(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-533658
(P2023-533658A)
(43)公表日　令和5年8月4日(2023.8.4)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ　45/00　(2006.01)		Ａ６１Ｋ	45/00		４Ｃ０５０
Ａ６１Ｐ　11/00　(2006.01)		Ａ６１Ｐ	11/00	ＺＮＡ	４Ｃ０５７
Ａ６１Ｐ　31/14　(2006.01)		Ａ６１Ｐ	31/14		４Ｃ０６３
Ａ６１Ｋ　39/395　(2006.01)		Ａ６１Ｋ	39/395	Ｄ	４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ　38/02　(2006.01)		Ａ６１Ｋ	38/02		４Ｃ０８５

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全100頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-574594(P2022-574594)
(86)(22)出願日　令和3年6月7日(2021.6.7)
(85)翻訳文提出日　令和5年1月26日(2023.1.26)
(86)国際出願番号　PCT/AU2021/050568
(87)国際公開番号　WO2021/243424
(87)国際公開日　令和3年12月9日(2021.12.9)
(31)優先権主張番号　2020901843
(32)優先日　令和2年6月4日(2020.6.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
オーストラリア(AU)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　521239819
シーエスエル イノベーション プロプライアタリー リミティド
オーストラリア国，ビクトリア ３０００，メルボルン，エリザベス ストリート ６５５
(74)代理人　100099759
弁理士　青木 篤
(74)代理人　100123582
弁理士　三橋 真二
(74)代理人　100117019
弁理士　渡辺 陽一
(74)代理人　100141977
弁理士　中島 勝
(74)代理人　100138210
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　急性呼吸窮迫症候群を治療又は予防する方法

(57)【要約】
本開示は、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物を使用して急性呼吸窮迫症候群（ＡＲＤＳ）を治療又は予防する方法に関する。本開示は、ＡＲＤＳの治療又は予防に使用される化合物、並びにＡＲＤＳを治療又は予防するための医薬品の製造におけるこのような化合物の使用にも関する。
【選択図】　なし

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
対象において急性呼吸窮迫症候群（ＡＲＤＳ）を治療又は予防するための方法であって、顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）シグナル伝達を阻害する化合物を前記対象に投与することを含む前記方法。
【請求項２】
前記ＡＲＤＳが以下
（ａ）感染症、
（ｂ）異物の吸入又は吸引、
（ｃ）身体外傷、及び
（ｄ）炎症性疾患
のうちの１つ以上と関連する、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記ＡＲＤＳがウイルス感染症と関連する、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
前記ＡＲＤＳがコロナウイルス感染症と関連する、請求項１から３の何れか一項に記載の方法。
【請求項５】
前記対象がコロナウイルス病２０１９（ＣＯＶＩＤ－１９）である、請求項１から４の何れか一項に記載の方法。
【請求項６】
前記対象が間質性肺炎である、請求項１から５の何れか一項に記載の方法。
【請求項７】
前記対象が以下
（ａ）分当たり３０回を超える呼吸数、
（ｂ）室内空気下で９３％以下の酸素飽和度（SpO_2）、
（ｃ）３００ｍｍＨｇ未満の吸気酸素濃度に対する動脈血酸素分圧の比（PaO_2/FiO_2）、
（ｄ）２１８未満のSpO_2/FiO_2比、及び
（ｅ）５０％を超える程度の肺浸潤のＸ線写真
のうちの１つ以上又は全てを有する、請求項１から６の何れか一項に記載の方法。
【請求項８】
Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が気管内挿管又は気管内挿管前の死亡を防ぐために充分な量で投与される、請求項１から７の何れか一項に記載の方法。
【請求項９】
Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が、以下
前記対象の人工呼吸器非装着生存日数の増加、
前記対象の入院期間（ＬＯＳ）の減少、
８ポイント米国国立アレルギー感染症研究所（ＮＩＡＩＤ）順序尺度で評価された前記対象の臨床状態の改善、
持続的気道陽圧法（ＣＰＡＰ）又は二相式気道陽圧法（ＢｉＰＡＰ）の使用の減少又は阻止、
高流量鼻カニューラ法（ＨＦＮＣ）の使用の減少又は阻止、
体外式膜型人工肺（ＥＣＭＯ）の使用の減少又は阻止、及び
前記対象の多臓器不全評価（ＳＯＦＡ）スコアの増加の抑制又は阻止
のうちの１つ以上又は全てを達成するために充分な量で投与される、請求項１から８の何れか一項に記載の方法。
【請求項１０】
Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が、Ｇ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦ受容体（Ｇ－ＣＳＦＲ）に結合する、請求項１から９の何れか一項に記載の方法。

【請求項１１】
Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が、Ｇ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲに結合又は特異的に結合し、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を無効にする抗原結合部位含有タンパク質である、請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が、Ｆｖを含むタンパク質である、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
前記タンパク質が、
（ｉ）単鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）、
（ｉｉ）二量体型ｓｃＦｖ（ｄｉ－ｓｃＦｖ）、又は
（ｉｉｉ）ディアボディ、
（ｉｖ）トリアボディ、
（ｖ）テトラボディ、
（ｖｉ）Ｆａｂ、
（ｖｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$、
（ｖｉｉｉ）Ｆｖ、
（ｉｘ）抗体定常領域Ｆｃ若しくは重鎖定常ドメイン（C_H）２及び／若しくはC_H３に結合した（ｉ）～（ｖｉｉｉ）のうちの１つ、
（ｘ）アルブミンに結合した、若しくはアルブミンの機能性断片若しくは変異体に結合した、若しくはアルブミンに結合するタンパク質に結合した（ｉ）～（ｖｉｉｉ）のうちの１つ、又は
（ｘｉ）抗体
を含む、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
前記タンパク質が、Ｇ－ＣＳＦＲに結合又は特異的に結合し、且つ、配列番号４に示される配列を備える重鎖可変領域（V_H）及び配列番号５に示される配列を備える軽鎖可変領域（V_L）を含むＧ－ＣＳＦＲに対する抗体Ｃ１．２Ｇの結合を競合的に抑制する抗体可変領域を含む、請求項１１から１３の何れか一項に記載の方法。
【請求項１５】
前記タンパク質が、配列番号１の１１１～１１５、１７０～１７６、２１８～２３４、及び２８６～３００から選択される１領域、又は２領域、又は３領域、又は４領域の内の残基を含むエピトープに結合する、請求項１１から１４の何れか一項に記載の方法。
【請求項１６】
前記タンパク質が、配列番号４に示されるアミノ酸配列を備える重鎖可変領域（ＶＨ）及び配列番号５に示されるアミノ酸配列を備える軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む抗体可変領域を含む、請求項１１から１５の何れか一項に記載の方法。
【請求項１７】
前記タンパク質が、配列番号２に示されるアミノ酸配列を備えるＶＨ及び配列番号３に示されるアミノ酸配列を備えるＶＬを含む抗体可変領域を含む、請求項１１から１５の何れか一項に記載の方法。
【請求項１８】
前記タンパク質が、配列番号４に示されるアミノ酸配列を備えるＶＨの３ＣＤＲを備えるＶＨ及び配列番号５に示されるアミノ酸配列を備えるＶＬの３ＣＤＲを備えるＶＬを含む抗体可変領域を含む、請求項１１から１５の何れか一項に記載の方法。
【請求項１９】
前記タンパク質が、
（ｉ）配列番号１４に示されるアミノ酸配列を備える重鎖及び配列番号１５に示されるアミノ酸配列を備える軽鎖、又は
（ｉｉ）配列番号１６に示されるアミノ酸配列を備える重鎖及び配列番号１５に示され

るアミノ酸配列を備える軽鎖
を含む、請求項１１から１５の何れか一項に記載の方法。
【請求項２０】
前記タンパク質が融合タンパク質である、請求項１１から１９の何れか一項に記載の方法。
【請求項２１】
前記融合タンパク質が、
（ａ）血清アルブミン若しくは血清アルブミンの変異体、又は
（ｂ）可溶性補体受容体若しくは可溶性補体受容体の変異体
を含む、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が、前記対象において連続７日を超える期間にわたってグレード３又はグレード４の持続性好中球減少症を引き起こさずに循環好中球を減少させるために充分な量で投与される、請求項１から２１の何れか一項に記載の方法。
【請求項２３】
Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が、前記対象において連続２日を超える期間にわたってグレード２又はグレード３又はグレード４の持続性好中球減少症を引き起こさずに循環好中球を減少させるために充分な量で投与される、請求項１から２１の何れか一項に記載の方法。
【請求項２４】
前記タンパク質が０．１ｍｇ／ｋｇ～０．８ｍｇ／ｋｇの間の用量で投与される、請求項１１から２３の何れか一項に記載の方法。
【請求項２５】
前記タンパク質が０．１ｍｇ／ｋｇ～０．６ｍｇ／ｋｇの間の用量で投与される、請求項１１から２４の何れか一項に記載の方法。
【請求項２６】
前記タンパク質が０．１ｍｇ／ｋｇ又は０．３ｍｇ／ｋｇ又は０．６ｍｇ／ｋｇの用量で投与される、請求項１１から２５の何れか一項に記載の方法。
【請求項２７】
複数用量の前記タンパク質を前記対象に投与することを含み、前記タンパク質が２日～５日毎に一度の頻度で投与される、請求項１１から２６の何れか一項に記載の方法。
【請求項２８】
前記タンパク質の第１回目の用量が後続の用量よりも高い、請求項２７に記載の方法。
【請求項２９】
少なくとも２用量の前記タンパク質を前記対象に投与することを含む、請求項２７又は２８に記載の方法。
【請求項３０】
前記対象に０．１ｍｇ／ｋｇと０．４ｍｇ／ｋｇとの間の初回用量で前記タンパク質を投与すること、及び０．０５ｍｇ／ｋｇと０．２ｍｇ／ｋｇとの間の用量をさらに１回以上投与することを含む、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記初回用量の３日後に第２用量があり、前記第２用量の４日後に第３用量がある、請求項２９又は３０に記載の方法。
【請求項３２】
Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が静脈内投与される、請求項１から２６の何れか一項に記載の方法。
【請求項３３】
Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が標準治療と併用投与される、請求項１から３２の何れか一項に記載の方法。

【請求項３４】
前記標準治療が以下
（ａ）腹臥位、
（ｂ）体液管理、
（ｃ）一酸化窒素の投与、
（ｄ）神経筋遮断薬の投与、
（ｅ）人工呼吸、
（ｆ）体外式膜型人工肺、及び
（ｇ）抗ウイルス薬又は抗生物質の投与
うちの１つ以上又は全てを含む、請求項３３に記載の方法。
【請求項３５】
前記標準治療がレムデシビルの投与を含む、請求項３３に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願データ
本願は、２０２０年６月４日に出願された「急性呼吸窮迫症候群を治療又は予防する方法」という表題のオーストラリア特許出願第２０２０９０１８４３号に基づく優先権を主張する。その出願の内容全体を参照によりここに援用する。
【０００２】
配列表
本願は、電子形式の配列表と共に出願される。この配列表の内容全体が参照によりここに援用される。
【０００３】
分野
本開示は、対象において急性呼吸窮迫症候群（ＡＲＤＳ）を治療又は予防する方法に関連する。
【背景技術】
【０００４】
急性呼吸窮迫症候群（ＡＲＤＳ）は、いくつかの全身性障害及び肺に対する直接的な傷害の重篤で生命にかかわることが多い合併症である。急性呼吸窮迫症候群には主に多臓器不全の結果として高い死亡率が伴う。肺胞内で液体が蓄積したときにＡＲＤＳが生じ、結果として血流に到達する酸素が少なくなり、そのため臓器が機能するために必要な酸素が臓器から奪われる。ＡＲＤＳの症状には重度の息切れ、呼吸困難及び呼吸の異常な促迫、低血圧、並びに混乱及び極度の疲労が挙げられ、これらの症状は大元の疾患又は外傷から数時間以内～数日以内に発症することが通常である。
【０００５】
数十年の研究及び医療技術の進歩にもかかわらず、ＡＲＤＳ関連の死亡率は高いままであり、ＡＲＤＳの臨床経過を効果的に改善する薬物療法は存在しない。例えば、大規模治験に失敗した薬品候補としては少なくともグルココルチコイド、アルプロスタジル、界面活性剤、ケトコナゾール、Ｎ－アセチルシステイン、プロシステイン、リソフィリン、及び部位不活化遺伝子組換え第ＶＩＩａ因子が挙げられる。現在の標準治療は、酸素投与、人工呼吸、体液管理、及び腹臥位などの支持療法に限定される。
【０００６】
したがって、ＡＲＤＳを治療及び予防するための新しい介入法の必要性が存在する。
【発明の概要】
【０００７】
本発明の開発において、本発明者らは顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）シグナル伝達をＡＲＤＳの薬理学的介入のための有望な経路として特定した。本発明者らは、Ｇ－ＣＳＦ受容体（Ｇ－ＣＳＦＲ）に結合し、且つ、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する抗体

によって肺炎症のいくつかの指標をＡＲＤＳの動物モデルにおいて低下させ得ることを見出した。これらの知見から、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物の投与によって対象においてＡＲＤＳを治療又は予防する方法の基盤が与えられる。

【０００８】

よって、一例では本開示は、対象においてＡＲＤＳを治療又は予防するための方法であって、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物を前記対象に投与することを含む前記方法を提供する。

【０００９】

本開示は、対象におけるＡＲＤＳの治療又は予防に使用されるＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物も提供する。

【００１０】

本開示は、対象においてＡＲＤＳを治療又は予防するための医薬品の製造におけるＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物の使用も提供する。

【００１１】

有利なことに、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達阻害剤は、その作用機序のため、あらゆる基礎症状を伴うＡＲＤＳの治療又は予防のために本開示の前記方法に従って使用可能である。いくつかの例では前記ＡＲＤＳは、以下

（ａ）感染症、

（ｂ）異物の吸入又は吸引、

（ｃ）身体外傷、及び

（ｄ）炎症性疾患

のうちの１つ以上と関連する。

【００１２】

一例では前記ＡＲＤＳはウイルス感染症と関連する。一例では前記ＡＲＤＳは細菌感染症と関連する。一例では前記ＡＲＤＳは真菌感染症と関連する。一例では前記ＡＲＤＳは敗血症と関連する。

【００１３】

一例では前記ＡＲＤＳはコロナウイルス感染症と関連する。

【００１４】

一例では前記ＡＲＤＳは重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（ＳＡＲＳ－ＣＯＶ）感染症と関連する。一例では前記ＡＲＤＳはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症と関連する。したがって、いくつかの例では前記対象はコロナウイルス病２０１９（ＣＯＶＩＤ－１９）である。具体的には、重症のＣＯＶＩＤ－１９はＡＲＤＳを引き起こすことが多い。本開示の前記方法は、重症のＣＯＶＩＤ－１９患者においてＡＲＤＳを治療又は予防するために使用され得る。よって、いくつかの例では前記対象は重症のＣＯＶＩＤ－１９である。

【００１５】

いくつかの例では前記ＡＲＤＳは異物の吸入又は吸引と関連する。例えば、高濃度の煙又は化学煙霧を吸い込むことで、吐しゃ物の吸引又は溺水のエピソードで生じ得るようにＡＲＤＳが生じ得る。

【００１６】

いくつかの例では前記ＡＲＤＳは重症の肺炎と関連する。重症の肺炎は肺の５つの葉の全てを侵すことが通常であり、ＡＲＤＳを引き起こす可能性がある。したがって、いくつかの例では前記対象は間質性肺炎である。

【００１７】

いくつかの例では前記ＡＲＤＳは身体外傷と関連する。例えば、頭部の傷害、胸部の傷害、及び他の主要部の傷害はＡＲＤＳを引き起こし得る。転落又は自動車衝突などの事故は、直接的に肺又は呼吸を制御する脳の部分に損傷を与える可能性があり、それによってＡＲＤＳが生じる。いくつかの例では前記ＡＲＤＳは肺損傷と関連する。いくつかの例では前記ＡＲＤＳは脳損傷と関連する。いくつかの例では前記ＡＲＤＳは火傷と関連する。

【００１８】

いくつかの例では前記ＡＲＤＳは炎症性疾患と関連する。例えば、膵炎は、他の重症の炎症性疾患が引き起こし得るようにＡＲＤＳを引き起こし得る。いくつかの例では前記ＡＲＤＳは輸血と関連する。

【００１９】

いくつかの例では前記対象はＡＲＤＳである。

【００２０】

いくつかの例では前記対象はＡＲＤＳのベルリン定義を満たす。したがって、いくつかの例では前記対象は、

（ａ）臨床的侵襲又は初期呼吸器症状から１週間以内でのＡＲＤＳの発症、

（ｂ）少なくとも５ｃｍの持続的気道陽圧（ＣＰＡＰ）又は呼気終末陽圧（ＰＥＥＰ）における３００ｍｍＨｇ以下の吸気酸素濃度に対する動脈血酸素分圧の比（PaO_2／FiO_2比）によって判断される急性低酸素性呼吸器不全、

（ｃ）浸出液、硬結、又は無気肺では完全には説明できない胸部Ｘ線写真上での両側不透明像、及び

（ｄ）心不全又は体液過剰では完全には説明できない呼吸器不全

を有する。

【００２１】

本開示の前記方法のいくつかの例では前記ＡＲＤＳは軽症ＡＲＤＳである。いくつかの例では前記ＡＲＤＳは中等症ＡＲＤＳである。いくつかの例では前記ＡＲＤＳは重症ＡＲＤＳである。ＡＲＤＳの重症度は以下のようなベルリン定義に従って分類され得る。

（ｉ）軽症ＡＲＤＳでは少なくとも５ｃｍのＣＰＡＰ又はＰＥＥＰにおいてPaO_2／FiO_2が２００～３００ｍｍＨｇ

（ｉｉ）中等症ＡＲＤＳでは少なくとも５ｃｍのＰＥＥＰにおいてPaO_2／FiO_2が１００～２００ｍｍＨｇ

（ｉｉｉ）重症ＡＲＤＳでは少なくとも５ｃｍのＰＥＥＰにおいてPaO_2／FiO_2が１００ｍｍＨｇ以下。

【００２２】

本開示の前記方法は、既存のＡＲＤＳの治療に加えてＡＲＤＳの発症を予防するために使用可能であることが利点である。したがって、いくつかの例では前記対象はＡＲＤＳではない。

【００２３】

いくつかの例では前記対象はＡＲＤＳを発症するリスクを有する。ＡＲＤＳを発症するリスクを有する対象を特定する方法は当業者に理解され、それらの方法としては本明細書に記載される方法が挙げられる。

【００２４】

いくつかの例では前記対象は、以下

（ａ）分当たり３０回を超える呼吸数、

（ｂ）室内空気下で９３％以下の酸素飽和度（SpO_2）、

（ｃ）３００ｍｍＨｇ未満の吸気酸素濃度に対する動脈血酸素分圧の比（PaO_2／FiO_2）、

（ｄ）２１８未満のSpO_2／FiO_2比、及び

（ｅ）５０％を超える程度の肺浸潤のＸ線写真

のうちの１つ以上又は全てを有する。

【００２５】

上記の基準は、いくつかの例では対象がＡＲＤＳを発症するリスクを有するか評価するために使用可能である。

【００２６】

いくつかの例では前記対象は、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物を投与する時点において高流量酸素療法（ＨＦＯＴ）又は非侵襲的換気（ＮＩＶ）を受けていない。

【００２７】
いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、ＡＲＤＳの１つ以上の症状の重症度を低下させるため又はそれらの症状の発症を予防するために充分な量で投与される。
【００２８】
一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、気管内挿管を防ぐため又は気管内挿管前の死亡を防ぐために充分な量で投与される。気管内挿管は、前記対象の口から気道内へチューブ、すなわち気管内チューブを挿入して前記対象が人工呼吸器につながれるようにする過程である。したがって、本開示の前記方法は、ＡＲＤＳを有する対象の機械的換気を防止又は抑制する方法であって、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物を前記対象に投与することを含む前記方法をさらに提供する。
【００２９】
いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、以下
（ａ）前記対象の人工呼吸器非装着生存日数の増加、
（ｂ）前記対象の入院期間（ＬＯＳ）の減少、
（ｃ）８ポイント米国国立アレルギー感染症研究所（ＮＩＡＩＤ）順序尺度で評価された前記対象の臨床状態の改善、
（ｄ）持続的気道陽圧法（ＣＰＡＰ）又は二相式気道陽圧法（ＢｉＰＡＰ）の使用の減少又は阻止、
（ｅ）高流量鼻カニューラ法（ＨＦＮＣ）の使用の減少又は阻止、
（ｆ）体外式膜型人工肺（ＥＣＭＯ）の使用の減少又は阻止、及び
（ｇ）前記対象の多臓器不全評価（ＳＯＦＡ）スコアの増加の抑制又は阻止
のうちの１つ以上又は全てを達成するために充分な量で投与される。
【００３０】
いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象の肺の炎症を抑制又は肺の炎症の増加を阻止するために充分な量で投与される。一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、肺機能を強化するために充分な量で投与される。
【００３１】
いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象の気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬＦ）中の総細胞数及び／若しくは総タンパク質量を減少させるため又はその総細胞数及び／若しくは総タンパク質量の増加を阻止するために充分な量で投与される。いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象のＢＡＬＦ中に存在する好中球の量を減少させるため又はその好中球の量の増加を阻止するために充分な量で投与される。
【００３２】
いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象のＢＡＬＦ中の好中球エラスターゼ活性及び／若しくはミエロペルオキシダーゼ活性のレベルを低下させるため又はその好中球エラスターゼ活性及び／若しくはミエロペルオキシダーゼ活性のレベル上昇を阻止するために充分な量で投与される。
【００３３】
いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、以下のＧ－ＣＳＦ、プラスミノーゲン活性化抑制因子－１（ＰＡＩ－１）、Ｄダイマー、好中球エラスターゼ、可溶性ＡＧＥ受容体（ｓＲＡＧＥ）、インターフェロンγ（ＩＦＮ－γ）、インターロイキン１β（ＩＬ－１β）、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２ｐ７０、ＩＬ－１３、及び腫瘍壊死因子α（ＴＮＦ－α）のうちのいずれか１つ以上又は全てのレベルを低下させるため又はそのレベル上昇を阻止するために充分な量で投与される。これらのバイオマーカーは、治療の有効性を評価するため又はＡＲＤＳを発症するリスクがある対象の特定を支援するために使用可能である。
【００３４】

いくつかの例では上記タンパク質のレベルが前記対象の肺において低下する又は上昇抑制される。いくつかの例では上記タンパク質のレベル前記対象の血液において低下する又は上昇抑制される。

【００３５】

前記の項目の各々を評価するための方法は、当技術分野において知られている及び／又は本明細書に記載されている。さらに、当業者は、「低下させる」及び「上昇を阻止する」という用語は、上記の項目のうちのいずれかの量がＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物を投与する前の前記対象における量又は対応する対照被検者における量のどちらかと比較して少ないことを指すために本明細書において使用されることを理解する。例えば、この対照被検者は、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物ではなくプラセボ及び／又は標準治療を受けた対象であってよい。

【００３６】

いくつかの例では上記の項目の量の減少又は上記の項目の量の増加の阻止は、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物の１回目の投与から３０日以内に評価される。いくつかの例では上記の項目の量の減少又は上記の項目の量の増加の阻止は、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物の１回目の投与から１日後、２日後、３日後、４日後、５日後、６日後、７日後、８日後、９日後、１０日後、１４日後、１７日後、２１日後、２４日後、又は２８日後に評価される。

【００３７】

Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達の阻害は、（例えば、Ｇ－ＣＳＦに結合する化合物を使用する）Ｇ－ＣＳＦの阻害又は（例えば、Ｇ－ＣＳＦＲに結合する化合物を使用する）Ｇ－ＣＳＦＲの阻害によって達成可能であることが適切である。この点に関し、Ｇ－ＣＳＦに結合する抗体及びＧ－ＣＳＦＲに結合する抗体が両方ともＧ－ＣＳＦシグナル伝達の阻害及び関節炎のマウスモデルにおける疾患重症度の低下に有効であることが示されている（Ｃａｍｐｂｅｌｌ ｅｔ ａｌ．，２０１６ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １９７：４３９２－４４０２）。したがって、いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、Ｇ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦ受容体（Ｇ－ＣＳＦＲ）に結合する。一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、Ｇ－ＣＳＦに結合する。一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、Ｇ－ＣＳＦ受容体（Ｇ－ＣＳＦＲ）に結合する。

【００３８】

一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物はタンパク質である。

【００３９】

一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、Ｇ－ＣＳＦＲに結合又は特異的に結合し、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を無効にする抗原結合部位含有タンパク質である。本明細書におけるＧ－ＣＳＦＲに「結合」するタンパク質又は抗体に対する言及は、Ｇ－ＣＳＦＲに「特異的に結合」するタンパク質又は抗体に対応する。

【００４０】

一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、Ｇ－ＣＳＦに結合又は特異的に結合し、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を無効にする抗体可変領域含有タンパク質である。

【００４１】

いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、Ｆｖを含むタンパク質である。いくつかの例では前記タンパク質は、

（ｉ）単鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）、
（ｉｉ）二量体型ｓｃＦｖ（ｄｉ－ｓｃＦｖ）、
（ｉｉｉ）ディアボディ、
（ｉｖ）トリアボディ、
（ｖ）テトラボディ、
（ｖｉ）Ｆａｂ、
（ｖｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$、
（ｖｉｉｉ）Ｆｖ、

（ｉｘ）抗体定常領域Ｆｃ若しくは重鎖定常ドメイン（C_H）２及び／若しくはC_H3に結合した（ｉ）～（ｖｉｉｉ）のうちの１つ、
（ｘ）アルブミンに結合した、若しくはアルブミンの機能性断片若しくは変異体に結合した、若しくはアルブミンに結合するタンパク質に結合した（ｉ）～（ｖｉｉｉ）のうちの１つ、又は
（ｘｉ）抗体
を含む。

【００４２】

いくつかの例では前記タンパク質は、
（ｉ）単鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）、
（ｉｉ）二量体型ｓｃＦｖ（ｄｉ－ｓｃＦｖ）、
（ｉｉｉ）ディアボディ、
（ｉｖ）トリアボディ、
（ｖ）テトラボディ、
（ｖｉ）Ｆａｂ、
（ｖｉｉ）$F(ab')_2$、
（ｖｉｉｉ）Ｆｖ、
（ｉｘ）抗体定常領域Ｆｃ若しくは重鎖定常ドメイン（C_H）２及び／若しくはC_H3に結合した（ｉ）～（ｖｉｉｉ）のうちの１つ、
（ｘ）アルブミンに結合した、若しくはアルブミンの機能性断片若しくは変異体に結合した、若しくはアルブミンに結合するタンパク質（例えば、抗体若しくはその抗体の抗原結合断片）に結合した（ｉ）～（ｖｉｉｉ）のうちの１つ、及び
（ｘｉ）抗体
からなる群より選択される。

【００４３】

一例では前記タンパク質はＦｃ領域を含む。

【００４４】

一例では前記タンパク質は、前記タンパク質の半減期を増加させる１か所以上のアミノ酸置換を含む。一例では前記抗体は、新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）へのＦｃ領域の親和性を高める１か所以上のアミノ酸置換を含むそのＦｃ領域を含む。

【００４５】

一例では前記タンパク質は抗体である。例となる抗体が国際公開第２０１２／１７１０５７号パンフレットに記載されている。

【００４６】

一例では前記タンパク質は、細胞表面上に発現したｈＧ－ＣＳＦＲに少なくとも約５ｎＭの親和性で結合する。一例では前記タンパク質は、細胞表面上に発現したｈＧ－ＣＳＦＲに少なくとも約４ｎＭの親和性で結合する。一例では前記タンパク質は、細胞表面上に発現したｈＧ－ＣＳＦＲに少なくとも約３ｎＭの親和性で結合する。一例では前記タンパク質は、細胞表面上に発現したｈＧ－ＣＳＦＲに少なくとも約２ｎＭの親和性で結合する。一例では前記タンパク質は、細胞表面上に発現したｈＧ－ＣＳＦＲに少なくとも約１ｎＭの親和性で結合する。

【００４７】

一例では前記タンパク質は、ｈＧ－ＣＳＦＲを発現するＢａＦ３細胞のＧ－ＣＳＦ誘導性の細胞増殖を少なくとも約５ｎＭのＩＣ５０で阻害する。一例では前記タンパク質は、ｈＧ－ＣＳＦＲを発現するＢａＦ３細胞のＧ－ＣＳＦ誘導性の細胞増殖を少なくとも約４ｎＭのＩＣ５０で阻害する。一例では前記タンパク質は、ｈＧ－ＣＳＦＲを発現するＢａＦ３細胞のＧ－ＣＳＦ誘導性の細胞増殖を少なくとも約３ｎＭのＩＣ５０で阻害する。一例では前記タンパク質は、ｈＧ－ＣＳＦＲを発現するＢａＦ３細胞のＧ－ＣＳＦ誘導性の細胞増殖を少なくとも約２ｎＭのＩＣ５０で阻害する。一例では前記タンパク質は、ｈＧ－ＣＳＦＲを発現するＢａＦ３細胞のＧ－ＣＳＦ誘導性の細胞増殖を少なくとも約１ｎＭ

のＩＣ５０で阻害する。一例では前記タンパク質は、ｈＧ－ＣＳＦＲを発現するＢａＦ３細胞のＧ－ＣＳＦ誘導性の細胞増殖を少なくとも約０．５ｎＭのＩＣ５０で阻害する。

【００４８】

一例では前記タンパク質又は抗体は、キメラタンパク質若しくはキメラ抗体、脱免疫化タンパク質若しくは脱免疫化抗体、ヒト化タンパク質若しくはヒト化抗体、ヒトタンパク質若しくはヒト抗体、又は霊長類化タンパク質若しくは霊長類化抗体である。一例では前記タンパク質又は抗体はヒトタンパク質又はヒト抗体である。

【００４９】

一例では前記タンパク質は、配列番号４に示される配列を備える重鎖可変領域（V_H）及び配列番号５に示される配列を備える軽鎖可変領域（V_L）を含むＧ－ＣＳＦＲに対する抗体Ｃ１．２Ｇの結合を競合的に抑制する抗体可変領域を含む。

【００５０】

一例では前記タンパク質は、配列番号１の１１１～１１５、１７０～１７６、２１８～２３４、及び２８６～３００から選択される１領域、又は２領域、又は３領域、又は４領域の内の残基を含むエピトープに結合する。

【００５１】

一例では前記タンパク質は、配列番号４に示されるアミノ酸配列を備える重鎖可変領域（ＶＨ）及び配列番号５に示されるアミノ酸配列を備える軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む抗体可変領域を含む。

【００５２】

一例では前記タンパク質は、配列番号２に示されるアミノ酸配列を備えるＶＨ及び配列番号３に示されるアミノ酸配列を備えるＶＬを含む抗体可変領域を含む。

【００５３】

一例では前記タンパク質は、配列番号４に示されるアミノ酸配列を備えるＶＨの３ＣＤＲを備えるＶＨ及び配列番号５に示されるアミノ酸配列を備えるＶＬの３ＣＤＲを備えるＶＬを含む抗体可変領域を含む。

【００５４】

一例では前記タンパク質は、配列番号２に示されるアミノ酸配列を備えるＶＨの３ＣＤＲを備えるＶＨ及び配列番号３に示されるアミノ酸配列を備えるＶＬの３ＣＤＲを備えるＶＬを含む抗体可変領域を含む。

【００５５】

一例では前記タンパク質は、

（ｉ）配列番号１４に示されるアミノ酸配列を備える重鎖及び配列番号１５に示される配列を備える軽鎖、又は

（ｉｉ）配列番号１６に示されるアミノ酸配列を備える重鎖及び配列番号１５に示される配列を備える軽鎖

を含む。

【００５６】

一例では前記タンパク質は、

（ｉ）配列番号１４若しくは１８に示される配列を備える重鎖及び配列番号１５に示されるアミノ酸配列を備える軽鎖、又は

（ｉｉ）配列番号１４に示されるアミノ酸配列を備える１本の重鎖及び配列番号１８に示されるアミノ酸配列を備える１本の重鎖及び配列番号１５に示されるアミノ酸配列を備える２本の軽鎖

を含む。

【００５７】

いくつかの例では前記タンパク質は融合タンパク質である。したがって、いくつかの例では前記タンパク質は、Ｇ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲに結合する抗原結合部位を含み、且つ、別のアミノ酸配列を備える。

【００５８】

いくつかの例では前記融合タンパク質は、
（ａ）血清アルブミン若しくは血清アルブミンの変異体、又は
（ｂ）可溶性補体受容体若しくは可溶性補体受容体の変異体
を含む。

【００５９】

血清アルブミン及び血清アルブミンの変異体の例となるアミノ酸配列は、国際公開第２０１９／０７５５１９号パンフレットに提示されている。可溶性補体受容体及び可溶性補体受容体の変異体の例となるアミノ酸配列は、国際公開第２０１９／０７５５１９号パンフレット及び国際公開第２０１９／２１８００９号パンフレットに提示されている。

【００６０】

いくつかの例では前記可溶性補体受容体は可溶性補体受容体１型（ｓＣＲ１）である。

【００６１】

いくつかの例では前記融合タンパク質は補体インヒビターを含む。いくつかの例ではこの補体インヒビターは補体成分１（Ｃ１）インヒビターである。一例ではこのＣ１インヒビターはＣ１－ＩＮＨ（「Ｃ１エステラーゼインヒビター」としても知られる）又はＣ１－ＩＮＨの機能性変異体若しくは断片である。

【００６２】

いくつかの例では前記タンパク質は、Ｇ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲに結合する抗原結合部位及び異なる抗原に結合する別の抗原結合部位を含む。したがって、いくつかの例では前記タンパク質は多重特異的タンパク質（例えば、多重特異的抗体）である。いくつかの例では前記タンパク質は二特異的タンパク質である。

【００６３】

いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位はインターロイキン又はインターロイキン受容体に結合する。いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位は補体タンパク質に結合する。

【００６４】

いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位はインターロイキン６（ＩＬ－６）又はＩＬ－６受容体（ＩＬ－６Ｒ）に結合する。いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位はインターロイキン３（ＩＬ－３）又はＩＬ－３受容体（ＩＬ－３Ｒ）に結合する。いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位はインターロイキン５（ＩＬ－５）又はＩＬ－５受容体（ＩＬ－５Ｒ）に結合する。いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位はインターロイキン４（ＩＬ－４）又はＩＬ－４受容体（ＩＬ－４Ｒ）に結合する。いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位はインターロイキン１３（ＩＬ－１３）又はＩＬ－１３受容体（ＩＬ－１３Ｒ）に結合する。いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位は顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）又はＧＭ－ＣＳＦ受容体（ＧＭ－ＣＳＦＲ）に結合する。いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位はサイトカイン受容体共通サブユニットベータ（ＣＳＦ２ＲＢ）に結合する。いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位はＣ１に結合する。いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位は補体成分２（Ｃ２）に結合する。いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位は血液凝固因子に結合する。いくつかの例ではこの他方の抗原結合部位は凝固第ＸＩＩ因子（ＦＸＩＩ）に結合する。

【００６５】

本開示までに至る研究において、本発明者らは、重症の好中球減少症を誘導することなく又は長期間にわたって重症の好中球減少症を誘導することなく対象において循環好中球の数を減少させることができるＧ－ＣＳＦシグナル伝達阻害剤の投与量を特定しようとした。本発明者らは、ＡＲＤＳを治療又は予防するために循環好中球数を減少させることにより肺の炎症を抑制することができる。したがって、いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象において連続７日を超える期間にわたってグレード３又はグレード４の持続性好中球減少症を引き起こさずに循環好中球を減少させるために充分な量で投与される。

【００６６】

一例では前記化合物の投与は、前記対象において連続３日を超える期間にわたってグレード３の好中球減少症又はグレード４の好中球減少症（又は重症の好中球減少症）を引き起こさない。

【００６７】

一例では前記化合物の投与は、前記対象において連続４日、又は５日、又は６日を超える期間にわたってグレード３の好中球減少症又はグレード４の好中球減少症（又は重症の好中球減少症）を引き起こさない。

【００６８】

一例では前記化合物の投与は、前記対象において連続７日を超える期間にわたってグレード３の好中球減少症又はグレード４の好中球減少症（又は重症の好中球減少症）を引き起こさない。

【００６９】

いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象において連続２日を超える期間にわたってグレード２又はグレード３又はグレード４の持続性好中球減少症を引き起こさずに循環好中球を減少させるために充分な量で投与される。

【００７０】

いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象において１２時間を超える期間にわたってグレード４の好中球減少症を引き起こさずに循環好中球を減少させるために充分な量で投与される。いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象において１２時間を超える期間にわたってグレード３の好中球減少症を引き起こさずに循環好中球を減少させるために充分な量で投与される。いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象において１２時間を超える期間にわたってグレード２の好中球減少症を引き起こさずに循環好中球を減少させるために充分な量で投与される。

【００７１】

いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象においてグレード４の好中球減少症を引き起こさずに循環好中球を減少させるために充分な量で投与される。いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象においてグレード３の好中球減少症を引き起こさずに循環好中球を減少させるために充分な量で投与される。いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象においてグレード２の好中球減少症を引き起こさずに循環好中球を減少させるために充分な量で投与される。

【００７２】

本発明者らは、安全であり、且つ、対象における循環好中球の減少に有効であるＧ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲに結合する抗原結合部位含有タンパク質の特定の投与量を特定した。

【００７３】

一例では前記タンパク質は０．１ｍｇ／ｋｇと１ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与される。一例では前記タンパク質は０．１ｍｇ／ｋｇと０．９ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与され、例えば、０．１ｍｇ／ｋｇと０．８ｍｇ／ｋｇとの間の用量、例えば０．１ｍｇ／ｋｇと０．６ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与される。

【００７４】

本明細書において使用される場合、「間」という用語は、明示された範囲の各終端において列挙されている値を含む。

【００７５】

一例では前記タンパク質は０．１ｍｇ／ｋｇと０．８ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与される。

【００７６】

一例では前記タンパク質は０．３ｍｇ／ｋｇと０．６ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与される。

