

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2011-522795

(P2011-522795A)

(43) 公表日 平成23年8月4日(2011.8.4)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A61K 39/395 (2006.01)	A 61 K 39/395	Z N A V
A61P 29/00 (2006.01)	A 61 P 29/00	1 O 1
A61P 19/02 (2006.01)	A 61 P 19/02	4 H 04 5
A61P 19/04 (2006.01)	A 61 P 29/00	
A61P 43/00 (2006.01)	A 61 P 19/04	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 59 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2011-508582 (P2011-508582)	(71) 出願人	391015708 ブリストルマイヤーズ スクイブ カン パニー
(86) (22) 出願日	平成21年5月5日 (2009.5.5)		B R I S T O L - M Y E R S S Q U I B B C O M P A N Y
(85) 翻訳文提出日	平成23年1月5日 (2011.1.5)		アメリカ合衆国ニューヨーク州 1 O 1 5
(86) 國際出願番号	PCT/US2009/042761		4 ニューヨーク パーク アベニュー 3 4 5
(87) 國際公開番号	W02009/137424	(74) 代理人	100081422 弁理士 田中 光雄
(87) 國際公開日	平成21年11月12日 (2009.11.12)	(74) 代理人	100084146 弁理士 山崎 宏
(31) 優先権主張番号	61/050,336	(74) 代理人	100122301 弁理士 富田 憲史
(32) 優先日	平成20年5月5日 (2008.5.5)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	12/387,359		
(32) 優先日	平成21年5月1日 (2009.5.1)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】未分類関節炎を有する対象における関節リウマチの発症を予防するための方法

(57) 【要約】

本発明は、その必要のある対象に有効量の可溶性 C T L A 4 分子を投与することによって、U A を有する対象において未分類関節炎 (U A) を治療および / または関節リウマチ (R A) の発症を予防するための方法および組成物に関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象におけるUAを治療するための方法であって、対象にCTLA4分子を投与することを含み、該CTLA4分子が、CD80および/またはCD86に結合し、位置26のアラニンまたは位置27のメチオニンから始まり、位置150のアスパラギン酸で終わる配列番号2に示されるCTLA4の細胞外ドメイン、またはCD80および/またはCD86に結合するその部分を含む方法。

【請求項 2】

CTLA4分子の溶解性または親和性を変化させるアミノ酸配列をさらに含む、請求項1に記載の方法。

10

【請求項 3】

溶解性または親和性を変化させるアミノ酸配列が免疫グロブリンを含む、請求項2に記載の方法。

【請求項 4】

免疫グロブリンが免疫グロブリン定常領域またはその部分である、請求項3に記載の方法。

【請求項 5】

免疫グロブリン定常領域またはその部分がエフェクター機能を低下するように変異している、請求項4に記載の方法。

【請求項 6】

免疫グロブリン定常領域またはその部分がヒトまたはサル免疫グロブリン分子のヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む、請求項4に記載の方法。

20

【請求項 7】

免疫グロブリン定常領域またはその部分がヒトまたはサル免疫グロブリン分子のヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む、請求項5に記載の方法。

【請求項 8】

対象におけるUAを治療するための方法であって、対象にCTLA4分子を投与することを含み、該CTLA4分子が、

(a)配列番号2の位置27のメチオニンから始まり、位置383のリシンで終わるアミノ酸配列、または

(b)配列番号2の位置26のアラニンから始まり、位置383のリシンで終わるアミノ酸配列

30

を含む方法。

【請求項 9】

対象におけるUAを治療するための方法であって、ATCC(登録商標)第68629号で指定される核酸分子によってコードされるCTLA4分子を対象に投与することを含む方法。

【請求項 10】

UAの症状を低下させるための、請求項1または請求項8に記載の方法。

40

【請求項 11】

症状が、関節腫脹、関節圧痛、炎症、朝のこわばり、および疼痛からなる群から選択される、請求項10に記載の方法。

【請求項 12】

医薬組成物が、対象の体重1kg当たり10mgの量で可溶性CTLA4融合分子を投与するためのものである、請求項1~8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

構造的損傷を阻害するための、請求項1または請求項8に記載の方法。

【請求項 14】

構造的損傷が、手首および手におけるびらん、手首および手における骨髄浮腫、ならびに手首および手における滑膜炎からなる群から選択される、請求項13に記載の方法。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、一般に、免疫系疾患、たとえば未分類関節炎 (undifferentiated arthritis, U A) の分野に関する。特に、本発明は、その必要のある対象に有効量の可溶性 C T L A 4 分子を投与することによって、U A を有する対象において U A を治療および / または R A の発症を予防するための方法および組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

関節リウマチ (R A) は、全世界の人口の約 1 % を冒す最も一般的な炎症性関節炎である [Wolfe, F., "The epidemiology of drug treatment failure in rheumatoid arthritis", Baillieres Clin. Rheumatol., 9(4):619-632 (Nov. 1995)]。女性は、男性と比較して 2 ~ 3 倍疾患を発症する可能性が高く、発生率のピークは、生涯のうちで、40 代 ~ 60 代である [Hochberg, M.C. et al., "Epidemiology of rheumatoid arthritis: update", Epidemiol. Rev., 12:247-252 (1990); Markenson, J.A., "Worldwide trends in the socioeconomic impact and long-term prognosis of rheumatoid arthritis", Semin. Arthritis Rheum., 21(2 Suppl. 1):4-12 (Oct. 1991); Spector, T.D., "Rheumatoid arthritis", Rheum. Dis. Clin. North Am., 16(3):513-537 (Aug. 1990); および Zvaifler, N.J., "Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis", in Arthritis and Allied Conditions, McCarty, D.J., Koopman, W.J., eds. Philadelphia: Lea & Febiger, 723-736 (1993)]。R A は、滑膜関節を冒す重度の炎症により臨床的に認識されるが、それはまた、頻繁な関節外症状発現を有する全身性疾患でもある。R A の自然経過は、不運にも、関節破壊、身体機能不全、および低い健康状態に関連した生活の質によって特徴づけられる。

10

20

30

【0003】

関節破壊が R A において初期に生じるという科学的証拠が増加している。90 % 以上の対象は、R A の診断後の 2 年以内に、従来の X 線検査による関節損傷の証拠を有する [Emery, P., "The Optimal Management of Early Rheumatoid Disease: The Key to Preventing Disability", Br. J. Rheum., 33:765-768 (1994)]。関節損傷は、MRI または超音波などのより感度のよい技術を使用して、症状の発症から数週間以内に検出することができる [McGonagle, D. et al., "The relationship between synovitis and bone changes in early untreated rheumatoid arthritis", Arthritis Rheum., 42:1706-1711 (1999) および Wakefield, R.J. et al., "The value of sonography in the detection of bone erosion in patients with rheumatoid arthritis: A comparative study with conventional radiography", Arthritis Rheum., 43:2761-2770 (2000)]。これらの知見により、R A において早い時期に骨および軟骨の損失を引き起こす炎症性プロセスを有効に阻害することができる療法に対する要望が増加しており、R A の早期の診断および治療にますます重点が置かれている。

30

【0004】

しかしながら、R A についての 1987 年の米国リウマチ協会 (ARA) の基準は、より確立された疾患を有する対象と比較して、初期の炎症性関節炎を有する対象に適用される場合、それほど精度が高くなく、それほど明確でない。初期の炎症性関節炎を有する対象は、多発性関節炎よりはむしろ少関節炎を有する場合があり、6 週間未満の間、関節炎の症状を有することがあり、または最初に、リウマチ因子、リウマチ小結節、もしくは従来の放射線検査によるびらん (erosion) を欠くことがある [Van Gaalen, F.A. et al., "Autoantibodies to Cyclic Citrullinated Peptides Predict Progression to Rheumatoid Arthritis in Patients with Undifferentiated Arthritis", Arthritis Rheum., 50(3):709-715 (2004)]。結果として、これらの対象は、しばしば、疾患プロセスにおいて、早い時期に、R A (または他のリウマチ性疾患) についての 1987 年の診断基準を満たさない。これらの対象は、次いで、除外のプロセスによって未分類関節炎 (U A) と診

40

50

断される。初期の炎症性関節炎の診断および管理のために計画された専門の三次医療施設に紹介された対象の約40%は、RAまたは任意の他のリウマチ性疾患についての診断基準を満たさない [Van Gaalen, F.A. et al., "Autoantibodies to Cyclic Citrullinated Peptides Predict Progression to Rheumatoid Arthritis in Patients with Undifferentiated Arthritis", *Arthritis Rheum.*, 50(3):709-715 (2004)]。したがって、未分類関節炎は、一般的な病型である。

【0005】

正常な滑膜は、関節腔を囲み、分ける組織である。マクロファージ様滑膜細胞および線維芽細胞様滑膜細胞から構成される細胞の内層は、わずかな数の樹状細胞、線維芽細胞、肥満細胞、および血管構造を含む薄い結合組織支質を覆っている [Konttinen, Y.T. et al., "Characterization of the immunocompetent cells of rheumatoid synovium from tissue sections and eluates", *Arthritis Rheum.*, 24(1):71-79 (Jan. 1981)]。

【0006】

RAにおいて、滑膜組織は、顕著に肥厚し、腫脹するようになる。疾患が進行するとともに、徐々に滑膜細胞が増殖し、動員され、滑膜中に炎症細胞が動員される [Konttinen, Y.T. et al., "Characterization of the immunocompetent cells of rheumatoid synovium from tissue sections and eluates", *Arthritis Rheum.*, 24(1):71-79 (Jan. 1981)]。滑膜における50%までの浸潤白血球は、Tリンパ球、主として活性化/記憶表現型を有するCD4+T細胞である [Konttinen, Y.T. et al., "Characterization of the immunocompetent cells of rheumatoid synovium from tissue sections and eluates", *Arthritis Rheum.*, 24(1):71-79 (Jan. 1981); Forre, O. et al., "Augmented numbers of HLA-DR-positive T lymphocytes in the synovial fluid and synovial tissue of subjects with rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis: in vivo-activated T lymphocytes are potent stimulators in the mixed lymphocyte reaction", *Scand. J. Immunol.*, 15(2):227-231 (Feb. 1982); Van-Boxel, J.A. et al., "Predominantly T-cell infiltrate in rheumatoid synovial membranes", *N. Engl. J. Med.*, 293(11):517-520 (Sept. 1975); Kidd, B.L. et al., "Immunohistological features of synovitis in ankylosing spondylitis: a comparison with rheumatoid arthritis", *Ann. Rheum. Dis.*, 48(2):92-98 (Feb. 1989); Cush, J.J. et al., "Phenotypic analysis of synovial tissue and peripheral blood lymphocytes isolated from subjects with rheumatoid arthritis", *Arthritis Rheum.*, 31(10):230-238 (Oct. 1988); Laffon, A. et al., "Upregulated expression and function of VLA-4 fibronectin receptors on human activated T cells in rheumatoid arthritis", *J. Clin. Invest.*, 88(2):546-552 (Aug. 1991); およびKlareskog, L. et al., "Relationship between HLA DR expressing cells and T lymphocytes of different subsets in rheumatoid synovial tissue", *Scand. J. Immunol.*, 15(5):501-507 (May 1981)]。単球/マクロファージ起源の細胞もまた、リウマチ滑膜において顕著になり、細胞の20%までを占め、それらも、活性化表現型を示す [Firestein, G.S. et al., "How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis?", *Arthritis Rheum.*, 33(6):768-773 (Jun. 1990) およびFirestein, G.S. et al., "Quantitative analysis of cytokine gene expression in rheumatoid", *J. Immunol.*, 144(9):3347-3353 (May 1, 1990)]。

リウマチ滑膜における単球/マクロファージ様細胞は、サイトカインIL-1、TNF-、IL-6、GM-CSFを含む多くのプロ炎症性分子ならびにコラゲナーゼおよびマトリックスマタロプロテイナーゼを含むタンパク質分解酵素を産生する。好中球は、滑液中で顕著であるが、B細胞、形質細胞および好中球は、リウマチ滑膜中の細胞の5%未満を占める [Konttinen, Y.T. et al., "Characterization of the immunocompetent cells of rheumatoid synovium from tissue sections and eluates", *Arthritis Rheum.*, 24(1):71-79 (Jan. 1981); Forre, O. et al., "Augmented numbers of HLA-DR-positive T lymphocytes in the synovial fluid and synovial tissue of subjects with rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis: in vivo-activated T lymphocytes are potent stimulators in the mixed lymphocyte reaction", *Scand. J. Immunol.*, 15(2):227-231 (Feb. 1982); Van-Boxel, J.A. et al., "Predominantly T-cell infiltrate in rheumatoid synovial membranes", *N. Engl. J. Med.*, 293(11):517-520 (Sept. 1975); Kidd, B.L. et al., "Immunohistological features of synovitis in ankylosing spondylitis: a comparison with rheumatoid arthritis", *Ann. Rheum. Dis.*, 48(2):92-98 (Feb. 1989); Cush, J.J. et al., "Phenotypic analysis of synovial tissue and peripheral blood lymphocytes isolated from subjects with rheumatoid arthritis", *Arthritis Rheum.*, 31(10):230-238 (Oct. 1988); Laffon, A. et al., "Upregulated expression and function of VLA-4 fibronectin receptors on human activated T cells in rheumatoid arthritis", *J. Clin. Invest.*, 88(2):546-552 (Aug. 1991); およびKlareskog, L. et al., "Relationship between HLA DR expressing cells and T lymphocytes of different subsets in rheumatoid synovial tissue", *Scand. J. Immunol.*, 15(5):501-507 (May 1981)]。

10

20

30

40

50

ocyte reaction", *Scand. J. Immunol.*, 15(2):227-231 (Feb. 1982) ; およびFirestein, G.S. et al., "Quantitative analysis of cytokine gene expression in rheumatoid", *J. Immunol.*, 144(9):3347-3353 (May 1, 1990)]。

【0007】

滑膜の増殖および炎症が進むと、血管性の炎症性滑膜組織の膨張している塊は、パンヌスと呼ばれる。パンヌスは、関節軟骨に侵入し、骨を破壊する原因となる。活性化T細胞の産物は、パンヌスの形成および拡大を支援する駆動因子であると思われる [Zvaifler, N.J. et al., "Alternative models of joint destruction in rheumatoid arthritis", *Arthritis Rheum.*, 37(6):783-789 (Jun. 1994)]。

【0008】

リウマチ滑膜における単球 / マクロファージ様細胞および樹状細胞は、クラスII MHC および CD80 (B7-1) / CD86 (B7-2) などの共刺激分子の両方を発現し、推定上、抗原提示細胞として機能する [Balsa, A. et al., "Differential expression of the costimulatory molecules B7.1 (CD80) and B7.2 (CD86) in rheumatoid synovial tissue", *Br. J. Rheumatol.*, 35(1):33-37 (Jan. 1996) ; Liu, M.F. et al., "The presence of costimulatory molecules CD86 and CD28 in rheumatoid arthritis synovium", *Arthritis Rheum.*, 39(1):110-114 (Jan. 1996) ; Ranheim, E.A. et al., "Elevated expression of CD80 (B7/BB1) and other accessory molecules on synovial fluid mononuclear cell subsets in rheumatoid arthritis", *Arthritis Rheum.*, 37(11):1637-1646 (Nov. 1994) ; Sfikakis, P.P. et al., "Expression of CD28, CTLA4, CD80, and CD86 molecules in subjects with autoimmune rheumatic diseases: implications for immunotherapy", *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 83(3):195-198 (Jun. 1997) ; およびThomas, R. et al., "Functional differentiation of dendritic cells in rheumatoid arthritis: role of CD86 in the synovium", *J. Immunol.*, 156(8):3074-3086 (Apr. 15, 1996)]。CD28を発現する活性化CD4+T細胞は、リウマチ滑膜において顕著な浸潤細胞型であり、一般的に、クラスII MHC および共刺激分子を発現する細胞に隣接して見出される。これは、滑膜炎症の病因におけるT細胞活性化 / 共刺激の重要な役割を示唆する。これは、活性化T細胞が、滑膜細胞および破骨細胞との細胞間接触によって、または分泌サイトカインの同化によって、RAにおいて滑膜炎および骨破壊を駆動する際に重要な因子であるという実験的観察と一致している。まとめると、これらの観察は、活性化T細胞およびCD28を通して送達される共刺激シグナルがRAの免疫病理を駆動する際に重要な役割を果たすことを示唆する。

【0009】

RAの治療に対するアプローチは、疾患発症により有益な影響をもたらすために、薬物療法のその後の最適化を伴う、診断後早期の疾患修飾性抗リウマチ薬 (DMARD) 療法の開始に向けて発展してきた [Redlich, K. et al., "Rheumatoid Arthritis Therapy After Tumor Necrosis Factor and Interleukin-1 Blockade", *Arthritis Rheum.*, 40(12):3308-3319 (2003)]。しかしながら、UAを有する患者の治療のための標準的な治療は存在しない [Harrison, B.J. et al., "Natural remission in inflammatory polyarthritis: issues of definition and prediction", *Br. J. Rheumatol.*, 35:1096-1100 (1996)]。これは、大部分は、臨床医が、診察時に、一般的に使用される臨床的特徴に基づいてこれらの対象の予後およびRAの発症についてのその危険性を正確に決定することができないことによる。未分類関節炎は、自発的に寛解し、RAなどの分類されたリウマチ疾患に進行し、または未分類のままとなることがある [Quinn, M.A. et al., "Evaluation and management of early inflammatory polyarthritis", *Rheumatology*, Third Edition, MOSBY (Elsevier Limited), 885-891 (2003)]。DMARDは、通常、予後に関する不確実性のために、UAを有する対象において発症時に開始されない。その代わりに、NSAIDが伝統的に、用いられるべき最初の薬剤となり、その後、経口コルチコステロイドが用いられる。DMARDは、通常、関節炎の症状および徵候が、最初の2種類の介入に對して不応性である場合に使用される。したがって、「ピラミッド形の」アプローチが伝

10

20

30

40

50

統的に用いられてきた [Harrison, B.J. et al., "Natural remission in inflammatory polyarthritis: issues of definition and prediction", Br. J. Rheumatol., 35:1096-1100 (1996)]。しかしながら、不運にも、該アプローチは、患者が、疾患を修飾する可能性のある療法を開始する前に、関節損傷および関節破壊を発症することを可能にし得る。

【0010】

未分類関節炎の過程を本質的に変化させ、かつRAの発症を予防することが実証された、承認された抗リウマチ療法はない。TNFアルファを標的とする作用物質インフリキシマブが、短期過程のTNFアンタゴニスト療法の後に初期のRAの予防／寛解を目標とする臨床試験において研究されてきた。しかしながら、公開されたデータは、6ヶ月過程のTNFアンタゴニスト療法が、UAのRAへの進行を予防しないことを実証する [Saleem, B. et al., Rheumatology, Academic Unit of Musculoskeletal Disease, Leeds, United Kingdom, Ann. Rheum. Dis., 66(Suppl. II):186 (2007)]。

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

明らかに、RAを発症する危険性が高い未分類関節炎を有する対象に、選択的にT細胞活性化を標的とし、RAの発症を予防することによって、それらの疾患の過程を本質的に変化させるための機会を提供することができる治療の必要性がある。

20

【課題を解決するための手段】

【0012】

発明の概要

本発明は、UAを有する対象においてRAの発症を予防するまたは阻害するための方法であって、その必要のある対象に、有効量のCTLA4 Ig分子またはその医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。

【0013】

本発明は、UAを有する対象においてRAの発症を遅らせるまたは遅延させるための方法であって、その必要のある対象に、有効量のCTLA4 Ig分子またはその医薬組成物を投与することを含む方法をさらに提供する。

30

【0014】

本発明はまた、UAを有する対象を治療するための方法であって、その必要のある対象に、有効量のCTLA4 Ig分子またはその医薬組成物を投与することを含む方法をも提供する。

【0015】

本発明は、有効量のCTLA4 Ig分子または医薬組成物の投与であって、それにより、関節腫脹、関節圧痛、炎症、朝のこわばり、および疼痛ならびに構造的損傷を低下させ、続いて身体障害を減少させることを含め、疾患と関連する症状の少なくとも1つのUAを有する対象を軽減する投与を提供する。

【0016】

本発明の方法はまた、健康評価質問票(HAQ)および／または健康状態に関連する生活の質(SF-36)の手段によって評価されるように、UAを有する対象の身体機能を改善するために使用することができる。

40

【0017】

本発明の方法はまた、手首および手のびらんおよび骨髄浮腫スコアリングおよび／または滑膜炎スコアリングによって評価されるように、UAを有する対象において関節の構造的損傷を阻害するために使用することができる。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】図1は、CTLA4-Ig分子の発現カセットの一部のヌクレオチド配列(配列番号1)を示す。核酸によってコードされるアミノ酸配列(配列番号2)もまた示される

50

。該発現力セットから產生することができる C T L A 4 - I g 分子は、残基：(i) 配列番号 2 の 2 6 ~ 3 8 3 、(i i) 配列番号 2 の 2 6 ~ 3 8 2 、(i i i) 配列番号 2 の 2 7 ~ 3 8 3 、または(i v) 配列番号 2 の 2 6 ~ 3 8 2 、または所望により(v) 配列番号 2 の 2 5 ~ 3 8 2 、もしくは(v i) 配列番号 2 の 2 5 ~ 3 8 3 のアミノ酸配列を有する分子を含む。発現力セットは、以下の領域を含む：(a) オンコスタチン M シグナル配列(配列番号 1 のヌクレオチド 1 1 ~ 8 8 ; 配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 2 6) ; (b) ヒト C T L A 4 の細胞外ドメイン(配列番号 1 のヌクレオチド 8 9 ~ 4 6 3 ; 配列番号 2 のアミノ酸 2 7 ~ 1 5 1) ; (c) 改変ヒンジ領域(配列番号 1 のヌクレオチド 4 6 4 ~ 5 0 8 ; 配列番号 2 のアミノ酸 1 5 2 ~ 1 6 6) 、改変ヒト I g G 1 C H 2 ドメイン(配列番号 1 のヌクレオチド 5 0 9 ~ 8 3 8 ; 配列番号 2 のアミノ酸 1 6 7 ~ 2 7 6) 、およびヒト I g G 1 C H 3 ドメイン(配列番号 1 のヌクレオチド 8 3 9 ~ 1 1 5 9 ; 配列番号 2 のアミノ酸 2 7 7 ~ 3 8 3) を含む、ヒト I g G 1 定常領域の改変部分(配列番号 1 のヌクレオチド 4 6 4 ~ 1 1 5 9 ; 配列番号 2 のアミノ酸 1 5 2 ~ 3 8 3) 。

