(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2022-508619
(P2022-508619A)
(43)公表日　令和4年1月19日(2022.1.19)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*38/10 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/10		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*31/7088(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7088	ＺＮＡ	４Ｃ０８６
Ａ６１Ｐ	*29/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	29/00		４Ｃ０８７
Ａ６１Ｐ	*1/04 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/04		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｐ	*11/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/00		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全90頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-543982(P2021-543982)
(86)(22)出願日　令和1年10月3日(2019.10.3)
(85)翻訳文提出日　令和3年5月24日(2021.5.24)
(86)国際出願番号　PCT/US2019/054546
(87)国際公開番号　WO2020/072805
(87)国際公開日　令和2年4月9日(2020.4.9)
(31)優先権主張番号　62/741,188
(32)優先日　平成30年10月4日(2018.10.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　521149622
ラトガーズ， ザ ステイト ユニバーシティ オブ ニュー ジャージー
アメリカ合衆国 ニュージャージー ０８８５４， ピスカタウェイ， ナイツブリッジ ロード ３３， ２エヌディー フロア イースト
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田 貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川 大輔
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ニューロメジンペプチドを使用して２型サイトカイン媒介性炎症を低減させる方法

(57)【要約】
たとえば、天然およびバリアントのニューロメジンＢ（Ｎｍｂ）ペプチドまたはコーディング配列を使用して、ＩＬ－５およびＩｌ－１３活性を低減させることによって、２型サイトカイン媒介性炎症を低減させるための方法が、提供される。そのような方法は、炎症性障害、たとえば、喘息、ＣＯＰＤ、またはアレルギー反応を処置するために使用することができる。また、改変されたＮｍｂペプチドも提供される。好塩基球の非存在下では、Ｎｂに誘導されるＩＬＣ２応答が誇張され、炎症の増加および肺機能の低減が生じることが、本明細書において示される。

FIG. 8A

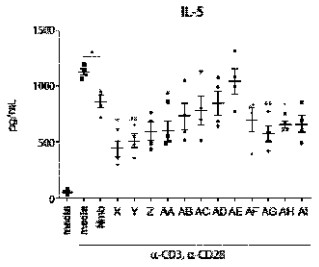
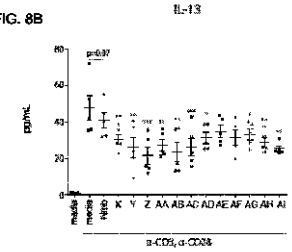


FIG. 8B



【特許請求の範囲】
【請求項１】
哺乳動物対象における障害を処置する方法であって、
前記対象に、治療有効量の、少なくとも１つのニューロメジンＢ（Ｎｍｂ）タンパク質、または少なくとも１つのＮｍｂタンパク質をコードする少なくとも１つの核酸分子を投与するステップ
を含み、それによって前記障害を処置する、方法。
【請求項２】
前記障害が、炎症性障害である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記障害が、望ましくないインターロイキン－５（ＩＬ－５）および／またはＩＬ－１３活性と関連しており、治療有効量の１つもしくは複数のＮｍｂタンパク質または１つもしくは複数のＮｍｂタンパク質をコードする１つもしくは複数の核酸分子を投与することにより、ＩＬ－５および／またはＩＬ－１３活性を低減させ、それによって、前記障害を処置する、請求項１または２に記載の方法。
【請求項４】
前記障害が、アレルギー、好酸球性障害、または気道障害である、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記気道障害が、喘息、副鼻腔炎、特発性肺線維症、鼻炎、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、好酸球性食道炎、またはＣＯＰＤである、請求項４に記載の方法。
【請求項６】
前記障害が、皮膚障害である、請求項１に記載の方法。
【請求項７】
前記皮膚障害が、湿疹、アトピー性皮膚炎、または蕁麻疹である、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記障害が、表１に列挙されるものである、請求項１に記載の方法。
【請求項９】
前記少なくとも１つのＮｍｂタンパク質が、配列番号２６、２７、２９、３５、３６、１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２８、３０、３１、３２、３３、３４、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を含むか、または前記少なくとも１つの核酸分子が、配列番号２６、２７、２９、３５、３６、１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２８、３０、３１、３２、３３、３４、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を含む少なくとも１つのＮｍｂタンパク質をコードする、請求項１から８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０】
前記少なくとも１つの核酸分子が、配列番号２に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を含む、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
前記少なくとも１つの核酸分子が、プラスミドまたはウイルスベクターを含む、請求項１から１０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２】
前記ウイルスベクターが、レンチウイルスベクターまたはアデノ随伴ウイルスベクターで

ある、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
前記少なくとも１つの核酸分子が、プロモーターに作動可能に連結している、請求項１から１２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４】
前記投与するステップが、注射、経口投与、吸入投与、または局所投与を含む、請求項１から１３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１５】
前記哺乳動物対象が、ヒト対象である、請求項１から１４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１６】
前記治療有効量の前記少なくとも１つのＮｍｂタンパク質または少なくとも１つのＮｍｂタンパク質をコードする少なくとも１つの核酸分子が、医薬組成物中に存在する、請求項１から１５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１７】
前記投与するステップが、前記治療有効量の前記少なくとも１つのＮｍｂタンパク質または少なくとも１つのＮｍｂタンパク質をコードする少なくとも１つの核酸分子の少なくとも２回の別個の投与を含む、請求項１から１６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１８】
前記少なくとも２回の別個の投与が、少なくとも１週間、少なくとも２週間、少なくとも３週間、少なくとも４週間、少なくとも１ヶ月間、少なくとも２ヶ月間、少なくとも３ヶ月間、少なくとも６ヶ月間、少なくとも９ヶ月間、または少なくとも１年間離れている、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
前記投与するステップが、前記障害の発生から５分以内、１０分以内、３０分以内、１時間以内、２時間以内、３時間以内、４時間以内、５時間以内、６時間以内、１２時間以内、２４時間以内、４８時間以内、７２時間以内、９６時間以内、１週間以内、２週間以内、３週間以内、４週間以内、１ヶ月以内、２ヶ月以内、または３ヶ月以内に生じる、請求項１から１８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２０】
前記対象に、治療有効量の別の治療剤を投与するステップをさらに含む、請求項１から１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２１】
炎症を減少させるか、ＩＬ－５活性を減少させるか、ＩＬ－１３活性を減少させるか、ＩＬＣ２応答を減少させるか、好酸球増加を減少させるか、またはそれらの組合せを行う、請求項１から２０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２２】
前記少なくとも１つのＮｍｂタンパク質が、配列番号２６、２７、２９、３５、３６、３、４、５、６、１１、１２、１３、１４、２０、２２、２８、３０、３１、３２、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を含む非天然のＮｍｂタンパク質である、請求項１から２１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３】
前記少なくとも１つのＮｍｂタンパク質が、配列番号２６、２７、２９、３５、または３６に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を含む非天然のＮｍｂタンパク質である、請求項１から２２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２４】
配列番号１に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を含む単離されたＮｍｂタンパク質と

、
リポソームと
を含む組成物であって、前記Ｎｍｂタンパク質が、前記リポソームに封入されている、組成物。
【請求項２５】
配列番号２６、２７、２９、３５、３６、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２８、３０、３１、３２、３３、３４、または３７に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を含む単離されたタンパク質（配列番号１ではない）と、
薬学的に許容される担体と
を含む組成物であって、
必要に応じて、リポソームを含み、前記タンパク質が、前記リポソームに封入されている、組成物。
【請求項２６】
配列番号１ではない、配列番号２６、２７、２９、３５、３６、３、４、５、６、１１、１２、１３、１４、２０、２２、２８、３０、３１、３２、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を含む少なくとも１つのタンパク質、および／または配列番号１ではない、配列番号２６、２７、２９、３５、もしくは３６に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を含む少なくとも１つのタンパク質
を含む、組成物。
【請求項２７】
配列番号１のタンパク質をさらに含む、請求項２６に記載の組成物。
【請求項２８】
前記Ｎｍｂタンパク質またはタンパク質が、前記Ｎｍｂタンパク質またはタンパク質と、細胞透過性ペプチドとを含む融合タンパク質である、請求項１から２３のいずれか一項に記載の方法、または請求項２４から２７のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２９】
前記気道障害が、特発性肺線維症またはＣＯＰＤであり、前記方法が、ＩＬ－１３活性を減少させる、請求項５に記載の方法。
【請求項３０】
前記対象に、治療有効量の、少なくとも１つのニューロメジンＣ（Ｎｍｃ）タンパク質、または少なくとも１つのＮｍｃタンパク質をコードする少なくとも１つの核酸分子を投与するステップをさらに含み、それによって前記障害を処置する、請求項１から２３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３１】
哺乳動物対象における障害を処置する方法であって、
前記対象に、治療有効量の、少なくとも１つのニューロメジンＣ（Ｎｍｃ）タンパク質、または少なくとも１つのＮｍｃタンパク質をコードする少なくとも１つの核酸分子を投与するステップ
を含み、それによって前記障害を処置する、方法。
【請求項３２】
前記少なくとも１つのＮｍｃタンパク質が、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を含むか、または前記少なくとも１つの核酸分子が、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を含む少なくとも１つのＮｍｂタンパク

質をコードする、請求項３０または３１に記載の方法。
【請求項３３】
前記障害が、炎症性障害である、請求項３１または３２に記載の方法。
【請求項３４】
前記障害が、アレルギー、好酸球性障害、または気道障害である、請求項３１から３３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３５】
前記気道障害が、喘息、副鼻腔炎、特発性肺線維症、鼻炎、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、好酸球性食道炎、またはＣＯＰＤである、請求項３４に記載の方法。
【請求項３６】
前記障害が、皮膚障害である、請求項３１または３２に記載の方法。
【請求項３７】
前記皮膚障害が、湿疹、アトピー性皮膚炎、または蕁麻疹である、請求項３６に記載の方法。
【請求項３８】
前記障害が、表１に列挙されるものである、請求項３１から３７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３９】
Ｓｐｒｒ２ａ２、Ｓｅｒｐｉｎｂ２、Ｉｌ１ｂ、Ｘｉｓｔ、およびＴｓｉｘを含む第１の遺伝子セットのうちの１つまたは複数の発現を上方調節する、請求項１から５および２８から３８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４０】
Ｈｇｓ２、Ｎｋｇ７、Ｋｌｒａ７、Ｐ２ｒｘ７、Ｌｙ６ｃ２、およびＭｃｐｔ２を含む第２の遺伝子セットのうちの１つまたは複数の発現を下方調節する、請求項１から２３および２８から３９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４１】
前記障害が、炎症性障害であり、前記方法が、前記対象の肺における細胞浸潤レベルを低下させる、請求項１から２３および２８から４０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４２】
前記対象に、治療有効量のプロスタグランジンＥ２（ＰＧＥ２）を投与するステップをさらに含む、請求項１から２３および２８から４１のいずれか一項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１８年１０月４日に出願された米国出願第６２／７４１，１８８号に基づく優先権を主張し、この米国出願は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【０００２】
本出願は、たとえば、天然およびバリアントのニューロメジンペプチドを使用して、インターロイキン（ＩＬ）－５およびＩＬ－１３活性を低減させることによって、２型サイトカイン媒介性炎症を低減させる方法を提供する。一部の例では、そのような方法は、炎症性障害、たとえば、喘息またはアレルギー反応を処置するために使用される。
【０００３】
政府の支援に関する謝辞
本発明は、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ（ＮＩＨ）により付与されたＲ０１ ＡＩ１３１６３４－０１のもとに、政府の支援によりなされた。政府は、本発明に一定の権利を有する。
【背景技術】
【０００４】
背景

インターロイキン（ＩＬ）－４、５、９、および１３の産生によって特徴付けられる２型サイトカイン応答は、蠕虫寄生生物に対する免疫を促進し、組織修復を開始させ、代謝の健康状態を調節するが、アレルギーおよび喘息に関連する炎症にも関係している（１～４）。特化した自然免疫細胞集団間でのやりとりにより、２型サイトカイン応答の強度が指示され得る（５）。たとえば、好塩基球は、２型自然リンパ系細胞（ＩＬＣ２）に対するシグナルを提供し、それによって、ＩＬ－５およびＩＬ－１３の産生を促進する（６、７）。さらに、ニューロンに由来するペプチドであるニューロメジンＵ（ＮＭＵ）は、ＩＬＣ２を直接的に活性化し、それによって、Ｎｉｐｐｏｓｔｒｏｎｇｙｌｕｓ ｂｒａｓｉｌｉｅｎｓｉｓ（Ｎｂ）に対する免疫を促進する（８、９）。しかしながら、２型炎症を制限し組織の完全性を促進するために免疫系と神経系とが通信するかどうかは、ほとんど定義されていない。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００５】

好塩基球の非存在下では、Ｎｂに誘導されるＩＬＣ２応答が誇張され、炎症の増加および肺機能の低減が生じることが、本明細書において示される。さらに、好塩基球枯渇マウスに由来するＩＬＣ２は、ニューロメジンＢ（Ｎｍｂ）受容体の発現レベルが低減されており、これがそれらの活性化の増強に関連していることが示される。Ｎｍｂペプチドのｉｎｖｉｖｏ投与により、感染に誘導されるＩＬＣ２応答、肺好酸球、および寄生生物クリアランスが低減された。さらに、Ｎｍｂでの処置は、対照マウスに由来する分取精製した肺ＩＬＣ２によるＩＬ－５およびＩＬ－１３の発現を低減させるのに十分であったが、好塩基球枯渇マウスではそうではなかった。さらに、Ｎｍｂはまた、活性化された２型ヘルパーＴ（T_H2）Ｔ細胞によるＩＬ－５およびＩＬ－１３の発現を低減させるのにも十分であった。まとめると、これらのデータは、炎症を制限し、組織完全性を維持するために必要なニューロン由来のシグナルに応答するＩＬＣ２の能力が、好塩基球に媒介されることを実証する。さらに、これらのデータはまた、Ｎｍｂ処置が、２型炎症を促進する自然および獲得の両方のＩＬ－５およびＩＬ－１３源を低減させるのに十分であることも実証する。

【０００６】

これらの観察に基づいて、哺乳動物対象における障害、たとえば、炎症性障害、たとえば、望ましくないインターロイキン－５（ＩＬ－５）および／またはＩＬ－１３産生／活性と関連する障害を処置する方法が、本明細書において提供される。一部の例では、そのような方法は、ＩＬ－５活性を減少させるか、ＩＬ－１３活性を減少させるか、ＩＬＣ２応答を減少させるか、T_H2応答を減少させるか、好酸球増加を減少させるか、またはこれらの組合せを行い、それによって、障害を処置する。処置することができる例示的な障害としては、気道障害（たとえば、喘息、副鼻腔炎、特発性肺線維症、鼻炎、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、好酸球性食道炎、またはＣＯＰＤ）、および皮膚障害（たとえば、湿疹、アトピー性皮膚炎、または蕁麻疹様（urticarial））が挙げられる。他の例示的な障害は、表１に提供されている。

【０００７】

本方法は、哺乳動物対象、たとえば、ヒトまたは獣医学的対象に、治療有効量の、少なくとも１つのニューロメジンＢ（Ｎｍｂ）タンパク質、または少なくとも１つのＮｍｂタンパク質をコードする少なくとも１つの核酸分子を投与するステップを含み、それによって障害を処置する。一部の例では、少なくとも１つのＮｍｂタンパク質は、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有する。一部の例では、Ｎｍｂタンパク質を使用する代わりに、ニューロメジンＣ（Ｎｍｃ）タンパク質、またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸分子、たとえば、配列番

号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質が使用される。一部の例では、少なくとも１つの核酸分子は、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有するＮｍｂタンパク質をコードする。他の例では、核酸分子は、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有するＮｍｃタンパク質をコードする。一部の例では、少なくとも２つの異なるＮｍｂタンパク質、たとえば、（１）配列番号１ではない、配列番号３、４、５、６、１１、１２、１３、１４、２０、２２、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有する少なくとも１つのＮｍｂタンパク質、および（２）配列番号１ではない、配列番号２６、２７、２９、３５、または３６に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を含む少なくとも１つのＮｍｂタンパク質が、使用される。一部の例では、少なくとも２つの異なるＮｍｂタンパク質、たとえば、（１）配列番号１、および（２）配列番号１ではない、配列番号３、４、５、６、１１、１２、１３、１４、２０、２２、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有する少なくとも１つのＮｍｂタンパク質が、使用される。さらなる例では、少なくとも１つのＮｍｂタンパク質および少なくとも１つのＮｍｃタンパク質が、使用される。一部の例では、少なくとも１つの核酸分子は、配列番号２に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有し、プラスミドまたはウイルスベクター、たとえば、レンチウイルスベクターまたはアデノ随伴ウイルスベクターの一部であり得る。核酸分子が投与される例では、そのような核酸分子は、プロモーター、たとえば、構成的プロモーターに作動可能に連結していてもよい。一部の例では、投与するステップは、注射（たとえば、静脈内、筋肉内、腹腔内、または皮内）、経口投与、吸入投与、または局所投与を含む。

【０００８】

一部の実施形態では、本方法は、Ｓｐｒｒ２ａ２、Ｓｅｒｐｉｎｂ２、Ｉｌ１ｂ、Ｘｉｓｔ、およびＴｓｉｘを含む第１の遺伝子セットのうちの１つまたは複数の発現を上方調節する。他の実施形態では、本方法は、Ｈｇｓ２、Ｎｋｇ７、Ｋｌｒａ７、Ｐ２ｒｘ７、Ｌｙ６ｃ２、およびＭｃｐｔ２を含む第２の遺伝子セットのうちの１つまたは複数の発現を下方調節する。さらなる実施形態では、本方法は、Ｓｐｒｒ２ａ２、Ｓｅｒｐｉｎｂ２、Ｉｌ１ｂ、Ｘｉｓｔ、およびＴｓｉｘを含む第１の遺伝子セットのうちの１つまたは複数の発現を上方調節し、Ｈｇｓ２、Ｎｋｇ７、Ｋｌｒａ７、Ｐ２ｒｘ７、Ｌｙ６ｃ２、およびＭｃｐｔ２を含む第２の遺伝子セットのうちの１つまたは複数の発現を下方調節する。他の実施形態では、本方法は、対象、たとえば、炎症性障害または気道障害を有する対象の肺における細胞浸潤レベルを低下させる。

【０００９】

少なくとも１つのＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または少なくとも１つのＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質をコードする少なくとも１つの核酸分子は、医薬組成物、たとえば、薬学的に許容される担体、たとえば、水または生理食塩水を含むものに、存在し得る。そのような組成物は、他の治療用分子を含み得る。一部の例では、治療有効量の少なくとも１つのＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または少なくとも１つのＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質をコードする少なくとも１つの核酸分子の少なくとも２回の別個の投与、たとえ

ば、少なくとも１週間、少なくとも２週間、少なくとも３週間、少なくとも４週間、少なくとも１ヶ月間、少なくとも２ヶ月間、少なくとも３ヶ月間、少なくとも６ヶ月間、少なくとも９ヶ月間、または少なくとも１年間離れた少なくとも２回の別個の投与が、対象に提供される。一部の例では、投与するステップは、障害の発生から５分以内、１０分以内、３０分以内、１時間以内、２時間以内、３時間以内、４時間以内、５時間以内、６時間以内、１２時間以内、２４時間以内、４８時間以内、７２時間以内、９６時間以内、１週間以内、２週間以内、３週間以内、４週間以内、１ヶ月以内、２ヶ月以内、または３ヶ月以内に生じる。本方法は、対象に、治療有効量の別の治療剤（たとえば、表１を参照されたい）を投与するステップを含み得る。一部の例では、追加の治療剤は、プロスタグランジンＥ２（ＰＧＥ２）である。

【００１０】

また、配列番号１に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を含む単離されたＮｍｂタンパク質と、リポソームとを含む組成物であって、Ｎｍｂタンパク質がリポソームに封入されている、組成物も提供される。また、配列番号１に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を含む単離されたＮｍｂタンパク質と、薬学的に許容される担体とを含む、組成物も提供される。配列番号１でも３８でもない、配列番号３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を含む単離されたタンパク質と、薬学的に許容される担体とを含む、組成物もまた提供される。一部の例では、そのような組成物はリポソームを含み、非天然のＮｍｂタンパク質はリポソームに封入されている。また、（１）配列番号１ではない、配列番号３、４、５、６、１１、１２、１３、１４、２０、２２、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を有する少なくともタンパク質、および／または（２）配列番号１でも３８でもない、配列番号２６、２７、２９、３５、もしくは３６に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を含む少なくとも１つのタンパク質を含む、組成物も提供される。

【００１１】

開示される方法および組成物はまた、融合またはキメラタンパク質（またはそれをコードする核酸分子）を利用してもよく、ここで、ＮｍｂタンパクまたはＮｍｃタンパク質または非天然のＮｍｂタンパク質は、ＮｍｂタンパクまたはＮｍｃタンパク質または非天然のＮｍｂタンパク質と、細胞透過性ペプチドとを含む融合タンパク質である。ＮｍｂタンパクまたはＮｍｃタンパク質または非天然のＮｍｂタンパク質は、細胞透過性ペプチドに対してＮ末端側またはＣ末端側にあり得る。加えて、ＮｍｂタンパクまたはＮｍｃタンパク質または非天然のＮｍｂタンパク質および細胞透過性ペプチドは、リンカーによって離間していてもよい。

【００１２】

本開示の上述およびその他の目的および特性は、以下の詳細な説明、続いて添付の図面への参照により、さらに明らかとなろう。

【図面の簡単な説明】

【００１３】

【図１－１】図１Ａ～１Ｆは、好塩基球が蠕虫に誘導される炎症を調節することを示す。

（Ａ）腸内感染虫体数を対照マウスまたは好塩基球枯渇マウス（好塩基球枯渇）において、Ｎｂ感染後７日目に定量した。（Ｂ）対照マウスおよび好塩基球枯渇マウスの肺における２型サイトカイン発現をリアルタイムＰＣＲによって、Ｎｂ感染後７日目に判定した。（Ｃ）肺に存在する好塩基球をＣＤ２００Ｒでのｉｎ　ｖｉｖｏ染色によって判定した。（Ｄ）肺に存在する好塩基球のパーセントをＮｂ感染後に定量した。（Ｅ）肺病理をヘマトキシリンおよびエオシン染色によって、Ｎｂ感染後７日目に評価した。（Ｆ）酸素レベルをＮｂ感染後に対照マウスおよび好塩基球枯渇マウスについて、パルスオキシメーターによって判定した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。

【図１－２】図１Ａ～１Ｆは、好塩基球が蠕虫に誘導される炎症を調節することを示す。（Ａ）腸内感染虫体数を対照マウスまたは好塩基球枯渇マウス（好塩基球枯渇）において、Ｎｂ感染後７日目に定量した。（Ｂ）対照マウスおよび好塩基球枯渇マウスの肺における２型サイトカイン発現をリアルタイムＰＣＲによって、Ｎｂ感染後７日目に判定した。（Ｃ）肺に存在する好塩基球をＣＤ２００Ｒでのｉｎ　ｖｉｖｏ染色によって判定した。（Ｄ）肺に存在する好塩基球のパーセントをＮｂ感染後に定量した。（Ｅ）肺病理をヘマトキシリンおよびエオシン染色によって、Ｎｂ感染後７日目に評価した。（Ｆ）酸素レベルをＮｂ感染後に対照マウスおよび好塩基球枯渇マウスについて、パルスオキシメーターによって判定した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。

【図２】図２Ａ～２Ｂは、（Ａ）過ヨウ素酸シッフ染色、ならびに（Ｂ）ヘマトキシリンおよびエオシン染色によって、Ｎｂ感染後７日目に評価した肺病理である。（Ａ）個々の画像をデジタルで一緒に並べて、より大きな概観を得た。

【図３－１】図３Ａ～３Ｈは、好塩基球が、ＩＬＣ２応答を負に調節することを示す。対照マウスまたは好塩基球枯渇マウスにおいて、気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）における（Ａ）好中球、（Ｂ）好酸球、および（Ｃ）ＩＬＣ２をＮｂ感染後７日目に定量した。（Ｄ）ＩＬ－５および（Ｅ）ＩＬ－１３に関する細胞内サイトカイン染色をＮｂ感染後７日目にＢＡＬにおいて、系統陰性、ＣＤ９０＋、ＣＤ１２７＋ＩＬＣ２に行い、サイトカイン陽性細胞を定量した。好塩基球をＮｂ感染後に好塩基球枯渇マウスに養子移入し（気管内）、ＢＡＬにおいて（Ｆ）ＩＬＣ２、（Ｇ）ＩＬ－５＋ＩＬＣ２およびＩＬ－１３＋ＩＬＣ２、ならびに（Ｈ）好酸球の数を定量した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。

【図３－２】図３Ａ～３Ｈは、好塩基球が、ＩＬＣ２応答を負に調節することを示す。対照マウスまたは好塩基球枯渇マウスにおいて、気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）における（Ａ）好中球、（Ｂ）好酸球、および（Ｃ）ＩＬＣ２をＮｂ感染後７日目に定量した。（Ｄ）ＩＬ－５および（Ｅ）ＩＬ－１３に関する細胞内サイトカイン染色をＮｂ感染後７日目にＢＡＬにおいて、系統陰性、ＣＤ９０＋、ＣＤ１２７＋ＩＬＣ２に行い、サイトカイン陽性細胞を定量した。好塩基球をＮｂ感染後に好塩基球枯渇マウスに養子移入し（気管内）、ＢＡＬにおいて（Ｆ）ＩＬＣ２、（Ｇ）ＩＬ－５＋ＩＬＣ２およびＩＬ－１３＋ＩＬＣ２、ならびに（Ｈ）好酸球の数を定量した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。

【図３－３】図３Ａ～３Ｈは、好塩基球が、ＩＬＣ２応答を負に調節することを示す。対照マウスまたは好塩基球枯渇マウスにおいて、気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）における（Ａ）好中球、（Ｂ）好酸球、および（Ｃ）ＩＬＣ２をＮｂ感染後７日目に定量した。（Ｄ）ＩＬ－５および（Ｅ）ＩＬ－１３に関する細胞内サイトカイン染色をＮｂ感染後７日目にＢＡＬにおいて、系統陰性、ＣＤ９０＋、ＣＤ１２７＋ＩＬＣ２に行い、サイトカイン陽性細胞を定量した。好塩基球をＮｂ感染後に好塩基球枯渇マウスに養子移入し（気管内）、ＢＡＬにおいて（Ｆ）ＩＬＣ２、（Ｇ）ＩＬ－５＋ＩＬＣ２およびＩＬ－１３＋ＩＬＣ２、ならびに（Ｈ）好酸球の数を定量した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。

【図４－１】図４Ａ～４Ｇは、肺における（Ａ）好中球、（Ｂ）好酸球、および（Ｃ）ＩＬＣ２を、対照マウスまたは好塩基球枯渇マウスにおいて、Ｎｂ感染後７日目に定量した。（Ｄ）ＩＬ－５およびＩＬ－１３に関する細胞内サイトカイン染色をＮｂ感染後７日目

に肺において、系統陰性、ＣＤ９０＋、ＣＤ１２７＋ＩＬＣ２に行い、サイトカイン陽性細胞を定量した。好塩基球を、Ｎｂ感染後に好塩基球枯渇マウスに養子移入し（気管内）、肺において（Ｅ）ＩＬＣ２、（Ｆ）ＩＬ－５＋ＩＬＣ２およびＩＬ－１３＋ＩＬＣ２、ならびに（Ｇ）好酸球の数を定量した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。

【図４－２】図４Ａ～４Ｇは、肺における（Ａ）好中球、（Ｂ）好酸球、および（Ｃ）ＩＬＣ２を、対照マウスまたは好塩基球枯渇マウスにおいて、Ｎｂ感染後７日目に定量した。（Ｄ）ＩＬ－５およびＩＬ－１３に関する細胞内サイトカイン染色をＮｂ感染後７日目に肺において、系統陰性、ＣＤ９０＋、ＣＤ１２７＋ＩＬＣ２に行い、サイトカイン陽性細胞を定量した。好塩基球を、Ｎｂ感染後に好塩基球枯渇マウスに養子移入し（気管内）、肺において（Ｅ）ＩＬＣ２、（Ｆ）ＩＬ－５＋ＩＬＣ２およびＩＬ－１３＋ＩＬＣ２、ならびに（Ｇ）好酸球の数を定量した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。

【図５－１】図５Ａ～５Ｈは、好塩基球が、ＩＬＣ２におけるＮｍｂ受容体（Ｎｍｂｒ）の発現を促進することを示す。Ｒａｇ２欠損マウスを、好塩基球枯渇抗体Ｂａ１０３で処置し、（Ａ）ＩＬ－５＋ＩＬＣ２、ＩＬ－１３＋ＩＬＣ２の数、および（Ｂ）好酸球をＮｂ感染後７日目にＢＡＬにおいて定量した。対照マウスおよび好塩基球枯渇マウスの肺に由来する分取精製したＩＬＣ２のリボ核酸（ＲＮＡ）シーケンシング分析を、Ｎｂ後７日目に行った。（Ｃ）対照または好塩基球枯渇ＩＬＣ２間で２．０倍またはそれより多く異なって発現される遺伝子を示すベン図である。対照ＩＬＣ２において濃縮されている８９９個の遺伝子のＤＡＶＩＤ経路分析を行った。（Ｄ）ロドプシン様経路を定義する対照ＩＬＣ２において濃縮されている遺伝子である。対照マウスまたは好塩基球枯渇マウスの肺における（Ｅ）Ｍｃｐｔ８、（Ｆ）Ｎｍｂ、および（Ｇ）Ｎｍｂｒの発現をリアルタイムＰＣＲによってＮｂ後７日目に判定した。（Ｈ）Ｎｂ後７日目における肺から分取精製した対照または好塩基球枯渇ＩＬＣ２によるＮｍｂｒの発現である。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。

【図５－２】図５Ａ～５Ｈは、好塩基球が、ＩＬＣ２におけるＮｍｂ受容体（Ｎｍｂｒ）の発現を促進することを示す。Ｒａｇ２欠損マウスを、好塩基球枯渇抗体Ｂａ１０３で処置し、（Ａ）ＩＬ－５＋ＩＬＣ２、ＩＬ－１３＋ＩＬＣ２の数、および（Ｂ）好酸球をＮｂ感染後７日目にＢＡＬにおいて定量した。対照マウスおよび好塩基球枯渇マウスの肺に由来する分取精製したＩＬＣ２のリボ核酸（ＲＮＡ）シーケンシング分析を、Ｎｂ後７日目に行った。（Ｃ）対照または好塩基球枯渇ＩＬＣ２間で２．０倍またはそれより多く異なって発現される遺伝子を示すベン図である。対照ＩＬＣ２において濃縮されている８９９個の遺伝子のＤＡＶＩＤ経路分析を行った。（Ｄ）ロドプシン様経路を定義する対照ＩＬＣ２において濃縮されている遺伝子である。対照マウスまたは好塩基球枯渇マウスの肺における（Ｅ）Ｍｃｐｔ８、（Ｆ）Ｎｍｂ、および（Ｇ）Ｎｍｂｒの発現をリアルタイムＰＣＲによってＮｂ後７日目に判定した。（Ｈ）Ｎｂ後７日目における肺から分取精製した対照または好塩基球枯渇ＩＬＣ２によるＮｍｂｒの発現である。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。

【図６－１】図６Ａ～６Ｅは、Ｎｍｂが、２型サイトカイン応答を抑制することを示す。（Ａ）Ｎｂ感染マウスを、ＰＢＳまたはＮｍｂで処置し（気管内）、ＢＡＬにおいてＩＬＣ２を定量した。（Ｂ）ＰＢＳまたはＮｍｂで処置したマウスの肺におけるＩＬ－５およびＩＬ－１３の発現を、リアルタイプＰＣＲによってＮｂ後７日目に判定した。（Ｃ）Ｎｂ感染後７日目に、ＢＡＬにおける好酸球を定量し、（Ｄ）感染虫体数を判定した。ＩＬＣ２をＮｂ後７日目に、対照マウスまたは好塩基球枯渇マウスの肺から分取精製し、Ｎｍｂの存在下または非存在下において、ＩＬ－２およびＩＬ－７とともに培養し（終夜）、（Ｅ）培養上清中のＩＬ－５およびＩＬ－１３のレベルを、ＥＬＩＳＡによって判定した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。

【図６－２】図６Ａ～６Ｅは、Ｎｍｂが、２型サイトカイン応答を抑制することを示す。（Ａ）Ｎｂ感染マウスを、ＰＢＳまたはＮｍｂで処置し（気管内）、ＢＡＬにおいてＩＬ

Ｃ２を定量した。（Ｂ）ＰＢＳまたはＮｍｂで処置したマウスの肺におけるＩＬ－５およびＩＬ－１３の発現を、リアルタイプＰＣＲによってＮｂ後７日目に判定した。（Ｃ）Ｎｂ感染後７日目に、ＢＡＬにおける好酸球を定量し、（Ｄ）感染虫体数を判定した。ＩＬＣ２をＮｂ後７日目に、対照マウスまたは好塩基球枯渇マウスの肺から分取精製し、Ｎｍｂの存在下または非存在下において、ＩＬ－２およびＩＬ－７とともに培養し（終夜）、（Ｅ）培養上清中のＩＬ－５およびＩＬ－１３のレベルを、ＥＬＩＳＡによって判定した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。

【図７－１】図７Ａ～７Ｉは、Ｎｍｂ処置が、アレルギー性気道炎症を抑制するのに十分であることを示す。パパインでチャレンジしたマウスを、ＰＢＳまたはＮｍｂで処置し（気管内）、（Ａ）肺ＩＬＣ２、（Ｂ）ＩＬ－５＋およびＩＬ－１３＋ＩＬＣ２、ならびに（Ｃ）好酸球を評価した。（Ｂ）腸間膜リンパ節（ＭＬＮ）を、Ｎｂ後７日目に単離し、単一細胞懸濁液を、Ｎｍｂの存在下または非存在下において、抗ＣＤ３および抗ＣＤ２８で４８時間処置し、（Ｅ）ＩＬ－５および（Ｆ）ＩＬ－１３を、ＥＬＩＳＡによって、無細胞上清において定量した。（Ｆ～Ｉ）Ｎｍｂの改変バージョン（表２を参照されたい）を、Ｎｂ後７日目に単離した抗ＣＤ３および抗ＣＤ２８　ＭＬＮ細胞からのＩＬ－５およびＩＬ－１３の産生を変更する能力に関して試験した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。青色のアスタリスクは、培地で処置した対照と天然のＮｍｂとの間の比較を表す。赤色のアスタリスクは、培地で処置した対照と表２に示されるＮｍｂの改変バージョンとの間の比較を表す。（＊、ｐ＜０．０５）、（＊＊、ｐ＜０．０１）、（＊＊＊、ｐ＜０．００１）、または（Ｆ～Ｉ）。

