

(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2017-510563

(P2017-510563A)

(43) 公表日 平成29年4月13日(2017.4.13)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/734 (2006.01)	A 6 1 K 31/734	4 C 0 8 4
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5	4 C 0 8 6
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	4 C 0 9 0
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 11/02 (2006.01)	A 6 1 P 11/02	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 54 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-554405 (P2016-554405)	(71) 出願人	511292459
(86) (22) 出願日	平成27年2月27日 (2015.2.27)		アルギファルマ エーエス
(85) 翻訳文提出日	平成28年10月24日 (2016.10.24)		ノルウェー国 エヌー1 3 3 7 サンドヴ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/054207		ィカ インダストリヴィエン 3 3
(87) 国際公開番号	W02015/128495	(74) 代理人	110000796
(87) 国際公開日	平成27年9月3日 (2015.9.3)		特許業務法人三枝国際特許事務所
(31) 優先権主張番号	1403630.5	(72) 発明者	ハンソン グンナル シー.
(32) 優先日	平成26年2月28日 (2014.2.28)		スウェーデン国 エスー4 1 6 7 4 ゴ
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		センバーク ステヌングスンドスガタン
(31) 優先権主張番号	1502110.8		8
(32) 優先日	平成27年2月9日 (2015.2.9)	(72) 発明者	エルムンド アンナ
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		スウェーデン国 エスー4 2 1 3 7 ヴ
			ェストラ フレールンダ ディリゲントガ
			タン 1
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 嚢胞性線維症及び欠陥 C F T R イオンチャネル機能に関連する他の病態の治療におけるアルギネートオリゴマーの使用

(57) 【要約】

本発明は、欠陥嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子 (C F T R) イオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連するヒト患者における病態を治療する方法であって、モノマー残基の少なくとも 3 0 % が G 残基であるアルギネートオリゴマーを、患者において欠陥 C F T R イオンチャネル及び／又は上記異常粘液を有する粘膜表面の少なくとも一部で 1 % ～ 6 % (w / v) のアルギネートオリゴマーの局所濃度を達成するのに十分な量で患者に投与し、それにより上記粘膜表面からの粘液の少なくとも部分的な脱離をもたらすことを含む、方法を提供する。或る特定の実施形態では、上記病態は嚢胞性線維症 (C F)、非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性、気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難、C O P D、慢性気管支炎、肺気腫、気管支拡張症、喘息若しくは慢性副鼻腔炎、又はその合併症である。

【選択図】 無し

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

欠陥囊胞性線維症膜コンダクタンス制御因子（C F T R）イオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連するヒト患者における病態を治療する方法であって、モノマー残基の少なくとも 30 % が G 残基であるアルギネートオリゴマーを、前記患者において欠陥 C F T R イオンチャネル及び／又は前記異常粘液を有する粘膜表面の少なくとも一部で 1 % ～ 6 %（w / v）の前記アルギネートオリゴマーの局所濃度を達成するのに十分な量で前記患者に投与し、それにより前記粘膜表面からの粘液の少なくとも部分的な脱離をもたらすことを含む、方法。

【請求項 2】

欠陥 C F T R イオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連するヒト患者における病態の治療への使用のためのアルギネートオリゴマーであって、該アルギネートオリゴマーのモノマー残基の少なくとも 30 % が G 残基であり、該アルギネートオリゴマーが前記患者において欠陥 C F T R イオンチャネル及び／又は前記異常粘液を有する粘膜表面の少なくとも一部で 1 % ～ 6 %（w / v）の該アルギネートオリゴマーの局所濃度を達成するのに十分な量で前記患者に投与され、それにより前記粘膜表面からの粘液の少なくとも部分的な脱離をもたらされる、アルギネートオリゴマー。

【請求項 3】

前記病態が呼吸器障害又はその合併症である、請求項 1 に記載の方法又は請求項 2 に記載の使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 4】

前記呼吸器障害が閉塞性呼吸器障害であるか、又は該呼吸器障害が気道感染による慢性炎症状態、気道リモデリング及び増悪を特徴とする、請求項 3 に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 5】

前記病態が囊胞性線維症（C F）、非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性、気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難、C O P D、慢性気管支炎、肺気腫、気管支拡張症、喘息若しくは慢性副鼻腔炎、又はその合併症である、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 6】

前記病態が C F 又はその合併症である、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 7】

前記粘膜表面が、

（i）気道、好ましくは気管、気管支若しくは細気管支、

（i i）副鼻腔、

（i i i）G I 管、好ましくは口、咽頭、食道、十二指腸、空腸若しくは回腸、

（i v）膵臓、好ましくは膵管、

（v）肝臓、好ましくは胆管、又は、

（v i）生殖器系、好ましくは子宮頸部、子宮若しくはファローピウス管、若しくは精

巢上体若しくは輸精管、

における粘膜表面から選択される、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 8】

前記治療が前記病態の合併症の治療又は予防を含み、該合併症が、

（i）気道及び／又は心血管系、

（i i）副鼻腔、

（i i i）G I 管、

（i v）膵臓、

(v) 肝臓、又は、

(vi) 生殖能、

の合併症から選択される、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 9】

前記合併症が気道の感染であるか、若しくは気道の感染を伴い、又は G I 管における滞留粘液によって生じる、請求項 8 に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 10】

前記アルギネートオリゴマーの局所濃度が 1.2%～6% (w/v)、1.5%～6% (w/v) 又は 2%～6% (w/v) である、請求項 1～9 のいずれか一項に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 11】

前記アルギネートオリゴマーの平均分子量が 35000 ダルトン未満、好ましくは 30000 ダルトン、25000 ダルトン又は 20000 ダルトン未満である、請求項 1～10 のいずれか一項に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 12】

前記アルギネートオリゴマーの重合度 (DP) 又は数平均重合度 (DP_n) が 4～100、4～75、4～50、4～35、4～30、4～25、4～22、4～20、4～18、4～16 又は 4～14 である、請求項 1～11 のいずれか一項に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 13】

前記アルギネートオリゴマーの重合度 (DP) 又は数平均重合度 (DP_n) が、

(i) 6～50、6～35、6～30、6～25、6～22、6～20、6～18、6～16 若しくは 6～14、又は、

(ii) 8～50、8～35、8～30、8～25、10～25、10～22、10～20、10～18 若しくは 10～15、

である、請求項 1～12 のいずれか一項に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 14】

前記アルギネートオリゴマーが少なくとも 70% の G 残基を有する、請求項 1～13 のいずれか一項に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 15】

前記アルギネートオリゴマーが少なくとも 80%、又は少なくとも 85%、又は少なくとも 90%、又は少なくとも 95% の G 残基を有する、請求項 14 に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 16】

前記 G 残基の少なくとも 80% が G ブロック中に配置される、請求項 1～15 のいずれか一項に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 17】

前記アルギネートオリゴマーが、欠陥嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子 (CFTR) イオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連する病態の治療のための更なる治療的活性剤と組み合わせて使用され、該更なる治療的活性剤が抗生物質、抗真菌剤、抗ウイルス剤、免疫刺激薬、コルチコステロイド、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID)、気管支拡張剤、消化酵素サプリメント、経口抗糖尿病薬、注射用抗糖尿病薬及び粘液溶解薬から選択される、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の方法又は使用のためのアルギネートオリゴマー。

【請求項 18】

欠陥 CFTR イオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連するヒト患者における病態の治療における個別、同時又は順次の使用のための請求項 1、2

10

20

30

40

50

又は 11～16 のいずれか一項に記載のアルギネートオリゴマー及び請求項 17 に記載の更なる治療的活性剤を組合せ調製物として含有する生成物であって、前記アルギネートオリゴマーが前記患者において欠陥 C F T R イオンチャネル及び／又は前記異常粘液を有する粘膜表面の少なくとも一部で 1 %～6 % (w/v) の前記アルギネートオリゴマーの局所濃度を達成するのに十分な量で前記患者に投与され、それにより前記粘膜表面からの粘液の少なくとも部分的な脱離がもたらされる、生成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、特にアルギネートオリゴマーを用いた嚢胞性線維症 (C F) 及びその合併症の治療に関する。本発明は、C F 及びそれに関連する病態の問題の多くが、欠陥 C F T R イオンチャネルの結果として生じる粘液分泌細胞からの粘液の取出し (unpacking) 及び脱離の障害に起因するという最近の判断に追従するものである。本発明によると、或る特定の濃度の或る特定のアルギネートオリゴマー (例えば、少なくとも 30 % のモノマー残基がグルコネート又はグルロン酸残基 (G 残基) である 1 %～6 % (w/v) のアルギネートオリゴマー) が粘液及びその主成分であるムチンを C F、及び C F T R 機能不全を特徴とする (すなわち、C F T R 機能不全が原因因子又は媒介因子である) 他の疾患、障害又は病態において見られるような機能的 C F T R イオンチャネルを欠いた上皮細胞層から脱離させることが今回見出された。結果として、処置された粘液はより自由に移動することが可能であり、C F T R 機能不全を有しない対象 (例えば非 C F 対象又は健常対象) の粘液によりよく似ている。この C F T R 機能不全の患者 (例えば C F 患者) の異常粘液のより正常な表現型への移行は、肺における問題だけでなく、腸における問題、並びに C F を特徴付ける欠陥イオンチャネル及び／又は異常粘液に起因又は関連する他の疾患、障害及び病態を含む、C F の問題及び C F に起因する問題の多くの軽減をもたらすことが提示されている。

【背景技術】

【0002】

C F は、嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子 (C F T R) における、上皮膜を介して塩化物イオン及び重炭酸イオンを輸送するこのタンパク質の能力に影響を及ぼし、それによりナトリウム等の他のイオンの平衡にも影響を与える突然変異に起因するヒトの常染色体劣性遺伝的疾患である。かかる突然変異は、上皮細胞表面での不十分な数の C F T R 及び／又は上皮細胞表面に存在する C F T R における不十分なイオンチャネル活性をもたらし得る。C F T R におけるかかる突然変異の影響によって引き起こされるイオン平衡の摂動は、粘液が形成される全ての器官における滞留粘液並びに肝臓及び膵臓の腺からの増粘分泌液として現れる。肺、副鼻腔、胃腸 (G I) 管、膵臓、肝臓、並びに女性生殖器系及び男性生殖器系におけるこの滞留粘液の存在は生活の質の低下だけでなく、罹患率及び死亡率にも関連する臨床病態の過多につながる。実際に、大半の C F 罹患者はこの滞留粘液に直接関連する合併症で死亡する。

【0003】

C F 患者の肺では、高濃度の付着した難治性の粘液は粘膜毛様体クリアランス系による除去が不十分であり、気道に蓄積する。これにより患者は慢性肺感染及び炎症 (肺炎) の影響を受けやすくなり、細菌、細菌性バイオフィーム及び細胞残屑が粘液と混ざり、痰の粘度が増大することとなる。これは最終的に永続的な肺損傷及びリモデリング、更には肺高血圧、心不全及び呼吸不全につながる。黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus)、インフルエンザ菌 (Haemophilus influenzae)、緑膿菌 (Pseudomonas aeruginosa)、マイコバクテリウム・アビウム・コンプレックス (Mycobacterium avium complex) 及びアスペルギルス・フミガーツス (Aspergillus fumigatus) による感染が一般的である。気道における (例えば気管支における) 異常粘液上昇も感染の影響を受けやすく、粘膜表面の炎症 (例えば気管支炎) につながる可能性がある。抗生物質に対する応答は不良であることが多い。

10

20

30

40

50

【0004】

副鼻腔では、異常粘液は顔面痛、頭痛及び異常鼻漏（abnormal nasal drainage）につながる頻繁な遮断をもたらす。副鼻腔は異常粘液が高度の感受性を示す感染により悪化することが多く、これは急性、亜急性及び慢性の副鼻腔炎（鼻副鼻腔炎としても知られる）につながる可能性がある。鼻腔組織の過成長（鼻ポリープ）が慢性副鼻腔感染により誘導される慢性炎症状態の結果として生じる場合もある。これらのポリープは鼻道を遮断し、呼吸困難を増大し得る。

【0005】

G I 管では、付着した異常粘液は腸の痛み、更には完全な閉塞をもたらすと考えられる。新生児対象では、粘液は胎便と合わさって回腸を詰まらせる可能性がある（胎便性イレウス）。より高齢の患者では、腸重積症及び回腸末端部の末端腸閉塞症候群（D I O S）による腸閉塞（intestinal blockage）がよく見られる。滞留粘液に関連する細菌の異常増殖及び合併症も起こり得る。

10

【0006】

膵臓では、外分泌液中の増粘及び付着した粘液は膵管を遮断し、G I 管に入る消化酵素及び胆汁の量を低減することが多い。これにより膵臓における消化酵素の蓄積が引き起こされ、食物栄養素を取り込む患者の能力が低減し（栄養吸収不良）、膵臓に炎症及び不可逆的損傷が引き起こされる可能性がある。かかる炎症及び損傷は膵炎（急性及び慢性の両方）、最終的には外分泌腺の萎縮及び線維症をもたらす。膵臓の損傷は膵島細胞の喪失につながり、嚢胞性線維症関連糖尿病につながる場合もある。

20

【0007】

肝臓では、増粘した胆汁分泌液及び粘液内層は胆管を遮断し、胆石を引き起こし、肝臓損傷、最終的には肝硬変につながる場合がある。

【0008】

健常女性の生殖能力は生殖器系における粘液、特に子宮頸部の粘液の特性によって部分的に調節される。雄性哺乳動物の輸精管は、異常である場合に輸精管を閉塞し得る粘液を含有する。したがって、C F T R 遺伝子の突然変異によって引き起こされる異常粘液は、女性不妊及び男性不妊の両方と関連付けられている。

【0009】

致死的な肺疾患及び肝臓疾患は肺又は肝臓の移植の成功によって解消することができる場合もあるが、嚢胞性線維症に対する治癒は現在存在しない。しかしながら、C F 患者における肺移植は肺感染が移植の直後に再発する可能性があるため、必ずしも成功するとは限らない。これは通常、移植片を新たに移植された肺上の患者の気道に残存する感染の影響を受けやすくする、移植の確立を促進するための免疫抑制薬の使用の結果である。

30

【0010】

したがって、C F における薬学的介入は二次的症狀及び病態の管理に制限され、これらの病態の主要根本原因である異常粘液に対処するために利用可能な選択肢はごくわずかである。例えば肺合併症は通例、抗生物質、抗真菌剤、抗炎症剤及び気管支拡張剤による治療計画によって管理され、膵臓合併症によって引き起こされる栄養吸収不良は消化酵素サプリメントにより治療することができ、嚢胞性線維症関連糖尿病は経口抗糖尿病薬（例えばスルホニルウレア、ビグアニド及びチアゾリジンジオン）とインスリン静注との組合せによって治療することができる。肝臓合併症は通例、肝臓疾患の他の患者と同様に対応されるが、これらの器官のいずれかに損傷が生じた後にできることはほとんどない。

40

【0011】

C F 以外の他の病態も欠陥 C T F R チャネル又は C F T R 機能不全を特徴とするか、又はそれらに関連する場合がある。近年では、その C F T R 対立遺伝子内にホモ接合性又は複合ヘテロ接合性突然変異を保有しない対象であっても、上皮細胞層での C F T R 機能不全が起こり、C F を特徴付けるものと同様又は同様の異常な粘液及び内分泌液が生じ得ることが認められている。これにより異常粘液クリアランスが生じ、呼吸困難、C F 様症状及び合併症、並びに C O P D（並びにその亜型である慢性気管支炎及び肺気腫）、気管支

50

拡張症及び慢性副鼻腔炎を含む慢性炎症性呼吸器障害につながり得るか、又はそれらに少なくとも寄与し得る。

【0012】

場合によっては、CFTR機能不全は非複合ヘテロ接合性突然変異体CFTR対立遺伝子を有する対象において見られる。かかる対象では遺伝性機能不全は軽微であるため、顕性CFとして現れるには不十分であるが、正常よりも高濃度の付着した難治性の粘液、並びに正常よりも濃厚な肝臓及び膵臓の腺からの分泌液をもたらすには十分である。顕性CFとの関連で上記に論考されるように、気道ではかかる粘液は粘膜毛様体クリアランス系による除去が不十分であることが多く、気道に蓄積し、更なる症状及び合併症につながる可能性がある。同様に、これらの対象の副鼻腔、胃腸（GI）管、膵臓、肝臓、並びに女性生殖器系及び男性生殖器系における増粘した粘液及び外分泌液は顕性CFに関連する軽微な形態の臨床病態の過多につながるのに十分であり得る。

10

【0013】

したがって、欠陥CFTRイオンチャネルに関連する疾患及び障害（又はより一般には「病態」）はCFだけでなく、呼吸器機能不全（より一般には他の呼吸器障害）を伴う他の病態、特に肺閉塞を伴う障害（特に喘息を含む）を含み得る。実際に、喘息はCFTR遺伝子の突然変異及び機能不全に関連付けられている。

【0014】

他の例では、CFTR機能不全が後天性であり得ることが示されている。微粒子刺激物、例えば煙粒子（タバコ、木材等）、汚染物質、粉塵（アスベスト、綿、炭、石、動物の糞等）及び胞子の慢性吸入が、受容体を保有する上皮細胞表面でのCFTRイオンチャネル活性の低減をもたらし得ることが現在知られている。遺伝性欠陥のためにCFTRが軽微な機能不全を示す対象では、CFTRに対するこれらの環境的要因の有害作用が臨床的により顕著であり得ることが認識される。この後天性の機能不全及び粘液に対する影響は、これらの対象における慢性炎症性障害、例えばCOPD、CB、肺気腫、気管支拡張症及び慢性副鼻腔炎の進行に寄与すると考えられる。

20

【0015】

CFTRイオンチャネル機能は、上皮細胞表面上に存在するチャネル／ポアを介したイオンの通過を阻害すること（例えばゲーティング期間若しくは確率を低減するか、又はチャネルが開いている場合のイオンの通過（チャネルコンダクタンス）を妨げる）又は細胞表面上のCFTRの数を低減すること（例えばCFTRの発現を低減する、細胞表面への機能的CFTRの輸送を妨げる、及び／又は細胞表面からのCFTRの内在化及び代謝回転のプロセスを上方調節すること）によって低減する可能性がある。例えばCOPD（並びにその亜型である慢性気管支炎及び肺気腫）、気管支拡張症及び慢性副鼻腔炎において見られるものと同様のCFTRプロセッシングに対する影響が慢性気道炎症時に見られる可能性があることも認められている。

30

【0016】

これらの状況の全てにおいて、気道におけるCFTR活性の低減は粘膜毛様体クリアランス系による除去が不十分であり、気道内に蓄積する、CFに特徴的な高濃度の付着した難治性の粘液をもたらす可能性がある。これにより、後天性CFTR機能不全の患者はCF患者が経験する呼吸器症状及び合併症（COPD、CB、肺気腫、喘息及び慢性副鼻腔炎と同様のものを含む）の影響を受けやすくなる。

40

【0017】

CF粘液の異常、主にその粘度の上昇に対処するために開発されたアプローチはわずかである。これらにはドルナーゼアルファ（DNアーゼ酵素）、高張食塩水、マンニトール、アセチルシステイン、デキストラン及びデヌホソル（プリン受容体のP2Y2亜型の作動薬、肺における代替塩化物チャネル）が含まれる。しかしながら、これらの治療は限られた有効性しか示さず、肺に限定される。アルギネートオリゴマーもCOPD患者の痰及び頸管粘液の粘度を低減することが可能であることが示されている（特許文献1、特許文献2、特許文献3）。これに基づいてCF、女性不妊及び腸内の超高粘度粘液を治療する

50

ためのアルギネートオリゴマーの使用が提案されている。

【0018】

薬学的介入に加えて、CF患者は通例、特に肺のクリアリング (clearing) 及び／又は呼吸の補助との関連で肺及び／又はGIのCFの合併症を軽減するように設計される胸部及び／又は腹部に対する理学療法を受ける。かかる理学療法の技法としては、自動周期呼吸法 (ACBT)、体位排痰法、手動軽打法及び振動法、自発排痰法 (autogenic drainage) (AD)、高頻度胸壁振動法 (HFCWO)、呼気陽圧法 (PEP) 及び振動性呼気陽圧デバイス (振動性 PEP) の1つ又は複数を挙げることができる。

【0019】

したがって、この分野における薬学的介入、特に肺、GI管、脾臓、肝臓及び生殖器系に関連する、特に上記で概説した様々な合併症を生じるCF患者の粘液における異常を補正することができる介入の継続的必要性が存在する。

【0020】

したがって同様に、CF以外のCFTR機能不全の患者、例えば気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難の患者、慢性炎症性呼吸器障害、例えばCOPD (並びにその亜型である慢性気管支炎及び肺気腫)、気管支拡張症、喘息及び慢性副鼻腔炎の患者、及び／又は非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性の患者の粘液における異常を補正し、それにより特に肺、GI管、脾臓、肝臓及び生殖器系に関連する、上記で概説した上記疾患、障害及び病態、並びに様々なその合併症を治療することができる薬学的介入の継続的必要性が存在する。

【0021】

CF患者及びCOPD患者における痰の粘度を低減するために使用されるアルギネートオリゴマーが以前に提案されているが、本発明者らは、CF患者及びCOPD患者 (及び粘膜表面の上皮細胞層にCFTR機能不全を有する他の患者) において生じる問題が、粘液の粘度の上昇ではなく、主に粘膜表面の粘液分泌細胞からの粘液の取出し及び脱離の障害によるものであると考えている。下記でより詳細に考されるように、本発明者らは特定の組成 (すなわち、少なくとも30%のモノマーがG残基である組成) のアルギネートオリゴマーがCF、及びCFTR機能不全を伴う他の疾患、障害又は病態における異常粘液の影響を軽減するように作用し得る新たな機構を決定し、重要なことには、この有益な新たな効果を達成するために、或る特定の濃度のかかるアルギネートオリゴマーが必要とされると判断した。

【0022】

アルギネートは、臨床 (例えば、創傷包帯において、薬剤担体として、及び抗胸焼け製剤において) 及び非臨床 (例えば、食物調製物において) の両方に数多くの使用法が認められている天然の多糖である。アルギネートは、(1-4) 結合した β -D-マンヌロン酸 (M) 及び／又はそのC-5エピマー α -L-グルロン酸 (G) の直鎖ポリマーである。アルギネートの一次構造は、大きく変動し得る。M残基及びG残基は、連続した (contiguous) M残基又はG残基のホモポリマーブロック、交互のM残基及びG残基のブロックとして構成されることがあり、単一のM残基又はG残基がこれらのブロック構造の間に入るものとして見出される場合もある。アルギネート分子は、これらの構造の幾つか又は全てを含むことがあり、かかる構造は、ポリマー全体に均一に分布しないこともある。極端には、グルロン酸のホモポリマー (ポリグルロネート)、又はマンヌロン酸のホモポリマー (ポリマンヌロネート) が存在する。

