

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-517496

(P2015-517496A)

(43) 公表日 平成27年6月22日 (2015. 6. 22)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006. 01)	A 6 1 K 39/395 D	4 C 0 8 1
A 6 1 P 31/04 (2006. 01)	A 6 1 P 31/04	4 C 0 8 5
A 6 1 L 29/00 (2006. 01)	A 6 1 L 29/00 Z	4 H 0 4 5
A 6 1 L 31/00 (2006. 01)	A 6 1 L 31/00 Z	
C 0 7 K 16/46 (2006. 01)	C 0 7 K 16/46 Z N A	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 27 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2015-511575 (P2015-511575)	(71) 出願人	504456798
(86) (22) 出願日	平成25年5月6日 (2013. 5. 6)		サノファイ
(85) 翻訳文提出日	平成26年12月19日 (2014. 12. 19)		フランス国、エフ - 7 5 0 0 8 ・ パリ、リ
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/039724		ユ・ラ・ボエティ・5 4
(87) 国際公開番号	W02013/169657	(74) 代理人	100127926
(87) 国際公開日	平成25年11月14日 (2013. 11. 14)		弁理士 結田 純次
(31) 優先権主張番号	61/643, 650	(74) 代理人	100140132
(32) 優先日	平成24年5月7日 (2012. 5. 7)		弁理士 竹林 則幸
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	ジェレミー・イエソン
(31) 優先権主張番号	1352399		アメリカ合衆国マサチューセッツ州0 2 1
(32) 優先日	平成25年3月18日 (2013. 3. 18)		3 9. ケンブリッジ. シドニーストリート
(33) 優先権主張国	フランス (FR)		3 8

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バイオフィルム形成を防止する方法

(57) 【要約】

根底にある病理が P N A G 含有微生物バイオフィルムに關与する微生物感染症（例えば、院内感染症）の処置または防止の方法を提供する。本発明の方法は、一般に P N A G に特異的に結合する抗体の有効量を対象に投与することを含み、P N A G 含有微生物バイオフィルムの形成を中断または阻害する。このような方法は、院内ブドウ球菌（例えば、表皮ブドウ球菌および黄色ブドウ球菌）感染症の処置に特に有用である。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

院内感染を防止する方法であって、医学的手技からポリ - N - アセチルグルコサミン (P N A G) 含有微生物バイオフィルムが発生するリスクがある対象を確認すること ; および P N A G に特異的に結合し、 P N A G 含有微生物バイオフィルム形成を阻害する抗体の有効量を該対象に投与し、それによって該院内感染を防止することを含む方法。

【請求項 2】

前記院内感染が、肺感染、関節感染、心臓内感染、皮膚感染、軟組織感染または敗血症である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記抗体を前記医学的手技の約 0 時間から 2 4 0 時間前の間に投与する、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記医学的手技が、前記対象における外科用インプラントの設置である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記外科用インプラントが、ステント、カテーテル、カニューレ、プロテーゼまたはペースメーカーである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記抗体を、外科用インプラント移植の約 0 時間から 2 4 0 時間前の間に投与する、請求項 4 または 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記抗体を全身投与する、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記抗体を前記外科用インプラントの移植部位に局所的に投与する、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記抗体を前記外科用インプラント上に被覆するか、または前記外科用インプラントに付着させる、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記抗体を放出制御製剤で投与する、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記対象がヒトである、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

前記バイオフィルムがブドウ球菌を含む、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記ブドウ球菌が表皮ブドウ球菌または黄色ブドウ球菌である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記抗体がヒト抗体である、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

前記抗体が、それぞれ配列番号 : 1、2 および 3 に示す H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 アミノ酸配列を含む V H ドメインを含む、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

前記抗体が、それぞれ配列番号 : 4、5 および 6 に示す L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 アミノ酸配列を含む V L ドメインを含む、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

10

20

30

40

50

前記抗体が、配列番号： 7 に示す V H ドメイン配列を含む、請求項 1 ～ 1 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記抗体が、配列番号： 8 に示す V L ドメイン配列を含む、請求項 1 ～ 1 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 9】

対象における外科用インプラント上でポリ N - アセチルグルコサミン (P N A G) 含有微生物バイオフィルムの形成を阻害する方法であって、該対象に該外科用インプラントを移植する前に、 P N A G に特異的に結合する抗体の有効量を該対象に投与することを含む方法。

10

【請求項 2 0】

前記外科用インプラントが、ステント、カテーテル、カニューレ、プロテーゼまたはペースメーカーである、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記抗体を、外科用インプラント移植の約 0 時間から 2 4 0 時間前の間に投与する、請求項 1 9 または 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記抗体を全身投与する、請求項 1 9 ～ 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記抗体を前記外科用インプラントの移植部位に局所的に投与する、請求項 1 9 ～ 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 2 4】

前記抗体を前記外科用インプラント上に被覆するか、または前記外科用インプラントに付着させる、請求項 1 9 ～ 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記抗体を放出制御製剤で投与する、請求項 1 9 ～ 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記対象がヒトである、請求項 1 9 ～ 2 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記バイオフィルムがブドウ球菌を含む、請求項 1 9 ～ 2 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 2 8】

前記ブドウ球菌が表皮ブドウ球菌または黄色ブドウ球菌である、請求項 2 7 に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記抗体がヒト抗体である、請求項 1 9 ～ 2 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記抗体が、それぞれ配列番号： 1、2 および 3 に示す H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 アミノ酸配列を含む V H ドメインを含む、請求項 1 9 ～ 2 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 3 1】

前記抗体が、それぞれ配列番号： 4、5 および 6 に示す L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 アミノ酸配列を含む V L ドメインを含む、請求項 1 9 ～ 3 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記抗体が、配列番号： 7 に示す V H ドメイン配列を含む、請求項 1 9 ～ 3 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記抗体が、配列番号： 8 に示す V L ドメイン配列を含む、請求項 1 9 ～ 3 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

50

【請求項 3 4】

基体を、P N A G に特異的に結合する抗体の有効量と接触させることを含む、該基体上で P N A G 含有微生物バイオフィルムの形成を阻害する方法。

【請求項 3 5】

前記バイオフィルムがブドウ球菌を含む、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記ブドウ球菌が表皮ブドウ球菌または黄色ブドウ球菌である、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記抗体がヒト抗体である、請求項 3 4 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 3 8】

前記抗体が、それぞれ配列番号：1、2 および 3 に示す H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 アミノ酸配列を含む V H ドメインを含む、請求項 3 4 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記抗体が、それぞれ配列番号：4、5 および 6 に示す L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 アミノ酸配列を含む V L ドメインを含む、請求項 3 4 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記抗体が、配列番号：7 に示す V H ドメイン配列を含む、請求項 3 4 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 4 1】

前記抗体が、配列番号：8 に示す V L ドメイン配列を含む、請求項 3 4 ~ 4 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0 0 0 1】****関連出願**

本願は、2012年5月7日に出願された米国仮出願第61/643,650号に対する優先権を主張する。この出願の内容は、その全体として参照により本明細書に組み込まれる。

30

【背景技術】**【0 0 0 2】**

バイオフィルムは、個々の細胞が表面上で互いに付着しており、通常、自己生産のポリマーマトリックス内に埋め込まれた微生物の集合体である。バイオフィルムは、一般的な状態、例えば尿路感染、カテーテル感染、中耳感染、歯垢の形成、歯肉炎、ならびにあまり一般的ではないが、より致命的な状態、例えば心内膜炎、嚢胞性線維症の肺感染、および固定した留置器具、例えば人工関節、心臓弁および子宮内避妊器具の感染を含む、人体の多種多様な微生物感染に関与することがわかっている。また、細菌バイオフィルムが皮膚の創傷治癒を妨げ、感染した皮膚創傷の治癒または処置における局所抗菌剤の効率を低減しうることも注目されている。

40

【0 0 0 3】

ブドウ球菌 (staphylococci) を含む多くの細菌では、細胞間接着の原因となる主な分子は、グルコサミンポリマー、ポリ-N-アセチルグルコサミン (P N A G) である。P N A G は、ベータ-1-6-結合したN-アセチルグルコサミンポリマーであり、テイコ酸のような他のポリマーおよびタンパク質と共に細菌性バイオフィルムの細胞外マトリックスの主要な部分を形成する。

【0 0 0 4】

表皮ブドウ球菌 (Staphylococcus epidermidis) および黄色ブドウ球菌 (S. aureus) は、院内感染 (例えば、留置医療器具上) の主な原因であり、それはバイオフィルムを特

50

微的に含む。表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*) および黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) によるバイオフィルム形成は、それが抗生物質および宿主免疫系による攻撃から細菌を保護し、それによって感染の処置が困難になるという点で特に問題がある。

【 0 0 0 5 】

したがって、当分野では、表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*) または黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 感染を処置または防止する代替方法が必要とされている。具体的には、これらの細菌によるバイオフィルム形成を破壊または阻害することによって作用する方法が必要とされている。

【 発明の概要 】

【 課題を解決するための手段 】

10

【 0 0 0 6 】

本発明は、根底にある病理に P N A G 含有微生物バイオフィルムが関与している微生物感染 (例えば、院内感染) を処置または防止する方法を提供する。一般に、本発明の方法は、P N A G に特異的に結合し、P N A G 含有微生物バイオフィルムの形成を中断または阻害する抗体の有効量を対象に投与することを含む。このような方法は、院内ブドウ球菌 (*staphylococcus*) (例えば、表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*) および黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*)) 感染の処置に特に有用である。

【 0 0 0 7 】

したがって、一態様において、本発明は、院内感染を防止する方法であって、一般に、医学的手技からポリ - N - アセチルグルコサミン (P N A G) 含有微生物バイオフィルムを発生するリスクがある対象 (例えば、ヒト対象) を確認すること; および P N A G に特異的に結合し、P N A G 含有微生物バイオフィルム形成を阻害する抗体の有効量を対象に投与することを含む方法を提供する。