【図７－２】図７Ａ～７Ｉは、Ｎｍｂ処置が、アレルギー性気道炎症を抑制するのに十分であることを示す。パパインでチャレンジしたマウスを、ＰＢＳまたはＮｍｂで処置し（気管内）、（Ａ）肺ＩＬＣ２、（Ｂ）ＩＬ－５＋およびＩＬ－１３＋ＩＬＣ２、ならびに（Ｃ）好酸球を評価した。（Ｂ）腸間膜リンパ節（ＭＬＮ）を、Ｎｂ後７日目に単離し、単一細胞懸濁液を、Ｎｍｂの存在下または非存在下において、抗ＣＤ３および抗ＣＤ２８で４８時間処置し、（Ｅ）ＩＬ－５および（Ｆ）ＩＬ－１３を、ＥＬＩＳＡによって、無細胞上清において定量した。（Ｆ～Ｉ）Ｎｍｂの改変バージョン（表２を参照されたい）を、Ｎｂ後７日目に単離した抗ＣＤ３および抗ＣＤ２８　ＭＬＮ細胞からのＩＬ－５およびＩＬ－１３の産生を変更する能力に関して試験した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。青色のアスタリスクは、培地で処置した対照と天然のＮｍｂとの間の比較を表す。赤色のアスタリスクは、培地で処置した対照と表２に示されるＮｍｂの改変バージョンとの間の比較を表す。（＊、ｐ＜０．０５）、（＊＊、ｐ＜０．０１）、（＊＊＊、ｐ＜０．００１）、または（Ｆ～Ｉ）。

【図８】図８Ａ～８Ｂでは、腸間膜リンパ節（ＭＬＮ）を、Ｎｂ後７日目に単離し、単一細胞懸濁液を、天然のＮｍｂまたはこのペプチドの改変バージョンの存在下または非存在下において、抗ＣＤ３および抗ＣＤ２８で４８時間処置し、（Ａ）ＩＬ－５および（Ｂ）ＩＬ－１３を、ＥＬＩＳＡによって、無細胞上清において定量した。Ｐ値は、両側スチューデントｔ検定によって判定した。青色のアスタリスクは、培地で処置した対照と天然のＮｍｂとの間の比較を表す。赤色のアスタリスクは、培地で処置した対照と表２に示されるＮｍｂの改変バージョンとの間の比較を表す。（＊、ｐ＜０．０５）、（＊＊、ｐ＜０．０１）、（＊＊＊、ｐ＜０．００１）。

【図９】図９は、好塩基球が、ＮＭＢＲ発現を調節することを示す。ＩＬＣ２を、Ｎｂ感染マウスの肺から分取精製し（７日目）、生存性サイトカイン（ＩＬ－７およびＩＬ－２）で刺激し、活性化された好塩基球、ＩＬ－４、またはＩＬ－３３でも終夜刺激した。ＮＭＢＲ発現を、培養後のフローサイトメトリー分析によってモニタリングした。データは、地理平均蛍光強度（ＧＭＦＩ）として提示する。統計学的比較は、スチューデントｔ検定を使用して行った。

【図１０】図１０Ａ～１０Ｂは、ＮＭＢが、ＩＬ－３３活性化ＩＬＣ２からの２型サイトカイン産生を阻害することを示す。ＩＬＣ２を、Ｎｂ感染マウスの肺から分取精製し（７日目）、生存性サイトカイン（ＩＬ－２、ＩＬ－７）とともに、Ｎｍｂおよび／またはＩ

Ｌ－３３の存在下または非存在下において、培養した。終夜培養の後に、上清を、標準的なＥＬＩＳＡによって、ＩＬ－５（図１０Ａ）およびＩＬ－１３（図１０Ｂ）の存在に関して試験した。統計学的比較は、スチューデントｔ検定を使用して行った。

【図１１】図１１Ａ～１１Ｂは、造血系細胞におけるＮＭＢＲに媒介されるシグナル伝達が、２型サイトカイン産生を調節するために必要であることを示す。ＩＬ－５（図１１Ａ）およびＩＬ－１３（図１１Ｂ）に関する細胞内染色を、ナイーブまたはＮｂを感染させたＶａｖ１－Ｃｒｅ、ＮＭＢＲ－ｆｌｏｘ、またはＶａｖ１－Ｃｒｅ－ＮＭＢＲ－ｆｌｏｘマウスのＢＡＬから単離したＩＬＣ２に行った（７日目）。統計学的比較は、スチューデントｔ検定を使用して行った。

【図１２】図１２は、造血系細胞におけるＮＭＢＲに媒介されるシグナル伝達が、肺における細胞浸潤を調節するために必要であることを示す。肺病理（ＨおよびＥ染色）を、ナイーブまたはＮｂを感染させたＶａｖ１－Ｃｒｅ、ＮＭＢＲ－ｆｌｏｘ、またはＶａｖ１－Ｃｒｅ－ＮＭＢＲ－ｆｌｏｘマウスに関して評価した（７日目）。

【図１３】図１３は、ＮＭＢＲが、いくつかの免疫細胞集団によって発現されることを示す。ナイーブマウス（黒塗りの記号）およびＮｂ感染マウス（７日目）（白塗りの記号）を、様々な免疫細胞集団におけるＮＭＢＲの発現に関して評価した。リンパ球（ｌｙｍｐｈ）、肺胞マクロファージ（Ａｌｖ　Ｍａｃ）、非肺胞マクロファージ（ＮＡＭ）、好酸球（Ｅｏｓ）、および好中球（Ｎｅｕｔ）。

【図１４】図１４は、プロスタグランジンＥ２が、リンパ球におけるＮＭＢＲの発現を上方調節することを示す。肺ＩＬＣ２を、Ｎｂ感染７日目にマウスの肺から分取精製し、生存性サイトカイン（ＩＬ－２およびＩＬ－７）ならびに／または活性化サイトカイン（ＩＬ－２５およびＩＬ－３３）の組合せとともに培養した。加えて、培養物をＮＭＢまたはプロスタグランジンＥ２（ＰＧＥ２）で処置し、ＮＭＢＲの発現を培養後４日目にフローサイトメトリー分析によって測定した。統計学的分析は、スチューデントｔ検定を使用して行った。アイソタイプ対照抗体によって判定される陰性ＮＭＢＲ染色も示す（アイソタイプ）。

【発明を実施するための形態】

【００１４】

配列表

添付の配列表に列挙されている核酸配列およびアミノ酸配列は、３７　Ｃ．Ｆ．Ｒ．　１．８２２に定義されるように、ヌクレオチド塩基については標準的な略字およびアミノ酸については３文字コードを使用して示されている。それぞれの核酸配列の一方の鎖のみが示されているが、相補鎖は、提示された鎖に対する任意の参照により含まれると理解される。

【００１５】

配列番号１は、例示的な天然のヒトＮｍｂタンパク質配列である。

【００１６】

配列番号２は、天然のヒトＮｍｂの例示的なコーディング配列である。

【００１７】

配列番号３～３７は、例示的な非天然のＮｍｂタンパク質配列である。

【００１８】

配列番号３８は、例示的な天然のヒトニューロメジンＣタンパク質配列である。

【００１９】

配列番号３９～５８は、例示的な細胞透過性ペプチドである。

【００２０】

詳細な説明

別途示されない限り、技術用語は、従来的な使用法に従って使用される。分子生物学における一般的な用語の定義は、Benjamin Lewin, Genes VII, published by Oxford University Press, 1999、Kendrew et al. (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology, published by Blackwell Science Ltd., 1

994、およびRobert A. Meyers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, published by VCH Publishers, Inc., 1995、ならびに他の同様の参考文献において見出すことができる。

【００２１】

本明細書で使用される場合、単数形の「１つの（a）」、「１つの（an）」、および「その（the）」は、文脈により別途明確に示されない限り、単数形および複数形の両方を指す。本明細書で使用される場合、「含む（comprise）」という用語は、「含む（include）」を意味する。したがって、「Ｎｍｂペプチドを含む（comprising an Nmb peptide）」とは、他の要素を排除することなく、「Ｎｍｂペプチドを含む（including an Nmb peptide）」ことを意味する。核酸に関するありとあらゆる塩基サイズは、およそのものであり、別途示されない限り、説明目的で提供されることを、さらに理解されたい。本明細書に記載されるものに類似であるかまたはそれと同等である多数の方法および材料を使用することができるが、特に好適な方法および材料が、以下に記載されている。矛盾が生じた場合には、用語の説明を含め、本明細書が優先される。加えて、材料、方法、および実施例は、例示に過ぎず、限定することを意図するものではない。特許出願および特許ならびに列挙されるＧｅｎＢａｎｋ（登録商標）受託番号（２０１８年１０月４日時点）に関連する配列を含む、すべての参考文献は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【００２２】

本開示の様々な実施形態の考察を容易にするために、特定の用語の説明を、以下に提供する。

【００２３】

Ｉ．用語

投与：対象に、任意の有効な経路によって、薬剤、たとえば、Ｎｍｂ核酸分子またはタンパク質を提供することまたは与えることである。例示的な投与経路としては、注射（たとえば、静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、もしくはＣＮＳへの注射、たとえば、脊椎もしくは脳内への注射）、経口、鼻内、経皮、経膣、直腸、または吸入が挙げられるが、これらに限定されない。

【００２４】

エアロゾル：微細な固体または液体粒子の任意の気体懸濁液である。そのため、「エアロゾル化」という用語は、空気または気体中に分散または懸濁化された顕微鏡サイズの固体または液体粒子の形態であることを意味する。１つの例では、顕微鏡サイズの固体は、１μｍ～２０μｍの質量中央値空気動力学的直径を有する。「噴霧する」という用語は、（液体）を微細スプレーに変換するか、または霧状にする動作を指す。したがって、「乾燥粉末エアロゾル」という用語は、気体、典型的には空気中に懸濁された任意の顕微鏡サイズの固体を指す。開示される組成物（たとえば、Ｎｍｂ核酸分子またはタンパク質を含むもの）を、徐放調製物として製剤化することも可能である。エアロゾル送達は、エアロゾルとして製剤化された薬剤（たとえば、Ｎｍｂ核酸分子またはタンパク質）の投与（たとえば、気道への）を指す。

【００２５】

気道障害または疾患：一般に、気道障害／疾患には、肺の気道に関する任意の障害／疾患が含まれる。特定の非限定的な例としては、肺障害／疾患は、喘息または慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）である。

【００２６】

アレルゲン：アレルギー応答または反応を引き起こす任意の物質である。一般的なアレルゲンとしては、埃、花粉、植物、ペット（たとえば、ネコまたはイヌのフケ）、医薬、ある特定の食物（たとえば、卵、牛乳、ピーナッツ、甲殻類）、昆虫の毒液、ウイルス、または細菌が挙げられる。（有害な）反応は、摂取、吸入、注射、または皮膚との接触を介した対象の曝露の後に生じ得る。任意のアレルゲンは、開示される方法を使用して処置することができる。

【００２７】
アレルギー反応：極端な炎症応答をもたらすＩｇＥによるマスト細胞および好塩基球の過剰な活性化によって特徴付けられる過感受性（たとえば、通常は無害の実体に対する）の形態である。一般的なアレルギー反応としては、湿疹、蕁麻疹（hives）、花粉症、喘息、食物アレルギー、および刺咬昆虫、たとえば、ジガバチおよびハチの毒液に対する反応が挙げられる。
【００２８】
アミド化またはアミド誘導体：アミド、たとえば、Ｎｍｂペプチド（たとえば、配列番号１および３～３７のいずれか）またはＮｍｃペプチド（たとえば、配列番号３８）を形成するための翻訳後改変である。したがって、一部の例では、本明細書に提供されるＮｍｂまたはＮｍｃペプチドは、アミド化されており、それを、開示される方法において使用することができる。加えて、アミド化では、Ｃ末端アミノ酸（ペプチド－ＣＯＯＨ）は、アミド（ペプチド－$CONH_2$）を形成するように改変される。アミドは、翻訳後Ｃ末端アミド化によって形成され得る。改変しようとするアミノ酸には、グリシンが続き得、これによってアミド基が得られる。一部の例では、アミドは、ＮｍｂまたはＮｍｃペプチドの生物学的活性を増加させる。
【００２９】
アナフィラキシー：もっとも重度の全身性アレルギー反応を表す臨床症候群である。これは、以前に感作された個体において特定の抗原に曝露された後に免疫学的に誘導されるマスト細胞および／または好塩基球媒介因子（２型サイトカインを含む）の放出により生じる。あらゆる物質が、アナフィラキシーを引き起こす可能性を有するが、もっとも一般的なＩｇＥ媒介型アナフィラキシーの原因は、昆虫咬傷、医薬、ラテックス、ピーナッツおよび木の実（たとえば、くるみ、ヘーゼルナッツ、アーモンド、カシュー、ピーカン、およびピスタチオ）、甲殻類および魚類、牛乳、卵、ならびに小麦である。２型サイトカインが、活性化されたＩＬＣ２およびT_H2細胞によって産生されると、ＩｇＥが産生され、それによって、その後のアレルゲンへの曝露に応答するように好塩基球およびマスト細胞を刺激する。異なる機序によって媒介される運動誘発性アナフィラキシーおよび特発性アナフィラキシーもまた生じる。一部の例では、開示される方法（たとえば、Ｎｍｂペプチドを投与すること）は、アナフィラキシーを処置または予防するために使用される。
【００３０】
喘息：喘息は、呼吸器系のいくつかの症候群または表現型を説明する総称である。これらの障害では、しばしば、１つまたは複数の「トリガー」、たとえば、環境刺激因子（またはアレルゲン）、化学物質、冷気、運動、もしくはウイルスへの曝露、または完全に未知の原因に応答して、気道が収縮し、炎症状態となり、過剰量の粘液で覆われる。この気道狭窄は、喘鳴、息切れ、胸部絞扼感、および咳嗽などの症状を引き起こす。この障害は、気管支過敏、炎症、粘液産生の増加、および間欠的気道閉塞によって特徴付けられる、気道が様々な刺激に対する応答性の増加を発症する慢性性または再発性の炎症症状である。より重度の罹患患者の場合、閉塞は、間欠的とは対照的に固定状態となり得る。典型的なアレルギー性喘息反応において、Ｔｈ２炎症プロセスによって形成されるＩｇＥ抗体は、主として、気管支梢および小気管支と緊密な関係にある肺間質に存在するマスト細胞に結合する。細胞のトリガーにより、サイトカイン、ケモカイン、およびアラキドン酸由来の媒介因子を含むがこれらに限定されないいくつかの物質の放出が引き起こされ、気管支収縮、気道過反応、過剰な粘液分泌、および気道炎症がもたらされる。しかしながら、すべての喘息がアレルギーであるわけではなく、より重度な形態の喘息を有する患者は、Ｔｈ２炎症だけではなく、Ｔｈ１炎症も同様に存在していることを示唆する良好な根拠が存在する。
【００３１】
国際ガイドラインによって間欠的な症状として定義される軽度の喘息は、肺機能は比較的正常であり、激化はほとんどない。開示されるＮｍｂ核酸分子およびペプチドは、たとえば、低用量の吸入コルチコステロイド（ＣＳ）または気管支拡張剤と組み合わせて、軽度

の喘息を処置するために使用することができる。中等度の喘息は、より持続的かつ重度の症状、時折発生する激化、および／または肺機能の悪化として定義される。開示されるＮｍｂ核酸分子およびペプチドは、たとえば、より高用量の吸入ＣＳおよび長時間作用型ベータアゴニスト（ＬＡＢＡ）またはロイコトリエン改変剤と組み合わせて、中等度の喘息を処置するために使用することができる。重度の喘息は、ＡＴＳ－ＥＲＳ重度喘息ガイドラインにおいて、疾患の制御（より少ない激化、少ない症状、およびより良好な肺機能）を維持するために第２の制御物質（ＬＡＢＡまたはロイコトリエン改変剤）、または全身ＣＳの使用と組み合わせた、高用量の吸入ＣＳでの処置を必要とするか、またはこれらの処置にかかわらず制御を達成できない喘息として定義されている。開示されるＮｍｂ核酸分子およびペプチドは、たとえば、そのような試薬と組み合わせて、重度の喘息を処置するために使用することができる。

【００３２】

気管支拡張剤：気管支または気管支梢を拡張させる、鎮痙剤または他の薬剤である。気管支拡張剤は、気道の平滑筋を弛緩させ、気道を拡張させる。気管支拡張医薬は、典型的に、炎症に対抗するものではない。例としては、短時間作用型（たとえば、サルブタモール）および長時間作用型（たとえば、ホルモテロール）ベーター２アドレナリン作動性アゴニスト、ならびに抗コリン作動薬（たとえば、チオトロピウムおよび臭化イプラトロピウム）が挙げられる。

【００３３】

細胞透過性：分子が細胞膜（たとえば、哺乳動物細胞）を越える能力である。一部の例では、細胞透過性には、様々な輸送手段、たとえば、受動拡散およびトランスポーターに媒介される透過を介した透過性が含まれる。ペプチド、たとえば、細胞透過性ペプチド、たとえば、タグに含まれるようなもの、タンパク質に基づく薬剤、たとえば、細孔形成もしくはチャネル形成タンパク質、ウイルスに基づく薬剤、脂質もしくはポリマーに基づく薬剤、または無機薬剤を含むある特定の薬剤は、細胞透過性を増強させることができる（すなわち、細胞透過性増強剤）。１つの例では、Ｎｍｂペプチド（たとえば、配列番号１および３～３７のうちのいずれか１つ）は、その細胞透過性を増加させるタグ、たとえば、ペプチドタグ（細胞透過性ペプチド（ＣＰＰ）とも称される）（たとえば、転写のトランス活性化因子、ＴＡＴ、たとえば、ＴＡＴ４８－５７；ＴＡＴ４７－５７；またはＴＡＴ４９－５７；ペネトラチン；Ｐｅｐ－１；サブスタンスＰ、ＳＰ；ポリアルギニン、たとえば、Ｒ５－Ｒ１２；ｐＶＥＣ；トランスポータン；ＭＡＰ；ディアトス（diatos）ペプチドベクター１０４７、ＤＰＶ１０４７、ＶＥＣＴＯＣＥＬＬ（登録商標）；ＭＰＧ；ＡＤＰリボシル化因子、ＡＲＦ、たとえば、ＡＲＦ１－２２；ＢＰｒＰｒ（たとえば、ＢＰｒＰｒ１－２８）；ｐ２８；ＶＴ５；Ｂａｃ　７、たとえば、Ｂａｃ１－２４；Ｃ１０５Ｙ；ＰＦＶＹＬＩ（配列番号５８）；Ｐｅｐ－７、ＳｙｎＢ１［ＲＧＧＲＬＳＹＳＲＲＲＦＳＴＳＴＧＲ、配列番号３９］、ＳｙｎＢ３［ＲＲＬＳＹＳＲＲＲＦ、配列番号４０］、ＰＴＤ－４［ＰＩＲＲＲＫＫＬＲＲＬＫ、配列番号４１］、ＰＴＤ－５［ＲＲＱＲＲＴＳＫＬＭＫＲ、配列番号４２］、ＦＨＶ　Ｃｏａｔ－（３５－４９）［ＲＲＲＲＮＲＴＲＲＮＲＲＲＶＲ、配列番号４３］、ＢＭＶ　Ｇａｇ－（７－２５）［ＫＭＴＲＡＱＲＲＡＡＡＲＲＮＲＷＴＡＲ、配列番号４４］、ＨＴＬＶ－ＩＩ　Ｒｅｘ－（４－１６）［ＴＲＲＱＲＴＲＲＡＲＲＮＲ、配列番号４５］、Ｄ－Ｔａｔ［ＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲＰＰＱ、配列番号４６］、Ｒ９－Ｔａｔ　ＧＲＲＲＲＲＲＲＲＲＰＰＱ［配列番号４７］およびペネトラチン［ＲＱＩＫＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫ、配列番号４８］）、両親媒性ペプチド（たとえば、ＭＡＰ［ＫＬＡＬＫＬＡＬＫＬＡＬＡＬＫＬＡ；配列番号４９］、ＳＢＰ［ＭＧＬＧＬＨＬＬＶＬＡＡＡＬＱＧＡＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ；配列番号５０］、ＦＢＰ［ＧＡＬＦＬＧＷＬＧＡＡＧＳＴＭＧＡＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ；配列番号５１］、ＭＰＧ　ａｃ－ＧＡＬＦＬＧＦＬＧＡＡＧＳＴＭＧＡＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ－ｃｙａ；配列番号５２］、ＭＰＧ（ΔＮＬＳ）［ａｃ－ＧＡＬＦＬＧＦＬＧＡＡＧＳＴＭＧＡＷＳＱＰＫＳＫＲＫＶ－ｃｙａ；配列番号５３］、Ｐｅｐ－２［ａｃ－ＫＥＴＷＦＥＴＷＦＴＥＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ－ｃｙａ；配列番号５４］、およびトランスポータン［ＧＷＴＬＮＳＡＧＹ

ＬＬＧＫＩＮＬＫＡＬＡＡＬＡＫＫＩＬ、配列番号５５］）、周期配列（たとえば、ｐＶｅｃ、ポリアルギニンＲｘＮ（４＜Ｎ＜１７）キメラ、ポリリシンＫｘＮ（４＜Ｎ＜１７）キメラ、（ＲＡｃａ）６Ｒ、（ＲＡｂｕ）６Ｒ、（ＲＧ）６Ｒ、（ＲＭ）６Ｒ、（ＲＴ）６Ｒ、（ＲＳ）６Ｒ、Ｒ１０、（ＲＡ）６Ｒ、Ｒ７、およびｐｅｐ－１［ａｃ－ＫＥＴＷＷＥＴＷＷＴＥＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ－ｃｙａ、配列番号５６］）、ならびにＣｒ１０（環状ポリアルギニンＣＰＰ）、またはそのようなペプチドタグをコードする核酸を含む。

【００３４】

キメラまたは融合タンパク質：第１のペプチド（たとえば、Ｎｍｂ）および第２のペプチド（たとえば、細胞透過性ペプチド）を含むタンパク質であり、ここで、第１および第２のタンパク質は異なる。キメラポリペプチドはまた、同じポリペプチドに由来する２つまたはそれよりも多くの非連続的な部分を含むポリペプチドも包含する。一部の例では、キメラタンパク質は、Ｎｍｂ／細胞透過性ペプチド融合タンパク質を含み、ここで、細胞透過性ペプチドは、ＮｍｂのＮ末端またはＣ末端にある。２つまたはそれよりも多くの異なるペプチドは、たとえば、リンカー（たとえば、１～３０個のアミノ酸）を使用して、直接的または間接的に接合され得る。

【００３５】

慢性閉塞性肺疾患：長期間の呼吸問題および気流不良によって特徴付けられる閉塞性肺疾患の一種である。気流制限は通常、進行性であり、非毒性粒子または気体に対する肺の異常な炎症応答に関連している。主な症状としては、息切れおよび痰の発生を伴う咳が挙げられる。喫煙は、ＣＯＰＤのもっとも一般的な原因である。開示されるＮｍｂ核酸分子およびペプチドは、たとえば、気管支拡張剤、コルチコステロイド、抗生物質、酸素補充、またはそれらの組合せと組み合わせて、ＣＯＰＤを処置するために使用することができる。

【００３６】

ｃＤＮＡ（相補的ＤＮＡ）：内部の非コーディングセグメント（イントロン）および転写を決定する調節配列が欠如したＤＮＡの一片である。ｃＤＮＡは、逆転写によってメッセンジャーＲＮＡから合成することができる。

【００３７】

接触：直接的な物理的会合におくことであり、固体形態または液体形態を含む。接触させることは、たとえば、試薬を試料（たとえば、ＩＬＣ２細胞を含むもの）に添加することによって、ｉｎ　ｖｉｔｒｏもしくはｅｘ　ｖｉｖｏで生じ得るか、または対象に投与することによってｉｎ　ｖｉｖｏで生じ得る。

【００３８】

対照：参照標準物である。一部の実施形態では、対照は、健常対象である。他の実施形態では、対照は、表１に列挙される障害を有する対象である。なおも他の実施形態では、対照は、経歴対照または標準参照値もしくは値の範囲（たとえば、公知の予後診断もしくは転帰を有する以前に試験した対照対象またはベースラインもしくは正常値を示す対象の群）である。試験対象と対照との間の差は、増加または減少であり得る。差は、定性的差であっても定量的差であってもよく、たとえば、統計学的有意差であってもよい。一部の例では、差は、対照と比べて、少なくとも約５％、たとえば、少なくとも約１０％、少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、少なくとも約９０％、少なくとも約１００％、少なくとも約１５０％、少なくとも約２００％、少なくとも約２５０％、少なくとも約３００％、少なくとも約３５０％、少なくとも約４００％、少なくとも約５００％、または５００％を上回る増加または減少である。

【００３９】

縮重バリアント：遺伝子コードの結果として縮重となる配列を含む、ペプチド、たとえば、Ｎｍｂをコードするヌクレオチドである。天然のアミノ酸は、２０個あり、その大半が、１つを上回るコドンによって指定される。したがって、ヌクレオチド配列によってコー

ドされるペプチドのアミノ酸配列が変化しない限り、すべての縮重ヌクレオチド配列が、本開示に含まれる。

【００４０】

有効量または治療有効量：たとえば、処置されている対象において、有益または所望される結果を達成するのに十分である薬剤（たとえば、Ｎｍｂタンパク質またはＮｍｂをコードする核酸分子）の量である。たとえば、これは、炎症（たとえば、２型サイトカイン媒介性炎症）、喘息発作、アレルギー反応を低減もしくは抑制するか、症状および肺機能を改善させるか、またはそれらの組合せを行うのに必要な、Ｎｍｂタンパク質またはＮｍｂをコードする核酸分子の量であり得る。対象に投与する場合、所望されるｉｎ　ｖｉｖｏ効果を達成することが示されている標的組織濃度（たとえば、気道における）を達成するであろう投薬量が、一般に使用されるであろう。

【００４１】

治療有効量は、処置されている対象および疾患状態、対象の体重および年齢、疾患状態の重症度、投与の様式などのうちの１つまたは複数に応じて、変動し得、これらは、当業者によって決定することができる。有益な治療効果としては、疾患、症状、障害、または病態の緩和；疾患、症状、障害、または状態の発症の低減または予防；および疾患、症状、障害、または病態への全般的な対抗を挙げることができる。一実施形態では、「有効量」は、（１）たとえば、肺もしくはアレルギー反応の部位において、炎症を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（２）たとえば、ＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞において、ＩＬ－５を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（３）たとえば、ＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞において、ＩＬ－１３を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（４）ＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞応答、たとえば、存在する増殖性および／もしくは活性化されたＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞の数を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、ならびに／または（５）たとえば、肺もしくは末梢血において、好酸球増加を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少などを行うのに十分な量である。

【００４２】

好酸球増加：末梢血における好酸球数が、約４５０～５００個の細胞／μＬを上回る（たとえば、全血球計算（ＣＢＣ）によって決定される）状態、または組織病理検査で観察される非血液組織の好酸球数の増加である。好酸球は、通常、循環白血球のうちの５～７％未満を占める。例示的な原因としては、アレルギー反応および寄生生物感染が挙げられる。

【００４３】

去痰剤：たとえば、咳嗽によって、肺および気道からの粘液、痰、および他の流体の排出を誘導する薬物または化学物質である。そのような試薬の１つの例は、グアイフェネシンである。

【００４４】
増加または減少：それぞれ、対照値（Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子での処置の前の値、またはＮｍｂタンパク質もしくは核酸分子で処置していない同様の障害を有する対象における値）からの、数での統計学的に有意な正または負の変化である。増加は、対照値と比較して、正の変化、たとえば、少なくとも５０％、少なくとも１００％、少なくとも２００％、少なくとも３００％、少なくとも４００％、または少なくとも５００％の増加である。減少は、対照値と比較して、負の変化、たとえば、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも５０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも１００％の減少である。一部の例では、減少は、１００％よりも少なく、たとえば、９０％を上回らない、９５％を上回らない、または９９％を上回らない減少である。
【００４５】
２型自然リンパ系細胞（ＩＬＣ２）：リンパ系共通前駆細胞に由来する自然リンパ系細胞の一種である。これらの細胞は、組換え活性化遺伝子が欠如しているため、抗原特異性ＢまたはＴ細胞受容体が欠如している。ＩＬＣ２は、２型サイトカイン（たとえば、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－９、ＩＬ－１３）を産生する。
【００４６】
インターロイキン－５（ＩＬ－５）：（たとえば、ＯＭＩＭ　１４７８５０）：２型ヘルパー細胞（Ｔｈ２細胞）、ＩＬＣ２細胞、およびマスト細胞によって産生されるインターロイキンである。ＩＬ－５は、Ｂ細胞成長を刺激し、免疫グロブリンの分泌、主としてＩｇＡを増加させる。それはまた、好酸球活性化も媒介する。ＩＬ－５は、アレルギー性鼻炎および喘息を含むいくつかのアレルギー疾患の原因と関係付けられている。ＩＬ－５を標的とする例示的な薬物としては、メポリズマブ、ベンラリズマブ、およびレスリズマブが挙げられ、これらは、たとえば、喘息（たとえば、好酸球性喘息）または好酸球性多発血管炎性肉芽腫症（ＥＧＰＡ）を処置するために、本明細書に開示されるＮｍｂタンパク質または核酸分子と組み合わせて使用することができる。
【００４７】
ＩＬ－５配列は、たとえば、ＧｅｎＢａｎｋ（登録商標）配列データベースから、公的に入手可能である（たとえば、受託番号ＮＰ＿０００８７０．１（成熟ペプチド、アミノ酸２０～１３４）、ＣＡＡ２９６０７．１、およびＮＰ＿００１００６９５１．１は、例示的なＩＬ－５タンパク質配列を提供し、一方で受託番号ＮＭ＿０００８７９．２、Ｘ０６２７１．１、およびＮＭ＿００１００６９５０．１は、例示的なＩＬ－５核酸配列を提供する）。ＩＬ－５バリアント、たとえば、そのような受託番号に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有するものが、企図される。
【００４８】
インターロイキン－１３（ＩＬ－１３）（たとえば、ＯＭＩＭ　１４７６８３）：Ｔｈ２細胞、ＣＤ４細胞、ナチュラルキラーＴ細胞、マスト細胞、好塩基球、好酸球、およびＩＬＣ２細胞によって分泌されるサイトカインである。ＩＬ－１３は、ＩｇＥ合成、杯細胞過形成、粘液過分泌、気道過敏、線維症、およびキチナーゼ上方調節における中心的な調節因子である。それは、アレルギー性炎症および喘息を含む異なる疾患の媒介因子である。ＩＬ－１３を標的とする例示的な薬物としては、トラロキヌマブおよびレブリキズマブが挙げられ、これらは、たとえば、喘息、アトピー性皮膚炎、またはホジキンリンパ腫を処置するために、本明細書に開示されるＮｍｂタンパク質または核酸分子と組み合わせて使用することができる。
【００４９】
ＩＬ－１３配列は、たとえば、ＧｅｎＢａｎｋ（登録商標）配列データベースから公的に入手可能である（たとえば、受託番号ＮＰ＿００２１７９．２（成熟ペプチド、アミノ酸２１～１３２）、ＮＰ＿０３２３８１．１（成熟ペプチド、アミノ酸２２～１３１）、およびＮＰ＿４４６２８０．１（成熟ペプチド、アミノ酸２１～１３１）は、例示的なＩＬ

－１３タンパク質配列を提供し、一方で受託番号ＮＭ＿００２１８８．２、ＮＭ＿００８３５５．３、およびＮＭ＿００１００３３８４．１は、例示的なＩＬ－１３核酸配列を提供する）。ＩＬ－１３バリアント、たとえば、そのような受託番号に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有するものが、企図される。

【００５０】

吸入装置：蒸気または揮発医薬を吸入により投与するための装置である。吸入装置は、しばしば、たとえば、喘息を処置するために、気道に局所的に医薬を投与するために使用される。一部の例では、吸入装置は、乾燥粉末吸入装置である。他の例では、吸入装置は、定用量吸入装置である。一部の例では、吸入装置は、本明細書に開示されるＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７のうちのいずれか１つ）、またはそれをコードする核酸分子（たとえば、配列番号２）（または核酸分子などを含有するベクター）を含む。

【００５１】

阻害する：分子の作用または機能を減少、制限、または遮断することである。ある例では、ＩＬ－５および／またはＩＬ－１３活性（たとえば、タンパク質発現）は、本明細書に開示されるＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７のうちのいずれか１つ）、またはそれをコードする核酸分子（たとえば、配列番号２）（または核酸分子などを含有するベクター）によって低減または阻害される。たとえば、本明細書に開示されるＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７のうちのいずれか１つ）、またはそれをコードする核酸分子（たとえば、配列番号２）（または核酸分子などを含有するベクター）は、ＩＬ－５および／またはＩＬ－１３活性を、たとえば、Ｎｍｂタンパク質または核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、または少なくとも９０％低減または阻害する。

【００５２】

単離された：「単離された」生物学的成分（たとえば、タンパク質もしくは核酸、または細胞）は、成分が生じた生物の細胞または組織における他の生物学的成分、たとえば、他の細胞、染色体および染色体外ＤＮＡおよびＲＮＡ、ならびにタンパク質から実質的に分離されているか、そこから分離して産生されているか、またはそこから精製されている。「単離された」核酸およびタンパク質には、標準的な精製方法によって精製された核酸およびタンパク質が含まれる。この用語はまた、宿主細胞における組換え発現によって調製された核酸およびタンパク質（たとえば、Ｎｍｂタンパク質および核酸分子）、ならびに化学的に合成された核酸およびタンパク質を包含する。単離されたＮｍｂタンパク質、Ｎｍｂ核酸、または細胞（たとえば、ＩＬＣ２細胞）は、一部の例では、少なくとも５０％純粋、たとえば、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または少なくとも１００％純粋である。

【００５３】

リンカーまたはスペーサー：２つまたはそれよりも多くの部分（たとえば、これらの部分のうちの一方は、Ｎｍｂペプチドである）を一緒に接合する（たとえば、共有結合で接合する）が、特定の生物学的活性を有さず、これらの部分の活性または機能に著しく負の影響を及ぼさない、分子である。リンカーは、好ましくは、生体適合性である。リンカーは、接合された部分の特性、たとえば、部分のフォールディング、立体構造、疎水性、およ

び／または間隔を提供するかまたはそれに影響を及ぼすように選択され得る。一部の例では、リンカーは、それぞれが本明細書に記載される化合物に含まれる部分のうちの１つと共有結合を形成することができる反応性部位を、それぞれの末端に含む。一部の例では、リンカーには、ペプチド、直鎖もしくは分岐鎖炭素リンカー、または複素環式炭素リンカーが含まれる。

【００５４】

ネブライザー：たとえば、医薬（たとえば、Ｎｍｂタンパク質または核酸子を含むもの）を、呼吸器の深い部分へ送達するために、液体形態の薬を、吸入することができる微細スプレー（エアロゾル）に変えるデバイスである。

【００５５】

ニューロメジンＢ（Ｎｍｂ）：（たとえば、ＯＭＩＭ　１６２３４０）：ニューロメジンＡ、Ｂ、Ｃ、Ｋ、Ｌ、Ｎ、Ｓ、およびＵを含むニューロメジンペプチドファミリーの一部である。Ｎｍｂは、哺乳動物の中枢神経系、肺、消化管、および脂肪組織に発現されるボンベシン関連ペプチドである。Ｎｍｂは、その高親和性細胞表面受容体であるニューロメジンＢ受容体（ＮＭＢＲ）への結合によって作用する。その受容体に結合すると、Ｎｍｂは、細胞成長、体温、血圧、およびグルコースレベルを調節することが報告されている。Ｎｍｂが、たとえば、ＩＬ－５およびＩＬ－１３の発現を低減させることによって、２型サイトカイン媒介性炎症を低減させることもできることが、本明細書に示されている。

