

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6516855号  
(P6516855)

(45) 発行日 令和1年5月22日(2019.5.22)

(24) 登録日 平成31年4月26日(2019.4.26)

(51) Int.Cl.	F 1
A 6 1 K 38/55	(2006.01)
A 6 1 P 7/10	(2006.01)
A 6 1 P 27/02	(2006.01)
A 6 1 P 37/02	(2006.01)
A 6 1 K 9/08	(2006.01)
A 6 1 K	38/55
A 6 1 P	7/10
A 6 1 P	27/02
A 6 1 P	37/02
A 6 1 K	9/08

請求項の数 19 (全 51 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-543934 (P2017-543934)
(86) (22) 出願日	平成28年2月19日(2016.2.19)
(65) 公表番号	特表2018-509398 (P2018-509398A)
(43) 公表日	平成30年4月5日(2018.4.5)
(86) 國際出願番号	PCT/EP2016/053559
(87) 國際公開番号	W02016/131958
(87) 國際公開日	平成28年8月25日(2016.8.25)
審査請求日	平成29年10月23日(2017.10.23)
(31) 優先権主張番号	15156010.9
(32) 優先日	平成27年2月20日(2015.2.20)
(33) 優先権主張國	歐州特許庁(EP)

(73) 特許権者	597070264 ツェー・エス・エル・ペーリング・ゲー・ エム・ベー・ハー ドイツ連邦共和国D-35041 マルブルク、エミル・フォン・ペーリング・シュトラーセ 76
(74) 代理人	100127926 弁理士 結田 純次
(74) 代理人	100140132 弁理士 竹林 則幸
(72) 発明者	ヴォルフラム・シェーファー ドイツ連邦共和国35117ミュンヒハウゼン、ガルテンシュトラーセ 11

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 C 1 エステラーゼ阻害剤の医薬製剤

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

(a) 濃度が約 400 IU / mL ~ 2,000 IU / mL の C 1 - INH、及び  
 (b) 計算上のモル浸透圧濃度 20 ~ 120 mOsm / L を有するクエン酸三ナトリウム又は計算上のモル浸透圧濃度 60 ~ 120 mOsm / L を有するリン酸二水素ナトリウム / リン酸水素二ナトリウム、及び  
 (c)

(i) (b) の物質以外の、1種又はそれ以上の、計算上のモル浸透圧濃度 150 ~ 600 mOsm / L を有する、生理学的に許容される塩、又は、

(ii) 計算上のモル浸透圧濃度が 50 ~ 500 mOsm / L を有する、グリシン及び / 又は 1種又はそれ以上の塩基性の L - アミノ酸及び / 又は 1種又はそれ以上の酸性の L - アミノ酸、又はそれらの塩から選択される 1種又はそれ以上のアミノ酸、又は  
 (iii) 併せて計算したモル浸透圧濃度が 80 ~ 740 mOsm / L を有する、(b) の物質以外の 1種又はそれ以上の生理学的に許容される塩と、グリシン及び / 又は 1種又はそれ以上の塩基性の L - アミノ酸及び / 又は 1種又はそれ以上の酸性の L - アミノ酸、又はそれらの塩から選択される 1種又はそれ以上のアミノ酸、とを含み、

ここで、製剤全体としての計算上のモル浸透圧濃度が、170 ~ 800 mOsm / L である

安定な医薬製剤。

10

## 【請求項 2】

生理学的に許容される塩が生理学的に許容されるナトリウム塩、好ましくは塩化ナトリウム、EDTA二ナトリウム、酢酸ナトリウム、コハク酸ナトリウム及び硫酸ナトリウムから選択される請求項1に記載の医薬製剤。

## 【請求項 3】

塩基性のL-アミノ酸が、アルギニン、リジン及び/又はヒスチジン又はその塩である請求項1又は2に記載の医薬製剤。

## 【請求項 4】

酸性のL-アミノ酸がグルタミン酸および/またはアスパラギン酸またはその塩である、請求項1~3のいずれか1項に記載の医薬製剤。 10

## 【請求項 5】

製剤のpHが約6.7と約7.5の間である、請求項1~4のいずれか1項に記載の医薬製剤。

## 【請求項 6】

製剤が、

- (a) C1-INH約400~625IU/mL、
- (b) クエン酸三ナトリウム約20~120mOsM/L
- (c) グリシン約50~300mOsM/L、及び
- (d) 塩化ナトリウム約190~400mOsM/L

を含み、ここで、製剤全体として計算上のモル浸透圧濃度が、260~600mOsM/Lである請求項1~5のいずれか1項に記載の医薬製剤。 20

## 【請求項 7】

前記製剤中の、DSFで測定した、C1-INHの融解温度が、約55以上、好ましくは約55~60である、請求項1~6のいずれか1項に記載の医薬製剤。

## 【請求項 8】

製剤が、更に

(a) PS80(ポリソルベート80)及びPS20(ポリソルベート20)からなる群から選択される界面活性剤、及び/又は

(b) ベンジルアルコール、クレゾール、フェノール、メチオニン及びグルタチオンからなる群から選択される保存剤及び/又は抗酸化剤を含む請求項1~7のいずれか1項に記載の医薬製剤。 30

## 【請求項 9】

C1-INHがヒトC1-INHであり、好ましくはヒトC1-INHがヒト血漿由来である請求項1~8のいずれか1項に記載の医薬製剤。

## 【請求項 10】

製剤が最終剤形当たりC1-INHの絶対量を少なくとも1,200IU、少なくとも1,500IU又は少なくとも1,800IU含む請求項1~9のいずれか1項に記載の医薬製剤。

## 【請求項 11】

製剤を

- (a) 凍結乾燥粉末を適切な液体で再構成することにより、得ることが出来るか、又は
- (b) 液状製剤として提供する請求項1~10のいずれか1項に記載の医薬製剤。

## 【請求項 12】

製剤が、皮下投与、又は静脈内投与によって投与し得る、請求項1~11のいずれか1項に記載の医薬製剤。

## 【請求項 13】

患者が製剤を自己投与することが出来る、請求項1~12のいずれか1項に記載の医薬製剤。

## 【請求項 14】

20における製剤の動粘度が、10mm<sup>2</sup>/s未満、8mm<sup>2</sup>/s未満、6mm<sup>2</sup>/s

50

未満又は  $5 \text{ mm}^2 / \text{s}$  未満である、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の医薬製剤。

【請求項 15】

製剤が、高分子量成分 (HMWC) 10 重量%未満、HMWC 8 重量%未満、HMWC 5 重量%未満又はHMWC 3 重量%未満を含む、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の医薬製剤。

【請求項 16】

キニン形成に関連する障害の、急性及び/又は予防的治療における、特に、遺伝性血管浮腫 (HAE)、好ましくはHAE I型、HAE II型又はHAE III型、二次脳浮腫、中枢神経系の浮腫、低血圧ショック、又は血液が人工物表面に接触している間の、若しくは、その後の浮腫に対して、

10

虚血再灌流傷害 (IRI) に関連する障害の、急性及び/又は予防的治療における、特に IRI の外科的介入、特に血管手術、心臓手術、神経外科手術、外傷手術、癌手術、整形外科手術、移植、最小の侵襲手術、又は、薬理学的に有効な物質の送達のために、又は、障害物の全体若しくは部分を機械的に除去するために、挿入する器具に起因する障害に対して、

網膜症の急性及び/又は予防的治療における、又は  
患者に移植された組織の拒絶反応を回避する際に、  
使用するための、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の医薬製剤。

【請求項 17】

凍結乾燥粉末及び再構成するための夫々に適切な容量の液体として請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の医薬製剤を含むキット。

20

【請求項 18】

請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の医薬製剤と、少なくとも 1 本の注射器及び/又は 1 本の針とを含むキット。

【請求項 19】

請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の液状医薬製剤で充填した注射器。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、長期貯蔵のためのより高い安定性と低減した動粘度を示す C1 エステラーゼ阻害剤「C1 - INH」を含む医薬製剤に関し、キナーゼ形成に関する欠陥の治療又は予防における使用を改善する。

30

【背景技術】

【0002】

分子量 104 kDa を有する血漿糖蛋白質である C1 - INH は、セリンプロテアーゼ阻害剤 (セルピン) の蛋白質ファミリーに属し、セリンプロテアーゼの触媒活性を阻害することにより、その活性を調節する (非特許文献 1)。C1 - INH は、活性化されたセリンプロテアーゼ C1s および C1r を阻害することにより、補体系の古典的経路を阻害する。さらに、C1 - INH は、活性化セリンプロテアーゼ第 XIIa 因子 (FXIIa)、第 XIa 因子 (FXIa) および血漿カリクレインを阻害する能力があるため、接触活性化系の中の主要な阻害剤である (非特許文献 2; 非特許文献 3)。C1 - INH の欠乏は、皮膚、喉頭又は内臓器官のような皮下または粘膜下組織における急性血管浮腫発作の発症を特徴とする遺伝性血管浮腫 (HAE) の臨床症状をもたらし (非特許文献 4)、1 日ないし 7 日の間に終了はするが、不規則な間隔で生じる。血漿中の C1 - INH の含有量、またはその機能的活性における異常 (多くの場合、C1 - INH の機能的欠損と称する) は、C1 - INH 遺伝子における種々の大小の変異から生じる (上記参照) (非特許文献 5)。

40

【0003】

一般に、遺伝的 C1 - INH 欠損症には 2 種のタイプが存在する。より一般的である I 型 HAE は、血行における C1 - INH 含有量が低く (正常の 35% 未満) しかも阻害活

50

性が低いという特徴がある。I I型H A Eは、機能活性の低いC 1 - I N Hの抗原レベルが正常、又は上昇したものに関連する。最近、正常なC 1 - I N Hを有するH A E ( I I型H A Eとしても知られる)は、(1)第X I I因子遺伝子の突然変異に起因し、その結果として、第X I I因子の活性が増加し、プラジキニンの高産生を引き起こすH A E、及び(2)遺伝的原因が不明なH A E、の2種に分類して記載されている。H A E発作は、C 1 - I N Hを投与することにより効果的に治療することができる(非特許文献6; 非特許文献7)。更に、C 1 - I N Hを予防的に患者に投与した場合にも浮腫形成を防ぐことが示されている。現在、C 1 - I N Hは、B e r i n e r t (登録商標) (C S Lベーリング社)、C e t o r (登録商標) (S a n q u i n社)、C i n r y z e (登録商標) (S h i r e社)、R u c o n e s t (登録商標) / R h u c i n (登録商標) (ファーミング社製組換えC 1阻害剤)として上市されている。補体と接触活性化系に及ぼす阻害効果のために、C 1 - I N H置換は恒常性機能を正常に回復し、かつ血管浮腫の形成に媒介するプラジキニン等の血管作用性ペプチドの過剰な形成を阻害する。

【0004】

C 1 - I N Hは、脳虚血 - 再灌流のための齧歯類モデルにおける虚血 - 再灌流傷害を低減することが報告されている。(非特許文献8; 非特許文献9)。

【0005】

C 1 - I N H欠乏症の治療用として商業的に入手可能なC 1 - I N H組成物は、現今に至るまで、すべて容量の大きな製剤であり、すなわちこれらの製剤は静脈内注射によって投与する必要がある。C 1 - I N Hは、予防的に与えた場合に、遺伝性血管浮腫を有する患者における浮腫形成を防ぐことを示しているという事実(非特許文献10)に鑑み、罹患した患者が、容易に、定期的に自己投与することが可能な製剤への要求がある。

【0006】

H A Eを長期的に予防する目的は、血管浮腫発症の回数及び重症度を予防または最小化することにある。しかしながら、現在多くの場合、長期的な予防に利用可能な薬剤が最適であるとは言えない。1日用量を複数回必要とする経口抗線維溶解剤は、相対的に効果がなく、しかも、頻繁に重大な副作用を伴う。アナボリックアンドロゲンは摂取するのが簡便であり、通常は200mg / 日未満の用量で有効であるが、重篤な副作用という重大なリスクを付随し得る。現在入手可能なC 1 - I N Hの製剤は、静脈内を利用する必要があり、患者、医療提供者、又はその両方に重い負担を課している。静脈内の利用を維持するためには、多くの患者に、感染および血栓症のリスク増大を伴う静脈ポートを移植する必要があった。C 1 - I N H濃縮物の治療用量を静脈内投与した後、機能的C 1 - I N Hの血漿レベルは、急速に低下し、3日以内に基底レベルに近づく。

【0007】

C 1 - I N Hなどの蛋白質治療薬を製造する場合、監督官庁は、治療用蛋白質製品の製造業者に対し、蛋白質の多量体化及び凝集を可能な限り最小限にするように、強く推奨している。更に、このような治療薬を長期保存するために、蛋白質治療薬の安定性を向上することが強く望まれている。蛋白質の安定性を向上させる条件は又、多量体化及び凝集による高分子量成分(H M W C)、特に治療用蛋白質の変性と形成を防止するための、最良の条件である。

【0008】

従って、可能な限り早期に開発すべき製品開発において、H M W C形成を最小にする戦略が、強く望まれている。これは、例えば、適切な細胞基質を使用し、H M W C形成を最小限にする製造条件を選択し、可能な限り最大限にH M W Cを除去する精製の仕組みを採用し、蛋白質のH M W C形成を最小化する容器システムを選択し、そして最も顕著には、貯蔵中のH M W Cの形成、分解、及び変性、を最小化する製剤を選択することにより、達成することが出来る。

【0009】

従って、製剤成分は、主に、治療用蛋白質の本来の立体配座を、H M W C形成を誘引し得る疎水性相互作用に起因する変性を防止することにより、並びに、切断、酸化、及び脱

10

20

30

40

50

アミド化を含む化学的分解を防止することにより、保持する能力に基づいて選択される（非特許文献11；非特許文献12；非特許文献13）。

【0010】

蛋白質HMWCにより誘引される免疫応答の潜在的な臨床的結果は、HMWCにおける本来のエピトープの消失又は保持に依存し得る（a）天然の蛋白質を含有するHMWCに対するヒト被験体により生成されるいくつかの抗体は、単量体蛋白質と、同様に、HMWCと結合し得て、生成物活性を阻害し、又は中和し得る。（b）変性／分解され、従って凝集した蛋白質に対する他の抗体は、HMWC物質に独特な結合をするが、天然の蛋白質単量体には結合しない。（治療用蛋白質に関する産業免疫原性評価のガイダンス、米国保健福祉食品医薬品局、薬物評価研究センター（CDER）、生物学的評価研究センター（CBER）、2014年8月）。

10

【0011】

Viropharma社（現：Shire社）による、皮下投与のC1-INH（333IU/mL）及びヒアルロニダーゼ（rHuPH20）を含む濃縮物の開発は、臨床開発中に中止された。特に臨床試験に参加したほとんど全ての人は、注射部位での有害事象を被った。

【0012】

特許文献1には、C1-INH約400又は500U/mLを有するC1-INH組成物を開示している。皮下投与のために、緩衝物質としてクエン酸塩又はクエン酸を使用することは示唆されていない。開示された製剤は、特定の緩衝物質のみを低濃度で含み、他の賦形剤は添加されていない。開示された全てのC1-INH製剤は、 $t_0$ におけるモノマー含有率は約67%であり、全体として比較的低い純度を有する。当初の粘度レベルは、注射可能な製品の使用のために通常設定された限度内であるが、更に良好な粘度を有する製品が求められている。安定性に関して、特許文献1には、40で1週間後及び25で2週間後のデータのみが開示され、すなわち長期安定性データは示されず、したがって長期安定性は証明されていない。本発明において、特許文献1に開示されているC1-INH製剤の長期安定性を相当に改善できることが見出された。

20

【0013】

要約すると、HMWCの形成、並びに変性及び分解を起こしにくくすることにより、長期間の保存安定性が証明され、薬剤に関連する重大な有害事象を引き起こすことなく、注射部位では許容可能な、治療創発的有害事象を起こすのみで、かつ低粘度を有するC1-INH製剤が必要である。更に、低容量を高濃度で、容易に投与される製剤が早急に必要とされている。加えて、遺伝性血管浮腫を患っている患者の予防的治療ばかりではなく急性療法のために使用し得る製剤が望ましい。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0014】

【特許文献1】国際特許公開第WO2014/145519号

【非特許文献】

【0015】

【非特許文献1】Bock SCら、Biochemistry 1986, 25: 4292-4301

40

【非特許文献2】Davis AE、Clin. Immunol. 2005, 114: 3-9

【非特許文献3】Caliezi Cら、Pharmacol. Rev. 2000, 52: 91-112

【非特許文献4】Longhurst H、et al. Lancet 2012, 379: 474-481

【非特許文献5】Karnaukhova E、J. Hematol. Thromb. Dis. 2013, 1-7

50

【非特許文献6】Longhurst Hら、Lancet 2012, 379: 474-481

【非特許文献7】Bork K、Allergy Asthma Clin. Immunol. 2010, 6: 15

【非特許文献8】De Simoni et al., J Cereb Blood Flow Metab. 2003, 23: 232-9

【非特許文献9】Akita et al., 2003, Neurosurgery 52: 395-400

【非特許文献10】Cicardi Mら、Expert Opin. Pharmacother. 2007; 8: 3173-3181

10

【非特許文献11】Clelandら、Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1993, 10 (4): 307-377

【非特許文献12】Shireら、J. Pharm. Sci. 2004, 93 (6): 1390-1402

【非特許文献13】Wakankar Borchardt、J. Pharm. Sci. 2006, 95 (11): 2321-2336

### 【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

### 【0016】

#### 概要

20

本発明は、高濃度のC1-INHを含み、C1-INH安定性を向上させることにより長期保存に十分適合させた低容量の製剤を提供するものである。更に、この製剤は、低減した粘度を示し、特に、前記製剤を患者自身によって適用し得る場合に、この化合物を皮下及び静脈内への投与が簡便になる。

### 【0017】

本発明は更に、キニン形成に関連する障害の急性及び/又は予防的治療における、前記の製剤の使用に関する。

### 【課題を解決するための手段】

### 【0018】

特に、本発明は、

30

(a) C1-INHの濃度、約400IU/mL ~ 2,000IU/mL、及び

(b) 計算上のモル浸透圧濃度20 ~ 120mOsm/Lを有するクエン酸ナトリウム又は計算上のモル浸透圧濃度60 ~ 120mOsm/Lを有するリン酸二水素ナトリウム/リン酸水素二ナトリウム、及び

(c)