20

【 0 0 0 8 】

特定の実施態様において、院内感染は、肺感染、関節感染、心臓内感染、皮膚感染、軟組織感染または敗血症である。

【 0 0 0 9 】

特定の実施態様では、抗体を、医学的手技の約 0 時間から 2 4 0 時間前の間に投与する。

【 0 0 1 0 】

特定の実施態様において、医学的手技は、対象における外科用インプラント、例えば、ステント、カテーテル、カニューレ、プロテーゼまたはペースメーカーの設置である。

30

【 0 0 1 1 】

特定の実施態様では、抗体を全身投与する。別の実施態様では、抗体を、外科用インプラントの移植部位に局所的に投与する。

【 0 0 1 2 】

特定の実施態様では、抗体を、外科用インプラント上に被覆するか、または外科用インプラントに付着させる。

【 0 0 1 3 】

特定の実施態様では、抗体を放出制御製剤で投与する。

40

【 0 0 1 4 】

特定の実施態様において、バイオフィルムは、ブドウ球菌 (*Staphylococcus*)、例えば、表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*) および黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) を含む。

【 0 0 1 5 】

特定の実施態様において、抗体はヒト抗体である。

【 0 0 1 6 】

特定の実施態様において、抗体は、それぞれ配列番号: 1、2 および 3 に示す H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 アミノ酸配列を含む V H ドメインを含む。

【 0 0 1 7 】

特定の実施態様において、抗体は、それぞれ配列番号: 4、5 および 6 に示す L C D R

50

1、LCDR2およびLCDR3アミノ酸配列を含むVLドメインを含む。

【0018】

特定の実施態様において、抗体は、配列番号：7に示すVHドメイン配列を含む。

【0019】

抗体が配列番号：8に示すVLドメイン配列を含む、請求項のいずれか1項に記載の方法。

【0020】

別の態様において、本発明は、対象（例えば、ヒト対象）の外科用インプラント上でポリ-N-アセチルグルコサミン（PNAG）含有微生物バイオフィルムの形成を阻害する方法であって、一般に、対象への外科用インプラントの移植前に、PNAGに特異的に結合する抗体の有効量を対象に投与することを含む方法を提供する。

10

【0021】

特定の実施態様において、外科用インプラントは、ステント、カテーテル、カニューレ、プロテーゼまたはペースメーカーである。

【0022】

特定の実施態様では、抗体を、医学的手技の約0時間から240時間前の間に投与する。

【0023】

特定の実施態様では、抗体を全身投与する。

【0024】

別の実施態様では、抗体を、外科用インプラントの移植部位に局所的に投与する。

20

【0025】

特定の実施態様では、抗体を、外科用インプラント上に被覆するか、または外科用インプラントに付着させる。

【0026】

特定の実施態様では、抗体を放出制御製剤で投与する。

【0027】

特定の実施態様において、バイオフィルムは、ブドウ球菌（Staphylococcus）、例えば、表皮ブドウ球菌（S. epidermidis）および黄色ブドウ球菌（S. aureus）を含む。

【0028】

特定の実施態様において、抗体はヒト抗体である。特定の実施態様において、抗体は、それぞれ配列番号：1、2および3に示すHCDR1、HCDR2およびHCDR3アミノ酸配列を含むVHドメインを含む。

30

【0029】

特定の実施態様において、抗体は、それぞれ配列番号：4、5および6に示すLCDR1、LCDR2およびLCDR3アミノ酸配列を含むVLドメインを含む。

【0030】

特定の実施態様において、抗体は、配列番号：7に示すVHドメイン配列を含む。抗体が配列番号：8に示すVLドメイン配列を含む、前記請求項のいずれか1項に記載の方法。

40

【0031】

さらなる態様において、本発明は、基体（substrate）を、PNAGに特異的に結合する抗体の有効量と接触させることを含む基体上のPNAG含有微生物バイオフィルムの形成を阻害する方法を提供する。

【0032】

特定の実施態様において、バイオフィルムは、ブドウ球菌（Staphylococcus）、例えば、表皮ブドウ球菌（S. epidermidis）および黄色ブドウ球菌（S. aureus）を含む。

【0033】

特定の実施態様において、抗体はヒト抗体である。

【0034】

50

特定の実施態様において、抗体は、それぞれ配列番号：１、２および３に示すＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３アミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。

【００３５】

特定の実施態様において、抗体は、それぞれ配列番号：４、５および６に示すＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３アミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。

【００３６】

特定の実施態様において、抗体は、配列番号：７に示すＶＨドメイン配列を含む。

【００３７】

抗体が配列番号：８に示すＶＬドメイン配列を含む、請求項のいずれか１項に記載の方法。

10

【図面の簡単な説明】

【００３８】

【図１】Ｆ５９８の存在下および不在下で黄色ブドウ球菌（ＡＴＣＣ３３５９２）のバイオフィルム形成を測定するin vitroアッセイの結果を示す。

【図２】Ｆ５９８の存在下および不在下で表皮ブドウ球菌１４５７のバイオフィルム形成を測定するin vitroアッセイの結果を示す。

【図３】Ｆ５９８の存在下および不在下で表皮ブドウ球菌ＲＰ６２Ａのバイオフィルム形成を測定するin vitroアッセイの結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【００３９】

20

詳細な説明

本発明は、根底にある病理がＰＮＡＧ含有微生物バイオフィルムに關与している、微生物感染（例えば、院内感染）の処置または防止の方法を提供する。本発明の方法は、一般に、ＰＮＡＧに特異的に結合し、ＰＮＡＧ含有微生物バイオフィルムの形成を中断または阻害する抗体の有効量を対象に投与することを含む。このような方法は、院内ブドウ球菌（例えば、表皮ブドウ球菌および黄色ブドウ球菌）感染の処置に特に有用である。

【００４０】

I．定義

本発明をより容易に理解できるように、特定の用語を最初に定義する。本明細書に用いるように、「ポリ－Ｎ－アセチルグルコサミン」または「ＰＮＡＧ」という用語は、ベータ１－６結合を介して結合されたＮ－アセチルグルコサミンモノマーのポリマーのことをいう。また、この用語は、脱アシル化されたポリ－Ｎ－アセチルグルコサミンを部分的にまたは完全に包含する。

30

【００４１】

本明細書に用いるように、「ＰＮＡＧ含有微生物バイオフィルム」という用語は、ＰＮＡＧマトリックス中に埋め込まれた微生物の固着性集合体のことをいう。

【００４２】

本明細書に用いるように、「院内感染」という用語は、病院内で、または病院内もしくは病院外で実施された医学的手技から発生した感染のことをいう。例示的な院内感染は、敗血症（血流感染）、外科的部位感染、または院内感染性肺炎を含む。

40

【００４３】

本明細書に用いるように、「院内感染を防止すること」という用語は、感染の阻害または感染の重症度の軽減のことをいう。

【００４４】

本明細書に用いるように、「抗体」という用語は、４本のポリペプチド鎖、ジスルフィド結合によって相互に結合された２本の重（Ｈ）鎖および２本の軽（Ｌ）鎖を含む免疫グロブリン分子、ならびにその多量体（例えば、免疫グロブリンＭ）のことをいう。各重鎖は、重鎖可変領域（ V_H と略す）および重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、３つのドメイン、 C_H1 、 C_H2 および C_H3 を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（ V_L と略す）および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、１つのドメイン（ C_L1 ）を含む。 V_H およ

50

び V_L 領域は、フレームワーク領域 (FR) と呼ばれる、保存性のより高い領域には含まれた、相補性決定領域 (CDR) と呼ばれる超可変性の領域にさらに細分することができる。それぞれの V_H および V_L は、以下の順序: FR 1、CDR 1、FR 2、CDR 2、FR 3、CDR 3、FR 4 でアミノ末端からカルボキシ末端まで配置された 3 つの CDR および 4 つの FR で構成されている。

【0045】

本明細書に用いるように、抗体の「抗原結合性部分」という用語は、抗原を特異的に結合して複合体を形成する、任意の天然の、酵素によって入手可能な、合成の、または遺伝子工学によるポリペプチドまたは糖タンパク質を含む。抗体の抗原結合性フラグメントは、任意の適した標準技術、例えばタンパク質消化、または抗体の可変ドメインおよび場合により定常ドメインをコードする DNA の操作および発現を含む組換え遺伝子工学技術を用いて、例えば完全抗体分子から誘導してもよい。抗原結合性部分の非限定的な例としては、(i) Fab フラグメント; (ii) $F(ab')_2$ フラグメント; (iii) Fd フラグメント; (iv) Fv フラグメント; (v) 単鎖 Fv (scFv) 分子; (vi) dAb フラグメント; および (vii) 抗体の超可変領域を模倣するアミノ酸残基からなる最小限の認識単位 (例えば、単離された相補性決定領域 (CDR)) が挙げられる。他の操作された分子、例えば二特異性抗体、三重特異性抗体、四重特性抗体およびミニ抗体も、また「抗原結合性部分」の表現に包含される。

10

【0046】

本明細書に用いるように、「CDR」または「相補性決定領域」という用語は、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見いだされる部位を組み合わせた非隣接抗原 (noncontiguous antigen) を意味する。これらの特定の領域は、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) および Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest. (1991) によって、ならびに Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) によっておよび MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) によって説明されており、ここで、この定義は、互いに比較したとき、アミノ酸残基のオーバーラップまたはサブセットを含む。上の引用された文献のそれぞれによって定義された CDR を包含するアミノ酸残基を、比較のために示す。好ましくは、「CDR」という用語は、配列比較に基づいてカバットによって定義された CDR である。

20

【0047】

本明細書に用いるように、「フレームワーク (FR) アミノ酸残基」という用語は、Ig 鎖のフレームワーク領域中のそれらのアミノ酸のことをいう。本明細書に用いる「フレームワーク領域」または「FR 領域」という用語は、可変領域の一部であるが、CDR の一部でないアミノ酸残基を含む (例えば、CDR のカバット定義を用いる)。したがって、可変領域フレームワークは、長さ約 100 ~ 120 の間のアミノ酸であるが、CDR の外のそれらのアミノ酸しか含まない。