【００５６】

Ｎｍｂデカペプチドの配列は、哺乳動物種全体で高度に保存されており：ＧＮＬＷＡＴＧＨＦＭ（配列番号１）、配列ｇｇｃａａｃｃｔｃｔｇｇｇｃｃａｃｃｇｇｔｃａｃｔｔｃａｔｇ（配列番号２）によってコードされ得る。このデカペプチドは、ニューロメジンＢ、またはニューロメジンＢ　２３－３２として知られている場合がある。

【００５７】

デカペプチドを識別することができる全長Ｎｍｂ配列は、たとえば、ＧｅｎＢａｎｋ（登録商標）配列データベースから、公的に入手可能である（たとえば、受託番号ＡＡＡ５９９３４．１、ＡＡＨ２８４９０．１、およびＡ３７１７８は、例示的なタンパク質配列を提供し、一方で受託番号ＢＣ００７４０７．２、ＢＣ０２８４９０．１、およびＥＵ３７５５６４．１は、例示的な核酸配列を提供する）。Ｎｍｂバリアント、たとえば、配列番号１に対して少なくとも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９２％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有するもの、たとえば、配列番号３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、および３７のうちのいずれか１つを生成することができ、それは、本明細書に提供される方法を使用して、たとえば、炎症性障害、たとえば、表１に列挙されるものを処置するための治療用組み換え核酸分子およびタンパク質を生成するために使用することができる。

【００５８】

非天然または操作された：本明細書において互換可能に使用される用語であり、人間の手の関与を示す。核酸分子またはポリペプチド（たとえば、Ｎｍｂ分子）に言及する場合、この用語は、核酸分子またはポリペプチドが、少なくとも実質的に、それらが自然界で天然に関連しており、かつ天然に見出される、少なくとも１つの他の成分を含まないことを示す。加えて、この用語は、核酸分子またはポリペプチド、たとえば、バリアントＮｍｂ分子が、天然に見出されない配列を有するものであることを示し得る。

【００５９】

作動可能に連結した：第１の核酸配列が、第２の核酸配列との機能的関係に置かれている場合、第１の核酸配列は、第２の核酸配列と作動可能に連結している。たとえば、プロモーターが、コーディング配列（たとえば、Ｎｍｂデカペプチドコーディング配列）の転写または発現に影響を及ぼす場合、プロモーターは、コーディング配列に作動可能に連結し

ている。一般に、作動可能に連結したＤＮＡ配列は、連続的であり、２つのタンパク質コーディング領域を接合する必要がある場合は、同じリーディングフレーム内にある。

【００６０】

薬学的に許容される担体：有用な薬学的に許容される担体は、従来的なものである。Remington’s Pharmaceutical Sciences, by E.W. Martin, Mack Publishing Co., Easton, PA, 22nd Edition, 2013は、本明細書に開示されるＮｍｂタンパク質の薬学的送達に好適な組成物および製剤について記載している。

【００６１】

一般に、担体の性質は、用いられる具体的な投与様式に依存することになる。たとえば、非経口製剤は、通常、ビヒクルとして、水、生理食塩水、平衡塩類溶液、水性デキストロース、グリセロールなどといった、薬学的および生理学的に許容される流体を含む、注射可能な流体を含む。固体組成物（たとえば、粉末剤、丸剤、錠剤、またはカプセルの形態）については、従来的な非毒性の固体担体として、たとえば、医薬品グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、またはステアリン酸マグネシウムを挙げることができる。生物学的に中性の担体に加えて、投与しようとする医薬組成物は、少量の非毒性補助物質、たとえば、湿潤剤または乳化剤、保存剤、およびｐＨ緩衝剤など、たとえば、酢酸ナトリウムまたはモノラウリン酸ソルビタンを含有してもよい。

【００６２】

ポリペプチド、ペプチド、およびタンパク質：これらの用語は、アミド結合（ＣＯＮＨ）によって一緒に化学的に結合されたアミノ酸など、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指して、本明細書において互換可能に使用される。ポリマーは、直鎖であっても分岐鎖であってもよく、これは、改変されたアミノ酸を含んでもよく、非アミノ酸によって中断されてもよい。この用語はまた、改変されているアミノ酸ポリマー、たとえば、ジスルフィド結合の形成、グリコシル化、脂質付加、アセチル化、リン酸化、または任意の他の操作、たとえば、標識化成分とのコンジュゲーションも包含する。本明細書で使用される場合、「アミノ酸」という用語には、天然および／または非天然もしくは合成のアミノ酸が含まれ、グリシンおよびＤまたはＬの両方の光学異性体、ならびにアミノ酸アナログおよびペプチド模倣体が含まれる。一部の例では、ペプチドは、Ｎｍｂペプチド、たとえば、Ｎｍｂデカペプチドである。

【００６３】

精製された：「精製された」という用語は、絶対的な純粋さを必要とするものではなく、相対的な意味が意図される。したがって、たとえば、精製された核酸は、核酸が、細胞内のその天然の環境における核酸よりも濃縮されているものである。同様に、精製されたペプチド調製物は、タンパク質が、たとえば、細胞であるよりも濃縮されているものである。実質的な精製とは、他のタンパク質または細胞構成成分からの精製を指す。一実施形態では、調製物は、本明細書に開示されるＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、および３７のうちのいずれか１つが、調製物中の総タンパク質含量のうちの少なくとも５０％（たとえば、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％、または９９％であるがこれらに限定されない）を占めるように、精製される（または単離される）。本明細書に開示されるＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、および３７のうちのいずれか１つ）は、任意の手段によって精製（および／または合成）することができる（たとえば、Guide to Protein Purification, ed. Deutscher, Meth. Enzymol. 185, Academic Press, San Diego, 2nd Edition, 2009およびScopes, Protein Purification: Principles and Practice, Springer Verlag, New York, 3rd Edition, 1994を参照されたい）。

【００６４】
配列同一性／類似性：アミノ酸（またはヌクレオチド）配列間の類似性は、配列間の類似性として表され、それ以外には配列同一性と称される。配列同一性は、同一性（または類似性または相同性）のパーセンテージに関して測定されることが多く、パーセンテージが高いほど、２つの配列は類似している。
【００６５】
比較のための配列アライメント方法およびアライメントアルゴリズムは、Smith and Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482, 1981、Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443, 1970、Pearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:2444, 1988、Higgins and Sharp, Gene 73:237, 1988、Higgins and Sharp, CABIOS 5:151, 1989、Corpet et al., Nucleic Acids Research 16:10881, 1988、およびPearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:2444, 1988において説明されている。Altschul et al., Nature Genet. 6:119, 1994は、配列アライメント方法および相同性の計算についての詳細な考察を提示している。
【００６６】
ＮＣＢＩのＢａｓｉｃ Ｌｏｃａｌ Ａｌｉｇｎｍｅｎｔ Ｓｅａｒｃｈ Ｔｏｏｌ（ＢＬＡＳＴ）（Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403, 1990）は、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ（ＮＣＢＩ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤ）およびインターネットを含むいくつかの供給源から、配列分析プログラムｂｌａｓｔｐ、ｂｌａｓｔｎ、ｂｌａｓｔｘ、ｔｂｌａｓｔｎ、およびｔｂｌａｓｔｘと併せて使用するために入手可能である。このプログラムを使用して配列同一性を判定する方法に関する説明は、インターネット上でＮＣＢＩのウェブサイトにおいて入手可能である。
【００６７】
タンパク質および核酸配列（本明細書に提供されるＮｍｂ配列を含む）のバリアントは、典型的に、ＮＣＢＩ Ｂｌａｓｔ ２．０を、ギャップ付きｂｌａｓｔｐをデフォルトのパラメーターに設定して使用して、アミノ酸配列との全長アライメントにわたって計数される少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有することによって特徴付けられる。約３０アミノ酸を上回るアミノ酸配列の比較については、Ｂｌａｓｔ ２配列関数を、デフォルトのＢＬＯＳＵＭ６２マトリックスをデフォルトのパラメーター（ギャップ存在コスト１１および残基ごとのギャップコスト１）に設定して使用して、用いる。短いペプチド（およそ３０アミノ酸よりも少ない）をアライメントする場合、アライメントは、Ｂｌａｓｔ ２配列関数を使用し、ＰＡＭ３０マトリックスをデフォルトのパラメーター（ギャップオープンペナルティ９、ギャップ伸長ペナルティ１）に設定して用いて、実行することができる。そのような短い枠にわたる配列同一性を判定するための方法は、インターネット上でＮＣＢＩのウェブサイトにおいて入手可能である。これらの配列同一性の範囲は、案内のためだけに提供されており、提供された範囲に含まれない強力に有意なホモログが入手され得ることもまったく可能である。
【００６８】
対象：哺乳動物、たとえば、ヒトまたは獣医学的対象である。哺乳動物には、マウス、サル、ヒト、家畜、競技動物、および愛玩動物が含まれるが、これらに限定されない。一実施形態では、対象は、非ヒト哺乳動物対象、たとえば、サルまたは他の非ヒト霊長類、マウス、ラット、ウサギ、ブタ、ヤギ、ヒツジ、イヌ、ネコ、イノシシ、雄ウシ、ウマ、または雌ウシである。一部の例では、対象は、研究室動物／生物、たとえば、マウス、ウサギ、またはラットである。一部の例では、対象は、炎症性障害、たとえば、表１に列挙されるもの（たとえば、喘息、ＣＯＰＤ、またはアレルギー反応）を有する。
【００６９】

処置することまたは処置：疾患または疾患もしくは病理に関連する病態（たとえば、表１に列挙されるもの、たとえば、気道障害、たとえば、喘息もしくは慢性閉塞性肺疾患、またはアレルギー反応）の兆候または症状を改善する治療介入を指す。処置は、そのような状態の寛解または治癒を誘導することができる。具体的な例では、処置は、炎症を低減させることを含む。

【００７０】

疾患（たとえば、気道疾患または表１に列挙される他の障害）と関連する兆候または症状の低減または抑制は、たとえば、易罹患性対象における疾患の臨床症状の発生の遅延、疾患の一部もしくはすべての臨床症状の重症度の低減、疾患の緩徐な進行（たとえば、疾患を有する対象の寿命を延ばすことによる）、疾患の再発回数の低減、対象の全般的な健康状態もしくは健康性の改善、または特定の疾患に特異的な当該技術分野において周知の他のパラメーターによって、根拠付けることができる。

【００７１】

処置は、身体検査および他の臨床検査などの結果を含む、客観的または主観的パラメーターによって評価することができる。１つの例では、開示される方法を使用した処置は、（１）たとえば、肺もしくはアレルギー反応の部位において、炎症を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（２）たとえば、ＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞において、ＩＬ－５を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（３）たとえば、ＩＬＣ２および／もしくは細胞において、ＩＬ－１３を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（４）ＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞応答、たとえば、存在する増殖性および／もしくは活性化されたＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞の数を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、ならびに／または（５）たとえば、肺もしくは末梢血において、好酸球増加を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少などを行う。

【００７２】

十分な条件下：所望される活性を可能にする任意の環境を説明して使用される語句である。１つの例では、これには、所望される活性を許容する（たとえば、ＩＬ－５および／またはＩＬ－１３と関連する炎症を低減させる）のに十分な、本明細書に開示される１つまたは複数のＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、および３７のうちの１つまたは複数）、またはそれをコードする核酸分子（たとえば、配列番号２）（または核酸分子などを含むベクター）を含む有効量の組成物を投与することが含まれる。

【００７３】

単位用量：個別または集合的に、所望される効果、たとえば、治療効果をもたらすように計算される、所定量の活性材料を含有する、物理的に別個の単位である。単一の単位用量

または複数の単位用量を所望される効果、たとえば、障害、たとえば、表１に列挙されるもの、たとえば、喘息、ＣＯＰＤ、またはアレルギー反応の処置を提供するために使用することができる。

【００７４】

ベクター：細胞に導入され、それによって形質転換された細胞を産生する、核酸分子である。ベクターは、宿主細胞においてそれが複製するのを可能にする核酸配列、たとえば、複製起点を含み得る。ベクターは、１つまたは複数の治療用遺伝子（たとえば、本明細書に提供されるＮｍｂペプチドをコードするもの）および／または選択可能なマーカー遺伝子ならびに他の遺伝子エレメントを含み得る。ベクターは、細胞に形質導入されるか、細胞を形質転換するか、または細胞に感染し、それによって、細胞が、細胞にとって天然であるもの以外の核酸および／またはタンパク質を発現するようにする。ベクターは、必要に応じて、核酸の細胞内への進入を達成するのを補助する材料、たとえば、ウイルス粒子、リポソーム、タンパク質コーティング、またはその他のものを含む。１つの例では、ベクターは、ウイルスベクター、たとえば、ＡＡＶまたはレンチウイルスベクターである。

【００７５】

ＩＩ．概要

好塩基球は、そのＩＬ－４産生ならびにＩＬＣ２およびＴＨ２細胞を含む他の細胞型の活性化を促進する能力を介して、２型サイトカイン応答を増幅させることができる（２、５、１０）。さらに、好塩基球増加は、蠕虫感染またはアレルギー性炎症の誘導後の２型サイトカイン媒介性炎症の一般的な特性である（２、１０）。好塩基球応答は、２型炎症の特徴であるにもかかわらず、２型応答を調節することにおいてこれらの不可解な細胞が果たす役割は、議論を残したままである。たとえば、好塩基球集団は、Ｎｂ感染後に急速に拡大するが、これらの細胞の枯渇は、抗蠕虫免疫および寄生生物クリアランスにほとんどまたはまったく影響を有さない（２、１１）。したがって、Ｎｂに誘導される好塩基球は、寄生生物クリアランスに寄与していないが、他の特定されていない機能を行う可能性がある。

【００７６】

本明細書に提示されるデータは、ＩＬＣ２およびＴＨ２細胞応答を負に調節することができる、神経系と免疫系との間におけるこれまでに認識されていなかったやりとりの側面を識別する。これまでの研究は、コリン作動性ニューロンによるニューロメジンＵの発現が、ＩＬＣ２の活性化を促進し、蠕虫寄生生物に対する免疫性を増幅させ得ることを実証しており（８、９）、神経系および免疫系が、病原体の最適な感知およびクリアランスを可能にする様式で協働していることを示している。本明細書に提示される研究は、神経系と免疫系とが共進化したときに、それらが、組織完全性を維持するのを補助するために、ニューロメジンＢシグナル伝達を介して炎症性応答を負に調節する機序も生じたことを示す。さらに、本明細書におけるデータは、さらなるレベルの複雑さを特定し、好塩基球が、免疫細胞によるＮｍｂｒの発現を促進させ、それらがニューロン由来シグナルを受容するのを可能にすることを示す。したがって、他の特化した自然免疫細胞は、ニューロンと２型サイトカイン産生免疫細胞との間の通信手段を媒介するのを補助する。データは、さらに、プロスタグランジンＥ２（ＰＧＥ２）が、リンパ球によるＮｍｂｒ発現を促進することも示唆する。好塩基球は、ＰＧＥ２の強力な供給源であるため、これらのデータは、好塩基球が、ＰＧＥ２を介して炎症を阻害するＮｍｂの能力を調節することを示唆する。これらのデータは、感染性作用物質またはアレルゲンに曝露した後の粘膜部位における炎症を開始し、その持続を注意深く調節することを可能にするために必要とされる、高度に調整された細胞事象に注目している。加えて、本明細書に提示されるデータは、複数の形態のアレルギー疾患および慢性炎症ならびに他の疾患を処置するために治療的に用いることができる、これまでは認識されていなかったＮｍｂの２型サイトカイン応答の負の調節因子としての役割を識別する。

【００７７】

ＩＩＩ．処置の方法

哺乳動物対象における障害、たとえば、炎症性障害、たとえば、２型サイトカインによって引き起こされる炎症性障害を処置するための方法が、本明細書において提供される。一部の例では、障害は、望ましくないインターロイキン－５（ＩＬ－５）および／またはＩＬ－１３活性に関連している。そのような障害の例は、表１に提供されており、アレルギー、気道障害（たとえば、喘息、副鼻腔炎、特発性肺線維症、鼻炎、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、好酸球性食道炎、およびＣＯＰＤ）、皮膚障害（たとえば、湿疹、アトピー性皮膚炎、および蕁麻疹様（urticarial））、および好酸球性障害（たとえば、好酸球性食道炎、好酸球性胃炎、好酸球性胃腸炎、好酸球性腸炎、好酸球性大腸炎、好酸球性喘息、好酸球性胃腸管障害（ＥＧＩＤ）、好酸球性筋膜炎、ＥＧＰＡ、好酸球性肺障害、好酸球増加症候群（ＨＥＳ）、または好酸球性白血病）が挙げられる。１つの例では、処置される障害は、ホジキンリンパ腫である。したがって、そのような障害を有する哺乳動物対象、たとえば、ヒトまたは獣医学的対象は、開示される方法で処置することができる。

【００７８】

治療有効量の、１つもしくは複数のＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質、または１つもしくは複数のＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質をコードする１つもしくは複数の核酸分子を投与することにより、（１）たとえば、肺もしくはアレルギー反応の部位において、炎症を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（２）たとえば、ＩＬＣ２および／もしくは細胞において、ＩＬ－５活性（たとえば、核酸またはタンパク質発現）を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（３）たとえば、ＩＬＣ２および／もしくは細胞において、ＩＬ－１３活性（たとえば、核酸またはタンパク質発現）を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（４）ＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞応答、たとえば、存在する増殖性および／もしくは活性化されたＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞の数を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、ならびに／または（５）たとえば、肺もしくは末梢血において、好酸球増加を減少させる、たとえば、Ｎｍｂタンパク質もしくは核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少などを行い、それによって障害を処置することができる。

【００７９】

開示される処置の方法は、対象に、治療有効量の、少なくとも１つのニューロメジンＢ（Ｎｍｂ）タンパク質もしくはニューロメジンＣ（Ｎｍｃ）タンパク質、または少なくとも１つのＮｍｂタンパク質もしくはＮｍｃタンパク質をコードする少なくとも１つの核酸分子を投与するステップを含み、それによって障害を処置する。ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子は、生理食塩水または水を含むものなど、医薬組成物中に存在し得る。

【００８０】

したがって、一部の例では、少なくとも２つの異なるＮｍｂタンパク質、たとえば、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の異なるＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１

７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、および３７のうちの２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個）が、投与される。一部の例では、投与されるＮｍｂタンパク質のうちの少なくとも１つは、配列番号３、４、５、６、１１、１２、１３、１４、２０、２２、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有する。一部の例では、投与されるＮｍｂタンパク質のうちの少なくとも１つは、配列番号２６、２７、２９、３５、または３６に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有する。一部の例では、少なくとも２つのＮｍｂタンパク質、（１）配列番号３、４、５、６、１１、１２、１３、１４、２０、２２、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有するもの、および（２）配列番号２６、２７、２９、３５、または３６に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有するものが、投与される。一部の例では、少なくとも２つのＮｍｂタンパク質、（１）配列番号３、４、６、７、９、１０、１１、１２、１４、１５、１９、２１、２２、２６、２７、２８、２９、３０、３２、３４、３５、３６、３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有するもの、および（２）配列番号３、４、５、６、９、１１、１２、１３、１４、１８、１９、２０、２１、２２、２３に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有するものが、投与される（ここで、２つのＮｍｂタンパク質は、異なる）。一部の例では、少なくとも２つのＮｍｂタンパク質、（１）配列番号１を含むかまたはそれからなるもの、および（２）配列番号３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７を含むかまたはそれからなるものが、投与される。

【００８１】

一部の例では、少なくとも１つのＮｍｂタンパク質をコードする核酸分子は、１つを上回るＮｍｂタンパク質、たとえば、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の異なるＮｍｂタンパク質をコードする。一部の例では、本方法は、それぞれが少なくとも１のＮｍｂタンパク質をコードする複数の異なる核酸分子を投与するステップを含む。投与される核酸分子は、プラスミドまたはウイルスベクター、たとえば、レンチウイルスまたはアデノ随伴ウイルスベクターの一部であってもよい。加えて、投与される核酸分子は、プロモーター、たとえば、構成的プロモーターまたは他のエンハンサーエレメントに作動可能に連結していてもよい。

【００８２】

例示的な投与様式としては、注射（たとえば、静脈内、筋肉内、腹腔内、もしくは皮内）、経口投与、鼻内投与、吸入投与、または局所投与が挙げられる。１つまたは複数の用量、たとえば、少なくとも２回、少なくとも３回、少なくとも４回、または少なくとも５回の用量の治療有効量の少なくとも１のＮｍｂタンパク質もしくはＮｍｃタンパク質または少なくとも１つのＮｍｂタンパク質もしくはＮｍｃタンパク質をコードする少なくとも１つの核酸分子が、投与され得る。たとえば、本方法は、少なくとも１週間、少なくとも２週間、少なくとも３週間、少なくとも４週間、少なくとも１ヶ月間、少なくとも２ヶ月間、少なくとも３ヶ月間、少なくとも６ヶ月間、少なくとも９ヶ月間、または少なくとも１年間離れている、少なくとも２回の別個の投与を含み得る。一部の例では、投与するステップは、障害の発生から５分以内、１０分以内、３０分以内、１時間以内、２時間以内、３時間以内、４時間以内、５時間以内、６時間以内、１２時間以内、２４時間以内、４８

時間以内、７２時間以内、９６時間以内、１週間以内、２週間以内、３週間以内、４週間以内、１ヶ月以内、２ヶ月以内、または３ヶ月以内に生じる。

【００８３】

一部の例では、投与される少なくとも１つのＮｍｂタンパク質は、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有する。一部の例では、投与される少なくとも１つの核酸分子は、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有する少なくとも１つのＮｍｂタンパク質をコードする。一部の例では、投与される少なくとも１つのＮｍｂ核酸分子コーディング配列は、配列番号２に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有し、ここで、コーディング配列は、ベクターに挿入され得るか、またはその一部であり得る。一部の例では、ニューロメジンＣ（Ｎｍｃ）タンパク質は、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有する。他の例では、核酸分子は、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有するＮｍｃタンパク質をコードする。

【００８４】

一部の例では、本方法は、対象に、治療有効量の別の治療剤、たとえば、表１に提供されるもののうちの１つまたは複数を投与するステップを含む。１つの例では、本方法は、対象に、治療有効量のＰＧＥ２を投与するステップを含む。

【表１－１】

表 1:例示的な障害および追加の治療剤

障害	例示的な追加の治療薬
アレルギー ・ 季節性(たとえば、花粉) ・ 埃/ダニ ・ 食物(たとえば、甲殻類、卵、牛乳、ナッツ、小麦) ・ ペット(たとえば、フケ) ・ 植物 ・ 薬物(たとえば、抗生物質、たとえば、スルファまたはペニシリン、アスピリン、NSAID、抗けいれん薬、化学療法薬) ・ 昆虫(たとえば、ゴキブリ、およびミツバチ、スズメバチ、ジガバチ、キイロスズメバチ、ヒアリの毒液) ・ 病原体(たとえば、ウイルス、細菌、真菌、寄生生物) ・ ラテックス	充血緩和剤 抗ヒスタミン剤 コルチコステロイド 免疫療法薬 エピネフリン
副鼻腔炎	抗生物質(たとえば、アモキシシリン)、 コルチコステロイド
喘息(軽度、中等度、または重度、好酸球性喘息およびステロイド耐性喘息を含む)	コルチコステロイド グルココルチコイド 気管支拡張剤(たとえば、短時間作用型(たとえば、サルブタモール)または長時間作用型(たとえば、ホルモテロール)ベータ-2 アドレナリン作動性アゴニスト、抗コリン作動薬(たとえば、チオトロピウムおよび臭化イプラトロピウム) 長時間作用型ベータアゴニスト(LABA)ロイコトリエン改変剤 メポリズマブ ベンラリズマブ レスリズマブ トラロキヌマブ レブリキズマブ デュピルマブ
COPD	コルチコステロイド 気管支拡張剤(たとえば、短時間作用型(たとえば、サルブタモール)または長時間作用型(たとえば、ホルモテロール)ベータ-2 アドレナリン作動性アゴニスト、抗コリン作動薬(たとえば、チオトロピウムおよび臭化イプラトロピウム) 抗生物質(たとえば、エリスロマイシン) 酸素補充

【表１－２】

障害	例示的な追加の治療薬
特発性肺線維症(IPF)	ピルフェニドン アンジオキナーゼ阻害剤(たとえば、ニンテダニブ)
鼻炎	抗ヒスタミン剤点鼻スプレー コルチコステロイド点鼻スプレー 抗コリン作動薬点鼻スプレー(たとえば、イプラトロピウム) 充血緩和剤(たとえば、シュードエフェドリンまたはフェニレフリン)
好酸球性多発血管炎性肉芽腫症(EGPA)	メポリズマブ グルココルチコイド(たとえば、プレドニゾロン) 免疫抑制剤(たとえば、アザチオプリンおよびシクロホスファミド) メトトレキサート
好酸球性食道炎	局所コルチコステロイド(たとえば、ブデソニド、フルチカゾン) プロトンポンプ阻害剤(たとえば、オメプラゾール、ランソプラゾール、デクスランソプラゾール、エソメプラゾール、パントプラゾール、ラベプラゾール、イラプラゾール)
湿疹	コルチコステロイド(たとえば、ヒドロコルチゾン、プロピオン酸クロベタゾール) 免疫抑制剤(たとえば、ピメクロリムス、タクロリムス)
蕁麻疹(Urticaria)(蕁麻疹(hives))	抗ヒスタミン剤(たとえば、ジフェンヒドラミン、ヒドロキシジン、ロラタジン、セチリジン、デスロラタジン) ロイコトリエンアンタゴニスト(たとえば、モンテルカストおよびザフィルルカスト) 経口グルココルチコイド 抗炎症剤 オマリズマブ 免疫抑制剤
慢性掻痒	コルチコステロイド(たとえば、コルチゾンおよびプレドニゾン) カルシニューリン阻害剤(たとえば、ピメクロリムスおよびタクロリムス) 抗うつ剤(たとえば、プロザックおよびゾロフト)
血管浮腫	抗ヒスタミン剤(たとえば、セチリジン) アンドロゲン
結膜炎	抗ヒスタミン剤(たとえば、ジフェンヒドラミン) マスト細胞安定化剤(たとえば、クロモリン) 抗生物質

【表１－３】

障害	例示的な追加の治療薬
アトピー性皮膚炎	トラロキヌマブ 局所コルチコステロイド(たとえば、ヒドロコルチゾン) 局所カルシニューリン阻害剤(たとえば、タクロリムスまたはピメクロリムス) 全身性免疫抑制剤(たとえば、シクロスポイン(ciclospoin)、メトトレキサート、インターフェロンガンマ-1b)
好酸球性障害 ・ 好酸球性食道炎 ・ 好酸球性胃炎 ・ 好酸球性胃腸炎 ・ 好酸球性腸炎 ・ 好酸球性大腸炎 ・ 好酸球性喘息(上記を参照されたい) ・ 好酸球性胃腸障害(EGID) ・ 好酸球性筋膜炎 ・ 好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、以前のチャーグ・ストラウス症候群(EGPA)(上記を参照されたい) ・ 好酸球性肺障害 ・ 好酸球増加症候群(HES) ・ 白血病-好酸球性(慢性、急性、またはクローン性)	局所または全身性ステロイド(たとえば、コルチコステロイド、グルココルチコイド、たとえば、プレドニゾン)、アミノ酸に基づく食事、免疫抑制剤(たとえば、アザチオプリンおよびシクロホスファミド) 白血病に関して:化学療法(たとえば、シタラビン、アントラサイクリン、ヒスタミン二塩酸塩、インターロイキン2)、グリベック、チロシンキナーゼ阻害剤(たとえば、ソラフェニブ、ミドスタルイン(midostaruin)、ポナチニブ)、造血幹細胞移植
寄生生物または真菌感染	抗真菌剤(たとえば、ポリエン(たとえば、アムホテリシンB、ナイスタチン、ナタマイシン)、アゾール(たとえば、フルコナゾール、イトラコナゾール、ボリコナゾール)、アリルアミン(たとえば、テルビナフィン)、およびエキノカンディン(たとえば、カスポファンギン)、タバボロール 抗寄生生物剤(たとえば、抗蠕虫剤、抗原虫剤、抗アメーバ剤)
ホジキンリンパ腫	レブリキズマブ MOPP 放射線療法 ABVD(アドリアマイシン、ブレオマイシン、ビンブラスチン、ダカルバジン) スタンフォードV(アドリアマイシン、ブレオマイシン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、クロルメチン、エトポシド、プレドニゾン) BEACOPP(ドキソルビシン、ブレオマイシン、ビンクリスチン、シクロホスファミド、プロカルバジン、エトポシド、プレドニゾン)

【００８５】

Ａ．ニューロメジンタンパク質

例示的なＮｍｂデカペプチドは、配列番号１に示されており（ヒト）、そのバリアントは、配列番号３～３７に示されている。一部の例では、Ｎｍｂタンパク質は、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７のタンパク質配列を含むかまたはそれからなる。例示的なＮｍｂコーディング配列は、配列番号２に示されている。一部の例では、Ｎｍｂ核酸配列は、配列番号２の配列を含むかまたはそれからなり、これは、一部の例では

、プラスミドまたはベクターの一部であり、一部の例では、プロモーター（たとえば、構成的プロモーター）に作動可能に連結している。

【００８６】

１つの例では、開示される方法は、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、哺乳動物Ｎｍｂタンパク質）を利用する、すなわち、Ｎｍｂタンパク質が、対象に投与される。そのようなタンパク質の例は、配列番号１（天然のＮｍｂタンパク質）に示されている。天然またはバリアントＮｍｂタンパク質を、使用することができる。１つの例では、バリアントＮｍｂペプチドは、Ｎｍｂヌクレオチド配列を操作することによって産生される。一部の例では、タンパク質が、ＩＬ－５活性を減少させるか、ＩＬ－１３活性を減少させるか、好酸球増加を減少させるか、炎症を減少させるか、ＩＬＣ２応答を減少させるか、またはそれらの組合せを行う能力を保持する限り、バリアントＮｍｂ配列、たとえば、１つまたは複数のアミノ酸置換、付加、欠失、またはそれらの組合せを含むものが、使用される。ＩＬ－５活性（たとえば、ＤＮＡまたはタンパク質発現を測定する）、ＩＬ－１３活性（たとえば、ＤＮＡまたはタンパク質発現を測定する）、好酸球増加、炎症、ならびにＩＬＣ２応答を測定する例示的な方法は、本明細書に記載されている。置換を耐容する可能性が高いＮｍｂの領域は、配列をアライメントすることによって判定することができ、ここで、種間で保存されているアミノ酸は、置換を耐容する可能性が低いが、特定の位置で変動するアミノ酸は、置換を耐容する可能性が高い。加えて、アラニンスキャンおよび短縮スキャンを、利用することができる（実施例７を参照されたい）。

【００８７】

バリアントＮｍｂタンパク質、たとえば、配列番号１のバリアントは、１つまたは複数の突然変異、たとえば、単一の挿入、単一の欠失、または単一のアミノ酸置換を含有し得る。一部の例では、突然変異体Ｎｍｂタンパク質は、１～５つの挿入、１～５つの欠失、１～５つの置換、またはそれらの任意の組合せ（たとえば、１～５つの置換とともに単一の挿入）を含む。一部の例では、バリアントＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１）は、１つ、２つ、３つ、４つ、または５つのアミノ酸変化、たとえば、１つ、２つ、３つ、４つ、もしくは５つのアミノ酸置換（たとえば、保存的アミノ酸置換）、１つ、２つ、３つ、４つ、もしくは５つのアミノ酸挿入、または１つ、２つ、もしくは３つのアミノ酸欠失、またはそれらの組合せを有する。一部の例では、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７は、１つ、２つ、３つ、４つ、または５つのアミノ酸変化、たとえば、１つ、２つ、３つ、４つ、もしくは５つのアミノ酸挿入、１つ、２つ、もしくは３つのアミノ酸欠失、１つ、２つ、３つ、４つ、もしくは５つのアミノ酸置換、またはそれらの任意の組合せ（たとえば、１つ、２つ、３つ、４つ、もしくは５つのアミノ酸置換とともに１つもしくは２つのアミノ酸欠失）を有する。１つの例では、配列番号１は、アミノ酸１、２、３、４、１０において、アミノ酸置換、たとえば、アラニンまたは保存的アミノ酸置換を含む。１つの例では、配列番号１は、アミノ酸１、２、３、４、および／または１０において、２つ、３つ、４つ、または５つのアミノ酸置換、たとえば、アラニンまたは保存的アミノ酸置換を含む。１つの例では、配列番号１は、たとえば、アミノ酸１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０、たとえば、アミノ酸５および／またはアミノ酸７において、１つ、２つ、３つ、または４つのアミノ酸欠失を含む。１つの例では、配列番号１は、たとえば、アミノ酸１および２、１～３、１～４、２～３、２～４、２～５などにおいて、２つ、３つ、または４つの連続的なアミノ酸欠失を含む。１つの例では、配列番号１は、アミノ酸１、２、３、４、１０において、アミノ酸置換、たとえば、アラニンまたは保存的アミノ酸置換を含み、アミノ酸５および／または７において、１つまたは２つのアミノ酸欠失を含む。１つの例では、配列番号１は、Ｎ末端またはＣ末端に、キャップ、たとえば、メタンスルホニルキャップ、ＮＨＭｅ、キャップ、またはＯＨキャップを含む。

【００８８】

１つの種類の修飾または突然変異としては、アミノ酸を類似の生物化学的特性を有するアミノ酸残基と置換すること、すなわち、保存的置換（たとえば、１つ、２つ、３つ、４つ、または５つの保存的置換）が挙げられる。典型的に、保存的置換は、得られるＮｍｂペプチドの活性にほとんどまたはまったく影響を及ぼさない。たとえば、保存的置換は、哺乳動物においてＩＬ－５活性を減少させるか、ＩＬ－１３活性を減少させるか、好酸球増加を減少させるか、炎症を減少させるか、ＩＬＣ２応答を減少させるか、またはそれらの組合せを行うＮｍｂペプチドの能力に実質的に影響を及ぼさない、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７におけるアミノ酸置換である。アラニンスキャンを使用して、Ｎｍｂタンパク質、たとえば、配列番号１内のどのアミノ酸残基が、アミノ酸置換を耐容し得るかを識別することができる（実施例７を参照されたい）。１つの例では、Ｎｍｂ（たとえば、配列番号１）のこれらの活性は、アラニンまたは他の保存的アミノ酸が、１つ、２つ、３つ、４つ、または５つの天然のアミノ酸と置換された場合に、２５％を上回って変更されず、たとえば、２０％を上回って変更されず、たとえば、１０％を上回って変更されない。タンパク質（たとえば、Ｎｍｂ）におけるもともとのアミノ酸と置換することができ、保存的置換とみなされる、アミノ酸の例としては、ＳｅｒとＡｌａ；ＬｙｓとＡｒｇ；ＧｌｎまたはＨｉｓとＡｓｎ；ＧｌｕとＡｓｐ；ＳｅｒとＣｙｓ；ＡｓｎとＧｌｎ；ＡｓｐとＧｌｕ；ＰｒｏとＧｌｙ；ＡｓｎまたはＧｌｎとＨｉｓ；ＬｅｕまたはＶａｌとＩｌｅ；ＩｌｅまたはＶａｌとＬｅｕ；ＡｒｇまたはＧｌｎとＬｙｓ；ＬｅｕまたはＩｌｅとＭｅｔ；Ｍｅｔ、Ｌｅｕ、またはＴｙｒとＰｈｅ；ＴｈｒとＳｅｒ；ＳｅｒとＴｈｒ；ＴｙｒとＴｒｐ；ＴｒｐまたはＰｈｅとＴｙｒ；およびＩｌｅまたはＬｅｕとＶａｌが挙げられる。

