(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7624220号
(P7624220)

(45)発行日　令和7年1月30日(2025.1.30)

(24)登録日　令和7年1月22日(2025.1.22)

(51)国際特許分類

		FI		
A61K 39/395 (2006.01)		A61K	39/395	Y
A61P 27/02 (2006.01)		A61P	27/02	
A61K 9/08 (2006.01)		A61K	9/08	
A61K 47/10 (2017.01)		A61K	47/10	
A61K 47/32 (2006.01)		A61K	47/32	

請求項の数　28　（全59頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-524375(P2021-524375)
(86)(22)出願日　令和1年11月8日(2019.11.8)
(65)公表番号　特表2022-512946(P2022-512946A)
(43)公表日　令和4年2月7日(2022.2.7)
(86)国際出願番号　PCT/US2019/060566
(87)国際公開番号　WO2020/097528
(87)国際公開日　令和2年5月14日(2020.5.14)
審査請求日　令和4年11月7日(2022.11.7)
(31)優先権主張番号　62/855,253
(32)優先日　令和1年5月31日(2019.5.31)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/757,641
(32)優先日　平成30年11月8日(2018.11.8)
最終頁に続く

(73)特許権者　503060525
ザ ボード オブ トラスティーズ オブ ザ ユニバーシティ オブ イリノイ
アメリカ合衆国イリノイ州 ６１８０１ アーバナ サウス ライト ストリート ５０６ ヘンリー アドミニストレーション ビルディング ３５２
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(72)発明者　ジェイン， サンディープ
アメリカ合衆国 イリノイ ６０６１２，シカゴ， エス． ウッド ストリート ８４０
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　自己抗体媒介性眼疾患の治療および診断

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

対象の眼の表面上または眼内の自己抗体の作用に関連する眼の疾患または状態を治療するための眼科用製剤であって、前記眼科用製剤が、

（ａ）ｉ）１つ以上の薬学的に許容される眼科用賦形剤、およびｉｉ）プールされたヒト血漿、

（ｂ）ｉ）１つ以上の薬学的に許容される眼科用賦形剤、ｉｉ）プールされた血漿由来ヒト免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）、およびｉｉｉ）プールされたヒト血漿タンパク質、プールされたヒト血漿脂質もしくはそれらの組合せ、または

（ｃ）ｉ）１つ以上の薬学的に許容される眼科用賦形剤およびｉｉ）プールされた血漿由来ヒト免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）

を含む、眼科用製剤。

【請求項２】

ステロイド、抗炎症剤、粘液溶解剤、ＰＡＤ酵素阻害剤（パクリタキセル、グルココルチコイドまたはＣｌ－アミジン）またはＮＥＴ分解剤（ＤＮａｓｅまたはヘパリン）、標的Ｆａｂ抗体フラグメント、Ｆｃ受容体遮断ペプチド、Ｆｃ受容体遮断抗体、病原性エピトープを含む組換えペプチド、従来の合成ＤＭＡＲＤ（メトトレキサート、レフルノミド／テリフルノミド、スルファサラジン、クロロキン／ヒドロキシクロロキン）、ＴＮＦ－α標的療法（インフリキシマブ、アダリムマブ、エタネルセプト、ゴリムマブ、セルトリズマブペゴル）、Ｂ細胞標的療法（リツキシマブ、オファツムマブ、ベリムマブ、アタシ

セプト、タバルマブ）、Ｔ細胞標的療法（アバタセプト、ベラタセプト）、インターロイキン標的療法（トシリズマブ、アナキンラ、カナキヌマブ、リロナセプト、セクキヌマブ）、増殖因子および分化因子（デノスマブ、マブリリムマブ）、ＪＡＫ経路阻害剤（トファシチニブ、バリシチニブ、フィルゴチニブ）、ならびにそれらの組み合わせから選択される薬学的に活性な化合物をさらに含む、請求項１に記載の眼科用製剤。

【請求項３】

前記薬学的に許容される眼用賦形剤のうちの１つ以上が、シクロデキストリン、カルボポールもしくはカルボマーもしくはアクリル酸ポリマー、ポロキサマー、ポリオール、プルロニック（登録商標）、キシログルカン、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、エチル（ヒドロキシエチル）セルロース、シュードラテックス、セルロースアセテートフタレート、ジェランガム、アルギン酸塩、カラギーナン、ヒアルロン酸、酢酸ナトリウム、エデト酸二ナトリウム、ヒプロメロース、酢酸、アルコール、アルギン酸、アメルコールキャブ（Ａｍｅｒｃｈｏｌ－ｃａｂ）、アンチピリン、塩化ベンザルコニウム、臭化ベンゾドデシニウム、ホウ酸、カフェイン、塩化カルシウム、カルボマー１３４２、カルボマー９３４Ｐ、カルボマー９４０、カルボマーホモポリマータイプＢ（アリルペンタエリスリトール架橋）、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシエチルセルロース、ヒマシ油、セチルアルコール、クロロブタノール、クエン酸、クエン酸一水和物、クエン酸緩衝液、クレアチニン、ジビニルベンゼンスチレンコポリマー、エチレンビニルアセテートコポリマー、ジェランガム（低アシル）、グリセリン、ステアリン酸グリセリル、ヒプロメロース、ラノリン、塩化ラウラルコニウム、ラウロイルサルコシン、塩化マグネシウム、メチルパラベン、ミネラルオイル、ノノキシノール－９、オクトキシノール－４０、ペトロラタム、フェニルエチルアルコール、酢酸フェニル水銀、硝酸フェニル水銀、リン酸緩衝液、塩化ポリドロニウム、ポロキサマー１８８もしくは４０７、ポリカルボフィル、ポリエチレングリコール４００もしくは８０００、ポリオキシル３５ヒマシ油、ポリオキシル４０水素化ヒマシ油、ポリオキシル４０ステアレート、ポリプロピレングリコール、ポリソルベート２０、ポリソルベート８０、ポリビニルアルコール、塩化カリウム、ソルベートカリウム、ポビドンＫ２９／３２、ポビドンＫ３０、ポビドンＫ９０、ポビドン、防腐剤、プロピレングリコール、プロピルパラベン、ソーダ灰、酢酸ナトリウム、重硫酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム十水和物、炭酸ナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、メタ重硫酸ナトリウム、硝酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、ソルビン酸、ソルビトール、安定化オキシクロロ錯体、硫酸、チメロサール、二酸化チタン、トコフェルソラン、クエン酸三ナトリウム二水和物、トリス緩衝液、トロメタミン、チロキサポール、植物油、キサンタンガム、塩化亜鉛、またはそれらの組み合わせから選択される、請求項１または２に記載の眼科用製剤。

【請求項４】

前記製剤が、約０．１％～約９９％のプールされた血漿タンパク質を含む、請求項１～３のいずれか１項に記載の眼科用製剤。

【請求項５】

前記製剤が、約０．０１重量ｍｇ／ｍＬ～約１重量ｇ／ｍＬのプールされたＩｇＧを含む、請求項１～３のいずれか１項に記載の眼科用製剤。

【請求項６】

前記眼科用製剤中に存在するプールされたＩｇＧの量が、約０．４％～約４％の範囲である、請求項１～３のいずれか１項に記載の眼科用製剤。

【請求項７】

前記眼科用製剤が約１％のプールされたＩｇＧを含む、請求項６に記載の眼科用製剤。

【請求項８】

臨床状態の治療または予防の必要がある患者の眼の表面上または眼内の自己抗体の作用に関連する臨床状態の治療または予防における使用のための眼科用組成物であって、請求項１～７のいずれか１項に記載の眼科用製剤を含み、前記臨床状態が、炎症性眼表面疾患

もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である、眼科用組成物。
【請求項９】
臨床状態に罹患している患者の眼の表面上または眼内の自己抗体の作用に起因する眼の不快感の軽減、緩和または予防における使用のための眼科用組成物であって、請求項１～７のいずれか１項に記載の眼科用製剤を含み、ここで、前記臨床状態が、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である、眼科用組成物。
【請求項１０】
前記眼の不快感が、異物感、疼痛、光過敏症、刺痛、刺激、痛み、乾燥、灼熱感、発赤、かゆみまたはチクチク感のうちの１つ以上を含む、請求項９に記載の使用のための眼科用組成物。
【請求項１１】
前記患者は、生物学的サンプル中に存在する自己抗体を有し、前記自己抗体は抗シトルリン化タンパク質抗体である、請求項８～１０のいずれか一項に記載の使用のための眼科用組成物。
【請求項１２】
前記生物学的サンプルは眼液である、請求項１１に記載の使用のための眼科用組成物。
【請求項１３】
前記臨床状態が、眼移植片対宿主疾患（ｏＧＶＨＤ）、スティーブン・ジョンソン症候群、眼瘢痕性ペンフィゴイド（ＯＣＰ）、軽度、中等度および重度の涙液欠乏性乾燥眼疾患（ＤＥＤ）、メイボミアン腺疾患、麦粒腫、眼性酒さ、眼瞼炎、上方輪部角結膜炎（ＳＬＫ）、十分な涙液性ＤＥＤ、フロッピー眼瞼症候群、神経栄養性眼疾患、症状－徴候切断（不一致ＤＥＤ）、神経障害性疼痛、甲状腺眼疾患（墓眼症）、関節リウマチ関連眼疾患、ループス関連眼疾患、シェーグレン症候群、続発性シェーグレン症候群、眼性酒さ、アレルギー性角結膜炎（春季性）、タイゲソン角膜炎、網膜グリオーシス、無虹彩、角膜炎または術後／外傷後の眼の状態、眼の表面再建手術、眼表面への代謝産物の適用、翼状片手術、緑内障手術、白内障手術、屈折矯正手術（ＬＡＳＩＫ、ＬＡＳＥＫ、またはＰＲＫ）、角膜プロテーゼ手術もしくは、放射線もしくは化学物質（アルカリまたは酸性）もしくは外傷性損傷に関連する眼の状態、末梢潰瘍角膜炎、角膜炎、上強膜炎、強膜炎、ブドウ膜炎および緑内障を含む、炎症性眼疾患または免疫学的眼疾患である、請求項８～１２のいずれか一項に記載の使用のための眼科用組成物。
【請求項１４】
前記眼科用製剤が、点眼製剤、局所液剤、ゲル製剤、エマルジョン製剤、懸濁液製剤、軟膏製剤または注射用製剤として投与され、前記点眼製剤は角膜および眼内浸透を可能にする、請求項８～１３のいずれか１項に記載の使用のための眼科用組成物。
【請求項１５】
前記眼科用製剤が少なくとも１日１回前記患者に投与されるか、または前記眼科用製剤、薬剤または眼科用組成物が、前記対象に少なくとも１～３週間に１回投与される、請求項８～１３のいずれか１項に記載の使用のための眼科用組成物。
【請求項１６】
前記眼科用製剤が眼内注射として眼内に投与される、請求項８～１５のいずれか１項に記載の使用のための眼科用組成物。
【請求項１７】
臨床状態の治療または予防の必要がある患者の眼の表面上または眼内の自己抗体の作用に起因する臨床状態の治療または予防のための薬剤の調製のための眼科用組成物の使用であって、前記眼科用組成物は請求項１～７のいずれか１項に記載の眼科用製剤を含み、前記臨床状態が、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である、使用。
【請求項１８】

臨床状態に罹患している患者の眼の表面上または眼内の自己抗体の作用に起因する眼の不快感の軽減、緩和または予防のための薬剤の調製のための眼科用組成物の使用であって、前記眼科用組成物は請求項１～７のいずれか１項に記載の眼科用製剤を含み、ここで、前記臨床状態が、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である、使用。

【請求項１９】

前記眼の不快感が、異物感、疼痛、光過敏症、刺痛、刺激、痛み、乾燥、灼熱感、発赤、かゆみまたはチクチク感のうちの１つ以上を含む、請求項１８に記載の使用。

【請求項２０】

前記患者は、生物学的サンプル中に存在する自己抗体を有する、請求項１７～１９のいずれか一項に記載の使用。

【請求項２１】

前記生物学的サンプル中に存在する前記自己抗体は抗シトルリン化タンパク質抗体である、請求項２０に記載の使用。

【請求項２２】

前記生物学的サンプルは眼液である、請求項２０または２１に記載の使用。

【請求項２３】

前記臨床状態が、眼移植片対宿主疾患（ｏＧＶＨＤ）、スティーブン・ジョンソン症候群、眼瘢痕性ペンフィゴイド（ＯＣＰ）、軽度、中等度および重度の涙液欠乏性乾燥眼疾患（ＤＥＤ）、メイボミアン腺疾患、麦粒腫、眼性酒さ、眼瞼炎、上方輪部角結膜炎（ＳＬＫ）、十分な涙液性ＤＥＤ、フロッピー眼瞼症候群、神経栄養性眼疾患、症状－徴候切断（不一致ＤＥＤ）、神経障害性疼痛、甲状腺眼疾患（墓眼症）、関節リウマチ関連眼疾患、ループス関連眼疾患、シェーグレン症候群、続発性シェーグレン症候群、眼性酒さ、アレルギー性角結膜炎（春季性）、タイゲソン角膜炎、網膜グリオーシス、無虹彩、角膜炎または術後／外傷後の眼の状態、眼の表面再建手術、眼表面への代謝産物の適用、翼状片手術、緑内障手術、白内障手術、屈折矯正手術（ＬＡＳＩＫ、ＬＡＳＥＫ、またはＰＲＫ）、角膜プロテーゼ手術もしくは、放射線もしくは化学物質（アルカリまたは酸性）もしくは外傷性損傷に関連する眼の状態、末梢潰瘍角膜炎、角膜炎、上強膜炎、強膜炎、ブドウ膜炎および緑内障を含む、炎症性眼疾患または免疫学的眼疾患である、請求項１７～２２のいずれか一項に記載の使用。

【請求項２４】

前記眼科用製剤が、角膜および眼内浸透を可能にする点眼製剤、局所液剤、ゲル製剤、エマルジョン製剤、懸濁液製剤、軟膏製剤または注射用製剤として投与される、請求項１７～２３のいずれか１項に記載の使用。

【請求項２５】

前記眼科用製剤が少なくとも１日１回前記患者に投与されるか、または前記眼科用製剤、薬剤または眼科用組成物が、前記対象に少なくとも１～３週間に１回投与される、請求項１７～２４のいずれか１項に記載の使用。

【請求項２６】

前記眼科用製剤が眼内注射として眼内に投与される、請求項１７～２５のいずれか１項に記載の使用。

【請求項２７】

臨床状態に罹患している患者の眼の表面上または眼内の自己抗体の作用に起因する眼の不快感の軽減、緩和または予防における使用のためのキットであって、

（ｉ）請求項１～７のいずれか一項に記載の眼科用製剤、ならびに

（ｉｉ）前記キットを使用するための、および前記眼科用製剤の投与を実施するための説明書

を含む、キット。

【請求項２８】

診断キットであって、

眼液中の抗シトルリン化タンパク質自己抗体の濃度を決定するための試験装置、および
前記眼液中の前記抗シトルリン化タンパク質自己抗体濃度の損傷効果を治療および／または低減するために十分な、請求項１～７のいずれか一項に記載の眼科用製剤を投与するための治療的治療用量およびレジメンを示すための投薬装置を含む、診断キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の相互参照

本願は、２０１８年１１月８日に出願された米国仮特許出願第６２／７５７，６４１号および２０１９年５月３１日に出願された米国仮特許出願第６２／８５５，２５３号の利益を主張し、その全内容は参照により本明細書に完全に組み込まれる。

【０００２】

連邦政府の資金による研究に関する声明

本開示は、国立眼病研究所（ＮＥＩ）および米国国立衛生研究所（ＮＩＨ）によって授与された助成番号Ｒ０１ＥＹ０２４９６６の下で米国政府の支援を受けてなされた。米国政府は、本開示において一定の権利を有する。

【０００３】

本開示は、炎症性、免疫学的、アレルギー性、感染性、および外傷性の眼表面および／または眼内眼疾患を予防または治療するために、眼表面および／または眼内における自己抗体の濃度または有害作用を低減することができる眼科用製剤に関する。

【背景技術】

【０００４】

炎症性、免疫学的、アレルギー性、感染性、および外傷性の眼表面および眼内眼疾患は、眼の不快感、眼の発赤、ドライアイ症候群、結膜炎、角膜炎、瞼球癒着（ｓｙｍｂｌｅｐｈｅｒｏｎ）形成、結膜円蓋短縮化（ｆｏｒｎｉｘ　ｆｏｒｅｓｈｏｒｔｅｎｉｎｇ）、眼瞼辺縁／結膜角膜化、および結膜下線維症を引き起こす可能性がある。より具体的なタイプの眼表面疾患には、眼移植片対宿主疾患（ｏＧＶＨＤ）、スティーブン・ジョンソン症候群（Ｓｔｅｖｅｎ　Ｊｏｈｎｓｏｎ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、眼瘢痕性ペンフィゴイド（ＯＣＰ）、軽度、中等度および重度の涙液欠乏性乾燥眼疾患（ＤＥＤ）、メイボミアン腺疾患、眼性酒さ、麦粒腫、眼瞼炎、上方輪部角結膜炎（ＳＬＫ）、十分な涙液性ＤＥＤ、フロッピー眼瞼症候群、神経栄養性眼疾患、症状－徴候切断（不一致ＤＥＤ）、神経障害性疼痛、甲状腺眼疾患（墓眼症）、関節リウマチ関連眼疾患、ループス関連眼疾患、シェーグレン症候群、続発性シェーグレン症候群、眼性酒さ、アレルギー性角結膜炎（春季性）、ウイルス性角結膜炎（アデノウイルスＥＫＣ、ヘルペスウイルス）、タイゲソン角膜炎、無虹彩、角膜炎または術後／外傷後の眼の状態、末梢潰瘍角膜炎、角膜炎、上強膜炎、強膜炎、網膜グリオーシス、ブドウ膜炎（前部または後部）および緑内障（開放角または角閉鎖または正常張力）を含む、炎症性眼疾患、感染性眼疾患または免疫学的眼疾患が挙げられる。

【０００５】

これらの眼表面疾患のいくつか、特にドライアイ症候群の従来の治療法には、（ｉ）涙液の補充および刺激のための人工涙液の点滴注入、および（ｉｉ）眼表面の炎症を軽減するための抗炎症薬物の使用が含まれる。一般に、現在のドライアイ治療には、人工涙液製品／潤滑剤の局所塗布、涙液貯留管理、涙液分泌の刺激、抗生物質（例えば、エリスロマイシンまたはバシトラシン軟膏）の局所塗布、テトラサイクリン（例えば、テトラサイクリン、ドキシサイクリン、またはミノサイクリン）の経口投与、抗炎症化合物およびコルチコステロイドの適用が挙げられる。いくつかの眼内疾患の従来の治療法には、（ｉ）眼圧を下げるための治療および（ｉｉ）ステロイド眼内注射が挙げられる。これらの治療法は、多くの場合、時間がかかり、いら立たしく、しばしば効果がないか、効果がさまざまである。さらに、従来の治療法は、ドライアイ症候群の症状をある程度軽減するのに効果的であるが、灼熱感や刺痛感など、多くの望ましくない副作用がある。局所的な副作用を

減らし、患者の快適さと治療への反応を高めることは、本開示の目的の１つである。
【０００６】
眼表面疾患治療における従来の治療の別の欠点は、角膜細胞への医薬品有効成分の一貫性のない取り込み、および継続的な適用なしに眼表面疾患症候群を効果的に治療するための角膜におけるそれらの滞留時間である。軟膏またはクリーム製剤はより長い滞留時間を可能にするかもしれないが、そのような製剤は角質層（皮膚の表層角質化層）を破壊せず、眼瞼組織のより深いところに存在する血管および神経に到達しないかもしれない。
【０００７】
従来の治療に関連するさらに別の問題は、根底にある原因が直接対処されていないことである。眼表面疾患の原因を発見することで、より効果的な治療が可能になる。従来の治療法は、ほとんどの部分で、眼表面疾患の症状のみを治療する。
【０００８】
したがって、眼表面および眼内疾患に関連する臨床状態の効果的な治療のための診断キット、組成物、および方法に対する継続的な必要性が存在する。さらに、眼表面および眼内疾患の根底にある原因に対処する必要性が存在する。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００９】
本開示のいくつかの態様は、（ａ）１つ以上の薬学的に許容される眼科用賦形剤、および（ｂ）免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）またはそのフラグメントを含む眼科用製剤を提供する。
【００１０】
本開示のいくつかの態様は、（ａ）１つ以上の薬学的に許容される眼科用賦形剤、および（ｂ）プールされた血漿由来のプールされたヒト免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）を含む眼科用製剤を提供する。
【００１１】
さらに、本開示は、（ａ）１つ以上の薬学的に許容される眼科用賦形剤、および（ｂ）炎症性、感染性、免疫学的、アレルギー性、および／または外傷性の眼表面疾患または眼内疾患からなる群から選択される臨床状態の治療のための眼の薬学的に活性な化合物であって、薬学的に活性な化合物はＩｇＧを含む、化合物を含む眼科用製剤を提供する。
【００１２】
様々な態様において、本開示は、眼の表面上または眼内における自己抗体の量またはその有害な生物学的効果を低減することができる薬学的に活性な化合物を含む眼科用製剤を提供し、そのような自己抗体は、シトルリン化タンパク質に応答して生成されるか（本明細書では、「ＡＣＰＡ自己抗体」と称され、これは、タンパク質のシトルリン化に応答して生成される）、または自己抗体は、ホモシトルリン化タンパク質に応答して生成される（本明細書では、「抗ＣａｒＰ抗体」と称され、これは、タンパク質のカルバミル化に応答して生成される）、またはネイティブ自己抗体が、ネイティブタンパク質に応答して生成される。シトルリン化（ｃｉｔｒｕｌｌｉｎａｔｏｉｎ）およびカルバミル化は、タンパク質の２種類の翻訳後修飾（ＰＴＭ）である。関連する態様において、薬学的に活性な化合物は、免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）またはそのフラグメントを含む。これらの眼科用製剤はまた、１つ以上の薬学的に許容される眼科用賦形剤を含み得る。
【００１３】
様々な態様において、開示される眼科用製剤は、薬学的に許容される眼科用賦形剤のうちの１つ以上を含む。例えば、薬学的に許容される眼用賦形剤は、シクロデキストリン、カルボポールもしくはカルボマーもしくはアクリル酸ポリマー、ポロキサマー、キシログルカン、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、エチル（ヒドロキシエチル）セルロース、シュードラテックス、セルロースアセテートフタレート、ジェランガム、アルギン酸塩、カラギーナン、ヒアルロン酸、酢酸ナトリウム、エデト酸二ナトリウム、ヒプロメロース、酢酸、アルコール、アルギン酸、アメルコールキャブ（Ａｍｅｒ

ｃｈｏｌ－ｃａｂ）、アンチピリン、塩化ベンザルコニウム、臭化ベンゾドデシニウム、ホウ酸、カフェイン、塩化カルシウム、カルボマー１３４２、カルボマー９３４Ｐ、カルボマー９４０、カルボマーホモポリマータイプＢ（アリルペンタエリスリトール架橋）、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒマシ油、セチルアルコール、クロロブタノール、クエン酸、クエン酸一水和物、クレアチニン、ジビニルベンゼンスチレンコポリマー、エチレンビニルアセテートコポリマー、ジェランガム（低アシル）、グリセリン、ステアリン酸グリセリル、ヒプロメロース、ラノリン、塩化ラウラルコニウム、ラウロイルサルコシン、塩化マグネシウム、メチルパラベン、ミネラルオイル、ノノキシノール－９、オクトキシノール－４０、ペトロラタム、フェニルエチルアルコール、酢酸フェニル水銀、硝酸フェニル水銀、塩化ポリドロニウム、ポロキサマー１８８もしくは４０７、ポリカルボフィル、ポリエチレングリコール４００もしくは８０００、ポリオキシル３５ヒマシ油、ポリオキシル４０水素化ヒマシ油、ポリオキシル４０ステアレート、ポリプロピレングリコール、ポリソルベート２０、ポリビニルアルコール、塩化カリウム、ソルベートカリウム、ポビドンＫ２９／３２、ポビドンＫ３０、ポビドンＫ９０、ポビドン、プロピレングリコール、プロピルパラベン、ソーダ灰、酢酸ナトリウム、重硫酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム十水和物、炭酸ナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、メタ重硫酸ナトリウム、硝酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、ソルビン酸、ソルビトール、安定化オキシクロロ錯体、硫酸、チメロサール、二酸化チタン、トコフェルソラン、クエン酸三ナトリウム二水和物、トロメタミン、チロキサポール、キサンタンガム、塩化亜鉛、またはそれらの組み合わせから選択される。

【００１４】

本開示のさらに別の態様は、（ａ）薬学的に許容される眼科用賦形剤、（ｂ）プールされたヒト免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）を含む治療有効量の薬学的に活性な化合物、および／または（ｃ）治療有効量のプールされたヒト血漿タンパク質、プールされたヒト血漿脂質、もしくはそれらの組み合わせを含む眼科用製剤を提供する。本明細書で使用される場合、「治療的に有効な」という用語は、免疫調節効果または自己抗体を中和する能力を有することを含む。

【００１５】

開示された眼科用製剤のいずれにおいても、薬学的に活性な化合物は、自己血漿／血清から精製された自己ＩｇＧ、多量体化されたＩｇＧ１Ｆｃ分子、ＩｇＧ１Ｆｃヘキサマー、ＩｇＧ２ａ　Ｆｃマルチマー、ストラドマー（ｓｔｒａｄｏｍｅｒ）、多価Ｆｃ構造、糖鎖工学処理されたシアル化ＩｇＧ、ＩｇＧ－Ｆｃグリコシル化、合成ＩｇＧおよびそのフラグメント、またはそれらの組み合わせを含み得る。

【００１６】

様々な態様において、開示された眼科用製剤のいずれも、ステロイド、メチルプレドニゾン、プレドニゾン、デキサメタゾン、シクロスポリン、非ステロイド性抗炎症薬であるリフィテグラスト（登録商標）などの抗炎症剤、Ｎ－アセチルシステイン、ナシステリン、Ｎ－アセチルグルコサミンなどの粘液溶解剤、ＰＡＤ酵素阻害剤（パクリタキセル、グルココルチコイドまたはＣｌ－アミジン）または解体するＮＥＴ分解剤（ＤＮａｓｅまたはヘパリン）、標的Ｆａｂ抗体フラグメント、Ｆｃ受容体遮断ペプチド、Ｆｃ受容体遮断抗体、病原性エピトープを含む組換えペプチド、従来の合成ＤＭＡＲＤ（メトトレキサート、レフルノミド／テリフルノミド、スルファサラジン、クロロキン／ヒドロキシクロロキン）、ＴＮＦ－α標的療法（インフリキシマブ、アダリムマブ、エタネルセプト、ゴリムマブ、セルトリズマブペゴル）、Ｂ細胞標的療法（リツキシマブ、オファツムマブ、ベリムマブ、アタシセプト、タバルマブ）、Ｔ細胞標的療法（アバタセプト、ベラタセプト）、インターロイキン標的療法（トシリズマブ、アナキンラ、カナキムマブ、リロナセプト、セクキヌマブ）、増殖因子および分化因子（デノスマブ、マブリリムマブ）、ＪＡＫ経路阻害剤（トファシチニブ、バリシチニブ、フィルゴチニブ）、ならびにそれらの組み合わせから選択される第２の薬学的に活性な化合物をさらに含むことができる。

【００１７】
いくつかの実施形態において、上記眼科用製剤中に存在するＩｇＧの濃度または量は、例えば、約０．０１重量ｍｇ／ｍＬ～約１重量ｇ／ｍＬ（１０００重量ｍｇ／ｍＬ）、または約０．０５重量ｍｇ／ｍｌ～約１重量ｇ／ｍｌ、または約０．１重量ｍｇ／ｍｌ～約１ｇ／ｍｌ、または約０．１重量ｍｇ／ｍｌ～約０．５ｍｇ／ｍｌ、または０．０５重量ｍｇ／ｍｌ～約０．５重量ｍｇ／ｍｌ、または０．０１重量ｍｇ／ｍｌ～約０．１重量ｍｇ／ｍｌの範囲である。特定の実施形態において、ＩｇＧの濃度または量は、約０．０１ｍｇ／ｍＬであり得、他の実施形態において、ＩｇＧの濃度または量は、約０．０５ｍｇ／ｍＬであり得る。特定の実施形態において、ＩｇＧの濃度または量は、約１ｍｇ／ｍＬであり得、他の実施形態において、ＩｇＧの濃度または量は、約１０ｍｇ／ｍＬであり得る。

【００１８】
様々な実施形態において、ＩｇＧの濃度または量は、約０．０１ｍｇ／ｍＬ、０．０２ｍｇ／ｍＬ、０．０３ｍｇ／ｍＬ、０．０４ｍｇ／ｍＬ、０．０５ｍｇ／ｍＬ、０．０６ｍｇ／ｍＬ、０．０７ｍｇ／ｍＬ、０．０８ｍｇ／ｍＬ、０．０９ｍｇ／ｍＬ、０．１ｍｇ／ｍＬ、０．１５ｍｇ／ｍＬ、０．２ｍｇ／ｍＬ、０．２５ｍｇ／ｍＬ、０．３ｍｇ／ｍＬ、０．３５ｍｇ／ｍＬ、０．４ｍｇ／ｍＬ、０．４５ｍｇ／ｍＬ、０．５ｍｇ／ｍＬ、０．５５ｍｇ／ｍＬ、０．６ｍｇ／ｍＬ、０．６５ｍｇ／ｍＬ、０．７ｍｇ／ｍＬ、０．７５ｍｇ／ｍＬ、０．８ｍｇ／ｍＬ、０．８５ｍｇ／ｍＬ、０．９ｍｇ／ｍＬ、０．９５ｍｇ／ｍＬ、１．０ｍｇ／ｍＬ、１．５ｍｇ／ｍＬ、２．０ｍｇ／ｍＬ、２．５ｍｇ／ｍＬ、３．０ｍｇ／ｍＬ、３．５ｍｇ／ｍＬ、４ｍｇ／ｍＬ、４．５ｍｇ／ｍＬ、５ｍｇ／ｍＬ、５．５ｍｇ／ｍＬ、６ｍｇ／ｍＬ、６．５ｍｇ／ｍＬ、７ｍｇ／ｍＬ、７．５ｍｇ／ｍＬ、８ｍｇ／ｍＬ、８．５ｍｇ／ｍＬ、９ｍｇ／ｍＬ、９．５ｍｇ／ｍＬ、１０ｍｇ／ｍＬ、２０ｍｇ／ｍＬ、３０ｍｇ／ｍＬ、４０ｍｇ／ｍＬ、５０ｍｇ／ｍＬ、６０ｍｇ／ｍＬ、７０ｍｇ／ｍＬ、８０ｍｇ／ｍＬ、９０ｍｇ／ｍＬ、１００ｍｇ／ｍＬ、１５０ｍｇ／ｍＬ、２００ｍｇ／ｍＬ、２５０ｍｇ／ｍＬ、３００ｍｇ／ｍＬ、３５０ｍｇ／ｍＬ、４００ｍｇ／ｍＬ、４５０ｍｇ／ｍＬ、５００ｍｇ／ｍＬ、５５０ｍｇ／ｍＬ、６００ｍｇ／ｍＬ、６５０ｍｇ／ｍＬ、７００ｍｇ／ｍＬ、７５０ｍｇ／ｍＬ、８００ｍｇ／ｍＬ、８５０ｍｇ／ｍＬ、９００ｍｇ／ｍＬ、９５０ｍｇ／ｍＬ、または１０００ｍｇ／ｍＬであり得る。