【図 2】図 2 は、実施例 I I I において記載される臨床研究において評価される、 R A の発症による中止までの時間を表す。

【発明を実施するための形態】

【0 0 1 9】

本明細書において利用されるように、

用語「 C T L A 4 - I g 」または「 C T L A 4 - I g 分子」または「 C T L A 4 I g 分子」は、区別なく使用され、 C T L A 4 細胞外ドメインまたはその部分および免疫グロブリン定常領域またはその部分を有する少なくとも 1 つのポリペプチドを含むタンパク質分子を指す。細胞外ドメインおよび免疫グロブリン定常領域は、野生型もしくは突然変異型でもよく、または改変されていてもよく、ヒトまたはマウスを含む哺乳動物のものでもよい。ポリペプチドは、追加のタンパク質ドメインをさらに含むことができる。 C T L A 4 - I g 分子はまた、二量体、四量体、および六量体などのポリペプチドの多量体形態を指すこともできる。 C T L A 4 - I g 分子はまた、 C D 8 0 および / または C D 8 6 に結合することもできる。

【0 0 2 0】

用語「 B 7 - 1 」は、 C D 8 0 を指し、用語「 B 7 - 2 」は、 C D 8 6 を指し、用語「 B 7 」は、 B 7 - 1 および B 7 - 2 (C D 8 0 および C D 8 6) の両方を指す。用語「 B 7 - 1 - I g 」または「 B 7 - 1 I g 」は、 C D 8 0 - I g を指し、用語「 B 7 - 2 - I g 」または「 B 7 - 2 I g 」は、 C D 8 6 - I g を指す。

【0 0 2 1】

一実施形態において、「 C T L A 4 I g 」は、残基：(i) 配列番号 2 の 2 6 ~ 3 8 3 、(i i) 配列番号 2 の 2 6 ~ 3 8 2 、(i i i) 配列番号 2 の 2 7 ~ 3 8 3 、もしくは(i v) 配列番号 2 の 2 7 ~ 3 8 2 、または所望により(v) 配列番号 2 の 2 5 ~ 3 8 2 もしくは(v i) 配列番号 2 の 2 5 ~ 3 8 3 のアミノ酸配列を有するタンパク質分子を指す。単量体形態において、これらのタンパク質は、「配列番号 2 の単量体」または「配列番号 2 の配列を有する」単量体と本明細書において呼ぶことができる。これらの配列番号 2 の単量体は、二量体化することができ、その結果、二量体の組み合わせは、たとえば(i) および(i) ; (i) および(i i) ; (i) および(i i i) ; (i) および(i v) ; (i) および(v) ; (i) および(v i) ; (i i) および(i i) ; (i i) および(i i i) ; (i i) および(i v) ; (i i i) および(v) ; (i i i) および(v i) ; (i i i i) および(i i i) ; (i i i i) および(i v) ; (i i i i) および(v) ; (i i i i) および(v i) ; (i i i i) および(v i) ; (i v) および(v) ; (v) および(v i) ; ならびに(v i) および(v i) を含むことができる。これらの異なる二量体の組み合わせはまた、互いに結合して、四量体 C T L A 4 I g 分子を形成することができる。これらの単量体、二量体、四量体、および他の多量体は、「配列番号 2 のタンパク質」または「配列番号 2 の配列を有する」タンパク質と本明細書において呼ぶことができる。(配列番号 2 において示さ

10

20

30

40

50

れる C T L A 4 I g をコードする D N A は、ブダペスト条約の規定の下、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション [A T C C (登録商標)] 、 1 0 8 0 1 U n i v e r s i t y B l v d . 、 M a n a s s a s 、 V A 2 0 1 1 0 - 2 2 0 9 に 1 9 9 1 年 5 月 3 1 日に寄託され、 A T C C (登録商標) 受入番号 A T C C (登録商標) 6 8 6 2 9 が与えられた；配列番号 2 において示される C T L A 4 I g を発現するチャイニーズハムスター卵巣 (C H O) 細胞株は、 A T C C (登録商標) 識別番号 C R L - 1 0 7 6 2 を有し、 1 9 9 1 年 5 月 3 1 日に寄託された）。

【 0 0 2 2 】

「薬物物質」は、最終薬物製品の処方において利用される出発材料を指す。典型的な C T L A 4 I g 薬物物質組成は、 2 0 m g / m l ~ 6 0 m g / m l のタンパク質濃度、 p H 6 ~ 8 および % H M W 種 < 5 % を含む。 10

【 0 0 2 3 】

「処方バルク溶液」は、凍結乾燥用のバイアルに充填する前の処方溶液または S C 注射用の注射器を充填する前の処方溶液などの、容器に充填前の最終処方を指す。

【 0 0 2 4 】

「薬物製品」は、凍結乾燥薬物製品のように、使用前に復元でき、液体薬物製品のように、使用前にさらに希釈でき、または S C 溶液薬物製品のように、そのままで利用できる、容器中にパッケージされた最終処方を指す。

【 0 0 2 5 】

「健康質問票評価 (H A Q) 」は、症状の疾患活動性について患者を評価するために使用される質問の一式を指す。これらの症状は、関節腫脹、関節圧痛、炎症、朝のこわばり、身体の健康および身体機能に関する自己記入質問票においてそれぞれの患者によって評価される疾患活動性および障害、医師によって評価される疾患活動性および障害、ならびに疼痛を含む [Fries, J.F. et al., J. Rheumatology, 9:789-793 (1982)] 。 20

【 0 0 2 6 】

「医学的転帰研究簡易型 - 3 6 (Medical Outcomes Study Short Form-36) (S F - 3 6) 」は、健康状態に関する生活の質 (H R Q O L) に対する、療法の効果を評価するために使用される形態を指す。 S F - 3 6 は、4つの身体的分野および4つの精神的分野 [身体機能、身体日常役割機能 (role-physical) 、体の疼痛、健康状態、活力、社会的機能、情動日常役割機能 (role emotional) 、および精神的健康] を包含する 3 6 項目からなる。これらの個々の分野は、 0 ~ 1 0 0 の範囲の、身体的および精神的構成要素サマリースコア (physical and mental component summary score) を導き出すために使用され、より高いスコアは、よりよい生活の質を示す。 30

【 0 0 2 7 】

「関節リウマチ (R A) の分類の 1 9 8 7 年改訂米国リウマチ協会 (A R A) 基準」は、下記の表 1 において記載される基準の一式を指す。分類目的のために、対象は、少なくとも 7 つの基準のうちの 4 つを満たす場合、 R A を有すると言われる。基準 1 ~ 4 は、少なくとも 6 週間存在しなければならない。

【 0 0 2 8 】

【表1】

表1 RAの分類の1987年改訂ARA基準	
基準	定義
1. 朝のこわばり	最大の改善の前に少なくとも1時間続く関節中および関節のまわりの朝のこわばり
2. 三ヵ所以上の関節領域の関節炎	医師によって観察される軟部組織腫脹または液を同時に有する、少なくとも3ヵ所の関節領域(骨の異常増殖のみではない)(14ヵ所の可能性のある関節領域は、[右または左の]PIP関節、MCP関節、手首関節、肘関節、膝関節、足関節、およびMTP関節である)
3. 手関節の関節炎	手首関節、MCP関節、またはPIP関節における、上記のように腫脹した、少なくとも1つの関節領域
4. 対称性関節炎	身体の両側の同じ関節領域(基準2と同様に)の同時の併発(PIP関節、MCP関節、またはMTP関節の両側性の併発は、絶対的な対称性でなくても認められる)
5. リウマチ小結節	医師によって観察される骨突出部もしくは伸筋表面上のまたは傍関節領域における皮下小結節
6. 血清リウマチ因子	正常対照対象の5パーセント未満において陽性である任意の方法による、血清「リウマチ因子」の異常量の実証
7. 放射線検査上の変化	罹患関節に局在化するまたは関節に隣接して最も顕著なびらんまたは明白な骨脱石灰化を含んでいなければならぬ、PA手および手首放射線写真上でのRAの典型的な変化(変形性関節症の変化のみでは適格でない)

略語: ARA、米国リウマチ協会(American Rheumatism Association); PIP、近位指節間; MCP、中手指節関節; MTP、中足趾節関節; RA、関節リウマチ; PA、後前方向*。

【0029】

用語「A C R」は、米国リウマチ学会によって確立された基準に基づく臨床応答研究を指す。A C Rコアデータセットおよび応答定義は、下記の表2において記載される。圧痛関節数および腫脹関節数において20パーセントの改善があり、かつ患者および医師による全体的な疾患変化、疼痛、身体障害、およびC反応性タンパク質(C R P)または急送安全性報告(Expedited Safety Report)(E S R)などの急性相反応物質などの測定される5つの残りの症状のうちの3つにおいて20パーセントの改善があった場合、対象は、「A C R 2 0」基準を満たす[Felson, D.T. et al., Arthritis Rheum., 36:729-740(1993); Felson, D.T. et al., Arthritis Rheum., 38:1-9(1995)]。同様に、圧痛関節数および腫脹関節数においてそれぞれ50または70パーセントの改善があり、かつ患者および医師による全体的な疾患変化、疼痛、身体障害、およびC R PまたはE S Rなどの急性相反応物質などの測定される5つの残りの症状のうちの3つにおいてそれぞれ50または70パーセントの改善があった場合、対象は、「A C R 5 0」または「A C R 7 0」基準を満たす。

【0030】

10

20

30

40

【表2】

表2 ACRコアデータセットおよび応答の定義	
ACRコアデータセットの構成要素	有効な測定ツール
1. 圧痛関節数	標準化された68の関節数
2. 肿脹関節数	標準化された66の関節数
3. 対象による疼痛の全体的な評価	0~100mmの視覚的アナログスケール
4. 疾患活動性に関する対象の全体的な評価	0~100mmの視覚的アナログスケール
5. 疾患活動性に関する医師の全体的な評価	0~100mmの視覚的アナログスケール
6. 身体機能に関する対象の評価	健康評価質問票(HAQ)
7. 急性相反応物質値	ESR(Westergren)およびC反応性タンパク質

10

【0031】

2カ所以上の関節の症候性臨床的滑膜炎を有し、かつ表1において記載される米国リウマチ協会(1987)のRAの分類についての少なくとも1つであって、3つ以下の基準を有する場合、人は、未分類関節炎(UA)と診断される。

20

【0032】

本明細書において使用される場合、UAを「治療する」または「治療すること」は、医薬療法または他の療法によってUAを管理することを意味する。UAの治療は、疾患と関連する免疫媒介性の事象を抑制してもよく、疾患もしくは障害の症状を回復させてもよく、疾患の重症度を低下させてもよく、疾患進行の過程を変化させてもよく、および/または疾患を回復させもしくは治癒させてもよい。たとえば、UAを治療することは、免疫応答を調節することによって、たとえば、B7陽性細胞との機能性CTLA4および/またはCD28陽性細胞の相互作用を調節することによって達成することができる。別法として、UAの治療は、本明細書において記載される組成物の使用を通して疾患がRAに進行するのを予防するまたは阻害することによって達成され得る。たとえば、UAの治療は、MRIによって測定される関節びらんの阻害を含む。

30

【0033】

血清サンプルは、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)によってCTLA4 Igについて分析することができる。

【0034】

CTLA4-Ig 単量体および多量体

CTLA4-Ig分子は、たとえば、単量体、二量体、三量体、四量体、五量体、六量体、または他の多量体の形態をしたCTLA4-Igタンパク質を含むことができる。CTLA4-Ig分子は、CTLA4の少なくとも1つの細胞外ドメインおよび免疫グロブリン定常領域とのタンパク質融合を含むことができる。CTLA4-Ig分子は、CTLA4細胞外ドメインおよび免疫グロブリン定常領域の配列に関して、たとえば、野生型または変異配列を有することができる。CTLA4-Ig単量体単独、または二量体、四量体、もしくは他の多量体の形態は、グリコシル化することができる。

40

【0035】

いくつかの実施形態において、本発明は、少なくともある一定の割合の二量体または他の多量体分子を有するCTLA4-Ig分子の集団を提供する。たとえば、本発明は、CTLA4-Ig二量体が90%、95%、96%、97%、98%、99%、または99.5%を超えるCTLA4-Ig分子集団を提供する。一実施形態において、本発明は、約95%~約99.5%のCTLA4-Ig二量体および約0.5%~約5%のCTLA4-Ig四量体を含むCTLA4-Ig分子集団を提供する。他の実施形態において、C

50

T L A 4 - I g 分子集団は、約 9 8 % の C T L A 4 - I g 二量体、約 1 . 5 % の C T L A 4 - I g 四量体、および約 0 . 5 % の C T L A 4 - I g 单量体を含む。

【 0 0 3 6 】

一実施形態において、本発明は、 C T L A 4 - I g 单量体分子を実質的に含まない C T L A 4 - I g 分子の集団を提供する。 C T L A 4 - I g 单量体分子を実質的に含まないことは、 1 % 、 0 . 5 % 、または 0 . 1 % 未満の单量体を有する C T L A 4 - I g 分子の集団を指すことができる。

【 0 0 3 7 】

一実施形態において、本発明は、四量体、六量体などの二量体よりも大きな C T L A 4 - I g 多量体を実質的に含まない C T L A 4 - I g 分子の集団を提供する。二量体よりも大きな C T L A 4 - I g 多量体分子を実質的に含まないことは、二量体形態よりも大きな C T L A 4 - I g 多量体を 6 % 、 5 % 、 4 % 、 3 % 、 2 % 、 1 % 、 0 . 5 % 、または 0 . 1 % 未満有する C T L A 4 - I g 分子の集団を指すことができる。

【 0 0 3 8 】

一実施形態において、 C T L A 4 - I g 单量体分子は、たとえば (i) 配列番号 2 の 2 6 ~ 3 8 3 、 (i i) 配列番号 2 の 2 6 ~ 3 8 2 (i i i) 配列番号 2 の 2 7 ~ 3 8 3 、もしくは (i v) 配列番号 2 の 2 7 ~ 3 8 2 、または所望により (v) 配列番号 2 の 2 5 ~ 3 8 2 もしくは (v i) 配列番号 2 の 2 5 ~ 3 8 3 のアミノ酸配列を有することができる。配列番号 1 の核酸配列を含む発現力セットが C H O 細胞において発現される場合、発現された主な单量体形態は、メチオニンの N 末端アミノ酸残基 (配列番号 2 の残基 2 7) を有し、これは、野生型ヒト C T L A 4 の N 末端アミノ酸残基に相当する。しかしながら、配列番号 1 は、オンコスタチン M シグナル配列についてのコード配列 (配列番号 1 のヌクレオチド 1 1 ~ 8 8) も含むので、配列番号 1 に由来する発現タンパク質は、オンコスタチン M シグナル配列を含む。シグナル配列は、細胞質からのタンパク質輸送または細胞からの分泌のプロセスの間に発現タンパク質から切断される。しかし、切断は、アミノ酸残基 2 5 および 2 6 の間の切断 (残基 2 6 の N 末端をもたらす、つまり「 A 1 a 変異体」) 、またはアミノ酸残基 2 6 および 2 7 の間の切断 (残基 2 7 の N 末端をもたらす) とは対照的に、アミノ酸残基 2 4 および 2 5 の間の切断 (残基 2 の N 末端をもたらす、つまり「 M e t - A 1 a 変異体」) などの N 末端変異体をもたらすことができる。たとえば、 M e t - A 1 a 変異体は、約 1 % で、 C T L A 4 - I g 分子の混合物中に存在することができる。 A 1 a 変異体は、約 8 ~ 1 0 % で C T L A 4 - I g 分子の混合物中に存在することができる。さらに、配列番号 1 に由来する発現タンパク質は、不完全なプロセシングのために C 末端変異体を有することができる。主な C 末端は、配列番号 2 の残基 3 8 2 のグリシンである。 C T L A 4 - I g 分子の混合物において、 C 末端 (配列番号 2 の残基 3 8 3) にリジンを有する单量体が、たとえば約 4 ~ 5 % で存在することができる。

【 0 0 3 9 】

C T L A 4 - I g 单量体分子は、ヒト C T L A 4 の細胞外ドメインを含むことができる。一実施形態において、細胞外ドメインは、配列番号 2 のアミノ酸 2 7 ~ 1 5 1 をコードする配列番号 1 のヌクレオチド 8 9 ~ 4 6 3 のヌクレオチド配列を含むことができる。他の実施形態において、細胞外ドメインは、ヒト C T L A 4 の変異配列を含むことができる。他の実施形態において、細胞外ドメインは、保存的アミノ酸変化が生じるように、配列番号 1 のヌクレオチド 8 9 ~ 4 6 3 に対してヌクレオチド変化を含むことができる。他の実施形態において、細胞外ドメインは、配列番号 1 のヌクレオチド 8 9 ~ 4 6 3 と、少なくとも 7 5 % 、 8 0 % 、 8 5 % 、 9 0 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % または 9 9 % 同一のヌクレオチド配列を含むことができる。

【 0 0 4 0 】

C T L A 4 - I g 单量体分子は、ヒト免疫グロブリンの定常領域を含むことができる。該定常領域は、定常領域の一部とすることができます、該定常領域は、野生型または変異配列を有することができる。該定常領域は、ヒト I g G 1 、 I g G 2 、 I g G 3 、 I g G 4 、 I g M 、 I g A 1 、 I g A 2 、 I g D または I g E に由来するものとすることができます。

10

20

30

40

50

該定常領域は、免疫グロブリンの軽鎖または重鎖に由来するものとすることができます。定常領域が、IgG分子、IgD分子またはIgA分子に由来するものである場合、定常領域は、1つまたは複数の以下の定常領域ドメインを含むことができる：CL、CH1、ヒンジ、CH2、またはCH3。該定常領域がIgMまたはIgEに由来するものである場合、該定常領域は、1つまたは複数の以下の定常領域ドメインを含むことができる：CL、CH1、CH2、CH3またはCa4。一実施形態において、該定常領域は、IgG、IgD、IgA、IgMまたはIgEに由来する1つまたは複数の定常領域ドメインを含むことができる。

【0041】

一実施形態において、CTLA4-Ig单量体分子は、改変ヒトIgG1ヒンジ領域（配列番号1のヌクレオチド464～508；配列番号2のアミノ酸152～166）を含み、ここに、配列番号2のアミノ酸残基156、162および165のセリンは、野生型配列に存在するシステインから操作されている。

【0042】

一実施形態において、CTLA4-Ig单量体分子は、改変ヒトIgG1 CH2領域および野生型CH3領域を含む（配列番号1のヌクレオチド509～838および配列番号2のアミノ酸167～276を有する改変ヒトIgG1 CH2ドメイン；配列番号1のヌクレオチド839～1159および配列番号2のアミノ酸277～383を有するヒトIgG1 CH3ドメイン）。

【0043】

一実施形態において、CTLA4-Ig分子集団は、2006年8月22日に発行された米国特許第7,094,874号の図7、8または9のいずれか1つまたは複数、ならびに米国特許出願公開第2003/0083246号および第2004/0022787号（出典明示により本明細書の一部とされる）において示される配列を有する单量体を含む。

【0044】

一実施形態において、CTLA4-Ig四量体分子は、2つのペアまたは2つの二量体のCTLA4-Igポリペプチドを含み、ここに、それぞれのポリペプチドは、以下のアミノ酸配列のうちの1つを有する：（i）配列番号2の26～383、（ii）配列番号2の26～382、（iii）配列番号2の27～383、もしくは（iv）配列番号2の27～382、または所望により（v）配列番号2の25～382もしくは（vi）配列番号2の25～383。ポリペプチドのペアまたは二量体のそれぞれのメンバーは、他のメンバーと共有結合し、ポリペプチドの2つのペアは、互いに非共有結合し、それによって四量体を形成する。そのような四量体分子は、CD80またはCD86に結合することができる。

【0045】

他の実施形態において、そのような四量体分子は、CD80またはCD86に対するCTLA4-Ig二量体（この单量体は、上記のアミノ酸配列のうちの1つを有する）の結合アビディティーよりも少なくとも2倍大きなアビディティーで、CD80またはCD86に結合することができる。他の実施形態において、そのような四量体分子は、CD80またはCD86に対する野生型CTLA4の結合親和性または結合アビディティーよりも少なくとも2倍大きなアビディティーで、CD80またはCD86に結合することができる。そのようなより大きなアビディティーは、下記に記載されるように、免疫障害および他の疾患を治療する際のより高い効能に寄与することができる。さらに、より大きいまたは改善されたアビディティーは、薬剤のより高い効力の結果をもたらすことができる。たとえば、CTLA4-Ig四量体を含む治療組成物は、CTLA4-Ig单量体を有する同じ量の治療組成物よりも高いアビディティーを有し、そのため、より高い効力を有するであろう。他の実施形態において、そのような四量体分子は、CTLA4-Ig二量体（この单量体は、上記のアミノ酸配列のうちの1つを有する）と比較して、T細胞増殖に対して少なくとも2倍大きな阻害を有することができる。他の実施形態において、そのよう

10

20

30

40

50

な四量体分子は、野生型 C T L A 4 分子と比較して、T 細胞増殖に対して少なくとも 2 倍大きな阻害を有することができる。

【 0 0 4 6 】

T 細胞増殖は、当技術分野において知られている標準的なアッセイを使用して測定することができる。たとえば、T 細胞増殖を評価するための最も一般的な方法のうちの 1 つは、T C R に対する抗原またはアゴニスト抗体を介して T 細胞を刺激すること、およびたとえば、増殖 T 細胞におけるトリチウムチミジン (3 H - T d R) の取り込みまたは培養物の中に増殖 T 細胞によって放出されるサイトカインの量を測定することである。それによって、T 細胞の活性化または増殖に際しての C T L A 4 - I g 分子の阻害効果を測定することができる。

10

【 0 0 4 7 】

C T L A 4 - I g 分子の親和性は、C D 8 0 、 C D 8 6 、または C D 8 0 I g 融合タンパク質もしくは C D 8 6 I g 融合タンパク質を含む単一のリガンドに対して分子が結合する強度である。リガンドに対する C T L A 4 - I g の親和性は、たとえば、表面プラズモン技術に基づく結合相互作用分析 (B I A) を使用することによって測定することができる。結合強度の測定の他に、それは、結合速度定数および解離速度定数などの結合反応速度のリアルタイムの決定を可能にする。表面マトリックスが共有結合される、薄い金属フィルムでコートされたスライドガラスからなるセンサーチップは、相互作用物のうちの 1 つ、つまり C T L A 4 - I g またはリガンドのうちの 1 つでコートされる。他方の相互作用物を含有する溶液がその表面上に流される。連続的な光線が表面の反対側に向けられ、その反射角が測定される。リガンドへの C T L A 4 - I g の結合において、(センサーの反応側に近い媒体の屈折率に依存し、次いで、媒体中の溶解物質の濃度に直接相関するので、) 光線の共鳴角度が変化する。次いで、コンピューターの支援によって分析される。

