

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-517611

(P2023-517611A)

(43)公表日 令和5年4月26日(2023.4.26)

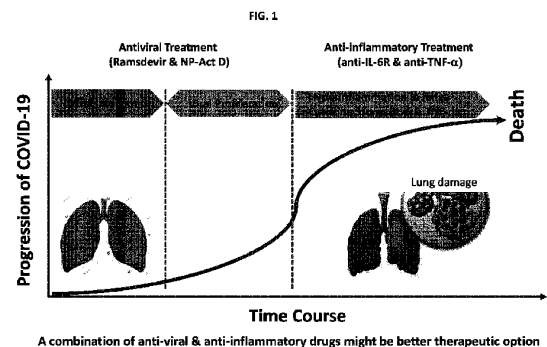
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 C 0 7 6
A 6 1 P	31/12 (2006.01)	A 6 1 P	31/12		4 C 0 8 4
A 6 1 K	38/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D	4 C 0 8 5
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 K	38/00		4 C 0 8 6
A 6 1 K	9/72 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全75頁) 最終頁に続く
(21)出願番号 特願2022-554632(P2022-554632)		(71)出願人 519067699			
(86)(22)出願日 令和3年3月10日(2021.3.10)					
(85)翻訳文提出日 令和4年10月6日(2022.10.6)					
(86)国際出願番号 PCT/EP2021/056113					
(87)国際公開番号 WO2021/180821					
(87)国際公開日 令和3年9月16日(2021.9.16)					
(31)優先権主張番号 62/987,837		(74)代理人 100099759			
(32)優先日 令和2年3月10日(2020.3.10)					
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)		(74)代理人 100123582			
(31)優先権主張番号 63/006,612					
(32)優先日 令和2年4月7日(2020.4.7)		(74)代理人 100117019			
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)					
(31)優先権主張番号 63/014,800		(74)代理人 100141977			
		(74)代理人 100138210			
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 I L - 6 / I L - 6 R 抗体の組成物及びその使用方法

(57)【要約】

本開示は、SAR-CoV、SARS-CoV-2、及びMERS-CoVなどのコロナウイルス感染症の治療用の組成物及び方法を提供する。この組成物は、I L - 6 受容体複合体を標的とする抗体、C D 3 を標的とする抗体、ダクチノマイシン、及びこれらの組み合わせを含む。治療方法は、コロナウイルス感染症又は肺炎症性疾患に関連する症状を低減する又は除去するための抗体の投与及び併用療法を含む。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

コロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減することを必要とする対象に I L - 6 R 抗体を含む組成物を投与することを含む、前記対象におけるコロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減する方法。

【請求項 2】

コロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減することを必要とする対象に、

a I L - 6 R 抗体を含む組成物、及び

b ダクチノマイシンナノ粒子を含む組成物

を投与することを含み、

ステップ a 及び b は、任意の順序で又は同時に起こってよい、前記対象におけるコロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減する方法。

【請求項 3】

前記 I L - 6 R 抗体は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 領域、配列番号 37 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 領域、配列番号 35 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 領域、配列番号 24 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 領域、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 領域、及び配列番号 26 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3 領域を含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記 I L - 6 R 抗体は、トシリズマブ又はサリルマブである、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 I L - 6 R 抗体は、モノクローナル抗体である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 6】

前記抗体は、完全ヒト型である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

抗 T N F α 抗体、抗 C D 2 0 抗体、抗 I F N γ 抗体、抗顆粒球マクロファージコロニー刺激因子抗体又は抗 C D 3 抗体を投与することをさらに含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記コロナウイルスは、C O V I D - 1 9、S A R S 又は M E R S である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

コロナウイルス感染症の前記症状は、サイトカイン放出症候群、急性呼吸窮迫症候群、発熱、咳、息切れである、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記対象は、コロナウイルス感染症を有する又は有するのではないかと疑われる、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記対象は、コロナウイルスに曝露された又は曝露されたと考えられ、そしてコロナウイルス感染症の症状がまだ現れていない、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

I L - 6 R 抗体を含む前記組成物は、吸入、経鼻的に、静脈内に又はこれらの任意の組み合わせにより投与される、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記吸入投与は、吸入器又は噴霧器による、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記吸入器又は噴霧器は、前記 I L - 6 R 抗体、ヒスチジン、塩化ナトリウム、及びポリソルベート 80 を含む組成物を含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記ヒスチジンは、約 5 mM、約 10 mM、約 15 mM、約 20 mM、約 25 mM、約 30 mM、約 35 mM、又は約 40 mM である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記ヒスチジンは、約 25 mM である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

前記塩化ナトリウムは、約 50 mM、約 75 mM、約 100 mM、約 125 mM、約 150 mM、約 175 mM 又は約 200 mM である、請求項 14～16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記塩化ナトリウムは、約 125 mM である、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記ポリソルベート 80 は、約 0.01%、約 0.02%、約 0.03%、約 0.04%、約 0.05%、約 0.06%、約 0.07%、約 0.08%、約 0.09%、又は約 0.1% である、請求項 14～18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記ポリソルベート 80 は、約 0.02% である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記ポリソルベート 80 は、約 0.05% である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】

前記組成物は、約 5.0、約 6.0、又は約 7.0 の pH を有する、請求項 14～21 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

前記組成物は、約 6.0 の pH を有する、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記 IL-6R 抗体は、約 5 mg/mL、約 10 mg/mL、約 15 mg/mL、約 20 mg/mL、約 25 mg/mL、約 30 mg/mL、又は約 35 mg/mL である、請求項 14～23 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 25】

前記 IL-6R 抗体は、約 20 mg/mL である、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記ヒスチジンは、25 mM であり、前記塩化ナトリウムは、125 mM であり、前記ポリソルベート 80 は、0.02% であり、前記 pH は、6.0 であり、前記 IL-6R 抗体は、20 mg/mL である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 27】

前記ヒスチジンは、25 mM であり、前記塩化ナトリウムは、125 mM であり、前記ポリソルベート 80 は、0.05% であり、前記 pH は、6.0 であり、前記 IL-6R 抗体は、20 mg/mL である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 28】

抗 CD3 抗体を投与することをさらに含む、請求項 1～27 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

前記抗 CD3 抗体は、フォラルマブである、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記対象に抗ウイルス薬、免疫ブースター薬、ビタミン C、ビタミン D 又はこれらの任意の組み合わせを投与することをさらに含む、請求項 1～29 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 31】

前記抗ウイルス薬は、レムデシビル又はアクチノマイシン D である、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

10

20

30

40

50

広域及び重合体 C O V I D - 1 9 抗原を投与することをさらに含む、請求項 1 ～ 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

対象に請求項 3 2 の抗原を投与することを含む、抗 C O V I D - 1 9 抗体を産生する方法。

【請求項 3 4】

前記対象は、コロナウイルス感染症を有していない、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記対象から免疫グロブリンを分離することをさらに含み、前記免疫グロブリンは、C O V I D - 1 9 と結合し、そして中和する、請求項 3 3 に記載の方法。

10

【請求項 3 6】

請求項 3 5 に記載の方法により分離された免疫グロブリンを含む組成物。

【請求項 3 7】

コロナウイルスの症状を治療、予防、又は軽減することを必要とする対象に請求項 3 6 に記載の組成物を投与することを含む、前記対象におけるコロナウイルスの症状を治療、予防、又は軽減する方法。

【請求項 3 8】

前記組成物は、静脈内に投与される、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

請求項 3 2 に記載の抗原を含むワクチン。

20

【請求項 4 0】

対象に請求項 3 9 に記載のワクチンを投与することを含む、コロナウイルス感染症の予防方法。

【請求項 4 1】

I L - 6 R 抗体、ヒスチジン、塩化ナトリウム、及びポリソルベート 8 0 を含む組成物。

【請求項 4 2】

前記ヒスチジンは、約 5 m M、約 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、又は約 4 0 m M である、請求項 4 1 に記載の組成物。

【請求項 4 3】

前記ヒスチジンは、約 2 5 m M である、請求項 4 1 に記載の組成物。

30

【請求項 4 4】

前記塩化ナトリウムは、約 5 0 m M、約 7 5 m M、約 1 0 0 m M、約 1 2 5 m M、約 1 5 0 m M、約 1 7 5 m M 又は約 2 0 0 m M である、請求項 4 1 ～ 4 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 4 5】

前記塩化ナトリウムは、約 1 2 5 m M である、請求項 4 4 に記載の組成物。

【請求項 4 6】

前記ポリソルベート 8 0 は、約 0 . 0 1 %、約 0 . 0 2 %、約 0 . 0 3 %、約 0 . 0 4 %、約 0 . 0 5 %、約 0 . 0 6 %、約 0 . 0 7 %、約 0 . 0 8 %、約 0 . 0 9 %、又は約 0 . 1 % である、請求項 4 1 ～ 4 5 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項 4 7】

前記ポリソルベート 8 0 は、約 0 . 0 2 % である、請求項 4 6 に記載の組成物。

【請求項 4 8】

前記ポリソルベート 8 0 は、約 0 . 0 5 % である、請求項 4 6 に記載の組成物。

【請求項 4 9】

前記組成物は、約 5 . 0、約 6 . 0、又は約 7 . 0 の p H を有する、請求項 4 1 ～ 4 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5 0】

前記組成物は、約 6 . 0 の p H を有する、請求項 4 9 に記載の組成物。

50

【請求項 51】

前記 IL-6R 抗体は、約 5 mg/mL、約 10 mg/mL、約 15 mg/mL、約 20 mg/mL、約 25 mg/mL、約 30 mg/mL、又は約 35 mg/mL である、請求項 41～50 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 52】

前記 IL-6R 抗体は、約 20 mg/mL である、請求項 51 に記載の組成物。

【請求項 53】

前記ヒスチジンは、25 mM であり、前記塩化ナトリウムは、125 mM であり、前記ポリソルベート 80 は、0.02% であり、前記 pH は、6.0 であり、前記 IL-6R 抗体は、20 mg/mL である、請求項 41 に記載の組成物。

10

【請求項 54】

前記ヒスチジンは、25 mM であり、前記塩化ナトリウムは、125 mM であり、前記ポリソルベート 80 は、0.05% であり、前記 pH は、6.0 であり、そして前記 IL-6R 抗体は、20 mg/mL である、請求項 41 に記載の組成物。

【請求項 55】

前記 IL-6R 抗体は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む VH CDR1 領域、配列番号 37 のアミノ酸配列を含む VH CDR2 領域、配列番号 35 のアミノ酸配列を含む VH CDR3 領域、配列番号 24 のアミノ酸配列を含む VL CDR1 領域、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む VL CDR2 領域、及び配列番号 26 のアミノ酸配列を含む VL CDR3 領域を含む、請求項 41～54 のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項 56】

前記組成物は、噴霧器又は吸入器での使用に適している、請求項 41～55 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 57】

コロナウイルス感染症又は肺炎症性疾患の治療を必要とする対象における、コロナウイルス感染症又は肺炎症性疾患の治療における薬物としての使用のための請求項 41～56 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 58】

肺炎症性疾患の症状を治療、予防又は軽減することを必要とする対象に IL-6R 抗体を含む組成物を投与することを含む、前記対象における肺炎症性疾患の症状を治療、予防又は軽減する方法。

30

【請求項 59】

肺炎症性疾患の症状を治療、予防、又は軽減することを必要とする対象に、

a IL-6R 抗体を含む組成物、及び

b ダクチノマイシンナノ粒子を含む組成物

を投与することを含み、

ステップ a 及び b は、任意の順序で又は同時に起こってよい、前記対象における肺炎症性疾患の症状を治療、予防、又は軽減する方法。

【請求項 60】

前記肺炎症性疾患は、急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) 又は全身性肺硬化症から選択される、請求項 58 又は 59 に記載の方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2020年3月10日に提出された米国仮特許出願第 62/987,837 号、2020年4月7日に提出された米国仮特許出願第 63/006,612 号、及び 2020年4月24日に提出された米国仮特許出願第 63/014,800 号の優先権の利益を主張するものであり、その内容の全体を参照により本明細書に援用される。

【0002】

50

配列表に対する参照

本願はE F S - W e bにより電子的に出願されており、電子的に提出された、t x t フォーマットの配列表を含む。t x t ファイルは、2021年3月8日に作成された「T I Z I _ 0 2 2 _ 0 0 1 W O _ S e q L i s t _ S T 2 5 . t x t」と題され、33キロボットのサイズを有する配列表を含む。このt x t ファイルに含まれる配列表は、本明細書の一部であり、その全体を参照により本明細書に援用される。

技術分野

【0003】

本開示は概して、例えば、完全ヒト型モノクローナル抗体などの、I L - 6 / I L - 6 R 複合体を認識するモノクローナル抗体の組成物、及び例えば、C O V I D - 1 9、S A R S、及びM E R Sなどのコロナウイルスを治療するためのその使用方法に関する。また、例えば、C O V I D - 1 9、S A R S、及びM E R Sなどのコロナウイルス及び他の肺炎炎症性疾患を治療するためにI L - 6 / I L - 6 R 抗体と併せて使用するためのダクチノマイシン及び抗C D 3 抗体の組成物も含む。

10

【背景技術】

【0004】

コロナウイルスは、コロナウイルス科 (C o r o n a v i r i d a e) に属するエンベロープ、非分節型プラス鎖RNAウイルスである。コロナウイルスは、重症急性呼吸器症候群 (S A R S) や中東呼吸器症候群 (M E R S) などの、主にヒトの気道感染症である複数の全身性炎症を引き起こすことができる。中国、武漢に起因する、2019-n C o V、S A R - C o V - 2、又はC O V I D - 1 9と本明細書で互換的に呼ばれる新型コロナウイルスは、世界人口に潜在的なウイルス性呼吸性パンデミックを呈する。現在の努力は、感染した個人の封じ込め及び隔離に焦点が置かれている。C O V I D - 1 9 感染症を予防するための保護的ワクチンでこの大流行を制御できることもあるが、これまでにこのウイルスの治療用のワクチンは存在していない。

20

【0005】

インターロイキン6 (I L - 6) は、細胞増殖及び分化を調節する強力な多面的サイトカインであり、急性炎症反応の重要なメディエーターでもある。I L - 6 はその作用を、特異的なI L - 6 受容体 (I L - 6 R) 及びシグナル伝達サブユニット (g p 1 3 0) から成る受容体複合体を介して示す。調節不全のI L - 6 シグナル伝達は、コロナウイルスによって引き起こされるC O V I D - 1 9 などの多くの疾患の原因に関連づけられている。したがって、C O V I D - 1 9 などのコロナウイルス感染症を治療及び予防するためのI L - 6 及び／又はI L - 6 R の生物活性を中和する治療法の必要性が存在する。

30

【発明の概要】

【0006】

1つの態様において、本開示は、コロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減することを必要とする対象にI L - 6 R 抗体を含む組成物を投与することを含む、この対象におけるコロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減する方法を提供する。

【0007】

別の態様において、本開示は、コロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減することを必要とする対象に、I L - 6 R 抗体を含む組成物、及びダクチノマイシンナノ粒子を含む組成物を投与することを含み、I L - 6 R 抗体を含む組成物の投与及びダクチノマイシンナノ粒子を含む組成物の投与は、任意の順序で又は同時に起こってよい、この対象におけるコロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減する方法を提供する。

40

【0008】

いくつかの実施形態において、コロナウイルスは、C O V I D - 1 9、S A R S 又はM E R S である。いくつかの実施形態において、コロナウイルス感染症の症状は、発熱、咳、息切れである。いくつかの実施形態において、この対象は、コロナウイルス感染症を有する又は有するのではないかと疑われる。いくつかの実施形態において、この対象は、コロナウイルスに曝露された又は曝露されたと考えられ、そしてコロナウイルス感染症の症

50

状がまだ現れていない。

【0009】

いくつかの実施形態において、このIL-6R抗体は、配列番号15のアミノ酸配列を含むVH CDR1領域、配列番号37のアミノ酸配列を含むVH CDR2領域、配列番号35のアミノ酸配列を含むVH CDR3領域、配列番号24のアミノ酸配列を含むVL CDR1領域、配列番号25のアミノ酸配列を含むVL CDR2領域、配列番号26のアミノ酸配列を含むVL CDR3領域を含む。

【0010】

いくつかの実施形態において、このIL-6R抗体は、トシリズマブ又はサリルマブである。

【0011】

いくつかの実施形態において、このIL-6R抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、この抗体は、完全ヒト型である。

【0012】

本開示の方法は、抗TNF α 抗体、抗CD20抗体、抗IFN γ 抗体、抗顆粒球マクロファージコロニー刺激因子抗体又は抗CD3抗体を投与することをさらに含む。

【0013】

いくつかの実施形態において、IL-6R抗体を含む組成物は、吸入、経鼻的に、静脈内に又はこれらの任意の組み合わせにより投与される。いくつかの実施形態において、この吸入投与は、吸入器又は噴霧器による。いくつかの実施形態において、この吸入器又は噴霧器は、IL-6R抗体、ヒスチジン、塩化ナトリウム、及びポリソルベート80を含む組成物を含む。いくつかの実施形態において、このヒスチジンは、約5mM、約10mM、約15mM、約20mM、約25mM、約30mM、約35mM、又は約40mMである。いくつかの実施形態において、このヒスチジンは、約25mMである。いくつかの実施形態において、この塩化ナトリウムは、約50mM、約75mM、約100mM、約125mM、約150mM、約175mM又は約200mMである。いくつかの実施形態において、この塩化ナトリウムは、約125mMである。いくつかの実施形態において、このポリソルベート80は、約0.01%、約0.02%、約0.03%、約0.04%、約0.05%、約0.06%、約0.07%、約0.08%、約0.09%、又は約0.1%である。いくつかの実施形態において、このポリソルベート80は、約0.02%である。いくつかの実施形態において、このポリソルベート80は、約0.05%である。いくつかの実施形態において、この薬学的に許容される組成物は、約5.0、約6.0、又は約7.0のpHを有する。いくつかの実施形態において、この薬学的に許容される組成物は、約6.0のpHを有する。いくつかの実施形態において、このIL-6R抗体は、約5mg/mL、約10mg/mL、約15mg/mL、約20mg/mL、約25mg/mL、約30mg/mL、又は約35mg/mLである。いくつかの実施形態において、このIL-6R抗体は、約20mg/mLである。いくつかの実施形態において、このヒスチジンは、25mMであり、この塩化ナトリウムは、125mMであり、このポリソルベート80は、0.02%であり、このpHは、6.0であり、このIL-6R抗体は、20mg/mLである。いくつかの実施形態において、このヒスチジンは、25mMであり、この塩化ナトリウムは、125mMであり、このポリソルベート80は、0.05%であり、このpHは、6.0であり、このIL-6R抗体は、20mg/mLである。

【0014】

いくつかの実施形態において、本開示の方法は、抗CD3抗体を投与することを含む。いくつかの実施形態において、この抗CD3抗体は、フォラルマブである。

【0015】

いくつかの実施形態において、本開示の方法は、この対象に抗ウイルス薬、免疫ブースター薬、ビタミンC、ビタミンD又はこれらの任意の組み合わせを投与することをさらに含む。いくつかの実施形態において、この抗ウイルス薬は、レムデシビル又はアクチノマ

10

20

30

40

50

イシンDである。

【0016】

いくつかの実施形態において、本開示の方法は、広域 (broad spectrum) 及び重合体 (polymeric) COVID-19 抗原を投与することをさらに含む。

【0017】

1つの態様において、本開示は、対象に広域及び重合体COVID-19 抗原を投与することを含む、抗COVID-19 抗体を産生する方法を提供する。いくつかの実施形態において、この対象は、コロナウイルス感染症を有していない。いくつかの実施形態において、この方法は、この対象から免疫グロブリンを分離することをさらに含み、この免疫グロブリンは、COVID-19 と結合し、そして中和する。

10

【0018】

1つの態様において、本開示は、本明細書の記載される方法により分離された免疫グロブリンを含む組成物を提供する。さらなる態様において、本開示は、コロナウイルスの症状を治療、予防、又は軽減することを必要とする対象に本明細書に記載される方法により分離された免疫グロブリンを含む組成物を投与することを含む、この対象におけるコロナウイルスの症状を治療、予防、又は軽減する方法を提供する。いくつかの実施形態において、この組成物は、静脈内に投与される。

【0019】

1つの態様において、本開示は、本明細書に記載される広域COVID-19 抗原を含むワクチンを提供する。別の態様において、本開示は、対象に本明細書に記載されるワクチンを投与することを含む、コロナウイルス感染症の予防方法を提供する。

20

【0020】

1つの態様において、本開示は、IL-6 R 抗体、ヒスチジン、塩化ナトリウム、及びポリソルベート80を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態において、このヒスチジンは、約5 mM、約10 mM、約15 mM、約20 mM、約25 mM、約30 mM、約35 mM、又は約40 mMである。1つの実施形態において、このヒスチジンは、約25 mMである。いくつかの実施形態において、この塩化ナトリウムは、約50 mM、約75 mM、約100 mM、約125 mM、約150 mM、約175 mM又は約200 mMである。1つの実施形態において、この塩化ナトリウムは、約125 mMである。いくつかの実施形態において、このポリソルベート80は、約0.01%、約0.02%、約0.03%、約0.04%、約0.05%、約0.06%、約0.07%、約0.08%、約0.09%、又は約0.1%である。1つの実施形態において、このポリソルベート80は、約0.02%である。1つの実施形態において、このポリソルベート80は、約0.05%である。いくつかの実施形態において、この組成物は、約5.0、約6.0、又は約7.0のpHを有する。いくつかの実施形態において、組成物は、約6.0のpHを有する。いくつかの実施形態において、このIL-6 R 抗体は、約5 mg/mL、約10 mg/mL、約15 mg/mL、約20 mg/mL、約25 mg/mL、約30 mg/mL、又は約35 mg/mLである。いくつかの実施形態において、このIL-6 R 抗体は、約20 mg/mLである。いくつかの実施形態において、このヒスチジンは、25 mMであり、この塩化ナトリウムは、125 mMであり、このポリソルベート80は、0.02%であり、このpHは、6.0であり、そしてこのIL-6 R 抗体は、20 mg/mLである。いくつかの実施形態において、このヒスチジンは、25 mMであり、この塩化ナトリウムは、125 mMであり、このポリソルベート80は、0.05%であり、このpHは、6.0であり、そしてこのIL-6 R 抗体は、20 mg/mLである。いくつかの実施形態において、このIL-6 R 抗体は、配列番号15のアミノ酸配列を含むVH CDR1 領域、配列番号37のアミノ酸配列を含むVH CDR2 領域、配列番号35のアミノ酸配列を含むVH CDR3 領域、配列番号24のアミノ酸配列を含むVL CDR1 領域、配列番号25のアミノ酸配列を含むVL CDR2 領域、及び配列番号26のアミノ酸配列を含むVL CDR3 領域を含む。

30

40

【0021】

50

いくつかの実施形態において、この組成物は、噴霧器又は吸入器での使用に適している。

【0022】

1つの態様において、本開示は、コロナウイルス感染症又は肺炎症性疾患の治療を必要とする対象におけるコロナウイルス感染症又は肺炎症性疾患の治療における薬物としての使用のための本明細書に記載される組成物を提供する。

【0023】

1つの態様において、本開示は、肺炎症性疾患の症状を治療、予防又は軽減することを必要とする対象にIL-6R抗体を含む組成物を投与することを含む、この対象における肺炎症性疾患の症状を治療、予防又は軽減する方法を提供する。

【0024】

1つの態様において、本開示は、肺炎症性疾患の症状を治療、予防、又は軽減することを必要とする対象に、IL-6R抗体を含む組成物、及びダクチノマイシンナノ粒子を含む組成物を投与することを含み、IL-6R抗体を含む組成物の投与及びダクチノマイシンナノ粒子を含む組成物の投与は、任意の順序で又は同時に起こってよい、この対象における肺炎症性疾患の症状を治療、予防、又は軽減する方法を提供する。

【0025】

いくつかの実施形態において、この肺炎症性疾患は、急性呼吸窮迫症候群（ARDS）又は全身性肺硬化症から選択される。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】図1は、COVID-19の進行中の治療選択肢の例である。

【0027】

【図2】図2は、シス及びトランスIL-6シグナル伝達、及び例示的な抗体の結合によって媒介される両タイプのIL-6シグナル伝達を抑制する機構を図解する図である。

【0028】

【図3】図3は、IL-6シグナル伝達標的抗体である、NI-1201の特徴を認可されたIL-6シグナル伝達を標的とした抗体の特徴と比較したグラフである。

【0029】

【図4】図4は、携帯型吸入器又は噴霧器を示す図である。患者にエアロゾル送達するために製剤された薬液を含有するバイアルを挿入してよい。

【0030】

【図5】図5は、COVID-19の侵入及びSタンパク質に対する抗体を含有する、COVID-19のSタンパク質で免疫化された対象の血清によりどのように侵入を阻止できるのかを示す図である。

【0031】

【図6】図6は、ある実施形態による、IL-6R標的抗体を含むエアロゾル化した製剤の凝集粒子径の相対的存在量を示すクロマトグラフである。クロマトグラフは、HPLCを表す分子ふるいクロマトグラフィーによって作成された。

【0032】

【図7】図7は、ある実施形態による、IL-6R標的抗体を含むエアロゾル化した製剤の凝集粒子径の相対的存在量を示すクロマトグラフである。クロマトグラフは、HPLCを表す分子ふるいクロマトグラフィーによって作成された。

【0033】

【図8】図8は、エアロゾル化した対照製剤の凝集粒子径の相対的存在量を示すクロマトグラフである。クロマトグラフは、分子ふるいクロマトグラフィーHPLCによって作成されていた。

【0034】

【図9】図9は、噴霧器でエアロゾル化したIL-6R抗体を含有する例の製剤の粒子径分布を示す一連のヒストグラムである。粒子分布は、噴霧器ランの始まり、中間、及び終

10

20

30

40

50

わりに測定した。

【発明を実施するための形態】

【0035】

本開示は、サイトカイン放出症候群（CRS）の症状を治療、予防又は軽減するための、ヒトIL-6／IL-6受容体複合体（「IL-6Rc」、「IL-6」、又は「IL-6R」）と特異的に結合するモノクローナル抗体の組成物を提供する。

【0036】

CRSは、薬物治療、感染性疾患又は非感染性疾患によって引き起こされる。CRSを引き起こす薬物治療としては例えば、CAR-T細胞治療又はモノクローナル抗体治療が挙げられる。CRSを引き起こす感染性疾患としては例えば、コロナウイルス疾患、敗血症、エボラ、トリインフルエンザ、天然痘、肺炎、又はインフルエンザが挙げられる。コロナウイルス疾患は、コロナウイルスであり、COVID-19、SARS又はMERSである。CRSを引き起こす非感染性炎症性疾患としては例えば、急性呼吸窮迫症候群（ARDS）、SARS、及び全身性硬化症が挙げられる。

【0037】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物は、コロナウイルス感染症、特にCOVID-19と関連するARDSの症状を治療又は軽減するために用いられる。

【0038】

組成物は、エアロゾル化によりIL-6抗体を投与するための製剤及び組成物を含む。本開示はまた、抗IL-6R mAbの例えば、CRS、ARDS、全身性硬化症などの肺炎症性疾患、及びCOVID-19、SARS、又はMERSなどのコロナウイルス疾患と関連する症状を低減する相乗効果を生むダクチノマイシン及び／又はCD-3 mAbの併用を含む。

【0039】

抗体は、溶媒形態で又は結合された膜で（すなわち、細胞表面に発現される場合）IL-6Rに結合する。抗体は、例えば、完全ヒト型抗体である。本開示の組成物及び方法に用いられる抗体は本明細書中まとめて、「IL-6Rc」又は「huIL-6Rc」又は「IL-6」又は「IL-6R」抗体と呼ばれる。