【００１９】
様々な例示的な実施形態において、ＩｇＧの量は、約１０ｍｇ／ｍＬ以下である。特定の実施形態において、眼科用製剤は、約０．１ｍｇ／ｍＬ以下、約０．１５ｍｇ／ｍＬ以下、０．２ｍｇ／ｍＬ、約０．２５ｍｇ／ｍＬ以下、約０．３ｍｇ／ｍＬ以下、約０．３５ｍｇ／ｍＬ以下、約０．４ｍｇ／ｍＬ以下、約０．４５ｍｇ／ｍＬ以下、約０．５ｍｇ／ｍＬ以下、約０．５５ｍｇ／ｍＬ以下、約０．６ｍｇ／ｍＬ以下、約０．６５ｍｇ／ｍＬ以下、約０．７ｍｇ／ｍＬ以下、約０．７５ｍｇ／ｍＬ以下、約０．８ｍｇ／ｍＬ以下、約０．８５ｍｇ／ｍＬ以下、約０．９ｍｇ／ｍＬ以下、約０．９５ｍｇ／ｍＬ以下、または約１．０ｍｇ／ｍＬ以下である濃度または量のＩｇＧを含むことができる。

【００２０】
「プールされた血漿由来のプールされたヒト免疫グロブリンＧ」という用語は、いくつかのドナーからプールされた未分画血漿を、その後分画して分離された免疫グロブリンＧを指す。本開示は、ＩｇＧ濃度（０．０１％から１０％）に基づいて様々な希釈で単回使用スポイトまたは複数回投与ボトルに、分画されずに分配される、いくつかのドナーからプールされた血漿を含む眼科用組成物を提供する。血漿のプールは、処理工程の前に行うこともできる。このプールされた血漿および免疫グロブリン（ＰＰＩＧ）調製物は、従来の血漿製品が１人の対象の血液から調製されるのに対し、ＰＰＩＧ調製物は数百から数千人の健常対象のプールされた血漿から作られるという点で、従来の血漿製品（例えば、ＰＲＰ）とは異なる。最終生成物は、血小板および血小板活性化生成物の有無にかかわらず、プールされたＩｇＧおよび血漿タンパク質を含む。プールされた血漿由来ＩｇＧはまた

、血漿脂質を含み得る。
【００２１】
さらに別の反復では、数百から数千の健常対象からのプールされた血漿由来のプールされたヒト免疫グロブリンＧ（０．０１％から１０％の濃度）が、眼用賦形剤とともに血漿または血清（同種または自己）に製剤化される。この眼科用製剤は、プールされたＩｇＧを中和する自己抗体と、血清／血漿のタンパク質、サイトカイン、および増殖因子を促進する眼表面再生との組み合わせを提供する。
【００２２】
様々な態様において、開示された眼科用製剤のいずれかに存在するＩｇＧは、血清／血漿由来のプールされた免疫グロブリンＧ（ＯＳＩＧ：眼表面免疫グロブリン）、多量体化ＩｇＧ１　Ｆｃ分子（ＩｇＧ１　ＦｃヘキサマーＩｇＧ２ａ　Ｆｃ多量体（ストラドマー）、多価Ｆｃ構造、またはそれらの組み合わせを含む。
【００２３】
様々な態様において、開示された眼科用製剤のいずれかに存在するＩｇＧは、１つ以上の抗体ドメインが切り詰められているかまたは存在しない抗原結合フラグメント、遺伝子操作された抗体またはそのタンパク質結合フラグメント、一本鎖抗体、または１つより多くのエピトープに結合できる抗体もしくは１つ以上の異なる抗原に結合できる抗体である。例えば、ＩｇＧのフラグメントは、抗原結合フラグメント、一本鎖抗体、Ｆｖフラグメント、ＦａｂフラグメントＦａｂ’フラグメント、またはＦ（ａｂ）２フラグメントである。
【００２４】
様々な態様において、開示された眼科用製剤のいずれかに存在するＩｇＧは、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、およびＩｇＧ４またはそれらの組み合わせを含む。追加的または代替的に、ＩｇＧは、ＩｇＧを含む幹細胞調製物、製造されたＩｇＧまたはＩｇＧ幹細胞、糖鎖工学シアル化ＩｇＧ、ＩｇＧ－Ｆｃグリコシル化など、またはそれらの組み合わせなどの任意の適切な供給源を含むか、またはそれらに由来し得る。
【００２５】
様々な態様において、開示された眼科用製剤のいずれかに存在するＩｇＧは、プロテインＡビーズを使用するアフィニティークロマトグラフィーなどの分離プロセスまたは別のＩｇＧ分離プロセスを使用して自己血漿／血清から精製された自己ＩｇＧの事前選択された濃縮物を含む。
【００２６】
様々な態様において、開示された眼科用製剤のいずれかに存在するＩｇＧは、自己免疫抗体またはシトリル化タンパク質に特異的に結合する抗体を中和する。
【００２７】
様々な態様において、開示された眼科用製剤のいずれかのｐＨは、約ｐＨ６～約ｐＨ８、または約ｐＨ６．２～約ｐＨ７．２、約ｐＨ６．４～約ｐＨ７．４、または約ｐＨ６．５～約ｐＨ７．５、約ｐＨ６．６～約ｐＨ７．６、約ｐＨ６．８～約ｐＨ７．８である。例えば、このｐＨは、約６．０、または約６．１、または約６．２、または約６．３、または約６．４、または約６．５、または約６．６、または約６．７、または約６．８、または約６．９、または約７．０、または約７．１、または約７．２、または約７．３、または約７．４、または約７．５、または約７．６、または約７．７、または約７．８、または約７．９、または約８．０である。
【００２８】
様々な態様において、開示された眼科用製剤のいずれかは、ポリビニルアルコール、ポビドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポロキサマー、ポリオール、カルボポール、プルロニック（登録商標）、カルボマー、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、シクロデキストリン、リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、トリス緩衝液、塩化ナトリウム、塩化カリウム、ポリソルベート８０、植物油、防腐剤またはそれらの組み合わせを含む１つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む。

【００２９】
開示された眼科用製剤のいずれかを使用して、粘膜での炎症性、感染性、または免疫性疾患を治療するか、または粘膜での免疫調節効果を示すことができる。眼科用製剤は、炎症性、感染性または免疫性疾患を治療するか、または口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および腔、滑膜（関節）腔、膣腔または皮膚の上の粘膜で免疫調節効果を有する可能性がある。
【００３０】
様々な態様において、開示された眼科用製剤は、防腐剤を含む複数用量バイアルまたは防腐剤を含まない単回用量滅菌容器を含む。
【００３１】
様々な態様において、本開示は、本明細書に開示されるような眼科用製剤を患者に投与する工程を含む、必要とする患者の臨床状態を治療する方法を提供し、この臨床状態は、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、感染性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である。様々な態様において、本開示は、本明細書に開示されるような眼科用製剤を患者に投与する工程を含む、必要とする患者の炎症性、感染性および／または免疫学的眼疾患を治療する方法を提供する。
【００３２】
様々な態様において、本開示は、本明細書に開示される眼科用製剤を患者に投与する工程を含む、臨床状態に罹患している患者の眼の不快感を軽減、軽減または予防する方法を提供し、この臨床状態は、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、感染性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である。これらの方法のいずれにおいても、眼の不快感は、異物感、光過敏症、刺痛、刺激、痛み、乾燥、灼熱感、発赤、かゆみまたはチクチク感のうちの１つ以上を含む。
【００３３】
本開示は、本明細書に開示されるような眼科用製剤を患者に投与する工程を含む、必要とする患者の臨床状態を治療する方法を提供し、この臨床状態は、口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および腔、滑膜（関節）腔、膣腔、または皮膚上での粘膜の炎症性、感染性および／または免疫性疾患である。
【００３４】
本開示はまた、本明細書に開示されるような眼科用製剤を患者に投与する工程を含む、必要とする患者の粘膜に免疫調節効果を誘導する方法を提供し、この粘膜は、口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および空洞、滑膜（関節）空洞、膣腔または皮膚上にある。
【００３５】
本開示はまた、患者の必要性における臨床状態の治療のための薬剤の調製のための眼科用製剤の使用を提供し、この臨床状態は、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、感染性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である。様々な態様において、本開示は、臨床状態に罹患している患者の眼の不快感を軽減、緩和、または予防するための薬剤を調製するための任意の眼科用製剤の使用を提供し、この臨床状態は、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、感染性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である。これらの用途のいずれにおいても、眼の不快感は、異物感、疼痛、光過敏症、刺痛、刺激、痛み、乾燥、火傷、発赤、かゆみまたはチクチク感のうちの１つ以上を含む。
【００３６】
本開示はまた、必要とする患者の臨床状態の治療のための薬剤の調製のための本明細書に開示される眼科製剤の使用を提供し、この臨床状態は、口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および腔、滑膜（関節）腔、膣腔、または皮膚上での粘膜の炎症性、感染性および／または免疫性疾患である。さらに、本開示は、必要とする患者の粘膜に免疫調節効果を誘導するための薬剤の調製のための、本明細書に開示される眼科製剤の使用を提供し、この粘膜は、口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および腔、滑膜（関節）腔

、膣腔、または皮膚上にある。

【００３７】

本開示はまた、臨床状態の治療における使用のための、本明細書に記載の眼科用製剤のいずれかを含む組成物を提供する。様々な態様において、組成物は、必要とする患者の炎症性、感染性、および／または免疫学的眼疾患を治療するために使用され得る。様々な態様において、本明細書に記載の眼科用製剤のいずれかを含む組成物は、臨床状態に罹患している患者の眼の不快感を軽減、緩和または予防するために使用され得、この臨床状態は、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、感染性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である。関連する態様において、眼の不快感は、異物感、疼痛、光過敏症、刺痛、刺激、痛み、灼熱感、乾燥、発赤、かゆみ、またはチクチク感のうちの１つ以上を含む。

【００３８】

本開示は、必要とする患者の臨床状態を治療するための組成物を提供し、この組成物は、本明細書に開示される眼科製剤を含み、臨床状態は、口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および腔、滑膜（関節）腔、膣腔、または皮膚上における粘膜における炎症性、感染性および／または免疫性疾患である。さらに、本開示は、必要とする患者の粘膜に免疫調節効果を誘導するための組成物を提供し、この組成物は、本明細書に開示されるような眼科用製剤を含み、粘膜は、口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および空洞、滑膜（関節）空洞、膣腔または皮膚上においてである。

【００３９】

本明細書の例示的な方法、使用および組成物に従って治療可能な例示的な臨床状態には、免疫性眼疾患、代謝性眼疾患、アレルギー性眼疾患、外傷性眼疾患、感染性眼疾患、および遺伝性眼疾患が含まれるが、これらに限定されず、例えば、眼移植片対宿主疾患（ｏＧＶＨＤ）、スティーブン・ジョンソン症候群、眼瘢痕性ペンフィゴイド（ＯＣＰ）、軽度、中等度および重度の涙液欠乏性乾燥眼疾患（ＤＥＤ）、メイボミアン腺疾患、麦粒腫、眼性酒さ、眼瞼炎、上方輪部角結膜炎（ＳＬＫ）、十分な涙液性ＤＥＤ、フロッピーまぶた症候群、神経栄養性眼疾患、症状－徴候切断（不一致ＤＥＤ）、神経障害性疼痛、甲状腺眼疾患（墓眼症）、関節リウマチ関連眼疾患、ループス関連眼疾患、シェーグレン症候群、続発性シェーグレン症候群、眼性酒さ、アレルギー性角結膜炎（春季性）、ウイルス性角結膜炎（アデノウイルスＥＫＣ、ヘルペスウイルス）、タイゲソン角膜炎、網膜グリオーシス、ウイルス性角結膜炎（アデノウイルスＥＫＣ、ヘルペスウイルス）、タイゲソン角膜炎、無虹彩、角膜炎または術後／外傷後の眼の状態、末梢潰瘍角膜炎、角膜炎、上強膜炎、強膜炎、ブドウ膜炎（前部または後部）、および緑内障（開放角または狭角または通常の張力）であるが、これらに限定されない。例えば、本明細書の例示的な方法は、無菌炎症（例えば、ＰＵＫ）によるか、またはウイルス（例えば、アデノウイルス上皮下浸潤、ヘルペスウイルス樹状上皮潰瘍）、細菌（例えば、ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ，ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ）もしくは真菌（例えば、ｃａｎｄｉｄａ、ａｃａｎｔｈａｍｏｅｂａ）感染症による角膜炎などの様々な状態から生じる疾患を治療するために使用することができる。さらに、本明細書の例示的な方法は、術後／外傷後の眼の状態、あるいは眼の表面再建手術、眼表面への代謝産物の適用、翼状片手術、緑内障手術、白内障手術、屈折矯正手術（ＬＡＳＩＫ、ＬＡＳＥＫ、またはＰＲＫ）、角膜プロテーゼ手術、硝子体網膜手術または放射線もしくは化学物質（アルカリまたは酸性）もしくは外傷性損傷に関連する眼の状態を治療するために使用することができる。

【００４０】

様々な態様において、患者は、生物学的サンプル中に自己抗体を有する。関連する態様において、生物学的サンプルに存在する自己抗体は、抗シトルリン化タンパク質抗体である。特定の態様において、生物学的サンプルは眼液である。様々な態様において、眼液は、涙液、洗眼液、前房水または後部硝子体液である。

【００４１】

本開示は、そのような治療を必要とする患者に治療有効量の治療量の同種または自己Ｉ

ｇＧ眼科用製剤を投与する工程を含む、眼疾患を治療するための方法を提供する。本開示はまた、そのような治療を必要とする患者の眼疾患の治療のための薬剤の調製のための治療量の同種または自己のＩｇＧ眼科用製剤の使用を提供する。さらに、本開示は、治療有効量の治療量の同種異系または自己ＩｇＧ眼科用製剤を、そのような治療を必要とする患者に含む、眼疾患を治療するための組成物を提供する。

【００４２】

開示された方法、使用、または組成物のいずれにおいても、眼科用製剤は、点眼製剤、局所液体、ゲル製剤、エマルジョン製剤、懸濁液製剤、軟膏製剤、または注射可能な製剤として投与される。眼科用製剤、薬剤、または組成物は、対象に少なくとも１日１回投与することができる。様々な実施形態において、ＩｇＧ点眼製剤は、対象に１日１回、２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回、または１０回投与される。実施形態において、ＩｇＧ眼科用製剤は、１～３週間に少なくとも１回対象に投与される。様々な実施形態において、ＩｇＧ眼科用製剤の１つ以上の用量は、毎週、隔週、毎月、または隔月で投与される。様々な態様において、ＩｇＧの濃度は、５％、１０％、または２０％の眼表面免疫グロブリン（ＯＳＩＧ）溶液によって定義される。様々な実施形態において、投与されるＩｇＧの濃度は、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％、または２０％のＯＳＩＧ溶液である。さらに別の実施形態において、ＩｇＧ眼科用製剤は、眼内注射として眼内に投与される。実施形態において、ＩｇＧ眼科用製剤は、点眼薬または軟膏として眼の表面に投与される。

【００４３】

特定の実施形態において、プールされたＩｇＧ眼科用製剤（修飾または非修飾）は、ヒト対象からの血液を使用して製造され、次いで、特定の濃度で同じ対象の眼表面または眼内に投与される。組織全体へのＯＳＩＧの送達を可能にするために、結膜下またはテノン嚢下注射を実施するか、またはＯＳＩＧ調製物を変更することができる（ポリマー／生物学的球、粒子または膜などのナノテクノロジーを使用（表面修飾ありまたはなし）。ＯＳＩＧの浸透を高める他の方法には、ベンザルコニウムなどの浸透剤を使用すること、イオントフォレーシスなどの電荷ベースの戦略、またはコンタクトレンズや涙点プラグでの粘度や吸着を高めるなどによる眼表面での滞留時間を増加させることが含まれる。ＯＳＩＧ点眼薬はマイクロエマルジョンとして製剤化することができる。角膜との接触時間およびＯＳＩＧ点眼薬の生物学的利用能は、生体膜を通って拡散せず、水中で三次元ネットワークを形成する高分子量の親水性ポリマーを使用して粘度を高めることによって増加する可能性がある。そのようなポリマーの例には、ポリビニルアルコール、ポロキサマー、ヒアルロン酸、カルボマー、カルボポール、および多糖類、すなわち、セルロース誘導体、ジェランガム、およびキサンタンガムが挙げられる。ＯＳＩＧ点眼薬の角膜および眼内浸透は、キレート剤、防腐剤（塩化ベンザルコニウムなど）、界面活性剤、および胆汁酸塩を使用して、またはシクロデキストリン複合体を使用することによって、角膜上皮構造の連続性を変更することによって強化できる。眼内送達または角膜、結膜下または涙腺への送達には、ＯＳＩＧのポリマー、固体、マルチコンパートメントドラッグデリバリーシステムが使用される。

【００４４】

ナノ粒子は、生分解性、生体適合性、天然、または合成ポリマーから構築されたポリマー担体であり、多くの場合粘膜付着特性を備えている。その開発に使用される成分は、眼球への適用を目的として、ポリ（シアノアクリレートアルキル）、ポリ乳酸、ポリ（イプシロン－カプロラクトン）、ポリ（乳酸－コ－グリコール酸）、キトサン、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、およびアルブミンである。これらの形態は、ナノスフィア、ＯＳＩＧが散乱する高密度ポリマーマトリックスから構築された固体のモノリシック球、および固体または液体の形態でＯＳＩＧを取り囲むポリマー膜から構築されたリザーバーを構成するナノカプセルに分けることができる。リポソームは、眼組織全体にＯＳＩＧを送達するためにも使用される。リポソームは、通常、ホスファチジルコリン、ステアリルアミン

、およびさまざまな量のコレステロールまたはレシチンとα－Ｌ－ジパルミトイルホスファチジルコリンで構成されるリン脂質薬物担体である。ニオソーム、ディスコソーム、およびデンドリマーは、眼組織全体にＯＳＩＧを送達するためにも使用される。

【００４５】

別の実施形態において、本開示は、対象における自己抗体の存在を検出する方法を提供し、この方法は、対象が眼表面障害に罹患しているか、または眼表面障害を発症するリスクがある、対象から得られた眼液のサンプル中の自己抗体のレベルを検出することを含む。関連する態様において、この方法は、対象から得られたサンプル中の自己抗体のレベルを対照の自己抗体のレベルと比較する工程をさらに含む。例えば、眼液は、涙液、洗眼液、前房房水または後眼房硝子体液である。

【００４６】

本開示はまた、対象における眼表面障害を診断し、その発症のリスクを決定し、またはそれをモニタリングする方法を提供し、この方法は、対象から得られたサンプル中の自己抗体のレベルを検出し、対象から得られたサンプル中の抗体のレベルを、上記自己抗体の対照レベルと比較することを含み、上記自己抗体の対照レベルが、対象において、眼表面障害を診断するため、その発症するリスクを決定するため、またはそれをモニタリングするために使用される。関連する態様において、自己抗体は、ネイティブ自己抗体、抗ＣａｒＰ自己抗体、またはＡＣＰＡ抗体である。様々な態様において、自己抗体は、複数の自己抗体を含む。関連する態様において、自己抗体を検出する抗原は、シトルリン化タンパク質、シトルリン化ペプチド配列、またはそれらの組み合わせを含む。関連する態様において、自己抗体を検出する抗原は、カルバミル化タンパク質、カルバミル化ペプチド配列、またはそれらの組み合わせを含む。

【００４７】

開示された方法のいずれにおいても、サンプルは眼液であり、眼液は涙液、洗眼液、前房房水または後眼房硝子体液である。

【００４８】

開示された方法のいずれにおいても、自己抗体のレベルは、酵素法、分光法、クロマトグラフィー法、免疫学的方法、またはそれらの組み合わせによって検出される。例示的な実施形態において、方法は、眼表面障害の進行を決定する工程、または眼表面障害に罹患しているか、罹患している疑いがあるか、もしくはその素因がある対象における治療の有効性を決定する工程を含むことができる。開示された方法のいずれにおいても、自己抗体の制御レベルは、治療開始前の対象における上記自己抗体のレベル、治療の初期段階における対象における上記自己抗体のレベル、またはそれらの組み合わせを含む。

【００４９】

本開示はまた、シトルリン化タンパク質、シトルリン化ペプチド配列、またはそれらの組み合わせを含む自己抗体を検出するための一連の抗原パネルを含む診断キットを提供する。診断キットは、本明細書に記載の方法のいずれかを実行するために使用することができる。

【００５０】

例示的な実施形態において、Ｆｃ受容体遮断組成物は、眼の用途のために製剤化することができる。例えば、Ｆｃ受容体遮断組成物は、眼のペプチド濃度を遮断するＦｃ受容体、および任意選択で適切な担体によってさらに規定することができる。別の実施形態において、Ｆｃ受容体遮断組成物は、眼の抗体濃度を遮断するＦｃ受容体、および任意選択で適切な担体によってさらに規定することができる。さらに、Ｆｃ遮断組成物は、粘膜での炎症性、感染性、もしくは免疫性疾患を治療するために、または粘膜で免疫調節効果を示すために使用され得る。Ｆｃ遮断組成物は、口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および腔、滑膜（関節）腔、膣腔、または皮膚上での粘膜で、炎症性、感染性もしくは免疫性疾患を治療するか、または免疫調節効果を示すために使用され得る。

【００５１】

本開示はまた、濃縮された眼または粘膜部位のＩｇＧ組成物を提供する。本明細書の原

理に従って、濃縮された眼のＩｇＧ組成物が示されている。組成物は、抗炎症剤をさらに含むことができる。

【００５２】

本開示はまた、眼免疫疾患の治療のための治療用量を提供し、この眼免疫疾患は、治療部位から除去された眼液から決定される抗シトルリン化タンパク質自己抗体のレベルによって示され、治療用量は、濃縮された眼のＩｇＧ組成物を使用して製剤化することができる。特定の実施形態において、治療用量は、対象がドライアイ疾患などの免疫疾患に罹患している場合に、対象から除去された涙に基づいて決定することができる。特定の実施形態において、治療用量は、ＡＣＰＡ抗体の濃縮された量および／または治療部位での適用を介した効果を低減するための濃度の濃縮された眼のＩｇＧ組成物によってさらに規定される組成物を含み得る。例えば、治療用量は、約０．０１重量ｍｇ／ｍＬから約１重量ｇ／ｍＬの範囲の濃縮された眼のＩｇＧ組成物を含むことができる。

【００５３】

いくつかの実施形態において、診断キットは、涙液などの眼液中の抗シトルリン化タンパク質自己抗体の濃度を決定するための試験装置、ならびに、眼液中の抗シトルリン化タンパク質自己抗体濃度の損傷効果を治療および／または低減するのに十分な治療的処置用量およびレジメンを示すための投薬装置を含む。関連する態様において、眼液は、涙液、洗眼液、前房水または後部硝子体液である。

【００５４】

例示的な実施形態において、治療部位から除去された眼液において検出された免疫損傷の治療用量を作製する方法は、治療部位に投与されたときに抗シトルリン化タンパク質自己抗体のレベルおよび／または効果を低減するように構成されたＩｇＧの濃度を提供すること、ならびに、その濃度のＩｇＧに担体を添加し、それにより、治療部位へのＩｇＧの送達を可能にするように構成された治療用量を形成することを含む。

【００５５】

別の例示的な実施形態において、治療用量を製造する方法は、約０．０１％～約２０％の眼表面免疫グロブリン（ＯＳＩＧ）の範囲内、または約０．１％～約０．５％のＯＳＩＧの範囲内、または約０．４％～約１％のＩｇＧの濃度の範囲内のＯＳＩＧ溶液を提供することを含み得る。例えば、約０．０１％、０．０５％、０．１％、０．２％、０．３％、０．４％、０．５％、１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％、または２０％のＩｇＧの濃度のＯＳＩＧ溶液である。一実施形態において、製剤は、ヒトの細胞に対するその毒性を試験するために、ＯＳＩＧフレボガンマ５％ＤＩＦを使用して作成された（図１９）。４ｍｇ／ｍＬのフレボガンマ５％ＤＩＦの濃度は、ヒト上皮細胞に対して無毒であり、したがって、適切な例示的な実施形態である。ＯＳＩＧ溶液は、市販のＩｇＧまたはプールされた血漿ＩｇＧを使用して製造できる。市販の調製物を使用して非毒性濃度のＯＳＩＧ溶液で製剤化された他の実施形態もまた、本明細書の原理による適切な例である。関連する態様において、この方法は、診断キットで検出された応答によって規定される治療期間中、少なくとも１日に２回かつ１か月に２回、または任意の他の適切な時間、または免疫もしくは炎症状態の改善を達成するための期間、または試験装置が、濃度が正常範囲内にあることを示すまでの期間、治療用量を治療部位に定期的に送達する工程をさらに含む。

【００５６】

実施形態において、Ｂ細胞標的化眼組成物は、点眼薬、または眼もしくは他の粘膜疾患を治療するための他の適切な送達方法として製剤化されたリツキシマブなどの適切なＢ細胞組成物を含むことができる。例えば、Ｂ細胞標的化眼組成物は、口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および腔、滑膜（関節）腔、膣腔、または皮膚上でなどの粘膜において免疫調節性である。

【００５７】

本明細書に記載の組成物を眼に適用することに加えて、これらのＩｇＧ組成物は、他の

部位、例えば、口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および腔、滑膜（関節）腔、膣腔および皮膚上での粘膜に適用することができる。ＩｇＧ組成物は、これらの粘膜部位における炎症性および／または免疫性疾患を治療するために使用することができる。具体的には、ＩｇＧ組成物は、これらの粘膜部位における炎症性および／または免疫性疾患を治療するために、眼、口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および腔、滑膜（関節）腔、膣腔、および皮膚上などでの様々な部位の粘膜への送達用に製剤化することができる。

【００５８】

さらに別の例示的な実施形態において、Ｂ細胞標的療法（リツキシマブ、オファツムマブ、ベリムマブ、アタシセプト、タバルマブ）は、免疫性眼疾患、代謝性眼疾患、アレルギー性眼疾患、外傷性眼疾患、感染性眼疾患および遺伝性眼疾患を治療するための組成物を形成し得、これらの疾患は、例えば、スティーブン・ジョンソン症候群、眼瘢痕性ペンフィゴイド（ＯＣＰ）、軽度、中等度および重度の涙液欠乏性乾燥眼疾患（ＤＥＤ）、メイボミアン腺疾患、上方輪部角結膜炎（ＳＬＫ）、十分な涙液性ＤＥＤ、フロッピーまぶた症候群、神経栄養性眼疾患、症状－徴候切断（不一致ＤＥＤ）、神経障害性疼痛、甲状腺眼疾患（墓眼症）、関節リウマチ関連眼疾患、ループス関連眼疾患、シェーグレン症候群、続発性シェーグレン症候群、眼性酒さ、アレルギー性角結膜炎（春季性）、ウイルス性角結膜炎（アデノウイルスＥＫＣ、ヘルペスウイルス）、タイゲソン角膜炎、網膜グリオーシス、無虹彩、角膜炎または術後／外傷後の眼の状態、末梢潰瘍角膜炎、角膜炎、上強膜炎、強膜炎、ブドウ膜炎および緑内障を含む、炎症性眼疾患、感染性眼疾患または免疫学的眼疾患であるが、これらに限定されない。例えば、リツキシマブは、眼疾患を治療するための点眼薬または他の適切な送達方法として製剤化することができる。

【図面の簡単な説明】

【００５９】

【図１】健常者の眼表面洗浄液中のＡＣＰＡの存在に関するデータを示す箱ひげ図である。

【図２】いくつかの眼表面疾患患者の眼表面洗浄液中のＡＣＰＡ自己抗体の存在に関するデータを示す箱ひげ図である。

【図３】特定の眼表面疾患を患い、眼表面洗浄でＡＣＰＡが陽性であった全患者の割合を示すグラフである。

【図４】シェーグレン症候群患者の治療開始前後の涙液中のＡＣＰＡレベルのデータを示す箱ひげ図である。

【図５】治療開始前後の眼球ＧＶＨＤ患者の涙液中のＡＣＰＡレベルのデータを示す箱ひげ図である。

【図６】シェーグレン症候群患者の非上皮細胞にシトルリン化タンパク質が存在することを示す、眼表面からの印象細胞診標本の免疫蛍光染色の写真である。シェーグレン－ｃｉｔ／ｋ１４またはｃｉｔ／ＮＥ→Ｎ＝５；健常－ｃｉｔ／ｋ１４→Ｎ＝２。

【図７】シェーグレン症候群患者の好中球にシトルリン化タンパク質が存在することを示す、眼表面からの印象細胞診標本の免疫蛍光染色の写真である。ｃｉｔ／ＮＥ→Ｎ＝２。

【図８】眼球ＧＶＨＤ（ｏＧＶＨＤ）患者の上皮細胞にシトルリン化タンパク質が存在することを示す、眼球表面からの印象細胞診標本の免疫蛍光染色の写真である。Ｄｅｆ．ｏＧＶＨＤ、ｃｉｔ／ｋ１４→Ｎ＝４；ｏＧＶＨＤなし、ｃｉｔ／ｋ１４→Ｎ＝２。

【図９】好中球上の誘導性Ｆｃ－γ受容体の存在を示す眼表面ムコイドフィルムの免疫蛍光染色の写真である。単離された好中球Ｎ＝１；ＰｔムコイドＮ＝２

【図１０】非上皮細胞（好中球および単核細胞）にＦｃ－γ受容体が存在することを示す、眼表面からの印象細胞診標本の免疫蛍光染色の写真である。ＦｃＲ＋ＮＥ：Ｎ＝５例の異なる個体、４例の異なる疾患。