20

【 0 0 4 8 】

一実施形態において、C T L A 4 - I g 結合実験は、B I A c o r e 機器 (B I A c o r e A g 、 U p p s a l a 、 S w e d e n) での表面プラズモン共鳴 (S P R) によって実行することができる。C T L A 4 - I g は、B I A c o r e センサーチップ上のカルボキシメチル化デキストランマトリックスに第 1 級アミン基によって共有結合させ、それによって、C T L A 4 - I g をセンサーチップに固定することができる。別法では、抗定常領域抗体は、I g 断片を介してセンサー表面に間接的に C T L A 4 - I g を固定するために使用することができる。その後、リガンドへの C T L A 4 - I g 結合を測定するために、リガンドをチップに加える。親和性測定は、たとえば van der Merwe, P. et al., J. Exp. Med., 185(3):393-404 (1997) において記載されるように実行することができる。

30

【 0 0 4 9 】

C T L A 4 - I g 分子のアビディティーも測定することができる。アビディティーは、2 つの分子または細胞が多数の部位で互いに結合する強度の合計として定義することができる。アビディティーは、そのリガンドに対して分子上の 1 つの部位に結合する強度である親和性とは異なる。理論によって拘束されることなく、より高いアビディティーの C T L A 4 - I g 分子は、T 細胞の増殖および活性化に対する C T L A 4 - I g 分子による阻害力の増加に至ることができる。アビディティーは、たとえば、2 つのカテゴリーの固相アッセイによって測定することができる： a) 競合的阻害アッセイおよび b) 溶出アッセイ。それらの両方において、リガンドを固体支持体に付着させる。競合的阻害アッセイにおいて、C T L A 4 - I g 分子を次いで、様々な濃度の遊離リガンドと一緒に、一定濃度で溶液中に添加し、固相結合を 50 % 阻害するリガンドの量を決定する。必要とされるリガンドが少ないほど、アビディティーは強くなる。溶出アッセイにおいて、リガンドは溶液中に添加される。平衡状態を得た後に、カオトロープまたは変性剤 (たとえばイソチオシアネート、尿素、もしくはジエチルアミン) が、C T L A 4 - I g / リガンド相互作用を破壊するために様々な濃度で添加される。溶出に抵抗する C T L A 4 - I g の量は、E L I S A を用いてその後決定される。アビディティーが高いほど、より多くのカオトロップ剤が、一定の量の C T L A 4 - I g を溶出するのに必要とされる。C T L A 4 - I g

40

50

分子の不均質混合物の相対的アビディティーは、結合 C T L A 4 - I g 分子の 50 % を溶出するために必要とされる溶出剤の濃度と等しいアビディティーアイデックス (A I) として表現することができる。厳密なデータ分析は、様々な濃度の溶出剤で溶出された C T L A 4 - I g の割合を決定することによって実行することができる。

【 0 0 5 0 】

本発明の C T L A 4 I g 分子を產生するための方法

C T L A 4 I g 分子の発現は、原核細胞におけるものとすることができます。原核生物は、細菌の様々な株によって最も頻繁に代表される。細菌は、グラム陽性細菌またはグラム陰性細菌であってもよい。典型的には、イー・コリなどのグラム陰性細菌が好ましい。他の微生物の株も使用することができる。

10

【 0 0 5 1 】

C T L A 4 I g 分子をコードする、上記に記載される配列は、イー・コリなどの原核細胞において外来性配列を発現するために設計されるベクターの中に挿入することができる。これらのベクターは、リボソーム結合部位配列に加えて、所望によりオペレーターと共に、転写開始のためのプロモーターを含むように本明細書において規定される、一般的に使用される原核生物のコントロール配列を含むことができ、ベータラクタマーゼ (ペニシリナーゼ) プロモーター系およびラクトース (l a c) プロモーター系 [Chang et al., Nature, 198:1056 (1977)]、トリプトファン (t r p) プロモーター系 [Goeddel et al., Nucleic Acids Res., 8:4057 (1980)]、ならびにラムダ由来 P_L プロモーターおよび N 遺伝子リボソーム結合部位 [Shimatake et al., Nature, 292:128 (1981)] のような一般的に使用されるプロモーターを含むことができる。

20

【 0 0 5 2 】

そのような発現ベクターはまた、ベクターが、細菌中で複製することができ、プラスミドを保有する細胞がアンピシリンまたはカナマイシンなどの抗生物質の存在下において成長させる場合に選択することができるよう、複製開始点および抗生物質に対する抵抗性を付与するベータラクタマーゼ遺伝子またはネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子などの選択マーカーを含む。

20

【 0 0 5 3 】

発現プラスミドは、C a C l₂ - ショック [Cohen, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 69: 2110 (1972) および Sambrook et al., eds., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Press (1989)] ならびにエレクトロポレーションを含むが、これらに限定されない様々な標準的な方法を介して原核細胞の中に導入することができる。

30

【 0 0 5 4 】

本発明の実施に従って、真核細胞もまた、適した宿主細胞である。真核細胞の例は、初代または不死化にかかわらず、任意の動物細胞、酵母 [たとえばサッカロミセス・セレビシエ (Saccharomyces cerevisiae)、シゾサッカロミセス・ポンベ (Schizosaccharomyces pombe)、およびピキア・パストリス (Pichia pastoris)]、ならびに植物細胞を含む。骨髄腫細胞、C O S 細胞、および C H O 細胞は、宿主として使用される動物細胞の例である。特定の C H O 細胞は、D G 4 4 [Chasin et al., Som. Cell. Molec. Genet., 1 2:555-556 (1986); Kolkek, Biochemistry, 36:10901-10909 (1997)]、C H O - K 1 [ATCC (登録商標) 第 C C L - 6 1 号]、C H O - K 1 T e t - O n 細胞株 (C l o n t e c h)、E C A C C 8 5 0 5 0 3 0 2 で指定される C H O (C A M R、S a l i s b u r y、W i l t s h i r e、U K)、C H O クローン 1 3 (G E I M G、G e n o v a、I T)、C H O クローン B (G E I M G、G e n o v a、I T)、E C A C C 9 3 0 6 1 6 0 7 で指定される C H O - K 1 / S F (C A M R、S a l i s b u r y、W i l t s h i r e、U K)、ならびに E C A C C 9 2 0 5 2 1 2 9 で指定される R R - C H O K 1 (C A M R、S a l i s b u r y、W i l t s h i r e、U K) を含むが、これらに限定されない。例示的な植物細胞は、タバコ (全植物、細胞培養物、またはカルス)、トウモロコシ、ダイズ、およびイネの細胞を含む。トウモロコシ、ダイズ、およびイ

40

50

ネの種子も許容可能である。

【0055】

上記の C T L A 4 I g 分子をコードする核酸配列はまた、真核生物宿主において外来性配列を発現するように設計されるベクターの中に挿入することができる。ベクターの調節エレメントは、特定の真核生物宿主によって変わり得る。

【0056】

発現ベクターにおける使用のための、一般的に使用される真核生物コントロール配列は、たとえば C M V プロモーター (C D M 8 ベクター) およびトリ肉腫ウイルス (A S V) (L N ベクター) などの、哺乳動物細胞と適合性であるプロモーターおよびコントロール配列を含む。他の一般的に使用されるプロモーターは、シミアンウイルス 40 (S V 4 0) に由来する初期プロモーターおよび後期プロモーター [Fiers et al., Nature, 273: 113 (1973)] またはポリオーマウイルス、アデノウイルス 2 、およびウシパピローマウイルスに由来するものなどの他のウイルス性プロモーターを含む。 h M T I I などの誘発性プロモーター [Karin et al., Nature, 299:797-802 (1982)] も使用してもよい。

【0057】

真核生物において C T L A 4 I g 分子を発現するためのベクターはまた、エンハンサー領域と呼ばれる配列を保有してもよい。これらは、遺伝子発現を最適化するのに重要であり、プロモーター領域の上流または下流に見つけられる。

【0058】

真核生物宿主細胞用の発現ベクターの例は、哺乳動物宿主細胞用のベクター (たとえば B P V - 1 、 p H y g 、 p R S V 、 p S V 2 、 p T K 2 (M a n i a t i s) ; p I R E S (C l o n t e c h) ; p R c / C M V 2 、 p R c / R S V 、 p S F V 1 (L i f e T e c h n o l o g i e s) ; p V P a k c ベクター、 p C M V ベクター、 p S G 5 ベクター (S t r a t a g e n e)) 、レトロウイルスベクター [たとえば p F B ベクター (S t r a t a g e n e)] 、 p C D N A - 3 (I n v i t r o g e n) またはその改変形態、アデノウイルスベクター；アデノ随伴ウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、酵母ベクター [たとえば p E S C ベクター (S t r a t a g e n e)] を含むが、これらに限定されない。

【0059】

C T L A 4 I g 分子をコードする核酸配列は、真核生物宿主細胞のゲノムの中に組み込むことができ、宿主ゲノム複製物として複製することができる。別法として、 C T L A 4 I g 分子を保有するベクターは、染色体外複製を可能にする複製開始点を含有することができる。

【0060】

サッカロミセス・セレビシエにおいて核酸配列を発現するために、 2 μ の環の内因性酵母プラスミドに由来する複製開始点を使用することができる [Broach, Meth. Enzymol., 101:307 (1983)] 。別法として、自律複製を促進することができる酵母ゲノムに由来する配列を、使用することができる [たとえば Stinchcomb et al., Nature, 282:39 (1979) ; Tschemper et al., Gene, 10:157 (1980) ; および Clarke et al., Meth. Enzymol., 10 1:300 (1983) を参照されたい] 。

【0061】

酵母ベクター用の転写コントロール配列は、解糖酵素の合成のためのプロモーターを含む [Hess et al., J. Adv. Enzyme Reg., 7:149 (1968) および Holland et al., Biochemistry, 17:4900 (1978)] 。当技術分野において知られている追加のプロモーターは、 C D M 8 ベクターにおいて提供される C M V プロモーター [Toyama et al., FEBS, 268:217-21 (1990)] ; 3 - ホスホグリセレートキナーゼについてのプロモーター [Hitzeman et al., J. Biol. Chem., 255:2073 (1980)] 、および他の解糖酵素のためのものを含む。

【0062】

他のプロモーターは、それらを環境的刺激または細胞の成長培地によって調節することができるので、誘発性である。これらの誘発性プロモーターは、熱ショックタンパク質、

10

20

30

40

50

アルコールデヒドロゲナーゼ2、イソシトクロムC (isocytochrome C)、酸性ホスファターゼ、窒素異化と関連する酵素、ならびにマルトースおよびガラクトースの利用を担う酵素についての遺伝子に由来するものを含む。

【0063】

調節配列はまた、コード配列の3'末端に位置し得る。これらの配列は、メッセンジャーRNAを安定化するために作用し得る。そのようなターミネーターは、いくつかの酵母由来遺伝子および哺乳動物遺伝子において、コード配列に続く3'非翻訳領域において見つけられる。

【0064】

植物および植物細胞用の例示的なベクターは、アグロバクテリウムT_iプラスミド、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)、およびトマトゴールデンモザイクウイルス(TGMV)を含むが、これらに限定されない。

【0065】

哺乳動物細胞は、リン酸カルシウムの存在下におけるトランスフェクション、マイクロインジェクション、エレクトロポレーション、またはウイルス性ベクターを用いる形質導入を介するものを含むが、これらに限定されない方法によって形質転換することができる。

【0066】

植物ゲノムおよび酵母ゲノムの中に外来性DNA配列を導入するための方法は、(1) 単一細胞もしくはプロトプラストの中へのDNAのマイクロインジェクション、DNAの存在下においてガラスビーズを用いる細胞のボルテックス、または細胞もしくはプロトプラストの中へのDNAでコートしたタングステンもしくはDNAでコートした金の球の撃ち込みなどの機械的な方法；(2) ポリエチレングリコール処理もしくは高電圧電気パルス(エレクトロポレーション)にかけることによって細胞膜を高分子に対して浸透性にすることによるDNAの導入；または(3) 細胞膜に融合するリポソーム(cDNAを含有する)の使用を含む。

【0067】

米国特許出願公開第2005/0019859号および米国特許第7,332,303号は、動物または哺乳動物細胞培養物による、本発明のタンパク質、特に、組換え糖タンパク質産物の産生のためのプロセスを教示し、これらは、出典明示により本明細書に組み込まれる。

【0068】

細胞培養プロセスのタンパク質産生フェーズに続き、CTL4 Ig分子は、当業者によって理解される技術を使用して、細胞培養培地から回収される。特に、CTL4 Ig分子は、分泌ポリペプチドとして培養培地から回収される。

【0069】

培養培地は、細胞破片および細胞粒子状物質を除去するために最初に遠心分離される。望ましいタンパク質は、続いて、当技術分野において十分に確立された以下の非限定的な精製手順を用いて、DNA混入物、可溶性タンパク質、およびポリペプチドから精製される：SDS-PAGE；硫酸アンモニウム沈殿；エタノール沈殿；免疫親和性カラムまたはイオン交換カラム上での分画；逆相HPLC；シリカまたはQAEもしくはDEAEなどの陰イオン交換樹脂上でのクロマトグラフィー；クロマトフォーカシング；たとえばSEPHADEX(登録商標)G-75カラムを使用するゲルfiltration；およびIgGなどの混入物を除去するためのプロテインA SEPHAROSE(登録商標)カラム。フェニルメチルスルホニルフルオライド(PMSF)などのプロテアーゼ阻害剤またはプロテアーゼ阻害剤カクテルミックスの添加もまた、精製の間にタンパク質分解性の分解を阻害するのに有用となり得る。当業者は、対象とするタンパク質、たとえば糖タンパク質に適した精製方法は、組換え細胞培養における発現に際して、タンパク質の特徴の変化を引き起こすための変更を必要とし得ることを認識するであろう。

【0070】

10

20

30

40

50

糖タンパク質の炭水化物基を選択する精製技術および精製方法もまた、本発明の中で有用である。たとえば、そのような技術は、陽イオン交換樹脂または陰イオン交換樹脂を使用するHPLCまたはイオン交換クロマトグラフィーを含み、より塩基性のまたはより酸性の画分は、どの炭水化物が選択されているかに依存して収集される。そのような技術の使用はまた、混入物を同時に除去することもできる。

【0071】

精製方法は、哺乳動物細胞株の細胞培養培地において存在する可能性のあるウイルスおよび/またはレトロウイルスを不活性化および/または除去する追加の工程をさらに含むことができる。尿素もしくはグアニジンなどのカオトロープ、洗浄剤、追加の限外濾過工程/ダイアフィルトレーション工程、イオン交換クロマトグラフィーもしくはサイズ排除クロマトグラフィーなどの従来の分離、極度のpH、熱、プロテアーゼ、有機溶媒、またはその任意の組み合わせを用いる処理を含むが、これらに限定されない多くのウイルスクリアンス工程が利用可能である。

10

【0072】

精製CTLA4 Ig分子は、保存またはさらなるプロセシング前に濃縮およびバッファー交換を必要とする。Pall Filtron TFFシステムは、濃縮し、前の精製カラムに由来する溶出バッファーを薬物物質に望ましい最終バッファーと交換するために使用することができる。

20

【0073】

一態様において、濃縮され、ダイアフィルトレーション工程にかけられた精製CTLA4 Ig分子は、2L BIOTAINER（登録商標）ボトル、50Lバイオプロセスバッグ、または他の適した容器の中に充填することができる。そのような容器中のCTLA4 Ig分子は、凍結前に2~8で約60日間、保存することができる。2~8での精製CTLA4 Ig分子の長期にわたる保存は、HMW種の比率の増加に至り得る。そのため、長期保存のために、CTLA4 Ig分子は、保存前に約-70で凍結し、約-40の温度で保存することができる。凍結温度は、約-50から約-90まで変えることができる。凍結時間は、変えることができ、大部分は、CTLA4 Ig分子を含有する容器の容量、およびフリーザー中に積まれる容器の数に依存する。たとえば、一実施形態において、CTLA4 Ig分子は、2L BIOTAINER（登録商標）ボトル中にある。フリーザー中への4本未満の2L BIOTAINER（登録商標）ボトル中の積み込みは、約14~少なくとも18時間の凍結時間を必要とし得る。少なくとも4本のボトルの積み込みは、約18~少なくとも24時間の凍結時間を必要とし得る。凍結CTLA4 Ig分子を有する容器は、約-35~約-55の温度で保存される。約-35~約-55の温度での保存時間は、変えることができ、18時間ほどの短いものとすることができます。凍結薬物物質は、薬物製品の処方をコントロールするように解凍することができる。

30

【0074】

同時係属中の2005年12月20日に出願された米国特許出願第60/752,267号および2006年12月19日に出願されたPCT/US2006/049074は、動物または哺乳動物細胞培養物による、本発明のタンパク質、特に組換え糖タンパク質産物の產生のためのプロセスを教示し、これは、出典明示によって本明細書に組み込まれる。

40

【0075】

医薬組成物

本発明の方法は、当業者らに知られている許容可能な担体またはアジュバントと混合されたCTLA4 Ig分子を含む医薬組成物を利用する。医薬組成物は、好ましくは、CTLA4 Ig分子と組み合わせた場合、分子の活性を保持し、対象の免疫系と非反応性である任意の物質を含む適した担体およびアジュバントを含む。これらの担体およびアジュバントは、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、ヒト血清アルブミンなどの血清タンパク質、リン酸などのバッファー物質、グリシン、ソルビン酸、ソ

50

ルビン酸カリウム、飽和植物性脂肪酸の部分的なグリセリド混合物、リン酸バッファー生理食塩水溶液、水、エマルション（たとえば油／水エマルション）、硫酸プロタミン、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩などの塩または電解質、コロイドシリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロースペースの物質、およびポリエチレングリコールを含むが、これらに限定されない。他の担体はまた、滅菌溶液；コートされたタブレットを含むタブレット、およびカプセルをも含む。典型的には、そのような担体は、デンプン、ミルク、砂糖（たとえばシュークロース、グルコース、マルトース）、ある種の粘土、ゼラチン、ステアリン酸もしくはその塩、ステアリン酸マグネシウムもしくはステアリン酸カルシウム、タルク、植物脂もしくは植物油、ゴム、グリコール、または他の知られている賦形剤などの賦形剤を含有する。そのような担体はまた、香料および色素添加物または他の成分を含んでいてもよい。そのような担体を含む組成物は、よく知られている従来の方法によって処方される。そのような組成物はまた、たとえばリポソームなどの様々な脂質組成物内およびポリマーマイクロスフェアなどの様々なポリマー組成物中に処方することができる。

10

【0076】

可溶性CTLA4分子を含む処方は、同時係属中の2005年12月20日に出願された米国仮特許出願第60/752,150号および2006年12月19日に出願されたPCT/US2006/062297において記載され、これらは、本出願の中に参照によって本明細書に組み込まれる。同時係属中の米国仮特許出願第60/752,150号において記載されるように、可溶性CTLA4分子は、IVによる適用および皮下の適用のために製剤することができる。手短に言えば、適した皮下(SC)製剤は、水性担体において、安定化レベルの糖と組み合わせて、少なくとも100mg/mlのタンパク質濃度のCTLA4Ig分子を含む。

20

【0077】

あらかじめ充填された注射器を介して送達されるCTLA4Ig SC薬物製品の例は、下記の表3において提供される。

【0078】

【表3】

表3 CTLA4Ig SC薬物製品、125mg/ml(125mg/注射器)の組成	
構成要素	量(mg/注射器)
CTLA4Ig	125
シュークロース	170
ポロキサマー188	8.0
リン酸ナトリウム一塩基一水和物	0.143
リン酸ナトリウム二塩基無水物	0.971
注射用の水	適量で1mlにする

30

【0079】

本明細書の実施例IおよびIIは、本発明の方法において有用なCTLA4Igの静脈内(IV)処方および皮下処方の製造を記載する。実施例IIIにおいて記載される本発明の方法において利用されるCTLA4Ig凍結乾燥処方の例は、下記に挙げられる。

40

【0080】

【表4】

組成	表4 凍結乾燥CTLA4Ig(250mg/バイアル)薬物製品の	
	構成要素	量(mg/バイアル) ^a
CTLA4Ig	262.5	
マルトース一水和物	525	
リン酸ナトリウム一塩基一水和物 ^b	18.1	
塩化ナトリウム ^b	15.3	10
塩酸	7.5に調整	
水酸化ナトリウム	7.5に調整	

^a バイアル、注射針、注射器の損失用に5%過充填を含む。

^b これらの構成要素は、CTLA4Ig薬物物質溶液中に存在する。

【0081】

凍結乾燥薬物製品は、水性担体で構成されてもよい。本明細書において対象とする水性担体は、医薬上許容され（ヒトへの投与に安全であり、無毒である）、凍結乾燥後の液体処方の調製に有用であるものである。典型的には、凍結乾燥薬物製品は、10mlの注射用の滅菌水、U.S.P. (S.W.F.I.) または0.9%塩化ナトリウム注射剤 (Sodium Chloride Injection)、U.S.P.で約25mg/mlに構成される。構成された溶液は、0.9%塩化ナトリウム注射剤、U.S.P.で、1~10mg/mlの薬物製品濃度にさらに希釈される。注射用の希釈薬物製品は、等張性であり、静脈内注入による投与に適している。

【0082】

製品

本発明の他の実施形態において、薬物製品を含有し、好ましくはその使用のための説明書を提供する製品が提供される。製品は容器を含む。適した容器は、たとえばボトル、バイアル、注射器、および試験管を含む。容器は、ガラス、プラスチック、または金属などの様々な物質から形成され得る。

【0083】

容器は、凍結乾燥処方または液体処方を含有する。容器上のまたは容器に付随するラベルは、苦言および/または使用のための指示を示し得る。たとえば、ラベルは、250mg/バイアルの薬物製品が、上記のタンパク質濃度に復元されるべきことを示し得る。ラベルは、S.C.処方が、皮下投与に有用であるまたは皮下投与用のものであることをさらに示し得る。処方を保持する容器は、複数回使用するバイアルであってもよく、これは、たとえば皮下製剤の繰り返し投与（たとえば2~6回の投与）を可能にする。別法として、容器は、たとえば皮下製剤を含有する、あらかじめ充填された注射器であってもよい。

