

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-519853

(P2023-519853A)

(43)公表日 令和5年5月15日(2023.5.15)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/357 (2006.01)	A 6 1 K 31/357	4 C 0 8 6
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 31/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全28頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2022-558100(P2022-558100)	(71)出願人 514291864
(86)(22)出願日 令和3年3月12日(2021.3.12)	ソレント・セラピューティクス・インコーポレイテッド
(85)翻訳文提出日 令和4年9月26日(2022.9.26)	Sorrento Therapeutics, Inc.
(86)国際出願番号 PCT/US2021/022089	アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、ダイレクターズ・ブレイス4955番
(87)国際公開番号 WO2021/202084	(71)出願人 508221224
(87)国際公開日 令和3年10月7日(2021.10.7)	ボード オブ リージェンツ オブ ザ ユニバーシティ オブ ネブラスカ
(31)優先権主張番号 63/002,165	アメリカ合衆国, ネブラスカ州 68583 0745, リンカーン, ホールドレッジ ストリート 3835, ヴァーナ - ホール
(32)優先日 令和2年3月30日(2020.3.30)	最終頁に続く
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)	
(31)優先権主張番号 63/122,858	
(32)優先日 令和2年12月8日(2020.12.8)	
(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)	最終頁に続く

(54)【発明の名称】 レシニフェラトキシンを投与することによるCOVID-19と関連する肺炎症性疾患の処置

(57)【要約】

有効量のレシニフェラトキシン(RTX)を、硬膜外、神経節周囲または神経節内投与によって投与する工程を包含する肺炎症性疾患を処置するための方法が、開示される。いくつかの実施形態において、成人に対するRTXの用量は、約0.1µg~約100µgである。肺炎症性疾患を処置するための方法であって、前記方法は、肺炎症性疾患の処置の必要性のある被験体に、有効量のレシニフェラトキシン(RTX)を硬膜外に、神経節周囲に、または神経節内に投与する工程を包含する方法。

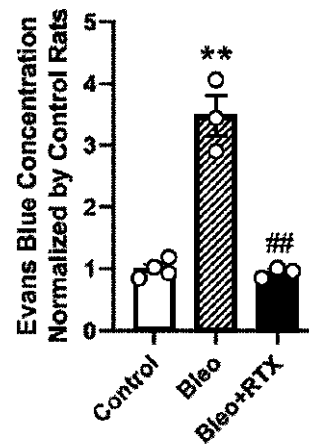


Fig. 3C

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

肺炎症性疾患を処置するための方法であって、前記方法は、肺炎症性疾患の処置の必要性のある被験体に、有効量のレシニフェラトキシン（RTX）を硬膜外に、神経節周囲に、または神経節内に投与する工程を包含する方法。

## 【請求項 2】

肺炎症性疾患の処置の必要性のある被験体を処置する方法における使用のための、レシニフェラトキシン（RTX）を含む組成物。

## 【請求項 3】

前記方法は、前記組成物を、前記被験体に硬膜外に、神経節周囲にまたは神経節内に投与する工程を包含する、請求項 2 に記載の使用のための組成物。 10

## 【請求項 4】

前記有効量の RTX は、IL - 6、IL - 1 および / または IFN を含む 1 またはこれより多くのサイトカインの低減を生じる、請求項 1 に記載の方法または請求項 2 もしくは 3 に記載の使用のための組成物。

## 【請求項 5】

前記有効量の RTX は、改善された肺機能を生じる、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または使用のための組成物。

## 【請求項 6】

前記有効量の RTX は、低減された肺浮腫を生じる、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または使用のための組成物。 20

## 【請求項 7】

前記被験体は、成人である、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または使用のための組成物。

## 【請求項 8】

前記 RTX は、約 0.1  $\mu$ g ~ 約 100  $\mu$ g の用量で投与される、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または使用のための組成物。

## 【請求項 9】

前記用量は、約 0.1  $\mu$ g ~ 約 1  $\mu$ g、約 1  $\mu$ g ~ 約 5  $\mu$ g、約 5  $\mu$ g ~ 約 10  $\mu$ g、約 10  $\mu$ g ~ 約 20  $\mu$ g、約 20  $\mu$ g ~ 約 50  $\mu$ g、または約 50 ~ 約 100  $\mu$ g である、請求項 8 に記載の方法または使用のための組成物。 30

## 【請求項 10】

前記方法は、硬膜外投与を含む、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または使用のための組成物。

## 【請求項 11】

前記方法は、神経節周囲神経ブロックを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法または使用のための組成物。

## 【請求項 12】

前記方法は、神経節内投与を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法または使用のための組成物。 40

## 【請求項 13】

前記 RTX は、前記 RTX および薬学的に受容可能なキャリアを含む薬学的製剤において投与される、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または使用のための組成物。

## 【請求項 14】

前記薬学的に受容可能なキャリアは、水を含む、請求項 13 に記載の方法または使用のための組成物。

## 【請求項 15】

前記薬学的に受容可能なキャリアは、生理食塩水を含む、請求項 13 に記載の方法または使用のための組成物。

## 【請求項 16】

前記 R T X は、 $1 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 100 \mu\text{g}/\text{ml}$  の範囲に及ぶ濃度で前記薬学的製剤に存在する、請求項 13 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法または使用のための組成物。

【請求項 17】

前記 R T X は、 $1 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $5 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $10 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 20 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $20 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、または  $50 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 100 \mu\text{g}/\text{ml}$  の範囲に及ぶ濃度で前記薬学的製剤に存在する、請求項 16 に記載の方法または使用のための組成物。

【請求項 18】

前記肺炎症性疾患は、急性呼吸窮迫症候群 (ARDS)、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、肺動脈性高血圧症 (PAH)、慢性炎症性肺疾患、肺線維症、肺血管炎、肺サルコイドーシス、肺移植と関連する炎症および/もしくは感染症、急性または肺拒絶および/もしくは機能障害、気管支炎、副鼻腔炎、喘息、嚢胞性線維腫、細菌感染症、真菌感染症、寄生生物感染症、ウイルス感染症、閉塞性細気管支炎症候群 (BOS)、原発性線毛運動不全症 (PCD)、肺胞蛋白症、特発性肺線維症 (IPF)、好酸球性肺炎、好酸球性気管支炎、人工呼吸と関連する炎症および/もしくは感染症、人工呼吸器関連肺炎、アスベスト関連気道障害もしくは疾患、ダスト関連気道障害もしくは疾患、珪肺症、ならびに放射線もしくは化学物質関連気道疾患もしくは障害、ならびにこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または組成物。

10

【請求項 19】

前記肺炎症性疾患は、急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) である、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または組成物。

20

【請求項 20】

前記肺炎症性疾患は、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) である、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または組成物。

【請求項 21】

前記肺炎症性疾患は、肺動脈性高血圧症 (PAH) である、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または組成物。

【請求項 22】

前記肺炎症性疾患は、人工呼吸と関連する炎症および/もしくは感染症、ならびに/または人工呼吸器関連肺炎である、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または組成物。

30

【請求項 23】

前記肺炎症性疾患は、COVID-19 と関連する、前述の請求項のいずれか 1 項に記載の方法または組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2020年3月30日出願の米国仮出願第63/002,165号および2020年12月8日出願の米国仮出願第63/122,858号(これらの各々の開示は、それらの全体において本明細書に参考として援用される)に基づく優先権を主張する。

40

【0002】

本出願全体を通じて、種々の刊行物、特許、および/または特許出願が参照される。上記刊行物、特許、および/または特許出願の開示は、本開示が属する分野の技術水準をより完全に記載するために、それらの全体において本出願に参考として援用される。

【0003】

技術分野

本開示は、硬膜外、神経節周囲または神経節内投与によって有効量のレシニフェラトキシン(RTX)を投与する工程を包含する、肺炎症性疾患を処置するための方法を提供する。

50

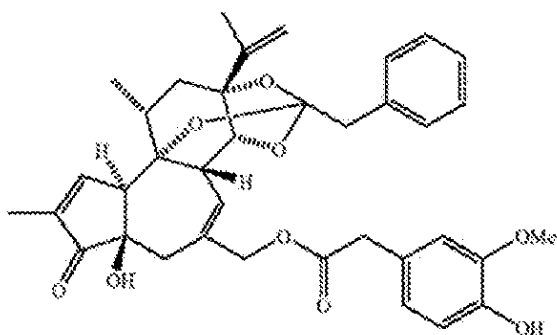
## 【背景技術】

【0004】

## 背景

RTXは、舌や鼻を刺激するトウガラシの主成分であるカプサイシンの超強力アナログとして作用する。RTXは、*Euphorbia*のある特定の種から単離された三環系ジテルペンである。ホモバニリル基は、カプサイシンの重要な構造的特徴であり、レシニフェラトキシンを代表的なホルボール関連化合物から識別する最も顕著な特徴である。天然のRTXは、以下の構造：

【化1】



10

を有する。

20

【0005】

RTXおよびアナログ化合物（例えば、チニアトキシンおよび他の化合物（12-デオキシホルボール13-フェニルアセート20-ホモバニレートおよびメゼレイン20-ホモバニレートのようなジテルペンの20-ホモバニリルエステル）は、米国特許第4,939,194号；同第5,021,450号；および同第5,232,684号に記載される。他のレシニフェラトキシンタイプのホルボイドバニロイドがまた、同定されている（Szallasiら（1999）*Brit. J. Pharmacol.* 128:428-434）。

【0006】

RTXは、TRPV1アゴニストとして公知である。TRPV1は、一過性のレセプター電位カチオンチャネルサブファミリーVメンバー1（バニロイドレセプター-1（VR1）としても公知）であり、侵害受容性の一次求心性ニューロンにおいて顕著に発現されるマルチマーカチオンチャネルである（Caterinaら（1997）*Nature* 389:816-824；Tominagaら（1998）*Neuron* 21:531-543）。TRPV1の活性化は、代表的には、有痛性の熱の印加を介して神経終末において起こり、炎症性刺激のある特定のタイプの間にアップレギュレートされる。化学的アゴニストによる末梢組織におけるTRPV1の活性化は、カルシウムチャネルの開口および疼痛知覚の伝達を生じる（Szallasiら（1999）*Mol. Pharmacol.* 56:581-587）。しかし、TRPV1を発現するニューロンの細胞体（神経節）へのある特定のTRPV1アゴニストの直接適用は、カルシウムチャネルを開口し、プログラムされた細胞死（「アポトーシス」）をもたらす事象のカスケードを誘発する（Karaiら（2004）*J. of Clin. Invest.* 113:1344-1352）。

30

40

【0007】

急性呼吸窮迫症候群（ARDS）に起因する呼吸不全は、新規なコロナウイルスであるSARS-CoV-2による感染（COVID-19疾患）と関連する死亡率（53%）の大きな原因のうちの1つであり（Ruanら（2020）*Intensive Care Med* Mar 3:10-3）、他の疾患および障害（他のウイルス性疾患または肺傷害が挙げられる）からも生じ得る。患者のうちのおよそ10%は、呼吸器による補助を伴う集中治療室（ICU）でのケアを要し、79%というICU死亡率が報告され