【図１１】ドットブロット分析の写真、および涙液中のＡＣＰＡがＮＥＴシトルリン化タンパク質に反応することを示すグラフである。

【図１２】はドットブロット分析の写真であり、ＡＣＰＡ陽性涙液が自己抗体多クローン性を示していることを示すグラフである。

【図１３】患者の粘膜細胞凝集体にシトルリン化タンパク質Ｈ４Ｒ３ｃｉｔが存在することを示す眼表面ムコイドフィルムの免疫蛍光染色の写真である。
【図１４】角膜上皮疾患を示すフルオレセイン染色による眼表面染色を示すマウス角膜の写真である。データは、ＡＣＰＡ抗体が角膜上皮疾患を引き起こす可能性があることを示しているが、すべてのＡＣＰＡ抗体がそうすることができるわけではない。
【図１５】マウス角膜の眼表面からの印象細胞診標本の免疫蛍光染色の写真であり、ＡＣＰＡ抗体＃１がＮＥＴｏｓｉｓを引き起こし、マウス角膜上皮にシトルリン化を誘導することを示している。
【図１６－１】角膜上皮疾患を示すフルオレセイン染色による眼表面染色を示すマウス角膜の写真である。データは、角膜に対するＡＣＰＡ誘発性の病理学的影響がＦｃ受容体を介して媒介されることを示す。マウスＩｇＧは、Ｆｃ受容体への結合についてＡＣＰＡ抗体と競合し、Ｆｃ受容体遮断薬はすべてのＦｃ受容体を遮断する。この競合的でペプチドの遮断は、角膜に対するＡＣＰＡの病理学的効果を無効にする可能性があり、ＡＣＰＡ抗体とＦｃ受容体との相互作用を防ぐ方法論を使用することを示唆し、シトルリン化関連眼疾患の治療する際の潜在的な治療戦略となる可能性がある。
【図１６－２】角膜上皮疾患を示すフルオレセイン染色による眼表面染色を示すマウス角膜の写真である。データは、角膜に対するＡＣＰＡ誘発性の病理学的影響がＦｃ受容体を介して媒介されることを示す。マウスＩｇＧは、Ｆｃ受容体への結合についてＡＣＰＡ抗体と競合し、Ｆｃ受容体遮断薬はすべてのＦｃ受容体を遮断する。この競合的でペプチドの遮断は、角膜に対するＡＣＰＡの病理学的効果を無効にする可能性があり、ＡＣＰＡ抗体とＦｃ受容体との相互作用を防ぐ方法論を使用することを示唆し、シトルリン化関連眼疾患の治療する際の潜在的な治療戦略となる可能性がある。
【図１７】好中球の免疫蛍光染色の写真で、ＡＣＰＡ－Ｈ４Ｒ３ｃｉｔがインビトロで ＮＥＴｏｓｉｓを誘導することを示している。
【図１８】ヒト角膜上皮細胞に対するＯＳＩＧの細胞毒性を示すデータである。１ｍｇ／ｍｌから４ｍｇ／ｍｌまでのＯＳＩＧ濃度は、ＬＤＨレベルの増加がないことから明らかなように、細胞毒性を引き起こさない。
【図１９】涙液および重度の眼表面疾患における高自己抗体（ＡＣＰＡ）を有する眼の例示的な画像を提供する。
【図２０】涙液中に高い自己抗体（ＡＣＰＡ）を有するが、全身性自己免疫疾患を有さず、ＡＣＰＡ自己抗体および関節リウマチに対して血清陰性である眼の例示的な画像を提供する。
【図２１】非対称性眼疾患のある眼の例示的な画像を提供し、より重度の眼表面疾患のある眼は、涙液中の自己抗体（ＡＣＰＡ）レベルが高くなる。
【図２２】移植片対宿主病による重度の涙液欠乏症と重度の眼表面疾患を患う５６歳の女性からの画像を提供する（事例研究１）。これらの画像は、ＯＳＩＧ治療が重度のドライアイの兆候と症状を軽減し、涙液中の炎症性バイオマーカーのレベルを低下させたことを実証する。
【図２３】移植片対宿主病（症例番号２）による重度の涙液欠乏症と重度の眼表面疾患のある３１歳の女性の画像を提供する。これらの画像は、ＯＳＩＧ治療が神経栄養性角膜炎の症状を軽減したことを実証する。
【図２４】以前の左眼のレーシック眼科手術歴による神経向性角膜炎の７４歳の男性の画像を提供する（事例研究３）。これらの画像は、ＯＳＩＧ治療が重度のドライアイの兆候と症状を軽減し、ならびに涙液中の炎症性バイオマーカーのレベルを低下させたことを示している。
【図２５】スティーブン・ジョンソン症候群による涙液欠乏症と重度の眼表面疾患のある２９歳の男性の画像を提供する（事例研究６）。これらの画像は、ＯＳＩＧ治療がスティーブン・ジョンソン症候群後の重度のドライアイの兆候と症状を軽減したことを実証する。
【発明を実施するための形態】
【００６０】

本明細書の原則に従って、抗シトルリン化タンパク質抗体（ＡＣＰＡ）などの自己抗体が、乾性眼疾患（ＤＥＤ）、シェーグレン症候群、メイボミアン腺疾患、上方輪部角結膜炎（ＳＬＫ）、眼の瘢痕性ペンフィゴイド、スティーブン・ジョンソン症候群、移植片対宿主疾患、末梢潰瘍性角膜炎、強膜炎、硬化炎およびそのような自己免疫疾患などの眼疾患を有する患者の涙液中に存在することが見出された。驚いたことに、ＡＣＰＡおよびリウマチ因子が血清中に検出されなかったにもかかわらず、ＡＣＰＡ自己抗体は患者の涙液に存在し、このことは、涙液自己抗体が眼組織内／周辺で局所的に産生されることを示唆している。血清にはＡＣＰＡまたはリウマチ因子がなく、全身性自己免疫疾患の証拠がなかったため、眼疾患患者の涙液にＡＣＰＡ自己抗体が存在するとは予想していなかったため、この結果は驚くべきものであった。片側性疾患の患者は、より重症の眼の涙液中のＡＣＰＡのレベルが高かった。さらに、涙液中のＡＣＰＡレベルが非常に高い眼は、角膜の融解や瘢痕などの重篤な疾患の証拠が頻繁に見られ、積極的な治療にもかかわらず制御が不十分であった。本明細書に記載の研究では、これらの患者の眼表面上のシトルリン化タンパク質、およびＦｃ受容体の存在も同定された。実験室での実験により、マウス角膜のＡＣＰＡへの曝露は眼表面疾患を引き起こす可能性があること、およびＩｇＧまたはＦｃ受容体ブロックを使用することによって眼組織との相互作用を標的とすることにより、眼表面疾患に対するＡＣＰＡの有害な効果が減少することが確認された。まとめると、プールされたＩｇＧおよび／またはその合成変異体は、自己抗体によって引き起こされる、または自己抗体によって影響を受ける眼疾患の治療の適切な形態である。さらに、自己抗体の多クローン性が涙液で確認された（例えば、涙液中のｃｉｔヒストン、ｃｉｔアルファエノラーゼ、ｃｉｔフィブリノーゲンなどの存在、これにより、個々の抗体を標的とすることは魅力的でなく面倒なため、プールされたＩｇＧは魅力的な治療法になる。

【００６１】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「ａ」、「ａｎ」、および「ｔｈｅ」は、文脈が明確にそうでないと示さない限り、複数の対象が含まれる。

【００６２】

例示的な実施形態において、眼科用製剤は、（ａ）眼表面上または眼内の自己抗体の量を減少させることができる薬学的に活性な化合物であって、そのような自己抗体は、シトルリン化タンパク質に応答して生成されるか（タンパク質のシトルリン化による。ＡＣＰＡ自己抗体）または自己抗体はホモシトルリン化タンパク質に応答して生成されるか（タンパク質のカルバミル化による抗ＣａｒＰ抗体）、または自己抗体はネイティブタンパク質に応答して生成される、化合物、（ｂ）任意選択で、ＰＡＤ酵素阻害剤、ＮＥＴ解体剤およびＦｃ受容体遮断薬、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される第２の薬学的に活性な化合物、および（ｃ）薬学的に許容される眼科用賦形剤を含む。文脈上別段の必要がない限り、「薬学的に活性な化合物」という用語は、眼の表面に局所的に適用されるか、または眼内に注射されるときに薬学的に活性である化合物を指す。したがって、例えば、薬学的に活性なＮＳＡＩＤという用語は、眼の表面に局所的に適用されるか、または眼内に注射されるときに薬学的に活性であるＮＳＡＩＤを指す。

【００６３】

本開示のさらに別の態様は、（ａ）薬学的に許容される眼科用賦形剤、（ｂ）免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）を含む治療有効量の薬学的に活性な化合物、および（ｃ）任意選択で、ステロイド、抗炎症剤、粘液溶解剤、ＰＡＤ酵素阻害剤、ＮＥＴ解体剤およびＦｃ受容体遮断薬、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される第２の薬学的に活性な化合物を含む眼科用製剤を提供する。免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）を含む薬学的に活性な化合物は、眼の不快感、ドライアイ症候群、角膜炎、瞼球癒着形成、結膜円蓋短縮化、眼瞼辺縁／結膜角膜化、および結膜下線維症の症状を引き起こす可能性のある炎症性および免疫学的な眼表面疾患からなる群から選択される臨床状態を治療することができる。「治療有効量」とは、疾患または臨床状態を治療するために哺乳動物に投与された場合に、その疾患のそのような治療をもたらすのに十分な化合物の量を意味する。「治療有効量」は、化合物、疾患または臨床状態、および治療される哺乳動物の重症度、年齢、体重等によ

り異なる。臨床状態または疾患の「治療」または「治療」には、（１）臨床状態または疾患を予防すること、すなわち、臨床状態または疾患に感受性であり得るが、臨床状態または病気の症状をまだ経験または示していない哺乳動物において状態または疾患の臨床症状を発症させないこと、（２）臨床状態または疾患を阻害すること、すなわち、臨床状態または疾患またはその症状の発症を阻止または軽減すること、または（３）臨床状態または疾患を軽減すること、すなわち、臨床状態または疾患またはその症状の退行を引き起こすことが含まれる。

【００６４】

本開示のさらに別の態様は、（ａ）薬学的に許容される眼科用賦形剤、（ｂ）プールされたヒト免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）を含む治療有効量の薬学的に活性な化合物、ならびに／または（ｃ）プールされたヒト血漿タンパク質の治療有効量（ヒト血漿タンパク質の０．１％～９９％の範囲の希釈）およびプールされたヒト血漿脂質（０．１％～９９％の範囲の希釈）を含む眼科用製剤を提供する。

【００６５】

本開示の眼科用製剤は、炎症性および免疫学的な眼表面疾患に関連する様々な臨床状態の治療に有用である。本開示の眼科用製剤によって治療することができる例示的な臨床状態には、眼の不快感、ドライアイ症候群、涙液膜の粘膜細胞凝集体／破片、瞼球癒着形成、結膜円蓋短縮化、眼瞼の縁／結膜の角質化、および結膜下線維症の症状を引き起こし得る眼表面疾患が含まれるが、これらに限定されない。より具体的なタイプの眼表面疾患には、眼移植片対宿主疾患（ｏＧＶＨＤ）、スティーブン・ジョンソン症候群、眼瘢痕性ペンフィゴイド（ＯＣＰ）、軽度、中等度および重度の涙液欠乏性乾燥眼疾患（ＤＥＤ）、メイボミアン腺疾患、上方輪部角結膜炎（ＳＬＫ）、十分な涙液性ＤＥＤ、フロッピー眼瞼症候群、神経栄養性眼疾患、症状－徴候切断（不一致ＤＥＤ）、神経障害性疼痛、甲状腺眼疾患（墓眼症）、関節リウマチ関連眼疾患、ループス関連眼疾患、シェーグレン症候群、続発性シェーグレン症候群、眼性酒さ、アレルギー性角結膜炎（春季性）、無虹彩、無菌炎症またはウイルス、細菌または真菌感染による角膜炎、術後／外傷後の眼の状態、末梢潰瘍性角膜炎、上強膜炎、強膜炎、ブドウ膜炎および緑内障が挙げられる。本開示の眼科用製剤を使用して治療することができる例示的な術後／外傷後の眼の状態には、眼の表面再建手術後、眼表面への代謝産物の適用、翼状片手術、緑内障手術、白内障手術、レーザー視力矯正手術（ＬＡＳＩＫ、ＬＡＳＥＫ、またはＥＰＩ－ＬＡＳＩＫ）、角膜プロテーゼ手術および放射線損傷が挙げられるがこれらに限定されない。

【００６６】

本開示の眼科用製剤を使用して治療することができる他の眼の臨床状態には、ドライアイ症候群（乾性角結膜炎）、シェーグレン症候群、先天性無涙症、眼球乾燥症（ビタミンＡ欠乏によるドライアイ）、角膜軟化症、甲状腺眼疾患、眼性酒さ、眼瞼障害、マイボーム腺疾患、マイボーム腺機能不全、眼瞼外反、眼瞼炎、眼瞼皮膚弛緩症、サルコイドーシス、ものもらい、麦粒腫、霰粒腫、眼瞼下垂症、翼状片、眼瞼浮腫、眼瞼皮膚炎、睫毛乱生症、脱落症、眼瞼浮腫、眼瞼皮膚炎、睫毛乱生症、睫毛眉毛症、涙腺炎、スティーブンス・ジョンソン症候群、眼移植片対宿主疾患、涙嚢炎、結膜炎、角結膜炎、眼瞼結膜炎、眼瞼角結膜炎、アレルギー性結膜炎、春季カタル、結膜充血、結膜弛緩症、結膜下出血、翼状片、瞼裂斑、結膜浮腫、虹彩炎、虹彩毛様体炎、前部ブドウ膜炎、緑内障、赤目、角膜炎、硬化炎、上強膜炎、末梢潰瘍性角膜炎、神経栄養性角膜炎、神経栄養性眼疾患、角膜潰瘍、潰瘍性角膜炎、角膜摩耗、光角膜炎、紫外線角膜炎、露出角膜炎、表在性穿刺性角膜炎、サイゲソンの表在性穿刺性角膜炎、単純ヘルペス角膜炎、手術後のヘルペス帯状疱疹角膜炎、酒さ、眼科手術（すなわち、眼瞼手術、白内障手術、角膜手術、光屈折角膜切除術を含む屈折手術、緑内障手術、涙腺手術、結膜手術、眼筋手術）後の術後炎症、化学的火傷、熱火傷または身体的外傷によって引き起こされる眼の表面状態、以下の自己免疫または血管障害によって引き起こされる眼の状態：リウマチ性関節炎、若年性リウマチ性関節炎、強直性脊椎炎、ライター症候群、腸障害性関節炎、乾癬性関節炎、円板状および全身性紅斑性ループス、多発性硬化症、グレーブス病、抗リン脂質症候群、サルコイド

ーシス、ウェグナー肉芽腫症、ベーセット症候群、結節性多発動脈炎、高安動脈炎、皮膚筋炎、乾癬、再発性多発軟骨炎、血管炎および鎌状細胞貧血が挙げられるがこれらに限定されない。

【００６７】

いくつかの実施形態において、本開示の眼科用製剤は、ドライアイ症候群を治療するために使用される。ドライアイ症候群には、（ｉ）涙液欠乏性ドライアイ（ＡＤＤＥ）と（ｉｉ）蒸発性ドライアイ（ＥＤＥ）の２つの主要なクラスがある。混合メカニズムのドライアイ（すなわち、ＡＤＤＥとＥＤＥの両方）の場合もある。ＡＤＤＥは、主に涙液分泌の失敗が原因である。ＡＤＤＥはさらに、シェーグレン症候群のドライアイ（涙腺と唾液腺が関節リウマチなどの自己免疫プロセスの標的となる）と非シェーグレン症候群のドライアイ（涙腺機能障害であるが、シェーグレン症候群の全身性自己免疫機能は除外される、例えば、加齢に伴うドライアイ）に分類できる）。対照的に、ＥＤＥは主に、正常な涙液分泌機能の存在下で露出した眼球表面からの過剰な水分喪失によるものである。その原因は、外因性（例えば、いくつかの外因性曝露、コンタクトレンズの着用またはビタミンＡ欠乏による眼表面障害）または内因性（例えば、マイボーム腺機能不全および眼瞼開口の障害）である可能性がある。マイボーム腺は、眼前涙液膜の外層を形成する脂質と他の成分の混合物を分泌する。この脂質層は、涙液層の蒸発を減らす働きをする。マイボーム腺機能不全（ＭＧＤ）は、蒸発性ドライアイ疾患を引き起こす。ＭＧＤで最もよく認識されている臨床発見の１つは、眼瞼の縁を横切って走る多数の毛細血管拡張性血管の存在である。ＭＧＤは、眼移植片対宿主病（ｏＧＶＨＤ）に見られるように、涙液欠乏性ドライアイ疾患を伴うこともある。本開示の組成物を使用して治療することができる他の特定のドライアイ症候群には、角結膜炎、結膜炎によって引き起こされるドライアイ、アレルギー性結膜炎によって引き起こされるドライアイ、眼瞼炎によって引き起こされるドライアイ、角膜炎によって引き起こされるドライアイ、涙腺炎によって引き起こされるドライアイ、眼性酒さによるドライアイ、ベーム症候群によるドライアイ、結膜弛緩症によるドライアイ、眼瞼結膜炎によるドライアイ、眼瞼角結膜炎によるドライアイ、表在性穿刺角膜炎によるドライアイ、サイゲソンの表在性穿刺角膜症によるドライアイ、ｏＧＶＨＤによって引き起こされるドライアイ、シェーグレンのドライアイ症候群、スティーブンス・ジョンソン症候群によるドライアイ、ＭＧＤ、メイボミアン腺疾患によるドライアイ、ビタミンＡ欠乏症によって誘導されるドライアイ、薬理学的に誘導されるドライアイ（ホルモン補充療法、血圧薬、抗ヒスタミン、抗うつ薬、抗コリン作動薬、緑内障薬、抗高血圧薬、利尿薬、鎮静薬、イソトレチノイン、鼻うっ血除去薬、経口避妊薬、ベータブロッカー、フェノチアジン、アトロピン、鎮痛性オピエート）、妊娠誘発ドライアイ、ＬＡＳＩＫ手術または屈折手術で誘発されるドライアイ、コラーゲン血管疾患（すなわち、全身性紅斑性狼瘡、ウェゲナー肉芽腫症、関節リウマチ、再発性多軟骨炎）によって誘発されるドライアイ）、腫瘍またはサルコイドーシスによる涙腺の浸潤によって引き起こされるドライアイ、涙液産生腺の放射線照射後線維症によって引き起こされるドライアイ、涙腺、メイボミアン腺、または杯細胞切除によって引き起こされるドライアイ、感覚脱失によって引き起こされるドライアイ、熱的または化学的火傷によるドライアイ、根底にある糖尿病状態によって引き起こされるドライアイ、ウイルス、真菌、または細菌感染によるドライアイ、コンタクトレンズの長期使用によるドライアイ、眼瞼障害または眼瞼の損傷（すなわち、膨らんだ目、垂れ下がった眼瞼）によるドライアイ、角膜ジストロフィーによって引き起こされるドライアイ、自己免疫障害によって引き起こされたドライアイ、年齢で誘発されるドライアイ、およびそれらの組み合わせが含まれる。

【００６８】

いくつかの特定の実施形態において、本開示の眼科用製剤は、マイボーム腺機能不全（ＭＧＤ）を治療するために使用される。さらに他の実施形態において、本開示の眼科用製剤は、水性涙液欠乏性ドライアイ（ＡＤＤＥ）を治療するために使用される。場合によっては、ＡＤＤＥを治療するための方法は、シェーグレンドライアイ症候群、眼移植片対宿主病（ｏＧＶＨＤ）、または非シェーグレンドライアイ症候群の治療を必要とする患者を

治療することを含む。さらに他の実施形態において、ドライアイ症候群を治療するための方法は、蒸発性ドライアイ（ＥＤＥ）の治療を必要とする患者を治療することを含む。さらに他の実施形態において、本開示の方法は、ＡＤＤＥおよびＥＤＥからなる混合メカニズムドライアイの治療を必要とする患者を治療することを含む。さらに他の実施形態において、本開示の方法は、屈折矯正眼手術の合併症に起因するか、またはビタミンＡ欠乏症、眼表面障害、アレルギー、老化、コンタクトレンズの使用、薬の使用もしくは眼瞼の障害の原因のうちの１つ以上に起因するドライアイ症候群に罹患している患者の治療を含む。

【００６９】

翻訳後修飾（ＰＴＭ）の２つの形態であるシトルリン化とカルバミル化により、ポリペプチドに２つの非標準アミノ酸、それぞれシトルリンとホモシトルリンが生成され、これらはそれぞれ化学的に高度に関連している。関節リウマチにおけるこれらのタンパク質に対する自己抗体の役割など、タンパク質のシトルリン化およびカルバミル化の病態生理学的役割についての証拠が増えている。しかし、眼表面疾患のコンテキストでのシトルリン化とカルバミル化およびＡＣＰＡの役割はこれまでに説明されていない。本明細書で提供される研究は、眼表面液中のＡＣＰＡの存在を特定している。

【００７０】

いくつかの実施形態において、眼科用製剤は、薬学的に活性な成分として免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）を含む。本開示の眼科用製剤で使用できるＩｇＧのタイプには、（ｉ）血清／血漿由来のプールされた免疫グロブリンＧ（ＯＳＩＧ）、（ｉｉ）自己血漿／血清から精製された自己ＩｇＧ、（ｉｉｉ）多量体化されたＩｇＧ１　Ｆｃ分子（ＩｇＧ１　Ｆｃヘキサマー）、（ｉｖ）ＩｇＧ２ａ　Ｆｃマルチマー（ストラドマー）、（ｖ）多価Ｆｃ構造、（ｖｉ）糖鎖工学処理されたシアル化ＩｇＧ、（ｖｉｉ）ＩｇＧ－Ｆｃグリコシル化、またはそれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、市販のＯＳＩＧ調製物は、その部位に通常（生理学的または病理学的に）存在するＩｇＧの濃度の３～６倍であるＩｇＧ濃度を達成するために、眼用賦形剤（必要に応じて希釈または濃縮）とともに製剤化され、その後、点眼薬、注射剤、またはその他の適切な送達方法として調剤される。市販のＩｇＧ溶液の例には、「Ｂｉｖｉｇａｍ　１０％、Ｃｕｖｉｔｒｕ（２０％）、Ｆｌｅｂｏｇａｍｍａ　ＤＩＦ　５％＆１０％、Ｇａｍｍａｇａｒｄ　Ｌｉｑｕｉｄ　１０％、Ｇａｍｍａｇａｒｄ　Ｓ／Ｄ　５％＆１０％、Ｇａｍｍａｋｅｄ　１０％、Ｇａｍｍａｐｌｅｘ　５％＆１０　％、Ｇａｍｕｎｅｘ－Ｃ　１０％、Ｈｉｚｅｎｔｒａ　２０％、ＨＹＱＶＩＡ　１０％、Ｏｃｔａｇａｍ　５％＆１０％、Ｐｒｉｖｉｇｅｎ１０％」が挙げられるがこれらに限定されない。これらの市販のＩｇＧ溶液は、眼科用賦形剤と、所望のＩｇＧ濃度に、例えば４ｍｇ／ｍｌ、および少なくとも６．０の所望のｐＨに配合されて、開示されたＯＳＩＧ組成物を製造することができる。

【００７１】

いくつかの実施形態において、眼科用製剤は、１つ以上の抗体ドメインが切り詰められているかまたは存在しない抗原結合フラグメント（例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、またはＦ（ａｂ）２フラグメント）などの全ＩｇＧ抗体、の機能的同等物からなり、ならびに、一本鎖抗体または１つより多くのエピトープに結合することができる抗体（例えば、二重特異性抗体）、または１つ以上の異なる抗原に結合することができる抗体（例えば、二重特異性または多重特異性抗体）を含む、遺伝子操作された抗体またはそのタンパク質結合フラグメンもまた、本開示において使用され得る。

【００７２】

免疫グロブリンは、８２％～９６％のタンパク質と４％～１８％の炭水化物で構成される密接に関連した糖タンパク質のグループである。約１５０ｋＤａのこれらの糖タンパク質は、個人差および抗原への環境曝露のレベルに応じて、平均濃度７～１２ｇ／Ｌで血漿中に存在する。男性の体液性免疫応答の主要なエフェクター分子である免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）は、健常個人の血漿中の総Ｉｇの約７５％を占めている。基本的なＩｇ分子は、鎖間ジスルフィド結合によって互いに結合された２つの同一の重鎖（Ｈ）鎖と２つの同一の軽鎖（Ｌ）を含む４本鎖構造を有している。ＩｇＧは、抗原を認識して特異的に反応

し、抗原が無害になり、最終的には排除される一連の非特異的エフェクター機能を実行する能力を特徴とする二重の機能を備えている。ＩｇＧのこの機能的二分法は、抗原結合に関与する２つの可変領域（Ｆａｂ）と、特定のエフェクター機能を仲介する定常領域（Ｆｃまたは結晶化可能フラグメント）を含む分子の構造に反映される。複雑なオリゴ糖構造の存在は、ＩｇＧの機能、特に補体の活性化とＦｃγＲへの結合を調節する。いくつかの実施形態において、本開示の眼科用製剤は、シアル化が増強された免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）（シアル化ＩｇＧ）からなり、そのようなシアル化は、標準的な化学プロセスを使用して達成される。

【００７３】

いくつかの実施形態において、開示の眼科用製剤中のＩｇＧの濃度は、１０％眼表面免疫グロブリン（ＯＳＩＧ）溶液、または任意の他の適切な濃度によって定義される。ＯＳＩＧは、多数の健常ドナーの血清／血漿から得られた、プールされた正常な多重特異性ヒトＩｇＧの治療用製剤である。この製剤には、微生物抗原に対する抗体、自己抗原（天然の自己抗体）、および他の抗体を認識する抗イディオタイプ抗体が含まれている。ＯＳＩＧの製造に使用される血漿は、２つの起源から来ており、約２０％が献血者からのもので、残りの８０％が血漿提供者からのものである。個々の血漿はプールされ、プールの規模は最少１０００人のドナーであるが、最大１００，０００人のドナーになることもある。免疫グロブリンの単離に使用される血漿の典型的なプールに寄与する何千ものドナーは、細菌、ウイルスなどの感染性病原体に対する幅広い抗体特異性を表し、また、ドナー集団の環境に対する累積曝露を反映する多数の自己抗原も表す。ＯＳＩＧの調製物は、正常な血清の分布に対応するＩｇＧサブクラス（ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、およびＩｇＧ４）の分布を有するインタクトなＩｇＧ分子からなる。ＯＳＩＧ製造の主要な精製プロセスには、（ｉ）分画、例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ））は、血漿などの天然混合物からの排除メカニズムによる分別沈殿によってタンパク質を分離するためにも使用される合成ポリマーであり、および（ｉｉ）クロマトグラフィー、例えば、アニオン交換クロマトグラフィー、疎水性電荷誘導クロマトグラフィーまたはサイズ排除クロマトグラフィーが含まれる。開示の眼科用製剤の有効性に寄与する可能性のあるＯＳＩＧの生物学的効果には、（ｉ）Ｆｃ受容体の機能的遮断が含まれる。ＯＳＩＧによるＦｃ受容体の飽和は、Ｆｃが媒介する生物学的効果の結果として、細胞破壊の減少につながる。（ｉｉ）自己抗体の中和と自己抗体産生の阻害。ＯＳＩＧ調製物には、抗イディオタイプ抗体、すなわち、自己抗体の可変領域（抗原認識部位）と特異的に相互作用することができる抗体が含まれている。この相互作用は、自己抗体を中和し、自己反応性Ｂリンパ球への結合を介してその産生を妨げる可能性がある。（ｉｉｉ）補体阻害。ＯＳＩＧのＦｃ部分は、補体のＣ３ｂおよびＣ４ｂフラグメントに結合し、それによってそれらの組織沈着およびＣ５コンバターゼの生成を阻害することができる。（ｉｖ）サイトカインの調節（ＩＬ－１、－２、－３、－４、－５、－１０、ＴＮＦ－α、およびＧＭ－ＣＳＦを含む）およびサイトカイン拮抗剤産生（ＩＬ－１受容体拮抗薬）、および（ｖ）阻害性Ｆｃ受容体であるＦｃガンマＲＩＩＢを介したシグナル伝達。

【００７４】

本開示の眼科用製剤中のＩｇＧの量は、約０．０１ｍｇ／ｍＬ～約１ｇ／ｍＬ、典型的には約１ｍｇ／ｍＬ～約１０ｍｇ／ｍＬの範囲であり得る。特定の実施形態において、ＩｇＧの濃度または量は、約０．０１ｍｇ／ｍＬであり得、他の実施形態において、ＩｇＧの濃度または量は、約０．０５ｍｇ／ｍＬであり得る。特定の実施形態において、ＩｇＧの濃度または量は、約１ｍｇ／ｍＬであり得、他の実施形態において、ＩｇＧの濃度または量は、約１０ｍｇ／ｍＬであり得る。様々な実施形態において、ＩｇＧの濃度または量は、１．０ｍｇ／ｍＬ、１．５ｍｇ／ｍＬ、２．０ｍｇ／ｍＬ、２．５ｍｇ／ｍＬ、３．０ｍｇ／ｍＬ、３．５ｍｇ／ｍＬ、４ｍｇ／ｍＬ、４．５ｍｇ／ｍＬ、５ｍｇ／ｍＬ、５．５ｍｇ／ｍＬ、６ｍｇ／ｍＬ、　６．５ｍｇ／ｍＬ、７ｍｇ／ｍＬ、７．５ｍｇ／ｍＬ、８ｍｇ／ｍＬ、８．５ｍｇ／ｍＬ、９ｍｇ／ｍＬ、９．５ｍｇ／ｍＬ、または１０ｍｇ／ｍＬであり得る。