(b)の物質以外の、計算上のモル浸透圧濃度150 ~ 600mOsm/Lを有する、1種又はそれ以上の生理学的に許容される塩、又は、

計算上のモル浸透圧濃度が50 ~ 500mOsm/Lを有する、グリシン及び/又は1種又はそれ以上の塩基性の及び/又は1種又はそれ以上の酸性のL-アミノ酸、から選択される1種又はそれ以上のアミノ酸又はそれらの塩/塩類、又は、

40

併せて計算したモル浸透圧濃度が80 ~ 740mOsm/Lを有する、(b)の物質以外の1種又はそれ以上の生理学的に許容される塩、と、グリシン及び/又は1種又はそれ以上の塩基性の及び/又は1種又はそれ以上の酸性のL-アミノ酸、から選択される1種又はそれ以上のアミノ酸又はそれらの塩/塩類  
とを含み、

ここで、製剤全体としての計算上のモル浸透圧濃度は、170 ~ 800mOsm/Lである、安定な、生理学的に許容される製剤に関する。

### 【0019】

種々の実施態様において、上記製剤の生理学的に許容される塩は、生理学的に許容されるナトリウム塩、好ましくは塩化ナトリウム、EDTA二ナトリウム、酢酸ナトリウム、

50

コハク酸ナトリウム及び硫酸ナトリウムから選択される。

【0020】

種々の実施態様において、塩基性L-アミノ酸は、アルギニン、リジン及び/又はヒスチジン又はその塩/塩類、好ましくは塩酸塩である。

【0021】

種々の実施態様において、酸性L-アミノ酸は、L-グルタミン酸及び/又はL-アスパラギン酸又はその塩/塩類、好ましくはナトリウム塩である。

【0022】

種々の実施態様において、上記の医薬製剤のpHは、約6.7~約7.5である。

【0023】

いくつかの実施態様において、医薬製剤は、

(a) C1-INH約400~625IU/mL、

(b) クエン酸ナトリウム約20~120mOsM/L

(c) グリシン約50~300mOsM/L、及び

(d) 塩化ナトリウム約190~400mOsM/Lを含み、

ここで、製剤の全体として計算上のモル浸透圧濃度は、260~600mOsM/Lである。

【0024】

種々な実施態様において、上記製剤中、DSFにより測定されるC1-INHの融解温度は、約55またはそれ以上、好ましくは約55~60である。

【0025】

種々な実施態様において、上記の製剤は、更に

(a) PS80(ポリソルベート80)及びPS20(ポリソルベート20)からなる群から選択される界面活性剤、及び/又は

(b) ベンジルアルコール、クレゾール、フェノール、メチオニン及びグルタチオンからなる群から選択される保存剤及び/又は抗酸化剤を含み得る。

【0026】

種々な実施態様において、C1-INHはヒトC1-INHである。好ましい実施態様では、ヒトC1-INHはヒト血漿由来である。

【0027】

種々の実施態様において、上記で言及された製剤は、C1-INHの絶対量を最終の剤形当たり少なくとも1,200IU、少なくとも1,500IU又は少なくとも1,800IUを含む。

【0028】

種々な実施態様において、上記製剤は、

(a) 凍結乾燥粉末を適切な液体で再構成することにより、得ることができるか、又は

(b) 液体製剤として提供する。

【0029】

上記で言及した全ての実施態様において、製剤は、皮下投与経由又は静脈内投与経由により、投与することができ、これにより、場合により前記製剤を患者が自己投与することが出来る。

【0030】

種々な実施態様において、製剤の動粘度は、10mm<sup>2</sup>/s未満、8mm<sup>2</sup>/s未満、6mm<sup>2</sup>/s未満又は5mm<sup>2</sup>/s未満である。

【0031】

種々な実施態様において、本発明による製剤は、高分子量成分(HMW C)10%未満、HMWC 8%未満、HMWC 5%未満又はHMWC 3%未満を含む。

【0032】

本発明の別の態様は、

・キニン形成に関連する障害、特に、遺伝性血管浮腫(HAE)、好ましくはHAE

10

20

30

40

50

I型、HAE II型又はHAE III型、二次脳浮腫、中枢神経系の浮腫、低血圧ショック、又は血液が人造物表面に接触している間の、若しくは、その後の浮腫に対する、急性及び/又は予防的治療において、

- ・虚血再灌流傷害 (IRI) に関する障害、特にIRIは外科的介入、特に血管手術、心臓手術、神経外科手術、外傷手術、癌手術、整形外科手術、移植、最小の侵襲手術、又は、薬理学的に有効な物質の送達のために、又は、全体若しくは部分的な障害物を機械的に除去するために挿入する器具に、起因する急性及び/又は予防的治療において、
- ・網膜症の急性及び/又は予防的治療において、又は
- ・患者に移植された組織の拒絶を回避する際に、

使用するための医薬製剤を示す。

10

### 【0033】

本発明の別の態様は、本発明の医薬製剤を凍結乾燥粉末及び再構成するためそれぞれに適切な容量の液体として含むキットを示す。本発明の更に別の態様は、本発明の医薬製剤及び少なくとも1個の注射器及び/又は1本の針を含むキットを示す。更に別の態様は、本発明の液状医薬製剤を予め充填した注射器を示す。

### 【0034】

#### 定義

本発明によれば、用語「C1エステラーゼ阻害剤」又は「C1阻害剤」(「C1-INH」)は、蛋白質又はそのフラグメントを意味し、セリンプロテアーゼ阻害剤として機能し、補体系に関連する、好ましくはプロテアーゼC1r及びC1s、並びにMASP-1及びMASP-2、カリクレイン-キニン系に関連する、好ましくは血漿カリクレイン及び第XIIa因子及び、凝固系に関連する、好ましくは第X1a因子及び第XIIa因子を阻害する。更に、C1-INHは、内皮細胞へのセレクチン媒介性の白血球接着を低減する抗炎症分子として役立ち得る。本明細書中で使用されるC1-INHは天然セリンプロテアーゼ阻害剤又はその活性断片でもよく、又は、組換えペプチド、合成ペプチド、ペプチド模倣物、又は、プロテアーゼC1r及びC1s、ならびに/又はMASP-1及びMASP-2、及び/又は血漿カリクレイン、及び/又は第XIIa因子、及び/又は第X1a因子などと同様の機能的特性を提供するペプチド断片を含み得る。用語C1-INHはまた、C1-INHと同じ又は類似の機能を有する全ての天然に存在する対立遺伝子、スプライス変異体及びアイソフォームを包含する。C1-INHの構造及び機能に関する更なる開示については、米国特許第4,915,945号、米国特許第5,939,389号、米国特許第6,248,365号、米国特許第7,053,176号及び国際公開第2007/073186号を参照のこと。

20

### 【0035】

C1-INHの1「単位」(「U」)は、健常なドナーの新鮮なクエン酸添加血漿1mL中のC1-INH活性と同等である。C1-INHは、「国際単位」(「IU」)で決定することもできる。これらの単位は、現在の世界保健機関(WHO)のC1-INH濃縮物(08/256)に関する規準に基づいており、正常な局所ヒト血漿プールを用いた国際共同研究で較正されたものである。一般に、UとIUは等価である。

30

### 【0036】

本明細書で使用する用語「遺伝性血管浮腫」(「HAE」)とは、血行中のC1-INHの低含量及び阻害活性が低いことに、起因する血管浮腫(HAE I型)、又は機能的な活性の低いC1-INHの抗原レベルが正常か上昇して存在することに起因する(HAE II型)を意味する。本明細書で使用する用語「HAE」とは、また、正常なC1-INHを有するHAE(HAE III型としても知られる)を包含し、最近、2つの下位分類、(1)第XII因子遺伝子における突然変異による結果として、第XII因子の活性が増加し、プラジキニンの高産生をもたらすHAE、及び(2)未知の遺伝的原因のHAE、で記載されている。遺伝性血管浮腫に罹患している患者には、浮腫発作が、毎日、毎週、毎月、又は年ベースを含む様々の間隔で起こり得る。更に、浮腫が発症しない罹患者が存在する。

40

50

## 【0037】

本明細書で使用する用語「血管浮腫」（「浮腫」）とは、組織の腫脹、例えば皮膚又は粘膜の腫脹を意味する。腫脹は、例えば、顔面、手足、又は性器で起こり得る。更に、腫脹は、胃腸管又は気道で起こり得る。他の臓器も影響を受け得る。腫脹は通常1～3日間持続する。然しながら、数時間後又は数週間を経過する前に寛解が起こり得る。

## 【0038】

用語「虚血・再灌流傷害」「IRI」とは、虚血又は酸素欠乏の後に血液が組織へ戻る「再灌流」により起こる損傷である。組織への直接的損傷は、血流の中断により生起し、主に生存組織への酸素供給の喪失に起因し、元に戻らなければ最終的には梗塞に至る。然しながら、損傷が元に戻った場合、虚血組織の再灌流は逆説的に「間接的」に更なる損傷を引き起こす可能性がある。長期間の虚血の際は、低酸素状態のみに起因する「直接的な」損傷が主要なメカニズムである。虚血の期間がより短い場合、引き起こされる損傷に対して、「間接的」な再灌流を介在する損傷が、より多く寄与する。

10

## 【0039】

本明細書で使用する用語「網膜症」とは、急性又は持続性の眼の損傷に関する。網膜症は糖尿病（糖尿病性網膜症に至る）、動脈性高血圧（高血圧性網膜症に至る）、新生児の未熟児（未熟児網膜症に至る）、電離放射線への曝露（放射線網膜症）、直射日光への暴露（日光網膜症）、鎌状赤血球症、網膜血管疾患、例えば網膜静脈閉塞又は網膜動脈閉塞、外傷、特に頭部及び他の疾患又は状態により引き起こされ得る。網膜症の多くのタイプは増殖性であり、最も頻繁に、新血管形成又は血管の過増殖をもたらす。新しい血管の新芽形成である、血管新生は顕著な前兆であり、特に黄斑が冒された場合には失明又は重度の視力喪失に至る可能性がある。稀に、網膜症が遺伝病により起こる場合もある。

20

## 【0040】

本明細書で使用する用語「急性治療」又は「治療」とは、急性症状を示す患者の治療を意味する。急性の治療は、症状の出現から症状の完全寛解に至るまで、発生し得る。急性治療が、所望の治療効果を達成するまで1回又は数回発生しても良い。

## 【0041】

本明細書で使用する用語「予防的治療」又は「予防」又は「防止」は、症状の発症を防止するための患者の治療を意味する。予防的治療は、日、週又は月に規則的な間隔で発生しても良い。予防的治療も、場合により発生しても良い。

30

## 【0042】

用語「約」とは、測定システムの限界に部分的に依存する特定の値に関し、許容誤差範囲内であることを意味する。

## 【0043】

本明細書で使用する用語「HMWC」又は「高分子量成分」とは、最小の機能性サブユニットとして定義されるモノマーを有する、自己会合した、即ち多量体化した、又は凝集した蛋白質種の何れか、特にC1-INHを意味する。HMWCは、更に5種の特性、大きさ、可逆性/解離性、立体配座、化学修飾及び形態に基づいて更に分類される（Narhiら、J. Pharm. Sci. 2012, 101(2): 493-498）。

40

## 【0044】

HMWC、特に多量体及び凝集体は、治療用蛋白質製品に対する免疫応答を引き出す潜在能力があると、半世紀以上に亘り、認識されている（Gamble、Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 1966, 30(5): 446-455）。蛋白質HMWCが免疫応答を誘発又は増強し得る根本的なメカニズムには、とりわけ以下のものが含まれる：効率的なB細胞活性化を引き起こすB細胞受容体の広範な架橋（Dintzisら、J. Immunol. 1989, 143): 1239-1244; Bachmannら、Science 1993, 262(5138): 1448-1451）、抗原取り込み、処理と症状の亢進、及び免疫刺激性の危険シグナルをトリガーする（Seong and Matzinger、Nat. Rev. Immunol. 2004, 4(6): 469-478）。このようなメカニズムにより、高親和性のアイソタイプ

50

スイッチした Ig G 抗体の産生に必要とされる T 細胞の救援補充を増強することができ、これにより抗体反応は、生成効率の中和と最も関連する (Bachmann and Zinkernagel, Annu. Rev. Immunol. 15: 235 - 70)。

【0045】

薬剤の「最終剤形 (FDF)」という用語は、最終容器に包装し、ラベルを付けることを含む、製造のすべての段階を経た薬剤の剤形である。

【0046】

本発明における用語「生理学的に許容される塩」とは、ヒトの病状の治療、特にキニン形成に関連する障害の治療又は予防に主に使用される製剤中の塩類を意味する。更に、生理学的に許容される塩とは、液体、好ましくは、水性液体に可溶性のイオン性物質を意味し、生理学的に許容される塩は、その溶解したカチオン及びアニオンの形態で存在し、しかも、人体に投与した後に重大な有害な副作用を引き起こさない。この意味で、製剤又はその最終剤形は、他の賦形剤と共に生理学的実務に相応しい。

10

【0047】

用語「浸透圧濃度」又は「モル浸透圧濃度」とは、溶液 1 リットル (L) 当たりの溶質のオスモル数 (Osm) として定義される溶質濃度の尺度 (osmol/L、又は Osm/L) である。モル浸透圧濃度は溶液の単位体積当たりの溶質粒子のオスモル数を測定し、一方、モル濃度は溶液の単位体積あたりの溶質のモル数を測定する。

【0048】

浸透圧は、当業者に周知の方法により、例えば凝固点降下を測定することによって測定することができる。凝固点降下により、溶液のモル浸透圧濃度を測定する方法は、例えば、欧州薬局方 2.2.35 及び米国薬局方第 785 章に記載されている。例えば、水については、1 kg の水に溶質 1 オスモルを添加すると、凝固点を 1.86 降下する。

20

【0049】

浸透圧の理論的計算は、当業者に周知である。簡単に説明すると、溶液の各成分について、浸透係数  $f$ 、水中で解離する分子の粒子数  $n$ 、及びその成分のモル濃度の積を計算し、次にその結果を全成分にわたり合計する。したがって、溶液のモル浸透圧濃度 (Osm/L) は以下のように計算することができる。

$$\text{Osm/L} = f_i n_i C_i$$

指数  $i$  は、塩イオンなどの特定の成分の同一性を表す。

30

$f$  はその特定成分の浸透圧係数であり、

$n$  は、その特定の成分の分子が水中で解離する粒子の数であり、

$C$  はその特定の成分のモル濃度である。

【0050】

モル濃度は若干の温度依存性を有する。本発明の目的のためには、大気圧下で 2 ~ 35 、好ましくは 10 ~ 30 、より好ましくは 25 における濃度を示す。

【0051】

特許を請求する注射用の組成物に通常使用される濃度において、特定の成分各々について浸透係数が 1 であると仮定すると、溶液のモル浸透圧濃度を計算するのに十分な近似が得られる。例えば、塩化ナトリウムは、水中で 2 つの粒子に解離する特定の成分であり、

40

塩化ナトリウムのモル浸透圧濃度はそのモル濃度の 2 倍である。リン酸二水素ナトリウム / リン酸水素二ナトリウムは、両成分が略等モルの混合物で適用可能な pH 範囲にあるため、水中で各々 2 個又は 3 個の粒子に解離し、リン酸塩のモル浸透圧濃度はそのモル濃度の 2.5 倍である。本明細書で使用するように、特許請求する製剤中の C1-INH のモル濃度は非常に低く、浸透圧を計算する間は無視することが出来る。

【0052】

モル浸透圧濃度の測定値とモル浸透圧濃度の計算値との間の偏差が生じることはよく知られている。特に、C1-INH のような高度に荷電した蛋白質が存在する溶液中では、ドナン電位のために、測定されたモル浸透圧濃度に対するその蛋白質の強い影響があり得る。従って、本発明の用語「モル浸透圧濃度」又は「計算上のモル浸透圧濃度」とは、計

50

算したモル浸透圧濃度を意味する。

【0053】

「D S F」という用語は、「示差走査型蛍光分析」を意味し、標的蛋白質の安定性と蛋白質にリガンドが結合した時のその後の蛋白質の融解温度の上昇を測定する熱移動アッセイ法又は熱変性アッセイ法である。低分子量リガンドの結合は、蛋白質の熱安定性を高めることが出来る。この安定性の変化は、S y p r o (登録商標) O r a n g eのような蛍光色素の存在下で熱変性曲線を実施することにより測定する。蛋白質が展開した時、露出した疎水性表面は色素に結合し、蛍光の増加が起こる。安定性曲線及びその中点値(融解温度m t)は、温度を徐々に上げて蛋白質を展開し、各点の蛍光を測定することにより得られる。言い換えれば、D S Fは、蛍光色素の存在下での蛋白質の熱展開を監視し、蛋白質展開温度は、蛋白質が展開するに連れて露出するその蛋白質の疎水性部分に対して親和性を有するその色素の蛍光の増加によって測定する。融解温度の差は、蛋白質安定性を増強するかどうかに従って緩衝液条件、添加剤をランク付けするために使用しても良い。

【0054】

融解温度(m t)は、展開した状態のギブス自由エネルギー(G u)によって定義される。温度の上昇は、折り畳んだ蛋白質部分の減少と G uの減少をもたらす。G uは折り畳んだ蛋白質と展開した蛋白質との比が等しい状態でゼロに等しい。対応する温度が、蛋白質の融解温度である。従って、融解温度は、蛋白質の熱安定性を評価するための尺度である。本発明の製剤は、表2~3に見られるように、従来技術のC 1 - I N H 製剤と比較して融解温度の上昇を提示する。より高い安定性を有するこのような製剤は、C 1 - I N H の貯蔵を、より長くするためにより適したものにしている。

【0055】

用語「W F I」は「注射用水」を意味する。これは、溶媒が水である非経口投与のための医薬品の製造に使用することを意図した水である。又は、非経口投与のための物質又は製剤を溶解又は希釈するために使用する水を意味する。これは、化学物質及び微生物の除去における蒸留と同等又はそれより優れた蒸留又は精製工程により精製される。

【0056】

動粘度(m<sup>2</sup>/s)は絶対粘度[P a \* s = k g / m · s]と流体の密度[k g / m<sup>3</sup>]との比である。

【0057】

本発明において、「クエン酸ナトリウム」又は「N a - クエン酸塩」又は「N a<sub>3</sub> - クエン酸塩」という用語は、クエン酸三ナトリウム、すなわちN a<sub>3</sub>C(OH)(COO<sup>-</sup>)(CH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>)<sub>2</sub>を意味する。

【0058】

C 1 エステラーゼ阻害剤

本発明の特定の実施態様において、C 1 - I N H は、血漿由来又は組換えC 1 - I N H である。更なる実施態様では、前記阻害剤は、天然に存在するヒト蛋白質又はその変異体と同一である。他の実施態様では、前記阻害剤はヒトC 1 - I N H である。他の実施態様では、前記阻害剤は、ヒトC 1 - I N H 蛋白質の組換え類似体である。