【0023】

アルギネートは、海生褐藻類 (例えば、デュルビレア (Durvillea)、レソニア (Lissonia) 及びラミナリア (Laminaria) の或る特定の種)、並びに細菌 (例えば、緑膿菌 (Pseudomonas aeruginosa) 及びアゾトバクター・ビネランジー (Azotobacter vinelandii)) から単離されている。他のシュードモナス菌 (例えばシュードモナス・フルオレセンス (Pseudomonas fluorescens)、シュードモナス・プチダ (Pseudomonas putida) 及びシュードモナス・メンドシナ (Pseudomonas mendocina)) は、アルギネートを産生する遺

10

20

30

40

50

伝的素質を保持しているが、野生では検出可能なレベルのアルギネートを産生しない。突然変異により、これらの非産生型シュドモナス菌を、大量のアルギネートを安定的に産生するように誘導することができる。

【0024】

アルギネートは、ポリマンヌロネートとして合成され、エピメラーゼ（具体的にはC-5エピメラーゼ）の作用により、ポリマー中のM残基に対してG残基が形成される。藻類から抽出されたアルギネートの場合には、G残基は主にGブロックとして構成されるが、これは、藻類におけるアルギネート生合成に関与する酵素が、別のGに隣接してGを選択的に導入することによりM残基のストレッチをGブロックに変換するためである。これらの生合成系の解明により、特定の一次構造を有するアルギネートの産生が可能となっている（特許文献4、非特許文献1、及び特許文献5）。

10

【0025】

アルギネートは通常、高分子量（例えば平均分子量が300000ダルトン～500000ダルトンの範囲）の大きなポリマーとして、天然の供給源から単離される。しかし、かかる大きなアルギネートポリマーは、例えば化学的又は酵素的な加水分解により分解又は破壊され、より低い分子量のアルギネート構造を産生し得ることが既知である。工業的に使用されるアルギネートは通常、100000ダルトン～300000ダルトンの範囲の平均分子量を有する（かかるアルギネートは依然として、大きなポリマーであると考えられる）が、医薬品には賦形剤として平均分子量が約35000ダルトンのアルギネートが使用されている。

20

【0026】

より最近には、臨床使用に、最も注目すべきは嚢胞性線維症及び他の呼吸器疾患（特許文献1及び特許文献3を参照）に罹患したときに生じるような、超高粘度の痰の粘度を最も顕著に減少させるのに、又はバイオフィルム（特許文献6）及び多剤耐性細菌（特許文献7）に対処するのに、サイズ（分子質量）の小さいアルギネートオリゴマーが提案されている。

【0027】

非特許文献2により、CFのCFTR突然変異体マウスモデルでは回腸の粘液層が下層上皮に付着しているが、野生型マウスでは完全に脱離していることが近年示されている。このことは概して、CF患者における全ての粘膜表面、すなわちCF患者の内部又は外部の両方の任意の粘液を分泌する、粘液を保有する又は任意の程度まで粘液でコーティングされる表面に当てはまると考えられる。このため、後天性又は遺伝性にかかわらず、粘膜表面の上皮細胞層での任意のCFTR機能不全は、CFのCFTR突然変異体マウスモデルで観察されるものと同様の表現型をその粘膜表面でもたらし得ることになる。

30

【0028】

非特許文献2により、突然変異体マウスに由来する回腸外植片の頂端側を野生型CFTRで達成されると予測されるレベルの重炭酸ナトリウムに浸す媒体を補充することによって「付着」表現型を逆転し、野生型の「脱離」表現型を代わりに観察することができることも示されている。理論に束縛されることを望むものではないが、CFTRイオンチャネルにより供給される重炭酸塩が分泌時のムチンの適切なアンフォールディングにおいて重要な役割を果たす可能性があり、この適切なアンフォールディングが正常な粘液脱離に必要とされることが考えられる。CF及びCFTR機能不全を伴う他の障害において、機能不良CFTRは適切なアンフォールディングを確実にするために十分な重炭酸塩を供給することができず、脱離が阻止されることが提示される。

40

【0029】

本実施例に示されるように、少なくとも30%のモノマー残基がG残基であるアルギネートオリゴマーが、機能的CFTRイオンチャネルの又は機能的CFTRイオンチャネル内の欠如又は欠損の影響を受ける粘膜表面、言い換えるとCFTR機能不全を示す粘膜表面（例えばCF患者における粘膜表面）の少なくとも一部の上皮の頂端側、すなわちルーメン／粘液界面で1%～6%（w/v）の局所濃度を達成するのに十分な量で投与した場

50

合に、上記粘膜表面の上皮からの上記粘液の少なくとも部分的な脱離を引き起こす又は誘導することにより、その表面の異常粘液（例えばCF患者の異常粘液）をより正常な表現型（すなわち、CFTR機能不全を示さない粘膜表面の表現型、例えば非CF表現型）へと戻すことも可能であることが今回予期せず見出された。これは、少なくとも部分的に分泌時のムチンのアンフォールディングに対する効果によるものであり得る。本発明者らは、より正常な表現型（脱離）へのこの移行を引き起こす又はもたらす、かかるアルギネートオリゴマーの使用が、かかる合併症がかかるCF患者及び他の患者の粘膜表面でのCFTR機能不全によって生じる異常な／付着した粘液に直接的又は間接的に起因することから、様々なCFの粘液関連合併症及び欠陥CFTRイオンチャネル機能に起因又は関連する他の病態（すなわち上記に示す病態）に直接対処するものであることを提示する。

10

【0030】

具体的には、肺がCFTR機能不全を呈する患者の場合、例えばCF患者の肺において、脱離した粘液層が、肺がCFTR機能不全を示さない健常患者（例えば非CF患者）において観察されるものと実質的に類似した形で患者の粘膜毛様体クリアランス系に対して応答することが提示される。この脱離によりかかる患者の肺における滞留粘液が軽減し、これがCF又は患者が患う他の呼吸器障害の特に効果的な治療であることが更に提示される。本実施例においても示されるように、かかる治療は粘液層の厚さにも上皮細胞にも影響を及ぼさないようである。このことは、罹患組織の様々な導管のルーメンの閉塞が既に臨床的問題となっているCFTR機能不全、例えばCFによって引き起こされる異常粘液を伴う疾患、障害又は病態の治療との関連で有利であると提示される。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0031】

【特許文献1】国際公開第2007/039754号

【特許文献2】国際公開第2007/039760号

【特許文献3】国際公開第2008/125828号

【特許文献4】国際公開第94/09124号

【特許文献5】国際公開第2004/011628号

【特許文献6】国際公開第2009/068841号

【特許文献7】国際公開第2010/13957号

30

【非特許文献】

【0032】

【非特許文献1】Gimmetstad, M et al, Journal of Bacteriology, 2003, Vol 185(12) 3515-3523

【非特許文献2】Gustafsson, J. K., et al, J. Exp. Med, 2012, Vol 209(7), 1263-1272

【発明の概要】

【0033】

このため、第1の態様では本発明は、欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連するヒト患者における病態を治療する方法であって、モノマー残基の少なくとも30%がG残基であるアルギネートオリゴマーを、患者において欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は上記異常粘液を有する粘膜表面の少なくとも一部で1%～6%（w/v）のアルギネートオリゴマーの局所濃度を達成するのに十分な量で患者に投与し、それにより上記粘膜表面からの粘液の少なくとも部分的な脱離をもたらし、方法を提供する。

40

【0034】

本発明は、欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連するヒト患者における病態の治療への使用のためのアルギネートオリゴマーであって、アルギネートオリゴマーのモノマー残基の少なくとも30%がG残基であり、上記アルギネートオリゴマーが患者において欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は上記異常

50

粘液を有する粘膜表面の少なくとも一部で1%～6% (w/v) のアルギネートオリゴマーの局所濃度を達成するのに十分な量で患者に投与され、それにより上記粘膜表面からの粘液の少なくとも部分的な脱離がもたらされる、アルギネートオリゴマーを更に提供する。

【0035】

代替的に述べると、本発明は、欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連するヒト患者における病態の治療に使用される薬剤の製造におけるアルギネートオリゴマーの使用であって、アルギネートオリゴマーのモノマー残基の少なくとも30%がG残基であり、上記薬剤が患者において欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は上記異常粘液を有する粘膜表面の少なくとも一部で1%～6% (w/v) のアルギネートオリゴマーの局所濃度を達成するのに十分な量で患者に投与され、それにより上記粘膜表面からの粘液の少なくとも部分的な脱離がもたらされる、使用を更に提供する。

10

【0036】

代替的に述べると、これらの本発明の様々な態様において、アルギネートオリゴマーは欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連する病態を有するヒト患者の治療に使用することができる。この点において、かかる異常粘液はCFに特徴的な粘液（粘膜表面から脱離していない粘液）であるが、一般的な根本欠陥（CFTR機能の喪失又は欠損）を考えると、上記で論考されるような他の病態にも見られ得ることを理解されたい。特に、下記でより詳細に説明されるように、本発明はかかる病態の任意の合併症の治療を含む。したがって、本明細書における上記病態の治療への言及は、1つ又は複数の合併症又は病態に関連する臨床症状の治療を含む。

20

【0037】

本明細書で使用される場合、「病態」という用語は、遺伝的欠陥若しくは突然変異により生じたものか、又は例えば上記で論考されるような、例えば環境的及び／又は臨床的曝露による後天性の病態を含む任意の他の形で生じたものかにかかわらず任意の疾患、障害又は病態を含む。

【0038】

「欠陥CFTRイオンチャネル」は、CFTR機能における任意の欠陥又は欠損、すなわちCFTR機能不全を含むことが上記から理解される。このため、「欠陥CFTRイオンチャネル」は事実上、「欠陥CFTRイオンチャネル機能」を意味し、代替的にそのように表される場合がある。この病態はしたがって、CFTR機能不全を特徴とする病態とみなすことができる。下記でより詳細に論考されるように、これは非機能的であるか、又は機能の低減を有する、すなわち部分的又は完全にCFTRイオンチャネル活性を欠いている（言い換えると、CFTRイオンチャネル活性が低減した又は抑止された）という意味で欠陥のあるCFTRイオンチャネルを含み得る。このため、機能的CFTRイオンチャネルの欠如（病態の根底にある可能性がある）は、完全に機能的な（すなわち、完全又は正常なCFTR活性を示す）CFTRチャネルの欠如を含み得る。例えばチャネルの発現若しくは細胞表面への輸送の低減若しくは非存在の結果として、又は内在化若しくは代謝回転、若しくは細胞表面からのCFTRイオンチャネルの喪失／枯渇をもたらす他のプロセスの増大による、機能的CFTRイオンチャネルの喪失又は枯渇も含まれる。本質的に、欠陥CFTRイオンチャネルに関連又は起因する病態は、CFTRイオンチャネル数の低減若しくは存在するCFTRイオンチャネル活性の低減、又はその両方によるものかにかかわらず、CFTRの機能又は活性が低減する任意の病態を含む。特に、欠陥CFTRイオンチャネルは異常粘液、より具体的には粘膜表面から脱離していない粘液をもたらす。

30

40

【0039】

或る特定の実施の形態では、病態はCF、非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性、気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難、及び／又は慢性炎症性呼吸器障害、例えばCOPD（並びにその亜型である慢性気管支

50

炎及び肺気腫）、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎であり得る。より一般には、病態は呼吸器障害、例えば閉塞性呼吸器障害であり得る。より特には、より具体的な実施の形態では、病態は慢性炎症状態、気道リモデリング及び気道感染による増悪を特徴とし得る。

【0040】

他の実施の形態では、病態は上記に挙げた病態の粘液関連合併症であり得る。更なる具体的な実施の形態では、本発明はタバコ喫煙者、並びに微粒子刺激物、例えば煙粒子（タバコ、木材等）、汚染物質、粉塵（アスベスト、綿、炭、石、動物の糞等）及び孢子の慢性吸入に曝露された他の対象における粘液鬱滞及び呼吸困難の治療を提供する。

【0041】

このため、第1の態様の具体的な一実施の形態では、本発明はヒト患者における嚢胞性線維症を治療する方法であって、モノマー残基の少なくとも30%がG残基であるアルギネートオリゴマーを、患者における粘膜表面の少なくとも一部で1%～6%（w/v）のアルギネートオリゴマーの局所濃度を達成するのに十分な量で患者に投与し、それにより上記粘膜表面からの粘液の少なくとも部分的な脱離をもたらすことを含む、方法を提供する。

【0042】

本発明は、ヒト患者における嚢胞性線維症の治療への使用のためのアルギネートオリゴマーであって、アルギネートオリゴマーのモノマー残基の少なくとも30%がG残基であり、該アルギネートオリゴマーが患者における粘膜表面の少なくとも一部で1%～6%（w/v）のアルギネートオリゴマーの局所濃度を達成するのに十分な量で患者に投与され、それにより上記粘膜表面からの粘液の少なくとも部分的な脱離がもたらされる、アルギネートオリゴマーを更に提供する。

【0043】

代替的に述べると、本発明は、ヒト患者における嚢胞性線維症の治療に使用される薬剤の製造におけるアルギネートオリゴマーの使用であって、アルギネートオリゴマーのモノマー残基の少なくとも30%がG残基であり、上記薬剤が患者における粘膜表面の少なくとも一部で1%～6%（w/v）のアルギネートオリゴマーの局所濃度を達成するのに十分な量で患者に投与され、それにより上記粘膜表面からの粘液の少なくとも部分的な脱離がもたらされる、使用を更に提供する。

【0044】

代替的に述べると、これらの本発明の様々な態様において、アルギネートオリゴマーはCFの患者の治療に使用することができる。特に、下記でより詳細に説明されるように、本発明はCFに見られ、CFを特徴付け、及び／又は欠陥CFTRイオンチャネル（特に異常粘液、より具体的には粘膜表面から脱離していない粘液をもたらす欠陥CFTRイオンチャネル）を有する異常粘液に関連又は起因する任意の病態又は障害と本明細書で規定されるCFの任意の合併症の治療を含む。したがって、本明細書におけるCFの治療への言及は、1つ又は複数のCFの合併症の治療を含む。

【0045】

他の態様では、本発明は、ヒト患者においてCFTR機能不全及び／又は下層上皮に付着した異常粘液、及び／又はその合併症の治療について上記したものの特徴を有する方法及び医学的使用を提供するとみなすことができる。

【0046】

粘膜表面は粘液を分泌する、有する、保有する又は粘液で任意の程度までコーティングされる人体の内部又は外部の両方の任意の表面と本明細書で規定される。より具体的には、粘膜表面は粘液を分泌する、有する、保有する又は粘液で任意の程度までコーティングされる、典型的には上皮細胞層（上皮）として配置される上皮細胞を含む組織内層である。「粘膜（"mucous membrane" and "mucosa"）」という用語が粘膜表面に言及するために代替的に用いられ得ることが認められている。本発明によると、本発明の治療の標的とされる粘膜表面は機能的CFTRの欠如の影響を受けるため（すなわち欠陥CFTRイオン

10

20

30

40

50

チャンネルを有する、又は言い換えると C F T R 機能不全を示す粘膜表面)、C F に特徴的な異常粘液(下層上皮に付着した粘液)を分泌する、有する、保有する又は異常粘液で任意の程度までコーティングされる。

【0047】

粘膜表面での欠陥 C F T R イオンチャンネル機能(C F T R 機能不全)は、正常又は健常粘膜表面と比較した C F T R イオンチャンネル能力、より具体的には C F T R 媒介イオン輸送の低減、特に任意のかかる輸送を正常又は健常粘液、特に非付着粘液を維持するのに不十分なものとする低減の観点から表すことができる。「C F T R 媒介イオン輸送」という用語には、C F T R 自体を介したイオンの輸送、更には二次機構、例えば C F T R を介して輸送されるイオンにより維持されるイオン濃度勾配によって推進される粘膜表面の他のイオンチャンネルタンパク質を介したイオンの輸送が含まれる。かかるイオンとしては、塩化物イオン、ナトリウムイオン及び重炭酸イオンが挙げられる。

10

【0048】

粘膜表面での欠陥 C F T R イオンチャンネル機能(C F T R 機能不全)は、この場合細胞表面での C F T R の集団のイオンを輸送する能力を減少させる任意の機構又は機構の組合せによって引き起こされ得る。これには、例えばタンパク質自体の欠陥による、タンパク質において一時的又は永続的な構造変化をもたらす作用物質及び／又はイオン輸送ポア／チャンネルを遮断する作用物質による細胞表面での C F T R のイオン輸送活性の阻害が含まれ得る。機構的には、阻害効果はポア／チャンネルが或る程度まで遮断される(コンダクタンスが減少する)場合及び／又はゲーティング期間若しくは確率が減少する場合に見ることができる。イオンを輸送する細胞表面での C F T R の集団の能力は、細胞表面での C F T R が過度に少ない場合にも減少し得る。これは C F T R 遺伝子からの発現が不十分な場合に起こる可能性がある。これは、その集団の一部の C F T R が正確に細胞表面に到達又は挿入されるのを防ぐ欠陥が C F T R 遺伝子、転写産物又は翻訳産物に存在する場合にも起こる可能性がある。これは、C F T R 代謝回転に関与する機構が補充ではなく除去(内在化)を支持して平衡を欠く場合にも起こる可能性がある。この後者の機構は C F T R タンパク質における欠陥の結果であるか、又は環境要因に起因し得る。粘膜表面での欠陥 C F T R イオンチャンネル機能を有する対象が正常よりも少ない数の粘膜表面の C F T R を有し、C F T R の集団内の C F T R が正常よりも低いイオン輸送活性を有する場合もあり得る。

20

30

【0049】

このため本発明によって、粘膜表面での機能的 C F T R (例えば完全に機能的な C F T R)の欠如が何らかの手段により、粘膜表面での欠陥 C F T R イオンチャンネル機能(C F T R 機能不全)、ひいては正常又は健常粘液、特に非付着粘液を維持するのに不十分な C F T R イオンチャンネルの能力をもたらし得ることが認められる。その結果として、機能的 C F T R の欠如の影響を受ける粘膜表面(すなわち、C F T R 機能不全を示す粘膜表面)を有する患者は、欠陥 C F T R イオンチャンネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液(すなわち、C F に特徴的な粘液)に起因又は関連する病態を患う可能性がある。

【0050】

特に、機能的 C F T R の欠如の影響を受ける粘膜表面(すなわち、C F T R 機能不全を示す粘膜表面)の上皮細胞からの粘液の脱離を達成するために、或る特定の局所濃度の或る特定のアルギネートオリゴマー、すなわち少なくとも 30% のモノマー残基が G 残基である 1%~6% (w/v) のアルギネートオリゴマーが粘膜表面で必要とされると判断した。このことはアルギネートオリゴマーが、粘膜表面での又は粘膜表面に到達するオリゴマーがこの濃度となる、より具体的には粘液層又は粘液コーティングでの濃度がこの範囲となるように投与又は送達されることを意味する。このため例えば、粘膜表面の少なくとも一部のルーメン又は粘膜表面の少なくとも一部の粘液界面での局所濃度がこのレベルとなる。特に、この濃度は上皮の頂端側又は粘膜表面で達成される。

40

【0051】

嚢胞性線維症は異常な物理的特性、典型的には粘度の増大、及び粘液の場合には粘膜表

50

面の上皮への付着を有する肺、膵臓及び肝臓からの粘液及び／又は外分泌液を特徴とするヒト疾患である。これらの根本要因は数ある病態の中でも、呼吸困難、気道感染（慢性及び急性；例えば気管支又は肺の）、気道炎症（例えば気管支炎症（感染による場合に気管支炎と称される）又は肺炎／肺臓炎（感染による場合に肺炎と称される））、肺高血圧、心不全、呼吸不全、肺リモデリング、副鼻腔感染、副鼻腔炎（急性、亜急性及び慢性）、顔面痛、頭痛、異常鼻漏、粘稠便、便秘、腸閉塞、栄養吸収不良、膵炎症、膵炎、糖尿病、胆石、肝硬変及び不妊に現れる。特に肺における抗生物質に対する応答の減少も見られる。異常粘液及び外分泌液は、上皮膜を介して塩化物イオン及び重炭酸イオンを輸送し、それによりナトリウム等の他のイオンの平衡を調節するこのタンパク質の能力に影響を及ぼす嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子（CFTR）における突然変異に起因する。CFTRの多くのかかる突然変異が同定されており、一部は他よりも顕著なCF表現型を生じる。したがって、患者が上述の病態、異常粘液（例えば、少なくとも1つの粘膜表面での上皮に付着した粘液）、超高粘度の痰又は他の分泌液及び／又は外分泌液、及びそのCFTR遺伝子の各々における突然変異の1つ又は複数、好ましくは2つ、3つ、4つ、5つ、6つ若しくはそれ以上、又は全てを有する場合に患者はCFを患うとみなされる。

10

【0052】

CFは「汗試験」によって好都合に診断することができる。これは当業者によく知られた日常試験である。簡潔に述べると、ピロカルピンを皮膚上に置き、取込みを電流により誘導する。治療部位でピロカルピンに応答して放出される汗を採取した後（例えば濾紙片に吸収させる）、その塩含量を分析する。CFの個体は正常よりも1.5倍～2倍高い塩濃度を有する。より具体的には、生後6ヶ月を含むそれ以下の乳児については、 29 mmol/L 以下の塩化物レベルはCFの可能性が極めて低いことを意味し、 30 mmol/L ～ 59 mmol/L のレベルはCFの可能性があることを意味し、 60 mmol/L 以上のレベルはCFの可能性が高いことを意味する。生後6ヶ月よりも高年齢の人々については、 39 mmol/L 以下の塩化物レベルはCFの可能性が極めて低いことを意味し、 40 mmol/L ～ 59 mmol/L のレベルはCFの可能性があることを意味し、 60 mmol/L 以上のレベルはCFの可能性が高いことを意味する。

20

【0053】

本発明によると、本発明の治療が適用される乳児患者（生後6ヶ月以下）は 25 mmol/L 超、好ましくは 29 mmol/L 、 35 mmol/L 、 40 mmol/L 、 45 mmol/L 、 50 mmol/L 、 55 mmol/L 又は 60 mmol/L 超の汗中塩化物レベルを有し、他の全ての患者は 35 mmol/L 超、好ましくは 39 mmol/L 、 45 mmol/L 、 50 mmol/L 、 55 mmol/L 又は 60 mmol/L 超の汗中塩化物レベルを有する。

30

【0054】

上記で論考されるように、CFTR機能不全はCF以外の病態における根本要因として認められている。かかる機能不全は1つの突然変異CFTR対立遺伝子の遺伝による遺伝性であるか、又は例えば微粒子（特にタバコ及び木材の煙）の慢性吸入及び（例えばCOPD、及びその亜型であるCB及び肺気腫、気管支拡張症、並びに慢性副鼻腔炎における）気道の慢性炎症による後天性であり得る。

40

【0055】

非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性は、対象が細胞内プロセッシング及び／又はそれにより発現されるタンパク質の細胞表面イオンチャネル活性をもたらし突然変異を保有しない1つのCFTR対立遺伝子、並びに細胞内プロセッシング及び／又はそれにより発現されるタンパク質の細胞表面イオンチャネル活性にとって有害な突然変異を有する1つの対立遺伝子を有する臨床病態である。かかる対象は、様々なCFの合併症の幾つかが常に明らかに見られる限りにおいて上記に規定される顕性CFを呈しないが、ヘテロ接合性対象は少なくとも時折CFを特徴付ける軽微な形態の異常粘液を有し、CFの明確な診断を促すほど十分に重症ではないが軽微な形態のCFの合併症の1つ又は複数を示し得る。