30

【0048】

本明細書に用いるように、「特異的に結合する」という用語は、少なくとも約 1×10^{-6} M、 1×10^{-7} M、 1×10^{-8} M、 1×10^{-9} M、 1×10^{-10} M、 1×10^{-11} M、 1×10^{-12} M、もしくはそれ以上の Kd で抗原に結合する、かつ/または非特異的な抗原に対するその親和性よりも少なくとも 2 倍大きな親和性で抗原と結合する、抗体またはその抗原結合性フラグメントの能力のことをいう。

40

【0049】

本明細書に用いるように、「抗原」という用語は、抗体またはその抗原結合部分によって認識される結合部位またはエピトープのことをいう。

【0050】

本明細書に用いるように、「有効量」という用語は、対象に投与したとき、本明細書に説明した PNA G 含有微生物バイオフィルムの処置、予後または診断を実施するのに十分である、PNA G を結合する抗体またはその抗原結合部分の量のことをいう。治療有効量は、処置する対象および疾患状態、対象の体重および年齢、疾患状態の重症度、投与方式

50

などに応じて変化することになり、それは当業者によって容易に決定することができる。投与の用量は、本発明による抗体またはその抗原結合部分、例えば、約 1 ng ~ 約 10,000 mg、約 5 ng ~ 約 9,500 mg、約 10 ng ~ 約 9,000 mg、約 20 ng ~ 約 8,500 mg、約 30 ng ~ 約 7,500 mg、約 40 ng ~ 約 7,000 mg、約 50 ng ~ 約 6,500 mg、約 100 ng ~ 約 6,000 mg、約 200 ng ~ 約 5,500 mg、約 300 ng ~ 約 5,000 mg、約 400 ng ~ 約 4,500 mg、約 500 ng ~ 約 4,000 mg、約 1 µg ~ 約 3,500 mg、約 5 µg ~ 約 3,000 mg、約 10 µg ~ 約 2,600 mg、約 20 µg ~ 約 2,575 mg、約 30 µg ~ 約 2,550 mg、約 40 µg ~ 約 2,500 mg、約 50 µg ~ 約 2,475 mg、約 100 µg ~ 約 2,450 mg、約 200 µg ~ 約 2,425 mg、約 300 µg ~ 約 2,000 mg、約 400 µg ~ 約 1,175 mg、約 500 µg ~ 約 1,150 mg、約 0.5 mg ~ 約 1,125 mg、約 1 mg ~ 約 1,100 mg、約 1.25 mg ~ 約 1,075 mg、約 1.5 mg ~ 約 1,050 mg、約 2.0 mg ~ 約 1,025 mg、約 2.5 mg ~ 約 1,000 mg、約 3.0 mg ~ 約 975 mg、約 3.5 mg ~ 約 950 mg、約 4.0 mg ~ 約 925 mg、約 4.5 mg ~ 約 900 mg、約 5 mg ~ 約 875 mg、約 10 mg ~ 約 850 mg、約 20 mg ~ 約 825 mg、約 30 mg ~ 約 800 mg、約 40 mg ~ 約 775 mg、約 50 mg ~ 約 750 mg、約 100 mg ~ 約 725 mg、約 200 mg ~ 約 700 mg、約 300 mg ~ 約 675 mg、約 400 mg ~ 約 650 mg、約 500 mg、または約 525 mg ~ 約 625 mg の範囲であることができる。至適治療反応を得るために投与計画を調整してもよい。また、有効量は、抗体またはその抗原結合部分の任意の毒性のまたは有害な影響（すなわち、副作用）が、最小限となる、かつ/またはそれよりも有益な効果が上回るものである。

10

20

【0051】

本明細書に用いるように、「対象」という用語は、任意のヒトまたは非ヒト動物を含む。

【0052】

II. バイオフィルム

本発明の方法は、ポリ-N-アセチルグルコサミン（PNAG）含有微生物バイオフィルムの形成を中断または阻害するために用いることができる。PNAG 含有バイオフィルムは、さまざまな微生物（細菌および真菌を含む）によって発生することがある。一般に、任意の PNAG 含有微生物バイオフィルムは、本発明の方法を用いて中断または阻害することができる。

30

【0053】

細菌の場合、PNAG 含有バイオフィルムは、一般に、例えば、ブドウ球菌（例えば、表皮ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌（例えば、多剤耐性黄色ブドウ球菌）、スタフィロコッカス・カルノーサス（*S. carnosus*）およびスタフィロコッカス・ヘモリチカス（*S. haemolyticus*））によって形成される。PNAG 含有バイオフィルムを形成するブドウ球菌の知られている臨床分離株としては、限定されるわけではないが、表皮ブドウ球菌 RP62A（ATCC 番号 35984）、表皮ブドウ球菌 RP12（ATCC 番号 35983）、表皮ブドウ球菌 M187、スタフィロコッカス・カルノーサス（*S. carnosus*）TM300（pCN27）、黄色ブドウ球菌 RN4220（pCN27）、および黄色ブドウ球菌 MN8 ムコイドが含まれる。

40

【0054】

PNAG 含有バイオフィルムは、緑膿菌（*Pseudomonas aeruginosa*）、大腸菌（*E. coli*）（例えば、大腸菌 O157:H7 および大腸菌 CF73）、ペスト菌（*Yersinia pestis*）、エルシニア・エンテロコレチカ（*Yersinia enterocolitica*）、かいよう病菌（*Xanthomonas axonopodis*）、蛍光菌（*Pseudomonas fluorescens*）、アクチノバチルス・アクチノミセテムコミタンス（*Actinobacillus actinomycetemcomitans*）、アクチノバチルス・プルロニューモニア（*Actinobacillus pleuropneumoniae*）、青枯病菌（*Ralstonia solanacearum*）、百日咳菌（*Bordetella pertussis*）、パラ百日咳菌（*Bordetella para*

50

pertussis) および気管支敗血症菌 (*Bordetella bronchiseptica*) を含むが、それらに限定されない他の細菌によっても形成される。

【 0 0 5 5 】

I I I . 院内感染

本発明は、医学的手技からポリ N - アセチルグルコサミン (P N A G) 含有微生物バイオフィルムを発症するリスクのある対象を確認し、特異的に P N A G に結合し、P N A G 含有微生物バイオフィルム形成を阻害する抗体の有効量を対象に投与することによって院内感染を処置または防止する方法を提供する。

【 0 0 5 6 】

病院内または病院外で実施したかどうかにかかわらず、P N A G 含有微生物バイオフィルムを発症するリスクを患者に与える任意の医学的手技は、本発明の方法を用いて処置または防止することができる。このような医学的手技の例としては、手術および外科的デバイス (例えば、カテーテル、カニューレ、人工装具、人工呼吸器、置換心臓弁およびペースメーカー) の移植が含まれるが、限定されるわけではない。例示的な外科的デバイスとしては、中心静脈カテーテル；腹膜透析カテーテル；整形外科用人工装具；整形外科用メッシュ；心臓内デバイス例えば人工弁、ペースメーカーおよびステント；人工内耳；乳房インプラント；気管内チューブ；ボイス・プロテーゼ (voice prosthesis)；眼内レンズが含まれるが、限定されるわけではない。

10

【 0 0 5 7 】

免疫抑制された対象の場合、対象が病院 (または P N A G 含有微生物バイオフィルムを形成できる細菌を保菌できる別の環境) にいるという事実のみで、この対象が、たとえ外科的手技を受けてなくても P N A G 含有微生物バイオフィルム (例えば、肺、尿路中、または開放創中) を発症するリスクがあるとみなされることは、熟練技術者にとって明らかである。

20

【 0 0 5 8 】

I V . 抗 P N A G 抗体

P N A G に結合し、P N A G 含有細菌バイオフィルムの形成を阻害する任意の抗体は、本発明の方法に用いることができる。本発明の使用に適した例示的な抗体 V H、V L および C D R アミノ酸配列を、表 1 に示す。

【 0 0 5 9 】

30

【表 1】

表 1 例示的な抗PNAG抗体のVH、VLおよびCDRアミノ酸配列

抗体	配列	配列番号
F598 HCDR3	DTYYYDSGDYEDAFDI	1
F598 HCDR2	YIHYSRSTNSNPALKS	2
F598 HCDR1	GYYSWS	3
F598 LCDR3	QTWGAGIRV	4
F598 LCDR2	VNRDGSHIRGD	5
F598 LCDR1	TLSSGHSNYAIA	6
F598 VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISGYYSWSWIRQPPGK GLEWIGYIHYSRSTNSNPALKSRVTISSDTSKNQSLRLSSVTAA DTAVYYCARDTYYYDSGDYEDAFDIWGQGTMTVTVSS	7
F598 VL	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSGHSNYAIAWHQQQPGKG PRYLMKVNRDGSHIRGDGIPDRFSGSTSGAERYLTISLQSEDE ADYYCQTWGAGIRVFVGGGTKLTVLG	8
F628 HCDR3	DTYYESSGHWFDGLDV	9
F628 HCDR2	YIHYSGSTNSNPALKS	10
F628HCDR1	NYYSWS	11
F628LCDR3	QTWGPGIRV	12
F628 LCDR2	VKSDGSHSKGD	13
F628 LCDR1	TLDSEHSRYTIA	14
F628VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISNYYSWSWIRQSPGRG LEWIGYIHYSGSTNSNPALKSRVTISVDTSKNQVSLKLGSVTAA DTAIYYCARDTYYESSGHWFDGLDVWGQGTSTVTVSS	15
F628 VL	QPVLQSPSASASLGASVKLTCTLDSEHSRYTIAWHQQQPEKGP RYLMKVKSDGSHSKGDGITDRFSGSSSGAERYLTISLQSEDEA DYYCQTWGPGIRVFVGGGTKLTVL	16
F630 HCDR3	DYYETSGYAYDDFAI	17
F630 HCDR2	WVSTYNGRTNYAQKFRG	18
F630 HCDR1	NFGIS	19
F630 LCDR3	QTWGPGIRV	20
F630 LCDR2	VNSDGSHTKGD	21
F630LCDR1	TLSSGHSTYAIA	22
F630 VH	QVQLVQSGAEMKRPGASVKVSCKASGYTFTNFGISWVRQAPG QGLEWIGWVSTYNGRTNYAQKFRGRVTMTTDTSTNTAYMEL RSLGSDDTAVFYCARDYYETSGYAYDDFAIWGQGTLTVTVSS	23
F630 VL	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSGHSTYAIAWHQQQPLRGP RFLMKVNSDGSHTKGDGIPDRFSGSSSGAERYLSISLQSEDES DYYCQTWGPGIRVFVGGGTKLTVLG	24