【００７７】
一例では前記タンパク質は０．１ｍｇ／ｋｇと０．６ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与される。
【００７８】
一例では前記タンパク質は０．１ｍｇ／ｋｇ又は０．３ｍｇ／ｋｇ又は０．６ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。
【００７９】
一例では前記タンパク質は約０．１ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。
【００８０】
一例では前記タンパク質は約０．２ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。
【００８１】
一例では前記タンパク質は約０．３ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。
【００８２】
一例では前記タンパク質は約０．４ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。
【００８３】
一例では前記タンパク質は約０．５ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。
【００８４】
一例では前記タンパク質は約０．６ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。
【００８５】
一例では前記タンパク質は約０．７ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。
【００８６】
一例では前記タンパク質は約０．８ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。
【００８７】
いくつかの例では前記タンパク質は複数回にわたって投与される。複数用量が投与される場合、上記の用量（及び他の用量）のうちのいずれかの用量を組み合わせることができる。
【００８８】
いくつかの例では前記タンパク質は複数回にわたって前記対象に投与され、前記タンパク質は２日～５日毎に一度の頻度で投与される。いくつかの例では後続の用量について２日～５日の間隔が空けられる。後続のそれぞれの用量と用量とを分ける期間は、同じでも異なっていてもよい。
【００８９】
いくつかの例では前記タンパク質の前記初回用量は後続の用量よりも高い。一例では１負荷用量以上の前記化合物が投与され、続いて１維持用量以上の前記化合物が投与される。概して、これらの負荷用量はこれらの維持用量よりも高くなり、又はこれらの維持用量よりも短い投与間隔で投与される。
【００９０】
いくつかの例では少なくとも２用量の前記タンパク質が前記対象に投与される。
【００９１】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．８ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与することを含む。
【００９２】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．７ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与することを含む。
【００９３】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．６ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与することを含む。
【００９４】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．５ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与することを含む。

【００９５】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．４ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与することを含む。
【００９６】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．３ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与することを含む。
【００９７】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．２ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与することを含む。
【００９８】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．１ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与することを含む。
【００９９】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．０５ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与することを含む。
【０１００】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記初回用量の後にさらに１用量以上を投与することを含む。
【０１０１】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．２ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１０２】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．１ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１０３】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．０５ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１０４】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．８ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．２ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１０５】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．７ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．２ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１０６】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．６ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．２ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１０７】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．５ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．２ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１０８】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．４ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．２ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１０９】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．３ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．２ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与するこ

とを含む。
【０１１０】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．２ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．２ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１１１】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．１ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．２ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１１２】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．８ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．１ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１１３】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．７ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．１ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１１４】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．６ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．１ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１１５】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．５ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．１ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１１６】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．４ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．１ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１１７】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．３ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．１ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１１８】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．２ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．１ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１１９】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．１ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．１ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１２０】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．８ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．０５ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１２１】
いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．７ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．０５ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。
【０１２２】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．６ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．０５ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。

【０１２３】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．５ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．０５ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。

【０１２４】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．４ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．０５ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。

【０１２５】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．３ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．０５ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。

【０１２６】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．２ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．０５ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。

【０１２７】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．１ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．０５ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。

【０１２８】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．１ｍｇ／ｋｇと０．４ｍｇ／ｋｇとの間の初回用量で前記タンパク質を投与すること、及び０．０５ｍｇ／ｋｇと０．２ｍｇ／ｋｇとの間の用量をさらに１回以上投与することを含む。

【０１２９】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．２ｍｇ／ｋｇと０．４ｍｇ／ｋｇとの間の初回用量で前記タンパク質を投与すること、及び０．０５ｍｇ／ｋｇと０．２ｍｇ／ｋｇとの間の用量をさらに１回以上投与することを含む。

【０１３０】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．１ｍｇ／ｋｇと０．３ｍｇ／ｋｇとの間の初回用量で前記タンパク質を投与すること、及び０．０５ｍｇ／ｋｇと０．２ｍｇ／ｋｇとの間の用量をさらに１回以上投与することを含む。

【０１３１】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．３ｍｇ／ｋｇの初回用量で前記タンパク質を投与し、０．１ｍｇ／ｋｇの用量をさらに１回以上投与することを含む。

【０１３２】

いくつかの例では前記第２用量は前記初回用量から２日～４日後である。いくつかの例では前記第２用量は前記初回用量から３日後である。

【０１３３】

いくつかの例では少なくとも３用量の前記タンパク質が前記対象に投与される。

【０１３４】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．１ｍｇ／ｋｇと０．４ｍｇ／ｋｇとの間の初回用量で、０．０５ｍｇ／ｋｇと０．２ｍｇ／ｋｇとの間の第２用量で、及び０．０５ｍｇ／ｋｇと０．２ｍｇ／ｋｇとの間の第３用量で前記タンパク質を投与することを含む。

【０１３５】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．２ｍｇ／ｋｇと０．４ｍｇ／ｋｇとの間の初回用量で、０．０５ｍｇ／ｋｇと０．２ｍｇ／ｋｇとの間の第２用量で、及び０．０５ｍｇ／ｋｇと０．２ｍｇ／ｋｇとの間の第３用量で前記タンパク質を投与することを含む。

【０１３６】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．１ｍｇ／ｋｇと０．３ｍｇ／ｋｇとの間の初回用量で、０．０５ｍｇ／ｋｇと０．２ｍｇ／ｋｇとの間の第２用量で、及び０．０５ｍｇ／ｋｇと０．２ｍｇ／ｋｇとの間の第３用量で前記タンパク質を投与することを含む。

【０１３７】

いくつかの例では本明細書に記載される前記方法は、前記対象に０．３ｍｇ／ｋｇの第１用量、０．１ｍｇ／ｋｇの第２用量、及び０．１ｍｇ／ｋｇの第３用量で前記タンパク質を投与することを含む。

【０１３８】

いくつかの例では前記第２用量は前記初回用量から２日～４日後であり、前記第３用量は前記第２用量から３日～５日後である。

【０１３９】

いくつかの例では初回用量の３日後に第２用量があり、第２用量の４日後に第３用量がある。

【０１４０】

一例では０．３ｍｇ／ｋｇの第１用量が１日目に投与され、０．１ｍｇ／ｋｇの第２用量が４日目に投与され、０．１ｍｇ／ｋｇの第３用量が８日目に投与される。

【０１４１】

いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、全身投与される。いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、局所投与される。

【０１４２】

いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、静脈内投与される。

【０１４３】

いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、皮下投与される。

【０１４４】

一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、別の治療法と併用投与される。

【０１４５】

一例では前記別の治療法は、抗炎症性化合物の投与を含む。一例では前記別の治療法は、免疫調節薬又は免疫抑制剤の投与を含む。

【０１４６】

いくつかの例では前記別の治療法は、抗原結合部位を含むタンパク質の投与を含む。いくつかの例では前記抗原結合部位含有タンパク質は、抗体である。

【０１４７】

いくつかの例では前記別の治療法は、インターロイキンシグナル伝達を阻害する化合物の投与を含む。

【０１４８】

いくつかの例では前記別の治療法は、ＩＬ－３シグナル伝達、ＩＬ－５シグナル伝達、及び／又はＧＭ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物の投与を含む。

【０１４９】

一例ではＩＬ－３シグナル伝達、ＩＬ－５シグナル伝達、及び／又はＧＭ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、ＩＬ－３Ｒ、ＩＬ－５Ｒ、及び／又はＧＭ－ＣＳＦＲに結合する。一例ではＩＬ－３シグナル伝達、ＩＬ－５シグナル伝達、及び／又はＧＭ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、ＣＳＦ２ＲＢに結合する。一例ではＩＬ－

３シグナル伝達、ＩＬ－５シグナル伝達、及び／又はＧＭ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、抗体である。一例ではＩＬ－３シグナル伝達、ＩＬ－５シグナル伝達、及び／又はＧＭ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、国際公開第２０１７／０８８０２８号パンフレットに記載される抗体である。一例ではＩＬ－３シグナル伝達、ＩＬ－５シグナル伝達、及び／又はＧＭ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、ＣＳＬ３１１である。いくつかの例ではＩＬ－３シグナル伝達、ＩＬ－５シグナル伝達、及び／又はＧＭ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、ＣＳＬ３１１のＣＤＲを備える抗体である。いくつかの例ではＩＬ－３シグナル伝達、ＩＬ－５シグナル伝達、及び／又はＧＭ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、ＣＳＬ３１１のV_H及びV_Lを備える抗体である。

【０１５０】

いくつかの例では前記別の治療法は、ＩＬ－４シグナル伝達及び／又はＩＬ－１３シグナル伝達を阻害する化合物の投与を含む。いくつかの例では前記別の治療法は、ＩＬ－１３Ｒに結合する化合物の投与を含む。いくつかの例ではＩＬ－１３Ｒに結合する前記化合物は抗体である。いくつかの例ではＩＬ－１３Ｒに結合する前記化合物はＣＳＬ３３４（ＡＳＬＡＮ００４としても知られる）である。いくつかの例ではＩＬ－１３Ｒに結合する前記化合物はＣＳＬ３３４のＣＤＲを備える抗体である。いくつかの例ではＩＬ－１３Ｒに結合する前記化合物はＣＳＬ３３４のV_H及びV_Lを備える抗体である。

【０１５１】

いくつかの例では前記別の治療法は、ＩＬ－３Ｒに結合する化合物の投与を含む。いくつかの例ではＩＬ－３Ｒに結合する前記化合物は抗体である。いくつかの例ではＩＬ－３Ｒに結合する前記化合物は国際公開第２０１４／４３８８１９号パンフレットに記載される抗体である。いくつかの例ではＩＬ－３Ｒに結合する前記化合物はＣＳＬ３６２である。いくつかの例ではＩＬ－３Ｒに結合する前記化合物はＣＳＬ３６２のＣＤＲを備える抗体である。いくつかの例ではＩＬ－３Ｒに結合する前記化合物はＣＳＬ３６２のV_H及びV_Lを備える抗体である。

【０１５２】

いくつかの例では前記別の治療法は、補体インヒビターの投与を含む。

【０１５３】

いくつかの例では前記補体インヒビターはＣ１インヒビターである。いくつかの例では前記補体インヒビターはＣ１に結合する。一例ではこのＣ１インヒビターはＣ１－ＩＮＨ又はＣ１－ＩＮＨの機能性変異体若しくは断片である。例えば、Ｃ１－ＩＮＨは血漿由来であっても組換え生産されてもよい。

【０１５４】

いくつかの例では前記補体インヒビターはＣ２インヒビターである。いくつかの例では前記補体インヒビターはＣ２に結合する。いくつかの例ではＣ２に結合する前記補体インヒビターは抗体である。

【０１５５】

一例では前記補体インヒビターは補体成分Ｃ４ｂ及び／又は補体成分Ｃ３ｂに結合する。一例では前記補体インヒビターは補体受容体１型（ＣＲ１）の細胞外ドメインを含む。一例では前記Ｃ１インヒビターは可溶性補体受容体１型（ｓＣＲ１）又は可溶性補体受容体１型の機能性断片若しくは変異体である。

【０１５６】

いくつかの例では前記別の治療法は、血液凝固因子インヒビターを投与することを含む。いくつかの例ではこの血液凝固因子インヒビターはＦＸＩＩインヒビターである。いくつかの例ではこの血液凝固因子インヒビターはＦＸＩＩに結合する。いくつかの例ではこの血液凝固因子インヒビターはＣＳＬ３１２（ガラダシマブ）である。いくつかの例ではこの血液凝固因子インヒビターはＣＳＬ３１２のＣＤＲを備える抗体である。いくつかの例ではこの血液凝固因子インヒビターはＣＳＬ３１２のV_H及びV_Lを備える抗体である。

【０１５７】
いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、細胞と併用投与される。いくつかの例ではこの細胞は幹細胞、例えば間葉系幹細胞である。
【０１５８】
いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、遺伝子療法と併用投与される。
【０１５９】
一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記別の治療法と同時に投与される。一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記別の治療法の前に投与される。一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記別の治療法の後に投与される。
【０１６０】
いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、標準治療と併用投与される。この標準治療はＡＲＤＳの根底にある原因の標準治療であってもＡＲＤＳ自体の標準治療であってもよい。
【０１６１】
いくつかの例では前記標準治療は、以下
（ａ）腹臥位、
（ｂ）体液管理、
（ｃ）一酸化窒素の投与、
（ｄ）神経筋遮断薬の投与、
（ｅ）人工呼吸、
（ｆ）体外式膜型人工肺、及び
（ｇ）抗ウイルス薬又は抗生物質の投与
うちの１つ以上又は全てを含む。
【０１６２】
一例では前記標準治療は抗ウイルス薬の投与を含む。一例では前記標準治療はレムデシビルの投与を含む。一例では前記標準治療は以下
（ａ）ヒドロキシクロロキン、
（ｂ）クロロキン、
（ｃ）ロピナビル、
（ｄ）リトナビル、
（ｅ）アジスロマイシン、
（ｆ）インターフェロンβ、
（ｇ）アナキンラ、
（ｈ）トシリズマブ、
（ｉ）サリルマブ、
（ｊ）デキサメタゾン、
（ｋ）アスピリン、
（ｌ）ロサルタン、
（ｍ）シンバスタチン、及び
（ｎ）バリシチニブ
のうちの１つ以上の投与を含む。
【０１６３】
一例では前記対象はヒトである。一例では前記対象は、例えば１８歳以上の成人である。一例では前記対象は、例えば１８歳未満の子供である。一例では前記対象は１８歳と９０歳との間である。一例では前記対象は５０歳と８０歳との間である。
【０１６４】
一例では前記対象は慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）ではない。一例では前記対象は喘息ではない。

【０１６５】
一例では本明細書に記載される前記方法は、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物を用いる治療に応答性である者として前記対象を特定することをさらに含む。一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物を用いる治療に応答性である者として前記対象を特定することは、前記対象が肺（例えば、痰）の中で好中球の量を増加させていると判定することを含む。一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物を用いる治療に応答性である者として前記対象を特定することは、前記対象が（例えば、血液又は気管支生検組織の中で）Ｇ－ＣＳＦ及び／又はＧ－ＣＳＦＲの発現を上昇させていると判定することを含む。

【表１】

配列表の説明

配列番号１	Ｃ末端ポリヒスチジンタグを有するヒトＧ－ＣＳＦＲ（ｈＧ－ＣＳＦＲ）の２５番～３３５番アミノ酸
配列番号２	Ｃ１．２のV_H
配列番号３	Ｃ１．２のV_L
配列番号４	Ｃ１．２ＧのV_H
配列番号５	Ｃ１．２ＧのV_L
配列番号６	Ｃ１．２のＨＣＤＲ１
配列番号７	Ｃ１．２のＨＣＤＲ２
配列番号８	Ｃ１．２のＨＣＤＲ３
配列番号９	Ｃ１．２のＬＣＤＲ１
配列番号１０	Ｃ１．２のＬＣＤＲ２
配列番号１１	Ｃ１．２のＬＣＤＲ３
配列番号１２	Ｃ１．２のＨＣＤＲ３のコンセンサス配列
配列番号１３	Ｃ１．２のＬＣＤＲ３のコンセンサス配列
配列番号１４	安定化ＩｇＧ４定常領域を含むＣ１．２Ｇの重鎖
配列番号１５	κ定常領域を含むＣ１．２Ｇの軽鎖
配列番号１６	例となるｈ－Ｇ－ＣＳＦＲの配列
配列番号１７	Ｃ末端ポリヒスチジンタグを有するカニクイザルＧ－ＣＳＦＲ（ｃｙｎｏＧ－ＣＳＦＲ）のＩｇドメイン及びＣＲＨドメインを含むポリペプチド
配列番号１８	安定化ＩｇＧ４定常領域を含み、Ｃ末端リシンを欠くＣ１．２Ｇの重鎖

【図面の簡単な説明】
【０１６６】
【図１】図１は、実施例１に記載されるように０．１ｍｇ／ｋｇ、０．３ｍｇ／ｋｇ、０．６ｍｇ／ｋｇ、０．８ｍｇ／ｋｇ、及び１．０ｍｇ／ｋｇの単回用量のＣＳＬ３２４を投与された健常被験者における平均血清中ＣＳＬ３２４濃度を経時的に示しているグラフである。
【図２】図２は、実施例１に記載されるように０．１ｍｇ／ｋｇ、０．３ｍｇ／ｋｇ、０．６ｍｇ／ｋｇ、０．８ｍｇ／ｋｇ、及び１．０ｍｇ／ｋｇの単回用量のＣＳＬ３２４を投与された健常被験者における標的受容体（Ｇ－ＣＳＦＲ）占有率（％）を経時的に示しているグラフである。
【図３】図３は、実施例１に記載されるように０．１ｍｇ／ｋｇ、０．３ｍｇ／ｋｇ、０．６ｍｇ／ｋｇ、０．８ｍｇ／ｋｇ、及び１．０ｍｇ／ｋｇの単回用量のＣＳＬ３２４を投与された健常被験者における好中球減少症評価尺度（すなわち、グレード１、グレード２、グレード３、及びグレード４）に従う絶対好中球数（ＡＮＣ）を示しているヒートマップである。

【図４】図４は、実施例１に記載されるように０．６ｍｇ／ｋｇの用量のＣＳＬ３２４を３回投与された健常被験者における好中球減少症評価尺度（すなわち、グレード１、グレード２、グレード３、及びグレード４）に従う絶対好中球数（ＡＮＣ）を示しているヒートマップである。
【図５】図５は、好中球上でのＧ－ＣＳＦ誘導性のＣＸＣＲ１（図５Ａ）及びＣＸＣＲ２（図５Ｂ）の発現に対するＣＳＬ３２４の効果を示しているグラフを示す。Ｇ－ＣＳＦが存在しない状態ではＣＸＣＲ１又はＣＸＣＲ２の発現は、ＣＳＬ３２４（灰色）によって培地単独と比べて変わることがなかった。Ｇ－ＣＳＦのみが存在する状態（黒色）での好中球の培養により、細胞表面でのＣＸＣＲ１及びＣＸＣＲ２の発現が培地単独と比較して増加した。ＣＳＬ３２４（灰色）とのプレインキュベーションによってＣＸＣＲ１発現及びＣＸＣＲ２発現のＧ－ＣＳＦ誘導性上方制御を抑制することができた。
【図６】図６は、Ｇ－ＣＳＦ誘導性の好中球遊走に対するＣＳＬ３２４の効果を示しているグラフを示す。Ｇ－ＣＳＦのみが存在する状態でのプレインキュベーションによって好中球のＭＩＰ－２への遊走が誘導され（図６Ａ、黒色のバー）、この遊走はＣＳＬ３２４によって培地単独と同じレベルにまで減少した（図６Ａ、灰色のバー）。Ｇ－ＣＳＦとのプレインキュベーションによってＣＸＣＲ１及びＣＸＣＲ２が発現上昇し、これは好中球のＭＩＰ－２への遊走と相関した（図６Ｂ及び６Ｃ）。
【図７】図７は、ＰＢＳ対照（図７Ａ）及びアイソタイプ抗体対照（図７Ｂ）と比較したＡＲＤＳのマウスモデルにおける気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）中の細胞数に対するＶＲ８１（ＣＳＬ３２４のマウス代用抗体）の効果を示しているグラフを示す。
【図８】図８は、ＡＲＤＳのマウスモデルにおける気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）中の絶対免疫細胞数に対するＶＲ８１（ＣＳＬ３２４のマウス代用抗体）の効果を示しているグラフである。
【図９】図９は、ＰＢＳ対照（図９Ａ）及びアイソタイプ抗体対照（図９Ｂ）と比較したＡＲＤＳのマウスモデルにおける気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）中の総タンパク質量に対するＶＲ８１（ＣＳＬ３２４のマウス代用抗体）の効果を示しているグラフを示す。
【図１０】図１０は、ＰＢＳ対照（図１０Ａ）及びアイソタイプ抗体対照（図１０Ｂ）と比較したＡＲＤＳのマウスモデルにおける気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）中の好中球エラスターゼ活性レベルに対するＶＲ８１（ＣＳＬ３２４のマウス代用抗体）の効果を示しているグラフを示す。
【図１１】図１１は、実施例３において使用されたＡＲＤＳの動物モデルにおける肺炎症の進行を示す。図１１Ａは、３μｇのＬＰＳの投与後の様々な時点でマウスから得られた気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬＦ）に由来する総細胞数を示す。カラムは平均値±ＳＥＭを示す（群当たりｎ＝５匹のマウス）。一元配置ＡＮＯＶＡとダネットの検定によりＰＢＳ対照と比較して＊Ｐ＜０．０１、†Ｐ＜０．０００１。図１１Ｂは、３μｇのＬＰＳの投与後の様々な時点でマウスから得られた気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬＦ）中の好中球エラスターゼ活性（６０分のアッセイ）を示す。カラムは平均値±ＳＥＭを示し（群当たりｎ＝５匹のマウス）、点は個々のマウスを表す。一元配置ＡＮＯＶＡとダネットの検定によりＰＢＳ対照と比較して＊Ｐ＜０．０１、†Ｐ＜０．０００１。
【図１２】図１２は、疾患発症から６時間後に投与されたときのＶＲ８１の治療有効性を示しているグラフを示す。３μｇのＬＰＳ（右の２カラム）又はＰＢＳ（左のカラム）を挿管投与してから２４時間後にマウスから得られた気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬＦ）に由来するリンパ球、好中球、及びマクロファージについて、総細胞数が積み上げ式のカラムに示されている（平均値±ＳＥＭ）。挿管投与から６時間後にマウスを５００μｇのＶＲ８１又はアイソタイプ対照ＢＭ４の静脈内注射により処理した。ＶＲ８１群とＢＭ４群との間では好中球数に有意差（Ｐ＜０．０００１）が存在した（スチューデントのｔ検定、ｎ＝２匹（ＰＢＳ）、６匹（ＢＭ４＿ＬＰＳ）、及び７匹（ＶＲ８１＿ＬＰＳ））。
【図１３】図１３は、実施例４において説明される試験プロトコルの模式図である。
【図１４－１】図１４は、実施例４において説明される投与計画についての経時的な予測受容体占有率と予測ＡＮＣ数を示す。

【図１４－２】図１４は、実施例４において説明される投与計画についての経時的な予測受容体占有率と予測ＡＮＣ数を示す。
【図１５】図１５は、ＡＲＤＳのマウスモデルにおける肺湿乾（Ｗ／Ｄ）重量比によって評価される肺浮腫に対するＶＲ８１（ＣＳＬ３２４のマウス代用抗体）の効果を示しているグラフである。ＬＰＳの１日前の５００μｇ／マウスのＶＲ８１の投与によってアイソタイプ対照抗体ＢＭ４を投与されたマウスと比較して有意にＷ／Ｄ比が減少した。
【発明を実施するための形態】
【０１６７】
概要
本明細書を通じて、特に明記されている場合又は文脈上他の解釈が必要な場合を除き、単一の工程、単一の組成物、単一の工程群、又は単一の組成物群に対する言及は、複数の工程、複数の組成物、複数の工程群、又は複数の組成物群のうちの１つ及び複数（すなわち、１つ以上）を包含すると理解されるべきである。
【０１６８】
本開示は、具体的に記載されるもの以外にも様々な変更と改変を受けやすいことを当業者は理解する。本開示は全てのこのような変更及び改変を含むことを理解されたい。本開示はまた、本明細書において個々に又はまとめて言及又は提示される工程、特徴、組成物、及び化合物のうちの全てを含み、前記工程又は特徴のありとあらゆる組合せ又はいずれか２つ以上も含む。
【０１６９】
本開示は、本明細書に記載される特定の例によって範囲を限定されず、それらの例は例示のみを目的としたものである。機能的に等価の生産物、組成物、及び方法は明らかに本開示の範囲内にある。
【０１７０】
本明細書中の本開示のどの例も、特に明示される場合を除き、必要な変更を加えて本開示の他のいずれの例にも当てはまると理解されるものとする。
【０１７１】
特別に別段の定義がない限り、本明細書において使用される全ての技術用語及び科学用語は、（例えば、免疫学、免疫組織化学、タンパク質化学、及び生化学の）当業者が共通して理解するものと同じ意味を有すると理解されたい。
【０１７２】
別段の指示がない限り、本開示において利用される組換えタンパク質技法、細胞培養技法、及び免疫学的技法は、当業者によく知られている標準的方法である。このような技法は、Ｊ．Ｐｅｒｂａｌ著、Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ（１９８４年）、Ｊ．Ｓａｍｂｒｏｏｋら著、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｕｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ（１９８９年）、Ｔ．Ａ．Ｂｒｏｗｎ（編）、Ｅｓｓｅｎｔｉａｌ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ、第１巻及び第２巻、ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ（１９９１年）、Ｄ．Ｍ．Ｇｌｏｖｅｒ及びＢ．Ｄ．Ｈａｍｅｓ（編）、ＤＮＡ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ、第１巻～第４巻、ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ（１９９５年及び１９９６年）、並びにＦ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌら（編）、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂ．Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ－Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ（１９８８年、現在までの全てのアップデートを含む）、Ｅｄ Ｈａｒｌｏｗ及びＤａｖｉｄ Ｌａｎｅ（編） Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｕｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ（１９８８年）、並びにＪ．Ｅ．Ｃｏｌｉｇａｎら（編） Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ（現在までの全てのアップデートを含む）などの文献を通じて

記載及び説明されている。
【０１７３】
本明細書中の可変領域及び可変領域の部分、免疫グロブリン、抗体、並びに抗体の断片の説明並びに定義は、Ｋａｂａｔ Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、メリーランド州、ベセスダ、米国国立衛生研究所、１９８７年及び１９９１年の中の考察、Ｂｏｒｋ ｅｔ ａｌ．，ＪＭｏｌ．Ｂｉｏｌ．２４２，３０９－３２０，１９９４、Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ Ｊ．Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７，１９８７、Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ３４２，８７７－８８３，１９８９、並びに／又はＡｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２７３，９２７－９４８，１９９７によってさらに明確にされ得る。
【０１７４】
「及び／又は」という用語、例えば「Ｘ及び／又はＹ」は、「Ｘ及びＹ」又は「Ｘ又はＹ」のどちらかを意味すると理解され、両方の意味又はどちらかの意味に対応すると理解されるものとする。
【０１７５】
本明細書を通じて「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」という単語又は「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」若しくは「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」などの変形体は、指示された要素、整数、若しくは工程、又は要素群、整数群、若しくは工程群を内包することを意味するが、他のあらゆる要素、整数、若しくは工程、又は要素群、整数群、若しくは工程群を排除することを意味しないと理解されたい。
【０１７６】
定義集
「化合物」は、本開示によって考慮される場合、天然化合物、低分子化合物、又は生体化合物、又は巨大分子を含む様々な形のうちのいずれの形を取ってもよい。例となる化合物には抗体又は抗体の抗原結合断片を含むタンパク質、核酸、ポリペプチド、ペプチド、及び小分子が挙げられる。
【０１７７】
本明細書における「顆粒球コロニー刺激因子」（Ｇ－ＣＳＦ）の参照は、天然型のＧ－ＣＳＦ、変異体型のＧ－ＣＳＦ、例えばフィルグラスチム、及びペグ化型のＧ－ＣＳＦ又はフィルグラスチムを含む。この用語は、Ｇ－ＣＳＦＲ（例えば、ヒトＧ－ＣＳＦＲ）に結合し、且つ、シグナル伝達を誘導する活性を保持する変異体型のＧ－ＣＳＦも包含する。
【０１７８】
Ｇ－ＣＳＦは顆粒球生産の主要な調節因子である。Ｇ－ＣＳＦは骨髄間質細胞、内皮細胞、マクロファージ、及び線維芽細胞によって生産され、炎症性刺激によって生産が誘導される。Ｇ－ＣＳＦはＧ－ＣＳＦ受容体（Ｇ－ＣＳＦＲ）を介して作用し、Ｇ－ＣＳＦ受容体は早期骨髄系前駆細胞上、成熟好中球上、単球／マクロファージ上、Ｔリンパ球及びＢリンパ球上、並びに内皮細胞上に発現する。
【０１７９】
限定を目的とせずに命名のみを目的としてヒトＧ－ＣＳＦＲの例となる配列をＮＣＢＩ基準配列ＮＰ＿０００７５１．１の中（及び配列番号１６の中）に提示する。他の種のＧ－ＣＳＦＲの配列は、本明細書において提供される配列及び／若しくは公開データベース中の配列を用いて決定可能であり、並びに／又は標準的技法（例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら（編）、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂ．Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ－Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ（１９８８年、現在までの全てのアップデートを含む）又はＳａｍｂｒｏｏｋら著、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ（１９８９年）に記載されるような標準的技法）を用いて決定可能である。ヒトＧ－

ＣＳＦＲの参照は、ｈＧ－ＣＳＦＲに略記される場合があり、カニクイザルＧ－ＣＳＦＲの参照は、ｃｙｎｏＧ－ＣＳＦＲに略記される場合がある。可溶性Ｇ－ＣＳＦＲの参照は、Ｇ－ＣＳＦＲのリガンド結合領域を含むポリペプチドを指す。Ｇ－ＣＳＦＲのＩｇドメイン及びＣＲＨドメインはリガンド結合及び受容体二量体化に関与する（Ｌａｙｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ．，２７２：２９７３５－２９７４１，１９９７、及びＦｕｋｕｎａｇａ ｅｔ ａｌ，ＥＭＢＯ Ｊ．１０：２８５５－２８６５，１９９１）。この受容体のこれらの部分を含む可溶型のＧ－ＣＳＦＲは、この受容体の様々な研究に使用されてきており、この受容体の７８番、１６３番、及び２２８番の位置の遊離システインの突然変異が、リガンド結合に影響せずにこの可溶性受容体ポリペプチドの発現と単離を助ける（Ｍｉｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．，４３：２４５８－２４６４ ２００４）。

【０１８０】

本明細書において使用される場合、「疾患」又は「健康状態」という用語は、正常な機能の混乱又は正常な機能への妨害を指し、いかなる特定の健康状態、疾患、又は障害にも限定されないものとする。

【０１８１】

本明細書において使用される場合、「治療する（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」、「治療する（ｔｒｅａｔ）」、又は「治療（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）」という用語は、特定の疾患又は健康状態の少なくとも１つの症状を抑制、予防、又は排除するために本明細書に記載される化合物を投与することを含む。

【０１８２】

本明細書において使用される場合、「予防する（ｐｒｅｖｅｎｔｉｎｇ）」、「予防する（ｐｒｅｖｅｎｔ）」、又は「予防（ｐｒｅｖｅｎｔｉｏｎ）」という用語は、本明細書に記載される化合物を投与することによって健康状態の少なくとも１つの症状の発症を例えばその症状が前記対象において完全に発症する前に停止又は抑止することを含む。例えば、対象のPaO_2/FiO_2比が３００ｍｍＨｇより下に落ちることを防ぐために本開示の前記方法に従って化合物を対象に投与することができる。

【０１８３】

本明細書において使用される場合、「対象」という用語は、ヒトを含むあらゆる動物、例えば哺乳類動物を意味すると理解されるものとする。例となる対象にはヒト及び非ヒト霊長類動物が挙げられるがこれらに限定されない。一例では前記対象はヒトである。

【０１８４】

「タンパク質」という用語は、単一のポリペプチド鎖、すなわちペプチド結合によって連結された一連の連続アミノ酸、又は共有結合若しくは非共有結合によって相互に連結された一連のポリペプチド鎖（すなわち、ポリペプチド複合体）を含むと理解されるものとする。例えば、その一連のポリペプチド鎖は、適切な化学結合又はジスルフィド結合を用いて共有結合によって連結され得る。非共有結合の例としては水素結合、イオン結合、ファンデルワールス力、及び疎水性相互作用が挙げられる。いくつかの例では前記タンパク質は融合タンパク質である。本明細書において使用される場合、「融合タンパク質」は、単一のユニットとして翻訳されて単一のタンパク質を産出するように連結された少なくとも２つのドメインを含むタンパク質である。

【０１８５】

「ポリペプチド」又は「ポリペプチド鎖」という用語は、ペプチド結合によって連結された一連の連続アミノ酸を意味すると前段落から理解されたい。

【０１８６】

「単離タンパク質」又は「単離ポリペプチド」という用語は、そのタンパク質又はポリペプチドの起源又は導出起源のため、天然状態ではそのタンパク質又はポリペプチドに付随している天然結合成分と結合していないタンパク質又はポリペプチドであり、同じ起源に由来する他のタンパク質を実質的に含まない。タンパク質は、当技術分野において知られているタンパク質精製技術を用いて天然結合成分を実質的に含まないようにする又は単

離により実質的に精製状態にすることができる。「実質的に精製された」は、前記タンパク質が汚染混入因子を実質的に含まない、例えば汚染混入因子を少なくとも約７０％、又は約７５％、又は約８０％、又は約８５％、又は約９０％、又は約９５％、又は約９６％、又は約９７％、又は約９８％、又は約９９％含まないことを意味する。

【０１８７】

「組換え体」という用語は、人工的遺伝子組換えの産物を意味すると理解されるものとする。よって、抗体抗原結合ドメインを含む組換えタンパク質という文脈ではこの用語は、Ｂ細胞成熟時に起こる自然の過程による組換えの産物である対象の身体内で自然の過程により生じる抗体を包含するものではない。しかしながら、このような抗体が単離された場合にはその抗体は、抗体抗原結合ドメインを含む単離タンパク質であると考えられるべきである。同様に、このタンパク質をコードする核酸が単離され、組換え手段を用いて発現させた場合にはそれにより生じるタンパク質は、抗体抗原結合ドメインを含む組換えタンパク質である。組換えタンパク質には、その組換えタンパク質が発現する細胞、組織、又は対象等に前記核酸が存在するときに人工的組換え手段によって発現するタンパク質も含まれる。

【０１８８】

本明細書において使用される場合、「抗原結合部位」という用語は、抗原に結合又は特異的に結合することができるタンパク質によって形成される構造体を意味すると理解されるものとする。抗原結合部位は、一連の連続アミノ酸である必要はなく、又は単一のポリペプチド鎖の中のアミノ酸である必要すらない。例えば、２本の異なるポリペプチド鎖から形成されるＦｖでは抗原結合部位は、抗原と相互作用するV_L及びV_Hの一連のアミノ酸であって、且つ、常にというわけではないが、概ね各可変領域中のＣＤＲのうちの１つ以上の中に存在するそれらの一連のアミノ酸から構成される。いくつかの例では抗原結合部位はV_H、又はV_L、又はＦｖである。いくつかの例では抗原結合部位は抗体の１つ以上のＣＤＲを含む。

【０１８９】

「抗体」は、複数のポリペプチド鎖、例えばV_Lを含むポリペプチドとV_Hを含むポリペプチドから構成される可変領域を含むタンパク質であると一般的に考えられていることを当業者は理解する。抗体は一般的に定常ドメインも含み、それらの定常ドメインのうちのいくつかは定常領域に配置される場合があり、その定常領域は重鎖の場合では定常断片又は結晶化可能断片（Ｆｃ）を含む。V_H及びV_Lは相互作用して、１種類又は数種類の近縁の抗原に対して特異的に結合することができる抗原結合領域を含むＦｖを形成する。一般に、哺乳類動物の軽鎖はκ軽鎖又はλ軽鎖のどちらかであり、哺乳類動物の重鎖はα、δ、ε、γ、又はμである。抗体は、あらゆるタイプ（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、及びＩｇＹ）、クラス（例えば、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、及びIgA_2）、又はサブクラスの抗体であり得る。「抗体」という用語にはヒト化抗体、霊長類化抗体、ヒト抗体、及びキメラ抗体も含まれる。

【０１９０】

「完全長抗体」、「完全抗体」、又は「全長抗体」という用語は、抗体の抗原結合断片とは違って実質的に完全型の抗体を指すために互換的に使用される。具体的には、全長抗体にはＦｃ領域を含む重鎖及び軽鎖を有する抗体が含まれる。定常ドメインは野生型配列定常ドメイン（例えば、ヒト野生型配列定常ドメイン）又は野生型配列定常ドメインのアミノ酸配列変異体であってよい。

【０１９１】

本明細書において使用される場合、「可変領域」は、抗原に対して特異的に結合することができ、且つ、相補性決定領域（ＣＤＲ）、すなわちＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３並びにフレームワーク領域（ＦＲ）のアミノ酸配列を含む、本明細書において定義される抗体の軽鎖及び／又は重鎖の部分を指す。例となる可変領域は、３つのＣＤＲと共に３つ又は４つのＦＲ（例えば、ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、及び所望によりＦＲ４）を含む。ＩｇＮＡＲから派生したタンパク質の場合ではこのタンパク質はＣＤＲ２を欠く場合があ

る。V_Hは重鎖の可変領域を指す。V_Lは軽鎖の可変領域を指す。

【０１９２】

本明細書において使用される場合、「相補性決定領域」（ＣＤＲ、すなわちＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３と同義）という用語は、存在することが抗原結合に必要な抗体可変領域のアミノ酸残基を指す。各可変領域は、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３として特定される３ＣＤＲ領域を有していることが典型的である。ＣＤＲ及びＦＲに割り当てられているアミノ酸の位置は、Ｋａｂａｔ Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、メリーランド州、ベセスダ、米国国立衛生研究所、１９８７年及び１９９１年、又は本開示の実施における他の付番システム、例えばＣｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ Ｊ．Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７，１９８７、Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ３４２，８７７－８８３，１９８９、及び／又はＡｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉ ｅｔ ａｌ．，ＪＭｏｌ Ｂｉｏｌ ２７３：９２７－９４８，１９９７の標準付番システム、Ｌｅｆｒａｎｃ ｅｔ ａｌ．，Ｄｅｖｅｌ．Ａｎｄ Ｃｏｍｐａｒ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，２７：５５－７７，２００３のＩＭＧＴ付番システム、又はＨｏｎｎｅｇｈｅｒ 及び Ｐｌｕｅｋｔｈｕｎ Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，３０９：６５７－６７０，２００１のＡＨＯ付番システム に従って定義され得る。例えば、Ｋａｂａｔの付番システムによるとV_Hのフレームワーク領域（ＦＲ）及びＣＤＲは、残基１～３０（ＦＲ１）、残基３１～３５（ＣＤＲ１）、残基３６～４９（ＦＲ２）、残基５０～６５（ＣＤＲ２）、残基６６～９４（ＦＲ３）、残基９５～１０２（ＣＤＲ３）、及び残基１０３～１１３（ＦＲ４）のように位置を確認される。Ｋａｂａｔの付番システムによるとV_LのＦＲ及びＣＤＲは、残基１～２３（ＦＲ１）、残基２４～３４（ＣＤＲ１）、残基３５～４９（ＦＲ２）、残基５０～５６（ＣＤＲ２）、残基５７～８８（ＦＲ３）、残基８９～９７（ＣＤＲ３）、及び残基９８～１０７（ＦＲ４）のように位置を確認される。本開示はＫａｂａｔ付番システムによって定義されるＦＲ及びＣＤＲに限定されないが、本開示は、上で議論した付番システムを含む全ての付番システムを含む。一例では、本明細書におけるＣＤＲ（又はＦＲ）の参照は、Ｋａｂａｔ付番システムによるこれらの領域に関するものである。