50

具体的には、C F T Rヘテロ接合性の対象は再発性の「特発性」肺炎、先天性両側輸精管欠損、慢性副鼻腔炎及び特発性気管支拡張症を有することが観察されるが、かかる患者は本明細書に記載のC F合併症のいずれかを示し得る。

【0056】

非複合C F T R遺伝子突然変異ヘテロ接合性の疑いのある患者は汗中塩化物レベルが「可能性が極めて低い」及び「可能性が高い」範囲の間に位置するため、C F汗試験を用いてかかる患者を同定することができる。乳児患者（生後6ヶ月以下）については、これは25mmol/L超、好ましくは29mmol/L、35mmol/L、40mmol/L、45mmol/L、50mmol/L、55mmol/L超であるが、60mmol/L未満の汗中塩化物レベルとすることができ、他の全ての患者は35mmol/L超、好ましくは39mmol/L、45mmol/L、50mmol/L、55mmol/L超であるが、60mmol/L未満の汗中塩化物レベルを有する。その後、疑いのある患者の遺伝子検査により診断を確認することができる。

10

【0057】

慢性閉塞性肺疾患（C O L D）及び慢性閉塞性気道疾患（C O A D）とも称されるC O P Dは拡張、慢性的に不良な気流及び痰生成の増加のない気道の慢性炎症を特徴とする慢性閉塞性肺疾患の総称である。慢性気管支炎（気管支の粘膜の炎症）及び肺気腫（肺組織、具体的には肺胞の崩壊）の病態がC O P Dの亜型であることが一般に認められている。C O P Dは通常、気管支拡張剤の投与によって改善されない慢性的に低い肺機能及び慢性湿咳として診断される。例えばM R I及び高分解能コンピュータ断層撮影（H R C T）を用いた胸部イメージングによってもC O P Dに特徴的な生理学を明らかにし、他の呼吸器病態を除外することができる。

20

【0058】

現在、C O P Dは可逆的ではなく、患者は時間とともに悪化し、最終的に呼吸不全で死亡する。C O P Dにおいて観察される痰生成の増加及びC F粘液と同様のその特徴は、上記で論考されるようなC Fにおいて観察される呼吸器合併症、特に気道の感染に関連する合併症がC O P D患者によく見られることを意味する。

【0059】

気管支拡張症は、炎症性応答の結果としての慢性拡張及び後続の気管支の崩壊、気管支拡張剤の投与によって改善され得る慢性的に低い肺機能、並びに慢性湿咳を特徴とする疾患である。診断は通常、肺機能試験、並びに例えば疾患に特徴的な拡張した気管支を明らかにするM R I及び高分解能コンピュータ断層撮影（H R C T）を用いた胸部イメージングに基づく。

30

【0060】

現在、気管支拡張症は可逆的ではなく、患者は時間とともに悪化し、最終的に呼吸不全で死亡する。気管支拡張症において観察される痰生成の増加及びC F粘液と同様のその特徴は、上記で論考されるようなC Fにおいて観察される呼吸器合併症、特に気道の感染に関連する合併症が気管支拡張症患者によく見られることを意味する。

【0061】

慢性副鼻腔炎は3ヶ月を超える長期の副鼻腔の炎症である。この炎症の原因は感染、アレルギー（通常は粉塵、汚染物質、花粉、孢子及び微生物を含む微粒子に対する）又は自己免疫応答であり得る。炎症は粘液生成の増大及び副鼻腔排液の障害及び二次細菌感染につながり、これが炎症性応答に更に寄与する。慢性副鼻腔炎の患者の副鼻腔粘液がC F粘液と同様の特徴を有することは、上記で論考されるようなC Fにおいて観察される呼吸器、特に副鼻腔の合併症が慢性副鼻腔炎の患者によく見られることを意味する。慢性副鼻腔炎の診断は通常、鼻内視鏡検査によって確認される。

40

【0062】

喘息は気道、主に細気管支の周囲の平滑筋の拘縮によって生じる一過性の気管支収縮のために気流閉塞の急性エピソードとして現れる慢性気道疾患である。かかる増悪は外部刺激への曝露によって誘発されることが多い。気管支炎症はまた、組織腫脹及び浮腫につな

50

がることで更なる閉塞を引き起こす。瘢痕及び炎症並びに発達過剰の粘液腺による気道の増粘及びリモデリングの慢性症状が、気管支収縮及び気道閉塞の顕性エピソードの根底にある。

【0063】

現在、喘息の治癒は存在せず、治療は急性症状の制御に限られている。痰生成の増加を含む長期喘息に関連する気道の慢性炎症性プロセス及び組織リモデリングは、上記で論考されるようなCFにおいて観察される呼吸器合併症、特に気道の感染に関連する合併症が喘息患者に見られることを意味する。

【0064】

微粒子刺激物、例えば煙粒子（タバコ、木材等）、汚染物質、粉塵（アスベスト、綿、炭、石、動物の糞等）及び孢子の吸入が、CFTRイオン輸送活性の阻害及び／又は上皮細胞表面からのCFTRの内在化の促進により欠陥CFTRイオンチャネル機能（CFTR機能不全）をもたらし得ることも認識されている。この長期にわたる曝露は、慢性炎症性呼吸器障害の顕性症状を示さない対象においてCFに特徴的な粘液の形成、ひいては異常粘液クリアランス及び／又は呼吸困難につながる可能性がある。かかる対象に見られる異常粘液クリアランス（又は粘液鬱滞）は、上記で論考されるようなCFにおいて観察される呼吸器合併症、特に気道の感染及び炎症に関連する合併症がかかる対象、例えば喫煙者によく見られることを意味する。

【0065】

したがって或る特定の実施の形態では、本発明の方法は患者が患者の1つ又は複数の粘膜表面に欠陥CFTRイオンチャネルを有することを判断する、及び／又は患者に由来する粘液サンプルを粘度の上昇について評価する、及び／又は1つ又は複数の粘膜表面の上皮への粘液の付着を評価する先行工程を更に含む。他の実施の形態では、本発明の方法は、患者が欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連する病態を有することを判断する先行工程を更に含む。より具体的な実施の形態では、本発明の方法は、患者が嚢胞性線維症、非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性、COPD、CB、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎を有することを判断する先行工程を更に含む。

【0066】

CF及び非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性の場合、先行工程は例えばCFの臨床指標（特に粘液の粘度及び／又は粘膜表面の上皮への粘液の付着）の観察及び評価、並びに病歴の蓄積と組み合わせた汗試験の実施、及び／又は遺伝子検査（すなわち、突然変異体CFTR遺伝子の存在の検査、例えば患者のCFTR対立遺伝子のヌクレオチド配列のスクリーニング）によるものであり得る。COPD、CB、肺気腫、喘息及び気管支拡張症の場合、これは例えば、気管支拡張剤の有無による肺機能の測定、胸部イメージング及び病歴の蓄積によるものであり得る。慢性副鼻腔炎の場合、先行工程は鼻内視鏡検査及び病歴の蓄積によるものであり得る。

【0067】

これらの上述の工程の一部を行うことで診断を除外することが可能である。例えば、本発明の方法はCOPDを治療する方法であり得るが、これは必ずしも患者をCF又はCFTR突然変異の指標について評価する工程を除外するものではない。このため本発明の方法は、患者が嚢胞性線維症、非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性、COPD、CB、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎を有しないことを判断する先行工程を更に含む得る。

【0068】

他の実施の形態では、本発明の方法は、欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は粘液の異常付着に起因又は関連する患者の病態の臨床指標を評価し、好ましくはその任意の変化を決定するために上記治療の前に又はその初期に行われた対応する評価と比較する後続工程を更に含む。より具体的な実施の形態では、本発明の方法はCF、非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性、COPD、CB、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性

10

20

30

40

50

副鼻腔炎の患者の臨床指標（上記のCF、非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性、COPD、CB、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎に関連する様々な病態又は合併症に関するものを含む）を必要に応じて評価し、好ましくはその任意の変化を決定するために上記治療の前に又はその初期に行われた対応する評価と比較する後続工程を更に含む。欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は粘液の異常付着に起因又は関連する病態を有する患者、例えばCF患者、及び非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性、COPD、CB、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎の患者の臨床状態に関するパラメータは当該技術分野で既知であり、例えば肺パフォーマンス、肺生理学及び測定可能な炎症の前兆との関連で既知の手順に従ってモニタリングすることができる。しかしながら、患者における又は患者の粘液及び／又は分泌に対する本発明に使用されるアルギネートオリゴマーの効果に関するパラメータ、例えば粘膜表面の上皮への粘液の付着及び／又は粘液特性（例えば粘度、特に痰粘度）の変化も評価することができる。

10

【0069】

粘膜表面の上皮への粘液の付着に対する必須の局所濃度で使用される場合の少なくとも30%のモノマー残基がG残基であるアルギネートオリゴマーの効果を考えると、本発明の方法及び医学的使用は、CF患者におけるCFに関連する更なる病態の発現若しくは発症を予防する、低減する若しくは遅延させること、又はCF患者がCFに関連する更なる病態を発現若しくは罹患するリスクを低減することを含む、CF患者におけるCFに関連する病態、すなわちその合併症を治療するための方法又は医学的使用とみなすこともできる。これは上記で言及又は論考される病態のいずれにも適用され、したがって上記のCF状況に類似し、本発明は更なる病態の発現若しくは発症、又はリスクを予防する、低減する又は遅延させることを含む、非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性、気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難、及び／又は慢性炎症性呼吸器障害、例えばCOPD、CB、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎に関連する任意の病態又は合併症の治療にまで及ぶ。特に、上記で説明されるように、CF又は上述の他の病態のいずれかに関連する病態は、かかる患者におけるCFに特徴的な異常粘液及び／又は欠陥CFTRイオンチャネルの機能障害（すなわちCFTR機能不全）の結果として又は起因して生じる病態である。

20

【0070】

かかる病態（合併症）は上記のもの又は以下の節で列举されるもののいずれかであり得る。便宜上、以下でかかる病態はCFTR機能不全に関連する病態への言及によって表現されるが、かかる用語は文脈上許容される場合に、上記に挙げた病態、例えば上記に挙げたCF、非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性等のいずれかに関連する病態（又は合併症）として解釈することができる。このため、かかる病態（合併症）はCFTR機能不全に関連する気道病態（例えば気道感染、気道炎症、呼吸困難、呼吸不全及び肺リモデリング）、CFTR機能不全に関連する心血管病態（例えば肺高血圧及び心不全）、CFTR機能不全に関連する副鼻腔病態（例えば副鼻腔感染、副鼻腔炎、顔面痛、頭痛、異常鼻漏、鼻ポリープ）、CFTR機能不全に関連するGI病態（例えば便秘、腸閉塞（例えば新生児対象における胎便性イレウス、並びにより高齢の患者における腸重積症及びD

30

40

50

【0071】

好ましい実施の形態では、本発明のアルギネートオリゴマーは、その気道の粘膜表面が機能的CFTRイオンチャネルの欠如の影響を受ける患者（例えばCF、又は上記に挙げた病態のいずれかの患者）の下気道、例えば気管支又は肺における慢性及び急性感染及び／又は炎症、特に慢性感染及び／又は炎症の治療に使用される。代替的に述べると、本発明のアルギネートオリゴマーはかかるCF又は他の患者における気管支炎又は肺炎の治療に使用される。かかる感染／炎症（例えば気管支炎又は肺炎）は一般に黄色ブドウ球菌、インフルエンザ菌、緑膿菌、マイコバクテリウム・アビウム・コンプレックス、ヒト型結核菌（*Mycobacterium tuberculosis*）（肺結核の原因物質）及びアスペルギルス・フミガーツスによって引き起こされ得るが、感染／炎症は任意の感染因子、例えば細菌、真菌、ウイルス及び寄生生物によって引き起こされる場合もある。既に述べたものに加えて、気道に見られる一般的な感染因子としては、肺炎クラミジア（*Chlamydia pneumoniae*）、百日咳菌（*Bordetella pertussis*）、マイコプラズマ・ニューモニア（*Mycoplasma pneumoniae*）、カタラリス菌（*Moraxella catarrhalis*）、レジオネラ・ニューモフィラ（*Legionella pneumophila*）、肺炎連鎖球菌（*Streptococcus pneumoniae*）、オウム病クラミジア（*Chlamydia psittaci*）、コクシエラ菌（*Coxiella burnetii*）、ライノウイルス、コロナウイルス、インフルエンザウイルス、呼吸器合胞体ウイルス（RSV）、アデノウイルス、メタ肺炎ウイルス、パラインフルエンザウイルス、ヒストプラスマ・カプスラーツム（*Histoplasma capsulatum*）、クリプトコッカス・ネオフォルマンズ（*Cryptococcus neoformans*）、ニューモシスチス・ジロヴェチ（*Pneumocystis jirovecii*）、コクシジオイデス・イミティス（*Coccidioides immitis*）、トキソプラズマ（*Toxoplasma gondii*）、糞線虫（*Strongyloides stercoralis*）、回虫（*Ascaris lumbricoides*）及び四日熱マラリア原虫（*Plasmodium malariae*）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0072】

更なる好ましい実施の形態では、本発明のアルギネートオリゴマーは、その気道の粘膜表面が機能的CFTRイオンチャネルの欠如の影響を受ける患者（例えばCF、又は上記に挙げた他の病態のいずれかの患者）の上気道、例えば鼻、鼻道、咽頭、喉頭及び気管における慢性及び急性感染及び／又は炎症の治療に使用することができる。かかる患者の気管における感染及び／又は炎症の治療が特に好ましい。代替的に述べると、本発明のアルギネートオリゴマーは、かかる患者（例えばCF、COPD又は上記で挙げた他の病態のいずれかの患者）における鼻炎（鼻粘膜の炎症）、鼻咽頭炎（又は鼻咽炎；鼻粘膜、咽頭、下咽頭、口蓋垂及び扁桃の炎症）、咽頭炎（咽頭、下咽頭、口蓋垂及び扁桃の炎症）、喉頭蓋炎（又は声門上炎；喉頭の上部及び声門上域の炎症）、喉頭炎（喉頭の炎症）、喉頭気管炎（喉頭、気管及び声門下域の炎症）、気管炎（気管及び声門下域の炎症）及び扁桃炎（扁桃の炎症）の治療に使用することができる。これらの病態は上気道感染と総称される場合もあり、上述の感染因子のいずれかによって引き起こされ得る。

【0073】

本発明の方法及び医学的使用は、欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連する病態を有する患者、例えばCF患者、並びに非複合CFTR遺伝子突然変異ヘテロ接合性、気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難、及び／又は慢性炎症性呼吸器障害、例えばCOPD、CB、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎の患者、特に肺感染を有するかかる患者の下記に列挙した抗菌剤、例えば抗生物質、抗真菌剤及び抗ウイルス剤に対する反応性を増大する方法又は医学的使用と更にみなすことができる。抗菌剤に対する反応性は、特定の方法で投与される特定の用量の抗菌剤について患者レベルで観察される感染に対する効果と言及される。これには、患者レベルで観察される感染の任意の前兆又は症状、例えば（全体的な又は特定の位置での）微生物負荷、炎症、熱、微生物毒素レベル及び全身健康状態が含まれる。

【0074】

上述したように、アルギネートは通例、平均分子質量が少なくとも35000ダルトン

、すなわちモノマー残基数が約 175～約 190（ただし通例もっと高い）のポリマーとして生じ、本発明によるアルギネートオリゴマーは、アルギネートポリマー（通常は天然のアルギネート）の分画（すなわちサイズの低減）により得られる物質と規定することができる。アルギネートオリゴマーは、平均分子量が 35000 ダルトン未満（すなわちモノマー残基数が約 190 未満又は約 175 未満）のアルギネート、特に平均分子量が 30000 ダルトン未満（すなわちモノマー残基数が約 175 未満又は約 150 未満）、より具体的には平均分子量が 25000 ダルトン未満又は 20000 ダルトン未満（すなわちモノマー残基数が約 135 未満若しくは 125 未満、又はモノマー残基数が約 110 未満若しくは 100 未満）のアルギネートであると考えることができる。

【0075】

代替的な観点から見ると、オリゴマーは概して 2 個以上の単位又は残基を含み、本発明による使用のためのアルギネートオリゴマーは典型的には 2 個～100 個、より典型的には 3 個、4 個、5 個又は 6 個～100 個のモノマー残基を含有し、2 個、3 個、4 個、5 個若しくは 6 個～75 個、2 個、3 個、4 個、5 個若しくは 6 個～50 個、2 個、3 個、4 個、5 個若しくは 6 個～40 個、2 個、3 個、4 個、5 個若しくは 6 個～35 個、又は 2 個、3 個、4 個、5 個若しくは 6 個～30 個の残基を含有し得る。このため、本発明による使用のためのアルギネートオリゴマーは典型的には平均分子量が 350 ダルトン、550 ダルトン、700 ダルトン、900 ダルトン若しくは 1000 ダルトン～20000 ダルトン、350 ダルトン、550 ダルトン、700 ダルトン、900 ダルトン若しくは 1000 ダルトン～15000 ダルトン、350 ダルトン、550 ダルトン、700 ダルトン、900 ダルトン若しくは 1000 ダルトン～10000 ダルトン、350 ダルトン、550 ダルトン、700 ダルトン、900 ダルトン若しくは 1000 ダルトン～8000 ダルトン、350 ダルトン、550 ダルトン、700 ダルトン、900 ダルトン若しくは 1000 ダルトン～7000 ダルトン、又は 350 ダルトン、550 ダルトン、700 ダルトン、900 ダルトン若しくは 1000 ダルトン～6000 ダルトンである。

【0076】

別の観点からは、アルギネートオリゴマーは、2～100、好ましくは 2～75、好ましくは 2～50、より好ましくは 2～40、2～35、2～30、2～28、2～25、2～22、2～20、2～18、2～17、2～15、又は 2～12 の重合度（DP）又は数平均重合度（DP_n）を有し得る。

【0077】

他の代表的な範囲（残基の数、DP 又は DP_n を問わない）は 3、4、5、6、7、8、9、10 又は 11 のいずれか 1 つ～50、45、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13 又は 12 のいずれか 1 つを含む。

【0078】

他の代表的な範囲（残基の数、DP 又は DP_n を問わない）は 8、9、10、11、12、13、14 又は 15 のいずれか 1 つ～50、45、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17 又は 16 のいずれか 1 つを含む。

【0079】

他の代表的な範囲（残基の数、DP 又は DP_n を問わない）は 11、12、13、14、15、16、17 又は 18 のいずれか 1 つ～50、45、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20 又は 19 のいずれか 1 つを含む。

【0080】

上述したように、アルギネートオリゴマーは、一般用語において、グルロネート若しくはグルロン酸（G）及び／又はマンヌロネート若しくはマンヌロン酸（M）の残基又は単位を含有する（又は含む）。本発明によるアルギネートオリゴマーは、好ましくはウロネ

10

20

30

40

50

ート残基／ウロン酸残基のみ、又は実質的にそれらのみから構成され（すなわちそれらから本質的になり）、より具体的にはG残基及びM残基又はモノマー残基の少なくとも30%がG残基である限りG残基のみ、又は実質的にそれらのみから構成される。別の表現をすると、本発明における使用におけるアルギネートオリゴマーでは、モノマー残基の少なくとも80%、より具体的には少なくとも85%、90%、95%又は99%が、ウロネート残基／ウロン酸残基、又はより具体的にはG残基及びM残基又はモノマー残基の少なくとも30%がG残基である限りG残基であり得る。換言すれば好ましくは、アルギネートオリゴマーは、他の残基又は単位（例えば、他の糖残基、又はより具体的には他のウロン酸残基／ウロネート残基）を含まない。

【0081】

アルギネートオリゴマーは、好ましくは直鎖オリゴマーである。

【0082】

既に述べたように、アルギネートオリゴマーのモノマー残基の少なくとも30%が、G残基（すなわちグルロネート又はグルロン酸）である。換言すれば、アルギネートオリゴマーは、少なくとも30%のグルロネート（又はグルロン酸）残基を含有する。したがって具体的な実施の形態は、30%～70%のG（グルロネート）残基、又は70%～100%のG（グルロネート）残基を有する（例えば、含有する）アルギネートオリゴマーを含む。したがって、本発明による使用のための代表的なアルギネートオリゴマーは、少なくとも70%のG残基を含有し得る（すなわち、アルギネートオリゴマーのモノマー残基の少なくとも70%がG残基である）。

【0083】

好ましくはモノマー残基の少なくとも40%、45%、50%、55%又は60%、より具体的には少なくとも70%又は75%、更により具体的には少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%が、グルロネートである。1つの実施の形態では、アルギネートオリゴマーは、オリゴグルロネート（すなわちGのホモオリゴマー、又は100%のG）であり得る。

【0084】

更に1つの好ましい実施の形態では、上述の本発明のアルギネートは、G残基の大部分がいわゆるGブロック中に存在する一次構造を有する。好ましくはG残基の少なくとも50%、より好ましくは少なくとも70%又は75%、最も好ましくは少なくとも80%、85%、90%、92%又は95%が、Gブロック中に存在する。Gブロックは、少なくとも2個のG残基、好ましくは少なくとも3個の連続したG残基、より好ましくは少なくとも4個又は5個の連続したG残基、最も好ましくは少なくとも7個の連続したG残基の連続した配列である。

【0085】

特に、G残基の少なくとも90%は、別のG残基と（1-4）結合している。より具体的にはアルギネートのG残基の少なくとも95%、より好ましくは少なくとも98%、最も好ましくは少なくとも99%が、別のG残基と（1-4）結合している。

【0086】

本発明における使用のためのアルギネートオリゴマーは、好ましくは3-mer～35-mer、より好ましくは3-mer～28-mer、特に4-mer～25-mer、例えば5-mer～20-mer、特に6-mer～22-mer、特に8-mer～20-mer、特に10-mer～15-merであり、例えば、350ダルトン～6400ダルトン、又は350ダルトン～6000ダルトン、好ましくは550ダルトン～5500ダルトン、好ましくは750ダルトン～5000ダルトン、特に750ダルトン～4500ダルトン又は2000ダルトン～3000ダルトン、又は900ダルトン～3500ダルトンの範囲の分子量を有する。他の代表的なアルギネートオリゴマーとしては、上述したように5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個又は13個～50個、45個、40個、35個、28個、25個、22個又は20個の残基を有するオリゴマーが挙げられる。

【0087】

アルギネートオリゴマーは単一の化合物であり得る、又は例えば或る範囲の重合度を有する化合物の混合物であり得る。上述したように、アルギネートオリゴマーにおけるモノマー残基は、同じであっても、又は異なってもよく、その全てが荷電基を保有する必要はないが、その大部分（例えば少なくとも60%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%）が荷電基を保有することが好ましい。荷電基の実質的な大部分、例えば少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%が同じ極性を有することが好ましい。アルギネートオリゴマーでは、ヒドロキシル基対荷電基の比は、好ましくは少なくとも2:1、より具体的には少なくとも3:1である。