【0060】

特定の実施態様において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号：1、2、3、4、5、6、9、10、11、12、13、14、17、18、19、20、21および22からなる群から選択される1つまたはそれ以上のCDR領域アミノ酸配列を含

10

20

30

40

50

む。

【 0 0 6 1 】

別の実施態様において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、それぞれ

- a) 配列番号： 1、 2 および 3 ；
- b) 配列番号： 9、 1 0 および 1 1 ；ならびに
- c) 配列番号： 1 7、 1 8 および 1 9

からなる群から選択される、H C D R 3、H C D R 2 および H C D R 1 領域アミノ酸配列を含む。

【 0 0 6 2 】

別の実施態様において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、それぞれ

- a) 配列番号： 4、 5 および 6 ；
- b) 配列番号： 1 2、 1 3 および 1 4 ；ならびに
- c) 配列番号： 2 0、 2 1 および 2 2

からなる群から選択される、L C D R 3、L C D R 2 および L C D R 1 領域アミノ酸配列を含む。

【 0 0 6 3 】

別の実施態様において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、それぞれ

- a) 配列番号： 1、 2、 3、 4、 5 および 6 ；
- b) 配列番号： 9、 1 0、 2 1、 1 2、 1 3 および 1 4 ；ならびに
- c) 配列番号： 1 7、 1 8、 2 1、 2 0、 2 1 および 2 2

からなる群から選択される、H C D R 3、H C D R 2、H C D R 1、L C D R 3、L C D R 2 および L C D R 1 領域アミノ酸配列を含む。

【 0 0 6 4 】

別の実施態様において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号： 7、 1 5 および / または 2 3 に示す V H 領域アミノ酸配列を含む。

【 0 0 6 5 】

別の実施態様において、抗体またはその抗原結合フラグメント、配列番号 8、 1 6 および / または 2 4 に示す V L 領域アミノ酸配列を含む。

【 0 0 6 6 】

別の実施態様において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、それぞれ配列番号： 7 および 8 ；配列番号： 1 5 および 1 6 ；ならびに配列番号： 2 3 および 2 4 からなる群から選択される V H および V L 領域アミノ酸配列を含む。

【 0 0 6 7 】

V . 修飾された抗 P N A G 抗体

抗 P N A G 抗体は、1 つまたはそれ以上の修飾を含んでもよい。このような抗 P N A G 抗体の修飾された形態は、当分野で知られている任意の技術を用いて作製することができる。

【 0 0 6 8 】

i) 免疫原性の低下

いくつかの実施態様では、脱免疫化 (de-immunization) を用いて抗体またはその抗原結合部分の免疫原性を低下させることができる。本明細書に用いるように、「非免疫化」という用語は、T 細胞エピトープを修飾するための、抗体またはその抗原結合部分の変性を含む (例えば、W O 9 8 5 2 9 7 6 A 1、W O 0 0 3 4 3 1 7 A 2 参照)。例えば、出発抗体からの V H および V L 配列を分析してもよく、相補性決定領域 (C D R) および配列内の他の重要な残基に関してエピトープの位置を示す各 V 領域から、ヒト T 細胞エピトープ「マップ」を生成してもよい。最終的な抗体の活性を変えるリスクが低い別のアミノ酸置換を確認するために T 細胞エピトープマップからの個々の T 細胞エピトープを分析する。アミノ酸置換の組合せを含む広範な代替 V H および V L 配列を設計し、続いて、これらの配列を、本明細書に開示された方法に使用するための広範な抗 P N A G 抗体またはそのフラグメントに組み込み、次いで、それらを機能について試験する。次いで、全抗体を

10

20

30

40

50

産生するため、修飾されたVおよびヒトC領域を含む完全な重鎖および軽鎖遺伝子を発現ベクターにクローニングし、続いてプラスミドを株化細胞に導入する。次いで、抗体を適当な生化学的およびバイオアッセイで比較し、最適な変異体を確認する。

【0069】

i i) エフェクター機能およびFc修飾

抗PNAG抗体は、1つまたはそれ以上のエフェクター機能を仲介する抗体定常領域（例えばIgG定常領域、例えばヒトIgG定常領域、例えばヒトIgG1またはIgG4定常領域）を含んでもよい。例えば、C1補体成分の抗体定常領域への結合は、補体系を活性化することができる。補体の活性化は、細胞病原体のオプソニン化および溶解において重要である。また、補体の活性化は、炎症性反応を刺激し、自己免疫過敏症に関与することもありうる。さらに、抗体は、細胞上のFc受容体（FcR）に結合する抗体Fc領域上のFc受容体結合部位により、Fc領域を介して、さまざまな細胞上の受容体に結合する。IgG（ガンマ受容体）、IgE（イプシロン受容体）、IgA（アルファ受容体）およびIgM（ミュー受容体）を含む、異なるクラスの抗体に特異的である多くのFc受容体がある。細胞表面上のFc受容体への抗体の結合は、抗体被覆粒子の貪食および破壊、免疫複合体のクリアランス、キラー細胞による抗体被覆標的細胞の溶解（抗体依存性細胞媒介性細胞傷害またはADCCと呼ばれる）、炎症性メディエーターの放出、胎盤通過および免疫グロブリン産生の制御を含む多くの重要かつ多様な生物反応を駆動する。好ましい実施態様において、抗PNAG抗体またはそのフラグメントは、Fcガンマ受容体に結合する。別の実施態様において、抗PNAG抗体は、1つまたはそれ以上のエフェクター機能（例えば、ADCC活性）が欠けている、かつ/またはFc受容体を結合することができない定常領域を含んでもよい。

10

20

【0070】

本発明の特定の実施態様は、定常領域ドメインの1つもしくはそれ以上の少なくとも1つのアミノ酸が欠失しているか、または、そうでない場合、ほぼ同じ免疫原性の未改変の完全抗体と比較したときに、エフェクター機能の低下もしくは増強、非共有結合的に二量化する能力、腫瘍部位に局在化する能力の増強、血清半減期の短縮、または血清半減期の延長といったような所望の生化学的特性が得られるように改変された抗PNAG抗体を含む。例えば、本明細書に記載された診断および処置方法に使用するための特定の抗体またはそのフラグメントは、免疫グロブリン重鎖と類似したポリペプチド鎖を含むが、少なくとも1つまたはそれ以上の重鎖ドメインの一部が欠如したドメイン欠失抗体である。例えば、特定の抗体において、修飾された抗体の定常領域の1つのドメイン全体が欠失することになり、例えば、CH2ドメインのすべてまたは一部が、欠失することになる。

30

【0071】

特定の他の実施態様において、抗PNAG抗体は、異なる抗体アイソタイプから誘導された定常領域（例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4の2つまたはそれ以上からの定常領域）を含む。別の実施態様において、抗PNAG抗体は、キメラヒンジ（すなわち、異なる抗体アイソタイプのヒンジドメイン、例えば、IgG4分子からの上部ヒンジドメインおよびIgG1中部ヒンジドメインから誘導されたヒンジ部分を含むヒンジ）を含む。一実施態様において、抗PNAG抗体は、分子のコアヒンジ領域にヒトIgG4分子およびSer228Pro突然変異（EUN numbering）からのFc領域またはその一部を含む。

40

【0072】

特定の抗PNAG抗体において、当分野で知られている技術を用いて、Fc部分を突然変異させてエフェクター機能を増強または低下させてもよい。例えば、定常領域ドメインの欠失または不活性化（点突然変異または他の手段によって）は、循環している修飾抗体のFc受容体結合を低減し、それによって腫瘍限局化を高めることができる。その他の場合、本発明に合わせた定常領域修飾は、補体結合を緩和し、したがって、結合サイトトキシンの血清半減期および非特異的結合を低減することがありうる。定常領域のさらに別の修飾は、増加した抗原特異性または柔軟性のため増強された局在化が可能であるジスルフ

50

イド結合またはオリゴ糖部分を修飾してもよい。得られた生理学的プロファイル、生物学的利用能および修飾の他の生化学的效果、例えば腫瘍局在、体内分布および血清半減期は、不必要な実験なしに、よく知られた免疫学的技術を用いて容易に測定および定量化することができる。

【0073】

特定の実施態様において、抗PNA G抗体中に用いるFcドメインは、Fc変異体である。本明細書に用いるように、「Fc変異体」という用語は、Fcドメインを誘導する野生型Fcドメインと比較して少なくとも1つのアミノ酸置換を有するFcドメインのことをいう。例えば、ここでは、Fcドメインは、ヒトIgG1抗体から誘導され、上記ヒトIgG1 FcドメインのFc変異体は、上記Fcドメインに関連した少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。

10

【0074】

Fc変異体のアミノ酸置換は、Fcドメイン内の任意の位置（すなわち、任意のEU規則（EU convention）のアミノ酸位置）にあってもよい。一実施態様において、Fc変異体は、ヒンジドメインまたはその一部にあるアミノ酸位置で置換を含む。別の実施態様において、Fc変異体は、CH2ドメインまたはその一部にあるアミノ酸位置で置換を含む。別の実施態様において、Fc変異体は、CH3ドメインまたはその一部にあるアミノ酸位置で置換を含む。別の実施態様において、Fc変異体は、CH4ドメインまたはその一部にあるアミノ酸位置で置換を含む。