【０１９３】

「フレームワーク領域」（ＦＲ）は、ＣＤＲ残基以外の可変領域残基である。

【０１９４】

本明細書において使用される場合、「Ｆｖ」という用語は、複数のポリペプチドから構成される場合でも単一のポリペプチドから構成される場合でも、V_L及びV_Hが連結して抗原結合部位を有する複合体、すなわち抗原に対して特異的に結合することができる複合体を形成するあらゆるタンパク質を意味すると理解されるものとする。抗原結合部位を形成するこのV_H及びV_Lは、単一のポリペプチド鎖の中にあっても異なるポリペプチド鎖の中にあってもよい。さらに、本開示のＦｖ（並びに本開示のあらゆるタンパク質）は、同じ抗原に結合しても結合しなくてもよい複数の抗原結合部位を有してよい。この用語は、抗体から直接的に導出される断片並びに組換え手段を用いて作製されるこのような断片に対応するタンパク質を包含すると理解されるものとする。いくつかの例ではこのV_Hは重鎖定常ドメイン（C_H）１に限定されず、及び／又はこのV_Lは軽鎖定常ドメイン（C_L）に限定されない。例となるＦｖ含有ポリペプチド又はタンパク質にはＦａｂ断片、Ｆａｂ’断片、Ｆ（ａｂ’）断片、ｓｃＦｖ、ディアボディ、トリアボディ、テトラボディ、若しくは高次複合体、又は定常領域若しくは定常領域のドメイン、例えばC_H2ドメイン若しくはC_H3ドメインに結合した前述のポリペプチド若しくはタンパク質のうちのいずれか、例えばミニボディが挙げられる。「Ｆａｂ断片」は、免疫グロブリンの一価抗原結合断片から構成され、完全な軽鎖と重鎖の一部から構成される断片が生じるように酵素パパインで全長抗体を消化することによって作製可能であり、又は組換え手段を用いて作製可能である。抗体の「Ｆａｂ’断片」は、完全な軽鎖とV_H及び単一の定常ドメインを含む重鎖の一部から構成される分子が生じるようにペプシンで全長抗体を処理した後に還元

することによって得ることができる。このように処理された抗体当たり２本のＦａｂ’断片が得られる。Ｆａｂ’断片は組換え手段によっても作製可能である。抗体の「Ｆ（ａｂ’）２断片」は、２本のジスルフィド結合によってまとめられた２本のＦａｂ’断片である二量体から構成され、酵素ペプシンで全長抗体分子を処理し、その後で還元しないことによって得られる。「$Ｆａｂ_{2}$」断片は、ロイシンジッパー又は$Ｃ_{Ｈ}３$ドメイン等を用いて連結された２本のＦａｂ断片を含む組換え断片である。「単鎖Ｆｖ」又は「ｓｃＦｖ」は、軽鎖可変領域及び重鎖可変領域が適切な可撓性ポリペプチドリンカーによって共有結合されている抗体の可変領域断片（Ｆｖ）を含む組換え分子である。

【０１９５】

本明細書において使用される場合、「結合する」という用語は、抗原と化合物又はその化合物の抗原結合部位との相互作用に関し、相互作用がその抗原上の特定の構造（例えば、抗原決定基又はエピトープ）の存在に依存していることを意味する。例えば、抗体は一般的にタンパク質というよりもむしろ特定のタンパク質構造を認識し、結合する。抗体がエピトープ「Ａ」に結合する場合、エピトープ「Ａ」（又は遊離状態の未標識の「Ａ」）を含む分子の存在は、標識済み「Ａ」及び前記タンパク質を含む反応ではその抗体に結合した標識済み「Ａ」の量を減少させることになる。

【０１９６】

本明細書において使用される場合、「特異的に結合する（ｓｐｅｃｉｆｉｃａｌｌｙ　ｂｉｎｄｓ）」又は「特異的に結合する（ｂｉｎｄｓ　ｓｐｅｃｉｆｉｃａｌｌｙ）」という用語は、本開示の化合物が、他の抗原又は細胞との場合よりも頻繁に、短時間で、長い期間にわたり、且つ／又は高い親和性で特定の抗原又は同抗原を発現する細胞を認識する又は特定の抗原又は同抗原を発現する細胞と結合することを意味すると理解されるものとする。例えば、化合物が、他のサイトカイン受容体又は多反応性天然抗体（すなわち、天然界でヒトに見られる様々な抗原に結合することが知られている天然の抗体）が共通して認識する抗原に結合する場合よりも実質的に高い（例えば、２０倍、又は４０倍、又は６０倍、又は８０倍～１００倍、又は１５０倍、又は２００倍の）親和性でＧ－ＣＳＦＲ（例えば、ｈＧ－ＣＳＦＲ）に結合する。必ずというわけではないが、結合の参照は、概して特異的な結合を意味し、各用語は、他方の用語に対応すると理解されるものとする。

【０１９７】

タンパク質又は抗体は、別のポリペプチドに対する前記タンパク質又は抗体の解離定数（$Ｋ_{Ｄ}$）よりも小さい$Ｋ_{Ｄ}$でポリペプチドに結合する場合にそのポリペプチドに対して「優先的に結合する」と考えられる。一例ではタンパク質又は抗体は、別のポリペプチドに対する前記タンパク質又は抗体の$Ｋ_{Ｄ}$の少なくとも約２０倍、又は４０倍、又は６０倍、又は８０倍、又は１００倍、又は１２０倍、又は１４０倍、又は１６０倍の親和性（すなわち、$Ｋ_{Ｄ}$）でポリペプチドに結合する場合にそのポリペプチドに対して優先的に結合すると考えられる。

【０１９８】

明確化のため、及び当業者が本明細書中の例示内容に基づいて認識するように、本明細書中の「親和性」の参照は、タンパク質又は抗体の$Ｋ_{Ｄ}$の参照である。

【０１９９】

明確化のため、及び当業者が本明細書中の説明に基づいて認識するように、「少なくとも約～の親和性」の参照は、その親和性（又は$Ｋ_{Ｄ}$）が挙げられた値と同等又はそれより高い（すなわち、親和性として挙げられた値の方が低い）ことを意味すると理解され、すなわち、２ｎＭの親和性の方が３ｎＭの親和性よりも高い。別の言い方をすると、この用語は「Ｘ以下の親和性」であり得、その場合にＸは本明細書において挙げられる値である。

【０２００】

「少なくとも約～の$ＩＣ_{５０}$」は、その$ＩＣ_{５０}$が挙げられた値と同等又はそれより高い（すなわち、$ＩＣ_{５０}$として挙げられた値の方が低い）ことを意味すると理解され、すなわち、２ｎＭの$ＩＣ_{５０}$の方が３ｎＭの$ＩＣ_{５０}$よりも高い。別の言い方をすると、こ

の用語は「Ｘ以下のＩＣ５０」であり得、その場合にＸは本明細書において挙げられる値である。

【０２０１】

本明細書において使用される場合、「エピトープ」（「抗原決定基」と同義）という用語は、抗体の抗原結合部位を含むタンパク質が結合するＧ－ＣＳＦ又はｈＧ－ＣＳＦＲの領域を意味すると理解されるものとする。この用語は必ずしも前記タンパク質が接触するこれらの特定の残基又は構造に限定されない。例えば、この用語は、前記タンパク質が接触するアミノ酸にわたる領域、及び／又はこの領域の外側の５～１０アミノ酸、若しくは２～５アミノ酸、若しくは１～３アミノ酸を含む。いくつかの例ではこのエピトープは、Ｇ－ＣＳＦ又はｈＧ－ＣＳＦＲが折り畳まれると互いに近接する一連の不連続アミノ酸、すなわち「立体構造エピトープ」を含む。例えば、ｈＧ－ＣＳＦＲ中の立体構造エピトープは配列番号１の１１１～１１５、１７０～１７６、２１８～２３４、及び／又は２８６～３００に対応する領域のうちの１つ以上の領域、又は２つ以上の領域、又は全ての領域の中のアミノ酸を含む。当業者は、「エピトープ」という用語はペプチド又はポリペプチドに限定されないことも理解する。例えば、「エピトープ」という用語は、糖側鎖、ホスホリル側鎖、又はスルホニル側鎖などの化学的活性表面分子基を含み、ある特定の例では特定の三次元構造特性及び／又は特定の荷電特性を有する場合がある。

【０２０２】

「競合的に抑制する」という用語は、本開示のタンパク質（又はそのタンパク質の抗原結合部位）が挙げられた抗体又はタンパク質のＧ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲ、例えばｈＧ－ＣＳＦＲへの結合を抑制又阻止することを意味すると理解されるものとする。このことは、前記タンパク質（又は抗原結合部位）及び抗体が同じエピトープ又は重なり合うエピトープに結合することに起因する可能性がある。前記タンパク質は前記抗体の結合を必ずしも完全に抑制するわけではないことが前述の説明から明らかになり、前記タンパク質はむしろ統計学的に有意な量、例えば少なくとも約１０％、又は２０％、又は３０％、又は４０％、又は５０％、又は６０％、又は７０％、又は８０％、又は９０％、又は９５％だけ結合を抑制すればよい。前記タンパク質は、前記抗体の結合を好ましくは少なくとも約３０％だけ抑制し、より好ましくは少なくとも約５０％だけ抑制し、より好ましくは少なくとも約７０％だけ抑制し、さらにより好ましくは少なくとも約７５％だけ抑制し、さらにより好ましくは少なくとも約８０％又は８５％だけ抑制し、さらにより好ましくは少なくとも約９０％だけ抑制する。結合の競合的抑制を測定するための方法は、当技術分野において知られている及び／又は本明細書に記載されている。例えば、前記タンパク質が存在する又は存在しないどちらかの状態で前記抗体がＧ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲに曝露される。前記タンパク質が存在しない状態よりも前記タンパク質が存在する状態で結合した抗体が少ない場合、前記タンパク質は前記抗体の結合を競合的に抑制すると考えられる。一例ではこの競合的抑制は立体障害に起因するものではない。

【０２０３】

２つのエピトープという背景の中での「重なり合う」は、２つのエピトープが充分な数のアミノ酸残基を共にして一方のエピトープに結合するタンパク質（又はそのタンパク質の抗原結合部位）が他方のエピトープに結合するタンパク質（又は抗原結合部位）の結合を競合的に抑制するようにすることを意味すると理解されるものとする。例えば、これらの「重なり合う」エピトープは、少なくとも１アミノ酸、又は２アミノ酸、又は３アミノ酸、又は４アミノ酸、又は５アミノ酸、又は６アミノ酸、又は７アミノ酸、又は８アミノ酸、又は９アミノ酸、又は２０アミノ酸を共にする。

【０２０４】

本明細書において使用される場合、「無効化する」という用語は、化合物が細胞内のＧ－ＣＳＦＲを経過するＧ－ＣＳＦ介在性シグナル伝達を遮断、抑制、又は阻止することができることを意味すると理解されるものとする。無効化を測定するための方法は、当技術分野において知られている及び／又は本明細書に記載されている。

【０２０５】

本明細書において使用される場合、「好中球減少症」という用語は、正常範囲の下限より下の絶対好中球数（ＡＮＣ）、例えば２０００細胞／μＬ血液未満、又は１５００細胞／μＬ血液未満、又は１０００細胞／μＬ血液未満、例えば５００細胞／μＬ血液未満のＡＮＣを指すために使用される（Ｓｉｂｉｌｌｅ　ｅｔ　ａｌ．　２０１０　Ｂｒ　Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌ　７０（５）：　７３６‐７４８を参照されたい）。いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記抗体は、重症の好中球減少症を引き起こさない量で投与される。本明細書において使用される場合、「重症の好中球減少症」という用語は、１０００細胞／μＬ血液未満の絶対好中球数（ＡＮＣ）を指すために使用される。本開示の目的のため、以下

・グレード１は２．０×１０^{9}／Ｌ未満（２０００／ｍｍ^{3}未満）及び１．５×１０^{9}／Ｌ超（１５００／ｍｍ^{3}超）
・グレード２は１．５×１０^{9}／Ｌ未満（１５００／ｍｍ^{3}未満）及び１．０×１０^{9}／Ｌ超（１０００／ｍｍ^{3}超）
・グレード３は１．０×１０^{9}／Ｌ未満（１０００／ｍｍ^{3}未満）及び０．５×１０^{9}／Ｌ超（５００／ｍｍ^{3}超）
・グレード４は０．５×１０^{9}／Ｌ未満（５００／ｍｍ^{3}未満）

というＡＮＣを用いて好中球減少症のグレードを定義する。

【０２０６】

急性呼吸窮迫症候群の治療及び予防

本開示は、対象において急性呼吸窮迫症候群（ＡＲＤＳ）を治療又は予防するための方法等を提供する。

【０２０７】

ＡＲＤＳは、両側性肺浸潤、重症低酸素血症、及び非心原性肺浮腫を特徴とする生命にかかわる状態である。ＡＲＤＳの結果として重症の肺損傷及びＡＲＤＳに起因する３０％～５０％の死亡率が生じる。現在のところ、有効な薬物療法は存在しない。敗血症及び肺炎（インフルエンザ感染症及びコロナウイルス感染症を含む）などの感染症がＡＲＤＳの主因である。したがって、これらの原疾患又は基礎疾患（例えば、感染症）の治療も本開示の前記方法と組み合わせて考慮される。

【０２０８】

組織学的には、ヒトのＡＲＤＳは、肺における重症で急性の炎症反応及び好中球性肺胞炎を特徴とする。微生物病原体に由来する炎症性刺激、例えばエンドトキシン（リポ多糖、ＬＰＳ）は、肺の炎症を誘導する能力をよく認識されており、ＬＰＳの実験的な全身投与と気管内投与の両方が、本明細書に記載されるようにＡＲＤＳの動物モデルにおいて肺の炎症を誘導するために用いられている。ＬＰＳはＴｏｌｌ様受容体４（ＴＬＲ４）を介して作用して炎症性サイトカイン及び炎症性ケモカインの発現並びに白血球接着分子の発現を上昇させ、結果として内皮細胞を活性化する。

【０２０９】

ＡＲＤＳの生理学的特徴は、タンパク質性浸出液が肺胞腔に貯留し、ガス交換を損ない、且つ、呼吸不全を促進する非心原性肺浮腫の発生に至る肺胞毛細血管膜障壁の破壊（すなわち、肺血管血液漏出）である。肺胞の上皮細胞と内皮細胞の両方の細胞傷害及び／又は細胞死がＡＲＤＳの発病に関係するとされている。ＡＲＤＳは、集中治療室（ＩＣＵ）では機械的換気の長期化の重要な寄与因子であり続けており、ＡＲＤＳ関連の死亡率は、最適なＩＣＵ支持療法にもかかわらず３０％～５０％と高いままである。

【０２１０】

ＡＲＤＳは、２０１２年に専門家委員会（米国胸部学会及び集中治療医学会に支持されたヨーロッパ集中治療医学会の首唱）によってベルリン定義として定義された。現在では軽症、中等症、及び重症の３ステージが存在し、それらのステージに付随して死亡率が上昇し（それぞれ、２７％の死亡率、９５％信頼区間（ＣＩ）は２４％～３０％、３２％の死亡率、９５％ＣＩは２９％～３４％、及び４５％の死亡率、９５％ＣＩは４２％～４８％、Ｐ＜０．００１）、生存者機械的換気期間の中央値が増加する（それぞれ、５日間、

四分位範囲［ＩＱＲ］は２～１１、７日間、ＩＱＲは４～１４、及び９日間、ＩＱＲは５～１７、Ｐ＜０．００１）。この定義は、４セットの多施設臨床データセットに由来する４１８８人のＡＲＤＳの患者及び生理学的情報を含む３セットの単一施設データセットに由来する２６９人のＡＲＤＳの患者の患者レベルメタ分析を用いて経験的に評価された。

【０２１１】

ベルリン定義によるとＡＲＤＳは、

（１）１週間以内の臨床的侵襲の提示又は呼吸器症状の発症、

（２）少なくとも５ｃｍの持続的気道陽圧（ＣＰＡＰ）又は呼気終末陽圧（ＰＥＥＰ）におけるPaO_2が動脈血酸素分圧であり、FiO_2が吸気酸素分圧である場合の３００ｍｍＨｇ以下のPaO_2/FiO_2比によって判断される急性低酸素性呼吸器不全、

（３）浸出液、硬結、又は無気肺では完全には説明できない肺Ｘ線写真上での両側不透明像、及び

（４）浮腫／心不全又は体液過剰では完全には説明できない呼吸器不全

によって定義される。

【０２１２】

本開示の前記方法の一例では前記対象は上記のＡＲＤＳのベルリン基準を満たす。他の例では前記対象はＡＲＤＳのベルリン基準をまだ満たしていなくてもよいが、ＡＲＤＳを発症するリスクがあると特定されている。このような対象にはＡＲＤＳの発症を防止するためにＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が投与され得る。

【０２１３】

本明細書において使用される場合、「リスクがある」という用語は、前記対象が正常な個体と比較して増加したＡＲＤＳを発症する機会を有することを意味する。対象は、当技術分野において知られているあらゆる方法を用いてＡＲＤＳを発症するリスクがあると特定され得る。例えば、前記対象は、その対象がＡＲＤＳの一般的な基礎疾患（例えば、敗血症、肺炎、外傷等）を有し、且つ、呼吸器症状、例えば呼吸促迫及び／又は息切れを有する場合にＡＲＤＳを発症するリスクがあると特定される場合がある。ＡＲＤＳを発症するリスクがある対象の特定に適切な他の方法には国際公開第２０１８／２０４５０９号パンフレット、Ｌｕｏ ｅｔ ａｌ．，２０１７，Ｊ Ｔｈｏｒａｃ Ｄｉｓ ９，３９７９‐３９９５、ｄｅ Ｈａｒｏ ｅｔ ａｌ．，２０１３，Ａｎｎａｌｓ ｏｆ Ｉｎｔｅｎｓｉｖｅ Ｃａｒｅ ３，１１、Ｉｒｉｙａｍａ ｅｔ ａｌ．，２０２０，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｎｔｅｎｓｉｖｅ Ｃａｒｅ ８，７、Ｇａｊｉｃ ｅｔ ａｌ．，２０１１，Ａｍ Ｊ Ｒｅｓｐｉｒ Ｃｒｉｔ Ｃａｒｅ Ｍｅｄ １８３，４６２‐４７０、及びＹａｄａｖ ｅｔ ａｌ．，２０１７，Ａｍ Ｊ Ｒｅｓｐｉｒ Ｃｒｉｔ Ｃａｒｅ Ｍｅｄ １９５，７２５－７３６に記載される方法等が挙げられる。

【０２１４】

ＡＲＤＳの重症度は以下のように分類され得る。

（１）軽症ＡＲＤＳではPaO_2/FiO_2が２００～３００ｍｍＨｇ

（２）中等症ＡＲＤＳではPaO_2/FiO_2が１００～２００ｍｍＨｇ

（３）重症ＡＲＤＳではPaO_2/FiO_2が１００ｍｍＨｇ以下。

【０２１５】

本開示の前記方法のいくつかの例では前記ＡＲＤＳは軽症ＡＲＤＳである。いくつかの例では前記ＡＲＤＳは中等症ＡＲＤＳである。いくつかの例では前記ＡＲＤＳは重症ＡＲＤＳである。

【０２１６】

Ｇ－ＣＳＦ阻害剤の作用機序のため、本開示の前記方法はＡＲＤＳの全ての原因に適合する。ＡＲＤＳの最も一般的な原因は敗血症、有害物質の吸引、肺炎、重篤な外傷（両側性肺挫傷、長骨骨折後の脂肪塞栓症、重篤な外傷又は火傷から数日後に生じる敗血症、及び重度の組織外傷）、大量輸血、輸血関連急性肺損傷、肺造血幹細胞移植、他の急性炎症性疾患、薬物及びアルコール、並びにサーファクタントプロテインＢ（ＳＰ－Ｂ）遺伝子

の突然変異などの遺伝的決定因子である。

【０２１７】

さらに最近になってＡＲＤＳは重症のコロナウイルス病２０１９（ＣＯＶＩＤ－１９）、すなわちＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２）感染に由来するウイルス性肺炎の結果として生ずることが示された。過去の他のコロナウイルス感染症はＳＡＲＳ及びＭＥＲＳを引き起こした。ＳＡＲＳ及びＭＥＲＳもＡＲＤＳを生じさせ得る。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症は、特異的なＰＣＲ検査を用いる鼻咽頭分泌物中のウイルスＲＮＡの陽性検出によって確認可能である。ＣＯＶＩＤ－１９病は、一致する臨床歴、疫学上の接触、及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２検査陽性によって確認可能である。ＣＯＶＩＤ－１９に関連するＡＲＤＳは、ＣＯＶＩＤ－１９感染が確認された対象が上記のベルリンＡＲＤＳ診断基準を満たすときに診断され得る。

【０２１８】

抗体

一例では、いずれかの例に従う本明細書に記載されるような化合物は、抗体の抗原結合部位を含むタンパク質である。いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は抗体である。いくつかの例では前記抗体はＧ－ＣＳＦＲに結合する。いくつかの例では前記抗体はＧ－ＣＳＦに結合する。

【０２１９】

抗体を作製するための方法は、当技術分野において知られている及び／又はＨａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ（編）、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ： Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ（１９８８年）に記載されている。概してこのような方法ではＧ－ＣＳＦＲ若しくはＧ－ＣＳＦ（例えば、ｈＧ－ＣＳＦＲ若しくはｈＧ－ＣＳＦ）又はＧ－ＣＳＦＲ若しくはＧ－ＣＳＦの領域（例えば、細胞外ドメイン）又はＧ－ＣＳＦＲ若しくはＧ－ＣＳＦ免疫原性の断片若しくはエピトープ又はこれらのいずれか（すなわち、免疫原）を発現し、提示する細胞であって所望によりいずれかの適切な又は所望の担体、アジュバント、又は薬学的に許容可能な賦形剤と共に製剤されたものは、非ヒト動物、例えばマウス、ニワトリ、ラット、ウサギ、モルモット、イヌ、ウマ、ウシ、ヤギ、又はブタに投与される。前記免疫原は鼻腔内経路、筋肉内経路、皮下経路、静脈内経路、皮内経路、腹腔内経路、又は他の公知の経路によって投与され得る。

【０２２０】

モノクローナル抗体は、本開示によって企図される１つの例となる形の抗体である。「モノクローナル抗体」又は「ｍＡｂ」という用語は、同じ抗原に、例えばその抗原内の同じエピトープに結合することができる均一な抗体集団を指す。この用語は、前記抗体の起源又は前記抗体が作製される方法に関して限定されることを意図してはいない。

【０２２１】

ｍＡｂの作製のためには、例えば、米国特許第４１９６２６５号明細書又は上掲のＨａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ（１９８８）において例示される方法などの多数の公知の技術のうちのいずれか１つが用いられ得る。

【０２２２】

あるいは、ＡＢＬ－ＭＹＣ技術（ＮｅｏＣｌｏｎｅ社、マジソン、ウィスコンシン州５３７１３、米国）が、（例えば、Ｌａｒｇａｅｓｐａｄａ ｅｔ ａｌ， Ｊ． Ｉｍｍｕｎｏｌ． Ｍｅｔｈｏｄｓ． １９７： ８５－９５， １９９６に記載されるような）ｍＡｂ分泌細胞株を作製するために使用される。

【０２２３】

抗体は、ディスプレイライブラリー、例えばファージディスプレイライブラリー、例えば米国特許第６３００６４号明細書及び／又は米国特許第５８８５７９３号明細書に記載されるようなディスプレイライブラリーをスクリーニングすることによっても作製又は単離され得る。例えば、本発明者らはファージディスプレイライブラリーから完全ヒト抗体を単離した。

【０２２４】
本開示の抗体は合成抗体であってよい。例えば、前記抗体はキメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、又は脱免疫化抗体である。
【０２２５】
一例では本明細書に記載される抗体はキメラ抗体である。「キメラ抗体」という用語は、重鎖及び／又は軽鎖の一部が特定の種（例えば、マウスなどのネズミ科動物）に由来する抗体又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体の中の対応する配列と同一又は相同である一方でその／それらの鎖の残りの部分が別の種（例えば、ヒトなどの霊長類動物）に由来する抗体又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体の中の対応する配列と同一又は相同である抗体を指す。キメラ抗体を作製するための方法は、例えば米国特許第４８１６５６７号明細書及び米国特許第５８０７７１５号明細書に記載されている。
【０２２６】
本開示の前記抗体はヒト化抗体又はヒト抗体であってよい。
【０２２７】
「ヒト化抗体」という用語は、非ヒト種の抗体に由来する抗原結合部位又は可変領域とヒト抗体の構造及び／又は配列に基づく残りの抗体構造とを有するキメラ抗体のサブクラスを指すと理解されるものとする。ヒト化抗体ではこの抗原結合部位は、ヒト抗体の可変領域中の適切なＦＲに移植された非ヒト抗体の相補性決定領域（ＣＤＲ）及びヒト抗体の残りの領域を一般的に含む。抗原結合部位は野生型（すなわち、前記非ヒト抗体の抗原結合部位と同一）であっても１つ以上のアミノ酸置換による改変型であってもよい。いくつかの例では前記ヒト抗体のＦＲ残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられている。
【０２２８】
非ヒト抗体又は非ヒト抗体の部分（例えば、可変領域）をヒト化するための方法は、当技術分野において知られている。米国特許第５２２５５３９号明細書又は米国特許第５５８５０８９号明細書の方法に従ってヒト化が実施可能である。抗体をヒト化するための他の方法が除外されることはない。
【０２２９】
本明細書において使用される「ヒト抗体」という用語は、ヒト、例えばヒトの生殖細胞若しくは体細胞に見られる配列に由来する又はそれらの配列に対応する可変領域（例えばV_H、V_L）を有し、所望により定常領域を有する抗体を指す。
【０２３０】
例となるヒト抗体は本明細書に記載されており、Ｃ１．２及びＣ１．２Ｇ並びに／又はＣ１．２及びＣ１．２Ｇの可変領域を含む。これらのヒト抗体は、非ヒト抗体と比較して低下したヒトにおける免疫原性という利点を提供する。例となる抗体が国際公開第２０１２／１７１０５７号パンフレットに記載されている。本開示の前記方法に従う使用にとって適切な他の抗体には国際公開第２０１８／１４５２０６号パンフレットに記載される抗体が挙げられる。
【０２３１】
一例では前記抗体は多重特異的抗体である。例えば、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、Ｇ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲに結合する抗原結合部位及び異なる抗原に結合するその他の抗原結合部位を含むタンパク質であってよい。したがって、いくつかの例では前記抗体二特異的抗体である。
【０２３２】
抗体結合ドメイン含有タンパク質
単一ドメイン抗体
いくつかの例では本開示の化合物は、単一ドメイン抗体（「ドメイン抗体」又は「ｄＡｂ」という用語と互換的に使用される）である又は単一ドメイン抗体を含むタンパク質である。単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変領域の全体又は一部を含む単一のポリペプチ

ド鎖である。ある特定の例では単一ドメイン抗体はヒト単一ドメイン抗体（Ｄｏｍａｎｔｉｓ社、ウォルサム、マサチューセッツ州、例えば米国特許第６２４８５１６号明細書を参照されたい）である。

【０２３３】

ディアボディ、トリアボディ、テトラボディ

いくつかの例では本開示のタンパク質はディアボディ、トリアボディ、テトラボディ、若しくは高次タンパク質複合体、例えば国際公開第９８／０４４００１号パンフレット及び／若しくは国際公開第９４／００７９２１号パンフレットに記載される高次タンパク質複合体である、又はディアボディ、トリアボディ、テトラボディ、若しくは高次タンパク質複合体を含む。

【０２３４】

単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）

当業者は、ｓｃＦｖは単一のポリペプチド鎖の中にV_H領域及びV_L領域を含み、このｓｃＦｖが抗原結合のための（すなわち、この単一のポリペプチド鎖のV_H及びV_Lが相互に結合してＦｖを形成するための）所望の構造を形成することを可能にするポリペプチドリンカーをこのV_HとV_Lとの間に含むことを理解する。例えば、このリンカーは１２アミノ酸を超える残基を含み、$(Gly_4Ser)_3$がより好ましいｓｃＦｖ向けのリンカーのうちの１つである。

【０２３５】

重鎖抗体

重鎖抗体は、軽鎖を含まずに重鎖を含む限り、他の多くの形の抗体と構造的に異なる。よって、これらの抗体は「重鎖のみ抗体」とも呼ばれる。重鎖抗体はラクダ科動物及び軟骨魚類（軟骨魚類ではＩｇＮＡＲとも呼ばれる）等に見られる。

【０２３６】

ラクダ科動物の重鎖抗体及び重鎖抗体可変領域並びにラクダ科動物の重鎖抗体及び重鎖抗体可変領域の作製方法及び／又は単離方法及び／又は使用方法の概要は、特に次の参照文献、すなわち国際公開第９４／０４６７８号パンフレット、国際公開第９７／４９８０５号パンフレット、及び国際公開第９７／４９８０５号パンフレットに見られる。

【０２３７】

軟骨魚類の重鎖抗体及び重鎖抗体可変領域並びに軟骨魚類の重鎖抗体及び重鎖抗体可変領域の作製方法及び／又は単離方法及び／又は使用方法の概要は、特に国際公開第２００５／１１８６２９号パンフレットに見られる。

【０２３８】

他の抗体及び抗体断片

本開示は、

（ｉ）米国特許第５７３１１６８号明細書に記載されるような「キー・アンド・ホール型」二特異的タンパク質、

（ｉｉ）米国特許第４６７６９８０号明細書等に記載されるようなヘテロ結合タンパク質、

（ｉｉｉ）、米国特許第４６７６９８０号明細書等に記載されるような化学架橋剤を使用して作製されたヘテロ結合タンパク質、及び

（ｉｖ）（例えば、欧州特許出願公開第１９９３０３０２８９４号明細書に記載されるような）Fab_3

などの他の抗体及び抗体断片も企図している。

【０２３９】

Ｖ様タンパク質

本開示の化合物の一例はＴ細胞受容体である。Ｔ細胞受容体は、合同して抗体のＦｖモジュールに類似した構造になる２つのＶドメインを有する。Ｎｏｖｏｔｎｙ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ８８：８６４６－８６５０，１９９１は、どのようにＴ細胞受容体の２つのＶドメイン（アルファ及びベータと呼ばれ

る）を単鎖ポリペプチドとして融合して発現させるかを説明しており、どのように疎水性を直接的に抗体ｓｃＦｖに類似する疎水性にまで低下させるために表面残基を改変するかをさらに説明している。単鎖Ｔ細胞受容体の作製又は２つのＶアルファドメイン及びＶベータドメインを備える多量体Ｔ細胞受容体の作製について説明している他の刊行物には国際公開第１９９９／０４５１１０号パンフレット又は国際公開第２０１１／１０７５９５号パンフレットが含まれる。

【０２４０】

抗原結合ドメインを含む他の非抗体タンパク質にはＶ様ドメインを含むタンパク質が挙げられ、これらのＶ様ドメイン含有タンパク質は単量体であることが一般的である。このようなＶ様ドメインを含むタンパク質の例としてはＣＴＬＡ－４、ＣＤ２８、及びＩＣＯＳが挙げられる。このようなＶ様ドメインを含むタンパク質のさらに詳しい開示が国際公開第１９９９／０４５１１０号パンフレットの中に含まれる。

【０２４１】

アドネクチン

一例では本開示の化合物はアドネクチンである。アドネクチンは、抗原結合性を持たせるためにループ領域が改変されているヒトフィブロネクチンの第１０フィブロネクチンＩＩＩ型（^{10}Ｆｎ３）ドメインに基づく。例えば、^{10}Ｆｎ３ドメインのβサンドイッチの一端にある３本のループを改変してアドネクチンが抗原を特異的に認識できるようにすることができる。さらに詳しくは、米国特許出願公開第２００８／０１３９７９１号明細書又は国際公開第２００５／０５６７６４号パンフレットを参照されたい。

【０２４２】

アンチカリン

その他の例では本開示の化合物はアンチカリンである。アンチカリンは、ステロイド、ビリン、レチノイド、及び脂質などの小疎水性分子を輸送する細胞外タンパク質のファミリーであるリポカリンに由来する。リポカリンは、抗原に結合するように改変することができる円錐構造の開放末端に複数のループを有する強固なβシート二次構造を持つ。このような改変リポカリンがアンチカリンとして知られている。アンチカリンのさらに詳しい説明については米国特許第７２５０２９７（Ｂ１）号明細書又は米国特許出願公開第２００７／０２２４６３３号明細書を参照されたい。

【０２４３】

アフィボディ

その他の例では本開示の化合物はアフィボディである。アフィボディは、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）のプロテインＡの、抗原に結合するように改変することができるＺドメイン（抗原結合ドメイン）に由来するスキャフォルドである。Ｚドメインは約５８アミノ酸の３ヘリックス束から構成される。表面残基のランダム化によりライブラリーが作成されている。さらに詳しくは、欧州特許第１６４１８１８号明細書を参照されたい。

【０２４４】

アビマー

その他の例では本開示の化合物はアビマーである。アビマーは、Ａドメインスキャフォルドファミリーに由来するマルチドメインタンパク質である。約３５アミノ酸の天然型のドメインが規定のジスルフィド結合構造を取っている。Ａドメインファミリーが示す天然型をシャッフルすることによって多様性が作られる。さらに詳しくは、国際公開第２００２／０８８１７１号パンフレットを参照されたい。

【０２４５】

ＤＡＲＰｉｎ

その他の例では本開示の化合物は人工アンキリンリピートタンパク質（ＤＡＲＰｉｎ）である。ＤＡＲＰｉｎは、膜内タンパク質の細胞骨格への結合に介在するタンパク質ファミリーであるアンキリンに由来する。単一のアンキリンリピートは、２つのαヘリックスと１つのβターンから構成される３３残基モチーフである。ＤＡＲＰｉｎは、各リピート

の１つ目のαヘリックスとβターンの中の残基を無作為に変えることによって様々な標的抗原に結合するように改変され得る。ＤＡＲＰｉｎの結合接触面は、モジュール数を増加させること（親和性成熟の方法）によって増大可能である。さらに詳しくは、米国特許出願公開第２００４／０１３２０２８号明細書を参照されたい。

【０２４６】

可溶性Ｇ－ＣＳＦＲ

本開示は、Ｇ－ＣＳＦとの相互作用について天然の膜結合Ｇ－ＣＳＦＲと競合する可溶型Ｇ－ＣＳＦＲも企図している。当業者は可溶型の前記受容体を容易に調製することができ、例えば米国特許第５５８９４５６号明細書及びＨｏｎｊｏ ｅｔ ａｌ， Ａｃｔａ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈ Ｓｅｃｔ Ｆ Ｓｔｒｕｃｔ Ｂｉｏｌ Ｃｒｙｓｔ Ｃｏｍｍｕｎ． ６１（Ｐｔ ８）：７８８－７９０， ２００５を参照されたい。

【０２４７】

脱免疫化タンパク質

本開示は、脱免疫化抗体又は脱免疫化タンパク質も企図している。脱免疫化抗体及び脱免疫化タンパク質は、哺乳類動物においてこの脱免疫化抗体又は脱免疫化タンパク質に対する免疫応答が生じる可能性が低下するように１つ以上のエピトープ、例えばＢ細胞エピトープ又はＴ細胞エピトープを除去させている（すなわち、１つ以上のエピトープに変移を入れさせている）。脱免疫化抗体及び脱免疫化タンパク質を作製するための方法は、当技術分野において知られており、例えば、国際公開第２０００／３４３１７号パンフレット、国際公開第２００４／１０８１５８号パンフレット及び国際公開第２００４／０６４７２４号パンフレットに記載されている。

【０２４８】

当業者は、適切な突然変異を導入するための方法及びそれにより生じるタンパク質を発現するための方法及びこのタンパク質をアッセイするための方法を本明細書中の説明に基づいて認識することになる。

【０２４９】

タンパク質に対する突然変異

本開示は、変異体型の本開示のタンパク質も企図している。例えば、このような変異体タンパク質は、本明細書において示される配列と比較して１つ以上の保存的アミノ酸置換を含む。いくつかの例では前記タンパク質は、３０以下の、又は２０以下の、又は１０以下の、例えば９つ、又は８つ、又は７つ、又は６つ、又は５つ、又は４つ、又は３つ、又は２つの保存的アミノ酸置換を含む。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の側鎖及び／又は疎水性親水性及び／又は親水性を有するアミノ酸残基で置き換えられるアミノ酸置換である。

【０２５０】

一例では変異体タンパク質は、天然型タンパク質と比較するとたった１つ若しくは１つ以下、たった２つ若しくは２つ以下、たった３つ若しくは３つ以下、たった４つ若しくは４つ以下、たった５つ若しくは５つ以下、又はたった６つ若しくは６つ以下の保存的アミノ酸変化を有する。保存的アミノ酸変化の詳細を以下に提示する。当業者が例えば本明細書中の開示から理解するように、このようなわずかな変化は前記タンパク質の活性を変化させないことが合理的に予測可能である。

【０２５１】

類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーが当技術分野において定義されており、それらの側鎖には塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、β分岐側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）及び芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が含まれる。

【０２５２】
本開示は、本開示のタンパク質中、例えばＣＤＲ３などのＣＤＲ中での非保存的アミノ酸変化（例えば、置換）も企図している。例えば、本発明者らは、本開示のタンパク質の活性を保持しつつ実施可能ないくつかの非保存的アミノ酸置換を特定している。一例では前記タンパク質は、例えばＣＤＲ３などのＣＤＲ３の中に６より少ない数、又は５より少ない数、又は４より少ない数、又は３より少ない数、又は２より少ない数、又は１より少ない数の非保存的アミノ酸置換を含む。
【０２５３】
本開示は、本明細書において示される配列と比較して１つ以上の挿入又は欠失も企図している。いくつかの例では前記タンパク質は１０以下、例えば９つ、又は８つ、又は７つ、又は６つ、又は５つ、又は４つ、又は３つ、又は２つの挿入及び／若しくは欠失を含む。
【０２５４】
定常領域
本開示は、抗体定常領域を含む本明細書に記載されるタンパク質及び／又は抗体を包含する。このタンパク質及び／又は抗体は、Ｆｃに融合した抗体の抗原結合断片を含む。
【０２５５】
本開示の前記タンパク質の作製に有用な定常領域の配列は、多数の異なる起源から得られる場合がある。いくつかの例では前記タンパク質の定常領域又は定常領域の部分は、ヒト抗体に由来する。この定常領域又は定常領域の部分は、ＩｇＭ、ＩｇＧ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、及びＩｇＥを含むあらゆる抗体クラス、並びにＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４を含むあらゆる抗体アイソタイプに由来してよい。一例ではこの定常領域はヒトアイソタイプＩｇＧ４定常領域又は安定化ＩｇＧ４定常領域である。
【０２５６】
一例ではこの定常領域のＦｃ領域は、例えば天然型又は野生型のヒトＩｇＧ１　Ｆｃ領域又はヒトＩｇＧ３　Ｆｃ領域と比較して低いエフェクター機能誘導能を有する。一例ではこのエフェクター機能は、抗体依存性細胞介在性細胞傷害（ＡＤＣＣ）及び／又は抗体依存性細胞介在性貪食（ＡＤＣＰ）及び／又は補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）である。Ｆｃ領域含有タンパク質のエフェクター機能レベルを評価するための方法は、当技術分野において知られている及び／又は本明細書に記載されている。
【０２５７】
一例では前記Ｆｃ領域はＩｇＧ４　Ｆｃ領域（すなわち、ＩｇＧ４定常領域に由来）、例えばヒトＩｇＧ４　Ｆｃ領域である。適切なＩｇＧ４　Ｆｃ領域の配列は、当業者に明らかになり及び／又は公開データベース中で利用可能（例えば、米国国立生物工学情報センターから入手可能）である。
【０２５８】
一例では前記定常領域は安定化ＩｇＧ４定常領域である。「安定化ＩｇＧ４定常領域」という用語は、Ｆａｂアーム交換又はＦａｂアーム交換の行いやすさ又は半抗体の形成又は半抗体の形成しやすさを抑制するように改変されているＩｇＧ４定常領域を意味するものと理解される。「Ｆａｂアーム交換」は一種のヒトＩｇＧ４のタンパク質修飾を指し、Ｆａｂアーム交換では重鎖軽鎖対についてＩｇＧ４重鎖及び結合した軽鎖（半分子）が別のＩｇＧ４分子と交換されている。したがって、ＩｇＧ４分子は、２つの別個の抗原を認識する２つの別個のＦａｂアームを獲得する場合がある（結果として二特異的分子が生ずる場合がある）。Ｆａｂアーム交換はインビボでは自然に起こり、インビトロでは精製済み血液細胞によって又は還元型グルタチオンなどの還元剤によって誘導され得る。「半抗体」は、ＩｇＧ４抗体が解離してそれぞれ単一の重鎖と単一の軽鎖を含む２つの分子を形成するときに生じる。
【０２５９】
一例では安定化ＩｇＧ４定常領域は、Ｋａｂａｔシステム（Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ

Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、米国、ワシントンＤＣ、米国保険福祉省、１９８７年及び／又は１９９１年）によるヒンジ領域の位置２４１にプロリンを含む。この位置は、ＥＵ付番システム（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、米国、ワシントンＤＣ、米国保険福祉省、２００１年、及びＥｄｅｌｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．ＵＳＡ，６３，７８－８５，１９６９）によるヒンジ領域の位置２２８に相当する。ヒトＩｇＧ４ではこの残基は概ねセリンである。プロリンに代えてセリンを置換した後にこのＩｇＧ４ヒンジ領域は配列ＣＰＰＣを備える。この点に関し、当業者は、「ヒンジ領域」がＦｃ領域及びＦａｂ領域を連結し、抗体の２本のＦａｂアームに可動性を与える抗体重鎖定常領域の高プロリン部分であることを理解する。このヒンジ領域は、重鎖間ジスルフィド結合に関与するシステイン残基を含む。このヒンジ領域は、Ｋａｂａｔの付番システムによるヒトＩｇＧ１のＧｌｕ２２６からＰｒｏ２４３までの伸長部分として規定されることが一般的である。他のＩｇＧアイソタイプのヒンジ領域は、重鎖間ジスルフィド（Ｓ－Ｓ）結合を形成する最初と最後のシステイン残基を同じ位置に配置することによってＩｇＧ１配列と整合する場合がある（例えば、国際公開第２０１０／０８０５３８号パンフレットを参照されたい）。

【０２６０】

安定化ＩｇＧ４抗体の追加の例は、ヒトＩｇＧ４の重鎖定常領域中の（ＥＵ付番システムによる）位置４０９にあるアルギニンが（例えば、国際公開第２００６／０３３３８６号パンフレットに記載されるように）リシン、トレオニン、メチオニン、又はロイシンで置換されている抗体である。前記定常領域のＦｃ領域は、アラニン、バリン、グリシン、イソロイシン、及びロイシンからなる群より選択される残基を（ＥＵ付番システムによる）４０５に対応する位置に追加として又は代わりに含んでよい。所望により、このヒンジ領域は、（上記のように）位置２４１にプロリンを含む（すなわち、ＣＰＰＣ配列）。

【０２６１】

別の例では前記Ｆｃ領域は、低下したエフェクター機能を有するように改変された領域、すなわち、「非免疫刺激Ｆｃ領域」である。例えば、前記Ｆｃ領域は、位置２６８、位置３０９、位置３３０、及び位置３３１からなる群より選択される１つ以上の位置に置換を含むＩｇＧ１　Ｆｃ領域である。別の例では前記Ｆｃ領域は、以下のＥ２３３Ｐ変化、Ｌ２３４Ｖ変化、Ｌ２３５Ａ変化、及びＧ２３６の欠失のうちの１つ以上、並びに／又は以下のＡ３２７Ｇ変化、Ａ３３０Ｓ変化、及びＰ３３１Ｓ変化のうちの１つ以上を含むＩｇＧ１　Ｆｃ領域である（Ａｒｍｏｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２９：２６１３－２６２４，１９９９、Ｓｈｉｅｌｄｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ．２７６（９）：６５９１－６０４，２００１）。非免疫刺激Ｆｃ領域の追加の例は、例えば、Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７７：１１２９－１１３８　２００６、及び／又はＨｅｚａｒｅｈ Ｊ Ｖｉｒｏｌ；７５：１２１６１－１２１６８，２００１）に記載されている。

【０２６２】

別の例では前記Ｆｃ領域は、例えばＩｇＧ４抗体由来の少なくとも１つのC_H2ドメイン及びＩｇＧ１抗体由来の少なくとも１つのC_H3ドメインを含むキメラＦｃ領域であり、このＦｃ領域は、（例えば、国際公開第２０１０／０８５６８２号パンフレットに記載されるように）位置２４０、位置２６２、位置２６４、位置２６６、位置２９７、位置２９９、位置３０７、位置３０９、位置３２３、位置３９９、位置４０９、及び位置４２７（ＥＵ付番）からなる群より選択される１つ以上のアミノ酸位置に置換を含む。例となる置換には２４０Ｆ、２６２Ｌ、２６４Ｔ、２６６Ｆ、２９７Ｑ、２９９Ａ、２９９Ｋ、３０７Ｐ、３０９Ｋ、３０９Ｍ、３０９Ｐ、３２３Ｆ、３９９Ｓ、及び４２７Ｆが挙げられる。

【０２６３】

その他の改変

本開示は、本開示の抗体又はタンパク質に対するその他の改変も企図している。

【０２６４】
例えば、前記抗体は、前記タンパク質の半減期を増加させる１か所以上のアミノ酸置換を含む。例えば、前記抗体は、新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）へのＦｃ領域の親和性を高める１か所以上のアミノ酸置換を含むそのＦｃ領域を含む。例えば、前記Ｆｃ領域は、エンドソーム内でのＦｃ／ＦｃＲｎ結合を促進するために低めのｐＨ、例えば約ｐＨ６．０でＦｃＲｎに対して上昇した親和性を有する。一例では前記Ｆｃ領域は、約ｐＨ７．４における親和性と比較して上昇したＦｃＲｎに対する親和性を約ｐＨ６において有し、この親和性が細胞再循環後のＦｃの血液中への再放出を容易にする。これらのアミノ酸置換は、血液からのクリアランスの低下によるタンパク質半減期の延長に有用である。
【０２６５】
例となるアミノ酸置換にはＥＵ付番システムによるＴ２５０Ｑ及び／又はＭ４２８Ｌ又はＴ２５２Ａ、Ｔ２５４Ｓ及びＴ２６６Ｆ又はＭ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ及びＴ２５６Ｅ又はＨ４３３Ｋ及びＮ４３４Ｆが挙げられる。追加又は代わりのアミノ酸置換が、例えば、米国特許出願公開第２００７／０１３５６２０号明細書又は米国特許第７０８３７８４号明細書に記載されている。
【０２６６】
前記タンパク質は融合タンパク質であり得る。したがって、一例では前記タンパク質はアルブミン、アルブミンの機能性断片、又はアルブミンの変異体を追加に含む。一例ではこのアルブミン、アルブミンの機能性断片、又はアルブミンの変異体は、ヒト血清アルブミンなどの血清アルブミンである。一例ではこのアルブミン、アルブミンの機能性断片、又はアルブミンの変異体は、１つ以上のアミノ酸の置換、欠失、又は挿入を含み、例えば５つを超えない、又は４つを超えない、又は３つを超えない、又は２つを超えない、又は１つを超えない置換を含む。本開示での使用に適切なアミノ酸置換は当業者に明らかになり、そのようなアミノ酸置換には天然置換、並びに国際公開第２０１１／０５１４８９号パンフレット、国際公開第２０１４／０７２４８１号パンフレット、国際公開第２０１１／１０３０７６号パンフレット、国際公開第２０１２／１１２１８８号パンフレット、国際公開第２０１３／０７５０６６号パンフレット、国際公開第２０１５／０６３６１１号パンフレット、及び国際公開第２０１４／１７９６５７号パンフレット等に記載される置換などの人工置換が含まれる。
【０２６７】
一例では本開示の前記タンパク質は可溶性補体受容体又は可溶性補体受容体の機能性断片若しくは変異体を追加に含む。一例では前記タンパク質は補体インヒビターを追加に含む。
【０２６８】
タンパク質生産
一例ではいずれかの例に従う本明細書に記載されるタンパク質は、前記タンパク質を生産するために充分な条件、例えば本明細書に記載されるような条件及び／又は当技術分野において知られているような条件の下でハイブリドーマを培養することにより生産される。
【０２６９】
組換え発現
別の例ではいずれかの例に従う本明細書に記載されるタンパク質は組換え体である。
【０２７０】
組換えタンパク質の場合では同組換えタンパク質をコードする核酸を発現コンストラクト又は発現ベクターにクローン化することができ、形質導入されなければそのタンパク質を生産することがない宿主細胞、例えば大腸菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞、又はサルＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ヒト胚性腎臓（ＨＥＫ）細胞、若しくは骨髄腫細胞などの哺乳類細胞の中にその発現コンストラクト又は発現ベクターが後に形質導入される。タンパク質の発現に使用される例となる細胞はＣＨＯ細胞、骨髄腫細胞、又はＨＥＫ細胞である。これらの目的を達成するための分子クローニング技術は、当

技術分野において知られており、例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら（編），Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂ．Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ－Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ（１９８８年、現在までの全てのアップデートを含む）又はＳａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ（１９８９）に記載されている。多種多様なクローニング方法及びインビトロ増幅方法が組換え核酸の構築に適切である。組換え抗体を作製する方法も当技術分野において知られており、例えば、米国特許第４８１６５６７号明細書又は米国特許第５５３０１０１号明細書を参照されたい。

【０２７１】

単離した後に前記核酸は、さらにクローニングする（このＤＮＡを増幅する）ために又は無細胞システム中若しくは細胞中での発現のために発現コンストラクト又は発現ベクター中のプロモーターに機能可能であるように連結させて挿入される。

【０２７２】

本明細書において使用される場合、「プロモーター」という用語はこの用語の最も広い文脈の中で受け取られるべきであり、この用語には、核酸の発現を例えば発生刺激及び／若しくは外部刺激に応答して又は組織特異的に変化させる追加の調節配列（例えば、上流活性化配列、転写因子結合部位、エンハンサー、及びサイレンサー）と共に又はこれらの追加の調節配列を伴わずに正確な転写開始に必要な、ＴＡＴＡボックス又は開始配列を含むゲノム遺伝子の転写調節配列が含まれる。本背景において、「プロモーター」という用語は、そのプロモーターが機能可能であるように連結している核酸を発現させる、その核酸の発現を活性化する、又はその核酸の発現を増強する組換え核酸、合成核酸、若しくは融合核酸、又は誘導体を説明するためにも使用される。例となるプロモーターは、発現をさらに増強するため並びに／又は前記核酸の空間的発現及び／若しくは時間的発現を変化させるための１つ以上の特異的な調節配列のうちの追加のコピーを含み得る。

【０２７３】

本明細書において使用される場合、「機能可能であるように連結している」という用語は、核酸の発現がプロモーターによって制御されるようにそのプロモーターをその核酸に対して配置することを意味する。

【０２７４】

細胞内での発現のための多くのベクターが利用可能である。ベクター成分には一般的に以下のシグナル配列、（例えば、本明細書において提供される情報から導出された）タンパク質をコードする配列、エンハンサー配列、プロモーター、及び転写終結配列のうちの１つ以上が含まれるがこれらに限定されない。当業者は、タンパク質の発現のための適切な配列を理解する。例となるシグナル配列には原核生物分泌シグナル（例えば、ｐｅｌＢ、アルカリホスファターゼ、ペニシリナーゼ、Ｉｐｐ、又は耐熱性エンテロトキシンＩＩ）、酵母分泌シグナル（例えば、インベルターゼリーダー、α因子リーダー、又は酸ホスファターゼリーダー）又は哺乳類分泌シグナル（例えば、ヘルペスシンプレックスｇＤシグナル）が挙げられる。

【０２７５】

哺乳類細胞において活性のある例となるプロモーターにはサイトメガロウイルス最初期プロモーター（ＣＭＶ－ＩＥ）、ヒト伸長因子１－αプロモーター（ＥＦ１）、核内低分子ＲＮＡプロモーター（Ｕ１ａ及びＵ１ｂ）、α－ミオシン重鎖プロモーター、サルウイルス４０プロモーター（ＳＶ４０）、ラウス肉腫ウイルスプロモーター（ＲＳＶ）、アデノウイルス主要後期プロモーター、β－アクチンプロモーター、ＣＭＶエンハンサー／β－アクチンプロモーター又は免疫グロブリンプロモーター又はそのプロモーターの活性断片を備えるハイブリッド調節配列が挙げられる。有用な哺乳類宿主細胞株の例はＳＶ４０で形質転換されたサル腎臓ＣＶ１株（ＣＯＳ－７、ＡＴＣＣ ＣＲＬ１６５１）、ヒト胚性腎臓株（２９３細胞又は懸濁培養での増殖のためにサブクローニングされた２９３細胞

）、ベイビーハムスター腎臓細胞（ＢＨＫ、ＡＴＣＣ　ＣＣＬ１０）、又はチャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ）である。

【０２７６】

酵母細胞、例えばピキア・パストリス（Ｐｉｃｈｉａ　ｐａｓｔｏｒｉｓ）、出芽酵母（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）、及び分裂酵母（Ｓ．　ｐｏｍｂｅ）を含む群から選択される酵母細胞での発現に適切な典型的なプロモーターには、ＡＤＨ１プロモーター、ＧＡＬ１プロモーター、ＧＡＬ４プロモーター、ＣＵＰ１プロモーター、ＰＨＯ５プロモーター、ｎｍｔプロモーター、ＲＰＲ１プロモーター、又はＴＥＦ１プロモーターが含まれるがこれらに限定されない。

【０２７７】

単離核酸又は同単離核酸を含む発現コンストラクトを発現用の細胞に導入するための手段は、当業者に知られている。所与の細胞に使用される技法は、公知の成功した技法に依存する。組換えＤＮＡを細胞に導入するための手段には、何よりも、マイクロインジェクション、ＤＥＡＥデキストラン介在性形質移入、リポフェクタミン（Ｇｉｂｃｏ社、メリーランド州、米国）及び／又はセルフェクチン（Ｇｉｂｃｏ社、メリーランド州、米国）等の使用によるリポソーム介在性形質移入、ＰＥＧ介在性ＤＮＡ取込み、電気穿孔法、並びにＤＮＡ被覆タングステン粒子又はＤＮＡ被覆金粒子（Ａｇｒａｃｅｔｕｓ社、ウィスコンシン州、米国）等の使用による微粒子ボンバードメントが挙げられる。

【０２７８】

前記タンパク質を生産するために使用される前記宿主細胞は、使用する細胞の種類に応じて様々な培地の中で培養され得る。ＨａｍのＦ１０（Ｓｉｇｍａ社）、最小基本培地（ＭＥＭ、Ｓｉｇｍａ社）、ＲＰＭＩ－１６４０（Ｓｉｇｍａ社）、及びダルベッコ改変イーグル培地（ＤＭＥＭ、Ｓｉｇｍａ社）などの市販の培地が哺乳類細胞の培養に適切である。本明細書において考察される他の細胞種を培養するための培地が当技術分野において知られている。

【０２７９】

タンパク質の単離

タンパク質を単離するための方法は、当技術分野において知られている及び／又は本明細書に記載されている。

【０２８０】

タンパク質が培地中に分泌される場合、このような発現系に由来する上清は、最初に市販のタンパク質濃縮フィルター、例えばＡｍｉｃｏｎ又はＭｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ｐｅｌｌｉｃｏｎ限外濾過ユニットを使用して濃縮され得る。タンパク質分解を阻害するために前工程のいずれにおいてもＰＭＳＦなどのプロテアーゼ阻害剤が含まれてもよく、偶発的な混入汚染菌の増殖を防止するために抗生物質が含まれてもよい。あるいは、又は加えて、上清は、例えば連続遠心分離を用いて前記タンパク質を発現する細胞から濾過及び／又は分離され得る。

【０２８１】

前記細胞から調製される前記タンパク質は、例えば、イオン交換、ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、親和性クロマトグラフィー（例えば、プロテインＡ親和性クロマトグラフィー又はプロテインＧクロマトグラフィー）、又は前記手段のあらゆる組合せを用いて精製され得る。これらの方法は、当技術分野において知られており、例えば、国際公開第１９９９／５７１３４号パンフレット又はＥｄ　Ｈａｒｌｏｗ　ａｎｄ　Ｄａｖｉｄ　Ｌａｎｅ（編）、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：　Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ（１９８８）に記載されている。

【０２８２】

当業者は、タンパク質が精製又は検出を容易にするためのタグ、例えばポリヒスチジンタグ、例えばヘキサヒスチジンタグ、又はインフルエンザウイルスヘマグルチニン（ＨＡ）タグ、又はサルウイルス５（Ｖ５）タグ、又はＦＬＡＧタグ、又はグルタチオンＳ－ト

ランスフェラーゼ（ＧＳＴ）タグを含むように改変され得ることも理解する。それにより生じるタンパク質は、後に親和性精製などの当技術分野において知られている方法を用いて精製される。例えば、ヘキサヒスチジンタグを含むタンパク質は、ヘキサヒスチジンタグに対して特異的に結合する固形担体又は半固形担体に固定化されたニトリロ三酢酸ニッケル（Ｎｉ－ＮＴＡ）と前記タンパク質を含む試料を接触させ、この試料を洗浄して結合しなかったタンパク質を除去し、その後に結合したタンパク質を溶出することによって精製される。あるいは、又は加えて、タグに結合するリガンド又は抗体が親和性精製方法において使用される。

【０２８３】

核酸ベースのＧ－ＣＳＦシグナル伝達阻害剤

本開示の一例では本開示のいずれかの例に従う本明細書に記載される治療方法及び／又は予防方法は、Ｇ－ＣＳＦ及び／又はＧ－ＣＳＦＲの発現を低下させることを伴う。例えば、このような方法は、Ｇ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲをコードする核酸の転写及び／又は翻訳を抑制する化合物を投与することを伴う。一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物はアンチセンスポリヌクレオチド、リボザイム、ＰＮＡ、干渉ＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、マイクロＲＮＡ等の核酸である。

【０２８４】

別の例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害するタンパク質化合物（例えば、抗体又は抗体の抗原結合断片）をコードする核酸である。

【０２８５】

アンチセンス核酸

「アンチセンス核酸」という用語は、本開示のいずれかの例の本明細書に記載されるようなポリペプチドをコードする特定のｍＲＮＡ分子の少なくとも一部に対して相補的であり、且つ、ｍＲＮＡの翻訳などの転写後の事象に干渉することができるＤＮＡ又はＲＮＡ又はその誘導体（例えば、ＬＮＡ若しくはＰＮＡ），又はそれらの組合せを意味すると理解されるものとする。アンチセンス法の使用は、当技術分野において知られている（例えば、Ｈａｒｔｍａｎｎ ａｎｄ Ｅｎｄｒｅｓ（編）、Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｍｅｔｈｏｄｏｌｏｇｙ，Ｋｌｕｗｅｒ （１９９９）を参照されたい）。

【０２８６】

本開示のアンチセンス核酸は、生理学的条件下で標的核酸にハイブリダイズすることになる。アンチセンス核酸には構造遺伝子若しくはコード領域に対応する配列又は遺伝子発現若しくはスプライシングに対する制御を成立させる配列に対応する配列が含まれる。例えば、このアンチセンス核酸は、Ｇ－ＣＳＦ若しくはＧ－ＣＳＦＲをコードする核酸の標的とされるコード領域、又は５’非翻訳領域（ＵＴＲ）、又は３’ＵＴＲ、又はこれらの領域の組合せに対応する場合がある。このアンチセンス核酸は、転写中又は転写後にスプライシングで切り出されることがあるイントロン配列に対して部分的に相補的であり、例えばこの標的遺伝子のエクソン配列にのみ相補的である場合がある。このアンチセンス配列の長さは、Ｇ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲをコードする核酸の少なくとも１９連続ヌクレオチド、例えば少なくとも５０ヌクレオチド、例えば少なくとも１００ヌクレオチド、少なくとも２００ヌクレオチド、少なくとも５００ヌクレオチド、又は少なくとも１０００ヌクレオチドであるほうがよい。遺伝子転写物全体に対して相補的な全長配列が使用されてもよい。その長さは１００ヌクレオチド～２０００ヌクレオチドであり得る。前記標的転写物に対する前記アンチセンス配列の一致度は、少なくとも９０％、例えば、９５～１００％であるほうがよい。

【０２８７】

Ｇ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲに対する例となるアンチセンス核酸は、例えば、国際公開第２０１１／０３２２０４号パンフレットに記載されている。

【０２８８】

触媒性核酸

「触媒性核酸」という用語は、ある特定の基質を特異的に認識し、この基質の化学的修飾を触媒するＤＮＡ分子若しくはＤＮＡ含有分子（「デオキシリボザイム」又は「ＤＮＡｚｙｍｅ」としても当技術分野において知られる）又はＲＮＡ若しくはＲＮＡ含有分子（「リボザイム」又は「ＲＮＡｚｙｍｅ」としても知られる）を指す。この触媒性核酸中の核酸塩基は塩基Ａ、Ｃ、Ｇ、Ｔ（及びＲＮＡにはＵ）であり得る。

【０２８９】

前記触媒性核酸は、標的核酸の特異的な認識に適したアンチセンス配列及び核酸切断酵素活性（本明細書では「触媒ドメイン」とも呼ばれる）を含むことが典型的である。本開示において有用なリボザイムの種類はハンマーヘッド型リボザイム及びヘアピン型リボザイムである。

【０２９０】

ＲＮＡ干渉

ＲＮＡ干渉（ＲＮＡｉ）は、特定のタンパク質の生産の特異的阻害に有用である。理論によって限定されるものではないが、この技術は、目的の前記遺伝子のｍＲＮＡ又はそのｍＲＮＡの部分と基本的に同一である配列を含有するｄｓＲＮＡ分子の存在に依存しており、本事例ではＧ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲをコードするｍＲＮＡ又はそのｍＲＮＡの部分と基本的に同一である配列を含有するｄｓＲＮＡ分子の存在に依存している。都合の良いことに、このｄｓＲＮＡは、組換えベクター宿主細胞中において単一のプロモーターから産生可能であり、その場合にセンス配列とアンチセンス配列の脇に無関係の配列が配置され、この無関係の配列によってこのセンス配列とアンチセンス配列がハイブリダイズして前記ｄｓＲＮＡ分子を形成することが可能になり、この無関係の配列はループ構造を形成する。本開示に適切なｄｓＲＮＡ分子の設計と作製は、具体的に国際公開第９９／３２６１９号パンフレット、国際公開第９９／５３０５０号パンフレット、国際公開第９９／４９０２９号パンフレット、及び国際公開第０１／３４８１５号パンフレットを考慮すると充分に当業者の能力の範囲内にある。ＲＮＡｉ用のこのようなｄｓＲＮＡ分子には短鎖ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）及び二機能性ｓｈＲＮＡが含まれるがこれらに限定されない。

【０２９１】

ハイブリダイズする前記センス配列及びアンチセンス配列の長さは、それぞれ少なくとも１９連続ヌクレオチド、例えば少なくとも３０ヌクレオチド又は５０ヌクレオチド、例えば少なくとも１００ヌクレオチド、少なくとも２００ヌクレオチド、少なくとも５００ヌクレオチド、又は少なくとも１０００ヌクレオチドであるほうがよい。遺伝子転写物全体に対応する全長配列が使用されてもよい。その長さは１００ヌクレオチド～２０００ヌクレオチドであり得る。前記標的転写物に対する前記センス配列及びアンチセンス配列の一致度は、少なくとも８５％、例えば少なくとも９０％、例えば９５～１００％であるほうがよい。

【０２９２】

例となる低分子干渉ＲＮＡ（「ｓｉＲＮＡ」）分子は、前記標的ｍＲＮＡの約１９～２１連続ヌクレオチドと同一であるヌクレオチド配列を備える。例えば、前記ｓｉＲＮＡ配列は、ジヌクレオチドＡＡで始まり、約３０～７０％（例えば、３０～６０％、例えば、４０～６０％、例えば約４５％～５５％）のＧＣ含量を有し、且つ、標準的なＢＬＡＳＴ検索等で測定すると、前記ｓｉＲＮＡ配列が導入される哺乳類動物のゲノム中の前記標的以外のどのヌクレオチド配列とも高いパーセンテージの同一性を有しない。

【０２９３】

アプタマー

別の例では化合物は核酸アプタマー（適合可能オリゴマー）である。アプタマーは、タンパク質又は小分子などの特定の標的分子、例えばＧ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲに結合する能力を付与する二次構造及び／又は三次構造を形成することができる一本鎖オリゴヌクレオチド又はオリゴヌクレオチド類似体である。したがって、アプタマーは抗体に類似するオリゴヌクレオチドである。一般に、アプタマーは約１５ヌクレオチド～約１００ヌク

レオチド、例えば約１５ヌクレオチド～約４０ヌクレオチド、例えば約２０ヌクレオチド～約４０ヌクレオチドを含み、これはこれらの範囲内にある長さのオリゴヌクレオチドは従来法によって調製可能であるからである。

【０２９４】

アプタマーは、アプタマーライブラリーから単離又は特定され得る。アプタマーライブラリーは、ランダムオリゴヌクレオチドをベクターに（又はＲＮＡアプタマーの場合では発現ベクターに）クローニングすることにより作成され、ＰＣＲプライマーの結合部位となる既知配列をこのランダム配列の脇に配置する。前記所望の生物活性を付与するアプタマー（例えば、Ｇ－ＣＳＦ又はＧ－ＣＳＦＲに対して特異的に結合するアプタマー）が選択される。活性が上昇したアプタマーは、例えば、ＳＥＬＥＸ（指数関数的濃縮によるリガンドの系統的進化）法を用いて選択される。アプタマーライブラリーの作成及び／又はスクリーニングに適切な方法は、例えば、Ｅｌｌｏｉｎｇｔｏｎ ａｎｄ Ｓｚｏｓｔａｋ，Ｎａｔｕｒｅ ３４６：８１８‐２２，１９９０、米国特許第５２７０１６３号明細書、及び／又は米国特許第５４７５０９６号明細書に記載されている。

【０２９５】

化合物の活性のアッセイ

ＧＣＳＦＲ及びＧＣＳＦＲの変異体に対する結合

当業者は、本開示のいくつかの化合物がＧ－ＣＳＦＲのリガンド結合ドメイン及び特定の変異体型のｈＧ－ＣＳＦＲのリガンド結合ドメイン（例えば、特定の点突然変異を有しない又は有する配列番号１）に結合し、並びに／又はヒト及びカニクイザルの両方のＧ－ＣＳＦＲに結合することを本明細書中の開示から理解することになる。タンパク質への結合を評価するための方法は、例えばＳｃｏｐｅｓの著作（Ｐｒｏｔｅｉｎ ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ：ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ ｐｒａｃｔｉｃｅ、第３版、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ、１９９４年内）に記載されているように、当技術分野において知られている。このような方法は、前記タンパク質を標識すること、及び固定化された化合物と前記タンパク質を接触させることを伴うことが一般的である。非特異的に結合したタンパク質を除去するために洗浄した後に標識の量、及び結果として結合したタンパク質の量が検出される。当然、前記タンパク質を固定化し、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物を標識する場合も可能である。パンニング型のアッセイも使用可能である。あるいは、又は加えて、表面プラズモン共鳴アッセイが使用可能である。

【０２９６】

上記のアッセイは、ｈＧ－ＣＳＦＲ又はｈＧ－ＣＳＦＲのリガンド結合ドメイン（例えば、配列番号１）又は変異体型のｈＧ－ＣＳＦＲに対する化合物の結合レベルを検出するためにも使用可能である。

【０２９７】

一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置１６７のリシンについてアラニンが置換されており、及び／又は配列番号１の位置１６８のヒスチジンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１に結合するのと実質的に同じレベル（例えば、１０％以内、又は５％以内、又は１％以内）で結合する。

【０２９８】

一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置２８７のアルギニンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも少なくとも約１００倍、又は少なくとも約１５０倍、又は少なくとも約１６０倍、又は少なくとも約２００倍低いレベルで結合する。一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置２８７のアルギニンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも少なくとも約１６０倍低いレベルで結合する。

【０２９９】

一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置２３７のヒスチジンについてアラニ

ンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも少なくとも約２０倍、又は少なくとも約４０倍、又は少なくとも約５０倍、又は少なくとも約６０倍低いレベルで結合する。一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置２３７のヒスチジンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも少なくとも約５０倍低いレベルで結合する。

【０３００】

一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置１９８のメチオニンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも少なくとも約２０倍、又は少なくとも約４０倍、又は少なくとも約６０倍、又は少なくとも約７０倍低いレベルで結合する。一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置１９８のメチオニンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも少なくとも約４０倍低いレベルで結合する。

【０３０１】

一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置１７２のチロシンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも少なくとも約２０倍、又は少なくとも約３０倍、又は少なくとも約４０倍低いレベルで結合する。一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置１７２のチロシンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも少なくとも約４０倍低いレベルで結合する。

【０３０２】

一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置１７１のロイシンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも少なくとも約１００倍、又は少なくとも約１２０倍、又は少なくとも約１３０倍、又は少なくとも約１４０倍低いレベルで結合する。一例では本開示のタンパク質は、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも配列番号１の位置１７１のロイシンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、少なくとも約１４０倍低いレベルで結合する。

【０３０３】

一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置１１１のロイシンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも少なくとも約２０倍、又は少なくとも約４０倍、又は少なくとも約６０倍、又は少なくとも約７０倍低いレベルで結合する。一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置１１１のロイシンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも少なくとも約６０倍低いレベルで結合する。

【０３０４】

一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置１６８のヒスチジンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも５倍以下、又は４倍以下、又は３倍以下、又は２倍以下、又は１倍以下低いレベルで結合する。

【０３０５】

一例では本開示のタンパク質は、配列番号１の位置１６７のリシンについてアラニンが置換されている配列番号１のポリペプチドに対し、そのタンパク質が配列番号１のポリペプチドに結合するときよりも５倍以下、又は４倍以下、又は３倍以下、又は２倍以下、又は１倍以下低いレベルで結合する。

【０３０６】

前記結合レベルは、バイオセンサを用いて便利に決定される。

【０３０７】
本開示は、前述の特徴のあらゆる組合せを企図している。一例では本明細書に記載されるタンパク質は、先行する７段落の中で記載されている結合特性の全てを有している。
【０３０８】
エピトープマッピング
別の例では本明細書に記載されるタンパク質が結合する前記エピトープがマップされる。当業者はエピトープマッピング法を認識することになる。例えば、目的のエピトープ、例えば１０～１５アミノ酸を含むペプチドを含むｈＧ－ＣＳＦＲ配列又はｈＧ－ＣＳＦＲ配列の領域に及び一連の重複ペプチドが作製される。その後、前記タンパク質を各ペプチドに接触させ、前記タンパク質が結合するペプチドが決定される。これにより、前記タンパク質が結合する前記エピトープを含むペプチドが決定される。前記タンパク質が複数の非連続ペプチドに結合する場合、前記タンパク質は立体構造エピトープに結合し得る。
【０３０９】
あるいは、又は加えて、アラニンスキャニング突然変異形成等によってｈＧ－ＣＳＦＲ内のアミノ酸残基に変異を形成し、タンパク質結合を抑制又は阻止する突然変異が決定される。前記タンパク質の結合を抑制又は阻止するどの突然変異も前記タンパク質が結合するエピトープの内部にある可能性がある。
【０３１０】
その他の方法が本明細書において例示され、その方法は、ｈＧ－ＣＳＦＲ又はｈＧ－ＣＳＦＲの領域を本開示の固定化タンパク質に結合させること、及びそれにより生じる複合体をプロテアーゼで消化することを伴う。その後、その固定化タンパク質に結合したままであるペプチドが単離され、そしてマススペクトロメトリー等を用いて分析してそれらのペプチドの配列が決定される。
【０３１１】
その他の方法は、ｈＧ－ＣＳＦＲ又はｈＧ－ＣＳＦＲの領域の中の水素を重陽子に変換すること、及びそれにより生じるタンパク質を本開示の固定化タンパク質に結合させることを伴う。その後、それらの重陽子が水素に戻され、ｈＧ－ＣＳＦＲ又はｈＧ－ＣＳＦＲの領域が単離され、酵素で消化され、そしてマススペクトロメトリー等を用いて分析して酵素で消化され、そしてマススペクトロメトリー等を用いて分析して本明細書に記載されるタンパク質の結合によって水素への転換が防止されたと考えられる重陽子を含む領域が特定される。
【０３１２】
所望により、ｈＧ－ＣＳＦＲ又はｈＧ－ＣＳＦＲのエピトープに対するタンパク質の解離定数（Ｋｄ）が決定される。ｈＧ－ＣＳＦＲ結合タンパク質の「Ｋｄ」又は「Ｋｄ値」は、一例では放射性標識又は蛍光標識ｈＧ－ＣＳＦＲ結合アッセイによって測定される。このアッセイは、滴定シリーズの未標識ｈＧ－ＣＳＦＲが存在する状態で前記タンパク質を最小濃度の標識済みＧ－ＣＳＦＲと平衡させる。未結合のｈＧ－ＣＳＦＲを除去するために洗浄した後に標識の量が決定され、その量が前記タンパク質のＫｄを表す。
【０３１３】
別の例によると、前記Ｋｄ又はＫｄ値は、表面プラズモン共鳴アッセイを用いることにより、例えば固定化されたｈＧ－ＣＳＦＲ又はｈＧ－ＣＳＦＲの領域と共にＢＩＡｃｏｒｅ表面プラズモン共鳴（ＢＩＡｃｏｒｅ社、ピスカタウェイ、ニュージャージー州）を用いることにより測定される。
【０３１４】
いくつかの例ではＣ１．２又はＣ１．２Ｇと類似のＫｄ又はより高いＫｄを有するタンパク質は、ｈＧ－ＣＳＦＲへの結合について競合する可能性があるため、これらのタンパク質が選択される。
【０３１５】
競合的結合の測定
当業者は、モノクローナル抗体Ｃ１．２又はＣ１．２Ｇの結合を競合的に抑制するタン

パク質を決定するためのアッセイを認識することになる。例えば、Ｃ１．２又はＣ１．２Ｇに検出可能標識、例えば蛍光標識又は放射性標識を結合させる。その後、ｈＧ－ＣＳＦＲ若しくはｈＧ－ＣＳＦＲの領域（例えば、配列番号１を備えるポリペプチド）又はｈＧ－ＣＳＦＲ若しくはｈＧ－ＣＳＦＲの領域を発現する細胞とこの抗体及び前記被験タンパク質を混合し、接触させる。その後、標識済みＣ１．２又はＣ１．２Ｇの量を決定し、前記タンパク質が存在しない状態で前記標識済み抗体が前記ｈＧ－ＣＳＦＲ、前記領域、又は前記細胞と接触したときに決定された量と前記量を比較する。標識済みＣ１．２又はＣ１．２Ｇの量が前記被験タンパク質の存在時に前記タンパク質の不在時よりも減少する場合に前記タンパク質はｈＧ－ＣＳＦＲへのＣ１．２又はＣ１．２Ｇの結合を競合的に抑制すると考えられる。

【０３１６】

所望により、前記被験タンパク質にはＣ１．２又はＣ１．２Ｇの標識とは異なる標識を結合させる。この交互の標識により、ｈＧ－ＣＳＦＲ又はｈＧ－ＣＳＦＲの前記領域又は前記細胞への前記被験タンパク質の結合レベルが検出される。

【０３１７】

別の例では前記タンパク質は、Ｃ１．２又はＣ１．２ＧとｈＧ－ＣＳＦＲ又はｈＧ－ＣＳＦＲの領域（例えば、配列番号１を備えるポリペプチド）又はｈＧ－ＣＳＦＲ若しくはｈＧ－ＣＳＦＲの領域を発現する細胞が接触する前に前記ｈＧ－ＣＳＦＲ、前記領域、又は前記細胞に結合するようにされる。前記タンパク質が存在しないときと比較して前記タンパク質が存在する状態でのＣ１．２又はＣ１．２Ｇの結合量の減少は、前記タンパク質がｈＧ－ＣＳＦＲへのＣ１．２又はＣ１．２Ｇの結合を競合的に抑制することを示している。交互アッセイも、標識済みタンパク質を使用し、そして最初にＣ１．２又はＣ１．２ＧをＧ－ＣＳＦＲに結合させて実施され得る。この場合、Ｃ１．２又はＣ１．２Ｇが存在しないときと比較してＣ１．２又はＣ１．２Ｇが存在する状態でｈＧ－ＣＳＦＲに結合した標識済みタンパク質の量が減少することは、前記タンパク質がｈＧ－ＣＳＦＲへのＣ１．２又はＣ１．２Ｇの結合を競合的に抑制することを示している。

【０３１８】

前述のアッセイのいずれも、変異体型のｈＧ－ＣＳＦＲ及び／又は配列番号１及び／又はＣ１．２若しくはＣ１．２Ｇが結合するｈＧ－ＣＳＦＲのリガンド結合領域、例えば本明細書に記載されるようなリガンド結合領域を用いて実施可能である。

【０３１９】

Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達の阻害の測定

本開示のいくつかの例では化合物はｈＧ－ＣＳＦＲシグナル伝達を無効にすることができる。

【０３２０】

受容体を介したリガンドのシグナル伝達を無効にする化合物の能力を評価するための様々なアッセイが当技術分野において知られている。

【０３２１】

一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、ｈＧ－ＣＳＦＲへのＧ－ＣＳＦの結合を抑制又は阻止する。これらのアッセイは、標識済みＧ－ＣＳＦ及び／又は標識済みタンパク質を使用する本明細書に記載されるような競合的結合アッセイとして実施され得る。

【０３２２】

別の例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、Ｇ－ＣＳＦが存在する状態でＣＤ３４$^{+}$骨髄細胞が培養されるときにＣＦＵ－Ｇの形成を抑制する。このようなアッセイでは被験化合物が存在する又は存在せず、且つ、Ｇ－ＣＳＦが存在し（例えば、約１０ｎｇ／ｍｌ細胞培養培地）、所望により幹細胞因子が存在する（例えば、約１０ｎｇ／ｍｌ細胞培養培地）状態で半固体細胞培養培地の中にＣＤ３４$^{+}$骨髄細胞が培養される。顆粒球クローン（ＣＦＵ－Ｇ）の形成に充分な時間が経過した後にクローン又はコロニーの数が決定される。Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が存在しないときと