50

ている (Huangら (2020) Lancet Vol. 394, Issue 10233, P497-506)。

【0008】

コロナウイルスは、鳥類、哺乳動物およびヒトにおいて疾患を引き起こすウイルスのグループである。上記疾患は、軽度または致死的であり得る呼吸器感染症および腸管感染症 (enteric infection) を含む。コロナウイルスは、Nidovirales 目、Coronaviridae 科、Orthocoronavirinae 亜科の中のウイルスである。コロナウイルス属は、トリ伝染性気管支炎ウイルス、ウシコロナウイルス、イヌコロナウイルス、ヒトコロナウイルス 299E、ヒトコロナウイルス OC43、マウス肝炎ウイルス、ラットコロナウイルス、およびブタ血球凝集性脳脊髄炎ウイルスを含む。トロウイルス属は、ベルンウイルス (Bernese virus) および牛トロウイルス (Breda virus) を含む。コロナウイルスは、1本鎖プラス鎖 RNA ゲノムおよびらせん対称のヌクレオキャプシドを有するエンベロープに包まれたウイルスである。コロナウイルスのゲノムサイズは、およそ 26 ~ 32 キロ塩基の範囲に及び、これは、RNA ウイルスにしては最大であると考えられる。2019 ~ 2020 年の中国の武漢における肺炎勃発は、世界保健機関 (WHO) によって 2019-nCoV とよばれ、SARS-CoV-2 としても公知の、コロナウイルス疾患 2019、すなわち COVID-19 を引き起こす新規なコロナウイルスにまでたどられたことを注記することは興味深い。

10

【0009】

ARDS は、1967 年に初めて記載され (Ashbaughら (1967) Lancet 2:319-323)、増大した透過性および肺内シャントによって引き起こされる低酸素血症を生じるびまん性肺微小血管傷害 (diffuse pulmonary microvascular injury) によって特徴づけられる。ARDS 進行の最初の 2 段階 (すなわち、発生後 12 ~ 72 時間) は、介入の最も重要な時間範囲である。なぜなら上記症候群は、その開始因子および炎症メディエーターが制御され得る場合には、改善され (reversed) 得るからである。その開始刺激が、敗血症の決定、胃内容物の吸引、多数回輸血 (multiple transfusions)、重篤な骨折、熱傷、肺炎または重篤な外傷におけるように既知である場合には、早期診断がまた、促進され得る。ARDS の第 3 段階に進むと、肺高血圧症が増大し、低酸素血症を代償するために心拍数が増大し、人工呼吸補助治療が概して必要とされる。病理学的には、細胞浸潤物は、好中球浸潤の継続、ならびに単核細胞、リンパ球および線維芽細胞浸潤物の増大とともに、より密になる。

20

30

上記疾患の重篤度は、患者が高齢になるほど高くなり、80% の死亡が、60 ~ 65 歳を超えて患者で観察される (CDC COVID-19 Response Team (2020) MMWR Morb Mortal Wkly Rep 69:343-346) 一方で、より若い感染者は、感受性が低く、中程度から軽度の症状を示すようである (Wuら (2020) JAMA Published online February 24, 2020)。下気道に一旦罹患すると、上記呼吸窮迫は非常に急速に進行し、報告される死亡するまでの時間は、人工呼吸器による緩和的なサポートが利用可能であるにもかかわらず、最初の症状から 14 日程度と急速である。COVID-19 に感染した感受性集団の重篤度および死亡率は、サイトカインストームに関連し、ここで炎症促進性物質の増悪した生成が、短期間にわたって肺微小環境へ放出されることが報告された (Mehtaら (2020) Lancet Vol. 395, Issue 10229, P1033-1034)。

40

新規な生命を救うストラテジーが、急性の呼吸窮迫 (後の段階のウイルス感染症と関連するこのような窮迫を含む) と関連する高い死亡率を軽減するために、是が非でも必要とされている。

【先行技術文献】

【特許文献】

50

## 【0010】

【特許文献1】米国特許第4,939,194号明細書

【特許文献2】米国特許第5,021,450号明細書

【特許文献3】米国特許第5,232,684号明細書

【非特許文献】

## 【0011】

【非特許文献1】Szallasi S (1999) Brit. J. Pharmacol. 128:428-434

【非特許文献2】Caterina S (1997) Nature 389:816-824

10

【非特許文献3】Tominaga S (1998) Neuron 21:531-543

【非特許文献4】Szallasi S (1999) Mol. Pharmacol. 56:581-587

【非特許文献5】Karai S (2004) J. of Clin. Invest. 113:1344-1352

【非特許文献6】Ruan S (2020) Intensive Care Med Mar 3:10-3

【非特許文献7】Huang S (2020) Lancet Vol. 394, Issue 10233, P497-506

【非特許文献8】Ashbaugh S (1967) Lancet 2:319-323

20

【非特許文献9】CDC COVID-19 Response Team (2020) MMWR Morb Mortal Wkly Rep 69:343-346

【非特許文献10】Wu S (2020) JAMA Published online February 24, 2020

【非特許文献11】Mehta S (2020) Lancet Vol. 395, Issue 10229, P1033-1034

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

## 【0012】

要旨

30

本開示は、硬膜外、神経節周囲または神経節内投与によって有効量のレシニフェラトキシン(RTX)を投与する工程を包含する、肺炎症性疾患を処置するための方法を提供する。いくつかの実施形態において、成人のRTXの用量は、約0.1 $\mu$ g~約100 $\mu$ gである。

## 【0013】

実施形態1は、肺炎症性疾患を処置するための方法であって、前記方法は、肺炎症性疾患の処置の必要性のある被験体に、有効量のレシニフェラトキシン(RTX)を硬膜外に、神経節周囲に、または神経節内に投与する工程を包含する方法である。

## 【0014】

実施形態2は、肺炎症性疾患の処置の必要性のある被験体を処置する方法における使用のための、レシニフェラトキシン(RTX)を含む組成物である。

40

## 【0015】

実施形態3は、前記方法が、前記組成物を、前記被験体に硬膜外に、神経節周囲にまたは神経節内に投与する工程を包含する、実施形態2に記載の使用のための組成物である。

## 【0016】

実施形態4は、前記有効量のRTXが、IL-6、IL-1 および/またはIFNを含む1またはこれより多くのサイトカインの低減を生じる、実施形態1に記載の方法または実施形態2もしくは3に記載の使用のための組成物である。

## 【0017】

実施形態5は、前記有効量のRTXが、改善された肺機能を生じる、前述の実施形態の

50

いずれか 1 つに記載の方法または使用のための組成物である。

【 0 0 1 8 】

実施形態 6 は、前記有効量の R T X が、低減された肺浮腫を生じる、前述の実施形態のいずれか 1 つに記載の方法または使用のための組成物である。

【 0 0 1 9 】

実施形態 7 は、前記被験体が、成人である、前述の実施形態のいずれか 1 つに記載の方法または使用のための組成物である。

【 0 0 2 0 】

実施形態 8 は、前記 R T X が、約 0 . 1  $\mu$  g ~ 約 1 0 0  $\mu$  g の用量で投与される、前述の実施形態のいずれか 1 つに記載の方法または使用のための組成物である。

10

【 0 0 2 1 】

実施形態 9 は、前記用量が、約 0 . 1  $\mu$  g ~ 約 1  $\mu$  g、約 1  $\mu$  g ~ 約 5  $\mu$  g、約 5  $\mu$  g ~ 約 1 0  $\mu$  g、約 1 0  $\mu$  g ~ 約 2 0  $\mu$  g、約 2 0  $\mu$  g ~ 約 5 0  $\mu$  g、または約 5 0 ~ 約 1 0 0  $\mu$  g である、実施形態 8 に記載の方法または使用のための組成物である。

【 0 0 2 2 】

実施形態 1 0 は、前記方法が、硬膜外投与を含む、前述の実施形態のいずれか 1 つに記載の方法または使用のための組成物である。

【 0 0 2 3 】

実施形態 1 1 は、前記方法が、神経節周囲神経ブロックを含む、実施形態 1 ~ 9 のいずれか 1 つに記載の方法または使用のための組成物である。

20

【 0 0 2 4 】

実施形態 1 2 は、前記方法が、神経節内投与を含む、実施形態 1 ~ 9 のいずれか 1 つに記載の方法または使用のための組成物である。

【 0 0 2 5 】

実施形態 1 3 は、前記 R T X が、前記 R T X および薬学的に受容可能なキャリアを含む薬学的製剤において投与される、前述の実施形態のいずれか 1 つに記載の方法または使用のための組成物である。

【 0 0 2 6 】

実施形態 1 4 は、前記薬学的に受容可能なキャリアが、水を含む、実施形態 1 3 に記載の方法または使用のための組成物である。

30

【 0 0 2 7 】

実施形態 1 5 は、前記薬学的に受容可能なキャリアが、生理食塩水を含む、実施形態 1 3 に記載の方法または使用のための組成物である。

【 0 0 2 8 】

実施形態 1 6 は、前記 R T X が、1  $\mu$  g / m l ~ 1 0 0  $\mu$  g / m l の範囲に及ぶ濃度で前記薬学的製剤に存在する、実施形態 1 3 ~ 1 5 のいずれか 1 つに記載の方法または使用のための組成物である。

【 0 0 2 9 】

実施形態 1 7 は、前記 R T X が、1  $\mu$  g / m l ~ 5  $\mu$  g / m l、5  $\mu$  g / m l ~ 1 0  $\mu$  g / m l、1 0  $\mu$  g / m l ~ 2 0  $\mu$  g / m l、2 0  $\mu$  g / m l ~ 5 0  $\mu$  g / m l、または 5 0  $\mu$  g / m l ~ 1 0 0  $\mu$  g / m l の範囲に及ぶ濃度で前記薬学的製剤に存在する、実施形態 1 6 に記載の方法または使用のための組成物である。

40

【 0 0 3 0 】

実施形態 1 8 は、前記肺炎症性疾患が、急性呼吸窮迫症候群 ( A R D S )、慢性閉塞性肺疾患 ( C O P D )、肺動脈性高血圧症 ( P A H )、慢性炎症性肺疾患、肺線維症、肺血管炎、肺サルコイドーシス、肺移植と関連する炎症および / もしくは感染症、急性または肺拒絶および / もしくは機能障害、気管支炎、副鼻腔炎、喘息、嚢胞性線維腫、細菌感染症、真菌感染症、寄生生物感染症、ウイルス感染症、閉塞性細気管支炎症候群 ( B O S )、原発性線毛運動不全症 ( P C D )、肺胞蛋白症、特発性肺線維症 ( I P F )、好酸球性肺炎、好酸球性気管支炎、人工呼吸と関連する炎症および / もしくは感染症、人工呼吸器

50

関連肺炎、アスベスト関連気道障害もしくは疾患、ダスト関連気道障害もしくは疾患、珪肺症、ならびに放射線もしくは化学物質関連気道疾患もしくは障害、ならびにこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される、前述の実施形態のいずれか1つに記載の方法または組成物である。

【0031】

実施形態19は、前記肺炎症性疾患が、急性呼吸窮迫症候群（ARDS）である、前述の実施形態のいずれか1つに記載の方法または組成物である。

【0032】

実施形態20は、前記肺炎症性疾患が、慢性閉塞性肺疾患（COPD）である、前述の実施形態のいずれか1つに記載の方法または組成物である。

10

【0033】

実施形態21は、前記肺炎症性疾患が、肺動脈性高血圧症（PAH）である、前述の実施形態のいずれか1つに記載の方法または組成物である。

【0034】

実施形態22は、前記肺炎症性疾患が、人工呼吸と関連する炎症および/もしくは感染症、ならびに/または人工呼吸器関連肺炎である、前述の実施形態のいずれか1つに記載の方法または組成物である。