【0084】

製品は、たとえば、凍結乾燥製処方に適した担体を含む第2の容器をさらに含んでいてよい。

【0085】

製品は、他のバッファー、希釈剤、フィルター、注射針、注射器、および使用のための説明書を有する添付文書を含む、商業上なおおよび使用者の立場から望ましい他の材料をさらに含んでいてよい。

【0086】

シリコーンなしの注射器は、好ましくは、凍結乾燥薬物製品の復元および/またはバイアルから静脈内バッグへの溶液の移動に際してなど、界面活性剤なしの薬物製品に利用され、薬物製品バイアルと同時包装してもよい。

【0087】

使用の方法

10

20

30

40

50

本発明は、UAを有する対象においてRAの発症を予防するまたは阻害するための方法であって、その必要のある対象に、有効量のCTL4 Ig分子またはその医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。

【0088】

本発明は、UAを有する対象においてRAの発症を遅らせるまたは遅延させるための方法であって、その必要のある対象に、有効量のCTL4 Ig分子またはその医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。

【0089】

本発明はまた、UAを有する対象を治療するための方法であって、その必要のある対象に、有効量のCTL4 Ig分子またはその医薬組成物を投与することを含む方法をも提供する。

10

【0090】

有効量のCTL4 Ig分子または医薬組成物の投与であって、それによって、関節腫脹、関節圧痛、炎症、朝のこわばり、および疼痛ならびに構造的損傷を低下させ、続いて身体障害を減少させることを含め、疾患と関連する症状の少なくとも1つの対象を軽減する。

【0091】

本発明の方法はまた、健康評価質問票(HAQ)および/または健康状態に関連する生活の質(SF-36)の手段によって評価されるように、UAを有する対象の身体機能を改善するために使用することができる。

20

【0092】

本発明の方法はまた、びらんならびに骨髄浮腫スコアリングならびに/または手首および手の滑膜炎スコアリングによって評価されるように、UAを有する対象において関節の構造的損傷を阻害するために使用することができる。

【0093】

本発明によって提供される症状軽減の量は、臨床設定において症状軽減を測定し、かつ文書化するために確立された、認められる基準のうちのいずれかを使用して測定することができる。症状軽減を測定する許容可能な基準は、米国リウマチ学会によって確立された基準に基づくスコア(たとえばACR20)、症状軽減の4つの測定値("CDER Guideline for the Clinical Evaluation of Anti-Inflammatory and Antirheumatic Drugs-FDA 1988"中)、および健康評価質問票(HAQ)[Fries, J.F. et al., J. Rheumatology, 9:789-793(1982)]を含んでいてもよい。これらの基準の一般的な説明については、Guidance for Industry: Clinical Development Programs for Drugs, Devices, and Biologics for the Treatment of Rheumatoid Arthritis (RA) (Feb. 1999)を参照されたい。

30

【0094】

本発明は、CTL4 Ig分子を単独でまたは他の治療薬と共に投与するための、局所的なまたは全身性の様々な方法を提供する。該方法は、静脈内、筋肉内、腹腔内、経口、吸入、および皮下の方法ならびに移植可能なポンプ、持続注入、遺伝子療法、リポソーム、坐剤、局所接触、小胞、カプセル、および注射による方法を含む。担体と共に調合されるCTL4 Igは、一般的に、保存のために凍結乾燥され、投与前に、水またはバッファー溶液を用いて再構成される。当技術分野において標準実施法であるが、本発明の組成物は、任意の医薬上許容される形態で対象に投与してもよい。

40

【0095】

本発明の処方のための投与および用法用量の最も有効な様式は、患者の健康および治療に対する応答および治療する医師の判断に依存する。本発明の実施に従って、対象を治療するのに有効な量は、対象の体重1kg当たり約0.1~100mgの量である。他の実施形態において、有効量は、対象の体重1kg当たり約0.1~20mg、好ましくは、対象の体重1kg当たり1~10mgの量である。特定の実施形態において、CTL4 Igの有効量は、対象の体重1kg当たり約2mgである。他の特定の実施形態において

50

、 C T L A 4 I g の有効量は、対象の体重 1 k g 当たり約 1 0 m g である。他の特定の実施形態において、 C T L A 4 I g の有効量は、 6 0 k g 未満の体重がある対象については 5 0 0 m g であり、 6 0 ~ 1 0 0 k g の間の体重がある対象については 7 5 0 m g であり、 1 0 0 k g を超える体重がある対象については 1 0 0 0 m g である。

【 0 0 9 6 】

本発明の C T L A 4 I g 分子処方は、対象において、内因性 B 7 (たとえば C D 8 0 および / または C D 8 6) 分子がそれぞれのリガンドに結合するのを遮断するのに十分な量ならびに時間 (たとえば時間の長さおよび / または複数回) で、対象に投与してもよい。それによって内因性 B 7 / リガンド結合の遮断は、 C D 2 8 陽性細胞および / または C T L A 4 陽性細胞と B 7 陽性細胞 (たとえば C D 8 0 陽性細胞および / または C D 8 6 陽性細胞) の間の相互作用を阻害する。したがって、作用物質の投薬量は、対象および投与様式に依存して変えることができ、米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 0 8 3 2 4 6 号および第 2 0 0 4 / 0 0 2 2 7 8 7 号は、関節リウマチなどのリウマチ性疾患を治療するための、配列番号 2 において示されるアミノ酸配列を有する C T L A 4 I g についての投薬量および投与のスケジュールを教示する。すべて、出典明示によって本明細書の一部とされる。

10

【 0 0 9 7 】

有効量の C T L A 4 I g 分子は、必要性に依存して、 1 時間 / 日 / 週 / 月 / 年当たり 1 回または複数回で、毎日、毎週、毎月、および / または毎年、対象に投与してもよい。たとえば、一実施形態において、有効量の C T L A 4 I g 分子は、最初に、 1 カ月の間、 2 週ごとに 1 回、次いで、その後毎月 1 回または 1 日目、 1 5 日目、 2 9 日目、およびその後毎月投与してもよい。 + / - 3 日の期間は、早期の用量 (つまり 1 5 および 2 9 日目) について許容される。 + / - 7 日の期間は、その後の毎月の用量について許容される。

20

【 0 0 9 8 】

別法では、当業者は、患者の危険性のステータスおよび / または療法に対する応答に応じて、投与レジメンを改変することができるであろう。たとえば、上記に記載されるレジメンは、レジメンに 5 日目の投与を追加することによって、改変することができる。

【 0 0 9 9 】

本明細書において使用されるように、「 4 週間 」、「 1 カ月 」、「 数カ月 」、または「 每月 」は、 2 8 ± 7 日間の期間を指す。

30

【 0 1 0 0 】

典型的には、本発明の C T L A 4 I g 分子処方の用量は、体重に基づくものであり、投与レジメンは、目標血清トラフプロフィールによって規定することができる。典型的には、約 3 μ g / m L ~ 約 3 5 μ g / m L 、本発明の C T L A 4 I g 分子の目標トラフ血清濃度は、 U A を治療するのにまたは U A を有する対象における R A の発症を予防するのに十分であろうが、好ましくは、約 5 μ g / m L ~ 約 3 0 μ g / m L 、より好ましくは、約 1 0 μ g / m L ~ 約 3 0 μ g / m L である。当業者は、望ましい血清トラフ濃度を達成するために、 C T L A 4 I g の投薬量および / または投与スケジュールを調整することができるであろう。

40

【 0 1 0 1 】

本発明の分子または医薬組成物の投与は、 3 0 分間 ~ 1 時間以上の時間の静脈内注入を介するものとすることができます。別法として、 1 回または複数回の皮下注射は、必要とされる投薬量を送達することができる。

【 0 1 0 2 】

本発明の C T L A 4 I g 分子は、他の免疫抑制性の / 免疫調節性の療法と共に、同時にまたは連続的に投与してもよく、たとえば、本明細書において明示される同時投与される免疫抑制薬または免疫調節性化合物の投薬量は、もちろん、用いられる同時の薬剤の種類に依存して変わるであろう。

【 0 1 0 3 】

非ステロイド系抗炎症薬 (N S A I D) を、本発明の C T L A 4 I g 分子と共に同時に

50

または連続的に投与してもよい。N S A I D は、対象における炎症反応を低下させる。N S A I D は、アセチルサリチル酸、サリチル酸コリンマグネシウム、ジフルニサル、サリチル酸マグネシウム、サルサラート、サリチル酸ナトリウム、ジクロフェナク、エトドラク、フェノプロフェン、フルルビプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、ケトロラク、メクロフェナム酸、ナプロキセン、ナブメトン、フェニルブタゾン、ピロキシカム、スリンダク、トルメチン、アセトアミノフェン、イブプロフェン、C o x - 2 阻害剤、メロキシカム、およびトラマドールを含むが、これらに限定されない。

【 0 1 0 4 】

コルチコステロイドを、本発明の C T L A 4 I g 分子と共に同時にまたは連続的に投与してもよい。たとえば安定した低用量経口コルチコステロイド（毎日の 1 0 m g プレドニゾンと等しい）または経口経路（最大 2 週間の毎日の 2 0 m g / 日のプレドニゾンと等しい）または 1 回の I M (筋肉内) 用量もしくは 1 回の I A (関節内) 用量として、6 カ月ごとに投与される高用量コルチコステロイド。

10

【 0 1 0 5 】

コルチコステロイドの例は、ベタメタゾン、ブデソニド、コルチゾール、コルチゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン (hydrocortisone) 、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、プレドニゾン、およびトリアムシノロンを含むが、これらに限定されない。

【 0 1 0 6 】

典型的には、上記の同時投与される薬剤の標準的な投薬量および投与レジメンは、治療レジメンへの本発明の C T L A 4 I g 分子の追加によって、影響を受けない。しかしながら、当業者は、本発明のそれほど有毒でない C T L A 4 I g 分子の治療レジメンへの組み込みにより、より低用量の、同時投与される薬剤を処方してもよい。処方の情報は、それぞれの同時投与される薬剤についての添付文書に基づくものであってもよい。

20

【 0 1 0 7 】

先に論じられるように、関節破壊は、R A において初期に生じる。この見識は、炎症性プロセスを本質的に変化させることができ、炎症性プロセスを単に抑制するだけではなく、R A の過程において早い時期に症状および構造的損傷を弱める療法の必要性を強調してきた。結果的に、これは、R A の早期の診断および治療にますます重点を置いている。しかしながら、R A についての 1 9 8 7 年の A R A 基準は、初期の炎症性関節炎を有する対象に適用される場合、それほど精度が高くなく、明確でない、また、次いで、これらの対象は、一般的な臨床的な病気である未分類関節炎と診断される。

30

【 0 1 0 8 】

環状シトルリン化ペプチドに対する抗体についても陽性である（抗 C C P 2 陽性）U A を有する対象は、観察後の 1 年ですぐに、R A の発症の危険性が高くなることが最近実証された [Van Gaalen, F.A. et al., "Autoantibodies to Cyclic Citrullinated Peptides Predict Progression to Rheumatoid Arthritis in Patients with Undifferentiated Arthritis ", Arthritis Rheum. , 50(3):709-715 (2004)] 。環状シトルリン化ペプチドに対する血清抗体の存在についての陽性試験は、R A の発症について、リウマチ因子の存在または非存在などのより伝統的な基準よりも高度な予測値を有する。抗 C C P 抗体について陽性であった U A 対象の 8 3 % は、1 8 % の抗 C C P 陰性対照と比較して、1 年で R A を発症した。この知見は、R A の発症の危険性が高く、そのため、R A において炎症および関節破壊を駆動する根本的なメカニズムを標的とする標的療法についての好適な候補者となるであろう U A を有する対象の亜集団を、容易に同定することができる示唆する。そのようなアプローチは、不運にも、R A の自然経過を特徴づける関節損傷、機能障害、および続く損なわれた生活の質の発症を予防することができる。

40

【 0 1 0 9 】

実施例 I I I および I V は、R A の発症の危険性が高い、最近発症した未分類関節炎を有する対象における R A の発症を予防する際の、C T L A 4 I g の効能をプラセボと比較するために設計された臨床研究を記載する。

【 0 1 1 0 】

50

臨床研究は、第1のエンドポイントまでの12カ月の期間および第2のエンドポイントまでの24カ月の無作為二重盲検プラセボ対照2群並行設計研究である。対象は、研究の最初の6カ月の間、CTLA4 Igまたはプラセボを受けるために1:1に無作為化される。無作為化は、びらんの存在または非存在に基づいて、2つの群に層別化される。

【0111】

この研究における対象は、最近発症したUAを有し(つまり<18カ月の間の関節炎の症状の存在)、抗CCP2抗体について陽性であり、任意の他のリウマチ性疾患についての診断基準を満たさず、2週間を超えてDMARDを用いるまたはRA用に指示される任意の生物学的薬剤を用いる余計な治療を受けていないことを確実にするために慎重にスクリーニングされた。該研究は、CTLA4 Ig単独療法を用いる比較的短い6カ月の治療期間が、治療のスタートの後の1年または2年以内にRAへの進行を予防したかどうかを調査するために設計された。さらに、UAを有する対象における疾患活動性、身体機能、健康状態に関連する生活の質、およびPDバイオマーカー活性に対するCTLA4 Igの効果を調査し、6カ月の治療期間および最終の用量の研究薬物投与の後の18カ月までの間の両方で、プラセボと比較した。最終の用量の研究薬物投与の後の18カ月の無治療観察期間を含むことにより、CTLA4 Ig治療の任意の観察される効果の持続性の評価を可能にした。NSAIDおよび安定した低用量経口コルチコステロイド(10mg/日プレドニゾンまたは等価物)の使用ならびに高用量コルチコステロイド療法の制限された使用は、治療期間および観察期間の間の両方で可能となった。いかなる時点においてもRAを発症した対象は、研究を中止し、標準の医療を受けることができた。

10

20

30

40

50

【0112】

無作為化を57人の対象に制限した厳しい登録基準のために(このうちの56人は治療された)、正式の統計的仮説検定は行わなかった。しかしながら、この研究の結果は、効能の複数の評価項目(臨床、放射線医学、MRI、およびバイオマーカー活性)にわたって、プラセボに対してCTLA4 Igに有利なように、概して一貫しており、6カ月の間、体重に基づいて10mg/kgの用量で毎月IVで与えられたCTLA4 Igが、UAからRAへの進行を遅らせるという証拠を提供する。CTLA4 Igの治療上の利点は、薬剤中止の後の18カ月まで持続するように思われた。

【0113】

12月目までにRAを発症した対象の比率は、プラセボ群(t6/24、66.7%)についてよりも、CTLA4 Igを受けた群について低かった(12/27、46.2%)(20.5%治療差; 95%CI: 約47.4%、+7.8%)。24月目までに、UAを有する対象の87.5%(12/24)は、6カ月過程のCTLA4 Ig治療を受けた対象の73.9%(17/23)と比較して、プラセボ群においてRAを発症した(13.6%治療差; 95%CI: -37.6%、+10.8%)。UAを有する対象に関する本研究において使用されるCTLA4 Igの体重別の10mg/kg用量は、成人におけるRAの治療について承認された10mg/kgの投薬量と類似している。

【0114】

UAを有する対象のこの集団において、CTLA4 Igを用いる治療は、身体機能および医師が報告した疾患活動性を改善した。6月目に、プラセボと比較して、CTLA4 Igを用いて治療された2倍を超える対象が、身体機能(HAQ-DI)において臨床的に意味のある改善を達成した(62%対24%)または<2.6のDAS-28(CRP)スコアによって示されるように、疾患寛解を有した(71%対35%)。CTLA4 Igを用いる研究治療期間の終わりに見られたILAQ-DIおよびDAS-28(CRP)における数的により大きな改善は、6および18カ月の無治療追跡研究の後に、なお明らかであったが、プラセボとの治療群差は、12月目および24月目で、より小さかった。手および手首の、ガドリニウム(gadolinium)増強MR画像を使用する放射線検査の評価ならびに手および足の従来の放射線写真は、CTLA4 Igを受ける対象の中で治験薬治療期間の間に最小限の疾患進行を示した。

【0115】

特に、C T L A 4 I g を用いる 6 カ月の治療後、抗 C C P 2 抗体の血清レベルは低下し、この低下は、治験薬治療を伴わない 6 カ月の後になお明らかであった。比較すると、抗 C C P 2 抗体レベルは、プラセボ群において増加した。抗 C C P 2 抗体は、健康な対象および未分類関節炎を有する患者の両方において、R A の将来の発症を予測する確率が高い。

【 0 1 1 6 】

初期のU A の治療に対する保守的なアプローチが提唱され、D M A R D の使用および続10
いて生物学的製剤の使用を、関節炎の症状および徵候が、N S A I D および低用量コルチコステロイドに対して不応性であるそれらの患者のみに制限してきた。U A を有する 5 6 の対象に関する本研究において、C T L A 4 I g は、非常に初期のステージの疾患を有する個体によって十分に許容された。6 カ月の研究治療期間の間に、A E は、C T L A 4 I g 群およびプラセボ群について同様の割合で報告され、死をもたらした A E はなく、同様に、両方の治療群における少数の対象は、S A E を有し（それぞれの治療群において 1 人）、または A E により中止した（それぞれの治療群において 1 人）。さらに、C T L A 4 I g による感染の、より大きな危険性についての証拠はなく、C T L A 4 I g 注入開始 1 時間以内に生じる注入による A E は、1 の対象のみについて報告された。血液学および血液化学についての臨床検査室データは、概して目立たたたものはなく、安全性の問題は、確認されなかった。4 対象が、12 月目に抗 C T L A 4 - T 抗体について血清陽性になり、このうちの 2 個体が中和抗体について試験され、陽性であった。抗体の発生は、臨床的安全性の所見と相關するようではなかった。

20

20

【 0 1 1 7 】

発明者らは、C T L A 4 I g の投与が、U A 患者における確定的な R A への進行を遅延させることを発見した。さらに、C T L A 4 I g 治療の疾患修飾効果は、療法が停止された後、6 カ月間維持された。

30

【 0 1 1 8 】

本発明は、以下の実施例を参考することによって、より完全に理解されるであろう。しかしながら、それらは、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきでない。開示の全体にわたる引用はすべて、参照によって本明細書に明確に組み込まれる。

【 実施例 】

【 0 1 1 9 】

実施例 I

C T L A 4 I g 、凍結乾燥（250 mg / バイアル）薬物製品は、静脈内（I V ）投与に適した滅菌非発熱性凍結乾燥物である。各使い捨てバイアルは、使用時に、注射用の滅菌水、U S P で構成され、0.9% 塩化ナトリウム注射剤、U S P を用いてさらに希釈される、250 mg の C T L A 4 I g を含有する。

30

【 0 1 2 0 】

115 リットルのバッチサイズについてのバッチ処方を、下記の表 5 に記載する。

40

【 0 1 2 1 】

【 表 5 】

表 5 バッチ処方	
構成要素	量(kg)
CTLA4Ig薬物物質 ^a	4.6
マルトース一水和物	9.2
塩酸	pH 7.5 に調整
水酸化ナトリウム	pH 7.5 に調整
注射用の水	適量で 119.6 にする ^b

^a CTLA4Ig 薬物物質 : タンパク質濃度 50 mg/ml 、 25 mM リン酸ナトリウム、 50 mM 塩化ナトリウ

50

ム、7.5のpH、<5%HMW種。

^b 処方バルク溶液密度=約1.04g/ml。

【0122】

必要量のCTL4Ig薬物物質を、混合器を備えた清潔な滅菌ステンレス製調合容器に添加する。溶液温度を5～25に維持しながら、薬物物質溶液を250±50rpmで混合する。

【0123】

必要量のマルトースー水和物粉末を調合容器に添加する。溶液を15～25で最低10分間混合する。

【0124】

必要ならば、先に調製した1N水酸化ナトリウム溶液または1N塩酸溶液を使用して、溶液pHを7.3～7.7に調整する。バッチは、注射用の水、USPを使用して、最終バッチ重量（最終適量）にし、最低8分間混合する。処方バルク溶液を、pH用にサンプリングする。

【0125】

処方バルク溶液を、1枚の0.45μmフィルターを用いてあらかじめ濾過する。0.45μmろ過後の処方バルク溶液を、生物汚染度および細菌内毒素（BET）用にサンプリングする。

【0126】

あらかじめ濾過した処方バルク溶液を、充填前に、連続して2枚の0.22μmフィルターを用いて滅菌濾過する。

【0127】

滅菌濾過した処方バルク溶液を充填し、完全自動充填／栓機器によって、20nm Daikyoグレーブチル栓で部分的に栓をする。15cc I型フリント管ガラスバイアルを洗浄し、滅菌／脱発熱物質化する。

【0128】

充填し、部分的に栓をした薬物製品バイアルを凍結乾燥する。CTL4Ig薬物製品の凍結乾燥の間に使用する凍結乾燥サイクルの要約を、下記の表6に提供する。

【0129】

【表6】

表6 CTLA4Ig凍結乾燥薬物製品についての凍結乾燥サイクル	
プロセスパラメーター	プロセス間コントロール
装填温度	5 ± 3°C
凍結[シェルフランプ(Shelf Lamp)]	2.5時間で5°Cから-45°Cまで
凍結	4時間、-45±3°Cに保持
第1の乾燥(シェルフランプ)	2時間で-45°Cから-19°Cまで
第1の乾燥(真空)	100±20ミクロン
第1の乾燥	84時間、-19±2°Cに保持
中間の乾燥(シェルフランプ)	2時間で-19°Cから0°Cまで
中間の乾燥	8時間、0±3°Cに保持
第2の乾燥(シェルフランプ)	2.5時間で、0°Cから30°Cまで
第2の乾燥(真空)	100±20ミクロン
第2の乾燥	12時間、30°Cに保持
栓	30 ± 3°C
栓(真空)	500±100ミクロン
出荷の前の保存	少なくとも4時間、20±3°Cに保持

10

20

30

【0130】

凍結乾燥サイクルの終わりに、チャンバー圧は、滅菌濾過室素を使用して、500ミクロンまで上昇させ、真空下でバイアルに栓をした。栓をしたバイアルは、少なくとも4時間、凍結乾燥器内のまととする。凍結乾燥し、栓をしたバイアルは、キャッピング機器によって、HEPA濾過空気下で、20mmアルミニウムホワイトフリップ-オフシールを用いて密閉した。密封したバイアルを、外部バイアル洗浄機によって脱イオン水を用いてすぐ。洗浄した薬物製品バイアルを、2~8で保存する。

【0131】

凍結乾燥CTLA4Ig(250mg/バイアル)薬物製品の組成を、下記の表7に挙げる。

【0132】

【表7】

表7 凍結乾燥CTLA4Ig(250mg/バイアル)薬物製品の組成	
構成要素	量(mg/バイアル) ^b
CTLA4Ig	262.5
マルトース一水和物	525
リン酸ナトリウム一塩基一水和物 ^b	18.1
塩化ナトリウム ^b	15.3
塩酸	7.5に調整
水酸化ナトリウム	7.5に調整