20

【0075】

抗体は、エフェクター機能および/またはFcR結合に改善（例えば、低下または増強）をもたらすことが知られているなんらかの技術で認識されたFc変異体を用いてもよい。上記Fc変異体は、例えば、WO88/07089A1、WO96/14339A1、WO98/05787A1、WO98/23289A1、WO99/51642A1、WO99/58572A1、WO00/09560A2、WO00/32767A1、WO00/42072A2、WO02/44215A2、WO02/060919A2、WO03/074569A2、WO04/016750A2、WO04/029207A2、WO04/035752A2、WO04/063351A2、WO04/074455A2、WO04/099249A2、WO05/040217A2、WO05/070963A1、WO05/077981A2、WO05/092925A2、WO05/123780A2、WO06/019447A1、WO06/047350A2、およびWO06/085967A2または米国特許第5,648,260号；同第5,739,277号；同第5,834,250号；同第5,869,046号；同第6,096,871号；同第6,121,022号；同第6,194,551号；同第6,242,195号；同第6,277,375号；同第6,528,624号；同第6,538,124号；同第6,737,056号；同第6,821,505号；同第6,998,253号；および同第7,083,784号に開示されたアミノ酸置換のいずれか1つを含んでもよく、これらはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる。例示的な一実施態様において、抗PNA G抗体は、EU位置（EU position）268でアミノ酸置換を含むFc変異体（例えば、H268DまたはH268E）を含んでもよい。別の実施態様において、抗PNA G抗体は、EU位置239（例えば、S239DまたはS239E）および/またはEU位置332（例えば、I332DまたはI332Q）でアミノ酸置換を含んでもよい。

30

40

【0076】

特定の実施態様において、抗PNA G抗体は、抗体の抗原非依存性のエフェクター機能、特に抗体の循環半減期を変えるアミノ酸置換を含むFc変異体を含んでもよい。このような抗体は、これらの置換が欠如した抗体と比較したとき、FcRnへの結合の増加または減少を示し、そのため、それぞれ血清中の半減期の増加または減少を有する。FcRnに対する親和性が改善されたFc変異体は、より長い血清半減期を有することが予想され、このような分子は、例えば、慢性の疾患または障害を処置するため、投与抗体の長い半

50

減期が所望である場合、哺乳動物の処置方法に有用な用途を有する。これに対して、FcRn結合親和性が減少したFc変異体は、より短い半減期を有することが予想され、このような分子は、また、例えばin vivo画像診断に関して、または出発抗体が循環血液中に長期間存在するときに毒性の副作用を有する状況で、循環時間の短縮が好都合でありうる場合、例えば、哺乳動物への投与に有用である。また、FcRn結合親和性が減少したFc変異体は、胎盤を越える可能性が低く、したがって、妊婦の疾患または障害の処置にも有用である。さらに、減少したFcRn結合親和性が望ましい他の用途としては、脳、腎臓および/または肝臓への局在化が望ましいそれらの用途が含まれる。例示的な一実施態様において、改変された抗体は、血管系から腎系球体の上皮を横断する輸送の減少を示す。別の実施態様において、改変された抗体は、脳から血管腔への血液脳関門(BBB)を横断する輸送の減少を示す。一実施態様において、改変されたFcRn結合を有する抗体は、Fcドメインの「FcRn結合ループ」内の1つまたはそれ以上のアミノ酸置換を有するFcドメインを含む。FcRn結合ループは、アミノ酸残基280~299(EUナンバリングによる)で構成される。FcRn結合活性を変えた例示的なアミノ酸置換は、国際PCT公開第WO05/047327号に開示されており、これは参照により本明細書に組み込まれている。特定の例示的な実施態様において、抗体またはそのフラグメントは、以下の置換：V284E、H285E、N286D、K290EおよびS304D(EUナンバリング)の1つまたはそれ以上を有するFcドメインを含む。

10

【0077】

別の実施態様において、本明細書に記載された診断および処置方法に使用するための抗体は、グリコシル化を低減または排除するよう改変された定常領域、例えば、IgG1またはIgG4重鎖定常領域を有する。例えば、抗体は、抗体のグリコシル化を変えるアミノ酸置換を含むFc変異体を含んでもよい。例えば、上記Fc変異体は、低減されたグリコシル化(例えば、NまたはO結合型グリコシル化)を有してもよい。例示的な実施態様において、Fc変異体は、アミノ酸位置297(EUナンバリング)で通常見いだされるN結合型グリカンの低減されたグリコシル化を含む。別の実施態様において、抗体は、グリコシル化モチーフ、例えば、アミノ酸配列NXTまたはNXSを含むN結合型グリコシル化モチーフの近くで、またはその中にアミノ酸置換を有する。特定の実施態様において、抗体は、アミノ酸位置228または299(EUナンバリング)でアミノ酸置換を有するFc変異体を含む。より具体的な実施態様において、抗体は、S228PおよびT299A突然変異(EUナンバリング)を含むIgG1またはIgG4定常領域を含む。

20

30

【0078】

グリコシル化を減らすか、または変える例示的なアミノ酸置換は、国際PCT公開第WO05/018572号に開示されており、それは本明細書により参照に組み込まれている。好ましい実施態様において、抗体またはそのフラグメントは、グリコシル化を排除するために修飾される。このような抗体またはそのフラグメントは、「アグリ(agly)」抗体またはそのフラグメントと呼ばれることがある(例えば「アグリ」抗体)。理論によって拘束されるわけではないが、「アグリ」抗体またはそのフラグメントは、in vivoでの改善された安全性および安定性プロファイルを有してもよい。例示的なアグリ抗体またはそのフラグメントは、Fcエフェクター機能が欠けており、それによって正常な生体の器官に対するFc介在性毒性の可能性が排除されたIgG4抗体のアグリコシル化(aglycosylated)Fc領域を含む。さらに他の実施態様において、抗体またはそのフラグメントは、改変されたグリカンを含む。例えば、抗体は、Fc領域のAsn297でN-グリカン上のフコース残基の数が減っていてもよく、すなわち、アフコシル化(afucosylated)されている。別の実施態様において、抗体は、Fc領域のAsn297でN-グリカン上のシアル酸残基の数が変わっていてもよい。

40

【0079】

i i i) 共有結合

抗体がその同種エピトープに特異的に結合するのを共有結合が妨げないように、抗PNAG抗体を、例えば、抗体への分子の共有結合によって修飾してもよい。例えば、限定さ

50

れるわけではないが、抗体またはそのフラグメントを、グリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、知られている保護/ブロッキング基による誘導体化、タンパク質分解切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への結合などによって修飾してもよい。多くの化学修飾はいずれも、特異的切断、アセチル化、ホルミル化などを含むが、それらに限定されない、知られている技術によって実施してもよい。さらに、誘導体は、1つまたはそれ以上の非古典的アミノ酸を含んでもよい。

【0080】

抗体またはそのフラグメントは、N末端もしくはC末端で異種ポリペプチドに組換え的に融合するか、またはポリペプチドもしくは他の組成物に化学的に結合 (conjugate) してもよい (共有結合性および非共有結合性の結合 (conjugations) を含む)。例えば、抗 P N A G 抗体を、検出アッセイで標識として有用な分子およびエフェクター分子、例えば異種ポリペプチド、薬物、放射性核種または毒素に組換え的に融合または結合してもよい。例えば、P C T 公開 W O 9 2 / 0 8 4 9 5 ; W O 9 1 / 1 4 4 3 8 ; W O 8 9 / 1 2 6 2 4 ; 米国特許第 5 , 3 1 4 , 9 9 5 号 ; および E P 3 9 6 , 3 8 7 を参照のこと。

【0081】

in vivo 半減期を高めるため、または免疫測定法に使用するため、当分野で知られている方法を用いて、抗 P N A G 抗体を異種ポリペプチドに融合してもよい。例えば、一実施態様において、in vivo 半減期を高めるために、P E G を抗 P N A G 抗体に結合することができる。Leong, S. R., et al., Cytokine 16:106 (2001) ; Adv. in Drug Deliv. Rev. 54:531 (2002) ; または Weir et al., Biochem. Soc. Transactions 30:512 (2002)。

【0082】

さらに、抗 P N A G 抗体をペプチドのようなマーカー配列に融合してその精製または検出を容易にすることができる。好ましい実施態様において、マーカーアミノ酸配列は、とりわけ、ヘキサヒスチジンペプチド、例えば p Q E ベクターで提供されるタグ (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, Calif., 91311) であり、これらの多くは商業的に入手可能である。Gentz et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824 (1989) に記載されたとおり、例えば、ヘキサヒスチジンは融合タンパク質の精製を簡便にする。精製に有用な他のペプチドタグとしては、インフルエンザ赤血球凝集素タンパク質から誘導されるエピトープに相当する「H A」タグ (Wilson et al., Cell 37:767 (1984))、および「フラグ (flag)」タグが含まれるが、それらに限定されるわけではない。抗 P N A G 抗体は、非結合形態で用いてもよいし、または、例えば、分子の治療的性質を改善するため、標的検出を容易にするため、もしくは患者の撮像もしくは治療のため、さまざまな分子の少なくとも1つに結合してもよい。精製を実施するとき、精製の前または後のいずれかに、抗 P N A G 抗体を標識または結合することができる。特に、抗 P N A G 抗体を、治療剤、プロドラッグ、ペプチド、タンパク質、酵素、ウイルス、脂質、生物学的反応修飾物質、医薬品または P E G に結合してもよい。

【0083】

本発明は、診断剤または治療剤に結合された抗 P N A G 抗体を更に包含する。例えば、所定の処置および/または防止計画の有効性を明らかにする臨床的な試験手順の一部として、例えば、免疫細胞障害 (例えば、C L L) の発症または進行をモニターするために、抗 P N A G 抗体を診断的に用いることができる。抗 P N A G 抗体を検出可能な物質に結合することによって検出を容易にすることができる。検出可能な物質の例としては、さまざまな酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、生物発光物質、放射性物質、さまざまなボジトロン放出断層撮影を用いる陽電子放出金属、および非放射性的常磁性金属イオンが含まれる。例えば、本発明による診断剤として使用するための、抗体に結合することができる金属イオンについては、米国特許第 4 , 7 4 1 , 9 0 0 号を参照のこと。適した酵素の例としては、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ベータ - ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが含まれ ; 適した補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン / ビオチンおよびアビジン / ビオチンが含まれ ; 適した蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチ

10

20

30

40

50

オシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが含まれ；発光物質の例としては、ルミノールが含まれ；生物発光物質の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリンおよびエクオリンが含まれ；そして適した放射性物質の例としては、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In または ^{99}Tc が含まれる。

【0084】

本明細書に開示された診断および処置方法に使用するための抗PNA G抗体を、サイトトキシン（例えば放射性同位体、細胞傷害性薬物または毒素）治療剤、細胞増殖抑制剤、生物学的毒素、プロドラッグ、ペプチド、タンパク質、酵素、ウイルス、脂質、生物学的反応修飾物質、医薬品、免疫学的に活性なリガンド（例えば、リンホカインまたは他の抗体、ここで、得られた分子が腫瘍細胞とT細胞のようなエフェクター細胞との両方に結合する）、またはPEGに結合してもよい。

10

【0085】

別の実施態様において、本明細書に開示された診断および処置方法に使用するための抗PNA G抗体を、腫瘍細胞増殖を低下させる分子に結合することができる。別の実施態様において、開示された組成物は、薬物またはプロドラッグに結合された抗体またはそのフラグメントを含んでもよい。本発明のさらに別の実施態様は、リシン、ゲロニン、緑膿菌外毒素またはジフテリア毒素のような特定の生体毒素またはそれらの細胞傷害性フラグメントに結合された抗体またはそのフラグメントの使用を含む。使用する結合型または非結合型抗体の選択は、がんのタイプおよびステージ、補助的処置（例えば、化学療法または外部放射線）の使用ならびに患者の状態によって決まることになる。

20

【0086】

当業者は、本明細書の教示を鑑みてこのような選択を容易に行うことができることはあきらかである。以前の研究では、同位体で標識された抗腫瘍抗体が、動物のモデルにおいて、およびいくつかの場合、ヒトにおいて腫瘍細胞を破壊するために良好に用いられていることは明らかである。例示的な放射性同位体としては、 ^{90}Y 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{123}I 、 ^{111}In 、 ^{105}Rh 、 ^{153}Sm 、 ^{67}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{166}Ho 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re および ^{188}Re が含まれる。放射性核種は、核DNAで多数の鎖切断が生じる電離放射線を生成し、細胞死に導くことによって作用する。治療複合体（conjugates）を産生するために用いられる同位体は、典型的に、路長の短い高エネルギーアルファ粒子またはベータ粒子を発生する。このような放射性核種は、その近くにある細胞、例えば複合体が結合しているか、または入っている腫瘍細胞を殺す。それは、非局在化細胞ではほとんど効果がない。放射性核種は、本質的に非免疫原性である。

30

【0087】

VI. 抗PNA G抗体投与の医薬製剤および方法

抗PNA G抗体またはそのフラグメントの製造方法および対象への投与方法は、当業者によく知られているか、または当業者によって容易に決定される。抗体またはそのフラグメントの投与経路は、経口、非経口、吸入による、または局所であってもよい。本明細書に用いる非経口という用語は、静脈内、動脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、直腸または膣投与を含む。非経口投与の静脈内、動脈内、皮下および筋肉内形態は、一般に好ましい。これらのすべての投与形態は、範囲内にあると明確に企図されるが、特に静脈内もしくは動脈内注射または点滴について、投与形態は注射液である。通常、注射に適した医薬組成物は、緩衝液（例えば酢酸、リン酸またはクエン酸緩衝液）、界面活性剤（例えばポリソルベート）、場合により安定剤（例えばヒトアルブミン）などを含んでもよい。しかし、本明細書の教示と適合しうる他の方法では、ポリペプチドを有害細胞集団の部位に、直接送達し、それによって罹患した組織の治療剤への曝露を高めることができる。

40

【0088】

非経口投与の製剤は、水性または非水性の滅菌溶液、懸濁液および乳濁液を含む。非水性溶媒の例としては、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、例えばオリーブ油、および注射可能な有機エステル、例えばオレイン酸エチルである。水性担体

50

としては、水、アルコール性／水性溶液、乳濁液または懸濁液が含まれ、生理食塩水および緩衝化媒体が含まれる。本発明において、薬学的に許容される担体としては、0.01～0.1 M、好ましくは0.05 Mのリン酸緩衝液または0.8%の生理食塩水が含まれるが、それらに限定されるわけではない。他の一般の非経口ビヒクルとしては、リン酸ナトリウム溶液、リンゲルのデキストロース、デキストロースおよび塩化ナトリウム、乳酸加リンゲル液または固定油が含まれる。静脈内ビヒクルとしては、液体および栄養補充物、電解質補充物、例えば、リンゲルのデキストロースをベースとするものなどが含まれる。また、防腐剤および他の添加剤、例えば、抗菌剤、抗酸化剤、キレート化剤および不活性ガスなどが存在してもよい。さらに詳しくは、注射使用に適した薬学的組成物としては、滅菌水溶液（ここでは、水溶性）または分散液および滅菌注射液または分散液の即時調製のための滅菌粉末が含まれる。このような場合、組成物は、滅菌する必要がある、容易に注射針を通過できる程度まで流動性でなければならない。それは、製造および貯蔵条件下で安定でなければならない、細菌および真菌のような微生物の汚染作用に対して好ましくは保存されることになる。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコールなど）を含む溶媒または分散媒体、およびそれらの適した混合物であることができる。適当な流動性は、例えば、レシチンのような被膜の使用によって、分散液の場合、必要な粒径の維持によってそして界面活性剤の使用によって維持することができる。微生物の作用の防止は、さまざまな抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどによって達成することができる。多くの場合、組成物中に等張剤、例えば、糖類、ポリアルコール、例えばマンニトール、ソルビトールまたは塩化ナトリウムを含むことが好ましい。注射可能な組成物の持続的吸収は、組成物中に吸収を遅らせる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを含めることによってもたすことができる。

10

20

30

40

【0089】

いずれの場合も、滅菌注射液は、必要な量の活性化化合物（例えば、抗体それ自体または他の活性剤と組み合わせた抗体）を、本明細書に列挙された成分の1つまたは組合せと共に適当な溶媒中で混合し、必要に応じて、続いてる過滅菌することによって調製することができる。一般に、分散液は、活性化化合物を滅菌ビヒクル中に混合することによって調製され、これはベースとなる分散媒体および上に列挙されたものからの必要な他の成分を含む。滅菌注射液を調製するための滅菌粉末の場合、好ましい調製方法は、真空乾燥および凍結乾燥であり、これにより、以前に滅菌したその溶液から、任意のさらなる所望の成分を加えた活性成分の粉末が得られる。注射用の製剤を処理し、アンプル、バッグ、ビン、シリンジまたはバイアルのような容器に充填し、当分野で知られている方法に従って無菌条件下で封入する。さらに、製剤を、同時係属米国特許出願第09/259337号および米国特許出願第09/259338号に記載されたもののようなキット形態で包装し、販売してもよく、それらはそれぞれ、参照により本明細書に組み込まれる。このような製品は、関連組成物が、P N A G含有微生物バイオフィルムに罹患しているか、または罹患するリスクがある患者を処置するために有用であることを示すラベルまたは添付文書を好ましく有することになる。

【0090】

上記状態の処置のための本発明の安定化された抗体またはそのフラグメントの有効量は、投与手段、標的部位、患者の生理学的状態、患者がヒトまたは動物であるかどうか、投与する他の薬剤、そして処置が予防または治療であるかどうかを含む多くの異なる因子に応じて変化する。通常、患者は、ヒトであるが、トランスジェニック哺乳動物を含む非ヒト哺乳動物も処置することができる。当業者に知られている常用的な方法を用いて処置用量を漸増して安全性および有効性を最適化してもよい。

【0091】

抗体による受動免疫のため、用量は、例えば、約0.0001～100 mg/kg宿主体重、より通常は、0.01～5 mg/kg（例えば、0.02 mg/kg、0.25 m

50

g / k g、0 . 5 m g / k g、0 . 7 5 m g / k g、1 m g / k g、2 m g / k g、など)の範囲であってもよい。例えば用量は、1 m g / k g 体重または1 0 m g / k g 体重または1 ~ 1 0 m g / k g の範囲内、好ましくは少なくとも1 m g / k g であることができる。上の範囲の中間の用量も、また本発明の範囲内であるものとする。

【0092】

対象には、このような用量を、毎日、一日おきに、毎週、または実証的分析によって決定された任意の他のスケジュールに従って投与することができる。例示的な処置は、例えば、少なくとも6ヵ月の長期間にわたって複数用量での投与を必要とする。さらなる例示的な処置計画は、2週毎に1回または1ヵ月に1回または3~6ヵ月毎に1回の投与を必要とする。例示的な投薬スケジュールとしては、連続日で1~10m g / k g または15m g / k g、一日おきに30m g / k g または週1回60m g / k g が含まれる。いくつかの方法では、異なる結合特異性を有する2つまたはそれ以上のモノクローナル抗体を同時に投与し、この場合、投与する各抗体の用量は、指示された範囲内であってもよい。

10

【0093】

抗PNA G抗体またはそのフラグメントは、何度でも投与することができる。一回の投薬間の間隔は、例えば、毎日、毎週、毎月または毎年であることができる。また、間隔は、患者におけるポリペプチドまたは標的分子の血中濃度の測定による指示に応じて不規則であることができる。いくつかの方法では、用量を調整して特定の血漿抗体または毒素濃度、例えば1~1000μ g / m l または25~300μ g / m l を達成する。別法として、抗体またはそのフラグメントを、持続放出製剤として投与することができ、この場合、あまり頻繁な投与は必要ない。用量および頻度は、患者における抗体の半減期に応じて変化する。一般に、ヒト化抗体は、最も長い半減期を示し、キメラ抗体および非ヒト抗体が続く。一実施態様では、抗体またはそのフラグメントを、非結合形態で投与することができる。別の実施態様では、抗体を、結合形態で複数回投与することができる。さらに別の実施態様では、抗体またはそのフラグメントを、非結合形態で、次いで結合形態で投与することができ、またはその逆も同様である。