【0059】

本発明によれば、C 1 - I N H は、その生物学的利用能及び/又は半減期を改善し、その効力を改善し、及び/又は潜在的な副作用を低減するために改変され得る。この改変は、組換え合成の間に又は他の方法で導入することができる。そのような改変の例としては、C 1 - I N H のグリコシル化、ペグ化及びH E S 化又は記述のC 1 - I N H のアルブミン融合である。いくつかの実施態様では、C 1 - I N H は、C 1 - I N H とアルブミンとの融合構築物、特にヒトアルブミンを含む。いくつかの実施態様では、アルブミンは組換え蛋白質である。特定の実施態様において、C 1 - I N H とアルブミン蛋白質は直接、又はリンカーポリペチドを介して結合している。蛋白質のグリコシル化及びアルブミン融合に関する更なる開示については、国際特許公報第W O 0 1 / 7 9 2 7 1号を参照されたい。

10

20

30

40

50

## 【0060】

## C1-INHの調製

本発明の目的のために、C1-INHは、当業者公知の方法に従って製造しても良い。例えば、血漿由来C1-INHは、ドナー数人から血漿を収集することにより調製しても良い。血漿ドナーは、当技術分野で定義されているように健康でなければならない。好ましくは、数千人（1000人以上）の健康なドナーの血漿をプールし、場合により更に処理する。治療目的のC1-INHを調製するための例示的な工程は、米国特許第4,915,945号に開示されている。又、他の実施態様において、C1-INHは、当該分野で公知の技術を用いて、天然の組織供給源から収集し濃縮しても良い。組換えC1-INHは、公知の方法によって調製しても良い。

10

## 【0061】

特定の実施態様では、C1-INHはヒト血漿由来である。更なる実施態様において、C1-INHは組換体発現によって調製する。

## 【0062】

C1-INHを含む市販の製品は、例えば、血漿由来のBerinert（登録商標）（CSL Behring社製）である。Berinert（登録商標）はA.Feuessnerら（Transfusion 2014, 54: 2566-73）、に従って作製され、遺伝性血管浮腫及び先天性欠損の治療に必要である。また、これに替わるC1-INHを含む市販製品としては、血漿由来のCetor（登録商標）（Sanquin社製）、Cinryze（登録商標）（Shire社製）及び組換えRucost（登録商標）/ Rhucin（登録商標）（Pharmingen社製）が挙げられる。

20

## 【0063】

## C1-INH製剤

本発明は、（a）C1-INHを含む安定な医薬製剤に関する。本発明のこれら高濃縮製剤は、低い粘度を有する少容量の製剤として供給される。製剤は、耐容性が良好であり、静脈内及び特に皮下投与に適している。

## 【0064】

前記製剤中のC1-INHの濃度は、約400IU/mL～2,000IU/mL、好ましくは約400IU/mL～1,200IU/mL、より好ましくは約400IU/mL～1000IU/mL、より好ましくは約400IU/mL～800IU/mL、より好ましくは約400IU/mL～650IU/mL、最も好ましくは約500IU/mL又はその間の何れかの範囲である。

30

## 【0065】

更に、前記製剤は、下記、

（b）計算上のモル浸透圧濃度20～120mOsm/Lを有するクエン酸ナトリウム、又は計算上のモル浸透圧濃度60～120mOsm/Lを有するリン酸二水素ナトリウム/リン酸水素二ナトリウム、及び

（c）（b）の物質以外の、1種又はそれ以上の、計算上のモル浸透圧濃度150～600mOsm/Lを有する、生理学的に許容される塩、又は、

計算上のモル浸透圧濃度が50～500mOsm/Lを有する、グリシン及び/又は1種又はそれ以上の塩基性の及び/又は酸性のL-アミノ酸、から選択される1種又はそれ以上のアミノ酸又はそれらの塩類、又は、

40

（b）の物質以外の、併せて計算したモル浸透圧濃度が80～740mOsm/Lを有する、1種又はそれ以上の生理学的に許容される塩、と、

グリシン及び/又は1種又はそれ以上の塩基性の及び/又は酸性のL-アミノ酸、から選択される1種又はそれ以上のアミノ酸又はそれらの塩類、とを含み、

ここで、製剤全体の計算上のモル浸透圧濃度は170～800mOsm/Lである。

## 【0066】

特定の実施態様において、クエン酸ナトリウムの計算上のモル浸透圧濃度は80～12

50

0 mOsm/L、より好ましくは 80 mOsm/L ~ 120 mOsm/L である。又は他の特定の実施態様では、クエン酸ナトリウムの計算上の浸透圧モル濃度は 30 ~ 80 mOsm/L、より好ましくは 40 ~ 70 mOsm/L である。

【0067】

他の特定の実施態様において、リン酸二水素ナトリウム / リン酸水素二ナトリウムの計算上のモル浸透圧濃度は、60 ~ 90 mOsm/L である。

【0068】

更に、特定の実施態様では、(b) の物質以外の、1種又はそれ以上の生理学的に許容される塩は、計算上の浸透圧モル濃度 170 ~ 500 mOsm/L、より好ましくは 230 ~ 470 mOsm/L を有する。他の特定の実施態様では、1種又はそれ以上のアミノ酸は、計算上の浸透圧モル濃度 170 ~ 500 mOsm/L、より好ましくは 230 ~ 470 mOsm/L の浸透圧モル濃度を有する。又、(b) の物質以外の1種又はそれ以上の生理学的に許容される塩と1種又はそれ以上のアミノ酸とは、共に、計算上の浸透圧モル濃度 150 ~ 600 mOsm/L、より好ましくは 230 ~ 470 mOsm/L を有する。10

【0069】

他の実施態様では、製剤全体の計算上のモル浸透圧濃度は 230 ~ 700 mOsm/L、より好ましくは 250 ~ 600 mOsm/L である。更により好ましくは、モル浸透圧濃度は 270 ~ 330 mOsm/L、最も好ましくは 280 ~ 330 mOsm/L、又は何れかの範囲の中間にある。他の更に好ましい実施態様では、モル浸透圧濃度は 400 ~ 600 mOsm/L、最も好ましくは 450 ~ 550 mOsm/L 又は何れかの範囲の中間にある。20

【0070】

様々な実施態様において、生理学的に許容される塩は、アルカリ金属及び / 又はアルカリ土類金属塩である。特定の実施態様において、生理学的に許容される塩は、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩又はカルシウム塩、好ましくはナトリウム塩である。

【0071】

種々の実施態様において、生理学的に許容される塩の塩基は、炭酸塩、硫酸塩、塩化物などのハロゲン化物、及び EDTA、酢酸塩、コハク酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、及び酒石酸塩などのカルボキシル基含有塩基から選択し得るが、これに限定するものではない。特定の実施態様では、生理学的に許容される塩の塩基は、塩化物、硫酸塩、酢酸塩又はコハク酸塩である。30

【0072】

特定の実施態様では、生理学的に許容される塩は、NaCl、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、Na - 酢酸塩及び Na - コハク酸塩から選択される。

【0073】

特定の実施態様において、1種又はそれ以上の塩基性 L - アミノ酸は、L - アルギニン、L - ヒスチジン、L - リシン又はそれらの塩、好ましくは塩酸塩から選択される。いくつかの実施態様において、1種又はそれ以上の酸性 L - アミノ酸は、L - グルタミン酸及び L - アスパラギン酸又はその塩、好ましくはそのナトリウム塩から選択される。40

【0074】

特定の実施態様では、医薬製剤は1種類のアミノ酸のみを含む。

【0075】

特定の実施態様では、医薬製剤は、例えば、ヒアルロニダーゼのような組織透過性増強剤を含まない。

【0076】

様々な実施態様において、医薬製剤の pH は、約 6.7 ~ 7.5、約 6.8 ~ 7.4、約 6.9 ~ 7.3、約 7.0 ~ 7.2 の間、又は何れかの範囲の間である。最も好ましい実施態様では、製剤の pH は約 7.0、約 7.1 又は約 7.2 である。

【0077】

10

20

30

40

50

いくつかの実施態様において、医薬製剤は、  
 (a) C 1 - I N H 約 4 0 0 ~ 6 2 5 I U / m L、  
 (b) クエン酸ナトリウム約 2 0 ~ 1 2 0 m O s m / L、  
 (c) グリシン約 5 0 ~ 3 0 0 m O s m / L、及び  
 (d) 塩化ナトリウム約 1 9 0 ~ 4 0 0 m O s m / L、  
 を含み、製剤全体の計算上のモル浸透圧濃度は約 2 6 0 ~ 8 0 0 m O s m / L である。

## 【0078】

好みの実施態様において、医薬製剤は、  
 (a) C 1 - I N H 約 4 0 0 ~ 6 2 5 I U / m L、  
 (b) クエン酸ナトリウム約 4 0 ~ 6 0 m O s m / L、  
 (c) グリシン約 1 0 0 ~ 2 0 0 m O s m / L、及び  
 (d) 塩化ナトリウム約 2 4 0 ~ 3 5 0 m O s m / L、  
 を含み、製剤全体の計算上のモル浸透圧濃度は約 3 8 0 ~ 6 0 0 m O s m / L である。

## 【0079】

より好みの実施態様において、医薬製剤は、  
 (a) C 1 - I N H 約 4 5 0 ~ 5 5 0 I U / m L、  
 (b) クエン酸ナトリウム約 4 0 ~ 6 0 m O s m / L、  
 (c) グリシン約 1 0 0 ~ 2 0 0 m O s m / L、及び  
 (d) 塩化ナトリウム約 2 4 0 ~ 3 5 0 m O s m / L、  
 を含み、製剤全体の計算上のモル浸透圧濃度は 3 8 0 ~ 6 0 0 m O s m / L である。

## 【0080】

更に好みの実施態様において、医薬製剤は、  
 (a) C 1 - I N H 約 4 9 0 ~ 5 1 0 I U / m L、  
 (b) クエン酸ナトリウム約 4 0 ~ 6 0 m O s m / L、  
 (c) グリシン約 1 0 0 ~ 2 0 0 m O s m / L、及び  
 (d) 塩化ナトリウム約 2 4 0 ~ 3 5 0 m O s m / L、  
 を含み、製剤全体の計算上のモル浸透圧濃度は 3 8 0 ~ 6 0 0 m O s m / L である。

## 【0081】

一実施態様では、上記製剤は、C 1 - I N H の他に、p H が 6 . 9 ~ 7 . 1 において、  
 クエン酸ナトリウム約 1 3 m M、グリシン約 1 3 3 m M、及び N a C 1 約 1 5 4 m M を含む。

## 【0082】

特定の実施態様において、医薬製剤は、  
 (a) C 1 - I N H 約 4 0 0 ~ 6 2 5 I U / m L、  
 (b) クエン酸ナトリウム約 4 0 ~ 1 2 0 m O s m / L、  
 (c) 硫酸ナトリウム約 2 0 0 ~ 6 0 0 m O s m / L、を含み、  
 ここで、製剤全体の計算上のモル浸透圧濃度は約 2 5 0 ~ 7 2 0 m O s m / L である。

## 【0083】

好みの実施態様において、医薬製剤は、  
 (a) C 1 - I N H 約 4 0 0 ~ 6 2 5 I U / m L、  
 (b) クエン酸ナトリウム約 4 0 ~ 8 0 m O s m / L、  
 (c) 硫酸ナトリウム約 2 0 0 ~ 5 0 0 m O s m / L、を含み、  
 ここで、製剤全体の計算上のモル浸透圧濃度は約 2 8 0 ~ 5 8 0 m O s m / L である。

## 【0084】

いくつかの実施態様において、医薬製剤は、  
 (a) C 1 - I N H 約 4 0 0 ~ 6 2 5 I U / m L、  
 (b) クエン酸ナトリウム約 4 0 ~ 8 0 m O s m / L、  
 (c) 硫酸ナトリウム約 2 0 0 ~ 3 1 0 m O s m / L、を含み、  
 ここで、製剤全体の計算上のモル浸透圧濃度は約 2 8 0 ~ 3 5 0 m O s m / L である。

## 【0085】

10

20

30

40

50

他の実施態様において、医薬製剤は、

- (a) C1-INH 約400～625IU/mL、
- (b) クエン酸ナトリウム約40～80mOsM/L、
- (c) 硫酸ナトリウム約400～500mOsM/L、を含み、

ここで、製剤全体の計算上のモル浸透圧濃度は約400～550mOsM/Lである。

【0086】

特定の実施態様では、医薬製剤は、pH 7.0、7.1又は7.2で表1に開示した濃度を有する賦形剤を含む。

【0087】

様々な実施態様において、開示した製剤中のC1-INHの融解温度は、DSFにより測定され、約55以上、約56以上、又は約57以上である。特定の実施態様において、DSFにより測定される融解温度は、約55～60、約56～60又は約57～60である。DSFにより測定される融解温度は、約+/-1の測定差を有する。

【0088】

更なる実施態様において、提供する製剤は、1種又はそれ以上の界面活性剤及び/又は1種又はそれ以上の保存剤及び/又は1種又はそれ以上の抗酸化剤を含む。

【0089】

特定の実施態様において、医薬製剤は、PS80(ポリソルベート80)及び/又はPS20(ポリソルベート20)を含み得る。医薬製剤において、PS80及び/又はPS20は、濃度約0.5～2mg/mLで存在し得る。

【0090】

特定の実施態様において、保存剤及び/又は抗酸化剤は、ベンジルアルコール、クレゾール、フェノール、メチオニン及びグルタチオンからなる群から選択される。医薬製剤において、保存剤及び/又は抗酸化剤は、濃度約1～5mMで存在し得る。

【0091】

提供する製剤は、当該技術分野で公知の医薬担体及び賦形剤を更に含んでも良い(例えば、Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins、Frøkjaerら、Taylor & Francis 2000又は“Handbook of Pharmaceutical Excipients”、第3版、Kibbeら、Pharmaceutical Press 2000)。

【0092】

いくつかの実施態様では、C1-INHはヒトC1-INHである。特定の実施態様では、ヒトC1-INHはヒト血漿由来であるか、又はヒトC1-INHは組換発現体である。好ましくは、C1-INHはヒト血漿由来である。

【0093】

いくつかの実施態様において、製剤は、C1-INHの絶対量を約1,000IU/FDF、約1,200IU/FDF、約1,500IU/FDF、約1,800IU/FDF、約2,100IU/FDF、約2,400IU/FDF、約2,700IU/FDF又は約3,000IU/FDF含むか、又はその間の何れかの絶対量である。好ましい実施態様において、製剤は、C1-INHの絶対量を少なくとも1,200IU/FDF、FDF当たり1,500IU、又はFDF当たり少なくとも1,800IUの含む。

【0094】

様々な実施態様において、液状医薬製剤は、約0.1～10mL/FDF、約1～5mL/FDF又は約3mL/FDFの容量又はその間の何れかの容量で提供する。好ましい実施態様において、製剤は、FDF当たり約3mL、FDF当たり約4mL又はFDF当たり約6mLの容量の水溶液として提供する。

【0095】

種々の実施態様において、製剤調製直後に測定した製剤の動粘度は、10mm<sup>2</sup>/s未満、好ましくは8mm<sup>2</sup>/s未満、より好ましくは6mm<sup>2</sup>/s未満、更により好ましくは

10

20

30

40

50

5 mm<sup>2</sup> / s 未満である。調製直後とは、調製後 1 日以内を意味する。動粘度の測定は 20 で行った。好ましくは、3 つの試料の動粘度を、S ch o t t - G e r a t e G m b H 社製、H o f h e i m、G e r m a n y による、毛細管粘度計を用いて測定する。絶対粘度を得るには、約 1 g / cm<sup>3</sup> と仮定し得る対応する溶液の質量密度に動粘度を掛けなければならない。（絶対粘度（cP）= 動粘度（cSt）× 密度（kg / m<sup>3</sup>））。

#### 【0096】

種々の実施態様において、本発明の医薬製剤は、S E C - H P L C により直ちに測定されるように、H M W C を 10 % 未満、好ましくは H M W C を 8 % 未満、より好ましくは H M W C を 5 % 未満、又は更により好ましくは H M W C を 3 % を含む。調製後、直ちにとは、調製後 1 日以内を意味する。

10

#### 【0097】

特定の様々な実施態様において、上記のように測定された製剤の動粘度は、10 mm<sup>2</sup> / s 未満、好ましくは 8 mm<sup>2</sup> / s 未満、より好ましくは 6 mm<sup>2</sup> / s 未満、更により好ましくは 5 mm<sup>2</sup> / s 未満であり、その製剤は H M W C を 10 % 未満、好ましくは 8 % 未満、より好ましくは 5 % 未満、最も好ましくは 3 % 未満含む。

#### 【0098】

いくつかの実施態様においては、医薬製剤を提供し、前記製剤は、  
(a) 凍結乾燥粉末と適切な液体とで再構成することにより得ることが出来か、又は  
(b) 液状製剤として提供する。

#### 【0099】

換言すれば、様々な実施態様において、医薬製剤の成分は、手間を更にかけることなく注射に適した溶液中に存在し、即ち、製剤を安定な液状製剤として提供する。又は、その成分は、安定な凍結乾燥粉末として提供され、適切な液体それぞれの容量中で凍結乾燥粉末を再構成した時に指示された濃度に達する。再構成に適した液体は、注射用水（W F I）を含む。再構成に適した液体は、好ましくは、W F I である。

20

#### 【0100】

本明細書で使用する用語「安定製剤」、「安定凍結乾燥粉末」、「安定凍結乾燥製剤」又は「安定液状製剤」は、少なくとも 2 ~ 8 、好ましくは約 25 で一定期間の保存後に C 1 - I N H 活性に顕著な低下が観察されない医薬製剤を意味する。用語「C 1 - I N H 活性の顕著な低下がない」とは、C 1 - I N H 活性が当初有する C 1 - I N H 活性の少なくとも 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % であることを意味する。「C 1 - I N H 活性」という用語は、血漿中の C 1 - I N H 蛋白質の阻害活性を意味し、「I U / mL」で示され、例えば、発色アッセイによって制限なく測定することができる。