【0088】

本発明のアルギネートオリゴマーは、3~28、4~25、6~22、8~20、又は10~15、又は5~18、又は7~15、又は8~12、特には10の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0089】

本発明のアルギネートオリゴマーは、3~24、4~23、5~22、6~21、7~20、8~19、9~18、10~17、11~16、12~15、又は13~14（例えば13又は14）の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0090】

本発明のアルギネートオリゴマーは、4~25、5~24、6~23、7~22、8~21、9~20、10~19、11~18、12~17、13~16、又は14~15（例えば14又は15）の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0091】

本発明のアルギネートオリゴマーは、5~26、6~25、7~24、8~23、9~22、10~21、11~20、12~19、13~18、14~17、又は15~16（例えば15又は16）の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0092】

本発明のアルギネートオリゴマーは、4~50、4~40、4~35、4~30、4~28、4~26、4~22、4~20、4~18、4~16、又は4~14の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0093】

本発明のアルギネートオリゴマーは、5~50、5~40、5~25、5~22、5~20、5~18、5~23、5~20、5~18、5~16、又は5~14の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0094】

本発明のアルギネートオリゴマーは、6~50、6~40、6~35、6~30、6~28、6~26、6~24、6~20、6~19、6~18、6~16、又は6~14の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0095】

本発明のアルギネートオリゴマーは、8~50、8~40、8~35、8~30、8~28、8~25、8~22、8~20、8~18、8~16、又は8~14の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0096】

本発明のアルギネートオリゴマーは、9~50、9~40、9~35、9~30、9~28、9~25、9~22、9~20、9~18、9~16、又は9~14の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0097】

本発明のアルギネートオリゴマーは、10~50、10~40、10~35、10~30、10~28、10~25、10~22、10~20、10~18、10~16、又は10~14の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0098】

本発明のアルギネートオリゴマーは、11～50、11～40、11～35、11～30、11～28、11～25、11～22、11～20、11～18、11～16、又は11～14の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0099】

本発明のアルギネートオリゴマーは、12～50、12～40、12～35、12～30、12～28、12～25、12～22、12～20、12～18、12～16、又は12～14の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0100】

本発明のアルギネートオリゴマーは、13～50、13～40、13～35、13～30、13～28、13～25、13～22、13～20、13～18、13～16、又は13～14の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

10

【0101】

本発明のアルギネートオリゴマーは、14～50、14～40、14～35、14～30、14～28、14～25、14～22、14～20、14～18、14～16、又は14～15の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0102】

本発明のアルギネートオリゴマーは、15～50、15～40、15～35、15～30、15～28、15～25、15～22、15～20、15～18又は15～16の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0103】

20

本発明のアルギネートオリゴマーは、18～50、18～40、18～35、18～30、18～28、18～25、18～22、又は18～20の重合度(DP)又は数平均重合度(DP_n)を有し得る。

【0104】

好ましくは、本発明のアルギネートオリゴマーは、本明細書で開示される範囲外の重合度を有するアルギネートオリゴマーを実質的に含まない、好ましくは本質的に含まない。このことは、本発明のアルギネートオリゴマーの分子量分布、例えば関連範囲外のDPを有する、本発明により使用されるアルギネートオリゴマーの各々のモル%を単位として表すことができる。分子量分布は、好ましくは、DP_nに関する適切な上限(relevant upper limit)より3、2又は1高いDPを有するものが10モル%以下、好ましくは9モル%、8モル%、7モル%、6モル%、5モル%、4モル%、3モル%、2モル%又は1モル%以下である。同様に、DP_nに関する適切な下限よりも3、2又は1小さい数未満のDPを有するものが10モル%以下、好ましくは9モル%、8モル%、7モル%、6モル%、5モル%、4モル%、3モル%、2モル%又は1モル%以下であるのが好ましい。

30

【0105】

好適なアルギネートオリゴマーは、特許文献1、特許文献2、特許文献3、及び特許文献6に記載されている(それらの開示の全体が明示的に引用することにより本明細書の一部をなす)。

【0106】

代表的な好適なアルギネートオリゴマーは、5～30の範囲のDP_nと、少なくとも0.80のグルロネート率(F_G)と、0.20以下のマンヌロネート率(F_M)とを有し、少なくとも95モル%のDPが25以下である。

40

【0107】

更に好適なアルギネートオリゴマーは、7～15(好ましくは8～12)の範囲の数平均重合度と、少なくとも0.85(好ましくは少なくとも0.90)のグルロネート率(F_G)と、0.15以下(好ましくは0.10以下)のマンヌロネート率(F_M)とを有し、少なくとも95モル%の重合度が17未満(好ましくは14未満)である。

【0108】

更に好適なアルギネートオリゴマーは、5～18(特に7～15)の範囲の数平均重合度と、少なくとも0.80(好ましくは少なくとも0.85、特に少なくとも0.92)

50

のグルロネート率 (F_G) と、0.20 以下 (好ましくは 0.15 以下、特には 0.08 以下) のマンヌロネート率 (F_M) とを有し、少なくとも 95 モル% の重合度が 20 未満 (好ましくは 17 未満) である。

【0109】

更に好適なアルギネートオリゴマーは、5～18 の範囲の数平均重合度と、少なくとも 0.92 のグルロネート率 (F_G) と、0.08 以下のマンヌロネート率 (F_M) とを有し、少なくとも 95 モル% の重合度が 20 未満である。

【0110】

更に好適なアルギネートオリゴマーは、5～18 (好ましくは 7～15、より好ましくは 8～12、特に約 10) の範囲の数平均重合度と、少なくとも 0.80 (好ましくは少なくとも 0.85、より好ましくは少なくとも 0.90、特に少なくとも 0.92、最も具体的には少なくとも 0.95) のグルロネート率 (F_G) と、0.20 以下 (好ましくは 0.15 以下、より好ましくは 0.10 以下、特には 0.08 以下、最も具体的には 0.05 以下) のマンヌロネート率 (F_M) とを有し、少なくとも 95 モル% の重合度が 20 未満 (好ましくは 17 未満、より好ましくは 14 未満) である。

【0111】

更に好適なアルギネートオリゴマーは、7～15 (好ましくは 8～12) の範囲の数平均重合度と、少なくとも 0.92 (好ましくは少なくとも 0.95) のグルロネート率 (F_G) と、0.08 以下 (好ましくは 0.05 以下) のマンヌロネート率 (F_M) とを有し、少なくとも 95 モル% の重合度が 17 未満 (好ましくは 14 未満) である。

【0112】

更に好適なアルギネートオリゴマーは、5～18 の範囲の数平均重合度と、少なくとも 0.80 のグルロネート率 (F_G) と、0.20 以下のマンヌロネート率 (F_M) とを有し、少なくとも 95 モル% の重合度が 20 未満である。

【0113】

更に好適なアルギネートオリゴマーは、7～15 の範囲の数平均重合度と、少なくとも 0.85 のグルロネート率 (F_G) と、0.15 以下のマンヌロネート率 (F_M) とを有し、少なくとも 95 モル% の重合度が 17 未満である。

【0114】

更に好適なアルギネートオリゴマーは、7～15 の範囲の数平均重合度と、少なくとも 0.92 のグルロネート率 (F_G) と、0.08 以下のマンヌロネート率 (F_M) とを有し、少なくとも 95 モル% の重合度が 17 未満である。

【0115】

更に好適なアルギネートオリゴマーは、5～20 の範囲の数平均重合度と、少なくとも 0.85 のグルロネート率 (F_G) と、0.15 以下のマンヌロネート率 (F_M) とを有する。

【0116】

更なる好適なアルギネートオリゴマーは数平均重合度が約 13 (例えば 12、13 又は 14)、グルロネート率 (F_G) が少なくとも約 0.80、0.85、0.87、0.88、0.90 又は 0.93 (例えば 0.92、0.93 又は 0.94)、対応するマンヌロネート率 (F_M) が約 0.20、0.15、0.13、0.12、0.10 又は 0.07 (例えば 0.08、0.07 又は 0.06) 以下である。

【0117】

更なる好適なアルギネートオリゴマーは数平均重合度が約 21 (例えば 20、21 又は 22)、グルロネート率 (F_G) が少なくとも約 0.80 (例えば 0.85、0.87、0.88、0.90、0.92、0.94、又は 0.95)、対応するマンヌロネート率 (F_M) が約 0.20 (例えば 0.15、0.13、0.12、0.10、0.08、0.06、0.05) 以下である。

【0118】

更なる好適なアルギネートオリゴマーは数平均重合度が約 6 (例えば 5、6 又は 7)、

10

20

30

40

50

グルロネート率 (F_G) が少なくとも約 0.80 (例えば 0.85、0.87、0.88、0.90、0.92、0.94、又は 0.95)、対応するマンヌロネート率 (F_M) が約 0.20 (例えば 0.15、0.13、0.12、0.10、0.08、0.06、0.05) 以下である。

【0119】

このため、本発明により望ましい特定の群のアルギネートオリゴマーが、いわゆる「高 G」又は「G ブロック」オリゴマーとして規定される、すなわち G 残基又は G ブロックの含量が高い (例えばモノマー残基の少なくとも 70% が G であり、好ましくは G ブロック中に配置される) アルギネートオリゴマーであることが認められる。しかしながら、オリゴマーが単独で配置されるか及び／又は G ブロック中に配置されるかにかかわらず少なくとも 30% の G 残基を含む限りにおいて、特に M ブロック中に配置される M 残基を含む M 残基の含量がより高いオリゴマーを含む他のタイプのアルギネートオリゴマーを使用してもよい。特に下記で更に説明される交互の M/G 残基構造を有する、いわゆる MG ブロックオリゴマーも含まれる。

【0120】

オリゴマー中のモノマー残基の少なくとも 70% が別の G 残基に (1-4) 結合した G 残基であるか、又はより好ましくはオリゴマーのモノマー残基の少なくとも 75%、最も好ましくは少なくとも 80%、85%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% が別の G 残基に (1-4) 結合した G 残基であるオリゴマーが特に好ましい。この 2 つの G 残基の (1-4) 結合は代替的に、隣接するグルロン単位と結合したグルロン単位として表すこともできる。

【0121】

上述のように、或る特定の実施の形態では、本発明による使用のためのオリゴマー中に存在する任意の M 残基は M ブロック中に配置され得る。例えば、かかる実施の形態では、M 残基の少なくとも 50%、又はより具体的には少なくとも 70% 若しくは 75%、例えば少なくとも 80%、85%、90% 若しくは 95% が M ブロック中にあってもよい。M ブロックは少なくとも 2 つの M 残基の連続した配列、好ましくは少なくとも 3 つの連続した M 残基、より好ましくは少なくとも 4 つ又は 5 つの連続した M 残基、最も好ましくは少なくとも 7 つの連続した M 残基である。

【0122】

特に、M 残基の少なくとも 90% が別の M 残基と (1-4) 結合していてもよい。より具体的には、アルギネートの M 残基の少なくとも 95%、少なくとも 98% 又は少なくとも 99% が別の M 残基と (1-4) 結合していてもよい。

【0123】

また更なる実施の形態では、本発明のアルギネートオリゴマーは、交互の M 残基及び G 残基の配列を含む。少なくとも 3 つ、好ましくは少なくとも 4 つの交互の M 残基及び G 残基の配列は MG ブロックを表す。好ましくは、本発明のアルギネートオリゴマーは MG ブロックを含む。より具体的に表すと、MG ブロックは G 残基及び M 残基からなる少なくとも 3 つの連続した残基の配列であり、連続した配列中の各々の非末端 (内部) G 残基は M 残基と (1-4) 及び (4-1) 結合し、連続した配列中の各々の非末端 (内部) M 残基は G 残基と (1-4) 及び (4-1) 結合する。好ましくは、MG ブロックは少なくとも 5 つ又は 6 つの連続した残基、より好ましくは少なくとも 7 つ又は 8 つの連続した残基である。

【0124】

更なる実施の形態では、アルギネートオリゴマー中の少数ウロネート (すなわちマンヌロネート又はグルロネート) が主に MG ブロック中に見られる。この実施の形態では、MG ブロックアルギネートオリゴマー中の少数ウロネートモノマーの好ましくは少なくとも 50%、より好ましくは少なくとも 70% 又は 75%、最も好ましくは少なくとも 80%、85%、90% 又は 95% が MG ブロック中に存在する。別の実施の形態では、オリゴマー中の G 残基及び M 残基の少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、

少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 %、例えば 100 % が MG ブロック中に配置されるように、アルギネートオリゴマーが配置される。

【0125】

上記に従って、MG ブロック含有アルギネートオリゴマーは、少なくとも 30 %（又は少なくとも 35 %、40 % 又は 45 % 又は 50 % の G）（ただし 100 % 未満）の G を含有する。したがって、具体的な実施の形態は、30 %～70 % の G（グルロネート）残基、又は 70 %～99 % の G（グルロネート）残基を有する（例えば含有する）MG ブロック含有アルギネートオリゴマーを含む。したがって、本発明による使用のための代表的な MG ブロック含有アルギネートオリゴマーは、30 % 超（ただし 70 % 未満）の G 残基を含有し得る（すなわち、MG ブロックアルギネートオリゴマーのモノマー残基の 30 % 超（ただし 70 % 未満）が G 残基である）。

10

【0126】

好ましくは、MG ブロック含有アルギネートオリゴマーのモノマー残基の 30 % 超、より具体的には 35 % 又は 40 % 超、更により具体的には 45 %、50 %、55 %、60 % 又は 65 % 超（ただし、いずれの場合も 70 % 未満）がグルロネートである。代替的には、MG ブロック含有アルギネートオリゴマーのモノマー残基の 70 % 未満、より好ましくは 65 % 又は 60 % 未満、更により好ましくは 55 %、50 %、45 %、40 % 又は 35 % 未満（ただし、いずれの場合も 30 % 超）がグルロネートである。これらの値の任意の組合せによって形成される任意の範囲を選択することができる。したがって、例えば MG ブロック含有アルギネートオリゴマーは、例えば 35 %～65 %、40 %～60 % 又は 45 %～55 % の G 残基を有し得る。

20

【0127】

別の実施の形態では、MG ブロック含有アルギネートオリゴマーは、ほぼ等量の G 残基及び M 残基（例えば、65 % の G / 35 % の M～35 % の G / 65 % の M、例えば 60 % の G / 40 % の M～40 % の G / 60 % の M；55 % の G / 45 % の M～45 % の G / 55 % の M；53 % の G / 47 % の M～47 % の G / 53 % の M；51 % の G / 49 % の M～49 % の G / 51 % の M；例えば、約 50 % の G 及び約 50 % の M という比率）を有し得るが、これらの残基は主に、好ましくは全体的に又は可能な限り完全に交互の MG パターンで配置されている（例えば、M 残基及び G 残基の少なくとも 50 % 又は少なくとも 60 %、70 %、80 %、85 %、90 % 又は 95 % 又は 100 % が交互の MG 配列中にある）。

30

【0128】

或る特定の実施の形態では、本発明のオリゴマーの末端ウロン酸残基は二重結合、特に C₄ 原子と C₅ 原子との間に位置する二重結合を有しない。かかるオリゴマーは飽和末端ウロン酸残基を有するものとして記載され得る。当業者は、過度の負担なしに飽和末端ウロン酸残基を有するオリゴマーを調製することができるだろう。これは、かかるオリゴマーを生じる製造技法を用いること、又は不飽和末端ウロン酸残基を有するオリゴマーを生じるプロセスによって製造されたオリゴマーを変換する（飽和させる）ことによって行うことができる。

40

【0129】

アルギネートオリゴマーは通常、電荷を保有するので、アルギネートオリゴマーに対する対イオンは、任意の生理学的に相容性を有するイオン、特に荷電薬剤物質に一般的に使用されるイオン（例えばナトリウムイオン、カリウムイオン、アンモニウムイオン、塩化物イオン、メシレートイオン、メグルミンイオン等）であり得る。アルギネートのゲル化を促進するイオン（例えば 2 族の金属イオン）も、使用することができる。

【0130】

アルギネートオリゴマーは、適切な数のグルロネート残基及びマンヌロネート残基の重合から生成される合成物質であってもよいが、本発明における使用のためのアルギネートオリゴマーは、上述したような天然の供給源、すなわち天然アルギネート原料から、好都

50

合に入手、製造又は誘導することができる。

【0131】

本発明により使用可能なアルギネートオリゴマーを製造するための多糖からオリゴ糖への切断は、酵素消化及び酸加水分解等の従来の多糖溶解技法を使用して、実施することができる。望ましい1つの実施の形態では、酸加水分解を使用して本発明のアルギネートオリゴマーを調製する。他の実施の形態では、酵素消化を更なる加工処理工程（複数の場合もある）と共に使用して、オリゴマー中の末端ウロン酸を飽和させる。

【0132】

オリゴマーはその後、イオン交換樹脂を使用してクロマトグラフィにより、又は分画沈降（fractionated precipitation）若しくは可溶化若しくは濾過により、多糖分解生成物から分離することができる。米国特許第6, 121, 441号及び特許文献3（その全体が明示的に引用することにより本明細書の一部をなす）は、本発明における使用のためのアルギネートオリゴマーを調製するのに好適なプロセスを説明している。更なる情報及び考察は、例えば「Handbooks of Hydrocolloids」Ed. Phillips and Williams, CRC, Boca Raton, Florida, USA, 2000に見ることができる（この内容は、その全体が明示的に引用することにより本明細書の一部をなす）。

【0133】

アルギネートオリゴマーはまた化学的に修飾することができ、これには荷電基を付加する修飾（カルボキシル化又はカルボキシメチル化グリカン等）が含まれるが、これに限定されず、アルギネートオリゴマーは、柔軟性を変化させるために（例えば、過ヨウ素酸塩による酸化により）修飾される。

【0134】

本発明による使用に好適なアルギネートオリゴマー（例えば、オリゴグルロン酸）は、ラミナリア・ヒポルボラ（*Laminaria hyperborea*）及びレソニア・ニグレセンス（*Lessonia nigrescens*）（ただしこれらに限定されない）由来のアルギン酸の酸加水分解、中性pHでの溶解、pHを3.4に低下させてアルギネートオリゴマー（オリゴグルロン酸）を析出させる鉍酸の添加、弱酸での洗浄、中性pHでの再懸濁、並びに凍結乾燥により、好都合に製造することができる。

【0135】

本発明のアルギネートオリゴマーの製造のためのアルギネートは、好適な細菌性供給源（例えばシュードモナス・エルギノーサ又はアゾトバクター・ビネランジー）から直接得ることもできる。

【0136】

G残基の大部分が単一残基としてではなくGブロック中に配置される一次構造を有するアルギネートオリゴマーが必要とされる実施の形態では、藻類の供給源が、これらの生物において産生されるアルギネートがこれらの構造を有する傾向があることから、最も好適であることが期待される。細菌性供給源は、異なる構造のアルギネートオリゴマーを得るのにより好適であり得る。

【0137】

シュードモナス・フルオレセンス及びアゾトバクター・ビネランジーにおけるアルギネート生合成に関与する分子装置が、クローニングされると共に、特徴づけられており（特許文献4；Ertesvag, H., et al, *Metabolic Engineering*, 1999, Vol 1, 262-269；特許文献5；非特許文献1（上掲）；Remminghorst and Rehm, *Biotechnology Letters*, 2006, Vol 28, 1701-1712；Gimmestad, M. et al, *Journal of Bacteriology*, 2006, Vol 188 (15), 5551-5560）、調整した（tailored）一次構造を有するアルギネートを、これらの系を操作することにより容易に得ることができる。

【0138】

アルギネート（例えば藻類原料）のG含量は、例えばA. ビネランジー由来のマンノナンC-5エピメラーゼ、又は他のエピメラーゼ酵素を用いて、エピマー化により増大させることができる。したがって、例えば、*in vitro*でのエピマー化を、シュード

モナス又はアゾトバクター由来の単離エピメラゼ、例えばシュードモナス・フルオレセンス若しくはアゾトバクター・ビネランジー由来のA l g G、又はアゾトバクター・ビネランジー由来のA l g E酵素（A l g E 1～A l g E 7）を用いて、実施することができる。アルギネートを産生する能力を有する他の生物（特に藻類）由来のエピメラゼの使用も、具体的に意図される。アゾトバクター・ビネランジーA l g Eエピメラゼを用いる低Gアルギネートの *in vitro*でのエピマー化は、Ertesvag et al（上掲）及びStrugala et al（Gums and Stabilisers for the Food Industry, 2004, 12, The Royal Society of Chemistry, 84 - 94）に詳細に説明されている。

【0139】

アルギネート又はアルギネートオリゴマーを含有するGブロックを得るには、A l g E 4以外の1つ又は複数のアゾトバクター・ビネランジーA l g Eエピメラゼを用いるエピマー化が、これらの酵素がGブロック構造を産生する能力を有するため、好ましい。一方で、A l g E 4エピメラゼは選択的に個々のM残基をエピマー化して、Gブロックを産生するのではなく、M残基と結合した単一のG残基を産生するようであることが見出されているため、この酵素を使用して、M/G配列の交互のストレッチ又は単一のG残基を含有する一次構造を有するアルギネート又はアルギネートオリゴマーを作り出すことができる。特定の一次構造を、これらの酵素の種々の組合せを使用して得ることができる。

【0140】

これらの酵素の突然変異型又は他の生物由来の相同体も、有用であるとして具体的に意図される。特許文献4は、例えば、エピメラゼ配列によりコードされる組換え又は修飾マンヌロナンC-5エピメラゼ酵素（A l g E酵素）を説明しており、ここではエピメラゼの異なるドメイン又はモジュールをコードするDNA配列が、シャッフルされ（shuffled）、又は欠失すると共に、組み換えられている。代替的には、例えばA l g G遺伝子又はA l g E遺伝子の部位特異的突然変異誘発又はランダム突然変異誘発により得られる、天然のエピメラゼ酵素（A l g G又はA l g E）の突然変異体を使用することができる。

【0141】

異なるアプローチは、その突然変異体が続くアルギネートオリゴマー産生に要求される構造のアルギネート、又は更には要求される構造及びサイズ（又は分子量）のアルギネートオリゴマーを産生するように、そのエピメラゼ遺伝子の幾つか又は全てで突然変異したシュードモナス属及びアゾトバクター属の生物を作り出すことである。A l g G遺伝子が突然変異した多数のシュードモナス・フルオレセンス生物の作製は、特許文献5及び非特許文献1（上掲）に詳細に説明されている。A l g E遺伝子が突然変異した多数のアゾトバクター・ビネランジー生物の作製は、Gimmestad, M., et al, 2006（上掲）に開示されている。

【0142】

更なるアプローチは、アゾトバクター属又はシュードモナス属の生物由来の内在性エピメラゼ遺伝子を欠失又は不活性化させること、及びその後、1つ又は複数の外来性エピメラゼ遺伝子（突然変異していても又は突然変異していなくともよく（すなわち野生型であっても又は修飾されていてもよい））を導入することであり、その発現は、例えば誘導性の又は他の「制御可能なプロモータ」の使用により制御されていてもよい。遺伝子の適切な組合せを選択することにより、所定の一次構造を有するアルギネートを生成することができる。