20

【0094】

用量および投与頻度は、処置が予防または治療かどうかに応じて変えることができる。予防用途では、本抗体またはそのカクテルを含む組成物を、まだ疾患状態ではない患者に、患者の抵抗性を増強するために投与する。このような量を、「予防有効量」とであると定義する。この使用では、正確な量は、再び患者の健康状態および全身免疫に左右されるが、しかし、一般に用量当たり0 . 1 ~ 2 5 m g、特に用量当たり0 . 5 ~ 2 . 5 m g の範囲である。一定の長期間にかけて、比較的頻繁ではない間隔で、比較的低い用量を投与する。患者によっては、残りの人生の間、処置を受け続ける。

30

【0095】

治療用途では、疾患の進行を遅らせるまたは停止するまでには、好ましくは、患者が疾患の症状の部分的なまたは完全な回復を示すまでには、比較的短い間隔で、比較的高い用量(例えば、用量当たり約1~400m g / k g の抗体、放射性免疫複合体では5~25m g の用量、サイトトキシン-薬物結合分子ではより高い用量がより一般的に用いられる)が、しばしば必要となる。その後、患者は予防計画を投与することができる。

40

【0096】

一実施態様では、抗PNA G抗体をコードする核酸分子(例えば、ベクター中)を用いて対象を処置することができる。ポリペプチドをコードする核酸の用量は、患者当たりDNA約10ng~1g、100ng~100mg、1μ g~10mg、または30~300μ g の範囲である。感染性ウイルスベクターの用量は、用量当たりビリオン10~100またはそれ以上で変化する。

【0097】

治療剤は、予防および/または治療処置のため、非経口、局所、静脈内、経口、皮下、動脈内の、頭蓋内、腹腔内、鼻腔内または筋肉内手段によって投与することができる。抗体の投与には、筋肉内投与または静脈内注入が、好ましい。いくつかの方法では、治療抗

50

体またはそのフラグメントを頭蓋に直接注射する。いくつかの方法では、抗体またはそのフラグメントを、持続放出組成物またはデバイス、例えばMedipad™デバイスとして投与する。

【0098】

場合により、処置（例えば、予防または治療）を必要とする障害または状態の処置に有効である他の薬剤と組み合わせて抗PNA G抗体を投与することができる。好ましいさらなる薬剤は、当分野で認められ、特定の障害に対して標準的に投与されるものである。

【0099】

90Y標識抗体の有効な単独処置用量（すなわち、治療有効量）は、約5mCiから約75mCiの間、より好ましくは約10mCiから約40mCiの間の範囲である。131I標識抗体の有効な単独処置非骨髓除去（non-marrow ablative）用量は、約5mCiから約70mCiの間、より好ましくは約5mCiから約40mCiの間の範囲である。131I標識抗体の有効な単独処置用量（すなわち、自己骨髓移植を必要としうる）は、約30mCiから約600mCiの間、好ましくは約50mCiから約500mCi未満の間の範囲である。キメラ改変抗体に関しては、ネズミ抗体と比較してより長い循環半減期のために、ヨウ素131標識キメラ抗体の有効な単独処置非骨髓除去（non-marrow ablative）用量は、約5mCiから約40mCiの間の範囲、より好ましくは約30mCi未満である。例えば、111In標識に対する撮像基準は、典型的に約5mCi未満である。

10

【0100】

131Iおよび90Yを用いて大量の臨床経験が得られているが、当分野では他の放射性標識が知られており、類似の目的で用いられている。さらに別の放射性同位体は、撮像に用いられる。例えば、本発明の範囲と適合しうるさらなる放射性同位体としては、123I、125I、32P、57Co、64Cu、67Cu、77Br、81Rb、81Kr、87Sr、113In、127Cs、129Cs、132I、197Hg、203Pb、206Bi、177Lu、186Re、212Pb、212Bi、47Sc、105Rh、109Pd、153Sm、188Re、199Au、225Ac、211At、213Biが含まれるが、これらに限定されるわけではない。これに関して、アルファ、ガンマおよびベータ放射体は、すべて本発明中と適合しうる。さらに、本開示を鑑みて、どの放射性核種が、選択された処置の経過と適合しうるか、不必要な実験なしに当業者が容易に決定できることが提起される。このために、臨床診断ですでに用いられているさらなる放射性核種としては、125I、123I、99Tc、43K、52Fe、67Ga、68Gaおよび111Inが含まれる。また、抗体は、標的設定された免疫療法における使用可能性のためさまざまな放射性核種で標識されてきた（Peirersz et al. Immunol. Cell Biol. 65: 111-125 (1987)）。これらの放射性核種としては、188Reおよび186Reならびに199Auおよび67Cuがより少ない程度に含まれる。米国特許第5,460,785号は、このような放射性同位体に関するさらなるデータを提供し、参照により本明細書に組み込まれる。

20

30

【0101】

以前に議論したように、哺乳動物の障害のin vivo処置のため、抗体またはそのフラグメントを、薬学的有効量で投与することができる。これに関しては、活性薬剤の投与を容易にし、安定性を助長するように、開示された抗体またはそのフラグメントが調製されることは明らかである。好ましくは、本発明による医薬組成物は、薬学的に許容される非毒性の滅菌担体、例えば生理食塩水、非毒性緩衝液、防腐剤などを含む。この用途のためには、治療剤に結合されたまたは非結合の抗体の薬学的有効量は、標的への有効な結合を達成し、かつ利益を達成する、例えば、疾患もしくは障害の症状を改善するまたは物質もしくは細胞を検出するのに十分な量を意味するものとする。腫瘍細胞の場合、ポリペプチドは、腫瘍性または免疫反応性細胞において選択された免疫反応性抗原と相互作用可能であり、それらの細胞死における増加をもたらすことが好ましい。もちろん、本発明の医薬組成物は、単一または複数の用量で投与してポリペプチドの薬学的有効量を提供してもよ

40

50

い。

【0102】

本開示の範囲に合わせて、上記の処置方法に従って、抗PNAG抗体を治療または予防効果を生じるのに十分な量でヒトまたは他の動物に投与してもよい。抗PNAG抗体は、知られている技術に従って抗体を通常の薬学的に許容される担体または希釈剤と組み合わせることによって製造される通常の剤形で、このようなヒトまたは他の動物に投与することができる。薬学的に許容される担体または希釈剤の形態および特徴が、組み合わせることになっている活性成分の量、投与経路および他のよく知られた変量によって決まることは、当業者に明らかである。さらに、本発明によるポリペプチドの1つまたはそれ以上の種を含むカクテルが、特に有効であると立証されうことは、当業者にとって明らかである。

10

【0103】

VII. PNAG含有微生物バイオフィルムに關与する感染を処置または防止する方法

本発明は、1つまたはそれ以上の抗PNAG抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む医薬組成物を、必要な対象に投与することによって、PNAG含有細菌バイオフィルムを処置または防止する方法を提供する。

【0104】

特定の実施態様では、1つまたはそれ以上の抗PNAG抗体を含む医薬組成物またはその抗原結合フラグメントを、1つまたはそれ以上のさらなる治療剤と組み合わせて対象に投与する。特定の実施態様では、1つまたはそれ以上のさらなる治療剤を、1つまたはそれ以上の抗PNAG抗体を含む医薬組成物と同時に投与する。適したさらなる治療剤には、抗菌剤（例えば、抗生物質）が含まれる。適した抗菌剤としては、ペニシリンG、ペニシリンV、アンピシリン、アモキシリン、パカンピシリン、シクラシリン、エピシリン、ヘタシリン、ピバンピシリン、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フルクロキサシリン、カルベニシリン、チカルシリン、アプロシリン（avlocillin）、メズロシリン、ピペラシリン、アムジノシリン、セファレキシン、セフラジン、セファドキシル（cefadroxil）、セファクロル、セファゾリン、セフロキシム、アキセチル、セファマンドール、セホニシド、セフォキシチン、セフォタキシム、セフチゾキシム、セフィネノキシム（cefinenoxine）、セフトリアキソン、モキサラクタム、セフォテタン、セフォペラゾン、セフトジジム（ceftazidime）、イミペネム、クラブラネート、チメンチン、スルバクタム、ネオマイシン、エリスロマイシン、メトロニダゾール、クロラムフェニコール、クリンダマイシン、リンコマイシン、バンコマイシン、トリメトプリム・スルファメトキサゾール、アミノグリコシド、キノロン、テトラサイクリンおよびリファンピンが含まれるが、限定されるわけではない（例えば、Goodman and Gilman's, Pharmacological Basics of Therapeutics, 8th Ed., 1993, McGraw Hill Inc. 参照）。

20

30

【0105】

当業者は、常用実験によって、PNAG関連の疾患または障害を処置するために抗体（または、さらなる治療剤）の有効な非毒性量がどれくらいであるかを決定することができる。例えば、ポリペプチドの治療活性量は、例えば対象の年齢、性別、医学的合併症（例えば、免疫抑制された状態または疾患）および体重、ならびに対象において所望の反応を誘発する抗体の能力といった因子により変化してもよい。至適治療反応を提供するため、投与計画を調整してもよい。例えば、いくつかに分割された用量を毎日投与してもよいし、または治療状況の緊急の指示に合わせて用量を減らしてもよい。しかし、通常、有効用量は、1日当たりキログラム体重当たり約0.05～100ミリグラム、より好ましくは1日当たりキログラム体重当たり約0.5～10ミリグラムの範囲であることが期待される。

40

【0106】

抗PNAG抗体の正確な投与時間は、患者の要求により調整することができる。対象におけるPNAG含有微生物バイオフィルムの形成を阻害する予防的処置の場合、バイオフ

50

イルム形成微生物への曝露前の任意の時間（例えば、入院時、または医学的手技の開始時）に抗 P N A G 抗体を与えることができる。例えば、抗 P N A G 抗体は、バイオフィルム形成微生物への曝露の 0 時間から 2 4 0 時間前の間、例えば、約 0 . 5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、30、40、60、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、2010、220、230、および / または 2 4 0 時間前に投与することができる。