30

#### 【0101】

別の実施態様では、本明細書で使用する用語「安定製剤」、「安定凍結乾燥粉末」、「安定凍結乾燥製剤」又は「安定液状製剤」は、少なくとも 2 ~ 8 、好ましくは約 25 で一定期間保存した後、H M W C 形成の顕著な増加がない製剤であることを意味する。「H M W C 形成の顕著な増加がない」という用語は、ある時点、例えば 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 18, 21 又は 24 ヶ月後に、H M W C 中の蛋白質が最大で 20 %、15 %、14 %、13 %、12 %、11 %、9 %、8 %、7 %、6 %、5 % であること、即ち、H M W C のパーセンテージを、この、ある時点の製剤中の全蛋白質の中の H M W C のパーセンテージとして、測定し、この値が最大で 20 %、15 %、14 %、13 %、12 %、11 %、10 %、9 %、8 %、7 %、6 %、5 % であることを意味する。全蛋白質含量の中の H M W C のレベルは、S E C H P L C ( 例えば、実施例 3 参照 ) により、制限なしに測定することができる。

40

#### 【0102】

別の実施態様では、本明細書で使用する用語「安定製剤」、「安定凍結乾燥粉末」、「安定凍結乾燥製剤」又は「安定液状製剤」は、少なくとも 2 ~ 8 、好ましくは約 25 で一定期間保存した後、断片化の顕著な増加がない製剤であることを意味する。「断片化

50

の顕著な増加がない」という用語は、ある時点、例えば 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 18, 21 又は 24 ヶ月後に、断片が最大で 20%、15%、14%、13%、12%、11%、9%、8%、7%、6%、5% であること、即ち、断片のパーセンテージを、この、ある時点の製剤中の全蛋白質の中の断片のパーセンテージとして、測定し、この値が最大で 20%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5% であることを意味する。全蛋白質含量の中の断片のレベルは、S E C H P L C により、制限なしに測定することができる（例えば、実施例 3 参照）。

#### 【0103】

別の実施態様では、本明細書で使用する用語「安定製剤」、「安定凍結乾燥粉末」、「安定凍結乾燥製剤」又は「安定液状製剤」は、D S F により測定した融解温度が約 55 以上、56 以上、又は約 57 以上である製剤を意味する。更なる実施態様において、D S F により測定した安定な製剤の融解温度は、約 55 ~ 60 、約 56 ~ 60 又は約 57 ~ 60 である。一般に、D S F により測定した融解温度は、約 + / - 1 の測定差を有する。

#### 【0104】

一連の実施態様において、凍結乾燥した上で、提供する本発明の製剤は、一定期間、即ち、25 で、少なくとも 1、2、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、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48 ヶ月又はそれより長期間、安定である。より好ましい実施態様においては、凍結乾燥製剤は少なくとも 6 ヶ月間（25）安定である。より好ましい実施態様において、凍結乾燥製剤は少なくとも 12 ヶ月間（25）安定である。別の好ましい実施態様において、凍結乾燥製剤は少なくとも 24 ヶ月間（25）安定である。

#### 【0105】

別の一連の実施態様において、本明細書で提供する液状製剤は、一定期間、即ち 2 ~ 8 で、少なくとも 1、2、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、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48 ヶ月又はそれより長期間安定である。より好ましい実施態様においては、液状製剤は少なくとも 6 ヶ月間（2 ~ 8）安定である。より好ましい実施態様において、液状製剤は少なくとも 12 ヶ月間（2 ~ 8）安定である。別の好ましい実施態様において、液状製剤は少なくとも 24 ヶ月間（2 ~ 8）安定である。

#### 【0106】

他の一連の実施態様において、本明細書で提供する液状製剤は、一定期間、即ち 25 で、少なくとも 1、2、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、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48 ヶ月、又はそれより長期間安定である。好ましい実施態様においては、液状製剤は少なくとも 6 ヶ月間（25）安定である。より好ましい実施態様において、液状製剤は少なくとも 12 ヶ月間（25）安定である。

#### 【0107】

ある一定の実施態様では、提供する液状製剤は、2 ~ 8 で 1 ヶ月間貯蔵した後に、C 1 - I N H 活性を少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少なくとも 90%、及び最も好ましくは少なくとも 95% 保持する。

#### 【0108】

ある一定の実施態様では、提供する液状製剤は、2 ~ 8 で 6 ヶ月間貯蔵した後に、C 1 - I N H 活性を少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少な

10

20

30

40

50

くとも 90%、及び最も好ましくは少なくとも 95% 保持する。

【0109】

ある一定の実施態様では、提供する液状製剤は、2~8 で 12 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少なくとも 90%、及び最も好ましくは少なくとも 95% 保持する。

【0110】

ある一定の実施態様では、提供する液状製剤は、25 で 1 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少なくとも 90%、及び最も好ましくは少なくとも 95% 保持する。

【0111】

ある一定の実施態様では、提供する液状製剤は、25 で 6 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少なくとも 90%、及び最も好ましくは少なくとも 95% 保持する。

【0112】

ある一定の実施態様では、提供する液状製剤は、25 で 12 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少なくとも 90%、及び最も好ましくは少なくとも 95% 保持する。

【0113】

ある一定の実施態様では、提供する液状製剤は、35 で 1 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 30%、好ましくは少なくとも 40%、より好ましくは少なくとも 50%、及び最も好ましくは少なくとも 60% 保持する。

【0114】

ある一定の実施態様では、提供する液状製剤は、35 で 6 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 30%、好ましくは少なくとも 40%、より好ましくは少なくとも 50%、及び最も好ましくは少なくとも 60% 保持する。

【0115】

ある一定の実施態様では、提供する液状製剤は、35 で 12 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 30%、好ましくは少なくとも 40%、より好ましくは少なくとも 50%、及び最も好ましくは少なくとも 60% 保持する。

【0116】

ある一定の実施態様では、提供する凍結乾燥製剤は、25 で 6 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少なくとも 90%、及び最も好ましくは少なくとも 95% 保持する。

【0117】

ある一定の実施態様では、提供する凍結乾燥製剤は、25 で 12 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少なくとも 90%、及び最も好ましくは少なくとも 95% 保持する。

【0118】

ある一定の実施態様では、提供する凍結乾燥製剤は、25 で 24 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少なくとも 90%、及び最も好ましくは少なくとも 95% 保持する。

【0119】

ある一定の実施態様では、提供する凍結乾燥製剤は、25 で 48 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少なくとも 90%、及び最も好ましくは少なくとも 95% 保持する。

【0120】

ある一定の実施態様では、提供する凍結乾燥製剤は、35 で 6 ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH 活性を少なくとも 30%、好ましくは少なくとも 40%、より好ましくは少なくとも 50%、及び最も好ましくは少なくとも 60% 保持する。

【0121】

10

20

30

40

50

ある一定の実施態様では、提供する凍結乾燥製剤は、35で12ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH活性を少なくとも30%、好ましくは少なくとも40%、より好ましくは少なくとも50%、及び最も好ましくは少なくとも60%保持する。

#### 【0122】

ある一定の実施態様では、提供する凍結乾燥製剤は、35で24ヶ月間貯蔵した後に、C1-INH活性を少なくとも30%、好ましくは少なくとも40%、より好ましくは少なくとも50%、及び最も好ましくは少なくとも60%保持する。

#### 【0123】

従って、提供する医薬製剤は、待機薬物として利用することが出来る、即ち、例えば、遺伝性血管浮腫に罹患している患者は、このような製剤を常に（冷却の必要なしに）身近に保持することが可能であり、浮腫発作の発生時に即座に治療を受けることが出来る。更に、提供する医薬製剤は、低濃度の緩衝賦形剤のみを有する濃縮型のC1-INH製剤と比較して、長期安定性を示す。

10

#### 【0124】

提供する医薬製剤は、皮下並びに静脈内投与に適している。一般に、皮下投与は遺伝性血管浮腫を患う患者を予防的に治療するために好ましく、静脈内投与は遺伝性血管浮腫を患う患者を急性治療するために好ましい。提供する医薬製剤は静脈内投与でも皮下投与でも、重篤な薬剤に関連する有害な副作用を引き起こすことはないが、軽度の治療創発的有害作用を引き起こすのみである。従って、提供する製剤は両方の投与に使用することが出来る。更なる実施態様では、本明細書に記載した医薬製剤は、動脈内及び/又は筋肉内投与に適している。

20

#### 【0125】

更に、患者は、提供する医薬製剤を自己投与することができる。

#### 【0126】

患者は、提供する製剤を予防的治療のために使用することが出来、更に、血管浮腫発作が発生した時、同じ製剤を急性治療に使用することが出来る。従って、患者は1種類の製剤を供給されるのみであり、これは高い患者コンプライアンスを明確に示し、かつ必要に応じて使用可能である。これらの理由から、提供する製剤は、高い患者コンプライアンスを達成し得る。

#### 【0127】

30

更に、提供する製剤は、皮下及び静脈内注射に際し、高い局所的寛容を示し、重大な薬物関連有害事象はなく、良好な寛容性を示す。特に、提供する製剤は皮下投与において、軽度から中等度の局所部位の反応を伴うのみで安全で良好な寛容性を示す。同様に、動脈内注射及び筋肉内注射に際しても、高い局所的寛容が達成される。

#### 【0128】

更に、記載した製剤を記載したいかなる用量で患者に投与しても、その後、血栓症、血餅形成、血栓塞栓合併症が起こることはない。更に、記載した製剤の投与が、患者への血栓形成リスクを増すことはない。

#### 【0129】

本発明の医薬製剤は、静脈内投与時と同様に皮下投与時のC1-INHの良好な生体利用能を確実にする。皮下投与の場合、ヒト患者におけるC1-INH生体利用能は、（静脈内投与と比較して）約40~50%が達成され得る。この皮下の生体利用能の理由は、部分的には、注射部位での、又はリンパ管及び血管輸送中の、分解又は消費に起因する可能性がある。C1-INH欠乏症患者ではC1-INHが迅速に代謝されることが知られている。これは、ヘテロ接合性運搬体が正常な蛋白質レベルの50%を有する他のほとんどの遺伝性の血漿蛋白質欠損とは対照的である。

40

#### 【0130】

更に、提供する製剤を周期的に皮下投与すると、機能的C1-INH活性に、用量依存的な増加をもたらし、1週間に2回、3000IU及び6000IUの用量で、健康な人における血漿レベルの40%を超える一定のC1-INH活性レベルを達成し、これはH

50

A E 発作を予防する上で臨床的に意義ある効果を有すると言えよう。提供する製剤を皮下投与すると、C 1 - I N H 機能活性時間特性は、皮下投与後のピークとトラフとの比が相当低く、かつより調和した曝露を有していることが達成される。皮下投与した際、ピークとトラフとの変動がより低いことは、予防的治療に際して特に望ましい、というのは、このような血漿レベルが、遺伝性血管浮腫に罹患した患者における血管浮腫発作の持続的な防御を確実にするからである。

#### 【 0 1 3 1 】

別の態様では、本明細書に記載した凍結乾燥製剤及び再構成に適した液体のそれぞれの量を含むキットを提供する。特定の実施態様では、好ましい液体は注射用水、好ましくは注射用の脱イオン滅菌水である。

10

#### 【 0 1 3 2 】

いくつかの実施態様において、キットは、本明細書に記載の医薬製剤及び注射器を含んで良い。特定の実施態様において、注射器は皮下注射に適している。他の実施態様では、注射器は静脈内注射に適している。また、これに替わる実施態様では、注射器は、皮下注射及び静脈内注射に適している。更なる実施態様では、注射器は、動脈内注射及び／又は筋肉内注射に適している。

#### 【 0 1 3 3 】

いくつかの実施態様では、キットは、更に、静脈内注射に適した針及び／又は皮下注射に適した針を更に含んでも良い。更なる実施態様では、キットは、動脈内注射に適した針及び／又は筋肉内注射に適した針を含んでも良い。

20

#### 【 0 1 3 4 】

別の観点では、本明細書に記載の液状製剤を予め充填したシリンジを提供する。特定の実施態様では、注射器は皮下注射に適したものである。他の実施態様では、シリンジは静脈内注射に適したものである。また、これに替わる実施態様では、注射器は、皮下注射及び静脈内注射に適したものである。更なる実施態様では、注射器は、動脈内注射及び／又は筋肉内注射に適したものである。

#### 【 0 1 3 5 】

##### 方法と使用

提供する製剤は、様々な疾患及び症状の治療に使用することができる。

#### 【 0 1 3 6 】

30

いくつかの実施態様において、提供する製剤は、キニン形成に関連する障害、特に遺伝性血管浮腫（H A E）、二次脳浮腫、中枢神経系の浮腫、低血圧ショック、又は人工物の表面に血液を接触させている時、又は後で起こる、浮腫の治療及び／又は予防に、使用し得る。

#### 【 0 1 3 7 】

更に、キニン形成に関連する障害、特に遺伝性血管浮腫（H A E）、二次的な脳浮腫、中枢神経系の浮腫、低血圧ショック、又は患者の内部にある人工物表面との血液の接触中に又はその後の浮腫、を治療又は予防する方法であり、本明細書に記載した製剤の何れかを医薬的有効量で投与することを含む方法を提供する。

#### 【 0 1 3 8 】

40

特定の実施態様において、提供する製剤は、遺伝性血管浮腫、特にH A E I型、H A E I I型及び／又はH A E I I I型の治療及び／又は予防に使用する。

#### 【 0 1 3 9 】

ある実施態様において、遺伝性血管浮腫、特にH A E I型、H A E I I型及び／又はH A E I I I型の患者に、本明細書に記載の製剤のいずれかの薬学的有効量を投与することを含む、治療又は予防する方法を提供する。

#### 【 0 1 4 0 】

更なる実施態様では、提供する製剤は、虚血 - 再灌流傷害（I R I）の治療及び／又は予防に使用することが出来、ここで、特に、I R Iとは外科的な介在、特に血管手術、心臓手術、神経外科手術、外傷手術、癌手術、整形外科手術、移植、最小限の侵襲手術、即

50

ち、薬理学的に活性な物質を送達するため、又は全体又は部分的な障害物の機械的除去のための器具の挿入、に起因するものである。

【0141】

更に、虚血・再灌流傷害（IRI）、ここで、特にIRIとは、特に血管手術、心臓手術、神経外科手術、外傷手術、癌手術、整形外科手術、移植、最小限の侵襲手術、即ち、薬理学的に活性な物質を送達するための、又は全体又は部分的な障害物を機械的に除去するための、器具の挿入、などの外科的な介在に起因する障害である、の治療又は予防のための、本明細書に記載の製剤の何れかの医薬的有効用量を投与することを含む方法を提供する。

【0142】

いくつかの実施態様では、提供する製剤を使用して、患者内の移植組織の拒絶反応を防止することが出来る。移植は、同種移植又は異種移植でも良い。

【0143】

更に、本明細書に記載の製剤の何れかの医薬的有効用量を投与することを含む、患者内の移植組織の拒絶反応を防止する方法を提供する。移植は、同種移植又は異種移植でも良い。

【0144】

更なる実施態様において、提供する製剤は、網膜症の治療及び／又は予防に使用することが出来る。

【0145】

更に、本明細書に記載した製剤の何れかの医薬的有効用量を投与することを含む、患者の網膜症を治療又は予防する方法を提供する。

【0146】

治療と投与

様々な実施態様において、急性治療は、遺伝性血管浮腫を有し、急性血管浮腫を発症した患者の治療時に生じる。

【0147】

更なる実施態様において、遺伝性血管浮腫に罹患した患者の予防的治療は、浮腫の発生を予防するために生じる。遺伝性血管浮腫に罹患した患者の予防的治療は、規則的に行うことが出来、及び、場合により、例えば、外科的介在、歯科治療、及び患者により浮腫の発作を認識されるような他の徵候をトリガーする状況の前に、行っても良い。

【0148】

様々な実施態様において、提供する製剤は、皮下注射によって投与しても良い。別の実施態様において、提供する製剤は、静脈内注射によって投与しても良い。製剤は、点滴又は大量注射によって連続的に投与しても良い。特定の実施態様では、提供する製剤は、皮下注射及び静脈内注射によって投与しても良い。更なる実施態様では、提供する製剤を患者は、自己投与しても良い。

【0149】

いくつかの実施態様では、提供する製剤は、患者の急性治療中に静脈内注射によって投与される。他の実施態様において、提供する製剤は、患者の予防的治療の間は皮下注射によって投与される。

【0150】

更なる実施態様において、提供する製剤は、動脈内注射により投与しても良い。更なる実施態様において、提供する製剤は、筋肉内注射により投与しても良い。

【0151】

更なる実施態様において、本明細書に記載の製剤は、医薬的に適切な任意の投与手段により患者に投与しても良い。様々な送達系が知られ、それを使用して、都合のよい任意の経路で、組成物を投与しても良い。好ましくは、本発明の製剤は全身に投与される。全身的な使用のために、本発明の治療用蛋白質は、従来方法に倣い、非経口（例えば、静脈内、皮下、筋肉内、腹腔内、脳内、肺内、鼻腔内又は経皮）又は経腸（例えば、経口、膣又

10

20

30

40

50

は直腸)用として製剤される。製剤によっては徐放系を包含するものもある。

【0152】

いくつかの実施態様において、提供する医薬製剤は、調製直後の製剤の動粘度が、純水(約 $1\text{ mm}^2/\text{s}$ )の値を上回るが、 $10\text{ mm}^2/\text{s}$ 未満、好ましくは $8\text{ mm}^2/\text{s}$ 未満、より好ましくは $6\text{ mm}^2/\text{s}$ 未満、更に好ましくは $5\text{ mm}^2/\text{s}$ 未満を有する。動粘度の測定は20で行う。特定の実施態様において、前記動粘度は、約400~625IU/mLのC1-INH、好ましくは約400~600IU/mL、より好ましくは約450~550IU/mLを含む溶液に適用される。粘度が低いほど、特定の時間内に特定容量の薬剤を送達するのに必要な力が低くなり、薬物を静脈内及び皮下両方に適用するには利点となる。これは、患者がC1-INH製剤を自己投与する場合に特に利点となる。

10

【0153】

投薬体系

特定の実施態様では、C1-INHを約1,200IU、約1,500IU、約1,600IU、約1,700IU、約1,800IU、約1,900IU、約2,000IU、約2,100IU、約2,200IU、約2,300IU約2,400IU、約2,500IU、約2,600IU、約2,700IU、約2,800IU、約2,900IU、約3,000IU、約3,500IU、約4,000IU、約4,500IU、約5,000IU、約5,500IU、又は約6,000IU用量で、又はその間の任意の量で患者に投与する。好ましい実施態様では、約1,500IU、約2,000IU、約3,000IU、約4,000IU、約5,000IU、又は約6,000IUの用量を患者に投与する。

20

【0154】

更なる実施態様では、C1-INHを、約10~100IU/kg体重、約20~90IU/kg体重、約20~80IU/kg体重、約30~70IU/kg体重、約40~60IU/kg体重又はその間の任意の範囲の用量で患者に投与する。