40

^a バイアル、注射針、注射器の損失用に5%過充填を含む。

^b これらの構成要素は、CTLA4Ig薬物物質溶液中に存在する。

【0133】

実施例II

50

CTLA4 Ig SC、125mg/ml(125mg/バイアル)薬物製品を、皮下投与に適した滅菌非発熱性既製溶液として処方する。CTLA4 Ig SC、125mg/ml(125mg/バイアル)薬物製品のバッチを、5Lスケール(3,500本のバイアル)で製造する。バッチ処方を、下記の表8に記載する。

【0134】

【表8】

表8 バッチ処方	
構成要素	量(gm)
CTLA4Ig薬物物質 ^a	625
シュークロース	850
ポロキサマー188	40
リン酸ナトリウム一塩基一水和物	0.715
リン酸ナトリウム二塩基無水物	4.86
注射用の水	適量で5.0Lにする
全バッチサイズ(L)	5.0

10

20

30

^a CTLA4Ig薬物物質:タンパク質濃度50mg/ml、25mMリン酸ナトリウム、50mM塩化ナトリウム、7.5のpH、<5%HMW種。

【0135】

実施例Iにおいて上記に記載されるように、CTLA4 Ig SC、125mg/ml(125mg/バイアル)薬物製品についての製造プロセスは、pH7.5の25mMリン酸ナトリウム、50mM塩化ナトリウムから10mMリン酸ナトリウム pH7.8バッファーへのバルク薬物物質のバッファー交換、その後に続く、バッファーの除去による約50mg/mlから約150mg/mlへのタンパク質の濃縮を伴う。次いで、シュークロースおよびポロキサマー188を、濃縮したタンパク質溶液中に溶解し、最終バッチ重量は、10mMリン酸ナトリウムバッファー、pH7.8を用いて調整する。バルク溶液は、0.22ミクロン滅菌フィルターを通して濾過し、滅菌し、発熱物質を除去した5ccI型フリントガラスバイアルの中に充填し、20mmゴム栓を用いて栓をし、20mmアルミニウムフリップ-オフシールを用いて密閉した。

【0136】

CTLA4 Ig SC薬物製品、125mg/ml(125mg/バイアル)の組成を、下記の表9に提供する。

【0137】

【表9】

表9 CTLA4Ig SC、125mg/ml(125mg/バイアル)薬物製品の組成	
構成要素	量(mg/バイアル) ^c
CTLA4Ig	175
シュークロース	238
ポロキサマー188	11.2
リン酸ナトリウム一塩基一水和物	0.20
リン酸ナトリウム二塩基無水物	1.36
注射用の水	適量で1.4mlにする

40

^c バイアル、注射針、注射器の損失用に40%過充填を含む。

50

【0138】

実施例 I I I

関節リウマチ（R A）は、進行性の関節破壊、変形、深刻な身体障害、および低い生活の質を導くことができる自己免疫障害である。R Aの発症を予防することができた療法はない。本研究は、研究の期間の間にR Aの発症の危険性が高い、最近発症した未分類関節炎（U A）を有する対象におけるR Aの発症を予防する際の、C T L A 4 I gの効能をプラセボと比較する。

【0139】

第1の目的

盲検研究薬物投与開始1年後に1987年のA R A基準によって規定されるR Aを発症するU Aを有する対象の割合を評価すること。

第2の目的

1) 盲検研究薬物投与開始2年後に1987年のA R A基準によって規定されるR Aを発症するU Aを有する対象の割合を評価すること。

2) M R I画像診断を使用する2つの治療群間の、研究療法開始6、12、および24カ月後の手（手根関節、M C P関節、およびP I P関節）の滑膜炎および構造的関節損傷の程度を評価すること。

3) 2つの治療群の間の、薬物投与開始6、12、および24カ月後に持続的な症候性臨床的滑膜炎を有する対象の割合を評価すること。

4) 自己抗体[I g Mリウマチ因子および抗環状シトルリン化ペプチド（抗C C P 2）]の血清レベルに対するC T L A 4 I gの薬力学的效果を評価すること。

5) 全D A S（C R P）スコアの平均値を用いる治療群間の経時的疾患活動性を評価すること。

6) 6、12、および24カ月の全D A Sスコア<1.6を有する対象の割合を評価すること。

7) H A Qの障害インデックス（Disability Index）（H A Q）およびS F - 36の手段をそれぞれ使用する、身体機能および健康状態に関連する生活の質を評価すること。

8) 6カ月クールの治療の完了に続く、C T L A 4 I gの免疫原性の評価を含む本研究集団におけるC T L A 4 I gの安全性を評価すること。

第3の目的

1) 2つの治療群間の経時的なA C R R A（米国リウマチ学会 関節リウマチ）複合変数のコア構成要素における変化を評価すること。

【0140】

研究設計

これは、第1のエンドポイントまでの12カ月の期間および第2のエンドポイントまでの24カ月の無作為二重盲検プラセボ対照2群並行設計研究である。対象は、研究の最初の6カ月間、C T L A 4 I gまたはプラセボを受けるために1:1に無作為化する。無作為化は、びらんの存在または非存在に基づいて、2つの群に層別化する（集約的に読み取る）。対象は、研究の全体にわたって、非ステロイド系抗炎症薬（N S A I D）を服用することが許容される。対象は、研究の全体にわたって、安定した低用量経口コルチコステロイド（毎日の10m g プレドニゾンと等しい）を服用することが許容される。2つまでの以下の高用量コルチコステロイド併用薬を、研究者の判断で、治験の6カ月ごとに利用してもよい：経口経路（最大2週間の毎日の20m g /日のプレドニゾンと等しい）または1回のI M用量もしくは1回のI A用量。6カ月の研究薬物投与の後に持続的な関節炎を有するが、R Aについての基準を満たさない対象は、研究薬物投与を休止して、観察されることとなり、研究者の判断で上記の併用薬を服用することが許容される。研究薬物投与を用いる続く投薬はなされない。

【0141】

治験の間のいかなる時点においても第1のエンドポイント（A R A基準によるR A）を発症する対象は、研究を中止することとなり、研究者の判断で、D M A R Dおよび/また

10

20

30

40

50

は生物学的療法を含む抗リウマチ療法を受けることが許容される。

【0142】

対象は、最初に、スクリーニング来診時のその体重に基づいて投薬する。<60kgの体重がある対象は、500mgを受けることとなり、60~100kgの間の体重がある対象は、750mgを受けることとなり、>100kgの体重がある対象は、1グラムを受ける。CTLA4 Igを、合計8用量、1、15、29日目、およびその後28日ごとに投与する。対象は、研究の全体にわたって、安定した低用量経口コルチコステロイド(毎日の10mgプレドニゾンと等しい)を服用することが許容される。

【0143】

未分類炎症性関節炎と診断された対象を、環状シトルリン化ペプチドに対する抗体(抗CCP2)の存在または非存在について、スクリーニング期間中に評価する。陽性抗CCP2試験を有する対象を、びらんの存在または非存在に基づいて層別化し、治験薬治療期間に無作為化する。治験薬治療期間は、CTLA4 Igまたはプラセボのいずれかを用いる6カ月の治療とする。RAについての基準を満たさず、治療期間を完了する対象は、盲検が維持される観察期間において、研究薬物投与を休止して、観察される。観察期間は、安全性および効能についての、18カ月の間の年4回の来診からなる。

10

【0144】

研究集団

少なくとも18歳であるが、75歳以下であり、未分類炎症性関節炎(UA)の診断を有し、2カ所以上の関節の症候性臨床的滑膜炎を有し、1)少なくとも1つかつ3つ以下の、RAの診断についての1987年のARA基準を有し、2)任意の他のリウマチ性疾患(たとえばエリテマトーデス(lupus erythematosus))についての診断基準を満たさず、3)また、ELISAによる環状シトルリン化ペプチドに対する自己抗体について陽性でもある(Immunoscan RA Mark 2、Euro-Diagnostica、Arnhem、The Netherlands)男性または女性(授乳中ではなく、妊娠していない)。疾患期間[未分類炎症性関節炎の症状(関節痛、腫脹、または深刻なこわばり)の発症から登録までの時間として規定される]は、18カ月未満でなければならない。DMARDまたは生物学的療法を用いる先の療法は、スクリーニングの前に許容されない。

20

【0145】

評価のための基準

研究の第1の転帰は、12カ月で、1987年のARA基準によるRAの診断を有する対象の割合である。

30

【0146】

第2の効能評価項目は、24カ月で、1987年のARA基準によるRAの診断を有する対象の割合、6、12、および24カ月で、持続的な症候性臨床的滑膜炎を有する対象の比率、6、12、および24カ月での平均全DAS(CRP)スコア、6、12、および24カ月で、<1.6のDASスコアを有する対象の比率、リウマチ因子および抗CCP抗体の力値、ならびに順序および治療に対して盲検化した集約的なリーダーを使用する、ガドリニウムMR1による手の炎症ならびに構造的損傷(滑膜炎、びらん、および骨炎の程度)を含む。対象が報告した転帰は、HAQおよびSF-36を含む。

40

【0147】

ACR RA複合変数のコア構成要素における変化は、第3の目的として、2つの治療群の間で経時的に評価する。

【0148】

効能分析

第1の効能分析は、CTLA4 Igおよびプラセボにおける12カ月でのRAの発症についての割合を評価する。12カ月でRAの診断を有する対象の比率についての点推定および区間推定を2つの治療群について提供する。CRFにおいて「効能の欠如」という規定の理由で研究が中止になる対象は、第1のエンドポイントについて非応答者と見なされ

50

る（つまり、ARA基準によるRAを発症する対象の割合を評価しながら、分子および分母にカウントする）。対象が、中止によるものではない、12月目の来診時の欠測データを有し、続く来診に由来する評価を有する場合、この評価は、12カ月の分析において使用する。他の場合には、対象は、分析に含まない。同様の分析を、24カ月でのRA発症についての割合を評価するために実行する。

【0149】

滑膜炎および構造的な関節損傷の程度は、MRI画像診断を使用して評価する。OME RACT 6 RA MRIスコアリングシステムを使用する [Ostergaard, M. et al., "OMERACT Rheumatoid Arthritis Magnetic Resonance Imaging Studies. Core Set of MRI Acquisitions, Joint Pathology Definitions, and the OMERACT RA-MRI Scoring System", J. Rheumatology, 30(6):1385-1386 (2003)]。びらん、浮腫および滑膜炎におけるベースラインからの変化は、記述統計学を使用して6、12および24カ月で要約する。

【0150】

症候性臨床的滑膜炎の持続性を、6、12、および24カ月で評価する。持続的な滑膜炎率は、CTL A 4 Ig群およびプラセボ群についての推定値および95%信頼区間を用いて要約する。

【0151】

自己抗体 [IgMリウマチ因子および抗環状シトルリン化ペプチド（抗CCP2）] の血清レベルに対するCTL A 4 Igの薬力学的效果を評価する。ベースライン、12月目の来診および24月目の来診での薬力学的変数の分布を、ベースラインからのそれらの変化に加えて、治療群によって要約する。陽性/陰性の結果に達する対象の比率は、治療選択肢およびベースラインステータスによって要約する（陽性/陰性）。

【0152】

6、12および24カ月での全DAS (CRP)、HAQ、およびSF-36のすべての構成要素におけるベースラインからの変化の平均は、それぞれの来診における、CTL A 4 Ig群およびプラセボ群についての推定値および95%信頼区間を用いて、要約する。さらに、寛解（全DASスコア<1.6）を有する対象の割合を、治療選択肢（treatment arm）によって要約する。

【0153】

ACR RA複合変数のコア構成要素における変化は、2つの治療群の間で経時的に評価する。

【0154】

安全性分析

有意な身体検査所見および臨床試験結果を挙げる。要約した統計表を作表する。すべての有害事象の度数分布および個々の一覧表を生成する。ベースラインからの臨床試験結果における変化を挙げる。原因による中止を治療選択肢によって要約する。

【0155】

免疫原性分析

免疫原性変数の分布およびベースラインからのそれらの変化は、記述統計学（幾何平均、標準偏差など）を使用して要約することとなり、ベースラインからの変化の95%信頼区間も計算する。免疫原性の欠如は、陽性応答の非存在として規定される。陽性応答の存在は、それぞれのアッセイについての陽性についてのアッセイカットオフ値および免疫除去によるその応答のさらなる確認に基づいて規定される。抗CTL A 4 Igアッセイについては、値は、平均投与後対象血清サンプルODを、その対応する投与前（1日目）対象血清サンプルODの平均値によって割ることによって計算する。抗CTL A 4 - Tアッセイについては、カットオフ値は、平均対象血清サンプルODを、サンプルプレート上の陰性対照の平均ODによって割ることによって計算する。カットオフ値は、アッセイバリデーションの間に確立され、対照集団またはアッセイ試薬において変更を行った場合、再度確立することができる。サンプルが陰性である場合、それは、評価した希釀溶液より低い

10

20

30

40

50

値に割り当てられ、値が陽性である場合、系列希釈溶液を評価し、それは、陽性について確立されたカットオフ値と等しい、補間された血清希釈溶液の逆数に対応する力値の値に割り当てられる。陽性応答の割合（もしあれば）およびその95%信頼区間も計算する。

【0156】

対象選択基準

研究へのエントリーについては、以下の基準を満たさなければならない。

【0157】

包含基準

A. 署名された書面のインフォームドコンセント

対象は、自発的に研究に参加し、インフォームドコンセントに署名した。

10

【0158】

B. 標的集団

対象は、UAの診断を有していなければならない。UAを有する対象は、2カ所以上の関節の症候性臨床的滑膜炎を有するべきであり、米国リウマチ協会（1987）のRAの分類についての少なくとも1つであって、3つ以下の基準を有するべきである。

【0159】

対象は、任意の他のリウマチ性疾患（たとえばエリテマトーデス）についての診断基準を満たしてはならない。

【0160】

対象の疾患期間〔関節炎の症状（関節痛、腫脹、またはこわばり）の発症から登録までの時間として規定される〕は、18カ月未満でなければならない。

20

【0161】

対象は、ELISAによる環状シトルリン化ペプチドに対する自己抗体について陽性でなければならない（Immunoscan RA Mark 2、Euro-Diagnostica、Arnhem、The Netherlands）。

【0162】

C. 年齢および性別

年齢18～75歳の男性および女性。妊娠可能な男性および女性は、有効な避妊手段を実行している場合、適格である。

30

【0163】

D. 併用薬

安定した低用量経口コルチコステロイドの使用を研究の全体にわたって許容する。治療は、28日間の毎日の10mgプレドニゾンの等価物まで低下させなければならず、治療（1日目）前に、28日のうちの少なくとも25日間安定化しなければならなかった。

【0164】

除外基準

A. 性別および生殖ステータス

1) 全研究期間の間およびCTLA4 Igの最終の注入の後の10週間までの間、妊娠を回避するために許容可能な方法を自発的に使用しないまたは使用することができないWOCBP

40

2) 妊娠しているまたは授乳している女性

3) 登録に際してまたは治験薬の投与前に陽性妊娠検査を有する女性

4) 全治験薬治療期間の間および研究薬物投与の最終の注入の後の10週間までの間、避妊の十分な方法を自発的に使用しないまたは使用することができない男性。

B. 病歴および併発症

5) 研究関連評価について障害のある、不能な、または完了することができない対象。

6) 任意の他のリウマチ性疾患（たとえばエリテマトーデス）についての診断基準を満たす対象。

7) 18カ月を超える未分類関節炎の期間

8) 先に承認された生物学的RA療法（インフリキシマブ、エタネルセプト、アナキンラ

50

、アダリムマブ)を用いる治療を受けた対象。

9) 主な臓器系の活性のある血管炎を有する対象。

10) 重度の、進行性の、またはコントロール不良の腎疾患、肝疾患、血液疾患、胃腸疾患、肺疾患、心臓疾患、神経疾患、または大脳疾患の現在の症状。研究者の見解において、対象を、本研究への参加に対して容認できない危険性にさらす随伴性の病状。

11) 年齢および/もしくは危険因子の適切な乳癌スクリーニングを受けたことがない(公開ガイドラインならびに/または国立癌協会もしくは国立医学協会および/または保健省(Ministry of Health)によって認証される施設内基準によって規定される)または悪性の疑いがある乳癌スクリーニング検査を受けたことがあり、かつ追加の臨床評価または他の診断評価に続き、悪性の可能性を合理的に除外することができない女性対象。

12) 最近5年以内に癌の既往歴を有する対象(局所的な切除によって治癒される非黒色腫皮膚細胞癌以外)。既存の非黒色腫皮膚細胞癌は、投薬前に除去されなければならない。

13) 臨床的に深刻な薬剤乱用またはアルコール乱用を有する対象。

14) 任意の重篤な急性細菌感染症を有する対象(治療され、抗生物質を用いて完全に回復する場合を除く肺炎または腎孟腎炎など)。

15) 重度の慢性細菌感染症または再発性細菌感染症(反復性肺炎、慢性気管支拡張症など)を有する対象。

16) 先の3年以内に治療を必要とする活動性結核(TB)を有する対象。登録時に活性TB感染症が除外されており、陰性の胸部X線検査を有する場合を除き、スクリーニング時に陽性PPDを有する対象は、研究に適格でないものとする。10mmに等しいまたはそれを超えるPPD応答は、陽性試験と見なされるべきであるが、臨床的な状況ならびに公開ガイドラインおよび/または医学協会によって認証される施設内基準に従って研究者によって決定されるように、より低い閾値(5mm)を適用してもよい。

17) 登録前2カ月未満に回復した帯状疱疹を有する対象。

18) ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症の証拠を有する対象を含む、登録候補時に活性または潜伏性の細菌感染症またはウイルス感染症の証拠(研究者によって評価)を有する対象。

C. 身体検査および臨床検査の所見

19) B型肝炎表面抗原陽性対象。

20) RIBA陽性またはPCR陽性でもあるC型肝炎抗体陽性対象。

21) 以下の臨床検査値のうちのいずれかを有する対象:

Hgb < 8.5 g/dL。

WBC < 3,000/mm³ (3 × 10⁹/L)

血小板 < 100,000/mm³ (100 × 10⁹/L)。

血清クレアチニン > 正常の2倍の上限。

血清ALTまたはAST > 正常の2倍の上限。

研究者の見解において、対象を、本研究への参加に対して容認できない危険性にさらす任意の他の臨床検査結果。

D. 禁止される療法および/または薬物投与

22) いずれかの時点においてもCTLA4 IgまたはCTLA4 Igを用いる治療を受けた対象。

23) 1日目の用量の28日以内に(または5最終消失半減期末満)、任意の臨床試験用医薬品を用いる治療を受けた対象。

24) 免疫吸着カラム(Pro sorbaカラムなど)、ミコフェノール酸モフェチル[CELLCERT(登録商標)]、シクロスボリン、D-ペニシラミン、またはカルシニューリン阻害剤を用いる治療を現在受けている対象。

25) スクリーニングの前のDMARDを用いる先の治療。

E. 他の除外基準

26) 囚人または精神もしくは身体(たとえば感染症)の病気のいずれかの治療のために

10

20

30

40

50

強制的に拘留される（非自発的に監禁される）対象は、本研究に登録されてはならない。

【0165】

MRI評価に参加する対象

部位MRI施設の放射線科医は、対象がこの手順を受けることが禁忌であるかどうかを決定する責任がある。以下は、対象が、手／手首のMRIを受けないようによくいくつかの一般的な条件のリストである。しかしながら、これは、医療の施設内臨床基準の代わりに使用されるべきでない。本研究における個々の対象におけるMRIの実行の最終決定は、部位放射線科医、研究者、および施設内倫理委員会によって設定される基準を頼りとする。

- 1) 閉所恐怖症の既往歴を有する対象。
- 2) マグネットのボアへの取り付けに関連する身体的な限界（つまり250ポンドまたは113.4キログラムを超過する体重）を有する対象。
- 3) 入れ墨アイライナーまたは手もしくは手首（画像化されることになっているエリア）上に直接入れ墨を有する対象。
- 4) 造影剤に対するアレルギー反応の既往歴を有する対象。
- 5) MRI検査前の72時間以内に放射性造影剤に曝露した対象。
- 6) MRI検査によって評価されている手首における融合した関節または手もしくは手首における関節置換を有する対象
- 7) ペースメーカー、心外膜のペースメーカー／ワイヤー、MRI非適合性の人工心臓弁、2カ月未満のMRI非適合性の血管クリップ、またはあらゆる年数のMRI非適合性の動脈瘤クリップを有する対象。
- 8) MRI非適合性の人工内耳を有する対象。
- 9) 脊髄神経刺激装置を有する対象。
- 10) 注入ポンプを有する対象。
- 11) 眼／眼窩においてまたは脳もしくは身体の主な神経血管構造の周辺において金属の断片を有する対象、溶接への曝露を伴う職歴を有する対象、またはその身体における任意の位置に榴散弾の破片を有する対象。

【0166】

CTL41gまたはプラセボの投与

対象を、2つの治療群のうちの一方に無作為化する：

群1：CTL41g静脈内注入（N=25）。

群2：プラセボ静脈内注入（N=25）。

【0167】

活性CTL41gを受ける対象は、そのスクリーニング来診時の体重に基づいて投薬する。<60kgの体重がある対象は、500mgを受けることとなり、60~100kgの体重がある対象は、750mgを受けることとなり、>100kgの体重がある対象は、1グラムを受ける。無作為化されて、プラセボを受けるようになった対象は、水中デキストロース5%または通常セーライン（NS）を与える。

【0168】

注入用量は、1日目の来診の直前のスクリーニング来診時の対象の体重に基づくものとする。中央無作為化システムは、対象の体重を確認し、来診を振り分けるためにCTL41gのバイアルの番号を割り当てる。対象は、すべての治療期間来診時（1、15、29、57、85、113、141、および169日目）に研究薬物投与の用量を受ける。+/-3日の期間は、15および29日目の用量について許容され、+/-7日の期間は、その後の用量について許容される。注入は、研究の期間の全体にわたっておよそ同じ時刻に行われるべきである。研究薬物投与のすべての用量は、約30分間にわたって、一定の流速で、100mlの固定容量で静脈内に投与する。IVラインは、注入の終わりに、25mlのD5WまたはNS溶液を流さなければならない。注入溶液は、盲検を維持するために、内容物を同定しない容器で、用量を投与する人員に供給しなければならない。臨床評価者は、異なる適格なスタッフメンバーに研究薬物投与注入を実行させることによつ

10

20

30

40

50

て、治療割り当てに対して盲検化されたままでなければならない。すべての静脈内注入は、座位の対象になる。治療用量レベルまたはスケジュールにおいて調整は行われない。対象を、有害事象について観察し、生命徵候（血圧、心拍数、呼吸、体温）を、それぞれの注入のスタートからモニターする（投与前および60分間）。生命徵候収集について+/-5分間の期間がある。対象を、注入のスタートから最低1時間、観察する。臨床的に指示される場合、観察期間は、延長されるべきである。

【0169】

有害事象の非存在下における用量改変

少なくとも、おそらく研究薬物投与治療に関連して認められる有害事象の非存在下において、対象は、プロトコールによって処方されるように、そのスケジューリングされた注入を完了するであろう。対象のスケジューリングされた投薬は、15および29日目については、対象および/または現場の人員の都合を調整するために、目標の期日前のまたはその後の72時間（+/-3日）以内に施してもよい。+/-7日の期間は、その後の用量について許容される。

10

【0170】

研究の間に禁止され、制限される療法

D M A R D（たとえばメトトレキサート、経口もしくは非経口の金、スルファサラジン、クロロキン、ヒドロキシクロロキン、D-ペニシラミン、アザチオプリン、レフルノミド、シクロスボリン）または生物学的製剤（たとえばエタネルセプト、アダリムマブ、アナキンラ）は許可されない。

20

【0171】

対象は、研究の全体にわたって、非ステロイド系抗炎症薬を服用することが許容される。対象は、研究の全体にわたって、安定した低用量経口コルチコステロイド（毎日の10mgプレドニゾンと等しい）を服用することが許容される。2つまでの以下の高用量コルチコステロイドを、研究者の判断で、治験の6ヶ月ごとに利用してもよい：経口経路（最大2週間の毎日の20mg/日のプレドニゾンと等しい）または1回のIM（筋肉内）用量もしくは1回のIA（関節内）用量。

【0172】

アスピリン（ASA）を含む非ステロイド系抗炎症薬（NSAID）の使用は、この期間の間、許可される。

30

【0173】

コルチコステロイドのIA注射およびIM注射は、回避されるべきである。高用量ステロイドのIA注射またはIM注射は、重要な効能評価の1ヶ月以内は許可されない（つまり169日目、12月目、および24月目）。

【0174】

関節評価の前の12時間を除いて、以下の薬物投与を使用することができる。

アセトアミノフェン（パラセタモール）

アセトアミノフェンおよび麻薬性鎮痛薬を含む組み合わせ製品（たとえばリン酸コデインとアセトアミノフェン、プロポキシフェンナブシレートとアセトアミノフェン、塩酸オキシコドンとアセトアミノフェン、酒石酸水素ヒドロコドンとアセトアミノフェンなど）トラマドール

40

【0175】

【表10-1】

来診日	表10 研究手順および観察 A.二重盲検治験薬治療フェーズ							
	1日目 ^a	15日目 (+/-3 日)	29日目 (+/-3 日)	57日目 (+/-7 日)	85日目 (+/-7 日)	113日 目(+/- 7日)	141日 目(+/- 7日)	169日 目(+/- 7日)
対象の無作為化および層別化(中央無作為化施設と連絡)	X							
効能評価								X
手および足の放射線写真								X
手-手首のガドリニウムMRI(ヨーロッパ地区のみ)								X
圧痛関節数 ^b	X	X	X	X	X	X	X	X
腫脹関節数	X	X	X	X	X	X	X	X
疼痛に関する対象の評価	X	X	X	X	X	X	X	X
疾患活動性に関する対象の評価	X	X	X	X	X	X	X	X
疾患活動性に関する医師の全体的な評価	X	X	X	X	X	X	X	X
身体機能に関する対象の評価(HAQ)	X	X	X	X	X	X	X	X
SF-36	X		X		X			X
療法に対する対象の応答					X			X
安全性評価								
有害事象モニタリング	X	X	X	X	X	X	X	X
中間的な身体検査	X	X	X	X	X	X	X	X
ECG								X
生命徵候	X	X	X	X	X	X	X	X
臨床検査								
CBC	X	X	X	X	X	X	X	X
化学検査パネル	X	X	X	X	X	X	X	X
検尿								X
尿/血清妊娠検査(W OCBPのみ) ^c	X	X	X	X	X	X	X	X

10

20

30

40

【表10-2】

CRP	X	X	X	X	X	X	X	X
IgM RF	X							X
バイオマーカー(IL-6、TNF α 、IL-1ベータ、MMP-3)	X							X
HLAタイピング	X							
免疫原性	X							X
抗CCP2								X
投薬	X	X	X	X	X	X	X	X

^a すべての評価および結果は、中央無作為化施設と連絡する前に審査しなければならない。
すべての評価は、投薬前に実行しなければならない。

^b 68/66カウント評価を行う。

^c 陰性妊娠検査を、来診前の48時間以内に行うべきである。

【0176】

【表11-1】

B.治療後二重盲検観察							
来診日(9、15、18、および21月目について+/-7日が許容され、12および24月目について+/-30日が許容される)	9月目(253日目)	12月目(365日目) ^a	15月目(449日目)	18月目(533日目)	21月目(617日目)	24月目(729日目)	早期終了
効能評価							
手および足の放射線写真 ^b		X				X	
手-手首のガドリニウムMRI(ヨーロッパ地区のみ)		X				X	
圧痛関節数 ^c	X	X	X	X	X	X	X
腫脹関節数	X	X	X	X	X	X	X
疼痛に関する対象の評価	X	X	X	X	X	X	X
疾患活動性に関する対象の評価	X	X	X	X	X	X	X
疾患活動性に関する医師の全体的な評価	X	X	X	X	X	X	X
身体機能に関する対象の評価(HAQ)	X	X	X	X	X	X	X
SF-36	X	X	X	X	X	X	X
療法に対する対象の応答	X	X	X	X	X	X	X
安全性評価							
有害事象モニタリング	X	X	X	X	X	X	X
中間的な身体検査	X	X	X	X	X	X	X
完全な身体検査							
体重						X	X

10

20

30

【表11-2】

生命徵候	X	X	X	X	X	X	X
臨床検査							
CBC	X	X	X	X	X	X	X
化学検査パネル	X	X	X	X	X	X	X
検尿						X	X
尿/血清妊娠検査(W OCBPのみ)	X ^d	X	X	X	X	X	X
乳癌スクリーニング							
年1回/例年(女性のみ)		X				X	X
CRP	X	X	X	X	X	X	X
IgM RF		X				X	
バイオマーカー(IL-6、TNF α 、IL-1ベータ、MMP-3)		X				X	
免疫原性	X	X					
抗CCP2		X				X	

10

20

30

40

50

^a 対象が12月目の来診のためにクリニックに来ない場合、12月目で必要とされるすべての評価は、次のクリニック来診時に行う。

^b 放射線写真を6および12月目の間に撮り、対象が中止になる場合、放射線写真は、Genant修正シャープスコア(Genant-modified Sharp score)の評価のために中央のリーダーに送るべきである。

^c 68/66カウント関節評価を行う。

^d 陰性妊娠検査を、来診前の48時間以内に行うべきである。

【0177】

安全性評価

治験薬の用量を受けるすべての対象は、安全性試験および免疫原性試験について評価する。安全性の転帰は、有害事象、生命徵候における臨床的に有意な変化、および臨床検査異常を含む。研究者は、それぞれの有害事象の重症度を、軽度、中程度、重度、または非常に重度と決定する。検査室ガイドラインに基づいて臨床的に関連すると研究者が感じる検査所見は、有害事象として記録されるべきである。さらに、研究者は、治験薬の投与に対する有害事象の関係を決定する。

【0178】

完全なおよび/または中間的な身体検査は、医学士(MD)、整骨療法医(DO)、医師助手(PA)、またはナースプラクティショナー(NP)によって実行され得る。中間的な身体検査は、最初の完全な検査ほど総合的でなくてもよいが、中間的な検査の重要な側面は、臨床的に指示される重要な身体系を評価するべきである。これらの身体系は、試験官の判断で、リンパ節、肝臓、脾臓、および乳房を含むことができる。中間的な身体検査は、最終の評価からの、対象の状態(身体系)における任意の変化に注目してもよく、臨床的に指示される身体系のいずれかの検査を除外するものではない。

【0179】

スクリーニング来診時の胸部X線検査は、書面のインフォームドコンセントを得てから6カ月以内にまだ実行されていない場合または文書が記録されていない場合、必要とされる。

【0180】

12誘導心電図(ECG)は、書面のインフォームドコンセントを得てから6カ月以内にまだ実行されていない場合または文書が記録されていない場合、必要とされる。ECG

は、治療期間の終わり（169日目）にまたは対象が治療期間を早期に終了する場合、中止の28日後に繰り返す。

【0181】

潜在性結核（TB）を有する対象を同定するために、PPD試験（精製タンパク誘導体ツベルクリン反応検査）は、スクリーニングから6カ月以内に実行されていない、または6カ月以内の検査の文書が記録されていない場合、必要とされる。先にBCG接種を受けている対象を含むすべての対象は、潜伏性TBについて評価するべきである。

【0182】

PPD皮膚試験は、生物学的作用物質を用いる治療が検討されている関節リウマチを有する対象 ["Preliminary guidelines for diagnosing and treating tuberculosis in subjects with rheumatoid arthritis in immunosuppressive trials or being treated with biological agents", Ann. Rheum. Dis., 61(Supp.):ii62-ii63 (2002) および生物学的製剤を用いて治療されている、RAを有する対象におけるPPD試験に対して医学協会によって認証される、米国地区以外の施設内ガイドラインを適用してもよい]、免疫抑制される対象 ["Targeted Tuberculin Testing and Treatment of Latent Tuberculosis Infection", Am. J. Respir. Crit. Care. Med., 161:S221-S247 (2000) および "Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children", Am. J. Respir. Crit. Care Med., 161:1376-1395 (2000)]、ならびにBCG接種の先の既往歴を有する対象においてPPD試験についての推奨および判断を提供する公開ガイドラインに従って実行されるべきである。

10

20

【0183】

登録時に活性TB感染症が除外されており、陰性の胸部X線検査を有する場合を除き、スクリーニング時に陽性PPDを有する対象は、研究に適格でないものとする。10mmに等しいまたはそれを超えるPPD応答は、陽性試験と見なされるべきであるが、臨床的な状況ならびに公開ガイドラインおよび/または医学協会によって認証される施設内基準に従って研究者によって決定されるように、より低い閾値（5mm）を適用してもよい。

30

【0184】

本研究へのエントリーの前に、女性の対象は、乳癌スクリーニングに適した年齢および/もしくは危険因子を有することが必要とされる。乳癌スクリーニングは、公開ガイドラインならびに/または国立癌協会もしくは国立医学協会および/または保健省によって認証される施設内基準に従って、実行されるべきである。さらに、調査地区によって利用される乳癌スクリーニングガイドラインは、施設内IRB/倫理委員会に利用可能にするべきであり、対象のインフォームドコンセントにおいて説明されるべきである。

30

【0185】

スクリーニングの6カ月以内に実行される、文書化された乳癌スクリーニングは、この必要条件を満たすとして認められるであろう。しかしながら、スクリーニング施設からの文書が記録されていないまたはスクリーニング試験が、研究へのエントリーの6カ月よりも前に実行された場合、スクリーニングは必要とされるであろう。

40

【0186】

乳癌スクリーニングについての研究エントリー基準に基づいて、女性の対象は、年1回または例年の繰り返しの乳癌スクリーニングを受けることが必要とされる。

【0187】

手/手首および足の単純放射線写真は、適格な対象についてのスクリーニング時に撮られるべきである。適格な対象について行われるX線写真（陽性抗CCP2試験の確認の後）は、びらんの存在または非存在についての評価のために中央のリーダー（reader）へ送る。侵食についての情報は、層別化のために研究に使用する。手/手首および足の単純放射線写真はまた、6、12、および24カ月にも撮ることとなり、Genant修正シャープスコアについて中央のリーダーによって評価される。放射線写真を、6および12月目の間に撮り、対象が中止になる場合、放射線写真は、評価のために中央のリーダーに送るべきである。

50

【0188】

手 / 手首 (身体の片側のみ) のガドリニウム M R I は、陽性抗 C C P 2 試験および手または手首のもう 2 力所の関節に症候性臨床的滑膜炎を有するヨーロッパ地区のみのすべての対象について無作為化前に実行されるべきである。M R I は、中央のリーダーによって評価される。同じ手 / 手首の追跡研究 M R I はまた、6、12、および 24 カ月にも実行され、中央のリーダーによって評価される。M R I は、足について行われない。

【0189】

尿妊娠検査または血清妊娠検査は、すべての W O C B P について、それぞれの来診前の 48 時間以内に実行される。任意の女性の対象が、妊娠した場合、彼女は、直ちに研究を終了する。

10

【0190】

手および手首のガドリニウム M R I

手および手首 (片側のみ) のガドリニウム M R I 研究は、1.5 テスラ機器を使用して、研究薬物投与の最初の用量前の 2 週間以内に (-14 日目 ~ -1 日目)、陽性抗 C C P 2 試験および手または手首の 2 力所以上の関節に症候性臨床的滑膜炎を有するヨーロッパ地区のみのすべての対象について実行され、6、12、および 24 カ月の時点で繰り返される。M R 画像データは、以下の方法で、O M E R A C T 6 方法に従って中央施設で放射線科医によって判断される。

【0191】

手首および手におけるびらん / 浮腫スコアリング

びらんおよび骨髄浮腫は、O M E R A C T 6 類別スキームに従って別々にスコアリングする。手首および手におけるそれぞれの骨 (手根骨、遠位橈骨、遠位尺骨、中手骨基部、および M C P 関節を含む骨) は、評価された骨容量と比較した、びらんされた骨の比率および浮腫の容量 (別々にスコアリング) によって決定されるように、0 ~ 10 のスケールで別々にスコアリングされる。スコアリングスケールは、10 % の増分で決定され、10 のスコアは、びらんまたは浮腫によって評価された骨の > 90 % が危険にさらされていることを示す。

20

【0192】

手首および手における滑膜炎スコアリング

滑膜炎は、0 ~ 3 のスケールで、複数の手首領域 (下橈尺関節、橈骨手根関節、手根骨間関節、および手根中手関節ならびに第 2 ~ 第 5 M C P 関節) において評価される。3 のスコアは、評価された滑膜コンパートメントの > 2 / 3 を含むガドリニウム増強組織の容量を有する重度のグレードを示す。

30

【0193】

利用可能なベースラインおよび 12 カ月の画像データの両方を有するすべての対象についてのすべての M R 画像は、治療割り当ておよび順序に対して盲検化された熟練した中央のリーダーによって読み取られる。

【0194】

H L A タイピング

無作為化されることとなるすべての対象は、1 日目に、R A 感受性 / 重症度と関連する対立遺伝子 (「共有エピトープ」対立遺伝子 H L A - D R 0 4 0 1 および 0 4 0 4) の存在または非存在を決定するために、H L A タイピングのために末梢血を採血される。無作為化された対象は、これらの対立遺伝子について、ヌル、ヘテロ接合、ホモ接合、または二重ヘテロ接合に分類される。この情報は、さらに、重度の R A の発症についての研究対象の危険性を特徴づけるであろう。

40

【0195】

臨床検査評価

血液サンプルおよび / または尿サンプルは、本研究に参加するそれぞれの対象からすべての来診時に注入前に得られる。研究者が臨床的に関連すると見なすあらゆる臨床検査結果は、C R F の適切な有害事象ページに記録されるべきである。

50

A. 血液学

【0196】

血小板数、RBC分画を含む、ヘモグロビン、ヘマトクリット、総WBC数。

【0197】

B. 血液化学

ナトリウム、クレアチニン、カリウム、血液尿素窒素(BUN)、塩化物、総ビリルビン、総タンパク質、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アルブミンアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、カルシウム、ガンマ-グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、リン、アルカリホスファターゼ、尿酸、グルコース。

【0198】

C. 検尿

pH、タンパク質、グルコース、血液、タンパク質、またはグルコースが尿試験紙で陽性である場合、尿沈渣の血液顕微鏡検査。

【0199】

D. 肝炎スクリーン

(スクリーニング来診時のみ実行) B型肝炎表面抗原(陽性の場合、コア抗体)、C型肝炎抗体(陽性の場合、RIBAまたはPCR)。

【0200】

E. 妊娠検査

尿妊娠検査または血清妊娠検査(HCGの最小感度25IU/L)は、9月目の来診まで、それぞれの来診前の48時間以内にすべてのWOCBPについて実行されなければならない。任意の女性の対象が妊娠した場合、研究を終了する。妊娠検査は、現地で処理される。

【0201】

F. 薬力学的(PD)試験

IgM RFc反応性タンパク質(CRP)、炎症性サイトカイン(IL-6、TNF、IL-1ベータ)、マトリックスメタロプロテイナーゼ3(MMP-3)、抗CCP
2

【0202】

G. 免疫原性決定

抗CTL4Ig抗体

【0203】

H. 他

ヒト白血球抗原(HLA)

【0204】

さらに、対象安全性をモニターするのに必要であると考えられる場合、研究者は、追加の検体検査のためのサンプルを得る。

【0205】

免疫原性

CTL4Igの免疫原性の潜在能力は、抗CTL4Ig抗体のレベルに基づいて評価される。

【0206】

治験薬治療フェーズを完了する対象は、抗CTL4Ig抗体の存在についてアッセイされることとなる、来診1、169、253、および365日目に得られる血清サンプルを有する。

【0207】

研究の治験薬治療フェーズを完了しない対象は、研究薬物投与の最終の用量の後に、1日目ならびに28、56、および85日目に収集される血清サンプルを有する。サンプルは、抗CTL4Ig抗体の存在についてアッセイされる。

【0208】

10

20

30

40

50

有効な精度が高い酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) 法は、血清における抗 C T L A 4 IgG 抗体および血清における抗 CCP-2 の両方の力値を測定するために使用される。

【0209】

効能評価

A. 手および足の X 線検査

手および足の X 線検査は、スクリーニング、169 日目、12 月目、および 24 月目に陽性抗 CCP-2 試験を有するすべての対象に実行される。すべての施設は、技術的な必要条件を満たす必要がある。手および足の放射線検査は、関節リウマチの放射線検査の進行の評価のために、十分な画質を確実にするために、標準化される。放射線医学施設および人員は、設備および経験の技術的な能力ならびに X 線技術者の免許交付に基づいて、治験への参加に対して適格である。放射線検査の技術は、書面の放射線検査手順マニュアルの使用および X 線技術者のトレーニングを通して一致させる。さらに、フィルムスクリーンシステムは、びらんおよび関節腔狭小化の評価に十分な解像力を確実にするために標準化される。治験のために収集される放射線写真は、Genant 修正シャープ類別スキームによる関節リウマチのスコアリングに熟練し、経験を積んでいる放射線科医による品質管理および中央の評価（盲検的）のために中央の読み取り施設へ送られる。第 1 のリーダーおよびバックアップリーダーが割り当てられる。リーダーは、1 式の試験症例の評価およびリーダーの間の合意の評価を通して研究に対して保証される。リーダーは、時点の順序に対して盲検化される。

10

20

30

40

50

【0210】

B. 手 - 手首のガドリニウム増強 MRI

手 - 手首のガドリニウム増強 MRI は、スクリーニング、169 日目、12 月目、および 24 月目に手の症候性臨床的滑膜炎を有する、陽性抗 CCP-2 試験を有するすべての無作為化された対象に実行される。対象の臨床的な評価による、より多くの滑膜炎を有する手 - 手首は、最初に選択され、すべての続く評価に利用されるべきである。ベースライン MRI (およびすべての追跡研究 MRI 研究) は、手首が無症候性である場合または臨床的評価による滑膜炎がない場合、実行されるべきでない。

【0211】

MRI 検査は、関節リウマチの放射線検査の進行の評価のために、十分な画質を確実にするために、標準化される。放射線医学施設および人員は、設備および経験の技術的な能力ならびに技術者の免許交付に基づいて、治験への参加に対して適格である。放射線検査の技術は、書面の放射線検査手順マニュアルの使用および技術者のトレーニングを通して一致させる。治験のために収集される MRI データは、品質管理および中央の評価のために中央の読み取り施設へ送られる。効能評価は、中央のリーダーによってのみ実行される。

【0212】

C. 関節数評価

応答測定値は、調査スタッフの間で類別を標準化する方法として研究者会議または他のフォーラムで調査スタッフと共に審査され、論じられる。関節数評価についてのトレーニングおよび指示は、研究者会議またはワークショップで論じられる。

【0213】

関節数評価は、以下の人員によって実行され得る：MD、DO、PA、NP、またはRN。理想的には、任意の他の評価または手順が実行される前に、関節数を数えるべきである。

【0214】

同じ（1人または複数の）評価者がそれぞれの対象についての評価を完了することを確実にするために、あらゆる努力がなされなければならない。来診は、計算に入れられる評価者の稼働率を含めてスケジューリングされるべきである。（1人または複数の）評価者が、評価を完了することができない場合、重複する経験を有する適格な個人が、評価を実

行してもよい。誰が評価を実行したかについての文書は、情報源ノートに記録されることになっている。

【0215】

D. 臨床的評価

応答の臨床的評価は、(1人または複数の)同じ査定者によって、研究の期間の全体にわたっておよそ同じ時刻に実行されるべきである。(1人または複数の)臨床評価者は、研究薬物投与注入を施す人と異なる人とするべきである。

【0216】

臨床評価者は、全体的な評価および自筆でCRFの関節数のページを完了する。これらのページは、研究についての情報源文書となる。

10

【0217】

対象は、自筆で、CRFのHAQおよびSF-36のページを完了する。これらのページは、本研究についての情報源文書となる。

【0218】

中央検査室から得られるCRPは、全DASを計算するために利用される。

【0219】

E. 薬力学的評価

本研究において収集される薬力学的データは、連続変数からなる臨床検査値を含む。IgM RF、CRP、および抗CCP2を含む関節リウマチにおける免疫調節または炎症についてのバイオマーカーが、収集される。

20

【0220】

CRPは、二重盲検治験薬治療フェーズ、治療後二重盲目観察フェーズの間、および両フェーズにおける早期終了時に、それぞれの来診時に収集される。

【0221】

リウマチ因子(IgM RF)およびバイオマーカーは、-21日目、1日目、169日目、12月目、および24月目に収集される。

【0222】

抗CCP2は、スクリーニング、169日目、12月目、および24月目に収集される。

30

【0223】

さらに、それぞれの来診時に収集される血清の一部は保存されることとなり、以下のバイオマーカーが分析される：炎症促進性サイトカイン(IL-6、TNF、およびIL-1ベータ)ならびにマトリックスメタロプロテイナーゼ3(MMP-3)。

結果研究評価

【0224】

A. 身体機能

身体機能は、全健康評価質問票(HAQ)の障害セクションを使用して評価される[Fries, J.F. et al., "Measurement of Subject Outcome in Arthritis", Arthritis Rheum., 23:137-145 (1980)]。このセクションは、8つの分野：服を着ること、起き上ること、食べること、歩くこと、衛生、手を伸ばすこと、つかむこと、および一般的な活動における身体機能を評価するための20の質問を含む。質問は、4ポイントのスケールで評価される：0=いかなる困難もない、1=いくらかの困難を有する、2=多くの困難を有する、および3=できない。より高いスコアは、より重大な機能不全を示す。障害インデックスは、それぞれの分野における最悪のスコアを合計し、答えられた分野の数によって割ることによって計算される。

40

【0225】

B. 健康状態に関連する生活の質

SF-36は、健康状態に関連する生活の質を測定するために使用される[Birrell, F.N. et al., "How does the Short Form 36 Health Questionnaire (SF-36) in Rheumatoid Arthritis (RA) Relate to RA Outcome Measures and SF-36 Population Values? A C

50

ross-Sectional Study", Clin. Rheumatol., 19:195-199 (2000) ; Keller, S.D. et al., "The SF-36 Arthritis-Specific Health Index (ASHI): II. Tests of validity in four clinical trials", Med. Care, 37(5 Suppl.):MS51-60 (May 1999) ; Ware, J.E. et al., "The SF-36 Arthritis-Specific Health Index (ASHI): I. Development and cross-validation of scoring algorithms", Med. Care, 37(5 Suppl.):MS40-50 (May 1999) ; およびKosinski, M. et al., "The SF-36 Health Survey as a generic outcome measure in clinical trials of subjects with osteoarthritis and rheumatoid arthritis: relative validity of scales in relation to clinical measures of arthritis severity", Med. Care, 37(5 Suppl.):MS23-39 (May 1999)]。個々のサブスケールスコアおよび2つのサマリースコアが計算される：(1)身体機能、身体日常役割機能、体の疼痛、および健康状態を含む身体的構成要素サマリー(PCS)；(2)活力、社会的機能、情動日常役割機能、および精神的健康を含む精神的構成要素サマリー(MCS)。SF-36は、RA対象において健康状態に関連する生活の質を測定するための有効な手段としてFDAによって推奨された[Guidance for Industry, Clinical Development Programs for Drugs, Devices, and Biological Products for the Treatment of Rheumatoid Arthritis (RA), U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Evaluation and Research (Feb. 1999)]。

10

【0226】

薬物製品情報

研究の遂行と特に関連しない、地区の薬剤師また適格な人員が、静脈内(IV)投与のための薬物を再構成する。

20

【0227】

再構成および希釈はすべて、ポリプロピレン非シリコーン処理注射器(ドイツにおけるHenke Sasse Wolfによって製造されるNorm-Ject)を使用して、実行されなければならない。

30

【0228】

注意：別々の注射針および注射器が、それぞれのバイアルを再構成するのに使用されなければならない。

30

【0229】

バイアルは、真空中で密閉される。いずれのバイアルも、真空中でないことが分かった場合、それらを分離するべきであり、使用するべきでない。これらのバイアルは、治験薬モニターによる調整まで保持されなければならない。

40

【0230】

注意：バイアルは、再構成前に穴を開けるべきでない。SWFIの添加に続く発泡を回避するために、内容物が完全に溶解されるまで、バイアルは、ゆるやかにかき混ぜるべきである。凍結乾燥粉末が完全に溶解したら、次いで、バイアルは、存在し得るあらゆる泡を消すために注射針を用いて穴を開けるべきである。

40

【0231】

注射用のCTL41g薬物製品のそれぞれのバイアル、250mg/バイアルは、25mg/mLの濃度にするために、10mLのSWFI(静菌薬なし)を用いて再構成されるべきである。発泡を最小限にするために、SWFIの流れは、バイアルの側面に向けるべきである。

50

【0232】

十分な超過量のCTL41g薬物製品は、250mgを含有する10mLの再構成溶液を非経口投与のために回収することができるよう、回収の損失を考慮するために、それぞれのバイアルの中に組み込まれる。製品の再構成の後に、溶液は、D5Wまたは0.9%塩化ナトリウム(NS=「通常」セーライン)を用いてさらに希釈されなければならない。

50

【0233】

持続注入溶液は、1.2μmの孔径を有するインライン滅菌非発熱性低タンパク質結合

フィルターを使用して、投与に際して濾過されなければならない。この注入は、約30分間にわたって投与されるべきである。注入溶液のあらゆる未使用の部分は、再使用のために保存するべきでない。

【0234】

他の静脈内物質とのCTL4 Ig薬物製品の適合性について入手可能なデータはない。CTL4 Ig薬物製品は、可能である場合は常に、別々の静脈内ラインで投与されるべきであり、他の薬物投与と混合されるべきでない。他の薬剤が同じラインを通して連続的に投与される場合、任意の他の薬剤物質の間で十分で適切なフラッシングを確実にされたい。

【0235】

不適合性は、ガラスびんまたはポリ塩化ビニルバッグおよび投与セットで観察されなかった。

【0236】

薬物製品が、いかなる抗菌性保存剤または静菌薬をも含有していないので、調製溶液の滅菌を確実にするために注意しなければならない。

【0237】

注射用のCTL4 Ig薬物製品のバイアル、250mg/バイアルは、冷蔵(2~8)下で保存され、光に対する長期曝露から保護されるべきである。手をつけていないバイアルは、これらの条件下で少なくとも1年間安定している。注射用のCTL4 Ig薬物製品の希釈溶液はすべて、もとのバイアルの復元の後の12時間以内に使用されなければならない。

【0238】

それぞれの希釈溶液についての特定の安定ガイドラインは、以下のとおりである。

【0239】

注射用の復元されたCTL4 Ig薬物製品、25mg/mLは、15~25の室温および室内光でまたはもとのバイアル中で6時間までの間、冷蔵(2~8)で保存してもよい。

【0240】

ポリ塩化ビニル(PVC)IVバッグまたは非PVC IVバッグにおけるNS中の注射用の再構成されたCTL4 Ig薬物製品の希釈溶液、10mg/mLは、15~25の温度および室内光でまたは最初の再構成の時間からの多くとも12時間、冷蔵(2~8)で保存してもよい。

【0241】

注射用のCTL4 Ig薬物製品の希釈溶液は、標準的なPVC IV注入セットと適合性である。

【0242】

結果

計画された中間的な分析は、RAの発症に対する第1の効能エンドポイントを見るために、すべての無作為化された対象が、12月目の来診を完了したまたは時期尚早に中止になった後に行った。51/56人の無作為化された患者が評価可能であり(平均年齢:45歳;症状の平均期間:7カ月[範囲1~18カ月];平均CRPレベル:1.1mg/dL)、80%は、少関節炎を有し、50%は、侵食を有した。1年までに、16/24人(67%)のPbo治療患者に対して、CTL4 Igを用いて治療された12/27人(44%)の患者がRAを発症した(23%差;95%信頼区間-6~+48%)。RAの発症による中止までの時間を、図2に示す。

【0243】

結論

CTL4 Igは、UAを有する患者において確定的なRAへの進行を遅延させる。CTL4 Ig治療の疾患修飾効果は、療法が停止された後、6カ月の間維持された。

【0244】

10

20

30

40

50

実施例 I V

実施例 I I I において記載される研究についての 2 年のデータを、下記に示す。データは、 C T L A 4 I g またはプラセボを用いる、 6 カ月までの二重盲検治療を受けた U A を有する成についての効能、安全性、および薬力学的 (P D) マーカー活性のデータを含む。 6 カ月の二重盲検研究治療の後に持続的な U A を有するが、 R A についての基準を満たさなかった対象は、さらなる 18 カ月までの間、 R A の続く発症について研究薬物投与を休止してモニターした。

【 0 2 4 5 】

研究集団

合計 184 人の対象を、スクリーニングし、このうちの 57 人を登録し、 C T L A 4 I g (N = 29) またはプラセボ (N = 28) を用いる二重盲検治療に 1 : 1 の比率で無作為化した。研究適格基準を満たさないことは、対象が、スクリーニングされたが、無作為化されなかつた最も頻繁な理由であった。

【 0 2 4 6 】

無作為化された対象のうちの 1 人以外のすべての対象は、研究薬物投与を少なくとも 1 用量受けた。 C T L A 4 I g 群に割り当てられた 1 人の対象は、無作為化の後であるが、いずれかの治験薬の投与の前に検出されたびらんの存在により中止した。したがって、合計 56 人の対象、それぞれの治療群における 28 人は、無作為化され、少なくとも 1 用量の治験薬を受けた。

【 0 2 4 7 】

無作為に治療に割り当てられた対象の中で、 39 人 (22 人の C T L A 4 I g 、 17 人のプラセボ) は、 6 カ月の治験薬治療期間を完了し、 18 カ月の観察期間に参加した。これらのうち 28 人は、観察期間を完了する前に時期尚早に中止した (C T L A 4 I g 群において 15 人、プラセボ群において 13 人) 。これらの 28 人の対象のうちの 16 人 (16) は、 12 月目の前に中止した (それぞれの治療群において 8 人) 。 C T L A 4 I g 群における合計 7 人 (25.0 %) の対象およびプラセボ群における 4 人 (14.3 %) の対象が、 24 カ月の研究を完了した。

【 0 2 4 8 】

効能の欠如が、治験薬治療期間中の時期尚早の中止についての最も頻繁な理由であり、 C T L A 4 I g 群 (n = 3 、 10.7 %) と比較して、プラセボ群における 2 倍を超える対象 (n = 8 、 28.5 %) が、この理由で中止した。効能の欠如はまた、観察期間からの中止についての最も一般的な理由でもあった。この 18 カ月の期間の間、この理由で中止した、観察期間に参加する対象の比率はまた、 C T L A 4 I g 群 (11 / 22 、 50.0 %) についてよりも、プラセボ群 (12 / 17 、 70.6 %) について高かった。観察期間の間の効能の欠如により中止した 23 人の対象の中で、 14 人 (7 人の C T L A 4 I g 、 7 人のプラセボ) は、 12 月目の前に中止した。

【 0 2 4 9 】

有害事象は、治験薬治療期間の間の C T L A 4 I g 群における 1 人の対象および観察期間の間のプラセボ群における 1 人の対象の時期尚早の中止を導いた。

【 0 2 5 0 】

C T L A 4 I g およびプラセボの群は、年齢、体重、性別分布、および人種分布に関する人口統計学的な特徴に関して釣り合わせた。 56 人の無作為化され、治療された対象の平均年齢は、 44.8 歳 (範囲 : 23 ~ 74 歳) であった。大部分の対象は、白人 (85.7 %) および女性 (71.4 %) であった。両方の治療群における大多数の対象が、ヨーロッパにおける地区で登録されたが (C T L A 4 I g 群について 60.7 % 、プラセボ群について 75.0 %) 、より高い割合の C T L A 4 I g 群における対象が南アメリカにおける地区で登録された (17.9 % 対プラセボ群についての 7.1 %) 。

【 0 2 5 1 】

C T L A 4 I g 群およびプラセボ群は、概してベースラインの疾患特徴に関して平衡化した。 5 人の対象以外のすべての対象は、少なくとも 2 つの関節に関する疾患を有した；そ

10

20

30

40

50

10
れぞれの治療群における2人の対象は、1ヵ所のみの関節に関する疾患を有し、C T L A 4 I g 群における1人の対象は、スクリーニング時またはベースライン(1日目)で滑膜炎を有しなかった。この後者の対象は、R A (A R A 1987年基準)についての3つの診断基準を満たしたので、登録されたが、この関連するプロトコールの逸脱のために第1の効能分析から除外された。残りの対象は、R A についての1~3の診断基準を満たし、大多数の対象(58.9%)が3つの基準を満たした。すべての対象にわたって、炎症性関節炎(IA)の平均期間は、7.9ヵ月であり、プラセボ群(7.1ヵ月)よりもC T L A 4 I g 群(8.8ヵ月)において多少長かった。平均C R P レベルは、ベースラインの侵食の放射線検査の証拠を有する対象の割合のように(それぞれ53.5%および57.1%)、C T L A 4 I g 群およびプラセボ群において類似した(それぞれ11.2mg/Lおよび10.7rag/L)。

【0252】

一般的な病歴所見は、活性炎症性疾患と一致しており、2つの群について概して類似していた。両方の治療群における大部分の対象(>75%)は、1日目に抗リウマチ性の薬物投与を受けており(C T L A 4 I gにおいて78.6%、プラセボにおいて89.3%)、N S A I Dが、使用された最も一般的な抗リウマチ性の薬物投与であった。

【0253】

20
C T L A 4 I g 群に割り当てられた9人およびプラセボ群に割り当てられた5人を含む14人(14)の対象は、1日目に、経口のまたは注射可能なコルチコステロイド薬剤を受けていた。C T L A 4 I g 群に割り当てられた4人の対象(14.3%)およびプラセボ群に割り当てられた2人の対象(7.1%)については、1日目の同時の治療は、低経口コルチコステロイド用量(10mg/日プレドニゾン等価物)からなった。

【0254】

曝露の程度

20
30
プラセボ群における治験薬治療期間からより高い時期尚早の中止率にもかかわらず、C T L A 4 I g 群およびプラセボ群における大部分の対象(それぞれ89.3%および75.0%)は、6ヵ月の治療を受け、治験薬のスケジューリングされた8回の注入を受けた(それぞれ75.0%および71.4%)。C T L A 4 I g 群における1人の対象(3.6%)およびプラセボ群における5人の対象(17.9%)は、3回以下の治験薬の注入を受けた。治験薬の8回を超える注入を受けた対象、または6ヵ月を超える研究治療を受けた対象はいなかった。

【0255】

すべての治療分析集団における大部分の対象は、治験薬治療期間の間に、C T L A 4 I g (85.7%)またはプラセボ(92.9%)のスケジューリングされた注入を抜かさず、1回を超えるスケジューリングされた注入を抜かした対象は、どちらの治療群においてもいなかった。

【0256】

40
治験薬治療期間の間の低用量コルチコステロイドの使用は、I T T 分析集団におけるC T L A 4 I g 群およびプラセボ群について低く、これらの薬剤を使用する対象の割合(それぞれの群においてn=5、17.9%)およびこれらの時点での平均コルチコステロイド用量の両方の点から類似した。観察期間について同じことが言え、C T L A 4 I g 群においてこの期間に参加した22人の対象のうちの5人およびプラセボ群における17人の対象のうちの7人は、低用量コルチコステロイドを用いる治療を受けた。

【0257】

治療意図(intent to Treat)(I T T)分析集団についての治験薬治療期間の間の高用量コルチコステロイド使用のクール数もまた、2つの群について類似していた:C T L A 4 I g 群における3クール(2人の対象)およびプラセボ群における4クール(4人の対象)。治験薬治療期間の間の高用量コルチコステロイド使用は、筋肉内(I M)または関節内(IA)コルチコステロイドからなり、治験薬治療期間の間に10mg/日の経口コルチコステロイド用量を受けた対象は、どちらの治療群においてもいなかった。

10

20

30

40

50

【0258】

18カ月の観察期間の間に、高用量コルチコステロイドのクール数は、CTL A 4 Ig群において9およびプラセボ群において6であった。それぞれの治療群における2人の対象については、高用量コルチコステロイドは、経口用量 10 mg / 日からなった。治験薬治療または観察期間の間に2クールを超える高用量コルチコステロイドを受けた対象は、どちらの治療群においてもいなかった。

【0259】

CTL A 4 Ig群におけるすべての対象およびプラセボ群における大部分の対象 (96.4%) は、治験薬観察期間の間に少なくとも1つの併用薬を受けた。鎮痛薬、アセトアミノフェン、およびジクロフェナクは、最も頻繁に使用された併用薬であり、それぞれ、CTL A 4 Ig群における7人 (25.0%) の対象およびプラセボ群における9人 (32.1%) の対象によって服用された。

10

【0260】

効能結果

本研究の結果は、CTL A 4 Igを用いる6カ月の治療が、UAを有する対象において確定的なRAへの進行を遅延させることを示す。12月目までに、プラセボ群におけるUAを有する24人の対象のうちの16人 (66.7%) と比較して、CTL A 4 Ig群におけるUAを有する26人の対象のうちの12人 (46.2%) がRAを発症した。第1の効能エンドポイントについてのCTL A 4 Igに有利な、20.5%治療群差を囲む95%CIは、(-47.4, 7.8) であった。24月目までにRAを発症したUAを有する対象の割合もまた、プラセボ群 (21/24, 87.5%) と比較して、CTL A 4 Ig群 (17/23, 73.9%) においてより低かったが、治療差 (-13.6%; 95%CI: -37.6, 10.8) の大きさは、12月目で見られたものよりも小さかった。

20

【0261】

確定的なRAへの進行を遅延させるCTL A 4 Igの効能は、ベースラインのびらんを有していないサブグループと比較して、ベースラインでびらんの放射線検査の証拠を有した対象のサブグループにおいてより明らかようであった。

【0262】

研究薬物投与のスタートから1年以内に、1987年のARA基準に従って、RAを発症した、UAを有する対象の割合は、プラセボ群 (16/24, 66.7%) と比較して、CTL A 4 Ig群 (12/26, 46.2%) についてより低かった (-20.5%差; 95%CI: -47.4, 7.8)。

30

【0263】

効能ITT分析集団において含まれる55人の無作為化され、治療された対象のそれを含む第1の効能エンドポイントのあらかじめ指定された感度分析は、CTL A 4 Igに有利な同様の結果を提供した。感度分析において、研究薬物投与開始から1年以内にRAを発症したUAを有する対象の割合は、プラセボ群についての59.3% (16/27人の対象) と比較して、CTL A 4 Ig群について42.9% (12/28人の対象) であった (-16.4%治療群差、95%CI: -42.3, 11.0)。

40

【0264】

6カ月のCTL A 4 Ig治療に無作為に割り当てられたUAを有するより少数の対象 (17/23, 73.9%) は、プラセボ治療に割り当てられた対象 (21/24, 87.5%) と比較して、24月目までに、1987年のARA基準を使用して規定されるRAを発症した。24月目にRAを発症する治療群差は、-13.6% (95%CI: -37.6, 10.8) であった。研究治療は、6月目の後は施されなかつたが、対象および研究者は、18カ月の観察期間の終わり (24月目) まで施された研究治療の個人情報に対して盲検化されたままであった。

【0265】

研究は、びらんおよびJSNスコアにおけるより小さな変化の平均によって反映される

50

ように、12月目でプラセボ群と比較して、CTLA4 Ig群において足および手の放射線写真に基づくより小さな構造的な進行を示す。さらに、21人の対象のサブセットにおける手首および手のガドリニウム増強MR画像は、治験薬治療期間の終わりに、CTLA4 Ig群における疾患進行についての最小限の証拠を示したが、プラセボ群におけるMRIびらん、浮腫および滑膜炎スコアにおける6月目のベースラインからの変化の平均は、疾患を悪化させることを示した。MRIスコアにおける治療群差は、研究治療が終了した後6ヶ月の間続いた。

【0266】

滑膜炎の存在は、研究に登録されるために、スクリーニングまたは1日目の時点で必要とされた。6月目に持続的な症候性臨床的滑膜炎を有するUAを有する対象の割合は、プラセボ(12/12、100%)と比較して、CTLA4 Igを用いて治療される対象の中により少なかった(4/5、80%)。研究群の間で持続的な症候性臨床的滑膜炎を有する対象の比率における差は、-20.0%(95%CI: -71.5, 15.21)であった。12月目で、持続的な臨床的滑膜炎を有する対象の割合は、CTLA4 Ig群について11人のうち10人の対象およびプラセボ群について7人のうち7人の対象であった。

10

【0267】

CTLA4 Ig群における合計11人の対象および群プラセボ群における合計10人は、手および手首のガドリニウム増強MRI評価を受けた；プロトコール設計によって、MRIは、ヨーロッパにおける調査地区で登録された対象についてのみ実行した。治験薬治療期間(6月目)の終わりの、手および手首のMRI骨びらんおよび滑膜炎スコアにおけるベースラインからの変化の平均は、CTLA4 Ig群における最小限の疾患進行を示したが(それぞれ、0.45および0.27の変化の平均)、変化は、プラセボ群においてより大きく、疾患の悪化を示した(それぞれ、1.20および1.60の変化の平均)。6月目でのMRI浮腫スコアにおけるベースラインからの変化の平均は、CTLA4 Igで改善を示したが(-1.64の変化の平均)、プラセボで悪化を示した(1.40の変化の平均)。

20

【0268】

MRIスコアに関して同様のパターンの結果は、12月目で見られ、CTLA4 Ig群およびプラセボ群における9人および6人の対象は、それぞれ、ベースラインおよび研究の1年後にMRIを実行した。12月目に、MRI骨びらん、浮腫および滑膜炎スコアにおける変化は、CTLA4 Ig群におけるベースライン値に比べてほとんど見られなかつたが(それぞれ、0.0、0.22、および0.22の変化の平均)、継続的な疾患進行がプラセボ群において明白であった(それぞれ、5.00、6.67、および2.33の変化の平均)。

30

【0269】

7人の対象のみ(5人のCTLA4 Ig、2人のプラセボ)がベースラインおよび24月目にMRI評価を受けた。RAに進行しておらず、したがって本研究に残ったヨーロッパの対象のこの小さなサブセットにおいて、平均ベースラインMRIスコアは、小さく(典型的には<1.0)、24月目で変化をほとんど示さなかった。

40

【0270】

治験薬治療期間の終わり(6月目)に、CTLA4 Ig群におけるUAを有する対象は、ベースラインに比べて、疾患活動性(DAS 28 [CRP]スコア)における低下ならびに身体機能(HAQ-DIスコア)および健康状態に関連する生活の質(SF-36のPCSスコアおよびMCSスコア)における改善を有したが、これらの効能変数についてのスコアの平均は、プラセボ群において不变であった。治療群差は、無治療観察期間の12および24月目でより小さかった。

【0271】

治験薬治療期間の終わりに、DAS 28 (CRP)スコアを使用して評価される疾患活動性は、CTLA4 Ig群におけるベースラインに比べて低下したが(変化の平均、-