【0143】

また更なるアプローチは、シュードモナス属及び／又はアゾトバクター属のアルギネート生合成機構の幾つか又は全てを、非アルギネート産生生物（例えば大腸菌）中に導入すること、並びにこれらの遺伝子操作生物からのアルギネートの産生を誘導することであろう。

【0144】

これらの培養基準のシステムを使用する場合、アルギネート又はアルギネートオリゴマ

10

20

30

40

50

一生成物の一次構造は、培養条件により影響され得る。特定の生物により産生されるアルギネートの一次構造を操作するために、温度、浸透圧 (osmolarity)、栄養レベル／栄養源及び大気パラメーター等の培養パラメーターを調整することは、十分に当業者の能力の範囲内である。

【0145】

「G残基／G」及び「M残基／M」への言及、又はグルロン酸若しくはマンヌロン酸、又はグルロネート若しくはマンヌロネートへの言及は、グルロン酸／グルロネート及びマンヌロン酸／マンヌロネート（具体的には α -L-グルロン酸／グルロネート及び β -D-マンヌロン酸／マンヌロネート）への言及と区別がなく解釈されるものとし、これには非修飾オリゴマーよりも実質的に低いCF、若しくはCF関連障害若しくは病態を治療する能力、又は粘膜表面の上皮からの粘液の脱離を促進する能力をもたらしことなく、1つ又は複数の利用可能な側鎖又は基が修飾されているそれらの誘導体が更に含まれる。一般的な糖修飾基は、アセチル基、硫酸基、アミノ基、デオキシ基、アルコール基、アルデヒド基、ケトン基、エステル基及びアンヒドロ基を含む。アルギネートオリゴマーはまた、荷電基を付加するように（例えばカルボキシル化又はカルボキシメチル化グリカン）、及び柔軟性を変化させるように（例えば過ヨウ素酸塩による酸化により）化学修飾することができる。当業者は、オリゴ糖の単糖サブユニットに対して行うことができるまた更なる化学修飾を認識し、これらを本発明のアルギネートオリゴマーに適用することができる。

10

【0146】

本発明は、単一のアルギネートオリゴマー又は様々なアルギネートオリゴマーの混合物（多数／複数）の使用を包含する。したがって、例えば様々なアルギネートオリゴマー（例えば2つ以上）の組合せを使用することができる。

20

【0147】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は1%～5.5% (w/v)、1%～5% (w/v)、1%～4.5% (w/v)、1%～4% (w/v)、1%～3.5% (w/v)、1%～3% (w/v)、1%～2.5% (w/v)、1%～2% (w/v) 又は1%～1.5% (w/v) である。

【0148】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は1% (w/v) 超かつ6% (w/v) 以下、例えば1.1%～6% (w/v)、1.1%～5.5% (w/v)、1.1%～5% (w/v)、1.1%～4.5% (w/v)、1.1%～4% (w/v)、1.1%～3.5% (w/v)、1.1%～3% (w/v)、1.1%～2.5% (w/v)、1.1%～2% (w/v) 又は1.1%～1.5% (w/v) である。

30

【0149】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は1.2%～6% (w/v)、1.2%～5.5% (w/v)、1.2%～5% (w/v)、1.2%～4.5% (w/v)、1.2%～4% (w/v)、1.2%～3.5% (w/v)、1.2%～3% (w/v)、1.2%～2.5% (w/v)、又は1.2%～2% (w/v) 又は1.2%～1.5% (w/v) である。

【0150】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は1.5%～6% (w/v)、1.5%～5.5% (w/v)、1.5%～5% (w/v)、1.5%～4.5% (w/v)、1.5%～4% (w/v)、1.5%～3.5% (w/v)、1.5%～3% (w/v)、1.5%～2.5% (w/v)、又は1.5%～2% (w/v) である。

40

【0151】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は2%～6% (w/v)、2%～5.5% (w/v)、2%～5% (w/v)、2%～4.5% (w/v)、2%～4% (w/v)、2%～3.5% (w/v)、2%～3% (w/v)、又は2%～2.5% (w/v) である。

50

【0152】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は2% (w/v) 超かつ6% (w/v) 以下、例えば2.1%~6% (w/v)、2.1%~5.5% (w/v)、2.1%~5% (w/v)、2.1%~4.5% (w/v)、2.1%~4% (w/v)、2.1%~3.5% (w/v)、2.1%~3% (w/v)、又は2.1%~2.5% (w/v) である。

【0153】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は2.5%~6% (w/v)、2.5%~5.5% (w/v)、2.5%~5% (w/v)、2.5%~4.5% (w/v)、2.5%~4% (w/v)、2.5%~3.5% (w/v)、又は2.5%~3% (w/v) である。

10

【0154】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は3%~6% (w/v)、3%~5.5% (w/v)、3%~5% (w/v)、3%~4.5% (w/v)、3%~4% (w/v)、又は3%~3.5% (w/v) である。

【0155】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は3.5%~6% (w/v)、3.5%~5.5% (w/v)、3.5%~5% (w/v)、3.5%~4.5% (w/v)、又は3.5%~4% (w/v) である。

【0156】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は4%~6% (w/v)、4%~5.5% (w/v)、4%~5% (w/v)、又は4%~4.5% (w/v) である。

20

【0157】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は4.5%~6% (w/v)、4.5%~5.5% (w/v)、又は4.5%~5% (w/v) である。

【0158】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は5.0%~6% (w/v) 又は5.0%~5.5% (w/v) である。

【0159】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は5.5%~6% (w/v) である。

30

【0160】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は1% (w/v) 以上かつ2% (w/v) 未満、例えば1%~1.9% (w/v)、1%~1.8% (w/v)、1%~1.7% (w/v)、1%~1.6% (w/v)、1%~1.5% (w/v)、1%~1.4% (w/v)、1%~1.3% (w/v)、1%~1.2% (w/v) 又は1%~1.1% (w/v) である。

【0161】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は1.1% (w/v) 以上かつ2% (w/v) 未満、例えば1.1%~1.9% (w/v)、1.1%~1.8% (w/v)、1.1%~1.7% (w/v)、1.1%~1.6% (w/v)、1.1%~1.5% (w/v)、1.1%~1.4% (w/v)、1.1%~1.3% (w/v)、又は1.1%~1.2% (w/v) である。

40

【0162】

或る特定の実施の形態では、アルギネートオリゴマーの局所濃度は1.2% (w/v) 以上かつ2% (w/v) 未満、例えば1.2%~1.9% (w/v)、1.2%~1.8% (w/v)、1.2%~1.7% (w/v)、1.2%~1.6% (w/v)、1.2%~1.5% (w/v)、1.2%~1.4% (w/v)、又は1.2%~1.3% (w/v) である。

50

【0163】

「局所濃度」は粘膜表面、又はより具体的には標的治療部位（すなわち、標的粘膜表面の少なくとも一部）の粘液層又はコーティング、例えばルーメン／粘液界面に存在する投与されたアルギネートオリゴマーの濃度を意味する。したがって、「粘膜表面での」、「粘膜表面の粘液層又はコーティングでの」又は「粘膜表面のルーメン／粘液界面での」（これらの用語は区別なく使用される）は、粘液層の頂端表面の「ごく近傍」又は粘液層の頂端表面と「本質的に直接接触する」と表すことができる。数値的に表現すると、粘液層の頂端表面から1 mm未満、例えば粘液層の頂端表面から0.5 mm、0.25 mm、0.1 mm、0.05 mm、0.01 mm、0.005 mm、0.001 mm未満の空間点がルーメン／粘液界面である。他の実施の形態では、「局所濃度」という用語は、標的治療部位での粘膜表面の粘液層内に存在するものを含む。理論に束縛されることを望むものではないが、標的粘液層は本質的に下層上皮に完全に付着するか、又は部分的に付着している。考慮される体積は最終的に標的部位での粘液の厚さによって限定され、これは治療部位の位置、患者及びその臨床病態、例えばそのCFの重症度に応じて変動し得る。或る特定の実施の形態では、局所濃度はルーメン／粘液界面での粘液におけるその濃度である。数値的に表現すると、粘液層の頂端表面下1 mm未満、例えば粘液層の頂端表面下0.5 mm、0.25 mm、0.1 mm、0.05 mm、0.01 mm、0.005 mm、0.001 mm未満の深さの空間点がルーメン／粘液界面である。更なる実施の形態では、局所濃度は標的治療部位の粘液層の全深さにわたって存在する濃度（又は平均（mean average）濃度）として判断される。

10

20

【0164】

「%（w/v）」（又は「重量体積パーセント」）は液体又は半固体溶媒中の固体溶質の濃度の一般に使用される表現である。例えば、1%（w/v）は100 mlの溶媒当たり1 gの固体に相当し、2%（w/v）は100 mlの溶媒当たり2 gの固体に相当する。したがって、局所濃度はg/100 ml、100ミリリットル当たりのグラム数、 $\text{g } 100 \text{ ml}^{-1}$ と表すことができる。1%（w/v）は溶媒1リットル当たり10 gの固体にも相当するため、本発明の局所濃度範囲は10 g/l～60 g/lと表現することができる。当業者は適切な尺度計算により、本範囲の局所濃度範囲を質量及び体積の任意のSI単位の観点から表現することができることを理解する。濃度の非標準尺度への変換も可能であり、当業者にとって日常的である。

30

【0165】

本発明において「局所濃度」は通例、標的粘膜表面のルーメン／粘液界面に存在する体液、粘液の水性外層（例えば気道、副鼻腔及び空気で満たされたルーメンが存在する生殖器系の一部の場合）、又は使用される場合、局所送達ビヒクル中の本発明のアルギネートオリゴマーの濃度の量である。上述のように、他の実施の形態では、「局所濃度」という用語は標的治療部位での粘膜表面の粘液層内に存在するものも含む。

【0166】

溶媒／粘液の関連体積は、考慮される標的治療部位のサイズによって部分的に決定される。これは気道、GI管、膵管、胆管、副鼻腔の全て又は一部、例えば下記に列挙したこれらの一部又はその小区分であり得る。上述のように、標的治療部位の粘膜表面の「ルーメン／粘液界面での」とは、粘液層の頂端表面から1 mm未満の空間点を意味する。この体積内に本発明の効果的な濃度範囲を達成するために十分な質量のアルギネートが存在する必要がある。

40

【0167】

当業者は、標的治療部位での粘膜表面のルーメン／粘液界面におけるその必要濃度を達成するために投与する必要があるアルギネートオリゴマーの量を日常的に決定することが可能である。この量は標的治療部位の位置、投与経路及び使用される投薬形態、並びに関連する特定の薬物動態学的要因に応じて変動し得るが、当業者は全ての要因を考慮し、好適な投与計画に到達することが可能である。局所組成物の場合、組成物はアルギネートオリゴマーを必須の局所濃度で含有するように単純に配合することができる。患者における

50

本発明によって治療される病態（例えば、C F又は上述の他の病態のいずれか）の症状若しくは指標のいずれか、若しくは例えばC Fの様々なC F T R機能不全関連（例えばC F関連）障害若しくは病態（合併症）、若しくは患者が呈する任意の他の病態における任意の改善、又はかかる患者における任意の予防的（prophylactic or preventative）効果は、適切な局所濃度が達成されたことの指標とみなすことができる。

【0168】

局所濃度は適切な投薬を確実にするために直接測定することができる。これはサンプルの抽出及び分析、又は標識型のアルギネートオリゴマーのイメージングによって達成され得る。好適なサンプル採取法は標的治療部位に応じて異なるが、概して痰採取（気道）、スワビング（例えば鼻、口及び喉、下部G I管、並びに下部女性生殖管）、例えば内視鏡手術による粘液生検及び組織生検を挙げることができる。かかる手順としては、食道胃十二指腸鏡検査（食道、胃及び十二指腸）、小腸鏡検査（小腸）、結腸鏡検査（結腸）、S字結腸鏡検査（大腸）、胆道鏡検査（胆管及び膵管）、直腸鏡検査（rectoscopy）（直腸）、肛門鏡検査（肛門）、直腸鏡検査（proctoscopy）（肛門及び直腸）、鼻鏡検査（鼻／副鼻腔）、気管支鏡検査（下気道）、耳鏡検査（耳）、膀胱鏡検査（尿路）、婦人科検査（gynoscopy）（女性生殖器系）、膣鏡検査（子宮頸部）、子宮鏡検査（子宮）、卵管鏡検査（ファローピウス管）、腹腔鏡検査（腹腔又は骨盤腔）が挙げられる。標識アルギネートオリゴマーは放射性又は発光（例えば蛍光）であり得る。これらの標識アルギネートオリゴマーから生じるシグナルは適切な手段によって検出し、定量化した後、局所濃度の算出に用いることができる。

【0169】

粘膜表面は呼吸器系、例えば上気道（鼻、鼻道、咽頭、喉頭及び気管）、副鼻腔及び気管支（一次、二次及び三次）並びに下気道の細気管支内であってもよい。粘膜表面は気道、好ましくは気管、気管支及び細気管支内であるのが好ましい。

【0170】

機能的C F T Rイオンチャネルの欠如の影響を受ける呼吸器系の粘膜表面の上皮細胞からの粘液脱離の誘導は、粘膜毛様体クリアランスの改善及び治療対象の病態（特にC F若しくは他の病態／C Fの気道合併症のいずれかに関連する気道病態、又は他の病態のいずれか（例えば気道感染、気道炎症（肺炎及び気管支炎）、呼吸困難、呼吸不全及び肺リモデリング））の改善をもたらすことが提示される。気道における細菌及び粘液蓄積の低減は、心血管病態／C Fの心血管合併症又は他の病態（例えば肺高血圧及び心不全）の発現を低減又は予防することが提示される。

【0171】

本発明の治療は、C F又は他の病態のいずれかであるか又はそれらに関連する副鼻腔病態／副鼻腔合併症（例えば副鼻腔感染、副鼻腔炎、顔面痛、頭痛、異常鼻漏、鼻ポリープ）を改善することも提示される。

【0172】

粘膜表面は胃腸管、例えば口、咽頭、食道、十二指腸及び小腸（空腸及び回腸）内であり得る。上部G I管は口、咽頭、食道、胃及び十二指腸からなり、下部G I管は小腸、大腸（盲腸、結腸及び直腸）及び肛門からなる。機能的C F T Rイオンチャネルの欠如の影響を受けるG I管の粘膜表面、特に口、咽頭、食道、十二指腸及び小腸（空腸及び回腸）における粘膜表面の上皮細胞からの粘液脱離の誘導は、C F又は非複合C F T R遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連するG I病態／C FのG I合併症、又は非複合C F T R遺伝子突然変異ヘテロ接合性（例えば便秘、腸閉塞（例えば新生児対象における胎便性イレウス、並びにより高年齢の患者における腸重積症及びD I O S）、栄養吸収不良）における改善をもたらすことが提示される。

【0173】

粘膜表面は膵臓及び／又は胆管内であってもよい。機能的C F T Rイオンチャネルの欠如の影響を受ける膵臓及び／又は胆管の粘膜表面の上皮細胞からの粘液脱離の誘導は、C F若しくは非複合C F T R遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する膵臓病態／C Fの膵臓

合併症、又は非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性（例えば膵管閉塞、栄養吸収不良、膵炎症、膵炎（急性及び慢性）及び糖尿病）及び／又は C F 若しくは非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する肝臓病態／C F の肝臓合併症（例えば胆管閉塞、胆石及び肝硬変）の改善をもたらすことが提示される。

【0174】

粘膜表面は女性生殖器系、例えば膣、子宮頸部、子宮、ファローピウス管及び卵巣、好ましくは子宮頸部、子宮及びファローピウス管内であってもよい。子宮頸部が特に注目される。機能的 C F T R イオンチャネルの欠如の影響を受ける女性生殖器系の粘膜表面の上皮細胞からの粘液脱離の誘導は、C F 若しくは非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する女性不妊／C F の女性生殖能合併症、又は非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性の改善をもたらすことが提示される。

10

【0175】

粘膜表面は男性生殖器系、例えば睾丸、精巣上体、輸精管、付属腺、精囊、前立腺及び球尿道腺内であってもよい。精巣上体及び輸精管が特に注目される。機能的 C F T R イオンチャネルの欠如の影響を受ける男性生殖器系の粘膜表面の上皮細胞からの粘液脱離の誘導は、C F 若しくは非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する男性不妊／C F の男性生殖能合併症、又は非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性の改善をもたらすことが提示されている。

【0176】

実施例に記載の実験作業から、少なくとも 30% のモノマー残基が G 残基である或る特定の局所濃度のアルギネートオリゴマーは機能的 C F T R イオンチャネルの欠如の影響を受ける粘膜表面、より具体的には C F 患者の粘膜表面の異常表現型を健常粘膜表面、すなわち機能的 C F T R イオンチャネルの欠如の影響を受けない対象（例えば非 C F 対象）の粘膜表面によりよく似た表現型へと変換するよう促進することが可能であることが示された。これは一部、粘膜表面を或る特定の局所濃度のアルギネートオリゴマーに曝露した際に観察された、機能的 C F T R イオンチャネルの欠如の影響を受ける粘膜表面（例えば C F 粘膜表面）からの粘液層の脱離によるものと考えられる。本発明の治療に従って脱離した、機能的 C F T R イオンチャネルの欠如の影響を受ける粘膜表面の粘液層は、機能的 C F T R イオンチャネルの欠如の影響を受けない正常健常粘液層と実質的に類似して挙動し、したがって健常対象（例えば非 C F 対象）の粘液とほぼ同じ形で身体の粘液クリアランス／取扱い系に対して応答することが提示される。

20

30

【0177】

これにより、例えば上記で論考されるような治療中の患者が患う病態、及び／又は病態に関連する任意の合併症又は障害等の軽減、及び／又は任意の更なる病態又は病態に関連する障害若しくは合併症の発症の予防がもたらされることが期待される。

【0178】

C F の特定の場合では、これにより例えば上記で論考されるような治療中の C F 患者が患う C F に関連する障害若しくは病態（C F の合併症）の軽減、及び／又は C F に関連する更なる障害若しくは病態（C F の合併症）の発症の予防がもたらされることが期待される。

40

【0179】

この点から、治療部位内の全体的な（又は完全な）脱離は、患者の（例えば C F 患者の）病態又は障害の顕著な改善をもたらすために必要でない可能性もある。このように、或る特定の実施の形態では、脱離は部分的なものであってもよい。本発明による部分的な脱離は、治療上効果的な脱離の程度とみなすことができる。病態（例えば C F）、例えば C F 患者が呈する様々な C F に関連する障害若しくは病態（C F の合併症）、若しくは治療中の患者における任意の他の C F T R 機能不全関連病態に関連する任意の合併症若しくは症状若しくは病態の症状若しくは指標のいずれかの任意の改善、又は患者における任意の予防的効果は、治療上効果的な脱離が達成されたことの指標とみなすことができる。

【0180】

50

数値的に表現すると、標的治療部位での粘液層はその部位の少なくとも40%、例えばその部位の少なくとも50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%にわたって脱離する。標的治療部位での粘液層はその部位の約100%にわたって脱離するのが好ましい。

【0181】

脱離は、粘液付着性の低減又は粘液層と下層上皮細胞との間の相互作用の緩和とみなすことができる。これらの特性は、粘液成分（例えばムチン）と上皮細胞との間に生じる様々な化学結合、例えば分子内結合及び分子間結合によってもたらされると考えられる。したがって、部分的な脱離は少なくとも40%、例えば少なくとも50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は約100%の粘液付着性の低減／粘液－上皮相互作用の緩和とみなすことができる。

10

【0182】

脱離の程度は任意の好都合な手段、例えば顕微鏡により測定することができる。非特許文献2（上掲）（その全体が明示的に引用することにより本明細書の一部をなす）は、粘液層の厚さ及び下層上皮からの付着／脱離を評価するための共焦点、透過型電子及び光学的（明視野）顕微鏡検査法に関する更なる詳細を提示している。好適な較正により、脱離の程度を粘液付着性の低減／粘液－上皮相互作用の緩和に対して更に関連付けることができる。

【0183】

実施例に示されるように、治療部位の粘膜表面の一部を例えば内視鏡検査時の生検によって抽出することができ、粘液層の脱離の程度を標準化吸引手順の前後の粘液厚さの測定によって測定することができる。この手順を複数の異なる位置で繰り返すことで、或る特定の部位にわたる脱離度の評価が可能となる。これら及び同等の実施の形態では、粘液脱離は吸引後の治療部位にわたる平均（average (e.g. mean)）粘液厚さの観点から表すこともできる。部分的な脱離は、吸引後の治療部位にわたる少なくとも40%、例えば少なくとも50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は約100%の平均粘液厚さの低減をもたらすことが好ましい。粘液層を吸引するために用いる技法に応じて、（例えば健常対象のサンプル、又はより具体的には機能的CFTRの欠如の影響を受けない粘膜表面、例えば非CFサンプルの場合と同様に）脱離が全体的なものであっても、粘液層を完全に除去することが可能でない場合もある。かかる例では、100%が実験状況下で観察される最大の厚さの低減と解釈されるものとする。最大の厚さの低減は好適な内部実験対照によって決定することができる。

20

30

【0184】

粘液の付着はビデオ顕微鏡法によっても記録及び観察することができ、この場合粘液は通常、繊毛又は制御された吸引によって移動するものとする。粘液は炭及び染料を含む種々の染色によって可視化することができる。

【0185】

実施例の実験作業から、本発明の治療が実質的に治療部位での粘液層の厚さを変化させないことが更に明らかである。かかる特徴は提案される治療の付加的な利点として提示される。上記で論考されるように、欠陥CFTRイオンチャネル及び／又は粘液の異常付着に起因又は関連する病態、例えばCFに関連する障害又は病態（CFの合併症）の多くは、粘液又は増粘した外分泌液によるルーメンの完全又は部分的な閉塞を特徴とする（例えば肺、GI、肝臓及び膵臓の病態）。したがって、粘液厚さを増大しない治療は、既に狭窄したルーメンの更なる狭窄／閉塞を引き起こすことによってこれらの病態を悪化させないことが期待される。

40

【0186】

したがって、本発明の方法及び医学的使用は、アルギネートオリゴマーを投与した粘膜表面（治療部位）の粘液コーティングを実質的に増粘することなく達成され得る方法及び医学的使用とみなすことができる。「実質的に増粘することなく」とは、治療部位へアル

50

ギネートオリゴマーを投与した際の４０％未満の厚さの増大、例えば３０％、２０％、１５％、１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％又は１％未満の厚さの増大として数値的に表現することができる。治療部位での粘液層の厚さに実質的に変化がないのが好ましい。粘液厚さは上記のようなアルギネートオリゴマーによる治療前、治療後及び治療中に測定することができる。