比較してＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が存在する状態でコロニー数が減少することは、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物がＧ－ＣＳＦシグナル伝達を無効にすることを示している。複数の濃度のＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物を試験することにより、$ＩＣ_{５０}$、すなわちＣＦＵ－Ｇ形成阻害の最大値の５０％が起こる濃度が決定される。一例ではこの$ＩＣ_{５０}$は０．２ｎＭ以下、例えば０．１ｎＭ以下、例えば０．０９ｎＭ以下、又は０．０８ｎＭ以下、又は０．０７ｎＭ以下、又は０．０６ｎＭ以下、又は０．０５ｎＭ以下である。一例ではこの$ＩＣ_{５０}$は０．０４ｎＭ以下である。別の例ではこの$ＩＣ_{５０}$は０．０２ｎＭ以下である。前述の$ＩＣ_{５０}$は、本明細書に記載されるどのＣＦＵ－Ｇアッセイにも関連する。

【０３２３】

その他の例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、Ｇ－ＣＳＦが存在する状態で培養されるｈＧ－ＣＳＦＲを発現する細胞（例えば、ＢａＦ３細胞）の増殖を抑制する。細胞は、被験化合物が存在する又は存在せず、且つ、Ｇ－ＣＳＦが存在する（例えば、０．５ｎｇ／ｍｌ）状態で培養される。細胞増殖を評価するための方法は、当技術分野において知られており、それらの方法は、例えば、ＭＴＴ還元及びチミジン取込みを含む。前記化合物が存在しない状態で観察されるレベルと比較して増殖レベルを低下させる化合物は、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を無効にすると考えられる。複数の濃度の前記化合物を試験することにより、$ＩＣ_{５０}$、すなわち細胞増殖阻害の最大値の５０％が起こる濃度が決定される。一例ではこの$ＩＣ_{５０}$は６ｎＭ以下、例えば５．９ｎＭ以下である。別の例ではこの$ＩＣ_{５０}$は２ｎＭ以下、又は１ｎＭ以下、又は０．７ｎＭ、又は細胞、又は０．６ｎＭ以下、又は０．５ｎＭ以下である。前述の$ＩＣ_{５０}$は、本明細書に記載されるどの細胞増殖アッセイにも関連する。

【０３２４】

その他の例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、Ｇ－ＣＳＦの投与後にインビボで造血幹細胞及び／若しくは内皮始原細胞の動員を抑制し、並びに／又は（必須ではないが）例えばＧ－ＣＳＦの投与後にインビボで好中球の数を減少させる。例えば、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、所望によりＧ－ＣＳＦ又は修飾型のＧ－ＣＳＦ（例えば、ＰＥＧ化Ｇ－ＣＳＦ若しくはフィルグラスチム）の投与前、投与時、又は投与後に投与される。造血幹細胞（例えば、ＣＤ３４及び／又はＴｈｙ１を発現するもの）の数及び／又は内皮始原細胞（例えば、ＣＤ３４及びＶＥＧＦＲ２を発現するもの）の数及び／又は好中球（形態学的に特定される並びに／又は例えばＣＤ１０、ＣＤ１４、ＣＤ３１、及び／若しくはＣＤ８８を発現するもの）の数が評価される。前記化合物が存在しない状態で観察される量と比較して前記細胞の量を低下させる化合物は、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を無効にすると考えられる。一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、好中球減少症を誘導することなく好中球の数を減少させる。

【０３２５】

Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達の無効化を評価するための他の方法が本開示によって企図されている。

【０３２６】

エフェクター機能の測定

本明細書において考察されるように、本開示のいくつかのタンパク質はエフェクター機能を低下させている。ＡＤＣＣ活性を評価するための方法は、当技術分野において知られている。

【０３２７】

一例ではＡＤＣＣ活性のレベルは、^{51}Ｃｒ放出アッセイ、ユウロピウム放出アッセイ、又は^{35}Ｓ放出アッセイを用いて評価される。これらのアッセイの各々において、Ｇ－ＣＳＦＲを発現する細胞は、列挙されたＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物のうちの１つ以上と共に、前記細胞が前記化合物を取り込むために充分な時間と条件下で培養される。^{35}Ｓ放出アッセイの場合ではｈＧ－ＣＳＦＲを発現する細胞は、^{35}Ｓ標識済みのメチオニン及び／又はシステインと共に、新規合成されるタンパク質の中にこれらの標

識済みアミノ酸が取り込まれるために充分な時間にわたって培養され得る。この後で細胞は、前記タンパク質が存在又は存在せず、且つ、免疫エフェクター細胞、例えば末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）及び／又はＮＫ細胞が存在する状態で培養される。その後、細胞培養培地中の^{51}Ｃｒの量、ユウロピウムの量、及び／又は^{35}Ｓの量が検出され、前記タンパク質が存在しないときと比べて前記タンパク質が存在するときにほとんど又は全く変化が無いこと（又はヒトＩｇＧ１　Ｆｃを備える抗ｈＧ－ＣＳＦＲ抗体が存在する状態で観察されるレベルと比較して前記化合物のレベルが低下していること）は、前記タンパク質がエフェクター機能を低下させていることを示す。タンパク質により誘導されるＡＤＣＣのレベルを評価するためのアッセイを開示する例となる刊行物にはＨｅｌｌｓｔｒｏｍ，ｅｔ　ａｌ．　Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　ＵＳＡ　８３：７０５９－７０６３，　１９８６及びＢｒｕｇｇｅｍａｎｎ，　ｅｔ　ａｌ．，　Ｊ．　Ｅｘｐ．　Ｍｅｄ．　１６６：１３５１－１３６１，　１９８７が含まれる。

【０３２８】

タンパク質により誘導されるＡＤＣＣのレベルを評価するための他のアッセイにはフローサイトメトリー用ＡＣＴＩ（商標）非放射性細胞傷害アッセイ（ＣｅｌｌＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ社、カリフォルニア州、米国）又はＣｙｔｏＴｏｘ９６（登録商標）非放射性細胞傷害アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ社、ウィスコンシン州、米国）が含まれる。

【０３２９】

Ｃ１ｑ結合アッセイは、前記タンパク質がＣ１ｑに結合可能であり、ＣＤＣを誘導する可能性があることを確認するためにも実施され得る。ＣＤＣアッセイは、補体活性化を評価するために実施され得る（例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ　ｅｔ　ａｌ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　２０２：１６３，１９９６を参照されたい）。

【０３３０】

半減期の決定

本開示が包含するいくつかのタンパク質は改善された半減期を有し、それらのタンパク質は、例えば、未改変のタンパク質と比較して半減期が延長されるように改変されている。当業者は、改善された半減期を有するタンパク質を測定するための方法を認識することになる。例えば、新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）に結合するタンパク質の能力が評価される。この点に関し、増加したＦｃＲｎに対する結合親和性は、前記分子の血清半減期を増加させた（例えば、Ｋｉｍ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｅｕｒ　Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．，　２４：２４２９，　１９９４を参照されたい）。

【０３３１】

本開示のタンパク質の半減期は、薬物動態学的研究によって、例えばＫｉｍ　ｅｔ　ａｌ，　Ｅｕｒ　Ｊ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　２４：５４２，　１９９４が説明する方法に従って測定されることも可能である。本方法によると、放射性物質で標識したタンパク質がマウスに対して静脈内注射され、その放射性物質で標識したタンパク質の血漿中濃度が、例えばその注射の３分後から７２時間後まで時間の関数として定期的に測定される。あるいは、又は加えて、非放射性物質で標識したタンパク質は、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）を用いて検出可能である。このようにして得られたクリアランス曲線は二相、すなわちアルファ相とベータ相からなるはずである。前記タンパク質のインビボ半減期を決定するため、ベータ相のクリアランス速度が計算され、前記野生型又は未改変型のタンパク質のクリアランス速度と比較される。

【０３３２】

治療有効性

Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物の治療有効性は、前記化合物が投与された対象における前記疾患又は症状の重症度を前記化合物が投与されなかった対象に対して比較することによって評価され得る。あるいは、又は加えて、候補化合物の治療有効性は、動物モデルにおいて評価され得る。

【０３３３】

気管内リポ多糖（ＬＰＳ）誘発性肺炎は、ＡＲＤＳのよく知られており、且つ、充分に

文書で説明されている動物モデルである（例えば、Ｍａｔｕｔｅ－Ｂｅｌｌｏ ｅｔ ａｌ．，２０１１，Ａｍ．Ｊ．Ｒｅｓｐｉｒ．Ｃｅｌｌ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４４，７２５‐７３８、Ｏｒｆａｎｏｓ ｅｔ ａｌ．，２００４，Ｉｎｔｅｎｓｉｖｅ Ｃａｒｅ Ｍｅｄ．３０，１７０２‐１７１４、Ｔｓｕｓｈｉｍａ ｅｔ ａｌ．，２００９，Ｉｎｔｅｒｎ．Ｍｅｄ．４８，６２１‐６３０を参照されたい）。特に、動物にＬＰＳを気管内投与するモデルは、血管の質の低下、好中球浸潤、及び肺の空間内でのタンパク質に富む液体の蓄積（Ｄａｇｖａｄｏｒｊ ｅｔ ａｌ．，２０１５，Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ４２，６４０‐６５３）を含むいくつかの重要なＡＲＤＳの病理過程を再現するため、この気管内モデルが他の類似のモデル（例えば、鼻腔内投与）よりも好ましい。

【０３３４】

ＡＲＤＳのＬＰＳ誘発性動物モデルにおいて、候補化合物は、適切な対照（すなわち、プラセボ）と比較して前記動物の肺の炎症の程度を測定することにより有効性を評価され得る。肺の炎症は、気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）に由来する細胞数の測定、並びにＢＡＬＦ中及び肺柔組織ホモジェネート中の総タンパク質量又は炎症促進性サイトカイン量の測定により評価され得る。肺におけるＬＰＳ誘発透過性（すなわち、急性肺損傷の程度）が測定されることも可能である。

【０３３５】

いくつかの例では化合物の治療有効性を評価することは、前記対象におけるバイオマーカーの発現レベルを検出すること及び／又は定量することを含む。ＡＲＤＳ治療の有効性を評価するための適切なバイオマーカーにはＧ－ＣＳＦ、プラスミノーゲン活性化抑制因子－１（ＰＡＩ－１）、Ｄダイマー、好中球エラスターゼ、可溶性ＡＧＥ受容体（ｓＲＡＧＥ）、インターフェロンγ（ＩＦＮ－γ）、インターロイキン１β（ＩＬ－１β）、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２ｐ７０、ＩＬ－１３、及び腫瘍壊死因子α（ＴＮＦ－α）が挙げられる。

【０３３６】

バイオマーカーの検出及び／又は定量は、当技術分野において知られているあらゆる方法によって実施され得る。例えば、一例ではバイオマーカーのレベルは、マススペクトロメトリーを用いて評価される。このマススペクトロメトリーは超高速液体クロマトグラフィー（ＵＰＬＣ）、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）、ガスクロマトグラフィー（ＧＣ）、ガスクロマトグラフィー／マススペクトロスコピー（ＧＣ／ＭＳ）、及びＵＰＬＣ等と併せて実施されてもよい。バイオマーカーのレベルを評価するための他の方法には、限定されないが、ＥＬＩＳＡアッセイ、ウェスタンブロット、及び多重免疫アッセイ等の生物学的方法が含まれる。他の技法には定量的アレイ、ＰＣＲ、ノーザンブロット分析を用いることが含まれる場合がある。成分又は因子のレベルを決定するためには、成分全体、例えば完全長タンパク質又はＲＮＡ転写物全体が存在している又は完全に配列解析される必要は無い。言い換えると、分析中のタンパク質断片等のレベルを決定することは、分析中の前記バイオマーカーのレベルが増加又は減少することを結論付ける又は評価するために充分であり得る。同様に、例えば、アレイ又はブロットが成分レベルの決定のために使用される場合、検出可能シグナルの存在／不存在／強度がバイオマーカーのレベルの評価のために充分であり得る。

【０３３７】

バイオマーカーのレベルを評価するため、試料が前記対象から採取され得る。その試料は、バイオマーカープロファイルの成分のレベルをアッセイする前に処理されても処理されなくてもよい。例えば、全血が個体から採取される場合があり、その血液から血漿又は血清を単離するためにその血液試料が処理される、例えば遠心分離にかけられる場合がある。この試料は処理又は分析の前に貯蔵されても貯蔵されなくてもよく、例えば凍結されても凍結されなくてもよい。

【０３３８】

本発明の方法で検査され得る生体試には全血、血液血清、血漿、気管吸引物、ＢＡＬＦ

、尿、唾液、又は他の体液（大便、涙液、滑液、痰）、呼気、例えば濃縮された呼気、又はそれらからの抽出物若しくは精製物、又はそれらの希釈物が含まれる。生体試料には組織ホモジェネート、組織切片、及び生存対象に由来する又は死後採取された生検試料も含まれる。これらの試料は、調製、例えば適宜希釈又は濃縮され、且つ、通常の方式で貯蔵され得る。

【０３３９】

組成物

いくつかの例では本明細書に記載されるような化合物は、経口的に、非経口的に、吸入スプレーにより、吸着により、吸収により、局所的に、直腸的に、経鼻的に、口腔に、経膣的に、脳室内的に、従来の無毒で薬学的に許容可能な担体を含む剤形の移植されたリザーバーを介して、又は他のあらゆる好都合な剤形によって投与され得る。本明細書において使用される「非経口」という用語には皮下、静脈内、筋肉内、腹腔内、髄腔内、脳室内、胸骨内、及び頭蓋内の注射術又は輸液術が含まれる。

【０３４０】

化合物を投与に適切な形態（例えば、医薬組成物）に調製するための方法は、当技術分野において知られており、それらの方法には、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（第１８版、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ社、イーストン、ペンシルバニア州、１９９０年）及びＵ．Ｓ． Ｐｈａｒｍａｃｏｐｅｉａ： Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｆｏｒｍｕｌａｒｙ（Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ社、イーストン、ペンシルバニア州、１９８４年）に記載されるような方法が挙げられる。

【０３４１】

本開示の前記医薬組成物は非経口投与に有用であり、例えば静脈内投与又は皮下投与又は体腔内への投与又は臓器若しくは関節の内腔内への投与に特に有用である。投与される前記組成物は、薬学的に許容可能な担体に、例えば水性担体に溶解されたＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物の溶液を共通して含むことになる。様々な水性担体、例えば緩衝生理食塩水等が使用可能である。前記組成物は、生理学的条件に近づけるためにｐＨ調節剤及び緩衝剤、毒性調節剤等、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウム等の薬学的に許容可能な補助剤を必要に応じて含んでよい。これらの製剤中の本開示の化合物の濃度は多様であってよく、選択される特定の投与モード及び患者の必要に従って主に液体の体積、粘度、体重等に基づいて選択されることになる。例となる担体には水、生理食塩水、リンゲル溶液、ブドウ糖溶液、及び５％ヒト血清アルブミンが含まれる。混合油及びオレイン酸エチルなどの非水性ベヒクルも使用され得る。リポソームも担体として使用され得る。これらのベヒクルは、等張性及び化学的安定性を高める少量の添加剤、例えば緩衝剤及び保存剤を含んでよい。

【０３４２】

本開示の化合物は、製剤されると剤形に適合した方式且つ治療的／予防的に有効な量で投与されることになる。製剤は、上記の注射可能液剤などの様々な剤形で容易に投与されるが、他の薬学的に許容可能な剤形、例えば錠剤、丸剤、カプセル剤又は経口投与に適した他の固形剤形、坐剤、膣坐剤、点鼻液剤又は点鼻スプレー剤、エアロゾル剤、吸入剤、リポソーム剤等も企図されている。薬学的「徐放性」カプセル剤又は組成物も使用され得る。徐放性製剤は、一般的に長期間にわたって一定の薬品レベルを実現するように設計されており、本開示の化合物を送達するために使用され得る。

【０３４３】

国際公開第２００２／０８０９６７号パンフレットは、呼吸器症状の治療のための抗体を含むエアロゾル化組成物を投与するための組成物及び方法を説明しており、それらの組成物及び方法は、本開示の前記方法に従う化合物の投与にも適切である。

【０３４４】

併用療法

一例では本開示の化合物は、併用治療ステップ若しくは追加治療ステップとして又は治療製剤の追加成分としてＡＲＤＳの治療又は予防に有用な別の治療法と組み合わせて投与

される。

【０３４５】

いくつかの例では前記別の治療法は、ＡＲＤＳを治療又は予防するために一般的に用いられる治療法である。本開示の前記方法との組合せを考慮しているＡＲＤＳの治療法には肺の炎症の減少、肺胞壁の浮腫の減少、肺胞及び／又は内皮の炎症の減少、ＡＲＤＳの基礎疾患の治療、及び／又は前記ＡＲＤＳの別の症状の緩和を伴う治療法が含まれる。前記別の治療法は化合物、細胞、若しくは他の分子の投与を含む場合があり、並びに／又は前記別の治療法は物理的若しくは機械的な形の治療法、例えば人工呼吸及び腹臥位を含む場合がある。

【０３４６】

いくつかの例では前記別の治療法は、腹臥位、体液管理、酸素投与、人工呼吸（高頻度振動換気法を含むがこれに限定されない新式の機械的換気を含む）、グルココルチコイド、界面活性剤、吸入一酸化窒素、抗酸化剤、プロテアーゼ阻害剤、組換えヒト活性化型プロテインＣ、β２－アゴニスト、リソフィリン、スタチン、吸入ヘパリン、利尿薬、鎮静剤、鎮痛剤、筋弛緩剤、抗ウイルス薬、抗生物質、吸入プロスタサイクリン、吸入合成プロスタサイクリン類似体、ケトコナゾール、アルプロスタジル、表皮細胞増殖因子、β刺激薬、ＴＳ因子７ａに対するヒトｍＡｂ、インターフェロン受容体アゴニスト、インスリン、パーフルオロカーボン、ブデソニド、組換えヒトＡＣＥ、組換えヒトＣＣ１０タンパク質、組織プラスミノーゲン活性化因子、ヒト間葉系幹細胞、又は栄養療法を含む。併用療法の他の例では前記別の治療法は、例えばメチルプレドニソロン、デキサメタゾン、プレドニゾン、プレドニソロン、ベタメタゾン、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニドブデソニド、及びベクロメタゾンなどのグルココルチコイド、例えばアルブテロールなどのβ刺激薬、リソフィリン、ロスバスタチン、吸入ヘパリン、吸入一酸化窒素、組換えヒト活性化型プロテインＣ、例えばイブプロフェン、ナプロキセン、及びアセトアミノフェンなどのＮＳＡＩＤＳ、ベシル酸シサトラクリウム、プロシステイン、アセチルシステイン、吸入プロスタサイクリン、ケトコナゾール、アルプロスタジル、表皮細胞増殖因子、ＴＳ因子７ａに対するヒトｍＡｂ、インスリン、パーフルオロカーボン、組換えヒトＡＣＥ、組換えヒトＣＣ１０タンパク質、組織プラスミノーゲン活性化因子、ヒト間葉系幹細胞、又はオメガ－３脂肪酸、抗酸化剤、及びγ－リノレン酸の同等カロリーを持つ食物との組合せなどの栄養療法、並びに体外式膜型人工肺（ＥＣＭＯ）である。

【０３４７】

ＮＳＡＩＤＳにはアスピリン、アセトアミノフェン、ジフルニサル、サルサラート、イブプロフェン、デキシプロフェン、ナプロキセン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、デクスケトプロフェン、フルルビプロフェン、オキサプロジン、ロキソプロフェン、インドメタシン、トルメティン、スリンダク、エトドラク、ケトロラク、ナブメトン、ジクロフェナク、ピロキシカム、メロキシカム、テノキシカム、ドロキシカム、ロルノキシカム、イソキシカム、メフェナム酸、メクロフェナム酸、フルフェナム酸、トルフェナム酸、セレコキシブ、パレコキシブ、エトリコキシブ、ルミラコキシブ、及びフィロコキシブが挙げられるがこれらに限定されない。

【０３４８】

鎮痛剤にはＮＳＡＩＤＳ及びオピオイド（麻薬）が挙げられるがこれらに限定されない。オピオイドにはデキストロプロポキシフェン、コデイン、トラマドール、タペンタドール、アニレリジン、α－プロジン、ペチジン、ヒドロコドン、モルヒネ、オキシコドン、メサドン、ジアモルフィン、ヒドロモルフォン、オキシモルホン、レボルファノール、７－ヒドロキシミトラギニン、ブプレノルフィン、フェンタニル、スフェンタニル、ブロマドール、エトルフィン、ジヒドロエトルフィン、及びカルフェンタニルが挙げられるがこれらに限定されない。

【０３４９】

グルココルチコイドにはヒドロコルチゾン、コルチゾン、プレドニゾン、プレドニソロン、メチルプレドニソロン、デキサメタゾン、ベタメタゾン、トリアムシノロン、ベクロ

メタゾン、又はフルドロコルチゾンが挙げられるがこれらに限定されない。

【０３５０】

いくつかの例では前記別の治療法は標準治療である。ＡＲＤＳを治療又は予防するために一般的に用いられる標準治療には基礎症状（例えば、感染症）の治療、機械的又は非侵襲的換気、体液血行動態治療、腹臥位、日和見感染の治療、栄養、及び薬物治療が挙げられる。例えば、集中治療医学会（ＦＩＣＭ）及び集中治療学会（ＩＣＳ）は近年、ＡＲＤＳの成人患者向けの標準治療についてのガイドラインを公開した（Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ ｅｔ ａｌ．，２０１９，ＢＭＪ Ｏｐｅｎ Ｒｅｓｐ Ｒｅｓ ６：ｅ０００４２０）。機械的換気が必要である場合、少量の一回換気量（理想体重当たり６ｍｌ／ｋｇ未満）及び低い気道内圧（３０ｃｍＨ$_2$Ｏ未満の定常圧）の使用が推奨された。中等症／重症ＡＲＤＳ（１５０ｍｍＨｇ以下のＰａＯ$_2$／ＦｉＯ$_2$比）の患者については一日当たり少なくとも１２時間にわたる腹臥位が推奨された。全ての患者に保存的体液管理戦略の使用が示唆され、高呼気終末陽圧を用いる機械的換気及び神経筋遮断薬であるシサトラクリウムの４８時間にわたる使用が吸気酸素濃度に対する動脈血酸素分圧の比（ＰａＯ$_2$／ＦｉＯ$_2$）が２００ｍｍＨｇ以下であるＡＲＤＳの患者及び１５０ｍｍＨｇ以下であるＡＲＤＳの患者についてそれぞれ示唆された。体外式膜型人工肺が非常に重症のＡＲＤＳの患者について保護機械的換気の補助として示唆された。本開示の前記方法は、ＡＲＤＳの治療又は予防のための上記の治療法のうちのいずれかと組み合わせて実施され得る。

【０３５１】

いくつかの例では前記別の治療法は、ＡＲＤＳの基礎疾患を治療するために用いられる治療法である。例えば、一例では前記別の治療法は、（例えば、ＡＲＤＳの基礎疾患が感染症である場合では）抗ウイルス薬又は抗生物質の投与を含む。一例では前記別の治療法はレムデシビルの投与を含む。

【０３５２】

一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記別の治療法と同時に投与される。一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記別の治療法の前に投与される。一例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記別の治療法の後に投与される。

【０３５３】

いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、細胞と併用投与される。いくつかの例ではこの細胞は幹細胞、例えば間葉系幹細胞である。いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、遺伝子療法と併用投与される。

【０３５４】

投与量及び投与のタイミング

本開示の化合物の適切な投与量は、前記特定の化合物及び／又は治療を受ける前記対象に応じて変化することになる。適切な投与量を決定することは熟練の医師の能力の内にあり、例えば最適に近い投与量から開始して投与量を徐々に増やすことにより最適又は有用な投与量を決定する。あるいは、治療のための適切な投与量を決定するために細胞培養アッセイのデータ又は動物モデルのデータを使用することができ、その場合に適切な用量は、毒性がほとんど又は全くない前記活性化合物のＥＤ$_{50}$を含む循環濃度範囲内にある。この投与量は、使用される剤形及び利用される投与経路に応じてこの範囲内で変化し得る。治療有効用量は最初に細胞培養アッセイから推定され得る。細胞培養において測定されるＩＣ$_{50}$（すなわち、症状の抑制の最大値の半分を達成する前記化合物の濃度）を含む循環血漿中濃度を達成するように用量が動物モデルにおいて策定され得る。このような情報は、ヒトにおける有用な用量をより正確に決定するために使用され得る。血漿中濃度は、例えば、高速液体クロマトグラフィーによって測定され得る。

【０３５５】

いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、全身投与される。いくつかの例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、局所投与される。

【０３５６】

いくつかの例では本開示の方法は、治療有効量の本明細書に記載される化合物の投与を含む。

【０３５７】

「治療有効量」という用語は、投与されると前記対象の予後及び／若しくは状態を改善する量、並びに／又はＡＲＤＳの１つ以上の症状をその症状の臨床診断に役立つレベルよりも下のレベル若しくはその症状に特徴的なレベルよりも下のレベルにまで低減若しくは抑制する量である。あるいは、治療有効量は、投与されるとＡＲＤＳの１つ以上の症状の発症又は悪化を妨げる量である。投与量は、治療されるＡＲＤＳのサブタイプの具体的な特徴、治療されている症状の種類と病期、投与モード、並びに前記対象の特徴、例えば一般健康状態、他の疾患、年齢、性別、遺伝子型、及び体重に依存することになる。当業者は、これらの要因及び他の要因に応じて適切な投与量を決定することができる。よって、この用語は、本開示を特定の量、例えば化合物の重量又は物質量に限定すると解釈されてはならず、むしろ本開示は、表示されている結果を対象において達成するために充分なあらゆる量のＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物を包含する。一例では治療有効量のＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は好中球減少症を誘導しない。

【０３５８】

いくつかの例では本開示の方法は、予防有効量の本明細書に記載される化合物の投与を含む。本明細書において使用される場合、「予防有効量」という用語は、ＡＲＤＳの１つ以上の検出可能な症状の発症を阻止するため、妨害するため、又は遅らせるための充分な化合物の量を意味すると理解されるものとする。当業者は、このような量が、例えば、投与されるその特定の化合物、及び／又はその特定の対象、及び／又は症状の種類若しくは重症度若しくはレベル、及び／又はその症状になりやすい（遺伝的又は他の）体質に応じて変化することを理解する。よって、この用語は、本開示を特定の量、例えば化合物の重量又は物質量に限定すると解釈されてはならず、むしろ本開示は、表示されている結果を対象において達成するために充分なあらゆる量のＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物を包含する。一例では予防有効量のＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は重症の好中球減少症を誘導しない。

【０３５９】

本明細書に記載される前記化合物のインビボ投与については、通常の投与量は一日当たり個体の体重に対して約１０ｎｇ／ｋｇから最大で約１００ｍｇ／ｋｇ以上まで変化し得る。例となる投与量及び投与量の範囲は本明細書に記載されている。数日以上の期間にわたる反復投与については、治療される前記疾患又は障害の重症度に応じ、望まれている症状の抑制が達成されるまでその治療が継続されることが可能である。

【０３６０】

一例では前記タンパク質は０．１ｍｇ／ｋｇと１ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与される。一例では前記タンパク質は０．１ｍｇ／ｋｇと０．９ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与され、例えば、０．１ｍｇ／ｋｇと０．８ｍｇ／ｋｇとの間の用量、例えば０．１ｍｇ／ｋｇと０．６ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与される。この文脈の中で使用される場合、「間」という用語は、明示された範囲の各終端において列挙されている値を含む。

【０３６１】

一例では前記タンパク質は０．１ｍｇ／ｋｇと０．８ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与される。一例では前記タンパク質は０．３ｍｇ／ｋｇと０．６ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与される。一例では前記タンパク質は０．１ｍｇ／ｋｇと０．６ｍｇ／ｋｇとの間の用量で投与される。一例では前記タンパク質は０．１ｍｇ／ｋｇ又は０．３ｍｇ／ｋｇ又は０．６ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。一例では前記タンパク質は約０．１ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。一例では前記タンパク質は約０．２ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。一例では前記タンパク質は約０．３ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。一例では前記タンパク質は約０．４ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。一例では前記タンパク質は約０．５ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。一例では前記タンパク質は約０．６ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。一例では前記タンパク質は約０．７ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。一例では前記

タンパク質は約０．８ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。
【０３６２】
いくつかの例では前記タンパク質は複数回にわたって投与される。複数の用量が投与される場合、上記の用量のいずれかを組み合わせることができる。
【０３６３】
いくつかの例では後続の用量について２日～５日の間隔が空けられる。後続のそれぞれの用量と用量とを分ける期間は、同じでも異なっていてもよい。
【０３６４】
いくつかの例では１負荷用量とその負荷用量よりも低い後続の１維持用量以上のＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物が投与される。
【０３６５】
治療に対して適切に応答しない対象の場合では一週間に複数の用量が投与され得る。あるいは、又は加えて、用量を増やしてそれらの用量が投与されてもよい。
【０３６６】
別の例では、有害反応が発生した対象に対しては、前記初期（又は負荷）用量は１週間の中の数日にわたって又は連続数十日間にわたって分割されてもよい。
【０３６７】
本開示の前記方法に従う化合物の投与は、例えば、受容者の生理学的条件、その投与の目的が治療であるのか又は予防であるのか、及び当業者に知られている他の要因に応じて連続的投与又は断続的投与であり得る。化合物の投与は、あらかじめ選択した期間にわたって基本的に連続的であってよく、又は間隔を空けた一連の投与回に例えば症状の発症時若しくは発症後に投与されてよい。
【０３６８】
別の例ではＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物は、前記対象において連続７日を超える期間にわたってグレード３又はグレード４の好中球減少症を引き起こさずに循環好中球を減少させるために充分な量で投与される。
【０３６９】
キット
本開示の別の例は、上記のＡＲＤＳの治療又は予防に有用な化合物を含むキットを提供する。
【０３７０】
一例では前記キットには（ａ）本明細書に記載されるようなＧ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する化合物を含んでいる容器であって、所望により薬学的に許容可能な担体又は希釈剤の中の前記化合物を含んでいる容器、及び（ｂ）対象においてＡＲＤＳの作用を治療するため、予防するため、又は抑制するための指示を含む添付文書が含まれる。
【０３７１】
本開示のこの例によると、この添付文書は前記容器上にあるか、又は前記容器に付けられている。適切な容器には、例えば、ボトル、バイアル瓶、注射筒等が挙げられる。前記容器は、ガラス又はプラスチックなどの様々な材料から形成され得る。前記容器は、前記ＡＲＤＳの治療又は予防に有効な組成物を保持又は包含し、前記容器は滅菌アクセスポートを有してよい（例えば、前記容器は、皮下注射針を突き刺すことができるストッパーを有する静脈内輸液バッグ又はバイアル瓶であってよい）。前記組成物中の少なくとも１種類の活性薬剤は、Ｇ－ＣＳＦシグナル伝達を阻害する前記化合物である。このラベル又は添付文書は、治療を受けるのに相応しい対象、例えばＡＲＤＳを有する対象又はＡＲＤＳを発症するリスクがある対象に前記組成物が投与されることを投与中の化合物及び他のあらゆる医薬品の投与量及び投与間隔についての具体的な指針と共に表示している。前記キットは、注射用静菌水（ＢＷＦＩ）、リン酸緩衝生理食塩水、リンゲル溶液、及び／又はブドウ糖溶液などの薬学的に許容可能な希釈用緩衝液を含む追加の容器をさらに含む場合がある。前記キットは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、注射針、及び注射筒を含む商業的視点及び使用者視点から望ましい他の材料をさらに含む場合がある。

【０３７２】
本開示は以下の非限定的な実施例を含む。
【実施例】
【０３７３】
実施例１：健常成人被験者に投与されるＧ－ＣＳＦＲに結合する抗体であるＣ１．２Ｇの安全性、薬物動態学（ＰＫ）、及び薬力学（ＰＤ）
第１相治験を実施して健常被験者におけるＣＳＬ３２４（本明細書ではＣ１．２Ｇとも呼ばれる）の単回漸増用量（パートＡ及びパートＢ）静脈内（ＩＶ）注入及び反復（パートＣ）静脈内（ＩＶ）注入の安全性及び忍容性を評価した。
【０３７４】
方法
前記治験は、健常ヒト被験者における静脈内（ＩＶ）ＣＳＬ３２４の単回漸増用量及び反復用量の安全性、忍容性、ＰＫ、及び薬力学（ＰＤ）を評価するファースト・イン・ヒューマン単一施設無作為化二重盲検プラセボ対照試験であった。この試験はパートＡ、パートＢ、及びパートＣの３パートから構成された。用量の選択を指導するために安全性審査委員会（ＳＲＣ）が通常の盲検下レビューを安全性データ、忍容性データ、ＰＫデータ、及び選択されたＰＤデータについて実施した。この治験は、オーストラリアニュージーランド治験登録機関（ＡＮＺＣＴＲ）において登録番号ＡＣＴＲＮ１２６１６０００８４６４２６、「健康な成人におけるＣＳＬ３２４の安全性及び忍容性を評価するための用量漸増プラセボ対照第１相試験」という表題で説明されている。
【０３７５】
パートＡ：単回漸増用量
パートＡは、５連続群（第Ａ１群～第Ａ５群）に投与された単回漸増用量のＣＳＬ３２４を評価した。各群は、ＣＳＬ３２４（ｎ＝４人）又はプラセボ（ｎ＝２人）のどちらかを１日目に受けるように無作為に割り当てられた６人の被験者を含んだ。これらの５連続群については０．１ｍｇ／ｋｇ、０．３ｍｇ／ｋｇ、１．０ｍｇ／ｋｇ、３．０ｍｇ／ｋｇ、及び１０ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４の単回漸増用量を計画した。ＳＲＣの推奨で最も高い投与用量は１．０ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４であり（第Ａ３群）、第Ａ４群及び第Ａ５群はそれぞれ０．６ｍｇ／ｋｇ及び０．８ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４を受け取った。８５日目まで被験者をフォローアップした。
【０３７６】
パートＢ：Ｇ－ＣＳＦ負荷を含む単回漸増用量
パートＢは、Ｇ－ＣＳＦ負荷時の単回用量のＣＳＬ３２４を評価した。第Ｂ１群、第Ｂ２群、及び第Ｂ３群は、ＣＳＬ３２４（ｎ＝３人）又はプラセボ（ｎ＝１人）のどちらかを１日目に受けるように無作為に割り当てられた４人の被験者をそれぞれ含んだ。ＳＲＣの推奨で第Ｂ１群は０．１ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４を受け、第Ｂ２群及び第Ｂ３群はそれぞれ０．３ｍｇ／ｋｇ及び０．８ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４を受け取った。ＣＳＬ３２４の前後（３日前、２日前、１日前、１日目、２日目、及び３日目）に負荷用量のＧ－ＣＳＦ（５μｇ／ｋｇのフィルグラスチム）を被験者に投与した。第Ｂ４群は、ＣＳＬ３２４（ｎ＝４人）又はプラセボ（ｎ＝２人）のどちらかを１日目に受けるように無作為に割り当てられた６人の被験者を含んだ。被験者は０．８ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４を受け、ＣＳＬ３２４後（２日目、３日目、及び４日目）にのみ負荷用量のＧ－ＣＳＦ（５μｇ／ｋｇのフィルグラスチム）を投与された。８５日目まで被験者をフォローアップした。
【０３７７】
パートＣ：反復用量
パートＣは、２１日間の間隔（１日目、２２日目、及び４３日目）で投与される３反復用量のＣＳＬ３２４を評価した。ＣＳＬ３２４（ｎ＝６人）又はプラセボ（ｎ＝４人）のどちらかを受けるように１０人の被験者を無作為に割り当てた。ＳＲＣの推奨で０．６ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４を被験者に投与した。１２６日目まで被験者をフォローアップした。

【０３７８】
安全性、薬物動態学（ＰＫ）、及び薬力学（ＰＤ）の評価
全ての試験パートにおいて、安全性評価は有害事象（ＡＥ）、起立負荷を含むバイタルサイン、身体神経学的検査、１２誘導心電図（ＥＣＧ）、ＥＣＧテレメトリーを用いる心臓モニタリング、臨床検査（血液学、血液化学、血液凝固、及び尿検査）、視覚的アナログ尺度で測定される疲労、及びＣＳＬ３２４免疫原性を含んだ。
【０３７９】
ＣＳＬ３２４は、血清中（全ての群）及び脳脊髄液中（第Ａ５群のみ）で測定された。
【０３８０】
ＰＤ評価項目には好中球の機能的属性（食細胞活性、酸化的破壊活性、Ｇ－ＣＳＦ受容体リン酸化シグナル伝達兼転写活性化因子３［ｐＳＴＡＴ－３］シグナル伝達［パートＡのみ］、及び顆粒球マクロファージコロニー刺激因子［ＧＭ－ＣＳＦ］受容体ｐＳＴＡＴ－３シグナル伝達［パートＡ及びパートＣのみ］）、好中球Ｇ－ＣＳＦ受容体占有度／飽和度（パートＡ及びパートＣのみ）、並びに血清中Ｇ－ＣＳＦ、血清中サイトカイン、及び血清中ケモカインが挙げられる。
【０３８１】
診断及び主要な選択基準
被験者は、年齢が１８歳～５５歳であり、肥満度指数が１８．５ｋｇ／ｍ^2～３２．０ｋｇ／ｍ^2（両端値を含む）であり、体重が５０ｋｇ以上１００ｋｇ未満の健康な男性又は女性であり、書面によるインフォームドコンセントを提出した。女性被験者は妊娠している可能性がある者であってはならず、男性被験者及びそれらの男性被験者の妊娠可能な女性配偶者／パートナーは、スクリーニング時から最終静脈内（ＩＶ）注入後９０日目まで２形式の非常に有効な避妊を行うことを求められた。
【０３８２】
治験担当者によって判断される何らかの臨床的に重大な心血管の疾患若しくは悪性病変、消化器の疾患若しくは悪性病変、内分泌の疾患若しくは悪性病変、血液の疾患若しくは悪性病変、肝臓の疾患若しくは悪性病変、免疫の疾患若しくは悪性病変、代謝の疾患若しくは悪性病変、泌尿器の疾患若しくは悪性病変、肺の疾患若しくは悪性病変、神経の疾患若しくは悪性病変、皮膚の疾患若しくは悪性病変、精神の疾患若しくは悪性病変、腎臓の疾患若しくは悪性病変、及び／若しくは他の主要な病気若しくは悪性病変の病歴若しくは証拠、静脈血栓症、赤血球増加症、若しくは栓友病の病歴、自己免疫疾患の病歴、循環好中球減少症若しくは２．０×１０^9／Ｌ未満の絶対好中球数（ＡＮＣ）のスクリーニング、スクリーニング時若しくは試験参加時において特定された何らかの臨床的に重大な異常、１分当たり４０拍未満若しくは１００拍超の心拍数、スクリーニング時若しくは試験参加時の１４５ｍｍＨｇを超える平均収縮期血圧若しくは９０ｍｍＨｇを超える平均拡張期血圧、スクリーニング時の４５０ミリ秒を超えるフリデリシア式補正平均ＱＴ間隔、又はパラセタモールの随時使用（最大で２ｇ／日）を除く静脈内（ＩＶ）注入前の１０日間における何らかの処方薬若しくは非処方薬の使用が被験者にあった場合、それらの被験者は除外された。パートＡ及びパートＢについてのみ、何らかの刺青若しくは皮膚健康状態の悪化、又はケロイド形成、肥厚性瘢痕形成、若しくはリンパ管炎の病歴が被験者にあった場合、それらの被験者は除外された。
【０３８３】
ＣＳＬ３２４抗体の用量及び投与モード
ＣＳＬ３２４を１０ｍＬのバイアル瓶の中に注射用の無菌溶液として準備した。ＣＳＬ３２４を、１日目における前記被験者の体重及び試験群の用量によって決定される体積で静脈内投与した。
【０３８４】
プラセボである０．９％塩化ナトリウムを、１日目における前記被験者の体重及び試験群の用量に応じたＣＳＬ３２４と等しい体積で静脈内投与した。
【０３８５】