【0155】

ある実施態様では、皮下投与に際して、C1-INHを、約20~80IU/kg体重、約30~80IU/kg体重、約40~80IU/kg体重、約40~60IU/kg体重、約50~60IU/kg体重又はその間の任意の範囲の用量で患者に投与する。

【0156】

30

特定の実施態様では、静脈内投与に際して、好ましくは急性治療において、C1-INHを、約10~60IU/kg体重、約20~40IU/kg体重、約20IU/kg体重、又はその間の任意の範囲の用量で患者に投与する。

【0157】

特定の実施態様では、予防的治療において目標は、C1-INH活性レベルの平均に到達することである。

【0158】

種々の実施態様において、C1-INHの用量を、好ましくは予防的治療において、1,2,3,4,5,6又は7日の間隔で投与する。更なる実施態様において、C1-INHの用量を、好ましくは予防的治療において、1~2日毎の間隔で、2~3日毎の間隔で、3~4日毎の間隔で、4~5日毎の間隔で、5~6日毎の間隔で、又は6~7日毎の間隔で投与する。

40

【0159】

いくつかの実施態様では、C1-INH製剤約1,500IUのFDFを1種、2種又はそれ以上含む用量を、好ましくは皮下的に2~3日毎の間隔で投与する。

【0160】

更なる実施態様では、C1-INH製剤約3,000IUのFDFを1種、2種又はそれ以上含む用量を、好ましくは皮下的に3~4日毎の間隔で投与する。

【0161】

更なる実施態様では、C1-INH製剤の、約1,500IU、約3,000IU、約

50

4,000IU、約5,000IU又は約6,000IUを含む用量を、好ましくは皮下的に毎週投与する。

【0162】

更なる実施態様では、C1-INH製剤の、約1,500IU、約3,000IU、約4,000IU、約5,000IU又は約6,000IUを含む用量を、好ましくは皮下的に、週に2回投与する。

【0163】

他の実施態様では、体重1kgあたりC1-INH約20～40IUの用量を含む用量を、好ましくは皮下的に2～3日毎の間隔で投与する。

【0164】

更なる実施態様では、体重1kg当たりC1-INH約40～60IUの用量を含む用量を、好ましくは皮下に、3～4日毎の間隔で投与する。

10

【0165】

更なる実施態様では、体重1kgあたりC1-INH約40～80IU、又は体重1kgあたりC1-INH約40～60IUの用量を含む用量を、好ましくは毎週皮下投与する。

【0166】

更なる実施態様では、体重1kgあたりC1-INH約40～80IU、又は体重1kgあたりC1-INH約40～60IUの用量を含む用量を、好ましくは皮下的に週2回投与する。

20

【0167】

他の実施態様では、C1-INH約1,500IUのFDFを1種、2種又はそれ以上を、急性治療中の患者に、好ましくは静脈内投与により投与する。更なる実施態様では、C1-INH製剤約3,000IUのFDFを1種、又はそれ以上を、急性治療中の患者に、好ましくは静脈内投与により投与する。

【0168】

更なる実施態様では、急性治療中の患者に、好ましくは静脈内投与により、体重1kgあたりC1-INH約20IUを1回、2回又はそれ以上の用量を投与する。更なる実施態様では、急性治療中の患者に、体重1kgあたりC1-INH約40IUの用量の1回又はそれ以上の用量を好ましくは静脈内投与により、投与する。

30

【0169】

図は次のとおりである。

【図面の簡単な説明】

【0170】

【図1-1】図1 種々のC1-INH製剤を5でインキュベートした後の、C1-INH活性(1a)、相対的C1-INH活性(1b)、SEC-HPLCによるHMW Cレベル(1c)及びSEC-HPLCによる断片レベル(1d)。

【図1-2】図1-1の続き。

【図2-1】図2 種々のC1-INH製剤を25でインキュベートした後の、C1-INH活性(2a)、相対的C1-INH活性(2b)、SEC-HPLCによるHMW Cレベル(2c)及びSEC-HPLCによる断片レベル(2d)。

40

【図2-2】図2-1の続き。

【図3-1】図3 種々のC1-INH製剤を35でインキュベートした後の、C1-INH活性(3a)、相対的C1-INH活性(3b)、SEC-HPLCによるHMW Cレベル(3c)及びSEC-HPLCによる断片レベル(3d)。

【図3-2】図3-1の続き。

【図4】図4 C1-INHの平均値、Berinert(登録商標)とCSL06との生物学的同等性を示すAg血漿レベル(等分目盛)。試料数量は、各時点及び群についてN=10であり、CSL06群(n=2)の96時間値を保存した。

【図5-1】図5 試験計画(a)試験中の投薬計画及び試料採取、(b)

50

【化1】



= IVC1 - INHの単回投与、

【化2】



= SCCSL06の単回投与、

【化3】

10



= C1 - INH機能活性及び血漿C1 - INH及びC4抗原濃度の評価、

【化4】



= 血漿C1 - INH機能的活性の追加評価。

【図5-2】図5-1の続き。

【図6】図6 CSL06のPK結果。モデル化した定常状態のトラフのC1 - INH機能活性（主要評価項目；赤色四角形）及び観察したC1 - INH機能活性（黒三角）。データポイントは、平均及び信頼区間95%を示す。

20

【図7】図7 観察したC1 - INH機能活性の最終集団PKモデル対個々のC1 - INH機能活性の予測。識別線（line of identity、実線）を参照として含む。

【図8-1】図8 (a) C1 - INH濃縮物1000IUpdの治療用量をIV投与、又はCSL06の(b)1500IU、(c)3000IU、若しくは(d)6000IUをSC投与した後のモデル化した週2回毎のC1 - INH機能活性。機能活性の中央値（実線）、5及び95パーセンタイル（陰影領域）及び40%のC1 - INH機能活性（破線）を示した。

30

【図8-2】図8-1の続き。

【0171】

実施例

これらの実施例は、本発明を説明するものであり、決して本発明を限定するものではない。

【0172】

実施例1 C1 - INH製剤の生成

Berinert（登録商標）の製造工程（A. Feussnerら、Transfusion 2014, 54: 2566 - 73による）に基づいて製造されるが、（再構成後に）C1 - INH濃度が増加して濃縮される、C1 - INH濃縮物を使用して、数種のC1 - INH製剤を調製する。種々のC1 - INH製剤は、凍結乾燥したC1 - INH濃縮物をWFI中に約1500IU/mLの濃度で溶解することにより調製する。PD10脱塩カラム（GE Health care社製）を、既述の濃度（表1）で各々の賦形剤を含有する標的とする製剤緩衝液で平衡化する。次に、少量のC1 - INH溶液をPD10カラムごとに適用する。C1 - INHを対応する製剤緩衝液を用い、カラム排除容量以内で溶離する。C1 - INH濃度は発色アッセイ法（Berichrom C1 - Inhibitor、Siemens社製）によって測定し、対応する製剤緩衝液を用いて各々の濃度に調整する。

40

【0173】

【表1】

表1 賦形剤及び種々のC1—I NH製剤濃度及び計算上のモル浸透圧濃度

	C1-I NH [IU/mL]	クエン酸三 ナトリウム [mM]	リン酸水素二 ナトリウム/リン酸 二水素ナトリウム [mM]	クリシン [mM]	アルギニン 塩酸* [mM]	塩化 ナトリウム [mM]	硫酸 ナトリウム [mM]	コハク酸二 ナトリウム [mM]	酢酸 ナトリウム [mM]	PS80 [mg/mL]	計算上のモル 浸透圧濃度 [mOsm/L]
Berinert®	50	13		133		154					493
CSL01	500	10		133		145					463
CSL02	500	10		133		145				1	463
CSL03	450	13		133		154					493
CSL04	450	10		133		154					481
CSL05	500	7		133		154					469
CSL06	500	13		133		154					493
CSL07	500	13		133		154				1	493
CSL08	500	20		133		154					521
CSL09	500	25		133		154					541
CSL10	500	30		133		154					561
CSL11	550	10		133		154					481
CSL12	550	25		133		154					541
CSL13	600	10		133		154					481
CSL14	600	25		133		154					541
CSL15	750	10		133		154					481
CSL16	750	25		133		154					541

【0174】

【表2】

CSL17	500	17	133	68	337
CSL18	500	17	133	68	1
CSL19	500	10			337
CSL20	500	10			490
CSL21	500	10			225
CSL22	500	10			150
CSL23	500	10	225		150
CSL24	500	10	225		150
CSL25	500	10	225		150
CSL26	500	10	225		150
CSL27	500	10	225		150
CSL28	500	10	225		150
CSL29	500	10	225		150
CSL30	500	10	225		150
CSL31	500	10	225		150
CSL32	500	25	225		150
CSL33	550	10	225		150
CSL34	600	10	225		150
CSL35	750	10	225		150
CSL36	500	10	225		150
CSL37	500	10	225		150

表1 続き

【0175】

10

20

30

40

【表3】

CSL38	500	10	24	50	24	1	310
CSL39	500	10	40	83	40		489
CSL40	500	10	40	83	40	1	489
CSL41	500	10		90			310
CSL42	500	10		90		1	310
CSL43	500	10		150			490
CSL44	500	10		150		1	490
CSL45	500	10	34	34	34		312
CSL46	500	25	34	34	34		372
CSL47	550	10	34	34	34		312
CSL48	600	25	34	34	34		372
CSL49	750	10	34	34	34		312
CSL50	500	10	34	34	34	1	312
CSL51	500	10	57	57	57		496
CSL52	500	25	57	57	57		556
CSL53	550	10	57	57	57		496
CSL54	600	10	57	57	57		496
CSL55	600	25	57	57	57		556
CSL56	500	10	57	57	57	1	496
CSL57	500	10	60	50		310	
CSL58	500	10	60	50		1	310

表1 続き

【0176】

10

20

30

40

【表4】

CSL59	500	24	225	510
CSL60	500	36	225	540
CSL61	450	24	225	510
CSL62	550	24	225	510
CSL63	600	24	225	510
CSL64	600	36	225	540
CSL65	750	24	225	510
CSL66	500	24	135	330
CSL67	550	24	135	330
CSL68	500	36	135	360
CSL69	500	24	150	510
CSL70	500	36	150	540
CSL71	450	24	150	510
CSL72	550	24	150	510
CSL73	600	24	150	510
CSL74	600	36	150	540
CSL75	750	24	150	510
CSL76	500	24	90	330
CSL77	550	24	90	330
CSL78	500	36	90	360

表1 続き

【0177】

## 実施例2 D S FによるC 1 - I N Hの融解温度測定

D S FによるC 1 - I N Hの融解温度の決定のために、種々の緩衝液中で緩衝されたC 1 - I N H濃縮物 (A. Feussnerら、Transfusion 2014, 54: 2566 - 73によるBerlert (登録商標)の製造工程に基づいて製造した)を

10

20

30

40

50

、塩及び／又は他の賦形剤、水及びS y p r o O r a n g e ( L i f e T e c h n o l o g i e s 社製)の保存溶液と混合し、C 1 - I N H の濃度が3 6 I U / m L の、表2及び表3に記載したような、緩衝液、塩及び／又は他の賦形剤の最終的濃度、及び当初のS y p r o O r a n g e 保存溶液の1 : 1 0 0 0 の希釀液を得た。アッセイ定量反応当たりの全容量は5 0  $\mu$  l であった。D S F アッセイ法は、主に、(その蛋白質の濃度ではなく)蛋白質製剤の賦形剤の型と濃度を最適化するために使用するので、使用されるC 1 - I N H 濃度は、このアッセイ法の効率化のために最適化される。

#### 【 0 1 7 8 】

示差走査蛍光測定法 (D S F ) は、R e a l T i m e C y c l e r ( A p p l i e d B i o s y s t e m s 社製7 5 0 0 ) で9 6 穴マルチプレートで実施した。温度は1 10 /分の傾きで2 5 から9 5 に上昇させた。蛍光を、6 1 0 nm の放射波長で連続的に記録した。データは、P r o t e i n T h e r m a l S h i f t S o f t w a r e ( L i f e T e c h n o l o g i e s 社製)を用いて分析した。C 1 - I N H の融解温度は、温度に対してプロットした蛍光の一次導関数の最大値として決定した。D S F で測定した融解温度の結果を表2 および表3 に示す。

#### 【 0 1 7 9 】

##### 結果

このD S F によるデータより、緩衝液中に賦形剤としてのリン酸塩又はクエン酸塩のみを低濃度で有する製剤の融解温度がはるかに低いことを示した。同様のことは、プロリン及びサッカロースなどの追加的な非荷電賦形剤が存在する製剤にも当てはまるが、このような製剤は、全体としての計算上のモル浸透圧濃度約3 0 0 m O s m / L を有した。対照的に、低濃度のクエン酸塩又はリン酸塩を有し、N a C l 、硫酸ナトリウム及び／又はコハク酸ナトリウムなどの生理学的に許容される塩(又は塩類)の追加的な量を有し、かつ全体としての計算モル浸透圧濃度約3 0 0 ~ 5 0 0 m O s m 1 / L を有する製剤は、D S F により測定した融解温度が5 5 又はそれ以上であり、これらのデータ(及び長期安定性データ、実施例3 参照)に基づくと安定していると思われる。

#### 【 0 1 8 0 】

【表5】

表2 D SFによる融解温度 (m t) 測定を使用するC 1-I NH製剤 (PH = 7. 2) のモル浸透圧濃度及び安定性の測定

クエン酸 三ナトリ ウム [mM]	リン酸水素二 ナトリウム/ リン酸二水素 ナトリウム [mM]	塩化ナト リウム [mM]	グリシン [mM]	硫酸ナト リウム [mM]	コハク酸二 ナトリウム [mM]	酢酸ナト リウム [mM]	L-プロリン [mM]	サッカ ロース [mM]	アルギニン 塩酸塩 * [mM]	グルタミン酸 ナトリウム [mM]	D SF mt [°C]	計算上のモル 浸透圧濃度 [mOsm/L]
8											42.5	20
17											47.0	42.5
17						250					47.5	293
17							250				49.5	293
24											50.0	60
34											51.0	85
24						250					50.0	310
24							250				51.5	310
24	135										55.5	330
24	225										56.5	510
24				90							57.0	330
24				150							58.0	510
10											48.0	40
20											52.0	80
40											53.0	160
13		154	133								55.0	493
10										130	55.2	300

【0181】

【表6】

表2 続き

10	135						55.5	310	
10					225		56.2	490	
10						230	56.2	500	
10	50	24				24	56.3	310	
10							56.6	490	
10	225		225				56.6	490	
10							56.6	490	
10		34	34			34	56.7	312	
10							57.0	310	
10		90					57.4	489	
10	100	83					57.7	496	
10			57	57		57	57.9	489	
10						40		58.0	490
10					150				
10					150				
							58.0	490	

【0182】

10

20

30

40

【表7】

表3 DSFによる融解温度(amt)測定を使用するC1-INH製剤のモル浸透圧濃度及び安定性の測定

	クエン酸三ナトリウム[mM]	塩化ナトリウム[mM]	グリシン[mM]	硫酸ナトリウム[mM]	コハク酸二ナトリウム[mM]	PS80[g/L]	DSF mt[°C]	モル浸透圧濃度計算値[mOsm/L]	pH
CSL06	13	154	133				55.3	493	7.0
CSL17	17	68	133				55.5	337	7.3
CSL43	10			150			58.2	490	7.2
CSL44	10			150		1	59.6	490	7.2
CSL41	10			90			56.9	310	7.2
CSL42	10			90		1	57.9	310	7.2
CSL31	10			83	67	1	60.0	490	7.2

## 【0183】

## 実施例3 液状保存時のC1-INHの長期安定性

凍結乾燥したC1-INH濃縮物((A. Feussnerら、Transfusion 2014, 54: 2566-73)によるBerlert(登録商標)の製造工程基づいて製造した)をWFIに溶解し、濃度約1500IU/mLとした。PD10脱塩カラム(GE Healthcare社製)を目的の製剤緩衝液で平衡化した。次に、C1-INH1500IU/mLを2.5mL、PD10カラム毎に適用した。カラム排除容量内で対応する製剤緩衝液(表3参照)3.5mLを用いC1-INHを溶離した。C1-INH濃度は発色アッセイ法(Bericrom C1-Inhibitor、Siemens社製)により測定し、対応する製剤緩衝液を用いて500IU/mLに調整し

10

20

30

40

50

た。調製したC1-INHを0.2μmを通じてろ過し、次いで0.3mLのガラス製バイアルにアリコート0.25mLで分注し、次いでシリコン栓で無菌条件下で栓をした。これを表3に開示した7種の異なるC1-INH製剤の各々について実施した。ガラス製バイアルを各々、最終的に5、25又は35の調節室に移した。各C1-INH製剤の試料バイアルを種々の時点で採取し、C1-INHの活性については、発色アッセイ法により、及びHMWCの形成と断片化については、溶離緩衝液として、20mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、20mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、100mM NaCl、pH=7.2を用いるTSK-Gel G3000SWXL (Tosoh社製)上でSEC-HPLCにより、試験した。

## 【0184】

10

## 結果

結果を表4～12及び図1～3に示した。これらのデータより、高浸透圧硫酸ナトリウム製剤 (CSL43、CSL44) がC1-INH活性保存性が最良であり、HMWCの形成が最低であることを示した。PS80を添加すると、長期保存におけるHMWCの量に対しては正の効果を有するが、C1-INH活性の保存性には負の効果を示した。高浸透圧塩化ナトリウム/グリシン製剤 (CSL06) のような等モル浸透圧濃度の硫酸ナトリウム製剤 (CSL41、CSL42) は、同様のC1-INH活性の保存性及び同等のHMWC形成を有した。一般に、本発明による製剤は、これらのデータに基づく許容可能な長期安定性を示した。

## 【0185】

20

## 【表8】

表4 t<sub>0</sub> (開始時) 及び5°Cでインキュベーションをt<sub>1</sub> (92日)、  
t<sub>2</sub> (182日)、t<sub>3</sub> (265日) 及びt<sub>4</sub> (365日) の間、行った後の  
種々のC1-INH製剤中のC1-INH活性

	t <sub>0</sub> 時点 [IU/mL]	t <sub>1</sub> 時点 [IU/mL]	t <sub>2</sub> 時点 [IU/mL]	t <sub>3</sub> 時点 [IU/mL]	t <sub>4</sub> 時点 [IU/mL]
CSL06	443	n.d.	455	n.d.	446
CSL17	426	413	448	442	n.d.
CSL43	465	n.d.	462	n.d.	477
CSL44	477	n.d.	450	n.d.	467
CSL41	486	n.d.	500	n.d.	514
CSL42	484	n.d.	516	n.d.	509
CSL31	448	n.d.	458	n.d.	455

n.d. = この時点では測定せず。

## 【0186】

30

## 【表9】

表5  $t_0$  (開始時) 及び5°Cでインキュベーションを  $t_1$  (92日)、  
 $t_2$  (182日)、 $t_3$  (265日) 及び  $t_4$  (365日) の間、行った後の  
種々のC1-I NH製剤中のSEC HPLCによるHMWCレベル  
(全蛋白質に対する%)