【0040】

アクチノマイシンDとしても知られるダクチノマイシンは、Streptomyces parvulusによる発酵の生成物として得られる1個のフェノキサゾン発色団及び2個の環状ペプチド鎖から成る結晶性抗生物質である。

【0041】

好ましくは、ダクチノマイシンは、遊離ダクチノマイシンに関連する毒性を低減すると実証されているナノ粒子中に包まれる。ダクチノマイシンは、PLA-mPEGのナノ粒子中に包まれる。このナノ粒子は、約100nm～約200nmの平均サイズを有する（その内容の全体を参照により本明細書に援用される、国際公開第2018／053052号パンフレットを参照する）。

【0042】

COVID-19病因の正確な機構はまだ発見されておらず、重度のCOVID-19感染症の臨床症状はまた、ウイルス複製の直接的影響より組織障害を引き起こしてよいリンパ単核細胞浸潤及び増殖による過剰増殖免疫応答によっても特徴づけられることが示唆される。

【0043】

IL-6及びTNF- α などの炎症促進性サイトカインの過剰産生は、疾患の増悪、肺組織損傷、及び最終的に呼吸不全に寄与する主要な要因である。したがって、抗TNF- α mAbとか免疫系を強化する（免疫ブースター）薬物とのいずれかと抗IL-6R mAbの併用は、免疫調節性である及び／又は機能亢進免疫応答を抑制し（CD3 mAbなど）、COVID-19などのコロナウイルス並びにSARS及びMERSなどの他の関

10

20

30

40

50

連する科のウイルスに感染した患者の即時治療として用いられることができる。

【0044】

際だったことに、これらの肺の症状は、重度の肺の症状の根底にある強い局所的炎症反応及び免疫調節不全による。マクロファージ及び樹状細胞は、急性炎症反応を媒介するのに決定的に関与するだけでなく、細菌感染に対する自然及び獲得免疫をつなぐ中心的な細胞でもある。循環CD4及びCD8 T細胞サブセットの一過性の減少は、SARS-CoV、SARS-CoV-2、及びMERS-CoVによって引き起こされるものなどの、コロナウイルス感染症の有害な転帰と正に相関すると報告されている。

【0045】

ダクチノマイシンは、DNAと結合し、開始、終結又は遊離より鎖伸長に感受性がより高く、RNA合成（転写）を阻害する。mRNA産生の障害の結果として、ダクチノマイシンは、抗ウイルス効果を有することが分かった。

【0046】

したがって、抗TNF α mAbとか免疫系を強化する（免疫ブースター）薬物とのいずれかと抗IL-6R（抗IL-6受容体）mAb及びダクチノマイシンの併用は、免疫調節性である及び／又は機能亢進免疫応答を抑制し（CD3 mAbなど）、COVID-19などのコロナウイルス並びにSARS及びMERSなどの他の関連する科のウイルスに感染した患者の即時治療として用いられることができる。ダクチノマイシンは、ナノ粒子製剤であってよい。

【0047】

IL-6／IL-6受容体抗体

本開示の組成物及び方法において有用な代表的なIL-6／IL-6受容体（IL-6R）抗体としては、例えば、アクテムラ（登録商標）（トシリズマブ）、又はケブザラ（登録商標）（サリルマブ）及び抗IL-6 mAbsが挙げられる。

【0048】

他の、IL-6R抗体としては、その内容の全体を本明細書に参照により援用される、国際公開第2009／140348号パンフレットに記載される39B9 VL1抗体、39B9 VL5抗体、12A抗体、及び5C抗体が挙げられる。これらの抗体は、ヒトIL-6R及び／又はIL-6RとIL-6Rcとの両方への特異性を示し、それらは生体外でIL-6Rcの機能活性（すなわち、gp130と結合してシグナル伝達カスケードを誘導する）を阻害することが示された。

【0049】

いくつかの実施形態において、抗6Rc抗体は、軽鎖及び重鎖配列を含む。いくつかの実施形態において、抗6R抗体軽鎖配列は、配列番号53である。いくつかの実施形態において、抗6Rc抗体重鎖配列は、配列番号52である。いくつかの実施形態において、抗6Rc抗体は、配列番号53及び配列番号52を含む。

【0050】

39B9 VL1及び39B9 VL5抗体は、配列番号1に示される核酸配列によってコードされる共通の重鎖可変領域（配列番号2）を共有する。39B9 VL1抗体は、配列番号3に示される核酸配列によってコードされる軽鎖可変領域（配列番号4）を含む。39B9 VL5抗体は、配列番号5に示される核酸配列によってコードされる軽鎖可変領域（配列番号6）を含む。12A抗体は、配列番号7に示される核酸配列によってコードされる重鎖可変領域（配列番号8）を含む。12A抗体は、配列番号9に示される核酸配列によってコードされる重鎖可変領域（配列番号10）を含む。5C抗体は、配列番号11に示される核酸配列によってコードされる重鎖可変領域（配列番号12）を含む。5C抗体は、配列番号13に示される核酸配列によってコードされる軽鎖可変領域（配列番号14）を含む。

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1. 実例となる I L - 6 / I L - 6 R 抗体配列

名称	配列番号	配列
39B9 VL1-VH 核酸配列	1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGT CCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAG CTATGCTATCAGCTGGGTGCCGCCAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAG TGGATGGGAGGGATCATCCCTCTCTTTGATACAACAAAGTACGCAC AGCAGTTCCAGGGCAGAGTCAGGATTACCGCGACGAATCCACGAG CACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCC GTATTTTACTGTGCGAGAGATCGGGATATTTGACTGATTATTATC CCATGGGCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACACGGTCACCGT CTCCTCA
39B9 VL1-VH アミノ酸配列	2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLE WMGGI I PLFDTTKYAQFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VFYCARDRDILTDYYPMGGMVWVGQGITTVTVSS
39B9 VL1-VL 核酸配列	3	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAG TGTTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTCTAAT AGTTACCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC GT
39B9 VL1-VL アミノ酸配列	4	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSVLAWYQQKPKAPKL LIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQQSN SYPLTFGGGKVEIKR
39B9 VL5-VL 核酸配列	5	GACATCCTGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGATATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTCTAAT AGTTACCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC GA
39B9 VL5-VL アミノ酸配列	6	DILMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISSVLAWYQQKPKAPKL LIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQQSN SYPLTFGGGKVEIKR
12A VH 核酸配列	7	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTTGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAA CTATGACATGTACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTATATTAGATGATGGAATAATAATTACTACGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA AAAGGTGTATCTGCAATGAATAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGTGAGAGCGTCCCCTAACTGGGGTCTTCTGACT TCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCGAGT

10

20

30

40

【表 1 - 2】

12A VH アミノ酸配列	8	QVQLVESWGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSNYDMYWVRQAPGKGLE WVAVILDDGNNYYADSVKGRFTISRDNKKVYLQMNSLRAEDTA VYYCVRASPNWGLDFWGQGLTVTVSS
12A VL 核酸配列	9	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAT AGTTACCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAC GT
12A VL アミノ酸配列	10	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYDASSLESGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN SYPITFGQGTRLEIKR
5C VH 核酸配列	11	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAGTAG CTATGACATGTACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTATATTATATGATGGAATAATAAATACTACGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGTGAGAGCGTCCCCTAACTGGGGTCTTTTTGACT TCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT
5C VH アミノ酸配列	12	QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCAASGIFSSYDMYWVRQAPGKGLE WVAVILYDGNKYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTA VYYCVRASPNWGLDFWGQGLTVTVSS
5C VL 核酸配列	13	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAG TGATTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTC CTGATGTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAT AGTTACCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAC GT
5C VL アミノ酸配列	14	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLAWYQQKPGKAPKL LMYDASSLESGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN SYPITFGQGTRLEIKR

10

20

30

40

【0051】

本開示のh u I L - 6 R抗体はさらに、例えば、以下の表2に示される重鎖相補性決定領域（VH CDR）、表3に示される軽鎖相補性決定領域（VL CDR）、及びこれらの組み合わせを含む。

【表 2】

表 2. 結合し、I L - 6 R 生物活性を中和する抗体クローン由来の V H C D R 配列

クローン名	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3
39B9	SYAIS (配列番号 15)	GIIPLFDTTKYAQQFQG (配列番号 16)	CARDRDILTDYYPMGGMDV (配列番号 17)
12A	NYDMY (配列番号 18)	VILDDGNNYYADSVKG (配列番号 19)	CVRASPNWGLLDF (配列番号 20)
5C	SYDMY (配列番号 21)	VILYDGNNKYADSVKG (配列番号 22)	CVRASPNWGLFDF (配列番号 23)

10

【表 3】

表 3. I L - 6 R c と結合し、中和する抗体クローン由来の V L C D R 配列

クローン名	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
39B9 VL1	RASQGISSVLA (配列番号 24)	DASSLES (配列番号 25)	QQSNSYPLT (配列番号 26)
39B9 VL5	RASQDISSWLA (配列番号 27)	DASSLES (配列番号 25)	QQSNSYPLT (配列番号 26)
12A	RASQGISSWLA (配列番号 28)	DASSLES (配列番号 25)	QQSNSYPIT (配列番号 29)
5C	RASQGISSVDA (配列番号 30)	DASSLES (配列番号 25)	QQSNSYPIT (配列番号 29)

20

【0052】

本開示の h u I L - 6 R 抗体は、I L - 6 R c の機能活性を調節する、遮断する、抑制する、低減する、弱める、中和する、又は妨害するのに役立つ。I L - 6 R c の機能活性としては、例えば、J A K / S T A T 経路の活性化及び M A P K カスケードの活性化を介した細胞内シグナル伝達、急性期タンパク質産生、抗体産生並びに細胞分化及び／又は増殖が挙げられる。例えば、h u I L - 6 R 抗体は、I L - 6 R c のシグナル伝達受容体成分 g p 1 3 0 への結合を部分的に又は完全に調節する、遮断する、抑制する、低減する、弱める、中和する、又は妨害することにより I L - 6 R c 機能活性を完全に又は部分的に抑制する。

30

【0053】

h u I L - 6 R 抗体は、h u I L - 6 R 抗体の存在下 I L - 6 R c 機能活性のレベルが本明細書に記載される h u I L - 6 R 抗体との結合の非存在下での I L - 6 R c 機能活性のレベルと比較して少なくとも 9 5 %、例えば、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % 又は 1 0 0 % 減少する場合、I L - 6 R c 機能活性を完全に調節する、遮断する、抑制する、低減する、弱める、中和する、又は妨害するとみなされる。h u I L - 6 R 抗体は、h u I L - 6 R 抗体の存在下 I L - 6 R c 活性のレベルが本明細書に記載される h u I L - 6 R 抗体との結合の非存在下での I L - 6 R c 活性のレベルと比較して 9 5 % 未満、例えば、1 0 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 % 又は 9 0 % 減少する場合、I L - 6 R c 機能活性を部分的に調節する、遮断する、抑制する、低減する、弱める、中和する、又は妨害するとみなされる。

40

【0054】

h u I L - 6 R 抗体の変異体

h u I L - 6 R 抗体の変異体は、技術分野で認識された多様な手法のいずれかを用いて作製される。例えば、変異体 h u I L - 6 R 抗体は、例えば、抗体配列内の位置での、アミノ酸置換などの、1 つ又は複数のアミノ酸改変を有する抗体を含む。

【0055】

50

アミノ酸置換の好ましい位置は、以下の表 4 に太字で、下線を引いた残基として示される。太字で／下線を引いたアミノ酸残基は、任意のアミノ酸残基と置換することができる。好ましい実施形態において、太字で／下線を引いたアミノ酸残基は、以下の表 4 に示されるアミノ酸残基と置換される。これらの実施形態において、抗体は、(i) X が N 又は Q である、軽鎖相補性決定領域 3 (CDR3) のコンセンサスアミノ酸配列 Q Q S X S Y P L T (配列番号 31)、(i i) X1 が L 又は A であり、X2 が D 又は E であり、そして X3 が Q 又は K である、重鎖相補性決定領域 2 (CDR2) のコンセンサスアミノ酸配列 G I I P X1 F X2 T T K Y A Q X3 F Q G (配列番号 32)、(i i i) X が M 又は L である、重鎖相補性決定領域 3 (CDR3) のコンセンサスアミノ酸配列 D R D I L T D Y Y P X G G M D V (配列番号 33)、及び (i v) X が F 又は Y である、フレームワーク領域 3 (FRW3) のコンセンサスアミノ酸配列 T A V X Y C A R (配列番号 34) を含む。

10

【0056】

表 4 に列挙した N I - 1 2 0 1 野生型 (N I - 1 2 0 1 - W T) 抗体は、軽鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 Q Q S N S Y P L T (配列番号 26)、重鎖 C D R 2 領域のアミノ酸配列 G I I P L F D T T K Y A Q Q F Q G (配列番号 16)、重鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 D R D I L T D Y Y P M G G M D V (配列番号 35)、及び F R W 3 領域のアミノ酸配列 T A V F Y C A R (配列番号 36) を含む。

【0057】

表 4 に列挙した N I - 1 2 0 1 - A 抗体は、軽鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 Q Q S N S Y P L T (配列番号 26)、重鎖 C D R 2 領域のアミノ酸配列 G I I P L F D T T K Y A Q K F Q G (配列番号 37)、重鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 D R D I L T D Y Y P M G G M D V (配列番号 35)、及び F R W 3 領域のアミノ酸配列 T A V Y Y C A R (配列番号 38) を含む。

20

【0058】

表 4 に列挙した N I - 1 2 0 1 - B 抗体は、軽鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 Q Q S N S Y P L T (配列番号 26)、重鎖 C D R 2 領域のアミノ酸配列 G I I P L F D T T K Y A Q K F Q G (配列番号 37)、重鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 D R D I L T D Y Y P L G G M D V (配列番号 39)、及び F R W 3 領域のアミノ酸配列 T A V Y Y C A R (配列番号 38) を含む。

30

【0059】

表 4 に列挙した N I - 1 2 0 1 - C 抗体は、軽鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 Q Q S N S Y P L T (配列番号 26)、重鎖 C D R 2 領域のアミノ酸配列 G I I P A F E T T K Y A Q K F Q G (配列番号 40)、重鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 D R D I L T D Y Y P L G G M D V (配列番号 39)、及び F R W 3 領域のアミノ酸配列 T A V Y Y C A R (配列番号 38) を含む。

【0060】

表 4 に列挙した N I - 1 2 0 1 - D 抗体は、軽鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 Q Q S Q S Y P L T (配列番号 41)、重鎖 C D R 2 領域のアミノ酸配列 G I I P A F E T T K Y A Q K F Q G (配列番号 40)、重鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 D R D I L T D Y Y P L G G M D V (配列番号 39)、及び F R W 3 領域のアミノ酸配列 T A V Y Y C A R (配列番号 38) を含む。

40

【0061】

表 4 に列挙した N I - 1 2 0 1 - E 抗体は、軽鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 Q Q S Q S Y P L T (配列番号 41)、重鎖 C D R 2 領域のアミノ酸配列 G I I P L F D T T K Y A Q K F Q G (配列番号 37)、重鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 D R D I L T D Y Y P L G G M D V (配列番号 39)、及び F R W 3 領域のアミノ酸配列 T A V Y Y C A R (配列番号 38) を含む。

【0062】

表 4 に列挙した N I - 1 2 0 1 - F 抗体は、軽鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 Q Q S N

50

S Y P L T (配列番号 26)、重鎖 C D R 2 領域のアミノ酸配列 G I I P A F D T T K Y A Q K F Q G (配列番号 42)、重鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 D R D I L T D Y Y P L G G M D V (配列番号 39)、及び F R W 3 領域のアミノ酸配列 T A V Y Y C A R (配列番号 38)を含む。

【0063】

表 4 に列挙した N I - 1 2 0 1 - G 抗体は、軽鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 Q Q S Q S Y P L T (配列番号 41)、重鎖 C D R 2 領域のアミノ酸配列 G I I P A F D T T K Y A Q K F Q G (配列番号 42)、重鎖 C D R 3 領域のアミノ酸配列 D R D I L T D Y Y P L G G M D V (配列番号 39)、及び F R W 3 領域のアミノ酸配列 T A V Y Y C A R (配列番号 38)を含む。

【表 4】

表 4. N I - 1 2 0 1 誘導

	軽鎖 CDR3	重鎖 CDR2	重鎖 CDR3	FRW 3
NI-120 1-WT	QQSNSYPLT (配 列番号 26)	GIIPFDTTKYAQQFQG (配 列番号 16)	DRDILTDYYPMGGMDV (配列番号 35)	TAVFYCAR (配列番号 36)
NI-120 1-A	QQSNSYPLT (配 列番号 26)	GIIPFDTTKYAQQFQG (配 列番号 37)	DRDILTDYYPMGGMDV (配列番号 35)	TAVYYCAR (配列番号 38)
NI-120 1-B	QQSNSYPLT (配 列番号 26)	GIIPFDTTKYAQQFQG (配 列番号 37)	DRDILTDYYPLGGMDV (配 列番号 39)	TAVYYCAR (配列番号 38)
NI-120 1-C	QQSNSYPLT (配 列番号 26)	GIIPAFETTKYAQQFQG (配 列番号 40)	DRDILTDYYPLGGMDV (配 列番号 39)	TAVYYCAR (配列番号 38)
NI-120 1-D	QQSQSYPLT (配 列番号 41)	GIIPAFETTKYAQQFQG (配 列番号 40)	DRDILTDYYPLGGMDV (配 列番号 39)	TAVYYCAR (配列番号 38)
NI-120 1-E	QQSQSYPLT (配 列番号 41)	GIIPFDTTKYAQQFQG (配 列番号 37)	DRDILTDYYPLGGMDV (配 列番号 39)	TAVYYCAR (配列番号 38)
NI-120 1-F	QQSNSYPLT (配 列番号 26)	GIIPAFDTTKYAQQFQG (配 列番号 42)	DRDILTDYYPLGGMDV (配 列番号 39)	TAVYYCAR (配列番号 38)
NI-120 1-G	QQSQSYPLT (配 列番号 41)	GIIPAFDTTKYAQQFQG (配 列番号 42)	DRDILTDYYPLGGMDV (配 列番号 39)	TAVYYCAR (配列番号 38)

【0064】

抗 C D 3 抗体

いくつかの実施形態において、本開示は、抗 I L - 6 R 抗体と併せて抗 C D 3 抗体を投与することによりコロナウイルス感染症及び関連する症状を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態において、抗 C D 3 抗体は、抗 I L - 6 R 抗体及びダクチノマイシンと併せて投与される。

【0065】

抗 C D 3 抗体は、C D 3 に特異的である任意の抗体であってよい。抗 C D 3 抗体は、ポリクローナル、モノクローナル、例えば、キメラなどの組換え、脱免疫化 (d e - i m m u n i z e d) 又はヒト化、完全ヒト型、例えば、マウスなどの非ヒト型、単鎖抗体又は単ドメイン抗体であってよい。いくつかの実施形態において、抗体は、エフェクター機能を有し、成分を固定することができる。いくつかの実施形態において、抗体は、F c 受容体を結合する能力が少ない又はない。例えば、抗 C D 3 抗体は、アイソタイプ又はサブタイプ、断片又は他の変異体であってよく、例えば、抗体は変異誘発した又は欠失した F c 受容体結合領域を有するなど、F c 受容体に対する結合を支持しない。抗体は、毒素又は造影剤と結合することができる。

【0066】

限定されないが、O K T 3 (ムロモナブ／オルソクロン O K T 3 . T M . , O r t h o B i o t e c h , R a r i t a n , N . J . ; 米国特許第 4 , 3 6 1 , 5

10

20

30

40

50

49号明細書) ; hOKT3 (1 (Heroldら、N. E. J. M. 346 (22) : 1692-1698 (2002) ; HuM291 (Nuvion. TM., Protein Design Labs, Fremont, Calif.) ; gOKT3-5 (Alegreら、J. Immunol. 148 (11) : 3461-8 (1992) ; 1F4 (Tanakaら、J. Immunol. 142 : 2791-2795 (1989) ; G4.18 (Nicolisら、Transplantation 55 : 459-468 (1993) ; 145-2C11 (Davignonら、J. Immunol. 141 (6) : 1848-54 (1988) ; 及びFrenkenら、Transplantation 51 (4) : 881-7 (1991) ; 米国特許第6,491,911号明細書、6,406,696号明細書、及び6,143,297号明細書に記載されるものを含む、多くの抗CD3抗体が知られている。

10

【0067】

このような抗体の作製方法も知られている。全長CD3タンパク質又はCD3の抗原ペプチド断片を、免疫原として用いることができ、又は例えば、米国特許第4,361,549号明細書及び4,654,210号明細書に記載されるような、E-ロゼット陽性の精製された正常ヒト末梢性T細胞などの、例えば、細胞、膜標品、及び同種のものなどの他の免疫原により作製された抗CD3抗体を同定するために用いることができる。抗CD3抗体は、CD3上の任意のドメイン又は領域のエピトープと結合することができる。

【0068】

キメラ、ヒト化、脱免疫化 (de-immunized) 又は完全なヒト抗体は、ヒト対象の治療処置などの反復投与を含む適用に望ましい。

20

【0069】

キメラ抗体は、典型的には2種類の異なる種の、2個の異なる抗体の部分を含む。概して、このような抗体は、ヒト定常領域及び例えば、マウス可変領域などの別の種由来の可変領域を含む。例えば、マウス/ヒトキメラ抗体は、親マウス抗体の結合特性、及びヒト定常領域に関連するエフェクター機能を示すことが報告されている。例えば、その全てが本明細書に参照により援用される、Cabillyら、米国特許第4,816,567号明細書、Shoemakerら、米国特許第4,978,745号明細書、Beaversら、米国特許第4,975,369号明細書、及びBossら、米国特許第4,816,397号明細書を参照する。概して、これらのキメラ抗体は、既存のマウスハイブリドーマから抽出されたDNA由来のゲノム遺伝子ライブラリーを調製することにより構築される (Nishimuraら、Cancer Research, 47 : 999 (1987))。このライブラリーは、正しい抗体断片再構築パターンを示す重鎖と軽鎖との両方由来の可変領域遺伝子を求めてスクリーニングされる。あるいは、ハイブリドーマから抽出されたRNAからcDNAライブラリーを調製し、スクリーニングするか、又はポリメラーゼ連鎖反応により可変領域を取得する。クローン化された可変領域をクローン化されたカセットの適切な重鎖又は軽鎖ヒト定常領域遺伝子を含む発現ベクターに結合する。キメラ遺伝子を、例えば、マウス骨髄腫株などの、選択される細胞株に発現することができる。このようなキメラ抗体は、ヒトの治療に用いられてきた。

30

【0070】

ヒト化抗体は、当該技術分野で知られている。典型的には、「ヒト化」を行うと、本来の分子の抗原結合特性を完全に維持しながら、免疫原性が低い抗体を生じる。本来の抗体の全ての抗原結合特性を維持するためには、抗体の結合部位の構造を「ヒト化」版で正確に再現しなければならない。このことは、(a) 非ヒト可変領域全体をヒト定常領域に移植してキメラ抗体を作製すること (Morrisonら、Proc. Natl. Acad. Sci., USA 81 : 6801 (1984) ; Morrison and Oi, Adv. Immunol. 44 : 65 (1988) (これは、リガンド結合特性を保つが、非ヒト可変領域の免疫原性も保つ)、(b) 重要なフレームワーク残基の保持の有無に関わらず非ヒトCDRのみをヒトフレームワーク及び定常領域に移植する (Jonesら、Nature, 321 : 522 (1986) ; Verho

40

50

eyenら、*Science* 239:1539 (1988))、又は(c)非ヒト可変領域全体を移植するが(リガンド結合特性を保つために)、やはり露出した残基の賢明な置換によりヒトのような表面でこれを覆うこと(抗原性を低減するために)(Padlan, *Molec. Immunol.* 28:489 (1991))のいずれかにより、非ヒト抗体の結合部位をヒトフレームワーク上に移植することにより潜在的に達成できる。

【0071】

CDR移植によるヒト化は典型的には、ヒト断片上のCDRのみをヒトフレームワーク及び定常領域上に移植することを含む。これは理論上、免疫原性をかなり除去するはずである(アロタイプ又はイディオタイプの差が存在する場合を除く)。しかしながら、本来の抗体のフレームワーク残基の中にはまた、保存される必要があるものもあると報告されている(Riechmannら、*Nature* 332:323 (1988); Queenら、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:10,029 (1989))。保存される必要があるフレームワーク残基を、コンピュータモデリングにより同定することができる。あるいは、重要なフレームワーク残基を潜在的に、既知の抗体結合部位構造を比較することにより同定してよい(Padlan, *Molec. Immun.* 31(3):169-217 (1994))。本開示の組成物及び方法はまた、部分的にヒト化された抗体を含み、この抗体中マウスモノクローナル抗体の重鎖及び軽鎖の6個のCDR及び限られた数の構造アミノ酸は、CDR枯渴ヒトIgGスキャフォールドに対する組換え技術により移植される(Jonesら、*Nature* 321:522-525 (1986))。

10

20

【0072】

脱免疫化抗体は、マウス可変領域の免疫原性エピトープを良性アミノ酸配列で置換し、脱免疫化可変領域を生じることにより作製される。脱免疫化可変領域は、ヒトIgG定常部と遺伝的に結合して脱免疫化抗体を産生する(Biovation, Aberdeen, Scotland)。

【0073】

抗CD3抗体はまた、単鎖抗体であってよい。単鎖抗体(scFV)を設計することができる(例えば、Colcherら、*Ann. N. Y. Acad. Sci.* 880:263-80 (1999);及びReiter, *Clin. Cancer Res.* 2:245-52 (1996)を参照する)。単鎖抗体を二量体化又は重合体化して同一の標的CD3タンパク質の異なるエピトープへの特異性を有する多価抗体を産生することができる。いくつかの実施形態において、この抗体は、例えば、本明細書に参照により援用される、Abbsら、*Ther. Immunol.* 1(6):325-31 (1994)に記載されるように、一価である。

30

【0074】

例示的な抗CD3抗体は、アミノ酸配列GYGMH(配列番号42)を含む重鎖相補性決定領域1(CDRH1)、アミノ酸配列VIWYDGSKKYVDSVKG(配列番号43)、を含む重鎖相補性決定領域2(CDRH2)、アミノ酸配列QMGYW HFDL(配列番号44)を含む重鎖相補性決定領域3(CDRH3)、アミノ酸配列RASQSVSSYL A(配列番号45)を含む軽鎖相補性決定領域1(CDRL1)、アミノ酸配列DASNRA T(配列番号46)を含む軽鎖相補性決定領域2(CDRL2)、及びアミノ酸配列QQRSNW PPLT(配列番号47)を含む軽鎖相補性決定領域3(CDRL3)を含む。

40

【0075】

いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、

50

【化 1】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFKFSGYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGS
KKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQMGYWHFDLWGRGT
LVTVSS (配列番号 48)

を含む重鎖可変領域アミノ酸配列及び

【化 2】

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPA
RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPLTFGGGTKVEIK (配列番号 49)

10

を含む軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

【0076】

好ましくは、抗 CD3 抗体は、

【化 3】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFKFSGYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGS
KKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQMGYWHFDLWGRGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA
PEAEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 50)

20

を含む重鎖アミノ酸配列及び

【化 4】

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPA
RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPLTFGGGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTL
TLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 51)

30

を含む軽鎖アミノ酸配列を含む。この抗 CD3 抗体は本明細書中、NI-0401、フォ
ラルマブ又は 28F11-AE と呼ばれる (例えば、Dean Y, Depis F,
Kosco-Vilbois M. “Combination therapies i
n the context of anti-CD3 antibodies for
the treatment of autoimmune diseases.” Sw
iss Med Wkly. (2012) を参照する (その内容の全体を本明細書に参
照により援用される)。