【００７５】

本開示は、抗シトルリン化タンパク質抗体（ＡＣＰＡ）がプロトタイプの例である様々な眼疾患における眼表面（涙液）または眼内（水性および硝子体）上の自己抗体の存在を包括する。存在する可能性があり、本開示に含まれる自己抗体には、以下のタンパク質、β２－糖タンパク質、Ｃ１ｑ、ＣＥＮＰ－Ｂ（セントロメアタンパク質Ｂ）、ＣＥＮＰ－Ａ（セントロメアタンパク質Ａ）、Ｊｏ－１、Ｋｕ、Ｍｉ－２、ミエロペルオキシダーゼ（ＭＰＯ）、ＰＣＮＡ（増殖細胞核抗原Ａ）、ＰＬ－１２（アラニル－ｔＲＮＡシンテターゼ）、ＰＭ／Ｓｃｌ　１００、プロテイナーゼ３、ＲＮＰ（リボヌクレオプロテイン）、ＲＮＰ／Ｓｍｉｔｈ（ＲＮＰ／Ｓｍ）、リボソームＰ、Ｓｃｌ－７０、Ｓｍ、ＳＳＢ／Ｌａ（シューグレン症候群関連抗原Ｂ／Ｌａ）、ＳＳＡ／Ｒｏ６０（シューグレン症候群関連抗原Ａ／Ｒｏ６０　ｋＤａ）、ＳＳＡ／Ｒｏ５２（シューグレン症候群関連抗原Ａ／Ｒｏ５２　ｋＤａ）に対する抗体が含まれる。網羅的／完全であるようには設計されてはいないが、本開示にカバーされている自己抗体（ＡＣＰＡまたは非ＡＣＰＡ）は、表１に列挙されているタンパク質またはそれらのフラグメント（シトルリン化またはネイティブ）に由来する場合がある。

【表１】

表1.			
アグリカン	ssRNA	La/SSB	Ro/SSA(60KDa)
アルファフォドリン(Sptan1)	dsDNA	ラミニン	S100
アルファアクチニン	EBNA1	LC1	Scl-70
アミロイド	エラスチン	LKM1	Sm
AQP4 組換え	Entaktin EDTA	M2 抗原	Sm/RNP
BP1	ファクターI	マトリゲル	SmD
C1q	ファクターP	MDA5	SmD1
カルドリピン	ファクターB	Mi-2	SmD2
CENP-A	ファクターD	ミトコンドリア抗原	SmD3
CENP-B	ファクターH	MPO	SP100
コンドロイチン硫酸C	フィブリノーゲンIV	ムスカリン受容体	スフィンゴミエリン
クロマチン	フィブリノーゲンS	ミエリン塩基性タンパク質(MBP)	SPR54
コラーゲンI	フィブロネクチン	ミエリン関連糖タンパク質-FC	ssDNA
コラーゲンII	GBM(disso)	ミオシン	T1F1 GAMMACollagen
コラーゲンIII	ゲノムDNA	ヌクレオリン	サイログロブリン
コラーゲンIV	グリアジン(IgG)	ヌクレオソーム抗原	TNFa
コラーゲンV	糖化アルブミン	Nup62	トポイソメラーゼI
コラーゲンVI	GP2	PCNA	TPO
補体C1q	gP210	ペルオキシレドキシン1	TTG
補体C3	ヒストンH1	ホスファチジルイノシトール	U1-snRNP-68
補体C3a	ヒストンH2A	PL-12	U1-snRNP-A
補体C3b	ヒストンH2B	PL-7	U1-snRNP-BB'
補体C4	ヒストンH3	PM/Scl-100	U1-snRNP-C
補体C5	ヒストンH4	PM/Scl-75	ビメンチン
補体C6	ヘモシアニン	POLB	ビトロネクチン
補体C7	ヘパランHSPG	PR3	β2-糖タンパク質I
補体C8	ヘパリン	プロテオグリカン	β2-ミクログロブリン
補体C9	ヘパラン硫酸	プロトロンビンタンパク質	IgA-ヒトとマウス
CPR抗原(ヒト)	ヒストン(合計)	リボホスフォプロテインP1	IgE-ヒト
シトクロムC	内因子	リボホスフォプロテインP2	IgG-ヒトおよびマウス
デコリン-牛	Jo-1	リボホスフォプロテインP0	IgM-ヒトとマウス
DGPS	KU(P70/P80)	Ro/SSA(52KDa)	抗IgG、IgAおよび抗IgM

【００７６】

「薬学的に許容される賦形剤」または「薬学的に許容される眼科用賦形剤」は、本開示の医薬組成物を調製するのに有用な賦形剤を意味する。そのような賦形剤は、一般に安全で、毒性がなく、生物学的に活性でもなければ望ましくないものでもないと当業者によって考えられており、獣医学的用途およびヒト用医薬品用途のために許容される賦形剤を含む。本明細書および特許請求の範囲で使用される「薬学的に許容される賦形剤」は、１つと、１つより多くの両方のそのような賦形剤を含む。例示的な薬学的に許容される賦形剤には、塩（塩化ナトリウムなど）または等張化剤、ガム、樹脂、水、非水溶媒（アルコール、油、ｐＨを維持するための緩衝液など）などの溶媒、ｐＨ修飾剤（例えば、水酸化ナ

トリウムなどの塩基、および塩酸などの酸）、乳化剤、増粘剤、マイクロまたはナノエマルジョン形成剤、保存剤、界面活性剤などが挙げられる。本開示の眼科用製剤に使用できる、例示的な薬学的に許容される賦形剤には、水、ベンジルアルコール、水酸化ナトリウム、塩酸、カストロール油、クエン酸緩衝液、トリス緩衝液、リン酸緩衝液、および当業者に公知である他の賦形剤が挙げられるがこれらに限定されない。

【００７７】

いくつかの実施形態において、本開示の眼科用製剤はまた、塩化ナトリウムなどの塩を含み得る。さらに他の実施形態において、本開示の眼科用製剤はまた、ベンジルアルコール、エタノール、または当業者に公知である他の非水溶媒などの非水溶媒を含むことができる。

【００７８】

さらに他の実施形態において、本開示の眼科用製剤のｐＨは、約５．０のｐＨ～約８．５のｐＨ、典型的には約５．０のｐＨ～約８．０のｐＨ、そして約５．０のｐＨ～約７．５のｐＨにしばしば調整される。追加の例示的なｐＨ範囲は、約ｐＨ６～約ｐＨ８または約ｐＨ６．２～約ｐＨ７．２、約ｐＨ６．４～約ｐＨ７．４、または約ｐＨ６．５～約ｐＨ７．５、約ｐＨ６．６～約ｐＨ７．６、約ｐＨ６．８～約ｐＨ７．８である。例えば、ｐＨは、約５．０であり、約５．１、または約５．２、または約５．３、または約５．４、または約５．５、または約５．６、または約５．７、または約５．８、または約５．９、約６．０、または約６．１、または約６．２、または約６．３、または約６．４、または約６．５、または約６．６、または約６．７、または約６．８、または約６．９、または約７．０、または約７．１、または約７．２、または約７．３、または約７．４、または約７．５、または約７．６、または約７．７、または約７．８、または約７．９、または約８．０である。本開示の眼科用製剤のｐＨは、例えば、必要に応じて水酸化ナトリウムおよび／または塩酸を使用して調整して、所望のｐＨレベルを達成することができる。

【００７９】

眼科用製剤は、点眼薬、局所用液体、軟膏、乳濁液、懸濁液、またはゲル（例えば、ヒドロゲル中のＩｇＧナトリウム）として製剤化することができる。眼科用製剤は、油または懸濁液のナノエマルジョンとして製剤化することもできる。さらに、眼科用製剤は注射用製剤として製剤化することができる。

【００８０】

いくつかの実施形態において、本開示の眼科用製剤は防腐剤を含まず、単回使用または複数回投与バイアルで製剤化される。防腐剤を使用する場合、適切な防腐剤には、ベンザルコニウム、ピュライト、クロロブタノール、過ホウ酸ナトリウム、安定化オキシクロロ錯体（ＳＯＣ）、ポリクアテルニウム－１（ポリクワッド、ＰＱ－１）、チメロサール、ベンジルアルコール、ソルビン酸、メチル／プロピルパラベン、クロロヘキシジン、ＥＤＴＡ二ナトリウム、ｓｏｆＺｉａ、および眼科または眼科用製剤化学の当業者に公知である他の防腐剤が含まれるが、これらに限定されない。

【００８１】

存在する場合、第２の薬学的に活性な化合物は、ステロイド、抗炎症剤、粘液溶解剤、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される。本開示の眼科用製剤に適した例示的なステロイドには、メチルプレドニゾン、プレドニゾン、デキサメタゾン、ロテプレドノールエタボネート、フルオシノロン、ジフルプレドナート、フルオロメトロン、メドリソン、フルオシノロン、リメキソロントリアムシノロン、およびそれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。本開示の眼科用製剤にステロイドを使用する場合、製剤中に存在するステロイドの量は、約０．０１％ｗ／ｗ～２％ｗ／ｗであり、通常、約０．０５％ｗ／ｗ～１％ｗ／ｗ、多くの場合、約０．１％ｗ／ｗ～約０．３％ｗ／ｗの範囲である。本開示の範囲は、ステロイドの量のこれらの特定の範囲に限定されないことを理解されたい。特に、本開示の眼科用製剤に存在するステロイドの量は、一般に、使用されるステロイドに依存する。例えば、存在するステロイドの量は、使用される特定のステロイドの活性、ステロイドの分子量、ならびに本開示の眼科用製剤でステロイドを使用する

目的に応じて変化し得る。

【００８２】

本開示の眼科用製剤に適した例示的な抗炎症剤には、シクロスポリン、リフィテグラスト（登録商標）、タクロリムス、インターロイキン１受容体拮抗薬（アナキンラ）、ケトロラク、ジクロフェナク、フルルビプロフェン、ブロムフェナク、ネパフェナクなどの他のＮＳＡＩＤ、およびそれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。本開示の眼科用製剤に抗炎症剤が使用される場合、製剤中に存在する抗炎症剤の量は、約０．０１％ｗ／ｗ～２％ｗ／ｗ、通常、約０．０５％ｗ／ｗ～１％ｗ／ｗであり、多くの場合、約０．１％ｗ／ｗ～約０．３％ｗ／ｗの範囲である。本開示の範囲は、抗炎症剤の量のこれらの特定の範囲に限定されないことを理解されたい。特に、本開示の眼科用製剤に存在する抗炎症剤の量は、一般に、使用される特定の抗炎症剤の活性、抗炎症剤の分子量など、使用される特定の抗炎症剤に依存する。

【００８３】

本開示の眼科用製剤において有用な例示的な粘液溶解剤には、Ｎ－アセチルシステイン、ナシステリン、デキストラン、ＤＮアーゼＩ（ドルナーゼアルファ）、ゲルゾリン、サイモシンβ４、１４および１５員マクロライド抗生物質（例えば、エリスロマイシン、エリスロマイシンの非抗菌性誘導体（例えば、ＥＭ７０３およびＥＭ９００）、クラリスロマイシン、ロキシスロマイシン、フィダキソマイシン、テリスロマイシンおよびアジスロマイシン）、およびそれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。抗生物質が使用される場合、それは主にその粘液溶解活性のために使用されることを理解されたい。本開示の眼科用製剤に粘液溶解剤を使用する場合、製剤中に存在する粘液溶解剤の量は、約０．０１％ｗ／ｗ～２％ｗ／ｗ、通常、約０．０５％ｗ／ｗ～１％ｗ／ｗであり、多くの場合、約０．１％ｗ／ｗ～約０．３％ｗ／ｗの範囲である。本開示の範囲は、粘液溶解剤の量のこれらの特定の範囲に限定されないことを理解されたい。特に、本開示の眼科用製剤中に存在する粘液溶解剤の量は、一般に、粘液溶解剤の活性、粘液溶解剤の分子量など、使用される特定の粘液溶解剤に依存する。

【００８４】

本開示の眼科用製剤は、均一または不均一であり得る。いくつかの実施形態において、本開示の眼科用製剤は、油または脂肪酸エステルを含む。脂肪酸エステルは、当該分野で一般的に理解されている意味を有し、アルコールと脂肪酸との間で形成されるエステルである。本開示の製剤において有用な例示的な脂肪酸エステルには、植物油として一般に公知であるトリグリセリドエステル、脂肪酸のモノおよびジグリセリドエステル、脂肪酸メチルエステル、ならびに当業者に公知である他の脂肪酸エステルが含まれるが、これらに限定されない。脂肪酸エステルは、いくつかの化合物の混合物または本質的に純粋な化合物であり得ることが理解されるべきである。通常、脂肪酸エステルは植物油である。使用できる植物油の特定の例には、ヒマシ油、ゴマ油、ダイズ油、綿実油、オリーブ油、ピーナッツ油、サフラワー油、ヒマワリ油、パーム油、パーム穀粒油、カノーラ油、およびＭｉｇｌｙｏｌ　ｏｉｌ（登録商標）が含まれるが、これらに限定されない。

【００８５】

本開示の眼科用製剤中で、様々なビヒクルを使用することができる。これらのビヒクルには、精製水（水）、ポリビニルアルコール、ポビドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポロキサマー、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ポリオール、ヒアルロン酸ナトリウム、プルロニック（登録商標）、コルボポール、シクロデキストリン、および２つ以上の混合物が挙げられるが、これらに限定されない。ビヒクルは、本明細書に開示される活性化合物の濃度を提供するために必要な量で製剤中で使用される。１つの特定の実施形態において、ビヒクルは水を含む。

【００８６】

本開示のいくつかの実施形態において、エマルジョン安定化ポリマーが使用される。本開示の範囲を限定することを意図するものではないが、エマルジョン安定化ポリマーは、一般に、セルロース、糖、エチレンオキシド、水酸化物、カルボン酸または他の高分子電

解質などの親水性基を含む。理論に拘束されることなく、これらのポリマーは、配合物の粘度を増加させることによって、ならびに界面張力を減少させることによって、エマルジョンを安定化するのに役立つと考えられている。ポリソルベート８０などの界面活性剤または眼科用に許容される他の界面活性剤を使用してエマルジョンを安定化することができる。本開示において有用なエマルジョン安定化ポリマーのいくつかの例には、カルボマー、ペムレン（登録商標）、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポビドン、ポリビニルアルコール、ポリエチレングリコール、およびそれらの２つ以上の混合物が含まれるが、これらに限定されない。

【００８７】

本開示の眼科用製剤は、局所眼科の分野で公知である様々なパッケージ形態で包装することができる。１つの特定の実施形態において、眼科用製剤は、無菌の、防腐剤を含まない単回使用パック、またはバイアルもしくは容器（すなわち、単位用量バイアル）に包装される。各バイアルは、例えば、０．９ｍＬ程度の小ささであり、少量の製剤、例えば、単回使用の場合は０．４ｍＬを含むように、低密度ポリエチレンで作ることができる。このように、眼科用製剤が滅菌され、ドロップ形態で局所使用するための使い捨ての単回投与容器に含まれる場合、３０バイアル、６０バイアルなどのセットの形態の複数のバイアルを蓋付きのトレイに、例えば、アルミニウムの剥離可能な蓋が付いたポリプロピレントレイに包装することができる。各トレイの内容物全体をインタクトで分注することができ、毎回１つのバイアルまたはパックが使用され、各使用後すぐに廃棄される。例えば、プラスチック製のアンプル、バイアル、または容器は、ブローフィルシール（ＢＦＳ）テクノロジーを使用して製造できる。ＢＦＳプロセスは、１回の連続操作でのプラスチック押出し、成形、無菌充填、および気密封止を含み得、これらのプロセスは当該分野で公知である。別の実施形態において、製剤は、滅菌の完全性を維持する特殊な容器／閉鎖を使用して、材料が毎回滅菌として分配され得るように、複数回投与バイアルに包装される。さらに別の実施形態において、眼科用製剤は、滅菌製品として従来のバイアル／容器に包装されている。

【００８８】

いくつかの実施形態において、本開示の剤形は、不均一な水溶液の点眼薬、点眼剤製剤である。

【００８９】

１つの特定の実施形態において、ＩｇＧ（ＯＳＩＧ）を含む眼科用製剤は、点眼薬として製剤化され、眼の不快感、涙液膜における粘膜細胞凝集体／破片、瞼球癒着形成、結膜円蓋短縮化、眼瞼の縁／結膜の角質化、または結膜下線維症の症状を引き起こし得る炎症性および免疫性の眼表面疾患を治療するために使用される。本開示の眼科用製剤を使用して治療することができる特定の臨床状態には、眼移植片対宿主疾患（ｏＧＶＨＤ）、スティーブン・ジョンソン症候群、眼瘢痕性ペンフィゴイド（ＯＣＰ）、軽度、中等度および重度の涙液欠乏性ドライアイ疾患（ＤＥＤ）（シェーグレン症候群、非シェーグレン症候群、特発性およびその他の原因に続発する）、マイボーム腺疾患（機能障害または萎縮）、上方輪部角結膜炎（ＳＬＫ）、十分な涙液ＤＥＤ（一致または不一致）、フロッピー眼瞼症候群、神経栄養性眼疾患、無虹彩症、および術後／外傷後の病状、例えば、眼表面再建手術後、眼表面への代謝拮抗物質の適用（マイトマイシン－Ｃ、５－フルオロウラシルなど）または人工角膜手術または放射線損傷が挙げられる。

【００９０】

本開示のさらに別の態様において、そのような治療を必要とする対象に眼疾患を治療するための方法を提供する。そのような方法は、一般に、眼疾患を治療するために、治療有効量で抗凝固作用以下の量のＩｇＧ眼科用製剤を対象に投与することを含む。いくつかの実施形態において、ＩｇＧ点眼製剤は、前記対象に少なくとも１日２回投与される。さらに他の実施形態において、ＩｇＧ点眼製剤は、前記対象に少なくとも月に２回投与される。眼科用製剤は、水溶液、水性懸濁液、ゲルなどであり得る。

【００９１】

本開示の別の態様は、対象の眼表面障害を診断またはモニタリングするための方法を提供する。この方法は、対象から得られたサンプルからの自己抗体のレベルを上記自己抗体の対照レベルと比較して、対象の眼表面障害を診断またはモニタリングすることを含む。本明細書で使用される場合、自己抗体の「対照レベル」という用語は、（ｉ）眼表面障害を有さない対象のもの、（ｉｉ）眼表面障害を有する対象のもの、（ｉｉｉ）治療前、治療開始直後、または眼表面障害の症状を示す前の同じ対象からの自己抗体のレベルを含む、試験サンプル中の自己抗体レベルを比較することができるレベルを指す。

【００９２】

いくつかの実施形態において、対照レベルは、正常レベルであり得、すなわち、正常な患者、すなわち、眼表面障害を有さない対象からのサンプル中のレベルを意味する。この対照レベルは、より具体的には「陰性対照」と呼ぶことができる。これにより、自己抗体の対照レベルに基づく決定が可能になり、眼表面疾患について評価されるサンプルは、対照レベルと比較して、自己抗体レベルに測定可能な差異があるか、または実質的に差異がない。

【００９３】

別の実施形態において、対照レベルは、対象から、または眼表面疾患を有すると考えられる個体の集団からのサンプルにおいて確立された自己抗体のレベルであり得る。これは、より具体的には「陽性対照レベル」と呼ぶことができる。本明細書で使用される「陽性対照」という用語は、そのサンプルからのデータに基づいて、サンプルが疾患を有すると考えられる、対象から、別の個体から、または個体の集団からのサンプルにおいて確立された自己抗体発現または生物学的活性のレベルを指す。

【００９４】

他の実施形態において、対照レベルは、試験される対象からの以前のサンプルから確立することができ、その結果、対象の疾患の進行または退行を経時的にモニタリングすることができ、および／または治療の有効性を評価することができる。

【００９５】

別段の記載がない限り、または文脈上別段の必要がない限り、「モニタリング」という用語は、眼表面疾患の進行を決定すること、または特定の治療プロトコルもしくは薬物の有効性を決定することを指す。「診断」という用語は、対象における眼表面疾患の有無を決定するプロセスを指す。それはまた、どの特定の眼表面疾患が対象に存在するかを決定することを含み得る。

【００９６】

自己抗体は、眼の表面疾患を診断するために使用して、例えば、ＩｇＧ点眼薬または別の適切な医薬品を用いて、適切な療法または治療を開始することができる。

【００９７】

自己抗体のレベルの変化は、治療への反応または治療の有効性を評価するために使用することができる。治療強度は、自己抗体レベルまで滴定することもできる。

【００９８】

この方法は、眼表面疾患を診断および管理するため、およびそのような疾患のためのＩｇＧ点眼療法を、単剤としてまたは他の活性薬剤と組み合わせてのいずれかで、開始／滴定するための、迅速な結果の社内テストを提供するために使用できる。このテストは、涙液やその他の眼液の成分を測定するように設計できる。図１に関連して議論したように、５未満の濃度は、これまでのところ注目に値するとは見なされていない。しかし、５を超えるレベルは、治療可能な状態を示すことを証明でき、本開示の範囲内で企図される。

【００９９】

ＩｇＧ組成物は長期間安定しているため、治療は長期的に行うことができる。治療は、少なくとも１日２回または少なくとも月２回、または治療が眼液中に存在する自己抗体から生じる有害な生物学的作用のレベルを低下させるため、または有害な生物学的作用を低下させるためのいずれかのために十分であるという条件で、他の適切な治療レジームに従って送達するように設計することができる。

【０１００】
自己抗体を利用する本開示の方法はまた、ｏＧＶＨＤまたはシェーグレン症候群および他のドライアイ疾患などの眼表面障害を診断またはモニタリングするために使用することができる。そのような方法は、典型的には、試験対象（例えば、涙液、血液／血清、または眼表面細胞）から採取された生物学的サンプルに存在する１つ以上の自己抗体のレベルを測定すること、および対照レベルと比較することを含む。対照レベルは、対象の以前の自己抗体レベル、健常対象の自己抗体レベル、または眼表面疾患を有する対象の自己抗体レベルであり得る。
【０１０１】
本開示の別の態様は、対象から得られる１つ以上の自己抗体のレベルを決定するためのセンサー、バイオセンサー、多分析物パネル、アレイ、アッセイおよびキットを提供する。自己抗体およびそれらが使用される方法は、診断を支援し、眼表面障害の発病および発症を評価するために使用することができる。本開示はまた、薬物スクリーニングおよび薬物開発のための、臨床スクリーニング、予後の評価、治療の評価における自己抗体の使用に関する。
【０１０２】
特定の態様において、本開示は、対象から生物学的サンプルを取得すること、生物学的サンプル中の１つ以上の自己抗体のレベルを対照レベルと比較することを含む、対象の眼表面障害を診断またはモニタリングする方法を提供する。
【０１０３】
自己抗体のレベルは、当業者に利用可能な従来の方法のいずれかを使用して容易に決定することができる。例示的な方法には、結合または非結合酵素法、電気化学、分光法（例えば、ＵＶ／ＶＩＳ分光計を使用するような分光光度法、蛍光分析法、ルミノメトリック法、偏光分析法など）、クロマトグラフィー方（例えば、ＨＰＬＣ、ガスクロマトグラフィー、ＭＰＬＣ、ＬＰＬＣなど）、ＥＬＩＳＡ、ＤＯＴ－ＢＬＯＴ分析などの免疫学的方法などの直接法または間接法が含まれるが、これらに限定されない。
【０１０４】
本開示のさらに別の態様は、眼表面障害、またはその素因を診断またはモニタリングする方法を提供する。そのような方法は、試験対象から採取された生物学的サンプル中に存在する１つ以上の自己抗体のレベルを比較すること、およびそれを対照レベルと比較することを含む。１つの特定の実施形態において、本開示の方法は、眼表面障害を有する、有すると疑われる、またはその素因がある対象における治療（例えば、治療物質）の有効性をモニタリングするために使用される。
【０１０５】
本開示のさらに別の態様は、本開示の１つ、２つ、３つ、４つ、またはそれ以上（数百）の自己抗体を検出することができる多分析物パネルまたはアレイを提供する。マルチ分析物パネルは、多くの異なる分析物を検出することができる。アレイは、多数のサンプル中の単一の分析物を検出することができ、または複数の分析物アレイとして、サンプル中の多数の異なる分析物を検出することができる。本開示による多分析物パネルまたは多分析物アレイは、本明細書に記載されるような１つ以上の自己抗体を検出することができ、本明細書に具体的に記載されるものに加えて自己抗体を検出することができる。検出方法には、ビーズベース（例えば、Ｌｕｍｉｎｅｘプラットフォーム）またはＰｈａｄｉａ ＩｍｍｕｎｏＣａｐが含まれる場合がある。
【０１０６】
また、オプションでキットの使用説明書とともに、本開示による方法を実行するのに適した診断またはモニタリングテストキットも提供される。診断またはモニタリングキットは、本開示による１つ以上のバイオセンサーを含み得、単一のセンサー、またはバイオセンサー、あるいはセンサーおよび／またはバイオセンサーの組み合わせがキットに含まれ得る。診断またはモニタリングキットは、本開示によるパネルまたはアレイを含み得る。診断キットまたはモニタリングキットは、本開示によるアッセイまたはアッセイの組み合

わせを含み得る。
【０１０７】
さらに提供されるのは、眼表面障害を調節または治療することができる物質を同定するための、本開示による方法、センサー、バイオセンサー、多分析物パネル、アレイまたはキットの使用である。眼表面障害を調節または治療することができる物質は、眼表面障害の治療に有用な抗炎症性、免疫調節性、免疫抑制性、抗生物質または緩和手段（人工涙液、コンタクトレンズ、または涙点プラグ）であり得る。
【０１０８】
本明細書および添付の特許請求の範囲を通じて、疾患の「治療すること」または「治療」という用語は、（１）疾患を予防すること、すなわち、疾患に感受性であり得るが、疾患の症状をまだ経験していないかまたは示していない対照において、疾患を発症させないこと、（２）疾患を阻害すること、すなわち疾患またはその症状の発症を阻止または低減すること、あるいは（３）疾患を軽減すること、すなわち、疾患またはその症状の退行を引き起こすことが含まれる。
【０１０９】
陰性対照レベル（例えば、眼表面疾患を有さない対象におけるバイオマーカーのレベル）と比較して、試験生物学的サンプル中のより高いレベルの自己抗体は、ｏＧＶＨＤ、シェーグレン症候群およびその他のドライアイ疾患などの眼表面障害の存在を示す。
【０１１０】
本開示によるモニタリング、発症リスクの決定、および診断の方法は、眼表面障害の存在またはその素因を確認するために、発症と進行を評価することによって眼表面障害の発症をモニタリングするため、または障害の改善もしくは退行を評価するために有用である。モニタリングおよび診断の方法はまた、臨床スクリーニング、予後、治療法の選択、治療利点の評価、すなわち薬物スクリーニングおよび薬物開発の評価のための方法においても有用である。効率的な診断とモニタリングの方法は、正しい診断を確立すること、最も適切な治療法の迅速な特定を可能にすること（したがって、有害な薬物の副作用への不必要な曝露を減らす）、「ダウンタイム」と再発率を減らすことにより、予後を改善する可能性のある非常に強力な「患者溶液」を提供する。
【０１１１】
治療の有効性をモニタリングするための方法を使用して、ヒト対象および非ヒト動物（例えば、動物モデル）における既存の治療および新しい治療の治療有効性をモニタリングすることができる。これらのモニタリング方法は、新しい原薬および物質の組み合わせのスクリーニングに組み込むことができる。タンパク質バイオマーカーレベルの調節は、眼表面障害の状態またはその素因の指標として有用である。時間の経過に伴う自己抗体のレベルの増加は、発症または進行、すなわち、障害の悪化を示し、一方、タンパク質バイオマーカーのレベルの減少は、障害の改善または寛解を示す。眼表面障害に対する自己抗体の同定は、診断手順と治療計画の統合を可能にする。
【０１１２】
現在、効果的な治療法を決定するために利用できる方法論はなく、これまで薬物反応の迅速な評価を実施することはできなかった。伝統的に、多くの眼表面疾患治療は、所与の治療アプローチのために数週間から数ヶ月続く治療試験を必要としてきた。本開示の自己抗体の検出は、臨床試験に参加する前に対象をスクリーニングするために使用することができる。自己抗体は、治療反応、反応の失敗、好ましくない副作用プロファイル、服薬コンプライアンスの程度、および適切な血清薬物レベルの達成を示す手段を提供する。自己抗体は、すべての眼表面疾患治療薬で遭遇する主要な問題である有害な薬物反応の警告を提供するために使用することができる。自己抗体は、反応の評価を使用して投与量を微調整し、製剤薬の数を最小化し、効果的な治療の達成の遅れを減らし、有害な薬物反応を回避できるため、個別の眼表面疾患治療法の開発に役立つ。したがって、本開示の自己抗体をモニタリングすることにより、患者のケアは、障害および患者の薬理ゲノムプロファイルによって決定されるニーズに一致するように正確に調整することができ、したがって、

自己抗体を使用して、最適用量を滴定し、陽性の治療反応を予測し、重篤な副作用のリスクが高い患者を特定することができる。

【０１１３】

自己抗体の測定は、直接または間接の検出方法で行うことができる。バイオマーカーは、酵素、結合受容体またはトランスポータータンパク質、抗体、ペプチド、アプタマー、またはオリゴヌクレオチド、またはバイオマーカーを特異的に結合することができる任意の合成化学受容体もしくは化合物などのリガンドとの相互作用を介して、直接的または間接的に検出することができる。リガンドは、発光、蛍光または放射性標識および／または親和性タグなどの検出可能な標識を有し得る。

【０１１４】

１つの特定の実施形態において、本開示の自己抗体は、質量分析に基づく技術、クロマトグラフィーベースの技術、酵素検出システム（直接または間接測定による）、または、センサーを使用して、例えば、アンペロメトリー、電位差測定、導電率測定、インピーダンス、磁気、光学、音響、または熱変換器を備えたセンサーシステムを使用して検出および測定されるものを使用する。センサーは、物理的、化学的、または生物学的検出システムを組み込んでもよい。センサーの例は、バイオセンサー、すなわち、例えば、オリゴヌクレオチドプローブまたはアプタマーなどの核酸、または酵素、結合タンパク質、受容体タンパク質、トランスポータータンパク質または抗体などのタンパク質に基づく生物学的認識システムを備えたセンサーである。バイオセンサーは、バイオマーカーの検出のための免疫学的方法、電気的、熱的、磁気的、光学的（例えば、ホログラム）または音響的技術を組み込むことができる。そのようなバイオセンサーを使用して、生物学的サンプルに見出される予想される濃度で標的自己抗体を検出することが可能である。本開示の方法は、臨床スクリーニング、予後の評価、治療結果のモニタリング、特定の治療的処置に応答する可能性が最も高い患者の特定、薬物スクリーニングおよび開発のため、ならびに薬物治療の新しい標的の特定を支援するために適している。疾患に特有の重要な自己抗体の特定は、診断手順と治療計画の統合の中心である。

【０１１５】

本開示の自己抗体の検出および／または定量化を含む方法は、卓上機器を使用して実施することができ、または非実験室環境、例えば、診療所または患者のベッドサイドで使用することができる、使い捨ての、診断的、またはモニタリングプラットフォームに組み込むことができる。本開示の方法を実施するための適切なセンサーまたはバイオセンサーには、光学的または音響的リーダーを備えた「クレジット」カードが含まれる。センサーまたはバイオセンサーは、収集されたデータが解釈のために医師に電子的に送信されることを可能にするように構成することができ、したがって、電子医療の基礎を形成することができる。

【０１１６】

本開示の前述の議論は、例示および説明の目的で提示された。前述は、本開示を本明細書に開示される１つ以上の形態に限定することを意図するものではない。本開示の説明は、１つ以上の実施形態および特定の変形および修正の説明を含むが、他の変形および修正は、例えば、本開示を理解した後、当業者の技能および知識の範囲内にある場合があるように、開示の範囲内である。特許請求されたものに対する代替の交換可能および／または同等の構造、機能、範囲または工程を含む、許可された範囲まで代替の実施形態を含む権利を取得することが意図され、これは、そのような代替の交換可能および／または同等の構造、機能、範囲または工程が本明細書に開示されているか否かに関わらず、特許性のある主題を公的に捧げることを意図するものではない。

【０１１７】

以下の実施例に加えて、本開示に関連する臨床的に重要な結果は、ｈｔｔｐｓ：／／ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１０１６／ｊ．ｊｔｏｓ．２０１９．１０．００４で入手できる、Ｋｗｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐａｔｈｏｌｏｇｉｃａｌ ｃｏｎｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ ａｎｔｉ－ｃｉｔｒｕｌｌｉｎａｔｅｄ ｐｒｏｔｅｉｎ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｉｎ

tear fluid and therapeutic potential of pooled human immune globulin －eye drops in dry eye disease，Ocul Surf．２０１９ Oct １０（ｐｉｉ：Ｓ１５４２－０１２４（１９）３０３７７－５．ｄｏｉ：１０．１０１６／ｊ．ｊｔｏｓ．２０１９．１０．００４）にもまた提供されている。Ｋｗｏｎらは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【実施例】

【０１１８】

実施例１：健常対象および眼表面疾患における自己抗体（ＡＣＰＡ）のレベル

自己抗体（ＡＣＰＡ）の存在は、健常対象の眼の表面洗浄で実証し（図１）、対象の自己抗体ＡＣＰＡ陽性を診断するためのカットオフを確立した。健常対象（涙液欠乏性ドライアイ（ＤＥＤ）なし）で５０μｌの人工涙液を使用して眼表面洗浄を行い、１０μｌの回収洗浄液を市販のプレート（ＣＣＰ３）を使用したＥＬＩＳＡによってＡＣＰＡレベルについて分析した。すべての負の値は０と見なした。平均＋３ＳＤを使用して、ＡＣＰＡの正の値のしきい値を確立した。ＡＣＰＡ、すべて負＝０の平均は０．５７、３ＳＤ １．２＝４．１７であった。したがって、５．０のカットオフを確立した。

【０１１９】

自己抗体（ＡＣＰＡ）の存在は、眼表面疾患の患者の眼表面洗浄でも実証した（図２および３）。図２に示すように、ＡＣＰＡのレベルは、眼表面疾患の患者の眼表面洗浄で測定した。これらの患者は、適切な局所点眼薬（人工涙液、レスタシス、キシドラまたはステロイド）で治療されていた。涙液ＡＣＰＡレベルは、シェーグレン症候群、涙液欠乏ドライアイ疾患、混合メカニズムＤＥＤ、眼瘢痕性類天疱瘡（ＯＣＰ）、スティーブン・ジョンソン症候群、および眼移植片対宿主病（ｏＧＶＨＤ）のようないくつかの眼の自己免疫疾患において陽性（すなわち、ＡＣＰＡ＞５．０）であった。マイボーム腺機能不全などの蒸発性ＤＥＤの患者も、ＡＣＰＡレベルが高かった。上方輪部角結膜炎（ＳＬＫ）および神経栄養性結膜炎もＡＣＰＡレベルが高かった。驚いたことに、症状徴候の切断（不一致ＤＥＤ）の患者もＡＣＰＡレベルが高かった。したがって、他の眼内自己免疫／炎症性眼緑内障を含むこれらの眼疾患はすべて、眼疾患の徴候および症状に対する自己抗体の寄与を減らすために、ＯＳＩＧ点眼治療の恩恵を受ける。図３のデータは、眼の表面洗浄でＡＣＰＡが陽性であった特定の眼疾患のすべての患者の割合を示している。

【０１２０】

実施例２：ＡＣＰＡのレベルに対する従来の治療の不十分な効果

実験は、眼の表面洗浄におけるＡＣＰＡのレベルに対する従来の治療の不十分な効果を示すために実施した（図４および５）。図４は、従来の治療開始前後のシェーグレン症候群患者の涙液中のＡＣＰＡレベルを示す。すでに治療を受けているシェーグレン患者のＡＣＰＡレベルと比較して、まだ治療を受けていない患者（シェーグレンプレ－Ｒｘ）は大幅に高いＡＣＰＡレベルを有する。治療開始後（シェーグレンポストＲｘ）のレベルはより低いが、それでも健常対象と比較して有意に高い。このデータは、シェーグレン患者が治療を受けている場合でも、涙液中のＡＣＰＡレベルが高いことを示し、したがって、ＯＳＩＧ療法などを用いて、ＡＣＰＡを特異的に標的にする場合では、眼表面疾患へのＡＣＰＡの寄与を減らすことができる。

【０１２１】

治療開始前後の患者のｏＧＶＨＤの涙液中のＡＣＰＡレベル。まだ治療を受けていないｏＧＶＨＤ患者のＡＣＰＡレベル（ｏＧＶＨＤ　プレ－Ｒｘ）は、治療開始後のＡＣＰＡレベル（ｏＧＶＨＤ　ポスト－Ｒｘ）よりも有意に高い（図５）。治療開始後１ヶ月後のＡＣＰレベルは健常対象よりも有意に高い。このデータは、ｏＧＶＨＤ患者が治療を受けている場合でも、涙液中のＡＣＰＡレベルが高いことを示し、したがって、ＯＳＩＧ療法などを用いてＡＣＰＡを特異的に標的にする場合では、眼表面疾患へのＡＣＰＡの寄与を減らすことができる。

【０１２２】

実施例３：シトルリン化タンパク質は、眼表面疾患を有する患者の眼の表面に存在する
　次に、シトルリン化タンパク質が眼表面疾患の患者の眼の表面に存在することを実証した。図６に示すように、シトルリンはシェーグレン症候群の非上皮細胞に発現している印象細胞学。この実験の目的は、シェーグレン患者の眼表面の細胞がシトルリン化されているか否かを調べることであった。研究の承認は、ｔｈｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｉｌｌｉｎｏｉｓ ａｔ Ｃｈｉｃａｇｏ （ＵＩＣ）のＩｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ Ｒｅｖｉｅｗ Ｂｏａｒｄから取得した。研究の性質および起こり得る結果が説明された後、インフォームドコンセントをすべての参加者から得た。調査を、医療保険の相互運用性と説明責任に関する法律（ＨＩＰＡＡ）の要件とヘルシンキ宣言の信条に従って実施した。
【０１２３】
　抗生物質を患者の眼に適用し、濾紙（ＰＡＬＬ、＃６０２９８）を側頭結膜と下眼瞼に適用して、眼の表面上皮の表層を除去した。濾紙をペトリ皿中にて４％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）を用いて２０分間固定し、続いて１ＸＰＢＳで５分間洗浄し、接着タブを介して顕微鏡スライドに取り付けた。耐水性バリアをサンプルの周りにＰａｐペンで描画し、続いてＰＢＳ－Ｔ（１Ｘ ＰＢＳ中の０．０２５％Ｔｒｉｔｏｎ）を用いて１時間透過処理した。穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間１回洗浄し、次に２．５％ロバ血清（二次的に産生されたホスト種）および１ＸＰＢＳ中の１％ＢＳＡで少なくとも１時間ブロックした。次に、濾紙を一次抗体とともに４℃で一晩インキュベートした。使用した一次抗体は、マウスモノクローナル抗シトルリン抗体（１：１０００；Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、ＭＡＢＮ３２８）、およびウサギポリクローナル抗サイトケラチン１４抗体（１：１０００；ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ、＃９０５３０１）であった。
【０１２４】
　翌日、穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間、３回洗浄した後、室温で１時間、二次抗体のインキュベーションを行った。使用した二次抗体は次のとおりである：ＡｌｅｘａＦｌｕｏｒ５９４ロバ抗マウスＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂ、＃７１５－５８５－１５０）およびＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８ロバ抗ウサギＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂ、＃７１１－５４６－１５２）。インキュベーション後、暗所で穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間３回洗浄した。スライドを乾燥させ、ＤＡＰＩを含むＰｒｏＬｏｎｇ（商標）Ｇｏｌｄ Ａｎｔｉｆａｄｅ Ｍｏｕｎｔａｎｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｐ３６９３１）でマウントした。カバースリップを置き、マニキュアで密封した。スライドは、イメージングの前に完全に乾燥させた。Ｚｅｉｓｓ ＬＳＭ７１０共焦点顕微鏡（Ｌｅｉｃａ，ＵＩＣ Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ Ｃｏｒｅ ｆａｃｉｌｉｔｙ）を使用して６３倍の倍率で画像をキャプチャし、ＺｅｉｓｓＬＳＭ画像ソフトウェアで分析した。シェーグレン症候群の患者に印象細胞診を実施したところ、シトルリンが非上皮細胞（好中球）に発現していることがわかった。非上皮細胞は、ＮＥＴの存在によって支持される好中球である可能性がある。これらのデータは、シェーグレン患者の非上皮細胞がシトルリン化されていることを実証した。
【０１２５】
実施例４：シトルリン化タンパク質は健常対象には存在しない
　シェーグレンでは、シトルリン化タンパク質は主に好中球性であるように見える（図６および７）。この実験の目的は、シトルリン化された非上皮細胞が好中球であるか否かを確認することであった（図７）。印象細胞診は、上記の実施例３に記載されているように実行した。
【０１２６】
　使用した一次抗体は、マウスモノクローナル抗シトルリン抗体（１：１０００；Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ，ＭＡＢＮ３２８）、およびウサギモノクローナル抗好中球エラスターゼ抗体（１：５００；Ａｂｃａｍ，ａｂ１３１２６０）であった。翌日、穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間、３回洗浄した後、室温で１時間、二次抗体のインキュベーションを行った。使用した二次抗体は次のとおりである：ＡｌｅｘａＦｌｕｏｒ５９

４ロバ抗マウスＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂ、＃７１５－５８５－１５０）およびＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８ロバ抗ウサギＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂ、＃ ７１１－５４６－１５２）。インキュベーション後、暗所で穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間３回洗浄した。スライドを乾燥させ、ＤＡＰＩを含むＰｒｏＬｏｎｇ（商標）Ｇｏｌｄ Ａｎｔｉｆａｄｅ Ｍｏｕｎｔａｎｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｐ３６９３１）でマウントした。カバースリップを置き、マニキュアで密封した。スライドは、イメージングの前に完全に乾燥させた。Ｚｅｉｓｓ ＬＳＭ ７１０共焦点顕微鏡（Ｌｅｉｃａ、ＵＩＣ Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ Ｃｏｒｅ施設）を使用して６３倍の倍率で画像をキャプチャし、ＺｅｉｓｓＬＳＭ画像ソフトウェアで分析した。

【０１２７】

シトルリン陽性細胞は、多葉核によって示唆された好中球であった。これは、眼表面のシトルリンの１つの主要な供給源が好中球であったことを意味する。シトルリン化された好中球タンパク質がＡＣＰＡ応答の原因である可能性がある。これは、ドットブロットアッセイのＡＣＰＡ陽性涙液がシトルリン化好中球タンパク質と反応するという所見によって検証した。これらのデータは、好中球がシトルリン化の原因であり、シトルリン化された好中球タンパク質がＡＣＰＡ応答の原因である可能性があることを示唆している。

【０１２８】

実施例５：ｏＧＶＨＤでは、シトルリン化タンパク質は主に上皮性であるように見える

次に、シトルリンが明確なｏＧＶＨＤの上皮細胞に発現していることを実証した。この実験の目的は、シェーグレン患者と明確なｏＧＶＨＤ患者の間でシトルリン発現を比較することであった（図８）。抗生物質を患者の眼に適用し、濾紙（ＰＡＬＬ，＃６０２９８）を側頭結膜と下眼瞼に適用して、眼の表面上皮の表層を除去した。ろ紙をペトリ皿中で４％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）を用いて２０分間固定した。次に、それらを１ＸＰＢＳで５分間洗浄し、接着タブを介して顕微鏡スライドに取り付けた。耐水性バリアをサンプルの周りにＰａｐペンで描画し、続いてＰＢＳ－Ｔ（１ＸＰＢＳ中の０．０２５％Ｔｒｉｔｏｎ）で１時間透過処理した。穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間１回洗浄し、次に２．５％ロバ血清（二次的に産生されたホスト種）および１ＸＰＢＳ中の１％ＢＳＡで少なくとも１時間ブロックした。次に、濾紙を一次抗体とともに４℃で一晩インキュベートした。使用した一次抗体は、マウスモノクローナル抗シトルリン抗体（１：１０００；Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ，ＭＡＢＮ３２８）、およびウサギポリクローナル抗サイトケラチン１４抗体（１：１０００；ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ，＃９０５３０１）であった。翌日、穏やかに振とうしながら、濾紙を１Ｘ ＰＢＳで５分間、３回洗浄した後、室温で１時間、二次抗体のインキュベーションを行った。使用した二次抗体は次のとおりである：ＡｌｅｘａＦｌｕｏｒ５９４ロバ抗マウスＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂ，＃７１５－５８５－１５０）およびＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８ロバ抗ウサギＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂ，＃７１１－５４６－１５２）。

【０１２９】

インキュベーション後、暗所で穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間３回洗浄した。スライドを乾燥させ、ＤＡＰＩを含むＰｒｏＬｏｎｇ（商標）Ｇｏｌｄ Ａｎｔｉｆａｄｅ Ｍｏｕｎｔａｎｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｐ３６９３１）でマウントした。カバースリップを置き、マニキュアで密封した。スライドは、イメージングの前に完全に乾燥させた。Ｚｅｉｓｓ ＬＳＭ ７１０共焦点顕微鏡（Ｌｅｉｃａ，ＵＩＣ Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ Ｃｏｒｅ施設）を使用して６３倍の倍率で画像をキャプチャし、ＺｅｉｓｓＬＳＭ画像ソフトウェアで分析した。好中球がシトルリンの主要な供給源であったシェーグレン症候群とは異なり、明確なｏＧＶＨＤ患者は、高レベルのシトルリンおよびＰＡＤ４酵素と相関する、シトルリン化された全上皮細胞を有している。これらのデータは、上皮細胞の強いシトルリン化が高レベルのシトルリンとＰＡＤ４酵素を支持することを示した。テストされた患者のうち、２例の異なるシェーグレン患者ではシトルリ

ンとＫ１４の共局在はなかったが、ｏＧＶＨＤ患者ではシトルリンとＫ１４の共局在が存在した。さらに、シトルリンと好中球の共局在を２例の異なるシェーグレン患者で観察した。

【０１３０】

実施例６：好中球で発現される誘導性Ｆｃ受容体

シトルリン化タンパク質は、ｏＧＶＨＤがない患者には見られなかった。これらの発見は、自己抗体産生の１つの供給源が、ＤＥＤ患者のシトルリン化好中球および／または眼表面細胞であることを実証する。また、Ｆｃ受容体（ＩｇＧの受容体）が眼の表面に存在し、ＡＣＰＡ抗体がＦｃ受容体と相互作用して表面疾患を生じることも実証した。Ｆｃ受容体はナイーブ好中球では発現されないが、誘導性であるという仮説が立てられている。Ｆｃ受容体は、粘膜細胞凝集体内の好中球で発現する。

【０１３１】

この実験の目的は、好中球上の誘導性Ｆｃ受容体の仮説を支持することであった。末梢血は、ＢＤバキュテナーナトリウムヘパリンチューブ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，＃３６７８７８）に静脈穿刺によって採取され、好中球の単離のために直ちに検査室に運んだ。好中球は、ＭＡＣＳｘｐｒｅｓｓビーズ（ＭＡＣＳｘｐｒｅｓｓ好中球分離キット，Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃｈ，＃１３０－１０４－４３４）を製造元の指示に従って使用して、非標的細胞の免疫磁気枯渇によって単離した。残留赤血球は、ＭＡＣＳｘｐｒｅｓｓ赤血球枯渇キット（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ，＃１３０－０９４－１８３）を使用して除去した。単離された好中球を、３ｍＬの無血清フェノールレッドを含まないＲＰＭＩ－１６４０培地（ＧＩＢＣＯ，＃１１８３５－０３０）で再懸濁した。細胞数を測定した後、５０，０００細胞／２００μＬの好中球をＥＺシングルＣｙｔｏｆｕｎｎｅｌ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，＃Ａ７８７１０００３）にロードした。患者のムコイドサンプルは、１００μＬ溶液中の４Ｕ／ｍＬ ＤＮａｓｅＩと１ｘＢｕｆｆｅｒで調製し、３７°Ｃで３０分間インキュベートして、単細胞懸濁液を達成した。１０倍に希釈したムコイドサンプルをＥＺシングルＣｙｔｏｆｕｎｎｅｌ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，＃Ａ７８７１０００３）にロードした。サンプルをＣｙｔｏｓｐｉｎ４（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｋａｌａｍａｚｏｏ，ＭＩ）によって１０００ｒｐｍで５分間遠心分離し、サイトスライド（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，＃５９９１０５６）の定義された領域に単層の細胞沈着を実現した。遠心分離後、スライドを５分間風乾し、４％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）（Ｅｌｅｃｔｒｏｎ Ｍｉｃｒｏｓｃｏｐｙ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｈａｔｆｉｅｌｄ，ＰＡ，＃１５７１０）溶液で２０分間固定した。耐水性バリアをサンプルの周りにＰａｐペンで描画し、続いてＰＢＳ－Ｔ（１Ｘ ＰＢＳ中の０．０２５％Ｔｒｉｔｏｎ）で１時間透過処理した。穏やかに振とうしながら、サンプルを１ＸＰＢＳで５分間 １回洗浄した後、２．５％ロバ血清（二次的に産生されたホスト種）および１Ｘ ＰＢＳ中の１％ＢＳＡで少なくとも１時間ブロックした。次に、サンプルを一次抗体とともに４℃で一晩インキュベートした。使用した一次抗体は、マウスモノクローナル抗ＣＤ６４抗体（１：１０００；Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ，ｓｃ－１１８４）、マウスモノクローナル抗ＩｇＭκ抗体（１：２５００；Ｎｏｖｕｓ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ，ＮＢＰ１－９６９７５）、ウサギモノクローナル抗好中球エルスターゼ抗体（１：５００；Ａｂｃａｍ，ａｂ１３１２６０）およびウサギモノクローナルＩｇＧ抗体（０．０３ｕｇ／ｍＬ；Ａｂｃａｍ，ａｂ１７２７３０）であった。

【０１３２】

翌日、穏やかに振とうしながら、サンプルを１ＸＰＢＳで５分間、３回洗浄した後、室温で１時間、二次抗体のインキュベーションを行った。使用した二次抗体は次のとおりである：ＡｌｅｘａＦｌｕｏｒ５９４ロバ抗マウスＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂ，＃７１５－５８５－１５０）およびＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８ロバ抗ウサギＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂ，＃７１１－５４６－１５２）。インキュベーション後、暗所で穏やかに振とうしながら、サンプルを１ＸＰＢＳで５分間３回洗浄する。スライドを乾燥

させ、ＤＡＰＩを含むＰｒｏＬｏｎｇ（商標）Ｇｏｌｄ Ａｎｔｉｆａｄｅ Ｍｏｕｎｔａｎｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｐ３６９３１）でマウントした。カバースリップを置き、マニキュアで密封した。スライドは、イメージングの前に完全に乾燥させた。ＺｅｉｓｓＬＳＭ ７１０共焦点顕微鏡（Ｌｅｉｃａ，ＵＩＣ Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ Ｃｏｒｅ施設）を使用して６３倍の倍率で画像をキャプチャし、ＺｅｉｓｓＬＳＭ画像ソフトウェアで分析した。

【０１３３】

図９に示すように、Ｆｃ受容体は、ＰＭＡで刺激された好中球と患者のムコイドにのみ発現し、これは、好中球が活性化されたことを意味する。染色は、アイソタイプ対照およびネガティブ対照で陽性であることを確認した。要約すると、ナイーブ好中球はＦｃ受容体を発現しないが、活性化好中球は発現し、これは、Ｆｃ受容体の発現が誘導可能であることを確認する。

【０１３４】

眼表面にＦｃ受容体陽性好中球が存在することを確認するために追加の実験を行った。）．印象細胞診は、上記の実施例３に記載されているように実施した。使用した一次抗体は、マウスモノクローナル抗ＣＤ６４抗体（１：１０００；Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ，ｓｃ－１１８４）、およびウサギポリクローナル抗サイトケラチン１４抗体（１：１０００；ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ，＃９０５３０１）であった。翌日、穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間３回洗浄した後、室温で１時間、二次抗体のインキュベーションを行った。使用した二次抗体は次のとおりである：ＡｌｅｘａＦｌｕｏｒ５９４ロバ抗マウスＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂ，＃７１５－５８５－１５０）およびＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８ロバ抗ウサギＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂ，＃７１１－５４６－１５２）。インキュベーション後、暗所で穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間３回洗浄した。スライドを乾燥させ、ＤＡＰＩを含むＰｒｏＬｏｎｇ（商標）Ｇｏｌｄ Ａｎｔｉｆａｄｅ Ｍｏｕｎｔａｎｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｐ３６９３１）でマウントした。カバースリップを置き、マニキュアで密封する。スライドは、イメージングの前に完全に乾燥させた。画像は、Ｚｅｉｓｓ ＬＳＭ ７１０共焦点顕微鏡（Ｌｅｉｃａ，ＵＩＣ Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ Ｃｏｒｅ施設）を使用して６３倍の倍率でキャプチャし、ＺｅｉｓｓＬＳＭ画像ソフトウェアで分析する。免疫蛍光染色後、同じ濾紙をヘマトキシリンおよびエオシン染色した。濾紙をヘマトキシリン（Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，ＳＨ２６－５００Ｄ）で染色し、酸ですすぎ、ブルーイング溶液に浸し、エオシン（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）で対比染色した。スライドは、直立したＡｘｉｏｓｃｏｐｅ １００顕微鏡（Ｃａｒｌ Ｚｅｉｓｓ Ｍｅｄｉｔｅｃ ＧｍｂＨ，Ｈａｍｂｕｒｇ，Ｇｅｒｍａｎｙ）を使用して検査し、Ｚｅｉｓｓ ＭＲｃカラーカメラを使用して画像化し、ＺｅｉｓｓＡｘｉｏｖｉｓｉｏｎを使用して分析した。

【０１３５】

図１０は、Ｆｃ受容体がＫ１４陰性細胞（非上皮細胞）で発現し、上皮細胞と混合していることを示す。これらの非上皮細胞のいくつかは、好中球を連想させる多葉核（白いボックス）を有しており、これは好中球を示唆しており、Ｈ＆Ｅ染色によってさらに確認される。他の細胞は、Ｔ細胞である可能性のある、大きな単核細胞である。Ｋ１４陽性細胞はＦｃ受容体を示さず、これは文献で確認されている。

【０１３６】

さらに、涙液中のＡＣＰＡがＮＥＴシトルリン化タンパク質に反応するか否かを決定するための実験を実行した。ドットブロットアッセイは、ニトロセルロースメンブレン（Ｃｏｍｐａｎｙ，ｃａｔ＃）を備えたＢｉｏ－Ｄｏｔ精密ろ過装置（Ｂｉｏ－Ｒａｄ、＃１７０－６５４５）を使用して実施した。全体的なプロトコルは、製造元の指示に従った。メンブレンはＴＢＳで事前に湿らせた。必要に応じて水分を補給した。ライセートからの１μｇ／１００μＬの総タンパク質をメンブレンに適用し、真空チャンバーを空気に開放

して１時間インキュベートし、タンパク質が重力によってメンブレンを通過できるようにした。２００μＬのブロッキング溶液（１％ＢＳＡ－ＴＢＳ）を各ウェルに加え、重力によって濾過した後、洗浄した。２００μＬの洗浄液（０．０５％Ｔｗｅｅｎ－ＴＢＳ）を加えて吸引し、もう一度繰り返した。１００μＬの１：８０希釈した患者の涙液（１％ＢＳＡ－ＴＴＢＳで希釈）を加え、重力でろ過させた後、２００μＬのＴＴＢＳでメンブレンを洗浄した。メンブレンを１００μＬのＨＲＰ結合体化ヒトＩｇＧ抗体（＃Ａ１１２Ｐ，ＥＭＤ）とともにインキュベートした。ブロットを、強化化学発光ＳｕｐｅｒＳｉｇｎａｌＷｅｓｔ　Ｆｅｍｔｏ最大感度基質（３４０９５，Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ）とインキュベートし、ＩｍａｇｅＱｕａｎｔＬＡＳ　４０００システム（ＧＥ　Ｌｉｆｅｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｉｎｃ）でシグナルを検出した。ドットブロットの強度は、ＩｍａｇｅＪソフトウェアを使用して決定した。

【０１３７】

好中球は、カルシウムイオノフォアで３時間シミュレートし、これは、同じ期間、高シトルリン化とＲＰＭＩを誘発し、対照として機能したためであった。刺激後、好中球を溶解して総タンパク質を抽出し、これは膜に固定化した。図１１に示すように、涙液中のＡＣＰＡはＮＥＴタンパク質と反応することがわかり、好中球のシトルリン化タンパク質がＡＣＰＡ刺激の１つの原因である可能性があることを確認した。結果は、以下の式を使用して計算された倍率として表された：倍率＝シトルリン化タンパク質の強度／野生型タンパク質の強度。ＡＣＰＡ陽性涙液は、刺激されていないＮＥＴタンパク質（５４．１±５．４６）よりも刺激されたＮＥＴタンパク質（９２．８±７．８５）に対して大きな反応性を示すが、ＡＣＰＡ陰性涙液は差を示さなかった（４５．０±３．１９対４９．３±４．７９）。要約すると、涙液中のＡＣＰＡはＮＥＴタンパク質に反応する。

【０１３８】

ポリクローナルＡＣＰＡが涙液中に存在するか否かを決定するために別の実験を行った。ドットブロットアッセイは、Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ（Ｂｕｒｌｉｎｇｔｏｎ，ＭＡ）から入手したＤｉｒｅｃｔ　Ｄｅｔｅｃｔアッセイフリーカード（＃ＤＤＡＣ０００１０－ＧＲ）を使用して実施した。２μＬの組換えタンパク質（１μｇ）をメンブレンに適用し、室温（ＲＴ）で２０分間乾燥させた。次に、メンブレンを１０％ＢＳＡおよび１ＸＰＢＳ（ｐＨ７．４）で調製した０．０５Ｔｗｅｅｎ－２０を用いて室温で３０分間ブロックした。メンブレンをすすぎ緩衝液（１ＸＰＢＳ中の１％ＢＳＡおよび０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０）ですすぎ、患者の涙液サンプル（１：４０希釈、滅菌水で希釈）でプローブし、メンブレンに適用し、ＲＴで３０分間インキュベートした。メンブレンをすすぎ緩衝液で３回洗浄した後、ＨＲＰ標識ヒトＩｇＧ抗体（＃Ａ１１２Ｐ，ＥＭＤ）とＲＴで３０分間インキュベートした。膜をすすぎ緩衝液で３回洗浄した。ブロットを強化化学発光ＳｕｐｅｒＳｉｇｎａｌＷｅｓｔＦｅｍｔｏ最大感度基質（３４０９５，Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ）とインキュベートし、ＩｍａｇｅＱｕａｎｔＬＡＳ　４０００システム（ＧＥ　Ｌｉｆｅｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｉｎｃ）でシグナルを検出した。ドットブロットの強度は、ＩｍａｇｅＪソフトウェアを使用して決定した。表２に示す結果は、次の式を使用して計算された倍率として表される。倍率＝シトルリン化タンパク質の強度／野生型タンパク質の強度（表２）。

【０１３９】

図１２に示すように、ＡＣＰＡ陽性の涙液は多クローン性の存在を示し、ＡＣＰＡはいくつかのシトルリン化タンパク質と反応する。シトルリン化フィブリノーゲンまたはエノラーゼの野生型に対する倍率変化は、シェーグレン患者と明確なｏＧＶＨＤ患者の両方で１．５を超えていた。シェーグレン患者では、シトルリン化ビメンチンは野生型の１．５倍以上の変化であったが、明確なｏＧＶＨＤでは、シトルリン化ヒストンＨ４は野生型よりも大きかった。２例の疾患の患者からの涙液は彼らの涙液の中でＡＣＰＡの多クローン性を実証したが、神経向性および健常の涙液はＡＣＰＡに対して陰性である。要約すると、ＡＣＰＡ陽性涙液は多クローン性を示す。（＋）：＞１．５。

【表２】

表２：野生型タンパク質に対するシトルリン化タンパク質の倍率変化

	野生型タンパク質に対するシトルリン化タンパク質の倍率変化				
	ヒストンＨ４	ヒストンＨ３	フィブリノーゲン	ビメンチン	エノラーゼ
神経向性	1	1	1.2	1.06	1.4
健常	1	1	0.7	0.9	1
シェーグレン症候群	1.6	1.09	**2.1**	**2.8**	**4.1**
明確なｏＧＶＨＤ	**2.3**	0.8	**3.36**	1.17	**6.2**

【０１４０】

実施例７：眼表面疾患におけるＡＣＰＡ　Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清

次に、特定の自己抗体（ＡＣＰＡ（Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清））が実験モデルで眼表面疾患を引き起こすか否かを調べた。具体的には、この実験では、ｆＨ４Ｒ３ｃｉｔが患者の粘膜細胞凝集体に存在するか否かを調べる。粘液細胞凝集体（ＭＣＡ）は、滅菌ジュエラー鉗子を使用して患者の眼から収集し、ＲｅｆｒｅｓｈＯｐｔｉｖｅを含む滅菌０．２ｍＬ　ＰＣＲチューブに移され、アイスボックスに保管した。新鮮なＭＣＡサンプルをＴｉｓｓｕｅ－Ｔｅｋ（登録商標）ＯＣＴコンパウンド（Ｓａｋｕｒａ　Ｆｉｎｅｔｅｋ，Ｔｏｒｒａｎｃｅ，ＣＡ，＃４５８３）に包埋し、急速冷凍した。クリオスタット（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、ＣｒｙｏＳｔａｒ　ＮＸ５０、＃９５７１３０）を使用して、凍結切片を１０μｍの厚さに切断した。この特定のＭＣＡは、明確なｏＧＨＶＤと診断された患者から収集した。免疫染色のために、スライドを風乾し、次に４％ＰＦＡで２０分間固定した。次に、サンプルを０．０２５％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００（Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，＃ＢＰ１５１－１００）で透過処理し、新たに調製した１０％ロバ血清と１％ウシ血清アルブミン（Ｇｅｍｉｎｉ　Ｂｉｏ－Ｐｒｏｄｕｃｔｓ，＃７００－１００Ｐ）で２時間ブロックした。サンプルを一次抗体とともに４℃で一晩インキュベートした。次の一次抗体が使用される：マウスモノクローナル抗ヒト好中球エラスターゼ（ＮＥ）（１：１００；Ｄａｋｏ、＃Ｍ０７５２）、ウサギポリクローナル抗ヒストンＨ４（シトルリンＲ３）抗血清（１：１０００；Ａｂｃａｍ、ａｂ８１７９７）およびウサギポリクローナルＩｇＧ（１：１０００；Ａｂｃａｍ、ａｂ３７４１５）。スライドを穏やかに振とうしながら１ＸＰＢＳで５分間３回洗浄し、ブロッキング緩衝液で希釈した二次抗体と室温で１．５時間インキュベートした。使用した二次抗体は次のとおりである：ＡｌｅｘａＦｌｕｏｒ５９４ロバ抗マウスＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂ，＃７１５－５８５－１５０）およびＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８ロバ抗ウサギＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂ，＃７１１－５４６－１５２）。スライドを１ＸＰＢＳで２回洗浄し、Ｈｏｅｃｈｓｔ　３３３４２（２μｌ／ｍＬ）（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，＃６２２４９）で１０分間対比染色し、ＰＢＳですばやく洗浄し、ＰｒｏＬｏｎｇ（商標）Ｇｏｌｄ退色防止試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、＃Ｐ３６９３０）で覆った。Ｚｅｉｓｓ　ＬＳＭ　７１０共焦点顕微鏡（Ｌｅｉｃａ，ＵＩＣ　Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ　Ｃｏｒｅ施設）を使用して１００倍の倍率で画像をキャプチャし、ＺｅｉｓｓＬＳＭ画像ソフトウェアで分析した。

【０１４１】

患者の眼表面にＨ４Ｒ３ｃｉｔが存在することを確認するために、明確なｏＧＶＨＤと診断された患者からＭＣＡを収集し、免疫蛍光染色で分析した。免疫蛍光染色された細胞は、多葉核を有する多数の好中球を示し、それらは、好中球エラスターゼの陽性染色で確認された。当該分野では、Ｈ４Ｒ３ｃｉｔが核（核周囲）の周りに発現していることが知

られており、これを図６に見ることができる。図１３に示すように、ＨでのＨ４Ｒ３ｃｉｔは眼表面に免疫局在し、ｏＧＶＨＤ患者の涙液を使用するドットブロット分析はＨ４ｃｉｔとの反応を示している。図１３は、患者の粘膜細胞凝集体にＨ４Ｒ３ｃｉｔが存在することも示している。アイソタイプ対照がネガティブ染色を示したため、染色は陽性であることを確認した。要約すると、患者の粘膜細胞凝集体はＨ４Ｒ３ｃｉｔ抗原を有しており、これがＡＣＰＡ応答の原因である可能性がある。

【０１４２】

ＡＣＰＡ抗体が眼表面疾患を引き起こすか否かを調べるために、８～１０週齢のＴｈｙ１－ＹＦＰマウスを治療実験に使用した。Ｔｈｙ１－ＹＦＰマウス（ｎ＝５／グループ）は、ケタミン（２０ ｍｇ／ｋｇ；Ｐｈｏｅｎｉｘ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｓｔ．Ｊｏｓｅｐｈ，ＭＯ）とキシラジン（６ ｍｇ／ｋｇ；Ｐｈｏｅｎｉｘ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）の組み合わせの腹腔内注射によって麻酔した。ＡＣＰＡの病理学的影響を評価するために、ＡＣＰＡ抗体をマウスの角膜に適用し、抗体によって誘発される角膜表面疾患の程度を決定し、非ＡＣＰＡ抗体の適用と比較した。以下の条件を使用した：１）非ＡＣＰＡ抗体：抗ヒストンＨ４抗体（１００ｎｇ／ｍＬ；Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ＃２５９２、２）ＡＣＰＡ抗体＃１：抗ヒストンＨ４（シトルリンＲ３）（Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ）抗血清（１００ｎｇ／ｍＬ；Ａｂｃａｍ＃ａｂ８１７９７）、３）７日間連続して、ＡＣＰＡ抗体＃２：抗ヒストンＨ３（シトルリンＲ２＋Ｒ８＋Ｒ１７）抗血清（１００ｎｇ／ｍＬ；Ｎｏｖｕｓ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ＃ＮＢ１００－５７１３５ＳＳ）をマウス角膜（１０ｕＬ／角膜）の表面に塗布し、４０分間インキュベートした。使用したＡＣＰＡ抗体はウサギ抗血清に含まれていたため、通常のウサギ血清適用（１００ｎｇ／ｍＬ；Ａｂｃａｍ＃ａｂ７４８７）を対照として使用した。すべての抗体の希釈はＲｅｆｒｅｓｈＯｐｔｉｖｅ中で行った。フルオレセイン染色実験については、１０μｌの０．２％フルオレセインをマウスの角膜に１分間染み込ませ、１ＸＰＢＳで２回洗浄した。フルオレセイン染色は、コバルトブルー照明とバリアイエローフィルターを使用して、細隙灯（Ｈａａｇ Ｓｔｒｅｉｔ，Ｂｅｒｎ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）で検出および写真撮影した。各グループ（ｎ＝５）からの画像を収集し、フルオレセイン染色の強度をＭｅｔａｍｏｒｐｈ画像システムで測定した。（Ｍｅｔａｍｏｒｐｈ，Ｕｎｉｖｅｒｓａｌ Ｉｍａｇｉｎｇ，Ｄｏｗｎｉｎｇｔｏｎ，ＰＡ）。

【０１４３】

Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清をマウスの角膜に適用すると、角膜のフルオレセイン染色によって証明されるように、眼表面疾患の有意な増加が実証された。フルオレセイン染色は、いくつかの対照（ウサギ血清、Ｈ３ｃｉｔ抗血清、野生型Ｈ４抗体）で有意に増加した（図１４）。図１４に示すように、パネルＡ１およびＡ５は、マウス角膜上での７日間連続の非ＡＣＰＡ抗体適用が、７日目のフルオレセイン染色の欠如（$2.59 \times 10^{6} \pm 5.41 \times 10^{4}$）によって証明されるように、角膜上皮疾患をもたらさなかったことを示す。使用した２つのＡＣＰＡ抗体のうち、７日目の角膜フルオレセイン染色の有意な増加によって証明されるように、１つだけが角膜上皮疾患を引き起こした。角膜上皮疾患を引き起こしたＡＣＰＡ抗体は、０日目（$3.00 \times 10^{6} \pm 6.05 \times 10^{4}$、Ｐ＝０．０００６、図１４、Ａ２およびＡ６）と比較して、ＡＣＰＡ＃１－Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ血清であったのに対して（７日目に$1.85 \times 10^{7} \pm 3.19 \times 10^{6}$の蛍光強度）、ＡＣＰＡ＃２Ｈ３ｃｉｔ抗血清は、角膜上皮疾患を引き起こさなかった（０日目（$3.36 \times 10^{6} \pm 3.05 \times 10^{5}$、Ｐ＝０．９７、図１４、Ａ３およびＡ７と比較して、７日目に$3.34 \times 10^{6} \pm 4.90 \times 10^{5}$の蛍光強度）。第７日（$3.11 \times 10^{6} \pm 3.49 \times 10^{5}$、図１４、Ａ４およびＡ８）のフルオレセイン染色の欠如によって証明されるように、ビヒクル対照も、角膜上皮疾患を引き起こさなかった。要約すると、これらのデータは、ＡＣＰＡ抗体が角膜上皮疾患を引き起こしたことを示しているが、しかし、すべてのＡＣＰＡ抗体がそうできるわけではない。

【表３】

表３：マウス角膜のフルオレセイン染色からの蛍光測定

条件	0日目蛍光 (平均±SEM、AU)	7日目蛍光 (平均±SEM、AU)	P値(両側)
非ACPA (WT　H4抗体)	$2.22x10^6 \pm 1.04x10^5$	$2.59x10^6 \pm 5.41x10^4$	0.013
ACPA#1 (H4R3cit抗血清)	$3.00x10^6 \pm 6.05x10^4$	$1.85x10^7 \pm 3.19x10^6$	0.0006
ACPA#2 (H3cit抗血清)	$3.36x10^6 \pm 3.05x10^5$	$3.34x10^6 \pm 4.90x10^5$	0.97
対照 (ウサギ血清)	$3.04x10^6 \pm 2.14x10^5$	$3.11x10^6 \pm 3.49x10^5$	0.86

【０１４４】

ＡＣＰＡ抗体がＮＥＴｏｓｉｓを誘発できるか否かを決定するための実験も行われた。８～１０週齢のＴｈｙ１－ＹＦＰマウスを治療実験に使用した。Ｔｈｙ１－ＹＦＰマウス（ｎ＝５／グループ）は、ケタミン（２０ｍｇ／ｋｇ；Ｐｈｏｅｎｉｘ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｓｔ．Ｊｏｓｅｐｈ，ＭＯ）とキシラジン（６ｍｇ／ｋｇ；Ｐｈｏｅｎｉｘ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）の組み合わせの腹腔内注射によって麻酔した。マウスを３つのグループ、１）対照として機能するＲＰＭＩ（Ｇｉｂｃｏ＃１１８３５０３０）処理、２）ＡＣＰＡ抗体＃１：Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清、または３）ＡＣＰＡ抗体＃２：Ｈ３ｃｉｔ抗血清処理に分けた。各処理の１０μＬをマウス角膜に適用した。目は７日間連続して処理した。実験の終わりに、濾紙染色を使用して、マウス角膜の印象細胞診を実施した。顕微鏡のスライドには、粘着タブ（ＥＭＳ、＃７６７６０）を取り付けた。濾紙（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、＃ＪＨＷＰ０２５００）を最適なサイズにカットした。マウスが麻酔下にある間に、プロパラカインの滴をマウスの目に１分間適用し、キムワイプで穏やかに除去した。濾紙を角膜に置き、３０秒間穏やかに押した。次に、それをそっと持ち上げて粘着タップに置き、触れた部分を上に向けた。以下のすべての工程は、洗浄工程を除いて、湿度の高いチャンバー内で行った。耐水性バリアをサンプルの周りにＰａｐペンで描画し、濾紙を４％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）で２０分間固定した。穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間洗浄した後、ＰＢＳ－Ｔ（１ＸＰＢＳ中の０．０２５％Ｔｒｉｔｏｎ）で１０分間透過処理した。穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間１回洗浄し、次に２．５％ロバ血清（二次的に産生されたホスト種）および１ＸＰＢＳ中の１％ＢＳＡで少なくとも１時間ブロックした。次に濾紙を一次抗体とともに４℃で一晩インキュベートした。使用した一次抗体は、マウスモノクローナル抗シトルリン抗体（１：１０００；Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ，ＭＡＢＮ３２８）、およびウサギポリクローナル抗ヒストンＨ４（シトルリンＲ３）抗血清（１：１０００；Ａｂｃａｍ、ａｂ８１７９７）であった。翌日、穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間、３回洗浄した後、室温で１時間、二次抗体のインキュベーションを行った。使用した二次抗体は次のとおりである：ＡｌｅｘａＦｌｕｏｒ５９４ロバ抗マウスＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕ－ｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂ，＃７１５－５８５－１５０）、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８ロバ抗ウサギＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕ－ｎｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂ，＃７１１－５４６－１５２）、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　５９４ロバ抗ウサギＩｇＧ（１：１０００；Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，＃Ａ２１２０７）、およびＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８ロバ抗マウスＩｇＧ（１：１０００；Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂ，＃７１５　－５４７－００３）。インキュベーション後、暗所で穏やかに振とうしながら、濾紙を１ＸＰＢＳで５分間３回洗浄した。スライドを乾燥させ、ＤＡＰＩを含むＰｒｏＬｏｎｇ（商標）Ｇｏｌｄ　Ａｎｔｉｆａｄｅ　Ｍ

ｏｕｎｔａｎｔ（Ｉｎｖｉｔｏｇｅｎ，Ｐ３６９３１）でマウントした。カバースリップを置き、マニキュアで密封した。スライドは、イメージングの前に完全に乾燥させた。Ｚｅｉｓｓ　ＬＳＭ　７１０共焦点顕微鏡（Ｌｅｉｃａ，ＵＩＣ　Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ　Ｃｏｒｅ　ｆａｃｉｌｉｔｙ）を使用して６３倍の倍率で画像をキャプチャし、ＺｅｉｓｓＬＳＭ画像ソフトウェアで分析した。１）ＲＰＭＩ、２）ＡＣＰＡ＃２－Ｈ３ｃｉｔ抗血清、または３）ＡＣＰＡ＃１－Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清で７日間処理した後、マウスの角膜上皮を濾紙上に持ち上げて、他の病理学的影響を調べた。

【０１４５】

図１５に示すように、ＮＥＴｏｓｉｓはＡＣＰＡ－Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清によって誘発された。好中球および好中球細胞外トラップ（ＮＥＴ）の存在は、ＡＣＰＡ＃１－Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清治療群でのみ観察され（図１５，Ａ１）、ＮＥＴは好中球エラスターゼ染色で確認された（図１５，Ａ２）。これは、Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清がＮＥＴｏｓｉｓを誘発したことを示唆している。要約すると、ＡＣＰＡ抗体＃１は、マウス角膜上皮にＮＥＴｏｓｉｓを引き起こし、シトルリン化を誘発した。このデータは、ＡＣＰＡ抗体がシトルリン化のフィードフォワードサイクルに寄与して、シトルリン化に関連する眼疾患をさらに増幅することを示唆している。

【０１４６】

実施例８：ＡＣＰＡ（Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ）の遮断相互作用－Ｆｃ受容体遮断戦略は、ＡＣＰＡ－Ｈ４Ｒ３ｃｉｔによって誘発された眼表面疾患を無効にした。

角膜に対するＡＣＰＡの病理学的効果がＦｃ受容体を介して媒介されるか否かを決定するために、８～１０週齢のＴｈｙ１－ＹＦＰマウスを治療実験のために使用した。すべてのＦｃ受容体を遮断するペプチドを使用し、ＡＣＰＡ抗体を適用した。１０μＬの１）アジドフリーＦｃ受容体遮断薬（Ｉｎｎｏｖｅｘ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ＃ＮＢ３５５）または２）スクランブルペプチドを使用し、マウスの角膜に適用し、３０分間インキュベートした。ペプチドとのこのプレインキュベーションは、麻酔なしで実施した。次に、連続１０日間、Ｔｈｙ１－ＹＦＰマウス（ｎ＝５／グループ）に麻酔をかけ、１０μＬのＡＣＰＡ＃１－Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清を、Ｆｃ受容体遮断クグループとスクランブルペプチド遮断グループの両方に適用し、４０分間インキュベートした。希釈はＲｅｆｒｅｓｈＯｐｔｉｖｅ中で行った。マウスの角膜をフルオレセインで染色し、モニタリングし、細隙灯で画像化した。フルオレセイン強度は、メタモルフ画像システムによって測定された。Ｆｃ受容体の競合的遮断がＦｃ受容体のペプチド遮断と同じ結果を再現するか否かを調査するために、ＡＣＰＡ抗体とともにマウスＩｇＧを添加した。ＩｇＧ競合実験のために、１０日間連続して、ＡＣＰＡ抗体（Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清）とマウスＩｇＧ（Ａｂｃａｍ＃ａｂ１８８７７６）の混合物１０μＬを１：１の比率でマウスの角膜に塗布し、４０分間インキュベートした。対照実験では、ＡＣＰＡ抗体のみを使用した。マウスの角膜をフルオレセイン染色し、モニタリングし、細隙灯で画像化した。フルオレセイン強度は、メタモルフ画像システムによって測定された。１０日後、角膜を採取し、溶解し、サイトカインの検出のためにＬｕｍｉｎｅｘに供した。

【０１４７】

図１６に示すように、どちらの戦略もＨ４Ｒ３ｃｉｔによる眼表面疾患を大幅に軽減した。角膜で発現したサイトカインの分析は、ＩＬ－２がＡＣＰＡ条件で有意に増加したが、対照では増加しなかったことを明らかにした（図１６）。ペプチドブロッカーでＦｃ受容体を遮断することは、Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清の逆効果を再現した。角膜は実験の最後に収集され、溶解され、サイトカインプロファイルのために実行された。ＩＬ－２レベルは、競合マウス角膜とペプチドブロックマウス角膜の両方で、ブロックされていないものよりも大幅に減少した。要約すると、マウスＩｇＧはＦｃ受容体への結合についてＡＣＰＡ抗体と競合し、Ｆｃ受容体遮断薬はすべてのＦｃ受容体を遮断する。この競合的でペプチドのブロッキングは、角膜に対するＡＣＰＡの病理学的効果を無効にし、ＡＣＰＡ抗体とＦｃ受容体との相互作用を防ぐ方法を使用することが、シトルリン化関連の眼疾患の治療における潜在的な治療戦略である可能性がある。

【０１４８】
実施例９：ＡＣＰＡ－Ｈ４Ｒ３ｃｉｔはインビトロでｎｅＴｏｓｉｓを誘発する。
ＡＣＰＡがインビトロでｎｅＴｏｓｉｓを誘発できるか否かを決定するために、末梢血をＢＤバキュテナーナトリウムヘパリンチューブ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，＃３６７８７８）への静脈穿刺によって採取し、すぐに好中球単離のために実験室に輸送した。好中球は、ＭＡＣＳｘｐｒｅｓｓビーズ（ＭＡＣＳｘｐｒｅｓｓ好中球単離キット、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃｈ，＃１３０－１０４－４３４）を製造元の指示に従って使用して、非標的細胞の免疫磁気枯渇によって単離した。残留赤血球は、ＭＡＣＳｘｐｒｅｓｓ赤血球枯渇キット（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ，＃１３０－０９４－１８３）を使用して除去した。単離された好中球を、３ｍＬの無血清フェノールレッドを含まないＲＰＭＩ－１６４０培地（ＧＩＢＣＯ，＃１１８３５－０３０）で再懸濁した。細胞数の測定後、１．０ｘ１０６細胞／ｍＬをチャンバーガラススライド（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、＃ＰＥＺＧＳ０４１６）にプレーティングし、対照とともに以下の抗体とインキュベートした：１）ネガティブ対照としてのＲＰＭＩ、２）陽性対照としての１ｎＭ ＰＭＡ、３）１００ｎｇ／ｍＬ正常ウサギ血清（Ａｂｃａｍ，ａｂ７４８７）、４）１００ｎｇ／ｍＬ Ｈ３ｃｉｔ抗血清（Ｎｏｖｕｓｂｉｏ，ＮＢ１００－５７１３５ＳＳ）、５）１００ｎｇ／ｍＬ Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ抗血清（Ａｂｃａｍ，ａｂ８１７９７）、６）１００ｎｇ／ｍＬシトルリン化フィブリノーゲン抗体（Ｃａｙｍａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ，１７０８８）、７）１００ｎｇ／ｍＬシトルリン化ビメンチン抗体（Ｃａｙｍａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ，２２０５４）、８）１００ｎｇ／ｍＬシトルリン化α－エノラーゼ抗体（Ｃａｙｍａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ，２３０００）、または９）ＣＣＰ抗体（Ｂｉｏｓｓ、ｂｓ－１０５３Ｒ）。好中球を一晩インキュベートし、１μｍのＳｙｔｏｘグリーン（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｂｅｓ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，カタログ番号Ｓ７０２０）および５μＭのヘキスト（ＦｉｓｈｅｒＳｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｐｉｔｔｓｂｕｒｇｈ，ＰＡ，＃３３３４２）で染色した。それらは、Ｚｅｉｓｓ ＯｂｓｅｒｖｅｒＺ１を使用して２０倍で直接画像化した。
【０１４９】
図１７に示すように、単離されたヒト好中球を使用したインビトロ実験では、ＡＣＰＡ－Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ刺激が、細胞外ＤＮＡ鎖の顕著な増加を生じたが、対照（他のＡＣＰＡ）では増加を生じなかった。ＰＭＡ刺激、ＡＣＰＡ－Ｈ４Ｒ３ｃｉｔ刺激、およびＣＣＰ ＡＣＰＡ刺激のみが、有意な細胞外ＤＮＡ鎖を生成した。要約すると、ＡＣＰＡ－Ｈ４Ｒ３ｃｉｔはインビトロでｎｅＴｏｓｉｓを誘発する。
【０１５０】
実施例１０：正常またはストレス条件下でのヒト角膜上皮細胞に対する眼表面免疫グロブリン（ＯＳＩＧ）の細胞毒性の決定。
初代ヒト角膜上皮細胞を使用して、正常またはストレス条件下でのヒト角膜上皮細胞に対する細胞毒性ＯＳＩＧを決定した。初代ヒト角膜上皮細胞は、ＥＭＤ Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ（ＥＭＤ、＃ＳＣＣＥ０１６）から購入した。細胞はＥｐｉＧＲＯ（商標）Ｈｕｍａｎ Ｏｃｕｌａｒ Ｅｐｉｔｈｅｌｉａ Ｃｏｍｐｌｅｔｅ ＭｅｄＵＭ（ＥＭＤ、＃ＳＣＭＣ００１）で増殖させた。創傷スクラッチの前日、２０，０００細胞／ウェルを９６ウェルＩｍａｇｅＬｏｃｋプレート（Ｅｓｓｅｎ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，＃４３７９）に播種し、１８時間増殖させて単層コンフルエンスを達成した。ＩｍａｇｅＬｏｃｋプレートは特別に改変されたプレートであり、その技術は、画像の位置を正確に参照できるポイントを提供するプレートの下部にある基準マーカーによって可能になる。ＩｎｃｕＣｙｔｅ ９６ピン創傷メーカー（Ｅｓｓｅｎ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，＃４４９３）で作成された創傷スクラッチ（幅７００～８００μｍ）。スクラッチ後、細胞を１００μＬのフェノールレッドを含まないＲＰＭＩ－１６４０培地（Ｇｉｂｃｏ＃１１８３５０３０）で２回洗浄した。ＯＳＩＧ（Ｆｌｅｂｏｇａｍｍａ ５％ＤＩＦ）の用量依存実験では、培地を２００μＬの次の馴化培地に交換した：（１）ＥｐｉＧＲＯ、（２）４ｍｇ／ｍＬ ＯＳＩＧ、または（３）８ｍｇ／ｍＬ ＯＳＩＧ。ＯＳＩＧ希釈はＥｐｉＧＲＯ中で行った。

プレートをＩｎｃｕＣｙｔｅＺｏｏｍ生細胞分析システム（ＥｓｓｅｎＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）でインキュベートした。画像は３時間ごとにキャプチャした。相対的な創傷密度（％）は、ＩｎｃｕＣｙｔｅＺｏｏｍソフトウェアを使用して６９時間測定した。この測定基準は、すべての時点での創傷領域の外側の空間細胞密度に対する創傷領域の空間細胞密度の測定に依存している。ｔ＝０では０％、創傷内の細胞密度が最初の創傷外の細胞密度と同じ場合は１００％になるように設計されている。細胞の境界を見つけることに依存しない。ＨＣＥ－Ｔ細胞の細胞毒性は、ＬＤＨ（ラクトースデヒドロゲナーゼ）細胞毒性アッセイ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，＃８８９５４）によって決定した。細胞培養上清を収集し、５０μＬの上清を５０μＬの反応混合物と混合し、３０分間インキュベートし、混合物を９６ウェル平底プレートに移した。波長（４９０－６８０ｎｍ）での吸光度をＣｙｔａｔｉｏｎ５プレートリーダーで測定した。

【０１５１】

ヒト角膜上皮（ＨＣＥ－Ｔ）細胞株を上皮スクラッチアッセイのために使用し、この細胞株はＳＶ４０－Ａｄｅｎｏベクターで形質転換したヒト角膜細胞（ＲＩＫＥＮ　Ｃｅｌｌ　Ｂａｎｋ　ＲＣＢ２２８０，Ｔｓｕｋｕｂａ，Ｊａｐａｎ）である。細胞は、１％抗生物質、および１０％ＦＢＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，＃２６１４０－０７９）および１０，０００ユニット／ｍＬのペニシリン、１０，０００μｇ／ｍＬのストレプトマイシン、および２５μｇ／ｍＬのＧｉｂｃｏＡｍｐｈｏｔｅｒｉｃｉｎ　Ｂ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，＃１５２４００６２）を含む抗真菌溶液を補充したＤＭＥＭ培地（ＧＩＢＣＯ，＃１１９６５－０９２）で増殖させ、５％ＣＯ２を供給した３７°Ｃの組織培養インキュベーター中でインキュベートした。創傷スクラッチの前日、３０，０００細胞／ウェルを９６ウェルＩｍａｇｅＬｏｃｋプレート（Ｅｓｓｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，＃４３７９）に播種し、１８時間増殖させて単層コンフルエンスを達成した。ＩｍａｇｅＬｏｃｋプレートは特別に改変されたプレートであり、その技術は、画像の位置を正確に参照できるポイントを提供するプレートの下部にある基準マーカーによって可能になる。ＩｎｃｕＣｙｔｅ　９６ピン創傷メーカー（Ｅｓｓｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，＃４４９３）で作成された創傷スクラッチ（幅７００～８００μｍ）。スクラッチ後、細胞を、１００μＬのフェノールレッドを含まないＲＰＭＩ－１６４０培地（Ｇｉｂｃｏ＃１１８３５０３０）で2回洗浄した。ＯＳＩＧ（Ｆｌｅｂｏｇａｍｍａ　５％ＤＩＦ）の用量依存性実験では、培地を以下馴化培地２００μＬに交換した。（１）通常の状態（図Ｂ）：（ｉ）完全培地（ＣＭ）、（ｉｉ）４ ｍｇ／ｍＬ ＯＳＩＧまたは（ｉｉｉ）１０ｍｇ／ｍＬ ＯＳＩＧ、（２）ストレス状態（図Ｃ）：（ｉ）ＲＰＭＩ；（ｉｉ）４ ｍｇ／ｍＬ ＯＳＩＧまたは（ｉｉｉ）１０ｍｇ／ｍＬ。プレートをＩｎｃｕＣｙｔｅＺｏｏｍ生細胞分析システム（ＥｓｓｅｎＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）でインキュベートした。画像は３時間ごとにキャプチャした。相対的な創傷密度（％）は、ＩｎｃｕＣｙｔｅＺｏｏｍソフトウェアを使用して１２時間測定した。この測定基準は、すべての時点での創傷領域の外側の空間細胞密度に対する創傷領域の空間細胞密度の測定に依存している。ｔ＝０では０％、創傷内の細胞密度が最初の創傷外の細胞密度と同じ場合は１００％になるように設計している。細胞の境界を見つけることに依存しない。ＨＣＥ－Ｔ細胞の細胞毒性は、ＬＤＨ（ラクトースデヒドロゲナーゼ）細胞毒性アッセイ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，＃８８９５４）によって決定した。細胞培養上清を収集し、５０μＬの上清を５０μＬの反応混合物と混合し、３０分間インキュベートし、混合物を９６ウェル平底プレートに移した。波長（４９０～６８０ｎｍ）での吸光度はＣｙｔａｔｉｏｎ５プレートリーダーで測定した。１０ｍｇ／ｍＬ ＯＳＩＧは、３つの条件すべてで毒性を示したが、４ｍｇ／ｍＬは毒性がなく、これは、作業濃度として機能する可能性がある（有効でかつ非毒性）。図１８に示すように、細胞が正常な状態であろうとストレスを受けた状態であろうと、毒性は変化しなかった。要約すると、４ｍｇ／ｍＬ ＯＳＩＧは、毒性のない最高濃度である。

【０１５２】

実施例１１：眼表面でのＡＣＰＡ応答は、活性な眼抗体産生応答である

血清中にこれらのＡＣＰＡ抗体がなく、リウマチ因子陰性であることが調べられたにもかかわらず、涙液中に高いＡＣＰＡを有する高い眼表面疾患の患者の数を調べた。１６６例の患者の４９％は、血清中は環状シトルリン化ペプチド（ＣＣＰ）陰性であったが、涙液中ではＡＣＰＡ陽性であった。これらの患者の６９％はリウマチ因子陰性であった。このことは、眼表面のＡＣＰＡ応答が能動的な局所抗体産生応答であり、血清からのＡＣＰＡの受動的血管外漏出ではなく、付随する全身性免疫障害を必要としないことを示唆している。

【表４】

	血清 CCP+	血清 CCP−		
涙液 ACPA+	19 平均 ACPA:93±78　SD ACPA の中央値:86	81 平均 ACPA:28±36　SD ACPA の中央値:12.6	RF+	22
			RF−	48
涙液 ACPA−	2	64	RF+	18
			RF−	32

【０１５３】

実施例１２：涙液および重度の眼表面疾患における高自己抗体（ＡＣＰＡ）を有する眼の実施形態の患者の例

最初の患者はシェーグレン症候群の３８歳の女性であった。図１９に示すように、患者の涙液には高い自己抗体（ＡＣＰＡ）があり、右眼には角膜が溶けていた。ステロイド点眼薬、血清涙液および他の従来のＤＥＤ療法による治療にもかかわらず、患者はひどい症候性のままであった。この症例は、高い自己抗体レベルと重度の眼表面疾患との関連を示している。

【表５】

涙液洗浄中のＡＰＣＡ（通常レベルは＜５．０）

	６／２０１８	１０／２０１８
ＯＤ：	１２１．８	１０４．２
ＯＳ：	１２１．４	１４２．６

【０１５４】

２番目の患者は３９歳の女性で、２０１８年５月に重度の眼の不快感が見られた。検査の結果、両眼に上肢角結膜炎（ＳＬＫ）３＋を認めた。彼女はメチルプレドニゾロン点眼を開始した。２０１８年６月のフォローアップでは、治療にもかかわらず、眼の不快感の症状は依然として持続した。涙液中のＡＣＰＡレベルは非常に高かった。血清はＡＣＰＡおよび関節リウマチに対して陰性であった。２０１８年７月に測定されたその後のＡＣＰＡレベルも高く、患者は依然として重度の症状を示していた。２０１８年１０月の試験では、ＡＣＰＡレベルは低下したが、それでも高く、患者の症状はやや軽減した。図２０に示すように、この症例は、血液中に自己抗体がなく、関節リウマチのような全身性自己免疫疾患がなかったにもかかわらず、自己抗体（ＡＣＰＡ）が眼の上に存在したことを実証する。これは、眼の組織中で自己抗体が局所的に産生されたことを示唆している。

【表６】

涙液洗浄におけるＡＰＣＡ

	６／２０１８	７／２０１８	１０／２０１８
ＯＤ：	１５１．９	１７４．３	５６．４
ＯＳ：	１６４．８	１７４．３	５０．６

【０１５５】
３番目の患者は４７歳の女性で、非対称性の眼疾患であった。この患者は２０１７年２月に重度のドライアイと眼の不快感が見られた。検査の結果、右眼は左眼よりも重度の眼表面疾患を患っていたことが明らかになった。右眼の涙液分泌は左眼よりはるかに少なかった（シルマーＩは右眼で１ｍｍ、左眼で１２ｍｍであった）。図２１に示すように、右角膜の染色は８／１５で、左眼は２／１５であった。右眼結膜染色は６／６であり、左眼は３／６であった。涙液中のＡＣＰＡは右眼のみで高く、左眼では高かった。より重度の眼表面疾患のある眼は、涙液中の自己抗体（ＡＣＰＡ）レベルが高くなる。この事例は、より高いＡＣＰＡレベルがより重度の眼疾患と相関していることを示している。
【０１５６】
実施例１３：追加の患者の事例研究（事例研究１～６）
以下の事例研究では、ＯＳＩＧを表すように製剤化された市販のＩＶＩＧ（フレボガンマ１０％）を患者に投与した。最終濃度が４ｍｇ／ｍｌ　ＩｇＧ（０．４％）、ｐＨが少なくとも６．０になるように、市販のＩＶＩＧ（１０％）を眼科用賦形剤のＮａＣｌ溶液で希釈した。点眼薬を使用して、得られた０．４％ＩｇＧ製剤（本明細書では「ＯＳＩＧ」と称する）を点眼薬として患者に投与した。ＯＳＩＧは現在市販されていないため、市販のＩＶＩＧ（Ｆｌｅｂｏｇａｍｍａ　１０％）を使用して製造したが、ＯＳＩＧ製剤は、市販のＩｇＧまたはプールされた血漿由来のプールされたヒト免疫グロブリンＧを使用して製造できる。これらの事例研究は、本明細書で提供される眼科用製剤に関連する、臨床的に重要である結果を提供する。
【０１５７】
事例研究１は５６歳の女性で、眼の移植片対宿主病による重度の涙液欠乏症と重度の眼表面疾患があった（図２２）。ＯＳＤＩは７７．７で、角膜染色は右眼で６／１５であった。ＶＢＲは右眼の７０で眼の発赤を示した。角膜血管新生を伴わずに角膜瘢痕が存在した。ＯＳＩＧ点眼薬０．４％を１日２回開始した。患者は、２週間の治療後の眼の不快感の有意な減少（ＯＳＤＩが３０．５に減少）、角膜染色の有意な減少（２／１５）、およびＶＢＲの有意な減少（５０）を報告した。その後の２週間の治療で、ＶＢＲは３０に減少し、角膜染色は１／１５に減少した。涙液中の細胞外ＤＮＡは右眼で５６μｇ／ｍＬであり、ＯＳＩＧ治療後は１２．３μｇ／ｍＬに減少した。この実施例では、ＯＳＩＧ点眼薬は、重度のドライアイの兆候と症状を軽減し、ならびに涙液中の炎症性バイオマーカーを軽減した。
【０１５８】
事例研究２は、眼移植片対宿主病による重度の涙液欠乏症と重度の眼表面疾患を患う３１歳の女性であった（図２３）。患者は、ＰＲＯＳＥコンタクトレンズのカバーエリアの外側で重度の結膜角化が見られたが、角膜血管新生は見られず、眼の不快感の重度の症状があった。ＯＳＩＧ点眼薬０．４％を１日２回開始した。治療の１か月後、結膜の角質化は減少し、患者は「大幅に改善された」自覚的な眼症状を報告した。この実施例では、ＯＳＩＧ点眼薬は、重度のドライアイによる角質化を減らし、目の不快感を大幅に減らした。
【０１５９】
事例研究３は、左眼の以前のレーシック眼科手術の手術歴による神経向性角膜炎の７４歳の男性であった（図２４）。角膜は左眼で２／１５の染色を示し、患者は４／１０の眼の不快感の強さを報告した。角膜は、角膜血管新生なしでレーシックフラップの端にかすかな瘢痕を示した。全体として、検査は症状徴候の切断（不一致ＤＥＤ）の診断と一致していた。ＯＳＩＧ点眼薬０．４％を１日２回開始した。治療の１か月後、患者は自覚的に改善され（ＳＧＡ）、症状の強さは３に減少した。左眼の角膜染色は消失した（０／１０）。この例では、ＯＳＩＧ点眼薬は、症状と徴候の断絶につながる術後合併症に有益であった。
【０１６０】
事例研究４は、重度の涙液欠乏症と重度の眼表面疾患を有する３９歳の男性であった。角膜は、角膜血管新生なしで、右眼で１／１５、左眼で３／１５のＳＰＫ染色を示した。

患者は３／１０の眼の不快感の強さを報告した。ＯＳＩＧ点眼薬０．４％を１日２回開始した。治療の１か月後、眼の不快感の強さは２／１０に減少し、角膜の染色は両眼で消えた（０／１０）。この実施例は、眼の瘢痕性類天疱瘡におけるＯＳＩＧ点眼薬の有益な効果を実証する。

【０１６１】

事例研究５は、３３歳で、重度の涙液欠乏症と重度の眼の不快感を伴い、徴候の断絶（不一致ＤＥＤ）と診断された。角膜の染色はなく、角膜の血管新生もなかった。目の不快感の強さは６／１０であった。ＯＳＩＧ点眼薬０．４％を１日２回開始した。治療の１か月後、眼の不快感の強さは、右眼で３／１０、左眼で４／１０に減少した。この実施例は、症状の兆候がない患者の眼の不快感を軽減するＯＳＩＧ点眼薬の有益な効果を示している。

【０１６２】

事例研究６は、スティーブン・ジョンソン症候群による涙液欠乏症と重度の眼表面疾患を患う２９歳の男性であった（図２５）。ＯＳＤＩは５４．７で、症状の強さは８／１０であった（激しいひどい不快感）。ＯＳＩＧ点眼薬０．４％を１日３回両眼で開始した。患者は、２週間の治療後に眼の不快感が大幅に減少し（ＯＳＤＩが１４．２に減少）、症状の強度が０／１０に減少した（不快感なし）と報告した。目の光感受性とざらざら感は、ＯＳＩＧ治療の前に「常に」存在していた。ＯＳＩＧ処理後、光感度は「一部の時間」に過ぎず、ざらざら感はまったくなかった。眼の発赤もＯＳＩＧ治療で減少した。この例では、ＯＳＩＧ点眼薬は、スティーブン・ジョンソン症候群後のドライアイの兆候と症状を大幅に軽減した。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目１)

眼科用製剤であって、

（ａ）１つ以上の薬学的に許容される眼科用賦形剤、

（ｂ）免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）またはそのフラグメントを含む、眼科用製剤。

(項目２)

眼科用製剤であって、

（ａ）１つ以上の薬学的に許容される眼科用賦形剤、

（ｂ）炎症性、感染性および／もしくは免疫学的な眼表面疾患または眼内疾患からなる群から選択される臨床状態の治療のための眼の薬学的に活性な化合物であって、前記薬学的に活性な化合物が免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）を含む、眼の薬学的に活性な化合物を含む、眼科用製剤。

(項目３)

ステロイド、抗炎症剤、粘液溶解剤、ＰＡＤ酵素阻害剤（パクリタキセル、グルココルチコイドまたはＣｌ－アミジン）またはＮＥＴ分解剤（ＤＮａｓｅまたはヘパリン）、標的Ｆａｂ抗体フラグメント、Ｆｃ受容体遮断ペプチド、Ｆｃ受容体遮断抗体、病原性エピトープを含む組換えペプチド、従来の合成ＤＭＡＲＤ（メトトレキサート、レフルノミド／テリフルノミド、スルファサラジン、クロロキン／ヒドロキシクロロキン）、ＴＮＦ－α標的療法（インフリキシマブ、アダリムマブ、エタネルセプト、ゴリムマブ、セルトリズマブペゴル）、Ｂ細胞標的療法（リツキシマブ、オファツムマブ、ベリムマブ、アタシセプト、タバルマブ）、Ｔ細胞標的療法（アバタセプト、ベラタセプト）、インターロイキン標的療法（トシリズマブ、アナキンラ、カナキヌマブ、リロナセプト、セクキヌマブ）、増殖因子および分化因子（デノスマブ、マブリリムマブ）、ＪＡＫ経路阻害剤（トファシチニブ、バリシチニブ、フィルゴチニブ）、ならびにそれらの組み合わせから選択される第２の薬学的に活性な化合物をさらに含む、項目１または２に記載の眼科用製剤。

(項目４)

眼の表面上または眼内における自己抗体の量またはその有害な生物学的効果を低減することができる薬学的に活性な化合物を含む眼科用製剤であって、前記自己抗体が、シトルリン化タンパク質、ホモシトルリン化タンパク質またはネイティブタンパク質に応答して

生成される、眼科用製剤。
(項目５)
前記薬学的に活性な化合物が、免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）またはそのフラグメントを含む、項目４に記載の眼科用製剤。
(項目６)
前記薬学的に活性な化合物が、プールされた血漿由来のプールされたヒト免疫グロブリンＧを含む、項目１～５のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目７)
眼科用製剤であって、
（ａ）薬学的に許容される眼科用賦形剤、
（ｂ）プールされたヒト免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）を含む治療有効量の薬学的に活性な化合物、および
（ｃ）治療有効量のプールされたヒト血漿タンパク質、プールされたヒト血漿脂質、またはそれらの組み合わせを含む、眼科用製剤。
(項目８)
前記薬学的に活性な化合物が、自己血漿／血清から精製された自己ＩｇＧ、多量体化されたＩｇＧ１　Ｆｃ分子、ＩｇＧ１　Ｆｃヘキサマー、ＩｇＧ２ａ　Ｆｃマルチマー、ストラドマー（ｓｔｒａｄｏｍｅｒ）、多価Ｆｃ構造、糖鎖工学処理されたシアル化ＩｇＧ、ＩｇＧ　Ｆｃグリコシル化、合成ＩｇＧもしくはそのフラグメント、またはそれらの組み合わせを含む、項目１～７のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目９)
薬学的に許容される眼科用賦形剤のうちの１つ以上をさらに含む、項目１～８のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目１０)
薬学的に許容される眼用賦形剤のうちの１つ以上が、シクロデキストリン、カルボポールもしくはカルボマーもしくはアクリル酸ポリマー、ポロキサマー、キシログルカン、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、エチル（ヒドロキシエチル）セルロース、シュードラテックス、セルロースアセテートフタレート、ジェランガム、アルギン酸塩、カラギーナン、ヒアルロン酸、酢酸ナトリウム、エデト酸二ナトリウム、ヒプロメロース、酢酸、アルコール、アルギン酸、アメルコールキャブ（Ａｍｅｒｃｈｏｌ－ｃａｂ）、アンチピリン、塩化ベンザルコニウム、臭化ベンゾドデシニウム、ホウ酸、カフェイン、塩化カルシウム、カルボマー１３４２、カルボマー９３４Ｐ、カルボマー９４０、カルボマーホモポリマータイプＢ（アリルペンタエリスリトール架橋）、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒマシ油、セチルアルコール、クロロブタノール、クエン酸、クエン酸一水和物、クレアチニン、ジビニルベンゼンスチレンコポリマー、エチレンビニルアセテートコポリマー、ジェランガム（低アシル）、グリセリン、ステアリン酸グリセリル、ヒプロメロース、ラノリン、塩化ラウラルコニウム、ラウロイルサルコシン、塩化マグネシウム、メチルパラベン、ミネラルオイル、ノノキシノール－９、オクトキシノール－４０、ペトロラタム、フェニルエチルアルコール、酢酸フェニル水銀、硝酸フェニル水銀、塩化ポリドロニウム、ポロキサマー１８８もしくは４０７、ポリカルボフィル、ポリエチレングリコール４００もしくは８０００、ポリオキシル３５ヒマシ油、ポリオキシル４０水素化ヒマシ油、ポリオキシル４０ステアレート、ポリプロピレングリコール、ポリソルベート２０、ポリビニルアルコール、塩化カリウム、ソルベートカリウム、ポビドンＫ２９／３２、ポビドンＫ３０、ポビドンＫ９０、ポビドン、プロピレングリコール、プロピルパラベン、ソーダ灰、酢酸ナトリウム、重硫酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム十水和物、炭酸ナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、メタ重硫酸ナトリウム、硝酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、ソルビン酸、ソルビトール、安定化オキシクロロ錯体、硫酸、チメロサール、二酸化チタン、トコフェルソラン、クエン酸三ナトリウム二水和物、トロメタミン、チロキサポール、キサンタンガム、塩化亜鉛、またはそれらの組み合わせから選択される

、項目９に記載の眼科用製剤。
(項目１１)
ステロイド、抗炎症剤、粘液溶解剤、ＰＡＤ酵素阻害剤（パクリタキセル、グルココルチコイドまたはＣｌ－アミジン）または解体するＮＥＴ分解剤（ＤＮａｓｅまたはヘパリン）、標的Ｆａｂ抗体フラグメント、Ｆｃ受容体遮断ペプチド、Ｆｃ受容体遮断抗体、病原性エピトープを含む組換えペプチド、従来の合成ＤＭＡＲＤ（メトトレキサート、レフルノミド／テリフルノミド、スルファサラジン、クロロキン／ヒドロキシクロロキン）、ＴＮＦ－α標的療法（インフリキシマブ、アダリムマブ、エタネルセプト、ゴリムマブ、セルトリズマブペゴル）、Ｂ細胞標的療法（リツキシマブ、オファツムマブ、ベリムマブ、アタシセプト、タバルマブ）、Ｔ細胞標的療法（アバタセプト、ベラタセプト）、インターロイキン標的療法（トシリズマブ、アナキンラ、カナキムマブ、リロナセプト、セクキヌマブ）、増殖因子および分化因子（デノスマブ、マブリリムマブ）、ＪＡＫ経路阻害剤（トファシチニブ、バリシチニブ、フィルゴチニブ）、ならびにそれらの組み合わせから選択される第２の薬学的に活性な化合物をさらに含む、項目１～１０のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目１２)
前記眼科用製剤中に存在するＩｇＧの量が、約０．０１重量ｍｇ／ｍＬ～約１重量ｇ／ｍＬの範囲である、項目１～３および５～１１のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目１３)
ＩｇＧの前記量が約１０ｍｇ／ｍＬ以下である、項目１２に記載の眼科用製剤。
(項目１４)
ＩｇＧの前記量が約１ｍｇ／ｍＬ以下である、項目１２に記載の眼科用製剤。
(項目１５)
ＩｇＧフラグメントが抗原結合フラグメント、一本鎖抗体、Ｆｖフラグメント、Ｆａｂフラグメント、Ｆａｂ’フラグメント、またはＦ（ａｂ）２フラグメントである、項目１～３および５～１４のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目１６)
前記ＩｇＧが、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、およびＩｇＧ４またはそれらの組み合わせを含む、項目１～３および５～１５のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目１７)
前記ＩｇＧが、プロテインＡビーズを使用するアフィニティークロマトグラフィーなどの分離プロセス、または別のＩｇＧ分離プロセスを使用して自己血漿／血清から精製された、予め選択された濃度の自己ＩｇＧを含む、項目１～３および５～１６のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目１８)
前記ＩｇＧが、糖鎖工学処理されたシアル化ＩｇＧ、ＩｇＧ－Ｆｃグリコシル化、またはそれらの組み合わせを含む、項目１～３および５～１６のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目１９)
前記ＩｇＧが、自己免疫抗体またはシトルル化タンパク質に特異的に結合する抗体を中和する、項目１～３および５～１８のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目２０)
前記眼科用製剤中に存在するＩｇＧの前記量が、約０．０１重量ｍｇ／ｍＬ～約１重量ｇ／ｍＬの範囲である、項目１～３および５～１９のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目２１)
前記製剤のｐＨがｐＨ６～ｐＨ８である、項目１～２０のいずれか１項に記載の眼科用製剤。
(項目２２)
ポリビニルアルコール、ポビドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポロキサマー、ポリオール、カルボポール、プルロニック（登録商標）、カルボマー、カルボキシメ

チルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、シクロデキストリン、リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、トリス緩衝液、塩化ナトリウム、塩化カリウム、ポリソルベート８０、植物油、防腐剤、またはそれらの組み合わせを含む１つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む、項目１～２１のいずれか１項に記載の眼科用製剤。

(項目２３)

前記製剤が、防腐剤を含む複数回用量バイアルまたは防腐剤を含まない単回投与滅菌容器を含む、項目１～２２のいずれか１項に記載の眼科用製剤。

(項目２４)

その必要がある患者の臨床状態を治療する方法であって、前記方法が、項目１～２３のいずれか１項に記載の眼科用製剤を前記患者に投与する工程を含み、前記臨床状態が、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、感染性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である、方法。

(項目２５)

その必要がある患者の炎症性、感染性および／または免疫学的眼疾患を治療する方法であって、項目１～２３のいずれか１項に記載の眼科用製剤を患者に投与する工程を含む、方法。

(項目２６)

項目１～２３のいずれか１項に記載の眼科用製剤を患者に投与する工程を含む、臨床状態に罹患している前記患者の眼の不快感を軽減、緩和または予防する方法であって、ここで、前記臨床状態が、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、感染性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である、方法。

(項目２７)

前記眼の不快感が、異物感、疼痛、光過敏症、刺痛、刺激、痛み、乾燥、灼熱感、発赤、かゆみまたはチクチク感のうちの１つ以上を含む、項目２６に記載の方法。

(項目２８)

その必要がある患者の臨床状態の前記治療のための薬剤の調製のための、項目１～２３のいずれか１項に記載の眼科用製剤の使用であって、前記臨床状態が、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、感染性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である、使用。

(項目２９)

その必要がある患者の炎症性、感染性および／または免疫学的眼疾患の前記治療のための薬剤の調製のための、項目１～２３のいずれか１項に記載の眼科用製剤の使用。

(項目３０)

臨床状態に罹患している患者の眼の不快感を軽減、緩和または予防するための薬剤の調製のための、項目１～２３のいずれか１項に記載の眼科用製剤の使用であって、前記臨床状態が炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、感染性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である、使用。

(項目３１)

前記眼の不快感が、異物感、刺痛、刺激、痛み、乾燥、発赤、かゆみまたはチクチク感のうちの１つ以上を含む、項目３０に記載の使用。

(項目３２)

その必要がある患者の臨床状態を治療するための組成物であって、前記組成物が項目１～２３のいずれか１項に記載の眼科用製剤を含み、前記臨床状態が、炎症性眼表面疾患もしくは眼内疾患、感染性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である、組成物。

(項目３３)

その必要がある患者の炎症性、感染性および／または免疫学的眼疾患を治療するための組成物であって、前記組成物が、項目１～２３のいずれか１項に記載の眼科用製剤である、組成物。

(項目３４)

項目１～２３のいずれか１項に記載の眼科用製剤を含む、臨床状態に罹患している患者の眼の不快感を軽減、緩和または予防するための組成物であって、前記臨床状態が、炎症性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、感染性眼表面疾患もしくは眼内眼疾患、および／または免疫学的眼表面疾患もしくは眼内眼疾患である、組成物。

(項目３５)

前記眼の不快感が、異物感、疼痛、光過敏症、刺痛、刺激、痛み、灼熱感、乾燥、発赤、かゆみまたはチクチク感のうちの１つ以上を含む、項目３４に記載の組成物。

(項目３６)

前記患者が生物学的サンプル中に存在する自己抗体を有する、項目２４～３５のいずれか１項に記載の方法、使用または組成物。

(項目３７)

前記生物学的サンプル中に存在する自己抗体が抗シトルリン化タンパク質抗体である、項目３６に記載の方法、使用または組成物。

(項目３８)

前記生物学的サンプルが眼液である、項目３６または３７に記載の方法、使用または組成物。

(項目３９)

前記眼液が、涙液、洗眼液、房水または硝子体液である、項目３８に記載の方法、使用または組成物。

(項目４０)

前記臨床状態、炎症性眼疾患、感染性眼疾患または免疫学的眼疾患が、眼移植片対宿主疾患（ｏＧＶＨＤ）、スティーブン・ジョンソン症候群（Ｓｔｅｖｅｎ　Ｊｏｈｎｓｏｎ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、眼瘢痕性ペンフィゴイド（ＯＣＰ）、軽度、中等度および重度の涙液欠乏性乾燥眼疾患（ＤＥＤ）、メイボミアン腺疾患、麦粒腫、眼性酒さ、眼瞼炎、上方輪部角結膜炎（ＳＬＫ）、十分な涙液性ＤＥＤ、フロッピー眼瞼症候群、神経栄養性眼疾患、症状－徴候切断（不一致ＤＥＤ）、神経障害性疼痛、甲状腺眼疾患（墓眼症）、関節リウマチ関連眼疾患、ループス関連眼疾患、シェーグレン症候群、続発性シェーグレン症候群、眼性酒さ、アレルギー性角結膜炎（春季性）、ウイルス性角結膜炎（アデノウイルスＥＫＣ、ヘルペスウイルス）、タイゲソン角膜炎、網膜グリオーシス、無虹彩、角膜炎または術後／外傷後の眼の状態、末梢潰瘍角膜炎、角膜炎、上強膜炎、強膜炎、ブドウ膜炎および緑内障を含む、項目２４～３９のいずれか１項に記載の方法、使用または組成物。

(項目４１)

前記角膜炎が、無菌の炎症によるか、またはウイルス、細菌、もしくは真菌の感染によるものである、項目４０に記載の方法。

(項目４２)

前記術後／外傷後の眼の状態が、眼の表面再建手術後、眼表面への代謝産物の適用、翼状片手術、緑内障手術、白内障手術、屈折矯正手術（ＬＡＳＩＫ、ＬＡＳＥＫ、またはＰＲＫ）、角膜プロテーゼ手術または放射線もしくは化学物質（アルカリまたは酸性）もしくは外傷性損傷の後の関連する眼の状態を含む、項目４０に記載の方法。

(項目４３)

治療有効量の治療量の同種異系または自己ＩｇＧ眼科用製剤をそのような治療を必要とする患者に投与する工程を含む、眼疾患を治療するための方法。

(項目４４)

そのような治療を必要とする患者の眼疾患の治療のための薬剤の調製のための、治療量の同種異系または自己ＩｇＧ眼科用製剤の使用。

(項目４５)

そのような治療を必要とする患者への、治療有効量の治療量の同種異系または自己ＩｇＧ眼科用製剤を含む、前記眼疾患を治療するための組成物。

(項目４６)

前記眼科用製剤が、点眼製剤、局所液剤、ゲル製剤、エマルジョン製剤、懸濁液製剤、軟膏製剤または注射用製剤として投与される、項目２４～４５のいずれか１項に記載の方法、使用または組成物。

(項目４７)

前記眼科用製剤、薬剤または組成物が少なくとも１日１回前記患者に投与される、項目２４～４６のいずれか１項に記載の方法、使用または組成物。

(項目４８)

前記眼科用製剤、薬剤または組成物が、前記対象に少なくとも１～３週間に１回投与される、項目２４～４６のいずれか１項に記載の方法、使用または組成物。

(項目４９)

ＩｇＧの前記濃度が、５％、１０％または２０％の眼表面免疫グロブリン（ＯＳＩＧ）溶液によって規定される、項目２４～４８のいずれか１項に記載の方法、使用または組成物。

(項目５０)

前記眼科用製剤が眼内注射として眼内に投与される、項目２４～４９のいずれか１項に記載の方法、使用または組成物。

(項目５１)

前記自己ＩｇＧ眼科用製剤が、ヒト対象からの血液を使用して調製され、次いで、同じ対象の眼表面または眼内に投与される、項目２４～５０のいずれか１項に記載の方法、使用または組成物。

(項目５２)

対象における自己抗体の存在を検出する方法であって、前記方法が、前記対象から得られた眼液のサンプル中の自己抗体のレベルを検出することを含み、前記対象が、眼表面障害に罹患しているか、またはそれを発症するリスクがある、方法。

(項目５３)

前記対象から得られた前記サンプル中の自己抗体の前記レベルを自己抗体の対照レベルと比較する工程をさらに含む、項目５２に記載の方法。

(項目５４)

対象における眼表面障害を診断するか、その発症のリスクを決定するか、またはそれをモニタリングする方法であって、前記方法が、前記対象から得られたサンプル中の自己抗体のレベルを検出すること、および前記対象から得られた前記サンプル中の抗体の前記レベルを、前記自己抗体の対照レベルと比較することを含み、自己抗体の前記対照レベルが、前記対象における眼表面障害を発症するリスクを診断するか、その発症のリスクを決定するか、またはそれをモニタリングするために使用される、方法。

(項目５５)

前記自己抗体が、ネイティブ自己抗体、抗ＣａｒＰ自己抗体、またはＡＣＰＡ抗体である、項目５２～５４のいずれか１項に記載の方法。

(項目５６)

前記自己抗体が複数の自己抗体を含む、項目５２～５５のいずれか１項に記載の方法。

(項目５７)

前記自己抗体を検出する抗原が、シトルリン化タンパク質、シトルリン化ペプチド配列、またはそれらの組み合わせを含む、項目５２～５６のいずれか１項に記載の方法。

(項目５８)

前記自己抗体を検出する抗原が、カルバミル化タンパク質、カルバミル化ペプチド配列、またはそれらの組み合わせを含む、項目５２～５６のいずれか１項に記載の方法。

(項目５９)

前記サンプルが眼液である、項目５２～５８のいずれか１項に記載の方法。

(項目６０)

前記眼液が、涙液、洗眼液、房水または硝子体液である、項目５９に記載の方法。

(項目６１)

自己抗体の前記レベルが、酵素法、分光法、クロマトグラフィー法、免疫学的方法、またはそれらの組み合わせからなる群から選択される方法によって検出される、項目５２～６０のいずれか１項に記載の方法。

(項目６２)

前記眼表面障害の進行を決定すること、または眼表面障害に罹患しているか、罹患している疑いがあるか、またはその素因がある対象における療法の有効性を決定することを含む、項目５２～６１のいずれか１項に記載の方法。

(項目６３)

自己抗体の前記対照レベルが、療法の開始前の前記対象における前記自己抗体の前記レベル、療法のより早い段階における前記対象における前記自己抗体の前記レベル、またはそれらの組み合わせを含む、項目５２～６２のいずれか１項に記載の方法。

(項目６４)

前記眼表面障害が、眼移植片対宿主疾患（ｏＧＶＨＤ）、スティーブン・ジョンソン症候群、眼瘢痕性ペンフィゴイド（ＯＣＰ）、軽度、中等度および重度の涙液欠乏性乾燥眼疾患（ＤＥＤ）、メイボミアン腺疾患、上方輪部角結膜炎（ＳＬＫ）、十分な涙液性ＤＥＤ、フロッピー眼瞼症候群、神経栄養性眼疾患、症状－徴候切断（不一致ＤＥＤ）、神経障害性疼痛、甲状腺眼疾患（墓眼症）、関節リウマチ関連眼疾患、ループス関連眼疾患、シェーグレン症候群、続発性シェーグレン症候群、眼性酒さ、アレルギー性角結膜炎（春季性）、ウイルス性角結膜炎（アデノウイルスＥＫＣ、ヘルペスウイルス）、タイゲソン角膜炎、網膜グリオーシス、無虹彩、角膜炎もしくは術後／外傷後の眼の状態、末梢潰瘍角膜炎、角膜炎、上強膜炎、強膜炎、ブドウ膜炎または緑内障を含む、炎症性眼疾患、感染性眼疾患または免疫学的眼疾患である、項目５２～６３のいずれか１項に記載の方法。

(項目６５)

シトルリン化タンパク質、シトルリン化ペプチド配列、またはそれらの組み合わせからなる群から選択される自己抗体を検出するための一連の抗原パネルを含む、診断キット。

(項目６６)

項目２４～２７、３６～４３または４６～６１のいずれか１項に記載の方法を実行するための自己抗体を検出するための一連の抗原パネルを含む、診断キット。

(項目６７)

眼または粘膜用途のために製剤化された、Ｆｃ受容体遮断組成物。

(項目６８)

眼のペプチド濃度を遮断するＦｃ受容体および任意選択で適切な担体によってさらに規定される、項目６７に記載のＦｃ受容体遮断組成物。

(項目６９)

項目６７または６８に記載のＦｃ受容体遮断組成物を含む、濃縮された眼または粘膜部位のＩｇＧ組成物。

(項目７０)

抗炎症剤をさらに含む、項目６９に記載の組成物。

(項目７１)

眼免疫疾患の治療のための治療的用量であって、前記眼免疫疾患が、治療部位から除去された眼液から決定される抗シトルリン化タンパク質自己抗体のレベルによって示され、前記治療的用量が、項目６９または７０に記載の濃縮された眼のＩｇＧ組成物を使用して製剤化することができる、治療用量。

(項目７２)

前記眼液が涙液であり、免疫疾患がドライアイ疾患である、項目７０に記載の治療的用量。

(項目７３)

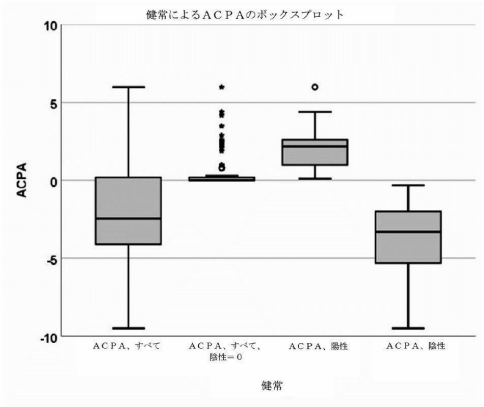
項目７０～７２のいずれか１項に記載の治療的用量であって、項目６９または７０に記載の濃縮された眼のＩｇＧ組成物によってさらに規定される組成物が、治療部位での適用を介してＡＣＰＡ濃縮量および／または効果を低減する、治療的用量。