	$t_0$ 時点	$t_1$ 時点	$t_2$ 時点	$t_3$ 時点	$t_4$ 時点
CSL06	2.40	n.d.	2.52	n.d.	2,72
CSL17	2.26	2.83	3.23	3.12	n.d.
CSL43	2.33	n.d.	2.46	n.d.	2,41
CSL44	2.34	n.d.	2.40	n.d.	2,45
CSL41	2.41	n.d.	2.58	n.d.	2,67
CSL42	2.43	n.d.	2.71	n.d.	2,69
CSL31	2.34	n.d.	2.56	n.d.	2,44

n.d. = この時点では測定せず。

## 【0187】

## 【表10】

表6  $t_0$  (開始時) 及び5°Cでインキュベーションを  $t_1$  (92日)、  
 $t_2$  (182日)、 $t_3$  (265日) 及び  $t_4$  (365日) の間、行った後の  
種々のC1-I NH製剤中のSEC HPLCによる断片レベル (全蛋白質に  
対する%)

	$t_0$ 時点	$t_1$ 時点	$t_2$ 時点	$t_3$ 時点	$t_4$ 時点
CSL06	3.20	n.d.	2.51	n.d.	3,79
CSL17	3.36	3.07	3.09	2.45	n.d.
CSL43	3.19	n.d.	2.89	n.d.	3,75
CSL44	3.20	n.d.	2.69	n.d.	4,09
CSL41	3.10	n.d.	3.08	n.d.	3,84
CSL42	3.23	n.d.	3.11	n.d.	4,20
CSL31	3.26	n.d.	3.16	n.d.	4,25

n.d. = この時点では測定せず。

## 【0188】

10

20

30

## 【表11】

表7  $t_0$  (開始時) 及び25°Cでインキュベーションを  $t_1$  (60日)、  
 $t_2$  (120日)、 $t_3$  (139日) 及び $t_4$  (182日) の間、行った後の  
種々のC1-INH製剤中のC1-INH活性

	$t_0$ 時点 [IU/mL]	$t_1$ 時点 [IU/mL]	$t_2$ 時点 [IU/mL]	$t_3$ 時点 [IU/mL]	$t_4$ 時点 [IU/mL]
CSL06	443	453	n.d.	412	353
CSL17	426	386	369	n.d.	343
CSL43	465	458	n.d.	412	384
CSL44	477	449	n.d.	365	311
CSL41	486	499	n.d.	429	380
CSL42	484	472	n.d.	378	337
CSL31	448	429	n.d.	368	300

n.d. = この時点では測定せず。

## 【0189】

## 【表12】

表8  $t_0$  (開始時) 及び25°Cでインキュベーションを  $t_1$  (120日)、  
 $t_2$  (139日)、及び $t_3$  (182日) の間、行った後の種々のC1-INH  
製剤中のSEC HPLCによるHMWCレベル (全蛋白質に対する%)

	$t_0$ 時点	$t_1$ 時点	$t_2$ 時点	$t_3$ 時点
CSL06	2.40	n.d.	10.61	12.50
CSL17	2.26	11.83	n.d.	15.60
CSL43	2.33	n.d.	7.01	8.26
CSL44	2.34	n.d.	6.77	7.73
CSL41	2.41	n.d.	9.30	10.77
CSL42	2.43	n.d.	8.84	10.26
CSL31	2.34	n.d.	7.13	7.99

n.d. = この時点では測定せず。

## 【0190】

10

20

30

## 【表13】

表9  $t_0$  (開始時) 及び25°Cでインキュベーションを  $t_1$  (120日)、  
 $t_2$  (139日)、及び  $t_3$  (182日) の間、行った後の種々のC1-I NH  
製剤中のSEC HPLCによる断片レベル (全蛋白質に対する%)

	$t_0$ 時点	$t_1$ 時点	$t_2$ 時点	$t_3$ 時点
CSL06	3.20	n.d.	3.73	3.79
CSL17	3.36	3.14	n.d.	3.31
CSL43	3.19	n.d.	3.61	3.75
CSL44	3.20	n.d.	4.15	4.20
CSL41	3.10	n.d.	3.75	3.16
CSL42	3.23	n.d.	4.26	3.96
CSL31	3.26	n.d.	4.01	4.07

n.d. = この時点では測定せず。

## 【0191】

## 【表14】

表10  $t_0$  (開始時) 及び35°Cでインキュベーションを  $t_1$  (10日)、 $t_2$  (15日)、  
 $t_3$  (21日)、 $t_4$  (31日)、 $t_5$  (32日)、 $t_6$  (60日)、 $t_7$  (90日)、  
 $t_8$  (118日)、 $t_9$  (139日)、 $t_{10}$  (153日) 及び  $t_{11}$  (187日) の間、  
行った後の種々のC1-I NH 製剤中のC1-I NH 活性 [IU/mL]

	$t_0$ 時点	$t_1$ 時点	$t_2$ 時点	$t_3$ 時点	$t_4$ 時点	$t_5$ 時点	$t_6$ 時点	$t_7$ 時点	$t_8$ 時点	$t_9$ 時点	$t_{10}$ 時点	$t_{11}$ 時点
CSL06	443	n.d.	405	n.d.	n.d.	362	349	n.d.	n.d.	197	n.d.	n.d.
CSL17	426	418	n.d.	351	376	n.d.	270	205	173	n.d.	120	115
CSL43	465	n.d.	447	n.d.	n.d.	411	378	n.d.	n.d.	231	n.d.	n.d.
CSL44	477	n.d.	384	n.d.	n.d.	331	270	n.d.	n.d.	140	n.d.	n.d.
CSL41	486	n.d.	472	n.d.	n.d.	428	387	n.d.	n.d.	212	n.d.	n.d.
CSL42	484	n.d.	432	n.d.	n.d.	359	281	n.d.	n.d.	135	n.d.	n.d.
CSL31	448	n.d.	396	n.d.	n.d.	328	265	n.d.	n.d.	132	n.d.	n.d.

n.d. = この時点では測定せず。

## 【0192】

10

20

30

## 【表15】

表11  $t_0$  (開始時) 及び35°Cでインキュベーションを  $t_1$  (15日)、 $t_2$  (32日)、 $t_3$  (90日)、 $t_4$  (118日)、 $t_5$  (139日)、 $t_6$  (153日) 及び $t_7$  (188日) の間、行った後のSEC HPLCによる種々のC1-INH製剤のHMWCレベル (全蛋白質に対する%)

	$t_0$ 時点	$t_1$ 時点	$t_2$ 時点	$t_3$ 時点	$t_4$ 時点	$t_5$ 時点	$t_6$ 時点	$t_7$ 時点
CSL06	2.40	6.69	10.27	n.d.	n.d.	22.55	n.d.	n.d.
CSL17	2.26	n.d.	n.d.	25.02	28.3	n.d.	31.3	32.9
CSL43	2.33	4.84	7.04	n.d.	n.d.	15.34	n.d.	n.d.
CSL44	2.34	4.87	6.77	n.d.	n.d.	11.63	n.d.	n.d.
CSL41	2.41	5.95	9.19	n.d.	n.d.	19.93	n.d.	n.d.
CSL42	2.43	6.18	9.04	n.d.	n.d.	15.83	n.d.	n.d.
CSL31	2.34	5.08	7.03	n.d.	n.d.	12.20	n.d.	n.d.

n.d. = この時点では測定せず。

## 【0193】

## 【表16】

表12  $t_0$  (開始時) 及び35°Cでインキュベーションを  $t_1$  (15日)、 $t_2$  (32日)、 $t_3$  (90日)、 $t_4$  (118日)、 $t_5$  (139日)、 $t_6$  (153日) 及び $t_7$  (188日) の間、行った後の種々のC1-INH製剤中のSEC HPLCによる断片レベル (全蛋白質にたいする%)

	$t_0$ 時点	$t_1$ 時点	$t_2$ 時点	$t_3$ 時点	$t_4$ 時点	$t_5$ 時点	$t_6$ 時点	$t_7$ 時点
CSL06	3.19	3.91	4.43	n.d.	n.d.	5.65	n.d.	n.d.
CSL17	3.36	n.d.	n.d.	3.23	3.17	n.d.	3.31	3.50
CSL43	3.19	4.19	4.11	n.d.	n.d.	4.96	n.d.	n.d.
CSL44	3.20	5.13	4.13	n.d.	n.d.	5.71	n.d.	n.d.
CSL41	3.12	4.28	4.09	n.d.	n.d.	4.76	n.d.	n.d.
CSL42	3.23	4.72	4.68	n.d.	n.d.	5.41	n.d.	n.d.
CSL31	3.26	3.88	3.93	n.d.	n.d.	5.71	n.d.	n.d.

n.d. = この時点では測定せず。

## 【0194】

## 実施例4 C1-INH製剤の粘度測定

A. Feussnerら(Transfusion 2014, 54: 2566-73)に従って製造した市販のC1-INH製品(Berinert(登録商標)、再構成後で50IU/mL)と、Berinert(登録商標)の製造工程に基づいて製造されるが、C1-INH濃度を増加し(再構成後に500IU/mL)濃縮したC1-INH濃縮物とを使用して、種々のC1-INH濃度及び種々の賦形剤濃度の溶液を調製した(表13)。試料1及び2は、C1-INH及び賦形剤を含みその濃度を表13に示した。試料3は、透析法による緩衝液交換を用いて調製し、C1-INH及び賦形剤を含みその濃度を表13に示した。C1-INH濃度は発色アッセイ法(Berichrom C1-Inhibitor、Siemens社製)により測定した。

## 【0195】

10

20

30

40

## 【表17】

表13 3種のC1-INH製剤の賦形剤濃度、pH及びモル浸透圧濃度

試料	クエン酸ナトリウム・二水和物*	グリシン	NaCl	pH	モル浸透圧濃度[mOsm/L]
1	3.5 g/L	10.0 g/L	8.5 g/L	7.0	493
2	3.5 g/L	10.0 g/L	8.5 g/L	7.0	493
3	20 mM	-	-	6.9	80

10

## 【0196】

3種の試料の動粘度は、ドイツ工業標準規格第51562号(DIN51562)、第2部に基づくUbbelohde(装置番号908829、毛細管タイプ536-20/I/II、Schott-Gerate社製、Hofheim、Germany)による毛管粘度計を用いて、試料調製直後( $t_0$ 、当初)及び+40で1週間経過後( $t_1$ )測定した(表14 参照のこと)。40で貯蔵中に如何なるバイオバーデンの増殖も避けるために、アジ化ナトリウム0.05%で調整することによって試料を保護した。

## 【0197】

動粘度の測定は20で実施した。毛細管直径0.53mmを有する毛細管粘度計を水浴中で調節した。試料を粘度計に充填し、5分間インキュベートして測定温度と平衡にした。粘度計の製造メーカーの指示する通りに、測定は2回実施し、その平均値を算出した。測定の前に、ドイツ国、Bitterfeld「Zentrum für Messen und Kalibrieren」の較正済溶液を使用して毛細管定数を確認した。

注:絶対粘度を得るには、約1g/cm<sup>3</sup>と推定し得る、対応する溶液の質量密度と動粘度とを掛け合わせなければならない。(絶対粘度(cP)=動粘度(cSt) \* 密度(kg/m<sup>3</sup>))。

## 【0198】

## 【表18】

表14  $t_0$ (開始時)及び40°Cでインキュベーションを $t_1$ (1週間)の間、行つた後の種々の緩衝条件を含む3種のC1-INH製剤の、動粘度

30

試料	$t_0$ 時のC1-INH [IU/mL]	$t_0$ 時の動粘度 [mm <sup>2</sup> /s]	$t_1$ 時の動粘度 [mm <sup>2</sup> /s]	粘度増加 [%]
1	48	1,20	1,20	0%
2	450	4,29	4,61	7%
3	447	5,60	7,45	33%

40

## 【0199】

## 結果

賦形剤としてクエン酸ナトリウムのみを有する試料3は、製剤1及び2に比べて顕著に高い粘度を示した。試料2(これは本発明による製剤である)の粘度の増加は、最先技術である試料1と比較するとき、許容出来るものである。40で1週間経過後の試料3の粘度増加は、試料2の増加に比べ、はるかに高かった。

## 【0200】

実施例5 ウサギへの静脈内投与後のBerinert(登録商標)及びCSL06の生物学的同等性を評価する薬物動態調査

この研究では、実施例1のBerinert(登録商標)及びCSL06の生物学的同

50

等性の評価を実施し、血漿曲線の薬物動態形状を考慮して発症及び緩和の潜在的变化の洞察を得るための薬物動態（PK）調査を行った。Berinert（登録商標）及びCSL06を、10匹のメスのChinchilla Bastard（CHB）ウサギへの静脈内経路を介して200IU/kgの用量でそれぞれ投与した。

【0201】

血漿中のヒトC1-INH:Agレベルの96時間後の最後の測定値までの曲線下面積（AUC<sub>0-96h</sub>）を生物学的同等性の主要パラメータとして使用した。更に、PKパラメータを調べ、生物学的同等性である、最大血漿中濃度（即ち、生体内回収率と同等）、クリアランス、平均滞留時間、最終半減期、定常状態での分布容積、及び最終分布容積、を評価した。PKパラメータの測定のために、血漿試料を投与前及び投与後5分、30分、1時間、4時間、8時間、24時間、48時間、72時間及び96時間経過後に採取し、C1-INH:Ag血漿中濃度をELISAシステムを用いて測定した。

【0202】

2つの製品の生物学的同等性を評価するための標的変数は、AUC<sub>0-96h</sub>、投与から96時間までに観察されたC1-INH:Ag血漿中濃度経時曲線の下方の面積、であった。CSL06群内の、及びBerinert（登録商標）群内のAUC<sub>0-96h</sub>の幾何平均値を測定し、推定した幾何平均の比は、109%と計算され、両側に100%～118%の範囲の90%信頼区間を有した。従って、可変AUC<sub>0-96h</sub>に関して、2つの製品の平均した生物学的同等性を、80%～125%の範囲内で5%の有意水準で実証した（図4）。

【0203】

CSL06及びBerinert（登録商標）の平均的な生物学的同等性を、他の薬物動態パラメータ：最大血漿中濃度（即ち、生体内回収と同等）、クリアランス、平均滞留時間、最終半減期、定常状態での分布容積、についても同様に、実証した。

【0204】

CSL06及びBerinert（登録商標）について、クリアランスの幾何学的平均値を測定し、クリアランスの幾何平均比は92%と算出され、90%信頼区間は85%から100%であった。

【0205】

CSL06及びBerinert（登録商標）について、末端半減期の幾何平均値を測定し、末端半減期の推定幾何平均比は、101%と算出され、90%信頼区間は94%～109%であった。

【0206】

CSL06とBerinert（登録商標）に関する末端分布容積の幾何平均値は、末端分布容積の推定幾何平均比が93%であり、90%信頼区間が84%～102%であった。

【0207】

結論として、この研究は、ウサギへの単回静脈内大量点滴後のCSL06及びBerinert（登録商標）の平均の生物学的同等性に関する特許請求の範囲を支持した。

【0208】

実施例6 CSL06を静脈内、動脈内、皮下または筋肉内に1回注射した後のニュージーランド白ウサギにおける局所寛容試験

この試験では、ウサギへの静脈内、動脈内、皮下または筋肉内注射1回後のCSL06（試験品目）の局所寛容を評価した。雄2匹と雌1匹からなるニュージーランド白ウサギ4つの群に、静脈内または動脈内に点滴で、左側の皮下または筋肉内に注射で1回、試験品目CSL06を与えた。CSL06は、ニュージーランド白ウサギに、静脈内、動脈内点滴および皮下注射で用量3mL/注射を、および筋肉内注射で用量0.5mL/注射を、1回投与した。各動物の右側を同じ実験条件下でNaCl（対照項目）0.9%で治療した。投与後、動物を4日間継続して観察した。各動物を死亡または罹患の徴候および臨床的徴候について毎日検査した。皮膚反応は、投与前1日目および治療1時間後、2日目

10

20

30

40

50

は、投与終了後およそ24時間後、次に3日目および4日目に1日1回評価した。体重はグループ割当て前に1回、次いで1、3日目に記録した。観察期間の完了時に、動物を犠牲にし、次いで肉眼により死後検査を実施した。全ての動物の注射部位について顕微鏡による検査を実施した。

【0209】

予定外の死亡や全身性の臨床的徴候は記録されなかった。体重は、投与経路とは無関係にCSL06による治療には影響を受けなかった。CSL06に関連する局所反応は、静脈内、動脈内及び筋肉内注射部位で全く観察されなかった。CSL06で治療した皮下注射部位で、紅斑及び浮腫が観察され、対照部位と比較すると、発生率及び/又は重症度が若干高かった。試験品の治療に関連した、注射部位での死後変化は肉眼では全く観察されなかった。顕微鏡検査では、治療に起因する所見が、静脈内(雄)、皮下(雌)及び筋肉内(雄及び雌)、左の注射部位で、時々、観察されたが、動脈内経路では差異は観察されなかった。これらの病変は、正常範囲内の反応であり、極微ないし僅少な静脈周辺のコラーゲン分解及び単核細胞浸潤(静脈内経路)、コラーゲン分解(皮下経路)及び単核細胞浸潤(筋肉内経路)から成っていた。

【0210】

この試験の実験条件下で、CSL06の単回静脈内又は動脈内点滴又は皮下又は筋肉内注射は、ウサギにおいて臨床的、局所的及び組織学的に良好な寛容性を示した。

【0211】

実施例7 ニュージーランド白ウサギにCSL06、及びBerinert(登録商標)を皮下注射1回行った後の局所寛容比較試験

2匹の雄および1匹の雌のニュージーランド白ウサギからなる3つの群に、C1-阻害剤製品でありBerinert(登録商標)として現在市販中の試験品目、CSL06、又はプラセボ(C1-INHを含まないBerinert(登録商標)製剤緩衝液)を、左側に一度皮下注射を施す。各動物の右側を同じ実験条件下でNaCl(対照項目)0.9%で治療し、絶対対照部位としての役目を持たせた。投与量は一定の3mL/注射とした。投与の後、動物を4日間継続して観察した。各動物の死亡または罹患の徴候および臨床的徴候について毎日検査した。皮膚反応は、投与前1日目および治療1時間後、2日目は、投与終了から、およそ24時間後、次に3日目および4日目に1日1回評価した。体重はグループ割当て前に1回、次いで1、3日目に記録した。観察期間の終了時に、動物を犠牲にし、肉眼により死後検査を実施した。全ての動物の注射部位について顕微鏡による検査を実施した。