【0107】

V I I I . 実例

本発明を以下の実施例によって更に説明するが、それらは更に限定するものとして解釈すべきではない。配列リストの内容、図ならびに本明細書を通して引用されたすべての文献、特許および公開された特許出願は、参照により本明細書に組み込まれることは明らかである。

【0108】

実施例 1

F 5 9 8 による黄色ブドウ球菌 (S. aureus) バイオフィルムの阻害

黄色ブドウ球菌 (A T C C 3 3 5 9 2) を $1 \text{ E} + 0 7 \text{ C F U} / \text{m l}$ で調整した T S B 培地中で一夜増殖させた。次いで、細菌を、 $5 \mu \text{g} / \text{m l}$ または $2 0 \mu \text{g} / \text{m l}$ の濃度の F 5 9 8 またはヒト I g G 対照を含む M B E C プレート (MBEC AssaysTM, Innovotech) に等分し、5.5 時間インキュベートした。培養期間の後、M B E C プレートの栓を抜き、洗淨し、発光を用いて、形成されたバイオフィルムの量を定量化した (BacTiter-GloTM; Microbial Cell Viability Assay, Promega)。この実験では、F 5 9 8 は、黄色ブドウ球菌の in vitro バイオフィルム発生に対して明白な保護効果を示した。具体的には、F 5 9 8 は、黄色ブドウ球菌のバイオフィルム発生の 5 0 % を超える阻害を示した ($5 \mu \text{g} / \text{m l}$ および $2 0 \mu \text{g} / \text{m l}$ で、それぞれ $4 3 + / - 8 \%$ および $3 7 + / - 3 \%$) (図 1 参照)。

【0109】

実施例 2

F 5 9 8 による表皮ブドウ球菌 (S. epidermidis) (臨床分離株 1 4 5 7) バイオフィルムの阻害

表皮ブドウ球菌 (臨床分離株 1 4 5 7) を、マルチウェルプレートで T S B 培地中、2 5、5 0、1 0 0 または $2 0 0 \mu \text{g} / \text{m l}$ の F 5 9 8 またはヒト I g G 1 対照の存在下で 8 時間増殖させた。次いで、ウェルを洗淨し、クリスタルバイオレットで染色した。4 9 0 n m の波長でサンプル吸光度を測定することによってバイオフィルムを定量化した。この実験では、F 5 9 8 は、ピトロバイオフィルム発生において表皮ブドウ球菌 1 4 5 7 に対する明白な用量依存的保護効果を示した。具体的には、 $2 5 \mu \text{g} / \text{m l}$ で、バイオフィルム形成は、対照の 4 0 % (O D 0 . 2 対 0 . 5) であり、 $2 0 0 \mu \text{g} / \text{m l}$ で、バイオフィルム形成は、対照の 2 0 % (O D 0 . 1 対 0 . 5) であった (図 2 参照)。

【0110】

実施例 3

F 5 9 8 による表皮ブドウ球菌 (S. epidermidis) (臨床分離株 R P 6 2 A) バイオフィルムの阻害

表皮ブドウ球菌 (臨床分離株 R P 6 2 A) を、マルチウェルプレートで T S B 培地中、1 9、3 8 または $7 6 \mu \text{g} / \text{m l}$ の F 5 9 8 または P B S 緩衝液対照の存在下で 8 時間増殖させた。次いで、ウェルを洗淨し、クリスタルバイオレットで染色した。4 9 0 n m の波長でサンプル吸光度を測定することによってバイオフィルムを定量化した。この実験では、F 5 9 8 は、ピトロバイオフィルム発生において表皮ブドウ球菌 R P 6 2 A に対して明白な用量依存的保護効果を示した。具体的には、1 9、3 8 および $7 6 \mu \text{g} / \text{m l}$ の F 5 9 8 は、それぞれ、バイオフィルム形成を 3 6、6 0 および 7 6 % 低減した (対応する P B S 対照と比べて) (図 3 参照)。

10

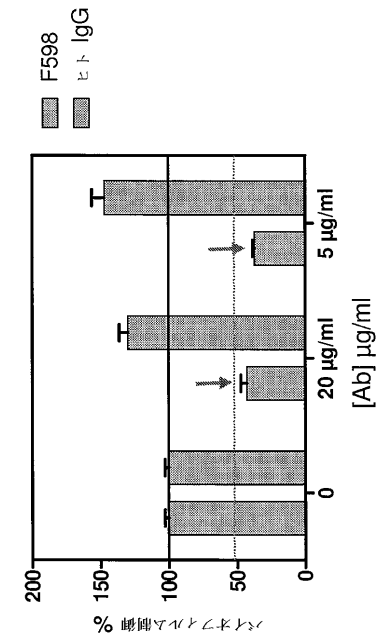
20

30

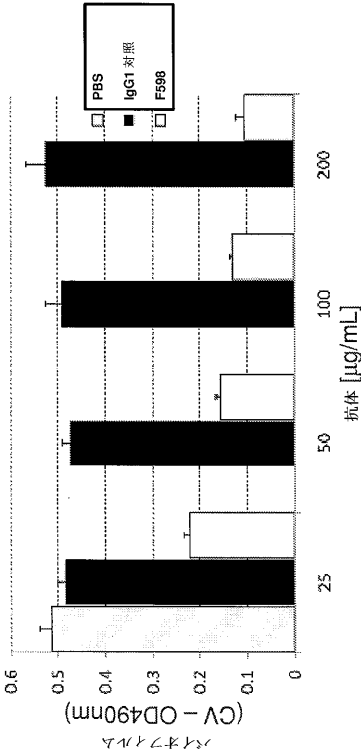
40

50

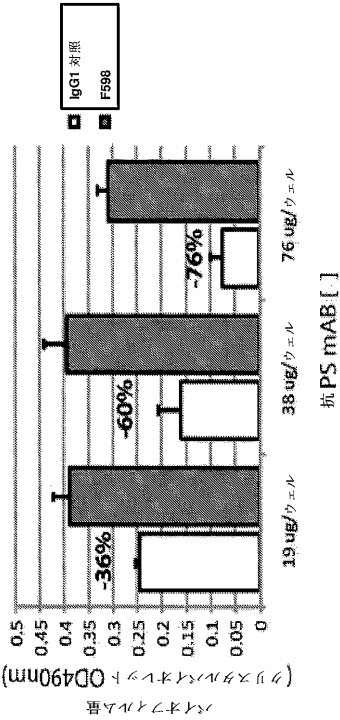
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



【配列表】

2015517496000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2013/039724

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K16/12
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CASIE KELLY-QUINTOS ET AL: "Characterization of the opsonic and protective activity against Staphylococcus aureus of fully human monoclonal antibodies specific for the bacterial surface polysaccharide poly-N-acetylglucosamine", INFECTION AND IMMUNITY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, USA, vol. 74, no. 5, 1 May 2006 (2006-05-01), pages 2742-2750, XP002670434, ISSN: 0019-9567, DOI: 10.1128/IAI.74.5.2742-2750.2006 the whole document ----- -/--	1-41

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 August 2013

Date of mailing of the international search report

02/09/2013

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kalsner, Inge

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2013/039724

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	N. CERCA ET AL: "Molecular Basis for Preferential Protective Efficacy of Antibodies Directed to the Poorly Acetylated Form of Staphylococcal Poly-N-Acetyl- -(1-6)-Glucosamine", INFECTION AND IMMUNITY, vol. 75, no. 7, 1 July 2007 (2007-07-01), pages 3406-3413, XP055075277, ISSN: 0019-9567, DOI: 10.1128/IAI.00078-07 the whole document -----	1-41
A	SAID JABBOURI ET AL: "Characteristics of the biofilm matrix and its role as a possible target for the detection and eradication of Staphylococcus epidermidis associated with medical implant infections", FEMS IMMUNOLOGY & MEDICAL MICROBIOLOGY, 12 June 2010 (2010-06-12), pages no-no, XP055074911, ISSN: 0928-8244, DOI: 10.1111/j.1574-695X.2010.00695.x the whole document -----	1-41
A	SKURNIK DAVID ET AL: "Targeting Pan-Resistant Bacteria With Antibodies to a Broadly Conserved Surface Polysaccharide Expressed During Infection", JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES, vol. 205, no. 11, June 2012 (2012-06), pages 1709-1718, XP002711313, page 1715, right-hand column - page 1717 -----	1-41
A	OHlsen KNUT ET AL: "Immunotherapeutic strategies to combat staphylococcal infections", INTERNATIONAL JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY, URBAN UND FISCHER, DE, vol. 300, no. 6, 1 August 2010 (2010-08-01), pages 402-410, XP002687632, ISSN: 1438-4221, DOI: 10.1016/J.IJMM.2010.04.015 the whole document -----	1-41

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)
 C 0 7 K 16/12 (2006.01) C 0 7 K 16/12

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

(72)発明者 アストリッド・レイ
 フランス国エフ - 3 1 0 3 6 トゥールーズセデクス 1 . ベーペー 1 3 6 6 9 . ルートデスパール
 1 9 5 . ティーエスユー アイディー サノフィ アールアンドディー

(72)発明者 シルヴィ・ルフォー
 フランス国エフ - 3 1 0 3 6 トゥールーズセデクス 1 . ベーペー 1 3 6 6 9 . ルートデスパール
 1 9 5 . ティーエスユー アイディー サノフィ アールアンドディー

(72)発明者 ローラン・フレイス
 フランス国エフ - 3 1 0 3 6 トゥールーズセデクス 1 . ベーペー 1 3 6 6 9 . ルートデスパール
 1 9 5 . ティーエスユー アイディー サノフィ アールアンドディー

F ターム(参考) 4C081 AC08 AC09 BA14 CE01 DA03 DC03
 4C085 AA13 BA31 BB24 BB36 BB41 BB43 CC07 EE01 GG01
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA11 DA76 EA29 FA72 FA74