(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 693 09 044 T3** 2004.12.23

(12) Übersetzung der geänderten europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 626 861 B2**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **693 09 044.8**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US93/00030**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **93 902 914.6**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 93/13798**
(86) PCT-Anmeldetag: **12.01.1993**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **22.07.1993**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **07.12.1994**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **19.03.1997**
(97) Veröffentlichungstag des geänderten Patents beim EPA: **28.04.2004**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **23.12.2004**

(51) Int Cl.[7]: **A61K 39/395**

(30) Unionspriorität:
821768 **13.01.1992** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:
Biogen, Inc., Cambridge, Mass., US

(72) Erfinder:
LOBB, Roy, R., Westwood, MA 02090, US

(74) Vertreter:
Patentanwälte Isenbruck Bösl Hörschler Wichmann Huhn, 81675 München

(54) Bezeichnung: **BEHANDLUNG VON ASTHMA**

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

GEBIET DER ERFINDUNG

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine Behandlung von allergischem Asthma. Insbesondere betrifft diese Erfindung die Verwendung von Antikörpern bei der Behandlung von allergischem Asthma, die das B1- oder B2-Epitop der α-4-Untereinheit von Very Late Antigen-4 (VLA-4) erkennen, einen Liganden auf bestimmten Leukozyten für den Endothelzellenrezeptor Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1).

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] Asthma ist ein Leiden des Respirationstrakts, das durch eine 10 ausgedehnte, reversible Verengung der Atemwege (Bronchokonstriktion) und erhöhte Empfindlichkeit (Hyperreaktivität) der Atemwege gegenüber einer Vielzahl von Stimuli gekennzeichnet ist. Die bekannte Symptomatik von Asthma, d. h. Husten, pfeifendes Atmen, Brustenge, Atemnot, wird durch Kontraktion der glatten Muskulatur des Atemwegs, vermehrte Absonderung von 15 Bronchialschleim und Entzündung verursacht. Man schätzt, daß Asthma, obwohl selten tödlich, weltweit 10–20% der Kinder im schulpflichtigen Alter betrifft, und Krankenhausaufnahmen von Kindern wegen Asthma haben in den letzten Jahren dramatisch zugenommen, wobei eine Erhebung für die Vereinigten Staaten zeigt, daß Krankenhausaufnahmen von Kindern unter 15 20 mit Asthma zwischen 1970 und 1984 um mindestens 145% zugenommen haben. (Siehe M. R. Sears, 1990 [1].) Es wird geschätzt, daß insgesamt 10 Millionen Amerikaner (4% der Bevölkerung) Asthma haben und ungefähr 4 Milliarden $ pro Jahr bei der Behandlung ausgegeben werden. (L. K. Altman, 1991 [2]; C. Starr, 1991 [3].)

[0003] Die Ursachen von Asthma sind nicht vollständig erkannt, jedoch unterstützt die Untersuchung von Wirkstoffen, die akute asthmatische Anfälle auslösen, die Theorie, daß Asthma eine immunologische Reaktion eines Patienten als Antwort auf spezifische Allergene aus der Umgebung des Patienten ist. Diese "Auslöser" verschlimmern Asthma, indem sie eine vorübergehende Erhöhung der Hyperreaktivität des Atemwegs verursachen. Man hat gefunden, daß zu Auslösern, die eine Hyperreaktivität des Atemwegs induzieren, inhalierte Allergene, inhalierte Wirkstoffe mit niedrigem Molekulargewicht, gegenüber denen der Patient sensibilisiert worden ist (z. B. durch berufliche Exposition), Atemwegsinfektionen durch Viren oder Mycoplasmen und oxidierende Gase, wie z. B. Ozon und Stickstoffdioxid, gehören. Diese "induzierenden" Auslöser können von "anregenden" Auslösern bronchospastischer Anfälle unterschieden werden, zu denen körperliche Bewegung, kalte Luft, emotionaler Streß, pharmakologische Auslöser und inhalierte Reizstoffe gehören. Das allgemeine Merkmal induzierender Auslöser besteht darin, daß sie mit einer Entzündung der Atemwege verbunden sind; anregende Auslöser rufen Kontraktionen der glatten Muskulatur 5 (Bronchospasmen) hervor, die mehr von dem zugrundeliegenden Grad der Hyperreaktivität als von einer wachsenden Reaktivität der Atemwege selbst abhängen. (Siehe D. W. Cockcroft, 1990 [4].)

[0004] Die Erkenntnis, daß eine Entzündung der Atemwege eine Ursache der vorübergehenden (akuten) und auch der anhaltenden Hyperreaktivität des Atemwegs ist, hat Einfluß auf die Behandlung von an Asthma Leidenden gehabt. Frühere Behandlungen von Asthma richteten sich auf die Bronchokonstriktion und führten zur Entwicklung vieler wirksamer bronchodilatatorischer Arzneimittel. Die meisten normalerweise verordneten waren $beta_2$-Adrenozeptor-Agonisten (Epinephrin, Isoproterenol, Salbutamol, Salmeterol usw.), Xanthine (Coffein, Theophyllin usw.) und Cholinozeptor-Antagonisten (Atropin, Acetylcholin usw.). In neuerer Zeit haben jedoch entzündungshemmende Arzneimittel begonnen, Bronchodilatatoren als Heilmittel erster Wahl für Asthma zu ersetzen. Zu normalerweise verordneten entzündungshemmenden Wirkstoffen für Asthma gehören Dinatriumcromoglicinat (DSCG), Natriumnedocromil, Antihistamine, wie z. B. Ketotifen, und Corticosteroide, wie z. B. Prednisolon. (Siehe F. M. C. Cuss, 1990 [5] und P. M. O'Byrne, 1990 [6].)

[0005] Die Entzündungsreaktion bei Asthma ist typisch für Gewebe, die mit einer Schleimhaut bedeckt sind, und ist gekennzeichnet durch Gefäßerweiterung, Plasmaexsudation, Rekrutierung von Entzündungszellen, wie z. B. Neutrophile, Monozyten, Makrophagen, Lymphozyten und Eosinophile, an die Stellen der Entzündung sowie Freisetzung von Entzündungsmediatoren durch seßhafte Gewebezellen (z. B. Mastzellen) oder durch wandernde Entzündungszellen. (J. C. Hogg, 1990 [7].) Bei allergeninduziertem Asthma zeigen Leidende oftmals eine duale Reaktion auf die Einwirkung eines Allergens, – eine "Frühphasen"-Reaktion, die sofort nach der Einwirkung beginnt und bis zu 1–2 Stunden nach der Einwirkung andauert, gefolgt von einer "Spätphasen"-Reaktion, die etwa 3 Stunden nach der Einwirkung beginnt und manchmal bis zu 8–10 Stunden oder länger nach der Einwirkung andauert.

[0006] (D. W. Cockroft, 1990 [4].) Spätphasenreaktion bei allergeninduziertem Asthma und anhaltende Hy-

perreaktivität wurden mit der Rekrutierung von Leukozyten und insbesondere Eosinophilen in entzündetes Lungengewebe in Verbindung gebracht. (W. M. Abraham et al., 1988 [8].) Es ist bekannt, dass Eosinophile verschiedene Entzündungsmediatoren freisetzen, z. B. 15-HETE, Leukotrien C_4, PAF, kationische Proteine, eosinophile Peroxidase. (K. F. Chung, 1990 [9].)

[0007] Es wurde gefunden, daß viele Arzneimittel, die zur Behandlung von 5 Asthma verwendet werden, die Auswirkungen der Freisetzung von Entzündungsmediatoren, die die Entzündungsreaktion regulieren, blockieren oder neutralisieren. Zum Beispiel sind $Beta_2$-Adrenozeptor-Agonisten und DSCG potente Stabilisatoren von Mastzellen, die imstande sind, viele Mediatoren freizusetzen, einschließlich Histamin, Prostaglandine, Leukotriene, der 10 Plättchen aktivierende Faktor (PAF) und chemotaktische Faktoren für Neutrophile und Eosinophile; Corticosteroide, als ein weiteres Beispiel ein. Komplex mit Steroidhormonrezeptoren, der zur Synthese von Proteinen, wie z. B. Lipocortine, führt, die entzündungshemmende Wirkungen hervorrufen. (F. M. C. Cuss, 1988 [5].)

[0008] Obwohl bekannte Asthmamedikationen einige Wirkung auf die Rekrutierung von Leukozyten in die Lunge haben (W. M. Abraham et al., 1988 [8]), ist keines dieser Arzneimittel bei der direkten Blockierung der Wanderung von Leukozyten in entzündete Gewebe wirksam.

[0009] Entzündungsleukozyten werden durch Zelladhäsionsmoleküle, die auf der Oberfläche von Endothelzellen exprimiert werden und die als Rezeptoren für Proteine oder Proteinkomplexe der Leukozytenoberfläche fungieren, an die Stellen der Entzündung rekrutiert. Es wurde kürzlich gefunden, dass Eosinophile an drei verschiedenen Wegen der Zelladhäsion an vaskuläres Endothelium teilnehmen, indem sie sich an Zellen binden, die das interzelluläre -Adhäsionsmolekül 1 (ICAM-1), das endotheliale Zeiladhäsionsmolekül 1 (ELAM-1) und das vaskuläre Zelladhäsionsmolekül 1 (VCAM-1) exprimieren. (P. F. Weller et al., 1991 [10]; G. M. Walsh et al., 1991 [11]; B. S. Bochner et al., 1991 [12] und A. Dobrina et al., 1991 [13].) VCAM-1 bindet sich an das $\alpha_4\beta$.,-Integrin, VLA-4, das auf verschiedenen Lymphoidzellen einschließlich Eosinophilen exprimiert wird (Weller et al., 1991 [10]; Elices et al., 1990 [14]). Daß Eosinophile VLA-4 exprimieren, unterscheidet sie von anderen Entzündungszellen, wie z. B. Neutrophile, die sich an ELAM-1 und ICAM-1, aber nicht an VCAM-1 binden. PCT/WO92/00751, veröffentlicht am 23. Januar 1992, beschreibt ein Arzneimittel zur Prophylaxe oder Behandlung von Krankheiten, das die Bindung von Eosinophilen an Zellen, die auf der Oberfläche vaskuläre Zelladhäsionsmoleküle exprimieren, mit sich bringt. Das Arzneimittel umfasst einen VCAM- oder einen Anti-VCAM-Antikörper und einen pharmazeutisch verträglichen Excipienten oder Träger. Das Dokument fällt unter Berücksichtigung nach dem Artikel 54(3) EPC.

[0010] Der durch VLA-4 vermittelte Adhäsionsweg wurde in einem Asthmamodell zur Erforschung der möglichen Rolle von VLA-4 bei der Rekrutierung von Leukozyten in entzündetes Lungengewebe untersucht. Es wurde jetzt entdeckt, dass die Verabreichung eines Anti-VLA-4-Antikörpers, der in der Lage ist, an das B1- oder B2-Epitop der α-4-Untereinheit zu binden, bei allergischen Schafen sowohl die Spätphasenreaktion als auch die Hyperreaktivität des Atemwegs hemmt. Überraschenderweise führte die Verabreichung eines derartigen Anti-VLA-4 4 Stunden nach der Allergenherausforderung zu einer Verringerung der Anzahl sowohl der Neutrophilen als auch der Eosinophilen in der Lunge, obwohl beide Zellen unterschiedliche Adhäsionswege haben, auf welchen sie in Lungengewebe rekrutiert werden können. Ebenfalls überraschenderweise wurde bei den behandelten Schafen eine Hemmung der Hyperreaktivität beobachtet, die bis zu 1 Woche anhielt, obwohl während der Zeit die Infiltration von Leukozyten, einschließlich Neutrophilen und Eosinophilen, nicht signifikant vermindert wurde.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0011] Die vorliegende Erfindung basiert auf neuen Verfahren zur Behandlung von Asthma und stellt neue Arzneimittel bereit, die bei der Behandlung von Asthma verwendbar sind. Insbesondere stellt die vorliegende Erfindung die Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei einem Verfahren bereit, das den Schritt der Verabreichung einer wirksamen Menge eines Anti-VLA-4-Antikörpers, der in der Lage ist, an das B1- oder B2-Epitop der α-4-Untereinheit zu binden, wie z. B. der monoklonale Antikörper HP1/2, an einen an Asthma Leidenden umfasst. Der erwünschte Anti-VLA-4-Antikörper wird vorteilhafterweise in vivo an einen Patienten mit chronischem, allergieinduziertem Asthma verabreicht und dient dazu, die Spätphasenreaktion auf Allergene zu hemmen und die Hyperreaktivität des Atemwegs zu vermindern.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0012] **Abb.** 1 ist eine graphische Darstellung, die die Wirkung des monoklonalen Antikörpers HP 1/2 (intra-

venös) auf die Reaktion gegenüber einem Allergen (Ascaris suum-Antigen) bei dual reagierenden allergischen Schafen veranschaulicht. Die prozentuale Änderung des spezifischen Lungenwiderstands (SR_L) wird während der Zeit nach der Allergenherausforderung gemessen. Sternchen zeigen statistisch signifikante Ergebnisse an.

[0013] **Abb.** 2 ist eine graphische Darstellung, die die Konzentration des monoklonalen Antikörpers HP1/2 im Plasma (intravenös) bei Schafen veranschaulicht, gemessen während der Zeit nach der ersten Verabreichung.

[0014] **Abb.** 3 ist eine graphische Darstellung, die die Wirkung des monoklonalen Antikörpers HP1/2 (intravenös) auf die Hyperreaktivität des Atemwegs bei dual reagierenden Schafen veranschaulicht. Reaktivität des Atemwegs, gemessen in Atemeinheiten (BU) von kumulativen Einatmungen einer Carbachollösung (eine bekannte bronchokonstriktive Substanz) von 1% Gewicht/Volumen, die den spezifischen Lungenwiderstand auf 400% gegenüber dem Wert erhöht, der erhalten wird, wenn man das Verdünnungsmittel allein verwendet. Sternchen zeigen statistisch signifikante Ergebnisse an.

[0015] **Abb.** 4 (bestehend aus den **Abb.** 4A, 4B, 4C und 4D) ist eine Reihe von vier graphischen Darstellungen, die die Gesamtzahl der Zellen (**Abb.** 4A) und die Anteile verschiedener Leukozyten (Lymphozyten (**Abb.** 4B), Neutrophile (**Abb.** 4C) und Eosinophile (**Abb.** 4D)) zeigen, ermittelt durch bronchoalveoläre Lavage bei allergischen Schafen, die mit dem Ascaris suum-Antigen allein sowie nach Vorbehandlung mit monoklonalem Antikörper HP1/2 (intravenös) herausgefordert wurden. Die Gesamtzahl der Zellen und der prozentuale Anteil der Gesamtzahl der Zellen, der aus Lymphozyten oder Neutrophilen oder Eosinophilen bestand, wurden zu den Zeitpunkten 4 Stunden, 8 Stunden, 24 Stunden, 48 Stunden und 1 Woche nach der Allergenherausforderung gemessen.

[0016] **Abb.** 5 ist eine graphische Darstellung, die die Wirkung des monoklonalen Antikörpers HP1/2 (16 mg, Aerosol) und 1E6 (16 mg, Aerosol) 25 auf die Reaktion gegenüber dem Allergen (Ascaris suum-Antigen) bei dual reagierenden allergischen Schafen veranschaulicht. Die prozentuale Änderung des spezifischen Lungenwiderstands (SR_L) wird während der Zeit nach der Allergenherausforderung gemessen. Sternchen zeigen statistisch signifikante Ergebnisse an.

[0017] **Abb.** 6 ist eine graphische Darstellung, die die Wirkung des monoklonalen Antikörpers HP1/2 (16 mg, Aerosol) und 1E6 (16 mg, Aerosol) auf die Hyperreaktivität des Atemwegs bei dual reagierenden Schafen veranschaulicht. Reaktivität des Atemwegs, gemessen in Atemeinheiten (BU) von kumulativen Einatmungen einer Carbachollösung (eine bekannte bronchokonstriktive Substanz) von 1% Gewicht/Volumen, die den spezifischen Lungenwiderstand auf 400% gegenüber dem Wert erhöht, der erhalten wird, wenn man das Verdünnungsmittel allein verwendet. Sternchen zeigen statistisch signifikante Ergebnisse an.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0018] Die Technologie zur Erzeugung monoklonaler Antikörper ist gut bekannt. Kurz gesagt wird eine unsterbliche Zellinie (typischerweise Myelomzellen) mit Lymphozyten (typischerweise Splenozyten) von einem Säugetier, das mit ganzen Zellen, die ein gegebenes Antigen, z. B. VLA-4, exprimieren, immunisiert ist, verschmolzen, und die Kulturüberstände der entstehenden Hybridomzellen werden auf Antikörper gegen das Antigen abgesucht. (Siehe allgemein Kohler et al., 1975 [15].)

[0019] Immunisierung kann unter Verwendung von Standardverfahren erreicht werden. Die Dosiseinheit und das Immunisierungsregime hängen von der Spezies des immunisierten Säugetiers, dessen Immunstatus, dem Körpergewicht des Säugetiers usw. ab. Typischerweise werden die immunisierten Säugetiere zur Ader gelassen, und das Serum aus jeder Blutprobe wird auf spezielle Antikörper getestet, indem geeignete Suchtests angewendet werden. Zum Beispiel können die erwünschten Anti-VLA-4-Antikörper durch Immunpräzipitation von 125I-markierten Zellysaten aus VLA-4-exprimierenden Zellen nachgewiesen werden. (Siehe Sanchez-Madrid et al. 1986 [16] und Hemler et al. 1987 [17]. Die erwünschten anti-VLA-4-Antikörper können auch durch Durchflusszytometrie nachgewiesen werden, z. B. durch Messung der Fluoreszenzfärbung von Ramoszellen, die mit einem Antikörper inkubiert werden, von dem man glaubt, dass er VLA-4 erkennt (siehe Elices et al., 1990 [14].) Die bei der Erzeugung der Hybridomzellen verwendeten Lymphozyten werden typischerweise von immunisierten Säugetieren isoliert, deren Seren unter Verwendung derartiger Suchtests bereits positiv auf die Anwesenheit von Anti-VLA-4-Antikörpern getestet wurden.

[0020] Typischerweise wird die unsterbliche Zellinie (z. B. eine Myelomzellinie) aus der gleichen Säugetierspezies wie die Lymphozyten erhalten. Bevorzugte unsterbliche Zellinien sind die Myelomzellinien der Maus, die empfindlich gegenüber einem Kulturmedium sind, das Hypoxanthin, Aminopterin und Thymidin enthält

(„HAT-Medium").

[0021] Typischerweise werden HAT-empfindliche Myelomzellen der Maus mit Splenozyten der Maus verschmolzen, indem Polyethylenglycol mit einem Molekulargewicht von 1500 („PEG 1500") verwendet wird. Die aus der Verschmelzung entstehenden Hybridomzellen werden dann unter Verwendung von HAT-Medium ausgewählt, das unverschmolzene und unproduktiv verschmolzene Myelomzellen tötet (unverschmolzene Splenozyten sterben nach mehreren Tagen ab, da sie nicht transformiert werden). Hybridome, die einen gewünschten Antikörper erzeugen, werden durch Absuchen der Hybridomkulturüberstände nachgewiesen. Zum Beispiel können Hybridome, die zur Erzeugung von erwünschten Anti-VLA-4-Antikörpern hergestellt werden, durch Testen des Hybridomkulturüberstands auf sezernierte Antikörper, die die Fähigkeit haben, sich an das B1- oder B2-Epitop einer rekombinanten, α4-Untereineinheiten exprimierenden Zellinie, wie z. B. transfektierten K-562-Zellen, zu binden, gesucht werden (siehe Elices et al. [14]).

[0022] Zur Erzeugung von erwünschten Anti-VLA-4-Antikörpern wurden Hybridomzellen, die in derartigen Suchtests positiv getestet wurden, in einem Nährmedium unter Bedingungen und für einen Zeitraum kultiviert, die ausreichend sind, um den Hybridomzellen zu gestatten, die monoklonalen Antikörper in das Kulturmedium zu sezernieren. Gewebekulturtechniken und Kulturmedien, die für Hybridomzellen geeignet sind, sind wohlbekannt. Der konditionierte Hybridomkulturüberstand kann gesammelt werden, und die erwünschten Anti-VLA-4-Antikörper können gegebenenfalls nach wohlbekannten Verfahren weiter gereinigt werden.

[0023] In einer anderen Ausführungsform kann der gewünschte Antikörper durch Injizieren der Hybridomzellen in die Peritonealhöhle einer nicht-immunisierten Maus erzeugt werden. Die Hybridomzellen proliferieren in der Peritonealhöhle, wobei sie den Antikörper sezernieren, der sich als Aszitesflüssigkeit ansammelt. Der Antikörper kann durch Abziehen der Aszitesflüssigkeit aus der Peritonealhöhle mittels einer Spritze entnommen werden.

[0024] Verschiedene monoklonale Anti-VLA-4-Antikörper sind früher beschrieben worden (siehe z. B. Sanchez-Madrid et al., 1986 [16]; Hemler et al., 1987 [17]; Pulido et al., 1991 [19]). Für die Versuche hier wurde ein mit HP1/2 bezeichneter monoklonaler Anti-VLA-4-Antikörper (bezogen von Biogen, Inc., Cambridge, MA) verwendet. Die variablen Regionen der schweren und leichten Ketten des Anti-VLA-4-Antikörpers HP 1/2 wurden in Kombination mit konstanten Regionen schwerer und leichter Ketten des menschlichen Immunglobulins geklont, sequenziert und exprimiert. Ein derartiger chimärer HP 1/2-Antikörper ist in Spezifität und Potenz dem HP 1/2-Antikörper der Maus ähnlich und kann bei der erfindungsgemäßen Behandlung verwendbar sein. Ähnlich können humanisierte rekombinante Anti-VLA-4-Antikörper dabei verwendbar sein. Die HP1/2-VH-DNA-Sequenz und ihre translatierten Aminosäuresequenzen werden in SEQ ID NO: 1 bzw. SEQ ID NO: 2 angegeben. Die HP1/2-VK-DNA-Sequenz und ihre translatierte Aminosäuresequenz werden in SEQ ID NO: 3 bzw. SEQ ID NO: 4 angegeben.

[0025] Monoklonale Antikörper, wie z. B. HP1/2 und andere Anti-VLA-4-Antikörper (z. B. Mab HP2/1, HP2/4, L25, P4C2), die imstande sind, die B1- oder B2-Epitope der VLA-α4-Kette (siehe Pulido et al, 1991 [19]) zu erkennen, sind in der vorliegenden Erfindung verwendbar. Obwohl nicht erwünscht ist, durch eine wissenschaftliche Theorie gebunden zu sein, können Anti-VLA-4-Antikörper, die gemäß der vorliegenden Erfindung verwendet werden, zumindest für einen anfänglichen Zeitraum, der der Allergenherausforderung folgt, die Wanderung von VLA-4-exprimierenden Leukozyten in entzündete Abschnitte der Lunge spezifisch hemmen. Diese Hemmung der Wanderung der VLA-4-Leukozyten könnte wiederum sekundäre pathologische Auswirkungen der Leukozyteninfiltration verhindern, z. B. die Freisetzung toxischer Substanzen, die Induzierung löslicher Mediatoren der Entzündungszelle, die Freisetzung oder Induzierung chemotaktischer Wirkstoffe der Leukozyten (wie z. B. chemotaktische Faktoren der Neutrophilen) usw. Als Ergebnis können Spätphasenreaktionen auf das Allergen und anhaltende Überempfindlichkeit der Atemwege vermindert werden. In einer anderen Ausführungsform können die erwünschten Anti-VLA-4-Antikörper die Signaltransformation, die für die Freisetzung von Entzündungsmediatoren und/oder chemotaktischen Wirkstoffen der Zelle notwendig ist, vermindern.

[0026] Die vorliegende Erfindung stellt die Herstellung eines Medikaments zur Verwendung für die Behandlung von Asthma bereit, das die Verabreichung einer Zusammensetzung, umfassend einen erwünschten Anti-VLA-4-Antikörper, an ein Säugetier, das an allergischem Asthma leidet, umfaßt. Die nachstehenden Beispiele geben die Ergebnisse an, die bei asthmatischen Schafen beobachtet wurden. Die Ähnlichkeit zwischen physiologischen Reaktionen und pharmakologischen Wirkungen bei Schafen und bei Menschen ist jedoch dokumentiert (siehe z. B. W. M. Abraham, 1989 [20]); und Ähnlichkeiten zwischen Asthmamodellen von Schafen und anderen Tieren (Kaninchen, Totenkopfäffchen, Meerschweinchen und sensibilisierten Hunden) sind be-

kannt (siehe z. B. W. M. Abraham et al., 1988 [8]). Dementsprechend sind die Ergebnisse, über die hier berichtet wird, relevant und anwendbar und das Verfahren, auf das Anspruch erhoben wird, ist für alle Säugetiere einschließlich Menschen, die an allergischem Asthma leiden, anwendbar.

[0027] Der gemäß der vorliegenden Erfindung verabreichte Anti-VLA-4-Antikörper kann prophylaktisch, vor Einwirkung eines asthmainduzierenden Allergens verabreicht werden. Vorteilhafte Wirkungen werden auch erhalten, wenn der Antikörper zu der Zeit oder unmittelbar nach der Einwirkung des Allergens, zwischen Frühphasen- und Spätphasenreaktion, verabreicht wird, um die Heftigkeit der Spätphasenreaktion zu vermindern, oder zu einer beliebigen Zeit nach der Allergeneinwirkung, um die Hyperreaktivität des Atemswegs zu verringern oder auszuschalten.

[0028] Der erwünschte Anti-VLA-4-Antikörper kann in der Form einer Zusammensetzung, die einen derartigen Anti-VLA-4-Antikörper und einen pharmazeutisch verträglichen Träger umfaßt, verabreicht werden. Vorzugsweise liegt die Zusammensetzung in einer Form vor, die zur intravenösen Injektion geeignet ist. Außerdem werden Antikörperzusammensetzungen in Form einer sterilen wäßrigen oder phosphatgepufferten Kochsalzlösung erwogen, die zerstäubt (atomisiert) und von dem an Asthma Leidenden, z. B. unter Verwendung eines Inhalators, direkt in die Lungen eingeatmet werden kann. Die Dosierungen variieren in Abhängigkeit von der Empfindlichkeit des an Asthma Leidenden gegenüber bestimmten Allergenen, der Konzentration des Allergens während der Einwirkung und der Häufigkeit/Dauer der Einwirkung(ein), der vorgeschlagenen Art der Verabreichung (z. B. Injektion oder Inhalation), der gewünschten Konzentration des Antikörpers im Plasma, der Wirksamkeit eines bestimmten Antikörpers oder einer Kombination von Antikörpern bei der Unterdrückung der Reaktivität des Atemwegs, der Clearance-Geschwindigkeit oder der Halbwertszeit der Antikörperzusammensetzung und anderen derartigen Faktoren, die Ärzten, die in der Behandlung von allergischem Asthma erfahren sind, bekannt sind. Im allgemeinen werden Dosierungen berechnet und angepaßt, daß eine Konzentration des Antikörpers im Plasma im Bereich von 1–1000 µg/ml aufrechterhalten wird, obwohl höhere oder niedrigere Dosierungen unter Berücksichtigung des Alters, der Empfindlichkeit, der Verträglichkeit und anderer Eigenschaften des Patienten, der Heftigkeit des Ausbruchs, der Vorgeschichte und des Verlaufs der Krankheit und anderer ähnlicher Faktoren, die von einem behandelnden Arzt routinemäßig berücksichtigt werden, angezeigt sein können. Je nach der Potenz und der Halbwertszeit des verwendeten Antikörpers wird bevorzugt, etwa 0,05 mg/kg bis 5,0 mg/kg Antikörper, am meisten bevorzugt 0,5 bis 2,0 mg/kg Antikörper, basierend auf dem Gewicht des Patienten, der die Behandlung erhält, zu verwenden.

[0029] Zu geeigneten pharmazeutischen Trägern gehören z. B. sterile Kochsalzlösung und physiologische Pufferlösungen. Für die Verabreichung als Inhalat wird phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) bevorzugt. Die Arzneimittel können zusätzlich zubereitet werden, daß die Freisetzung der wirksamen Inhaltsstoffe gesteuert oder ihre Anwesenheit im Organismus des Patienten verlängert wird. Für diesen Zweck sind zahlreiche geeignete Systeme zur Arzneimittelzuführung bekannt und dazu gehören z. B. Hydrogele, Hydroxymethylcellulose, Mikrokapseln, Liposome, Mikroemulsionen, Mikrokügelchen und dergleichen.

[0030] Es wird auch erkannt, daß für die Zwecke der vorliegenden Erfindung Antikörper, die imstande sind, sich an das B1- oder B2-Epitop der α4-Untereinheit von VLA-4 anzulagern, verwendet werden müssen. Es wird bevorzugt, daß monoklonale Antikörper verwendet werden.

[0031] Zusätzlich zu natürlich erzeugten Antikörpern können in einer anderen Ausführungsform geeignete rekombinante Antikörper verwendet werden, die imstande sind, sich an das B1- oder B-2-Epitop der α4-Untereinheit von VLA-4 anzulagern. Zu derartigen rekombinanten Antikörpern gehören Antikörper, die über Techniken für rekombinante DNA erzeugt werden, z. B. durch Transformieren einer Wirtszelle mit einem geeigneten, DNA enthaltenden Expressionsvektor, der die leichten und schweren Immunglobulinketten des gewünschten Antikörpers codiert, und rekombinante chimäre Antikörper, bei denen einige oder alle der Scharnier- und konstanten Regionen der schweren und/oder der leichten Kette des erwünschten Anti-VLA-4-Antikörpers durch entsprechende Regionen einer leichten oder schweren Immunglobulinkette einer anderen Spezies (d. h. vorzugsweise die gleiche Spezies wie die behandelt werdende, an Asthma leidende, um die Immunantwort auf den verabreichten Antikörper zu minimieren) ersetzt sind. (Siehe z. B. P. T. Jones et al., 1986 [21], E. S. Ward et al., 1989 [22] und die US-Patentschrift 4816397 (Boss et al.) [23].)

[0032] Darüber hinaus werden hier außerdem Fragmente von erwünschten Anti-VLA-4-Antikörpern, wie z. B. Fab-, Fab'-, F(ab')2- und F(v)-Fragmente; Monomere oder Dimere schwerer Ketten; Monomere oder Dimere leichter Ketten und Dimere, die aus einer schweren Kette und einer leichten Kette bestehen, erwogen. Derartige Antikörperfragmente können durch chemische Verfahren, z. B. durch Spaltung eines intakten Antikörpers mit einer Protease, wie z. B. Pepsin oder Papain, oder über Techniken für rekombinante DNA, z. B. unter Ver-

wendung von Wirtszellen, die mit Genen gestutzter schwerer und/oder leichter Ketten transformiert sind, erzeugt werden. Monomere schwerer und leichter Ketten können ähnlich erzeugt werden, indem ein intakter Antikörper mit einem Reduktionsmittel, wie z. B. Dithiothreitol oder (3-Mercaptoethanol, behandelt wird oder indem Wirtszellen verwendet werden, die mit DNA transformiert sind, die entweder die gewünschte schwere Kette oder leichte Kette oder beide codiert.

[0033] Es wird ebenfalls erwogen, daß Anti-VLA-4-Antikörper in Kombination mit anderen Antikörpern, die eine therapeutische Wirkung auf die Reaktivität des Atemwegs haben, verwendet werden können. Zum Beispiel können in dem Umfang, in dem die vorteilhaften Wirkungen, über die hier berichtet wird, auf die Hemmung der Leukozytenrekrutierung an VCAM-1 exprimierendes Endothelium zurückzuführen sind, Kombinationen von Anti-VLA-4-Antikörpern mit anderen Antikörpern, die die Adhäsion zwischen Leukozytenantigenen und Endothelzellrezeptormolekülen beeinträchtigen, vorteilhaft sein.

[0034] Wenn die hier erwogenen Arzneimittel in dem passenden Vehikel zubereitet werden, können sie auf jede geeignete Weise, wie z. B. oral, intraösophageal oder intranasal, intrabronchial (örtliche Behandlung, z. B. über ein Bronchoskop) ebenso wie subkutan, intramuskulär, intravenös, intraarteriell oder parenteral, verabreicht werden. Gewöhnlich wird eine Verabreichung über Inhalation bevorzugt.

BEISPIELE

[0035] Die Versuche wurden im wesentlichen wie von Abraham et al. [8] beschrieben durchgeführt. Kurz gesagt wurden allergische Schafe, die eine natürliche allergische Hautreaktion gegenüber 1 : 1000- oder 1 : 10 000–5 Verdünnungen von Ascaris suum-Extrakt (Greer Diagnostics, Lenoir, NC) aufwiesen, getestet, und Schafe, die sowohl Früh- als auch Spätphasen-reaktion des Atemwegs gegenüber einer Herausforderung durch Inhalation von Ascaris suum-Antigen zeigen ("dual reagierende"), wurden ausgewählt. Um Atmungsmechanik und physische Veränderungen in den Atemwegen zu messen, wurden die Schafe in einer auf dem Bauch liegenden Stellung mit ruhiggestelltem Kopf im Zaum gehalten. Ein Ballonkatheter wurde unter örtlicher Betäubung mit 2%iger Lidocainlösung durch ein Nasenloch in die untere Speiseröhre vorgeschoben, und ein Endotrachealtubus mit Manschette wurde durch das andere Nasenloch (unter Verwendung eines biegsamen Glasfaserbronchoskops als Führung) zur Messung der Atemwegsmechanik und während der Aerosolherausforderungen vorgeschoben. Der Pleuradruck wurde mit dem (mit 1 ml Luft gefüllten) Speiseröhren-Ballonkatheter, der 5–10 cm von der Magen-Speiseröhre-Verbindungsstelle entfernt positioniert war, gemessen. In dieser Position lag der exspiratorische Pleuradruck im Bereich zwischen –2 und –5 cm H_2O. Sobald der Ballon an die Stelle gebracht war, wurde er befestigt, so daß er für die Dauer des Versuchs in der Position verblieb. Der laterale Druck in der Luftröhre wurde mit einem Katheter mit seitlicher Öffnung (Innendurchmesser 2,5 mm) gemessen, der durch den Endotrachealtubus vorgeschoben und distal zu dessen Spitze positioniert wurde. Der transpulmonale Druck (die Differenz zwischen trachealem und pleuralem Druck) wurde mit einem Differentialdruckwandler-Kathetersystem (MP45, Validyne, Northridge, CA) gemessen. Das Druckwandler-Kathetersystem zeigte keine Phasenverschiebung zwischen Druck und Strömung bis zu einer Frequenz von 9 H_z. Der Lungenwiderstand (R_L) wurde durch Verbinden des proximalen Endes des Endotrachealtubus mit einem Fleich-Pneumotachographen (Dyna Sciences, Blue Bell, PA) gemessen. Die Signale, die das Strömen und den transpulmonalen Druck anzeigen, wurden mit einem Oszillograph (Modell DR-12; Electronics for Medicine, White Plains, NY) aufgezeichnet, das mit einem Computer zur automatischen Berechnung des Lungenwiderstands (R_L) aus dem transpulmonalen Druck, dem Atemvolumen (erhalten durch digitale Integration) und dem Strömen nach dem Verfahren des mittleren Volumens, analysiert aus 5–10 Atemzügen, verbunden war. Das Gasvolumen des Thorax (V_{tg}) wurde sofort nach Bestimmung von R_L in einem Plethysmographen mit einem Körper von konstantem Volumen gemessen. Der spezifische Lungenwiderstand (SR_L) wurde aus diesen Werten berechnet ($SR_L = V_{tg} \times R_L$).