【0212】

予定外の死亡および全身毒性を示す臨床的徴候は全く観察されなかった。体重は試験品目による治療の影響を受けなかった。NaCl 0.9%を注射した部位での反応は全く観察されなかった。CSL06、Berinert(登録商標)またはプラセボを注射した部位では、有意な差は全く観察されなかった。治療後に、時折、紅斑を観察することがあり、3日間持続するものもあった。この反応の重篤度は、一般的には、軽微とみなすものであった。4日目に、試験品目の1種を注射した動物2匹の注射部位で乾燥を示した。CSL06又はプラセボを注射した部位に、治療後、血腫も見られ、4日目まで持続した。何れの注射部位においても試験品目に関連する死後病変は肉眼では特に言及するものはなかった。注射部位に関する顕微鏡検査では、場合によっては、角化症または極微の漿膜痴皮を伴う極微な表皮肥厚症、及び、上部真皮に多かれ少なかれ好異球を伴う、単核炎症細胞の極微な又は軽微な浸潤、を示した。注射の部位(0.9%NaCl、プラセボまたは試験品目)にかかわらず、ほとんどの動物で観察された、類似した発生率と重症度を有するこれらの小さな変化は、投与手順に関連すると考えられた。

【0213】

本試験の実験条件下において、CSL06、Berinert(登録商標)及びプラセボBerinert(登録商標)製剤緩衝液は、単回の皮下注射後に局所的に十分に寛容されると考えられた。

10

20

30

40

50

## 【0214】

実施例8 ニュージーランド白ウサギにC S L 4 3、及びC 1 - I N Hを含まないC S L 4 3の緩衝液を皮下注射1回行った後の局所寛容比較試験

3匹の雌ニュージーランド白ウサギ、各動物の背側右側に皮下注射により1回、試験品目であるC S L 4 3を受けさせた。同じ実験条件下で、同じ動物の背側の左側を液状製剤緩衝液(C 1 - I N Hを含まないC S L 4 3緩衝液)で治療し、絶対対照部位としての役目を持たせた。注射には、一定大量の投与量5mLを使用した。投与後、動物を72時間継続して観察した。動物の身体的状態及び臨床的兆候を外見から管理した。注射部位の写真を数回の時点で撮り、スコアシートを使用した。血液パラメータの決定にはベースライン及び72時間に、Sci1Vetを用いた。死体解剖時に皮膚生検を行い、将来あり得る組織学的分析のために10%ホルマリン溶液中に保存した。

10

## 【0215】

予定外の死亡及び全身毒性を示す臨床的徴候は観察されなかった。C S L 4 3又は液体製剤緩衝液の適用直後、及び引き続く観察全期間を通じて、治療した何れの動物においても局所的反応の徴候は肉眼では観察されなかった。72時間の観察期間の終了時に、注射部位の死体解剖を実施した。ここで、1匹の動物において、C S L 4 3の注射部位の下方皮下組織中に、非常に軽微で小さな血腫(0.5cm x 1.0cm)が観察され、これは手順に関連していると判断した。他のすべての動物においては、治療に伴う局所反応又は他の兆候は全く観察されなかった。更に、血液パラメータの分析に際して、何れの動物においても治療に関連する変化は全く観察されなかった。

20

## 【0216】

本試験の実験条件の下で、試験品目であるC S L 8 3 1の単回皮下注射は、ウサギにおける臨床的及び局所的に十分に寛容性を有した。C S L 4 3又は液体製剤緩衝液を注射した部位には有意ある差は全く観察されなかった。

## 【0217】

## 実施例9

## 研究計画

第I I相試験を実施し、H A Eを有する18人の被験者に皮下(SC)投与したC S L 0 6の薬物動態、薬力学、及び安全性の特性を明らかにした。

## 【0218】

30

30日間に及ぶスクリーニング期間の後に、治療研究者は、被験者を、6つのC S L 0 6治療配列の1つに順次割り当てた(図5a)。最初のC S L 0 6投薬期間の2~7日前に静脈内(I V)に単回投与量のB eri nert 20IU/kgを投与した。各被験者には、4週間に亘る2回の、その期間の間には4週間までの洗い出し期間がある、治療期間を有し、その治療の間に、3通りの可能性のあるC S L 0 6用量のうちの2通り(短期皮下注射[500IU/mL]として、週2回、1500IU、3000IU、または6000IUを投与する)を受けさせる。破綻的な発作のためには救援投薬(I V C 1 - I N H)の投与を認めるものとした。

## 【0219】

## 研究母集団

40

臨床病歴に基づき、かつスクリーニング時の試験(C 1 - I N H機能活性<50%であるか、又は研究所の参考範囲より低いC 1 - I N H抗原レベルである)により中央研究所で確認された、C 1 - 阻害剤が欠損したH A E(I型)を有するか、又は機能不全のC 1 - 阻害剤を有するH A E(I I型)である18歳以上の男性又は女性被験者を、試験の適格者とした。被験者は、スクリーニング時に体重が50kg以上かつ、110kg以下であり、かつ、スクリーニング来院前の3ヶ月以内に経験したH A E発作5回以下であり、スクリーニング来院前の30日以内に起こしたH A E発作は1回以下であることを要求された。

## 【0220】

主要な除外基準には、現在のC 1 - I N H予防療法、スクリーニングの30日以内のア

50

ンドロゲン治療、及びスクリーニングの7日以内のH A E特異的治療を含ませた。

【0221】

評価項目

主要な評価項目は、モデル化及び模擬実験に基づく4週目のC 1 - I N H機能活性平均トラフであった。観測されたトラフレベルよりもむしろモデル化から導かれたレベルを、主に選択し、研究中に起こり得るレスキュードースC 1 - I N Hを使用する交絡した性質を説明した。

【0222】

二次評価項目は、各投与計画の第4週における、C 1 - I N H機能活性トラフ、C 1 - I N H抗原レベル及びC 4抗原レベルの観察データに基づくベースラインからの平均及び平均変化であった。

10

【0223】

安全性を評価するために、治療創発的有害事象(A E)についての種々の概要で実施した。

【0224】

投与と試料採取

投与計画及び試料採取を図5bに図示した。C 1 - I N Hの最初の単回用量を投与したのは、I V C 1 - I N Hレスキュードースの投与を説明する際の薬物動態(P K)モデルを補助するためであり、かつ、S C C S L 0 6の生物学的利用能について研究の範囲内で推定可能にするためである。C 1 - I N H機能活性、C 1 - I N H血漿中濃度及びC 4抗原レベルを、各投薬期間を通していくつかの時点で評価した。血漿C 1 - I N H機能活性をC S L 0 6投与の直前に、追加的に評価した。

20

【0225】

P K及びP D測定

血漿C 1 - I N H機能活性は、検証済の発色アッセイ(B e r i c h r o m C 1 - I n h i b i t o r、S i e m e n s社; 参照範囲: 標準の70~130%)によって評価した。血漿C 1 - I N H抗原(C 1試薬、N - A n t i s e r a、S i e m e n s H e a l t h c a r e D i a g n o s t i c s社; 参照範囲: 0.18~0.32mg/L)及びC 4抗原レベルを比濁分析法(C 4試薬、B e c k m a n C o u l t e r社; 参照範囲: 0.1~0.4g/L)。すべての測定は、検証済アッセイ(C S L B e h r i n g社、M a r b u r g、G e r m a n y)を用いて中央研究所で実施した。

30

【0226】

C 4抗原レベルを薬力学(P D)パラメータとして定義したのは、C 4活性がC 1 - I N Hの下流で起こるからであり、従って、C 1 - I N Hを置換するとC 4レベルに影響を及ぼす。C 4抗原のレベルは、I V血漿由来のC 1 - I N H(p d C 1 - I N H)を投与した後に経時的にゆっくりと上昇することを示していた。

【0227】

P K及びP D分析

主要評価項目の分析及びモデル化由来C 1 - I N H機能活性の測定には、完全分析一式(C S L 0 6の投与を1回以上受け、かつ、C 1 - I N H機能測定を1回以上提供された患者18人)を使用した。P Kのモデル化に関する以前の試験結果に基づくと、一つの投与計画当たり12名の患者数は、C 1 - I N H活性の推定値を提供するのに十分であった。各治療に関するデータを、記述統計及び混合モデルを用いて要約した。

40

【0228】

S C及びI V C 1 - I N H機能活性データを、集団として、非線形混合効果モデリング(N O N M E Mバージョン7.2)を用いた集団ベースのアプローチに付した。C S L 0 6のP K特性の調査は、関連する個体相互間のバラツキを伴うクリアランス(C L)及び分布容積(V)などのパラメータに関する代表的かつ独立した値を推定することによって、評価した。被験者のベースライン特性の影響も調査した。C L、V、生物学的利用能(F)、吸収速度定数(K a)、半減期(t<sub>1/2</sub>)及び増分回復などの薬物動態パラメー

50

タを、最終集団PKモデルで推定した。

【0229】

薬物動態模擬試験を行い、C1-INH機能活性の定常状態トラフレベルが体重に依存するかどうかを調べた。体重効果は、基礎的な体重が、<60kg、60-100kg、及び>100kgである範囲について、40若しくは60IU/kg及び固定用量の3000若しくは4500IUの用量における、血清C1-INH機能活性のモデル化予測した定常状態トラフの分布を調べることによって評価した。観察されたままの評価項目の分析について、第4週のトラフレベルとベースラインからのトラフレベルの増加とを、CSL06投薬計画各々のC1-INH機能活性、C1-INH抗原レベル及びC4抗原レベルについて記述統計を用いてまとめた。

10

【0230】

安全性評価

安全性及び寛容性を、継続的な有害事象の観察及び試験全体を通じて、特定の時点に実施した安全性評価により評価した。これらの評価には、点滴部位の寛容性、実験室パラメータ、バイタルサイン、体重、身体検査、及び併用薬物の使用を含ませた。深部静脈血栓症に関するリスク評価についても、C1-INH濃縮物を使用するHAE患者における血栓塞栓症の副作用に関する初期の単一症例報告に基づいて実施した。

【0231】

結果

研究テーマ

20

8つの研究場所からの22人の被験者がインフォームドコンセントに署名した。これらのうち、18人の患者がコンピュータが作成したリストによる治療に割り当てられ、治験薬を受けた。4人の被験者は同意書に署名したが、無作為化しなかった。2人は選択/除外規準を満たさなかったためであり、2人は適格であると判断された時点で既に18人の被験者の対象に達していたためである。被験者の人口統計学的属性を表15に纏めた。

【0232】

皮下のCSL06の後の薬物動態学的結果

第4週目におけるC1-INH機能活性の定常状態のトラフの観察した平均値は、CSL06用量と共に増加し(図6)、ベースラインからの増加は、1500IU、3000IU、及び6000IU用量について、夫々16.4%、33.2%及び63.3%であった。C1-INH抗原レベルもまた、CSL06用量と共に増加し、第4週目のC1-INH抗原のベースラインからの増加は、3回の投与計画に関し、夫々0.02mg/mL、0.05mg/mL及び0.14mg/mLであった。

30

【0233】

集団薬物動態モデル

C1-INHの機能的活性は、1次吸収を有する線形1コンパートメント薬物動態モデルによって記載した。モデルパラメータと以下のベースライン共変量である、年齢、性別、体重、体格指数、理想体重、除脂肪体重、クレアチニンクリアランス、及びC1-INH機能活性との間の関係を調査した。モデルパラメータに対して統計的に唯一有意であると同定された共変量効果は、CL及びVに対する体重の影響であり、これを以下の関係により記述した。

40

【数1】

$$CL_i = 0.398 \cdot \left( \frac{WT_i(kg)}{78.9(kg)} \right)^{0.879} \cdot \exp^{\eta_{CL}}$$

$$V_i = 30.8 \cdot \left( \frac{WT_i(kg)}{78.9(kg)} \right)^{0.669} \cdot \exp^{\eta_V}$$

50

ここで、 $C_L i$  は個々のクリアランスの値であり、 $V_i$  は個々の分布の容積、及び $W_T i$  は被験者  $i$  の体重である。

#### 【0234】

モデルの適合度プロット（図7）は、モデルの予測が観測データと一致していることを示している、というのは、点が同一線の周りに一様に分布しているからである。従って、規則的な偏りは全くなかった。

#### 【0235】

モデルから誘導した C1 - INH トラフレベル及び薬物動態パラメータ

主要評価項目は、第4週目の C1 - INH 機能平均トラフレベルであり、モデル化と模擬試験に基づいたものである（図6）。C1 - INH 機能活性の平均は用量に依存した増加が観察され、ベースライン時の 14.6% から、1500, 3000 及び 6000 IU の用量について、夫々 31.7%、44.3% 及び 80.5% に增加了。第4週間目のモデル化した定常状態の C1 - INH 機能活性のトラフは、観察した C1 - INH 機能活性と同様であった。

#### 【0236】

このモデルはまた、定常状態における、ゼロから投与間隔の終了までの間の活性 経時曲線下方面積 ( $AUC_{(0-t)}$ )、血漿 C1 - INH 機能最大活性レベル ( $C_{max}$ )、定常状態 ( $C_{avg}$ ) における平均血漿活性 ( $C_{avg}$ )、増分回復、及び排出半減期など他の PK パラメータを調査し、誘導するためにも使用した。表16は、IV 及び SC C1 - INH を投与した後の機能的 C1 - INH の活性をモデル化した PK パラメーターを纏めたものである。SC CSL06 の生物学的利用能は 44% であり、IV C1 - INH と比較して同様の排出半減期を有していた。使用した CSL06 用量は体重に基づいていないため、体重、体格指数及び理想体重を評価して、機能的 C1 - INH レベルの中央値への影響を決定した。予期してなかった訳ではないが、夫々の投与計画について、体重と定常状態のトラフレベルとの間にわずかな負の関係が、見出された。固定用量を投与された低体重の患者は、より高体重の患者と比較して、比較的高い機能的 C1 - INH レベルを達成することが予測された。従って、体重で用量を調整すると、体重の範囲を跨いで同等レベルの活性を達成すると予測された。

#### 【0237】

10

20

【表 19】

人工統計学的特性	投与計画		
	Berinert (N=18)	CSL06, 1500 IU (N=12)	CSL06, 3000 IU (N=12)
年齢、歳			
平均値 (標準偏差)	36.4 (13.07)	33.6 (11.83)	37.8 (14.69)
中央値 (最小値、最大値)	33.9 (19, 69)	30.3 (19, 53)	36.9 (19, 69)
性 男性 女性 人 (%)	7.11 (38.9:61.1)	4.8 (33.3:67.7)	5.7 (41.7:58.3)
重量, kg			
平均値 (標準偏差)	80.0 (20.2)	79.9 (23.4)	78.5 (17.0)
中央値 (最小値、最大値)	78.9 (51.0, 110.0)	71.2 (51.0, 110.0)	78.9 (57.6, 106.5)
肥満度指数 kg/m <sup>2</sup>			
平均値 (標準偏差)	27.3 (6.57)	27.5 (7.22)	26.8 (5.14)
中央値 (最小値、最大値)	25.4 (18.1, 40.9)	26.4 (18.1, 40.9)	25.4 (19.1, 34.5)
HAE 型、人 (%)			
I 型	16 (88.9) 2 (11.1)	12 (100) 0 (0)	10 (83.3) 2 (16.7)
II 型			
初期 3 ヶ月間の HAE 発作回数、回			
平均値 (標準偏差)	2.5 (1.42)	2.3 (1.50)	2.4 (1.51)
中央値 (最小値、最大値)	2.0 (0, 5)	2.0 (0, 5)	2.0 (0, 5)
基準線の C 1 - I NH 機能活性観測値、%			
平均値 (標準偏差)	14.6 (8.02)	15.4 (8.02)	11.3 (7.10)
中央値 (最小値、最大値)	15.2 (13, 26.7)	15.2 (4.3, 26.7)	9.9 (13, 22.7)
基準線の C 1 - 抗原レベル観測値 (mg/ml)*			
n 平均値 (標準偏差)	13 0.10 (0.126)	8 0.05 (0.03, 0.05)	9 0.12 (0.149)
n 中央値 (最小値、最大値)	0.050 (0.02, 0.44)	0.047 (0.03, 0.05)	0.050 (0.02, 0.44)
基準線の C 4 - 抗原レベル観測値 (mg/dL)*			
n 平均値 (標準偏差)	17 8.6 (9.5) 7.0 (2.4, 43.8)	12 6.8 (3.10) 6.9 (2.2, 10.8)	11 9.2 (11.7) 7.0 (2.2, 43.8)
n 中央値 (最小値、最大値)			

\* 患者によっては、C 1 及び C 4 抗原の観察された基準線値は夫々検出限界である 0.022 mg/mL 及び 1.67 mg/dL より、低かった。

完全分析一式、CSL 06 の投与を 1 回以上受け、かつ、C 1 - I NH 機能測定を 1 回以上提供された患者 18 人

【0238】

## 【表20】

表16 C1-INH活性に関するモデル化したPKパラメータ

	Bennett 20 IU/kg (N=18)	CSL06, 1500 IU (N=12)	CSL06, 3000 IU (N=12)	CSL06, 6000 IU (N=12)
C <sub>max</sub> , IU/mL	0.67 (0.562)	0.38 (0.109)	0.59 (0.154)	1.09 (0.307)
AUC <sub>0-t<sub>1/2</sub></sub> , IU·h/mL	38.9 (8.93)	30.5 (11.31)	45.3 (11.98)	79.6 (25.36)
C <sub>av</sub> , IU/mL	-	0.36 (0.135)	0.54 (0.142)	0.95 (0.303)
増分回復 ([IU/mL]·[IU/kg])	0.026 (0.0023)	0.011 (0.0024)	0.011 (0.0024)	0.012 (0.0027)
t <sub>1/2</sub> (h)	52.8 (13.70)	50.6 (12.35)	51.5 (13.52)	56.2 (15.02)
		独自投与 (n=18)		
Cl <sub>ss</sub> , L/h		0.043 (0.016)		
V <sub>ss</sub> , L		3.06 (0.598)		
生物学的利用能		0.44		