【０１８７】

本発明による欠陥ＣＦＴＲイオンチャネル及び／又は粘液の異常付着に起因又は関連する病態の治療との関連で使用される場合の「治療」は任意の治療効果、すなわち上記病態又はその症状若しくは指標に対する任意の有益な効果を含むように本明細書で広範に使用される。かかる病態にはＣＦ、非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性、気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難、及び／又は慢性炎症性呼吸器障害、例えばＣＯＰＤ、ＣＢ、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎だけでなく、これらの病態のいずれかに関連する病態又は障害も含まれる。本節では、ＣＦ、非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性、気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難、及び／又は慢性炎症性呼吸器障害、例えばＣＯＰＤ、ＣＢ、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎に関連する病態又は障害への言及は、ＣＦの合併症、非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性、気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難、及び／又は慢性炎症性呼吸器障害、例えばＣＯＰＤ、ＣＢ、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎への言及と代替可能である。

【０１８８】

具体的には、ＣＦ及び非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性との関連で、これらの疾患は、各々の患者において本発明の治療を受けている時点で患者が呈するＣＦ及び非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する障害及び病態の独自の群を特徴とする遺伝的疾患であるため、「ＣＦの治療」及び「非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性治療」という用語は、患者の障害及び病態のいずれか若しくは全ての治療又はそれらの一部の治療とみなすことができる。

【０１８９】

このため、本発明はＣＦ又は非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性の根底にある遺伝的欠陥の補正に対処するものではないが、欠陥に起因する体内の影響の治療、例えばその影響、例えば異常粘液に起因する影響の軽減に関し、関連する障害又は病態の治療、更には障害若しくは病態の臨床的影響又は対象の全身健康状態の改善を含む。これに関連して、ＣＦ又は非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性の「治癒」は、本発明の治療を受けている時点での患者が呈する様々なＣＦ又は非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する障害及び病態の完全な軽減に相当するが、疾患の遺伝的基盤（ＣＦＴＲ突然変異）が依然として残る。それにもかかわらず、本発明はかかる「治癒」を必要とせず、上記で述べたように、ＣＦ又は非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性が身体に対して有する任意の影響の改善を含む。このため例えば、患者におけるＣＦ若しくは非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する障害若しくは病態の任意の症状若しくは前兆、又はＣＦ若しくは非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する障害若しくは病態の任意の臨床的に認められた指標の改善（例えば肺における粘膜毛様体クリアランスの増大、抗生物質に対する肺感染の反応性の増大、便秘の発生率の低減又は栄養吸収の改善）が含まれる。今回特許請求される治療では、既存のＣＦ若しくは非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する障害若しくは病態が完全には根絶せず、又は新たなＣＦ若しくは非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する障害若しくは病態の発症が完全には停止しない可能性があるが、治療はこれらのプロセスを標的ＣＦ若しくは非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する障害若しくは病態が完全に解消されるか、又は少なくとも或る程度まで、好ましくは対象に許容可能な程度まで解消されるような程度まで阻害するのに十分である。このため、治療は例えば既存の又は診断されたＣＦ又は非複合ＣＦＴＲ遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する障害又は病態の治癒的

及び姑息的療法 (palliative therapy) の両方、すなわち保守的治療 (reactionary treatment) を含む。

【0190】

本発明による欠陥 C F T R イオンチャネル及び／又は粘液の異常付着に起因又は関連する病態の治療との関連で使用される場合の「予防」は、上記病態に対する患者における任意の予防的効果を含むように本明細書で広範に使用される。かかる病態には C F、非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性、気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難、及び／又は慢性炎症性呼吸器障害、例えば C O P D、C B、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎だけでなく、それに関連する病態又は障害も含まれる。本節では C F、非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性、気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難及び／又は慢性炎症性呼吸器障害、例えば C O P D、C B、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎に関連する病態又は障害への言及は、C F の合併症又は任意の上記病態への言及と代替可能である。このため、一般用語における「予防」は、例えば予防的治療前の病態、合併症、その症状又は兆候に対して患者における上記病態若しくは合併症、若しくは1つ若しくは複数のその症状若しくは兆候の影響、又は上記病態若しくは合併症、若しくは1つ若しくは複数のその症状若しくは兆候の発症を遅延させる、制限する、低減する又は予防することを含む。

10

【0191】

当然ながら、根底にある遺伝的欠陥という意味での C F 及び非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性は本発明によって予防することができず、これは含まれないことを理解されたい。このため、これらの状況における「予防」は根底にある遺伝的欠陥の結果として又は異常粘液の結果として生じる体内の影響を予防することに関する。

20

【0192】

具体的には、C F 及び非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性との関連で、これらの疾患は、各々の患者において本発明の治療を受けている時点で患者が呈する C F 及び非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する障害及び病態の独自の群を特徴とする遺伝的疾患であるため、「C F 若しくは非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性、又は C F 若しくは非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する障害若しくは病態の予防」という用語は、患者が未だ罹患していないか又は患者が以前に罹患していたが、特許請求される治療を受ける前に克服した、任意の C F 又は非複合 C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性に関連する障害又は病態の予防とみなすことができる。

30

【0193】

予防法は、上記に規定される欠陥 C F T R イオンチャネル及び／又は粘液の異常付着に起因又は関連する病態、若しくはその症状若しくは兆候の発生若しくはその影響の発現の絶対的な予防、及び上記に規定される欠陥 C F T R イオンチャネル及び／又は粘液の異常付着に起因若しくは関連する病態、若しくはその症状若しくは兆候の発生若しくはその影響の発現の任意の遅延、又は上記に規定される欠陥 C F T R イオンチャネル及び／又は粘液の異常付着に起因若しくは関連する病態、若しくはその症状若しくは兆候の発現若しくは進行の低減若しくは制限の両方を明示的に含む。予防的治療は、上記に規定される欠陥 C F T R イオンチャネル及び／又は粘液の異常付着に起因若しくは関連する病態、又はその症状若しくは兆候を罹患又は発現する患者のリスクを低減する治療とみなすこともできる。

40

【0194】

「C F の患者」、「C F を患う患者」、「C F を有する患者」及び「C F 患者」という用語は同等であるとみなされ、本明細書で区別なく使用される。本明細書で言及される欠陥 C F T R イオンチャネル及び／又は下層上皮に付着した異常粘液に起因又は関連する他の病態のいずれかを対象にした対応する用語も同様に使用される。

【0195】

本発明の一実施の形態では、本明細書で規定されるアルギネートオリゴマーは、C F 又

50

はC F 関連障害若しくは病態／C F の合併症の治療のための更なる医薬品（以下、「更なるC F 医薬品」と併せて又は組み合わせて本発明の方法又は使用に使用することができる。かかる医薬品は、特に非複合C F T R 遺伝子突然変異ヘテロ接合性、気道における異常粘液クリアランス及び／又は慢性微粒子吸入によって生じる呼吸困難、及び／又は慢性炎症性呼吸器障害、例えばC O P D、C B、肺気腫、気管支拡張症、喘息及び／又は慢性副鼻腔炎、それに関連する病態又はその合併症の治療において使用されるとみなすこともできる。

【0196】

更なるC F 又は他の医薬品（すなわち更なる治療的活性剤）は抗生物質、抗真菌剤、抗ウイルス剤、免疫刺激薬、コルチコステロイド、非ステロイド性抗炎症薬（N S A I D）、気管支拡張剤、消化酵素サプリメント、経口抗糖尿病薬、注射用抗糖尿病薬又は粘液粘度低減剤（すなわち、粘液の粘度を低減する薬剤；この用語は「粘液溶解薬」という用語と区別なく使用される）であり得る。

【0197】

抗生物質は、アミノグリコシド系抗生物質（例えばアミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ネチルマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン）；β-ラクタム（例えばカルバセフェム系抗生物質（例えばロラカルベフ））；第一世代セファロスポリン系抗生物質（例えばセファドロキシル、セファゾリン、セファレキシン）；第二世代セファロスポリン系抗生物質（例えばセファクロル、セファマンドール、セファレキシン、セフォキシチン、セフprozil、セフロキシム）；第三世代セファロスポリン系抗生物質（例えばセフィキシム、セフジニル、セフジトレン、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフポドキシム、セフトラジウム、セフトチブテン、セフトチゾキシム、セフトリアキソン）；第四世代セファロスポリン系抗生物質（例えばセフェピム）；モノバクタム系抗生物質（例えばアズトレオナム）；マクロライド系抗生物質（例えばアジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、トロレアンドマイシン）；モノバクタム系抗生物質（例えばアズトレオナム）；ペニシリン系抗生物質（例えばアモキシシリン、アンピシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、ナフシリン、オキサシリン、ペニシリンG、ペニシリンV、ピペラシリン、チカルシリン）；ポリペプチド系抗生物質（例えばバシトラシン、コリスチン、ポリミキシムB）；キノロン系抗生物質（例えばシプロフロキサシン、エノキサシン、ガチフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、モキシフロキサシン、ノルフロキサシン、オフロキサシン、トロバフロキサシン）；スルホンアミド系抗生物質（例えばマフェニド、スルファセタミド、スルファメチゾール、スルファサラジン、スルフイソキサゾール、トリメトプリム-スルファメトキサゾール合剤）；テトラサイクリン系抗生物質（例えばデメクロサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、テトラサイクリン）；グリシルサイクリン系抗生物質（例えばチゲサイクリン）；カルバペネム系抗生物質（例えばイミペネム、メロペネム、エルタペネム、ドリペネム、パニペネム／ベタミプロン合剤、ピアペネム、P Z - 6 0 1）から選択することができ、他の抗生物質はクロラムフェニコール；クリンダマイシン、エタンブトール；ホスホマイシン；イソニアジド；リネゾリド；メトロニダゾール；ニトロフラントイン；ピラジナミド；キヌプリスチン／ダルホプリスチン合剤；リファンピン；スペクチノマイシン；及びバンコマイシンを含む。

【0198】

抗生物質は、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ネチルマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン、セフィキシム、セフジニル、セフジトレン、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフポドキシム、セフトラジウム、セフトチブテン、セフトチゾキシム、セフトリアキソン、セフェピム、アズトレオナム、アモキシシリン、アンピシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、ナフシリン、オキサシリン、ペニシリンG、ペニシリンV、ピペラシリン、チカルシリン、シプロフロキサシン、エノキサシン、ガチフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、モキシフロ

10

20

30

40

50

キサシン、ノルフロキサシン、オフロキサシン、トロバフロキサシン、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、ロキシスロマイシン、テリスロマイシン、カルボマイシンA、ジョサマイシン、クタサマイシン、ミデカマイシン、オレアンドマイシン、スピラマイシン、トロレアンドロマイシン、タイロシン、イミペネム、メロペネム、エルタペネム、ドリペネム、パニペネム／ベタミブロン、ピアペネム、PZ-601、バシトラシン、コリスチン、ポリミキシンB、デメクロサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン及びテトラサイクリンから選択されることがより好ましい。

【0199】

抗生物質は、アズトレオナム、シプロフロキサシン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、アモキシシリン、コリスチン、セフトジジム、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、ロキシスロマイシン、スピラマイシン、オキシテトラサイクリン、及びイミペネムから選択されることがより好ましい。

【0200】

特に好ましい実施の形態では、抗生物質は、アズトレオナム、シプロフロキサシン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、アモキシシリン、コリスチン及びセフトジジムから選択される。

【0201】

代表的な抗真菌剤としては、ポリエン類（例えばナタマイシン、リモシジン、フィリピン、ナイスタチン、アンホテリシンB、カンジシン（candicin））；イミダゾール類（例えばミコナゾール、ケトコナゾール、クロトリマゾール、エコナゾール、ビホナゾール、ブトコナゾール、フェンチコナゾール、イソコナゾール、オキシコナゾール、セルタコナゾール、スルコナゾール、チオコナゾール）；トリアゾール類（例えばフルコナゾール、イトラコナゾール、イサブコナゾール、ラブコナゾール、ボサコナゾール、ポリコナゾール、テルコナゾール）；アリルアミン類（例えばテルビナフィン、アモロルフィン、ナフチフィン、ブテナフィン）；及びエキノカンジン類（例えばアニデュラファンギン、カスポファンギン、ミカファンギン）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0202】

代表的な抗ウイルス剤は、アバカビル、アシクロビル、アデフォビル、アマンタジン、アンプレナビル、アルビドール、アタザナビル、アトリプラ、ボセプレビル、シドフォビル、コンビビル、ダルナビル、デラビルジン、ジダノシン、ドコサノール、エドクスジン、エファビレンツ、エムトリシタビン、エンフュービルタイド、エンテカビル、ファムシクロビル、ホミビルセン、ホスアンプレナビル、フォスカーネット、ホスホネット、ガンシクロビル、イバシタビン、イムノビル（imunovir）、イドクスウリジン、イミキモド、インジナビル、イノシン、III型インターフェロン、II型インターフェロン、I型インターフェロン、ラミブジン、ロピナビル、ロビリド、マラビロク、モロキシジン、ネルフィナビル、ネビラピン、ネキサビル（nexavir）、オセルタミビル、ペンシクロビル、ペラミビル、プレコナリル、ボドフィロトキシン、ラルテグラビル、リバビリン、リマンタジン、リトナビル、サキナビル、スタブジン、テノホビル、テノホビルジソプロキシル、チプラナビル、トリフルリジン、トリジビル、トロマンタジン、ツルバダ、バラシクロビル、バルガンシクロビル、ビクリビロク、ビダラビン、ビラミジン、ザルシタビン、ザナミビル及びジドブジンを含むが、これらに限定されない。

【0203】

代表的な免疫刺激薬としては、サイトカイン、例えばTNF、IL-1、IL-6、IL-8、及び例えば米国特許第5,169,840号、国際公開第91/11205号及び国際公開第03/045402号（その全体が明示的に引用することにより本明細書の一部をなす）に記載されるような高M含量アルギネート等の免疫刺激アルギネート（免疫刺激特性を有する任意のアルギネートを含む）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0204】

代表的なNSAIDとしては、サリチル酸塩（例えばアスピリン（アセチルサリチル酸

10

20

30

40

50

）、コリンマグネシウムトリサリチル酸、ジフルニサル、サルサレート）、プロピオン酸誘導体（例えばイブプロフェン、デクスイブプロフェン、デクスケトプロフェン、フェノプロフェン、フルルビプロフェン、ケトプロフェン、ロキソプロフェン、ナプロキセン、オキサプロジン）、酢酸誘導体（例えばアセクロフェナク、ジクロフェナク、エトドラク、インドメタシン、ケトロラク、ナブメトン、トルメチン、スリンダク）、エノール酸誘導体（例えばドロキシカム、イソキシカム、ロルノキシカム、メロキシカム、ピロキシカム、テノキシカム）、アントラニル酸誘導体（例えばフルフェナム酸、メクロフェナム酸、メフェナム酸、トルフェナム酸）、及び選択的COX-2阻害剤（コキシブ；例えばセレコキシブ、エトリコキシブ、ルミラコキシブ、パレコキシブ、ロフェコキシブ、バルデコキシブ）が挙げられるが、これらに限定されない。プロピオン酸誘導体（例えばイブプロフェン、デクスイブプロフェン、デクスケトプロフェン、フェノプロフェン、フルルビプロフェン、ケトプロフェン、ロキソプロフェン、ナプロキセン、オキサプロジン）が好ましく、イブプロフェンが最も好ましい。

10

【0205】

本明細書で使用される場合、「粘液溶解薬」及び「粘液粘度低減剤」という用語は、粘液の固有粘度を低減する薬剤及び下層上皮への粘液の付着を低減する薬剤、特に粘液の成分内又は成分間の分子間相互作用を直接的又は間接的に破壊する薬剤、粘液の水和に影響を及ぼす薬剤及び粘膜上皮のイオン微小環境（特に二価カチオン、例えばカルシウムのレベル）を調整する薬剤を包含することを意図したものである。好適な粘液粘度低減剤の代表例としては、核酸切断酵素（例えばDNアーゼI等のDNアーゼ、又はドルナーゼアルファ）、高張食塩水、ゲルソリン、チオール還元剤、アセチルシステイン、非荷電低分子多糖（例えばデキストラン、マンニトール）、アルギニン（又は他の酸化窒素前駆体若しくは合成刺激物質）、プリン受容体のP2Y2垂型の作動薬（例えばデヌホソル）又はアニオン性ポリアミノ酸（例えばポリASP又はポリGLU）が挙げられるが、これらに限定されない。アンプロキシソール、ブロムヘキシソール、カルボシステイン、ドミオドール、エブラジノン、エルドステイン、レトステイン、メスナ、ネルテネキシソール、ソブレロール、ステプロニン、チオプロニンが注目すべき具体的な粘液溶解薬（mucolytics）である。DNアーゼI及び高張食塩水が好ましい。

20

【0206】

好適な気管支拡張剤の代表例としては、β2作動薬（例えば短時間作用β2作動薬（例えばピルブテロール、エピネフリン、サルブタモール、レボサルブタモール、クレンプテロール、テルブタリン、プロカテロール、メタプロテレノール、フェノテロール、ビトルテロールメシレート、リトドリン、イソプレナリン）、長時間作用β2作動薬（例えばサルメテロール、ホルモテロール、バンブテロール、クレンプテロール）、及び超長時間作用β2作動薬（例えばインダカテロール））、抗コリン作用薬（例えばイプラトロピウム、オキシトロピウム、チオトロピウム）及びテオフィリンが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0207】

好適なコルチコステロイドの代表例としては、プレドニゾン、フルニソリド、トリアムシノロン、フルチカゾン、ブデソニド、モメタゾン、ベクロメタゾン、アムシノニド、ブデソニド、デソニド、フルオシノニド、フルオシノロン、ハルシノニド、ヒドロコルチゾン、コルチゾン、チキソコルトール、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾン、ベタメタゾン、デキサメタゾン、フルオコルトロン、アルクロメタゾン、プレドニカルベート、クロベタゾン、クロベタゾール、及びフルプレドニデンが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0208】

好適な消化酵素サプリメントの代表例としては、パンクレリパーゼ（膵リパーゼ、アミラーゼ及びキモトリプシンの混合物）、パンクレアチン（膵リパーゼ、アミラーゼ及びトリプシンの混合物）、又は1つ若しくは複数のリパーゼ（例えば胆汁塩依存性リパーゼ、膵リパーゼ、胃リパーゼ、膵リパーゼ関連タンパク質1、膵リパーゼ関連タンパク質2、

50

舌リパーゼ)、プロテアーゼ(例えばペプシン、トリプシン及びキモトリプシン)及びアミラーゼ(例えば α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、 γ -アミラーゼ)が挙げられるが、これらに限定されない。これらの酵素は植物酵素又はヒトを含む動物の酵素であり得る。これらの酵素は天然の供給源から得るか、又は分子生物学的技法によって調製することができる。

【0209】

好適な経口抗糖尿病薬の代表例としては、スルホニル尿素類(例えばカルブタミド、アセトヘキサミド、クロルプロパミド、トルブタミド、グリピジド、グリクラジド、グリベンクラミド、グリボルヌリド、グリキドン、グリソキセピド、グリクロピラミド、グリメピリド)、ビグアニド類(例えばメトホルミン、フェノホルミン、ブホルミン、プログアニル)、チアゾリジンジオン類(例えばロシグリタゾン、ピオグリタゾン、トログリタゾン)、アルファグルコシダーゼ阻害剤(例えばアカルボース、ミグリトール、ボグリボース)、メグリチニド類(例えばナテグリニド、レパグリニド、ミチグリニド)、及びグリコ尿酸類(glycosurics)(例えばダバグリフロジン、ガナグリフロジン(ganagliflozin)、イパラグリフロジン、トホグリフロジン、エンパグリフロジン、エタボン酸セルグリフロジン、エタボン酸レモグリフロジン)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0210】

好適な注射用抗糖尿病薬の代表例としては、インスリン及びその類縁体(例えばインスリンリスプロ、インスリンアスパルト、インスリングルリジン、インスリン亜鉛、イソフェンインスリン、インスリングラルギン、インスリンデテミル)、並びにインクレチン模倣物(例えばグルカゴン様ペプチド(GLP)作動薬、例えばエキセナチド、リラグルチド、及びタスポグルチド;並びにジペプチジルペプチダーゼ-4(DPP-4)阻害剤、例えばビルダグリプチン、シタグリプチン、サクサグリプチン、リナグリプチン、アログリプチン及びセプタグリプチン)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0211】

更なるCF医薬品はアルギネートオリゴマーの前に、アルギネートオリゴマーと同時に又はアルギネートオリゴマーの後に好都合に適用することができる。更なるCF医薬品をアルギネートオリゴマーと実質的に同時に又はその後に適用することが好都合である。他の実施の形態では、更なるCF医薬品をアルギネートオリゴマーの前に好都合に適用又は投与することができる。更なるCF医薬品は、使用される薬剤に適切な時点で繰り返し与える(例えば投与又は送達する)ことができる。当業者は好適な投薬計画を考案することが可能である。長期治療では、アルギネートオリゴマーを繰り返し使用してもよい。アルギネートオリゴマーは更なるCF医薬品と同じ頻度で、又はより高い若しくは低い頻度で適用することができる。必要とされる頻度は、アルギネートオリゴマーが投与される粘膜表面の位置、更には治療中の特定の患者が呈する臨床病態(例えばCF)の全体的性質に応じて異なり得る。

【0212】

本発明による使用に提案されたアルギネートオリゴマー及び更なるCF医薬品(又は更なる治療的活性剤)は、例えば単一の医薬配合物若しくは組成物に合わせて又は個別に投与することができる(すなわち、個別の、連続の、又は同時の投与)。したがって、本発明のアルギネートオリゴマー及び更なるCF医薬品を、例えば医薬キットに又は組み合わせた(「組合せ」)生成物として組み合わせることができる。

【0213】

それゆえ、本発明はまた、生成物(例えば、医薬品キット又は組み合わせた(「組合せ」)生成物)又は組成物(例えば、医薬組成物)を提供し、この場合生成物又は組成物は本明細書で規定されるアルギネートオリゴマー及び例えば上記のような更なるCF医薬品(又は更なる治療的活性剤)を含む。本明細書で規定されるアルギネートオリゴマー及び抗生物質、抗真菌剤、NSAID、気管支拡張剤、コルチコステロイド及び/又は粘液粘度低減剤を含む組合せが好ましい。本明細書で規定されるアルギネートオリゴマー及び抗生物質、抗真菌剤及び/又は粘液粘度低減剤を含む組合せが特に好ましい。かかる医薬生成

物及び医薬組成物を本発明の医学的方法への使用に適合させることが好ましい。

【0214】

本発明の医学的方法に使用されるこのような医薬生成物及び医薬組成物を製造するために本明細書において定義されたアルギネートオリゴマーの使用も検討される。

【0215】

本発明のアルギネートオリゴマーを、標的治療部位の粘膜表面で必須の局所濃度を達成するために任意の好都合な形態において、又は任意の好都合な手段により、例えば局所、経腸（例えば経口、口腔、舌下、直腸）、非経口（例えば肝臓内、脾臓内）により、又は吸入（鼻孔吸入を含む）により対象に投与することができる。アルギネートを経腸経路により又は吸入により投与するのが好ましい。女性生殖器系の一部（例えば膣及び子宮頸部）への局所投与も好都合であり得る。アルギネートオリゴマーを多くの異なる経路を介して投与することができることは、肝臓及び脾臓合併症の比較的直接的な治療が可能となるため、現在市販されているCF医薬品に対して有利な点となる。