[0036] Die Reaktivität des Atemwegs wurde durch Aufnehmen der Dosis-Wirkungs-Kurven gegen inhaliertes Carbachol bestimmt. Die Dosis-Wirkungs-5 Kurven wurden aufgezeichnet, indem Messungen des SR_L verwendet wurden, die sofort nach der Inhalation von Puffer (PBS) allein und nach jeder aufeinanderfolgenden Verabreichung von 10 Atemzügen mit steigenden Konzentrationen von Carbachol in PBS aufgenommen wurden. Die Konzentrationen von Carbachol betrugen 0,25%, 0,5%, 1,0%, 2,0% und 4,0% Gew./Vol. in PBS. Der Provokationstest wurde unterbrochen, wenn sich der SR_L auf über 400% des Wertes nach der PBS-Zugabe vergrößerte oder nachdem die höchste Carbacholkonzentration verabreicht worden war. Die Reaktivität des Atemwegs wurde bestimmt, indem aus den Dosis-Wirkungs-Kurven die kumulative Carbacholdosis in Atemeinheiten (BU) berechnet wurde, die den spezifischen Lungenwiderstand auf 400% gegenüber dem Wert nach Pufferzugabe ($PD_{400\%}$) erhöhte. Eine Atemeinheit wurde definiert als ein Atemzug einer Carbachollösung mit 1% Gew./Vol. Je größer die Unterdrückung der Hyperreaktivität des Atemwegs ist, um so größer ist somit

die Anzahl der Atemeinheiten, die erforderlich wären, bevor die gleiche Bronchokonstriktion beobachtet wird, wie sie in den Kontrollversuchen gesehen wird.

[0037] Jedes Schaf wurde einem Versuch als Kontrollversuch unterworfen, bei dem 30 Minuten vor der Allergenherausforderung mit Ascaris suum-Antigen (Greer Diagnostics, Lenoir, NC) ein Placebo (PBS ohne Zusatz) als Vorbehandlung verwendet wurde. Anschließend wurden die Schafe einem identischen Versuch unterworfen, ausgenommen, daß jedem Schaf 30 Minuten vor der Antigenherausforderung 1 mg/kg monoklonaler Antikörper HP1/2 verabreicht wurde. Das Placebo (Pufferkontrollversuch oder isotopenangepaßter Antikörper-(1E6-, Anti-LFA3-)Kontrollversuch) und HP 1/2-Zusammensetzungen wurden durch intravenöse Injektion verabreicht. Die HP1/2-Zusammensetzung (und der 1E6-Kontrollversuch) wurden durch Verdünnen des aus einem Hybridom (Biogen, Inc., Cambridge, MA) erhaltenen reinen Antikörpers in sterilem, endotoxinfreiem PBS hergestellt und eingerichtet, um 1 mg/kg Antikörper, basierend auf dem Gewicht des jeweiligen Schafes, zuzuführen. Die Antigenlösung wurde als Aerosol zugeführt, wobei ein wegwerf barer medizinischer Zerstäuber (RAINDROP®, Puritan Bennett, Lenexa, KS) verwendet wurde, der, wie durch einen Andersen-Kaskadenimpaktor bestimmt wurde, ein Aerosol mit einem mittleren aerodynamischen Massendurchmesser von 3,2 βm (geometrischer SD 1,9) lieferte. Der Ascaris suum-Extrakt wurde in PBS auf eine Konzentration von 82 000 Proteinstickstoffeinheiten (PNU)/ml verdünnt. Der Ausstoß aus dem Zerstäuber wurde in ein Kunststoff-T-Rohr gerichtet, dessen eines Ende mit der Einatmungs-5 Öffnung eines Harvard-Atemgeräts verbunden war. Ein mit dem Zerstäuber verbundenes Dosimeter bestand aus einem Solenoidventil und einer 140,6 g/cm2(20 psi)-Druckluftquelle, und das Solenoidventil wurde zu Beginn des Einatmungszyklus des Harvard-Atemgeräts für eine Sekunde in Gang gesetzt. Das Aerosol wurde mit einem Atemzugvolumen von 500 ml und einer 10 Geschwindigkeit von 20 Atemzügen pro min 20 min lang zugeführt. Jedes Schaf wurde mit einer äquivalenten Dosis von Antigen (400 Atemzüge) im Kontrollversuch und in den HP1/2-Versuchen herausgefordert. Carbachol-aerosole für die Dosis-Wirkungs-Kurven wurden ebenfalls wie vorstehend beschrieben durch einen Zerstäuber erzeugt. Zur zellulären Analyse wurde bei jedem Schaf eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) vorgenommen. Die distale Spitze des speziell entworfenen 80-cm-Glasfaserbronchoskops wurde behutsam in einen zufällig ausgewählten Subsegmentbronchus eingezwängt. Die Lungenspülung wurde durch langsame Infusion und behutsames Absaugen von 3 × 30 ml PBS (pH 7,4) bei 39°C vorgenommen, wobei 30-ml-Spritzen verwendet wurden, die am Arbeitskanal des Bronchoskops angebracht waren. Der Rücklauf der Spülung wurde gesammelt, durch Gaze filtriert, um Schleim zu entfernen, und dann 15 min lang bei 420 g zentrifugiert. Der Überstand wurde dekantiert, und die Zellen wurden in PBS resuspendiert. Ein Aliquot der Suspension wurde in die Kammer eines Hämozytometers überführt, um die Gesamtzahl der Zellen zu bestimmen. Die Gesamtzahl der lebensfähigen Zellen wurde durch Trypanblau-Ausschluß bestimmt. Ein zweites Aliquot der Zeil Suspension wurde in einer Zellschleuder geschleudert (600 U/min, 10 Minuten lang) und mit Wright-Giemsa gefärbt und bei 100X betrachtet, um Zellpopulationen zu identifizieren. Pro Objektträger wurden 500 Zellen gekennzeichnet, um die Grundlage für die unterschiedlichen Zählungen der Zellen zu schaffen. Zu den gekennzeichneten Zellen gehörten Epithelzellen, Makrophagen, Basophile, Monozyten und nichtidentifizierbare Zellen (eingeordnet in eine Kategorie mit der Bezeichnung "sonstige"), zusätzlich zu Lymphozyten, Neutrophilen und Eosinophilen.

[0038] Die Antikörperkonzentration im Plasma und die Zählungen der weißen Blutzellen wurden aus venösen Blutproben (annähernd 5 ml) aus der peripheren Beinvene oder der Jugularvene bestimmt.

BEISPIEL 1

[0039] Ein Versuch zur Herausforderung des Atemwegs unter Verwendung von acht duai reagierenden allergischen Schafen wurde gemäß den vorangehenden Protokollen durchgeführt. Der Grundwert (BSL) der Reaktivität des Atemwegs 5 ($PD_{400\%}$) wurde 2–3 Tage vor der Antigenherausforderung festgestellt, und ein Grundwert der bronchoalveolären Lavage (BAL) wurde einen Tag vor der Herausforderung aufgenommen. Am Tag der Herausforderung wurden die Grundwerte für den spezifischen Lungenwiderstand (SR_L) gemessen, dann wurden den Schafen durch Injektion Puffer (Kontrollversuch) oder HP 1/2 verabreicht. Nach dieser ersten Verabreichung ("Behandlung") wurde der SR_L gemessen, und 30 min nach der Behandlung wurden die Schafe mit Ascaris suum-Antigen herausgefordert. Der SR_L wurde sofort nach der Herausforderung, 1–6 Stunden nach der Herausforderung stündlich, 6,5 bis 8 Stunden jede halbe Stunde und außerdem 24 Stunden, 48 Stunden und 1 Woche (d. h. 168 Stunden) nach der Antigenherausforderung gemessen. Die BAL wurden im Anschluß an die SR_L-Messungen nach 4, 8, 24, 48 Stunden und 1 Woche vorgenommen. Für diese Untersuchungen wurde peripheres Blut abgenommen, und die Gesamtzahl der Zählungen der weißen Blutzellen und die Bewertung der Zeilpopulationen wurden vor der Behandlung (Grundwert), sofort nach der Herausforderung und 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24 und 48 Stunden sowie 1 Woche nach der Herausforderung vorgenommen. Die Ergebnisse dieses Versuchs werden in den Abbildungen gezeigt:

[0040] **Abb.** 1 zeigt die Wirkung der HP1/2-Behandlung auf antigeninduzierte Atemwegsreaktionen beim Versuchstier Schaf. HP1/2-Behandlung führte zu 25 einer bedeutenden (in der Tat praktisch vollständiger) Hemmung der Spätphasenreaktion, die durch die Kontrollversuche erprobt wurde.

[0041] **Abb.** 2 ist eine graphische Darstellung der HP1/2-Konzentration im Plasma der behandelten Versuchstiere in /zg/ra"! > gemessen sofort im Anschluss an die Antigenherausforderung und dann 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24 und 48 Stunden 30 nach der Herausforderung. Nach Gleichgewichtseinstellung regelte sich die Antikörperkonzentration auf eine Konzentration von annähernd 20/ig/ml ein, die bis zu dem 48-Stunden-Zeitpunkt aufrechterhalten wurde.

[0042] **Abb.** 3 ist eine graphische Darstellung, die die Wirkung einer HP 1/2-Behandlung auf die Reaktivität des Atemwegs zeigt. 24 und 48 Stunden und 1 Woche nach der Antigenherausforderung zeigten die behandelten Versuchstiere eine bedeutsame Verminderung der Reaktivität des Atemwegs. Sogar 2 Wochen nach der Antigenherausforderung zeigten die behandelten Versuchstiere fortgesetzte Verminderung der Reaktivität des Atemwegs. Die Tatsache, daß die Wirkung der praktisch vollständigen Hemmung des Antikörpers bis zu 1 Woche vorhielt, ist besonders überraschend und hinsichtlich des therapeutischen Wertes der Behandlung ermutigend.