データは平均値(標準偏差)

AUC (0 - t<sub>1/2</sub>)、投与間隔を通しての血漿の濃度-時間曲線の下方の面積、  
C<sub>av</sub> 投与間隔を通しての平均C1 - INH機能活性t<sub>1/2</sub> / 2 排出半減期C<sub>max</sub> 血漿中の最大薬剤濃度CL<sub>ss</sub> 定常状態クリアランスV<sub>ss</sub> 定常状態の分布容積

## 【0239】

## 薬力学

C4抗原レベルについても、又、第4週の各投与計画中に測定した。C4抗原レベルは用量依存的な様で増加し、CSL06の全用量で標準化した。CSL06の用量1500IU、3000IU及び6000IUで、夫々11.1mg/dL、14.1mg/dL及び18.4mg/dLのC4レベルを観察した。C4抗原レベルは、用量1500IU、3000IU及び6000IUで、第4週目の基準線から夫々4.3mg/dL、5.6mg/dL及び9.1mg/dL(標準レベルは14mg/dL)増加した。

## 【0240】

CSL06の固定用量を体重当たりの用量として計算した時、平均C4抗原レベルは体重当たりの用量と共に増加した。第4週目における観察したC4抗原レベルの平均は、20IU/kg以下、20IU/kg~45IU/kg以下、45IU/kg~90IU/kg以下及び、90IU/kgを超える区分中で、夫々11.3mg/mL、11.7mg/mL、18.0mg/mL及び18.2mg/mLであった。

## 【0241】

4週間に亘る、モデル化した週2回のCSL06対IVpdc1-INH  
4週間に亘り、1週間に2回1500IU、3000IU及び6000IUの3種の異なるSC計画を模擬試験することにより、SC CSL06対IVpdc1-INH濃縮物1000IUの投与が、C1-INH機能活性に及ぼす効果を、事後解析で調べた(図8)。模擬試験C1-INH機能活性の時間特性は、1000IUのpdc1-INH濃縮物を週2回注射する現在の標準的予防治療計画と比較して、SC投与後のピーク対トラフ比はより低くかつ(模擬試験と)より一致した曝露を示した。

#### 【0242】

##### 安全性

CSL06に関連する重篤な有害事象(AE)又は死亡、又は研究全体を通じて有害事象による治療中止は全くなかった。血栓塞栓事象は全く観察されなかった。実験室の調査監視では如何なる安全性に関する警告も示されず、しかも阻害的な自己抗体の発生の証拠はなかった。

10

#### 【0243】

最も一般的な治療創発的有害事象(TEAE)は、注射部位での痛み、腫脹、挫傷及びかゆみとして報告された局所部位反応であった。

#### 【0244】

ほとんどの局所部位反応の強度は軽度から中等度であり、3日以内に解決した。点滴部位の中程度の腫脹は、2つの他の低用量群(1500IU用量群に2人(被験者12人中)及び3000IU用量群に1人(被験者12人中)と比較して、6000IU用量群(5人/被験者12人中)の方に、より多くの被験者の報告があり、これはおそらく注射の容量に関係していた。他の局所部位反応については用量との明らかな関係はなかった。

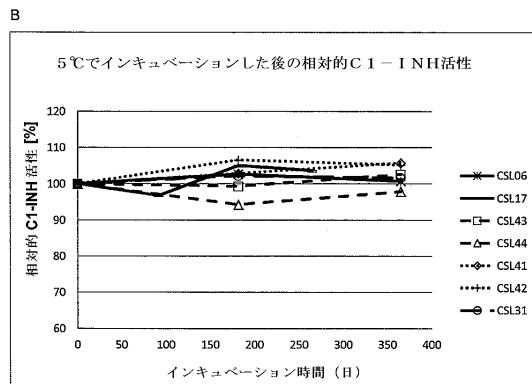
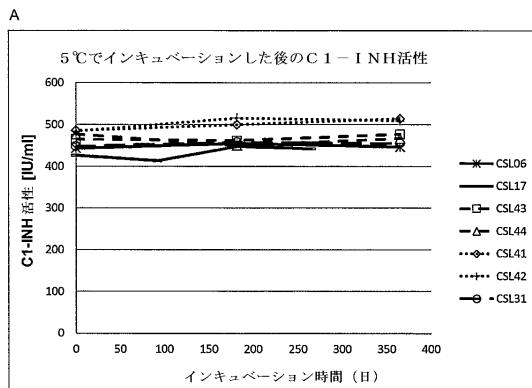
20

#### 【0245】

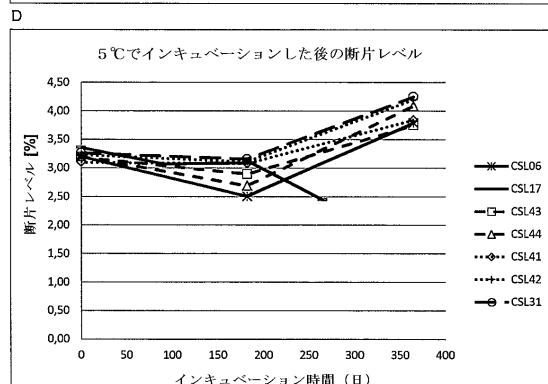
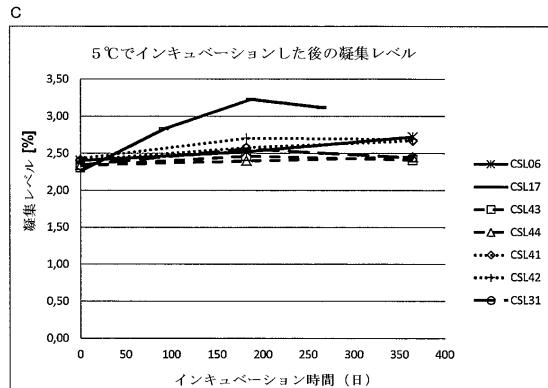
本研究中に発生したHAE関連の症状は、AEとして報告した。全体として、本研究の過程で7人の患者においてHAE関連AEとして、29件が報告された。これら29件のHAE事象の内、11件はSC CSL06を用いる4週間の間隔で投薬する間に報告されたものである。1500IUの用量群では、12人の患者のうち2人が夫々2回及び5回のHAE発作を起こした。3000IU投与群では、2人の患者がそれぞれ1回及び3回の発作を起こした。6000IU用量群の患者は、4週間SC投与期間中に如何なるHAE症状も経験しなかった。

30

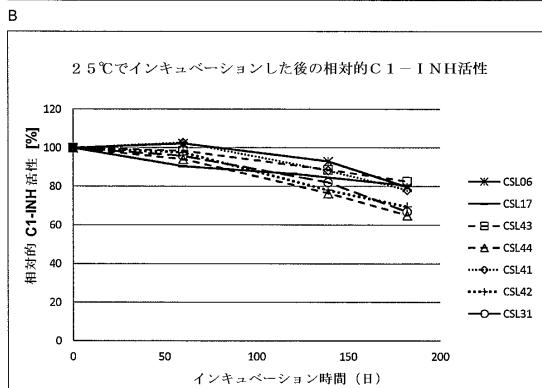
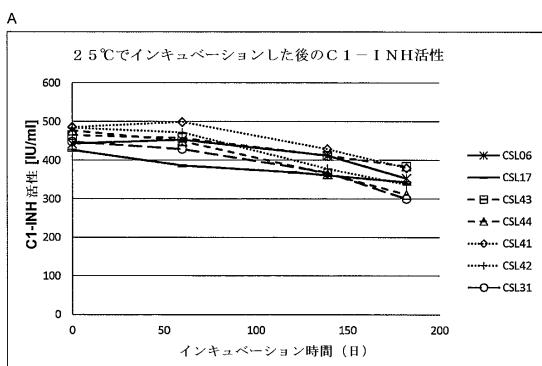
【図1-1】



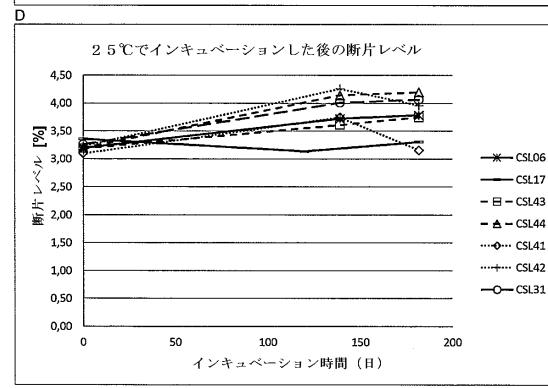
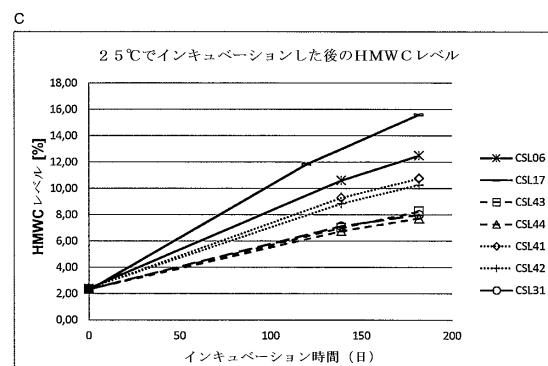
【図1-2】



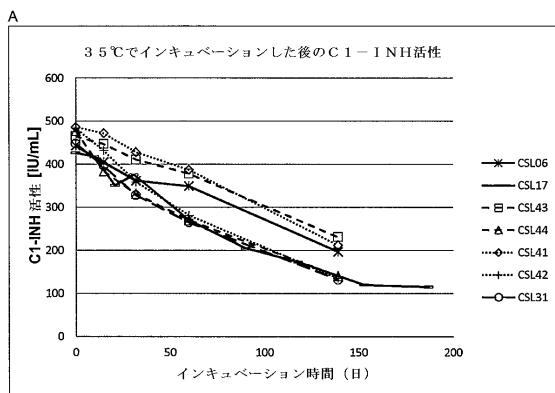
【図2-1】



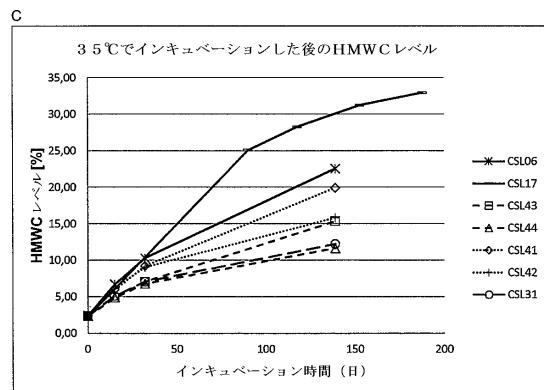
【図2-2】



### 【図3-1】

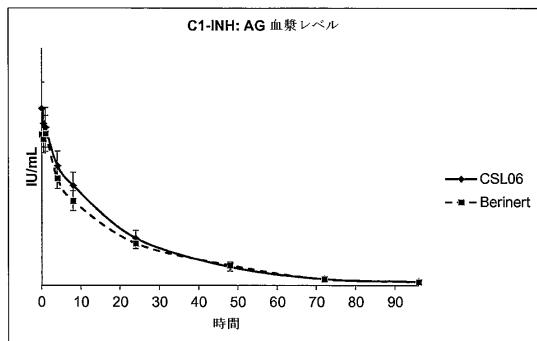


### 【図3-2】

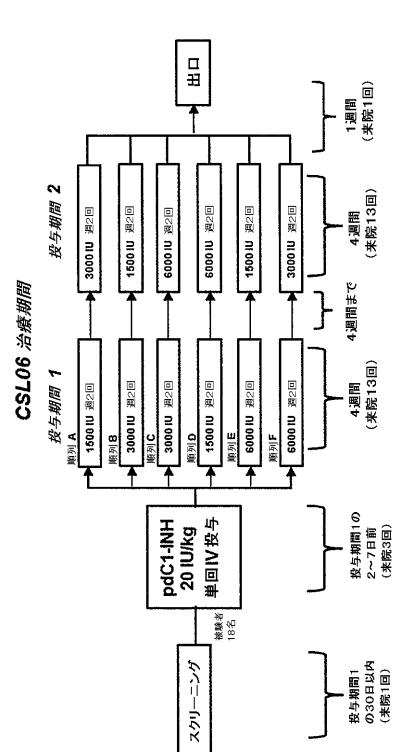


B

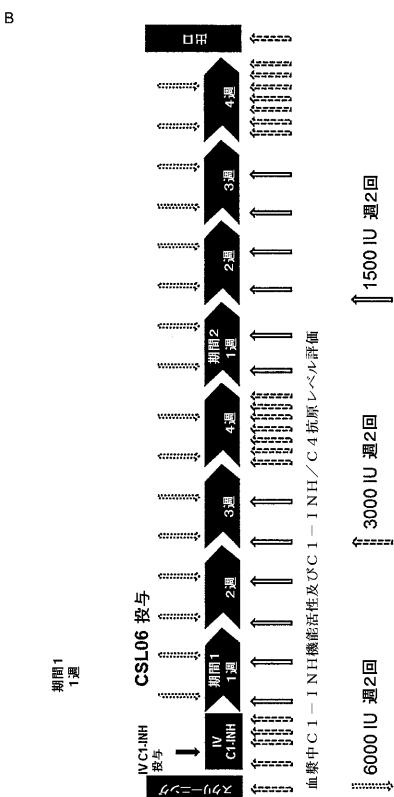
【 図 4 】



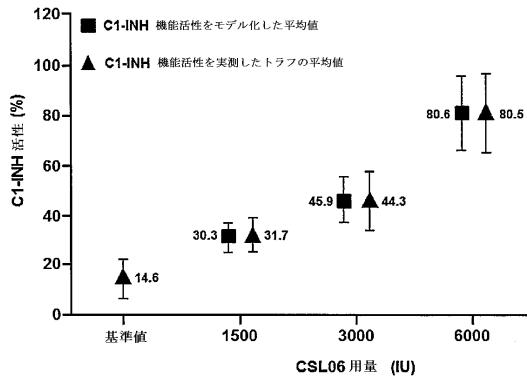
### 【図5-1】



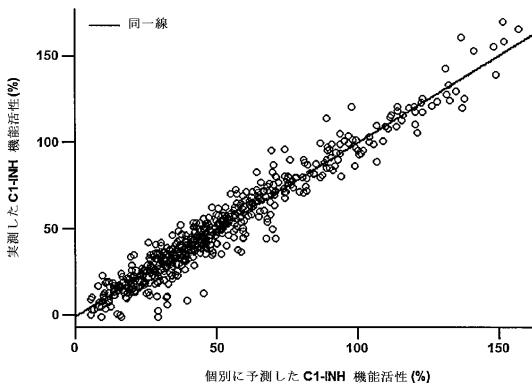
### 【図5-2】



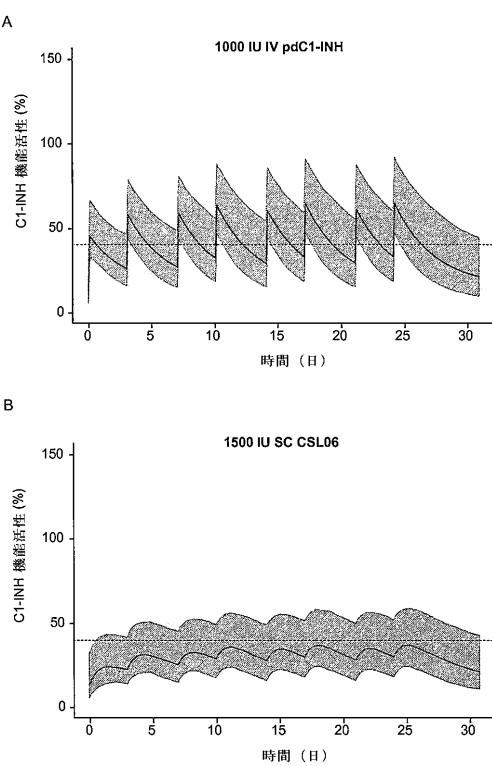
【図6】



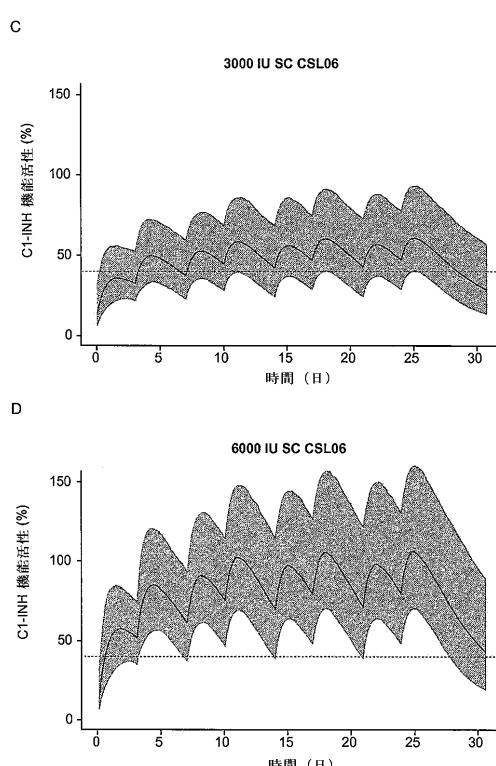
【図7】



## 【 図 8 - 1 】



【図 8 - 2】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 6 1 K 47/12 (2006.01)	A 6 1 K 47/12
A 6 1 K 47/18 (2006.01)	A 6 1 K 47/18
A 6 1 K 47/22 (2006.01)	A 6 1 K 47/22
A 6 1 K 47/04 (2006.01)	A 6 1 K 47/04
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/26
A 6 1 K 47/10 (2006.01)	A 6 1 K 47/10

(72)発明者 エルнст - ユルゲン・カンツィー  
ドイツ連邦共和国 3 5 0 9 6 ニーダーヴァイマール・フーテヴェーク 3

(72)発明者 フーベルト・メツナー  
ドイツ連邦共和国 3 5 0 4 1 マールブルグ・イム・ボーデン 6

(72)発明者 フラウケ・マイ  
ドイツ連邦共和国 3 5 0 4 1 マールブルグ・ベルクホーフヴェーク 8

(72)発明者 インゴ・ブラークスト  
ドイツ連邦共和国 3 4 5 4 9 エーダータール・ツム・ハンマー 1

審査官 渡邊 潤也

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 4 / 1 4 5 5 1 9 ( WO , A 2 )  
特表 2 0 1 4 - 5 2 6 5 4 1 ( J P , A )

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

A 6 1 K 3 8 / 0 0  
A 6 1 K 9 / 0 0  
A 6 1 K 4 7 / 0 0  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )  
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )