic Obstructive Pulmonary Diseases, Respirology, September 1997, Vol 2, No. 3, pages 215-229. See whole</td> <td>1-47</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KEMPET, et al., Pharmacogenomics of COPD, Current Pharmacogenomics 2003, Vol. 1, No.4, pages 229-243, see pages 230-232.</td> <td>1-34 and 43-47</td> </tr> </tbody> </table>			Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	BARNES, P. J., Novel Approaches and Targets for Treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Am. J. Respir. Crit. Care Med., November 1999, Vol. 160, S72-S79, see page S76.	1-7 and 43-46	Y	TRAVIS, J. et al., Isolation and properties of Recombinant DNA Produced Variants of Human alpha1-Proteinase Inhibitor, J. Biol. Chem. April 1985, Vol. 260, No. 7, pages 4384-4389, see pages 4385-4388.	1-7 and 43-46	Y	US 2003/0073217 A1 (BARR et al.) 17 April 2003 (17.04.2003), see paragraphs [0010], [0019] and [0117]	1-7, 35-39 and 43-46	A	US 6,489,308 B1 (SHAPIRO) 3 December 2002 (03.12.2002), columns 5, 6 and 13.	1-34 and 43-47	A	US 5,993,783 A (ELJAMAL et al.) 30 November 1999 (30.11.1999) , columns 1-4.	1-39 and 43-47	A	ROCHE, N. et al., Current Issues in the Management of Chronic Obstructive Pulmonary Diseases, Respirology, September 1997, Vol 2, No. 3, pages 215-229. See whole	1-47	A	KEMPET, et al., Pharmacogenomics of COPD, Current Pharmacogenomics 2003, Vol. 1, No.4, pages 229-243, see pages 230-232.	1-34 and 43-47
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																								
Y	BARNES, P. J., Novel Approaches and Targets for Treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Am. J. Respir. Crit. Care Med., November 1999, Vol. 160, S72-S79, see page S76.	1-7 and 43-46																								
Y	TRAVIS, J. et al., Isolation and properties of Recombinant DNA Produced Variants of Human alpha1-Proteinase Inhibitor, J. Biol. Chem. April 1985, Vol. 260, No. 7, pages 4384-4389, see pages 4385-4388.	1-7 and 43-46																								
Y	US 2003/0073217 A1 (BARR et al.) 17 April 2003 (17.04.2003), see paragraphs [0010], [0019] and [0117]	1-7, 35-39 and 43-46																								
A	US 6,489,308 B1 (SHAPIRO) 3 December 2002 (03.12.2002), columns 5, 6 and 13.	1-34 and 43-47																								
A	US 5,993,783 A (ELJAMAL et al.) 30 November 1999 (30.11.1999) , columns 1-4.	1-39 and 43-47																								
A	ROCHE, N. et al., Current Issues in the Management of Chronic Obstructive Pulmonary Diseases, Respirology, September 1997, Vol 2, No. 3, pages 215-229. See whole	1-47																								
A	KEMPET, et al., Pharmacogenomics of COPD, Current Pharmacogenomics 2003, Vol. 1, No.4, pages 229-243, see pages 230-232.	1-34 and 43-47																								
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See parent 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 published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt 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																										
Date of the actual completion of the international search 16 August 2005 (16.08.2005)		Date of mailing of the international search report 21 SEP 2005																								
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer  Chih-Min Kao Telephone No. (571) 272-1600																								

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2004)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US05/07959

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
EAST search on USPGPUB, USPAT, DERWENT, EPO, JPO; STN search on MEDLINE, CAPLUS, BIOSIS, EMBASE, SCISEARCH, AGRICOLA. Search terms: chronic obstructive pulmonary disease; copd, alpha 1-antitrypsin; alpha 1-PI, unglycosylated; recombinant?; saccaromyces cerevisiae; matrix metalloprotease; inhibit?; TIMP; ilomostt; bronchodilator; cortcosteriod; sodium chloride; halide; kit; cigarette; device; nebulizer, tobacco.

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 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,L,U,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ペンバートン, フィリップ エー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94402, サンマテオ, ミッドウェイ アベニュー
439

(72)発明者 バー, フィリップ ジェイ.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94619, オークランド, デントン プレイス 560
2

(72)発明者 ギブソン, ヘレン エル.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94605, オークランド, ドナ ウェイ 87

Fターム(参考) 4C076 AA24 BB27 CC15 DD23E FF15

4C084 AA17 AA20 MA02 MA13 MA57 NA14 ZA592 ZC022