[0043] **Abb.** 4 besteht aus einer Reihe von graphischen Darstellungen, die die Ergebnisse der BAL veranschaulichen, die 4, 8, 24 und 48 Stunden nach der Antigenherausforderung sowie 1 Woche nach der Antigenherausforderung vorgenommen wurden. Die Ergebnisse zeigen gegenüber den Kontrollversuchen keine bedeutsamen Veränderungen in der Gesamtzahl der Zellen, die von den behandelten Versuchstieren gewonnen wurden. Die behandelten Versuchstiere zeigten jedoch zum Zeitpunkt von 4 Stunden nach der Herausforderung verringerte Konzentrationen sowohl der Neutrophilen als auch der Eosinophilen. Das ist unter der Voraussetzung etwas überraschend, daß nicht erwartet wurde, dass die Verabreichung von Anti-VLA-4 die Rekrutierung von Neutrophilen beeinflusst, da Neutrophile kein VLA-4 exprimieren. Außerdem exprimieren sowohl Neutrophile als auch Eosinophile alternative Liganden, die an der Adhäsion an das Endothelium beteiligt sind; es wurde gezeigt, daß beide Zielarten sich über den LFA-1/ICAM-1-Weg und den CDX/ELAM-1-Weg an Endothelzellen binden. Ähnliche therapeutische Wirkungen mit dem Anti-VLA-4-Antikörper HP1/2 wurden beobachtet, wenn die Versuchstiere 2 Stunden nach der Antigenherausforderung, im Gegensatz zu 30 Minuten vor der Herausforderung, wie oben beschrieben, mit dem HP1/2-Antikörper behandelt wurden. Die Wirkung von HP1/2 war dosisabhängig. Zum Beispiel war eine Verringerung der Dosis auf 0,2 mg/kg nicht ausreichend, um gegen die Spätreaktion zu schützen. Für die Untersuchungen zur Antigenherausforderung, bei denen 1E6 (Anti-LFA3) als isotopenangepasster Kontrollantikörper für die HP1/2-Behandlung verwendet wurde, wurde keine Wirkung auf die Früh- oder Spätreaktion beobachtet, wobei in einem Kontrollversuch 1E6 verwendet wurde. Die 1E6-2C 12-Hybridomzellinie, die den 1E6-Antikörper erzeugt, wurde als ATCC HB 10693 ausgefällt.

BEISPIEL 2

[0044] Ein anschließender Versuch wurde ausgeführt, um die Wirksamkeit der Zuführung des Antikörpers als Aerosol zu untersuchen. Die Versuche wurden 35 im wesentlichen wie vorstehend beschrieben durchgeführt, ausgenommen, dass zwei Schafe verwendet wurden und das HP1/2 über einen Zerstäuber in Form eines Aerosols (Dosis = 8 mg HP1/2 pro Tier, verabreicht\Stunde vor der Antigenherausforderung) zugeführt wurde. Bei den Kontrollschafen (die ein Placebo erhielten), war die Spätphasenreaktion durch ein mittleres Anwachsen von SR_L auf 126% des Grundwertes gekennzeichnet, während der mittlere Anstieg von SR_L 26% des Grundwertes betrug, wenn die Schafe mit dem Anti-VLA-4-Antikörper behandelt wurden. Diese Ergebnisse laufen auf eine annähernd 80%ige Hemmung der Spätphasenreaktion hinaus. Die Ergebnisse zeigten auch eine etwa 70%ige Hemmung der Reaktivität des Atemwegs nach 24 Stunden. Aus diesem Versuch ist ersichtlich, daß Zuführung des Antikörpers durch Inhalation verwendet werden kann, um die Vorteile dieser Erfindung zu erhalten.

[0045] Diese Werte wurden bestätigt und auf 5 Schafe mit Kontrollversuchen (isotopenangepaßter 1E6-(Anti-LFA3-)Antikörperkontrollversuch) erweitert, wobei eine Aerosoldosis von 16 mg/kg HP1/2 (n = 5) oder 1E6 (n = 4) verwendet wurde. Die **Abb.** 5 und 6 zeigen, daß eine Behandlung mit HP1/2-Aerosol bei dieser Dosierung 30 Minuten vor der Antigenherausforderung auch bei der Blockierung der Spätreaktion und der Hyperreaktivität des Atemwegs wirksam ist. HP1/2-Aerosol-Behandlung führte zu einer bedeutsamen (in der Tat praktisch vollständigen) Hemmung der Spätphasenreaktion, was durch die 1E6-Kontrollversuche erprobt wurde. 1E6-Aerosol-Behandlung war ohne Wirkung. Obwohl vergleichbarer Schutz sowohl bei den intravenösen als auch bei den Aerosol versuchen erreicht wurde, wurde der Schutz, der durch HP1/2 bei den Aerosol versuchen geliefert wurde, ohne nachweisbare Mengen des Arzneimittels im Blut erreicht. Diese Wirkung von HP1/2 ist

spezifisch, da die gleiche Dosis von 1E6 keine schützende Wirkung hatte (z. B. zeigten mit 1E6 behandelte Tiere einen bedeutsamen Abfall von PC_{400}, während HP1/2 die Wirkung blockierte). Die Unterschiede in den physiologischen Reaktionen zwischen HP 1/2 und 1E6 sind nicht das Ergebnis von Fehlbeträgen bei der Gesamtsumme von WBC oder unterschiedlichen Zählungen zwischen den Gruppen. Die Gesamtsumme von WBC und unterschiedliche Zählungen bei sowohl den HP1/2- als auch den 1E6-Gruppen zeigten ein Muster von Reaktionen, ähnlich denjenigen, die bei den intravenösen Versuchen zu sehen waren.

[0046] Aus der vorstehenden Offenbarung sind zahlreiche Abwandlungen und zusätzliche Ausführungsformen der Erfindung für diejenigen offensichtlich, die auf diesem Fachgebiet erfahren sind. Zum Beispiel können die verwendete tatsächliche Dosierung, die Art des verwendeten Antikörpers oder Antikörperfragments, die Art der Verabreichung, die genaue Zusammensetzung, die Zeit und Art der Verabreichung des Heilmittels und viele andere Merkmale alle variiert werden, ohne von der vorstehenden Beschreibung abzuweichen.

ZITIERTE VERÖFFENTLICHUNGEN

[1] M. R. Sears, "Epidemiology of Asthma," in Asthma as an Inflammatorv Diseasef P. O'Byrne, ed. (Marcel Dekker, Inc.; New York 1990), pp. 15–48
[2] L. K. Altman, "Despite Gains in Treatment, Asthma Worsens," New York Times. The Doctor's World, March 26, 1991
[3] C. Starr, "Treating Asthma: A Killer Gathers Strength," Drug Topics, cover story, issue of April 8, 1991
[4] D. W. Cockcroft, "Atopy and Asthma," in Asthma as an Inflammatorv Disease, P. O'Byrne, ed. (Marcel Dekker, Inc.; New York 1990), pp. 103–125
[5] F. M. C. Cuss, "The Pharmacology of Antiasthma Medications," in Asthma as an Inflammatorv Disease. P. O'Byrne, ed. (Marcel Dekker, Inc.; New York 1990), pp. 199–250
[6] P. M. O'Byrne, "Airway Inflammation and Asthma," in Asthma as an Inflammatorv Disease. P. O'Byrne, ed. (Marcel Dekker, Inc.; New York 1990), pp. 143–157
[7] J. C. Hogg, "Pathology of Asthma," in Asthma as an Inflammatorv Disease, P. O'Byrne, ed. (Marcel Dekker, Inc.; New York 1990), pp. 1–13
[8] W. M. Abraham et al., "Cellular Markers of Inflammation in the Airways of Allergie Sheep with and without Allergen-induced Late Responses," Am. Rev. Respir. DJs.. 138. 1565–1571 (1988)
[9] K. F. Chung, "Inflammatory Mediators in Asthma," in Asthma as an Inflammatorv Disease, P. O'Byrne, ed. (Marcel Dekker, Inc.; New York 1990), pp. 159–183
[10] P. F. Weller et al., "Human eosinophil adherence to vascular endothelium mediated by binding to vascular cell adhesion molecule 1 and endothelial leukocyte adhesion molecule 1," Proc. Natl. Acad. Sei. USA. 88. 7430–7433 (1991)
[11] G. M. Walsh et al., "Human Eosinophil, But Not Neutrophil, Adherence to IL-1-Stimulated Human Umbilical Vascular Endothelial Cells Is $\alpha_i\beta_i$ (Very Late Antigen-4) Dependent," > t. $TF^{TMl}P^n$ü,-$_r$ 146, 3419–3423 (1991)
[12] B. S. Bochner et al., "Adhesion of Human Basophils, Eosinophils, and Neutrophils to Interleukin 1-activated Human Vascular Endothelial Cells: contributions of Endothelial Cell Adhesion Molecules," J. Exd. Med.. 173. 1553–1556 (1991)
[13] A. Dobrina et al., "Mechanisms of Eosinophil Adherence to Cultured Vascular Endothelial Cells," J^ Clin. Invest.. 88, 20–26 (1991)
[14] M. J. Elices et al., "VCAM-1 on Activated Endothelium Interacts with the Leukocyte Integrin VLA-4 at a Site Distinct from the VLA-4/Fibronectin Binding Site," Cell. 60, 577–584 (1990)
[15] Kohler and Milstein, "Continuous Cultures of Fused Cells Secreting Antibody of Predefined Specificity," Nature. 256, pp. 495–7 (1975)
[16] F. Sanchez-Madrid et al., "VLA-3: A novel polypeptide association within the VLA molecular complex: cell distribution and biochemical characterization," Eur. J. Immunol.. 16. 1343–1349 (1986)
[17] M. E. Hemler et al., "Characterization of the Cell Surface Heterodimer VLA-4 and Related Peptides," J. Biol. Chem.. 262(24). 11478–11485 (1987)
[18] L. Osborn et al., "Direct cloning of vascular cell adhesion molecule 1, a cytokineinduced endothelial protein that binds to lymphocytes," Cell., j59_, 1203–1211 (1989)
[19] R. Pulido et al., "Functional Evidence for Three Distinct and Independently Inhibitable Adhesion Activities Mediated by the Human Integrin VLA-4," J. Biol. Chem.. 266fl6). 10241–10245 (1991)
[20] W. M. Abraham, "Pharmacology of Allergen-Induced Early and Late Airway Responses and Antigen-Induced Airway Hyperresponsiveness in Allergie Sheep," Pulmonarv Pharmacoloov. 2, pp. 33–40 (1989)
[21] P. T. Jones et al., "Replacing the Complementarity-Detenaining Regions in a Human Antibody with Those From a Mouse", Ha£urjfi, 221, PP- 522–525 (1986)
[22] E. S. Ward et al., "Binding Activities of a Repertoire of Single Immunoglobulin Variable Domains' Sec-

reted From Escherichia coli". Nature. 341, pp. 544–546 (1989).
[23] U.S. Patent No. 4,816,397, Boss et al., "Multichain Polypeptides Or Proteins And Processes For Their Production", Maren 28, 1989. o

LISTE DER SEQUENZEN

(1) ALLGEMEINE ANGABEN

(i) ANMELDER

(A) NAME: Biogen, Inc.

(B) STRASSE: 14 Cambridge Center

(C) Stadt: Cambridge

(D) STAAT: Mass.

(E) LAND: USA

(F) POSTLEITZAHL (ZIP): 02142

(A) NAME: Roy R. Lobb

(B) STRASSE: 62 Loring Street

(C) Stadt: Westwood

(D) STAAT: Mass.

(E) LAND: USA

(F) POSTLEITZAHL (ZIP): 02090

(ii) TITEL DER ERFINDUNG: Behandlung von Asthma

(iii) ZAHL DER SEQUENZEN: 4 35

(iv) COMPUTERLESBARE FORM:

(A) ART DES MEDIUMS: Floppy disk

(B) COMPUTER: IBM-kompatibler PC

(C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS Version #1.25 (EPO)

(D) SOFTWARE: Patentin Release #1.0,

(v) DATEN DER LAUFENDEN ANMELDUNG:

ANMELDUNGSNUMMER: PCT/US93/00030

(vi) DATEN EINER FRÜHEREN ANMELDUNG:

(A) ANMELDUNGSNUMMER: US 821768

(B) TAG DER ANMELDUNG: 13-JAN-1992

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN

(A) LÄNGE: 360 Basenpaare

(B) ART: Nucleinsäure

(C) STRÄNGIGKEIT: einfach

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLART: cDNA

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: misc_feature

(B) POSITION: 1

(D) ANDERE ANGABEN: /Bemerkung "pBaG159-Einschub: variable Region der schweren Kette von HP1/2; Aminosäure 1 ist Glu (E), aber Gin (Q) kann substituiert sein"

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

(B) POSITION: 1..360

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID NO: 1:

```
GTC AAA CTG CAG CAG TCT GGG GCA GAG CTT GTG AAG CCA GGG GCC TCA
'48
Val Lys Leu Gin Gin Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser
2                   6                  11                  16

GTC AAG TTG TCC TGC ACA GCT TCT GGC TTC AAC ATT AAA GAC ACC TAT 96
Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
21                              26                  31

ATG CAC TGG GTG AAG CAG AGG CCT GAA CAG GGC CTG GAG TGG ATT GGA
144
Hec His Trp Val Lys Gin Arg Pro Glu Gin Gly Leu Glu Trp Ile Gly
36                            41                  46

AGG ATT GAT CCT GCG AGT GGC GAT ACT AAA TAT GAC CCG AAG TTC CAG
192
Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe Gin
51                          56                  61

GTC AAG GCC ACT ATT ACA GCG GAC ACG TCC TCC AAC ACA GCC TGG CTG
240
Val Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Trp Leu
66                  -    71                  76                  81


CAG CTC ACC AGC CTG ACA TCT GAG GAC ACT GCC GTC TAC TAC TGT GCA
288
Gin Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Va.1 Tyr Tyr Cys Ala
86                                      91                  96

GAC GGA ATG TGG GTA TCA ACG GGA TAT GCT CTG GAC TTC TGG GGC CAA
336
Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr AI* Leu Asp Phe Trp Gly Gin
101                                   106                 111

CCG ACC ACG GTC ACC GTC TCC TCA
360
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
Ser
116

121
```

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN

(A) LÄNGE: 120 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLART: Protein

(xi) BESCHREIBUNG DER SEQUENZ: SEQ ID N0:2:

```
Val Lys Leu Gin Gin Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser
2                   6               11                  16

Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
21                                  26                  31

Met His Trp Val Lys Gin Arg Pro Glu Gin Gly Leu Glu Trp Ile Gly
36                              41                  46

Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe Gin
51                          56                  61

Val Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Trp Leu
66                      71                  76                  81

Gin Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
86                                  91                  96

Asp Gly Het Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp Phe Trp Gly Gin
30                  101                 106                 111

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
116                             121
```

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

(i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN

(A) LÄNGE: 318 Basenpaare

(B) ART: Nucleinsäure

(C) STRÄNGIGKEIT: doppelt

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLART: cDNA

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

(B) POSITION: 1..318

(D) ANDERE ANGABEN: /Produkt- "variable Region der leichte Kette von HP1/2"

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: misc_feature

(B) POSITION: 1

(D) ANDERE ANGABEN: /Bemerkung- "pBaG172-Einschub: variable Region der leichten Kette von HP1/2"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

```
AGT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CCC AAA TTC CTG CTT CTT TCA GCA GGA 48
```

```
Ser Ile Val Met Thr Gin Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly
15                                  10                  15

GAC AGG GTT ACC ATA ACC TGC AAG GCC AGT CAG AGT GTG ACT AAT GAT 96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gin Ser Val Thr Asn Asp
20                  25                  30

GTA GCT TGG TAC CAA CAG AAG CCA GGG CAG TCT CCT AAA CTG CTG ATA
144
Val Ala Trp Tyr Gin Gin Lys Pro Gly Gin Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35                  40                              45

TAT TAT GCA TCC AAT CGC TAC ACT GGA GTC CCT GAT CGC TTC ACT GGC
192
Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50                              55                  60

AGT GGA TAT GGG ACG GAT TTC ACT TTC ACC ATC AGC ACT GTG CAG GCT
240
Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Thr Val Gin Ala
65                          70                  75                  80

GAA GAC CTG GCA GTT TAT TTC TGT CAG CAG GAT TAT AGC TCT CCG TAC
288
Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gin Gin Asp Tyr Ser Ser Pro Tyr
85                                  90                  95

ACG TTC GGA GGG GGG ACC AAG CTG GAG ATC
318
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100                                 105
```

(2) ANGABEN ZUR SEQ ID NO: 4:

(i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN

(A) LÄNGE: 106 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLART: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

```
Sar II« Val Met Thr Gin Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly
1                   5                  -10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys AI* Ser Gin Ser Val Thr Asn Asp
20                                  25                  30

Val AI* Trp Tyr Gin Gin Lys Pro Gly Gin Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35                              40                  45

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50                          55                  60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Thr Val Gin Ala
65                      70                  75                  80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gin Gin Asp Tyr Ser Ser Pro Tyr
```

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105

Patentansprüche

1. Verwendung eines Anti-VLA-4-Antikörpers, der imstande ist, sich an das B1- oder B2-Epitop der α4-Untereinheit von VLA-4 anzulagern, für die Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von allergischem Asthma, wobei die Behandlung die Verabreichung einer Zusammensetzung, umfassend einen Anti-VLA-4-Antikörper, der imstande ist, sich an das B1- oder B2-Epitop der α4-Untereinheit von VLA-4 anzulagern, an ein Säugetier, das an allergischem Asthma leidet, umfasst, wobei die Behandlung nicht die Verwendung des Anti-VLA-4-Antikörpers in Kombination mit anderen Antikörpern, die eine therapeutische Wirkung auf die Empfindlichkeit des Atemswegs haben, einschließt.

2. Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei die Anti-VLA-4-AntikörperZusammensetzung intravenös verabreicht wird.

3. Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei die Anti-VLA-4-Antikörper-Zusammensetzung durch Inhalation in der Form eines Aerosols verabreicht wird.

4. Verwendung gemäß Anspruch 1, 2 oder 3, wobei der Anti-VLA-4-Antikörper aus HP1/2, HP2/1, HP2/4, L25 und P4C2 ausgewählt wird.

5. Verwendung gemäß Anspruch 1, 2 oder 3, wobei der Anti-VLA-4-Antikörper HP 1/2 oder ein Fragment davon, das imstande ist, sich an das B1- oder B2-Epitop der α4-Untereinheit von VLA-4 anzulagern, ist.

6. Verwendung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Zusammensetzung in einer derartigen Dosierung verabreicht wird, dass 0,05 bis 5,0 mg/kg Antikörper, basierend auf dem Gewicht des an Asthma Leidenden, bereitgestellt werden.

7. Verwendung gemäß Anspruch 6, wobei die Zusammensetzung in einer derartigen Dosierung verabreicht wird, dass 0,5 bis 2,0 mg/kg Antikörper, basierend auf dem Gewicht des an Asthma Leidenden, bereitgestellt werden.

8. Verwendung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Zusammensetzung in einer für die Schaffung einer Antikörperkonzentration von mindestens 10 µg/ml im Plasma des Säugetiers wirksamen Menge verabreicht wird.

9. Verwendung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Zusammensetzung vor der Einwirkung eines Allergens, gegen welches der an Asthma Leidende überempfindlich ist, verabreicht wird.

10. Verwendung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei die Zusammensetzung nach der Einwirkung eines Allergens, gegen welches das Säugetier überempfindlich ist, verabreicht wird.

11. Verwendung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Säugetier ein Mensch ist.

12. Verwendung eines Moleküls, das imstande ist, sich an das B1- oder B2-Epitop der α4-Untereinheit von VLA-4 anzulagern, wobei das Molekül ein Antikörper, ein rekombinanter Antikörper, ein chimärer Antikörper, ein Fragment derartiger Antikörper oder Kombinationen von beliebigen der vorhergehenden Moleküle, die imstande sind, sich an das B1- oder B2-Epitop der α4-Untereinheit von VLA-4 anzulagern, ist, für die Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von allergischem Asthma, wobei die Behandlung die Verabreichung eines Moleküls, das imstande ist, sich an das B1- oder B2-Epitop der α4-Untereinheit von VLA-4 anzulagern, wobei das Molekül ein Antikörper, ein rekombinanter Antikörper, ein chimärer Antikörper, ein Fragment derartiger Antikörper oder Kombinationen von beliebigen der vorhergehenden Moleküle, die imstande sind, sich an das B1- oder B2-Epitop der α4-Untereinheit von VLA-4 anzulagern, ist, an ein Säugetier, das an allergischem Asthma leidet, in einer zur Schaffung der Abschwächung der Spätphasenreaktion auf ein Allergen, gegen welches der Leidende überempfindlich ist, oder zur Schaffung einer verminderten Überempfindlichkeit des Atemwegs beim Säugetier im Anschluss an eine Allergenprovokation, wirksamen Menge umfasst, wobei die Behandlung nicht die Verwendung des Moleküls in Kombination mit anderen Antikörpern, die eine therapeutische Wirkung auf die Überempfindlichkeit des Atemswegs haben, einschließt.

13. Verwendung gemäß Anspruch 12, wobei der Antikörper oder das Molekül aus dem monoklonalen Antikörper HP 1/2; Fab, Fab', $F(ab')_2$ oder F(v)-Fragmenten eines derartigen Antikörpers ausgewählt wird.

14. Verwendung gemäß Anspruch 12, wobei die Zusammensetzung eine Vielzahl von anti-VLA-4 monoklonalen Antikörpern oder VLA-4-Bindungsfragmenten davon umfasst.

15. Verwendung gemäß Anspruch 12, wobei der Anti-VLA-4 HP1/2 oder ein Fragment davon, das imstande ist, sich an VLA-4 anzulagern, ist.

16. Verwendung gemäß einem der Ansprüche 12 bis 15, wobei die Zusammensetzung in einer derartigen Dosierung verabreicht wird, dass 0,05 bis 5,0 mg/kg Antikörper oder Antikörperfragment, basierend auf dem Gewicht des an Asthma Leidenden, bereitgestellt werden.

17. Verwendung gemäß Anspruch 16, wobei die Zusammensetzung in einer derartigen Dosierung verabreicht wird, dass 1,0 bis 2,0 mg/kg Antikörper oder Antikörperfragment, basierend auf dem Gewicht des an Asthma Leidenden, bereitgestellt werden.

18. Verwendung gemäß einem der Ansprüche 12 bis 17, wobei die Zusammensetzung in einer zur Schaffung einer Antikörperkonzentration von mindestens 10 µg/ml im Plasma des Säugetiers über einen Zeitraum von sieben Tagen wirksamen Menge verabreicht wird.

19. Verwendung einer Zusammensetzung, umfassend einen Anti-VLA-4-Antikörper HP 1/2 oder ein Fragment davon, das imstande ist, sich an die α4-Untereinheit von VLA-4 anzulagern, für die Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von allergischem Asthma, wobei die Behandlung die Verabreichung einer Zusammensetzung, umfassend den Anti-VLA-4-Antikörper HP1/2 oder ein Fragment davon, das das imstande ist, sich an die α4-Untereinheit von VLA-4 anzulagern, an ein Säugetier, das an Asthma leidet, umfasst, wobei die Behandlung nicht die Verwendung des Anti-VLA-4-Antikörpers in Kombination mit anderen Antikörpern, die eine therapeutische Wirkung auf die Empfindlichkeit des Atemswegs haben, einschließt.

20. Verwendung eines monoklonalen Antikörpers, der das B1- oder B2-Epitop der α4-Untereinheit von VLA-4 erkennt, für die Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von allergischem Asthma, wobei die Zusammensetzung wirksam ist, um die Spätphasenreaktion abzuschwächen oder die Überempfindlichkeit des Atemwegs bei einem Säugetier, das an allergischen Asthma leidet, signifikant zu vermindern, und im wesentlichen aus dem Antikörper in einem pharmazeutisch verträglichen Träger besteht, wobei die Behandlung nicht die Verwendung des Anti-VLA-4-Antikörpers in Kombination mit anderen Antikörpern, die eine therapeutische Wirkung auf die Empfindlichkeit des Atemswegs haben, einschließt.