(項目７４)
前記濃縮された眼のＩｇＧ組成物が、約０．０１重量ｍｇ／ｍＬ～約１重量ｇ／ｍＬの範囲である、項目７３に記載の治療的用量。
(項目７５)
診断キットであって、
眼液中の抗シトルリン化タンパク質自己抗体の濃度を決定するための試験装置、および
前記眼液中の前記抗シトルリン化タンパク質自己抗体濃度の損傷効果を治療および／または低減するために十分な治療的治療用量およびレジメンを示すための投薬装置を含む、診断キット。
(項目７６)
前記眼液が、涙液、洗眼液、房水または硝子体液である、項目７５に記載の診断キット。
(項目７７)
治療部位から除去された眼液中に検出された免疫損傷の治療用量を製造する方法であって、
前記治療部位に投与されたときに抗シトルリン化タンパク質自己抗体のレベルおよび／または効果を低減するように構成されたＩｇＧの濃度を提供すること、および
ＩｇＧの前記濃度に担体を添加し、それによって、前記ＩｇＧの前記治療部位への送達を可能にするように構成された治療用量を形成することを含む、方法。
(項目７８)
ＩｇＧの濃度が、１０％眼表面免疫グロブリン（ＯＳＩＧ）溶液内から製剤化される、項目７７に記載の方法。
(項目７９)
項目７５または７６に記載の診断キットで検出された応答によって定義される治療期間の間、少なくとも１日に２回かつ１か月に２回、または、免疫もしくは炎症状態の改善を達成するための任意の他の適切な期間の間、または試験装置が前記濃度が正常範囲内にあることを示すまで、前記治療用量を前記治療部位に定期的に送達する工程をさらに含む、項目７７または７８に記載の方法。
(項目８０)
前記眼液が、涙液、洗眼液、房水または硝子体液である、項目７７～７９のいずれか１項に記載の方法。
(項目８１)
眼疾患を治療するために製剤化されたリツキシマブを含む、Ｂ細胞標的化眼組成物。
(項目８２)
前記組成物が点眼薬として製剤化される、項目８１に記載のＢ細胞標的化眼組成物。
(項目８３)
項目１～２３のいずれか１項に記載の眼科用製剤、または項目８１もしくは８２に記載のＢ細胞標的化眼組成物であって、粘膜における炎症性、感染性または免疫性疾患を治療するために製剤化される、製剤または組成物。
(項目８４)
前記粘膜が、口腔、鼻腔、膀胱、気管気管支通路、外耳道および腔、滑膜（関節）腔、膣腔、または皮膚上にある、項目８３に記載の眼科用製剤またはＢ細胞標的化眼組成物。

【図面】

【図１】

【図1】



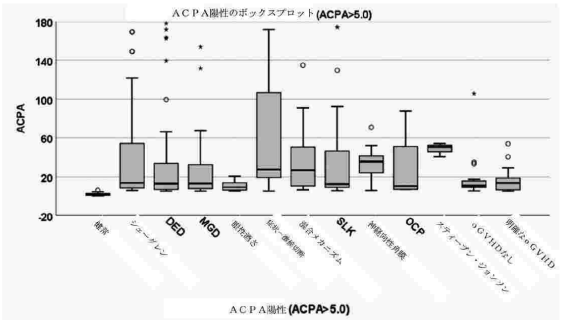
健常者についてのＡＣＰＡ

ACPA

健常	N	平均	中央値	平均の標準誤差	標準偏差	最少	最大
ＡＣＰＡ、すべて	78	-2.0256	-2.4500	.36027	3.18178	-9.50	6.00
ＡＣＰＡ、すべて、陰性＝０	78	.5731	.0000	.13876	1.22545	.00	6.00
ＡＣＰＡ、陽性	21	2.1286	2.2000	.33131	1.51827	.10	6.00
ＡＣＰＡ、陰性	57	-3.5561	-3.3000	.27277	2.05939	-9.50	-.30

【図２】

【図2】



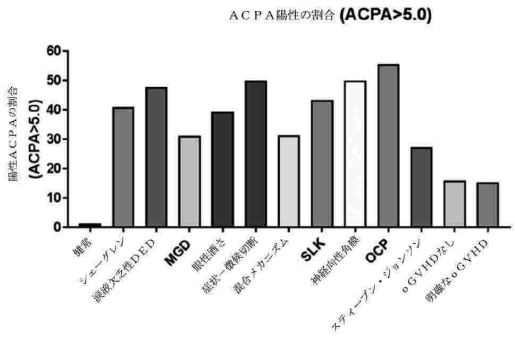
ＡＣＰＡ陽性 (ACPA>5.0)

ACPA

5種のＡＣＰＡ陽性	N	平均	中央値	平均の標準誤差	標準偏差	最少	最大
健常	21	2.1286	2.2000	.33131	1.51827	.10	6.00
シェーグレン	54	38.1204	13.8000	6.26197	46.01588	6.00	169.40
ＤＥＤ	54	31.5926	12.9500	6.23881	45.84568	5.00	178.10
ＭＧＤ	33	26.9394	13.1000	5.92188	34.01861	5.10	154.00
眼性酒さ	11	10.9000	9.2000	1.65051	5.47412	5.00	20.60
症状一徴候切断	20	53.8550	27.4500	12.20108	54.56487	5.10	171.70
混合メカニズム	15	39.0667	26.7000	9.90288	38.35370	6.50	135.00
ＳＬＫ	29	37.2793	12.4000	9.06278	48.80456	5.60	174.30
神経向性角膜	14	33.6643	35.6500	4.61279	17.25949	5.80	70.80
ＯＣＰ	10	28.6100	10.4000	9.84183	31.12261	6.90	87.60
スティーブン・ジョンソン	3	48.5667	50.7000	3.95699	6.85371	40.90	54.10
ｏＧＶＨＤなし	20	17.9200	10.8000	4.94246	22.10336	5.50	105.60
明確なｏＧＶＨＤ	21	15.8238	13.7000	2.74622	12.58475	5.00	53.90

【図３】

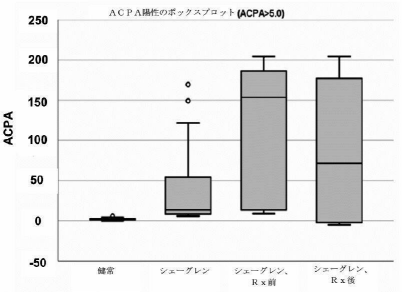
【図3】



グループ	すべての患者の#	ＡＣＰＡ＞５．０の#	ＡＣＰＡ＞５．０の割合
健常	78	1	1.3
シェーグレン	132	54	40.9
涙液欠乏性ＤＥＤ	113	54	47.8
ＭＧＤ	106	33	31.1
眼性酒さ	28	11	39.3
症状一徴候切断	40	20	50
混合メカニズム	48	15	31.3
ＳＬＫ	67	29	43.3
神経向性角膜	28	14	50
ＯＣＰ	18	10	55.6
スティーブン・ジョンソン	11	3	27.3
ｏＧＶＨＤなし	125	20	16
明確なｏＧＶＨＤ	137	21	15.3

【図４】

【図4】



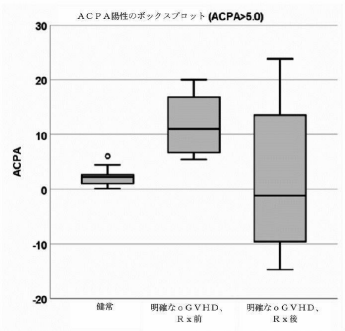
ＡＣＰＡ陽性 (ACPA>5.0)

ACPA

陽性ＡＣＰＡのみ	N	平均	中央値	平均の標準誤差	標準偏差	最少	最大
健常	21	2.1286	2.2000	.33131	1.51827	.10	6.00
シェーグレン	54	38.1204	13.8000	6.26197	46.01588	6.00	169.40
シェーグレン、Ｒｘ前	19	118.4158	153.6000	18.59847	81.06884	9.00	204.30
シェーグレン、Ｒｘ後	19	91.5053	71.5000	19.36706	84.41904	-5.00	204.30

【図５】

【図５】



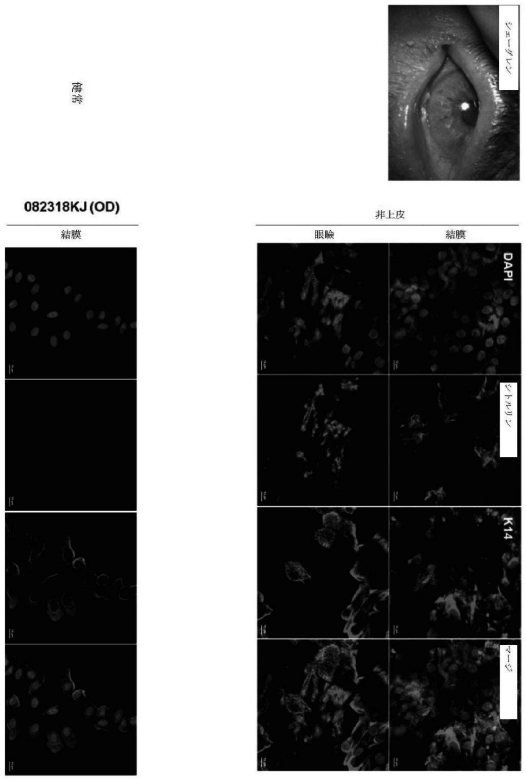
ＡＣＰＡ陽性 (ACPA>5.0)

ACPA

５超のＡＣＰＡ陽性	Ｎ	平均	中央値	平均の標準誤差	標準偏差	最少	最大
健常	21	2.1286	2.2000	.33131	1.51827	.10	6.00
明確なｏＧＶＨＤ、Ｒｘ前	15	18.6467	11.0000	4.98703	19.31468	5.40	70.00
明確なｏＧＶＨＤ、Ｒｘ後	15	1.6000	-1.2000	3.34502	12.95520	-14.70	23.80

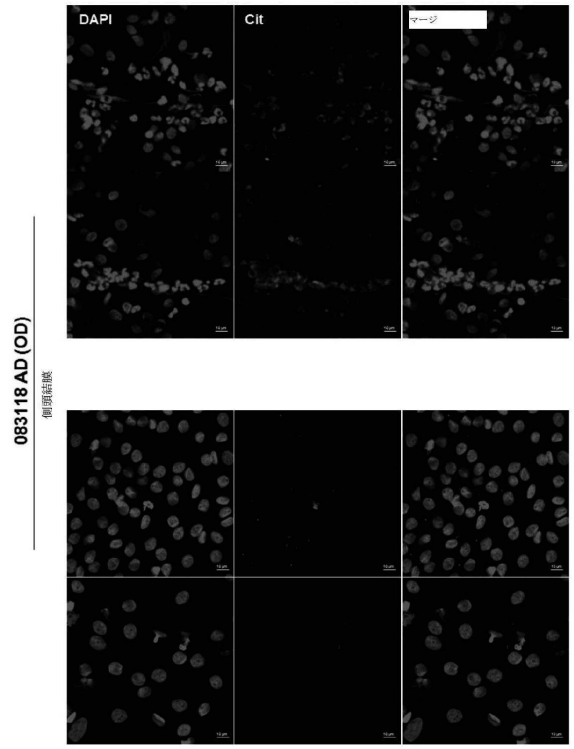
【図６】

【図６】



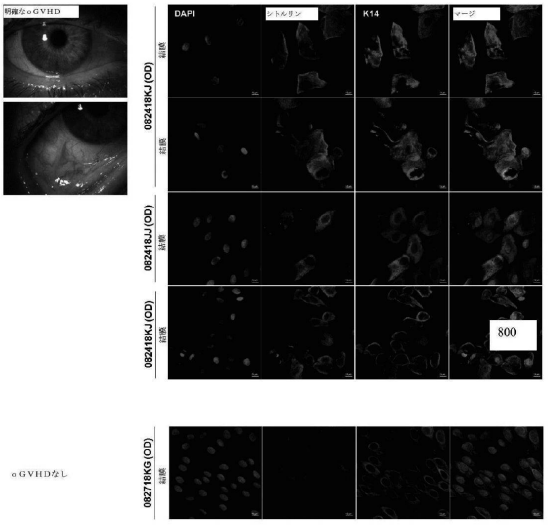
【図７】

【図７】



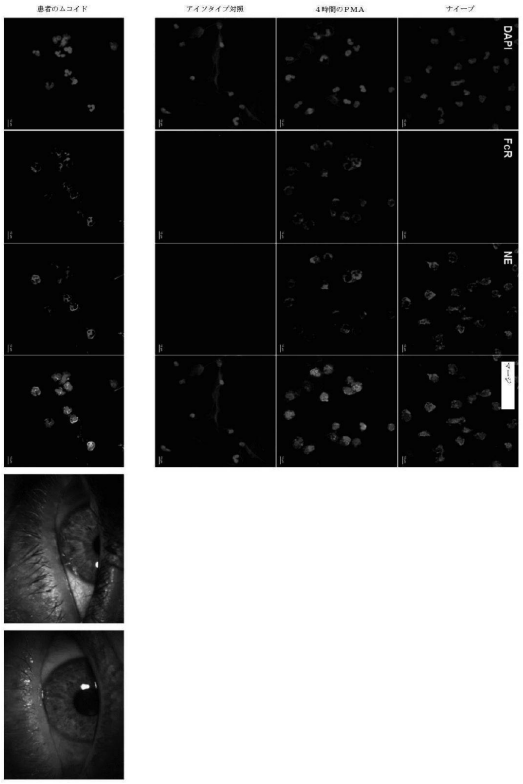
【図８】

【図８】



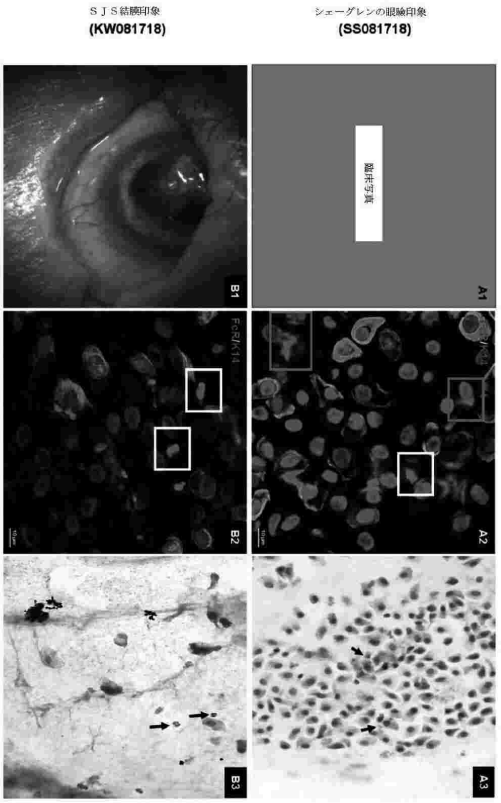
【図９】

【図９】



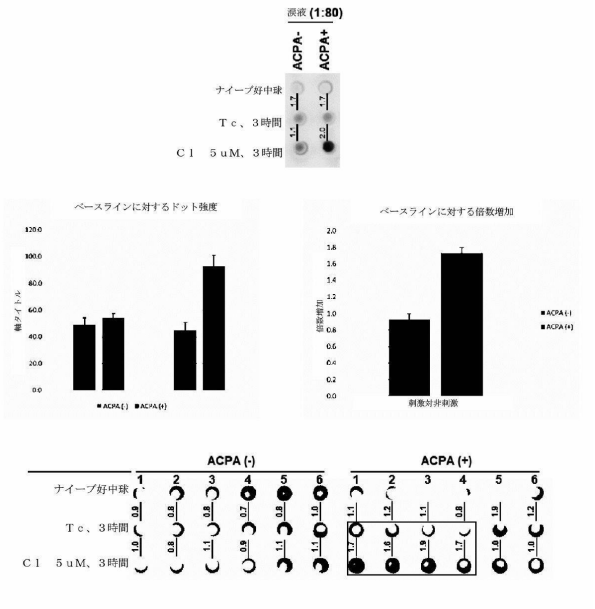
【図１０】

【図１０】



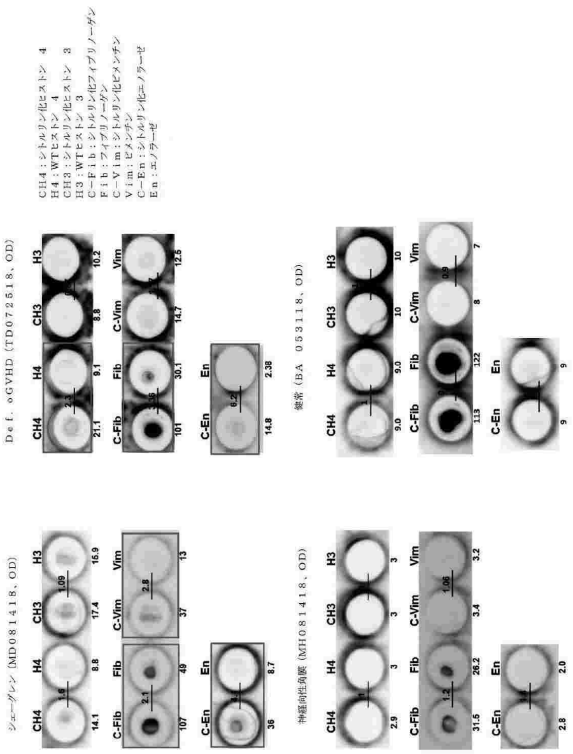
【図１１】

【図１１】



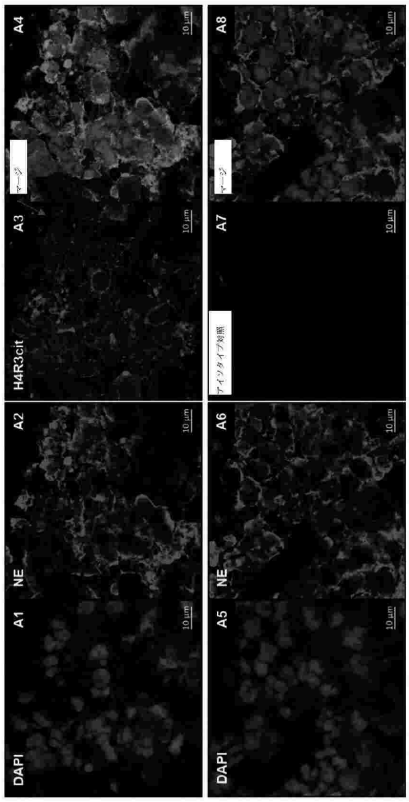
【図１２】

【図１２】



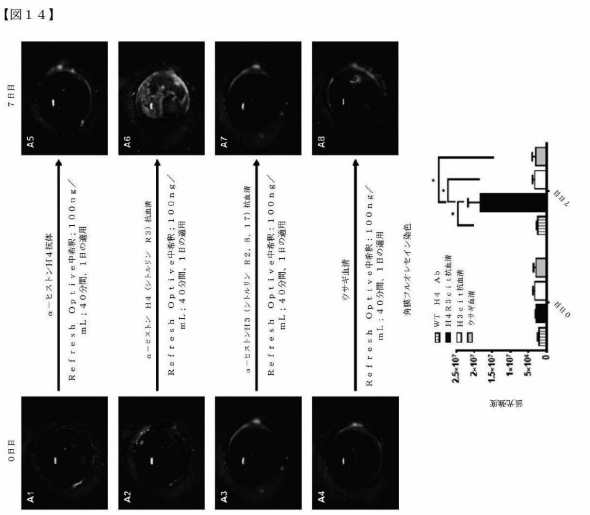
【図１３】

【図１３】



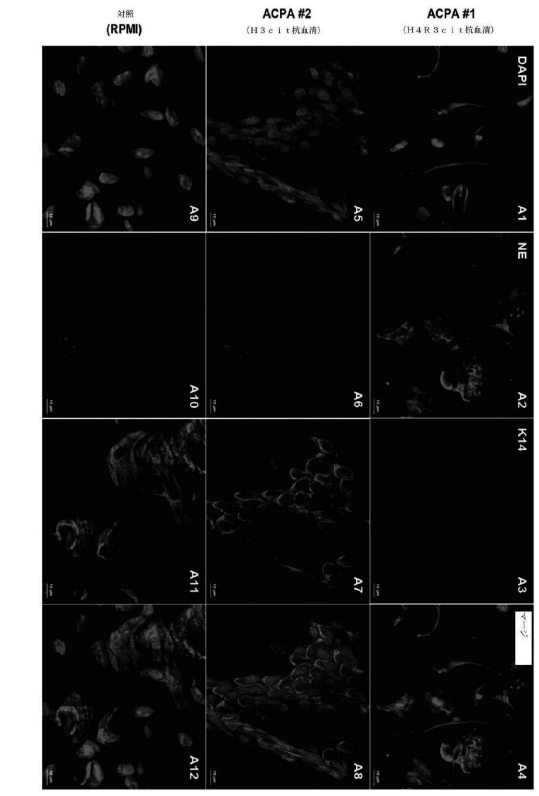
【図１４】

【図１４】



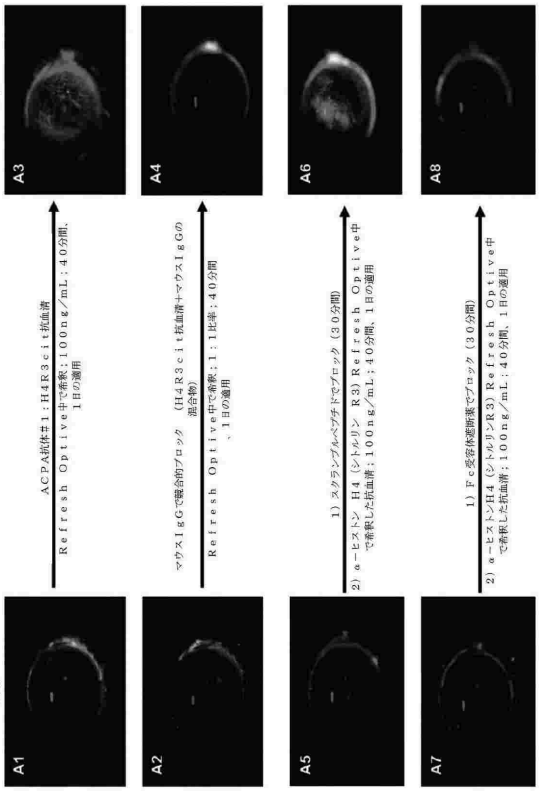
【図１５】

【図１５】

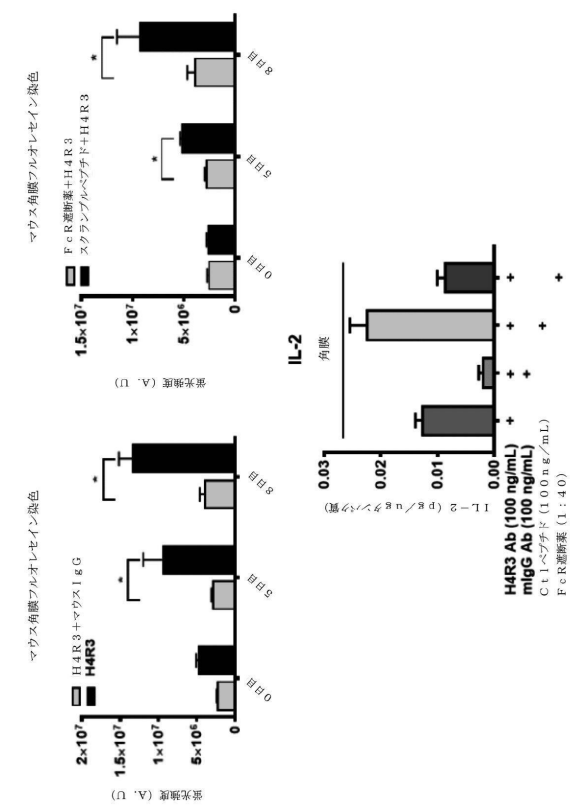


【図１６－１】

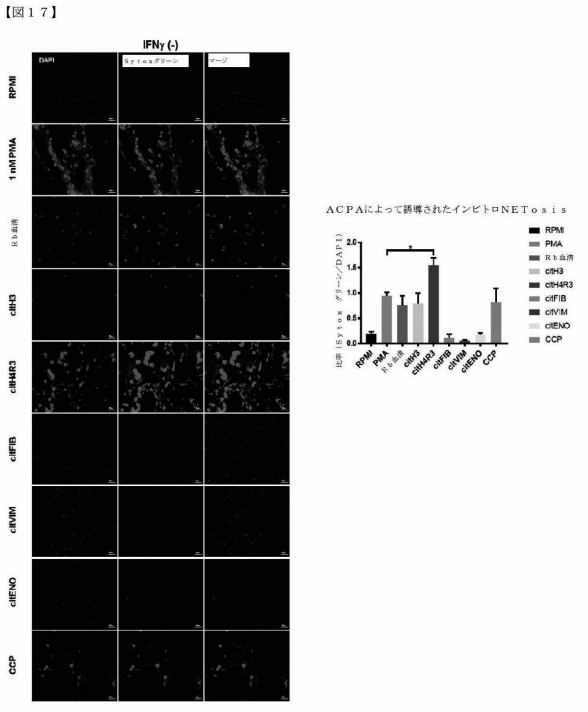
【図１６－１】



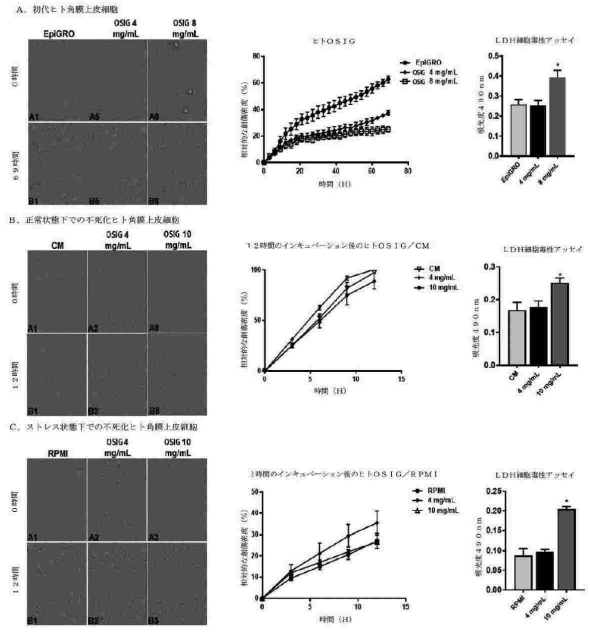
【図１６－２】



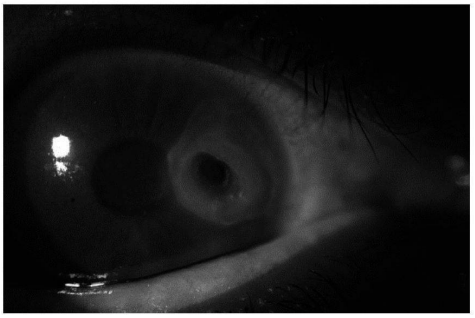
【図１７】



【図１８】

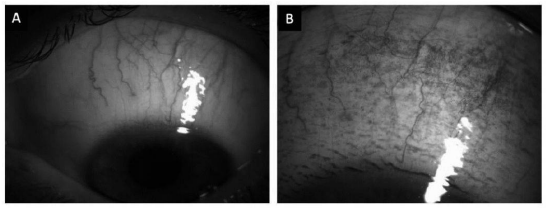


【図１９】



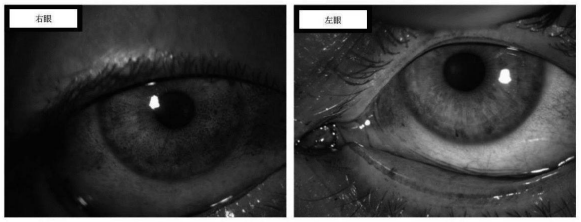
【図２０】

【図２０】



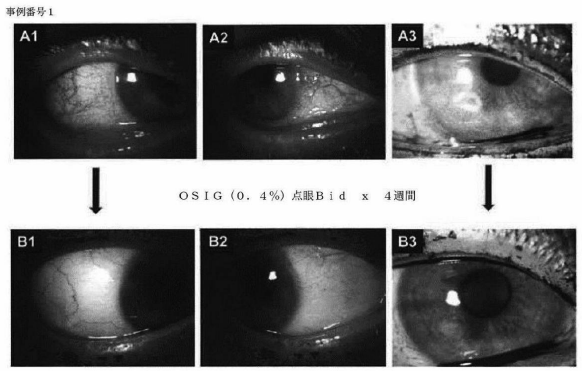
【図２１】

【図２１】



【図２２】

【図２２】



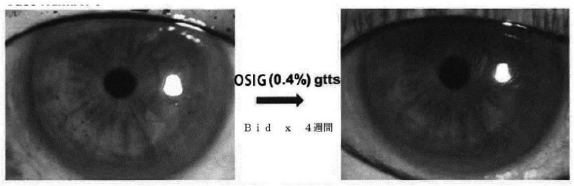
【図２３】

【図２３】



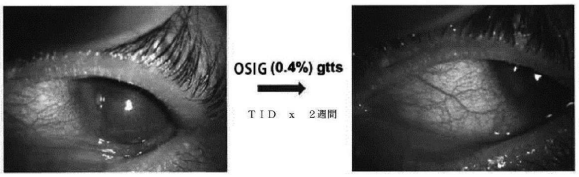
【図２４】

【図２４】



【図２５】

【図２５】



フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		
Ａ６１Ｋ	*47/34*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/34	
Ａ６１Ｋ	*47/38*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/38	
Ａ６１Ｋ	*47/40*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/40	
Ａ６１Ｋ	*47/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/02	
Ａ６１Ｋ	*47/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/12	
Ａ６１Ｋ	*45/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00	
Ｇ０１Ｎ	*33/53*	*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｎ
Ｃ０７Ｋ	*16/00*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	16/00	
Ｃ０７Ｋ	*14/47*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/47	

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

審査官　川合 理恵

(56)参考文献
特表２０１５－５３６３１７（ＪＰ，Ａ）
特表２００７－５０４２６８（ＪＰ，Ａ）
Frontiers in Immunology，2017年，Vol. 8, Article 603

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ
Ａ６１Ｐ
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）