全てのＣＳＬ３２４注入は、シリンジポンプを使用して前腕静脈に６０±５分間にわたって行われた（用量は１．０ｍｇ／ｋｇ以下）。

【０３８６】

処理期間

パートＡ又はパートＢの被験者は、１日目に単回用量のＣＳＬ３２４又はプラセボを受け、８５日目までフォローアップされた。パートＣの被験者は、２１日間隔で１日目、２２日目、及び４３日目に合計３用量のＣＳＬ３２４又はプラセボを受け、１２６日目までフォローアップされた。

【表２】

評価基準	
主要エンドポイント	試験期間中の有害事象（ＡＥ）の発生率、因果関係、及び重症度
副次的エンドポイント	
・血清中のＣＳＬ３２４の薬物動態学パラメータ	
パートＡ及びパートＢ	
$AUC_{0\sim inf}$	投与後０時間から無限時間まで外挿した血中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\sim t}$	投与後０時間から採血時間ｔまでの血中濃度時間曲線下面積
C_{max}	最高血中濃度
CL_{tot}	静脈内（ＩＶ）投与後の全身クリアランス
t_{max}	最高血中濃度到達時間
$t_{1/2}$	消失半減期
V_z	終末消失相における静脈内（ＩＶ）投与後分布容積
パートＣ	
$AUC_{0\sim t}$	投与後０時間から採血時間ｔまでの血中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\sim tau}$	定常状態時の投与間隔における血中濃度時間曲線下面積
$C_{min,ss}$	定常状態時の最低（トラフ）血中濃度
$C_{max,ss}$	定常状態時の最高血中濃度
$t_{max,ss}$	定常状態時の最高血中濃度到達時間
$t_{1/2,ss}$	定常状態時の消失半減期
$CL_{tot,ss}$	静脈内（ＩＶ）投与後の定常状態時の全身クリアランス
$V_{z,ss}$	終末消失相における静脈内（ＩＶ）投与後の定常状態時の分布容積
・脳脊髄液中のＣＳＬ３２４濃度及びＧ－ＣＳＦ濃度（第Ａ５群のみ）	
・血清中の抗ＣＳＬ３２４抗体の存在	
・Ｇ－ＣＳＦ負荷後のＣＳＬ３２４投与後又はプラセボ投与後（パートＢのみ）の１日目以降のＡＮＣの最大効果（E_{max}）及び投与後０から２４時間までのＡＮＣについての効果曲線下面積（$AUEC_{0\sim24,ANC}$）を含むＡＮＣのノンコンパートメントＰＤパラメータ	

【０３８７】

統計学的方法

分析対象集団

最大分析対象集団（ＦＡＳ）は、書面によるインフォームドコンセントを提出し、且つ

、スクリーニング後に本試験に組み入れることについて問題ないとされた全ての被験者から構成された。このＦＡＳを人口統計、ベースライン特性、及び免疫原性について使用した。安全性集団は、少なくとも１用量のＣＳＬ３２４を受け、受け取った用量と薬品治療に応じて分析され、そして全ての安全性分析について使用された全ての被験者から構成された。

【０３８８】

ＰＫ集団は、少なくとも１用量のＣＳＬ３２４を受け、少なくとも１つのＰＫ濃度測定値を有し、そして全てのＰＫ分析に使用された全ての被験者から構成された。

【０３８９】

ＰＤ集団は、少なくとも１用量のＣＳＬ３２４を受け、且つ、ＰＤがＣＳＬ３２４注入の前及びＣＳＬ３２４注入後の少なくとも１時点について利用可能である全ての被験者から構成された。このＰＤ集団は全てのＰＤ分析に使用された。

【０３９０】

一般考慮事項

全てのデータを項目毎に記載した。記述統計を用いて要約統計量を提示した。別段の指示がない限り全ての統計検定は両側検定であり、５％レベルの有意性で実施された。

【０３９１】

薬物動態学的（ＰＫ）分析

実際の試料採取時間を用いて標準ノンコンパートメント分析により血清中ＣＳＬ３２４濃度からＰＫパラメータを導出した。パートＡ及びパートＢの単回用量群のＰＫパラメータであるC_{max}、$AUC_{0\sim t}$、及び$AUC_{0\sim inf}$についてそれぞれ用量比例性を評価した。対数変換体重調整用量レベルを独立変数として含むべき乗モデルを用いて用量比例性を分析した。このＰＫパラメータと用量との間の一次比例性は、９０％信頼区間（ＣＩ）が０．８５～１．１５の限界間隔の内部にある場合にそうであると宣言され得る。ＰＫパラメータであるC_{max}、$AUC_{0\sim t}$、及び$AUC_{0\sim inf}$の総用量（ｍｇ）及び体重調整用量（ｍｇ／ｋｇ）との相関は、ピアソンの相関分析を用いてパートＡ及びパートＢについて調査された。

【０３９２】

Ｇ－ＣＳＦの共投与を含まない場合（パートＡ）及び含む場合（パートＢ）のＣＳＬ３２４の相対的生物学的利用率は、（固定効果としての処理及び変量効果としての被験者を含む）混合効果モデル並びに対数変換ＰＫパラメータであるC_{max}、$AUC_{0\sim t}$、及び$AUC_{0\sim inf}$を用いて評価された。Ｇ－ＣＳＦの共投与を含まない場合（パートＡ）及び含む場合（パートＢ）のＣＳＬ３２４の投与は、幾何平均比の９０％ＣＩがどの比較についても８０％と１２５％との間にある場合に等価であると考えられた。

【０３９３】

ＣＳＬ３２４の２１日毎の３回の投与後（パートＣ）における定常状態の到達度を最低トラフ血中濃度（Ｃｍｉｎ）の反復測定分散分析（ＡＮＯＶＡ）によって評価した。第１の非有意比較は、定常状態が到達したときの投与間隔であった。

【０３９４】

薬力学的（ＰＤ）分析

標準ノンコンパートメント分析を用いてＰＤパラメータを導出した。パートＡの血清中サイトカイン濃度及び血清中ケモカイン濃度、好中球食細胞活性及び酸化的破壊活性、Ｇ－ＣＳＦ受容体占有度、並びにｐＳＴＡＴ－３シグナル伝達についてのＰＤパラメータをＡＮＯＶＡによってパートＡの各ＣＳＬ３２４用量と併合プラセボ群との間で比較した。

【０３９５】

ＰＤパラメータのＣＳＬ３２４総用量（ｍｇ）及び体重調整用量（ｍｇ／ｋｇ）と相関は、ピアソンの相関分析を用いて調査された。

【０３９６】

安全性分析

医薬規制用語集（ＭｅｄＤＲＡ、第２０．１版）を用いて試験治療下発現ＡＥ（ＴＥＡ

Ｅ）をコード表記した。治験担当者が、クラブ第１相基準を用いて等級を付けられる異常ＡＮＣ値のＴＥＡＥを除き、米国国立がん研究所有害事象共通用語規準第４版を用いて各ＴＥＡＥの重症度を評価した。ＣＳＬ３２４クリアランス（ＣＬｔｏｔ又はＣＬｔｏｔ、ｓｓ）及び選択されたＰＤパラメータ（ＡＮＣ及びＧ－ＣＳＦ濃度）について、累積陽性免疫原性成績を有する被験者と累積陰性免疫原性成績を有する被験者との間のボックスプロット比較を行った。

【０３９７】

結果

被験者の割付

合計で５８人の被験者がインフォームドコンセントを提出し、無作為に本試験に割り当てられた。パートＡ（ｎ＝３０人）では５群（第Ａ１群～第Ａ５群）の各々において４人の被験者がＣＳＬ３２４を受け、２人の被験者がプラセボを受け取った。パートＢ（ｎ＝１８人）では第Ｂ１群～第Ｂ３群の各々において３人の被験者がＣＳＬ３２４を受け、１人の被験者がプラセボを受け、第Ｂ４群において４人の被験者がＣＳＬ３２４を受け、２人の被験者がプラセボを受け取った。パートＣ（ｎ＝１０人）では６人の被験者がＣＳＬ３２４を受け、４人の被験者がプラセボを受け取った。

【０３９８】

まとめると、５５人の被験者（９４．８％）が本試験を完了し、１人のプラセボ処理被験者が同意の撤回のためにパートＡ（第Ａ５群）から離脱し、２人の被験者（１人のＣＳＬ３２４処理被験者及び１人のプラセボ処理被験者）が他の理由のためにパートＣの３用量の完了後に離脱した。本試験のパートＣを完了した２人の被験者は３用量目のＣＳＬ３２４をＳＲＣの推奨で受けなかった。

【０３９９】

人口統計

被験者は男性（１００％）で主に白人（６５．５％）であり、平均年齢は３０．３歳（１９歳～５４歳の範囲）であった。パートＡ、パートＢ、又はパートＣの被験者の間に主な人口学的特徴の違いはなかった。まとめると、前記被験者の医療歴及び手術歴は健康なボランティア集団と一致した。

【０４００】

薬物動態学（ＰＫ）

単回のＣＳＬ３２４の静脈内（ＩＶ）投与後に平均血清中ＣＳＬ３２４濃度は注入の終了時にピークに達し、C_{max}はＣＳＬ３２４用量に対する一次比例性を示した（図１）。$AUC_{0\sim t}$及び$AUC_{0\sim inf}$として測定されるＣＳＬ３２４への曝露は、両パラメータの信頼限界が０．８５～１．１５の限界間隔の外側にあった（$AUC_{0\sim t}$について傾きの推定値１．６８［９０％ＣＩは１．５８～１．７９］、及び$AUC_{0\sim inf}$について傾きの推定値１．６７［９０％ＣＩは１．５６～１．７８］）ため、ＣＳＬ３２４が高用量になるにつれて増加したが、用量比例性を示さなかった。ＣＳＬ３２４の平均CL_{tot}は試験した用量範囲にわたって一定ではなく、ＣＳＬ３２４の用量の１０倍の増加で８０％減少した。

【０４０１】

単回の静脈内（ＩＶ）投与後に平均$t_{1/2}$は、０．１ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４による４０．５時間から１．０ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４による２０６時間までの範囲であった。２１日間隔で投与される０．６ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４の３回の投与後に平均$t_{1/2}$は２５１時間であった。

【０４０２】

ＣＳＬ３２４の注入前及び注入後のＧ－ＣＳＦの投与は、$AUC_{0\sim inf}$及び$AUC_{0\sim t}$として測定される単回用量のＣＳＬ３２４の相対的生物学的利用率を低下させ、且つ、C_{max}に対して最小の効果を有した。Ｇ－ＣＳＦによるＣＳＬ３２４曝露の減少は、ＣＳＬ３２４投与のみの後と比較してＣＳＬ３２４投与の前後にＧ－ＣＳＦが投与されたときに大きかった。

【０４０３】
トラフ濃度に基づくと定常状態は、２１日間隔で投与される０．６ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４の３回の投与の後に達成されなかった。ピーク平均血清中ＣＳＬ３２４濃度は、１用量目の後と３用量目の後で同等であった。
【０４０４】
ＣＳＬ３２４は、単回の０．８ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４投与の後に脳脊髄液中に検出できなかった。
【０４０５】
薬力学
平均ＡＮＣは、Ｇ－ＣＳＦ負荷を加えずに投与された単回ＣＳＬ３２４用量及び反復ＣＳＬ３２４用量の後にプラセボと比較して減少した。これらの単回ＣＳＬ３２４投与で平均ＡＮＣ最小効果（E_{min}）は１．０ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４用量で最低（１．３×10^9／Ｌ）であり、プラセボで最高（２．４９×10^9／Ｌ）であった。平均ＡＮＣE_{min}は反復ＣＳＬ３２４投与の後に１×10^9／Ｌまで減少し、E_{min}は３用量目の後（約４８日目）に生じた。
【０４０６】
高用量のＣＳＬ３２４（０．３ｍｇ／ｋｇ及び０．８ｍｇ／ｋｇ）になるほどＧ－ＣＳＦ介在性ＡＮＣ増加刺激が抑制された。Ｇ－ＣＳＦ負荷に対するＡＮＣ応答は、０．１ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４及びプラセボで同等であった。$AUC_{0\sim t}$に基づくと、ＡＮＣはＣＳＬ３２４用量及びＣＳＬ３２４曝露と負に相関した。
【０４０７】
ＣＳＬ３２４は、好中球食細胞活性及び酸化的破壊活性として生体外で測定されると、明らかな効果を好中球機能に対して有した。高単回用量のＣＳＬ３２４（０．３ｍｇ／ｋｇ～１．０ｍｇ／ｋｇ）になるほどプラセボと比較して好中球ｐＳＴＡＴ－３シグナル伝達の生体外刺激の最大半量Ｇ－ＣＳＦ有効濃度（ＥＣ５０）が上昇したが、しかしながらこのアッセイデータは大きな変動性を示し、解釈を限定した。非刺激好中球ｐＳＴＡＴ－３シグナル伝達に対するＧＭ－ＣＳＦ刺激ｐＳＴＡＴ－３シグナル伝達の比率に対しては、一貫したＣＳＬ３２４の効果は見られなかった。
【０４０８】
好中球Ｇ－ＣＳＦ受容体飽和は、０．１ｍｇ／ｋｇ～１．０ｍｇ／ｋｇまでの単回ＣＳＬ３２４用量で急速に達成された。約１００％の受容体占有度の継続期間はＣＳＬ３２４用量の増加と共に長くなり、０．１ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４では３日目まで継続し、０．８ｍｇ／ｋｇ及び１．０ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４では２９日目まで継続した（図２）。
【０４０９】
単回ＣＳＬ３２４投与は、プラセボと比較してピーク血清中Ｇ－ＣＳＦ濃度と曝露を増加させ、Ｇ－ＣＳＦの$AUEC_{0\sim t}$及び$AUEC_{0\sim 24}$はＣＳＬ３２４の全身曝露及び用量との正の相関を示した。反復ＣＳＬ３２４投与は血清中Ｇ－ＣＳＦを持続的に増加させ、各投与の２日後にピーク濃度が生じた。Ｇ－ＣＳＦは、単回の０．８ｍｇ／ｋｇのＣＳＬ３２４投与の後に脳脊髄液中に検出できなかった。
【０４１０】
サイトカイン及びケモカインの血清中濃度は、プラセボとの比較においてＣＳＬ３２４投与後に明確な経時的パターンを示さなかった。血清中インターロイキン（ＩＬ）８濃度はＣＳＬ３２４及びプラセボについてわずかな上昇を示し、静脈内（ＩＶ）注入の効果を示唆した。血清中ＩＬ－１受容体アンタゴニスト（ＩＬ－１ＲＡ）濃度はＧ－ＣＳＦ負荷の後に上昇し、その後のより高用量のＣＳＬ３２４（０．３ｍｇ／ｋｇ～１．０ｍｇ／ｋｇ）の投与の後に低下した。
【０４１１】
安全性
まとめると、ＴＥＡＥの頻度はＣＳＬ３２４（８２．１％）及びプラセボ（９４．７％

）で同等であった。試験治療関連ＴＥＡＥは、ＣＳＬ３２４群全体の被験者のうちの６４．１％について生じ、プラセボ群の５７．９％について生じた。プラセボよりもＣＳＬ３２４で頻繁に生じたＴＥＡＥは、好中球減少症（１９．２％の被験者対ゼロ被験者）、注入部位痛（７．７％の被験者対ゼロ被験者）、及び鼻づまり（７．７％の被験者対ゼロ被験者）であった。重症又は致死的なＴＥＡＥは無かった。２人の被験者は３用量目をＳＲＣの推奨で受けなかった。

【０４１２】

複数の投与群にわたって全体的なＴＥＡＥ頻度にＣＳＬ３２４用量依存性の傾向は存在しなかった。全ての被験者（１００％）がＣＳＬ３２４又はプラセボの反復投与の後にＴＥＡＥを経験した。

【０４１３】

ＴＥＡＥの大部分がグレード１又はグレード２であった。ＣＳＬ３２４処理後の全ての試験治療関連ＴＥＡＥは、進行中のグレード２の紅斑という１件のＴＥＡＥを除き、安全性フォローアップ通院によって解消した。

【０４１４】

ＣＳＬ３２４はＡＮＣを用量依存的に減少させ、これはグレード３までの重症度の好中球減少症を特徴とし、翌日には自然に解消した（図３及び図４）。

【０４１５】

１人の被験者において１．０ｍｇ／ｋｇの用量のＣＳＬ３２４の単回投与後４日目にグレード３の好中球減少症のＴＥＡＥがあり（図３）、４人の被験者において０．６ｍｇ／ｋｇの用量のＣＳＬ３２４の反復投与によって７件のグレード３の好中球減少症のＴＥＡＥがあった（図４）。１件より多い件数のグレード３の好中球減少症を経験した２人の被験者は、利用可能な安全性データ、忍容性データ、ＰＫデータ、及び選択されたＰＤデータをよく調べた後にパートＣの３用量目のＣＳＬ３２４をＳＲＣの推奨で受けなかった。グレード３の好中球減少症の全てのＴＥＡＥが、治療しなくとも翌日までに自然に解消した。

【０４１６】

単回ＣＳＬ３２４用量で処理された２０人の被験者のうちの６人がグレード２又はグレード３の好中球減少症の基準に合うＡＮＣを経験し、このＡＮＣはＣＳＬ３２４投与後１日～４日の内に生ずる傾向を示した。反復ＣＳＬ３２４用量を受けた６人の被験者のうちの５人がグレード２又はグレード３の好中球減少症の基準に合うＡＮＣを有し、このＡＮＣは３用量目の後に生じる傾向を示した。

【０４１７】

輸液反応又は局所的忍容性反応は観察されなかった。ＣＳＬ３２４処理被験者の５％以下が注入部位痛、穿刺部位紅斑、及び穿刺部位痛のＴＥＡＥを経験し、プラセボ処理被験者でこれらのＴＥＡＥを経験した者はいなかった。

【０４１８】

安全性シグナルは、臨床検査パラメータ、起立負荷を含むバイタルサイン、ＥＣＧ、身体的所見、又は疲労スコアから特定されなかった。

【０４１９】

単回静脈内（ＩＶ）投与及び反復静脈内（ＩＶ）投与の後に抗ＣＳＬ３２４抗体を発生させた被験者はいなかった。

【０４２０】

結論

ＣＳＬ３２４は、最大で０．８ｍｇ／ｋｇまでの単回用量として投与されるとき、又は２１日間隔で０．６ｍｇ／ｋｇの反復用量として投与されるときに安全であり、且つ、よく忍容された。ＣＳＬ３２４はＡＮＣレベルを用量依存的に減少させ、これはグレード３までの重症度の好中球減少症を特徴とし、治療しなくとも翌日までに自然に解消した。ＣＳＬ３２４の全身曝露は用量増加と共に増加し、C_{max}はＣＳＬ３２４用量に対する一次比例性を示した。高用量のＣＳＬ３２４になるほど$t_{1/2}$が長くなり、CL_{tot}が

遅くなった。ＣＳＬ３２４は高用量になるほど急速なＧ－ＣＳＦ受容体飽和を示し、且つ、ＡＮＣのＧ－ＣＳＦ介在性刺激を抑制し、炎症メディエーターに対する効果は最小であった。

【０４２１】

最後の投与後の数週間）及びフォローアップ評価

【０４２２】

実施例２：ＣＳＬ３２４は、ＣＸＣＲ１発現と関連する好中球遊走を抑制する

ＣＳＬ３２４は、Ｇ－ＣＳＦにより誘導されるＣＸＣＲ１発現とＣＸＣＲ２発現を抑制する

健康なヒトドナーから得られた全血試料を使用して好中球上でのケモカイン受容体ＣＸＣＲ１及びＣＸＣＲ２の発現を評価し、且つ、Ｇ－ＣＳＦが存在する又は存在しない状態でのこれらの遊走に関する受容体のレベルに対するＣＳＬ３２４の効果を評価した。組換えヒトＧ－ＣＳＦを用いた前記細胞の刺激の前（３０ｎｇ／ｍＬ、ｎ＝１１）又は組換えヒトＧＭ－ＣＳＦを用いた前記細胞の刺激の前（３０ｎｇ／ｍＬ、ｎ＝４）に試料を１ｍｇ／ｍＬのＣＳＬ３２４と共に３０分間にわたってプレインキュベートし、そして２０時間にわたって３７℃、５％CO_2で培養した。高側方散乱光（ＳＳＣ）及びＣＤ１１ｂ＋ＣＤ４９ｄ－表現型によって好中球を特定した。複合体化抗体のＣＸＣＲ１又はＣＸＣＲ２に対する平均蛍光強度を培地単独で培養された細胞と比較して正規化した。

【０４２３】

図５に示されるように、Ｇ－ＣＳＦ単独と共に好中球を培養すること（黒色）により、培地単独と比較してＣＸＣＲ１及びＣＸＣＲ２の細胞表面での発現が増加した。Ｇ－ＣＳＦが誘導したＣＸＣＲ１及びＣＸＣＲ２の発現上昇がＣＳＬ３２４（灰色）とのプレインキュベーションによって低下し、ＣＸＣＲ１染色又はＣＸＣＲ２染色の平均蛍光強度（ＭＦＩ）は、細胞培養培地単独の中で好中球が培養されたときと同等であった。ＧＭ－ＣＳＦが存在する状態での細胞培養は、表面マーカーのレベルを著しく変化させることはなく、さらに、試料のＣＳＬ３２４とのプレインキュベーションによって変化することはなかった。

【０４２４】

ＣＳＬ３２４はＧ－ＣＳＦ誘導性細胞遊走を抑制する

ＭＩＰ－２へのＧ－ＣＳＦ介在性好中球遊走を阻害するＣＳＬ３２４の能力を評価するために細胞遊走アッセイを用いた。具体的には、精製された好中球（９５％超の純度）を単離し、１μｇ／ｍＬのＣＳＬ３２４と共に又はＣＳＬ３２４無しで３０分間にわたってプレインキュベートした後に３０ｎｇ／ｍＬのヒトＧ－ＣＳＦ又は３０ｎｇ／ｍＬのヒトＧＭ－ＣＳＦを用いてこれらの好中球を一晩にわたって刺激した。トランスウェルインサート（５μｍ孔）を使用してＭＩＰ－２（５００ｎｇ／ｍＬ）への化学走性を測定した。

【０４２５】

図６に示されるように、Ｇ－ＣＳＦとのプレインキュベーションによって好中球のＭＩＰ－２への遊走が増加し、この遊走の増加はＣＳＬ３２４とのプレインキュベーションによって培地単独条件と同じレベルにまで減少した（図６Ａ、灰色のバー）。ＧＭ－ＣＳＦの遊走促進効果はＣＳＬ３２４とのプレインキュベーションによって抑制されず、このことは、Ｇ－ＣＳＦ受容体を関与させる作用への特異性を示した。Ｇ－ＣＳＦとのプレインキュベーションによってＣＸＣＲ１及びＣＸＣＲ２が発現上昇し、これは好中球のＭＩＰ－２への遊走と相関した（図６Ｂ及び６Ｃ）。

【０４２６】

まとめると、これらのデータは以下のことを実証している。

・ＣＸＣＲ１（及びＣＸＣＲ２）の発現は好中球遊走と正に相関する（図６Ｂ及び６Ｃ）。

・ＣＳＬ３２４は好中球上でのＧ－ＣＳＦ誘導性のＣＸＣＲ１（及びＣＸＣＲ２）の発現を阻害する（図５Ａ及び５Ｂ）。

・ＣＳＬ３２４はＧ－ＣＳＦ誘導性好中球遊走を抑制する（図６Ａ）。

【０４２７】
実施例３：ＶＲ８１はＡＲＤＳの動物モデルにおいて肺の炎症を抑制する
材料と方法
抗体
ＶＲ８１は、マウスＧ－ＣＳＦＲの細胞外ドメインに対して作製されたマウスモノクローナルＩｇＧ１κ抗体であり、説明のようにＧ－ＣＳＦのＧ－ＣＳＦＲへの結合を阻止する（Ｃａｍｐｂｅｌｌ ｅｔ ａｌ． Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，１９７（１１） （２０１６） ４３９２－４４０２）。この点に関し、ＶＲ８１は本明細書及び国際公開第２０１２／１７１０５７号パンフレットに記載されるＣ１．２及びＣ１．２Ｇのマウス代用抗体である。ＢＭ４はモノクローナルマウスアイソタイプＩｇＧ１κ対照抗体である。
【０４２８】
ＡＲＤＳの動物モデル
雌の８週齢～１２週齢のＣ５７ＢＬ／６マウスをオーストラリア西オーストラリア州カンニング・ベールの動物資源センター（ＡＲＣ）から得た。マウスを麻酔し、その後に３μｇのＬＰＳの気管内（ｉ．ｔ．）投与によりこれらのマウスに肺への挿管投与を行った。５０μｌのハミルトン注射器に取り付けたカニューレを丁寧にマウスの口に入れ、その後で気管に挿入することでこれを行った。ＬＰＳの挿管投与から２４時間後にペントバルビタールの致死量注射によりマウスを安楽死させた。
【０４２９】
予防プロトコルと治療プロトコルの両方を評価した。（ｉ）予防プロトコルではＬＰＳの挿管投与の２４時間前に５００μｇ（２５ｍｇ／ｋｇ）のＶＲ８１又はＢＭ４をマウスに静脈内（ｉ．ｖ．）投与した。（ｉｉ）治療プロトコルではＬＰＳの挿管投与から６時間後に５００μｇ（２５ｍｇ／ｋｇ）のＶＲ８１又はＢＭ４をマウスに静脈内（ｉ．ｖ．）投与した。両プロトコルについて、ＬＰＳ投与から２４時間後に肺の炎症（例えば、総細胞数）、タンパク質濃度、及びＢＡＬＦ中の好中球エラスターゼ活性を評価した。
【０４３０】
２０Ｇのカテーテルを気管にカニューレ処置することによりＢＡＬＦを得た。両側の肺を３回にわたって洗浄し（各アリコットは０．４ｍｌのＰＢＳ）、総収量は平均して０．９ｍｌ／マウス～１．１ｍｌ／マウスであった。
【０４３１】
ＢＡＬＦ中の細胞数の測定
血球計算版を用いて計数することにより、最初にＢＡＬＦ中の総細胞数を決定した。血球遠心分離（Ｃｙｔｏｓｐｉｎ ４、Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ社）され、固定され、ギムザ（Ｓｉｇｍａ社）で染色された調製物に対して分画計数を行った。分画計数は、細胞を好中球、マクロファージ又はリンパ球として分類するための標準的形態学基準を用いる２００細胞の計数に基づいた。処理群について知らされていない１人の観察者によって計数が行われた。
【０４３２】
ＢＡＬＦ中の総タンパク質量の測定
ＢＡＬＦを４０００ｒｐｍで５分間にわたって４℃で遠心分離した。Ｐｉｅｒｃｅ（商標）ＢＣＡプロテインアッセイキット（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ社）を使用して無細胞上清中の総タンパク質量を測定した。
【０４３３】
ＢＡＬＦ中の好中球エラスターゼ活性の測定
無細胞ＢＡＬＦ試料を９６ウェル黒色蛍光プレートに移し、０．５ＭのＮａＣｌ及び０．１ｍＭのCa^{2+}を含む０．１Ｍでｐ８．０のトリス緩衝液の中に７０μＭの終濃度に希釈された発色性エラスターゼ基質（エラスターゼＶ基質、Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ社）と共にこれらの試料を保温した。３７℃で１時間の保温の後に蛍光性産物を３９０ｎｍの励起波長及び４６０ｎｍの放射波長で測定した。これらの条件下で蛍光性産物の生成は酵

素濃度に対して比例した。ブタ膵臓エラスターゼ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ社）を２ｎＭ～２００ｎＭで対照として使用した。結果を任意単位で表す。

【０４３４】

肺湿乾重量比の測定

ＬＰＳを投与されたマウスの肺における浮腫形成を評価するために肺湿乾（Ｗ／Ｄ）重量比を使用した。Ｗ／Ｄ比を決定するためにこの動物から切除してすぐに左肺葉の重量（湿潤重量）を量った。その後、一定の乾燥重量になるまでこの肺組織を６０℃のオーブンの中で５日間にわたって乾燥した。湿潤重量を乾燥重量により割り算することでＷ／Ｄ重量比を計算した。

【０４３５】

ＶＲ８１はＢＡＬＦ中の細胞数を減少させる

ＢＡＬＦ中の高細胞数は肺の炎症の指標であり、ＡＲＤＳと関連付けられる。上記のＡＲＤＳの動物モデルを使用してＬＰＳ誘発性炎症に応答して肺の中に存在する細胞の量、すなわち総細胞数と絶対免疫細胞数の両方を減少させるＶＲ８１が能力を評価した。

【０４３６】

図７は、ＬＰＳの１日前に５００μｇのＶＲ８１をマウスに投与することによってＰＢＳ（図７Ａ）又はアイソタイプ対照抗体であるＢＭ４（図７Ｂ）を投与されたマウスと比較してＢＡＬＦ中の総細胞数が有意に減少したことを示している。同様に、図８は、ＶＲ８１の投与によってＰＢＳを投与されたマウスと比較してＢＡＬＦ中の絶対免疫細胞数が有意に減少したことを示している。この免疫細胞数の減少には、ＶＲ８１投与に応答した好中球量の約７０％の減少が含まれた。

【０４３７】

ＶＲ８１はＢＡＬＦ中の総タンパク質量を減少させる

ＢＡＬＦ中の高総タンパク質量は、細胞数と同様に、両方ともＡＲＤＳに付随する肺の炎症及び浮腫の指標である。上記のＡＲＤＳの動物モデルを使用してＬＰＳ誘発性炎症に応答して肺の中に存在する総タンパク質量を減少させるＶＲ８１が能力を評価した。

【０４３８】

図９は、ＬＰＳの１日前に５００μｇのＶＲ８１をマウスに投与することによってＰＢＳ（図９Ａ）又はアイソタイプ対照抗体であるＢＭ４（図９Ｂ）を投与されたマウスと比較してＢＡＬＦ中の総タンパク質量が有意に減少したことを示している。

【０４３９】

ＶＲ８１はＢＡＬＦ中の好中球エラスターゼ活性を低下させる

好中球エラスターゼは、好中球中の細胞質の好アズール顆粒内に蓄えられている酵素であり、免疫刺激を受けて放出されると遊離タンパク質として作用するか又は細胞外トラップネットワーク（ＮＥＴ）と結合し、炎症及び侵入病原体の分解を引き起こす。好中球エラスターゼはＡＲＤＳの発症と進行に重要な役割を果たす。

【０４４０】

上記のＡＲＤＳの動物モデルを使用してＬＰＳ誘発性炎症に応答して肺の中の好中球エラスターゼ活性のレベルを低下させるＶＲ８１の能力を評価した。図１０は、ＬＰＳの１日前に５００μｇのＶＲ８１をマウスに投与することによってＰＢＳ（図１０Ａ）又はアイソタイプ対照抗体であるＢＭ４（図１０Ｂ）を投与されたマウスと比較してＢＡＬＦ中の好中球エステラーゼ活性レベルが有意に低下したことを示している。

【０４４１】

ＶＲ８１は肺湿乾重量比を減少させる

上記のＡＲＤＳの動物モデルを使用してＬＰＳ誘発性炎症に応答して肺湿乾（Ｗ／Ｄ）重量比を減少させるＶＲ８１の能力を評価した。Ｗ／Ｄ比は肺浮腫の尺度として使用可能である。

【０４４２】

図１５は、ＬＰＳの１日前に５００μｇのＶＲ８１をマウスに投与することによってアイソタイプ対照抗体であるＢＭ４を投与されたマウスと比較してＷ／Ｄ比によって評価さ

れる浮腫形成が有意に減少したことを示している。

【０４４３】

ＶＲ８１は疾患発症後に投与されると免疫細胞数を減少させる

図１１Ａは、３μｇのＬＰＳを気管内投与されたマウスのＢＡＬＦの中の総細胞数が投与から６時間後までに著しく増加し、投与から２４時間後にピークに達することを示している。同様に、図１１Ｂは、好中球エラスターゼ活性も投与から６時間後に著しく増加し、４８時間の時点でピークに達することを示している。これらのデータは、本実施例で使用されたＡＲＤＳのマウスモデルでは疾患の進行がＬＰＳ投与から６時間後までに起こることを示している。

【０４４４】

疾患の発症後のＶＲ８１の治療有効性を評価するためにＬＰＳ投与から６時間後に５００μｇのＶＲ８１又はアイソタイプ対照ＢＭ４を使用する静脈内治療をマウスに行った。図１２に示されるように、ＶＲ８１群とＢＭ４群の間でＢＡＬＦ中の好中球数に有意差（Ｐ＜０．０００１）が存在した（スチューデントのｔ検定、ｎ＝２匹（ＰＢＳ）、６匹（ＢＭ４）、及び７匹（ＶＲ８１））。この実験が繰り返され、類似の結果が得られた。

【０４４５】

本実施例における上記の結果は、抗Ｇ－ＣＳＦＲ抗体が疾患の発症前又は発症後に投与されるとき、抗Ｇ－ＣＳＦＲ抗体を使用するＧ－ＣＳＦシグナル伝達の阻害がＡＲＤＳの動物モデルにおける肺の炎症の抑制に有効であることを実証している。

【０４４６】

実施例４：コロナウイルス病２０１９（ＣＯＶＩＤ－１９）と関連するＡＲＤＳにおいてＣＳＬ３２４を評価するための第２相多施設二重盲検無作為化プラセボ対照試験

本試験は、重症のＣＯＶＩＤ－１９患者におけるＣＳＬ３２４の安全性と有効性を評価する。ＣＳＬ３２４は、

・高まった好中球の肺内への輸送を減弱化すること、

・Ｇ－ＣＳＦ介在性好中球生存を阻止することによって肺に浸潤する好中球の寿命を減少させること、及び

・ＩＬ－１及びＩＬ－６を含む好中球由来炎症メディエーターを減少させること、並びに接触相系を活性化することによって炎症を悪化させ、血管漏出の原因となることが知られている好中球細胞外トラップ形成を抑制すること

によってＣＯＶＩＤ－１９患者における好中球介在性肺損傷を軽減すると仮定される。

【０４４７】

試験の概要

本試験は、ＣＯＶＩＤ－１９の患者における標準治療（ＳＯＣ）と組み合わせて静脈内（ＩＶ）投与されたＣＳＬ３２４の安全性と有効性を評価するための第２相前向き多施設無作為化二重盲検プラセボ対照並行群間試験である。本試験は、最大で２日間のスクリーニング期間と最大で２８日間の治療期間から構成される。適格性を有する被験者は、１日目、４日目、及び８日目にＳＯＣ治療に加えてＣＳＬ３２４又はプラセボのどちらかの複数の静脈内（ＩＶ）用量（ＣＳＬ３２４＋ＳＯＣ又はプラセボ＋ＳＯＣ）を受けるように無作為に割り当てられる。本試験の主要エンドポイントは、無作為割り当てから２８日目までの気管内挿管又は気管内挿管前の死亡の発生率である。

【０４４８】

潜在的なリスクとベネフィット

ＣＳＬ３２４が静脈内投与された健常被験者において実施された以前の試験（実施例１）からＣＳＬ３２４は安全であることが分かっている。

【０４４９】

ＣＯＶＩＤ１９患者におけるリスク

ＣＳＬ３２４の静脈内（ＩＶ）投与の潜在的なリスク及び軽減方法が表１に記載されている。

【表３－１】

表１．ＣＳＬ３２４の静脈内投与の潜在的リスク及び

リスク	データの理論的解釈／要約	軽減方法
１．好中球減少症	好中球減少症は健常者ボランティアの第１相ＣＳＬ３２４＿１００１試験（実施例１）において観察され、グレード３（ＡＮＣが１．０×10^9／Ｌ未満～０．５×10^9／Ｌ）の最大の重症度が、１．０ｍｇ／ｋｇの用量のＣＳＬ３２４を単回投与された１人の被験者及び０．６ｍｇ／ｋｇの用量のＣＳＬ３２４を３回にわたり反復投与された４人の被験者において認められた。好中球減少症と同時に報告された臨床的兆候及び症状は存在しなかった。好中球減少症の全てのエピソードは一時的であり、自然に解消し、治療を必要としなかった。	スクリーニング時及びＣＳＬ３２４の投与前に最小ＡＮＣ値に合わない被験者の除外
		各投与前のＡＮＣ評価
		試験終了時通院（２８日目）までのスケジュールされた時点における定期的なＡＮＣ評価
		重症の好中球減少症の救急薬物治療としての組換えヒトＧＭ－ＣＳＦの供与
		ＡＥＳＩとしてのグレード３及びグレード４の好中球減少症のモニタリング
	化膿性汗腺炎の患者及び掌蹠膿疱症の患者では進行中のＣＳＬ３２４＿１００２試験において好中球減少症が認められていない。	ＡＮＣ特異的被験者・試験中断停止基準
	重症のＣＯＶＩＤ－１９の患者はより高いＡＮＣ値（７×10^9／Ｌ超）を有し、したがって正常下限値よりも下にＡＮＣ値が下落するリスクが低い可能性がある。	

【表３－２】

２．院内感染症	好中球減少症が長引く場合に感染症を発症させる潜在的なリスクが存在する。第１相ＣＳＬ３２４＿１００１（ＩＶ投与）試験（実施例１）では ・易感染性上昇の証拠が無いことが特記され、 ・ＣＳＬ３２４は、（大腸菌アッセイにおける）好中球食細胞活性及び（大腸菌・Ｎ－ホルミルメチオニル－ロイシルフェニルアラニン・ホルボールミリステートアセテートアッセイにおける）酸化的破壊活性として生体外で測定されると好中球機能に対して明確な効果を有しないことが示された。 ＣＳＬ３２４のマウス類似体であるＶＲ８１は、ウイルス感染症（Ｘ３１インフルエンザウイルス）マウスモデル、真菌感染症（カンジダ・アルビカンス）マウスモデル、又は細菌感染症（ストレプトコッカス・ニューモシスチス）マウスモデルにおいて感染症アウトカムを悪化させないこと（すなわち、感染量又は生存率アウトカムに対する影響の排除）が非臨床試験から示された。	試験期間を通じた新規感染症又は感染症悪化の兆候及び症状のモニタリング ＡＥＳＩとしてのグレード３及びグレード４の感染症のモニタリング 除外基準 ０．２５ｎｇ／ｍｌより上のプロカルシトニンレベルを有する被験者 各投与前のプロカルシトニン評価 感染症特異的停止基準