10

【0216】

当業者であれば、本発明のアルギネートオリゴマーを、当該技術分野において既知であり、文献に広く記載されている従来の方法のいずれかに従って、これらの投与経路に適用する医薬組成物に配合することができるだろう。

【0217】

したがって本発明は、本明細書で規定されるアルギネートオリゴマーを、好ましくは標的治療部位の粘膜表面の必須の局所濃度を達成するのに十分な量で少なくとも1つの薬学的に許容可能な担体、希釈剤又は賦形剤と共に含む、上述の方法又は使用のいずれかに使用される医薬組成物も提供する。この組成物は上記のような他の治療剤も含み得る。

20

【0218】

より具体的には、本発明のアルギネートオリゴマーは、任意に他の活性剤、1つ又は複数の従来の担体、希釈剤及び／又は賦形剤と共に組み込み、従来のガレヌス調製物、例えば錠剤、ピル、粉末（例えば、吸入用乾燥粉末を含む吸入用粉末）、ロゼンジ、サシェ剤、カシェ剤、エリキシル、懸濁液、乳化液、溶液、シロップ、エアロゾル（固体として、又は液体媒体中で）、スプレー（例えば鼻腔用スプレー）、ネブライザにおける使用のための組成物、外用薬、クリーム、軟膏、軟ゼラチンカプセル及び硬ゼラチンカプセル、坐剤、ペッサリー、無菌注射溶液、無菌包装粉末等を製造することができる。腸溶性固体又は液体組成物、無菌吸入用組成物及び無菌注射用組成物は、特に注目すべきである。

30

【0219】

好適な担体、賦形剤及び希釈剤の例は、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アカシアゴム、リン酸カルシウム、不活性アルギネートポリマー、トラガカント、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水シロップ、水、水／エタノール、水／グリコール、水／ポリエチレン、高張食塩水、グリコール、プロピレングリコール、メチルセルロース、メチルヒドロキシベンゾエート、プロピルヒドロキシベンゾエート、タルク、ステアリン酸マグネシウム、鉱油、若しくは脂肪物質（ハードファット等）、又はそれらの好適な混合物である。注目すべき賦形剤及び希釈剤は、マンニトール及び高張食塩水（生理食塩水）である。

40

【0220】

組成物は、滑剤、湿潤剤、乳化剤、懸濁剤、保存料、甘味料、香料等を更に含んでもよい。上記の組合せ療法に関して上で論じたように、更なる治療的活性剤が医薬品組成物中に含まれ得る。

【0221】

非経口で投与可能な形態、例えば上述の肝臓内又は脾臓内経路による送達に好適な溶液は、無菌であり、かつ生理学的に許容不可能な薬剤を含まぬべきであり、投与による刺激又は他の悪影響を最小化するために低浸透圧であるべきであり、したがって該溶液は好ましくは、等張、又はわずかに高張の溶液、例えば高張食塩水（生理食塩水）であるべきで

50

ある。好適なビヒクルは、非経口溶液、例えば無菌注射用水、塩化ナトリウム注射液、リンガー液、デキストロース注射液、デキストロース及び塩化ナトリウム注射液、乳酸加リンガー液、並びにRemington's Pharmaceutical Sciences, 15th ed., Easton: Mack Publishing Co., pp. 1405-1412 and 1461-1487 (1975)及びThe National Formulary XIV, 14th ed. Washington: American Pharmaceutical Association (1975)（その全体が明示的に引用することにより本明細書の一部をなす）に記載されるような他の溶液を投与するために習慣的に使用されている水性ビヒクルを含む。溶液は、バイオポリマーに適合性を有し、かつ製品の製造、貯蔵又は使用を妨げない非経口溶液、賦形剤及び他の添加物のために従来から使用されている保存料、抗菌剤、緩衝液及び抗酸化剤を含有することができる。

10

【0222】

アルギネートオリゴマーの単純な無菌溶液又はアルギネートオリゴマーを含む単純な無菌液状組成物は外科手術時の使用、及び例えばネブライザによる肺への送達又は例えば鼻内噴霧デバイスによる副鼻腔への送達に特に好都合であり得る。

【0223】

アルギネートオリゴマーの固体又は液体配合物に胃及び／又は上部GI管の他の部分における分解を予防するが、下部GI管、例えば小腸における分解を可能とする腸溶コーティングを設けてもよい。かかるコーティングは脂肪酸、ろう、セラック、プラスチック及び植物繊維を含むポリマーから日常的に調製される。その具体例としては、アクリル酸メチルメタクリル酸コポリマー、メタクリル酸メチルメタクリル酸コポリマー、酢酸コハク酸セルロース、フタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチル酢酸コハク酸セルロース（酢酸コハク酸ヒプロメロース）、ポリ酢酸ビニルフタレート（PVAP）、トリメリト酸酢酸セルロース及びアルギン酸ナトリウムポリマーが挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0224】

局所投与のために、アルギネートオリゴマーを、クリーム、外用薬、ゲル、軟膏、経皮パッチ等の中に組み込むことができる。好適であると考えられる更なる局所システムは、例えば、固体、半固体、非晶質、又は液体結晶ゲルマトリクスがin situで形成され、かつアルギネートオリゴマー（本明細書に規定の任意のアルギネートオリゴマーとすることができる）を含み得るゲルのような、in situ薬剤送達システムである。かかるマトリクスは、マトリクスからのアルギネートオリゴマーの放出を制御するように好都合に設計することができ、例えば放出を、選択した一定期間にわたり遅延化及び／又は持続させることができる。かかるシステムは、生物学的な組織又は流体、例えば粘膜表面と接触しただけで、ゲルを形成し得る。通例ゲルは、生体接着性及び／又は粘膜接着性を有する。プレゲル組成物を保持する、又は該組成物を保持するように適合させることができる任意の身体部位への送達は、かかる送達技法により標的とすることができる。かかるシステムは、国際公開第2005/023176号（その全体が明示的に引用することにより本明細書の一部をなす）で説明されている。

30

【0225】

本発明の組成物中のアルギネートオリゴマーの相対含量は、必要とされる投薬量及び従うべき投薬計画に応じて変化し得るが、治療する対象の体格、対象の特定の病気の性質、並びに標的治療部位の位置及び同一性等の可変要素を考慮して、標的治療部位の粘膜表面での必須の局所濃度を達成するのに十分である。当業者であれば、複数回投与計画が続く場合アルギネート量を減少させることができ、又は投与若しくは適用の回数を最小限にするようアルギネート量を増大させることができることがわかるだろう。

40

【0226】

子宮頸部又は下部女性生殖器系の他の部分への本発明のアルギネートオリゴマーの投与に使用することができる代表的な局所配合物、例えばクリーム、外用薬又は軟膏は1%～25%、1%～20%、1%～15%、1%～10%、1%～9%、1%～8%、1%～7%、1%～6%、5%～25%、5%～20%、5%～15%、5%～10%、5%～

50

9 %、5 %～8 %、5 %～7 %、5 %～6 %、8 %～25 %、8 %～20 %、8 %～15 %、8 %～10 %、9 %～25 %、9 %～20 %又は9 %～15 % (w/v) のオリゴマーを含有し、残りの部分は薬学的に許容可能な賦形剤、及び／又は使用される場合に他の活性剤から構成され得る。女性生殖器系への局所配合物の適用のために設計される送達デバイスは既知であり、好都合な場合に上述の配合物を送達するために用いることができる。

【0227】

鼻又は副鼻腔への投与については、無菌水性及び／又は油性液体配合物（例えばエマルション）を使用し、例えば鼻内噴霧デバイス（例えば噴射剤を用いない又は噴射剤を用いる）によって投与することができる。代表的な配合物は1 %～25 %、1 %～20 %、例えば1 %～15 %、1 %～10 %、1 %～9 %、1 %～8 %、1 %～7 %又は1 %～6 %、5 %～25 %、5 %～20 %、5 %～15 %、5 %～10 %、5 %～9 %、5 %～8 %、5 %～7 %、5 %～6 %、8 %～25 %、8 %～20 %、8 %～15 %、8 %～10 %、9 %～25 %、9 %～20 %又は9 %～15 % (w/v又はw/w) のオリゴマーを含有し、残りの部分は薬学的に許容可能な賦形剤、例えば水、及び／又は使用される場合に他の活性剤から構成され得る。

【0228】

他の実施の形態では、徐放性、遅延放出性又は持続放出性配合物を例えば鼻又は副鼻腔への送達に使用することができる。代表的な配合物はアルギネートオリゴマーを含有する粉末又は該粉末の懸濁液であり、該粉末は最大90 %、例えば最大85 %、80 %、75 %又は70 %、例えば50 %～90 %、55 %～90 %、60 %～90 %、65 %～90 %、70 %～90 %、75 %～90 %、80 %～90 %、85 %～90 %、50 %～85 %、55 %～85 %、60 %～85 %、65 %～85 %、70 %～85 %、75 %～85 %、80 %～85 %、50 %～80 %、55 %～80 %、60 %～80 %、65 %～80 %、70 %～80 %、75 %～80 %、50 %～70 %、55 %～70 %、60 %～70 %又は65 %～70 % (w/v又はw/w) のオリゴマーを含有し、残りの部分は薬学的に許容可能な賦形剤及び／又は使用される場合に他の活性剤から構成され得る。粉末はアルギネートオリゴマーの放出を制御するコーティングを含み得る。

【0229】

上気道への本発明のアルギネートオリゴマーの投与に使用される代表的な吸入用溶液は通例無菌であり、6 %～25 %、例えば6 %～20 %、6 %～15 %、6 %～10 %、8 %～25 %、8 %～20 %、8 %～15 %、9 %～25 %、9 %～20 %、9 %～15 %、10 %～15 %、10 %～20 %、10 %～25 %、15 %～20 %又は15 %～25 % (w/v) のオリゴマーを含有し、残りの部分は薬学的に許容可能な賦形剤、例えば水、及び／又は使用される場合に他の活性剤から構成され得る。

【0230】

下気道への本発明のアルギネートオリゴマーの投与に使用される代表的な吸入用粉末は最大90 %、例えば最大85 %、80 %、75 %又は70 %、例えば50 %～90 %、55 %～90 %、60 %～90 %、65 %～90 %、70 %～90 %、75 %～90 %、80 %～90 %、85 %～90 %、50 %～85 %、55 %～85 %、60 %～85 %、65 %～85 %、70 %～85 %、75 %～85 %、80 %～85 %、50 %～80 %、55 %～80 %、60 %～80 %、65 %～80 %、70 %～80 %、75 %～80 %、50 %～70 %、55 %～70 %、60 %～70 %又は65 %～70 % (w/v又はw/w) のオリゴマーを含有し、残りの部分は薬学的に許容可能な賦形剤及び／又は使用される場合に他の活性剤から構成され得る。

【0231】

下部GI管への本発明のアルギネートオリゴマーの投与に使用される代表的な錠剤は最大99 %、最大95 %、90 %、85 %又は80 %、例えば50 %～95 %、55 %～95 %、60 %～95 %、65 %～95 %、70 %～95 %、75 %～95 %、80 %～95 %、85 %～95 %、90 %～95 %、50 %～90 %、50 %～90 %、55 %～9

0 %、60 %～90 %、65 %～90 %、70 %～90 %、75 %～90 %、80 %～90 %、85 %～90 %、50 %～90 %、55 %～85 %、60 %～80 %又は65 %～75 % (w/v又はw/w) のオリゴマーを含有し、残りの部分は薬学的に許容可能な賦形剤及び／又は使用される場合に他の活性剤から構成され得る。

【0232】

腸溶性錠剤も下部GI管への本発明のアルギネートオリゴマーの投与に効果的であり得る。代表的な腸溶性錠剤は最大95 %、例えば最大90 %、85 %又は80 %、例えば55 %～90 %、60 %～90 %、65 %～90 %、70 %～90 %、75 %～90 %、80 %～90 %、85 %～90 %、55 %～85 %、60 %～85 %、65 %～85 %、70 %～85 %、75 %～85 %、80 %～85 %、50 %～80 %、55 %～80 %、60 %～80 %、65 %～80 %、70 %～80 %又は75 %～80 % (w/v又はw/w) のオリゴマーを含有し、残りの部分は腸溶コーティング（例えば脂肪酸、ろう、セラック、プラスチック及び植物繊維を含むポリマー）を含む薬学的に許容可能な賦形剤、及び／又は使用される場合に他の活性剤から構成され得る。

【0233】

ペッサリーを女性生殖管の下部への本発明のアルギネートオリゴマーの投与に使用することができる。代表的な配合物は1 %～25 %、1 %～20 %、例えば1 %～15 %、1 %～10 %、1 %～9 %、1 %～8 %、1 %～7 %、1 %～6 %、5 %～25 %、5 %～20 %、5 %～15 %、5 %～10 %、5 %～9 %、5 %～8 %、5 %～7 %、5 %～6 %、8 %～25 %、8 %～20 %、8 %～15 %、8 %～10 %、9 %～25 %、9 %～20 %又は9 %～15 % (w/v又はw/w) のオリゴマーを含有し、残りの部分は固体賦形剤（例えばパラフィン等）を含む薬学的に許容可能な賦形剤、及び／又は使用される場合に他の活性剤から構成され得る。

【0234】

肝臓、脾臓又は生殖器系の粘膜表面への直接送達のための代表的な水溶液は無菌であり、6 %～25 %、例えば6 %～20 %、6 %～15 %、6 %～10 %、8 %～25 %、8 %～20 %、8 %～15 %、9 %～25 %、9 %～20 %、9 %～15 %、10 %～15 %、10 %～20 %、10 %～25 %、15 %～20 %又は15 %～25 % (w/v) のオリゴマーを含有し、残りの部分は水及び薬学的に許容可能な賦形剤、及び／又は使用される場合に他の活性剤から構成され得る。

【0235】

本発明は、以下の非限定的な実施例を参照して更に説明される。

【図面の簡単な説明】

【0236】

【図1】回腸の粘液厚さを測定するために実施例において用いられる技法の図表示である。(A) 粘液上の炭粒子から絨毛先端部までの初期粘液厚さを測定した(図3、図5、図6及び図7中の「Pre」)。除去の後、炭粒子から絨毛先端部までの粘液厚さを再度測定した(図3、図5、図6及び図7中の「Post」)。(B) 全粘液厚さを確立するために、全ての粘液を除去し、新たな炭及びクレブスーマンニトールをチャンバに添加し、炭から絨毛先端部までの絨毛高を測定した。

【図2】粘液厚さが1 %、1.2 %、1.5 %、2 %、3 %又は6 %頂端Oligo Gとのインキュベーションの影響を受けなかったことを示す図である。1.2 % (丸) 若しくは1.5 % (三角) のOligo G (2A) 又は1 % (四角)、2 % (三角)、3 % (逆三角) 若しくは6 % (菱形) のOligo G (2B) を含有するクレブスーマンニトールを既に形成された粘液上で1時間インキュベートし、粘液厚さを1時間にわたって20分毎に測定した。1 %、n = 3 ; 1.2 %及び1.5 %、n = 5 ; 2 %及び3 %、n = 6 ; 及び6 %、n = 3。

【図3】粘液の付着が漸増濃度のOligo Gとの1時間のインキュベーション後に減少することを示す図である。Cftr Δ F508突然変異体マウスに由来する回腸外植片を1.2 %若しくは1.5 %のOligo G (3A) 又は1 %、2 %、3 %若しくは6 %の

O l i g o G (3 B) を含有するクレブスーマンニトールで覆い、外植片の粘膜側の粘液の厚さを測定した。1時間のインキュベーション後に、標準的な粘液除去を行い、厚さを測定した。標準化粘液除去の前 (P r e ; 白色バー) 及び後 (P o s t ; 黒色バー) の粘液厚さを示す。1 %、n = 3 ; 1 . 2 % 及び 1 . 5 %、n = 5 (P = 0 . 0 0 8) ; 2 % 及び 3 %、n = 6 ; 及び 6 %、n = 3。

【図 4】粘液厚さが 1 . 5 % 又は 3 % の頂端アルギネートオリゴマー (6 m e r、8 8 % G 又は 2 1 m e r、8 8 % G) とのインキュベーションの影響を受けなかったことを示す図である。1 . 5 % の 6 m e r (菱形)、3 % の 6 m e r (逆三角)、1 . 5 % の 2 1 m e r (三角) 及び 3 % の 2 1 m e r (四角) を含有するクレブスーマンニトールを既に形成された粘液上で 1 時間インキュベートし、粘液厚さを 1 時間にわたって 2 0 分毎に測定した。

【図 5】粘液の付着が 1 . 5 % 又は 3 % の頂端アルギネートオリゴマー (6 m e r、8 8 % G (D P 6) 又は 2 1 m e r、8 8 % G (D P 2 1)) との 1 時間のインキュベーション後に減少することを示す図である。C f t r Δ F 5 0 8 突然変異体マウスに由来する回腸外植片を、1 . 5 % 又は 3 % のオリゴマーを含有するクレブスーマンニトールで覆い、外植片の粘膜側の粘液の厚さを測定した。1 時間のインキュベーション後に、標準的な粘液除去を行い、厚さを測定した。標準化粘液除去の前 (P r e ; 白色バー) 及び後 (P o s t ; 黒色バー) の粘液厚さを示す。

【図 6】粘液の付着が 1 . 5 % 又は 3 % の頂端アルギネートオリゴマー (6 m e r (G 6)、1 2 m e r (G 1 2) 又は 2 0 m e r (G 2 0) ; 全て少なくとも 8 5 % の G 残基を含有する) との 1 時間のインキュベーション後に減少することを示す図である。C f t r Δ F 5 0 8 突然変異体マウスに由来する回腸外植片を、1 . 5 % 又は 3 % のオリゴマーを含有するクレブスーマンニトールで覆い、外植片の粘膜側の粘液の厚さを測定した。1 時間のインキュベーション後に、標準的な粘液除去を行い、厚さを測定した (n = 4) 。標準化粘液除去の前 (P r e ; 白色バー) 及び後 (P o s t ; 黒色バー) の粘液厚さを示す。

【図 7】粘液の付着が 1 . 5 % 又は 3 % の頂端アルギネートオリゴマー (1 2 m e r、1 0 0 % M (M 1 2) ; およそ同量の M 及び G を交互の配列で含有する 1 2 m e r ~ 1 4 m e r (M G 1 2 ~ 1 4)) との 1 時間のインキュベーション後に減少しないか、又はわずかにしか減少しないことを示す図である。C f t r Δ F 5 0 8 突然変異体マウスに由来する回腸外植片を、1 . 5 % 又は 3 % のオリゴマーを含有するクレブスーマンニトールで覆い、外植片の粘膜側の粘液の厚さを測定した。1 時間のインキュベーション後に、標準的な粘液除去を行い、厚さを測定した (n = 4) 。標準化粘液除去の前 (P r e ; 白色バー) 及び後 (P o s t ; 黒色バー) の粘液厚さを示す。

【図 8】粘液厚さが 1 . 5 % 又は 3 % の頂端アルギネートオリゴマー : 8 A - 1 2 m e r、1 0 0 % M (M 1 2 - それぞれ四角及び三角) ; およそ同量の M 及び G を交互の配列で含有する 1 2 m e r ~ 1 4 m e r (M G 1 2 ~ 1 4 - それぞれ逆三角及び菱形) ; 8 B - 少なくとも 8 5 % の G 残基を含有する 6 m e r (G 6 - それぞれ白四角及び三角) ; 少なくとも 8 5 % の G 残基を含有する 1 2 m e r (G 1 2 - それぞれ逆三角及び菱形) ; 又は少なくとも 8 5 % の G 残基を含有する 2 0 m e r (G 2 0 - それぞれ丸及び黒四角)) とのインキュベーションの影響を受けなかったことを示す図である。アルギネートオリゴマーを含有するクレブスーマンニトールを既に形成された粘液上で 1 時間インキュベートし、粘液厚さを 1 時間にわたって 2 0 分毎に測定した。

【発明を実施するための形態】

【実施例】

【0237】

実施例 1 - 材料及び標準方法

動物

C 5 7 B L / 6 バックグラウンドのホモ接合 C f t r Δ F 5 0 8 マウス (1 3 世代にわたって戻し交配した) を、制御温度 (2 1 ° C ~ 2 2 ° C)、湿度及び 1 2 時間の明 / 暗サイ

10

20

30

40

50

クル下の個別換気ケージにおいて特定病原体除去条件下で維持し、末端回腸閉塞を回避するためのPEG及び塩を含む特別な固形飼料及び水の自由摂餌で管理し、実験の4日～7日前に定期的に水を与えた。動物をヘテロ接合交雑によって繁殖させ、離乳時に生検を行い、生検材料から調製したゲノムDNAをPCRベースの方法によって遺伝子型決定した。PCR産物を制限酵素によって切断し、アガロースゲル上のパターンを確認し、動物の分類に使用した。動物実験の倫理審査による承認はヨーテボリ動物実験倫理委員会 (Ethics Committee for Animal experiments in Gothenburg) によって与えられた。

【0238】

外植組織

マウスをイソフルラン及び頸椎脱臼によって安楽死させた。回腸末端部を解剖し、氷冷95%O₂/5%CO₂クレブス溶液(116mM NaCl、1.3mM CaCl₂、3.6mM KCl、1.4mM KH₂PO₄、23mM NaHCO₃及び1.2mM MgSO₄; pH7.4)で洗い、輸送の間(30分間)氷上に維持した。組織を腸間膜縁に沿って切開し、縦走平滑筋を除去し、組織を2片に分け、4.9mm²の円形開口部を有する水平Ussing型灌流チャンバ(非特許文献2、上掲)にマウントした。チャンバを、実験を37℃で行うことを可能にする温度調節器(Harvard Apparatus, Holliston, Massachusetts)に接続した加熱ブロックに取り付けた。頂端溶液は粘液ゲルの擾乱を回避するために攪拌せずに維持し、漿膜チャンバは5ml/時間の速度で絶えず灌流させた。実験全体を通した経上皮電位差(PD)を、寒天橋(4%寒天、0.9%NaCl)を介して組織浴に接続したカロメル電極(Ref201; Radiometer, Copenhagen, Denmark)を用いて測定した。漿膜チャンバは10mM グルコース、5.1mMグルタミン酸Na及び5.7mMピルビン酸Naを含有する95%O₂/5%クレブス溶液(クレブス-グルコース)を絶えず灌流させた。頂端チャンバには、グルコースを10mM D-マンニトール(クレブス-マンニトール)に置き換えた150μlの同様の95%O₂/5%CO₂バブリングクレブス溶液を満たした。95%O₂/5%CO₂によるバブリング後に、これらの溶液のpHは7.4であった。組織の2つの隣接部分を並行して分析した。

【0239】

粘液厚さの測定

粘液表面を活性炭粒子(Fluka, Sigma-Aldrich, Stockholm, Sweden)によって可視化した。粘液厚さを、5μm～10μmの先端径まで引いたマイクロピペット(OD:1.2mm、ID:0.6mm)を用いて炭粒子と絨毛先端部との間の距離(D)を測定することによって評価した。マイクロピペットを、デジマチックインジケータ(株式会社ミットヨ、東京、日本)に接続したマイクロマニピュレータ(自社)に取り付けた。組織を40倍の倍率の実体顕微鏡(Leica MZ125, Leica, Wetzlar, Germany)で調べた。上皮表面のレベルを、マイクロピペットの先端及び上皮表面が同じ焦点面になる点で決定した。マイクロピペットを40度の一定の角度に維持し、垂直方向の粘液の厚さを距離(D)にcos40を乗算することによって得た。各々の点で5回の測定を行い、平均厚さを算出し、単一値として使用した。

【0240】

粘液付着性の測定

粘液層の付着性を、全粘液厚さと吸引後に残る粘液厚さとを比較することによって評価した。吸引手順を小プラスチックパスツールピペット(PP-101、先端外径0.9mm、先端内径0.7mm、最大体積800μl; Cell Projects, Harrietsham, UK)を用いて標準化された方法で行った。圧迫されたピペットの先端をチャンバ開口部の端に置き、3秒間かけてゆっくりと開き、頂端チャンバ溶液及び非付着性粘液を吸引した。ピペットのサイズは一工程で全頂端溶液を除去することが可能なものである。残存粘液厚さを、頂端チャンバに150μlのクレブス-マンニトールを再充填し、新たな炭粒子を添加した後に測定した。粘液層を完全に除去した後、絨毛先端部と絨毛間の表面上皮との間の距離を測定することによって絨毛高を評価した。全粘液厚さをこれら2つの測定値の合計と

して表す（図1）。

【0241】

統計

結果は±SEMとして表す。各群中の動物の数はnで示す。マンホイットニーU検定を用いて差を試験した。

【0242】

実施例2—Oligo Gとのインキュベーション時の粘液厚さの測定

Cftr Δ F508突然変異体マウスに由来する外植片をUssing型チャンバにマウントした後、1.2%及び1.5%のOligo G（13mer、93%G）を含有するクレブス—マンニトールバッファ（pH7.4）を頂端チャンバに添加した。回腸外植片上の粘液厚さを1時間にわたって20分毎に測定した。図2Aは、この時間にわたって粘液厚さの変化が存在しないことを示す。どちらの群も5匹の動物を含有する。実験を1%、2%、3%又は6%のOligo G濃度で繰り返した。図2Bは治療期間にわたって粘液厚さの変化が存在しないことを示す。1%群には3匹の動物が存在し、2%及び3%の群は各々6匹の動物からなり、6%の群は3匹の動物で構成される。

【0243】

1%、1.2%、1.5%、2%、3%又は6%の濃度のOligo Gとのインキュベーションは、37℃で1時間にわたって既に形成された粘液の粘液厚さの増大を引き起こさなかった。

【0244】

実施例3—Oligo Gとのインキュベーションに続く標準化粘液除去時の粘液厚さの測定

Cftr Δ F508突然変異体マウスに由来する回腸外植片を漸増濃度のOligo G中で1時間にわたってインキュベートし、その間の粘液厚さを20分毎に測定した。1時間の時点で標準化粘液除去を行い、上皮への粘液の付着を評価した。図3A及び図3Bは共に1%、1.2%、1.5%、2%、3%又は6%のOligo Gに曝露された外植片における吸引（除去）前（Pre）及び後（Post）の粘液厚さを示す。粘液は1%のOligo Gとのインキュベーション後に依然として付着している。1.2%のOligo Gとの1時間のインキュベーション後では粘液をほぼ完全に除去することが可能であり、1.5%、2%、3%又は6%のOligo Gとの1時間のインキュベーション後では粘液を完全に除去することが可能であった。これにより、粘液がより正常な（脱離）表現型への転換を受けたことが示される。実体顕微鏡下での組織の肉眼検査により、Oligo Gとのインキュベーション後に明白な損傷が存在しないことが明らかである。

【0245】

実施例4—様々なサイズのグリッチアルギネートオリゴマーとのインキュベーション時の粘液厚さの測定

Cftr Δ F508突然変異体マウスに由来する外植片をUssing型チャンバにマウントした後、1.5%又は3%のアルギネートオリゴマー（6mer、88%G又は21mer、88%G）を含有するクレブス—マンニトールバッファ（pH7.4）を頂端チャンバに添加した。回腸外植片上の粘液厚さを1時間にわたって20分毎に測定した。図4は、1.5%又は3%濃度のいずれかのアルギネートオリゴマーとのインキュベーションが、37℃で1時間にわたって既に形成された粘液の粘液厚さの増大を引き起こさなかったことを示す。

【0246】

実施例5—様々なサイズのグリッチアルギネートオリゴマーとのインキュベーションに続く標準化粘液除去時の粘液厚さの測定

Cftr Δ F508突然変異体マウスに由来する回腸外植片を1.5%又は3%のアルギネートオリゴマー（6mer、88%G又は21mer、88%G）中で1時間にわたってインキュベートし、その間の粘液厚さを20分毎に測定した。1時間の時点で標準化粘液除去を行い、上皮への粘液の付着を評価した。図5は1.5%又は3%の各々のアル

ギネートオリゴマーに曝露された外植片における吸引（除去）前（Pre）及び後（Post）の粘液厚さを示す。3%の各オリゴマーとの1時間のインキュベーション後では少なくとも50%の粘液を除去することが可能であった。1.5%濃度の21merは3%濃度の21merよりもわずかに効果が低かったが、3%濃度の6merよりも効果的であった。1.5%濃度の6merは試験される治療で最も効果が低かったが、それにもかかわらず部分的な脱離が見られた。

【0247】

実施例6—様々なサイズのグリッチアルギネートオリゴマーとのインキュベーションに続く標準化粘液除去時の粘液厚さの測定

（先の実施例において使用され、取り扱われるような）Cftr Δ F508突然変異体マウスに由来する回腸外植片を1.5%又は3%のアルギネートオリゴマー（6mer、12mer又は20mer；全て少なくとも85%のG残基を含有する）中で1時間にわたってインキュベートし、その間の粘液厚さを20分毎に測定した。1時間の時点で標準化粘液除去を行い、上皮への粘液の付着を評価した。図6は1.5%又は3%の各々のアルギネートオリゴマーに曝露された外植片における吸引（除去）前（Pre）及び後（Post）の粘液厚さを示す。

【0248】

試験した全サイズのグリッチオリゴマーは1.5%及び3%の濃度で粘液脱離を引き起こした。全ての例で3%濃度は1.5%濃度よりも効果的であった。6mer及び20merは全体的に同様の結果をもたらした。12merは、1.5%濃度及び3%濃度の両方で他のサイズよりも著しく効果的であった。実際に、12merによる処理は1.5%濃度及び3%濃度の両方で粘液を完全に吸引することを可能にし、より正常な表現型への粘液の転換を示した。明らかに、6mer及び20merのオリゴマーは濃度に応じて様々な程度にこの目的を達成することができる。3%濃度では6mer又は20merにより誘導される脱離は1.5%濃度の12mer、すなわち正常とみなされる表現型とほぼ同様に完全であった。

【0249】

実施例7—Mグリッチアルギネートオリゴマー及び交互のM/G残基のアルギネートオリゴマーとのインキュベーションに続く標準化粘液除去時の粘液厚さの測定

（先の実施例において使用され、取り扱われるような）Cftr Δ F508突然変異体マウスに由来する回腸外植片を1.5%又は3%のアルギネートオリゴマー（12mer、100%M；およそ同量のM及びGを交互の配列で含有する12mer~14mer）中で1時間にわたってインキュベートし、その間の粘液厚さを20分毎に測定した。1時間の時点で標準化粘液除去を行い、上皮への粘液の付着を評価した。図7は1.5%又は3%の各々のアルギネートオリゴマーに曝露された外植片における吸引（除去）前（Pre）及び後（Post）の粘液厚さを示す。

【0250】

このアッセイでは、1.5%又は3%の濃度の高M 12merとのインキュベーション後に粘液はCFマウスと同様に付着した。1.5%のMG 12mer~14merもこのアッセイでは粘液の付着に対してほとんど効果がなかった。MG 12mer~14merの濃度を3%まで増大したところ、粘液はCF回腸の場合よりもわずかに容易に吸引されたが、依然としてWT回腸の場合よりも付着していた。濃度を例えば6%まで高くすることで効果の増大を見ることができる。

【0251】

実施例8—様々なサイズ並びにM及びG含量のアルギネートオリゴマーとのインキュベーション時の粘液厚さの測定

Cftr Δ F508突然変異体マウスに由来する外植片を（先に記載されるような）Ussing型チャンバにマウントした後、1.5%又は3%のアルギネートオリゴマー（少なくとも85%のG残基を含有する6mer；少なくとも85%のG残基を含有する12mer；少なくとも85%のG残基を含有する20mer；12mer、100%M；

およそ同量のM及びGを交互の配列で含有する12mer～14mer)を含有するクレブス・マンニトールバッファー(pH7.4)を頂端チャンバに添加した。回腸外植片上の粘液厚さを1時間にわたって20分毎に測定した。図8A及び図8Bは、1.5%又は3%濃度のいずれかの試験されるアルギネートオリゴマーとのインキュベーションが、37℃で1時間にわたって既に形成された粘液の粘液厚さの増大を引き起こさなかったことを示す。

【図1】

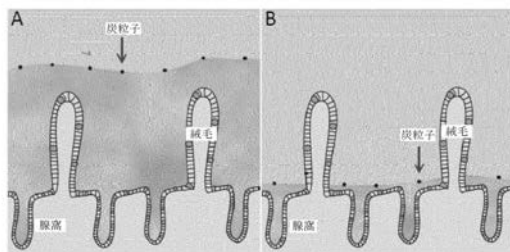


Figure 1

【図2B】

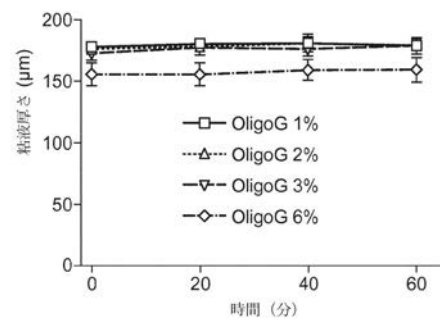


Figure 2B

【図2A】

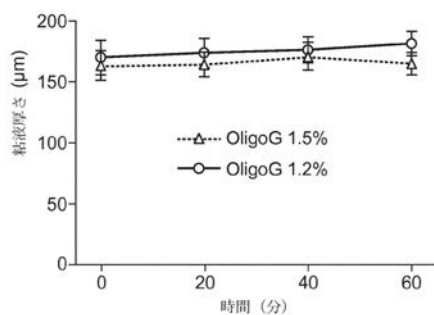


Figure 2A

【図3A】

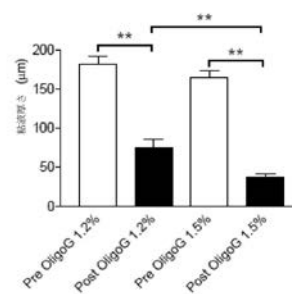


Figure 3A

【図 3 B】

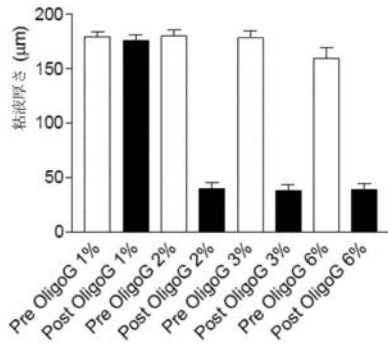


Figure 3B

【図 5】

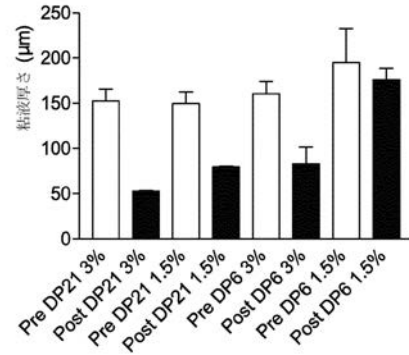


Figure 5

【図 4】

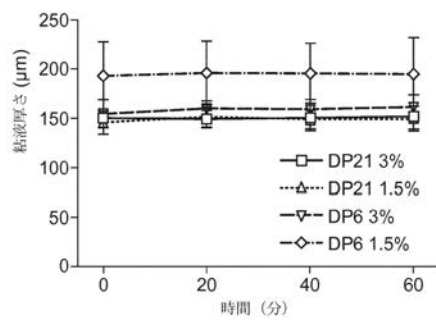


Figure 4

【図 6】

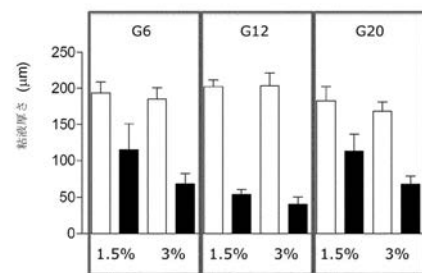


Figure 6

【図 7】

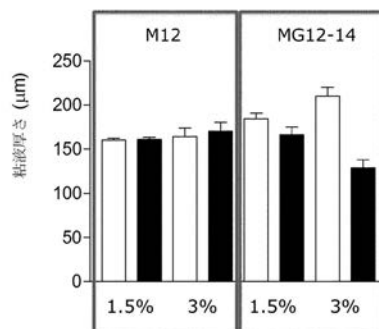


Figure 7

【図 8 B】

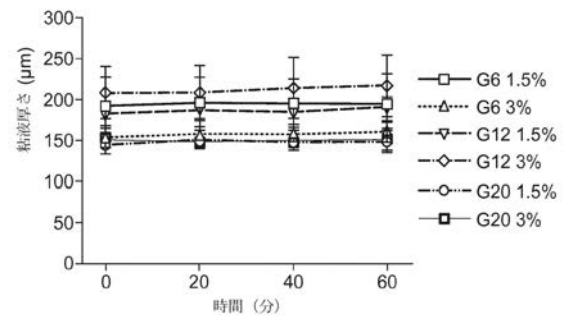


Figure 8B

【図 8 A】

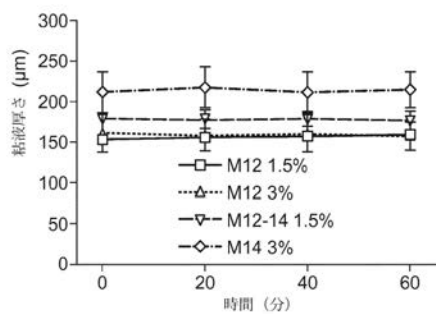


Figure 8A

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2015/054207

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/715 A61P11/12
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)

A61K A61P

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, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/039754 A1 (NTNU TECHNOLOGY TRANSFER AS [NO]; COCKBAIN JULIAN [GB]; TAYLOR CATHERI) 12 April 2007 (2007-04-12) claims -----	1-18
X	WO 2008/125828 A2 (NTNU TECHNOLOGY TRANSFER AS [NO]; COCKBAIN JULIAN [GB]; TAYLOR CATHERI) 23 October 2008 (2008-10-23) claim 1 -----	1-18
X	WO 2009/068841 A2 (ALGIPHARMA IPR AS [NO]; DZIEGLEWSKA HANNA [GB]; ONSOYEN EDVAR [NO]; MY) 4 June 2009 (2009-06-04) claims ----- -/--	1-18

☒ 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

18 May 2015

Date of mailing of the international search report

27/05/2015

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

Büttner, Ulf

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/054207

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/139959 A2 (ALGIPHARMA IPR AS [NO]; ONSOEYEN EDVAR [NO]; MYRVOLD ROLF [NO]; DESSEN) 9 December 2010 (2010-12-09) claims -----	1-18
X	WO 2010/139956 A1 (ALGIPHARMA IPR AS [NO]; ONSOEYEN EDVAR [NO]; MYRVOLD ROLF [NO]; DESSEN) 9 December 2010 (2010-12-09) claims -----	1-18
X	ONSOEYEN EDVAR J: "Alginate Oligosaccharides: OligoG for the Treatment of Biofilms", ABSTRACTS OF THE INTERSCIENCE CONFERENCE ON ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 52, 2012, page 1105, XP009183492, & 52ND INTERSCIENCE CONFERENCE ON ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY (ICAAC); SAN FRANCISCO, CA, USA; SEPTEMBER 09 -12, 2012 ISSN: 0733-6373 the whole document -----	1-18
X	CATHERINE TAYLOR NORDGÅRD ET AL: "Oligosaccharides As Modulators of Rheology in Complex Mucous Systems", BIOMACROMOLECULES, vol. 12, no. 8, 8 August 2011 (2011-08-08) , pages 3084-3090, XP055180219, ISSN: 1525-7797, DOI: 10.1021/bm200727c page 3088, column 1 page 3089, column 1 -----	1-18
X	MARIT SLETMOEN ET AL: "Oligoguluronate induced competitive displacement of mucin-alginate interactions: relevance for mucolytic function", SOFT MATTER, vol. 8, no. 32, 1 January 2012 (2012-01-01), page 8413, XP055180435, ISSN: 1744-683X, DOI: 10.1039/c2sm26256h page 8420, column 1, last paragraph -----	1-18
A	J. G. LEID ET AL: "The Exopolysaccharide Alginate Protects Pseudomonas aeruginosa Biofilm Bacteria from IFN- γ -Mediated Macrophage Killing", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 175, no. 11, 1 December 2005 (2005-12-01), pages 7512-7518, XP055180154, ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.175.11.7512 page 7517, column 2 ----- -/--	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/054207

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	Philip D Rye ET AL: "Alginate Oligosaccharides for the Treatment of Cystic Fibrosis", 21 May 2014 (2014-05-21), XP055180055, 10th International Symposium on Polymer Therapeutics Retrieved from the Internet: URL: http://www.algipharma.com/images/Marking/News/AlgiPharma - Rye ISPT 2014.pdf [retrieved on 2015-03-30] the whole document -----	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/054207

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007039754 A1	12-04-2007	AU 2006298544 A1	12-04-2007
		BR P10616982 A2	05-07-2011
		CA 2624568 A1	12-04-2007
		CN 101325973 A	17-12-2008
		DK 1942938 T3	17-09-2012
		EA 200801033 A1	30-10-2008
		EP 1942938 A1	16-07-2008
		EP 1954315 A2	13-08-2008
		EP 2311497 A1	20-04-2011
		ES 2390974 T3	20-11-2012
		GB 2430881 A	11-04-2007
		HK 1125855 A1	01-11-2013
		JP 5313677 B2	09-10-2013
		JP 2009511455 A	19-03-2009
		KR 20080080491 A	04-09-2008
		US 2009010914 A1	08-01-2009
		US 2009156549 A1	18-06-2009
		WO 2007039754 A1	12-04-2007
		WO 2007039760 A2	12-04-2007
WO 2008125828 A2	23-10-2008	AU 2008237710 A1	23-10-2008
		BR P10810179 A2	30-12-2014
		CA 2683914 A1	23-10-2008
		CA 2817754 A1	23-10-2008
		CN 101711159 A	19-05-2010
		EA 200901299 A1	30-06-2010
		EP 2155211 A2	24-02-2010
		EP 2500025 A1	19-09-2012
		JP 5649443 B2	07-01-2015
		JP 2010523636 A	15-07-2010
		JP 2014129401 A	10-07-2014
		KR 20100016492 A	12-02-2010
		KR 20130106446 A	27-09-2013
		US 2010152122 A1	17-06-2010
		WO 2008125828 A2	23-10-2008
WO 2009068841 A2	04-06-2009	AU 2008328567 A1	04-06-2009
		BR P10819613 A2	07-10-2014
		CA 2706637 A1	04-06-2009
		CN 101939030 A	05-01-2011
		CN 104189908 A	10-12-2014
		EP 2268142 A2	05-01-2011
		JP 5639475 B2	10-12-2014
		JP 2011505340 A	24-02-2011
		JP 2015057402 A	26-03-2015
		KR 20100099213 A	10-09-2010
		RU 2010120766 A	10-01-2012
		US 2010305062 A1	02-12-2010
		US 2014205643 A1	24-07-2014
		WO 2009068841 A2	04-06-2009
WO 2010139959 A2	09-12-2010	NONE	
WO 2010139956 A1	09-12-2010	AU 2010255542 A1	19-01-2012
		AU 2010255543 A1	19-01-2012
		CA 2764195 A1	09-12-2010
		CA 2764197 A1	09-12-2010
		CN 102458474 A	16-05-2012

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/054207

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		CN 102497883 A	13-06-2012
		DK 2437783 T3	20-01-2014
		DK 2437784 T3	27-01-2014
		EP 2437783 A1	11-04-2012
		EP 2437784 A1	11-04-2012
		ES 2442793 T3	13-02-2014
		ES 2444541 T3	25-02-2014
		GB 2483203 A	29-02-2012
		GB 2483413 A	07-03-2012
		JP 5202763 B2	05-06-2013
		JP 5202764 B2	05-06-2013
		JP 2012528840 A	15-11-2012
		JP 2012528841 A	15-11-2012
		KR 20120034680 A	12-04-2012
		KR 20120035166 A	13-04-2012
		PT 2437783 E	22-01-2014
		PT 2437784 E	13-02-2014
		RS 53136 B	30-06-2014
		RS 53139 B	30-06-2014
		RU 2011148757 A	20-07-2013
		RU 2011148758 A	20-07-2013
		SI 2437783 T1	30-04-2014
		SI 2437784 T1	30-04-2014
		US 2012115803 A1	10-05-2012
		US 2012122768 A1	17-05-2012
		WO 2010139956 A1	09-12-2010
		WO 2010139957 A1	09-12-2010

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 11/04 (2006.01)	A 6 1 P 11/04	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 1/18 (2006.01)	A 6 1 P 1/18	
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
C 0 8 B 37/04 (2006.01)	C 0 8 B 37/04	
A 6 1 P 1/02 (2006.01)	A 6 1 P 1/02	
A 6 1 P 1/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
	A 6 1 P 43/00	1 2 1

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

(72)発明者 ミュルセット アストリッド ヒルデ
ノルウェー国 エヌー 0 8 7 3 オスロ トーセン テラッセ 4 エー

(72)発明者 デッセン アルネ
ノルウェー国 エヌー 3 4 4 0 ロイケン アルスタハウグ テラッセ 2 0

(72)発明者 オンソイエン エドヴァル ジェイ
ノルウェー国 エヌー 3 0 3 2 ドランメン スコブリネ 6

(72)発明者 ライ フィリップ ディー.
ノルウェー国 エヌー 1 3 5 9 アイクスマルカ カルデラヴァイエン 1 1

F ターム(参考) 4C084 AA19 MA52 MA55 MA56 MA57 MA59 MA60 NA05 NA14 ZA341
ZA342 ZA591 ZA592 ZA661 ZA662 ZA671 ZA672 ZA751 ZA752 ZA811
ZA812 ZB111 ZB112 ZB211 ZB212 ZB351 ZB352 ZC751 ZC752
4C086 AA01 AA02 AA03 EA25 MA01 MA02 MA04 NA05 NA14 ZA34
ZA59 ZA66 ZA67 ZA75 ZA81 ZB11 ZB21 ZB35 ZC75
4C090 AA01 AA09 BA72 BC06 BC19 BD35 BD37 DA09 DA23