40

【0077】

いくつかの実施形態において、抗 CD3 抗体は、完全ヒト型抗体又はヒト化抗体である
。いくつかの実施形態において、抗 CD3 抗体製剤は、全長抗 CD3 抗体を含む。別の実
施形態において、抗 CD3 抗体製剤は、CD3 と特異的に結合する抗体断片を含む。いく
つかの実施形態において、抗 CD3 抗体製剤は、全長抗 CD3 抗体及び CD3 と特異的に

50

結合する抗原結合断片の組み合わせを含む。

【0078】

いくつかの実施形態において、抗体又はCD3と結合するその抗原結合断片は、モノクローナル抗体、ドメイン抗体、単鎖、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、scAb、dAb、単ドメイン重鎖抗体、又は単ドメイン軽鎖抗体である。いくつかの実施形態において、このような抗体又はCD3と結合するその抗原結合フラグメントは、マウス、他のげっ歯類、キメラ、ヒト化又は完全ヒト型モノクローナル抗体である。

【0079】

任意選択的に、本開示の製剤に用いられる抗CD3抗体又はその抗原結合フラグメントは、少なくとも1つのアミノ酸変異を含む。典型的には、変異は、定常領域にある。変異により、変化したエフェクター機能を有する抗体を生じる。抗体のエフェクター機能は、Fc受容体又は補体成分などのエフェクター分子に対する抗チアの親和性を変化させる、すなわち、増強又は低減させることにより変化する。例えば、変異により、T細胞からのサイトカイン放出を低減させることができる抗体を生じる。例えば、変異は、アミノ酸残基234、235、265、若しくは297又はこれらの組み合わせの重鎖にある。好ましくは、変異により、位置234、235、265若しくは297のいずれかでのアラニン残基、又は位置235でのグルタミン酸残基、又はこれらの組み合わせを生じる。

【0080】

好ましくは、本明細書中に提供される抗CD3抗体は、生体内での1つ又は複数のサイトカインの重鎖定常領域媒介放出を防ぐ1つ又は複数の変異を含有する。

【0081】

いくつかの実施形態において、本開示の製剤に用いられる抗CD3抗体又はその抗原結合断片は、完全ヒト型抗体である。本明細書で用いられる完全ヒト型CD3抗体は例えば、抗CD3抗体に対する曝露時にサイトカイン放出を有意に低減する又は除去するような、Fc領域のL234A及びL235Eの変異を含む。本明細書で提供される抗CD3抗体のFc領域のL234A及びL235Eの変異は、抗CD3抗体がヒト白血球に曝露される場合、サイトカイン放出を低減する又は除去する一方、以下に記載される変異は、有意なサイトカイン放出能力を維持する。例えば、サイトカイン放出の有意な減少は、Fc領域にL234A及びL235Eの変異を有する抗CD3抗体への曝露時のサイトカイン放出量を1つ又は複数の以下に記載される変異を有する別の抗CD3抗体への曝露時のサイトカイン放出レベルと比較することにより定義される。Fc領域の他の変異は、例えば、L234A及びL235A、L235E、N297A、D265A、又はこれらの組み合わせを含む。

【0082】

ダクチノマイシンナノ粒子

ダクチノマイシンはまた、2-アミノ-N, N'-ビス(ヘキサデカヒドロ-2, 5, 9-トリメチル-6, 13-ビス(1-メチルエチル)-1, 4, 7, 11, 14-ペンタオキソ-1H-ピロロ(2, 1-I)(1, 4, 7, 10, 13)オキサテトラアザシクロヘキサデセン(oxatetra-azacyclohexadecin)-10-イルyl)-4, 6-ジメチル-3-オキソ-3H-フェノキサジン-1, 9-ジカルボキサミド、ActD、アクチノマイシンC1、アクチノマイシンD、アクチノマイシンiv、dactinomycin、dactinomycin、dactinomycin、又はメラクチノマイシンと呼ばれてよい。ダクチノマイシンは、環状デブシペプチドとして知られる種類の有機化合物に属する。環状デブシペプチドは、環状に結合した一連のアミノ酸及びヒドロキシカルボン酸残基(通常α-アミノ酸及びα-ヒドロキシ酸)を有する天然及び／又は非天然(すなわち、合成)化合物を含む。ダクチノマイシン中のアミノ酸及びヒドロキシカルボン酸残基は、反復パターンで交替してよい。

【0083】

10

20

30

40

50

ダクチノマイシンは、*streptomyces parvulus*に由来するフェノキサジンと結合した2個の環状ペプチドから成るポリペプチド抗生物質である。ダクチノマイシンは、DNAと結合し、mRNA転写物の鎖伸長を特異的に妨害することによりRNA合成（転写）を阻害する。ダクチノマイシンはDNA分子に強力だが可逆的に結合する。mRNA産生の障害の結果として、ダクチノマイシン治療後はリボソーム新生及び細胞分裂が低下する。ダクチノマイシンはmRNA産生及びタンパク質合成を阻害するので、ダクチノマイシンは宿主細胞中のコロナウイルス産生を阻害すると仮定される。

【0084】

ダクチノマイシンは非常に腐食性があり、例えば、組織壊死などの多くの有害な副作用を引き起こし得、注入部位での投与後数日から数週間の血管外遊出に続いて粘膜炎を生じ得る。粘膜炎、すなわち、消化管を覆う粘膜の非常に痛い水疱形成、炎症、及び潰瘍。粘膜炎は、ダクチノマイシンで治療されている対象がその治療を継続し、完了することができなくてよい程度まで衰弱させることで有害である。

【0085】

Dactinomycinに関連する毒性の大部分は、投与後最初の数時間の非常に高濃度の薬物によると考えられており、mRNA合成を阻害する有効性を今まで通り維持しながら本明細書に記載されるダクチノマイシンナノ粒子組成物のいずれかあたり10～200 µg/kg/日の範囲のダクチノマイシン用量を徐放的に投与することにより、低減してよい。

【0086】

本開示のダクチノマイシン組成物は、分子標的（例えばリボソーム）の活性を調節することができる。調節とは、分子標的の活性を刺激する又は阻害することを指す。好ましくは、本開示のダクチノマイシン組成物は、前述の化合物の存在のみを欠くことを除いては同一条件下の分子標的の活性と比較して分子標的の活性を、少なくとも2倍刺激する又は阻害する場合、分子標的の活性を調節する。より好ましくは、本開示のダクチノマイシン組成物は、前述の化合物の存在のみを欠くことを除いては同一条件下の分子標的の活性と比較して分子標的の活性を、少なくとも5倍、少なくとも10倍、少なくとも20倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍刺激する又は阻害する場合、分子標的の活性を調節する。分子標的の活性を任意の再現性のある手段によって測定してよい。分子標的の活性を生体外又は生体内で測定してよい。

【0087】

本開示は、1つ又は複数のポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む組成物を提供する。ポリマーとしては、限定されないが、ポリ（乳酸）（PLA）、ポリ（酪酸）、ポリ（吉草酸）、ポリ（カプロラクトン）（PCL）、ポリ（ヒドロキシ酪酸）、ポリ（ラクチド-コ-カプロラクトン）、ポリ（ラクチド-コ-グリコリド）（PLGA）、ポリメチルシアノアクリレート、及びポリ酸無水物、ポリ（オルト）エステル、又はこれらのポリウレタンが挙げられ、ポリマーは任意選択的に、ポリエチレングリコール（PEG）又はポリエチレングリコールメチルエーテル（mPEG）及び／又はこれらの任意の組み合わせをさらに含む。

【0088】

本開示は、混合物、すなわち、ポリ（乳酸）（PLA）、ポリ（酪酸）、ポリ（吉草酸）、ポリ（カプロラクトン）（PCL）、ポリ（ヒドロキシ酪酸）、ポリ（ラクチド-コ-カプロラクトン）、ポリ（ラクチド-コ-グリコリド）（PLGA）、ポリメチルシアノアクリレート、及びポリ酸無水物、ポリ（オルト）エステル、又はこれらのポリウレタンから選択される1つ又は複数のポリマーの混合物を含む組成物を提供する。

【0089】

本開示はまた、混合物、すなわち、ポリ（乳酸）（PLA）、ポリ（酪酸）、ポリ（吉草酸）、ポリ（カプロラクトン）（PCL）、ポリ（ヒドロキシ酪酸）、ポリ（ラクチド-コ-カプロラクトン）、ポリ（ラクチド-コ-グリコリド）（PLGA）、ポリメチルシアノアクリレート、及びポリ酸無水物、ポリ（オルト）エステル、又はこれらのポリウ

10

20

30

40

50

レタンから選択される1つ又は複数のポリマーの混合物を含む組成物であって、ポリマーはさらに、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリエチレングリコールメチルエーテル（mPEG）及び／又はこれらの組み合わせを含む、組成物を提供する。

【0090】

当業者は、放出特性及び／又は動力学は、これらのポリマーの様々な組み合わせを選択することにより変化させる（例えば増加させる又は減少させる）ことができることを認識するだろう。望ましい放出速度を達成するための適切なポリマーの組み合わせの決定は、当該技術分野の型にはまった技術レベルの範疇である。

【0091】

本明細書で用いる場合、ナノ粒子とは、大きさが約1～約500ナノメートル（nm）の粒子を指す。例えば1つの実施形態において、約100nm～約200nmである。

【0092】

1つの実施形態において、本開示の組成物には、ナノ粒子に包まれた及び／又は結合したダクチノマイシンを含む組成物が含まれる。

【0093】

本開示は、ポリ乳酸（PLA）ポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む組成物を提供する。PLAは、典型的にはD及びL鏡像異性体の乳酸の混合物である非晶質（非結晶性の）生分解性ポリマーである。PLAはまた、乳酸の単一の鏡像異性体のみを用いて合成される場合、結晶性ポリマーとしても入手できる。

【0094】

1つの実施形態において、本開示は、PLAを含むナノ粒子に包まれたダクチノマイシンであって、PLAは、約10,000～約24,000Daの範囲の分子量を有し、ダクチノマイシンを徐放できる、ダクチノマイシンを提供する。

【0095】

1つの実施形態において、PLAの分子量は、約10,000Da～約18,000Daである。

【0096】

1つの実施形態において、PLAの分子量は、約18,000Da～約24,000Daである。

【0097】

1つの実施形態において、PLAの分子量は、約10,000Da～約14,000Da、11,000Da～約15,000Da、12,000Da～約16,000Da、13,000Da～約17,000Da、14,000Da～約18,000Da、15,000Da～約19,000Da、16,000Da～約20,000Da、17,000Da～約21,000Da、18,000Da～約22,000Da、19,000Da～約23,000Da、又は20,000Da～約24,000Daである。

【0098】

1つの実施形態において、PLAの分子量は、約10,000Da、約11,000Da、約12,000Da、約13,000Da、約14,000Da、約15,000Da、約16,000Da、約17,000Da、約18,000Da、約19,000Da、約20,000Da、約21,000Da、約22,000Da、約23,000Da、約24,000Daである。

【0099】

本開示は、PLAを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む組成物であって、PLAは、エステル終端である、組成物を提供する。

【0100】

本開示は、PLAを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む組成物であって、PLAは、酸終端形である、組成物を提供する。エステル終端形のPLAは、酸終端形のPLAより疎水性が高く、酸終端形のPLAはより親水性が高い。

【0101】

10

20

30

40

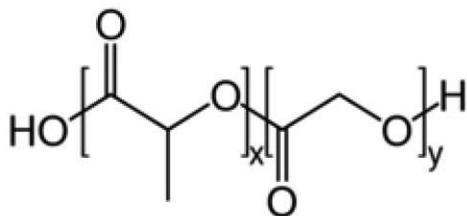
50

1つの実施形態において、エステル末端PLAを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む組成物は、酸末端PLAを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンよりゆっくり分解し、ナノ粒子からダクチノマイシンをゆっくり放出する。

【0102】

本開示は、ポリ（ラクチド-コグリコリド）（PLGA）ポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む組成物を提供する。

【化5】



PLGA: x , 乳酸単位の数;
 y , グリコール酸単位の数

10

【0103】

水性環境において、PLGAは、そのエステル結合の加水分解により生分解する。

20

【0104】

PLAのメチル側鎖は、このポリマーをPGAより疎水性にする。1つの実施形態において、ラクチドが豊富なPLGA共重合体はクチドがあまり豊富でないPLGA共重合体と比較して、親水性が低く、水をあまり吸収せず、そしてゆっくり分解する。

【0105】

1つの実施形態において、分子量が大きいPLGAは、分子量が小さいPLGAよりゆっくり分解する。

【0106】

1つの実施形態において、本開示は、PLGAを含むナノ粒子に包まれたダクチノマイシンであって、PLGAは約7,000Da～約54,000Daの範囲の分子量を有し、ダクチノマイシンを徐放できる、ダクチノマイシンを提供する。

30

【0107】

1つの実施形態において、PLGAの分子量は、約7,000Da～約17,000Da、17,000Da～約27,000Da、27,000Da～約37,000Da、37,000Da～約47,000Da、又は47,000Da～約54,000Daである。

【0108】

1つの実施形態において、PLGAの分子量は、約12,000Da～約22,000Da、22,000Da～約32,000Da、32,000Da～約42,000Da、42,000Da～約52,000Da、又は44,000Da～約54,000Daである。

40

【0109】

1つの実施形態において、PLGAの分子量は、約7,000Da、約8,000Da、約9,000Da、約10,000Da、約11,000Da、約12,000Da、約13,000Da、約14,000Da、約15,000Da、約16,000Da、約17,000Da、約18,000Da、約19,000Da、約20,000Da、約21,000Da、約22,000Da、約23,000Da、約24,000Da、約25,000Da、約26,000Da、約27,000Da、約28,000Da、約29,000Da、約30,000Da、約31,000Da、約32,000Da、約33,000Da、約34,000Da、約35,000Da、約36,000Da、

50

約 37,000 Da、約 38,000 Da、約 39,000 Da、約 40,000 Da、約 41,000 Da、約 42,000 Da、約 43,000 Da、約 44,000 Da、約 45,000 Da、約 46,000 Da、約 47,000 Da、約 48,000 Da、約 49,000 Da、約 50,000 Da、約 51,000 Da、約 52,000 Da、約 53,000 Da、又は約 54,000 Da である。

【0110】

1つの実施形態において、本開示は、PLGAを含むナノ粒子に包まれたダクチノマイシンであって、PLGAは、約95:5、約90:10、約85:15、約80:20、約75:25、約70:30、約65:35、約60:40、約55:45、約50:50、約45:55、約40:60、約35:65、約30:70、約25:75、約20:80、約15:85、約10:90、又は約5:95の乳酸グリコール酸モル比を有する、ダクチノマイシンを提供する。

10

【0111】

1つの実施形態において、本開示は、PLGAを含むナノ粒子に包まれたダクチノマイシンであって、PLGAは、約50:50の乳酸グリコール酸モル比を有する、ダクチノマイシンを提供する。

【0112】

本開示は、ポリ乳酸（PLA）ポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む組成物であって、ジブロック共重合体（PLA-PEG及びPLA-mPEG）を調製し、ダクチノマイシンの徐放を可能にするために、PLAポリマーをポリエチレングリコール（PEG）又はポリエチレングリコールメチルエーテル（mPEG）により合成することができる、組成物を提供する。

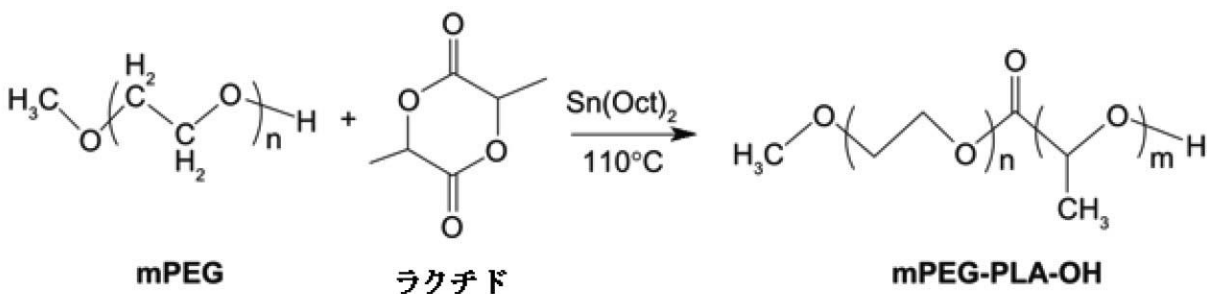
20

【0113】

1つの実施形態において、PLA-mPEG共重合体を以下の模式図にしたがって調製することができる。

【0114】

【化6】



30

【0115】

親水性PEG（及びmPEG）部は、ナノ粒子の面に向き、立体的及び水和反発により異種分子との相互作用を低減する障壁として働く。これらの組成物は、無修飾の、ナノ粒子、すなわち、「非PEG-化」（non-PEG-ylated）又は「非mPEG化」（non-mPEG-ylated）ナノ粒子と比較して長い体循環の半減期を有してよい。

40

【0116】

1つの実施形態において、PLA-PEG及びPLA-mPEGナノ粒子からの薬物放出は、拡散により生じる。1つの実施形態において、PLA-PEG及びPLA-mPEGナノ粒子からの薬物放出は、ポリマー分解により生じる。1つの実施形態において、PLA-PEG及びPLA-mPEGナノ粒子からの薬物放出は、拡散及びポリマー分解により生じる。

【0117】

50

PEG又はmPEGのPLGAに対する比率は、体循環からのナノ粒子のクリアランスに影響してよい。

【0118】

1つの実施形態において、PLA-PEG又はPLA-mPEGジブロック共重合体中のPEG又はmPEGの重量パーセントは、約1重量%、約2重量%、約3重量%、約4重量%、約5重量%、約6重量%、約7重量%、約8重量%、約9重量%、約10重量%、約11重量%、約12重量%、約13重量%、約14重量%、約15重量%、約16重量%、約17重量%、約18重量%、約19重量%、約20重量%、約21重量%、約22重量%、約23重量%、約24重量%、約25重量%、約26重量%、約27重量%、約28重量%、約29重量%、約30重量%、約31重量%、約32重量%、約33重量%、約34重量%、約35重量%、約36重量%、約37重量%、約38重量%、約39重量%、約40重量%、約41重量%、約42重量%、約43重量%、約44重量%、約45重量%、約46重量%、約47重量%、約48重量%、約49重量%、約50重量%、約51重量%、約52重量%、約53重量%、約54重量%、約55重量%、約56重量%、約57重量%、約58重量%、約59重量%、約60重量%、約61重量%、約62重量%、約63重量%、約64重量%、約65重量%、約66重量%、約67重量%、約68重量%、約69重量%、約70重量%、約71重量%、約72重量%、約73重量%、約74重量%、約75重量%、約76重量%、約77重量%、約78重量%、約79重量%、約80重量%、約81重量%、約82重量%、約83重量%、約84重量%、約85重量%、約86重量%、約87重量%、約88重量%、約89重量%、約90重量%、約91重量%、約92重量%、約93重量%、約94重量%、約95重量%、約96重量%、約97重量%、約98重量%、又は約99重量%である。

10

20

【0119】

1つの実施形態において、PLA-PEG又はPLA-mPEGジブロック共重合体中のPEG又はmPEGの重量パーセントは、約1重量%～99重量%、2重量%～95重量%、3重量%～90重量%、4重量%～75重量%、5重量%～50重量%、10重量%～45重量%、15重量%～40重量%、18重量%～35重量%、又は20～30重量%である。

【0120】

1つの実施形態において、PLA-PEG又はPLA-mPEGジブロック共重合体中のPEG又はmPEGの重量パーセントは、約25重量%である。

30

【0121】

1つの実施形態において、PLA-mPEGジブロック共重合体中のmPEGの重量パーセントは、約25重量%である。

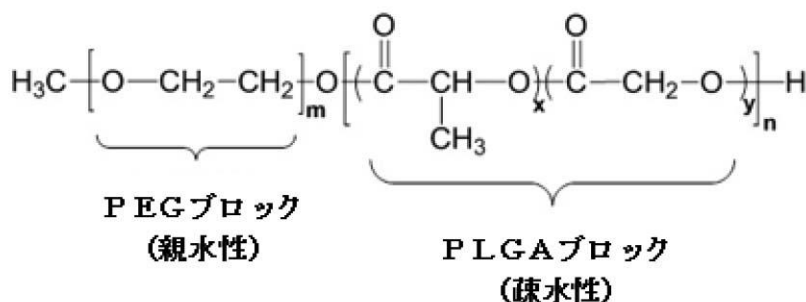
【0122】

本開示は、ポリ(ラクチド-コ-グリコリド(PLGA)ポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含むダクチノマイシン組成物であって、ジブロック共重合体(PLGA-PEG及びPLGA-mPEG)を調製し、ダクチノマイシンの徐放を可能とするために、PLGAポリマーを、ポリエチレングリコール(PEG)又はポリエチレングリコールメチルエーテル(mPEG)により合成することができる、ダクチノマイシン組成物を提供する。1つの実施形態において、PLGA-mPEG共重合体は、以下の概略図に示される一般構造式を有する。

40

【0123】

【化 7】



10

【0124】

親水性PEG（及びmPEG）部は、ナノ粒子の面に向き、立体的及び水和反発により異種分子との相互作用を低減する障壁として働く。これらの組成物は、無修飾の、ナノ粒子、すなわち、「非PEG-化」（non-PEG-ylated）又は「非mPEG化」（non-mPEG-ylated）ナノ粒子と比較して長い体循環の半減期を有してよい。

【0125】

1つの実施形態において、PLGA-PEG及びPLGA-mPEGナノ粒子からの薬物放出は、拡散により生じる。1つの実施形態において、PLGA-PEG及びPLGA-mPEGナノ粒子からの薬物放出は、ポリマー分解により生じる。1つの実施形態において、PLGA-PEG及びPLGA-mPEGナノ粒子からの薬物放出は、拡散及びポリマー分解により生じる。

20

【0126】

PEG又はmPEGのPLGAに対する比率は、体循環からのナノ粒子のクリアランスに影響してよい。

【0127】

1つの実施形態において、PLGA-PEG又はPLGA-mPEGジブロック共重合体中のPEG又はmPEGの重量パーセントは、約1重量%、約2重量%、約3重量%、約4重量%、約5重量%、約6重量%、約7重量%、約8重量%、約9重量%、約10重量%、約11重量%、約12重量%、約13重量%、約14重量%、約15重量%、約16重量%、約17重量%、約18重量%、約19重量%、約20重量%、約21重量%、約22重量%、約23重量%、約24重量%、約25重量%、約26重量%、約27重量%、約28重量%、約29重量%、約30重量%、約31重量%、約32重量%、約33重量%、約34重量%、約35重量%、約36重量%、約37重量%、約38重量%、約39重量%、約40重量%、約41重量%、約42重量%、約43重量%、約44重量%、約45重量%、約46重量%、約47重量%、約48重量%、約49重量%、約50重量%、約51重量%、約52重量%、約53重量%、約54重量%、約55重量%、約56重量%、約57重量%、約58重量%、約59重量%、約60重量%、約61重量%、約62重量%、約63重量%、約64重量%、約65重量%、約66重量%、約67重量%、約68重量%、約69重量%、約70重量%、約71重量%、約72重量%、約73重量%、約74重量%、約75重量%、約76重量%、約77重量%、約78重量%、約79重量%、約80重量%、約81重量%、約82重量%、約83重量%、約84重量%、約85重量%、約86重量%、約87重量%、約88重量%、約89重量%、約90重量%、約91重量%、約92重量%、約93重量%、約94重量%、約95重量%、約96重量%、約97重量%、約98重量%、又は約99重量%である。

30

40

【0128】

1つの実施形態において、PLGA-PEG又はPLGA-mPEGジブロック共重合体中のPEG又はmPEGの重量パーセントは、約1重量%～99重量%、2重量%～95重量%、3重量%～90重量%、4重量%～75重量%、5重量%～50重量%、10

50

重量%～47重量%、15重量%～45重量%、20重量%～42重量%、又は25～45重量%である。

【0129】

1つの実施形態において、PLGA-PEG又はPLGA-mPEGジブロック共重合体中のPEG又はmPEGの重量パーセントは、約35重量%である。

【0130】

1つの実施形態において、PLGA-mPEGジブロック共重合体中のmPEGの重量パーセントは、約35重量%である。

【0131】

本開示はまた、1つ又は複数のポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む本明細書に開示される治療組成物のいずれかであって、ナノ粒子は、約100nm、101nm、102nm、103nm、104nm、105nm、106nm、107nm、108nm、109nm、110nm、111nm、112nm、113nm、114nm、115nm、116nm、117nm、118nm、119nm、120nm、121nm、122nm、123nm、124nm、125nm、126nm、127nm、128nm、129nm、130nm、131nm、132nm、133nm、134nm、135nm、136nm、137nm、138nm、139nm、140nm、141nm、142nm、143nm、144nm、145nm、146nm、147nm、148nm、149nm、150nm、151nm、152nm、153nm、154nm、155nm、156nm、157nm、158nm、159nm、160nm、161nm、162nm、163nm、164nm、165nm、166nm、167nm、168nm、169nm、170nm、171nm、172nm、173nm、174nm、175nm、176nm、177nm、178nm、179nm、180nm、181nm、182nm、183nm、184nm、185nm、186nm、187nm、188nm、189nm、190nm、191nm、192nm、193nm、194nm、195nm、196nm、197nm、198nm、199nm、又は200nmの平均粒径を有する、治療組成物のいずれかを提供する。

【0132】

本開示は、1つ又は複数のポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む本明細書に開示される治療組成物のいずれかであって、ナノ粒子は、約100nm～約110nm、約105nm～約115nm、約110nm～約120nm、約115nm～約125nm、約120nm～約130nm、約125nm～約135nm、約130nm～約140nm、約135nm～約145nm、約140nm～約150nm、約145nm～約155nm、約150nm～約160nm、約155nm～約165nm、約160nm～約170nm、約165nm～約175nm、約170nm～約180nm、約175nm～約185nm、約180nm～約190nm、約185nm～約195nm、又は約190nm～約200nmの平均粒径を有する、治療組成物のいずれかを提供する。

【0133】

1つの実施形態において、ナノ粒子の粒径を、例えばMalvern Nano-ZSゼータサイザーを用いるなどの、当該技術分野において既知の方法を用いて測定してよい。

【0134】

本開示はまた、1つ又は複数のポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む本明細書に開示される治療組成物のいずれかであって、この組成物はさらに界面活性剤を含む、治療組成物のいずれかを提供する。

【0135】

1つの実施形態において、界面活性剤は、各ナノ粒子の約0.01重量%～約10.0重量%を構成する。1つの実施形態において、界面活性剤は、各ナノ粒子の約0.1重量%～約5.0重量%を構成する。例えば、界面活性剤は、各ナノ粒子の約0.2重量%～

10

20

30

40

50

約 4.0 重量%、各ナノ粒子の約 0.5 重量%～約 3.0 重量%、各ナノ粒子の約 1.0 重量%～約 2.5 重量%を構成する。

【0136】

1つの実施形態において、界面活性剤は、各ナノ粒子の約 0.001 重量%、約 0.005 重量%、約 0.01 重量%、約 0.05 重量%、約 0.1 重量%、約 0.2 重量%、約 0.3 重量%、約 0.4 重量%、約 0.5 重量%、約 0.6 重量%、約 0.7 重量%、約 0.8 重量%、約 0.9 重量%、約 1.0 重量%、約 1.1 重量%、約 1.2 重量%、約 1.3 重量%、約 1.4 重量%、約 1.5 重量%、約 1.6 重量%、約 1.7 重量%、約 1.8 重量%、約 1.9 重量%、約 2.0 重量%、約 2.1 重量%、約 2.2 重量%、約 2.3 重量%、約 2.4 重量%、約 2.5 重量%、約 2.6 重量%、約 2.7 重量%、約 2.8 重量%、約 2.9 重量%、約 3.0 重量%、約 3.1 重量%、約 3.2 重量%、約 3.3 重量%、約 3.4 重量%、約 3.5 重量%、約 3.6 重量%、約 3.7 重量%、約 3.8 重量%、約 3.9 重量%、約 4.0 重量%、約 4.1 重量%、約 4.2 重量%、約 4.3 重量%、約 4.4 重量%、約 4.5 重量%、約 4.6 重量%、約 4.7 重量%、約 4.8 重量%、約 4.9 重量%、又は約 5.0 重量%を構成する。

10

【0137】

1つの実施形態において、界面活性剤は、各ナノ粒子の 2.0 重量%未満を構成する。

【0138】

本開示はまた、1つ又は複数のポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む本明細書に開示される治療組成物のいずれかであって、この組成物はさらに界面活性剤を含み、界面活性剤は、ポリビニルアルコール、Tween（登録商標）20、Tween（登録商標）80、ビタミンE TPGS、コール酸ナトリウム、胆汁酸塩（例えば、タウロデオキシコール酸塩）、ポリエチレングリコール（例えば、PEG 600、PEG、PEG 4500、Brij（登録商標）（例えば、20、35、58、及び同種のもの）、及び／又はポロキサマー（例えば、ポロキサマー188、ポロキサマー407など）である、治療組成物のいずれかを提供する。1つの実施形態において、界面活性剤は、ポリビニルアルコールである。1つの実施形態において、界面活性剤は、ポリビニルアルコールであって、このポリビニルアルコールは80%加水分解され、約9,000～約10,000 Daの分子量を有する、ポリビニルアルコールである。

20

【0139】

本開示はまた、1つ又は複数のポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む本明細書に開示される治療組成物のいずれかであって、この組成物はさらに、約1重量%～約50重量%のダクチノマイシンを含む、治療組成物のいずれかを提供する。

30

【0140】

本開示はまた、1つ又は複数のポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む本明細書に開示される治療組成物のいずれかであって、この組成物はさらに、約1重量%、2重量%、3重量%、4重量%、5重量%、6重量%、7重量%、8重量%、9重量%、10重量%、11重量%、12重量%、13重量%、14重量%、15重量%、16重量%、17重量%、18重量%、19重量%、20重量%、21重量%、22重量%、23重量%、24重量%、25重量%、26重量%、27重量%、28重量%、29重量%、30重量%、31重量%、32重量%、33重量%、34重量%、35重量%、36重量%、37重量%、38重量%、39重量%、40重量%、41重量%、42重量%、43重量%、44重量%、45重量%、46重量%、47重量%、48重量%、49重量%、又は50重量%のダクチノマイシンを含む、治療組成物のいずれかを提供する。

40

【0141】

本開示はまた、1つ又は複数のポリマーを含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む本明細書に開示される治療組成物のいずれかであって、この組成物はさらに、約5重量%～約15重量%のダクチノマイシンを含む、治療組成物のいずれかを提

50

供する。

【0142】

本開示はまた、液晶の形成を可能とする液状界面活性剤として機能するリン脂質を含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む治療組成物であって、この治療組成物はさらに、精製水、緩衝剤（グリシンなど）、油成分（例えば、D，L- α -トコフェロール）、及び界面活性剤（例えば、デオキシコール酸ナトリウム又はポリビニルアルコール）を含む、治療組成物を提供する。これらの組成物用のリン脂質の例としては、限定されないが、負に帯電したリン脂質を含むホスファチジルコリン（ホスホリポン（登録商標）80）、ホスファチジルコリンを強化したレシチン画分（ホスホリポン（登録商標）85G）、及び0.1%パルミチン酸アスコルビルで安定化したホスファチジルコリン（ホスホリポン（登録商標）90G）が挙げられる。（例えば、米国特許第7,713,440号明細書、Particle Sciences Technical Brief, 2012, Vol. 4; 及びAnderson, Dら、CRC Concise Encyclopedia of Nanotechnology, Taylor & Francis Group, LLC, 2016, 5 pagesを参照し、これらの全てはその全体を参照により本明細書に援用される）。

10

【0143】

1つの実施形態において、リン脂質を含むナノ粒子に包まれた治療有効量のダクチノマイシンを含む治療組成物を、当該技術分野において既知の任意の方法を用いることにより調製してよい。例えば、ブランクリン脂質組成物（例えば、25mLのホスホリポン（登録商標）90Gを含むリン脂質組成物、精製水、グリシン、D，L- α -トコフェロール、デオキシコール酸ナトリウム）をダクチノマイシン（例えば、375mg）と数時間（例えば、5時間）勢いよく攪拌することにより混合し、その後0.45 μ m CA（酢酸セルロース）フィルターを用いてろ過することによる。

20

【0144】

本開示は、少なくとも1つの薬学的に許容される賦形剤又は担体と併せてナノ粒子に包まれたダクチノマイシンを含む治療組成物を提供する。

【0145】

本開示のナノ粒子に包まれたダクチノマイシン組成物は、その意図される投与経路に適合するよう調剤される。投与経路の例には、静脈内投与が含まれる。静脈内適用に用いられる液剤又は懸濁剤は、以下の成分、注射用水、生理食塩水、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶媒などの無菌希釈液；ベンジルアルコール又はメチルパラベンなどの抗菌剤；アスコルビン酸又は亜硫酸水素ナトリウムなどの抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸などのキレート剤；酢酸塩、クエン酸塩又はリン酸塩などの緩衝剤、及び塩化ナトリウム又はブドウ糖などの浸透圧の調整用の薬剤を含む。pHを、塩酸又は水酸化ナトリウムなどの酸又は塩基により調整することができる。非経口製剤をガラス又はプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジ又は複数用量バイアル（multiple dose vials）に封入することができる。

30

【0146】

本開示のナノ粒子に包まれたダクチノマイシン組成物を、例えば、McCall, R. Lら、J. Vis. Exp. (82), e51015に開示されるような、通常の方法により製造してよい。

40

【0147】

本明細書に開示されるナノ粒子に包まれたダクチノマイシン組成物を、以下の一般的な手順にしたがって調製することができる。

【0148】

ダクチノマイシンの原液（25mg/mL）は、有機溶媒で調製される。

【0149】

ポリマーの原液（例えば、Resomer（登録商標）R 202S及びR 203HなどのPLAを用いる場合、25mg/mL、又はResomer（登録商標）D505

50

0 D L G m P E G 5 0 0 0 (3 5 w t % , P E G) 及び 1 0 0 D L m P E G 5 0 0 0 (2 5 w t % , P E G) を用いる場合、5 0 m g / m L) は、有機溶媒で調製される。

【0150】

ダクチノマイシン溶液をポリマー溶液に、ポリマーの A P I に対する量が 1 0 : 1 の比 (w / w) に達するまで加える。

【0151】

最終溶液を均一になるまでボルテックスする。

【0152】

界面活性剤水溶液 (水相) を調製する。

【0153】

ダクチノマイシンナノ粒子乳濁液の形成は、ポリマー / ダクチノマイシン溶液を少量の水相に、体積で約 1 : 7 の有機相水相比を達するようポリマー溶液全部を加えるまで水相を激しくボルテックスしながら加えることにより成し遂げられる。

【0154】

ボルテックスを継続し、その後混合物を約 0 ° C で超音波処理器に移し、望ましいナノ粒子の粒径に達するまで (例えば、約 1 0 0 n m ~ 約 2 0 0 n m) 数分間超音波処理する。

【0155】

攪拌した大量の水相の界面活性剤溶液を注ぎ、有機溶媒の完全な蒸発が完了するまで室温で激しく攪拌する。

【0156】

この手順の封入効率は、例えば、3 0 % などの、約 1 ~ 5 0 % である。例えば、この手順を 1 0 0 m g の遊離ダクチノマイシンを用いて実行する場合、約 1 ~ 5 0 m g (例えば、約 3 0 m g) のダクチノマイシンがナノ粒子に包まれる。

【0157】

1 つの実施形態において、本明細書に開示されるナノ粒子に包まれたダクチノマイシン組成物のいずれかを、硬化した (h a r d e n e d) 又は硬化した (c u r e d) ナノ粒子を遠心分離し、上清を取り除き、ダクチノマイシンナノ粒子を d d H 2 O で洗浄し、その後さらに数分間遠心分離してペレットを提供することにより、精製することができる。

【0158】

1 つの実施形態において、本明細書に開示されるナノ粒子に包まれたダクチノマイシン組成物のいずれかを、遊離ダクチノマイシンを取り除く目的で、硬化した (h a r d e n e d) 又は硬化した (c u r e d) ナノ粒子を遠心分離し、上清を取り除き、ダクチノマイシンナノ粒子を d d H 2 O で洗浄し、その後さらに数分間遠心分離してペレットを提供することにより、精製することができる。

【0159】

1 つの実施形態において、本明細書に開示されるナノ粒子に包まれたダクチノマイシン組成物のいずれかを、組成物中に残っている 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % 、又はそれ以上の遊離 (包まれていない) ダクチノマイシンを取り除くために精製することができる。したがって、本明細書に記載される組成物又は製剤のいずれか中の、遊離ダクチノマイシンの量は、ナノ粒子に包まれたダクチノマイシンの量の約 5 重量 % 未満 (すなわち、5 重量 % 未満、4 重量 % 未満、3 重量 % 未満、2 重量 % 未満、1 重量 % 未満、0 . 5 重量 % 未満、0 . 1 重量 % 未満) である。1 つの実施形態において、本明細書に開示されるナノ粒子に包まれたダクチノマイシン組成物のいずれかから大きなナノ粒子を除去することは、ペレットを d d H 2 O に再懸濁し、そして数分間遠心分離し、その後上清を収集し、ついで遠心フィルターを用いて濃縮し、そして 1 4 , 0 0 0 x r p m でさらに数分間遠心分離して遊離ダクチノマイシンを取り除くことにより成し遂げられる。

【0160】

1 つの実施形態において、この方法で調製されたナノ粒子に包まれたダクチノマイシン組成物を直接用いることができる。

10

20

30

40

50

【0161】

1つの実施形態において、本明細書に開示されるナノ粒子に含まれたダクチノマイシン組成物を、4℃で数週間まで保存してよい。

【0162】

1つの実施形態において、本明細書に開示されるナノ粒子に含まれたダクチノマイシン組成物は、保存前にスクロース（10～30%）で分散及び冷凍保護してよく、使用前に凍結乾燥してよい。当該技術分野で既知の任意の他の適した凍結保存剤をやはり用いてよい。

【0163】

本明細書に開示されるナノ粒子に含まれた薬物添加ダクチノマイシン組成物を、HPLCを用いて調べた。

【0164】

ActDナノ粒子製剤の調製についてのさらなるガイダンスを、その全体を参照により援用される、McCall, R. L.ら、J. Vis. Exp. (82), e51015に見出すことができる。

【0165】

本開示のナノ粒子に含まれたダクチノマイシン組成物を大規模に製造してよい。このプロセスを促進する目的で、ナノ粒子を作製するために超音波処理の代わりに高圧ホモジナイザーを用いてよい。さらに、遊離ダクチノマイシンを除去し、ナノ粒子を濃縮するために、遠心分離の代わりにタンジェンシャルフロー過／透析ろ過を用いてよい。また、保存時にスクロース、トレハロース、マンニトール及び同種のものなどの凍結防止添加物をナノ粒子に添加し、使用前に凍結乾燥してよい。

【0166】

ダクチノマイシンは、塩を形成することができてよい。これらの塩形の全ても本開示の範囲内に想定される。

【0167】

ダクチノマイシンはまた、例えば薬学的に許容されるエステルなどの、エステルとして調製してよい。例えば、化合物中のカルボン酸官能基を、例えばメチルエステル又は他のエステルなどの、対応するエステルに変換することができる。また、化合物中のアルコール基を、例えば酢酸エステル、プロピオン酸エステル又は他のエステルなどの、対応するエステルに変換することができる。

【0168】

ダクチノマイシンはまた、例えば薬学的に許容されるプロドラッグなどの、プロドラッグとして調製してよい。用語「プロドラッグ (pro-drug)」及び「プロドラッグ (prodrug)」は、本明細書で互換的に用いられ、生体内で活性な親薬物を放出する任意の化合物を指す。プロドラッグは医薬品の多数の望ましい品質（例えば、溶解度、バイオアベイラビリティ、製造など。）を高める。したがって、本開示の化合物をプロドラッグの形態で送達してよい。したがって、本開示は、本発明で主張される化合物のプロドラッグ、その送達方法及びそれを含有する組成物を含むことが意図される。「プロドラッグ」は、このようなプロドラッグが対象に投与された場合、生体内で本開示の活性な親薬物を放出する任意の共有結合で結びついた担体を含むと意図される。本開示のプロドラッグは、この化合物に存在する官能基を、修飾が親化合物に、通常操作か生体内のいずれかで切断されるように、修飾することにより調製される。プロドラッグには、ヒドロキシ、アミノ、スルフヒドリル、カルボキシ又はカルボニル基が、生体内で切断されてそれぞれ遊離ヒドロキシ、遊離アミノ、遊離スルフヒドリル、遊離カルボキシ又は遊離カルボニル基を形成することができる任意の基に結合された本開示の化合物が含まれる。

【0169】

プロドラッグの例としては、限定されないが、本開示の化合物中のヒドロキシ官能基のエステル（例えば、酢酸エステル、ジアルキルアミノ酢酸エステル、ギ酸エステル、リン酸エステル、硫酸エステル及び安息香酸エステル誘導体）並びにカルバミン酸（例えば、

10

20

30

40

50

N, N-ジメチルアミノカルボニル)、カルボキシル官能基のエステル(例えば、エチルエステル、モルホリノエタノールエステル)、アミノ官能基のN-アシル誘導体(例えば、N-アセチル)、N-マンニツヒ塩基、シッフ塩基及びエナミノン、ケトン及びアルデヒド官能基のオキシム、アセタール、ケタール及びエノールエステル、及び同種のものが挙げられ、Bundegaard, H., Design of Prodrugs, p1-92, Elsevier, New York-Oxford (1985). Therapeutic Administration and Formulation of huIL-6R Antibodiesを参照する。

【0170】

本開示の抗体(本明細書中で「活性化合物」とも呼ばれる)、及びその誘導体、フラグメント、類縁体及びホモログを、投与に適した医薬組成物に組み込むことができる。このような組成物を調製することに関する原理及び考察、並びに成分の選択におけるガイダンスは、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences: The Science And Practice Of Pharmacy 19th ed. (Alfonso R. Gennaro, et al., editors) Mack Pub. Co., Easton, Pa.: 1995; Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994; and Peptide And Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, Vol. 4), 1991, M. Dekker, New Yorkに提供される。

【0171】

このような組成物は典型的には、抗体及び薬学的に許容される担体を含む。抗体断片が用いられる場合、標的タンパク質の結合ドメインに特異的に結合する最小の抑制断片が好ましい。例えば、抗体の可変領域配列に基づいて、標的タンパク質配列に結合する能力を保持するペプチド分子を設計することができる。このようなペプチドを化学的に合成する及び／又は組換えDNA技術により作製することができる(例えば、Marascoら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993)を参照する)。

【0172】

本明細書で用いられる場合、用語「薬学的に許容される担体」は、医薬品行政に適合する、任意の及び全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張性及び吸収遅延剤、並びに同種のものを含むと意図される。適した担体は、この分野における標準的な参考図書である、最新版のRemington's Pharmaceutical Sciencesに記載され、これは参照により本明細書に援用される。このような担体又は希釈剤の好ましい例としては、限定されないが、水、生理食塩水、リンゲル液、ブドウ糖溶液、及び5%ヒト血清アルブミンが挙げられる。リポソーム及び固定油などの非水性溶媒も用いることができる。医薬的な活性成分用のこのような媒質及び薬剤の使用は、当該技術分野において周知である。任意の従来の媒質及び薬剤が活性化合物と不適合でない限りは、組成物中でのこれらの使用は想定される。

【0173】

生体内投与用に用いられる製剤は、無菌である必要がある。これは、無菌ろ過膜によるろ過により容易に達成される。

【0174】

本開示の組成物は、その意図される投与経路と適合するよう製剤化される。投与経路の例としては、非経口的、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口(例えば、吸入)、経皮(すなわち、局所)、経粘膜的、及び直腸投与が挙げられる。非経口的、皮内、又は皮下適用に用いられる溶液又は懸濁液は、以下の成分、注射用の水、生理食塩水、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶媒などの無菌希釈

液；ベンジルアルコール又はメチルパラベンなどの抗菌剤；アスコルビン酸又は亜硫酸水素ナトリウムなどの抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸（EDTA）などのキレート剤；酢酸塩、クエン酸塩又はリン酸塩などの緩衝剤、及び塩化ナトリウム又はブドウ糖などの浸透圧の調整用の薬剤を含むことができる。pHを、塩酸又は水酸化ナトリウムなどの酸又は塩基により調整することができる。非経口製剤をガラス又はプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジ又は複数用量バイアル（multiple dose vials）に封入することができる。

【0175】

注射用途に適した医薬組成物は、無菌水溶液（水溶性の場合）又は分散及び無菌注射溶液又は分散の即時調製用の無菌粉末を含む。静脈内投与では、適した担体には、生理食塩水、静菌水、クレモフォールEL（商標）（BASF, Parsippany, N. J.）又はリン酸緩衝食塩水（PBS）が含まれる。全ての場合において、組成物は無菌である必要があり、容易な注射針通過性が存在する程度に流動性があるべきである。組成物は製造及び保存条件下、安定である必要があり、細菌や真菌などの微生物の混入作用から保存される必要がある。単体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコール、及び同種のもの）、並びにこれらの適した混合物などの、溶媒又は分散媒であってよい。適当な流動性を、例えば、レシチンなどのコーティングの使用により、分散の場合必要とされる粒径の維持により、及び界面活性剤の使用により、維持することができる。微生物の作用の防止は、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサル、及び同種のものなどの各種抗菌剤及び抗真菌剤により達成される。多くの場合において、この組成物中に糖、mannitolなどのポリアルコール、ソルビトール、塩化ナトリウムなどの等張化剤を含むことが好ましい。注射用組成物の長期吸収は、組成物中に、例えば、ステアリン酸アルミニウムやゼラチンなどの吸収を遅延させる薬剤を含ませることによりもたらされる。

【0176】

無菌注射溶液を、必要とされる量の活性化合物を適切な溶媒に、必要に応じて上に列挙した成分の1つ又は組み合わせを組み込み、その後ろ過滅菌することにより調製することができる。概して、分散は、基礎分散媒及び上に列挙されたもの必要とされる他の成分を含有する無菌溶媒に活性化合物を組み込むことにより調製される。無菌注射溶液の調製用の無菌粉末の場合、調製方法は、以前にろ過滅菌されたこれらの溶媒から活性成分及び任意の追加の必要と望まれる成分の粉末を得る真空乾燥及び凍結乾燥である。

【0177】

経口組成物は概して、不活性な希釈剤又は食用担体を含む。これらをゼラチンカプセルに封入する又は錠剤に圧縮することができる。経口治療投与の目的で、活性化合物を賦形剤とともに組み込み、そして錠剤、トローチ剤又はカプセルの形態で用いることができる。経口組成物はまた、口腔洗浄薬としての使用のための流体担体を用いて調整することができ、この流体担体中の化合物は経口的に適用され、口の中ですくもろろさせ、嚥下される。薬学的に適合する結合剤、及び／又は補助物質を組成物の一部として含むことができる。錠剤、丸剤、カプセル、トローチ剤及び同種のは、以下の成分、又は類似する性質の化合物のいずれか、結晶セルロースなどの結合剤、ガムトラガント又はゼラチン、デンプン又はラクトースなどの賦形剤、アルギン酸、Primogel又はトウモロコシデンプンなどの崩壊剤；ステアリン酸マグネシウム又はSterotesなどの潤滑剤；コロイド状二酸化ケイ素などの滑剤；スクロース若しくはサッカリンなどの甘味料；又はペパーミント、サリチル酸メチル、若しくはオレンジ香料などの香味料を含むことができる。

【0178】

吸入による投与では、化合物は、二酸化炭素などの気体などの、適した噴霧剤を含有する加圧容器若しくはディスペンサー、又は噴霧器からのエアロゾルスプレーの形態で送達される。

【0179】

活性化合物は、経鼻吸入、口からの吸入、静脈内、経口的、又はこれらの任意の組み合わせにより投与される。あるいは、活性化合物は、腸溶性カプセルにより経口的に投与される。

【0180】

吸入による投与は、吸入器又は噴霧器の形態であってよい（図4）。噴霧器及び／又は吸入器は、携帯型である。任意選択的に、噴霧器及び／又は吸入器は、子供及び／又は大人に適合するよう異なる大きさであってよい。

【0181】

活性化合物を、粒子として処方してよく、薬物粒子を望ましい範囲の粒子径に維持してよい。粒径範囲は、例えば、2～10ミクロンである。

【0182】

いくつかの実施形態において、本開示の製剤又は組成物は、安定性を高め、有効期間を延ばし、粒子の場合には粒子径の均一性を高めるために安定剤、保存剤、リン脂質及び／又は他の成分などの添加物を含有する。いくつかの実施形態において、製剤又は組成物は、薬学的に許容される組成物である。例示的な添加物としては、限定されないが、トレハロース（1～20%）などの界面活性剤、ポリソルベート20（0.01%～0.1%）又はポリソルベート80（0.01%～0.1%）などの乳化剤、塩化ナトリウム（50～200mM）、EDTA又はEGTA（0.1～1mM）、ヒスチジン緩衝液（1～50mM）又はクエン酸ナトリウム（10～50mM）などの緩衝液が挙げられる。製剤用に許容されるpH範囲は、例えば、4.0～7.0であってよい。

【0183】

いくつかの実施形態において、組成物は、IL-6R抗体、ヒスチジン、塩化ナトリウム、及びポリソルベート80を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、IL-6R抗体、ヒスチジン、塩化ナトリウム、及びポリソルベート20を含む。いくつかの実施形態において、ヒスチジンは、約5mM、約10mM、約15mM、約20mM、約25mM、約30mM、約35mM、又は約40mMである。いくつかの実施形態において、ヒスチジンは、約25mMである。いくつかの実施形態において、塩化ナトリウムは、約50mM、約75mM、約100mM、約125mM、約150mM、約175mM又は約200mMである。いくつかの実施形態において、塩化ナトリウムは、約125mMである。いくつかの実施形態において、ポリソルベート80は、約0.01%、約0.02%、約0.03%、約0.04%、約0.05%、約0.06%、約0.07%、約0.08%、約0.09%、又は約0.1%である。いくつかの実施形態において、ポリソルベート80は、約0.02%である。いくつかの実施形態において、ポリソルベート80は、約0.05%である。いくつかの実施形態において、組成物は、約5.0、約6.0、又は約7.0のpHを有する。いくつかの実施形態において、組成物は、約6.0のpHを有する。いくつかの実施形態において、IL-6R抗体は、約5mg/mL、約10mg/mL、約15mg/mL、約20mg/mL、約25mg/mL、約30mg/mL、又は約35mg/mLである。いくつかの実施形態において、IL-6R抗体は、約20mg/mLである。いくつかの実施形態において、ヒスチジンは、25mMであり、塩化ナトリウムは、125mMであり、ポリソルベート80は、0.02%であり、pHは、6.0であり、IL-6R抗体は、20mg/mLである。いくつかの実施形態において、ヒスチジンは、25mMであり、塩化ナトリウムは、125mMであり、ポリソルベート80は、0.05%であり、pHは、6.0であり、IL-6R抗体は、20mg/mLである。

【0184】

いくつかの実施形態において、IL-6R抗体は、配列番号15のアミノ酸配列を含むVH CDR1領域、配列番号37のアミノ酸配列を含むVH CDR2領域、配列番号35のアミノ酸配列を含むVH CDR3領域、配列番号24のアミノ酸配列を含むVL CDR1領域、配列番号25のアミノ酸配列を含むVL CDR2領域、及び配列番号2

10

20

30

40

50

6のアミノ酸配列を含むV L C D R 3領域を含む。

【0185】

いくつかの実施形態において、組成物は、約5mg/mL~50mg/mLのIL-6R抗体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、約5mg/mLのIL-6R抗体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、約10mg/mLのIL-6R抗体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、約15mg/mLのIL-6R抗体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、約20mg/mLのIL-6R抗体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、約25mg/mLのIL-6R抗体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、約30mg/mLのIL-6R抗体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、約35mg/mLのIL-6R抗体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、約40mg/mLのIL-6R抗体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、約45mg/mLのIL-6R抗体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、約50mg/mLのIL-6R抗体を含む。

10

【0186】

いくつかの実施形態において、抗IL-6受容体（抗IL-6R）mAb及び本明細書に記載の組み合わせの安定化され、処方された溶液又は組成物を含有するバイアルは、吸入器及び／又は噴霧器に挿入される。いくつかの実施形態において、抗IL-6受容体（抗IL-6R）mAb及び本明細書に記載の組み合わせの安定化され、処方された溶液を含有するバイアルは、吸入器及び／又は噴霧器の下部に挿入される。いくつかの実施形態において、薬物溶液は、口から微細エアロゾルとして調剤される。

20

【0187】

全身投与はまた、経粘膜的又は経皮的手段によるものであってよい。経粘膜的又は経皮的手段では、浸透される障壁に適切な浸透剤が製剤に用いられる。このような浸透剤は当該技術分野において概ね知られており、例えば、経粘膜的投与では、洗剤、胆汁酸塩、及びフシジン酸誘導体が含まれる。経粘膜的投与は、点鼻薬又は坐剤の使用により達成することができる。経皮的投与では、活性化合物は、当該技術分野で概ね知られる軟膏、膏薬、ゲル又はクリームに製剤化される。

【0188】

化合物はまた、直腸送達用の坐剤（例えば、カカオバター及び他のグリセリドなどの従来の坐剤基剤とともに）又は停留浣腸の形態で調製することができる。

30

【0189】

1つの実施形態において、活性化合物は、植込錠及びマイクロカプセル化デリバリーシステムを含む、徐放／放出制御製剤などの、化合物を身体からの急速な排出から保護する担体で調製される。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸などの生分解性生体適合性ポリマーを用いることができる。このような製剤の調製方法は、当業者にとって明らかであろう。

【0190】

例えば、活性成分を例えば、コアセルベーション技術によって、又は界面重合によって調製されたマイクロカプセル、例えばそれぞれ、ヒドロキシメチルセルロース（hydroxymethylcellulose）又はゼラチンマイクロカプセル及びポリ（メチルメタクリル酸）マイクロカプセルに、コロイド薬物送達システム（例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、及びナノカプセル）又はマクロエマルジョンで捕捉することができる。

40

【0191】

徐放製剤を調製することができる。徐放製剤の適した例としては、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられ、このマトリックスは、例えば、フィルム又はマイクロカプセルなどの形作られた物品の形態である。徐放マトリックスの例としては、ポリエステル、ハイドロゲル（例えば、ポリ（2-ヒドロキシエチルメタクリル酸）、又はポリ（ビニルアルコール）、ポリ乳酸（米国特許第3,773,919号明細書）、L-グルタミン酸とL-グルタミン酸エチルとの共重合体、非分解性エチレン酢酸ビ

50

ニル、LUPRON DEPOT（商標）（乳酸－グリコール酸共重合体及びリュープロリド酢酸塩から成る注射用ミクロスフェア）などの分解性乳酸－グリコール酸共重合体、及びポリD－（－）－3－ヒドロキシ酪酸が挙げられる。エチレン酢酸ビニルや乳酸－グリコール酸などのポリマーは分子を100日間超放出できる一方、特定のハイドロゲルは、タンパク質をより短期間放出する。

【0192】

材料はまた、Alza Corporation and Nova Pharmaceuticals, Incから商業的に得ることができる。リボソーム懸濁液（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を有する感染細胞を標的とするリボソームを含む）も薬学的に許容される担体として用いることができる。これらは例えば、米国特許第4, 522, 811号明細書に記載されるように、当業者にとって公知の方法にしたがって調製することができる。

10

【0193】

容易に投与し、投与量を均一にするために単位剤形の形態で経口又は非経口組成物を製剤することは特に有利である。本明細書で用いられる単位剤形の形態とは、治療すべき対象の単位投与量として適した物理的に分離した単位を指し、各単位は、必要とされる薬学的担体と関連して望ましい治療効果を引き起こすよう計算されたあらかじめ決められた量の活性化化合物を含有する。本開示の単位剤形の形態用の仕様は、活性化化合物固有の特性及び達成されるべき特定の治療効果、及び個人の治療用にこのような活性化化合物を配合する技術に固有の制限によって規定され、直接依存する。

20

【0194】

医薬組成物は、投与説明書と共に容器、パック又はディスペンサーに含めることができる。

【0195】

併用療法

製剤、組成物、及び関連する使用方法は、治療される特定の症状にとって必要な1つを超える活性化化合物、好ましくは互いに有害に影響しない補完的活性を有するものを含むことができる。あるいは、又はそのうえ、組成物は、例えば、細胞傷害性薬物、サイトカイン、化学療法薬、又は増殖抑制剤などの、その機能を強化する薬剤を含むことができる。このような分子は、意図される目的に効果的な量で併せて適切に存在する。

30

【0196】

1つの実施形態において、製剤、組成物、及び関連する使用法の活性化化合物は、併用療法で、すなわち、コロナウイルス感染症に有用な治療薬などの他の薬剤と併せて、投与される。本文脈における用語「併せて」とは、薬剤は、同時に又は経時的にかのいずれかで、実質的に同時存在的に投与されることを表す。経時的に投与される場合、第2の化合物の投与の開始時に、2種類の化合物の最初のものは好ましくは治療部位で有効濃度で検出可能なままである。

【0197】

1つの実施形態において、活性化化合物は、IL-6R抗体である。1つの実施形態において、活性化化合物は、IL-6R抗体及び抗CD3抗体である。1つの実施形態において、活性化化合物は、IL-6R抗体、抗CD3、及びダクチノマイシンである。1つの実施形態において、活性化化合物は、コロナウイルス感染症の治療に用いられる1つ又は複数の治療薬と併せて投与される。1つの実施形態において、治療薬は、バムラニビマブである。1つの実施形態において、治療薬は、エテセビマブである。いくつかの実施形態において、治療薬は、カシリビマブである。いくつかの実施形態において、治療薬は、イムデビマブである。いくつかの実施形態において、治療薬は、レムデシビルである。いくつかの実施形態において、治療薬は、デキサメタゾンである。

40

【0198】

例えば、併用療法は、例えば、抗ウイルス薬、免疫ブースター薬、ビタミンC又はビタミンDなどの1つ又は複数の追加の治療薬と同時に製剤化された及び／又は同時投与され

50

る本開示の1つ又は複数の抗体を含むことができる。このような併用療法は有利なことに、低用量の投与される治療薬を利用してよく、したがって種々の単独療法と関連するあらゆる毒性又は合併症を避けてよい。

【0199】

本開示の抗体と併せて用いられる好ましい治療薬は、コロナウイルス感染症の異なるステージで干渉する薬剤である。1つの実施形態において、本明細書に記載される1つ又は複数の抗体を1つ又は複数の追加の薬剤と同時に製剤化する及び／又は同時投与してよい。

【0200】

いくつかの態様において、本明細書に記載される実施形態のいずれかにより用いられる抗IL-6R mAbsは、例えば、完全ヒト型又はヒト化された本明細書に記載される抗IL-6R mAbsのいずれかであってよい。さらに、抗IL-6R mAbは、アクテムラ（登録商標）（トシリズマブ）又はケブザラ（登録商標）（サリルマブ）であってよい。いくつかの実施形態において、抗IL-6R mAbは、製剤中唯一の抗体であってよい。あるいは、抗IL-6R mAbは、以下の1つ又は複数、抗TNF α 抗体（例えば、ヒュミラ又はレミケード）、抗CD20 mAb（例えば、リツキシマブ又はリツキサン）；抗IFN γ mAb（例えば、Gamifant又はエマパルマブ）；抗顆粒球マクロファージコロニー刺激因子抗体mAb（抗GM-CSF mAb；GSK3196165など）又は抗CD3 mAbs（フォラルマブなど）と併せて用いられる。

【0201】

様々な態様において、抗IL-6R mAbは、抗ウイルス薬、免疫ブースター薬、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE又はこれらの任意の組み合わせと併せて投与される。

【0202】

抗ウイルス薬は、レムデシビル又はアクチノマイシンD（すなわち、ダクチノマイシン）である。

【0203】

いくつかの実施形態において、対象は、吸入によって送達される抗IL-6Rを、ナノ粒子製剤中静脈内に送達される、アクチノマイシンDなどの抗ウイルス薬を投与される。抗IL-6R mAb及びアクチノマイシンDの併用は、COVID-19、SARS、又はMERSなどのコロナウイルス疾患と関連する症状を低減する相乗効果を引き起こす。

【0204】

いくつかの実施形態において、対象は、吸入によって送達される抗IL-6R及び抗CD3抗体を投与される。いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、静脈内に投与される。いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、吸入によって送達される。いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、経口的に送達される。いくつかの実施形態において、抗CD3は、皮下に投与される。抗IL-6R mAb及び抗CD3の併用は、COVID-19、SARS、又はMERSなどのコロナウイルス疾患と関連する症状を低減する相乗効果を引き起こす。

【0205】

いくつかの実施形態において、対象は、吸入によって送達される抗IL-6R、及び追加の治療薬の組み合わせを投与される。いくつかの実施形態において、追加の治療薬は、ダクチノマイシン及び抗CD3抗体である。抗IL-6R mAb、ダクチノマイシン及び抗CD3の併用は、COVID-19、SARS、又はMERSなどのコロナウイルス疾患と関連する症状を低減する相乗効果を引き起こす。

【0206】

広域重合体COVID-19抗原

本開示はさらに、COVID-19ウイルスのSタンパク質由来の広域及び重合体ペプチド抗原及び対象に広域及び重合体COVID-19抗原を投与することによる抗COVID-19抗体の作製方法を提供する。ペプチドは、Sタンパク質から設計された異なる

10

20

30

40

50

免疫原性ペプチドを有するナノ粒子又は適した担体と結合してよい。ウイルスの侵入中、COVID-19のスパイク(S)タンパク質はヒトアンジオテンシン変換酵素2(ACE-2)、COVID-19の推定受容体に結合する(図4)。ACE2は、タンパク質構造において比較的保存されるI型膜貫通メタロカルボキシペプチダーゼである。COVID-19のSタンパク質は、SARS-CoV-1、SARS及びMERSなどのコロナウイルス科に属する他のRNAウイルスのSタンパク質と優れた相同性を共有する。いくつかの独立した研究グループは、COVID-19、SARS及びMERSは、ACE-2を細胞内侵入受容体として利用することを明らかにした。したがって、本開示は、このウイルスにすでに感染した患者のための速効性解毒剤の開発のためにCOVID-19のSタンパク質の使用を提供する。同様に、Sタンパク質はまた、人をCOVID-19、SARS及びMERSから潜在的に保護するワクチンを産生するための抗原としても用いることができる

10

【0207】

いくつかの態様において、Sタンパク質由来の重合体抗原を、Sタンパク質に対する広域ポリクローナル抗体を産生するために健常者に投与してよい。静注用免疫グロブリン(IVIg)としても知られる、ヒト血漿のこのような過免疫血清は、原発性免疫不全を治療するために1952年に最初に用いられた。静注用免疫グロブリン(IVIg)は、プールされた免疫グロブリンG(IgG)、約1000人以上の供血者の血漿からの免疫グロブリンを含有する。

【0208】

20

IVIgは、プールされたヒト血漿から製造された無菌で、精製されたIgG産物であり、典型的には95%超の未修飾IgGを含有し、これは無処置のFc依存性エフェクター機能及び痕跡量の免疫グロブリンA(IgA)又は免疫グロブリンM(IgM)を有する。COVID-19の数人の無症状の患者は、ウイルスの保有者であるが、COVID-19感染症の症状を呈さず、その理由は彼らの血清はこのウイルスに対する抗体を含有するからである。したがって、COVID-19のSタンパク質で免疫化されたヒト対象の血清は、血液中に循環するSタンパク質に対する中和抗体を有してよい。これらの対象の血清を、無菌状態で製造し、精製することができ、COVID-19に対する解毒剤として用いることができる。他の態様において、この方法はさらに対象から免疫グロブリンを分離することを含み、免疫グロブリンがCOVID-19に結合し、中和する、

30

【0209】

CRS、ARDS及びコロナウイルス感染症の治療方法

本開示は、CRS、ARDS又はコロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減することを必要とする対象にIL-6R抗体を含む組成物を投与することを含む、この対象におけるCRS、ARDS又はコロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減する方法を提供する。

【0210】

本開示はさらに、CRS、ARDS、又はコロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減することを必要とする対象に、IL-6R抗体を含む組成物及びダクチノマイシンナノ粒子を含む組成物を投与することを含み、IL-6R抗体を含む組成物の投与及びダクチノマイシンナノ粒子を含む組成物の投与は任意の順序で又は同時に起こってよい、この対象におけるCRS、ARDS、又はコロナウイルス感染症の症状を治療、予防、又は軽減する方法を提供する。

40

【0211】

本開示は、肺炎症性疾患の症状を治療、予防又は軽減することを必要とする対象にIL-6R抗体を含む組成物を投与することを含む、この対象における肺炎症性疾患の症状を治療、予防又は軽減する方法を提供する。

【0212】

本開示はさらに、肺炎症性疾患の症状を治療、予防、又は軽減することを必要とする対象に、IL-6R抗体を含む組成物、及びダクチノマイシンナノ粒子を含む組成物を投与

50

することを含み、IL-6R抗体を含む組成物の投与及びダクチノマイシンナノ粒子を含む組成物の投与は、任意の順序で又は同時に起こってよい、この対象における肺炎症性疾患の症状を治療、予防、又は軽減する方法を提供する。

【0213】

本明細書に記載されるIL-6R抗体を治療薬として用いてよい。このような薬剤は概して、対象のコロナウイルス感染症に関連する疾患又は症状を治療、軽減及び／又は予防するために利用されるだろう。治療計画は、例えば、標準的な方法を用いて、コロナウイルス感染症に苦しむ（又はかかる危険がある）ヒト患者などの対象を同定することによって実行される。いくつかの実施形態において、対象は、コロナウイルス感染症に関連する疾患又は症状を有する。いくつかの実施形態において、対象は、MERS及び／又はその変異体に関連する疾患又は症状を有する。いくつかの実施形態において、対象は、SARS及び／又はその変異体に関連する疾患又は症状を有する。いくつかの実施形態において、対象は、肺炎症性疾患に関連する疾患又は症状を有する。肺炎症性疾患の例としては、ARDS（急性呼吸窮迫症候群）及び全身性肺硬化症が挙げられる。

10

【0214】

IL-6R抗体製剤、好ましくは標的抗原に対する高い特異性及び高い親和性を有するものは、対象に投与され、標的との結合により概して効果を有するだろう。抗体の投与は、標的（IL-6Rcなど）のシグナル伝達機能を抑制又は阻害又は妨害する。

【0215】

抗体の投与は、標的（IL-6Rcなど）の自然に結合する内在性リガンド（gp130など）との結合を抑制又は阻害又は妨害する。例えば、抗体は標的と結合し、IL-6シグナル伝達を調節する、遮断する、阻害する、低減する、弱める、中和する、又は干渉する。いくつかの実施形態において、IL-6抗体は、吸入によって投与される。いくつかの実施形態において、IL-6R抗体は、静脈内に投与される。いくつかの実施形態において、IL-6R抗体は、経口的に送達される。いくつかの実施形態において、IL-6R抗体は、皮下に送達される。

20

【0216】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される治療方法は、IL-6R抗体を他の治療薬と同時投与することを含む。いくつかの実施形態において、IL-6R抗体は、ダクチノマイシンナノ粒子と同時投与される。いくつかの実施形態において、本開示のIL-6R抗体は、ダクチノマイシンナノ粒子の投与前に、同時に又は後に投与される。同時に投与される場合、IL-6R抗体及びダクチノマイシンナノ粒子を共に又は別々に製剤化し、本明細書に記載されるように投与することができる。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される治療方法は、IL-6R抗体をモノクローナル抗体と同時投与することを含む。いくつかの実施形態において、モノクローナル抗体は、抗CD3抗体である。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される治療方法は、吸入によって送達される抗IL-6R及び抗CD3抗体を同時投与することを含む。いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、静脈内に送達される。いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、吸入によって送達される。いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、経口的に送達される。いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、皮下に投与される。いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、フォラルマブである。いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、アミノ酸配列（（配列番号42））を含む重鎖相補性決定領域1（CDRH1）、アミノ酸配列（配列番号43）を含む重鎖相補性決定領域2（CDRH2）、アミノ酸配列（配列番号44）を含む重鎖相補性決定領域3（CDRH3）、アミノ酸配列（配列番号45）を含む軽鎖相補性決定領域1（CDRL1）、アミノ酸配列（配列番号46）を含む軽鎖相補性決定領域2（CDRL2）、及びアミノ酸配列（配列番号47）を含む軽鎖相補性決定領域3（CDRL3）を含む。いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、（配列番号48）を含む可変重鎖アミノ酸配列及び（配列番号49）を含む可変軽鎖アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗CD3抗体は、（配列番号50）を含む重鎖アミノ酸配列及び（配列番号51）を含む軽鎖アミノ

30

40

50

酸配列を含む。抗IL-6R mAb及び抗CD3の併用は、COVID-19、SARS、又はMERSなどのコロナウイルス疾患と関連する症状を低減する相乗効果を引き起こす。

【0217】

いくつかの実施形態において、治療方法は、抗IL-6R抗体及び追加の治療薬の組み合わせを同時投与することを含む。いくつかの実施形態において、追加の治療薬は、ダクチノマイシン及び抗CD3抗体である。抗IL-6R mAb、ダクチノマイシン及び抗CD3の併用は、COVID-19、SARS、又はMERSなどのコロナウイルス疾患と関連する症状を低減する相乗効果を引き起こす。

【0218】

いくつかの実施形態において、対象は、被験者である。いくつかの実施形態において、対象は、コロナウイルス感染症を有する又は有するのではないかと疑われる。いくつかの実施形態において、対象は、コロナウイルスに曝露された又は曝露されたと考えられ、そしてコロナウイルス感染症の症状がまだ現れていない。いくつかの実施形態において、コロナウイルスは、例えば、COVID-19、SARS、又はMERSを引き起こすウイルスである。コロナウイルス感染症の徴候と症状は、例えば、発熱、咳、及び息切れであってよい。

【0219】

活性化化合物は、経鼻吸入、口からの吸入、静脈内、経口的、若しくはこれらの任意の組み合わせ又は本明細書に記載される任意の他の投与経路により投与される。あるいは、活性化化合物は、腸溶性カプセルにより経口的に投与される。

【0220】

吸入による投与は、吸入器又は噴霧器の形態であってよい。噴霧器及び／又は吸入器は、携帯型である。任意選択的に、噴霧器及び／又は吸入器は、子供及び／又は大人に適合するよう異なる大きさであってよい。

【0221】

治療応用において、本発明によって用いられるダクチノマイシンナノ粒子組成物の投与量は、レシipient患者の年齢、体重、病態、治療すべき状態の重症度、投与経路、患者の腎機能及び肝機能、利用される特定の化合物又はその塩に応じて変わる。通常の熟練した医師又は獣医師は、この状態の増悪を予防、対抗又は停止するために必要とされる有効量の活性化化合物を容易に決定及び処方することができる。

【0222】

概して、投与量は、宿主中でのコロナウイルスの複製を遅くするのに充分であるべきであり、好ましくはまたコロナウイルス関連疾患（例えば、COVID-19、SARS、又はMERS）の症状を予防する又は低減する。選択される投与量は、有効治療となるのに充分だが、容認できない副作用を引き起こすほど高いべきでない（例えば、粘膜炎症又はアナフィラキシーショック）。患者の病状（例えば、SARS、MERS、又はCOVID-19）及び健康状態は好ましくは、治療後合理的な期間中又は間、注意深く監視されるべきである。

【0223】

噴霧器又は吸入器によって投与されるIL-6R抗体の投与量は、約10mg～約100mgに及ぶことができる。いくつかの実施形態において、投与量は、約20mg～約100mgである。いくつかの実施形態において、投与量は、約30mg～約100mgである。いくつかの実施形態において、投与量は、約40mg～約100mgである。いくつかの実施形態において、投与量は、約50mg～約100mgである。いくつかの実施形態において、投与量は、約60mg～約100mgである。いくつかの実施形態において、投与量は、約70mg～約100mgである。いくつかの実施形態において、投与量は、約80mg～約100mgである。いくつかの実施形態において、投与量は、約90mg～約100mgである。いくつかの実施形態において、投与量は、約25～約75mgである。いくつかの実施形態において、投与量は、約25mgである。いくつかの実施

10

20

30

40

50

形態において、投与量は、約 50 mg である。いくつかの実施形態において、投与量は、約 75 mg である。

【0224】

いくつかの実施形態において、噴霧器又は吸入器によって投与される IL-6R 抗体は、含む。いくつかの実施形態において、IL-6R 抗体は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む VH CDR1 領域、配列番号 37 のアミノ酸配列を含む VH CDR2 領域、配列番号 35 のアミノ酸配列を含む VH CDR3 領域、配列番号 24 のアミノ酸配列を含む VL CDR1 領域、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む VL CDR2 領域、及び配列番号 26 のアミノ酸配列を含む VL CDR3 領域を含む。

【0225】

IL-6R 抗体の投与量は、単回投与、分割投与、又は連続投与で 1 日あたり約 1 µg / kg ~ 1 日あたり約 30 µg / kg に及ぶことができる（この投与量は、患者の体重 kg、体表面積 m²、及び年齢歳について調整されてよい）。

【0226】

1 つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、治療有効量のダクチノマイシンナノ粒子が約 0.05 ~ 約 2.0 mg * min / L の AUC_∞ を生じるものを含む。

【0227】

1 つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、治療有効量のダクチノマイシンナノ粒子が約 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.45、0.50、0.55、0.60、0.65、0.70、0.75、0.80、0.85、0.90、0.95、1.0、1.05、1.10、1.15、1.20、1.25、1.30、1.35、1.40、1.45、1.50、1.55、1.60、1.65、1.70、1.75、1.80、1.85、1.90、1.95、又は 2.0 mg * min / L の AUC_∞ を生じるものを含む。

【0228】

1 つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、治療有効量のダクチノマイシンナノ粒子が約 0.05 ~ 約 1.0 mg * min / L の AUC_∞ を生じるものを含む。

【0229】

1 つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、治療有効量のダクチノマイシンナノ粒子が約 1 ng / mL ~ 約 30 ng / mL の C_{max} を生じるものを含む。

【0230】

1 つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、治療有効量のダクチノマイシンナノ粒子が約 1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5、20、20.5、21、21.5、22、22.5、23、23.5、24、24.5、25、25.5、26、26.5、27、27.5、28、28.5、29、29.5、又は 30 ng / mL の C_{max} を生じるものを含む。

【0231】

1 つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、治療有効量のダクチノマイシンナノ粒子が約 1 ng / mL ~ 約 20 ng / mL の C_{max} を生じるものを含む。

【0232】

1 つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、治療有効量のダクチノマイシンナノ粒子が約 1 ng / mL ~ 約 5 ng / mL、約 5 ng / mL ~ 約 10 ng / mL、約 10 ng / mL ~ 約 15 ng / mL、又は約 15 ng / mL ~ 約 20 ng / mL の C_{max} を生じるものを含む。

【0233】

1 つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、約 60 % ~ 約 90 % のダクチノマイシンが 2、3、4 又は 5 日後にナノ粒子から放出されるものを含む。

10

20

30

40

50

【0234】

1つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、約60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、又は90%のダクチノマイシンが2、3、4、又は5日後にナノ粒子から放出されるものを含む。

【0235】

1つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、約60%～約90%のダクチノマイシンが3日後にナノ粒子から放出されるものを含む。

【0236】

1つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、約60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、又は90%のダクチノマイシンが3日後にナノ粒子から放出されるものを含む。

【0237】

1つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、約70%～約80%のダクチノマイシンが2、3、4、又は5日後にナノ粒子から放出されるものを含む。

【0238】

1つの実施形態において、本開示の組成物及び方法は、約70%～約80%のダクチノマイシンが3日後にナノ粒子から放出されるものを含む。

【0239】

終点を含めて、ダクチノマイシンナノ粒子を1～30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 投与してよい。特定の実施形態において、終点を含めて、ダクチノマイシンを含む本開示の組成物を10～20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 又は10～15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 投与してよい。

【0240】

ダクチノマイシンナノ粒子を約1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、8 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、9 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、11 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、12 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、13 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、14 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、17 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、18 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、19 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、21 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、22 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、23 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、24 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、26 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、27 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、28 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、29 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、又は30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ で投与してよい。

【0241】

ダクチノマイシンナノ粒子を約5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ～約15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ で投与してよい。特定の実施形態において、ダクチノマイシンナノ粒子を約12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ のこの組成物の治療有効量で投与してよい。特定の実施形態において、ダクチノマイシンナノ粒子を約12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ で投与してよい。

【0242】

治療薬の有効量は、臨床医又は他の資格のある観察者によって認められる客観的に同定可能な改善を提供するものである。例えば、コロナウイルスの複製を遅くすることを、コロナウイルスヌクレオチドを検出するためのPCR増幅法を用いて検出してよい。有効性はまた、乾性咳、肺炎様症状、又は発熱などの症状の低下により示される。

【0243】

長時間作用性の組成物を、特定の製剤の半減期及びクリアランス速度に応じて3～4日毎、毎週、又は2週に1回投与してよい。

【0244】

治療化合物を利用する投与計画は、患者のタイプ、種、年齢、体重、性別及び病状を含む様々な要因にしたがって選択される。投与計画は、本開示の治療化合物の連日投与（2

10

20

30

40

50

4時間毎など)であってよい。投与計画は、例えば、少なくとも2日、少なくとも3日、少なくとも4日、少なくとも5日、少なくとも6日又は少なくとも7日の連続した日数などの連続した日数の、連日投与であってよい。投与は、例えば、1日2回、3回、又は4回などの(24時間あたり)1日1回超であってよい。投与計画は、投与無しの少なくとも1日、少なくとも2日、少なくとも3日、少なくとも4日、少なくとも5日、又は少なくとも6日後の連日投与であってよい。例えば、本開示の治療化合物を24時間で少なくとも1回投与し、ついで本開示の化合物を少なくとも6日間投与せず、本開示の治療化合物を必要とする対象に投与する。

【0245】

投与計画は、1、2、又は3週間にわたり1回又は2回であってよい。

10

【0246】

1つの実施形態において、代表的投与サイクルは、1、2、又は3週間にわたり1回又は2回のIL-6R抗体の投与に続いて本願のナノ粒子組成物のいずれかによる治療、続いて1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、又は6週間の休薬期間、続いて1、2、又は3週間にわたり1回又は2回の本願のナノ粒子組成物のいずれかによる治療を含む。

【0247】

いくつかの実施形態において、IL-6R抗体投薬は、エアロゾル化形態で投与される。いくつかの実施形態において、IL-6R抗体投薬は、噴霧器又は吸入器を用いて投与される。いくつかの実施形態において、噴霧器を用いる投与は、2週間1日置きである。いくつかの実施形態において、噴霧器を用いる投与は、単一用量である。いくつかの実施形態において、噴霧器を用いる投与は、1週間に2回である。いくつかの実施形態において、噴霧器を用いる投与は、1週間に3回である。いくつかの実施形態において、噴霧器を用いる投与は、1週間に4回である。いくつかの実施形態において、噴霧器を用いる投与は、9日に4回である。いくつかの実施形態において、噴霧器を用いる投与は、10日に5回である。いくつかの実施形態において、噴霧器を用いる投与は、12日に6回である。いくつかの実施形態において、噴霧器を用いる投与は、14日に6回である。

20

【0248】

組成物ダクチノマイシンナノ粒子組成物を、1日1回又は1日2回投与してよい。

【0249】

治療の有効性は、コロナウイルス感染症を診断する又は治療する任意の既知の方法に関連して判断される。コロナウイルス感染症の1つ又は複数の症状の軽減により、抗体が臨床的有用性を与えると示される。

30

【0250】

組成物は、投与説明書と共に容器、パック又はディスペンサーに含めることができる。

【0251】

1つの実施形態において、本開示の抗体は、モノクローナル抗体(例えば、完全ヒト型モノクローナル抗体など)を含み、治療薬として用いてよい。このような薬剤は概して、対象のコロナウイルス感染症に関連する疾患又は症状を治療、軽減及び／又は予防するために利用されるだろう。治療計画は、例えば、標準的な方法を用いて、コロナウイルス感染症に苦しむ(又はかかる危険がある)ヒト患者などの対象を同定することによって実行される。抗体製剤、好ましくは標的抗原に対する高い特異性及び高い親和性を有するものは、対象に投与され、標的との結合により概して効果を有するだろう。抗体の投与は、標的(IL-6Rcなど)のシグナル伝達機能を抑制又は阻害又は妨害する。抗体の投与は、標的(IL-6Rcなど)の自然に結合する内在性リガンド(gp130など)との結合を抑制又は阻害又は妨害する。例えば、抗体は標的と結合し、IL-6シグナル伝達を調節する、遮断する、阻害する、低減する、弱める、中和する、又は干渉する。

40

【0252】

いくつかの実施形態において、対象は、被験者である。いくつかの実施形態において、対象は、コロナウイルス感染症を有する又は有するのではないかと疑われる。いくつかの実施形態において、対象は、コロナウイルスに曝露された又は曝露されたと考えられ、

50

そしてコロナウイルス感染症の症状がまだ現れていない。いくつかの実施形態において、コロナウイルスは、例えば、COVID-19、SARS、又はMERSを引き起こすウイルスである。コロナウイルス感染症の徴候と症状は、例えば、発熱、咳、及び息切れであってよい。

【0253】

本開示の抗体の治療有効量は概して、治療目的を達成するために必要とされる量に関連する。前述の通り、これは、特定の場合に、標的の機能性と干渉する、抗体とその標的抗原との間の結合相互作用であってよい。投与されるべき必要とされる量はさらに、抗体の特異的抗原に対する結合親和性に依存し、投与される自由体積の他の対象で投与された抗体が枯渇する速度にも依存するだろう。本明細書に記載される抗体又は抗体断片の治療有効投与量の一般的な範囲は、非限定的な例の目的で、約0.1mg/kg体重～約50mg/kg体重であってよい。一般的な投与頻度は、例えば、1日2回～1週間に1回に及んでよい。

10

【0254】

治療の有効性は、コロナウイルス感染症を診断する又は治療する任意の既知の方法に関連して判断される。コロナウイルス感染症の1つ又は複数の症状の軽減により、抗体が臨床的有用性を与えると示される。

【0255】

定義

別段の定めがない限り、本開示と関連させて用いられる科学用語及び技術用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するものとする。さらに、文脈によって別段の求めがない限り、単数形用語は複数形を含むものとし、複数形用語は単数形を含むものとする。概して、本明細書に記載される細胞培養及び組織培養、分子生物学、及びタンパク質及びオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドの化学及びハイブリダイゼーションと関連して利用される命名法、及びこれらの技術は、当該技術分野で周知であり、一般的に用いられるものである。組換えDNA、オリゴヌクレオチド合成、並びに組織培養及び形質転換（例えば、電気穿孔、リポフェクションなど）には標準的技術が用いられる。酵素反応及び精製技術は、製造業者の仕様にしたがって又は当該技術分野で一般的に達成されるように、又は本明細書に記載されるとおり実行される。前述の技術及び手順は概して、当該技術分野において周知で、本明細書中に引用され、考察される各種の一般的でより具体的な参考文献に記載される従来方法にしたがって実行される。例えば、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))を参照する。本明細書に記載される分析化学、合成有機化学、及び医薬品化学及び製薬化学と関連して利用される命名法、及びこれらの実験室手順及び技術は、当該技術分野で周知であり、一般的に用いられるものである。化学合成、化学分析、医薬品の調製、製剤、及び送達、並びに患者の治療では標準的技術が用いられる。

20

30

【0256】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で用いられる場合、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」及び「1つの(the)」は、文脈上特に明記されていない限り、複数の言及を含む。

40

【0257】

本明細書で用いられる場合、用語「及び／又は」は本開示において、別段の指示がない限り「及び」か「又は」のいずれかを表すために用いられる。

【0258】

本明細書を通して、文脈上別段の解釈を必要としない限り、単語「含む(comprise)」又は「含む(comprises)」又は「含む(comprising)」などの変形は、述べられる要素若しくは整数又は要素若しくは整数の群を包含するが、任意の他の要素若しくは整数又は要素若しくは整数の群を排除しないことを意味すると理解さ

50

れるだろう。

【0259】

本明細書で用いられる場合、用語「約 (about)」及び「約 (approximately)」は、等価物として用いられる。約 (about) / 約 (approximately) の有無に関わらず本明細書で用いられる任意の数字は、関連分野の当業者により理解される任意の通常の変動に及ぶことを表す。特定の実施形態において、用語「約 (approximately)」又は「約 (about)」とは、別段の定めがない限り又は文脈から明らかでない限り（このような数が可能な値の100%を超える場合を除いて）、いずれかの方向に（超又は未満）述べられた参照値の25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、又はそれ未満内に入る値の範囲を指す。

10

【0260】

本開示にしたがって利用される場合、以下の用語は、別段の指示がない限り、以下の意味を有するものと理解されるものとする。

【0261】

本明細書で用いられる場合、用語インターロイキン6受容体、IL-6R、インターロイキン6受容体 α 、IL-6R α 、表面抗原分類要素126、及びCD126は、同義語であり、互換的に用いてよい。これらの用語の各々は、別段の指示がある場合を除いて、ホモ二量体タンパク質を指す。

【0262】

本明細書で用いられる場合、用語CD3とは、CD3 γ 鎖、CD3 δ 鎖、及び／又はCD3 ϵ 鎖を含む、表面抗原分類3タンパク質複合体の任意のタンパク質を指す。いくつかの例において、CD3とは、CD3複合体、個別のCD3鎖、又はCD3鎖のいずれか上の又はCD3複合体上の特異的エピトープを指してよい。

20

【0263】

本明細書で用いられる場合、用語TNFとは、腫瘍壊死因子タンパク質を指し、これはまた腫瘍壊死因子 α 、TNF α 、TNF α 、及び／又はTNF- α と呼ばれてもよく、これらの各々を互換的に用いてよい。

【0264】

本明細書で用いられる場合、用語「コロナウイルス感染症」とは、コロナウイルス科 (Coronaviridae) に属するエンベロープ、認知症にならない (non-demented)、プラス鎖RNAウイルスによる感染症を指す。例えば、コロナウイルスは、SARS-CoV、SARS-CoV-2、MERS-CoV又はこれらの変異体及び／又は変異株である。SARS-CoV-2の変異株としては、限定なく、B.1.351、B.1.1.7、及びP.1を含むことができる。新しい変異又は変異の組を有するコロナウイルスの新しい変異株が生じてよく、これらもまた用語「コロナウイルス感染症」に含まれると理解されるべきである。

30

【0265】

本明細書で用いられる場合、用語「抗体」とは、免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン (Ig) 分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、抗原と特異的に結合する（免疫反応する）抗原結合部位を含有する分子を指す。「特異的に結合する」又は「免疫反応する (immunoreacts with)」又は「向けられる (directed against)」は、抗体が望まれた抗原の1つ又は複数の抗原決定基と反応し、他のポリペプチドとは反応しないか又はずっと低い親和性で ($K_d > 10^{-6}$) 結合することを表す。抗体としては、限定されないが、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ、dAb (ドメイン抗体)、単鎖、Fab、Fab' 及び F(ab')₂ 断片、scFvs、及び Fab 発現ライブラリーが挙げられる。

40

【0266】

基本的な抗体の構造単位は、四量体を含むことが知られている。各四量体は、各ペアが1つの「軽鎖」(約25kDa) 及び1つの「重鎖」(約50~70kDa) を有する、

50

2 個の同一ペアのポリペプチド鎖から成る。各鎖のアミノ末端部は、主に抗原の認識に寄与する約 100～110 又はそれ以上のアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部は、主にエフェクター機能に寄与する定常領域を規定する。ヒトから得られる抗体分子は概して、クラス Ig G、Ig M、Ig A、Ig E 及び Ig D のいずれかに関連し、これは互いにその分子内に存在する重鎖の性質が異なる。特定のクラスは、加えて Ig G1、Ig G2 及び他のものなどのサブクラスを有する。さらにヒトにおいて、軽鎖は、カップ鎖又はラムダ鎖であってよい。

【0267】

本明細書で用いられる用語「モノクローナル抗体」(MAb)又は「モノクローナル抗体組成物」とは、独自の軽鎖遺伝子産物及び独自の重鎖遺伝子産物からなる抗体分子の 1 分子種のみを含有する抗体分子の集団を指す。特に、モノクローナル抗体の相補性決定領域(CDR)は、この集団の全ての分子において同一である。mAb は、それに関する独自の結合親和性により特徴付けられる抗原の特定のエピトープと免疫反応することが可能である抗原結合部位を含む。

10

【0268】

用語「抗原結合部位」又は「結合部」とは、抗原結合に関与する免疫グロブリン分子の一部を指す。抗原結合部位は、重鎖(「H」)及び軽鎖(「L」)のN末端可変(「V」)領域のアミノ酸残基によって形成される。「高頻度可変領域」と呼ばれる、重鎖及び軽鎖のV領域中の3個の高度に多岐にわたる区間が、「フレームワーク領域」又は「FR」として知られるより保存された隣接区間に挿入される。したがって、用語「FR」とは、免疫グロブリンの高頻度可変領域間に及び隣接して自然に見出されるアミノ酸配列を指す。抗体分子において、軽鎖の3個の高頻度可変領域及び重鎖の3個の高頻度可変領域は、抗原結合部位を形成するよう互いに三次元空間に配置される。抗原結合部位は、結合した抗原の三次元表面に相補的であり、重鎖及び軽鎖の各々の3個の高頻度可変領域は、「相補性決定領域」又は「CDR」と呼ばれる。アミノ酸の各領域への割当は、Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991))、又は Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)、Chothia ら、Nature 342:878-883 (1989) の定義と一致する。

20

30

【0269】

本明細書で用いられる場合、用語「エピトープ」は、免疫グロブリン若しくはその断片、又はT細胞受容体に特異的に結合することが可能である任意のタンパク質決定基を含む。用語「エピトープ」は、免疫グロブリン又はT細胞受容体に特異的に結合することが可能である任意のタンパク質決定基を含む。エピトープの決定基は通常、アミノ酸又は糖側鎖などの分子を群別する化学的活性表面から成り、且つ通常特異的三次元構造特徴、並びに特異的電荷特性を有する。抗体は、解離定数(Kd)が、 $\leq 1 \mu\text{M}$ ；例えば $\leq 100 \text{ nM}$ 、好ましくは $\leq 10 \text{ nM}$ 及び最も好ましくは $\leq 1 \text{ nM}$ である場合に、抗原へ特異的に結合すると言われる。

40

【0270】

本明細書で用いられる場合、用語「免疫学的結合」及び「免疫結合特性」とは、免疫グロブリン分子と、それについて免疫グロブリンが特異的である抗原の間に生じる種類の非共有的相互作用を指す。免疫結合相互作用の強度、すなわち親和性は、この相互作用の解離定数(Kd)に関して説明することができ、より小さいKdは、より大きい親和性を表す。選択されたポリペプチドの免疫学的結合特性は、当該技術分野において周知の方法を用いて定量化することができる。そのような方法のひとつは、抗原-結合部位/抗原の複合体の形成及び解離の速度を測定することを含み、ここでそれらの速度は、複合体のパートナーの濃度、相互作用の親和性、及び両方向の速度に同等に影響を及ぼす幾何学的パラメータに依存する。したがって、「オンレート定数」(Kon)及び「オフレート定数」

50

(K o f f) の両方は、濃度並びに会合及び解離の実際の速度を計算することにより、決定することができる (N a t u r e 3 6 1 : 1 8 6 - 8 7 (1 9 9 3) を参照する)。K o f f / K o n 比は、親和性に関連しない全てのパラメータの相殺を可能にし、且つ解離定数 K d と等しい (概して、D a v i e s ら、(1 9 9 0) A n n u a l R e v B i o c h e m 5 9 : 4 3 9 - 4 7 3 を参照する)。本開示の抗体は、放射性リガンド結合アッセイ又は当業者に公知の類似のアッセイなどのアッセイにより測定される平衡結合定数 (K d) が、 $\leq 1 \mu M$ 、好ましくは $\leq 1 0 0 n M$ 、より好ましくは $\leq 1 0 n M$ 、及び最も好ましくは $\leq 1 0 0 p M \sim$ 約 $1 p M$ である場合に、I L - 6 R c 及び / 又は I L - 6 R c と I L - 6 R との両方に特異的に結合すると言われる。

【0271】

10

本明細書で用いられる場合、用語「分離したポリヌクレオチド」は、ゲノム、c D N A 若しくは合成起源又はこれらのいくつかの組み合わせのポリヌクレオチドを表すものとし、この起源のおかげで「分離したポリヌクレオチド」は、(1) 「分離したポリヌクレオチド」が本来見出される「分離したポリヌクレオチド」の全て又は一部と関連せず、(2) 本来結合しないポリヌクレオチドと操作可能に結合し、又は (3) 大きな配列の一部として本来生じない。本開示によるポリヌクレオチドは、配列番号 2、8 及び 1 2 に表される重鎖免疫グロブリン分子をコードする核酸分子及び配列番号 4、6、1 0 及び 1 4 に表される軽鎖免疫グロブリン分子をコードする核酸分子を含む。

【0272】

20

本明細書で称される用語「分離したタンパク質」とは、c D N A、組換え R N A、若しくは合成起源又はこれらのいくつかの組み合わせのタンパク質を表し、この起源、又は誘導源のおかげで「分離したタンパク質」は、(1) 本来見出されるタンパク質と関連せず、(2) 例えば海のたんぱく質を含まないなど、同一供給源の他のタンパク質を含まず、(3) 異なる生物種の細胞により発現され、又は (4) 本来生じない。

【0273】

一般的用語として本明細書で用いられる場合、用語「ポリヌクレオチド」とは、天然タンパク質、ポリペプチド配列の断片又は類縁体を指す。したがって、天然タンパク質断片、及び類縁体は、ポリペプチドの種類の化学種である。本開示によるポリペプチドは、配列番号 2、8、及び 1 2 に表される重鎖免疫グロブリン分子及び配列番号 4、6、1 0、及び 1 4 に表される軽鎖免疫グロブリン分子、並びにカップ軽鎖免疫グロブリン分子などの軽鎖免疫グロブリン分子とともに重鎖免疫グロブリン分子を含む組み合わせ、並びに逆もまた同様によって形成される抗体分子、並びにこれらの断片及び類縁体を含む。

30

【0274】

対象に適用されるように本明細書で用いられる場合用語「天然起源」とは、対象を自然に見出すことができるという事実を指す。例えば、自然の供給源から分離することができる生物 (ウイルスを含む) に存在し、実験室又は他のもので人為的に意図的に改変されていないポリペプチド又はポリヌクレオチド配列は、天然起源である。

【0275】

本明細書で用いられる場合用語「操作可能に結合した」とは、そのように記載された成分の位置がその意図したように機能することを可能にする関係である成分の位置を指す。コード配列と「操作可能に結合した」制御配列は、このコード配列の発現が制御配列と適合する条件下で成し遂げられるように連結される。

40

【0276】

本明細書で用いられる場合用語「制御配列」とは、連結したコード配列の発現及びプロセッシングを引き起こすのに必要なポリマー配列を指す。このような制御配列の性質は、原核生物の宿主生物に応じて異なり、このような制御配列は概して、原核生物のプロモーター、リボソーム結合部位、及び転写終結配列を含み、通常、このような制御配列は、プロモーター及び転写終結配列を含む。用語「制御配列」は、最低でも、その存在が発現及びプロセッシングに必須である全ての構成要素を含むよう意図され、且つその存在が有利である、例えば、リーダー配列及び融合パートナー配列などの、追加の構成要素を含むことも

50

できる。本明細書で称される用語「ポリヌクレオチド」とは、リボヌクレオチドかデオキシヌクレオチドのいずれか、又はいずれかの種類のヌクレオチドの修飾型である、少なくとも長さが10塩基の重合体ホウ素のヌクレオチドを表す。この用語は、一本鎖及び二本鎖型のDNAを含む。

【0277】

本明細書で称される用語「オリゴヌクレオチド」は、天然起源、及び非天然起源のオリゴヌクレオチド結合によって互いに結合された天然起源、及び修飾ヌクレオチドを含む。オリゴヌクレオチドは、概ね200塩基以下の長さを含むポリヌクレオチドサブセットである。オリゴヌクレオチドは、好ましくは長さが10～60塩基、最も好ましくは長さが12、13、14、15、16、17、18、19、又は20～40塩基である。オリゴヌクレオチドは、例えば遺伝子変異体の構築の使用では二本鎖であってよいが、オリゴヌクレオチドは、例えばプローブ用では通常一本鎖である。本開示のオリゴヌクレオチドは、センスかアンチセンスのいずれかのオリゴヌクレオチドである。

【0278】

本明細書で称される用語「天然起源ヌクレオチド」は、デオキシリボヌクレオチド及びリボヌクレオチドを含む。本明細書で称される用語「修飾ヌクレオチド」は、修飾又は置換糖基及び同種のを有するヌクレオチドを含む。本明細書で称される用語「オリゴヌクレオチド結合」は、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロセレルロアート (phosphoroserloate)、ホスホロジセレノアート (phosphorodiselenoate)、ホスホロアニロチオアート (phosphorothioate)、ホスホロアニラダート (phosphorothioanilate)、及び同種のを有する。例えば、LaPlancherら、Nucl. Acids Res. 14:9081 (1986); Stecら、J. Am. Chem. Soc. 106:6077 (1984), Steinら、Nucl. Acids Res. 16:3209 (1988), Zonら、Anti-Cancer Drug Design 6:539 (1991); Zonら、Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); Stecら、米国特許第5,151,510号明細書; Uhlmann and Peyman Chemical Reviews 90:543 (1990)を参照する。

【0279】

本明細書で称される用語「選択的にハイブリッド形成する」とは、検出できるほどに特異的に結合することを表す。本開示によるポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド及びこれらの断片は、非特異的な核酸に対する目に見える量の検出できるほどの結合を最小化するハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で核酸鎖と選択的にハイブリッド形成する。当該技術分野において既知で、本明細書で論じられる選択的ハイブリダイゼーション条件を達成するために、高いストリンジェンシー条件を使用することができる。概して、本明細書に記載されるポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、及び断片と関心対象の核酸配列との間の核酸配列相同性は、少なくとも80%であり、より典型的には少なくとも85%、90%、95%、99%、及び100%の増加した相同性が好ましい。2個のアミノ酸配列は、これらの配列間に部分的な又は完全な同一性がある場合、相同である。例えば、85%の相同性とは、2個の配列の整合が最大となるよう整列する場合、これらのアミノ酸のうち85%が同一であることを表す。ギャップ（整合されている2個の配列のうちいずれかにおける）は、5以下の整合ギャップ長の最大化が好ましく、2以下がより好ましいという点で許容される。あるいは又は好ましくは、2個のタンパク質配列（又は長さが少なくとも30アミノ酸のそれら由来のポリペプチド配列）は、この用語が本明細書で用いられる場合、これらが変異データマトリックス及び6以上のギャップペナルティを有するプログラムALIGNを用いて5より大きいアライメントスコアを有する場合（標準偏

10

20

30

40

50

差単位で)、相同である。Dayhoff, M. O., in Atlas of Protein Sequence and Structure, pp. 101-110 (Volume 5, National Biomedical Research Foundation (1972)) and Supplement 2 to this volume, pp. 1-10を参照する。2個の配列又はこれらの一部はより好ましくは、ALIGNプログラムを用いて至適に整列した場合に50%以上同一であれば、相同である。用語「一致する」は、ポリヌクレオチド配列が参照ポリヌクレオチド配列の全て又は一部に対して相同である(すなわち、同一であり、厳密に進化的に関連していない)、又はポリペプチド配列が参照ポリペプチド配列と同一であることを表すために本明細書で用いられる。対比的に、用語「相補的な」は、相補的配列が参照ポリヌクレオチド配列の全て又は一部に相同であることを表すために本明細書で用いられる。説明のために、核酸配列「TATAC」は、参照配列「TATAC」と一致し、参照配列「GTATA」と相補的である。

10

20

30

40

50

【0280】

以下の用語:「参照配列」、「比較ウインドウ(comparison window)」、「配列相同性」、「配列相同性の割合」、及び「実質的相同性(substantial identity)」は、2個以上のポリヌクレオチド又はアミノ酸配列間の配列の関連性を記載するために用いられる。「参照配列」は、配列比較の基礎として用いられる規定配列であり、参照配列は、例えば、配列表に示される全長cDNA又は遺伝子配列のセグメントとして、大きな配列のサブセットであってよく、又は完全なcDNA又は遺伝子配列を含んでよい。一般的に、参照配列は、長さが少なくとも18ヌクレオチド又は6アミノ酸であり、長さが少なくとも24ヌクレオチド又は8アミノ酸であることが非常に多く、そして長さが少なくとも48ヌクレオチド又は16アミノ酸であることが多い。2個のポリヌクレオチド又はアミノ酸配列は各々、(1)2分子間で類似する配列(すなわち、完全なポリヌクレオチド又はアミノ酸配列の一部)を含んでよく、かつ(2)2個のポリヌクレオチド又はアミノ酸配列間で異なる配列をさらに含んでよく、2個の(又はそれ以上の)分子間の配列比較は典型的には、「比較ウインドウ(comparison window)」上の2個の分子の配列を比較して局所領域の配列類似性を明らかにし、比較することにより実行される。本明細書で用いられる場合、「比較ウインドウ(comparison window)」とは、少なくとも18近接ヌクレオチド位置又は6アミノ酸の概念的セグメントを指し、ここでポリヌクレオチド配列又はアミノ酸配列を少なくとも18近接ヌクレオチド又は6アミノ酸配列の参照配列と比較してよく、比較ウインドウ(comparison window)中のポリヌクレオチド配列の一部は、2個の配列の至適整列のために参照配列と比較して(追加又は削除を含まない)20%以下の追加、削除、置換、及び同種のもの(すなわち、ギャップ)を含んでよい。比較ウインドウ(comparison window)を整列するための配列の至適整列は、Smith and Waterman Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)の局所相同アルゴリズムによって、Needleman and Wunsch J. Mol. Biol. 48:443 (1970)の相同整列アルゴリズムによって、Pearson and Lipman Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 85:2444 (1988)の類似度法の探索によって、これらのアルゴリズム(Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0 (Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), Geneworks、又はMacVector software packagesのGAP、BESTFIT、FASTA、及びTFASTA)のコンピュータ化実装によって、又は検査によって実施されてよく、且つ各種方法によって生成された最良整列(すなわち、比較ウインドウ(comparison window)上の相同性の最高割合を生じる)が選択される。

【0281】

用語「配列相同性」とは、2個のポリヌクレオチド又はアミノ酸配列が比較ウインドウ (comparison window) 上で同一である (すなわち、ヌクレオチドバイヌクレオチド又は残基バイ残基に基づいて) ことを表す。用語「配列相同性の割合」は、比較ウインドウ上の2個の至適に整列された配列を比較し、一致した位置の数を得るために両配列中の同一の核酸塩基 (例えば、A、T、C、G、U又はIなど) 又は残基が生じる位置の数を決定し、一致した位置の数を比較ウインドウ (comparison window) 中の位置の総数 (すなわち、ウインドウの大きさ) で除算し、この結果を100で乗算して配列相同性の割合を得ることにより算出される。本明細書で用いられる用語「実質的相同性」は、ポリヌクレオチド又はアミノ酸配列の特性を表し、このポリヌクレオチド又はアミノ酸配列は、少なくとも18ヌクレオチド (6アミノ酸) 位置の比較ウインドウ (comparison window) 上で、しばしば少なくとも24~48ヌクレオチド (8~16アミノ酸) 位置のウインドウ上で、参照配列と比較して少なくとも85%の配列相同性、好ましくは少なくとも90~95%の配列相同性、より通常は少なくとも99%の配列相同性を有する配列を含み、配列相同性の割合は、参照配列を、比較ウインドウ (comparison window) 上の参照配列の20%以下の総計になる削除又は追加を含んでよい配列と比較することにより算出される。参照配列は、大きな配列のサブセットであってよい。

10

【0282】

本明細書で用いられる場合、20個の従来のアミノ酸及びその略語は、従来の用法に従う。Immunology-A Synthesis (2nd Edition, E. S. Golub and D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland 7 Mass. (1991)) を参照する。20個の従来のアミノ酸の立体異性体 (例えば、D-アミノ酸)、 α -, α -二置換アミノ酸、N-アルキルアミノ酸、乳酸、及び他の非定型のアミノ酸などの非天然アミノ酸も、本開示のポリペプチドに適した化合物であってよい。非定型のアミノ酸の例としては、4ヒドロキシプロリン、 γ -カルボキシグルタミン酸塩、 ϵ -N, N, N-トリメチルリジン、 ϵ -N-アセチルリジン、O-ホスホセリン、N-アセチルセリン、N-ホルミルメチオニン、3-メチルヒスチジン、5-ヒドロキシリジン、 σ -N-メチルアルギニン、並びに他の類似するアミノ酸及びイミノ酸 (例えば、4-ヒドロキシプロリン) が挙げられる。本明細書で用いられるポリペプチド表示法において、標準的な用法及び慣習により、左手方向がアミノ末端方向であり、右手方向がカルボキシ末端である。

20

30

【0283】

同様に、別段の指定がない限り、一本鎖ポリヌクレオチド配列の左手末端は、5'末端であり、二本鎖ポリヌクレオチド配列の左手方向は5'方向と呼ばれる。新生RNA転写物の5'から3'方向の付加は、転写方向と呼ばれ、このRNAと同一の配列を有するDNA鎖状の配列領域で、RNA転写物の5'から5'末端であるものは「上流配列」と呼ばれ、このRNAと同一の配列を有するDNA鎖状の配列領域で、RNA転写物の3'から3'末端であるものは「下流配列」と呼ばれる。

【0284】

ポリペプチドに適用される場合、用語「実質的相同性」とは、2個のペプチド配列は、例えば、デフォルトギャップ重みを用いるプログラムGAP又はBESTFITによって、至適に整列された場合、少なくとも80%の配列相同性、好ましくは少なくとも90%の配列相同性、より好ましくは少なくとも95%の配列相同性、及び最も好ましくは少なくとも99%の配列相同性を共有する。

40

【0285】

好ましくは、同一でない残基位置は、保存的アミノ酸置換で異なる。

【0286】

保存的アミノ酸置換とは、類似の側鎖を有する残基の可換性を指す。例えば、脂肪族側鎖を有するアミノ酸の群は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、及びイソロイシンであり；脂肪族-ヒドロキシル側鎖を有するアミノ酸の群は、セリン及びトレオニンであ

50

り；アミド含有側鎖を有するアミノ酸の群は、アスパラギン及びグルタミンであり；芳香族側鎖を有するアミノ酸の群は、フェニルアラニン、チロシン、及びトリプトファンであり；塩基性側鎖を有するアミノ酸の群は、リジン、アルギニン、及びヒスチジンであり；並びに、イオウ含有側鎖を有するアミノ酸の群は、システイン及びメチオニンである。好ましい保存的アミノ酸置換群は：バリンーロイシンーイソロイシン、フェニルアラニンーチロシン、リジンーアルギニン、アラニンーバリン、グルタミン酸ーアスパラギン酸、及びアスパラギンーグルタミンである。

【0287】

本明細書で考察したように、抗体又は免疫グロブリン分子のアミノ酸配列の小さい変動は、アミノ酸配列内の変動が、少なくとも75%、より好ましくは少なくとも80%、90%、95%、及び最も好ましくは99%を維持することを条件として、本開示により包含されるように想定される。特に、保存的アミノ酸交換が、想定される。保存的交換は、それらの側鎖が関連しているアミノ酸のファミリー内で起こるものである。遺伝的にコードされたアミノ酸は、概ねファミリーに分類される：（1）酸性アミノ酸は、アスパラギン酸、グルタミン酸であり；（2）塩基性アミノ酸は、リジン、アルギニン、ヒスチジンであり；（3）非一極性アミノ酸は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファンであり、並びに（4）非常電極性アミノ酸は、グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、トレオニン、チロシンである。親水性アミノ酸は、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン、グルタミン酸、ヒスチジン、リジン、セリン、及びトレオニンを含む。疎水性アミノ酸は、アラニン、システイン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、トリプトファン、チロシン及びバリンを含む。他のファミリーのアミノ酸は、（i）脂肪族ヒドロキシファミリーである、セリン及びトレオニン；（ii）アミド含有ファミリーである、アスパラギン及びグルタミン；（iii）脂肪族ファミリーである、アラニン、バリン、ロイシン及びイソロイシン、並びに（iv）芳香族ファミリーである、フェニルアラニン、トリプトファン、及びチロシンを含む。例えば、ロイシンのイソロイシン又はバリンとの、アスパラギン酸のグルタミン酸との、トレオニンのセリンとの分離された置換、又はあるアミノ酸の構造的に関連するアミノ酸との同様の置換が生じる分子の結合又は特性に主要な影響を及ぼさないというのは、置換がフレームワーク部位内のアミノ酸に関与しない場合特に、妥当である。アミノ酸の変化が機能ペプチドをもたらすかどうかは、ポリペプチド誘導体の比活性を検定することにより容易に判断することができる。アッセイは、本明細書で詳細に記載する。抗体又は免疫グロブリン分子の断片又は類縁体は、当業者により容易に調製することができる。断片又は類縁体の好ましいアミノ末端及びカルボキシ末端は、機能ドメインの境界付近に生じる。構造及び機能ドメインは、ヌクレオチド及び／又はアミノ酸配列データの公共又は所有配列データベースに対する比較により同定することができる。好ましくは、既知の構造及び／又は機能の他のタンパク質で生じる配列モチーフ又は予測タンパク質コンフォメーションドメインを同定するために、コンピュータ化比較法が使用される。既知の三次元構造に折り畳むタンパク質配列を同定する方法は知られている。Bowleら、Science 253:164 (1991)。したがって、前述の例は、当業者は本開示による構造及び機能ドメインを同定するために用いることができる配列モチーフ及び構造コンフォメーションを認識することができることを立証する。

【0288】

好ましいアミノ酸置換は、（1）タンパク質分解に対する感受性を低下させる、（2）傘下に対する感受性を低下させる、（3）タンパク質複合体を形成するための結合親和性を変える、（4）結合親和性を変える、及び（4）このような類縁体の他の物理化学的又は機能特性を与える又は変更するものである。類縁体は、天然起源ペプチド配列以外の配列の様々な変異タンパク質を含む。例えば、単一の又は複数のアミノ酸置換（好ましくは、保存的アミノ酸置換）は、天然起源配列になされてよい（好ましくは分子間接触を形成するドメインの外部のポリペプチドの一部において）。保存的アミノ酸置換は、親配列の

構造特性を大幅に変えるべきではない（例えば、置換アミノ酸は、親配列に生じるらせんを破壊する、又は親配列を特徴づける他の種類の二次構造を破壊する傾向があるべきではない）。技術分野で認識されたポリペプチド二次及び三次構造の例は、*Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N. Y. (1991)); 及び Thornton et al. *Nature* 354:105 (1991) に記載される。

10

【0289】

本明細書で用いられる用語「ポリペプチド断片」とは、アミノ末端及び／又はカルボキシ末端削除を有するが、残りアミノ酸配列は、例えば、全長cDNA配列から推定される天然起源配列の対応する位置と同一である、ポリペプチドを指す。断片は典型的には、少なくとも5、6、8又は10アミノ酸長、好ましくは少なくとも14アミノ酸長、より好ましくは少なくとも20アミノ酸長、通常は少なくとも50アミノ酸長、及びずっと好ましくは少なくとも70アミノ酸長である。本明細書で用いられる用語「類縁体」とは、推定されるアミノ酸配列の一部と大幅な同一性を有する少なくとも25アミノ酸のセグメントからなり、適した結合条件下でCD3、IL-6Rc及び／又はIL-6RcとIL-6Rとの両方に対する特異的結合を有するポリペプチドを指す。典型的には、ポリペプチド類縁体は、天然起源配列に関して保存的アミノ酸置換（又は追加又は削除）を含む。類縁体は典型的には、少なくとも20アミノ酸長、好ましくは少なくとも50アミノ酸長、又はそれ以上であり、且つ全長天然起源ポリペプチドものの長さであってよいことが多い。

20

【0290】

ペプチド類縁体は、製薬業界においてテンプレートペプチドのものと類似の特性を有する非ペプチド薬として一般的に用いられる。これらの種類の非ペプチド化合物は、「ペプチドミメティック」又は「ペプチド模倣薬」と呼ばれる。Fauchere, J. *Adv. Drug Res.* 15:29 (1986), Veber and Freidinger *TINS* p. 392 (1985); 及びEvansら、J. *Med. Chem.* 30:1229 (1987)。このような化合物はコンピュータ化分子モデリングの助けによって開発されることが多い。治療的に有用なペプチドと構造的に類似するペプチドミメティックは、等価な治療又は予防効果を引き起こすために用いられてよい。ペプチド模倣薬は概して、ヒト抗体などの規範ポリペプチド（すなわち、生化学的特性又は薬理学的特性を有するポリペプチド）と構造的に類似するが、当該技術分野で周知の方法により： $-CH_2NH-$ 、 $-CH=CH-$ （シス及びトランス）、 $-COCH_2-$ 、 $CH(OH)CH_2-$ 、及び $-CH_2SO-$ から成る群から選択される結合により任意選択的に置換された1つ又は複数のペプチド結合を有する。共通配列の1つ又は複数のアミノ酸の同一の種類のD-アミノ酸との系統的な置換（例えば、L-リジンの代わりにD-リジン）は、より安定なペプチドを作製するために用いられてよい。さらに、共通配列又は実質的に同一の共通配列変動を含む拘束性ペプチドを、例えば、ペプチドを環化させる分子内ジスルフィド結合を形成することを可能とする内部システイン残基を加えることにより、当該技術分野で公知の方法によって作製してよい（Rizo and Gierasch *Ann. Rev. Biochem.* 61:387 (1992)）。

30

40

【0291】

用語「薬剤」は、化学化合物、化学化合物の混合物、生物学的高分子、又は生物学的材料から作製された抽出物を意味するように、本明細書において使用される。

【0292】

本明細書で用いられる場合、用語「標識」又は「標識された」とは、例えば、放射標識されたアミノ酸の組み込み又は標識化されたアビジン（例えば、蛍光マーカー又は光学的若しくは熱量測定法により検出されることができると酵素活性を含むストレプトアビジン）

50

によって検出されることができ、バイオチン化部分のポリペプチドへの付着による、検出可能マーカーの組み込みを指す。特定の状況において、標識又はマーカーはまた、治療的であってよい。ポリペプチド及び糖タンパク質を標識化する様々な方法が当該技術分野で公知であり、用いられてよい。ポリペプチド用の標識の例としては、限定されるものではないが、以下のもの：放射性同位体又は放射性核種（例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}T 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I ）、蛍光標識（例えば、FITC、ローダミン、ランタニド、リン光体）、酵素的標識（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、p-ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、化学発光、バイオチン化基、二次レポーターによって認識される予め決められたポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパーペア配列、二次抗体用の結合部位、金属結合領域、エピトープタグ）が挙げられる。いくつかの実施形態において、標識は、可能な立体障害を低減するために様々な長さのスペーサーアームによって付着される。本明細書で用いられる用語「治療薬又は薬物」とは、患者に適切に投与される場合、望ましい治療効果を引き起こすことを可能とする化学化合物又は組成物を指す。

10

【0293】

本明細書の他の化学的用語は、The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Parker, S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco (1985)) によって例証される、当該技術分野の従来用法にしたがって用いられる。

【0294】

20

用語「抗悪性腫瘍薬」は、ヒトの腫瘍、特に細胞腫、肉腫、リンパ腫、又は白血病などの悪性（癌性）病変の発生又は悪化を抑制する機能特性を有する薬物を指すために本明細書で用いられる。転移の抑制は、抗悪性腫瘍薬の特性であることが多い。

【0295】

本明細書で用いられる場合、「実質的に純粋」とは、対象化学種が存在する主な化学種であることを表し（すなわち、モル濃度に基づいて、組成物中の任意の他の個別の化学種より豊富である）、且つ好ましくはかなり精製された画分は、対象化学種が全ての存在する高分子化学種の少なくとも約50%（モル濃度に基づいて）を構成する組成物である。

【0296】

概して、実質的に純粋な組成物は、その組成物中に存在する全ての高分子化学種の約80%超の、より好ましくは約85%超、約90%超、約95%超、及び約99%超を構成する。最も好ましくは、対象化学種は、本質的な均一性まで精製され（従来は組成物中に汚染化学種を検出できない）、この組成物は本質的に、単一の高分子化学種から成る。

30

【0297】

相補性決定領域(CDR)を包含するアミノ酸は、E. A. Kabatらによって定義されるものである(Kabat, E. A.ら、Sequences of Protein of immunological interest, Fifth Edition, US Department of Health and Human Services, US Government Printing Office (1991)を参照する)。

40

【0298】

本明細書で用いられる場合、用語「抗炎症薬」は、限定されることなく、ペントキシフィン及びイブプロフェンなどの、非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)を含む。

【0299】

本明細書で用いられる場合、用語「抗酸化剤」は、限定されることなく、ビタミンC、レチノイン酸（例えば、全てのトランスレチノイン酸）、アミホスチン、及びN-アセチルシステインを含む。

【0300】

本明細書で用いられる場合、用語「用量が有効なように」とは、対象に望ましい生物学

50

的効果を引き起こすための活性化合物の量を指す。

【0301】

本明細書で用いられる場合、用語「休薬期間」とは、コロナウイルス関連疾患の治療用の本開示の医薬組成物のいずれかの投与の間の時間を指す。1つの態様において、休薬期間は、間の1週間、2週間、3週間、4週間、又は任意の時間である。

【0302】

本明細書で用いられる場合、用語「封入」、「包まれる」及び同種のものとは、ダクチノマイシン及び／又は他の薬物又は作用薬がナノ粒子中に包まれる（例えば、完全に又は部分的に）、ナノ粒子と結合する、及び／又はナノ粒子上又は上へと吸着される（adsorbed）ことを表す。

【0303】

用語「増殖及び分化プロモーター」は、限定されることなく、グルタミンを含む。

【0304】

「ナノ粒子組成物」、「ナノ粒子ダクチノマイシン組成物」又は「ダクチノマイシン組成物」は、対象への投与に適した形態の、本明細書に記載されるダクチノマイシンナノ粒子組成物を含有する任意の製剤である。1つの実施形態において、組成物は、原体又は単位剤形である。単位剤形は、例えば、カプセル、IVバッグ、錠剤、エアロゾル吸入器のシングルポンプ又はバイアルを含む、各種形状のいずれかである。組成物の単位用量中の活性成分の量（例えば、開示される化合物又はその塩、水和物、溶媒和化合物又は異性体）は、有効量であり、関与する特定の治療に応じて変わる。当業者は、患者の年齢及び状態に応じて投与量に対して常に変動する必要があるものがあると理解するだろう。投与量はまた、投与経路にも依存する。本開示の化合物を任意の経路で投与してよいが、好ましい投与経路は、静脈内注射又は注入を含む。1つの実施形態において、活性化合物は、薬学的に許容される担体とともに、及び必要とされる任意の保存剤、緩衝液又は噴霧剤とともに、無菌条件下混合される。

【0305】

本明細書で用いられる場合、成句「薬学的に許容される」とは、健全な医学判断の範囲内で、過剰な毒性、刺激、アレルギー応答、又は他の問題若しくは合併症なくヒト及び動物の組織と接触する使用に適して、妥当なベネフィット／リスク比で釣り合った、化合物、物質、組成物、担体、及び／又は剤形を指す。

【0306】

「薬学的に許容される賦形剤」とは、概して安全で、無毒で、生物学的でも望ましくないわけでない組成物を調製するのに有用な賦形剤を表し、且つ、獣医学的用途並びにヒト医薬用途に容認できる賦形剤を含む。明細書及び特許請求の範囲において用いられる「薬学的に許容される賦形剤」は、1つとそれ以上との両方のこのような賦形剤を含む。

【0307】

本明細書で用いられる場合、用語「薬学的に許容される担体」は、医薬品行政に適合する、任意の及び全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張性及び吸収遅延剤、並びに同種のものを含むと意図される。適した担体は、この分野における標準的な参考図書である、最新版のRemington's Pharmaceutical Sciencesに記載され、これは参照により本明細書に援用される。

【0308】

本明細書で用いられる場合、「薬学的に許容される塩」とは、本開示の化合物の誘導体を指し、親化合物は、その酸又は塩基塩を作製することにより修飾される。薬学的に許容される塩の例としては、限定されないが、アミンなどの塩基性残基の鉱酸塩又は有機酸塩、カルボン酸などの酸性残基のアルカリ塩又は有機酸塩、及び同種のもものが挙げられる。薬学的に許容される塩は、例えば、無毒性無機酸又は有機酸から、形成される親化合物の従来の無毒性塩又は四級アンモニウム塩を含む。例えば、このような従来の無毒性塩としては、限定されないが、2-アセトキシ安息香酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、酢酸、アスコルビン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、重炭酸、炭酸、クエン酸、エデト

10

20

30

40

50

酸、エタンジスルホン酸、1,2-エタンスルホン酸、フマル酸、グルコヘプトン酸、グルコン酸、グルタミン酸、グリコール酸、グリコリルアルサニル (glycollyarsanic)、ヘキシルレゾルシン酸、ハイドラバム (hydrabamic) 酸、臭化水素酸、塩酸、ヨウ化水素酸、ヒドロキシマレイン酸、ヒドロキシナフトエ酸、イセチオン酸、乳酸、ラクトビオン酸、ラウリルスルホン酸、マレイン酸、リンゴ酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、ナプシル (napsylic) 酸、硝酸、シュウ酸、パモ酸、パントテン酸、フェニル酢酸、リン酸、ポリガラクトロン酸、プロピオン酸、サリチル酸、ステアリン酸、サブ酢酸 (subacetic)、サクシン酸、スルファミン酸、スルファニル酸、硫酸、タンニン酸、酒石酸、トルエンスルホン酸から選択される無機酸及び有機酸、並びに例えば、グリシン、アラニン、フェニルアラニン、アルギニンなどの一般に生じるアミン酸が挙げられる。

10

【0309】

薬学的に許容される塩の他の例には、ヘキサン酸、シクロペンタンプロピオン酸、ピルビン酸、マロン酸、3-(4-ヒドロキシベンゾイル)安息香酸、ケイ皮酸、4-クロロベンゼンスルホン酸、2-ナフタレンスルホン酸、4-トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸、4-メチルピシクロ-[2.2.2]-オクタ-2-エン-1-カルボン酸、3-フェニルプロピオン酸、トリメチル酢酸、三級ブチル酢酸、ムコン酸、及び同種のもが含まれる。本開示はまた、親化合物に存在する酸性プロトンアルカリ金属イオン、アルカリ土類イオン、又はアルミニウムイオンなどの金属イオンにより置換するか、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、トロメタミン、N-メチルグルカミン、メグルミン、及び同種のものなどの有機塩基と配位させる場合に形成される塩も含む。

20

【0310】

薬学的に許容される塩に対する全ての参照は、同一の塩の、本明細書に定義される溶媒付加形 (溶媒和化合物) 又は結晶形 (多形) を含む。

【0311】

本明細書で用いられる場合、用語「治療有効量」とは、同定された疾患又は状態を治療、軽減、又は予防するための、又は検出可能な治療又は抑制効果を示すための医薬組成物の量を指す。この効果は、当該技術分野で既知の任意のアッセイ方法により検出することができる。本開示の治療有効量の抗体は概して、治療目的を達成するために必要とされる量に関する。前述の通り、これは、特定の場合に、標的の機能性と干渉する、抗体とその標的抗原との間の結合相互作用であってよい。投与されるべき必要とされる量はさらに、抗体の特異的抗原に対する結合親和性に依存し、投与される自由体積の他の対象で投与された抗体が枯渇する速度にも依存するだろう。本開示の抗体又は抗体断片の治療有効投与量の一般的な範囲は、非限定的な例の目的で、約 0.1 mg/kg 体重 ~ 約 50 mg/kg 体重であってよい。対象のための正確な有効量は、対象の体重、大きさ及び健康、そして状態の性質及び程度、及び投与用を選択される治療薬又は治療薬の組み合わせに依存するだろう。一定の状況についての治療有効量を臨床医の技能及び判断中にある通例な実験法により決定することができる。1つの態様において、治療されるべき疾患又は状態は、コロナウイルス感染症と関連する。1つの態様において、治療されるべき疾患又は状態は、COVID-19、SERS、又はMERSなどの疑われる又は診断されるコロナウイルス関連疾患である。

30

40

【0312】

本開示の任意の組成物について、細胞培養アッセイか通常ラット、マウス、ウサギ、イヌ、又はブタである、動物モデルのいずれかで最初に治療有効量を推定することができる。動物モデルはまた、適切な濃度範囲及び投与経路を決定するために用いられてよい。このような情報をヒトの有用な投与量及び投与経路を決定するために用いることもできる。

【0313】

治療／予防有効性及び毒性を細胞培養又は実験動物における標準的な製薬手順、例えば、ED₅₀ (集団の50%に治療有効な量) 及びLD₅₀ (集団の50%に致死の量) に

50

よって決定してよい。毒性と治療効果との間の投与量比は、治療指数であり、比率 $LD50/ED50$ として表現することができる。大きな治療指数を示す組成物が好ましい。投与量は、利用される剤形、患者の感受性、及び投与経路に応じてこの範囲内で変化してよい。

【0314】

用語「サイトカイン」とは、限定されないが、 $IL-2$ 、 $IFN-\gamma$ 、 $TNF-\alpha$ 、 $IL-4$ 、 $IL-5$ 、 $IL-6$ 、 $IL-9$ 、 $IL-10$ 、及び $IL-13$ を含む、細胞表面に発現した細胞外受容体と結合し、これにより細胞機能を調節する、当該技術分野で既知の全てのヒトサイトカインを指す。

【実施例】

【0315】

実施例1：エアロゾル化による投与用 $IL-6$ 標的抗体の製剤化

噴霧器を用いる投与に有用な、エアロゾル化した $IL-6$ 標的抗体を送達するための製剤を開発した。調べた製剤は、 $pH6.0$ でヒスチジン(His)、塩化ナトリウム(NaCl)、ポリソルベート80(PS80)、及び $IL-6$ 標的抗体を含んだ。2個の特定の製剤は、製剤F4($20mg/mL$ 抗 $IL-6$ 抗体、 $25mMHis$ 、 $125mMNaCl$ 、 $0.02\%PS80$ 、 $pH6.0$)及び製剤F5($20mg/mL$ 、抗 $IL-6$ 抗体、 $25mMHis$ 、 $125mMNaCl$ 、 $0.05\%PS80$ 、 $pH6.0$)だった。 $26mg/mL$ $IL-6R$ 抗体、 $25mMHis$ 、 $125mMNaCl$ 、 $pH6.0$ から成る対照緩衝液を用いた。

【0316】

製剤をドライアイス上で凍結した。サンプル製剤を解凍し、そして各々の $1.5mL$ を噴霧器(Aerogen)にロードし、エアロゾル化。エアロゾル化した物質を $1mL$ の対応する緩衝液に回収した。概要を表5に示す。

【表5】

表5. エアロゾル化実験における製剤量の概要

製剤	装置にロードした製剤の量	噴霧された物質を回収するためのボリュウムバッファ	噴霧された物質と回収バッファの総体積	回収された製剤の体積	希釈%
F4	1.5	1	2	1	50%
F5	1.5	1	2.3	1.3	56%

【0317】

噴霧された物質中の $IL-6$ 抗体凝集についてのポリソルベート80濃度の効果を定量するために、回収したサンプルを分子ふるいクロマトグラフィーを用いて分析した。これを行うために、回収したサンプルのうち $2\mu L$ をUPLC SECカラムにロードし、10分間のランタイムで溶出バッファ($0.1M$ リン酸ナトリウム、 $0.2M$ アルギニンHCl、 $pH7.0$)に溶出した。F4(図6)、F5(図7)、及び対照製剤(図8)の各々についてクロマトグラフを作成した。回収したサンプル中の高分子量(HMW)凝集物の定量的プロファイルを決めるためにクロマトグラフを用いた。各製剤についてのHMW凝集プロファイルの概要を表6に示す。

10

20

30

40

50

【表 6】

表 6. エアロゾル化実験の凝集結果の概要

サンプル	HMW 1 面積	% HMW	HMW 2 面積	% HMW 2	主要面積	主要%	予想ロード 量 (μg)	相対 濃度	予想回 収率
コントロール	80.6	0.71	226.5	1.99	11079	97.3	--	--	
F4	51.1	1.2	136.2	3.1	4201	95.7	38%	50.1%	50%
F5	35.6	0.9	110.4	2.9	3691	96.2	33%	43.8%	56%

10

【0318】

対照、F4、及びF5製剤のHMW凝集物の全割当はそれぞれ、2.7%、4.3%、及び3.8%だった。コントロールサンプルと比較して、凝集レベルは、F4では1.6%、F5では1.1%上昇し、製剤中のPS80濃度が上昇すると、エアロゾル化中に抗IL-6抗体を良く保護することが示された。

【0319】

0.02%ポリソルベート20 (PS20) を含有する製剤を比較用に開発し、凝集レベルが0.7%上昇することが示された。

【0320】

要約すると、これらの結果から、ポリソルベート80の濃度は、メッシュ噴霧器の面での剪断に起因する凝集（マクロレベルで且つSEC HPLCにより肉眼的に観察される）を保護するのに重要であることが示される。PS20及びPS80を含有する製剤を評価し、PS80についてはエアロゾル化中のIL-6抗体安定性を維持するためには0.05%濃度が十分だった。

20

【0321】

実施例2：エアロゾル化したIL-6R抗体の投与

IL-6R抗体を肺に送達する目的は、安全で、許容でき、且つ有効な用量のIL-6R抗体をSARS-CoV2気道感染症及びCOVID-19続発症にかかった対象の気道の患部に沈着することである。

【0322】

ヒト臨床試験及び最終的には市販品における使用が意図される実例となる製剤は、少量の界面活性剤（25mM ヒスチジン、125mM NaCl、0.05% ポリソルベート80、pH 6.0）で安定化されたIL-6R抗体の緩衝済水溶液である。この組成物はいくつかの理由により選択された。1つの理由は、中性に近いpHの必要を含む成分の安全性及び忍容性及び等浸透圧組成物に近い可能性を最大化することである。別の理由は、製造、保存及び製剤の使用中のIL-6R抗体の完全性に対する潜在的な損傷を最小化することである。

30

【0323】

エアロゾル化したIL-6R抗体製剤を投与するためのデリバリーシステムは、いくつかの基準に基づいて選択された。選択基準は、COVID-19感染症にかかった患者の使用しやすさ、気道の幹部における十分な沈着を促進する粒子サイズ分布、IL-6R抗体の完全性に対する最小の影響、デリバリーシステムにおけるIL-6R抗体の最小の廃棄物を含む。

40

【0324】

標的患者集団による使用しやすさについては、噴霧器デリバリーシステムが選択された。液体剤形の噴霧器による投与は、外部エネルギー入力によって作成されたエアロゾルを吸入するために患者は簡単な安静呼吸を使用するので、患者はいかなる余分なbreathing努力を必要としない。わずかな協調が必要とされ、人工呼吸した患者でされこの種類の送達を用いることができる。

【0325】

50

メッシュ噴霧器を振動させることは、薬物を速く効率的に送達するので、ジェット噴霧器の改善として開発されてきた。かなり高い送達効率のため（吸入投与後少量の薬物の残留物）、Aerogen Solo振動メッシュ噴霧器が選択された。Aerogen Soloは、FDA認可機器である（510（K）基準）。

【0326】

IL-6R抗体の完全性に対するエアロゾル化の影響を検討するためのいくつかの製剤を選別した。潜在的な有害免疫原性特性のため、タンパク質凝集は特に重要なパラメータである。プロトタイプ製剤（各種緩衝液成分及び安定剤を含む20mg/mL IL-6R抗体）を噴霧化していない製剤と1.5mLの噴霧化後対応する溶媒バッファーに回収した製剤中の凝集状態を比較することにより調べた。分析用分子ふるいクロマトグラフィーを用いて、0.05%ポリソルベート80を含有する製剤でIL-6R抗体の凝集の増加が最小となることを見出し、高分子量凝集の割合は、2.7%～3.8%まで増加した（実施例2参照）。これにより、最終製剤を選択した（25mMヒスチジン、125mM NaCl、0.05%PS80、pH6.0）。

【0327】

IL-6R抗体の送達量を推定するために、Aerogen Solo噴霧器を25mg/mL IL-6R抗体を含有する選択された最終製剤を用いて三通りのランで調べた。連続して接続された2個の回収フィルターの下流に接続された真空ポンプにより達成された一方向流速15L/分を用いたマウスピースへの全送達量を決定した。各ランにおいて、3個の連続する1mLロードの製剤を個別に送達し、フィルターに回収した（フィルターの過負荷を避けるためにラン中に1mLのうち3アリコートの使用をした）。別の三通りのランの前に噴霧器を洗浄し、乾燥させた。

【0328】

平均的に、ロードした1mLあたりの送達量（すなわち、25mg）は、23.7mg IL-6R抗体（ロードした用量の94.8%、範囲88.8～100.3%、n=9）。3回のラン中又は3回の連続ランの間に系統的傾向は観察されなかった。したがって、製剤の1mLあたりの推定送達量は、23.7mgであると結論付けられることができる。

【0329】

患者の口に送達される投与量を推定する目的で、患者が呼息する間に送達量の約50%が失われると仮定することが通例である（O'Callaghan and Barry, 1997）。したがって、吸入された用量は、25mg/mL IL-6R抗体製剤1mLあたり11.8mg/mLであると推定される。

【0330】

送達された投与量の液滴サイズ分布を決定するために、Aerogen Solo振動メッシュ噴霧器から放出されたエアロゾルの液滴サイズ分布のためにレーザー回折法を用いた。各ランについてIL-6R抗体の25mg/mL製剤をロードした用量1mLで3個の噴霧器を三通り調べ、液滴サイズ分布をロードした1mの噴霧化の始まり、中間、及び終わりに測定した。集めたデータの実例を図9に示す。

【0331】

製剤の密度を水のものとはほぼ同一である（すなわち、1g/mL）と仮定して、液滴サイズ分布の空気動学的質量中央径（MMAD）及び幾何標準偏差（GSD）を算出した。3回のサンプリング時間（初期（A）、中間（B）、及び最後（C））での3個の噴霧器での空気動学的質量中央径（MMAD）は、全平均MMADが4.5μmで、A：4.4μm、4.5μm、及び4.7μm；B：3.9μm、4.4μm、及び4.7μm；並びにC：4.6μm、4.8μm、及び4.8μmだった。全てのランにおける3個の噴霧器についての幾何標準偏差（GSD）は、全て1.7μmだった。3個の噴霧器についての3.5μm以下の平均微粒子画分（FPF<3.5）は、33.7%だった（全てのランからの範囲全体30.3～41.7%）。

【0332】

Aerogen Solo 振動メッシュ噴霧器を用いた 25 mg/mL 製剤の送達の実体外性質決定を用いたヒトの IL-6 R 抗体の肺用量を推定した。ヒトの肺用量 (LD) は、吸入された用量を微粒子画分 (FPF) で乗算した積と推定された。吸入された用量及び FPF の生体外結果を用いて、Aerogen Solo 振動メッシュ噴霧器にロードした IL-6 R 抗体製剤の 1 mL あたりのヒトの肺用量を、4 mg、すなわち、ロードした用量 25 mg のうち約 16% と推定した。

【0333】

実施例 3：カニクイザルにおける反復投与吸入毒性試験及び続く 14 日間の回復期間試験の目的及び実験計画

試験の目的は、カニクイザルに対する 5 回の吸入投与（1 日目、4 日目、7 日目、10 日目、及び 13 日目の）後の、試験項目である、エアロゾル化した IL-6 R 抗体製剤の毒性効果及び毒物動態学 (TK) 特性を決定すること、及び 14 日の回復期間後の残留性、遅発性の任意の変化又は任意の変化の可逆性を評価することである。

【0334】

試験は、GLP 規制にしたがって実行される。

【0335】

試験項目及び溶媒対照は、サルのグループに以下の表 7 に記載されるように 5 回の反復吸入投与（1 日目、4 日目、7 日目、10 日目、及び 13 日目に）で投与される。

【表 7】

表 7. 非ヒト霊長類の吸入毒性試験用の実験計画

グループ No.	グループ 名称	標的送達用量 IL-6R 抗体 の濃度 (mg/ kg/日)	IL-6R 抗体 の標的用量 (mg/gram 肺 重量)b	IL-6R 抗体の 標的エアロ ゾル濃度 (mg /L)	曝露期間 (分)	動物の数			
						主要		回復	
						M	F	M	F
1	溶媒対照	0	0	0	60	3	3	2	2
2	低用量	1.25	0.024	0.0392	60	3	3	2	2
3	中用量	6.2	0.12	0.1954	60	3	3	2	2
4	高用量	31	0.6	0.9800	60	3	3	2	2

a = 標的用量レベルは、2.4 kg の類低体重に基づいて算出する。

b = 肺沈着用量は、25% 肺沈着用量（13 グラムの肺重量に基づいて算出した）に基づいて算出した標的肺用量 0.024、0.12 及び 0.6 mg/グラム肺重量を提供する。

M = オス且つ F = メス、; Conc. = 濃度、; Min. = 分

【0336】

主要な動物は、14 日目に安楽死され、剖検を受ける。回復動物は、14 日間の追加の無投与日を観察し、ついで 27 日目に安楽死され、剖検を受ける。

【0337】

T 細胞依存性抗体反応 (TDAR) の評価では、全ての動物に 3 日目に、1 mL/動物の全投与体積で（部位当たり 0.25 mL）複数（4）部位の皮下注射で 10 mg/動物用量の免疫原、キーホールリンペットヘモシアニン (KLH) を投与する。

【0338】

製剤及び吸入曝露システム

エアロゾルは、3 個の臨床噴霧器 (Aeroneb Solo) に対する IL-6 R 抗体又は溶媒対照製剤の流量を計量することにより作製される。作製されたエアロゾルを 40 mm 径のチューブを介してフローパスト吸入曝露システムへと放出する。曝露システムを通じた気流速度をエアロゾル発生中監視し、手動で記録する。曝露システムに対する気流は、面積流量計を用いてエアロゾル発生器が供給する空気の絶対容積によって制御され

る。動物曝露システムからのエアロゾル排気流の制御は、排気弁によって達成される。このシステム（7個のオープンポート）は、各動物曝露位置に対してグループ2及び3には3 L / 分の、そしてグループ1及び4には4 L / 分の最小エアロゾルを提供し、入口及び出口気流は、環境から引き出される空気によって発生したエアロゾルが希釈されないことを確実にするよう平衡を保たれる。流量の任意の微量の変動は、バルーンリザーバーによって緩衝される。エアロゾルの各曝露位置に対する同等の送達は、システムに結合した各々の個別の曝露位置で同一の分配ネットワークを利用することにより達成される。

【0339】

測定と分析

一連の6個の血液サンプル（各々約0.5 mL）を投与前の1日目及び投与後2、6、24、48及び72時間で各サルから採取する。一連の3個の血液サンプルを（各々約0.5 mL）を投与前の4日目並びに投与終了後3及び7時間、及び投与前の13日目並びに投与終了後で各サルから採取する。4及び8時間で各サルから採取する。1個の血液サンプルを回復期の終了時に採取する。この目的のために、各サルを静脈穿刺により出血させて、サンプルを凝固活性化剤を含有するチューブ中に採取する。

【0340】

採取後、血清用の血液サンプルを凝固するよう室温で約30分間静置させ、サンプルを遠心分離し（約4℃で10分間2500 rpm）、そして生じる血清を回収し、適切にラベルしたバイアル又はチューブに2アリコート（セット1及び2）に分割し、凍結保存する（ $\leq -60^{\circ}\text{C}$ ）。

【0341】

気管支肺胞洗浄（BAL）液及び細胞採取、処理並びに生物分析

終了時に全ての動物のBALを実行する。各動物を殺し、肺を動物から除去する。BAL液採取をBAL採取後1時間以内に完了する。BALサンプルを約4℃で10分間、約800 gで遠心分離して細胞を沈殿させる。遠心分離後、洗浄液を別の適した遠心分離チューブに移し（細胞ペレットが崩壊するのを防ぐため）、10分間2000～2500 gで遠心分離して（4℃）細胞片を沈殿させる。各上澄み液のアリコートを2個の別々のチューブに分割し、一方のサンプルを試験項目IL-6 R抗体用に分析し、もう一方のサンプルをIL-6 R抗体に対する抗原用に分析する（ADA）。IL-6 R抗体分析用のサンプルを確認したELISAを用いて分析し、ADAサンプルを将来の可能性が分析用に凍結保存する（ $\leq 60^{\circ}\text{C}$ ）。

【0342】

毒物動態学パラメータを算出する。以下の構成を分析用に用いる。

【0343】

サンプリング方法：リッチ（Rich）

【0344】

AUC計算方法：線形補間を伴う線形台形法（Linear Trapezoidal with Linear Interpolation）

【0345】

ラムダZ（ λz ）法： λz 対数回帰用の最良適合（Best fit for λz , Log regression）

【0346】

重みづけ（ λz 算出）：一様（Uniform）

【0347】

毒物動態学パラメータ（各パラメータの略語及び説明を含む）を表8に記載する。

10

20

30

40

50

【表 8】

表 8. 毒物動態学及び薬物動態学パラメータの要約

パラメータ	略語
投与時から最終定量可能濃度時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積	AUC _{0-Tlast}
投与時から無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積	AUC _{INF}
終末消失半減期	T _{1/2}
最高血漿中濃度	C _{max}
最高血漿中濃度到達時間	T _{max}

10

【0348】

本試験の結果により臨床噴霧器により非ヒト霊長類に投与されたエアロゾル化したIL-6R抗体の毒性及び薬物動態特性が決定される。

【0349】

実施例. 4: エアロゾル化により投与された非ヒト霊長類中の薬物用量

実験例3に記載されるように、動物に60分間エアロゾル化したIL-6R抗体を実施例に記載されるように低投与量、中投与量、及び高投与量で投与した。肺組織のIL-6R抗体の存在を分析し、エアロゾル化粒子径を分析した。

20

【0350】

投与の13日後、重大な臨床症状は観察されなかった。2匹の動物は呼吸促迫及びチアノーゼの形式で臨床症状を示したが、各々回復した。

【0351】

達成された肺投与量は標的投与量レベルに近く、粒子径分析からエアロゾル化製剤は標的粒子径範囲内であることが示される（表9）。

30

40

50

【表 9】

表 9. エアロゾル化により非ヒト霊長類の肺に投与された I L - 6 R 抗体の粒子径及び量の要約

日	グループ	標的肺 (肺の mg/gram)	達成された肺 (肺の mg/gram)	粒子径データ	
				MMAD (μ m)	sg
1	0 (コントロール)	0	0	--	--
	2 (低投与量)	0.024	0.030	2.1	2.50
	3 (中投与量)	0.12	0.13	2.3	2.29
	4 (高投与量)	0.60	0.56	2.5	2.32
4	0 (コントロール)	0	0	--	--
	2 (低投与量)	0.024	0.030	3.7	3.44
	3 (中投与量)	0.12	0.13	2.8	2.5
	4 (高投与量)	0.60	0.56	3.3	2.49
7	0 (コントロール)	0	0	--	--
	2 (低投与量)	0.024	0.027	2.3	2.69
	3 (中投与量)	0.12	0.117	2.5	2.39
	4 (高投与量)	0.60	0.50	2.7	2.40
10	0 (コントロール)	0	0	--	--
	2 (低投与量)	0.024	0.023	1.8	2.05
	3 (中投与量)	0.12	0.123	1.6	2.04
	4 (高投与量)	0.60	0.50	2.7	2.19
13	0 (コントロール)	0	0	--	--
	2 (低投与量)	0.024	0.026	2.1	2.66
	3 (中投与量)	0.12	0.11	2.3	2.6
	4 (高投与量)	0.60	0.52	2.2	2.99

MMAD = 空気動力学的質量中央径

【 0 3 5 2 】

これらの結果は、噴霧器を用いるエアロゾル化により、I L - 6 R 抗体を非ヒト霊長類の肺に製剤 F 5 (2 0 m g / m L 抗 I L - 6 抗体、2 5 m M H i s、1 2 5 m M N a C l、0 . 0 5 % P S 8 0、p H 6 . 0) を用いて信頼性のある予測可能な薬物用量の正確さで投与できることを示す。

10

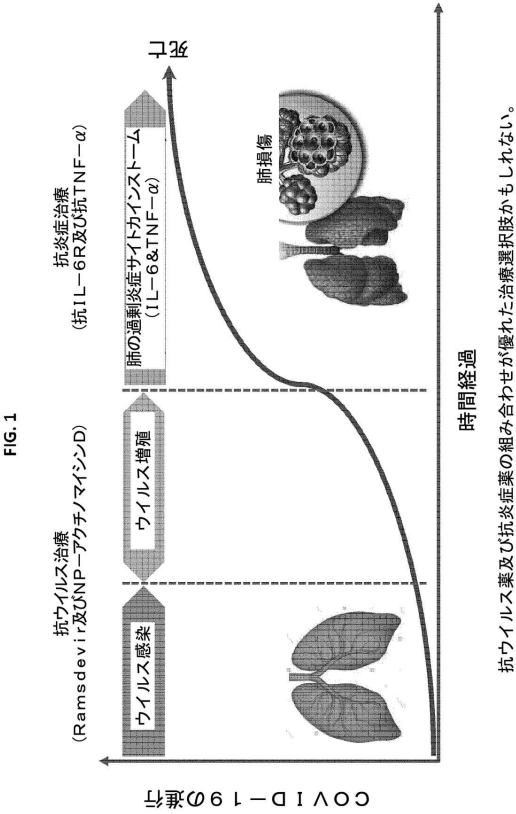
20

30

40

50

【図面】
【図 1】



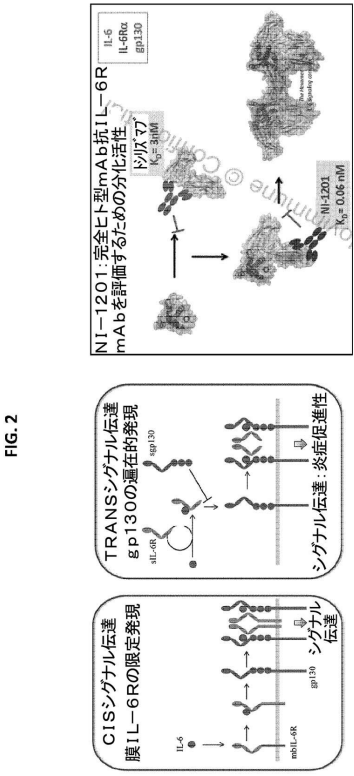
【図 3】

FIG. 3

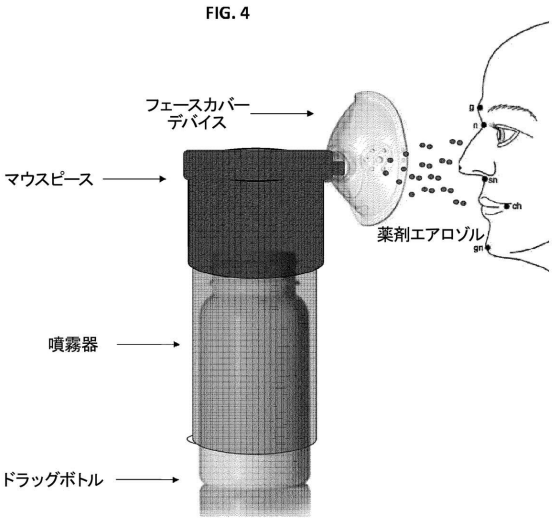
比較: NI-1201 (TZLS-501) 対 認可された抗IL-6製品

アクトテムラ (トシズマブ)	ケプザラ (サルマブ)	NI-1201
- FDAに認可され、RA、若年性関節炎用に販売 - ヒトIL-6は可溶性、ヒトIL-6Rは可溶性、両方に結合する - トランスシグナル伝達をあまり遮断しないので、炎症下では効果的にIL-6レベルを下げられない 1、2及び8 mg/kg/週投与 - 疾患修飾性抗リウマチ薬 (DMARDs) 及びMTXと併用 - 有害作用: - 好中球減少症 - ALT上昇 - 脂質レベル上昇 - 免疫抑制 - 悪性腫瘍が観察された	- 中程度から重度のRAを治療するためにカナダ保健省で認可された (米国ではない) - ヒトIL-6は可溶性及びヒトIL-6Rの両方に結合する 200 mg/2週間で皮下投与 - MTXと併用 - 有害作用: - 好中球減少症 (6~10%) - ALT上昇 (4~5%) - 注射部位の紅斑 (3~4%) - 上気道感染症 (3%)	- 第一世代の製品の制限に起因する組み合わせ設計された、初期候補 - 完全ヒト型mAbは、可溶性及びヒトIL-6R複合体の両方に結合する - IL-6Rシグナル伝達をトランスシグナル伝達を強力な阻害薬は、血漿IL-6を枯渇させる - アクトテムラ及びケプザラより優位性を示す - 動物試験におけるPOCでは非臨床研究が必要とされる - IND申請には3~4年必要

【図 2】



【図 4】



10

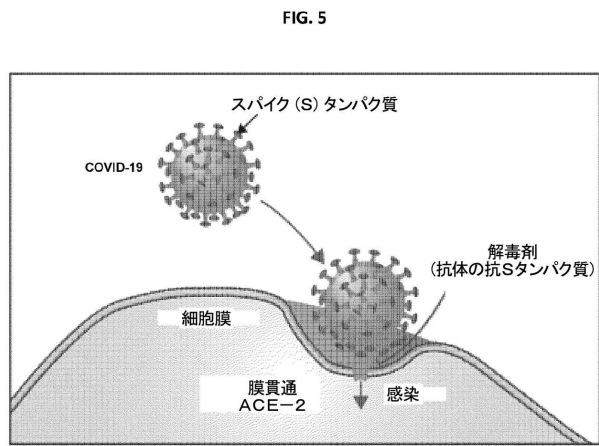
20

30

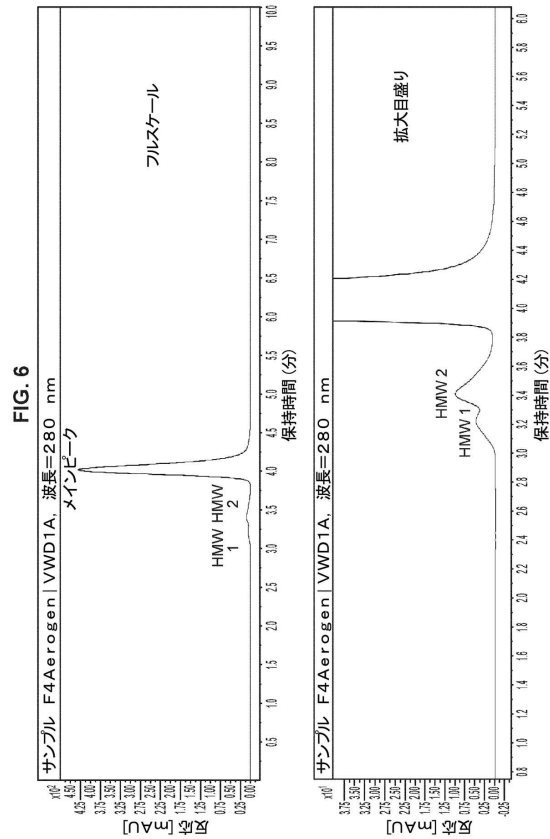
40

50

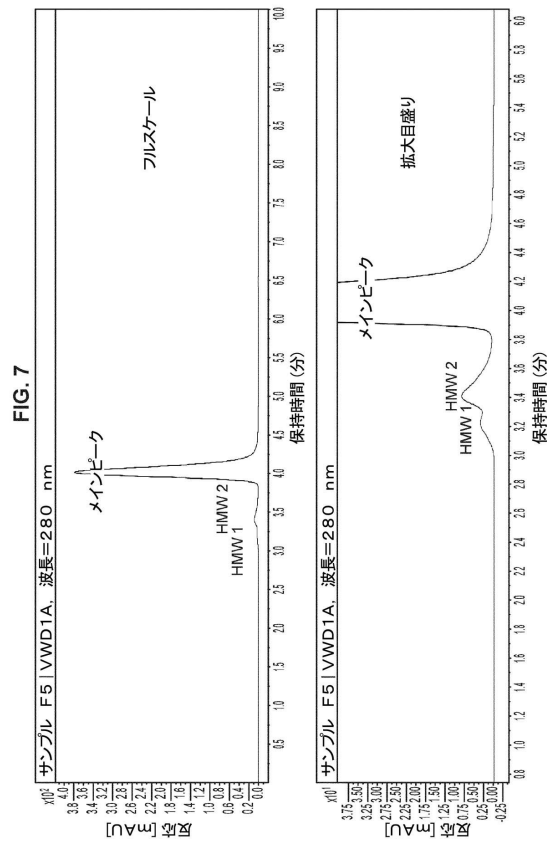
【図 5】



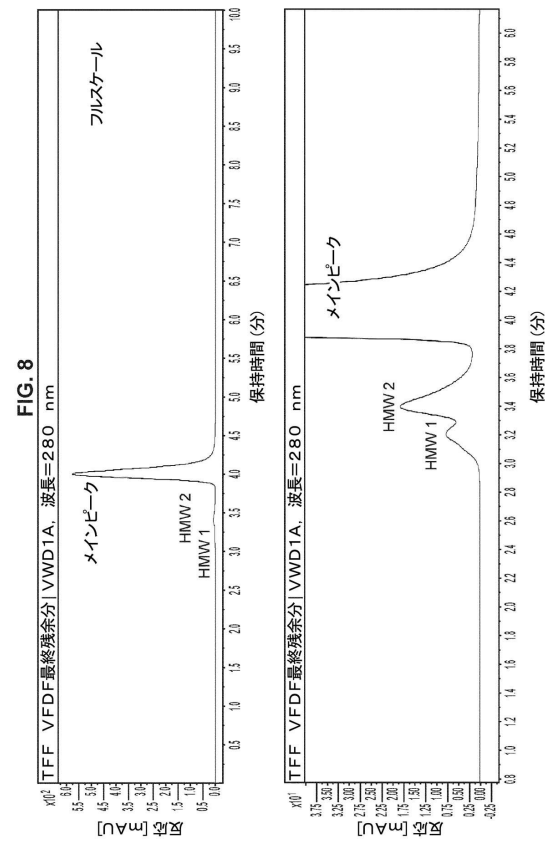
【図 6】



【図 7】



【図 8】



10

20

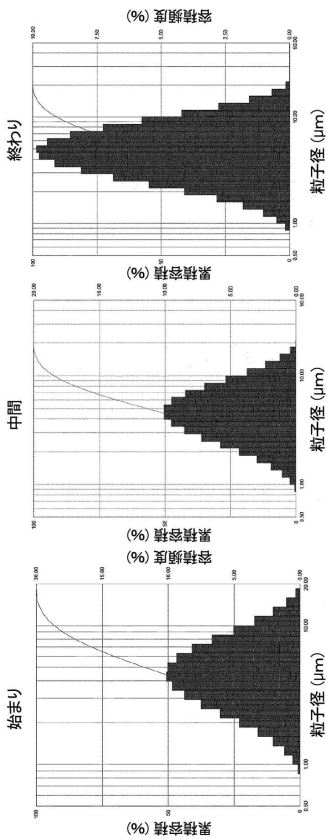
30

40

50

【図 9】

FIG. 9



【配列表】

2023517611000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/056113

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/395 C07K16/28 A61P31/14 A61P29/00 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 C07K A61P C12N		
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, 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	Anonymous: "(Research Report on Patent Information on Combating Novel Coronavirus Pneumonia)", 14 February 2020 (2020-02-14), XP055813186, Retrieved from the Internet: URL: https://www.cnipa.gov.cn/2020-02/20200214204433302086.pdf [retrieved on 2021-06-11] the paragraph bridging p. 33-34 - p. 34 third full paragraph ----- -/--	1,3-6, 8-27
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ 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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 July 2021		Date of mailing of the international search report 16/09/2021
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 Hermann, Patrice

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/056113

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Anonymous: "Translation from Chinese: "Analysis of biological drugs, vaccines and related companies in the clinical and application stages of 2019-nCoV_treatment"", 20 February 2020 (2020-02-20), XP055812959, Retrieved from the Internet: URL:https://www.sohu.com/a/374526987_120054728 [retrieved on 2021-06-11] the whole document & Anonymous: "Analysis of biological drugs, vaccines and related companies in the clinical and application stages of 2019-nCoV_treatment", 20 February 2020 (2020-02-20), XP055812965, Retrieved from the Internet: URL:https://www.sohu.com/a/374526987_120054728 [retrieved on 2021-06-11]	1,3-6, 8-27
X	Chang Ling ET AL: "Cytokine storm: a therapeutic target for severe new coronavirus infection?", 6 February 2020 (2020-02-06), pages 1-3, XP055812852, Retrieved from the Internet: URL:http://www.csi.org.cn/article/content/view?id=1006 [retrieved on 2021-06-10] the whole document & Chang Ling ET AL: "Cytokine storm: a therapeutic target for severe new coronavirus infection?", 6 February 2020 (2020-02-06), XP055813189, Retrieved from the Internet: URL:http://www.csi.org.cn/article/content/view?id=1006 [retrieved on 2021-06-11] the whole document ----- -/--	1,3-6, 8-27

5

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

page 2 of 5

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2021/056113

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	D. W. LEE ET AL: "Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome", BLOOD, vol. 124, no. 2, 29 May 2014 (2014-05-29), pages 188-195, XP055313556, US ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2014-05-552729 abstract, p. 190 the sentence bridging the left- to the right-hand column, p. 191 left-hand column lines 15-30, p. 192 left-hand column first full paragraph - p. 193 left-hand column line 7, fig. 1-3 -----	1,3-6, 8-27
A	WO 2009/140348 A2 (NOVIMMUNE SA [CH]; FERLIN WALTER [FR] ET AL.) 19 November 2009 (2009-11-19) cited in the application abstract, [0004]-[0024], [0075]-[0077], examples 1-9 and claims -----	1,3-6, 8-27
A	HUANG CHAOLIN ET AL: "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China", THE LANCET, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 395, no. 10223, 24 January 2020 (2020-01-24), pages 497-506, XP086050317, ISSN: 0140-6736, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5 [retrieved on 2020-01-24] the whole document -----	1,3-6, 8-27
X,P	MICHOT J.-M. ET AL: "Tocilizumab, an anti-IL-6 receptor antibody, to treat COVID-19-related respiratory failure: a case report", ANNALS OF ONCOLOGY, 26 March 2020 (2020-03-26), pages 961-964, XP055812837, Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7136869/pdf/main.pdf> the whole document ----- -/--	1,3-6, 8-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/056113

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	ZHANG XUHAN ET AL: "First case of COVID-19 in a patient with multiple myeloma successfully treated with tocilizumab", BLOOD ADVANCES, vol. 4, no. 7, 3 April 2020 (2020-04-03), pages 1307-1310, XP055812839, ISSN: 2473-9529, DOI: 10.1182/bloodadvances.2020001907 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7160284/pdf/advancesADV2020001907.pdf> the whole document -----	1,3-6, 8-27
X,P	QING YE ET AL: "The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19", JOURNAL OF INFECTION., vol. 80, no. 6, 10 April 2020 (2020-04-10), pages 607-613, XP055695752, GB ISSN: 0163-4453, DOI: 10.1016/j.jinf.2020.03.037 the whole document -----	1,3-6, 8-27
X,P	LUO PAN ET AL: "Tocilizumab treatment in COVID-19: A single center experience", JOURNAL OF MEDICAL VIROLOGY, vol. 92, no. 7, 15 April 2020 (2020-04-15), pages 814-818, XP055812834, US ISSN: 0146-6615, DOI: 10.1002/jmv.25801 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7262125/pdf/JMV-9999-na.pdf> the whole document -----	1,3-6, 8-27
X,P	Anonymous: "Antikörper als Medikament gegen Corona: LMU Klinikum behandelt Covid-Patienten mit Tocilizumab - kma Online", 15 April 2020 (2020-04-15), XP055812381, Retrieved from the Internet: URL:https://www.kma-online.de/aktuelles/meldungen/detail/lmu-klinikum-behandelt-covid-patienten-mit-tocilizumab-a-43084 [retrieved on 2021-06-09] the whole document ----- -/--	1,3-6, 8-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/056113

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	SHUBHAM ATAL ET AL: "IL-6 Inhibitors in the Treatment of Serious COVID-19: A Promising Therapy?", PHARMACEUTICAL MEDICINE, vol. 34, no. 4, 13 June 2020 (2020-06-13), pages 223-231, XP055740687, ISSN: 1178-2595, DOI: 10.1007/s40290-020-00342-z the whole document -----	1,3-6, 8-27
X,P	XIAOLING XU ET AL: "Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 117, no. 20, 29 April 2020 (2020-04-29), pages 10970-10975, XP055740697, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.2005615117 the whole document -----	1,3-6, 8-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2021/056113

Box No. I 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/EP2021/056113

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).

10

20

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.:
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.:

30

40

1(completely); 3-6, 8-27(partially)

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 Application No. PCT/ EP2021/ 056113

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1(completely); 3-6, 8-27(partially)

Invention 1 relates to the treatment of coronavirus infection in a subject comprising administering a composition comprising an anti-IL-6R antibody

2. claims: 2, 7, 28-32, 59(completely); 3-6, 8-27, 60(partially)

Invention 2 relates to the treatment of coronavirus infection in a subject comprising administering a composition comprising an anti-IL-6R antibody, together with a further active agent such as anti-CD3, anti-viral drug, immune booster drug, vitamin C, vitamin D, Remdisivir, antinomycin D, or a broad spectrum and polymeric Covid19 antigen

3. claims: 33-40

Invention 3 relates to a method of producing anti-Covid19 antibodies, or immunizing subject for preventing against coronavirus infection, comprising administering to a subject a broad spectrum and polymeric Covid19 antigen, composition comprising immunoglobulin isolated from said subjects, and passive immunization of patients with said composition.

4. claims: 41-57

Invention 4 relates to composition comprising anti-IL-6R antibody, histidine, sodium chloride and polysorbate and uses thereof in the treatment of coronavirus infection or pulmonary inflammatory disease in a subject

5. claims: 58(completely); 60(partially)

Invention 5 relates to a method of treating, preventing or alleviating a symptom of a pulmonary inflammatory disease in a subject in need thereof comprising administering to the subject a composition comprising an anti-IL-6R antibody, wherein the pulmonary inflammatory disease is selected from acute respiratory distress syndrome (ARDS) or systemic pulmonary sclerosis.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2021/056113

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
W0 2009140348 A2	19-11-2009	AU 2009246430 A1	19-11-2009
		CA 2724279 A1	19-11-2009
		CN 102089326 A	08-06-2011
		DK 2297202 T3	21-03-2016
		EP 2297202 A2	23-03-2011
		ES 2564635 T3	28-03-2016
		IL 209277 A	29-02-2016
		JP 6195586 B2	13-09-2017
		JP 6923709 B2	25-08-2021
		JP 2011520898 A	21-07-2011
		JP 2015127335 A	09-07-2015
		JP 2017128613 A	27-07-2017
		JP 2020128444 A	27-08-2020
		US 2011002936 A1	06-01-2011
		US 2012020981 A1	26-01-2012
		US 2013122012 A1	16-05-2013
		US 2016130351 A1	12-05-2016
		US 2018086839 A1	29-03-2018
		US 2020354461 A1	12-11-2020
		W0 2009140348 A2	19-11-2009

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K	9/72
A 6 1 K	47/02 (2006.01)	A 6 1 K	9/08
A 6 1 K	47/22 (2006.01)	A 6 1 K	47/02
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	47/22
A 6 1 K	31/375 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 K	31/59 (2006.01)	A 6 1 K	31/375
A 6 1 K	39/215 (2006.01)	A 6 1 K	31/59
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/215
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00
A 6 1 P	11/16 (2006.01)	A 6 1 P	29/00
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	A 6 1 P	11/16
C 0 7 K	7/54 (2006.01)	C 0 7 K	16/28
C 0 7 K	16/24 (2006.01)	C 0 7 K	7/54
C 0 7 K	14/165 (2006.01)	C 0 7 K	16/24
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 0 7 K	14/165
C 1 2 N	15/50 (2006.01)	C 1 2 N	15/13
		C 1 2 N	15/50

Z N A

(32)優先日 令和2年4月24日(2020.4.24)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(81)指定国・地域 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,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,T,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士 池田 達則

(74)代理人 100170852

弁理士 白樫 依子

(72)発明者 クンワー シャイルバイ

アメリカ合衆国, ペンシルベニア 1 8 9 3 2, ライン レキシントン, ロウランド レーン 3 1 3

(72)発明者 ガブリエル セローン

イギリス国, ロンドン エスダブリュ1ワイ 4エルビー, セントージェイムズ スクエア 1 1-1 2, サード フロア

(72)発明者 バシーム エー. パルジワラ

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 7 0 7 6, スコッチ プレインズ, チャーチ アベニュー 2 0 2 9

(72)発明者 ジュール エス. ジェイコブ

アメリカ合衆国, ペンシルベニア 1 8 9 4 2, パーカシー, ブッシュウッド ドライブ 3 3 4 2

F ターム (参考) 4C076 AA12 AA93 BB13 BB27 CC15 CC35 DD09 DD23 DD60 EE23
FF15 FF164C084 AA01 AA02 AA19 DA27 NA05 NA14 ZA59 ZA60 ZB11 ZB33
ZC75

4C085 AA13 AA14 BA71 CC23 EE03 GG02 GG10

4C086 AA01 AA02 BA18 DA14 MA03 MA05 NA05 ZA59 ZA60 ZB11
ZB33 ZC22 ZC28 ZC75

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA76 EA29 EA31 FA74