【００８９】

より実質的な変更は、保存性の低い置換を使用すること、たとえば、（ａ）置換の範囲における、たとえば、シートもしくはヘリックス構成としてのポリペプチド骨格の構造、（ｂ）標的部位におけるポリペプチドの電荷もしくは疎水性、または（ｃ）側鎖のかさ高さを維持することに対するそれらの作用がより顕著に異なる残基を選択することによって行うことができる。一般に、ポリペプチド機能にもっとも大きな変化をもたらすことが予測される置換は、（ａ）親水性残基、たとえば、セリンもしくはスレオニンが、疎水性残基、たとえば、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、バリン、もしくはアラニンと（もしくはそれによって）置換されるもの、（ｂ）システインもしくはプロリンが、任意の他の残基と（もしくはそれによって）置換されるもの、（ｃ）正電荷の側鎖を有する残基、たとえば、リシン、アルギニン、もしくはヒスチジンが、負電荷の残基、たとえば、グルタミン酸もしくはアスパラギン酸と（もしくはそれによって）置換されるもの、または（ｄ）かさ高い側鎖を有する残基、たとえば、フェニルアラニンが、側鎖を有さないもの、たとえば、グリシンと（もしくはそれによって）置換されるものである。これらのアミノ酸置換（または他の欠失もしくは付加）の作用は、Ｎｍｂタンパク質、たとえば、配列番号１の機能を分析することによって、哺乳動物におけるＩＬ－５活性を減少させるか、ＩＬ－１３活性を減少させるか、好酸球増加を減少させるか、炎症を減少させるか、ＩＬＣ２応答を減少させるか、またはそれらの組合せを行うバリアントＮｍｂタンパク質の能力を分析することによって、あせすることができる。

【００９０】

一部の例では、開示される方法または組成物において使用されるＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８）は、１つまたは複数の位置においてペグ化されている。一部の例では、開示される方法または組成物において使用されるＮｍｂタンパク質またはＮｍｃタンパク質は、免疫グロブリンＦＣドメインを含む。抗体の保存されたＦＣ断片は、

ＮｍｂタンパクまたはＮｍｃタンパクのｎ末端またはｃ末端のいずれかに組み込むことができ、タンパク質の安定性を増強させ、したがって血清半減期を増強させることができる。ＦＣドメインはまた、プロテインＡまたはプロテインＧセファロースビーズ上でタンパク質を精製するための手段としても使用することができる。

【００９１】

Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８）は、細胞内組込みを促進させるために、細胞透過性ペプチド（ＣＰＰ）でタグ付けすることができる。したがって、一部の例では、使用されるＮｍｂタンパク質またはＮｍｃタンパク質は、（１）Ｎｍｂタンパク質またはＮｍｃタンパク質、および（２）細胞透過性ペプチドを含む、融合タンパク質である。細胞透過性ペプチドは、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質のＮまたはＣ末端にあり得る。細胞透過性ペプチドは、通常、高度にカチオン性である短いペプチド（４０アミノ酸またはそれ未満）であり、通常、タンパク質の細胞内取込み／組込みを促進することができるアルギニンおよびリシンが豊富である。使用することができる例示的な細胞透過性ペプチドとしては、親水性ペプチド（たとえば、ＴＡＴ［ＹＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲ、配列番号５７］、ＳｙｎＢ１［ＲＧＧＲＬＳＹＳＲＲＲＦＳＴＳＴＧＲ、配列番号３９］、ＳｙｎＢ３［ＲＲＬＳＹＳＲＲＲＦ、配列番号４０］、ＰＴＤ－４［ＰＩＲＲＲＫＫＬＲＲＬＫ、配列番号４１］、ＰＴＤ－５［ＲＲＱＲＲＴＳＫＬＭＫＲ、配列番号４２］、ＦＨＶＣｏａｔ－（３５－４９）［ＲＲＲＲＮＲＴＲＲＮＲＲＲＶＲ、配列番号４３］、ＢＭＶＧａｇ－（７－２５）［ＫＭＴＲＡＱＲＲＡＡＡＲＲＮＲＷＴＡＲ、配列番号４４］、ＨＴＬＶ－ＩＩ　Ｒｅｘ－（４－１６）［ＴＲＲＱＲＴＲＲＡＲＲＮＲ、配列番号４５］、Ｄ－Ｔａｔ［ＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲＰＰＱ、配列番号４６］、Ｒ９－Ｔａｔ　ＧＲＲＲＲＲＲＲＲＰＰＱ［配列番号４７］、およびペネトラチン［ＲＱＩＫＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫ、配列番号４８］）、両親媒性ペプチド（たとえば、ＭＡＰ［ＫＬＡＬＫＬＡＬＫＬＡＬＡＬＫＬＡ；配列番号４９］、ＳＢＰ［ＭＧＬＧＬＨＬＬＶＬＡＡＡＬＱＧＡＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ；配列番号５０］、ＦＢＰ［ＧＡＬＦＬＧＷＬＧＡＡＧＳＴＭＧＡＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ；配列番号５１］、ＭＰＧ　ａｃ－ＧＡＬＦＬＧＦＬＧＡＡＧＳＴＭＧＡＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ－ｃｙａ；配列番号５２］、ＭＰＧ（ΔＮＬＳ）［ａｃ－ＧＡＬＦＬＧＦＬＧＡＡＧＳＴＭＧＡＷＳＱＰＫＳＫＲＫＶ－ｃｙａ；配列番号５３］、Ｐｅｐ－２［ａｃ－ＫＥＴＷＦＥＴＷＦＴＥＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ－ｃｙａ；配列番号５４］、およびトランスポータン［ＧＷＴＬＮＳＡＧＹＬＬＧＫＩＮＬＫＡＬＡＡＬＡＫＫＩＬ、配列番号５５］）、周期的配列（たとえば、ｐＶｅｃ、ポリアルギニンＲｘＮ（４＜Ｎ＜１７）キメラ、ポリリシンＫｘＮ（４＜Ｎ＜１７）キメラ、（ＲＡｃａ）６Ｒ、（ＲＡｂｕ）６Ｒ、（ＲＧ）６Ｒ、（ＲＭ）６Ｒ、（ＲＴ）６Ｒ、（ＲＳ）６Ｒ、Ｒ１０、（ＲＡ）６Ｒ、Ｒ７、およびｐｅｐ－１［ａｃ－ＫＥＴＷＷＥＴＷＷＴＥＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ－ｃｙａ、配列番号５６］）、Ｃｒ１０（環状ポリアルギニンＣＰＰ）、ＴＡＴ４８－５７、ＴＡＴ４７－５７、またはＴＡＴ４９－５７；ペネトラチン；Ｐｅｐ－１；サブスタンスＰ、ＳＰ；ポリアルギニン、たとえば、Ｒ５－Ｒ１２；ｐＶＥＣ；トランスポータン；ＭＡＰ；ディアトスペプチドベクター１０４７、ＤＰＶ１０４７、ＶＥＣＴＯＣＥＬＬ（登録商標）；ＭＰＧ；ＡＤＰリボシル化因子、ＡＲＦ、たとえば、ＡＲＦ１－２２；ＢＰｒＰｒ（たとえば、ＢＰｒＰｒ１－２８）；ｐ２８；ＶＴ５；Ｂａｃ　７、たとえば、Ｂａｃ１－２４；Ｃ１０５Ｙ；ＰＦＶＹＬＩ（配列番号５８）；およびにＰｅｐ－７が挙げられる。

【００９２】

Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８）には、Ｎ末端キャップ、たとえば

、ホルミル、アセチル、炭素数２～１８のアシル、アリールアシル（ベンゾイルなど）、ヘテロアリールアシル（２－アセチルピリジンなど）、カルバメート（ｔ－ブチルカルバメートなど）、スクシニル、アルキル、もしくはアリールスルホンアミド、ならびに／またはＣ末端キャップ、たとえば、アミド、酸、アルデヒド、およびエステル（アリール、アルキル、ヘテロアリール、ヘテロアルキル、たとえば、２～２０個の反復単位のポリエチレングリコール）が含まれ得る。

【００９３】

Ｂ．タンパク質の生成

組換え発現されたＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質の単離および精製は、従来的な手段、たとえば、分取クロマトグラフィーおよび免疫学的分離によって行うことができる。発現させた後、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質は、硫酸アンモニウム沈降、親和性カラム、カラムクロマトグラフィーなどを含む標準的な手順に従って精製することができる（概して、R. Scopes, Protein Purification, Springer-Verlag, N.Y., 1982を参照されたい）。少なくとも約９０～９５％の均質性の実質的に純粋な組成物が、本明細書において開示され、９８～９９％またはそれを上回る均質性が、医薬目的で使用され得る。

【００９４】

組換え方法に加えて、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質（または上述のそれらのバリアント）もまた、標準的なペプチド合成を使用して全体としてまたは部分的に構築することができる。１つの例では、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質は、短い断片のアミノ末端およびカルボキシル末端の縮合によって合成される。ペプチド結合は、カルボキシル末端の活性化によって（たとえば、カップリング試薬Ｎ，Ｎ’－ジシクロヘキシルカルボジミド（dicylohexylcarbodimide）の使用によって）形成され得る。

【００９５】

Ｃ．タンパク質に対する改変

開示される方法および組成物において使用することができるＮｍｂタンパク質には、本明細書に記載されるＮｍｂペプチドの合成実施形態が含まれる。加えて、これらのペプチドのアナログ（非ペプチド有機分子）、誘導体（開示されるペプチド配列で開始することで得られる化学的に官能化されたペプチド分子）、およびバリアント（ホモログ）を、本明細書に記載される方法において利用することができる。本開示のそれぞれのＮｍｂペプチドおよびＮｍｃペプチドは、天然およびその他のＬ－および／またはＤ－アミノ酸のいずれかであり得る、アミノ酸の配列から構成される。

【００９６】

ＮｍｂおよびＮｍｃペプチドは、改変されていないＮｍｂおよびＮｍｃペプチドと本質的に同じ活性を有し、必要に応じて他の望ましい特性を有する誘導体を産生するように、様々な化学技法によって改変され得る。たとえば、ペプチドのカルボン酸基は、カルボキシル末端か側鎖かにかかわらず、薬学的に許容されるカチオンの塩の形態で提供され得るか、またはＣ１～Ｃ１６エステルを形成するようにエステル化され得るか、式ＮＲ１Ｒ２（式中、Ｒ１およびＲ２は、それぞれ独立して、ＨまたはＣ１～Ｃ１６アルキルである）のアミドに変換され得るか、または複素環、たとえば、５または６員環を形成するように組み合わされ得る。ペプチドのアミノ基は、アミノ末端か側鎖かにかかわらず、薬学的に許容される酸付加塩、たとえば、ＨＣｌ、ＨＢｒ、酢酸、安息香酸、トルエンスルホン酸、マレイン酸、および他の酒石酸の塩、ならびに他の有機塩の形態であり得るか、またはＣ１～Ｃ１６アルキルもしくはジアルキルアミノに改変され得るか、またはリガンド分子の連結のある特定の機能性を組み込むためにアミドにさらに変換され得る。

【００９７】

ペプチド側鎖のヒドロキシル基は、疎水性特徴をペプチドに導入するために、Ｃ１～Ｃ１６アルコキシまたはＣ１～Ｃ１６エステルに変換され得る。あるいは、ヒドロキシル基は、負電荷を導入し、水溶性を増加させるために、硫酸化またはリン酸化されてもよい。あるいは、側鎖ヒドロキシルまたは／およびアスパラギンおよび／またはアスパラギン酸側鎖は、ペプチドの特性をモジュレートすることができる、セリン／スレオニングリコペプ

チドまたはＮ－アセチルグリコペプチドのようにグリコシル化され得る。ペプチド側鎖のフェニルおよびフェノール環は、１つまたは複数のハロゲン原子、たとえば、フッ素、塩素、臭素、もしくはヨウ素で置換され得るか、またはＣ１～Ｃ１６アルキル、Ｃ１～Ｃ１６アルコキシ、カルボン酸、およびそれらのエステル、もしくはそのようなカルボン酸のアミドで置換され得る。ペプチド側鎖のメチレン基は、相同Ｃ２～Ｃ４アルキレンに伸長され得る。チオールは、十分に認識されているいくつかの保護基のうちのいずれか１つ、たとえば、アセトアミド基で保護され得る。チオールは、マレイミドまたはジスルフィドと反応し得る。

【００９８】

ペプチド模倣体および有機模倣体の化学構成成分の三次元配置が、ペプチド骨格および構成要素であるアミノ酸側鎖の三次元配置を模倣し、その結果、ＮｍｂまたはＮｍｃペプチドのそのようなペプチド模倣体および有機模倣体が、２型サイトカイン産生を低減させ、結果として炎症を低減させる、測定可能な能力または増強された能力を有することになる、そのようなペプチド模倣体および有機模倣体の実施形態が、想定される。コンピュータモデリング適用については、ファーマコフォアが、生物学的活性の構造要件の理想的な三次元定義である。ペプチド模倣体および有機模倣体は、コンピュータモデリングソフトウェアを用いて（コンピュータ支援薬物設計またはＣＡＤＤを使用して）、それぞれのファーマコフォアに適合するように設計することができる。ＣＡＤＤにおいて使用される技法の説明については、Walters, “Computer-Assisted Modeling of Drugs,” in Klegerman & Groves, eds., 1993, Pharmaceutical Biotechnology, Interpharm Press: Buffalo Grove, IL, pp. 165-174およびPrinciples of Pharmacology, Munson (ed.) 1995, Ch. 102を参照されたい。そのような技法を使用して調製された模倣体もまた、含まれる。

【００９９】

一部の例では、開示される方法または組成物において使用されるＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８）は、１つまたは複数の改変されたアミノ酸（たとえば、１つ、２つ、３つ、４つ、または５つの改変されたアミノ酸）を含む。例示的なＮｍｂまたはＮｍｃペプチドは、グリコシル化、ペグ化、リン酸化、またはそれが由来するペプチドの少なくとも１つの生物学的機能を保持する（たとえば、ＩＬ－５活性を減少させるか、ＩＬ－１３活性を減少させるか、好酸球増加を減少させるか、炎症を減少させるか、ＩＬＣ２応答を減少させるか、またはそれらの組合せを行う）任意の類似のプロセスによって改変されたものであり得る、誘導体ペプチドである。ＮｍｂまたはＮｍｃペプチドはまた、１つまたは複数の非天然のアミノ酸を含み得る。たとえば、非古典的なアミノ酸または化学的アミノ酸アナログは、置換または付加として、Ｎｍｂペプチド（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃペプチド（たとえば、配列番号３８）に導入され得る。非古典的なアミノ酸としては、一般的なアミノ酸のＤ異性体、２，４－ジアミノ酪酸、アルファ－アミノイソ酪酸、４－アミノ酪酸、Ａｂｕ、２－アミノ酪酸、ガンマ－Ａｂｕ、イプシロン－Ａｈｘ、６－アミノヘキサン酸、Ａｉｂ、２－アミノイソ酪酸、３－アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、ホモシトルリン、システイン酸、ｔ－ブチルグリシン、ｔ－ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、ベーター－アラニン、フルオロ－アミノ酸、デザイナーアミノ酸、たとえば、ベーター－メチルアミノ酸、Ｃアルファ－メチルアミノ酸、Ｎアルファ－メチルアミノ酸、および一般のアミノ酸アナログが挙げられるが、これらに限定されない。さらに、アミノ酸は、Ｄ（右旋性）またはＬ（左旋性）であり得る。他の具体的な例では、本明細書に列挙されるＮｍｂ

ペプチドおよびＮｍｃペプチドの分岐鎖バージョンは、たとえば、配列内の１つまたは複数のアミノ酸を、１つまたは複数のアミノ酸とペプチド結合を形成することができる遊離側鎖を有するアミノ酸またはアミノ酸アナログと置換することによって（こうして「分岐鎖」を形成することができる）、提供される。環状ペプチドもまた、企図される。

【０１００】

合成中または合成後に、たとえば、ベンジル化、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、ペグ化、保護基／遮断基による誘導体化、タンパク質分解による切断、抗体分子または他の細胞リガンドへの連結などによって異なって改変されたペプチド誘導体もまた、含まれる。具体的な実施形態では、Ｎｍｂペプチド（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃペプチド（たとえば、配列番号３８）は、Ｎ末端においてアセチル化されている、および／またはＣ末端においてアミド化されている。１つの例では、Ｎｍｂペプチド（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃペプチド（たとえば、配列番号３８）は、カルボキシ末端アミドを含む。

【０１０１】

ペプチド模倣体は、ペプチドおよびタンパク質に基づくかまたはそれに由来する化合物である。ペプチド模倣体は、非天然のアミノ酸、立体構造制限、同配置換えなどを使用して、公知のペプチド配列の構造改変によって得ることができる。主題のペプチド模倣体は、ペプチドと非ペプチド合成構造体との間で構造空間の連続体を構成し、ペプチド模倣体は、したがって、ファーマコフォアを説明し、ペプチドを、親ペプチドの活性を有する非ペプチド化合物に翻訳するのを補助するのに有用であり得る。

【０１０２】

Ｎｍｂペプチド（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃペプチド（たとえば、配列番号３８）のミメトープは、本開示に含まれる。そのようなペプチド模倣体は、非加水分解性である（たとえば、プロテアーゼまたはペプチドを分解する他の生理学的条件に対する安定性の増加）などの属性を有し得る。例示目的で、ペプチドアナログは、たとえば、ベンゾジアゼピン（たとえば、Freidinger et al. in Peptides: Chemistry and Biology, G. R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988を参照されたい）、置換ガンマラクタム環（Garvey et al. in Peptides: Chemistry and Biology, G. R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988, pl23）、Ｃ－７模倣体（Huffman et al. in Peptides: Chemistry and Biology, G. R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988, p. 105）、ケト－メチレンシュードペプチド（Ewenson et al. (1986) J Med Chem 29:295; and Ewenson et al. in Peptides: Structure and Function (Proceedings of the 9th American Peptide Symposium) Pierce Chemical Co. Rockland, Ill., 1985）、β－ターンジペプチドコア（Nagai et al. (1985) Tetrahedron Lett 26:647; and Sato et al. (1986) J Chem Soc Perkin Trans 1: 1231）、β－アミノアルコール（Gordon et al. (1985) Biochem Biophys Res Commun126:419およびDann et al. (1986) Biochem Biophys Res Commun 134:71）、ジアミノケトン（Natarajan et al. (1984) Biochem Biophys Res Commun 124:141）、ならびにメチレンアミノ改変（Roark et al. in Peptides: Chemistry and Biology, G. R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988,

p134）を使用して、生成することができる。また、概して、Session III: Analytic and synthetic methods, in Peptides: Chemistry and Biology, G. R. Marshall ed., ESCOM Publisher: Leiden, Netherlands, 1988）を参照されたい。

【０１０３】

ペプチド模倣体を生成するために実行することができる様々な側鎖置換えに加えて、本開示は、立体構造が制限されたペプチド二次構造の模倣体の使用を企図する。ペプチドのアミド結合の代用物が、開発されている。アミド結合のよく用いられる代用物としては、以下の基（ｉ）トランス－オレフィン、（ｉｉ）フルオロアルケン、（ｉｉｉ）メチレンアミノ、（ｉｖ）ホスホンアミド、および（ｖ）スルホンアミドが挙げられる。加えて、ペプチド骨格のより実質的な改変に基づくペプチド模倣体を使用することができる。このカテゴリーに入るペプチド模倣体としては、（ｉ）レトロ－インベルソ（retro-inverso）アナログ、および（ｉｉ）Ｎ－アルキルグリシンアナログ（いわゆるペプトイド）が挙げられる。さらに、コンビナトリアルケミストリーの方法を使用して、ペプチド模倣体を産生することができる。たとえば、いわゆる「ペプチドモルフィング（peptide morphing）」戦略の一実施形態は、広範なペプチド結合代替物を含むペプチドアナログのライブラリーのランダムな生成に焦点を当てている。例示的な実施形態では、Ｎｍｂペプチド（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃペプチド（たとえば、配列番号３８）のペプチド模倣体は、ペプチドのレトロ－インベルソアナログとして誘導され得る。そのようなレトロ－インベルソアナログは、Ｓｉｓｔｏらの米国特許第４，５２２，７５２号によって記載されるものなど、公知の方法に従って作製することができる。レトロ－インベルソアナログは、たとえば、ＰＣＴ公開ＷＯ００／０１７２０号に記載されているように生成することができる。混合ペプチド、たとえば、いくつかの通常のペプチド連結を含むものを生成することができる。一般的な指針として、タンパク質分解をもっとも受けやすい部位が、典型的に、変更され、受けにくいアミド連結は、模倣体スイッチングに最適である。最終産物またはその中間体を精製することができる。

【０１０４】

Ｎｍｂペプチド（たとえば配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃペプチド（たとえば、配列番号３８）は、Ｄ立体異性体である少なくとも１つのアミノ酸またはすべてのアミノ酸を含み得る。ＮｍｂペプチドまたはＮｍｃペプチドは、逆転している少なくとも１つのアミノ酸を含み得る。逆転しているアミノ酸は、Ｄ立体異性体であり得る。ペプチドのすべてのアミノ酸は、逆転していてもよく、かつ／またはすべてのアミノ酸は、Ｄ立体異性体であってもよい。別の例示的な実施形態では、ペプチド模倣体は、ペプチドのレトロ－エナンチオアナログとして誘導され得る。このようなレトロ－エナンチオアナログは、市販入手可能なＤ－アミノ酸（またはそのアナログ）およびたとえばＰＣＴ公開ＷＯ００／０１７２０号に記載される標準的な固相または液相ペプチド合成技法を用いて、合成することができる。最終産物を、ＨＰＬＣによって精製して、純粋なレトロ－エナンチオアナログを得ることができる。なおも別の例示的な実施形態では、主題のペプチドのトランス－オレフィン誘導体が作製され得る。トランス－オレフィンアナログは、Y. K. Shue et al. (1987) Tetrahedron Letters 28:3225の方法に従って、またＰＣＴ公開ＷＯ００／０１７２０号に記載されるように、合成することができる。上述の方法によって合成されたシュードジペプチドを、他のシュードジペプチドにカップリングさせて、アミド官能性の代わりにいくつかのオレフィン官能性を有するペプチドアナログを作製することが、さらに可能である。ペプチド模倣体誘導体のなおも別のクラスとしては、ホスホネート誘導体が挙げられる。そのようなホスホネー

ト誘導体の合成は、公知の合成スキームから適合され得る（たとえば、Loots et al. in Peptides: Chemistry and Biology, (Escom Science Publishers, Leiden, 1988, p. 118))、Petrillo et al. in Peptides: Structure and Function (Proceedings of the 9th American Peptide Symposium, Pierce Chemical Co. Rockland, Ill., 1985を参照されたい）。

【０１０５】

他のペプチド模倣体構造が、公知であり、主題のペプチド模倣体における使用のために容易に適合され得る。たとえば、ペプチド模倣体は、１－アザビシクロ［４．３．０］ノナン代用物（Kim et al. (1997) J. Org. Chem. 62:2847を参照されたい）、またはＮ－アシルピペラジン酸（Xi et al. (1998) J. Am. Chem. Soc. 120:80を参照されたい）、または２置換ピペラジン部分を拘束アミノ酸アナログとして組み込み得る（Williams et al. (1996) J. Med. Chem. 39:1345-1348を参照されたい）。なおも他の実施形態では、Ｎｍｂペプチド（たとえば配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃペプチド（たとえば、配列番号３８）のある特定のアミノ酸残基は、アリールおよびビ－アリール部分、たとえば、単環式もしくは二環式芳香族もしくはヘテロ芳香族核、または二重芳香族（biaromatic）、芳香族－ヘテロ芳香族、もしくは二重ヘテロ芳香族核と置き換えられ得る。主題のペプチド模倣体は、たとえば、高スループットスクリーニングと組み合わせたコンビナトリアル合成技法によって、最適化することができる。さらに、ミメトープの他の例としては、タンパク質に基づく化合物、炭水化物に基づく化合物、脂質に基づく化合物、核酸に基づく化合物、天然の有機化合物、合成由来の有機化合物、抗イディオタイプ抗体、および／もしくは触媒抗体、またはそれらの断片が挙げられるが、これらに限定されない。ミメトープは、たとえば、線維形成を阻害することができる化合物に関して、天然および合成の化合物のライブラリーをスクリーニングすることによって、得ることができる。ミメトープは、たとえば、天然および合成の化合物のライブラリー、特に、化学的またはコンビナトリアルライブラリー（配列またはサイズが異なるが、同じ構築ブロックを有する化合物のライブラリー）からも、得ることができる。ミメトープは、たとえば、合理的な薬物設計によって得ることもできる。合理的な薬物設計手順において、本発明の化合物の三次元構造を、たとえば、核磁気共鳴（ＮＭＲ）またはＸ線結晶構造解析によって分析することができる。三次元構造は、次いで、たとえば、コンピュータモデリングによって可能性のあるミメトープの構造を予測するために使用することができる。予測されたミメトープ構造は、次いで、たとえば、化学合成、組換えＤＮＡ技術によって、または天然の源（たとえば、植物、動物、細菌、および真菌）からミメトープを単離することによって、産生することができる。

【０１０６】

Ｄ．ニューロメジン核酸分子およびベクター

例示的なＮｍｂコーディング配列は、配列番号２に示されている。一部の例では、Ｎｍｂをコードする Ｎｍｂ核酸分子は、配列番号２の配列を含むかまたはそれからなる。一部の例では、Ｎｍｂ核酸分子は、配列番号１のタンパク質またはそのバリアント（たとえば、上述のもの）をコードする。一部の例では、Ｎｍｂ核酸配列は、配列番号２を含むかまたはそれからなり、これは、一部の例では、プラスミドまたはベクターの一部であり、一部の例では、プロモーター（たとえば、構成的プロモーター）に作動可能に連結している。

【０１０７】

１つの例では、開示される方法は、Ｎｍｂ核酸配列またはＮｍｃ核酸配列（たとえば、ｃＤＮＡ、ゲノム、またはＲＮＡ配列）を利用する、すなわち、ＮｍｂまたはＮｍｃ核酸分子が、対象に投与され、コードされるＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質が、核酸分子が導入された細胞において発現される。ＮｍｂまたはＮｍｃ核酸分子は、上述のように、天然またはバリアントのＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質をコードし得る。

【０１０８】
遺伝子コードに基づいて、任意のＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８）をコードする核酸配列が、生成され得る。一部の例では、そのような配列は、宿主細胞、たとえば、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質を発現させるために使用される宿主細胞における発現のために、最適化されている。そのような核酸は、直接的に使用することができる（たとえば、対象に投与することができる）か、または対象に投与されるＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質を産生させるために使用することができる。

【０１０９】
１つの例では、Ｎｍｂタンパク質をコードする核酸分子は、配列番号２の配列を含むかまたはそれからなる。また、そのような核酸を含む細胞、プラスミド、およびウイルスベクターも提供され、それらは、ＮｍｂまたはＮｍｃコーディング配列に作動可能に連結したプロモーターもまた含み得る。

【０１１０】
１つの例では、Ｎｍｂタンパク質をコードする核酸配列は、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９９％、または少なくとも９９％の配列同一性を有する。そのような配列は、本明細書に提供されるアミノ酸配列および遺伝子コードを使用して、容易に産生することができる。加えて、当業者であれば、機能的に同等の核酸、たとえば、配列は異なるが同じＮｍｂタンパク質配列をコードする核酸を含有する、様々なクローンを容易に構築することができる。

【０１１１】
核酸分子は、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質をコードするＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ｍＲＮＡ、およびＲＮＡ配列を含む。コーディング配列におけるサイレント突然変異は、遺伝子コードの縮重（すなわち、冗長性）から生じ、それによって、１つを上回るコドンが、同じアミノ酸残基をコードすることができるようになっている。したがって、たとえば、ロイシンは、ＣＴＴ、ＣＴＣ、ＣＴＡ、ＣＴＧ、ＴＴＡ、またはＴＴＧによってコードすることができ、セリンは、ＴＣＴ、ＴＣＣ、ＴＣＡ、ＴＣＧ、ＡＧＴ、またはＡＧＣによってコードすることができ、アスパラギンは、ＡＡＴまたはＡＡＣによってコードすることができ、アスパラギン酸は、ＧＡＴまたはＧＡＣによってコードすることができ、システインは、ＴＧＴまたはＴＧＣによってコードすることができ、アラニンは、ＧＣＴ、ＧＣＣ、ＧＣＡ、またはＧＣＧによってコードすることができ、グルタミンは、ＣＡＡまたはＣＡＧによってコードすることができ、チロシンは、ＴＡＴまたはＴＡＣによってコードすることができ、イソロイシンは、ＡＴＴ、ＡＴＣ、またはＡＴＡによってコードすることができる。標準的な遺伝子コードを示す表は、様々な出典において見出すことができる（たとえば、Stryer, 1988, Biochemistry, 3rd Edition, W.H. 5 Freeman and Co., NYを参照されたい）。

【０１１２】
特定の種のコドン優先度およびコドン使用表を使用して、その特定の種のコドン使用優先度を利用するＮｍｂタンパク質をコードする単離された核酸分子（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードするもの）またはＮｍｃタンパク質をコードする単離された核酸分子（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の配列同一

性を有するタンパク質をコードするもの）を操作することができる。たとえば、開示される方法において使用されるＮｍｂタンパク質は、目的とされる特定の生物（たとえば、ヒトまたはマウス）によって優先的に使用されるコドンを有するように設計することができる。

【０１１３】

Ｎｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するか、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする、核酸分子）またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードするもの）は、ｉｎｖｉｔｒｏ方法、たとえば、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）、リガーゼ連鎖反応（ＬＣＲ）、転写に基づく増幅系（ＴＡＳ）、自己持続性配列複製系（３ＳＲ）、およびＱβレプリカーゼ増幅系（ＱＢ）によってクローニングまたは増幅させることができる。加えて、Ｎｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するか、または配列番号１、１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする、核酸分子）またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードするもの）は、クローニング技法（たとえば、Sambrook et al. (ed.), Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2nd ed., vol. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring, Harbor, N.Y., 1989、およびAusubel et al., (1987) in “Current Protocols in Molecular Biology,” John Wiley and Sons, New York, N.Y.に見出されるもの）によって調製することができる。

【０１１４】

Ｎｍｂタンパク質をコードする核酸配列（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するか、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、

少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする、核酸分子）またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードするもの）は、たとえば、適切な配列のクローニング、またはNarang et al., Meth. Enzymol. 68:90-99, 1979のホスホトリエステル法、Brown et al., Meth. Enzymol. 68:109-151, 1979のホスホジエステル法、Beaucage et al., Tetra. Lett. 22:1859-1862, 1981のジエチルホスホロアミダイト法、たとえば、Needham-VanDevanter et al., Nucl. Acids Res. 12:6159-6168, 1984に記載される自動化合成装置を使用したBeaucage & Caruthers, Tetra. Letts. 22(20):1859-1862, 1981によって記載されている固相ホスホロアミダイトトリエステル法、および米国特許第４，４５８，０６６号の固体支持体法などの方法による直接的な化学合成によるものを含む、任意の好適な方法によって、調製することができる。化学合成により、一本鎖オリゴヌクレオチドが得られる。これを、相補的な配列とのハイブリダイゼーションによって、またはこの一本鎖を鋳型として使用したＤＮＡポリメラーゼによる重合によって、二本鎖ＤＮＡに変換することができる。

【０１１５】

１つの例では、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するもの）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する）は、ＮｍｂタンパクをコードするｃＤＮＡ（配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する核酸分子）またはＮｍｃタンパク質をコードするｃＤＮＡをベクターに挿入することによって、調製される。挿入は、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質がフレームで読み取られ、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質が産生されるように、行うことができる。

【０１１６】

Ｎｍｂ核酸コーディング配列（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するか、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする、核酸分子）またはＮｍｃ核酸コーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク

質をコードするもの）は、配列の挿入または組込みを可能にするように操作することができ、原核生物または真核生物のいずれかにおいて発現させることができる、プラスミド、ウイルス、または他のビヒクルを含むがこれらに限定されない、発現ベクターに挿入することができる。宿主としては、微生物、酵母、昆虫、植物、および哺乳動物生物を挙げることができる。ベクターは、選択可能なマーカー、たとえば、チミジンキナーゼ遺伝子、抗生物質耐性遺伝子、または蛍光タンパク質をコードし得る。

【０１１７】

Ｎｍｂタンパク質をコードする核酸配列（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するか、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする、核酸分子）またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードするもの）は、発現制御配列に作動可能に連結することができる。ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質コーディング配列に作動可能に連結した発現制御配列は、発現制御配列と適合性のある条件下においてＮｍｂまたはＮｍｃコーディング配列の発現が達成されるように、ライゲーションされる。例示的な発現制御配列としては、プロモーター、エンハンサー、転写終結因子、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質コーディング遺伝子の前の開始コドン（すなわち、ＡＴＧ）、イントロンのスプライシングシグナル、ｍＲＮＡの適切な翻訳を可能にするためのその遺伝子の正しいリーディングフレームの維持、ならびに終止コドンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１８】

一実施形態では、ベクターは、酵母、たとえば、Ｓ．　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ、Ｐ．　ｐａｓｔｏｒｉｓ、またはＫｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ　ｌａｃｔｉｓにおける発現に使用される。酵母発現系において使用するための例示的なプロモーターとしては、構成的プロモーター、形質膜Ｈ＋－ＡＴＰａｓｅ（ＰＭＡ１）、グリセルアルデヒド－３－リン酸デヒドロゲナーゼ（ＧＰＤ）、ホスホグリセリン酸キナーゼ－１（ＰＧＫ１）、アルコールデヒドロゲナーゼ－１（ＡＤＨ１）、および多面的薬物耐性ポンプ（ＰＤＲ５）が挙げられる。加えて、誘導性プロモーター、たとえば、ＧＡＬ１－１０（ガラクトースによって誘導される）、ＰＨＯ５（低細胞外無機リン酸によって誘導される）、およびタンデム熱ショックＨＳＥエレメント（３７℃への温度上昇によって誘導される）が、有用である。滴定可能な誘導因子に応答して変動的な発現を誘導するプロモーターとしては、メチオニン応答性ＭＥＴ３およびＭＥＴ２５プロモーター、ならびに銅依存性ＣＵＰ１プロモーターが挙げられる。これらのプロモーターのいずれも、多重コピー（２μ）または単一コピー（ＣＥＮ）プラスミドにクローニングして、さらなるレベルの発現レベル制御をもたらすことができる。プラスミドは、酵母における選択のための栄養マーカー（たとえば、ＵＲＡ３、ＡＤＥ３、ＨＩＳ１、およびその他）、および細菌における繁殖のための抗生物質耐性（ＡＭＰ）を含み得る。Ｋ．　ｌａｃｔｉｓにおける発現のためのプラスミド、たとえば、ｐＫＬＡＣ１が、公知である。したがって、１つの例では、細菌における増幅の後に、プラスミドは、細菌形質転換に類似の方法によって、対応する酵母栄養要求体に導入することができる。Ｎｍｂタンパク質をコードする核酸分子（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも

９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するもの、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードするもの）またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸分子（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードするもの）はまた、昆虫細胞において発現するように設計することもできる。

【０１１９】

Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するもの）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するもの）は、酵母株において発現させることができる。たとえば、７つの多面的薬物耐性トランスポーターＹＯＲ１、ＳＮＱ２、ＰＤＲ５、ＹＣＦ１、ＰＤＲ１０、ＰＤＲ１１、およびＰＤＲ１５が、それらの活性化転写因子ＰＤＲ１およびＰＤＲ３と一緒に、酵母宿主細胞において同時に枯渇されており、得られた株を薬物に対して感受性にしている。形質膜の脂質組成が変更されている酵母株、たとえば、エルゴステロール生合成が欠損したｅｒｇ６突然変異体もまた、利用することができる。タンパク質分解に高度に感受性であるタンパク質は、他の液胞性加水分解酵素の活性化を制御する主液胞性エンドペプチダーゼＰｅｐ４が欠如した酵母細胞において発現させることができる。遺伝子の温度感受性（ｔｓ）対立遺伝子を有する株における異種発現は、対応するヌル突然変異体が生存不能である場合に、用いることができる。

【０１２０】

Ｎｍｂタンパク質をコードするウイルスベクター（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子を含むもの）またはＮｍｃタンパク質をコードするウイルスベクター（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードするもの）もまた、調製することができる。例示的なウイルスベクターとしては、ポリオーマ、ＳＶ４０、アデノウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス（ＡＶＶ）、ＨＳＶおよびＥＢＶを含むヘルペスウイルス、シンドビスウイルス、アルファウイルス、ならびにトリ、マウ

ス、およびヒト起源のレトロウイルスが挙げられる。バキュロウイルス（Ａｕｔｏｇｒａｐｈａ　ｃａｌｉｆｏｒｎｉｃａ核多角体病ウイルス、ＡｃＭＮＰＶ）ベクターもまた、使用することができる。他の好適なベクターとしては、レトロウイルスベクター、オルソポックスベクター、トリポックスベクター、鶏痘ベクター、カプリポックスベクター、ブタポックスベクター、アデノウイルスベクター、ヘルペスウイルスベクター、アルファウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、シンドビスウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、およびポリオウイルスベクターが挙げられる。特定の例示的なベクターは、ポックスウイルスベクター、たとえば、ワクシニアウイルス、鶏痘ウイルス、および高度に減弱化されたワクシニアウイルス（ＭＶＡ）、アデノウイルス、バキュロウイルスなどである。有用なポックスウイルスとしては、オルソポックス、ブタポックス、トリポックス、およびカプリポックスウイルスが挙げられる。オルソポックスには、ワクシニア、欠肢症、およびアライグマポックスが含まれる。有用なオルソポックスの１つの例は、ワクシニアである。トリポックスとしては、鶏痘、カナリア痘、および鳩痘が挙げられる。カプリポックスとしては、山羊痘および羊痘が挙げられる。１つの例では、ブタポックスは、豚痘である。使用することができる他のウイルスベクターとしては、他のＤＮＡウイルス、たとえば、ヘルペスウイルスおよびアデノウイルス、ならびにＲＮＡウイルス、たとえば、レトロウイルスおよびポリオが挙げられる。

【０１２１】

Ｎｍｂタンパク質をコードするウイルスベクター（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子を含むもの）またはＮｍｃタンパク質をコードするウイルスベクター（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、Ｎｍｂタンパク質またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸配列に作動的に連結された少なくとも１つの発現制御エレメントを含み得る。発現制御エレメントは、核酸配列の発現を制御および調節するために、ベクターに挿入される。これらのベクターにおいて有用な発現制御エレメントの例としては、ｌａｃ系、ファージラムダのオペレーターおよびプロモーター領域、酵母プロモーター、ならびにポリオーマ、アデノウイルス、レトロウイルス、またはＳＶ４０に由来するプロモーターが挙げられるが、これらに限定されない。追加の操作エレメントとしては、リーダー配列、終結コドン、ポリアデニル化シグナル、ならびに宿主系におけるＮｍｂタンパク質をコードする核酸配列の適切な転写およびそれに続く翻訳に必要とされる任意の他の配列が挙げられるが、これらに限定されない。発現ベクターは、宿主系における核酸配列を含有する発現ベクターの移入およびそれに続く複製に必要とされる追加のエレメントを含有し得る。そのようなエレメントの例としては、複製起点および選択可能なマーカーが挙げられるが、これらに限定されない。そのようなベクターは、従来的な方法（Ausubel et al., (1987) in “Current Protocols in Molecular Biology,” John Wiley and Sons, New York, N.Y.）を使用して構築することができ、市販入手可能である。

【０１２２】

１つの例では、Ｎｍｂタンパク質をコードするウイルスベクター（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、

少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子を含むもの）またはＮｍｃタンパク質をコードするウイルスベクター（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、レンチウイルスまたはＡＡＶベクターであり、Ｎｍｂコーディング配列に作動可能に連結したプロモーターを含む。一部の例では、プロモーターは、構成的プロモーター、たとえば、ＣＭＶ、ベータアクチン、もしくはＴ７、または組織特異的プロモーター、たとえば、肺特異的プロモーター（たとえば、肺特異的界面活性タンパク質Ｂ遺伝子プロモーター、ＳＰ－Ｂプロモーター、またはＣＣ１０プロモーター）または皮膚特異的プロモーター（たとえば、ケライン（ｋｅｒａｉｎ）１４プロモーター、フィラグリンプロモーター、もしくはトランスグルタミナーゼ３プロモーター）である。

【０１２３】

Ｎｍｂタンパク質をコードする異種ＤＮＡ配列を含有する組換えウイルス（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子を含むもの）またはＮｍｃタンパク質をコードする異種ＤＮＡ配列を含む組換えウイルス（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）を調製するための方法が、公知である。そのような技法は、たとえば、ドナープラスミドにおいてＮｍｂまたはＮｍｃコーディング配列に隣接するウイルス配列と、親ウイルスにおいて存在する同種配列との間の相同組換えを含む。ベクターは、たとえば、親ウイルスベクターに天然に存在するかまたは人工的に挿入された固有の制限エンドヌクレアーゼ部位を使用して、異種ＤＮＡを挿入することによって、構築することができる。

【０１２４】

ＮｍｂまたはＮｍｃコーディング配列が導入される細胞が、真核生物細胞である場合、トランスフェクション方法としては、リン酸カルシウム共沈降、機械的手順、たとえば、マイクロインジェクション、エレクトロポレーション、リポソームに封入されたプラスミドの挿入、またはウイルスベクターが挙げられる。また、真核生物細胞には、Ｎｍｂタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２

０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子を含むもの）またはＮｍｃタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、ならびに選択可能な表現型をコードする第２の外来ＤＮＡ分子、たとえば、単純ヘルペスチミジンキナーゼ遺伝子が、共形質転換され得る。別の方法は、真核生物ウイルスベクター、たとえば、シミアンウイルス４０（ＳＶ４０）またはウシパピローマウイルスを使用して、真核生物細胞を一過的に感染させるかまたは形質転換させ、タンパク質を発現させることである（たとえば、Eukaryotic Viral Vectors, Cold Spring Harbor Laboratory, Gluzman ed., 1982を参照されたい）。発現系、たとえば、プラスミドおよびベクターは、より高等な真核生物細胞、たとえば、ＣＯＳ、ＣＨＯ、ＨｅＬａ、および骨髄腫細胞系を含む細胞において、Ｎｍｂタンパク質を産生させるために使用することができる。

【０１２５】

Ｅ．投与および投薬

Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）を含む医薬組成物は、選択された具体的な投与様式に応じて、適切な薬学的に許容される担体（たとえば、水または生理食塩水）とともに製剤化され得る。そのような組成物は、開示される方法を使用して、神経障害を有する対象に投与することができる。１つの例では、医薬組成物は、注射、たとえば、皮膚、静脈、または筋肉への注射に好適である。

【０１２６】

一部の実施形態では、医薬組成物は、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４

、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、Ｎｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、あるいはＮｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、および薬学的に許容される担体から本質的になる。これらの実施形態では、追加の治療有効剤は、組成物に含まれない。

【０１２７】

他の実施形態では、医薬組成物は、Ｎｍｂタンパク質、たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、Ｎｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、あるいはＮｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、および薬学的に許容される担体を含む。追加の治療剤、たとえば、２型サイトカインによって引き起こされる炎症性障害（たとえば、表１

に示される障害）の処置のための薬剤が、含まれてもよい。したがって、医薬組成物は、治療有効量の別の薬剤を含み得る。そのような薬剤の例としては、限定することなく、ＰＧＥ２、以下の「Ｆ」の節および表１に列挙されているもの、またはそれらの組合せが挙げられる。

【０１２８】

本開示において有用な薬学的に許容される担体および賦形剤は、従来的なものである。たとえば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, The University of the Sciences in Philadelphia, Editor, Lippincott, Williams, & Wilkins, Philadelphia, PA, 22st Edition (2013)を参照されたい。たとえば、非経口製剤は、通常、薬学的および生理学的に許容される流体ビヒクル、たとえば、水、生理食塩水、他の平衡塩類溶液、水性デキストロース、グリセロールなどである、注射可能な流体を含む。固体組成物（たとえば、粉末剤、丸剤、錠剤、またはカプセルの形態）については、従来的な非毒性の固体担体は、たとえば、医薬品グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、またはステアリン酸マグネシウムを含み得る。生物学的に中性な担体に加えて、投与しようとする医薬組成物は、少量の非毒性補助物質、たとえば、湿潤剤または乳化剤、保存剤、ｐＨ緩衝剤など、たとえば、酢酸ナトリウムまたはモノラウリン酸ソルビタンを含有してもよい。含めることができる賦形剤は、たとえば、他のタンパク質、たとえば、ヒト血清アルブミンまたは血漿調製物である。

【０１２９】

一部の実施形態では、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、Ｎｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、あるいはＮｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、制御放出製剤、たとえば、マイクロカプセル封入製剤に含まれる。様々な種類の生体分解性および生体適合性ポリマー、方法を使用することができ、様々な合成化合物、タンパク質、および核酸を封入する方法を、使用することができる（たとえば、米国特許公開第２００７／０１４８０７４号、同第２００７／００９２５７５号、および同第２００６／０２４６１３９号、米国特許第４，５２２，８１１号、同第５，７５３，２３４号、および同第７，０８１，４８９号、ＰＣＴ公開ＷＯ／２００６／０５２２８５号、Benita, Microencapsulation: Methods and Industrial Applications, 2nd ed., CRC Press, 2006を参照されたい）。

【０１３０】
他の実施形態では、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、あるいはＮｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、ナノ分散体系に含まれる。たとえば、米国特許第６，７８０，３２４号、米国特許公開第２００９／０１７５９５３号を参照されたい。たとえば、ナノ分散体系は、生物学的に活性な薬剤および分散剤（たとえば、ポリマー、コポリマー、または低分子量界面活性剤）を含む。使用することができる例示的なポリマーまたはコポリマーとしては、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）、ポリ（Ｄ，Ｌ－乳酸）（ＰＬＡ）、ポリ（Ｄ，Ｌ－乳酸－ｃｏ－グリコール酸（ＰＬＧＡ）、ポリ（エチレングリコール）が挙げられる。例示的な低分子量界面活性剤としては、ドデシル硫酸ナトリウム、ヘキサデシルピリジニウムクロリド、ポリソルベート、ソルビタン、ポリ（オキシエチレン）アルキルエーテル、ポリ（オキシエチレン）アルキルエステル、およびそれらの組合せが挙げられる。１つの例では、ナノ分散体系には、ＰＶＰおよびＯＤＰ、またはそれらのバリアント（たとえば、８０／２０重量／重量）が含まれる。一部の例では、ナノ分散体は、溶媒蒸発法を使用して調製され、たとえば、Kanaze et al., Drug Dev. Indus. Pharm. 36:292-301, 2010、Kanaze et al., J. Appl. Polymer Sci. 102:460-471, 2006を参照されたい。核酸の投与に関して、核酸の投与への１つのアプローチは、ウイルスベクター、たとえば、レンチウイルスまたはＡＡＶベクターでの直接的な処置である。上述のように、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）をコードするヌクレオチド配列、たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６

、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、またはＮｍｃタンパク質をコードする核酸分子（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質の発現を増加させるために、プロモーターの制御下に置かれてもよい。

【０１３１】

Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂコーディング配列（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する核酸分子）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、単独で、または様々な組合せで、および他の治療用組成物と組み合わせて、投与することができる。加えて、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂコーディング配列（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する核酸分子）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、全身的または局所的に投与することができる。

【０１３２】

多くの種類の放出送達系を、使用することができる。例としては、ポリマーに基づく系、

たとえば、ポリ（ラクチド－グリコリド）、コポリオキシレート、ポリカプロラクトン、ポリエステルアミド、ポリオルトエステル、ポリヒドロキシ酪酸、およびポリ無水物が挙げられる。薬物を含有する前述のポリマーのマイクロカプセルは、たとえば、米国特許第５，０７５，１０９号に記載されている。また、送達系としては、非ポリマー系、たとえば、ステロール、たとえば、コレステロール、コレステロールエステル、および脂肪酸または中性脂肪、たとえば、モノ、ジ、およびトリグリセリドを含む脂質；ヒドロゲル放出系；シラスティック系；ペプチドに基づく系；ワックスコーティング；従来的な結合剤および賦形剤を使用した打錠剤；部分的に融合させた埋込み片などが挙げられる。具体的な例としては、（ａ）Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）が、マトリックス内の形態に含まれる侵食系、たとえば、米国特許第４，４５２，７７５号、同第４，６６７，０１４号、同第４，７４８，０３４号、同第５，２３９，６６０号、および同第６，２１８，３７１号に記載されるもの、ならびに（ｂ）活性成分が、ポリマーから制御速度で浸透する拡散系、たとえば、米国特許第３，８３２，２５３号および同第３，８５４，４８０号に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。加えて、ポンプに基づくハードウェア送達系を使用することができ、それらのうちのいくつかは、埋込みに適合される。

【０１３３】

長時間持続放出埋込み片は、慢性的な状態、たとえば、炎症性障害の処置に好適であり得る（たとえば、表１を参照されたい）。長時間放出とは、本明細書で使用される場合、埋込み片が、治療レベルの活性成分を、少なくとも３０日間または少なくとも６０日間送達するように構築および配置されることを意味する。長時間持続放出埋込み片は、上述の放出系を含む。これらの系は、核酸との使用について説明されている（米国特許第６，２１８，３７１号を参照されたい）。ｉｎ　ｖｉｖｏでの使用に関して、核酸およびペプチドは、分解（たとえば、エンドヌクレアーゼおよびエクソヌクレアーゼを介したもの）に対して比較的耐性である。したがって、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質の改変、たとえば、Ｃ末端アミドの包含を、使用することができる。

【０１３４】

一部の例では、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９

、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、たとえば、エアロゾルスプレー（固体または液体粒子を含み得る）の形態で、噴射促進剤、たとえば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、または他の好適な気体の使用により、たとえば、加圧パックまたはネブライザーから、気道に局所的に投与される。加圧式エアロゾルの事例では、投薬単位は、定量を送達するためのバルブを提供することによって、判定することができる。吸入装置または送気装置で使用するためのカプセルおよびカートリッジは、化合物と好適な粉末基剤、たとえば、ラクトースまたはデンプンの粉末混合物を含有して製剤化され得る。

【０１３５】

一部の実施形態では、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタン

パク質をコードする核酸分子）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、吸入によって投与される。たとえば、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、エアロゾル化形態で、たとえば、ネブライザー、定用量吸入装置（ＭＤＩ）、または乾燥粉末吸入装置（ＤＰＩ）を使用して、投与される。有用な技術としては、マイクロポンプネブライザー（たとえば、ＡＥＲＯＧＥＮ　ＧＯ（登録商標）システム）、多量の微細粒子画分を生じるように設計されたジェットネブライザー（たとえば、ＰＡＲＩ　ＬＣ　ＳＴＡＲ（登録商標））、噴霧中に発生するせん断が少ないジェットネブライザー（たとえば、ＨＵＤＳＯＮ　ＭＩＣＲＯＭＩＳＴ（登録商標））、および超音波ネブライザー（たとえば、ＤｅＶｉｌｂｉｓｓ　ＵＬＴＲＡ－ＮＥＢ（登録商標））が挙げられる。

【０１３６】

ジェット式または超音波式のいずれかのネブライザーとともに使用するのに好適な製剤は、溶液１ｍＬ当たり約０．１～２５ｍｇの濃度で水中に溶解されたＮｍｂタンパク質または核酸分子を含み得る。製剤はまた、緩衝剤および単糖（たとえば、タンパク質の安定化および浸透圧の調節のため）も含み得る。ネブライザー製剤はまた、エアロゾルを形成する際に溶液の噴霧によって引き起こされる、表面に誘導されるＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の凝集を低減または防止するために、界面活性剤も含有し得る（米国特許出願公開第２００７／００６５３６７号）。

【０１３７】

ＭＤＩデバイスとともに使用するための製剤には、概して、界面活性剤の補助により噴射促進剤中に懸濁されたＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子を含有する微粉化粉末が含まれる。噴射促進剤は、この目的で用いられる任意の従来的な材料、たとえば、ハイドロクロロフルオロカーボン、ハイドロフルオロカーボン、もしくはハイドロカーボンであり得、これには、トリクロロフルオロメタン、ジクロロジフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタノール、および１，１，１，２－テトラフルオロエタン、またはそ

れらの組合せが挙げられる。好適な界面活性剤としては、トリオレイン酸ソルビタンおよびダイズレシチンが挙げられる。オレイン酸もまた、界面活性剤として有用であり得る（米国特許出願公開第２００７／００６５３６７号）。吸入システムのデバイスは、単回用量を送達してもよく（たとえば、ブリスターパックによって）、またはそれは、複数用量の設計であってもよい。投薬の正確さを確保するために、製剤の送達は、吸入サイクルにおけるある特定の時点で生じるように、マイクロプロセッサーを介してプログラムすることができる。一部の事例では、ＭＤＩは、持ち運び可能および携帯型である。

【０１３８】

乾燥粉末吸入装置（ＤＰＩ）もまた、エアロゾル送達デバイスとして使用することができる。ＤＰＩの基本的な設計には、計量システム、粉末化組成物、および組成物の分散のための方法が含まれる。回転および振動などの力を使用して、組成物を分散させることができる。計量および分散システムは、機械的または電気的に駆動させることができ、マイクロプロセッサーによりプログラム可能であり得る。デバイスは、持ち運び可能および携帯型であり得る。吸入装置は、複数回または単回投薬の設計であり得、正確な単位用量のために硬ゼラチンカプセルまたはブリスターパックなどの選択肢を使用することができる。ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子は、受動的吸入（たとえば、患者自身の吸気努力）によりデバイスから分散されてもよく、または能動的分散システムを用いることができる。治療用組成物の乾燥粉末は、ジェット粉砕、スプレー乾燥、および超臨界流体製造などのプロセスによってサイズ決定され得る。許容可能な賦形剤、たとえば、糖マンニトールおよびマルトースを粉末化製剤の調製において使用することができる。

【０１３９】

Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂタンパク質をコードする核酸（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する核酸分子、または配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、担体、たとえば、生理食塩水中に溶解され、上述のデバイスを使用して噴霧することができる。関連するエアロゾルは、エアロゾルを液滴のサイズに基づいて別個の画分、たとえば、小気道および肺胞に堆積するものなどに分離し、収集するための一連の空気動力学的ステージを使用する、ＮＥＸＴ　ＧＥＮＥＲＡＴＩＯＮ　ＩＭＰＡＣＴＯＲ（登録商標）（ＮＧＩ）（ＭＳＰ　Ｃｏｒｐ．、Ｓｈｏｒｅｖｉｅｗ、ＭＮ）を使用して収集することができる。

【０１４０】
エアロゾルの粒径は、粒径、形状、および密度に基づくパラメーターである質量中央値空気動力学的直径（ＭＭＡＤ）として表されることが多い。球形粒子については、ＭＭＡＤは、ＭＭＤ（ｐ１／２）に等しく、ここで、ＭＭＤは、質量中央値直径であり、ｒは、バルク密度である。非球形粒子については、ＭＭＡＤは、ＭＭＤ（ｐ／ｘ）１／２に等しく、ここで、Ｘは、形状係数である。したがって、単位密度よりも大きい粒子は、実際の直径が、そのＭＭＡＤよりも小さくなるであろう。
【０１４１】
呼吸器内での粒子の堆積部位は、粒径に基づいて境界が決まる。１つの例では、約１～約５００ミクロンの粒子が利用され、たとえば、約２５～約２５０ミクロン、または約１０～約２５ミクロンの粒子が、利用される。他の実施形態では、約１～５０ミクロンの粒子が、利用される。定用量吸入装置での使用に関して、肺への投与の場合、約１０ミクロン未満の粒子、たとえば、約２～約８ミクロン、たとえば、約１～約５ミクロンの粒子、たとえば、２～３ミクロンの粒子を、利用することができる。
【０１４２】
医薬組成物の剤形は、選択された投与様式によって決定され得る。たとえば、注射液に加えて、局所、吸入、経口、および坐剤製剤を用いることができる。局所調製物としては、点眼薬、軟膏、スプレー剤、パッチ剤などを挙げることができる。吸入用調製物は、液体（たとえば、溶液または懸濁液）であってもよく、ミスト、スプレーなどが含まれ得る。経口製剤は、液体（たとえば、シロップ剤、液剤、または懸濁剤）、または固体（たとえば、粉末剤、丸剤、錠剤、もしくはカプセル剤）であり得る。坐剤調製物はまた、固体、ゲル、または懸濁液形態であり得る。固体組成物については、従来的な非毒性固体担体として、医薬グレードのマンニトール、ラクトース、セルロース、デンプン、またはステアリン酸マグネシウムを挙げることができる。
【０１４３】
一部の例では、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂコーディング配列（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する核酸分子）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）の治療有効量は、（１）たとえば、肺もしくはアレルギー反応の部位において、炎症を減少させる、たとえば、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（２）たとえば、ＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞において、ＩＬ－５を減少させる、たとえば、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の投与なしと比較して、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、

少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（３）たとえば、ＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞において、ＩＬ－１３を減少させる、たとえば、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（４）ＩＬＣ２および／もしくはＴ応答、たとえば、存在する増殖性および／もしくは活性化ＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞の数を減少させる、たとえば、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、ならびに／あるいは（５）たとえば、肺または末梢血において、好酸球増加を減少させる、たとえば、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少などを行うのに必要である、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質またはＮｍｂもしくはＮｍｃをコードする核酸の量である。

【０１４４】

Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）を含む医薬組成物は、正確な投薬量の個別投与に好適な単位剤形で製剤化することができる。１つの非限定的な例では、単位剤形は、約１μｇ～約１ｇ、たとえば、約１ｍｇ～１００ｍｇ、１０ｍｇ～約１００ｍｇ、約５０ｍｇ～約５００ｍｇ、約５０ｍｇ～約１００ｍｇ、約１００ｍｇ～約９００ｍｇ、約２５０ｍｇ～約７５０ｍｇ、または約４００ｍｇ～約６００ｍｇの、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）を含有する。他の例では、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）の治療有効量は、

約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇ、たとえば、約０．１ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ、約０．１ｍｇ／ｋｇ～約１ｍｇ／ｋｇ、または約１ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇである。他の例では、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）の治療有効量は、約０．１ｕｇ／ｋｇ～約１０ｕｇ／ｋｇ、約０．１ｕｇ／ｋｇ～約１ｕｇ／ｋｇ、たとえば、約０．８ｕｇ／ｋｇである。特定の例では、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）の治療有効量は、約１ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ、たとえば、約２ｍｇ／ｋｇである。

【０１４５】

他の好適な範囲としては、約１００μｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ体重またはそれより多い（たとえば、約０．１～１０ｍｇ／ｋｇ、約１～２０ｍｇ／ｋｇ、約５～５０ｍｇ／ｋｇ、または約１０～１００ｍｇ／ｋｇ）ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質の用量が挙げられる。ある特定の実施形態では、有効投薬量は、たとえば、５～４０ｍｇ／ｋｇ、１０～３５ｍｇ／ｋｇ、または２０～２５ｍｇ／ｋｇのより狭い範囲内で選択される。他の例では、投薬量は、約１～１００ｍｇ、たとえば、約１～１０ｍｇ、約５～２５ｍｇ、約１０～５０ｍｇ、約２５～６０ｍｇ、または約５０～１００ｍｇ（たとえば、約１ｍｇ、５ｍｇ、１０ｍｇ、１５ｍｇ、２０ｍｇ、２５ｍｇ、３０ｍｇ、３５ｍｇ、４０ｍｇ、４５ｍｇ、５０ｍｇ、５５ｍｇ、６０ｍｇ、７０ｍｇ、８０ｍｇ、９０ｍｇ、または１００ｍｇ）である。特定の例では、用量は、約２０～６０ｍｇであり、１つの非限定的な例では、約２５ｍｇである。

【０１４６】

Ｎｍｂコーディング配列（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードするもの、たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する核酸分子）またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコード

する核酸分子）を含む医薬組成物は、正確な投薬量の個別投与に好適な単位剤形で製剤化することができる。一般に、投与しようとするＮｍｂタンパク質の核酸コーディング配列を有する組換えウイルスベクターの数は、ウイルス粒子の力価に基づく。１つの非限定的な例では、たとえば、ウイルスベクターが、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）をコードする核酸、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）の投与に利用される場合、たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する核酸分子を含有するベクター）が利用される場合、単位投薬量（たとえば、０．５～１．５μｌ）は、哺乳動物当たり約１０^{5}～約１０^{10}プラーク形成単位（ｐｆｕ）／ｍｌを含む。したがって、一部の例では、レシピエント対象は、組成物において、哺乳動物当たり約１０^{5}～約１０^{10}ｐｆｕ／ｍｌの用量の組換えウイルスを投与される。一部の例では、レシピエント対象は、哺乳動物当たり少なくとも１０^{5}ｐｆｕ／ｍｌ、哺乳動物当たり少なくとも１０^{6}ｐｆｕ／ｍｌ、哺乳動物当たり少なくとも１０^{7}ｐｆｕ／ｍｌ、哺乳動物当たり少なくとも１０^{8}ｐｆｕ／ｍｌ、哺乳動物当たり少なくとも１０^{9}ｐｆｕ／ｍｌ、または哺乳動物当たり少なくとも１０^{10}ｐｆｕ／ｍｌの用量で投与される。組成物を哺乳動物に投与するための方法の例としては、罹患組織（たとえば、皮膚または肺）への組成物の注射、または静脈内、皮下、皮内、もしくは筋肉内投与が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１４７】

Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂコーディング配列（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する核酸分子）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）を含む、本開示の組成物は、経口、静脈内、筋肉内、腹腔内、鼻内、皮内、実質内、脳室内、髄腔内（たとえば、大槽および腰椎）、皮下、吸入により、または坐剤によりを含む、任意の手段で、ヒトまたは他の動物に投与することができる。１つの非限定的な例では、組成物は、注射によって投与される。一部の例では、たとえば、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質ま

たはコーディング配列を皮膚組織または肺内に（たとえば、吸入により）投与することによる、組成物の部位特異的投与が、使用され得る。

【０１４８】

処置は、単回投与、または複数回投与（たとえば、少なくとも２回の別個の投与）、たとえば、数日間から数ヶ月間、またはさらには数年間にわたる投薬を含み得る。たとえば、治療有効量の、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂコーディング配列（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するもの）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、単回用量、または複数回用量で、たとえば、処置過程中、毎日、毎週、毎月、または毎年、投与され得る。特定の非限定的な例では、処置は、１ヶ月に１回、１年間に１回、または１ヶ月おきの投与を含む。一部の例では、複数回用量が投与される場合、少なくとも２回の別個の投与は、少なくとも１週間、少なくとも２週間、少なくとも３週間、少なくとも４週間、少なくとも１ヶ月間、少なくとも２ヶ月間、少なくとも３ヶ月間、少なくとも６ヶ月間、少なくとも９ヶ月間、または少なくとも１年間離れていてもよい。

【０１４９】

一部の例では、第１の用量（および一部の例では、唯一の用量）の投与は、障害（たとえば、２型サイトカイン炎症）の発生から１分以内、１０分以内、１５分以内、３０分以内、１時間以内、２時間以内、３時間以内、４時間以内、５時間以内、６時間以内、１２時間以内、２４時間以内、４８時間以内、７２時間以内、９６時間以内、１週間以内、２週間以内、３週間以内、４週間以内、１ヶ月以内、２ヶ月以内、または３ヶ月以内、たとえば、障害の発生から１～２４時間以内、２～２４時間以内、４～２４時間以内、または１～９６時間以内に生じる。

【０１５０】

一部の実施形態では、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂコーディング配列（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一

性を有する核酸分子）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、アレルギートリガーに曝露される前に予防的に投与される。たとえば、喘息を有する患者を運動の前または環境的トリガー、たとえば、大気汚染物もしくはアレルゲンへの曝露の前に、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子で処置することができる。予防的処置はまた、化学物質への曝露の危険性がある対象、たとえば、化学事故に対する最初の対応者を処置するのにも有用であり得る。ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子は、対象において喘息エピソードをトリガーすることが知られている作用物質に繰り返し曝露される無症状個体に予防的に投与することもできる。１つの例では、有効量のＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子は、喘息エピソードを誘導することが知られているアレルゲンに繰り返し曝露される健常個体に投与することができる。他の実施形態では、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子は、コルチコステロイド（ＣＳ）療法を必要とするか、または以前にＣＳ療法を受けている対象に投与される。ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子は、喘息発作をトリガーする活動に参加する前に、喘息エピソードの重症度を下げるかまたは完全に回避するために、喘息にかかっている患者に投与することができる。したがって、一部の実施形態では、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の投与は、喘息エピソードを予防する。一部の実施形態では、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子は、日常的な症状に苦しむ者に、慢性的に症状を改善させるために投与される。

【０１５１】

一部の例では、有効性は、（１）たとえば、肺もしくはアレルギー反応の部位における炎症の減少、たとえば、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（２）たとえば、ＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞におけるＩＬ－５の減少、たとえば、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（３）たとえば、ＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞におけるＩＬ－１３の減少、たとえば、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、（４）ＩＬＣ２および／もしくはＴ応答、たとえば、存在する増殖性および／もしくは活性化されたＩＬＣ２および／もしくはＴ細胞の数の減少、たとえば、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少など、ならびに／あるいは（５）たとえば、肺もしくは末梢血における好酸球増加の減少、たとえば、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質または核酸分子の投与なしと比べて、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７５％、もしくは少なくとも９０％の減少などを検出または測定することによって、測定される。

【０１５２】

一部の例では、処置の有効性は、肺機能をモニタリングすることによって測定される。たとえば、肺機能の様々な測定可能なパラメーターを処置の前、最中、または後に調べることができる。肺機能は、吸気流量、呼気流量、および肺体積を含むがこれらに限定されない、肺のいくつかの物理的に測定可能な操作のうちのいずれかを調べることによって、モ

ニタリングすることができる。これらのパラメーターのうちの１つまたは複数における統計学的に有意な増加は、処置の有効性を示す。症状、喘息の増悪、救急吸入装置の使用、または炎症の尺度の減少もまた、有効性の根拠である。

【０１５３】

臨床診療においてもっとも一般的に用いられる肺機能を測定する方法は、特定のパラメーターを測定するための吸気および呼気手技の定時測定を含む。たとえば、ＦＶＣは、最初に深く吸気してから強制的に患者が吐き出したリットル単位の総体積を測定する。このパラメーターは、ＦＥＶ１と併用して評価する場合、気管支収縮を定量的に評価することが可能となる。ＦＶＣまたはＦＥＶ１における数式によって判定される統計学的に有意な増加は、気管支収縮の減少を反映し、治療法が有効であることを示す。

【０１５４】

肺機能の指標として呼気の体積を測定することに加えて、異なる呼気サイクルの部分にわたって測定された１分間当たりのリットル単位での流量が、患者の肺機能の状態を判定するのに有用であり得る。具体的には、強制的な最大呼気中の１分間当たりのリットル単位でのもっとも高い気流量として取られるピーク呼気流量は、喘息および他の呼吸器疾患を有する患者における全体的な肺機能と十分に相関性がある。したがって、ＴＰＯ阻害剤を投与した後のピーク呼気流量における統計学的に有意な増加は、治療法が有効であることを示す。

【０１５５】

Ｆ．追加の治療の投与

一部の例では、Ｎｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｃタンパク質（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質）、またはＮｍｂコーディング配列（たとえば、配列番号２に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するもの）、またはＮｍｃコーディング配列（たとえば、配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するタンパク質をコードする核酸分子）は、１つまたは複数の他の薬剤、たとえば、炎症性障害または表１に列挙される他の障害の処置において有用なものなどと組み合わせて（たとえば、逐次的に、同時に、または同時期に）投与される。「組合せ投与」または「共投与」という用語は、活性剤の同時投与および逐次的投与の両方を指す。

【０１５６】

一部の例では、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質またはＮｍｂもしくはＮｍｃコーディング配列は、有効用量のコルチコステロイド（たとえば、メチルプレドニゾロンもしくはプレドニゾン）、抗ヒスタミン剤、または両方と組み合わせて、対象に投与される。一部の例では、Ｎｍｂタンパク質またはＮｍｂコーディング配列は、有効用量のＩＬ－４阻害剤（たとえば、デュピルマブ）、ＩＬ－５阻害剤（たとえば、メポリズマブ、ベンラリズマブ、およびレスリズマブ）、ＩＬ－１３阻害剤（たとえば、トラロキヌマブおよびレブリキズマブ）、またはこれらの組合せと組み合わせて、対象に投与される。別の例では、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質またはＮｍｂもしくはＮｍｃコーディング配列は、有効用