Es folgen 6 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

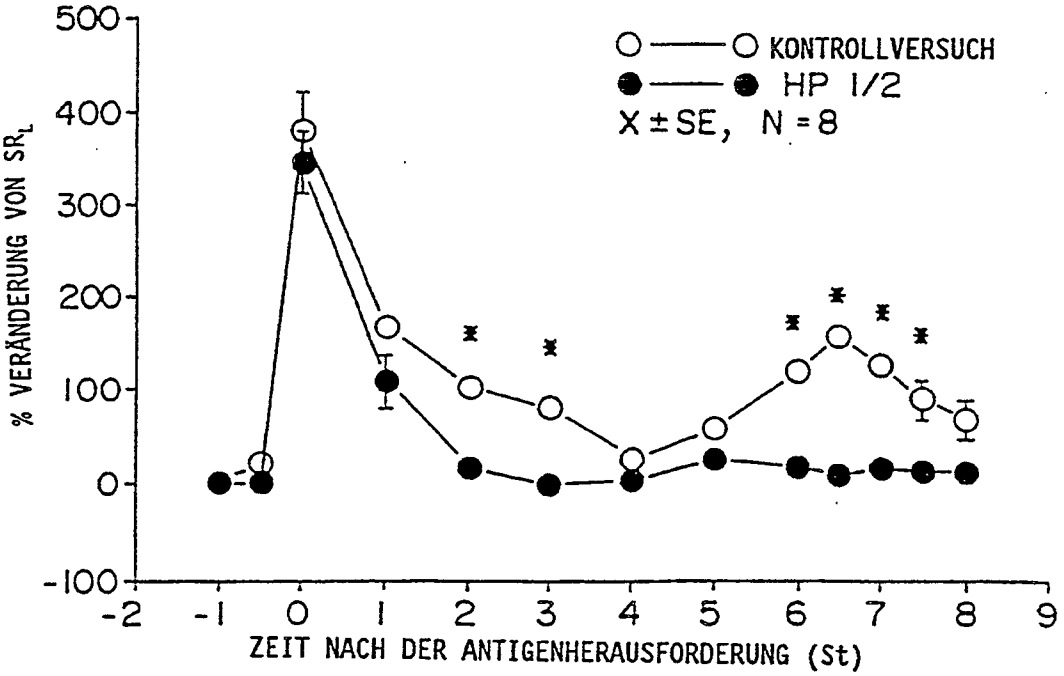


FIG. 1

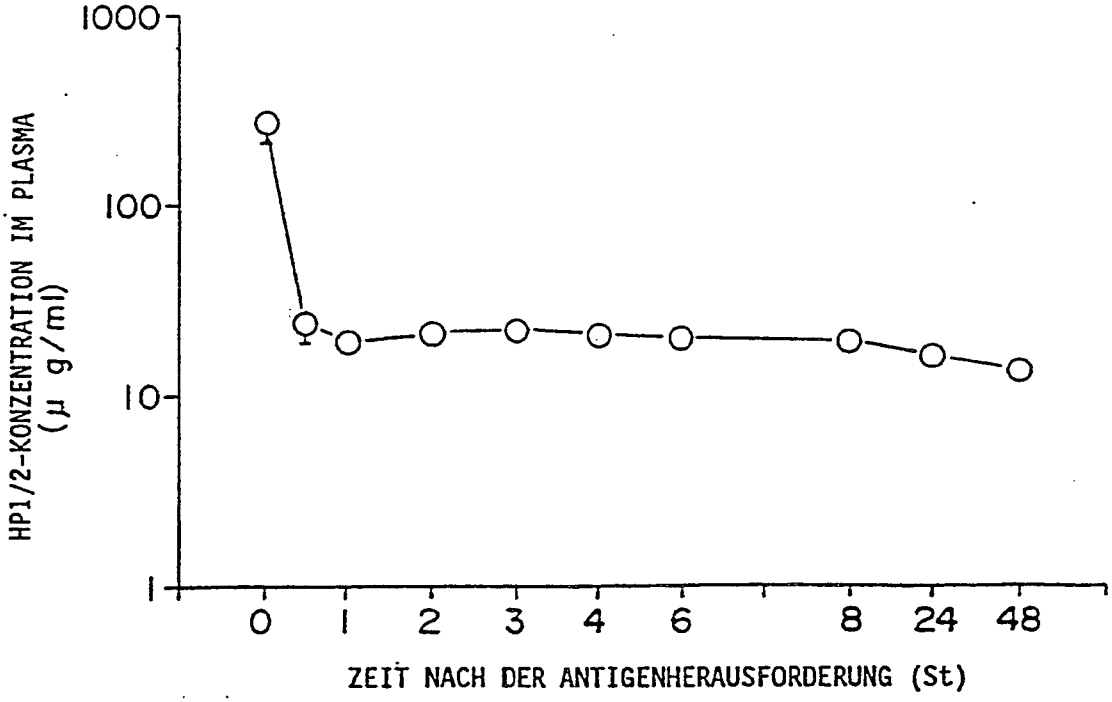


FIG. 2

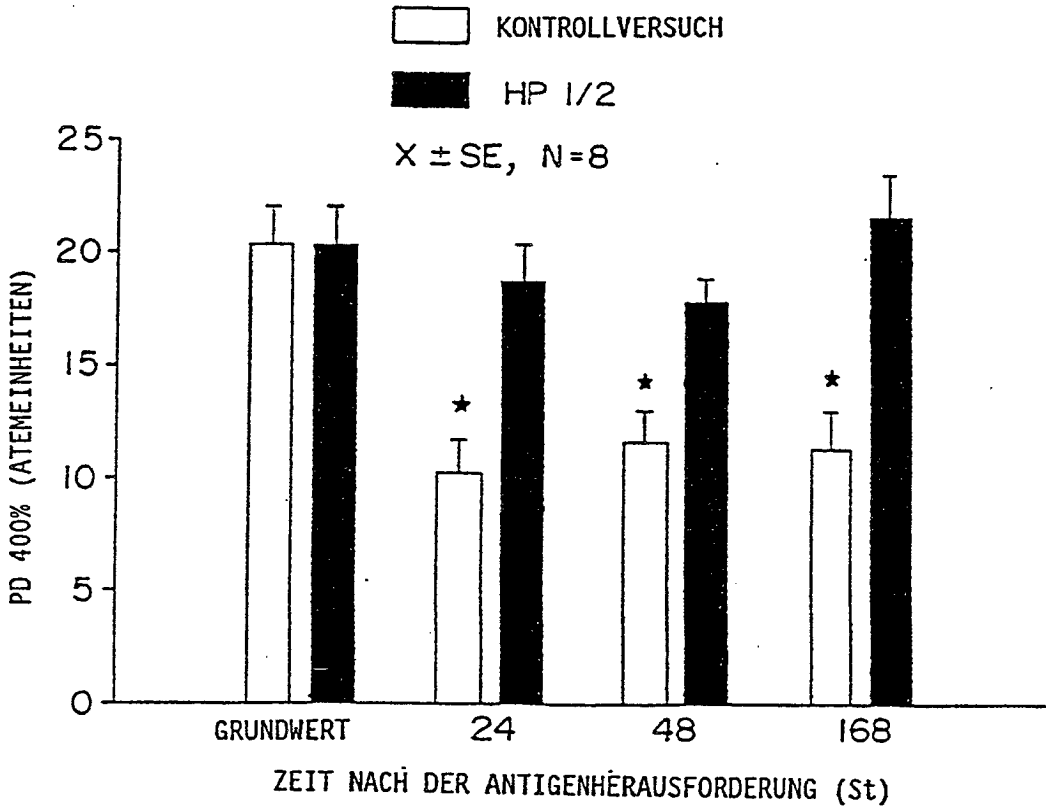

KONTROLLVERSUCH
HP 1/2
X ± SE, N=8
PD 400% (ATEMEINHEITEN)
25
20
15
10
5
0
GRUNDWERT
24
48
168
ZEIT NACH DER ANTIGENHERAUSFORDERUNG (St)

FIG. 3

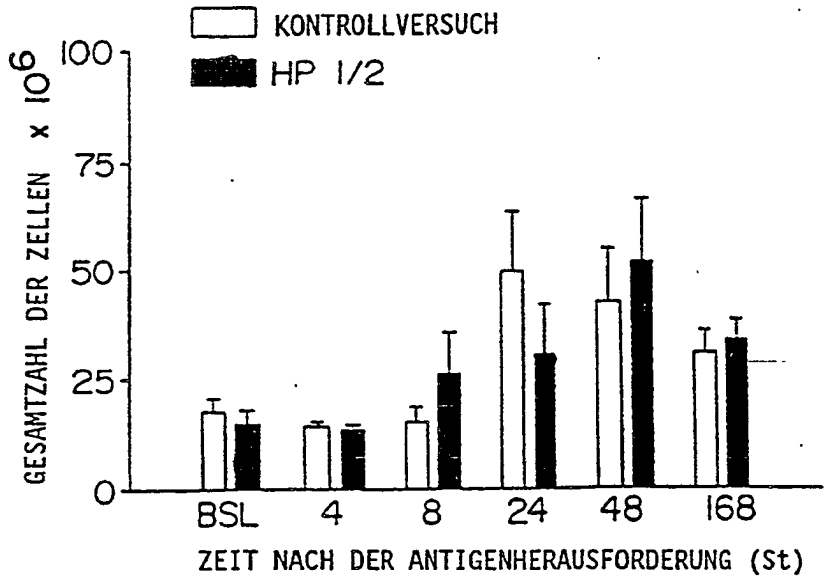

KONTROLLVERSUCH
HP 1/2
GESAMTZAHL DER ZELLEN x 10^6
100
75
50
25
0
BSL
4
8
24
48
168
ZEIT NACH DER ANTIGENHERAUSFORDERUNG (St)

FIG. 4A

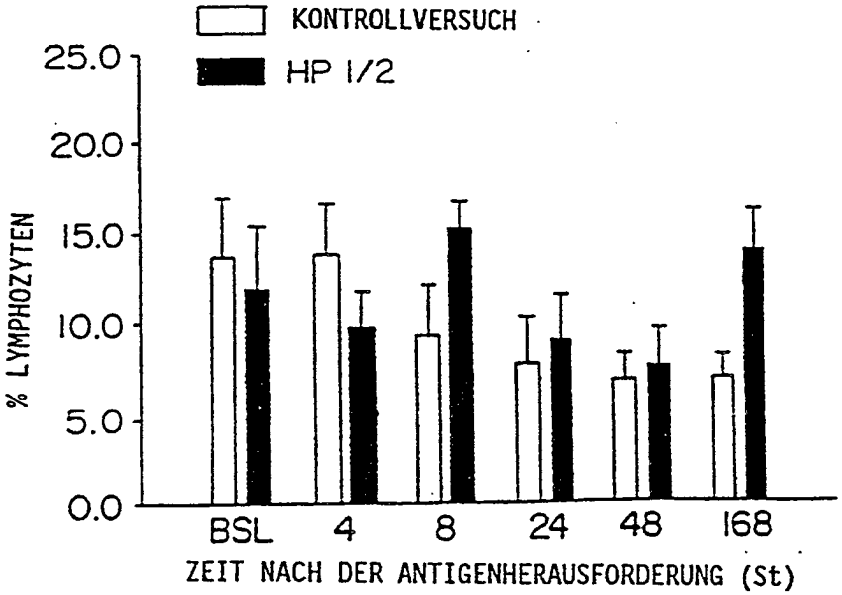

KONTROLLVERSUCH
HP 1/2
% LYMPHOZYTEN
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
BSL
4
8
24
48
168
ZEIT NACH DER ANTIGENHERAUSFORDERUNG (St)

FIG. 4B

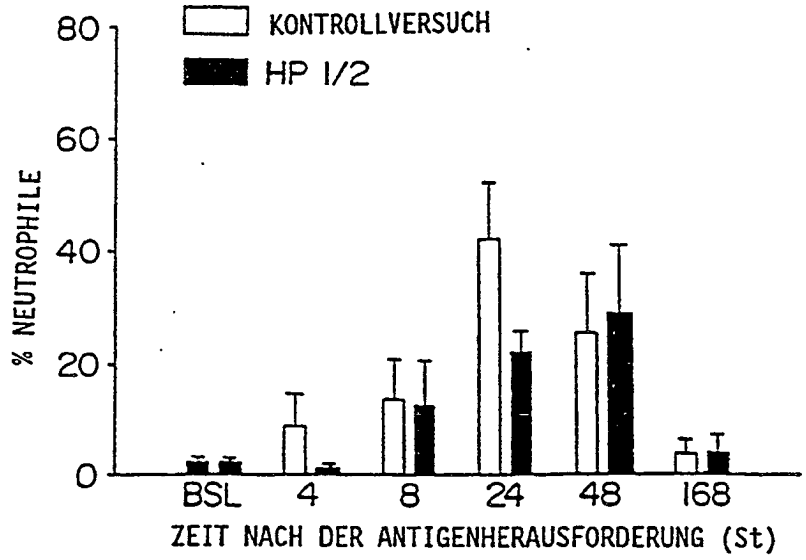

KONTROLLVERSUCH
HP 1/2
% NEUTROPHILE
80
60
40
20
0
BSL
4
8
24
48
168
ZEIT NACH DER ANTIGENHERAUSFORDERUNG (St)

FIG. 4C

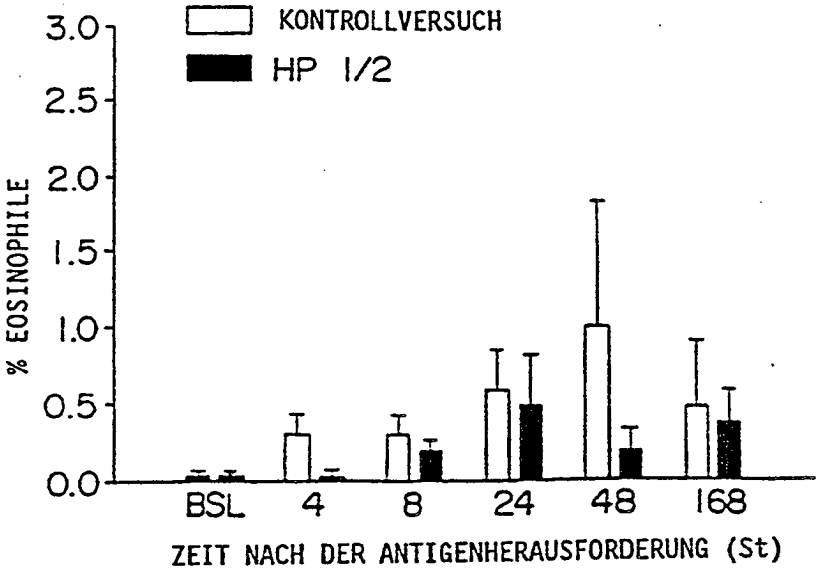

KONTROLLVERSUCH
HP 1/2
% EOSINOPHILE
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
BSL
4
8
24
48
168
ZEIT NACH DER ANTIGENHERAUSFORDERUNG (St)

FIG. 4D

FIG. 5

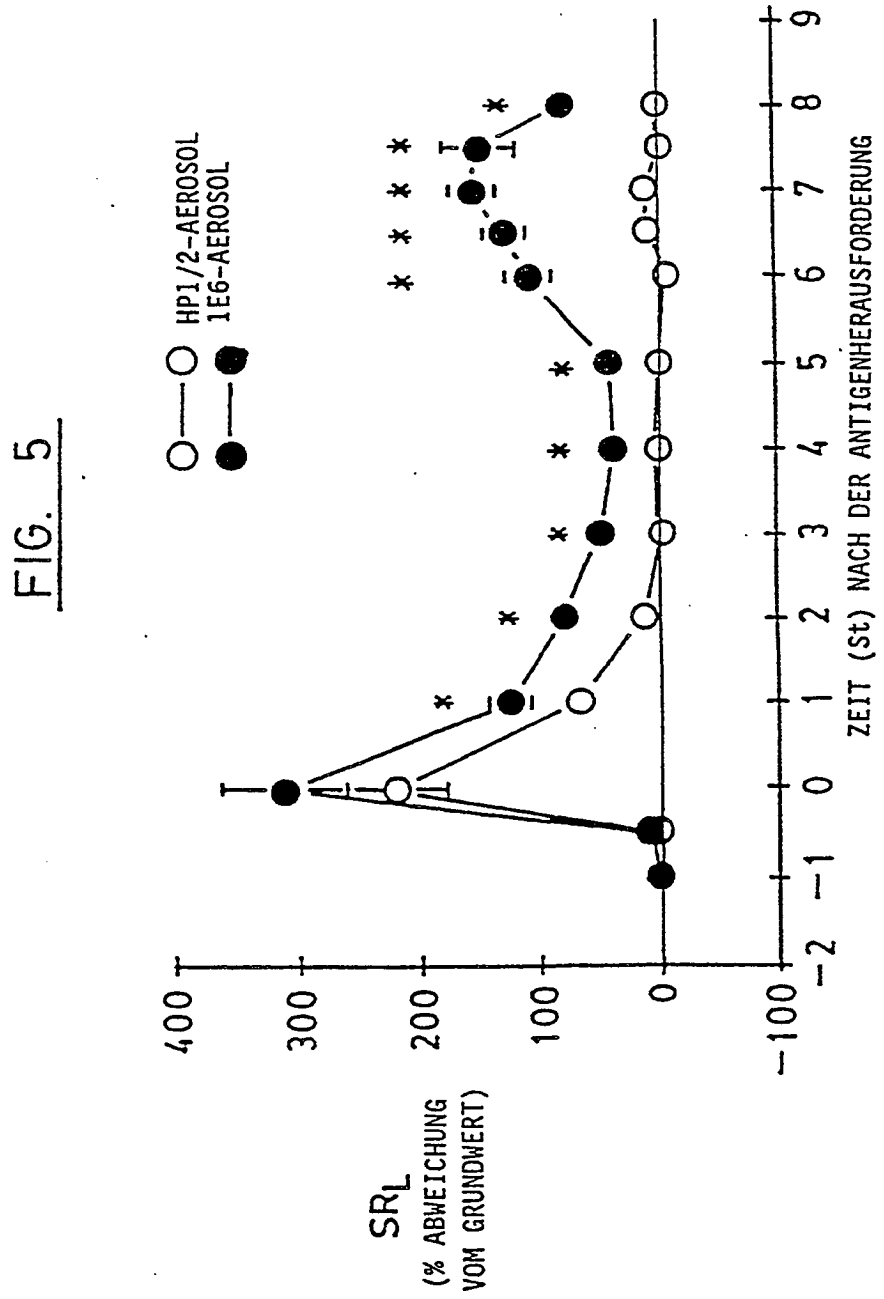
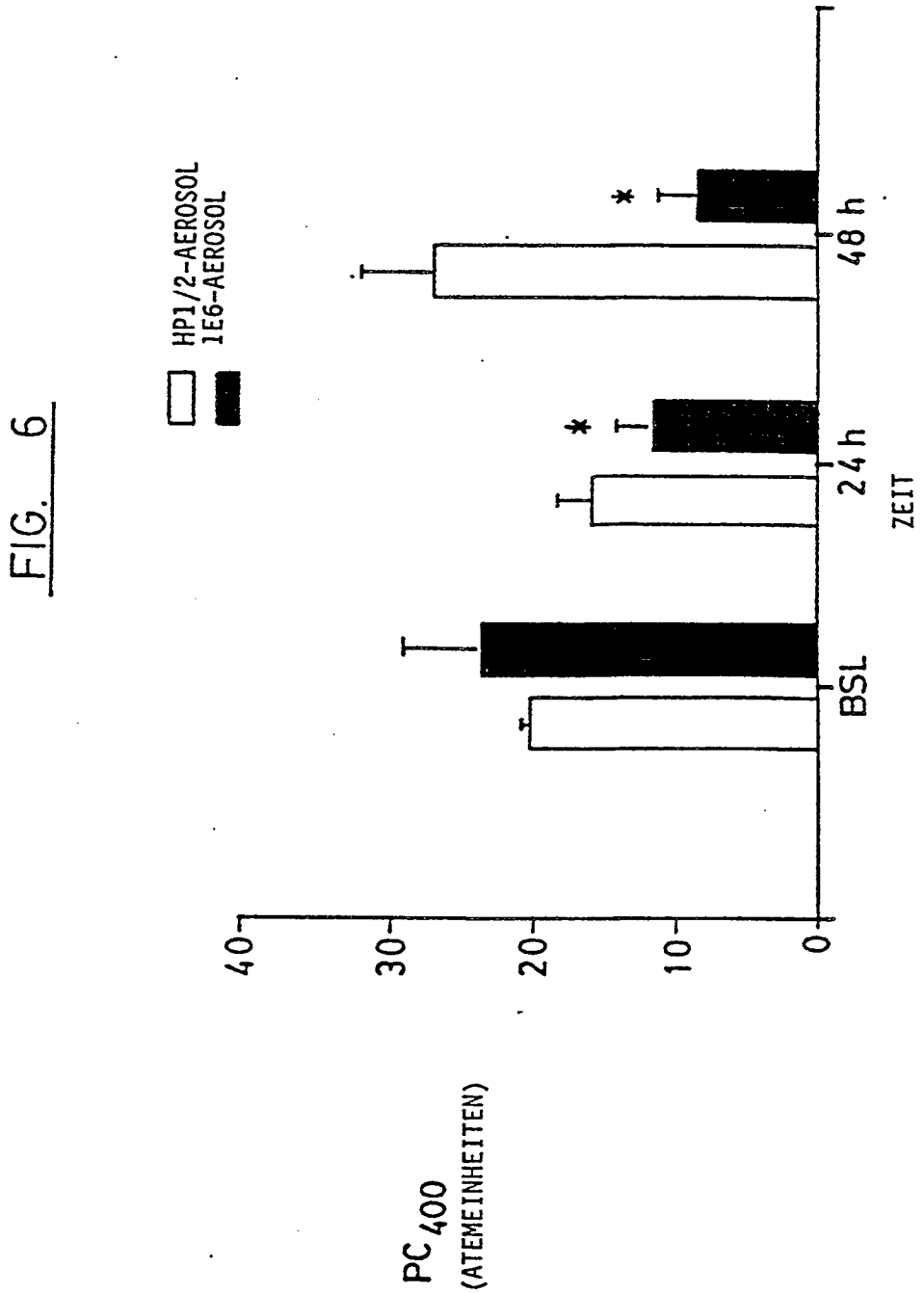

HP1/2-AEROSOL
1E6-AEROSOL
400
300
200
100
0
-100
SRL
(% ABWEICHUNG VOM GRUNDWERT)
-2
-1
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
ZEIT (St) NACH DER ANTIGENHERAUSFORDERUNG

FIG. 6


HP1/2-AEROSOL
1E6-AEROSOL
PC400
(ATEMEINHEITEN)
40
30
20
10
0
BSL
24 h
48 h
ZEIT
*
*