【0035】

実施形態23は、前記肺炎症性疾患が、COVID-19と関連する、前述の実施形態のいずれか1つに記載の方法または組成物である。

20

【図面の簡単な説明】

【0036】

【図1A-1B】図1A~Bは、試験デザインの概要図（図1A）および処置計画と予定表（図1B）を示す。図1Aでは、矢印は、ブレオマイシン（Bleo）（2.5 mg / kg, 約0.15 mL）を、肺へと気管内に投与したことを示す。四角の囲みは、サイトカイン測定のために肺組織を集めた位置を示す。図1Bに示されるように、0日目に、Bleoまたは生理食塩水を気管内に与えた；3日目に、レシニフェラトキシン（RTX）またはビヒクル（Veh）を、硬膜外腔または星状神経節に与えた；7日目に、ラットを殺した。

【0037】

【図2A-2B】図2A~Bは、星状神経節分離の手順およびVehまたはRTXの投与を示す。図2Aは、上記手順の工程1を示す - 星状神経節を露出した。矢印は、星状神経節を、内胸動脈および肋頸動脈の起始へと内側に配置したことを示す。図2Bは、手順の工程2を示す - RTX（5 μL, 50 mg / mL）を、左右の星状神経節に注射した。矢印は、星状神経節の内部の5 μL シリンジの先端を示す。

30

【0038】

【図3A-3C】図3A~Cは、血漿溢出（plasma extravasation）がBleo投与後7日の時点での硬膜外RTX処置後に低減したことを示す。図3A~Bは、Bleo群（図3A）およびBleo+RTX群（図3B）からの肺の代表画像を示す。図3Cは、コントロール、Bleo、およびBleo+RTX群からのエバンスブルーの濃度を示す。\* \* コントロールに対して  $P < 0.01$ 。# # Bleoに対して  $P < 0.01$ 。

40

【0039】

【図4A-4C】図4A~Cは、3日目のVehまたは硬膜外RTX投与後の7日目の肺組織サイトカインレベルを示す。図4Aは、インターロイキン6（IL-6）を示す。図4Bは、インターロイキン1（IL-1）を示す。図4Cは、インターフェロン（IFN）を示す。コントロールに対して、\*  $P < 0.05$  および \* \*  $P < 0.01$ 。Bleoに対して、#  $P < 0.05$  および # #  $P < 0.01$ 。

【0040】

【図5A-5C】図5A~Cは、3日目のVehまたは硬膜外RTX投与後の7日目の血

50

漿サイトカインレベルを示す。

【0041】

【図6A - 6D】図6A ~ Dは、エバンスブルー-溢出がBle o投与後7日の時点において星状神経節RTX注射後に低減したことを示す。図6A ~ Cは、偽(図6A)、Ble o + Veh群(図6B)、およびBle o + RTX群(図6C)からの肺の代表的画像を示す。矢印は、エバンスブルー-溢出の領域を指す。図6Dは、各群からの平均エバンスブルーの濃度を示す。\* 偽に対して $P < 0.01$ 。# Ble o + Vehに対して $P < 0.05$ 。\$ 偽に対して $P < 0.05$ 。

【0042】

【図7A - 7D】図7A ~ Hは、傷害後3日目での星状神経節内投与後の偽、Ble o + VehおよびBle o + RTXのラットにおける7日目の動脈血ガスを示す。図7Aは、pHを示す。図6Bは、二酸化炭素部分圧( $PCO_2$ )を示す。図7Cは、酸素部分圧( $PO_2$ )を示す。図7Dは、塩基過剰(BE)を示す。図7Eは、炭酸水素( $HCO_3$ )を示す。図7Fは、全 $CO_2$ ( $TCO_2$ )を示す。図7Gは、酸素飽和度( $sO_2$ )を示す。図7Hは、ラクテート(Lac)を示す。\* 偽に対して $P < 0.05$ 。† Ble o + Vehに対して $P < 0.05$ 。

10

【図7E - 7H】図7A ~ Hは、傷害後3日目での星状神経節内投与後の偽、Ble o + VehおよびBle o + RTXのラットにおける7日目の動脈血ガスを示す。図7Aは、pHを示す。図6Bは、二酸化炭素部分圧( $PCO_2$ )を示す。図7Cは、酸素部分圧( $PO_2$ )を示す。図7Dは、塩基過剰(BE)を示す。図7Eは、炭酸水素( $HCO_3$ )を示す。図7Fは、全 $CO_2$ ( $TCO_2$ )を示す。図7Gは、酸素飽和度( $sO_2$ )を示す。図7Hは、ラクテート(Lac)を示す。\* 偽に対して $P < 0.05$ 。† Ble o + Vehに対して $P < 0.05$ 。

20

【0043】

【図8A - 8B】図8A ~ Bは、3日目のVehまたは星状神経節RTX投与後の7日目の肺組織サイトカインレベルを示す。図8Aは、IL-6を示す。図8Bは、IL-1を示す。

【0044】

【図9A - 9D】図9A ~ Hは、群間での体重(BW)および個々の器官重量を示す。図9Aは、体重を示す。図9Bは、心臓を示す。図9Cは、肺を示す。図9Dは、脾臓を示す。図9Eは、肝臓を示す。図9Fは、腎臓を示す。図9Gは、心臓/BWを示す。図9Hは、肺/BWを示す。偽ラットと比較すると、肺の湿重量(WLW)およびWLW対BWの比は、Ble o + Vehラットにおいて有意により高く、これは、RTXの星状神経節内注射によって有意に低減した。これらのデータは、RTXの星状神経節内注射がBle o後の肺浮腫を低減することを示唆する。

30

【図9E - 9H】図9A ~ Hは、群間での体重(BW)および個々の器官重量を示す。図9Aは、体重を示す。図9Bは、心臓を示す。図9Cは、肺を示す。図9Dは、脾臓を示す。図9Eは、肝臓を示す。図9Fは、腎臓を示す。図9Gは、心臓/BWを示す。図9Hは、肺/BWを示す。偽ラットと比較すると、肺の湿重量(WLW)およびWLW対BWの比は、Ble o + Vehラットにおいて有意により高く、これは、RTXの星状神経節内注射によって有意に低減した。これらのデータは、RTXの星状神経節内注射がBle o後の肺浮腫を低減することを示唆する。

40

【発明を実施するための形態】

【0045】

詳細な説明

ここで、本発明のある特定の実施形態に対して詳細に参照が行われる。その例は、添付の図面の中で図示される。本発明は、例証される実施形態と合わせて記載されるが、それらは、本発明をそれら実施形態に限定することを意図しないことが理解される。対照的に、本発明は、添付の特許請求の範囲によって定義されるとおりの発明の中に含まれ得る全ての代替物、改変、および均等物を網羅することが意図される。

50

## 【0046】

本教示を詳細に説明する前に、本開示が特定の組成物またはプロセス工程に限定されないことは理解されるべきである。なぜならこのようなものは変動し得るからである。本明細書および添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形「1つの、ある(a)」、「1つの、ある(an)」、および「上記、その、この(the)」とは、文脈が別段明らかに規定しなければ、複数形への言及を含むことが注記されるべきである。従って、例えば、「1つの結合体(a conjugate)」への言及は、複数の結合体を含み、「1つの細胞(a cell)」への言及は、複数の細胞を含むなど。本明細書における選択肢(例えば、「または(or)」の使用は、その選択肢のうちのいずれか1つまたは両方またはそれらの任意の組み合わせを意味するととられることが理解される。

10

## 【0047】

本明細書で使用される用語「および/または(and/or)」とは、特定された特徴または構成要素の各々の具体的な開示を、他のものはあってもなくても意味するととられるべきである。例えば、用語「および/または」は、本明細書において「Aおよび/またはB(A and/or B)」のような語句の中で使用される場合、「AおよびB(A and B)」、「AまたはB(A or B)」、「A」(単独)、および「B」(単独)を含むことが意図される。同様に、用語「および/または」は、「A、B、および/またはC(A, B, and/or C)」のような語句の中で使用される場合、以下の局面のうちの各々： A、B、およびC； A、B、またはC； AまたはC； AまたはB； BまたはC； AおよびC； AおよびB； BおよびC； A(単独)； B(単独)；ならびにC(単独)を包含することが意図される。

20

## 【0048】

本明細書で使用される場合、用語「含む、包含する(comprising)」、「含む、包含する(including)」、「有する(having)」および「含む、含有する(containing)」、ならびにそれらの文法上の変形は、本明細書で使用される場合、リストの中の1つの項目または多数の項目が、他の項目を排除せず、上記他の項目が列挙される項目に代わって使用され得るかまたは列挙される項目に追加され得るように、非限定的であることが意図される。どの場所で局面が文言「含む、包含する」とともに本明細書に記載されようが、「からなる(consisting of)」および/または「から本質的になる(consisting essentially of)」に関して記載される別の点で類似の局面がまた、提供されることは、理解される。

30

## 【0049】

本明細書で使用される場合、用語「約(about)」とは、当業者によって決定されるとおりの値または組成の許容可能な誤差範囲内であるその特定の値または組成であって、その誤差範囲が、その値または組成がどのようにして測定または決定されるか(すなわち、測定システムの限界)に部分的に依存するものをいう。例えば、「約」または「およそ(approximately)」とは、当該分野での実施につき1または1より大きい標準偏差内を意味し得る。あるいは「約」または「およそ」は、測定システムの限界に依存して、10%まで(すなわち、 $\pm 10\%$ )またはより大きい範囲を意味し得る。例えば、約5mgは、4.5mg~5.5mgの間の任意の数字を含み得る。さらに、特に生物学的システムまたはプロセスに関して、その用語は、1桁までまたは値の5倍までを意味し得る。特定の値または組成が本開示において提供される場合、別段述べられなければ、「約」または「およそ」の意味は、その特定の値または組成の許容可能な誤差範囲内であると想定されるべきである。いくつかの実施形態において、「約」は、述べられた値の10%、5%、2%、1%、または0.5%以内の変動を含む。

40

## 【0050】

数値範囲は、その範囲を規定する数字を含む。測定されるおよび測定可能な値は、有効数字および測定と関連する誤差を考慮に入れて、近似値であることが理解される。また、全ての範囲は、「端点を含まない(not including the endpoints)」のような排除表現が存在しない場合に、端点を包含すると解釈されるべきであ

50

る；従って、例えば、「1～10の範囲に及ぶ(ranging from 1 to 10)」とは、値1および10を含み、かつ全ての数字および(適切な場合には)1より大きく10より小さい非整数値を含む。

#### 【0051】

「含む、包含する(comprise)」、「含む、包含する(comprises)」、「含む、包含する(comprising)」、「含む、含有する(contains)」、「含む、包含する(contains)」、「含む、包含する(include)」、「含む、包含する(include)」、「含む、包含する(including)」の使用は、限定であるとは意図されない。前述の一般的説明および詳細な説明は、例示でありかつ説明であるに過ぎず、教示の限定ではないことの両方が理解されるべきである。上記明細書中で具体的に注記されなければ、種々の構成要素を「含む」を記載する本明細書中の実施形態は、その記載される構成要素「からなる」または「から本質的になる」としても企図される；種々の構成要素「からなる」を記載する本明細書中の実施形態は、その記載される構成要素「を含む」または「から本質的になる」としても企図される；そして種々の構成要素「から本質的になる」を記載する本明細書中の実施形態は、その記載される構成要素「からなる」または「を含む」としても企図される(この交換可能であることは、特許請求の範囲の中でのこれらの用語の使用には該当しない)。

10

#### 【0052】

本明細書で使用される節の見出しは、構成目的に過ぎず、所望の主題を何らかの方法で限定するとは解釈されるべきでない。参考として援用される任意の文献が、本明細書で定義される任意の用語と矛盾する場合には、本明細書が優先する。本教示は、種々の実施形態とともに記載されるが、本教示がそのような実施形態に限定されることは意図されない。対照的に、本教示は、当業者によって理解されるように、種々の代替物、改変、および均等物を包含する。

20

#### 【0053】

##### 定義

本明細書で使用される場合、「肺炎症性疾患(pulmonary inflammatory disease)」とは、炎症プロセスと関連するそれらの急性および慢性的病的状態をいうために集合的に使用される。肺炎症性疾患の非限定的な例としては、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、肺炎、肺臓炎、気管支炎、肺感染症、新生児無気肺(atelactasis)、炎症性肺傷害と関連する状態(例えば、化学療法剤(例えば、ブレオマイシン)誘導性肺傷害、腭炎誘導性肺傷害、酸素過剰症誘導性肺傷害、アミオダロン誘導性肺臓炎、放射線肺臓炎、塩素ガスもしくは煙の吸入による傷害、閉塞性細気管支炎/閉塞性肺炎(BOOP)、ウイルス性およびマイコプラズマ肺炎(例えば、LegionellaおよびCMV肺)、塵肺、肺血管炎、肺サルコイドーシス、気道細菌感染症、気道真菌感染症、気道寄生生物感染症、気道ウイルス感染症、人工呼吸関連炎症および/もしくは感染症、人工呼吸器関連肺炎)が挙げられる。肺の慢性的病的状態の非限定的な例としては、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、肺動脈性高血圧症(PAH)、嚢胞性線維腫、珪肺症、石綿症、喘息、アテローム性動脈硬化症、慢性気管支炎、慢性の細菌もしくはウイルス感染症に起因する慢性炎症、冠動脈疾患、特発性肺線維症(IPF)、家族性肺線維症(FPF)、剝離性間質性肺臓炎(desquamative interstitial pneumonitis)(DIP)、過敏性肺臓炎(hypersensitivity pneumonitis)、間質性肺臓炎、膠原病(collagen vascular disease)、サルコイドーシス、炭坑夫塵肺症、気管支肺異形成症、炎症性偽腫瘍が挙げられる。

30

40

#### 【0054】

本明細書で使用される場合、「硬膜外投与(epidural administration)」とは、薬物または薬学的製剤を、脊柱管の最も外側部分である硬膜外腔(「硬膜上腔(extradural space)」または「硬膜外腔(peridura

50

l space)としても公知)へと送達することをいう。それは、硬膜(これは、くも膜、くも膜下腔、脳脊髄液、および脊髄を包む)の外側にある脊柱管(周囲の椎骨によって形成される)内の空間である。例えば、硬膜外送達は、神経への直接注射なしの硬膜外腔への送達を含んでいてもよいし、神経組織への硬膜外送達を含んでいてもよい。

【0055】

本明細書で使用される場合、「神経節周囲投与(periganglionic administration)」とは、薬物または薬学的製剤の、神経節の周囲の空間への送達をいう。

【0056】

「神経節内投与(Intraganaglionic administration)」とは、神経節への投与を意味する。神経節内投与は、神経節の中への直接注射によって達成され得、選択的神経根注射(ここで上記化合物は、神経の周りの結合組織鞘(connective tissue sleeve)を通り過ぎて、椎骨の直ぐ外側の神経根から神経節に入る)をも含む。

【0057】

用語「有効量(effective amount)」、「治療上有効な量(therapeutically effective amount)」もしくは「有効用量(effective dose)」または関連する用語は、交換可能に使用され得、被験体に投与される場合に、肺炎症性疾患の測定可能な改善または防止に影響を及ぼすために十分な治療剤の量をいい得る。例えば、有効用量の投与は、動脈血において測定される場合に、CO<sub>2</sub>の部分圧(pCO<sub>2</sub>)、O<sub>2</sub>の部分圧(pO<sub>2</sub>)、および酸素飽和度(sO<sub>2</sub>)として表される肺機能を改善し得る。別の例では、有効用量は、肺浮腫を低減し得る。本明細書で提供される治療剤の治療上有効な量は、単独でまたは抗ウイルス剤との組み合わせにおいて使用される場合、治療剤の相対的活性に依存して、および処置されている被験体および疾患状態、被験体の体重および年齢および性別、被験体における疾患状態の重篤度、投与様式などに依存して変動し、これらは、当業者によって容易に決定され得る。1つの実施形態において、治療上有効な量は、処置されるべき被験体のある特定の局面および処置されるべき障害に依存し、公知の技術を使用して当業者によって確認され得る。さらに、当該分野で公知であるように、年齢、ならびに体重、全身的な健康状態、性別、食事、投与時間、薬物相互作用、および疾患の重篤度に関する調整は、必要であり得る。

【0058】

用語「被験体(subject)」および「患者(patient)」とは、本明細書で使用される場合、ヒトおよび非ヒト動物(脊椎動物、哺乳動物および非哺乳動物が挙げられる)をいう。1つの実施形態において、上記被験体は、ヒト、非ヒト霊長類、サル(simian)、サル(ape)、ネズミ科動物(例えば、マウスおよびラット)、ウシ、ブタ、ウマ、イヌ、ネコ、ヤギ、オオカミ、カエル(ranine)または魚類(piscine)であり得る。

【0059】

用語「投与する(administering)」、「投与される(administered)」および文法上の変形は、当業者に公知の種々の方法および送達システムのいずれかを使用する、被験体への治療剤の物理的導入をいう。本明細書で開示される製剤の例示的投与経路としては、静脈内、筋肉内、皮下、腹腔内、脊髄または他の非経口的投与経路(例えば、注射または注入による)が挙げられる。語句「非経口的投与(parenteral administration)」とは、本明細書で使用される場合、経腸投与および局所投与以外の、通常は注射による投与様式を意味し、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、リンパ内、病変内、嚢内、眼窩内、心内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外および胸骨内の注射および注入、ならびにインビボエレクトロポレーションが挙げられるが、これらに限定されない。1つの実施形態において、上記製剤は、非経口的でない経路を介して(例えば、経口的に)投与される。他の非経口的でない経路としては、局所、表皮、または粘膜の投与経路(例えば、

鼻内、膈、直腸、舌下または局所)が挙げられる。投与はまた、例えば、1回、複数回、および/または1もしくはこれより多くの長期間にわたって行われ得る。

【0060】

「処置する (treating)」とは、広く理解されるべきであり、例えば、少なくとも部分的に、肺炎症性疾患と関連する症状を遅らせる、悪化を遅くする、もしくは停止させる、またはこのような症状を改善する (remedying) ことを含む、任意の有益な効果を包含する。処置するはまた、以下で詳細に考察されるように、改善された患者の機能の何らかの形態をもたらすことを包含する。いくつかの実施形態において、処置はまた、処置を受容していない場合に予測される生存と比較して、生存を長期化することを意味する。処置の必要性のある者としては、上記疾患もしくは障害を既に有する者、なら

10

【0061】

治療目的に関する「薬学的に受容可能なビヒクル (pharmaceutically acceptable vehicle)」とは、被験体に投与され得る物理的实施形態である。薬学的に受容可能なビヒクルとしては、丸剤、カプセル剤、タブレット剤、錠剤、経口液 (oral fluid)、注射液、スプレー、エアロゾル、トローチ、栄養補助食品、クリーム剤、ローション剤、オイル、液剤、パスタ剤、散剤、スチームが挙げられる。またはそれは、液体であり得るが、これらに限定されない。薬学的に受容可能なビヒクルの例は、緩衝化等張性溶液 (例えば、リン酸緩衝化生理食塩水 (PBS)) である。

20

【0062】

COVID-19の臨床的徴候は、ウイルス性肺炎において観察されるものと一致することが観察されている。これらの肺の変化は、過剰炎症状態をもたらす全身および局所両方の免疫応答を担う可能性が高い。患者の死亡率は、SARS-CoV-2感染において見られるものに類似のウイルスによって駆動されたサイトカインストームに関連すると疑われる。サイトカインストームは、血漿中の高レベルの炎症マーカー (c反応タンパク質、血清フェリチン) およびサイトカインレベル (IL-6、IL-2、IL-7、IL-10、GSCF、IP10、MCP1、MIP1A、IL-1、IFN、およびTNF) によって測定されるような、肺における重篤な免疫反応の結果である。ICU患者は、非ICU患者と比較して、より高い血漿レベルのIL-2、IL-7、IL-10、GSCF、IP10、MCP1、MIP1A、およびTNFを有する。これは、高い循環サイトカインレベルの存在が、疾患の重篤度と関連していることを示す。従って、より高いレベルで炎症カスケードに干渉して (すなわち、炎症促進性の遠心性経路を排除して)、この炎症プロセスの多様式の局面を適切に制御することが必要である。

30

【0063】

疾患率、疾患の重篤度、および死亡率に関連する根底にある生理的事象は、TRPV1発現神経系 (求心性/遠心性のニューロン) の関与によって説明され得る。TRPV1陽性経路は、肺系全体を通じての疼痛伝達、炎症および免疫調節を担う。

【0064】

肺系の求心性神経支配は、迷走神経およびその枝によって主に行われている。TRPV1発現C線維は、迷走神経における小さな直径の無髄線維であり、気道および肺においていくつかのプロセスを担う。肺の構造を神経支配する求心性線維はまた、T1~T6の間の胸髄分節の後根神経節に位置する細胞体に伴う交感神経線維によって伝えられる。この胸髄分節の活性化は、重篤な肺臓炎に関連している。

40

【0065】

RTXは、TRPV1レセプターの超強力なアゴニストであり、それは、後根神経節 (DRG)、脊髄の後角 (DH)、または神経ブロックとして局所適用される場合には末梢神経終末においてTRPV1発現ニューロンの神経剥離 (neurolysis) を誘導することによって機能する。TRPV1レセプターへのRTXの強力な結合は、チャネルゲートを開口させ、細胞内Ca<sup>2+</sup>のゆっくりとした持続的な増大をもたらす、これは次

50

に、細胞内ミトコンドリア代謝を混乱させ、数分以内に神経細胞または神経線維の削除を生じる。本発明者らは、急性肺炎症性疾患を有する患者においてTRPV1陽性肺経路の剥離剤 (ablating agent) としての、RTX (超強力なTRPV1アゴニスト) の治療的使用を発見した。肺におけるTRPV1発現ニューロンを標的化するこのような治療的アプローチは、炎症および免疫のシグナル活性を調節し、低減した死亡率およびより良好な全体的な転帰をもたらす。

#### 【0066】

例示的な使用のための組成物および関連方法

RTXが硬膜外に、神経ブロックを介して神経節周囲に、または神経節内に送達される、肺炎症性疾患を処置する方法および処置することにおける使用のための組成物が、本明細書で提供される。種々の実施形態において、RTXのような剥離剤 (ablative agent) の投与経路としては、「化学的な」標的化肺除神経 (denervation) のための胸髄の硬膜外注射、神経節周囲神経ブロックまたは神経節内注射が挙げられる。1つの実施形態において、RTXは、局所的剥離剤で頸部を経て、低くなり頸動脈洞から離れて迷走神経にアクセスすることによって投与される。次いで、神経の位置は、超音波ガイダンスを使用して確認され得る。いくつかの実施形態において、RTXは、星状神経節へと神経節周囲に送達される。いくつかの実施形態において、RTXは、星状神経節へと神経節内に送達される。

10

#### 【0067】

いくつかの実施形態において、進行したCOVID-19疾患を有する被験体におけるRTXの硬膜外または神経節周囲注射は、胸髄のDRGの高さで求心性神経を剥離して、生存を増大させることによって、緩和的な人工呼吸器治療を支援する。

20

#### 【0068】

いくつかの実施形態において、有効量のRTXは、IL-6、IL-1 および/またはIFNを含む1またはこれより多くのサイトカインの低減を生じる。いくつかの実施形態において、有効量のRTXは、改善された肺機能 (例えば、より高いpO<sub>2</sub>もしくはsO<sub>2</sub>、またはより低いpCO<sub>2</sub>) を生じる。いくつかの実施形態において、有効量のRTXは、低減された肺浮腫を生じる。このような低減または改善は、RTXの投与の前に、被験体の状態に対して起こってもよい。

#### 【0069】

本明細書で記載される方法は、RTXが有効である、例えば、TRPV1またはそのホモログに結合し活性化し得、PDの処置の必要性のある任意の被験体での使用のためのものである。いくつかの実施形態において、上記RTXは、0.1~100μgの用量で投与される。いくつかの実施形態において、RTXの用量は、0.1~0.5μg、0.5~1μg、1~2μg、2~5μg、5~10μg、10~20μg、20~30μg、30~40μg、40~50μg、50~60μg、60~70μg、70~80μg、80~90μg、または90~100μgの範囲に及ぶ。いくつかの実施形態において、上記に列挙された範囲のうちのいずれかにおける全投与量 (例えば、0.5~1μg、1~2μg、2~5μg、5~10μg、10~15μg、15~20μg、または20~25μgの全投与量) で、2点、3点、または4点神経節周囲神経ブロック技術が使用される。

30

40

#### 【0070】

上記投与量は、神経線維への投与部位の近さに依存して調節され得る。例えば、投与部位が神経に非常に近いことを確実にするために超音波または神経刺激因子が使用される場合、より低い用量および/または容積が使用され得る。あるいは、神経ブロックは、所望の神経との接触を確実にするために、より大きな容積を使用して達成され得る。顕著なことには、RTXは、TRPV1レセプターに対して特異的であり、従って、RTXに感受性であるために、十分なTRPV1レセプターを有しない運動ニューロンのような非標的神経に影響を及ぼさない。

#### 【0071】

50

R T X の製剤の多数の例が、文献において入手可能である。例えば、U e d a ら ( 2 0 0 8 ) J . o f C a r d i o v a s c . P h a r m a c o l . 5 1 : 5 1 3 - 5 2 0 、 お よ び U S 2 0 1 5 / 0 1 9 0 5 0 9 A 1 を 参 照 の 事 実 。 非 経 口 投 与 ( 例 えば、注射 ) のための R T X の任意の適切な製剤が使用され得る。

【 0 0 7 2 】

いくつかの実施形態において、R T X (これは上記で考察される投与量にあり得る) は、薬学的に受容可能なキャリアとともに投与される。いくつかの実施形態において、上記薬学的に受容可能なキャリアは、水を含む。いくつかの実施形態において、上記薬学的に受容可能なキャリアは、ポリソルベート 8 0 を含む。いくつかの実施形態において、上記薬学的に受容可能なキャリアは、ポリエチレングリコールを含む。いくつかの実施形態において、上記薬学的に受容可能なキャリアは、糖または糖アルコールを含む。いくつかの実施形態において、上記薬学的に受容可能なキャリアは、マンニトールを含む。いくつかの実施形態において、上記薬学的に受容可能なキャリアは、デキストロースを含む。いくつかの実施形態において、上記薬学的に受容可能なキャリアは、薬学的に受容可能な緩衝液を含む。いくつかの実施形態において、上記薬学的に受容可能なキャリアは、リン酸緩衝液を含む。いくつかの実施形態において、上記薬学的に受容可能なキャリアは、薬学的に受容可能な塩を含む。いくつかの実施形態において、上記薬学的に受容可能なキャリアは、N a C l を含む。いくつかの実施形態において、上記薬学的に受容可能なキャリアは、例えば、主に水性の組成物中での希釈の前に、R T X を溶解するにあたっての補助として使用される少ない方のまたは残りの構成要素として、有機溶媒 (例えば、エタノールまたは D M S O ) を含む。

【 0 0 7 3 】

上記製剤中の R T X の濃度は、意図される用量の送達のための任意の適切な値であり得る。いくつかの実施形態において、上記薬学的製剤中の R T X の濃度は、0 . 1 ~ 3 0 0  $\mu$  g / m l の範囲にある。いくつかの実施形態において、上記薬学的製剤中の R T X の濃度は、0 . 1 ~ 1  $\mu$  g / m l 、 1 ~ 5  $\mu$  g / m l 、 5 ~ 1 0  $\mu$  g / m l 、 1 0 ~ 2 0  $\mu$  g / m l 、 1 0 ~ 3 0  $\mu$  g / m l 、 2 0 ~ 3 0  $\mu$  g / m l 、 2 0 ~ 5 0  $\mu$  g / m l 、 5 0 ~ 1 0 0  $\mu$  g / m l 、 1 0 0 ~ 1 5 0  $\mu$  g / m l 、 1 5 0 ~ 2 0 0  $\mu$  g / m l 、 2 0 0 ~ 2 5 0  $\mu$  g / m l 、 または 2 5 0 ~ 3 0 0  $\mu$  g / m l の範囲にある。いくつかの実施形態において、上記薬学的製剤中の R T X の濃度は、5 ~ 5 0  $\mu$  g / m l 、 または 8 ~ 2 5  $\mu$  g / m l の範囲にある。

【 0 0 7 4 】

濃縮ストック溶液から出発すると、被験体への送達のための R T X の製剤は、適切な希釈剤 (例えば、生理食塩水) 中での希釈によって調製され得る。

【 0 0 7 5 】

上記製剤は、関節内投与に適切な任意の p H を有し得る。いくつかの実施形態において、R T X および薬学的に受容可能なキャリアを含む上記薬学的製剤は、6 ~ 7 . 6 の範囲の p H を有する。いくつかの実施形態において、R T X および薬学的に受容可能なキャリアを含む上記薬学的製剤は、6 ~ 6 . 4 、 6 . 3 ~ 6 . 7 、 6 . 4 ~ 6 . 8 、 6 . 8 ~ 7 . 2 、 7 ~ 7 . 4 、 または 7 . 2 ~ 7 . 6 の範囲の p H を有する。いくつかの実施形態において、R T X および薬学的に受容可能なキャリアを含む上記薬学的製剤は、6 . 5 または 7 . 2 の p H を有する。

【 0 0 7 6 】

いくつかの実施形態において、上記製剤は、ポリソルベート 8 0 およびデキストロースを含む。いくつかの実施形態において、ポリソルベート 8 0 の濃度は、0 . 0 3 ~ 7 % w / v である。いくつかの実施形態において、ポリソルベート 8 0 の濃度は、2 ~ 4 % w / v である、および / またはデキストロースの濃度は、4 ~ 6 % w / v である。いくつかの実施形態において、ポリソルベート 8 0 の濃度は、3 % w / v である、および / またはデキストロースの濃度は、5 % w / v である。上記製剤は、緩衝液 (例えば、リン酸緩衝液 (例えば、リン酸ナトリウム緩衝液)) をさらに含み得る。いくつかの実施形

態において、リン酸緩衝液の濃度は、10～50 mMである。いくつかの実施形態において、リン酸緩衝液の濃度は、10～30 mMである。いくつかの実施形態において、リン酸緩衝液の濃度は、10 mMである。いくつかの実施形態において、リン酸緩衝液の濃度は、30 mMである。上記製剤は、7～7.5の範囲（例えば、約7.2）のpHを有し得る。いくつかの実施形態において、前述の製剤のうちいずれかにおいて、RTXの濃度は、10～30 mcg/mL（例えば、10 mcg/mLまたは25 mcg/mL）である。いくつかの実施形態において、上記製剤は、リン酸緩衝液（例えば、表1中のリン酸緩衝液に関して示される濃度およびpHにある）をさらに含む。いくつかの実施形態において、上記製剤は、NaCl（例えば、表1中のNaClに関して示される濃度にある）をさらに含む。両方が存在する場合、上記リン酸緩衝液およびNaClは、個々の製剤に関して示される濃度およびリン酸緩衝液pHの組み合わせにおいて存在し得る（が、必ずしもそうではない）。

10

【0077】

RTXの例示的な製剤は、以下の表に示される。

【0078】

【表1-1】

表1. 例示的なRTX溶液製剤

製剤番号	製剤構成要素	構成要素濃度
1	RTX ポリソルベート 80 デキストロース 30 mM リン酸緩衝液(0.44% NaCl を有する)	200 mcg/mL 7.0% w/v 0.8% w/v 30 mM, pH 7.2
2	RTX ポリエチレングリコール 300 ポリソルベート 80 デキストロース 10 mM リン酸緩衝液(0.73% NaCl を有する)	200 mcg/mL 3.0% v/v 0.1% w/v 0.8% w/v 10 mM, pH 6.5
3	RTX ポリエチレングリコール 300 ポリソルベート 80 10 mM リン酸緩衝液(0.86% NaCl を有する)	200 mcg/mL 30.0% v/v 1.0% w/v 10 mM, pH 6.5
4	RTX	200 mcg/mL

20

30

40

50

【表 1 - 2】

	ポリエチレングリコール 300 ポリソルベート 80 10 mM リン酸緩衝液(0.88% NaCl を有する)	30.0% v/v 0.04% w/v 10 mM, pH 6.5	
5	RTX ポリソルベート 80 デキストロース 30 mM リン酸緩衝液(0.54% NaCl を有する)	200 mcg/mL 3.0% w/v 0.8% w/v 30 mM, pH 7.2	
6	RTX ポリソルベート 80 マンニトール 30 mM リン酸緩衝液(0.54% NaCl を有する)	200 mcg/mL 3.0% w/v 0.8% w/v 30 mM, pH 7.2	10
7	RTX ポリソルベート 80 マンニトール 30 mM リン酸緩衝液(0.45% NaCl を有する)	200 mcg/mL 7.0% w/v 0.8% w/v 30 mM, pH 7.2	
8	RTX ポリエチレングリコール 300 ポリソルベート 80 マンニトール 10 mM リン酸緩衝液(0.74% NaCl を有する)	200 mcg/mL 3.0% v/v 0.1% w/v 0.8% w/v 10 mM, pH 6.5	
9	RTX ポリエチレングリコール 300 ポリソルベート 80 デキストロース 10 mM リン酸緩衝液(0.34% NaCl を有する)	200 mcg/mL 3.0% v/v 0.1% w/v 3.0% w/v 10 mM, pH 6.5	20
10	RTX ポリエチレングリコール 300 ポリソルベート 80 マンニトール 10 mM リン酸緩衝液(0.36% NaCl を有する)	200 mcg/mL 3.0% v/v 0.1% w/v 3.0% w/v 10 mM, pH 6.5	
11	RTX ポリソルベート 80 デキストロース 30 mM リン酸緩衝液(0.54% NaCl を有する)	200 mcg/mL 0.03% w/v 0.05% w/v 30 mM, pH 7.2	30
12	RTX ポリソルベート 80 デキストロース 30 mM リン酸緩衝液(0.54% NaCl を有する)	200 mcg/mL 3.0% w/v 5.0% w/v 30 mM, pH 7.2	
13	RTX ポリソルベート 80 デキストロース 30 mM リン酸緩衝液(0.54% NaCl を有する)	25 mcg/mL 3.0% w/v 5.0% w/v 30 mM, pH 7.2	
14	RTX ポリソルベート 80 デキストロース 30 mM リン酸緩衝液(0.54% NaCl を有する)	25 mcg/mL 0.03% w/v 0.05% w/v 30 mM, pH 7.2	40

【表 1 - 3】

15	RTX ポリソルベート 80 デキストロース 30 mM リン酸緩衝液(0.54% NaCl を有する)	100 mcg/mL 0.03% w/v 0.05% w/v 30 mM, pH 7.2
16	RTX ポリソルベート 80 デキストロース 30 mM リン酸緩衝液(0.54% NaCl を有する)	200 mcg/mL 7.0% w/v 5.0% w/v 30 mM, pH 7.2

10

## 【0079】

いくつかの実施形態において、表 1 中の製剤は、デキストロースを含む。実施形態において、デキストロースの濃度は、0.05 ~ 5% w/v である。いくつかの実施形態において、デキストロースの濃度は、0.8 ~ 5% w/v である。いくつかの実施形態において、デキストロースの濃度は、0.05% w/v である。いくつかの実施形態において、デキストロースの濃度は、0.8% w/v である。いくつかの実施形態において、デキストロースの濃度は、3.0% w/v である。いくつかの実施形態において、デキストロースの濃度は、5.0% w/v である。

## 【0080】

いくつかの実施形態において、表 1 中の製剤は、マンニトールを含む、いくつかの実施形態において、マンニトールの濃度は、0.8 ~ 3.0% w/v である。いくつかの実施形態において、マンニトールの濃度は、0.8% w/v である。いくつかの実施形態において、マンニトールの濃度は、3.0% w/v である。

20

## 【0081】

いくつかの実施形態において、上記デキストロースまたはマンニトールは、表 1 に示される製剤から省略される。

## 【0082】

いくつかの実施形態において、表 1 に示される製剤中の RTX の濃度は、本明細書で開示される RTX 濃度または濃度範囲のうちのいずれかに調節される。例えば、いくつかの実施形態において、表 1 に示される製剤中の RTX の濃度は、0.3 ~ 200 mcg/ml に調節される。いくつかの実施形態において、表 1 に示される製剤中の RTX の濃度は、200 mcg/ml である。いくつかの実施形態において、表 1 に示される製剤中の RTX の濃度は、0.3 ~ 100 mcg/ml である。いくつかの実施形態において、表 1 に示される製剤中の RTX の濃度は、100 mcg/ml である。いくつかの実施形態において、表 1 に示される製剤中の RTX の濃度は、0.3 ~ 50 mcg/ml に調節される。いくつかの実施形態において、表 1 に示される製剤中の RTX の濃度は、25 mcg/ml である。別の例として、いくつかの実施形態において、表 1 に示される製剤中の RTX の濃度は、0.3 ~ 15 mcg/ml に調節される。別の例として、いくつかの実施形態において、表 1 に示される製剤中の RTX の濃度は、0.5 ~ 10 mcg/ml に調節される。別の例として、いくつかの実施形態において、表 1 に示される製剤中の RTX の濃度は、0.6 ~ 1.5 mcg/ml に調節される。上記デキストロースまたはマンニトールは、調節された RTX 濃度を有する任意のこのような製剤から省略される。

30

40

## 【0083】

表 1 中の製剤は、以下の例示的な方法に従って調製され得る。これは、製剤 3 および 5 に関して提供されるが、当業者によって他の製剤に適合され得る。製剤 3 は、46 mg リン酸二水素ナトリウム一水和物、94.7 mg リン酸水素二ナトリウム無水物、および 860 mg NaCl を、100 ml メスフラスコに添加することによって作成され得る。50 ml の注射用水(WFI)を添加して、上記フラスコ中の構成要素を溶解し、続いて、1.0 g のポリソルベート 80 を添加して、その水性構成要素を形成する。20

50

mg の R T X を、そのメスフラスコ中の水性構成要素に添加し、pH を、塩酸 / 水酸化ナトリウムで 7 . 2 に調節する。次いで、30 mL の P E G 300 を添加し、その溶液を超音波処理して、固体を溶解させる。R T X は、最初は水性溶液および P E G の界面にときおり沈殿するが、超音波処理すると溶液へと戻ることが注記されるべきである。フラスコ中の完全な混合物を、水 ( W F I ) で所定の容積 ( 100 . 00 ml ) へと希釈し、これを、転倒混和プロセスによって混合する。完全な製剤が、0 . 2 μ m ポリテトラフルオロエチレン ( P T F E ) フィルターを通して濾過される。

【 0084 】

製剤 5 は、138 mg リン酸二水素ナトリウム一水和物、284 . 1 mg リン酸水素二ナトリウム無水物、および 540 mg NaCl を、100 ml メスフラスコに添加することによって作製され得る。50 ml の注射用水 ( W F I ) を添加して、そのフラスコ中の構成要素を溶解させ、続いて、3 . 0 g のポリソルベート 80 および 800 mg のデキストロースを添加して、その水性構成要素を形成する。20 mg の R T X を、そのメスフラスコ中の水性構成要素に添加し、pH を、塩酸 / 水酸化ナトリウムで 7 . 2 に調節する。次いで、その溶液を超音波処理して、固体を全て溶解させる (あるいは、R T X を、最初に少量のエタノールまたは D M S O 中に溶解し得、次いで、この溶液を、上記水性構成要素へと添加し得る)。そのフラスコ中の完全な混合物を、水 ( W F I ) で所定の容積 ( 100 . 00 ml ) へと希釈し、これを、転倒混和プロセスによって混合する。完全な製剤が、0 . 2 μ m P T F E フィルターを通して濾過される。

【 0085 】

製剤 11 に従う製剤を、200 mcg R T X、300 mcg ポリソルベート 80 (市販のポリソルベート 80 を使用する) ; 5 . 4 mg の塩化ナトリウム、500 mcg のデキストロース、1 . 38 mg リン酸二水素ナトリウム一水和物、2 . 84 mg リン酸水素二ナトリウム無水物、および 1 mL になるように水 ( W F I ) を使用して調製し、次いで、pH を、塩酸 / 水酸化ナトリウムで 7 . 2 に調節する。上で注記されるように、デキストロースは省略され得る。

【 0086 】

製剤 13 に従う製剤を、25 mcg R T X、30 mg ポリソルベート 80 (市販のポリソルベート 80 を使用する) ; 5 . 4 mg の塩化ナトリウム、50 mg のデキストロース、1 . 38 mg リン酸二水素ナトリウム一水和物、2 . 84 mg リン酸水素二ナトリウム無水物、1 mL になるように水 ( W F I ) を使用して調製し、次いで、pH を、塩酸 / 水酸化ナトリウムで 7 . 2 に調節する。上で注記されるように、デキストロースは省略され得る。

【 0087 】

いくつかの実施形態において、上記薬学的製剤は、単位投与形態にある。このような形態では、上記調製物は、適切な量の活性成分を含む単位用量へと分割される。上記単位投与形態は、パッケージされた調製物 ( そのパッケージは、バイアル、アンプル、または予め装填されたシリンジ中のような、不連続量の製剤を含む ) であり得る。また、上記単位投与形態は、例えば、液剤または再構成のための凍結乾燥組成物であり得る。

【 0088 】

製剤および投与に関する技術のさらなる詳細は、Gennaro, A. 編, Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 18 版 ( 1990 ) ( Mack Publishing Co., Easton, Pa. ) に見出され得る。

【 0089 】

いくつかの実施形態において、R T X は、1 回の単一用量として投与され得る。いくつかの実施形態において、R T X は、周期的に投与される。いくつかの実施形態において、R T X は、疾患の重篤度を低減するために、必要な場合に肺炎症性疾患の処置の必要性のある被験体に周期的に投与される。

【 0090 】

10

20

30

40

50

肺炎症性疾患を処置するための組成物および硬膜外、神経節周囲または神経節内注射を介して RTX を被験体に投与する工程を包含する方法が、本明細書で提供される。1つの実施形態は、ARDS に罹患している哺乳動物被験体を処置する方法を提供する。

#### 【0091】

例示的实施形態において、RTX は、患者の症状を低減するために投与され得るか、またはそれは、疾患自体の機序に対抗するために投与され得る。これらの治療目的がしばしば関連し、上記処置が種々の要因に基づいて個々の患者に対して調節され得ることは、当業者によって理解される。これらの要因としては、患者の年齢、性別、または健康状態、肺炎症性疾患の進行、呼吸困難の程度、患者の気道に対する組織損傷の量、患者の喫煙歴、および種々の環境要因（例えば、温度、湿度および大気汚染）が挙げられ、これらは、患者の状態に寄与し得る。患者の治療は、投与量、タイミング、投与経路に依存して、および同時にまたは連続して他の治療剤を投与することによって、調節され得る。

10

#### 【実施例】

#### 【0092】

1. レシニフェラトキシン (RTX) は、肺傷害の齧齒類モデルにおいて急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) を改善する

ARDS に起因する呼吸不全は、COVID-19 を含む急性肺傷害 (ALI) と関連する死亡率の主な原因の1つである。ALI / ARDS は、急性のサイトカイン放出、肺浮腫と、および長期間では、線維症と関連し得る。これらの病的な変化の根底にある機序は、完全には理解されていない。実施例1では、ALI / ARDS の間に肺病理を媒介する心肺脊髄求心性線維を経る新規な神経構成要素を、試験した。

20

#### 【0093】

心臓および肺を神経支配する感覚ニューロンは、2つの経路：迷走神経を経て、細胞体が下神経節に存在する脳幹（延髄）へと、および細胞体が後根神経節 (DRG) の中に存在する脊髄へと直接的に、のうちの1つによって中枢神経系に入る。求心性線維は、機械的変形、熱、寒冷、pH、および炎症メディエーターのような種々の感覚モダリティーにตอบสนองする要素から構成される。これらの求心性線維の刺激後の反射効果は、刺激のタイプおよび関与した神経経路に依存する。迷走神経の求心性経路の活性化は、交感神経阻害性および抗炎症性である傾向にある (Komeagera (2018) *Brain, Behavior, and Immunity* 73:441-449; Bonazra (2016) *The Journal of Physiology* 594:5781-5790)。他方で、脊髄求心性線維の活性化は、交感神経興奮性および炎症促進性である傾向にある (Shanksra (2019) *Hypertension* 74:910-920; Shanksra (2018) *Physiological Reports* 6:313742; Alawira (2010) *Pharmacol. Ther.* 125:181-195; Lazarra (2018) *Pancreas* 47:110-115; Abdullarra (2017) *Acta Physiologica (Osf)* 220:404-416; Wangra (2017) *The Journal of Physiology* 595:2519-2534)。超強力な選択的求心性ニューロトキシンである RTX の適用による肺の求心性神経支配 (胸髄) の剥離は、進行性の ALI と関連する肺浮腫および局所的肺炎症を含む病理の過程を改変するという仮説を立てた。

30

40

#### 【0094】

方法

肺傷害のラットモデル。ラットを、3群に無作為化し、以下のように滴下1週間後に評価した：偽ラット、生理食塩水（硬膜外または星状神経節注射）を伴うブレオマイシン (Bleo) 曝露ラット、および RTX（硬膜外または星状神経節内注射）を伴う Bleo 曝露ラット。Bleo (2.5 mg/kg, 約 0.15 mL) を、3% イソフルラン麻酔下で肺へと気管内に滴下した。偽コントロールラットは、生理食塩水の気管内滴下を受けた。動物を、Bleo 送達の3日後に、硬膜外 T1 ~ T4 DRG 経路 (6 μg

50

/ml、10  $\mu$ l / 神経節) または星状神経節内投与 (50  $\mu$ g / ml、5  $\mu$ l / 片側) のいずれかによって、RTX またはビヒクル (Veh; リン酸緩衝化生理食塩水) で処置した (図 1 A ~ B)。

#### 【0095】

RTX の硬膜外適用。 上部胸髄求心性線維を、RTX の硬膜外適用によって剥離した。硬膜外投与の手順は、本質的に、Shanksら (2018) *Physiological Reports* 6:e13742 によって記載されるとおりであった。簡潔には、ラットに、2% ~ 3% イソフルラン: 酸素混合物を使用して麻酔をかけた。ラットを、腹臥位に置き、小さい正中切開を T13 ~ L1 胸椎の領域に作製した。表層筋の切開後に、2つの小さな孔 (およそ 2 mm x 2 mm) を、T13 胸椎の左側および右側に作製した。ポリエチレンカテーテル (PE-10) を、一方の孔を介してくも膜下腔へと挿入し、静かに約 4 cm 進めて、T1 レベルに近づけた。上部の胸部交感神経求心性神経節を、レシニフェラトキシシン (RTX; Sigma Aldrich) (TRPV1 レセプターの超強力なアゴニスト) を、カテーテルを介してくも膜下腔へと注射することによって剥離した。RTX (1 mg; Sigma Aldrich) を、エタノール、Tween (登録商標) 80 (Sigma-Aldrich)、および等張性生理食塩水の 1:1:8 混合物中に溶解した。RTX (6  $\mu$ g / ml、10  $\mu$ l) の最初の注射を、非常にゆっくりとした速度で行って (約 1 分)、薬物の拡散を最小限にした。次いで、そのカテーテルを T2、T3 および T4 へとそれぞれ引き戻して、各分節で一連の注射 (10  $\mu$ l / 各々) を行った。そのカテーテルを引き抜き、同じ注射を他方の側に反復した。シリコンゲルを使用して、T13 胸椎の孔をシールした。筋の上の皮膚を、3-0 ポリプロピレンの単純縫合 (simple interrupted suture) で閉じ、ベタジンを創傷に適用した。手順後の疼痛管理のために、ブプレノルフィン (0.05 mg / kg) を、手術直後および 1 日に 2 回、2 日間皮下注射した。

#### 【0096】

RTX の星状神経節内注射。 ラットに、2% ~ 3% イソフルラン: 酸素混合物で麻酔をかけた。気管にカニューレを挿入した後、人工呼吸を開始した (モデル 683, Harvard Apparatus, South Natick, MA)。胸骨の吻側の端から第 3 肋骨の高さまで、皮膚を切開した。浅胸筋および深胸筋 (superficial and deep pectoral muscles) の一部ならびに第 1 肋間筋を切断し、切り開いた。左または右の星状神経節の位置を決めるために、左または右の上大静脈を、フック状のガラスまたは鋼鉄のロッドで腕頭動脈から側方に離して、右鎖骨下動脈の下行枝である内胸動脈および肋頸動脈を露出させた。星状神経節および鎖骨下ワナは、内胸動脈および肋頸動脈の起始に対して中間に配置される。次いで、RTX (5  $\mu$ l, 50 mg / ml) を、5  $\mu$ l Hamilton シリンジ (Microliter #95, Hamilton, Reno, NV, USA) で 30 秒かけて両側に、神経節へと注射した。この手順の画像を、図 2 A ~ B に示す。これらの巧みな処理後に、第 1 肋間腔と第 2 肋間腔との間の胸郭を、連続 4-0 Dexon II コーテッドブレイドポルグリコール酸吸収糸で閉じ、皮膚を、3-0 ポリプロピレン縫合糸で閉じ、胸部から退いた。ベタジンを創傷に適用し、ラットを麻酔から回復させた。手順後の疼痛管理のために、ブプレノルフィン (0.05 mg / kg) を、手術直後および 1 日に 2 回、2 日間皮下注射した。

#### 【0097】

血液ガス分析。 ラット尾部の腹側面の動脈を、Bleo 処置後 7 日目に、動脈血液ガスを分析するために、少量の血液 (約 0.1 mL) を集めるために使用した。動物を、その尾部にアクセス可能であるように、市販の保定器で保定した。尾部を、アルコールプレップパッドおよびヨウ素プレップパッドを交互に 3 回用いることによって無菌的に準備し、24 G 針を使用して動脈を穿刺した。少量の血液 (約 0.1 mL) を、血液ガス分析のためにシリンジへと静かに吸引した (iSTAT, Abbott, Chicago, IL, USA)。サンプル収集の後、その針を除去し、ガーゼスワブを穿刺部位にし

10

20

30

40

50

かりと押し当てて、出血を止めた。

【0098】

サイトカインアッセイ。肺および血漿サイトカインを、R&D cytokine ELISAアッセイ(Minneapolis, MN, USA)で製造業者の説明書に従って測定した。器官重量を、死後に評価した。

【0099】

エバンスブルーの肺血漿溢出、組織抽出、および定量。ラットに、ペントバルビトン(40mg/kg)で麻酔をかけた。エバンスブルー、20mg/kg(10mg/ml(生理食塩水中に溶解)+100IE/mlヘパリン)を、静脈内投与した。10分後、ラットを、PBS(0.01M, pH7.4)での経心臓灌流によって安楽死させた。肺を採取し、最初に写真を撮った。次いで、肺サンプルを直ぐに秤量し、2mlのN,N'-ジメチルホルムアミド中に入れ、小片へと切断し、50のウォーターパスの中で一晩加熱した。次いで、その肺組織を遠心分離し(1分間、14,000rpm)、上清中の肺のエバンスブルー含有量を、96ウェルマイクロプレートリーダー(infinite M200, TECAN, Mannedorf, CH, Switzerland)において620nm(100μlサンプル/ウェル)で決定した。エバンスブルーの溢出を、実験値と既知の標準とを比較することによって、エバンスブルー/g肺組織として表した。

【0100】

統計。統計評価を、GraphPad Prism(GraphPad Software, San Diego, CA, Version 8)を使用して分析した。処置間の差異を、反復測定ANOVAのためにMixed effectsモデルを使用して決定した。3群(偽、Bleo+VehおよびBleo+RTX実験)間の比較のために、多重比較に関するTukey補正およびBonferroni補正の両方を使用した。

【0101】

結果

血漿溢出(エバンスブルー)を使用して、ALI後の血管透過性を評価した。図3A~Cに示されるように、Bleo処置肺は、両側にエバンスブルー領域の広い分布を示した。エバンスブルーの最高強度が、各肺の内側に示された。そのエバンスブルー領域は、Bleo投与後の7日間の時点で、硬膜外RTX処置後に低減された。

【0102】

Bleo処置後の肺において広く認められる3つの炎症促進性組織サイトカインは、図4A~Cに示される。IL-6(図4A)、IL-1(図4B)、およびIFN(図4C)は、Bleo処置後に上昇した。これらのサイトカインレベルは、RTX処置ラットにおいて低減された。

【0103】

Bleoに応答したサイトカインレベルはまた、RTXの硬膜外適用後に低減された(図5A~C)。

【0104】

Bleoに応答した血漿溢出は、RTXの星状神経節注射後に低減された。図6A~Dに示されるように、RTXの星状神経節注射後の肺においてエバンスブルー色素が顕著に低減された。

【0105】

動脈血液ガスデータを、Vehで処置したラットにおいて、RTX星状神経節内に対して評価した(図7A~H)。その結果は、pCO<sub>2</sub>が上昇し(図7B)、Bleo処置およびVeh処置ラットにおけるsO<sub>2</sub>(図7G)と同様にpO<sub>2</sub>が低下した(図7C)ことを示す。RTXの星状神経節投与は、これらの変化を明らかにし、これは、改善された肺機能およびガス交換を示唆する。

【0106】

10

20

30

40

50

図 8 A ~ B は、肺組織における I L - 6 ( 図 8 A ) および I L - 1 ( 図 8 B ) レベルが星状神経節 R T X 投与の後に有意に低減したことを示す。

【 0 1 0 7 】

図 9 A ~ H は、群間での体重 ( B W ) および個々の器官重量を示す。偽ラットと比較すると、肺湿重量 ( W L W ) および W L W 対 B W の比は、 B l e o 処置ラットおよび V e h 処置ラットにおいて有意により高く、これは、 R T X の星状神経節内注射によって有意に低減された。そのデータは、 R T X の星状神経節内注射が、 B l e o 処置後の肺浮腫を低減することを示唆する。

【 0 1 0 8 】

上記データは、心肺求心性線維を標的とする 2 つの異なる経路のいずれかによって送達された R T X を使用する A L I の存在下での T R P V 1 求心性感覚線維の剥離が、肺微小血管透過性の迅速な低減、ならびに組織および血漿の炎症マーカーの低減をもたらすことを示す。肺機能はこの一連の実験において直接的に測定されなかったが、動脈血液ガスデータは、ガス交換の改善を示唆する。 R T X の星状神経節投与を受けた後の、肺傷害を有するラットにおける改善された体重および低減した肺重量は、低減された肺浮腫からの潜在的な臨床上の利益および肺の誘発された全身性炎症プロセスによって別の方法で影響を及ぼされる非肺器官の防御効果を示唆する。

【 0 1 0 9 】

肺は、迷走神経および脊髄神経の求心性線維を含む二重の感覚系によって神経支配される。迷走神経および脊髄神経の求心性線維はともに、 A 群線維 ( 高い伝導速度 ) および C 群線維 ( 低い伝導速度 ) の軸索から構成される。これらの線維およびそれらの感覚神経終末は、旧来の  $N a ^ +$ 、 $K ^ +$  および  $C a ^ { 2 + }$  チャンネルを含むイオンチャンネル機能 ( とともに電位およびリガンド開口型 ) を媒介する種々の膜レセプターを発現する。 T R P V 1 求心性ニューロンの病的影響を調節するストラテジーが開発された。超強力ニューロトキシンである R T X は、 T R P V 1 レセプターに強力に結合する。活性化すると、 T R P V 1 チャンネルは、カルシウムに対して高度に透過性になる ( H s u ら ( 1 9 8 5 ) J o u r n a l o f A p p l i e d P h y s i o l o g y 1 1 8 : 1 5 3 3 - 1 5 4 3 ; B r o w n ら ( 2 0 1 5 ) P a i n 1 5 6 : 1 0 1 8 - 1 0 2 4 ) 。最初の刺激後に、高い細胞内カルシウムレベルが、ニューロン機能の障害を媒介する。 R T X の部位特異的送達は、種々の条件で介入して、疼痛、炎症、線維症および血漿溢出を緩和するために使用され得る。 R T X 誘導性 T R P V 1 求心性感覚削除は、求心性の制限された神経ペプチド放出を遮断し得、炎症性疼痛を低減し得ることが示された ( K a r a i ら ( 2 0 0 4 ) T h e J o u r n a l o f C l i n i c a l I n v e s t i g a t i o n 1 1 3 : 1 3 4 4 - 1 3 5 2 ) 。心肺脊髄神経求心性線維はまた、 T 1 ~ T 4 1 1 の胸椎の高さでの硬膜外腔への適用 ( いくらかはより高い分節およびより挽く分節に拡がる ) または星状神経節への注射のいずれかによって、 R T X で標的化され得る。 D R G は、性質が専ら感覚性と考えられるが、星状神経節は、交感神経遠心性線維の細胞体および D R G を経てそれらが走って脊髄に入る場合の胸髄求心性線維の通過線維を含む。ヒトでは、星状神経節は容易に同定され得、このタイプの経皮的手順が、透視または超音波ガイダンス ( 神経節内または神経「ブロック」アプローチ ) とともに行われ得ることは、注記されるべきである。さらに、星状神経節内注射は、少量しか必要とせず ( 両側の注射で 1 0  $\mu$  l ) 、これは、 R T X の全身性の吸収のリスクを低減し、 R T X のより高い用量が局所注射のために使用されることを可能にする。