【表３－３】

３．全身投与関連反応（ＳＡＲＲ）	ＣＳＬ３２４などのｍＡｂの投与には過敏症、アナフィラキシーショック、及びサイトカイン放出関連ＡＥを含む全身投与関連反応のリスクが付随する可能性があり、それらの全身投与関連反応の中には重篤及び致命的になり得るものもある。	投与を院内において監督付き条件下で実施する。 モニタリングと評価 モノクローナル抗体又はＣＳＬ３２４又は賦形剤に対する公知の又は疑わしい注入関連反応がある被験者の除外 全身投与関連反応の症状に関する停止基準 投与前及び投与後の部分として含まれるサイトカインプロファイリング及び臨床検査による評価
４．局所投与部位反応	ｍＡｂのＩＶ注射は、投与部位に限局されるＡＥ（例えば、疼痛、紅斑）を生じさせる可能性がある。注入部位痛はＣＳＬ３２４＿１００１臨床試験（実施例１）の被験者の７．７％で見られた。２つの臨床前反復投与毒性試験（ＡＰＱ００４５、ＡＰＱ００４６）では注射部位にＣＳＬ３２４関連有害事象の発見は無かった。	スケジュールされた時点における投与部位のモニタリングと評価（必要であれば写真を含む）
５．免疫原性	全てのｍＡｂには即時の過敏症応答の可能性に加えて免疫原性の可能性がある。ＣＳＬ３２４＿１００１試験では単回静脈内（ＩＶ）投与及び反復静脈内（ＩＶ）投与の後にＣＳＬ３２４発現免疫原性を示した被験者はいなかった。	試験終了時通院までのスケジュールされた時点におけるＡＤＡ評価

ＡＤＡ＝抗薬物抗体、ＡＥ＝有害事象、ＡＥＳＩ＝特に注目すべき有害事象、ＡＮＣ＝絶対好中球数、ＧＭ－ＣＳＦ＝顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、ＩＶ＝静脈内、ｍＡｂ＝モノクロ―ナル抗体、ＳＣ＝皮下、ＳＲＣ＝安全性審査委員会

【０４５０】

ＣＯＶＩＤ－１９の患者におけるＣＳＬ３２４の潜在的な利益、及び本プロトコルに組み入れられるリスク軽減方法（すなわち、所定の選択基準／除外基準、被験者・試験停止規定、ＡＥＳＩのモニタリング、並びにＡＮＣ及びプロカルシトニン測定を含む定期的な医学モニタリング）を考慮すると、関連のベネフィットリスク評価は許容できると考えられる。ＣＳＬ３２４のベネフィットリスクプロファイルは（進行中及び計画中の）患者試験のデータとして決定され、利用可能になる。

【０４５１】

試験の主要目的及び主要エンドポイント

主要目的
本試験の主要目的は、ＣＯＶＩＤ－１９の患者における静脈内（ＩＶ）注入後のＣＳＬ３２４の治療利益を評価することである。
【０４５２】
主要エンドポイント
主要エンドポイントは、気管内挿管又は気管内挿管前の死亡の発生率である。この主要エンドポイントは、無作為割り当てから２８日目までに気管内挿管又は気管内挿管前の死亡にまで進行した被験者の割合によって評価される。
【０４５３】
試験の副次的目的及び副次的エンドポイント
副次的目的
本試験の副次的目的は、
１．ＣＳＬ３２４の有効性をさらに評価すること
２．ＣＳＬ３２４の安全性を評価すること
３．ＣＳＬ３２４の薬物動態（ＰＫ）を評価すること
である。
【０４５４】
副次的エンドポイント

【表４】

表２．副次的エンドポイント

副次的目的	エンドポイント	要約尺度
１番	全死因死亡率	無作為割り当てから２８日目までに生じた全死因の死亡率
１番	気管内挿管発生率	無作為割り当てから２８日目までに挿管された被験者の割合
１番	人工呼吸器非装着生存日数	被験者が生存し、且つ、人工呼吸器を装着していない日数の中央値
１番	入院期間（ＬＯＳ）	入院時のＬＯＳの中央値
１番	８ポイント米国国立アレルギー感染症研究所（ＮＩＡＩＤ）順序尺度で評価された臨床状態	・本順序尺度での少なくとも２ポイントの改善があった被験者の数と割合 ・本順序尺度のカテゴリーのそれぞれに含まれる被験者の数と割合
１番	持続的気道陽圧法（ＣＰＡＰ）又は二相式気道陽圧法（ＢｉＰＡＰ）の使用	ＣＰＡＰ又はＢｉＰＡＰを使用する被験者の割合
１番	高流量鼻カニューラ法（ＨＦＮＣ）の使用	ＨＦＮＣを使用する被験者の割合
１番	体外式膜型人工肺（ＥＣＭＯ）の使用	ＥＣＭＯを使用する被験者の割合
１番	多臓器不全評価（ＳＯＦＡ）スコアの変化	・ＳＯＦＡスコアのベースラインからの最大変化の中央値 ・ＳＯＦＡスコアのベースラインからの平均変化の中央値
２番	・有害事象（ＡＥ） ・重篤な有害事象（ＳＡＥ） ・特に注目すべき有害事象（ＡＥＳＩ） ・ＡＥとして報告される臨床検査評価の臨床的に重要な異常	特定の安全性関連事象を経験した被験者の数と割合
２番	抗薬物抗体	ＣＳＬ３２４を投与された被験者における抗ＣＳＬ３２４抗体の濃度
３番	ＣＳＬ３２４のＰＫ、すなわち ・最高血中濃度（C_{max}） ・最高濃度到達時間（T_{max}） ・血中濃度時間曲線下面積（ＡＵＣ）	・T_{max}を除く全てのＰＫパラメータについては平均（±ＳＤ）及び幾何平均（幾何変動係数［ＣＶ％］） ・T_{max}については中央値（最小値、最大値）

【０４５５】

試験の探索的目的及び探索的エンドポイント

探索的目的

本試験の探索的目的は、

・探索的有効性エンドポイントを評価すること

・ＣＳＬ３２４の薬力学（ＰＤ）プロファイルを評価すること

・（利用可能であれば）挿管された患者の血液及び気管吸引物中の探索的バイオマーカーを評価すること

・ＰＫ、ＰＤ、及び臨床転帰の相関を探索すること

である。
【０４５６】
探索的エンドポイント
前記探索的臨床的有効性エンドポイントは以下の通りである。
【表５】

エンドポイント	要約尺度
機械的換気の時間	挿管された被験者が機械的換気を必要とする日数の中央値
ＩＣＵのＬＯＳ	ＩＣＵでのＬＯＳの中央値

【０４５７】
薬力学的及び探索的調査バイオマーカーには以下のバイオマーカーが挙げられるがこれらに限定されない。
・ＡＮＣのベースラインからの変化
・炎症促進性サイトカイン（例えば、ＩＬ－１、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－１８、ＴＮＦ、Ｇ‐ＣＳＦ）の血清中レベル
・ミエロペルオキシダーゼ（ＭＰＯ）、好中球エラスターゼ（ＮＥ）α１プロテアーゼインヒビター複合体、プロテイナーゼ３（ＰＲ３）α１プロテアーゼインヒビター複合体、並びにＮＥ及びＰＲ３のα－２－マクログロブリン及びＮＥ特異的フィブリノペプチドとの複合体の血清中レベルがインビボ好中球活性化の状態を理解する助けになる場合がある。
・肺損傷の潜在的マーカー（可溶型終末糖化産物受容体［ｓＲＡＧＥ］及びプラスミノーゲン活性化抑制因子－１［ＰＡＩ－１］）の血清中レベルは、微小血管損傷の程度を反映する可能性がある。
・全血ｍＲＮＡ分析（ＲＮＡｓｅｑを含む）
・これらの探索的分析は、以下のことを理解することを目的としている。
・ＣＯＶＩＤ－１９の発病及び重症度
・臨床状態及びＣＳＬ３２４治療への応答との相関
・疾患予後及びＣＳＬ３２４への応答の予測因子
・ＣＳＬ３２４への応答
・ＣＳＬ３２４の薬理学
・ＣＯＶＩＤ－１９患者におけるＣＳＬ３２４の安全性
【０４５８】
試験デザイン
本試験は、ＣＯＶＩＤ－１９の患者における標準治療（ＳＯＣ）と組み合わせて投与されたＣＳＬ３２４の静脈内（ＩＶ）投与の安全性と有効性を評価するための第２相前向き多施設無作為化二重盲検プラセボ対照並行群間試験である。本試験デザインの重要な要素を図１３及び表３に提示する。

【表６】

表３．試験デザイン

試験の種類	前向き試験／介入試験
試験期間	スクリーニング期間（２日以下） 治療期間（２８日）
盲検の種類	二重盲検
試験の設定	並行群
試験治療への割り当て方法	ＣＳＬ３２４＋ＳＯＣ又はプラセボ＋ＳＯＣについて１：１の比で無作為に割り当て

ＳＯＣ＝標準治療

【０４５９】

本試験に参加登録した被験者の安全性を確実にするために本試験の実施期間の初期と所定の間隔の両方において独立データモニタリング委員会（ＩＤＭＣ）が被験者群に由来する集計データを頻繁によく調べる。

【０４６０】

用量の理論的根拠

ＣＯＶＩＤ－１９の患者におけるＣＳＬ３２４の潜在的な臨床上のベネフィットを最大にするためには、Ｇ－ＣＳＦ受容体との標的直接作用を最大化し（約９０％の受容体占有度）、且つ、循環好中球の減少を約１４日間にわたって示す用法であるが、好中球減少症を回避し、且つ、ＡＮＣを1.5×10^{9}／Ｌよりも上に維持する前記用法が利用される。ＣＳＬ３２４は、１日目に０．３ｍｇ／ｋｇの用量、４日目に０．１ｍｇ／ｋｇの用量、及び８日目に０．１ｍｇ／ｋｇの用量で静脈内（ＩＶ）注入により投与される。この用法は、健常者ボランティアでの第１相試験（ＣＳＬ３２４＿１００１、実施例１）で認められた安全性データ、ＰＫデータ、及びＰＤ（ＲＯ及びＡＮＣ）データ、並びに半機械的集団ＰＫ及びＰＤモデルから得られたシミュレーション結果に基づいて選択される。

【０４６１】

モノクローナル抗体開発のＩＣＨ要件に対応するこの非臨床毒性プログラムは、１時間の低速静脈内（ＩＶ）ボーラス注射として毎週投与される１ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、３０ｍｇ／ｋｇ、及び１００ｍｇ／ｋｇの用量を評価するカニクイザルにおける重要な１２週間反復投与ＧＬＰ試験を含む。本試験ではＣＳＬ３２４関連有害効果は特定されず、無毒性量（ＮＯＡＥＬ）が１００ｍｇ／ｋｇとして規定され、したがって予想臨床C_{max}及びＡＵＣ曝露量のために１００倍を超える曝露マージンを含む提案臨床用量が裏付けられた。

【０４６２】

健常被験者における完全ファースト・イン・ヒューマン（ＦＩＨ）単一施設無作為化二重盲検プラセボ対照臨床試験（ＣＳＬ３２４＿１００１－実施例１）においてＣＳＬ３２４の薬物動態学及び安全性を評価した。ＣＳＬ３２４は、０．８ｍｇ／ｋｇの最大耐量までの単回用量として又は２１日間隔での０．６ｍｇ／ｋｇの３反復用量として投与されたときに安全であり、且つ、よく忍容された。一時的なグレード３の好中球減少症が、１ｍｇ／ｋｇの用量のＣＳＬ３２４を単回投与された１人の被験者（１件）及び０．６ｍｇ／ｋｇの用量のＣＳＬ３２４を反復投与された４人の被験者（７件）において認められた。ＣＳＬ３２４曝露と循環好中球に対する効果との間の関係を理解するため、ＣＳＬ３２４の単回投与後及び反復投与後の前記ＦＩＨ試験から得られた観察データに基づいて受容体占有とＡＮＣの経時変化を説明することができる半機械的集団薬物動態及び薬力学モデルが開発された。

【０４６３】

したがって、このモデルは、ＣＯＶＩＤ－１９患者における本試験の代替的投与計画向

けに受容体占有プロファイル及びＡＮＣプロファイルを予測するために使用された。経時的な受容体占有度及びＡＮＣ数の予測が図１４に示されている。この用法に付随する前記曝露量は、表４に記載されるようなＦＩＨ試験及びＧＬＰ毒性学試験（試験番号ＡＰＱ００４５）の中のＭＴＤにおいて観察される曝露量に満たない。

【表７】

表４．カニクイザルにおけるＮＯＡＥＬ及び健常ヒト被験者におけるＭＴＤと比較したＣＳＬ３２４の予定用量と安全性マージンにおける予測曝露

用量（ｍｇ／ｋｇ）	C_{max}[a]（μｇ／ｍＬ）	C_{max}安全性マージン NOAEL[b]	C_{max}安全性マージン MTD[c]	ＡＵＣ[a]（μｇ・ｈ／ｍＬ）	ＡＵＣ安全性マージン NOAEL[b]	ＡＵＣ安全性マージン MTD[c]
１日目に０．３ ４日目に０．１ ８日目に０．１	７．５１（±１．３５）	５３３．３	２．８	１２６０（±４９９．２）	３２７．８	３．２

ＡＵＣ＝血中濃度時間曲線下面積、$AUC_{0\sim168h}$＝０時間から１６８時間までの血中濃度時間曲線下面積、C_{max}＝最高濃度、ＩＶ＝静脈内、ＭＴＤ＝最大耐量、ＮＯＡＥＬ＝無毒性量

（ａ）平均値（±標準偏差）のシミュレーション結果

（ｂ）１２週間にわたって毎週１００ｍｇ／ｋｇのＮＯＡＥＬ用量のＣＳＬ３２４をＩＶ投与された雌及び雄のサルにおける７８日目での４００５μｇ／ｍＬの平均C_{max}及び第１２週での４１３，０００μｇ・ｈ／ｍＬの平均$AUC_{0\sim168h}$を用いて安全性マージンを計算した（試験番号ＡＰＱ００４５）。

（ｃ）０．８ｍｇ／ｋｇのＭＴＤ用量のＣＳＬ３２４をＩＶ投与された健常男性被験者における２１．２μｇ／ｍＬの平均C_{max}及び４０６０μｇ・ｈ／ｍＬの平均ＡＵＣを用いて安全性マージンを計算した（試験番号ＣＳＬ３２４＿１００１）。

【０４６４】

予定被験者数

本試験は、合計で約１２４人の被験者を参加登録している。

【０４６５】

予定試験期間

個々の被験者の試験参加期間は最大で３１日であることが予想される。この推定は、

・最大で２日のスクリーニング期間

・最大で２８日の治療期間

に基づく。

【０４６６】

全体の試験期間（すなわち、最初の被験者のスクリーニングのための来院から最後の被験者の試験のための来院まで）は約４．５か月である。

【０４６７】

調査対象の医薬品の説明

ＣＳＬ３２４

ＣＳＬ３２４の重要な特徴が表５に記載されている。

【表８】

表５．ＣＳＬ３２４の説明

物質名	ＣＳＬ３２４
活性物質	組換え抗Ｇ－ＣＳＦ受容体モノクローナル抗体
貯蔵	＋２℃～＋８℃
剤形	１０ｍｌのバイアル瓶の中の１０ｍｇ／ｍＬのＣＳＬ３２４を含む無菌注入溶液
投与計画[a]	投与期間１日目に０．３ｍｇ／ｋｇ[b] 投与期間４日目に０．１ｍｇ／ｋｇ 投与期間８日目に０．１ｍｇ／ｋｇ
投与経路	静脈内注入
解剖学的投与部位	末梢静脈

ＩＮＮ＝国際一般名

（ａ）注入時間は約１時間であるべき。

（ｂ）前記初回用量のＩＭＰの投与は無作為割り当てから６時間以内に行われるものとする。

【０４６８】

ＣＳＬ３２４は、ＩＣＨ医薬品製造基準（ＧＭＰ）ガイドライン及び地域の規制上の要件に従って製造される。

【０４６９】

プラセボ

プラセボ対照薬は、市販されており、且つ、試験場によって供給される通常の無菌生理食塩水（０．９％塩化ナトリウム）である（表６）。

【表９】

表６．プラセボの説明

物質名	適用不可
活性物質	通常生理食塩水（０．９％塩化ナトリウム）
商品名	適用不可
剤形	無菌注入溶液
投与経路	静脈内注入

【０４７０】

救急薬／救急薬物治療

好中球減少症

必要であれば組換えヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）であるサルグラモスチム（リューカイン（登録商標））を使用して重症の好中球減少症を治療する。

【０４７１】

試験期間中のどの時点でも治験担当者が判定した重症の好中球減少症を有する被験者は、緊急の顆粒球形成のために臨床的に適応となった場合にサルグラモスチムを投与される。ＣＳＬ３２４はＧＭ－ＣＳＦの作用に拮抗しないため、サルグラモスチムが使用され、このことも顆粒球形成の助けになり得る。ＧＭ－ＣＳＦ（サルグラモスチム）の投与が考慮中である場合、好中球減少症の管理を専門とし、理想的にはサルグラモスチムなどのＧＭ－ＣＳＦの使用を専門とする医師と相談することを強く推奨する。２５０μｇ／ｍ^2／日のサルグラモスチムを４時間にわたって静脈内（ＩＶ）注入する投与方式又は一日一回皮下（ＳＣ）注射する投与方式を用いることができる。しかしながら、サルグラモスチム

の使用に詳しい医師が助言するように他の投与方式を使用してもよい。完全リューカイン（登録商標）米国処方情報によって調製及び投与量及び投与についての情報がさらに与えられる。

【０４７２】

臨床的に有意な低ＡＮＣを有するどの被験者にとっても適切な治療は、常に治療担当医師の医学的判断によって進められなくてはならず、好中球減少症の管理を専門とする医師との相談を含む必要がある。退院後に被験者が感染症の何等かの兆候若しくは症状を有する場合、又は合併症を起こす高いリスクを有する場合（すなわち、７日間を超える０．５×10^9／Ｌ未満のＡＮＣの長期化、臨床的不安定性、制御不良の併存症又は他の被験者特異的な因子の存在）に入院が考慮されるべきである。

【０４７３】

低絶対好中球数を有する被験者の管理が表７に要約されている。

【表１０】

表７．低絶対好中球数を有する被験者の管理

ＡＮＣ	行動
０．５×１０^9／Ｌ～１．０×１０^9／Ｌまで	・厳重にモニターする ・ＡＮＣ検査をできるだけ直ぐに及び１．０×１０^9／Ｌを超えるＡＮＣになるまで１日おき～２日おきに繰り返す ・感染症（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外）の兆候及び症状をモニターし、その兆候及び症状が存在するならば好中球減少症の管理を専門とする医師に相談することを強く勧める
０．５×１０^9／Ｌ未満	・ＡＮＣ検査をできるだけ直ぐに繰り返す ・感染症（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外）の兆候及び症状並びにアフタ性潰瘍の存在をモニターし、（患者が退院していれば）入院を考慮する ・好中球減少症の管理を専門とする医師との相談を強く勧める ・熱性好中球減少症又は感染症の結果として生じる臨床転帰不良の以下のリスク因子を有する被験者においてＧＭ－ＣＳＦ（サルグラモスチム［リューカイン（登録商標）］）[a]を考慮する ・１０日間を超える０．５×１０^9／Ｌ未満のＡＮＣの長期化 ・顕著な（０．１×１０^9／Ｌ未満の）好中球減少症 ・６５歳より上の年齢 ・肺炎又は他の臨床的に裏付けられている感染症 ・敗血症症候群 ・侵襲性真菌感染症 ・発熱時点での入院

ＡＮＣ＝絶対好中球数、ＧＭ－ＣＳＦ＝顆粒球マクロファージコロニー刺激因子

（ａ）投与量及び投与は、４時間にわたる静脈内注入又は一日一回の皮下注射により２５０μｇ／ｍ^2／日の投与量で投与することである。

【０４７４】

適格基準

本試験集団は、以下の節に記載される選択基準及び除外基準に基づいて選択される。被験者の適格性は、本試験に被験者が組み入れられる前に本研究チームの適切な医療資格を有するメンバーによって吟味され、文書にまとめられる。

【０４７５】

選択基準

被験者は、本試験に参加登録され、無作為に割り当てられるためには以下の選択基準の全てに合わなくてはならない。

１．書面によるインフォームドコンセントを提出することが可能である（この被験者の代理として医学上の決定をすることが法的に許されている個人は、書面によるインフォームドコンセントを提出することができる）。
２．プロトコルが要求する全ての事項を守る意思があり、且つ、守ることが可能である
３．インフォームドコンセントを得た時点で１８歳以上の年齢である。
４．米国食品医薬品局（ＦＤＡ）が認可した又は緊急使用許可の下で許される診断検査による判定でＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症陽性である。
５．胸部コンピュータトモグラフィー（ＣＴ）スキャン又はＸ線検査の結果から間質性肺炎が確認されている。
６．以下の事項のうちの少なくとも１つである（被験者が、まだ呼吸補助を受けることが適切であるとされる一方で改善を示している）。
・１分当たり３０回を超える呼吸数、
・室内空気下で９３％以下の末梢（毛管）酸素飽和度（SpO_2）、
・３００未満の吸気酸素濃度に対する動脈血酸素分圧の比（PaO_2／FiO_2）、
・２１８未満のSpO_2／FiO_2比（PaO_2／FiO_2比が利用可能ではない場合）、又は
・５０％を超える肺浸潤のＸ線写真

【０４７６】
除外基準
被験者が以下の除外基準のいずれかに合う場合、それらの被験者は本試験に参加登録されてはならず、又は無作為に試験治療に割り当てられてはならない。
１．拡大アクセス又はコンパッショネート使用を含むＩＭＰの投与を必要とする臨床試験に現時点で参加登録している、参加登録することを計画している、又は過去３０日以内に参加した。
・例外
・ＣＯＶＩＤ１９の治療のために承諾された緊急使用許可を得ての治験薬製剤（例えば、レムデシビル）の投与は許されている。
・拡大アクセス、緊急患者ＩＮＤ、又はコンパッショネート使用などの認可された特殊アクセス部分としての回復期患者血漿療法は許されている。
２．妊娠中又は授乳中である（女性被験者）。
３．無作為割り当ての時点で挿管されており、機械的換気（ＥＣＭＯを含む）を必要としている。
・例外として、ＨＦＮＣ酸素療法の使用及び非侵襲的換気は許されている。
４．治験担当者の意見として気管内挿管がありそうである。
５．治験担当者の意見として前記対象は入院後に４８時間を超えて生存することが予期されない。
６．無作為割り当ての前及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症の前に以下の併発症のうちのいずれかが存在する。
（ａ）ニューヨーク心臓協会クラス４の心不全がある
（ｂ）ステージ４以降の末期腎不全がある又は腎代替療法を必要とする
（ｃ）生検で診断された肝硬変、門脈高血圧症、又は肝性脳症がある
（ｄ）ステージ４の悪性腫瘍がある
（ｅ）在宅酸素療法を必要とする慢性肺疾患がある
（ｆ）活動性結核（ＴＢ）があり
７．肺胞蛋白症の病歴又は証拠がある。
８．スクリーニング時に細菌性肺炎又は活動的で制御不良の細菌性感染症、真菌性感染症、若しくは非ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染症の確定診断又は臨床上の疑いがある。
９．ＡＮＣが5×10^9細胞／Ｌ未満である（ＣＳＬ３２４誘発性好中球減少症が安全性の懸念として評価されない場合ではＩＤＭＣによる安全性データの吟味の後に低下させることができる）。

１０．Ｇ－ＣＳＦ、ＧＭ－ＣＳＦ、又は抗ＩＬ－６／６Ｒを含む禁止された治療法を現時点で受けている。
１１．治験担当者の意見として前記被験者を本試験に参加するには不適切とするあらゆる臨床上若しくは臨床検査上の異常又は他の基礎症状（例えば、精神障害、物質乱用）がある。
【０４７７】
追加の及び／又は代替的な除外基準には以下のものが含まれることがある。
１．被験者に挿管禁止又は蘇生禁止の命令が出ている。
２．プロカルシトニンレベルが０．２５ｎｇ／ｍＬを超えている。
３．前記初回用量のＣＳＬ３２４の投与前の３か月以内にいずれかの生ウイルスワクチン接種若しくは生細菌ワクチン接種を受けたか、又はスクリーニング前の１２か月以内にバチルス・カルメットゲリン（ＢＣＧ）ワクチン接種を受けている。
４．モノクローナル抗体療法に対する輸液関連反応若しくは過敏症（有害事象共通用語規準［ＣＴＣＡＥ］による）、又は前記ＩＭＰ若しくは前記ＩＭＰのあらゆる賦形剤に対する過敏症が知られている又は疑われている。
５．男性被験者又は妊娠可能な女性被験者であって、試験期間中のどの時点でも及びＩＭＰの投与後の３か月以上にわたって妊娠を回避するための非常に有効な避妊方法を使用しない若しくは使用する意思がない又は性的に禁欲ではない。
【０４７８】
試験の評価
２８日目の予定された評価のスケジュールが以下の表８に示されている。

【表１１－１】

表８．評価スケジュール

| | スクリーニング | 治療期間[a] | | |

【表１１－２】

身長及び体重	×																														
妊娠検査[k]		×																													
尿検査[l]			×																												
バイタルサイン[m]				×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
呼吸パラメータ[n]				×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
補助換気パラメータ。					×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
ＳＯＦＡスコア			×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
ランダム化				×																											
ＩＭＰキットへのＩＲＴの割り当て[p]					×																										
ＩＭＰの投与[q]					× [r]																										
臨床検査のための血液試料	試験施設で	血液学／ＡＮＣ			×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
		生化学／フェリチン			×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
		血液凝固			×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
		プロカルシトニン			×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	ＣＳＬで	バイオマーカー[s]			×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
		ＡＤＡ			×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
		ＲＮＡ			×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
		ＰＫ[t]			×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
アウトカム評価					×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

【表１１－３】

| ＡＥ | Ｘ | Ｘ | Ｘ

【表１１－４】

（ｎ）呼吸パラメータには呼吸速度（分当たりの呼吸数）、SpO_2（％）、FiO_2（室内の空気は２１％の酸素を含み、これは０．２１のFiO_2に等しい）、及びPaO_2（ｍｍＨｇ）が含まれる。呼吸パラメータは、一日に一回測定されるべきであり、理想的には午前中の同じ時刻に一緒に測定されるべきである。
（ｏ）補助換気が始まった場合に補助換気が止められるまで又は死亡するまで補助換気パラメータが一日に一回記録される。全ての方法がO_2補充、ＨＦＮＣ、ＣＰＡＰ、ＢｉＰＡＰ、ＥＣＭＯ、挿管、及び機械的換気を含む（被験者が３０分間以上にわたって背臥位になった後に記録されたモード、FiO_2、速度、ピーク呼吸圧、呼気終末陽圧、平均気道内圧、一回換気量を含む）。
（ｐ）盲検状態のＩＭＰはＣＳＬ３２４又はプラセボである。
（ｑ）各用量の投与は、ＡＮＣが1.5×10^9細胞／Ｌ以上である場合及びプロカルシトニンが０．２５ｎｇ／ｍＬ未満である場合にのみ行われる。
（ｒ）前記初回用量のＩＭＰの投与は、無作為割り当てから６時間以内に行われる。
（ｓ）バイオマーカーは、（限定されないが）Ｇ－ＣＳＦ、炎症性サイトカイン、好中球エラスターゼ、及びｓＲＡＧＥ、ＰＡＩ－１を含み得る。あらゆる残りのバイオマーカー血液試料は、その他の探索的バイオマーカー分析のため及び本試験の目的に関連する研究のために保持されてもよい。

【０４７９】
有効性評価
アウトカム評価には前記被験者の酸素補充の使用、ＣＰＡＰの使用、ＢｉＰＡＰの使用、ＨＦＮＣの使用、気管内挿管／機械的換気の使用、抜管、標準尺度での臨床状態、ＩＣＵ入室及び退室、並びに退院又は死亡が含まれる。
【０４８０】
人口統計及び安全性評価
安全性の評価に関して本試験期間中に行われた臨床的診断法を以下の表９において提示する。

【表１２－１】

表９．安全性評価

評価	説明		
人口統計	・誕生年／年齢	・性別	・人種及び民族
病歴	・関連の病歴	・これまで／現在の治療薬／治療	
	・喫煙歴	・避妊法（もしあれば）	
妊娠検査（試験施設の臨床検査室）	・β－ｈＣＧ尿検査（妊娠可能な女性被験者） ・尿検査の結果が決定的ではない場合、その試験場によって血清妊娠検査が実施される。		
健康診断	・試験場の標準手順による		
胸部画像撮影	・胸部ＣＴスキャン又はＸ線検査		
有害事象	・全てのＡＥ（例えば、因果関係／関連性、重症度、重大性）の評価 ・特に注目すべき有害事象（ＡＥＳＩ） ・グレード３及びグレード４の好中球減少症 ・グレード３及びグレード４の院内感染症		
バイタルサイン	・血圧（収縮期／拡張期）	・温度	
	・呼吸速度	・身長	
	・心拍数	・体重	
呼吸パラメータ	・呼吸速度	・FiO_2	
	・SpO_2	・PaO_2	
尿検査（尿試験紙）（試験施設の臨床検査室用に備えられている検査キット）	・比重	・亜硝酸塩	・タンパク質
	・ｐＨ	・ケトン	・グルコース
	・白血球エステラーゼ	・ビリルビン	
	・潜血	・ウロビリノーゲン	
血液学（試験施設の臨床検査室）	・ヘモグロビン	・網状赤血球	
	・ヘマトクリット	・血小板	
	・赤血球（ＲＢＣ数）	・白血球（ＷＢＣ数）	
	・ＲＢＣ指数は、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、赤血球分布幅	・分化状態（パーセンテージ又は絶対数）、すなわち好中球、桿状核好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球	
生化学（試験施設の臨床検査室）	・ナトリウム	・ＡＳＴ	
	・カリウム	・ＧＧＴ	
	・塩化物	・総ビリルビン	
	・重炭酸塩	・直接ビリルビン	
	・総二酸化炭素	・マグネシウム	
	・カルシウム	・リン酸塩	
	・血液尿素窒素	・ＣＲＰ	
	・尿素	・総コレステロール	
	・クレアチニン	・トリグリセリド	
	・グルコース	・ＨＤＬコレステロール	
	・総タンパク質	・ＬＤＬコレステロール	
	・アルブミン	・尿酸塩（尿酸）	
	・アルカリホスファターゼ	・ＣＫ、ＣＰＫ	

【表１２－２】

評価	説明	
	・ＡＬＴ ・ＬＤＨ	・Ｃ３、Ｃ４ ・フェリチン ・プロカルシトニン
血液凝固（試験施設の臨床検査室）	・ａＰＴＴ ・ＰＴ／ＩＮＲ	・フィブリノゲン（クラウスアッセイ） ・Ｄダイマー
サイトカインプロファイル（指定臨床検査室）	・炎症性サイトカインパネル	
抗薬物抗体（指定臨床検査室）	・ＣＳＬ３２４に対して特異的に結合する抗体の存在について血清を分析	

ＡＥＳＩ＝特に注目すべき有害事象、ＡＬＴ＝アラニンアミノトランスフェラーゼ、ａＰＴＴ＝活性化部分トロンボプラスチン時間、ＡＳＴ＝アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、β－ｈＣｇ＝βヒト絨毛性ゴナドトロピン、ＢＵＮ＝血液尿素窒素、ＣＫ／ＣＰＫ＝クレアチンキナーゼ、ＣＲＰ＝Ｃ反応性タンパク、ＥＣＧ＝心電図、ＣＲＳ＝サイトカイン放出症候群、ｅＣＲＦ＝電子症例報告書、FiO_2＝吸気酸素分圧、ＧＧＴ＝γ－グルタミルトランスフェラーゼ、ＨＡＶ＝Ａ型肝炎ウイルス、ＨＢＶ＝Ａ型肝炎ウイルス、ＨＣＶ＝Ｃ型肝炎ウイルス、ＨＤＬ＝高密度リポタンパク質、ＩＬ＝インターロイキン、ＩＮＲ＝国際標準化比率、ＬＤＨ＝乳酸デヒドロゲナーゼ、ＬＤＬ＝低密度リポタンパク質、PaO_2＝動脈血酸素分圧、ＱＴｃＢ＝バゼットの補正式、ＱＴｃＦ＝フリデリシアの補正式、ＰＴ＝プロトロンビン時間、ＲＢＣ＝赤血球、SpO_2＝末梢（毛管）酸素飽和度、ＴＮＦ－α＝腫瘍壊死因子α、ＴＥＥ＝血栓塞栓症、ＷＢＣ＝白血球

【０４８１】

薬力学評価

薬力学エンドポイントには血清中Ｇ－ＣＳＦ濃度が含まれる。好中球活性化及び急性呼吸窮迫症候群の病態生理学に関連するその他の探索的バイオマーカー分析が実施され、それらの探索的バイオマーカー分析は、限定されないが、ｓＲＡＧＥ、ＰＡＩ－１、好中球エラスターゼ、及び炎症性サイトカインを含み得る。

【０４８２】

停止基準

被験者

本試験の参加中に被験者が以下の基準のいずれかに合致する場合、その被験者の安全性についての評価が完了するまでその被験者へのＩＭＰのさらなる投与を停止する（すなわち、一時的に休止する）。

・重篤なＡＥ（ＳＡＥ）が発生し、治験担当者及び／又はＣＳＬがＣＳＬ３２４の投与に関連すると考えている。

・注入中又は注入終了後の最初の２４時間以内でのグレード（Ｇ）３又はグレード（Ｇ）４の全身投与関連反応（ＳＡＲＲ）臨床症状がある。

・無作為割り当て後のどの時点もＡＮＣが１．５×10^9細胞／Ｌ未満であり、１２時間以内の反復測定で確認される場合。

・院内感染症の臨床上又は臨床検査上の証拠又は疑いがある。

・本試験の前記被験者に許容できないリスクをもたらすと治験責任者（ＰＩ）及び／又は治験依頼者が考える何等かの事象又は臨床検査上の異常がある。

【０４８３】

試験
以下の基準のいずれかに合致する場合、本試験を継続すること又は継続しないことの全体的な安全性の評価が完了するまでさらなるＩＭＰの投与及びさらなる新規被験者の参加登録の全てを停止する（すなわち、一時的に休止する）。
・１人以上の被験者が、死亡に至り、且つ、治験担当者及び／又はＣＳＬがＣＳＬ３２４の投与に関連すると考えているＳＡＥを発生させる。
・１人以上の被験者が、本試験の他の被験者に許容できないリスクをもたらすとみなされており、且つ、治験担当者及び／又はＣＳＬがＣＳＬ３２４の投与に関連すると考えている他のあらゆる重大な事象を発生させる。
・医療監視員、ＣＳＬ、又はＩＤＭＣがＣＳＬ３２４に関連すると考え、且つ、個々の事象については軽微に見えるかもしれないが、まとまると重大な安全上の潜在的な懸念になり得る有症状事象、臨床上の事象、又は臨床検査上の事象の全体的なパターン
・以下のいずれかに前哨安全群（すなわち、試験従事中の最初の５人、１０人、２０人、３０人、及び４５人の被験者）の評価時にグレード４の好中球減少症（０．５×10^9細胞／Ｌ未満のＡＮＣ）がある。
・最初の５人の従事中の被験者のうちの１人以上
・最初の１０人の従事中の被験者のうちの２人以上
・その後の３人以上の被験者
・２人以上の被験者がグレード２以上の関連好中球減少症（１．５×10^9細胞／Ｌ未満のＡＮＣとして定義される）を経験しており、明らかな好中球減少症の後の院内感染症の証拠と共に反復測定で確認される。

【０４８４】
有害事象
ＩＣＨ　Ｅ２Ａ（治験中に得られる安全性情報の取り扱いについて）によると、有害事象（ＡＥ）は、医薬品を投与された患者又は臨床試験被験者のあらゆる好ましくない出来事であって、必ずしもこの処理と因果関係を有しないものである。したがって、ＡＥは、医薬品（治験薬）の使用と時間的に関連付けられるあらゆる好ましくなく且つ意図しない兆候（異常な臨床的に重大な臨床検査所見を含む）、症状、又は疾患であってよく、その医薬品（治験薬）と関連すると考えられているか否かは問われない。

【０４８５】
ＡＥの観察期間は、インフォームドコンセントを得た時から試験終了時までである。

【０４８６】
有害事象には以下が含まれ得る。
・既存の症状の悪化（すなわち、頻度又は重症度の上昇）。試験開始前に存在する病気は、ｅＣＲＦの病歴の欄に記録される必要があり、本試験中に頻度又は重症度の上昇が存在する場合にのみＡＥとして報告される必要がある。
・同意後且つＩＭＰ投与前の臨床事象の発生。
・ＩＭＰの投与後の併発病の発症。

【０４８７】
有害事象には以下が含まれない。
・除外基準に合うスクリーニング時に特定される事象。
・内科的又は外科的治療（この治療につながる症状はＡＥである）。
・好ましくない医療上の出来事が起きていない状況。例えば、
・既存の症状のために入院が予定されているが、その症状が悪化していないこと。
・ＡＥではない原因で手術（例えば、美容外科手術）のために入院すること。
・病因滞在が２４時間未満の期間である診断手順のために又は通常の管理手順（例えば、化学療法）のために入院すること。
・なんら有害兆候又は有害症状を生じないＩＭＰの過剰投与又はいずれかの併用療法。

【０４８８】
臨床検査安全性パラメータについて、治験担当者が臨床的に重要であると考える基準範

囲の外側にある絶対値のあらゆる例又は試験開始後のあらゆる通院時の変化も、ｅＣＲＦにおいてＡＥとして記録されなければならない。また、治験担当者の判断で臨床検査パラメータのどんな経時的変化又は傾向も、そのような変化又は傾向が臨床的に適切であると考えられる場合にはたとえそれらの絶対値が基準範囲の内側にあるとしてもｅＣＲＦにおいてＡＥとして記録され得る。

【０４８９】

以下の場合には臨床検査の所見はＡＥとして報告されることを要しない。

・それらの臨床検査パラメータがスクリーニング時点で既に基準範囲を超えていること。ただし、臨床検査パラメータのさらなる増加／減少が既存の症状の悪化であると考えることができる場合を除く。

・血液試料に対する機械的又は物理的な影響（例えば、インビトロ溶血）を原因とし、臨床検査によって臨床検査報告に目印を付けられる異常な臨床検査パラメータ。

・明らかに生物学的に信じがたい異常なパラメータ（例えば、生命と相容れない値又は測定範囲の外側の値）。

・分析を好ましくは同じ臨床検査で繰り返した後に確証することができない異常な臨床検査値（すなわち、以前の結果が有効ではないとみなされる可能性があり、ＡＥとして報告されることを必ずしも要しない）。

【０４９０】

重篤な有害事象

重篤な有害事象（ＳＡＥ）は、用量にかかわらず生じたあらゆる好ましくない医療上の出来事であって、以下の出来事として定義される。

・死亡を引き起こす事象。この重篤基準に合うよう、この事象はＳＡＥの死因でなくてはならない。

・生命を脅かす事象。「生命を脅かす」という用語は、生じたときに被験者に死亡リスクがある事象のことをいい、さらに重篤であったのなら死亡していた仮説上の可能性があった事象を指すのではない。

・治療のための入院又は入院期間の延長が必要となる事象。２４時間以上の期間にわたる「入院又は入院期間の延長」はＳＡＥの定義基準として考える。予定された手術又は通常の疾患管理手順（例えば、化学療法）のための入院はＳＡＥの定義基準として考えない。

・永続的又は顕著な障害又は機能不全に陥る事象。

・先天的異常又は出生時欠損である事象。

・医学的に重要である事象。医学的に重要である事象は、これらのＳＡＥ基準のいずれにも必ずしも合わないが、医師によって被験者を危うくする可能性があると判断される事象又はＳＡＥ基準として挙げられた上記の結果のうちの１つを防ぐために医学的介入若しくは外科的介入を必要とすると判断される事象として定義される。

【０４９１】

上記の分類に入らない有害事象は非重篤ＡＥとして定義される。

【０４９２】

特に注目すべき有害事象

本試験時にＣＳＬ３２４の適切なベネフィットリスク評価を可能にするために特に注目すべきＡＥ（ＡＥＳＩ）として特に厳密にモニターされるいくつかのＡＥが存在し、これらの事象については追加データが要求される可能性がある。前記ＡＥＳＩは、

・グレード３及びグレード４の好中球減少症（それぞれ１×１０^{9}細胞／Ｌ未満のＡＮＣ及び０．５×１０^{9}細胞／Ｌ未満のＡＮＣ）

・グレード３及びグレード４の院内感染症

である。

【０４９３】

ＡＥの等級付けはＣＴＣＡＥ基準（第５版、２０１７年１１月２７日）による。

【０４９４】

有害事象の重症度

各ＡＥの重症度（すなわち、非重篤ＡＥ及び重篤なＡＥ）は以下のように評価される。
【表１３】

重症度	定義
軽症	一時的であることが通常であり、最小限の治療又は治療的介入しか必要としないことがあるタイプのＡＥである。この事象は日常活動の妨害にならないことが一般的である。
中等症	追加の特異的な治療的介入で改善されることが通常である種類のＡＥである。この事象は日常活動を妨げ、不快さを感じさせるが、被験者に対して重大又は永久的な危害のリスクをもたらすものではない。
重症	日常活動を妨げ、又は臨床状態に著しい影響を与え、又は集中的な治療的介入を必要とする場合がある種類のＡＥである。

国際的臨床試験データ標準作成コンソーシアム（ＣＤＩＳＣ）申請臨床試験データモデル（ＳＤＴＭ）有害事象重症度尺度用語法

【０４９５】
主要有効性の分析
本試験の主要エンドポイントは、試験治療の実施後２８日以内における気管内挿管又は死亡へ進行する割合である。その割合は、各治療群の被験者総数で除算された気管内挿管又は死亡まで進行した被験者の数として計算される。目的の治療効果（すなわち、推定値）は、追加の治療が用いられるかどうか又は最初のＳＯＣが変更されたかどうかと無関係に、標的集団内で気管内挿管又は死亡まで進行することのオッズ比（ＣＳＬ３２４＋ＳＯＣ対プラセボ＋ＳＯＣ）として定義される。ＩＴＴ分析セットが主要エンドポイント分析のために使用される。
【０４９６】
処理群、年齢（６５歳未満又は６５歳以上）、性別（男性又は女性）、及び喫煙状態（有り又は無し）を中に含むＦｉｒｔｈのロジスティック回帰モデルを使用して前記割合を２処理群間で比較する。９０％信頼区間（ＣＩ）が付けられている前記オッズ比（ＯＲ）及び片側ｐ値がこのモデルから推定される。ｍＩＴＴ分析セットが主要有効性エンドポイント感度分析のために使用される。
【０４９７】
副次的有効性の分析
以下の副次的有効性エンドポイントについて被験者の頻度と割合を要約する。
・全死因死亡率
・無作為割り当てから２８日目までの気管内挿管発生率
・８ポイントＮＩＡＩＤ順序尺度で評価された臨床状態
・独立して捕捉される（１）ＣＰＡＰ若しくはＢｉＰＡＰ、（２）ＨＦＮＣ、又は（３）ＥＣＭＯの使用
【０４９８】
主要有効性変数に使用される同じ検定方法が、前記２処理群間の副次的有効性エンドポイントを比較するためにも使用される。９５％信頼区間（ＣＩ）が付けられている前記オッズ比（ＯＲ）及び両側ｐ値を報告する。
【０４９９】
人工呼吸器非装着生存日数
被験者が生存し、且つ、人工呼吸器を装着していなかった日数の中央値を各処理群について分析する。
【０５００】
８ポイントＮＩＡＩＤ順序尺度での臨床状態の評価
８ポイントＮＩＡＩＤ順序尺度の各カテゴリー内の被験者の頻度と割合を各処理群について要約する。ベースラインからの少なくとも２ポイントの改善を示す被験者の頻度と割

合を分析する。
【０５０１】
入院期間
入院期間（ＬＯＳ）は、無作為割り当てから退院までの時間として定義される。この分析では退院しなかった（すなわち、退院日の記録がない）被験者は、その被験者が２８日間の試験治療期間を完了していなかった場合には最終の退院時評価日を退院までの時間とする。無作為割り当て後の最初の２８日以内に事象が無かった若しくは打ち切り時間が来なかった被験者又は死んだ被験者については管理上の打ち切りを２８日の時点で適用する。
【０５０２】
多臓器不全評価（ＳＯＦＡ）
ＳＯＦＡスコアのベースラインからの変化を処理群毎に要約する。連続変数の記述統計を報告する。ウィルコクソンのノンパラメトリック順位和検定を用いて前記２処理群を比較する。
【０５０３】
ＩＴＴ分析セット及びｍＩＴＴ分析セットが副次的有効性エンドポイント分析のために使用される。
【０５０４】
全ての分析は、α＝０．０５での両側検定に基づく。
【０５０５】
安全性分析
医薬規制用語集（ＭｅｄＤＲＡ）第２１．１版（又はそれ以後の版）を用いて有害事象をコード表記する。試験治療下発現有害事象（ＴＥＡＥ）は、試験治療の最初の実施時又は実施開始後に報告されたＡＥとして定義される。ＴＥＡＥだけを要約する。
【０５０６】
何らかのＴＥＡＥを有する被験者の数及びパーセンテージ、試験治療に関するＴＥＡＥを有する被験者の数及びパーセンテージ、試験治療の永久的な中断につながるＴＥＡＥを有する被験者の数及びパーセンテージ、用量改変につながるＴＥＡＥを有する被験者の数及びパーセンテージ、重篤なＴＥＡＥを有する被験者の数及びパーセンテージ、試験治療に関する重篤なＴＥＡＥを有する被験者の数及びパーセンテージ、致命的なＴＥＡＥを有する被験者の数及びパーセンテージ、試験治療に関する致命的なＴＥＡＥを有する被験者の数及びパーセンテージ、重症度毎のＴＥＡＥを有する被験者の数及びパーセンテージ、並びに特に注目すべきＴＥＡＥを有する被験者の数及びパーセンテージを含むＴＥＡＥの概要を作成する。
【０５０７】
ＴＥＡＥは、器官別大分類及び基本語毎に要約される。ＴＥＡＥは因果関係及び重症度毎でも要約される。全てのＴＥＡＥの要約は、各処理及び処理全体について提示される。
【０５０８】
血清中抗ＣＳＬ３２４抗体を有する被験者の数及びパーセンテージは、処理群毎及び処理群全体で要約される。
【０５０９】
臨床検査評価（血液学、生化学、及び尿検査）は、処理群毎に記述して要約される。
【０５１０】
バイタルサインの所見は被験者毎及び時点毎に記載される。各通院時の値及びベースラインからの変化は、処理群毎に記述して要約される。
【０５１１】
薬物動態分析
血清中ＣＳＬ３２４濃度についてのＰＫデータは、各処理の公称時間毎に要約される。血清中濃度の概要について以下の記述統計、すなわちｎ、算術平均、ＳＤ、ＣＶ％、中央値、幾何平均、最小値、及び最大値が提示される。

【０５１２】
ノンコンパートメント方法を用いて導出されるＣＳＬ３２４のＰＫパラメータは、処理群毎に記述して要約される。
【０５１３】
以下のＰＫパラメータが導出され、要約される。
・C_{max}
・投与期間の０時間から最後までのＡＵＣ（$AUC_{0\sim t}$）
・T_{max}
【０５１４】
T_{max}を除き全てのＰＫパラメータについて以下の記述統計、すなわちｎ、算術平均、ＳＤ、ＣＶ％、中央値、幾何平均、最小値、及び最大値が提示される。T_{max}についてはｎ、中央値、最小値、及び最大値が要約される。
【０５１５】
探索的分析
生存分析法を用いて以下の事象変数までの時間が分析される。
・機械的換気時間。挿管された被験者について単に挿管から抜管までの時間として定義される。この分析では抜管されなかった（すなわち、ＩＣＵから退室した日付の記録がない）被験者は、その被験者が２８日間の試験治療期間を完了していなかった場合には最後の抜管時評価日を抜管までの時間とする。無作為割り当て後の最初の２８日以内に事象が無かった若しくは打ち切り時間が来なかった被験者又は死んだ被験者については管理上の打ち切りを２８日の時点で適用する。
・ＩＣＵ滞在期間。ＩＣＵに入室した被験者について単にＩＣＵ入室からＩＣＵ退室までの時間として定義される。この分析ではＩＣＵを退室しなかった（すなわち、ＩＣＵから退室した日付の記録がない）被験者は、その被験者が２８日間の試験治療期間を完了していなかった場合には最後のＩＣＵ退室時評価日をＩＣＵ退室までの時間とする。無作為割り当て後の最初の２８日以内に事象が無かった若しくは打ち切り時間が来なかった被験者又は死んだ被験者について、管理上の打ち切りを２８日の時点で適用する。
【０５１６】
ＣＳＬ３２４のＰＤプロファイルは、探索的バイオマーカーアッセイを介して探索される。バイオマーカーデータは、各処理群の試験通院毎に要約される。連続変数について以下の記述統計、すなわちｎ、算術平均、ＳＤ、ＣＶ％、中央値、幾何平均、最小値、及び最大値が提示される。分類変数については数及びパーセンテージが処理群毎に提示される。
【０５１７】
ＩＴＴ分析セット及びｍＩＴＴ分析セットが探索的有効性分析のために使用され、ＰＤ分析セットが全てのＰＤ分析のために使用される。全ての分析は、$\alpha = 0.05$での両側検定に基づく。
【０５１８】
本明細書において引用される全ての刊行物の全体をここに参照により援用する。ＵＲＬ又は他のそのような識別子若しくはアドレスを参照する場合、そのような識別子は変更可能であり、インターネット上の特定の情報は移り変わることがあり、しかしインターネットを検索することによって同等の情報を見出し得ることが理解される。ＵＲＬ又は他のそのような識別子若しくはアドレスへの参照は、そのような情報の入手可能性及び公衆への普及の証拠となる。
【０５１９】
本明細書に含まれている文書、活動、材料、装置、物品、又はそのようなものについてのあらゆる考察は、単に本開示の内容を提示することを目的とする。そのような考察は、本出願の各請求の優先日よりも前に存在したため、これらのものの一部又は全てが先行技術基準の部分を形成すること又は本開示に関連する分野の共通一般知識であることを認めたものと理解されてはならない。

【図面】

【図１】

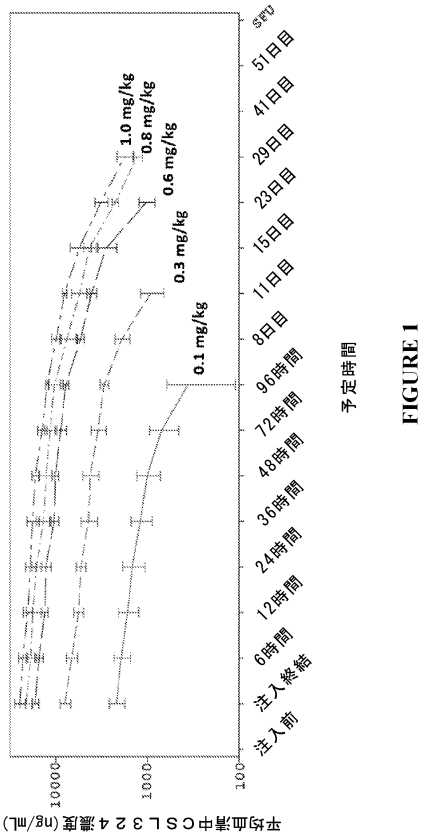


FIGURE 1

【図２】

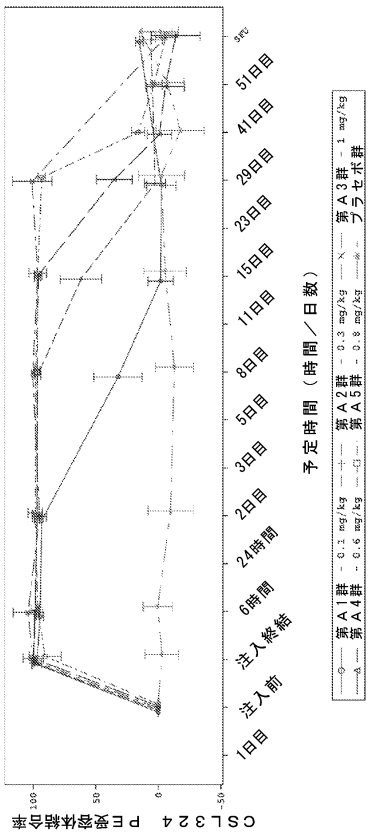


FIGURE 2

【図３】

投与群 被験者番号	注入前 1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	8日目	11日目	15日目	23日目	29日目	41日目	51日目	85日目 SFU
0.1 mg/kg CSL 324（第Ａ１群）													
0360045-0007													
0360045-0012													
0360045-0017		2	2	1			1			1		1	
0360045-0020		2	2	2	2								
0.3 mg/kg CSL 324（第Ａ２群）													
0360045-0028		1											
0360045-0032		1	2			1							
0360045-0036													
0360045-0044		1											
1.0 mg/kg CSL 324（第Ａ３群）													
0360045-0058		2	2	3	2						2		
0360045-0064										1			
0360045-0069			2	2	1			1	1	2	1		
0360045-0070		1		1	1	1			1	1			
0.6 mg/kg CSL 324（第Ａ４群）													
0360045-0127													
0360045-0132													
0360045-0133			1	1		1	2	1	1				
0360045-0140				1									
0.8 mg/kg CSL 324（第Ａ５群）													
0360045-0146		1			1	1		1	1	1			
0360045-0150			1			1				1	1		
0360045-0167										1			
0360045-0170													

FIGURE 3

【図４】

投与群 被験者番号	注入前 1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	8日目	21日目	注入前 22日目	23日目	24日目	29日目	42日目	注入前 43日目	44日目	45日目	49日目	56日目	63日目	70日目	129日目 SFU/ET
0.6 mg/kg CSL 324（パートＣ）																				
0360045-0203									1	1	2		2	2	1	2	1		2	
0360045-0207													1			1			1	
0360045-0222		1	1							1	1			2	1	3	1	1	2	
0360045-0224[3]		2	2	1	1	1			2	2	3	2	2	2	3	1	1	1		
0360045-0228			1				2	1	2	2				1	2	3	2	2	2	2
0360045-0235[4b]			2	3	1	1	2	2	1		1	1	2	2		3	2	2		

FIGURE 4

【図５】

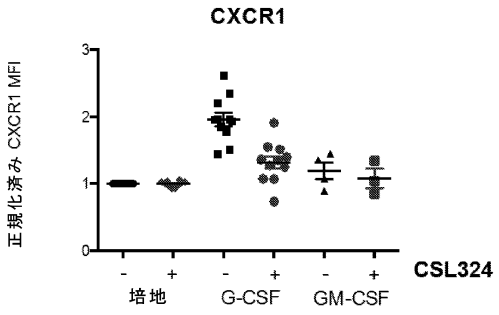


FIGURE 5A

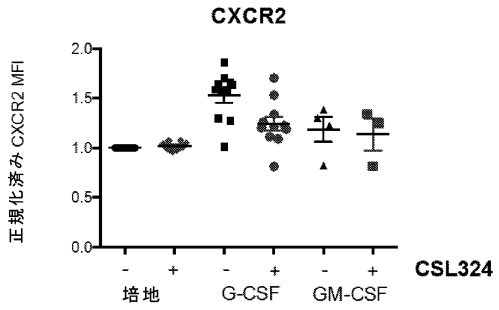


FIGURE 5B

【図６】

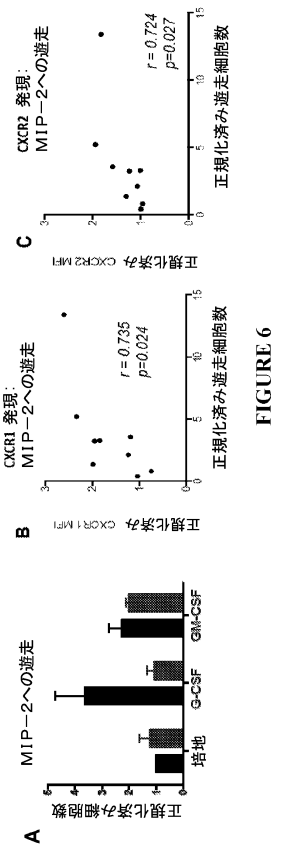


FIGURE 6

【図７】

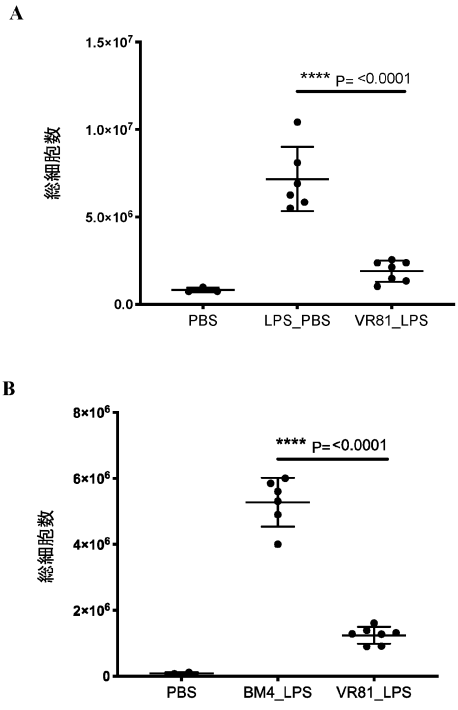


FIGURE 7

【図８】

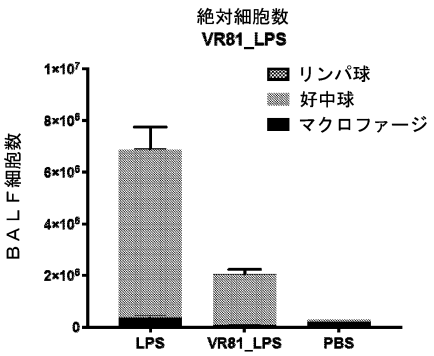


FIGURE 8

【図９】

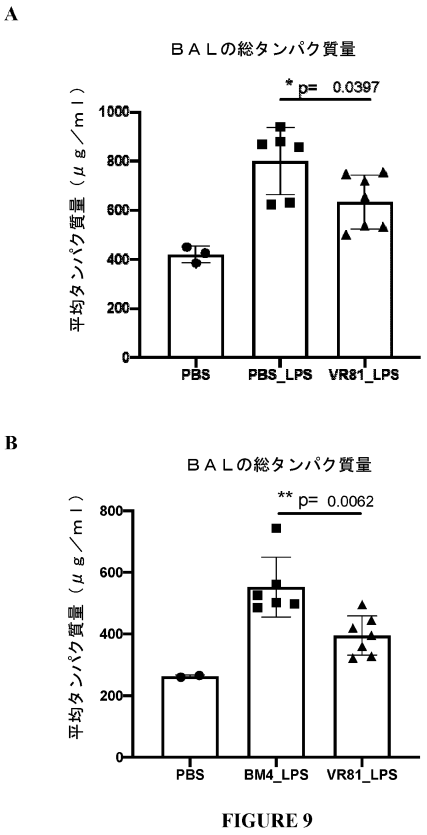


FIGURE 9

【図１０】

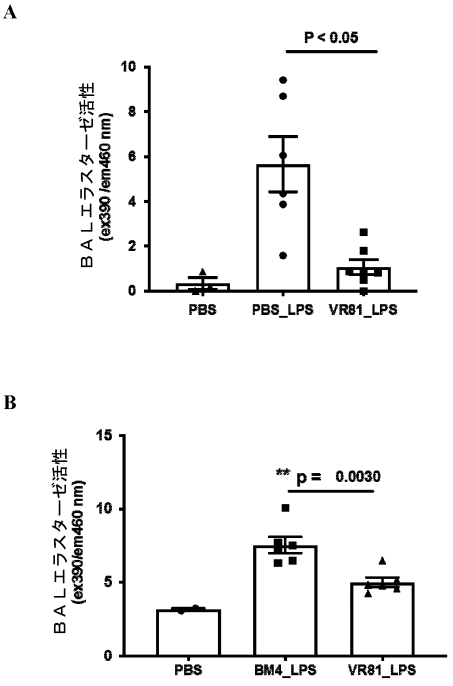


FIGURE 10

【図１１】

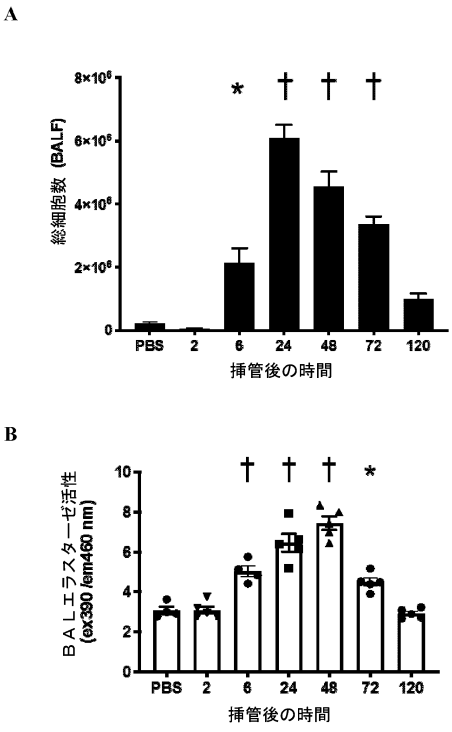


FIGURE 11

【図１２】

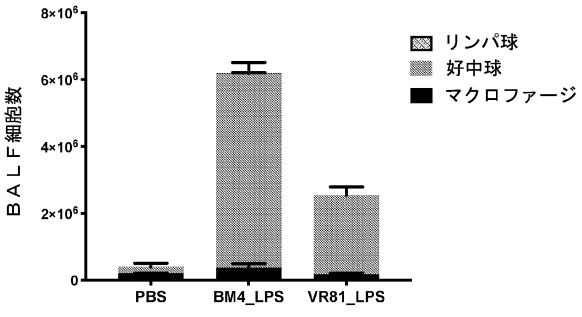


FIGURE 12

【図１３】

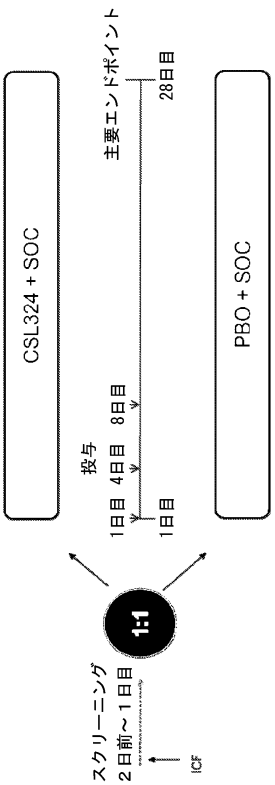


FIGURE 13

【図１４－１】

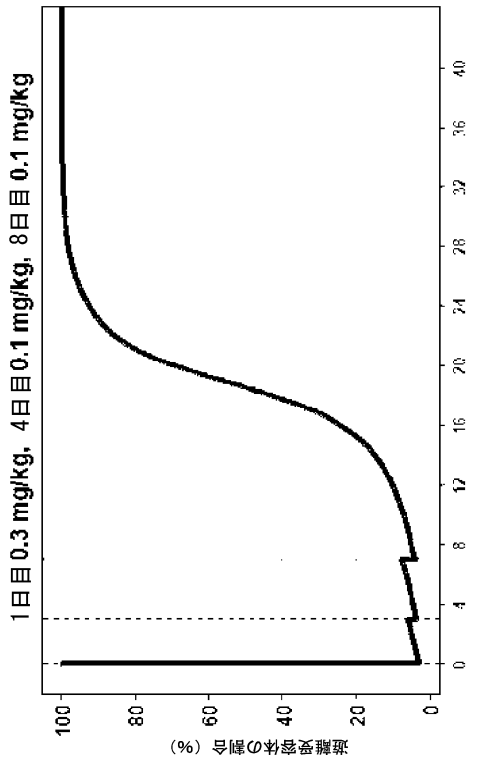


FIGURE 14

【図１４－２】

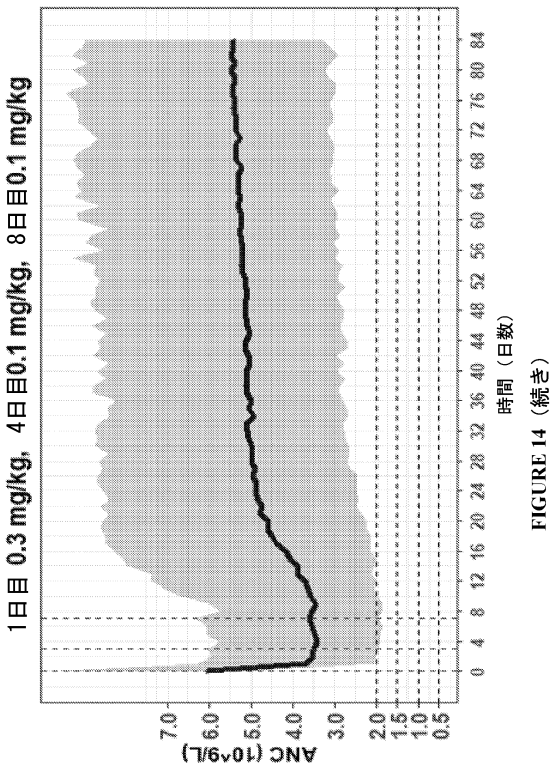


FIGURE 14（続き）

【図１５】

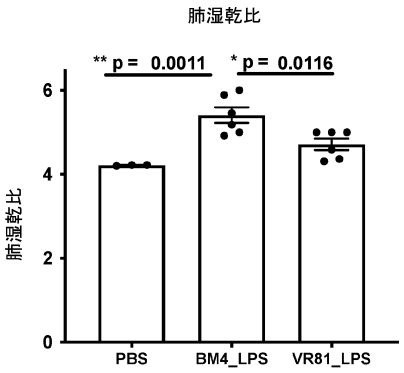


FIGURE 15

【配列表】

2023533658000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/AU2021/050568

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 39/395 (2006.01) A61K 38/18 (2006.01) A61P 11/00 (2006.01) A61P 37/06 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

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)

DATABASES: EPODOC, WPIAP, MEDLINE, PATENW, CAPLUS, BIOSIS, EMBASE, . Keywords: granulocyte colony stimulating factor, G-CSF or CSF3 or G-CSFR, inhibit, neutralize, antibody, immunoglobulin, anti-G-CSF, anti-G-CSFR, antigen binding protein, respiratory distress syndrome, ARDS, pulmonary, lung, respiratory, infection, inflammation, viral, bacterial, pneumonia, COVID-19, coronavirus, severe acute respiratory syndrome and like terms. GENOMEQUEST (all protein and/or nucleic acid databases). Sequences: SEQ ID NOs: 6, 7, 8 and 9, 10, 11; SEQ ID NOs: 2 and 3; SEQ ID NOs: 4 and 5; SEQ ID NOs: 14, 16 and 15. Applicant and/or Inventor searches of the patent and non-patent literature was performed using Patentscope, PubMed, and in internal databases provided by IP Australia.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	Documents are listed in the continuation of Box C	

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C [X] 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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
24 September 2021	24 September 2021
Name and mailing address of the ISA/AU	**Authorised officer**
AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA Email address: pct@ipaustralia.gov.au	Monica Graham AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. +61262833179

Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		International application No. PCT/AU2021/050568
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/017126 A1 (CSL LIMITED) 14 February 2008 (D1: see abstract, page 5 liens 6-23, page 8 lines 2-15, page 15 lines 24- page 16 line 14, page 17 lines 8-31, page 37 lines 20-page 38 line 11, and claims).	1-3, 7-13, and 22-34
X	WO 2019/124666 A2 (POSTECH ACADEMY-INDUSTRY FOUNDATION) 27 June 2019 (D2: see abstract, paragraphs [13]-[19], [42], [46], [54], [56] and claims).	1, 2, 7-13 and 22-34
X	US 2007/059280 A1 (Devalaraja et al.) 15 March 2007 (D3 see: abstract, paragraphs [0062], [0159]-[0161] and claims).	claims 1, 7-13 and 22-34
Y	WO 2019/178645 A1 (CSL LIMITED) 26 September 2019 (D4: see abstract, page 50 line 13- page 51 line 32, SEQ ID NO. 2, 3, 4, 5, 14, 15 and 16 and claims).	1-3, 6-19 and 22-34
Y	WANG, H. et al. "G-CSFR antagonism reduces neutrophilic inflammation during pneumococcal and influenza respiratory infections without compromising clearance." Sci Rep. 2019 Nov 27;9(1):17732. (D5: see whole document)	1-3, 6-19 and 22-34
Y	WANG, H. et al., "TSANZ Oral Presentations- Anti G-CSFR antibody treatment suppresses neutrophilic and type-2 lung inflammation in an allergic asthma model worsened by neonatal coinfection", RESPIROLOGY, (2018-03-14), vol. 23, no. S1, page 26. (D6: see whole document).	1-3, 6-19 and 22-34
Y	WO 20121/71057 A1 (CSL LIMITED) 20 December 2012 (D7: see abstract, page 18 line 21 – page 19 line 14, page 56 line 33 – page 58 line 15 SEQ ID NO. 2, 3, 4, 5, 64, 65 and 66).	1-3, 6-19 and 22-34
Y	Aggarwal A, et al. "G-CSF and IL-8 but not GM-CSF correlate with severity of pulmonary neutrophilia in acute respiratory distress syndrome." Eur Respir J. 2000 May;15(5):895-901. (D8: see whole document).	1-3, 6-19 and 22-34
P,A	WO 2020/113270 A1 (CSL INNOVATION) 11 June 2020 (D9: see abstract, page 5 line 3 – page 7 line 9 and claims)	1, 2, 10-19 and 22-32
P,A	Liao J, et al. "Progress on role of cytokine storm in exacerbation of coronavirus disease 2019 (COVID-19): Review." 2020 Oct;36(10):941-947. *Abstract only. (D10: see abstract).	4 and 5
P,X	WO 2020/248024 A1 (CSL INNOVATION PTY LTD) 17 December 2020 (D11: see page 16 lines 13-30, page 36 lines 32-35, page 39 line 16-18, page 60 lines 19-24, page 81 lines 24-34, Examples 5 and 6, claims, SEQ ID NOs. 36, 37, 38 and 39).	1, 2 and 10-32

Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/AU2021/050568

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. [X] forming part of the international application as filed:

      [X] in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      [ ] on paper or in the form of an image file.

   b. [ ] furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      [ ] in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

      [ ] on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. [ ] In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

   Genomequest search on SEQ ID NOs: 6, 7, 8 and 9, 10, 11; SEQ ID NOs: 2 and 3; SEQ ID NOs: 4 and 5; SEQ ID NOs: 14, 16 and 15.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members	International application No. PCT/AU2021/050568

This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	**Publication Date**	**Publication Number**	**Publication Date**
WO 2008/017126 A1	14 February 2008	WO 2008017126 A1	14 Feb 2008
		AU 2007283463 A1	14 Feb 2008
		AU 2007283463 B2	26 Apr 2012
		AU 2012201934 A1	26 Apr 2012
		CA 2661446 A1	14 Feb 2008
		EP 2056858 A1	13 May 2009
		EP 2056858 B1	25 Jun 2014
		EP 2526959 A1	28 Nov 2012
		EP 2526959 B1	02 Aug 2017
		JP 2010500291 A	07 Jan 2010
		JP 5235881 B2	10 Jul 2013
		NZ 574285 A	25 Nov 2011
		US 2009324591 A1	31 Dec 2009
		US 8574572 B2	05 Nov 2013
		US 2014056882 A1	27 Feb 2014
		US 9376682 B2	28 Jun 2016
WO 2019/124666 A2	27 June 2019	WO 2019124666 A2	27 Jun 2019
		KR 20190073917 A	27 Jun 2019
US 2007/059280 A1	15 March 2007	US 2007059280 A1	15 Mar 2007
		US 2002141994 A1	03 Oct 2002
		US 7108852 B2	19 Sep 2006
WO 2019/178645 A1	26 September 2019	WO 2019178645 A1	26 Sep 2019
		US 2021009677 A1	14 Jan 2021
WO 20121/71057 A1	20 December 2012	WO 2012171057 A1	20 Dec 2012
		AU 2012269720 A1	21 Mar 2013
		AU 2012269720 B2	22 Jan 2015
		BR 112013031943 A2	22 Nov 2016
		CA 2838246 A1	20 Dec 2012
		CN 103649123 A	19 Mar 2014
		CN 103649123 B	24 May 2017
		EP 2718326 A1	16 Apr 2014

Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members		International application No. **PCT/AU2021/050568**	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		**Patent Family Member/s**	
Publication Number	**Publication Date**	**Publication Number**	**Publication Date**
		EP 2718326 B1	19 Aug 2020
		IL 229468 A	31 May 2021
		JP 2014519517 A	14 Aug 2014
		JP 6187777 B2	30 Aug 2017
		KR 20140041717 A	04 Apr 2014
		KR 101822702 B1	26 Jan 2018
		MX 2013014711 A	01 Sep 2014
		MX 343580 B	10 Nov 2016
		NZ 617725 A	27 Feb 2015
		RU 2014100642 A	20 Jul 2015
		SG 195043 A1	30 Dec 2013
		US 2012321630 A1	20 Dec 2012
		US 9193793 B2	24 Nov 2015
		US 2016031998 A1	04 Feb 2016
		US 2017226214 A1	10 Aug 2017
		US 2019055313 A1	21 Feb 2019
		US 2021009701 A1	14 Jan 2021
WO 2020/113270 A1	11 June 2020	WO 2020113270 A1	11 Jun 2020
		AU 2019393334 A1	10 Jun 2021
		CA 3119192 A1	11 Jun 2020
		CN 113272326 A	17 Aug 2021
		KR 20210100638 A	17 Aug 2021
WO 2020/248024 A1	17 December 2020	WO 2020248024 A1	17 Dec 2020
End of Annex			

Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61P 43/00 (2006.01)		A61P	43/00	111	4C086
A61K 31/675 (2006.01)		A61K	31/675		4C091
A61K 31/4706 (2006.01)		A61P	43/00	121	4H045
A61K 31/513 (2006.01)		A61K	31/4706		
A61K 31/427 (2006.01)		A61K	31/513		
A61K 31/7052 (2006.01)		A61K	31/427		
A61K 38/16 (2006.01)		A61K	31/7052		
A61K 31/573 (2006.01)		A61K	38/16		
A61K 31/616 (2006.01)		A61K	39/395	N	
A61K 31/4178 (2006.01)		A61K	31/573		
A61K 31/366 (2006.01)		A61K	31/616		
A61K 31/519 (2006.01)		A61K	31/4178		
C07K 16/28 (2006.01)		A61K	31/366		
C07K 16/24 (2006.01)		A61K	31/519		
C07K 19/00 (2006.01)		C07K	16/28		
C07K 14/765 (2006.01)		C07K	16/24		
C07K 14/705 (2006.01)		C07K	19/00		
C07D 215/46 (2006.01)		C07K	14/765		
C07D 239/10 (2006.01)		C07K	14/705		
C07D 277/28 (2006.01)		C07D	215/46		
C07H 17/00 (2006.01)		C07D	239/10		
C07J 5/00 (2006.01)		C07D	277/28		
C07D 403/10 (2006.01)		C07H	17/00		
C07D 309/30 (2006.01)		C07J	5/00		
C07D 487/04 (2006.01)		C07D	403/10		
		C07D	309/30	D	
		C07D	487/04	140	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士　池田 達則

(72)発明者　アドリアーナ バズ モレッリ
オーストラリア国，ビクトリア ３０５２，パークビル，ポプラー ロード ４５，シー／オー シーエスエル リミティド

(72)発明者　イアン キース キャンベル
オーストラリア国，ビクトリア ３０５２，パークビル，ポプラー ロード ４５，シー／オー シーエスエル リミティド

(72)発明者　カロリーナ クルスチェブスキ
オーストラリア国，ビクトリア ３０５２，パークビル，ポプラー ロード ４５，シー／オー シーエスエル リミティド

Ｆターム（参考）　4C050 AA01 BB04 CC08 EE03 FF10 GG01 HH04
4C057 BB02 CC03 DD01 KK30
4C063 AA01 BB06 CC47 DD25 EE01
4C084 AA02 AA03 AA17 BA01 BA08 BA22 BA23 MA02 NA05 NA14
ZA59 ZB33 ZC41 ZC75
4C085 AA13 AA14 EE01 EE03
4C086 AA01 AA02 BA17 BC28 BC42 BC62 BC82 CB05 DA10 DA17
DA38 EA12 GA07 GA10 MA01 MA02 MA04 MA07 NA05 NA14 ZA59
ZB33 ZC41 ZC75

Fターム（参考） 5
4C091 AA01 BB03 BB05 CC01 DD01 EE07 FF01 GG01 HH03 JJ03
KK12 LL01 MM03 NN04 PA03 PA05 PA09 PB02 QQ01
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA41 CA40 DA11 DA50 DA70 DA75
EA20 FA74