量のＰＧＥ２と組み合わせて、対象に投与される。

【０１５７】

一部の例では、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質またはＮｍｂもしくはＮｍｃコーディング配列は、気道障害（たとえば、喘息またはＣＯＰＤ）と関連する１つまたは複数の兆候または症状を予防または処置するための有効用量の薬剤と組み合わせて、対象に投与される。たとえば、ベーター２アゴニスト（たとえば、サルブタモール）を含む１つまたは複数のβ－アゴニスト、１つまたは複数のロイコトリエンアンタゴニスト／形成阻害剤（たとえば、ジロートン、ＺＹＦＬＯ（登録商標）、Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、モンテルカスト、ＳＩＮＧＵＬＡＩＲ（登録商標）、Ｍｅｒｃｋ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ、およびその他）、ＩｇＥを遮断する抗体、去痰剤、またはそれらの組合せも、投与され得る。

【０１５８】

一部の例では、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質またはＮｍｂもしくはＮｍｃコーディング配列は、炎症性障害、たとえば、アレルギーもしくはアレルギー反応、副鼻腔炎、喘息（軽度、中等度、または重度、好酸球性喘息を含む）、ＣＯＰＤ、特発性肺線維症（ＩＰＦ）、鼻炎、ＥＧＰＡ、好酸球性食道炎、湿疹、蕁麻疹様（urticarial）、慢性掻痒、血管浮腫、結膜炎、またはアトピー性皮膚炎を有する対象に、有効用量の１つまたは複数の他の治療剤と組み合わせて、投与される。たとえば、対象が、アレルギー反応（たとえば、季節性アレルギー、または埃／カビ、食物（たとえば、甲殻類、卵、牛乳、ナッツ、小麦）、動物（たとえば、フケ）、植物、薬物（たとえば、抗生物質、たとえば、スルファまたはペニシリン、アスピリン、ＮＳＡＩＤ、抗けいれん薬、化学療法薬）、昆虫（たとえば、ゴキブリ、およびミツバチ、スズメバチ、ジガバチ、キイロスズメバチ、ヒアリの毒液）、病原体（たとえば、ウイルス、細菌、真菌、寄生生物）、または化学物質（たとえば、ラテックス）に対するアレルギー反応を有していた場合、本方法は、治療有効量の、充血緩和剤、抗ヒスタミン剤、コルチコステロイド、免疫療法薬、およびエピネフリンのうちの１つまたは複数を投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、副鼻腔炎を有する場合、本方法は、治療有効量の抗生物質（たとえば、アモキシシリン）および／またはコルチコステロイドを投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、喘息（軽度、中等度、または重度、好酸球性喘息を含む）を有する場合、本方法は、治療有効量の、コルチコステロイド、グルココルチコイド、気管支拡張剤（たとえば、短時間作用型（たとえば、サルブタモール）または長時間作用型（たとえば、ホルモテロール）ベーター２アドレナリン作動性アゴニスト、抗コリン作動薬（たとえば、チオトロピウムおよび臭化イプラトロピウム）、長時間作用型ベータアゴニスト（ＬＡＢＡ）ロイコトリエン改変剤、ＩＬ－４阻害剤（たとえば、デュピルマブ）、メポリズマブ、ベンラリズマブ、レスリズマブ、トラロキヌマブ、ならびにレブリキズマブのうちの１つまたは複数を投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、ＣＯＰＤを有する場合、本方法は、治療有効量の、コルチコステロイド、気管支拡張剤（たとえば、短時間作用型（たとえば、サルブタモール）または長時間作用型（たとえば、ホルモテロール）ベーター２アドレナリン作動性アゴニスト、抗コリン作動薬（たとえば、チオトロピウムおよび臭化イプラトロピウム）、抗生物質（たとえば、エリスロマイシン）、および酸素補充のうちの１つまたは複数を投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、特発性肺線維症（ＩＰＦ）を有する場合、本方法は、治療有効量のピルフェニドンおよび／またはアンジオキナーゼ阻害剤（たとえば、ニンテダニブ）を投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、鼻炎を有する場合、本方法は、治療有効量の、抗ヒスタミン剤点鼻スプレー、コルチコステロイド点鼻スプレー、抗コリン作動薬点鼻スプレー（たとえば、イプラトロピウム）、および充血緩和剤（たとえば、シュードエフェドリンまたはフェニレフリン）のうちの１つまたは複数を投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、ＥＧＰＡを有する場合、本方法は、治療有効量の、メポリズマブ、グルココルチコイド（たとえば、プレドニゾロン）、免疫抑制剤（たとえば、アザチオプリンおよびシクロホスファミド）、およびメトトレキサートのうちの１つまたは複数を投与するステッ

プをさらに含む。たとえば、対象が、好酸球性食道炎を有する場合、本方法は、治療有効量の、局所コルチコステロイド（たとえば、ブデソニド、フルチカゾン）および／またはプロトンポンプ阻害剤（たとえば、オメプラゾール、ランソプラゾール、デクスランソプラゾール、エソメプラゾール、パントプラゾール、ラベプラゾール、イラプラゾール）を投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、湿疹を有する場合、本方法は、治療有効量の、コルチコステロイド（たとえば、ヒドロコルチゾン、プロピオン酸クロベタゾール）および／または免疫抑制剤（たとえば、ピメクロリムス、タクロリムス）を投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、蕁麻疹（urticaria）を有する場合、本方法は、治療有効量の、抗ヒスタミン剤（たとえば、ジフェンヒドラミン、ヒドロキシジン、ロラタジン、セチリジン、デスロラタジン）、ロイコトリエンアンタゴニスト（たとえば、モンテルカストおよびザフィルルカスト）、経口グルココルチコイド、抗炎症薬、オマリズマブ、および炎症抑制剤のうちの１つまたは複数を投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、慢性掻痒を有する場合、本方法は、治療有効量の、コルチコステロイド（たとえば、コルチゾンおよびプレドニゾン）、カルシニューリン阻害剤（たとえば、ピメクロリムスおよびタクロリムス（tucrolimus））、および抗うつ剤（たとえば、プロザックおよびゾロフト）のうちの１つまたは複数を投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、血管浮腫を有する場合、本方法は、治療有効量の抗ヒスタミン剤（たとえば、セチリジン）および／またはアンドロゲンを投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、結膜炎を有する場合、本方法は、治療有効量の、抗ヒスタミン剤（たとえば、ジフェンヒドラミン）、マスト細胞安定化剤（たとえば、クロモリン）、または抗生物質のうちの１つまたは複数を投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、アトピー性皮膚炎を有する場合、本方法は、治療有効量の、トラロキヌマブ、局所コルチコステロイド（たとえば、ヒドロコルチゾン）、局所カルシニューリン阻害剤（たとえば、タクロリムスまたはピメクロリムス）、および全身性免疫抑制剤（たとえば、シクロスポイン、メトトレキサート、インターフェロンガンマ－１ｂ）のうちの１つまたは複数を投与するステップをさらに含み得る。たとえば、対象が、好酸球性障害（たとえば、好酸球性食道炎、好酸球性胃炎、好酸球性胃腸炎、好酸球性腸炎、好酸球性大腸炎、好酸球性喘息、好酸球性胃腸障害（ＥＧＩＤ）、好酸球性筋膜炎、ＥＧＰＡ、好酸球性肺障害、好酸球増加症候群（ＨＥＳ））を有する場合、本方法は、治療有効量の、局所または全身ステロイド（たとえば、コルチコステロイド、グルココルチコイド、たとえば、プレドニゾン）、アミノ酸に基づく食事、および免疫抑制剤（たとえば、アザチオプリンおよびシクロホスファミド）のうちの１つまたは複数を投与するステップをさらに含み得る。一部の例では、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質またはＮｍｂもしくはＮｍｃコーディング配列は、寄生生物または真菌感染症を有する対象に投与され、本方法は、治療有効量の抗真菌剤（たとえば、ポリエン（たとえば、アムホテリシンＢ、ナイスタチン、ナタマイシン）、アゾール（たとえば、フルコナゾール、イトラコナゾール、ボリコナゾール）、アリルアミン（たとえば、テルビナフィン）、およびエキノカンディン（たとえば、カスポファンギン）、ならびに／または抗寄生生物剤（たとえば、抗蠕虫剤、抗原虫剤、抗アメーバ剤）を投与するステップをさらに含み得る。

【０１５９】

一部の例では、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質またはＮｍｂもしくはＮｍｃコーディング配列は、好酸球性白血病（慢性、急性、またはクローン性）を有する対象に投与され、本方法は、治療有効量の、化学療法剤（たとえば、シタラビン、アントラサイクリン、ヒスタミン二塩酸塩、インターロイキン２）、グリベック、チロシンキナーゼ阻害剤（たとえば、ソラフェニブ、ミドスタルイン、ポナチニブ）、および造血幹細胞移植のうちの１つまたは複数を投与するステップをさらに含み得る。

【０１６０】

一部の例では、ＮｍｂもしくはＮｍｃタンパク質またはＮｍｂもしくはＮｍｃコーディング配列は、ホジキンリンパ腫を有する対象に投与され、本方法は、治療有効量の、レブリキズマブ、ＭＯＰＰ、放射線療法、ＡＢＶＤ（アドリアマイシン、ブレオマイシン、ビン

ブラスチン、ダカルバジン）、スタンフォードＶ（アドリアマイシン、ブレオマイシン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、クロルメチン、エトポシド、プレドニゾン）、およびＢＥＡＣＯＰＰ（ドキソルビシン、ブレオマイシン、ビンクリスチン、シクロホスファミド、プロカルバジン、エトポシド、プレドニゾン）のうちの１つまたは複数を投与するステップをさらに含み得る。

【０１６１】

ＩＶ．組成物

開示される方法とともに使用することができる組成物もまた、提供される。１つの例では、組成物は、配列番号１に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する単離されたＮｍｂタンパク質、または配列番号３８に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有する単離されたＮｍｃタンパク質と、リポソームとを含み、ここで、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質は、リポソームに封入されている。１つの例では、組成物は、（１）配列番号１に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するＮｍｂタンパク質、または配列番号３８に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性を有するＮｍｃタンパク質、および（２）細胞透過性ペプチドから構成される、Ｎｍｂ融合タンパク質（またはそのような融合タンパク質をコードする核酸分子）を含む。１つの例では、組成物は、配列番号３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を含む、単離された非天然のＮｍｂタンパク質（配列番号１ではないもの）と、薬学的に許容される担体と、必要に応じてリポソームとを含む。１つの例では、組成物は、少なくとも１つの非天然のＮｍｂタンパク質、たとえば、配列番号１ではない、配列番号３、４、５、６、１１、１２、１３、１４、２０、２２、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３５、３６、もしくは３７に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を有するもの、および／または配列番号１ではない、配列番号２６、２７、２９、３５、もしくは３６に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を有するものを含む。１つの例では、組成物は、（１）天然のＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１）、および（２）非天然のＮｍｂタンパク質、たとえば、配列番号３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を含むもの（配列番号１ではないもの）を含む。１つの例では、組成物は、（１）配列番号３、４、６、７、９、１０、１１、１２、１４、１５、および１９のうちの１つまたは複数、ならびに（２）配列番号３、４、５、６、９、１１、１２、１３、１４、１８、１９、２０、２１、２２、および２３のうちの１つまたは複数を含む（ここで、組成物は、天然のＮｍｂタンパク質、たとえば、配列番号１をさらに含み得る）。

【０１６２】
１つの例では、組成物は、配列番号３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する単離された非天然のＮｍｂタンパク質（たとえば、配列番号１ではないもの）と、薬学的に許容される担体（たとえば、水または生理食塩水）とを含む。一部の例では、非天然のＮｍｂタンパク質は、リポソームに封入されている。一部の例では、非天然のＮｍｂタンパク質は、（１）配列番号３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、または３７に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する非天然のＮｍｂタンパク質、および（２）細胞透過性ペプチドから構成される、融合タンパク質（またはそのような融合タンパク質をコードする核酸分子）の一部である。一部の例では、組成物は、非天然のＮｍｂタンパク質の代わりに、非天然のＮｍｂコーディング配列を含む。他の例では、Ｎｍｃタンパク質は、（１）配列番号３８に対して少なくとも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９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するＮｍｃタンパク質、および（２）細胞透過性ペプチドから構成される、融合タンパク質（またはそのような融合タンパク質をコードする核酸分子）の一部である。そのような組成物は、他の材料、たとえば、薬学的に許容される担体、たとえば、水または生理食塩水をさらに含み得る。一部の例では、組成物は、ＮｍｂまたはＮｍｃタンパク質の代わりに、ＮｍｂまたはＮｍｃコーディング配列を含む。

【０１６３】
使用することができる例示的な細胞透過性ペプチドとしては、親水性ペプチド（たとえば、ＴＡＴ［ＹＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲ、配列番号５７］、ＳｙｎＢ１［ＲＧＧＲＬＳＹＳＲＲＲＦＳＴＳＴＧＲ、配列番号３９］、ＳｙｎＢ３［ＲＲＬＳＹＳＲＲＲＦ、配列番号４０］、ＰＴＤ－４［ＰＩＲＲＲＫＫＬＲＲＬＫ、配列番号４１］、ＰＴＤ－５［ＲＲＱＲＲＴＳＫＬＭＫＲ、配列番号４２］、ＦＨＶ　Ｃｏａｔ－（３５－４９）［ＲＲＲＲＮＲＴＲＲＮＲＲＲＶＲ、配列番号４３］、ＢＭＶ　Ｇａｇ－（７－２５）［ＫＭＴＲＡＱＲＲＡＡＡＲＲＮＲＷＴＡＲ、配列番号４４］、ＨＴＬＶ－ＩＩ　Ｒｅｘ－（４－１６）［ＴＲＲＱＲＴＲＲＡＲＲＮＲ、配列番号４５］、Ｄ－Ｔａｔ［ＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲＰＰＱ、配列番号４６］、Ｒ９－Ｔａｔ　ＧＲＲＲＲＲＲＲＲＲＰＰＱ［配列番号４７］、およびペネトラチン［ＲＱＩＫＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫ、配列番号４８］）、両親媒性ペプチド（たとえば、ＭＡＰ［ＫＬＡＬＫＬＡＬＫＬＡＬＡＬＫＬＡ；配列番号４９］、ＳＢＰ［ＭＧＬＧＬＨＬＬＶＬＡＡＡＬＱＧＡＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ；配列番号５０］、ＦＢＰ［ＧＡＬＦＬＧＷＬＧＡＡＧＳＴＭＧＡＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ；配列番号５１］、ＭＰＧ　ａｃ－ＧＡＬＦＬＧＦＬＧＡＡＧＳＴＭＧＡＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ－ｃｙａ；配列番号５２］、ＭＰＧ（ΔＮＬＳ）［ａｃ－ＧＡＬＦＬＧＦＬＧＡＡＧＳＴＭＧＡＷＳＱＰＫＳＫＲＫＶ－ｃｙａ；配列番号５３］、Ｐｅｐ－２［ａｃ－ＫＥＴＷＦＥＴＷＦＴＥＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ－ｃｙａ；配列番号５４］、およびトランスポータン［ＧＷＴＬＮＳＡＧＹＬＬＧＫＩＮＬＫＡＬＡＡＬＡＫＫＩＬ、配列番号５５］）、周期的配列（たとえば、ｐＶｅｃ、ポリアルギニンＲｘＮ（４＜Ｎ＜１７）キメラ、ポリリシンＫｘＮ（４＜Ｎ＜１７）キメラ、（ＲＡｃａ）６Ｒ、（ＲＡｂｕ）６Ｒ、（ＲＧ）６Ｒ、（ＲＭ）６Ｒ、（ＲＴ）６Ｒ、（ＲＳ）６Ｒ、Ｒ１０、（ＲＡ）６Ｒ、Ｒ７、およびｐｅｐ－１［ａｃ－ＫＥＴＷＷＥＴＷＷＴＥＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ－ｃｙａ、配列番号５６］）、Ｃｒ１０（環状ポリアルギニンＣＰＰ）、ＴＡＴ４８－５７、ＴＡＴ４７－５７、またはＴＡＴ４９

－５７；ペネトラチン；Ｐｅｐ－１；サブスタンスＰ、ＳＰ；ポリアルギニン、たとえば、Ｒ５－Ｒ１２；ｐＶＥＣ；トランスポータン；ＭＡＰ；ディアトスペプチドベクター１０４７、ＤＰＶ１０４７、ＶＥＣＴＯＣＥＬＬ（登録商標）；ＭＰＧ；ＡＤＰリボシル化因子、ＡＲＦ、たとえば、ＡＲＦ１－２２；ＢＰｒＰｒ（たとえば、ＢＰｒＰｒ１－２８）；ｐ２８；ＶＴ５；Ｂａｃ　７、たとえば、Ｂａｃ１－２４；Ｃ１０５Ｙ；ＰＦＶＹＬＩ（配列番号５８）；およびＰｅｐ－７が挙げられる。

【０１６４】

一部の例では、組成物は、液体である。一部の例では、組成物は、冷凍乾燥されているか、または凍結乾燥されている。

【０１６５】

そのような医薬組成物は、投与様式および剤形に応じて、１つまたは複数の希釈剤、充填剤、結合剤、および他の賦形剤をさらに含み得る。治療的に不活性な無機または有機担体の例としては、ラクトース、トウモロコシデンプンまたはその誘導体、タルク、植物油、ワックス、脂肪、ポリオール、たとえば、ポリエチレングリコール、水、サッカロース、アルコール、グリセリンなどが挙げられるが、これらに限定されない。様々な保存剤、乳化剤、分散剤、香味剤、湿潤剤、抗酸化剤、甘味剤、着色剤、安定化剤、塩、緩衝剤なども添加され得る。

【０１６６】

一部の例では、組成物は、１つまたは複数の担体、補助物質、または安定化剤、たとえば、緩衝剤（たとえば、リン酸塩、クエン酸塩、トリス、または酢酸ナトリウム、および他の有機酸）、抗酸化剤、たとえば、アスコルビン酸、低分子量ポリペプチド（およそ１０残基未満）、タンパク質、たとえば、血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリン、親水性ポリマー、たとえば、ポリビニルピロリドン、アミノ酸、たとえば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、ロイシン、もしくはリシン、単糖類、二糖類、および他の炭水化物、たとえば、グルコース、スクロース、マンノース、ラクトース、クエン酸塩、トレハロース、マルトデキストリン、もしくはデキストリン、キレート剤、たとえば、ＥＤＴＡ、糖アルコール、たとえば、マンニトールもしくはソルビトール、塩形成対イオン、たとえば、ナトリウム、ならびに／または非イオン性界面活性物質、たとえば、Ｔｗｅｅｎ、Ｐｌｕｒｏｎｉｃ、もしくはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）をさらに含む。

【０１６７】

一部の例では、組成物は、ネブライザー、定用量吸入装置（ＭＤＩ）、または乾燥粉末吸入装置（ＤＰＩ）に含まれる。粉末吸入デバイスから分注するための製剤は、Ｎｍｂペプチドまたは核酸分子を含有する微粉化された乾燥粉末を含み得、デバイスからの粉末の分散を促進する量、たとえば、製剤の５０～９０重量％の量で、増量剤、たとえば、ラクトース、ソルビトール、スクロース、またはマンニトールも含み得る。化合物は、肺の遠位への送達のために、１０μＭ未満、たとえば、０．５～５μＭの平均粒径を有する粒子形態で調製され得る（米国特許出願公開第２００７／００６５３６７号）。

【実施例】

【０１６８】

本開示を、以下の非限定的な実施例によって例示する。

【０１６９】

（実施例１）

材料および方法

この実施例は、以下の実施例において使用される材料および方法を提供する。

【０１７０】

マウス

８～１０週齢のＣ５７ＢＬ（６）野生型（ＷＴ）、Ｍｃｐｔ８ｔｍ１（ｃｒｅ）Ｌｋｓｙ、ＲＯＳＡ２６ｉＤＴＲ、およびＲａｇ２ＫＯマウスを、Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙから購入した。これまでに説明されているように（Sullivan et al., Nat

Immunol. 2011 Jun;12(6):527-35, 2011）、Ｍｃｐｔ８ｔｍ１（ｃｒｅ）Ｌｋｓｙマウスを ＲＯＳＡ２６ｉＤＴＲマウスと交配することによって、好塩基球枯渇マウスを得た。すべてのマウスを、特定の無病原体施設で維持した。

【０１７１】

Ｎ．　ｂｒａｓｉｌｉｅｎｓｉｓ感染および物質の投与

Ｎ．　ｂｒａｓｉｌｉｅｎｓｉｓ幼虫の維持、回収、感染、および単離のための方法を、これまでに説明されているように行った（Camberis et al., 2003, Animal model of Nippostrongylus brasiliensis and Heligmosomoides polygyrus. Current protocols in immunology / edited by John E. Coligan ... [et al.] Chapter 19:Unit 19.12.）。マウスに、皮下注射によって、約５００のＮ．　ｂｒａｓｉｌｉｅｎｓｉｓ幼虫を感染させた。好塩基球枯渇のために、野生型および好塩基球枯渇マウスを、１日おきに０．３７５μｇのジフテリア毒素で腹腔内処置し、マウスを、Ｎ．　ｂｒａｓｉｌｉｅｎｓｉｓ感染後３～７日目に殺処分した。ニューロメジンＢ処置のために、マウスに麻酔を行い、気管内注入により投与する５０μＬのＰＢＳ中に溶解させた１０μｇのニューロメジンＢ（ＭＰ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌｓ）で処置した。抗体に媒介される好塩基球枯渇のために、Ｒａｇ２欠損マウスに、Ｎ．　ｂｒａｓｉｌｉｅｎｓｉｓ感染後１日目、３日目、および５日目に、２０μｇの抗ＦｃｅＲ１アルファ抗体（クローンＭＡＲ－１、ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）または抗ＣＤ２００Ｒ３抗体（クローンＢａ１０３、ｈｙｃｕｌｔ　ｂｉｏｔｅｃｈ）で腹腔内処置を行った。

【０１７２】

養子移入

野生型マウスに、３日おきに８日間、２００μＬのＰＢＳ中の組換えＩＬ－３（１μｇ）およびα－ＩＬ－３抗体（０．５μｇ）（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ：クローンＭＰ２－８Ｆ８）の組合せを（腹腔内）注射した。剖検において、脾臓の単一細胞懸濁液を調製し、好塩基球集団を、分取精製した。１５，０００個の好塩基球を、５０μＬのＰＢＳ中に再懸濁させ、感染後３日目、４日目、５日目、および６日目に、気管内注入によってそれぞれのマウスに移入した。

【０１７３】

血管内ｉｎ　ｖｉｖｏ染色

血管内ｉｎ　ｖｉｖｏ染色プロトコールを、これまでに説明されているように行った（Laidlaw et al., Immunity 41:633-645, 2014）。簡単に述べると、マウスに、安楽死の５分前に、３００μＬのＰＢＳ中に希釈した３μｇのＣＤ２００Ｒを標的とする蛍光標識化抗体（クローンＯＸ１１０、ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を注射した。

【０１７４】

肺および気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）細胞懸濁液の調製

剖検後のＢＡＬ採取のために、５ｍＬのＰＢＳを注射し、それぞれのマウスの気管から吸引し、採取後に、採取したＢＡＬの体積を記録した。ＢＡＬ採取後に、肺を剖検で採取し、フローサイトメトリー分析のための単一細胞懸濁液をこれまでに説明されているように調製した（Jungblut et al., J Vis Exp 29:1266, 2009）。簡単に述べると、肺組織を、切り刻み、２．５％のＦＢＳ、コラゲナーゼＤ（２ｍｇ／ｍＬ、Ｒｏｃｈｅ）、およびＤＮＡｓｅ　Ｉ（８０Ｕ／ｍＬ、Ｒｏｃｈｅ）を含有するＨＢＳＳにおいて、３７℃で３０分間インキュベートした。細胞懸濁液を、１００μＭのフィルターに通して濾過し、フローサイトメトリーによって分析した。さらに、肺組織切片を、リアルタイムＰＣＲおよび組織学的分析のために採取した。

【０１７５】

フローサイトメトリーおよび細胞分取

細胞を、ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅまたはＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ製のモノクローナル抗マウス蛍光コンジュゲート抗体：Ｂ２２０（ＲＡ３－６Ｂ２）、ｃ－Ｋｉｔ（ＡＣＫ２）、ＣＤ３（１４５－２Ｃ１１）、ＣＤ４（ＧＫ１．５）、ＣＤ５（５３－７３）、ＣＤ１９（１Ｄ３）、ＮＫ１．１（ＰＫ１３６）、ＣＤ１１ｂ（ＭＩ／７０）、ＣＤ１１ｃ

（Ｎ４１８）、ＩｇＥ（２３Ｇ３）、ＦｃεＲＩ（ＭＡＲ－１）、ＣＤ４９ｂ（ＤＸ５）、ＣＤ４５（３０－Ｆ１１）、ＣＤ９０（５Ｅ１０）、ＣＤ１２７（Ａ７Ｒ３４）、Ｆ４／８０（ＢＭ８）、γδＴＣＲ（ｅＢｉｏＧＬ３）、Ｓｉｇｌｅｃ－Ｆ（Ｅ５０－２４４０）、Ｌｙ６Ｇ（１Ａ８）、Ｌｙ６Ｃ（ＡＬ－２１）、ＩＬ－５（ＴＲＦＫ５）、ＩＬ－１３（ｅＢｉｏ１３Ａ）、Ｔｅｒ－１１９（ＴＥＲ－１１９）で染色した。細胞内染色のために、細胞を白血球活性化カクテル、ＢＤ　ＧｏｌｇｉＰｌｕｇ（商標）（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）とともに、製造業者の説明書に従って、３７℃で５時間インキュベートした。好塩基球は、ＣＤ４５＋ＣＤ３－ＣＤ１９－ＦｃｅＲ１＋ＣＤ４９ｂ＋として分析した。好酸球は、ＣＤ４５＋ＣＤ１１ｂ＋Ｓｉｇｌｅｃ－Ｆ＋ＣＤ１１ｃ－として分析した。好中球は、生存ＣＤ４５＋ＣＤ１１ｂ＋Ｌｙ６Ｇ＋として分析した。ＩＬＣ２は、ＣＤ４５＋ＣＤ３－ＣＤ１９－ＣＤ１１ｂ－ＣＤ１１ｃ－ＮＫ１．１－Ｂ２２０－ＣＤ５－Ｔｅｒ－１１９－　γδ　ＴＣＲ－ＣＤ９０＋ＣＤ１２７＋ＩＬ－５＋ＩＬ－１３＋として分析した。試料は、ＢＤ　Ｆｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で取得し、ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（ｖ１０．０．５、ＴｒｅｅＳｔａｒ）を使用して分析した。細胞分取は、ＦＡＣＳＡｒｉａＩＩ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して行った。

【０１７６】

ＩＬＣ２　ｉｎ　ｖｉｔｒｏ培養物

肺細胞を、Ｎ．　ｂｒａｓｉｌｉｅｎｓｉｓ感染後７日目に、野生型マウスまたは好塩基球枯渇マウスの肺から単離した。ＩＬＣ集団（ＣＤ４５＋Ｌｉｎ－ＣＤ９０＋ＣＤ１２７＋）を、分取精製し、１０，０００個の細胞を１００ｎｇ／ｍＬのＩＬ－２、ＩＬ－７、およびビヒクル（ＰＢＳ）、または１０μｇ／ｍＬのニューロメジンＢの存在下において、２４時間培養した。ＩＬ－５およびＩＬ－１３は、ＥＬＩＳＡによって無細胞上清において定量した。

【０１７７】

ＲＮＡ単離および定量的リアルタイムＰＣＲ分析

肺組織の切片に由来するＲＮＡを、ＴＲＩｚｏｌ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）でのホモジナイズ、続いて、フェノール－クロロホルム抽出およびイソプロパノール沈降によって、単離した。ｃＤＮＡを、Ｓｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔ逆転写酵素（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を用いて標準的なプロトコールに従って生成し、リアルタイプＰＣＲのインプットとして使用した。リアルタイムデータを、内因性ハウスキーピング遺伝子としての機能を果たすβ－アクチンとともにＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎケミストリー（Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓを適用）を使用して、ΔΔＣＴ方法を使用して分析した。すべての反応は、ＡＢＩ　７５００　Ｆａｓｔ　Ｒｅａｌ－Ｔｉｍｅ　ＰＣＲ　Ｓｙｓｔｅｍ（Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓを適用）で行った。試料を、ナイーブ対照に対して正規化した。Ｑｉａｇｅｎからの以下のＱｕａｎｔｉＴｅｃｈプライマーアッセイを使用した：Ｍｃｐｔ１（ＱＴ００１５７８６４）、ＩＬ－４（ＱＴ００１６０６７８）、ＩＬ－５（ＱＴ０００９９７１５）、ＩＬ－１３（ＱＴ０００９９５５４）、Ｍｃｐｔ８（ＱＴ００１３１５６５）、Ｎｍｂ（ＱＴ００１０５９４５）、Ｎｍｂｒ１（ＱＴ００３１２４９４）、Ｍｕｃ５ａｃ（ＱＴ０１１６１１０４）。

【０１７８】

パルスオキシメトリー。

酸素飽和を、ＭｏｕｓｅＯｘ　Ｐｌｕｓ（登録商標）（Ｓｔａｒｒ　Ｌｉｆｅｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｃｏｒｐ）を製造業者の説明書に従って用いて評価した。簡単に述べると、大腿部周辺の毛を、Ｎ．　ｂｒａｓｉｌｉｅｎｓｉｓ感染の１日前に除去し、マウスに５％イソフルランで麻酔を行い、酸素飽和を大腿部のセンサーを使用して、およそ５分間の間隔でモニタリングした。

【０１７９】

統計

結果を平均±平均の標準誤差として示す。統計学的分析は、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓ

ｍバージョン６においてスチューデントｔ検定を使用して行った。
【０１８０】
（実施例２）
好塩基球は、蠕虫に誘導される炎症を調節する
好塩基球の存在下および非存在下において、Ｎｂによって誘導される２型サイトカイン媒介性炎症のパラメーターを試験した。
【０１８１】
系統特異的な好塩基球の枯渇（１１）は、胃腸管における炎症も感染虫の排出も変化させることはなかったが（図１Ａ）、好塩基球枯渇により、肺における２型サイトカイン応答の有意な増加が生じた（図１Ｂ）。血液に存在する細胞と組織に存在する細胞とを区別するために使用されるｉｎ　ｖｉｖｏ染色プロトコール（１２）により、組織に存在する好塩基球集団が、感染後３日目から肺において確認でき、５日目にピークとなることが明らかとなった（図１Ｃ、１Ｄ）。
【０１８２】
２型サイトカイン応答の状況で活性化されたエフェクター細胞は、寄生生物クリアランスを促進することが報告されているが、それらは、寄生生物に罹患した組織の完全性も促進する（２）。Ｎｂ幼虫は、感染後３日目、好塩基球の大半が到着する前に肺組織を退出するため、好塩基球は、寄生虫体数を制限するように機能するというよりは、肺機能を回復させるために、炎症を調節し得る。この仮説を裏付け、好塩基球を枯渇させたＮｂ感染マウスは、粘液産生の増加（図２Ａ）および炎症性細胞浸潤（図１Ｅ、２Ｂ）を特徴とする肺病理の変更を示し、対照マウスと比較して、酸素レベルが有意に低減された（図１Ｆ）。まとめると、これらのデータは、好塩基球集団が、感染に誘導される２型サイトカイン応答を負に調節し、感染後の肺機能を維持するのを補助することを示す。
【０１８３】
（実施例３）
好塩基球は、ＩＬＣ２応答を負に調節する
実施例２において観察された肺病理の顕微鏡分析は、好塩基球枯渇マウスが、感染に誘導される好酸球応答を上昇させたことを示した。
【０１８４】
気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）液および肺浸潤物のフローサイトメトリー分析により、感染に誘導される好中球増加は有意に変更されなかったが（図３Ａ、４Ａ）、好塩基球枯渇マウスは、ＢＡＬおよび肺の好酸球応答の有意な増加を示したこと（図３Ｂ、４Ｂ）が、確認された。Ｎｂに誘導される好酸球応答および粘液産生は、２型自然リンパ系細胞（ＩＬＣＳ２）および／またはＣＤ４＋Ｔ細胞によって産生されるＩＬ－５およびＩＬ－１３に依存性である（１～３）。肺好塩基球応答は、感染後、最初の数日間（３日目～５日目）にＩＬＣ２応答が重要である場合、自然ウインドウの間に生じる（１３、１４）。さらに、好塩基球がＩＬＣ２と通信し、その活性化状態を変更する能力が、実証されている（２）。
【０１８５】
したがって、好塩基球枯渇動物が、粘液産生の増加および好酸球増加と相関性のある感染に誘導されるＩＬＣ２応答の上昇を示したかどうかを判定した（１４）。興味深いことに、ＩＬＣ２集団は、対照と比較して、好塩基球枯渇マウスのＢＡＬおよび肺組織の両方において増加していた（図３Ｃ、４Ｃ）。さらに、ＩＬ－５およびＩＬ－１３を産生するＩＬＣ２の増加もまた、感染後に、好塩基球枯渇マウスのＢＡＬおよび肺組織において検出された（図３Ｄ、３Ｅ、４Ｄ）。標的外枯渇作用の可能性を排除するために、機能獲得アプローチを使用した。ジフテリア毒素受容体（ＤＴＲ）陰性好塩基球を、好塩基球枯渇マウスに導入した。好塩基球枯渇マウスへのＤＴＲ陰性好塩基球の気管内移入は、ＢＡＬおよび肺の両方において、ＩＬＣ２応答および好酸球増加を野生型レベルまで抑制し戻すのに十分であった（図３Ｆ～３Ｈ、４Ｅ～４Ｇ）。まとめると、これらの機能消失および機能獲得のアプローチは、好塩基球が、Ｎｂ感染後の肺ＩＬＣ２応答を負に調節することを

示す。
【０１８６】
（実施例４）
好塩基球は、ＩＬＣ２におけるＮｍｂｒの発現を促進する
好塩基球枯渇の作用が、獲得リンパ球とは独立して生じていることを確認するために、組換え活性化遺伝子（Ｒａｇ２）欠損マウスを、好塩基球枯渇抗体Ｂａ１０３で処置した。Ｂａ１０３で処置したＲａｇ２－／－マウスは、対照マウスと比較して、Ｎｂに誘導されるＩＬＣ２応答の有意な上昇（図５Ａ）および好酸球増加の上昇（図５Ｂ）を示した。まとめると、機能消失および機能獲得の両方のアプローチは、好塩基球が、Ｎｂ感染後の肺ＩＬＣ２応答を負に調節することを示す。
【０１８７】
好塩基球がＩＬＣ２を調節する機序を識別するために、全ゲノム転写プロファイリングを、Ｎｂ後の肺ＩＬＣ２に行った。対照動物に由来するＩＬＣ２は、好塩基球枯渇マウスから分取精製したＩＬＣ２と比較して、感覚伝達、７回膜貫通ドメイン受容体（７ＴＭ）、Ｇタンパク質共役型受容体シグナル伝達、およびロドプシン様シグナル伝達に関連する経路が濃縮されていた（図５Ｃ）。
【０１８８】
注目すべきことに、これらの経路と関連する作動遺伝子のうちの１つは、ニューロメジンＢ受容体（Ｎｍｂｒ）であった（図５Ｄ）。ニューロメジンＢ（Ｎｍｂ）は、ニューロメジンＡ、Ｂ、Ｃ、Ｋ、Ｌ、Ｎ、Ｓ、およびＵを含む、ニューロメジンペプチドファミリーの一部である（１５、１６）。ニューロメジンＢは、哺乳動物の中枢神経系、肺、消化管、および脂肪組織に発現されるボンベシン様ペプチドである（１５、１７）。先行研究では、Ｎｍｂおよびその受容体が、粘膜下層に見られるニューロンに局在化していることが示唆されている（１８）。その受容体に結合すると、Ｎｍｂは、細胞成長、体温、血圧、およびグルコースレベルを調節することが報告されているが、しかしながら、免疫性および炎症を調節するその能力は、まだ定義されていない（１５）。
【０１８９】
好塩基球が、Ｎｂ感染後に肺におけるＮｍｂシグナル伝達経路を調節するかどうかを調査するために、好塩基球の存在下または非存在下（Ｍｃｐｔ８発現の低減によって確認）におけるＮｍｂおよびその受容体の発現を試験した（図５Ｅ）。Ｎｂ感染後に、Ｎｍｂ発現における変化は検出されなかったが（図５Ｆ）、しかしながら、Ｎｍｂｒは、感染動物において、有意により高いレベルで発現された。さらに、好塩基球枯渇は、肺におけるＮｍｂｒ発現の有意な低減をもたらした（図５Ｇ）。ＲＮＡｓｅｑ分析と一致して、Ｎｍｂｒ発現もまた、対照と比較して、好塩基球欠損マウスから分取精製されたＩＬＣ２において、有意に低減されていた（図５Ｈ）。
【０１９０】
（実施例５）
Ｎｍｂは、２型サイトカイン応答を抑制する
Ｎｍｂが、２型サイトカイン応答の負の調節因子として作動するかどうかを判定するために、マウスに、Ｎｉｐｐｏｓｔｒｏｎｇｙｌｕｓを感染させ、組換え天然Ｎｍｂ（配列番号１）で処置した。感染後７日目に、２型サイトカイン依存性炎症のパラメーターを、評価した。
【０１９１】
驚くべきことに、Ｎｍｂ処置は、感染に誘導される好中球増加に対して影響を有さなかったが、Ｎｍｂで処置したマウスは、ＩＬＣ２応答（図６Ａ）、ＩＬ－５およびＩＬ－１３発現（図６Ｂ）、好酸球増加（図６Ｃ）の低減を示し、対照マウスほど効率的に感染虫を排除することができなかった（図６Ｄ）。これらのデータは、Ｎｍｂが、２型サイトカイン媒介性免疫の負の調節因子として作動することを示す。
【０１９２】
Ｎｍｂが、肺におけるＮｂにより活性化されたＩＬＣ２を直接的に阻害することができる

かどうか、および好塩基球が、このプロセスを調節するかどうかを判定するために、Ｎｂ感染対照および好塩基球枯渇マウスに由来する肺ＩＬＣ２を分取精製し、Ｎｍｂの存在下または非存在下において、終夜培養した。驚くべきことに、Ｎｍｂでの処置により、好塩基球が十分なマウスから単離したＩＬＣ２によるＩＬ－５およびＩＬ－１３の産生は有意に低減されたが、好塩基球枯渇マウスから単離したものは低減されなかった（図６Ｅ）。

【０１９３】

（実施例６）

Ｎｍｂ処置は、アレルギー性気道炎症を抑制するのに十分である

ＩＬＣ２応答は、アレルギー性炎症に関連する２型サイトカイン産生、好酸球増加、および粘液産生に対する主要な寄与因子である（１４）。さらに、活性化されたＩＬＣ２は、アレルギー性炎症の重要な調節因子であるＴＨ２細胞の活性化において役割を果たす（１３、１４）。したがって、ＩＬＣ２は、アレルギー性疾患の多数の形態を処置するために標的化することができる細胞集団の重大な治療可能性を表す。上記で提示されたデータは、Ｎｍｂが、寄生生物蠕虫感染の状況において、ＩＬＣ２応答を阻害することができることを示す。Ｎｍｂが、アレルギー性炎症を処置するために用いられ得ることを示すために、以下の実験を行った。

【０１９４】

ＩＬＣ２に依存性であることが知られているパパインに誘導されるアレルギー性気道炎症の十分に確立されているモデルを利用した（１９、２０）。パパインで処置したマウスは、ＩＬＣ２のパーセンテージの上昇（図７Ａ）、ＩＬＣ２によるＩＬ－５およびＩＬ－１３の発現の上昇（図７Ｂ）、および肺好酸球増加（図７Ｃ）を示した。重要なことに、Ｎｍｂのｉｎ　ｖｉｖｏ投与は、パパインに誘導されるＩＬＣ２応答および好酸球増加を低減させるのに十分であり（図７Ａ～７Ｃ）、Ｎｍｂをアレルギー性炎症を処置するために治療的に用いることができることを実証した。したがって、Ｎｍｂは、ｉｎ　ｖｉｖｏおよびｉｎ　ｖｉｔｒｏの両方において、ＩＬＣ２応答を負に調節する。

【０１９５】

ＩＬＣ２は、多数の一般的な特徴を、それらの獲得性ＴＨ２対応物と共有しており、したがって、ＮｍｂがＴＨ２細胞を阻害する能力も有することが可能である（１３、１４）。Ｎｂ後の評価した時点では、２型サイトカインの大半は、ＩＬＣ２由来であり（１４）、ＴＨ２細胞応答に対してＮｍｂが有しているいずれの作用も、検出することは困難であり得る。これに対処するために、肺流入ＬＮを、Ｎｂ後７日目に単離し、組換えＮｍｂの存在下または非存在下の両方において、抗ＣＤ３および抗ＣＤ２８で刺激して、Ｔ細胞を活性化した。抗ＣＤ３および抗ＣＤ２８で処置したＬＮ細胞は、増加した量のＩＬ－５およびＩＬ－１３を産生した（図７Ｄ、７Ｅ）。Ｎｍｂで処置した培養物は、ＩＬ－５および１３のレベルの有意な低減を示した（図７Ｄ、７Ｅ）。これらのデータは、Ｎｍｂが、活性化T_H２細胞からのサイトカインの産生も阻害することを実証する。

【０１９６】

（実施例７）

Ｎｍｂタンパク質バリアント

上述の結果は、Ｎｍｂが、ＩＬＣ２およびＴＨ２細胞応答の両方の負の調節因子として作動し、たとえば、寄生生物感染および／またはアレルギー性気道炎症を有する対象において、２型サイトカイン媒介性炎症を低減するのに十分であることを実証する。したがって、Ｎｍｂは、２型サイトカイン媒介性炎症を低減させるために用いることができる。天然のＮｍｂは、Ｎｍｂ受容体に結合するその能力を介して作動する１０量体ペプチド（配列番号１）である（１５）。この例は、Ｎｍｂの様々な残基をアラニンと体系的に置き換えるアラニンスキャンの結果（表２）、および得られた、ＴＨ２細胞による２型サイトカイン産生を阻害するバリアントＮｍｂペプチドの能力を示す。さらに、キャップをＮｍｂの天然形態（配列番号１）に付加し、その生体活性をモニタリングした（図５Ａ）。

【表２－１】

表 2:バリアント Nmb ペプチド

コード	化合物名	構造(配列番号)
NMB	野生型ニューロメジン B	H2N-GNLWATGHFM-アミド(1)
化合物 A	アラニンスキャンペプチド 1	H2N-**A**NLWATGHFM-アミド(3)
化合物 B	アラニンスキャンペプチド 2	H2N-G**A**LWATGHFM-アミド(4)
化合物 C	アラニンスキャンペプチド 3	H2N-GN**A**WATGHFM-アミド(5)
化合物 D	アラニンスキャンペプチド 4	H2N-GNL**A**ATGHFM-アミド(6)
化合物 E	アラニンスキャンペプチド 5	H2N-GNLWA**A**GHFM-アミド(7)
化合物 F	アラニンスキャンペプチド 6	H2N-GNLWAT**A**HFM-アミド(8)
化合物 G	アラニンスキャンペプチド 7	H2N-GNLWATG**A**FM-アミド(9)

【表２－２】

化合物 H	アラニンスキャンペプチド 8	H2N-GNLWATGH**A**M-アミド(10)
化合物 I	アラニンスキャンペプチド 9	H2N-GNLWATGHF**A**-アミド(11)
化合物 J	異なるキャップのペプチド 1	**Ac**-G**L**LWATGHFM-アミド(12)
化合物 K	異なるキャップのペプチド 2	**メタンスルホニル**-GNLWATGHFM-アミド(13)
化合物 L	異なるキャップのペプチド 3	H2N-GNLWATGHFM-**NHMe** (14)
化合物 M	遊離酸	H2N-GNLWATGHFM-**OH** (15)
化合物 N	短縮ペプチド 1	H2N-NLWATGHFM-アミド(16)
化合物 O	短縮ペプチド 2	H2N-GLWATGHFM-アミド(17)
化合物 P	短縮ペプチド 3	H2N-GNWATGHFM-アミド(18)
化合物 Q	短縮ペプチド 4	H2N-GNLATGHFM-アミド(19)
化合物 R	短縮ペプチド 5	H2N-GNLWTGHFM-アミド(20)
化合物 S	短縮ペプチド 6	H2N-GNLWAGHFM-アミド(21)
化合物 T	短縮ペプチド 7	H2N-GNLWATHFM-アミド(22)
化合物 U	短縮ペプチド 8	H2N-GNLWATGFM-アミド(23)
化合物 V	短縮ペプチド 9	H2N-GNLWATGHM-アミド(24)
化合物 W	短縮ペプチド 10	H2N-GNLWATGHF-アミド(25)
化合物 X	長さ 8 オフセット 1 ペプチド 1	H2N-GNLWATGH-アミド(26)
化合物 Y	長さ 8 オフセット 1 ペプチド 2	H2N-NLWATGHF-アミド(27)
化合物 Z	長さ 8 オフセット 1 ペプチド 3	H2N-LWATGHFM-アミド(28)
化合物 AA	長さ 7 オフセット 1 ペプチド 1	H2N-GNLWATG-アミド(29)
化合物 AB	長さ 7 オフセット 1 ペプチド 2	H2N-NLWATGH-アミド(30)
化合物 AC	長さ 7 オフセット 1 ペプチド 3	H2N-LWATGHF-アミド(31)
化合物 AD	長さ 7 オフセット 1 ペプチド 4	H2N-WATGHFM-アミド(32)
化合物 AE	長さ 6 オフセット 1 ペプチド 1	H2N-GNLWAT-アミド(33)
化合物 AF	長さ 6 オフセット 1 ペプチド 2	H2N-NLWATG-アミド(34)
化合物 AG	長さ 6 オフセット 1 ペプチド 3	H2N-LWATGH-アミド(35)
化合物 AH	長さ 6 オフセット 1 ペプチド 4	H2N-WATGHF-アミド(36)
化合物 AI	長さ 6 オフセット 1 ペプチド 5	H2N-ATGHFM-アミド(37)

【０１９７】

ペプチドＣ、Ｆ、およびＫ（それぞれ、配列番号５、８、および１３）は、Ｎｍｂの天然形態（配列番号１）と比較して、ＩＬ－５産生を阻害する能力の有意な低減を示したが、Ｎｍｂバリアントペプチドのいずれも、ＩＬ－５産生を阻害する能力の有意な増強を示さなかった（図７Ｆ）。対照的に、ペプチドＦおよびＨ（それぞれ、配列番号８および１０）は、ＩＬ－１３産生を阻害する能力の有意な低減を有し、ペプチドＡ、Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｉ、Ｊ、Ｋ、およびＬ（それぞれ、配列番号３、４、５、６、１１、１２、１３、および１４）は、天然のＮｍｂと比較して、有意に高いＩＬ－１３を阻害する能力を有していた（図７Ｇ）。

【０１９８】
ＴＨ２細胞からの２型サイトカイン産生を調節するＮｍｂの短縮バージョン（表２、配列番号１６～２５）の能力を試験した。天然のＮｍｂは、ＴＨ２細胞からのＩＬ－５産生を有意に低減させるのに十分であったが、しかしながら、短縮型ペプチドＮ、Ｏ、Ｐ、Ｒ、Ｕ、Ｖ、およびＷ（それぞれ、配列番号１６、１７、１８、２０、２３、２４、および２５）は、ＩＬ－５産生を抑制する能力の低減を示した（図７Ｈ）。興味深いことに、短縮型ペプチドＶ（配列番号２４）は、ＩＬ－１３を阻害する能力の低減を示したが、ペプチドＲおよびＴ（それぞれ、配列番号２０および２２）は、ＴＨ２細胞からのＩＬ－１３を阻害する能力の増強を示した（図７Ｉ）。
【０１９９】
ＴＨ２細胞からの２型サイトカイン産生を調節する能力の変化に対するオフセット長（表２、配列番号２６～３６）の作用を試験した。上記にすでに示されているように、天然のＮｍｂは、ＴＨ２細胞からのＩＬ－５およびＩＬ－１３産生を低減するのに十分であった。オフセットペプチドＸ（配列番号２６）、Ｙ（配列番号２７）、ＡＡ（配列番号２９）、ＡＧ（配列番号３５）、およびＡＨ（配列番号３６）は、活性化されたＴＨ２細胞からのＩＬ－５産生を抑制する能力の有意な増強を有していた（図８Ａ）。さらに、ペプチドＸ（配列番号２６）、Ｙ（配列番号２７）、Ｚ（配列番号２８）、ＡＡ（配列番号２９）、ＡＢ（配列番号３０）、ＡＣ（配列番号３１）、ＡＤ（配列番号３２）、ＡＧ（配列番号３５）、ＡＨ（配列番号３６）、およびＡＩ（配列番号３７）は、ＴＨ２細胞からのＩＬ－１３産生を低減させる能力の増強を示した（図８Ｂ）。
【０２００】
まとめると、これらのデータは、Ｎｍｂが、２型サイトカイン産生を阻害するように改変することができ、これらの変更されたペプチドが、Ｎｍｂの天然バージョン（配列番号１）よりも高い、２型炎症を改変する治療能力を有し得ることを示す。
【０２０１】
加えて、これらのデータは、Ｎｍｂバリアントペプチドの組合せ、たとえば、ＩＬ－５を低減させる少なくとも１つのバリアントペプチドとＩＬ－１３を低減させる少なくとも１つのバリアントペプチドとの組合せ、たとえば、表３に示されるペプチドの組合せを開示される方法において使用することができることを示す。さらに、加えて、これらのデータは、天然のＮｍｂ（配列番号１）を、１つまたは複数のＮｍｂバリアントペプチドとの組合せで、たとえば、（１）天然のＮｍｂと、ＩＬ－５を低減させる少なくとも１つのバリアントペプチド、（２）天然のＮｍｂと、ＩＬ－１３を低減させる少なくとも１つのバリアントペプチド、または（３）天然のＮｍｂと、ＩＬ－５を低減させる少なくとも１つのバリアントペプチドおよびＩＬ－１３を低減させる少なくとも１つのバリアントペプチド（たとえば、表３に示されるペプチド）の組合せで、使用することができることを示す。１つの例では、本方法は、ＩＬ－５を減少させる能力の増強を有する少なくとも１つのＮｍｂバリアントペプチド、たとえば、ペプチドＸ（配列番号２６）、Ｙ（配列番号２７）、ＡＡ（配列番号２９）、ＡＧ（配列番号３５）、およびＡＨ（配列番号３６）のうちの１つまたは複数を使用する。１つの例では、本方法は、ＩＬ－１３を減少させる能力の増強を有する少なくとも１つのＮｍｂバリアントペプチド、たとえば、ペプチドＡ、Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｉ、Ｊ、Ｋ、Ｌ、Ｒ、Ｔ、Ｘ、Ｙ、Ｚ、ＡＡ、ＡＢ、ＡＣ、ＡＤ、ＡＧ、ＡＨ、およびＡＩ（それぞれ、配列番号３、４、５、６、１１、１２、１３、１４、２０、２２、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３５、３６、および３７）の１つまたは複数を使用する。

【表３】

表 3:IL-5 または IL-13 を低減させたバリアント Nmb ペプチド

IL-5 を低減させるペプチド	IL-13 を低減させるペプチド
ペプチド A、B、D、E、G、H、I、J、L、M、Q、S、T、X、Y、Z、AA、AB、AD、AF、AG、AH、および AI(配列番号 3、4、6、7、9、10、11、12、14、15、19、21、22、26、27、28、29、30、32、34、35、36、37)	ペプチド A、B、C、D、G、I、J、K、L、P、Q、R、S、T、U(配列番号 3、4、5、6、9、11、12、13、14、18、19、20、21、22、23)

【０２０２】

（実施例８）

ニューロメジンＣタンパク質

一部の例では、開示される方法および組成物においてＮｍｂタンパク質（またはそのバリアント）を使用する代わりに（またはそれに加えて）、ニューロメジンＣタンパク質（またはそのバリアント）が、使用される。例示的な天然のニューロメジンＣタンパク質は、ＧＮＨＷＡＶＧＨＬＭ（配列番号３８）である。あるいは、ニューロメジンＣをコードする核酸分子が、使用される。したがって、配列番号３８に対して少なくとも少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を有するタンパク質、または配列番号３８に対して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、もしくは１００％の配列同一性を有する少なくとも１つのニューロメジンＣタンパク質をコードする１つの核酸分子を、開示される方法において使用することができる。哺乳動物におけるこれまでの研究では、ＮｍｂおよびＮｍｃが、共通の受容体と相互作用することができることが示唆されている（ＰＭＩＤ　１７２０６１２）。したがって、ＮｍｃおよびＮｍｂは、２型炎症を阻害することができる共通のシグナル伝達経路を開始し得る。

【０２０３】

（実施例９）

好塩基球は、Ｎｍｂｒ発現を調節する

肺ＩＬＣ２によるＮＭＢＲ発現は、好塩基球がＮｂ感染の後に枯渇されると、低減される。好塩基球が、ＮＭＢＲの発現を直接的に媒介するかどうか、またはそれらが、中間経路を通じて作動するかどうかを判定するために、ＩＬＣ２をＮｂ感染マウスの肺から分取精製し（７日目）、生存性サイトカインＩＬ－２およびＩＬ－７とともに培養した。さらに、ＩＬＣ２を活性化された好塩基球、ＩＬ－４、またはＩＬ－３３とともに終夜培養した。続いて、ＮＭＢＲ発現を、培養後のフローサイトメトリー分析によってモニタリングした。得られたデータは、ＩＬＣ２活性化を促進することが知られている（２１、２３、２４）サイトカインであるＩＬ－４またはＩＬ－３３で処置したＩＬＣ２は、ＮＭＢＲ発現レベルの変化を示さなかったが、活性化された好塩基球とともに培養したＩＬＣ２は、ＮＭＢＲの発現の有意な増加を示した（図９）。まとめると、これらの結果は、活性化された好塩基球が、ＩＬＣ２によるＮＭＢＲ発現を直接的に調節するのに十分であることを実証する。

【０２０４】

これらの研究は、Ｎｂに誘導されるＩＬＣ２応答が、好塩基球の非存在下において誇張されることを示す。さらに、データは、好塩基球の非存在下において低減されたＮＭＢ－ＮＭＢＲシグナル伝達が、ＩＬＣ２活性化状態の増強をもたらし得ることを示唆する。しかしながら、ＩＬＣ２応答は、Ｎｂチャレンジ後にいくつかの他の因子によって調節されることも知られている。具体的には、ＩＬ－３３は、Ｎｂ感染後の肺ＩＬＣ２応答の重要な調節因子であることが報告されている（２４）。好塩基球の非存在下における変化したＩ

ＬＣ２活性が、ＮＭＢ－ＮＭＢＲシグナル伝達経路の変化ではなく、ＩＬ－３３の可用性の低減の結果であるかどうかに対処するために、ＩＬＣ２を、Ｎｂ感染マウスの肺から分取精製し（７日目）、生存性サイトカイン（ＩＬ－２、ＩＬ－７）および／またはＩＬ－３３ならびにＮＭＢとともに培養した。終夜培養の後に、上清を、標準的なＥＬＩＳＡによって、ＩＬ－５およびＩＬ－１３の存在に関して試験した。統計学的比較は、スチューデントｔ検定を使用して行った。データは、ＮＭＢが、活性化されたＩＬＣ２からの２型サイトカイン産生を阻害することを示す。特に、ＮＭＢは、安定状態で、ＩＬＣ２からのＩＬ－５およびＩＬ－１３産生を有意に低減させるのに十分であった（図１０Ａ～１０Ｂ）。さらに、これらのデータにより、ＩＬ－３３処置はＩＬ－５およびＩＬ－１３のレベルの増加をもたらしたが、ＮＭＢ処置は、依然として、２型サイトカインの有意な低減をもたらしたことが判明している。まとめると、これらの研究は、ＮＭＢが、多量のＩＬ－３３が存在している場合でさえも、ＩＬＣ２の負の調節因子として作動することを実証する。

【０２０５】

開示される研究は、造血系細胞におけるＮＭＢ－ＮＭＢＲシグナル伝達が、２型サイトカイン応答の適切な調節に必要であることを示唆する。この可能性をさらに評価するために、新規なＮＭＢＲ－ｆｌｏｘマウスを生成し、Ｖａｖ１－Ｃｒｅ発現マウスと交配させた。Ｖａｖ１は、すべての造血系細胞によって発現され（２２）、それらを新規なｆｌｏｘマウスモデルと交配させることにより、すべての免疫細胞におけるＮＭＢＲの選択的な欠失をもたらした。次に、これらのマウスに、Ｎｂを感染させ、２型サイトカイン応答および肺病理を評価した。ＩＬ－５（図１１Ａ）およびＩＬ－１３（図１１Ｂ）に関する細胞内染色を、ナイーブまたはＮｂを感染させたＶａｖ１－Ｃｒｅ、ＮＭＢＲ－ｆｌｏｘ、またはＶａｖ１－Ｃｒｅ－ＮＭＢＲ－ｆｌｏｘマウスのＢＡＬから単離したＩＬＣ２に行った（７日目）。統計学的比較は、スチューデントｔ検定を使用して行った。データは、造血系細胞におけるＮＭＢＲに媒介されるシグナル伝達が、２型サイトカイン産生を調節するために必要であることを示す。これまでのデータと一致して、免疫細胞におけるＮＭＢＲの遺伝子欠失は、感染動物のＢＡＬに関して、単離したＩＬＣ２によるＩＬ－５およびＩＬ－１３産生の有意な上昇をもたらした（図１１Ａ～１１Ｂ）。肺病理（ＨおよびＥ染色）を、ナイーブまたはＮｂを感染させたＶａｖ１－Ｃｒｅ、ＮＭＢＲ－ｆｌｏｘ、またはＶａｖ１－Ｃｒｅ－ＮＭＢＲｆｌｏｘマウスに関して評価した（７日目）。ＮＭＢＲ－ｆｌｏｘ－Ｖａｖ１－Ｃｒｅマウスは、肺における細胞内浸潤の増加および肺病理の著しい悪化を示した（図１２）。これは、造血系細胞におけるＮＭＢＲに媒介されるシグナル伝達が、肺における細胞浸潤を調節する（たとえば、減少させる）ために必要であることを示す。これらの遺伝子アプローチにより、２型サイトカイン媒介性炎症を適切に調節することにおける、免疫細胞におけるＮＭＢ－ＮＭＢＲシグナル伝達の重要性がさらに確認される。

【０２０６】

上記に提示したデータは、ＮＭＢが、リンパ球による２型サイトカイン応答の重要な負の調節因子であることを示唆する。ＮＭＢが、どのようにしてリンパ球活性化を変更し得るかについてさらに理解を深めるために、ＩＬＣ２を、Ｎｂ感染マウスの肺から分取精製し、Ｎｍｂありまたはなしで、生存性サイトカイン（ＩＬ－２、ＩＬ－７）とともに終夜培養した。次いで、遺伝子発現を、ＲＮＡシーケンシング分析によって評価した。具体的には、培養の後に、細胞をＲＮＡシーケンシングに供し、ＮＭＢ処置によって有意に上方調節または下方調節（１．５倍を超える）された遺伝子を特定した（表４）。これにより、ＮＭＢシグナル伝達経路の特定が可能となった。結果は、ＮＭＢ処置が、とりわけ、Ｓｐｒｒ２ａ２、Ｓｅｒｐｉｎｂ２、Ｉｌ１ｂ、Ｘｉｓｔ、およびＴｓｉｘを含むいくつかの遺伝子の上方調節をもたらしたことを示す。さらに、ＮＭＢ処置は、とりわけ、Ｈｇｓ２、Ｎｋｇ７、Ｋｌｒａ７、Ｐ２ｒｘ７、Ｌｙ６ｃ２、およびＭｃｐｔ２の下方調節をもたらした。まとめると、これらのデータは、ＮＭＢが、表４に列挙される遺伝子に影響を及ぼすことによって作動し得、これらの遺伝子に、実質的な治療能力があり得ることを示唆

する。

【表４】

表4:NMBシグナル伝達経路

名称	染色体	領域	倍数変化	FDR p値	ENSEMBL
Igkv17-127	6	67861153..67861659	800.9031394	1.39349E-09	ENSMUSG00000076508
Ighg2b	12	相補的 (113302965..113307933)	276.0317888	1.29827E-08	ENSMUSG00000076613
Ighg1	12	相補的 (113325240..113330523)	253.5888585	7.33518E-10	ENSMUSG00000076614
Igkv1-135	6	67609713..67610508	47.49234298	0.049956905	ENSMUSG00000096336
Igkv8-28	6	相補的 (70143593..70144166)	43.80053615	0.038814357	ENSMUSG00000094356
Sprr2a2	3	92215920..92256724	37.85216327	0.000515772	ENSMUSG00000068893
Serpinb2	1	107511423..107535478	5.695871502	0.002291872	ENSMUSG00000062345
Il1b	2	相補的 (129364570..129371139)	3.263058363	0.005266113	ENSMUSG00000027398
Xist	X	相補的 (103460375..103483217)	3.076866923	1.37162E-10	ENSMUSG00000086503
Tsix	X	103431517..103484957	2.833195718	1.45251E-05	ENSMUSG00000085715
Hgs_2	11	120467635..120483984	-1.89340553	0.043638034	ENSMUSG00000116045
Nkg7	7	43437073..43438249	-1.894603182	0.000515772	ENSMUSG00000004612
Klra7	6	相補的 (130218605..130233322)	-1.984286795	0.038814357	ENSMUSG00000067599
P2rx7	5	122643911..122691432	-2.148918914	0.002437103	ENSMUSG00000029468
Ly6c2	15	相補的 (75106158..75111970)	-2.368890009	0.001898784	ENSMUSG00000022584
Gm10031	1	156524012..156526664	-6.202778267	0.000138883	ENSMUSG00000101523
Mcpt2	14	56042041..56044642	-11.85721712	0.005266113	ENSMUSG00000022226
Gm14288	2	相補的 (175789357..175801093)	-25.4323313	0.009218816	ENSMUSG00000078889

【０２０７】

上記で考察したマウスモデルは、ＣＤ４５＋細胞におけるＮＭＢＲ発現が、２型サイトカイン媒介性炎症を適切に調節するために必要であることを実証した（図１１Ａ～Ｂ、１２）。このシグナル伝達経路が適切に調節されることを必要とし得る細胞型を十分に判定するために、肺の免疫細胞におけるＮＭＢＲの発現を安定状態およびＮｂ後７日目に評価した。データは、ＮＭＢＲが、いくつかの免疫細胞集団によって発現されることを示す。ＩＬＣ２、ＣＤ４＋およびＣＤ４－リンパ球、肺胞マクロファージ、非肺胞マクロファージ、好酸球、ならびに好中球が、様々なレベルのＮＭＢＲを発現していることが見出された（図１３）。これらのデータは、ＮＭＢが、多様な細胞標的を介して炎症を調節し得ることを示唆する。

【０２０８】

（実施例１０）

プロスタグランジンＥ２は、リンパ球におけるＮＭＢＲの発現を上方調節する

好塩基球が、リンパ球におけるＮＭＢＲの発現を調節する機序を十分に判定するために、ＩＬＣ２をＮＭＢまたはプロスタグランジンＥ２（ＰＧＥ２）の存在下または非存在下において、生存性および活性化サイトカインの組合せとともに培養した。ＩＬ－２５、ＩＬ－３３、およびＮＭＢの組合せは、ＩＬＣ２によるＮＭＢＲの発現を上方調節することができなかったが、ＰＧＥ２での処置は、ＮＭＢＲのレベルの有意な上方調節をもたらした（図１４）。これらのデータは、好塩基球（プロスタグランジンの十分に説明されている供給源）が、ＰＧＥ２の放出を通じてＮＭＢＲ発現を調節し得ることを示唆する。

【０２０９】

ＰＧＥ２が、リンパ球によるＮｍｂｒの発現を促進することを示唆するデータを踏まえて、障害（たとえば、炎症性障害）の処置の方法の実施形態は、対象に、有効量の本明細書に開示されるＮｍｂペプチドまたは核酸、および有効量のＰＧＥ２を投与することを含み得る。

【０２１０】

【化１】

参考文献

1. Pulendran B, Artis D. New paradigms in type 2 immunity. Science. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2012 Jul 27;337(6093):431-5.

2. Henry EK, Inclan-Rico JM, Siracusa MC. Type 2 cytokine responses: regulating immunity to helminth parasites and allergic inflammation. Curr Pharmacol Rep. 2017 Dec;3(6):346-59.

3. Wynn TA. Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies. Nat Rev Immunol. [Research Support, N.I.H., Intramural Review]. 2015 May;15(5):271-82.

4. Lloyd CM, Snelgrove RJ. Type 2 immunity: Expanding our view. Sci Immunol. [Review]. 2018 Jul 6;3(25).

5. Rivera A, Siracusa MC, Yap GS, Gause WC. Innate cell communication kick-starts pathogen-specific immunity. Nat Immunol. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2016 Apr;17(4):356-63.

6. Motomura Y, Morita H, Moro K, Nakae S, Artis D, Endo TA, et al. Basophil-derived interleukin-4 controls the function of natural helper cells, a member of ILC2s, in lung inflammation. Immunity. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2014 May 15;40(5):758-71.

7. Kim BS, Wang K, Siracusa MC, Saenz SA, Brestoff JR, Monticelli LA, et al. Basophils promote innate lymphoid cell responses in inflamed skin. J Immunol. [Clinical Trial Research Support, N.I.H., Extramural]. 2014 Oct 1;193(7):3717-25.

8. Klose CSN, Mahlakoiv T, Moeller JB, Rankin LC, Flamar AL, Kabata H, et al. The neuropeptide neuromedin U stimulates innate lymphoid cells and type 2 inflammation. Nature. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. 2017 Sep 14;549(7671):282-6.

9. Cardoso V, Chesne J, Ribeiro H, Garcia-Cassani B, Carvalho T, Bouchery T, et al. Neuronal regulation of type 2 innate lymphoid cells via neuromedin U. Nature. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2017 Sep 14;549(7671):277-81.

10. Kubo M. Mast cells and basophils in allergic inflammation. Curr Opin Immunol. [Review]. 2018 Jun 28;54:74-9.

11. Sullivan BM, Liang HE, Bando JK, Wu D, Cheng LE, McKerrow JK, et al. Genetic analysis of basophil function in vivo. Nat Immunol. 2011 Jun;12(6):527-35.

12. Anderson KG, Mayer-Barber K, Sung H, Beura L, James BR, Taylor JJ, et al. Intravascular staining for discrimination of vascular and tissue leukocytes. Nature protocols. [Research Support, N.I.H., Extramural

Research Support, N.I.H., Intramural

Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2014 Jan;9(1):209-22.

13. Colonna M. Innate Lymphoid Cells: Diversity, Plasticity, and Unique Functions in Immunity. Immunity. [Review]. 2018 Jun 19;48(6):1104-17.

【化２】

14. Tait Wojno ED, Artis D. Emerging concepts and future challenges in innate lymphoid cell biology. J Exp Med. [Review Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, N.I.H., Extramural]. 2016 Oct 17;213(11):2229-48.

15. Ohki-Hamazaki H. Neuromedin B. Prog Neurobiol. [Review]. 2000 Oct;62(3):297-312.

16. Gajjar S, Patel BM. Neuromedin: An insight into its types, receptors and therapeutic opportunities. Pharmacol Rep. [Review]. 2017 Jun;69(3):438-47.

17. Ohki-Hamazaki H, Iwabuchi M, Maekawa F. Development and function of bombesin-like peptides and their receptors. Int J Dev Biol. [Review]. 2005;49(2-3):293-300.

18. Ma Z, Su J, Guo T, Jin M, Li X, Lei Z, et al. Neuromedin B and Its Receptor: Gene Cloning, Tissue Distribution and Expression Levels of the Reproductive Axis in Pigs. PLoS One. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2016;11(3):e0151871.

19. Halim TY, Steer CA, Matha L, Gold MJ, Martinez-Gonzalez I, McNagny KM, et al. Group 2 innate lymphoid cells are critical for the initiation of adaptive T helper 2 cell-mediated allergic lung inflammation. Immunity. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2014 Mar 20;40(3):425-35.

20. Martinez-Gonzalez I, Matha L, Steer CA, Ghaedi M, Poon GF, Takei F. Allergen-Experienced Group 2 Innate Lymphoid Cells Acquire Memory-like Properties and Enhance Allergic Lung Inflammation. Immunity. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2016 Jul 19;45(1):198-208.

21. Barlow, J.L., Bellosi, A., Hardman, C.S., Drynan, L.F., Wong, S.H., Cruickshank, J.P., and McKenzie, A.N. (2012). Innate IL-13-producing nuocytes arise during allergic lung inflammation and contribute to airways hyperreactivity. J Allergy Clin Immunol 129, 191-198.e191-194.

22. Joseph, C., Quach, J.M., Walkley, C.R., Lane, S.W., Lo Celso, C., and Purton, L.E. (2013). Deciphering hematopoietic stem cells in their niches: a critical appraisal of genetic models, lineage tracing, and imaging strategies. Cell stem cell 13, 520-533.

23. Motomura, Y., Morita, H., Moro, K., Nakae, S., Artis, D., Endo, T.A., Kuroki, Y., Ohara, O., Koyasu, S., and Kubo, M. (2014). Basophil-derived interleukin-4 controls the function of natural helper cells, a member of ILC2s, in lung inflammation. Immunity 40, 758-771.

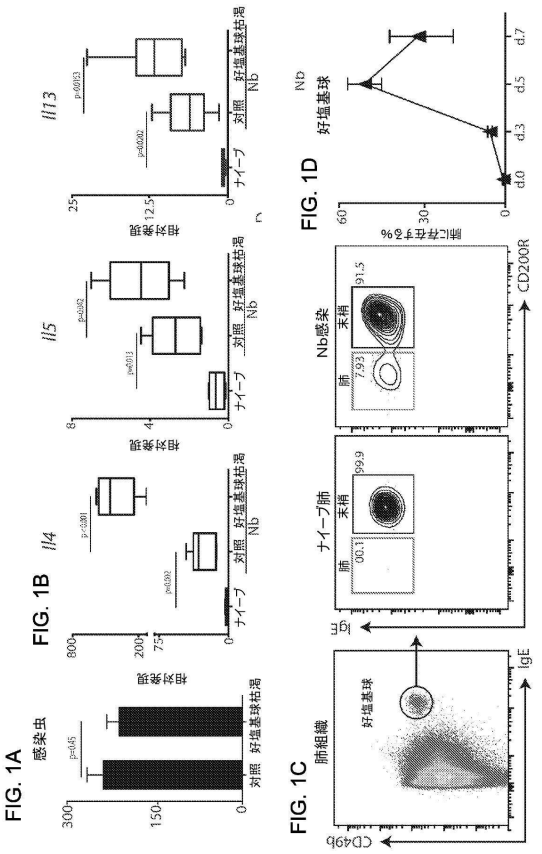
24. Neill, D.R., Wong, S.H., Bellosi, A., Flynn, R.J., Daly, M., Langford, T.K., Bucks, C., Kane, C.M., Fallon, P.G., Pannell, R., et al. (2010). Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity. Nature 464, 1367-1370.

【０２１１】

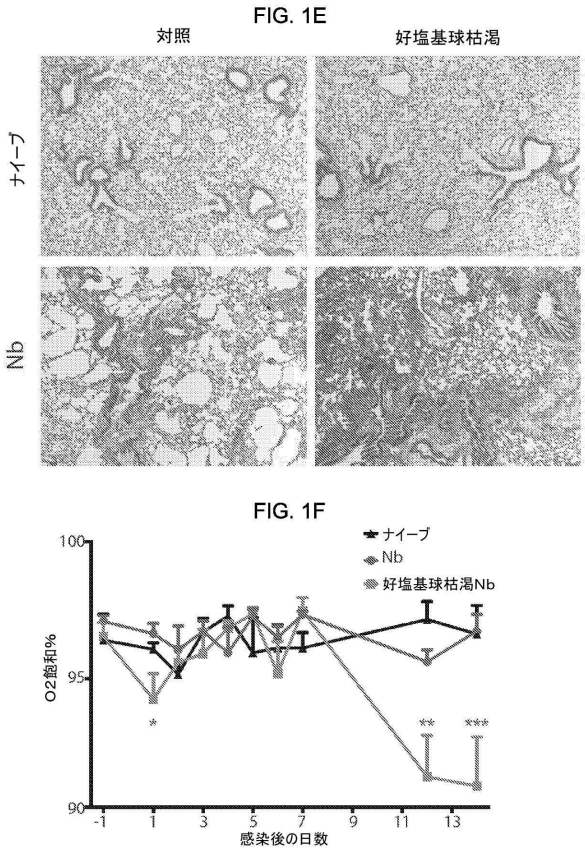
本開示の原理を適用することができる多数の可能性のある実施形態を考慮して、例示された実施形態が、本発明の例示に過ぎず、本発明の範囲を制限するものとして解釈されるべきではないことを理解されたい。むしろ、本発明の範囲は、以下の特許請求の範囲によって定められる。したがって、これらの特許請求の範囲の範囲および趣旨の範囲内のものすべてに関して、発明として特許請求がなされる。

【図面】

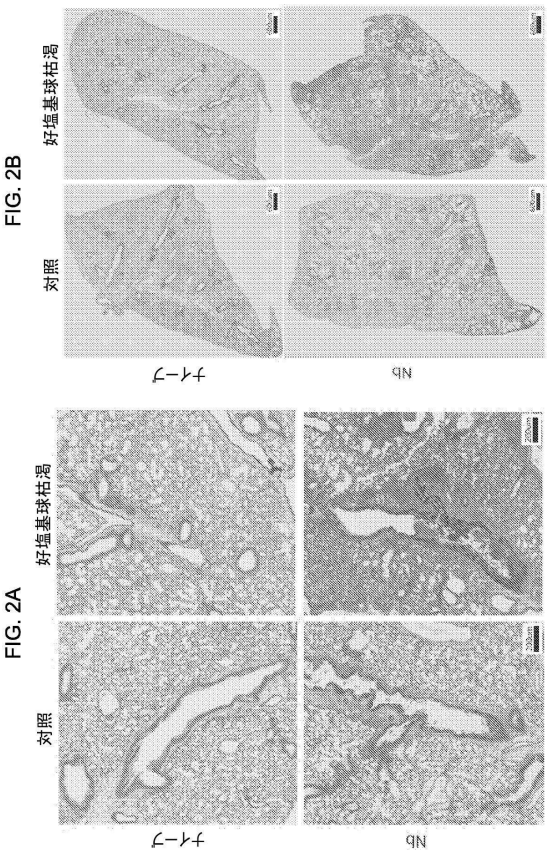
【図１－１】



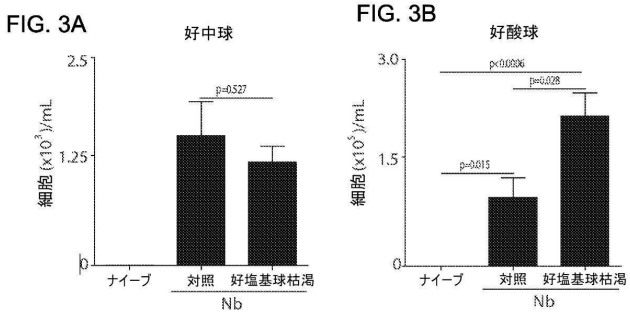
【図１－２】

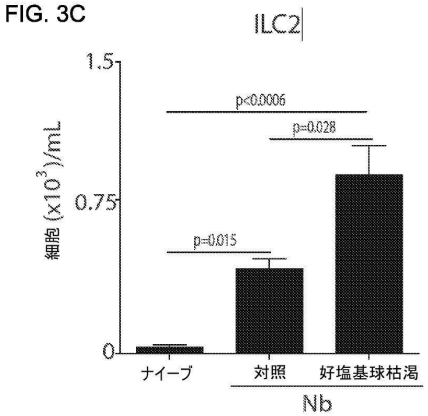


【図２】

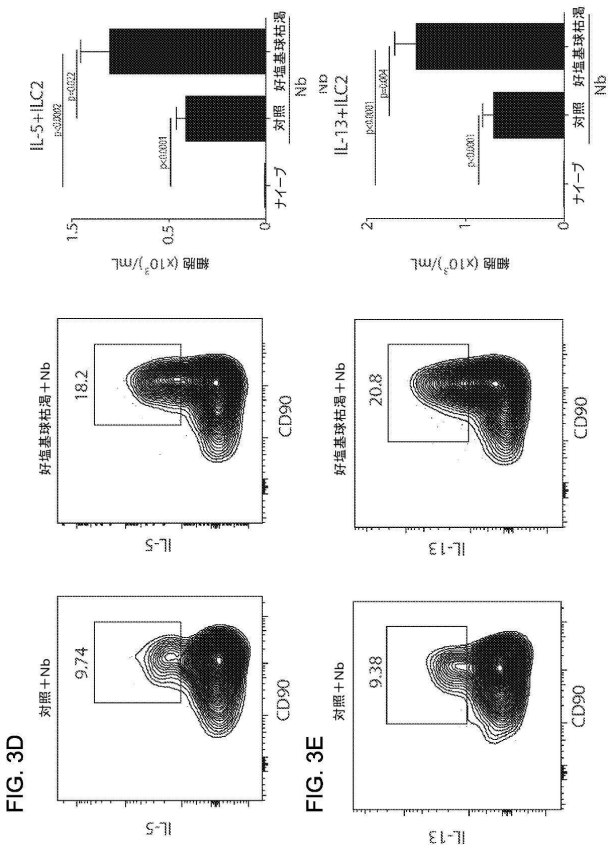


【図３－１】

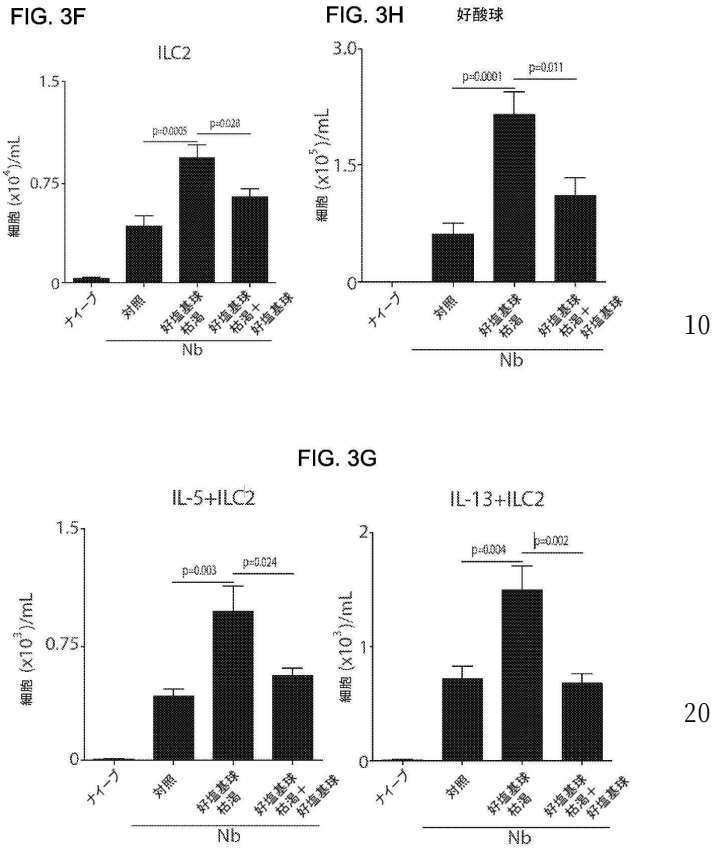




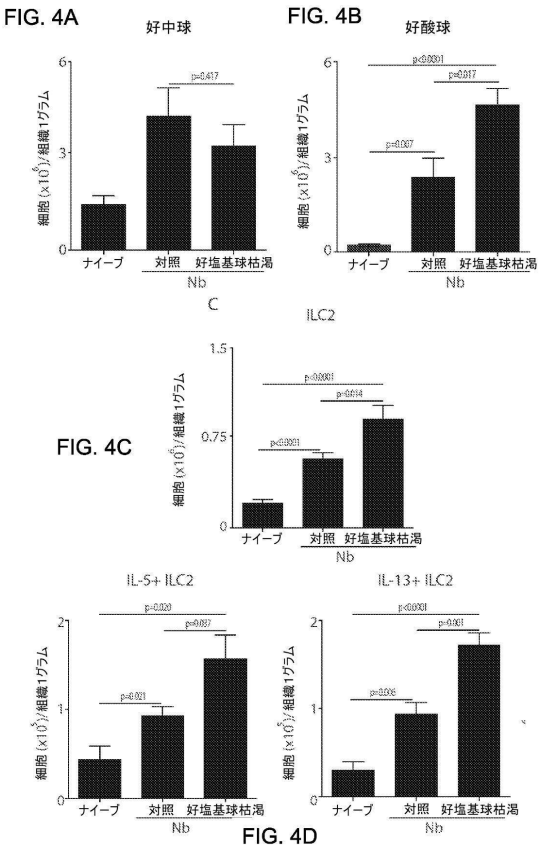
【図３－２】



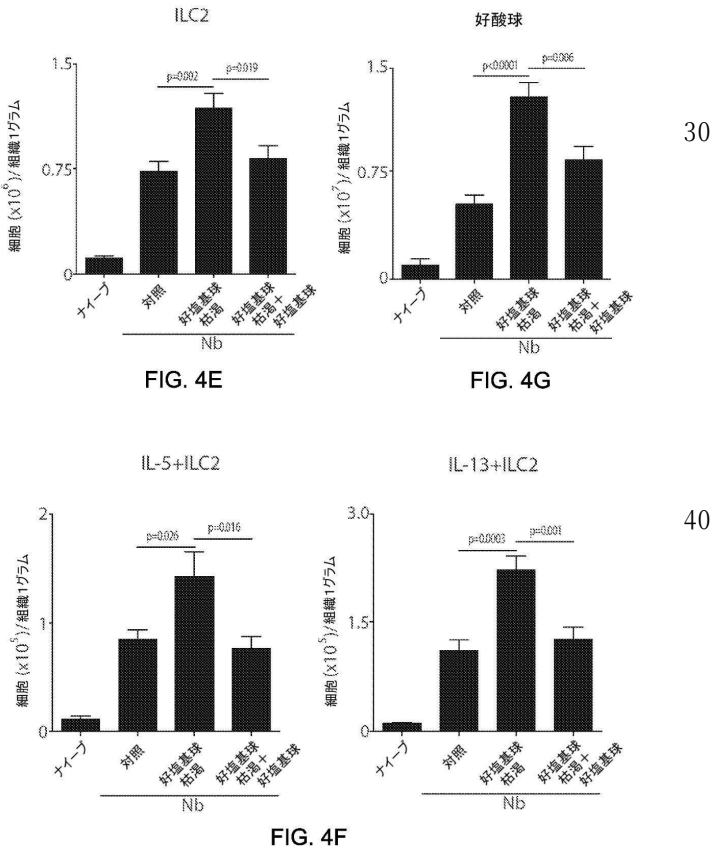
【図３－３】



【図４－１】



【図４－２】



【図５－１】

FIG. 5A

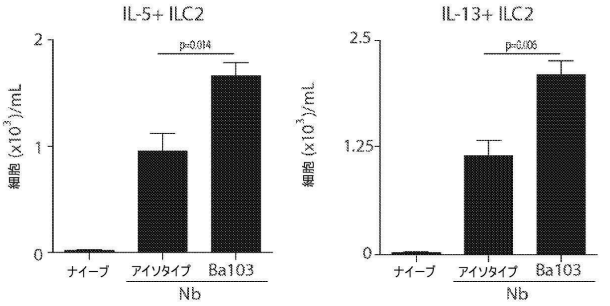


FIG. 5B

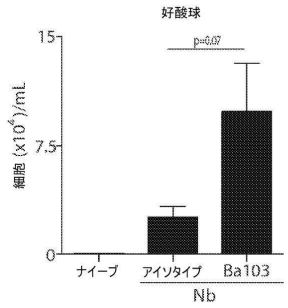
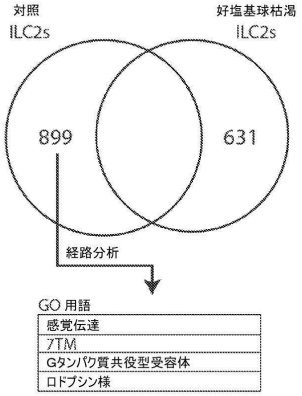


FIG. 5C



【図５－２】

FIG. 5D

ロドプシン様
嗅覚受容体 1253 (Olfr 1253)
微量アミン関連受容体 7E (Taar 7e)
Gタンパク質共役型受容体 21 (Gpr21)
Gタンパク質共役型受容体 142 (Gpr142)
嗅覚受容体 331 (Olfr 331)
嗅覚受容体 1329 (Olfr 1329)
ニューロメジンB受容体 (Nmbr)

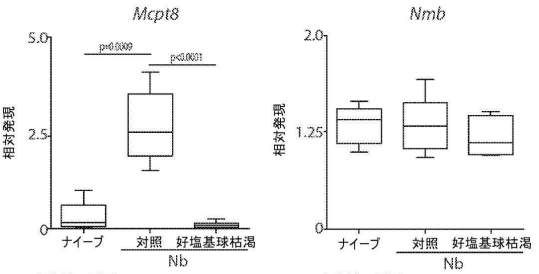


FIG. 5E

FIG. 5F

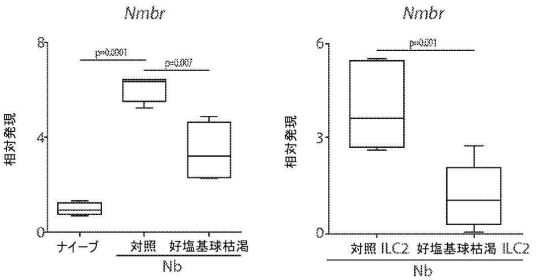


FIG. 5G

FIG. 5H

【図６－１】

FIG. 6A

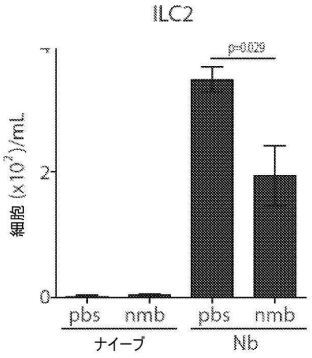
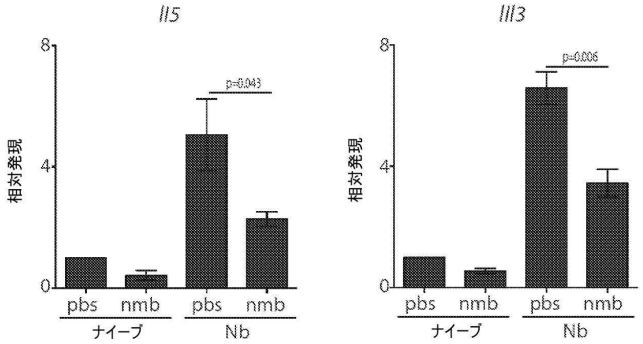


FIG. 6B



【図６－２】

FIG. 6C

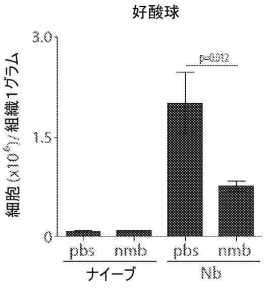


FIG. 6D

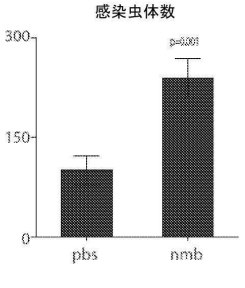
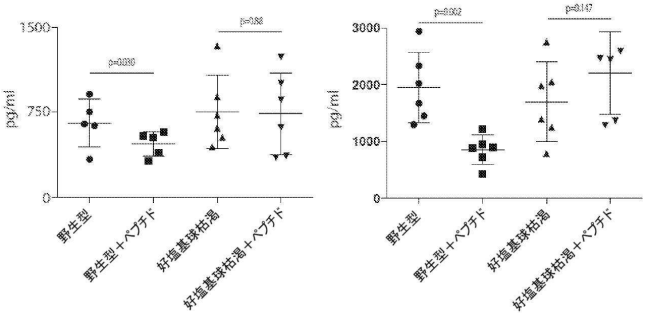


FIG. 6E



【図７－１】

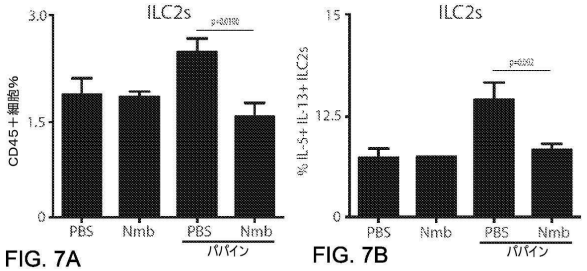


FIG. 7A

FIG. 7B

FIG. 7C

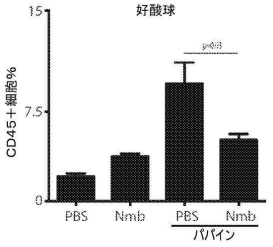


FIG. 7D

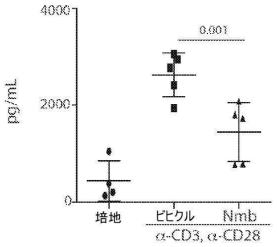
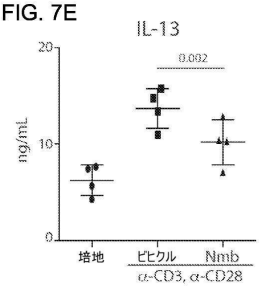


FIG. 7E



【図７－２】

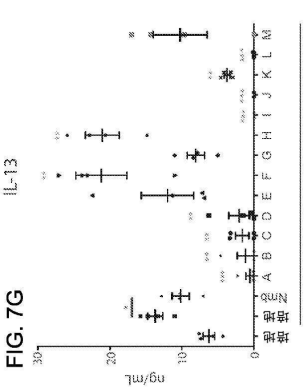


FIG. 7G

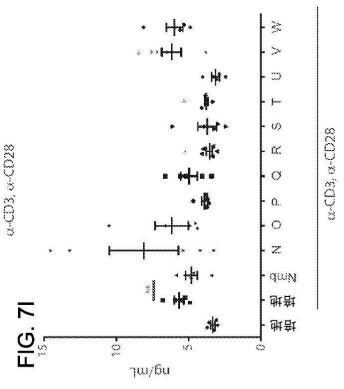


FIG. 7I

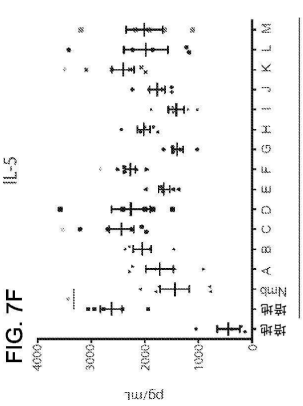


FIG. 7F

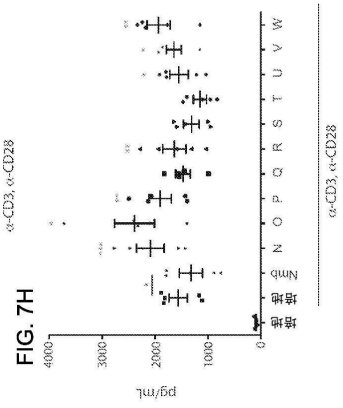


FIG. 7H

【図８】

FIG. 8A

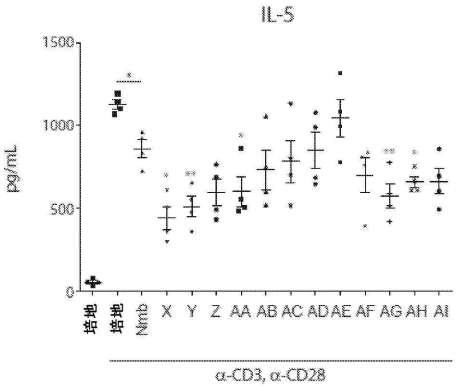
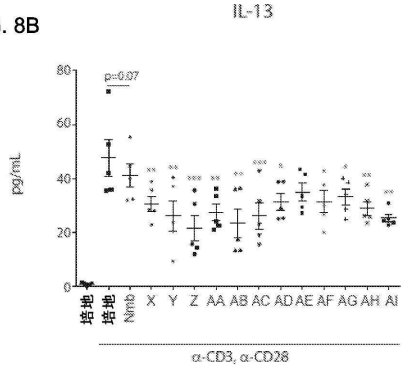
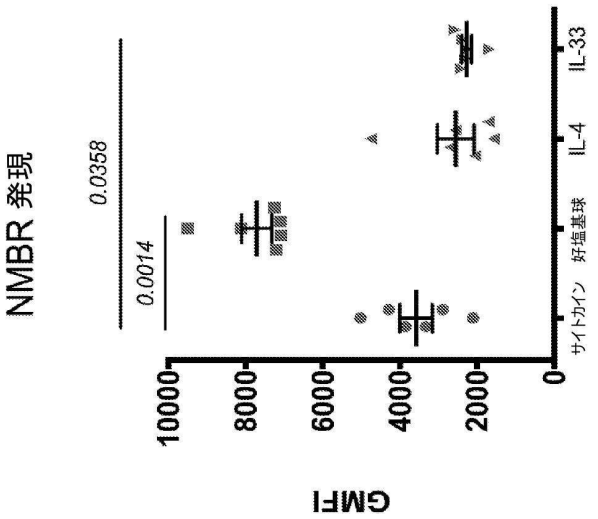


FIG. 8B



【図９】

FIG. 9



【図１０】

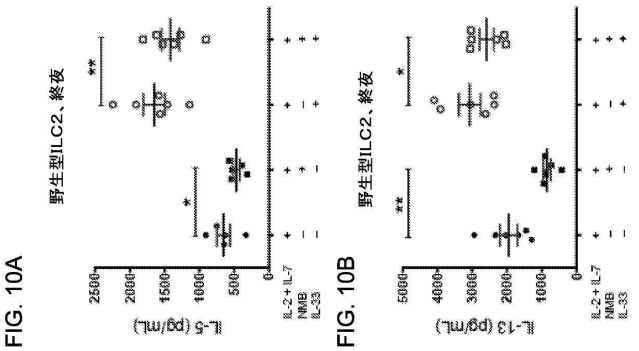


FIG. 10A

FIG. 10B

【図１１】

FIG. 11A

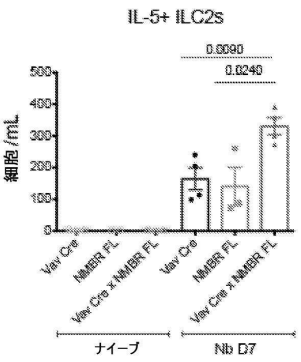
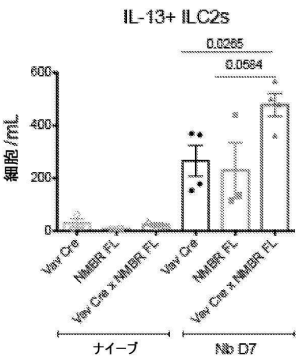
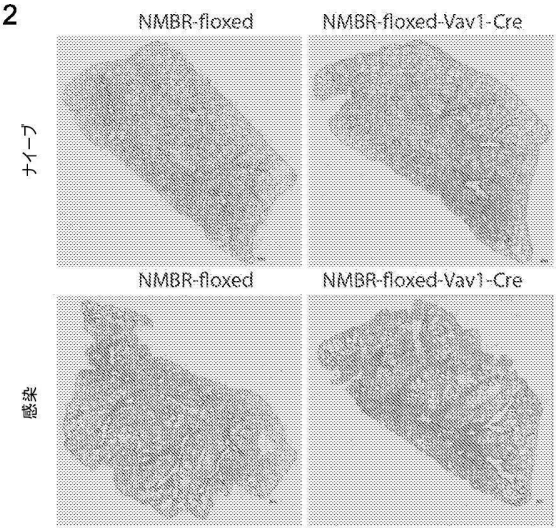


FIG. 11B



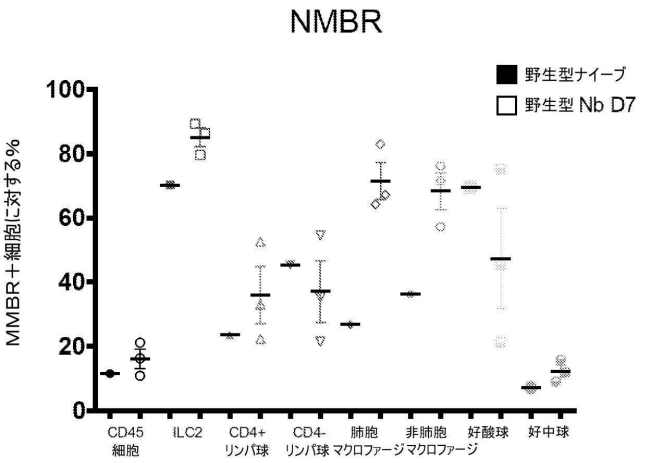
【図１２】

FIG. 12

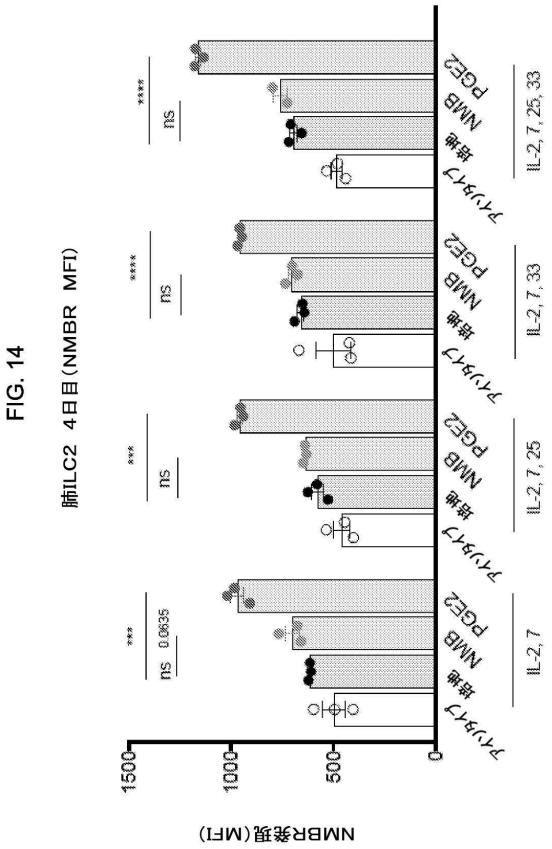


【図１３】

FIG. 13



【図１４】



【配列表】

2022508619000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US19/54546

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 38/10, 38/17, 38/18, 38/22 (2020.01)

CPC - A61K 38/105, 38/10, 38/17, 38/18, 38/22, 38/31

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)
See Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5,736,517 A (BOGDEN et al.) 07 April 1998; abstract	1, 24, 31
Y		1-2, 3/1-2, 4, 8
Y	WO 2018/022664 A1 (FLAGSHIP PIONEERING, INC.) 01 February 2018; abstract; page 23, lines 28-30; page 98, lines 11-18; page 233, lines 21-23; page 234, lines 12-19; page 276, lines 30-36; Table 1A; claim 1	1-2, 3/1-2, 4, 8
A	WO 01/79474 A1 (NEDERLANDSE ORGANISATIE VOOR TOEGEPASTNATUURWETENSCHAPPELIJK ONDERZOEK TNO) 25 October 2001; entire document	1-2, 3/1-2, 4, 8, 24, 31

☐ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
03 February 2020 (03.02.2020)	13 FEB 2020
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US19/54546

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

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

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

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

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

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

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

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US19/54546

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 9-23, 28, 30, 32-42
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

-***-Please See Supplemental Page-***-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-2, 3/1-2, 4, 8, 24, 31; SEQ ID NO: 1

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US19/54546

-***-Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking: -***-

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I+, Claims 1-8, 24-27, 29, 31, SEQ ID NO: 1 (Nmb protein), and allergy (disorder) are directed toward a method of treating a disorder in a mammalian subject, comprising: administering to the subject a therapeutically effective amount of at least one neuromedin B (Nmb) protein, or at least one nucleic acid molecule encoding at least one Nmb protein, thereby treating the disorder.

The methods and proteins will be searched to the extent that they encompass SEQ ID NO: 1 (first exemplary Nmb protein) and allergy (first exemplary disorder). Applicant is invited to elect additional Nmb protein sequence(s) and/or disorder(s), with specified SEQ ID NO: for each, or with specified substitution(s) at specified site(s) of a SEQ ID NO:, such that the sequence of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable residues or substituents), and available as an option within at least one searchable claim, to be searched. Additional Nmb protein sequence(s) and/or disorder(s) will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1-3, 4 (in-part), 8 (in-part), 24, and 31 encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NO: 1 (Nmb protein) and allergy (disorder). Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected Nmb protein sequence(s) and/or disorder(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be SEQ ID NO: 26 (Nmb protein); eosinophilic disorder (disorder).

No technical features are shared between the Nmb protein sequences and disorders of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features including: a method of treating a disorder in a mammalian subject, comprising: administering to the subject a therapeutically effective amount of at least one neuromedin B (Nmb) protein, or at least one nucleic acid molecule encoding at least one Nmb protein, thereby treating the disorder; a composition, comprising: an isolated Nmb protein comprising at least 50%, at least 60%, at least 70%, at least 80%, at least 85%, at least 90%, at least 95%, at least 98%, at least 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 1; and a liposome, wherein the Nmb protein is encapsulated in the liposome; a method of treating a disorder in a mammalian subject, comprising: administering to the subject a therapeutically effective amount of at least one neuromedin C (Nmc) protein, or at least one nucleic acid molecule encoding at least one Nmb protein, thereby treating the disorder; these shared technical features are previously disclosed by US 5,736,517 to Bogden et al. (hereinafter 'Bogden').

Bogden discloses a method of treating a disorder in a mammalian subject (a method of treating a disorder in a mammalian subject; abstract), comprising: administering to the subject a therapeutically effective amount of at least one neuromedin B (Nmb) protein (comprising: administering to the subject a therapeutically effective amount of at least one neuromedin B (Nmb) protein; abstract), thereby treating the disorder (abstract); a composition (column 20, lines 39-47; column 24, lines 48-58), comprising: an isolated Nmb protein (abstract) comprising at least 50%, at least 60%, at least 70%, at least 80%, at least 85%, at least 90%, at least 95%, at least 98%, at least 99%, or 100% sequence identity to a Nmb protein (figure 9); and a liposome (column 24, lines 48-58), wherein the Nmb protein is encapsulated in the liposome (sustained release formulation using liposomes; abstract; column 24, lines 48-58); a method of treating a disorder in a mammalian subject (a method of treating a disorder in a mammalian subject; abstract), comprising: administering to the subject a therapeutically effective amount of at least one neuromedin C (Nmc) protein (comprising: administering to the subject a therapeutically effective amount of at least one neuromedin C (Nmc) protein; abstract), or at least one nucleic acid molecule encoding at least one Nmb protein, thereby treating the disorder (abstract).

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Bogden reference, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61P 11/06 (2006.01)		A61P	11/06		
A61P 17/00 (2006.01)		A61P	17/00		
A61P 37/08 (2006.01)		A61P	37/08		
A61K 48/00 (2006.01)		A61K	48/00		
A61K 35/76 (2015.01)		A61K	35/76		
C07K 14/575 (2006.01)		C07K	14/575		
C12N 15/16 (2006.01)		C12N	15/16		
C12N 15/85 (2006.01)		C12N	15/85	Z	
C12N 15/864 (2006.01)		C12N	15/864	100Z	
C12N 15/867 (2006.01)		C12N	15/867	Z	
C12N 15/62 (2006.01)		C12N	15/62	Z	
C07K 19/00 (2006.01)		C07K	19/00		
C07K 7/06 (2006.01)		C07K	7/06		

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

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＷＥＥＮ

２．ＰＬＵＲＯＮＩＣ

(74)代理人 230113332
弁護士 山本 健策

(72)発明者 シラクサ， マーク シー．
アメリカ合衆国 ニュージャージー ０８８５４， ピスカタウェイ， ナイツブリッジ ロード ３３， ２エヌディー フロア イースト

(72)発明者 ロベルジュ， ジャック ワイ．
アメリカ合衆国 ニュージャージー ０８８５４， ピスカタウェイ， テイラー ロード ６１０， ライト－リーマン ラボラトリーズ Ａ１０２／３７１， ラトガーズ ユニバーシティ バイオメディカル リサーチ イノベーション コレス

Ｆターム（参考） 4C084 AA13 BA01 BA18 MA52 MA57 MA66 NA14 ZA591 ZA592 ZA681 ZA682 ZA891 ZA892 ZB111 ZB112 ZB131 ZB132
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA52 MA57 MA66 NA14 ZA59 ZA68 ZA89 ZB11 ZB13
4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 MA52 MA57 MA66 NA14 ZA59 ZA68 ZA89 ZB11 ZB13
4H045 AA10 AA30 BA10 BA15 BA41 BA55 CA40 DA30 EA20 EA50 FA74