【 0 1 1 0 】

本明細書で引用される全ての刊行物の完全な開示は、各々が本明細書で個々に示されかつ援用されるかのように、それらの全体において本明細書に参考として援用される。

【 0 1 1 1 】

本明細書で開示される実施形態に対する種々の改変および変更は、本開示の範囲および趣旨から逸脱することなく、当業者に明らかになる。例証的な実施形態および例として提供されるに過ぎず、本発明の範囲を限定することは意図されない。



【 図 5 A - 5 C 】

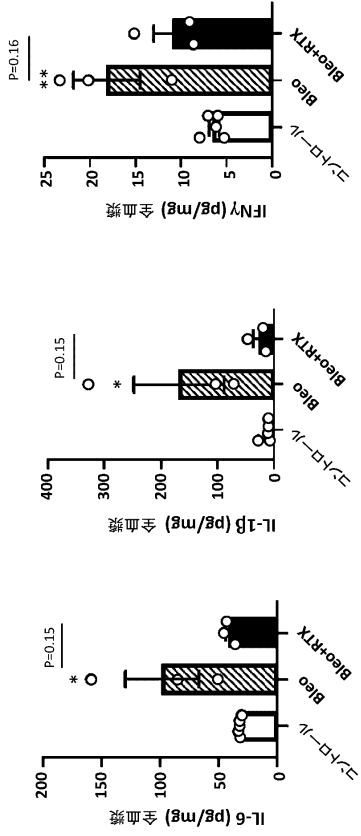


Fig. 5C

Fig. 5B

Fig. 5A

【 図 6 A - 6 D 】

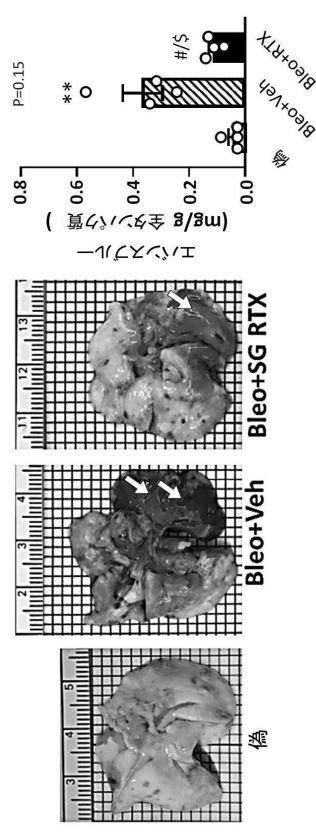


Fig. 6D

Fig. 6C

Fig. 6B

Fig. 6A

【 図 7 A - 7 D 】

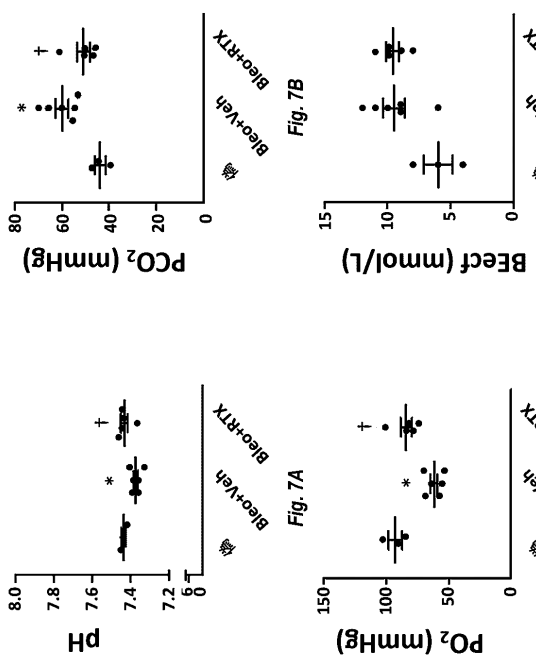


Fig. 7B

Fig. 7A

Fig. 7D

Fig. 7C

【 図 7 E - 7 H 】

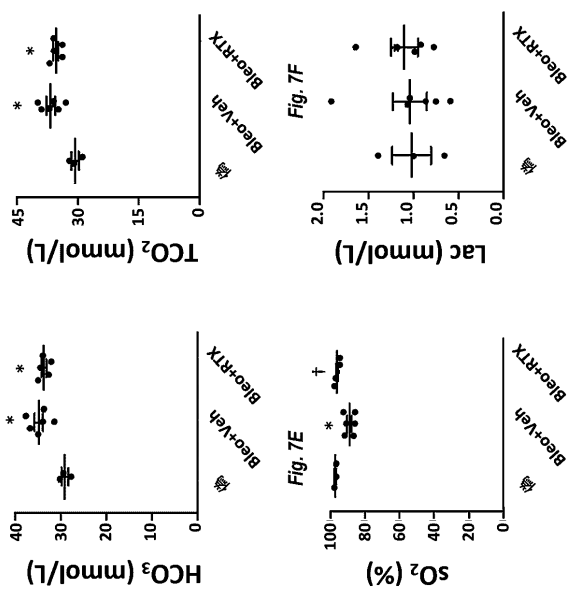


Fig. 7F

Fig. 7E

Fig. 7H

Fig. 7G

10

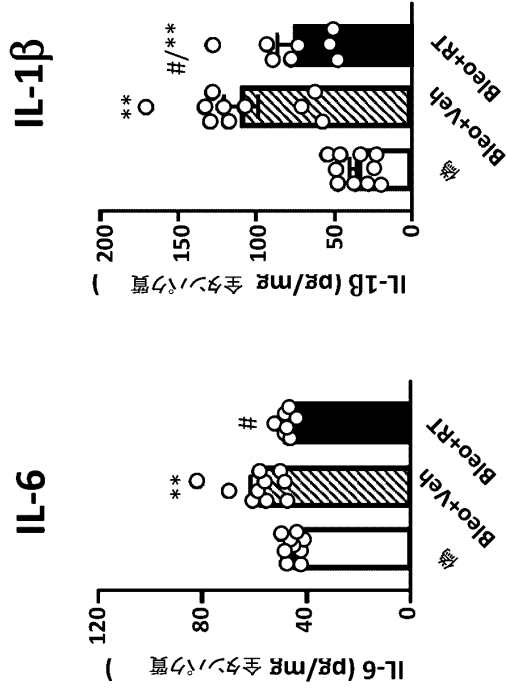
20

30

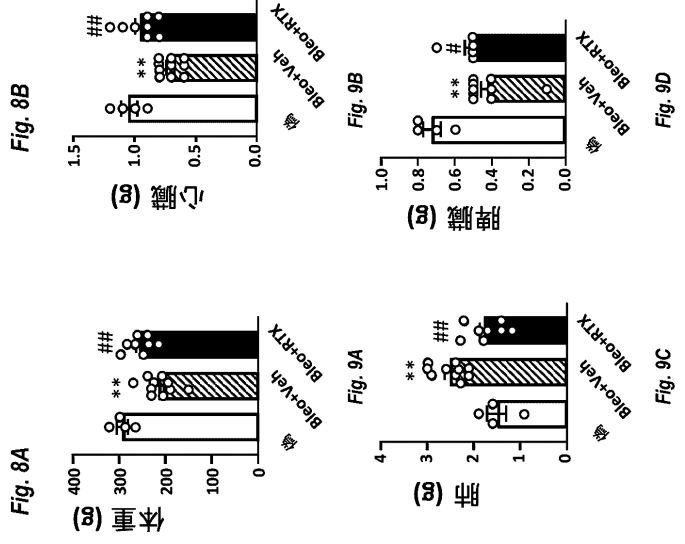
40

50

【 図 8 A - 8 B 】



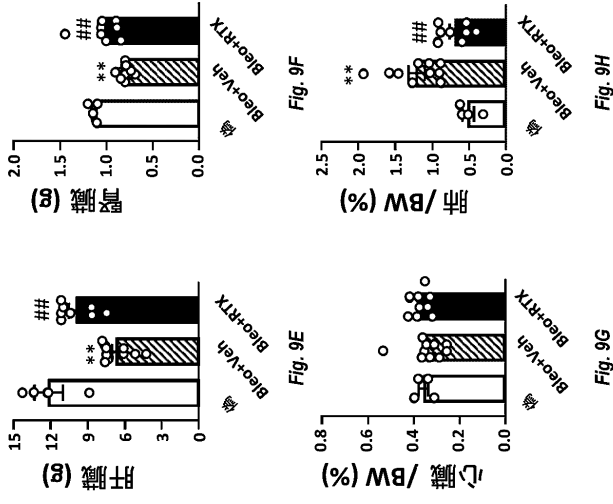
【 図 9 A - 9 D 】



10

20

【 図 9 E - 9 H 】



30

40

50

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2021/022089
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61K31/357 A61P11/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
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, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ELEKES ET AL: "Role of capsaicin-sensitive afferents and sensory neuropeptides in endotoxin-induced airway inflammation and consequent bronchial hyperreactivity in the mouse", REGULATORY PEPTIDES, ELSEVIER SCIENCE BV, NL, vol. 141, no. 1-3, 29 March 2007 (2007-03-29), pages 44-54, XP022003436, ISSN: 0167-0115, DOI: 10.1016/J.REGPEP.2006.12.018 Discussion; paragraphs [03.1], [03.2], [03.5]	1-23
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
16 June 2021	23/06/2021	
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  Cattell, James	

2

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

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 P	9/12 (2006.01)	A 6 1 P	9/12
A 6 1 P	11/02 (2006.01)	A 6 1 P	11/02
A 6 1 P	11/06 (2006.01)	A 6 1 P	11/06
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04
A 6 1 P	31/10 (2006.01)	A 6 1 P	31/10
A 6 1 P	31/12 (2006.01)	A 6 1 P	31/12

,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,D  
K,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),O  
A(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,B  
B,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,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z  
W

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ナハマ, アレクシス

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 1 2 1, サンディエゴ, ディレクターズ プレイス 4 9 5 5

(72)発明者 ジ, ヘンリー ホンジュン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 1 2 1, サンディエゴ, ディレクターズ プレイス 4 9 5 5

(72)発明者 ザッカー, アービング エイチ.

アメリカ合衆国 ネブラスカ 6 8 5 8 3, リンカーン, ホールドレッジ ストリート 3 8 3 5,  
ヴァーナー ホール

(72)発明者 ワン, ハンジュン

アメリカ合衆国 ネブラスカ 6 8 5 8 3, リンカーン, ホールドレッジ ストリート 3 8 3 5,  
ヴァーナー ホール

F ターム (参考) 4C086 AA01 AA02 BA16 MA01 MA02 MA04 MA05 MA16 MA66 NA14  
ZA36 ZA59 ZB31 ZB33 ZB35