50

1.13)、プラセボ群において不变であった(変化の平均、0.01)。6月目に、臨床的に有意な改善が(DAS 28スコアにおいてベースラインから少なくとも1.2の値分、低下した)、プラセボ群におけるベースラインおよび6月目のスコアを有する20人の対象のうちの4人(20%)と比較して、CTL41g群におけるベースラインおよび6月目のスコアを有する20人の対象のうちの8人(40%)において観察された。これらの発見と一致して、より高い率の6月目の低疾患活動性(DAS 28スコア3.2)または疾患寛解(DAS 28スコア<2.6)が、プラセボ群(それぞれ、45.0%および35.0%)と比較して、CTL41g群において見られた(それぞれ、81.0%および71.4%)。

【0272】

12および24月目のDAS 28(CRP)データの評価は、プラセボ群と比較して、CTL41g群についての疾患活動性において、より大きな改善を示し続けたが、治療群差は、無治療観察期間の間、より小さかった。ベースラインおよび12月目のDAS 28スコアを有するCTL41g群における18人の対象の中で、変化の平均スコアは、12月目で-0.50であり、対象の約3分の2(68.4%)は、低疾患活動性を有した。両方の時点のDAS 28データを有するプラセボ群における13人の対象の中で、12月目の疾患活動性における変化は、ベースラインと比較して実質的になく(変化の平均、-0.05)、対象の53.9%は、低疾患活動性を有した。24月目のDAS 28スコアを有する11人の対象のうち、疾患寛解は、7人のCTL41g対象のうちの4人および4人のプラセボ対象のうちの2人において見られた。

【0273】

治験薬治療期間の間に、疾患活動性における、より大きな改善は、ベースラインからのより大きな変化の平均および改善を有する対象の割合によって反映されるように、早くも29日目で、プラセボ群と比較して、CTL41g群について明白であった。

【0274】

身体機能において臨床的に意味のある改善を有する対象の比率は(HAQ-DIスコアにおけるベースラインからの0.3の低下として規定される)、6、12および24月目で、プラセボ群についてよりも、CTL41g群について大きかった。治験薬治療期間の終わりに、CTL41g群における無作為化され、治療された対象の61.5%は、プラセボ群における対象の24.0%と比較して、HAQ-DIにおいて臨床的に意味のある改善を有した(37.5%の治療群差[95%CI: 9.9、61.4])。6および12ヶ月の無治療追跡研究に続いて臨床的に意味のある改善を有した(12月目で36.0%および24月目で14.3%)CTL41g群における対象の割合は、6ヶ月の治療の後で見られたものよりも小さかったが、それにもかかわらず、12および24月日のプラセボ群において臨床的に意味のある改善を有する割合(それぞれ、12.0%および4.2%)よりもなお数的に大きかった。

【0275】

SF-36の身体的構成要素サマリーおよび精神的構成要素サマリーの測定値におけるベースラインからのより大きな平均の改善が、プラセボ群と比較して、6、12、および24月目にCTL41g群について観察された。治験薬治療期間の終わり(6月目)にて、ベースラインからの改善の平均は、CTL41g群において、PCSスコアについて10.23であり、MCSスコアについて2.54であった。プラセボ群における6月日の身体的構成要素サマリー(PCS)スコアおよび精神的構成要素サマリー(MCS)スコアにおける変化の平均は、小さかった(それぞれ、1.95および-0.30)。

【0276】

無治療観察期間の間に研究に残ったCTL41g群における対象の中で、12および24月日の改善の平均は、PCSスコアについて、それぞれ、3.83および2.46であり、MCSスコアについて、それぞれ、2.50および3.75であった。プラセボ群において、PCSスコアおよびMCSスコアは、これらのエンドポイントの12および24月目に、ベースライン値から平均で負の変化の平均によって反映されるように、18カ

10

20

30

40

50

月の無治療観察期間の間に悪化した。

【0277】

ベースライン放射線検査スコアは、対象が研究エントリー時にR Aの診断を有しないという研究適格基準と一致して、無作為化された対象の中での最小限の骨びらんまたは関節腔狭小化を示した。6カ月の治験薬治療期間の間に、放射線検査によるびらん、J S N、または総スコアにおける変化は、C T L A 4 I gにおける0.13およびプラセボ群における0.47の3つのエンドポイントすべてについての6月目での変化スコアの平均によって反映されるように、ベースラインと比べて、ほとんどなかった。12月目に、プラセボ群と比較して、C T L A 4 I g群においてより小さな構造的な進行の示唆があり、総スコアにおける変化の平均は、C T L A 4 I g群において0.02であり、およびプラセボ群において1.11であった。

10

【0278】

帰属する放射線検査のびらんスコアおよびJ S Nスコアの分析の結果は、プラセボ群(1.21および2.13)と比較して、C T L A 4 I g群(0.29および0.02の総スコアにおける変化の平均)において、治験薬治療期間が終わった後の6および12カ月後に(つまり12および24月目)、より小さな変化の平均を示し、より小さな構造的な進行を示した。

【0279】

C T L A 4 I g群における対象は、治験薬治療期間の間に個々のA C R構成要素において平均パーセントの改善を示した。6月目に、圧痛関節、腫脹関節、および対象が評価した疼痛の評価における平均パーセントの改善は、それぞれ64.91%、57.34%、および70.03%であった。比較すると、プラセボ群における対象は、治験薬治療期間の間に、A C Rの個々のコア構成要素において悪化を示し、圧痛関節、腫脹関節、および対象が評価した疼痛の評価における平均パーセントの変化は、それぞれ、-63.3%、-10.5%、および-83.4%であった。

20

【0280】

治験薬治療期間の間にC T L A 4 I g群について見られるA C Rコア構成要素における平均パーセントの改善は、研究治療を研究に残った対象のなかで一度停止すると、維持されなかった。

【0281】

第1および関連する第2の効能エンドポイントならびに人口統計学的なベースラインの疾患特徴は、研究エントリー時にびらんの存在または非存在に基づいて規定されるサブグループ(つまり無作為化層)について、別々に検査した。

30

【0282】

人口統計学的な特徴は、ベースラインでびらんの放射線検査の証拠を有する31人の対象のサブセットおよびベースラインでびらんの放射線検査の証拠を有していない25人の対象のサブセットの中で類似した。ベースラインの疾患特徴もまた、平均および中央の放射線検査のびらんスコアが、ベースラインびらんを有していないサブグループにおいてよりも、ベースラインびらんを有するサブグループについて、より高かったという点を除いて、これらの2つのサブグループについて類似していた。

40

【0283】

ベースラインでびらんの放射線検査の証拠を有する対象のサブグループの中で、研究薬物投与開始から1年以内に、1987年のA R A基準に従ってR Aを発症したU Aを有する対象の割合は、プラセボ群(9/14、64.3%)よりもC T L A 4 I g群(4/13、30.8%)について、より低かった。ベースラインでびらんの放射線検査の証拠を有していない対象のサブグループの中で、C T L A 4 I g群(8/13)における対象の61.5%およびプラセボ群(7/10)における対象の70.0%は、12月目までにR Aを発症した。

【0284】

24月目までにR Aを発症したU Aを有する対象の比率は、ベースラインでびらんの放

50

射線検査の証拠を有した対象の中でのみで、プラセボ群についてよりも、CTL4 Ig群について、より低かった（CTL4 Igについて50.0%[6/12人の対象]；プラセボについて85.7%[12/14人の対象]）。ベースラインでびらんの放射線検査の証拠を有しなかった対象のサブグループの中で、CTL4 Ig群における対象の100%（11/11）およびプラセボ群における対象の90%（9/10）が、24月目までにRAを発症した。

【0285】

安全性

6カ月までの間、10mg/kgの体重別の用量で毎月IV投与されるCTL4 Igは、概して、UAを有する成人の治療において十分に許容された。死亡は、研究の間に報告されなかった。治験薬治療期間の間に、SAEは、CTL4 Ig群における1人の対象（基底細胞癌）およびプラセボ群における1人の対象（坐骨神経痛）について報告された。両方のSAEは、研究治療に対して無関係なものとして、研究者によって評価された。それぞれCTL4 Ig群およびプラセボ群における1人の対象は、治験薬治療期間の間にAEのために治療を中止した。急性の注入によるAE（治験薬注入のスタートの1時間以内に報告された）は、それぞれの治療群において1人の対象について報告され、CTL4 Ig群における急性の注入によるAE（呼吸困難）は、最初の注入の間に生じ、治療中止をもたらした。感染症または外寄生は、CTL4 Ig（35.7%）群およびプラセボ（39.3%）群において対象の同様の割合で、治験薬治療期間の間に報告された。CTL4 Ig群において報告された感染症のいずれも、強度において重度ではなかった。治験薬治療期間の間に、AEは、CTL4 Ig（64.3%）群およびプラセボ（71.4%）群において対象の同様の割合で報告された。CTL4 Ig群におけるAEはすべて、強度において軽度または中程度であった。安全性の問題は、検査室データまたは生命徵候についてのデータの評価から出現しなかった。

【0286】

全体として、AEは、治験薬治療期間の間にまたは研究薬物投与の最終の注入の56日以内に、CTL4 Igを用いて治療された18人（64.3%）の対象およびプラセボを用いて治療された20人（71.4%）の対象について報告された。有害事象の頻度は、CTL4 Ig群およびプラセボ群について概して類似していた。器官別大分類（SOC）によって最も頻繁に報告されたAEは、感染症および外寄生（35.7%のCTL4 Ig；39.3%のプラセボ）、胃腸障害（21.4%のCTL4 Ig；25.0%のプラセボ）、ならびに呼吸器障害、胸郭障害、および縦隔障害（17.9%のCTL4 Ig；21.4%のプラセボ）であった。研究治療期間の間にどちらかの治療群において対象の少なくとも10%によって報告された有害事象は、下痢（14.3%のCTL4 Ig；10.7%のプラセボ）、頭痛（10.7%のCTL4 Ig；7.1%のプラセボ）、鼻咽頭炎（10.7%のCTL4 Ig；7.1%のプラセボ）、尿管感染症（7.1%のCTL4 Ig；10.7%のプラセボ）、咽喉頭疼痛（3.6%のCTL4 Ig；14.3%のプラセボ）、および胃腸炎（0%のCTL4 Ig；10.7%のプラセボ）であった。自己免疫障害は、どちらかの治療群においても、研究治療期間の間に報告されなかった。

【0287】

重度の強度のAEを有するプラセボ群における対象の比率は、10.7%（坐骨神経痛、ウイルス感染症、咽頭浮腫のうちの1つの重度のAE）であった。研究者に従って強度において重度または非常に重度であると見なされた、治験薬治療期間の間のAEを有したCTL4 Ig群における対象はいなかった。

【0288】

関連するAEの頻度は、治験薬治療期間の間で、CTL4 Ig群について50%（n=14）およびプラセボ群について35.7%（n=10）であった。最も一般的な個々の関連するAEは、頭痛であり、CTL4 Ig群において3人の対象（10.7%）およびプラセボ群について2人の対象（7.1%）について報告された。湿疹は、>1人の

10

20

30

40

50

CTL A 4 Ig 治療対象によって報告された唯一の他の関連する A E であり、2人の対象 (7.1%) について報告された。

【0289】

臨床検査室データは、概して目立ったものではなく、安全性の問題は、UAを有するこの集団において同定されなかった。

治験薬治療期間の間に、治験依頼者が規定した顕著な異常 (MA) の基準を満たした血液パラメーターおよび血液化学パラメーターの頻度は、CTL A 4 Ig 群およびプラセボ群において小さく、類似した。それぞれの血液学パラメーターおよび血液化学パラメーターについては、MAは、どちらかの治療群における2人またはそれ未満の対象について同定された。

10

【0290】

血液パラメーターおよび血液化学パラメーターにおけるベースライン (1日目) からの小さな変化は、治験薬治療期間および観察期間の間に注目され、これらの変化は、相当な変動を示し、2つの群にわたって一貫したパターンはなかった。

【0291】

さらに、血中好中球、ALT、およびASTのレベルは、全研究期間の間に、CTL A 4 Ig を用いる治療に続いて安定したままであった。あらゆる測定時点で、 $> 3 \times \text{ULN}$ (正常の上限) であるALTもしくはASTの値または $< 0.5 \times 10^9$ 細胞/Lもしくは $> 15 \times 10^9$ 細胞/Lである好中球数の値を有した対象は、どちらの治療群においてもいなかった。

20

【0292】

2つの対象は、治験薬治療期間の間に A E として報告された検査室異常を有した。増加した肝酵素は、141日目に、CTL A 4 Ig 群における対象において A E として報告され、分解前に120日間、持続した。MA基準を満たしたこの対象における肝酵素値はなかった。血小板減少症は、プラセボ群における1人の対象において A E として報告され、研究治療の中止に至った。この対象についての血小板数の値は、ベースラインで 284×10^9 c/L であり、研究の間に次第に減少し、169日目に 86×10^9 c/L となり、319日目の最終記録値で 22×10^9 c/L となった。

【0293】

すべての生命徵候パラメーターについての平均値は、CTL A 4 Ig 群およびプラセボ群において、治験薬治療期間の全体にわたって、安定したままであった。

30

【0294】

両治療群における大部分の対象は、ベースラインおよびまた治験薬治療期間の終わりに正常ECGを有した。ECGがベースラインで正常であったが、169日目 (または早期終了時) に異常であった対象の割合は、CTL A 4 Ig (1/24, 4.2%) 群およびプラセボ (2/23, 8.7%) 群について類似していた。

【0295】

薬力学的結果

CTL A 4 Ig を用いる治療は、IL-6 (-4.49 pg/mL)、TFN- (-1.70 pg/mL)、IL-1 (-0.12 pg/mL)、およびMMP-3 (-2.29 ng/mL)において6月目でのベースラインからの低下の平均と関連した。比較すると、ベースラインと比較した小さな平均の増加または不变は、IL-6 (1.08 pg/mL)、TFN- (0.07 pg/mL)、IL-1 (-0.09 pg/mL)、およびMMP-3 (14.34 ng/mL)について6月目にプラセボ群において見られた。

40

【0296】

研究治療のない6ヶ月後に、CTL A 4 Ig 群は、なお、プラセボ群と比較して、これらのサイトカインのほとんどについて、より大きな平均の減少を有した。12月目に、CTL A 4 Ig 群およびプラセボ群についてのベースラインからの変化の平均は、IL-6 について、それぞれ、-0.14 および 6.37 pg/mL; TFN- について、そ

50

れぞれ、-0.50および-0.10 pg/mL；ならびにMMP-3について、それぞれ、-2.55および25.34 ng/mLであった。差は、12月目に、IL-1について、ベースラインからの変化の平均において2つの群の間で見られなかつたが(-0.09および-0.24 pg/mL)、ベースラインおよび12月目のデータを有する対象の数は、少なかつた(プラセボ群においてn=7およびCTL4 Ig群においてn=13)。

【0297】

CTL4 Ig群における5人の対象のみおよびプラセボ群における3人のみが、ベースラインおよび24月目のサイトカインデータを有した。IL-6およびTNF-αにおける減少の平均は、RAを発症しなかつたCTL4 Ig治療対象のこの小さなサブセットにおいて、なお、明白であった(それぞれ、-3.44 pg/mLおよび-0.82 pg/mL)。

10

【0298】

対象はすべて、1日目に抗CCP2抗体について陽性であり、研究適格基準と一致した。プラセボ群において、評価可能なデータを有する対象はすべて、6、12、および24月目で陽性のままであった。比較すると、抗CCP2抗体について陽性であった、UAを有する対象の割合は、CTL4 Ig群において、6月目に90.9%(20/22人の対象)まで、12月目に86.7%(13/15人の対象)、および24月目に83.3%(5/6人の対象)に減少した。

20

【0299】

これらのデータは、抗CCP2抗体の血清レベルについての結果と一致している。CTL4 Ig群において、ベースラインからの低下の平均は、6月目(-94.5 U/L)および12月目(-6.46 U/L)の抗CCP2抗体において見られた。プラセボ群において、抗CCP2抗体のレベルは、6月目(変化の平均、16.32 U/L)および12月目(149.5 U/L)にベースライン値に比べて増加した。CTL4 Ig群における6人の対象のみおよびプラセボ群における3人のみが、ベースラインおよび24月日の抗CCP2データを有した。これらのCTL4 Ig対象の1人は、抗CCP2抗体について陰性であった。

30

【0300】

ベースライン(1日目)で、CTL4 Ig群における対象の85.7%およびプラセボ群における対象の71.4%は、RF陽性であった。CTL4 Ig群において、この割合は、治験薬治療期間の終わり(6月目)に59.1%に減少した。6および18カ月の無治療追跡研究の後に、RF陽性であった研究に残った対象の割合は、12月目に15人のうちの11人(73.3%)および24月目に6人のうちの3人(50.0%)であった。比較すると、RF陽性であったプラセボ群における対象の割合は、24カ月の研究にわたって増加した(6月目に20人のうちの14人[70.0%]から24月目に3人のうちの3人[100%])。

30

【0301】

CTL4 Ig群における対象は、6、12、または24月目に、陽性RFセロコンバージョンを有しなかつた。プラセボ群において、ベースラインでRF陰性であった7人の評価された対象のうちの2人は、6月目に陽性となり、ベースラインでRF陰性であった2人の評価可能な対象のうちの1人は、12月目に陽性となつた。

40

【0302】

ベースライン(1日目)で、共有エピトープ対立遺伝子HLA-DRB10401、HLA-DRB10404、およびHLA-DRB10101が検出された対象の割合は、CTL4 Ig(46.4%[13/28])群およびプラセボ(39.3%[11/28])群について類似していた。

【0303】

免疫原性

免疫原性データは、CTL4 Ig群における無作為化され、治療された対象の28人

50

のうち合計 23 から入手可能であった。抗 CTLA4 Ig 抗体（分子の IgG 部分に対して特異的）について 24 カ月の研究期間の間のいかなる時点においても血清陽性であった対象はいなかった。

【0304】

23 人の対象のうち 4 人（17.4%）は、抗 CTLA4-T アッセイ（Tip）において血清陽性であった。これらの 4 人の対象において、抗 CTLA4-T 抗体は、最終用量の 3 カ月後（9 月目サンプル）に検出されなかったが、最終用量の 6 カ月後（12 月目サンプル）に検出された。これらの対象において、力価は低かった（範囲：65～98；アッセイ感度は 25 である）。これらの 4 つのサンプルのうち 2 つは、中和抗体を含有し、2 つは、含有しなかった。

10

【0305】

陽性抗体セロコンバージョン応答の存在は、安全性に影響するようではなかった。対象において報告された AE はなかった、または対象において陽性セロコンバージョン応答に一時的に近い AE はなかった。1 人の対象において、腱鞘炎が、384 日目、治験薬（CTLA4 Ig）の最終用量の約 6 カ月後、陽性セロコンバージョン応答の時間の近くで発症を伴って報告された。この AE は、研究治療に関連がなさそうであり、強度において中程度であると評価され、持続することが報告された。

20

【0306】

全体的な結論

この研究における第 1 および関連する重要な第 2 の効能エンドポイントについての結果は、10 mg / kg IV の体重別用量での 6 カ月間の単独療法として投与した CTLA4 Ig が、UA を有する対象において確定的な RA への進行を遅延させ、CTLA4 Ig の疾患修飾効果が、薬剤を停止した 6 および 18 カ月後に観察されたことを示唆する。UA を有する対象において、身体機能、医師が報告した疾患活動性、および健康状態に関する生活の質におけるより大きな改善は、プラセボよりも、CTLA4 Ig を用いる 6 カ月の治療に続いて見られた。手および足の放射線検査の評価は、CTLA4 Ig を受ける対象の中で治験薬治療期間の間に最小限の疾患進行を示し、構造的損傷の進行もまた、薬剤を停止した 6 カ月後に、プラセボ群よりも CTLA4 Ig 群において、より少なかった。手首および手の MRI 評価は、より制限されたが、同様の傾向を示した。プラセボと比較すると、CTLA4 Ig を用いる治療は、抗 CCP2 抗体の血清レベルにおける、より大きな低下、ならびに抗 CCP2 抗体および RF について陽性であった対象の割合の減少と関連した。6 カ月の間、毎月 IV 投与された 10 mg / kg の体重別の用量の CTLA4 Ig は、UA を有する対象によって十分に許容された。免疫原性率（薬剤誘導性陽性セロコンバージョン）は、低く、CTLA4 Ig または CTLA4-T に対する抗体の存在は、この試験的な研究において、いかなる臨床的な安全性の所見とも相關しなかった。

30

【図1-1】

FIG.1

1 AGCTTCACCA ATG GGT GTA CTG CTC ACA CAG AGG ACG CTG
 M G V L L T Q R T L
 → オンコスタチンシングナル配列 →
 41 CTC AGT CTG GTC CTT GCA CTC CTG TTT CCA AGC ATG GCG
 L S L V L A L L F P S M A
 80 AGC ATG GCA ATG CAC GTG GCC CAG CCT GCT GTG GTA CTG
 S M A M H V A Q P A V V L
 → ヒトCTLA4 →
 119 GCC AGC AGC CGA GGC ATC GCC AGC TTT GTG TGT GAG TAT
 A S S R G I A S F V C E Y
 158 GCA TCT CCA GGC AAA GCC ACT GAG GTC CGG GTG ACA GTG
 A S P G K A T E V R V T V
 197 CTT CGG CAG GCT GAC AGC CAG GTG ACT GAA GTC TGT GCG
 L R Q A D S Q V T E V C A
 236 GCA ACC TAC ATG ATG GGG AAT GAG TTG ACC TTC CTA GAT
 A T Y M M G N E L T F L D
 275 GAT TCC ATC TGC ACG GGC ACC TCC AGT GGA AAT CAA GTG
 D S I C T G T S S G N Q V
 314 AAC CTC ACT ATC CAA GGA CTG AGG GCC ATG GAC AGC GGA
 N L T I Q G L R A M D T G
 353 CTC TAC ATC TGC AAG GTG GAG CTC ATG TAC CCA CCG CCA
 L Y I C K V E L M Y P P P
 392 TAC TAC CTG GCC ATA GGC AAC GGA ACC CAG ATT TAT GTA
 Y Y L G I G N G T Q I Y V
 431 ATT GAT CCA GAA CCG TGC CCA GAT TCT GAT CAG GAG CCC
 I D P E P C F D S D Q E P
 → ヒトIgG1ヒンジ →
 470 AAA TCT TCT GAC AAA ACT CAC ACA TCC CCA CGG TCC CCA
 K S S* D K T H T S* P P S* P
 → ヒトIgG1 CH2ドメイン →
 509 GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA TCG TCA GTC TTC CTC TTC
 A P E L L G G S* S V F L F
 → ヒトIgG1 CH2ドメイン →
 548 CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC
 P P K P K D T L M I S R T

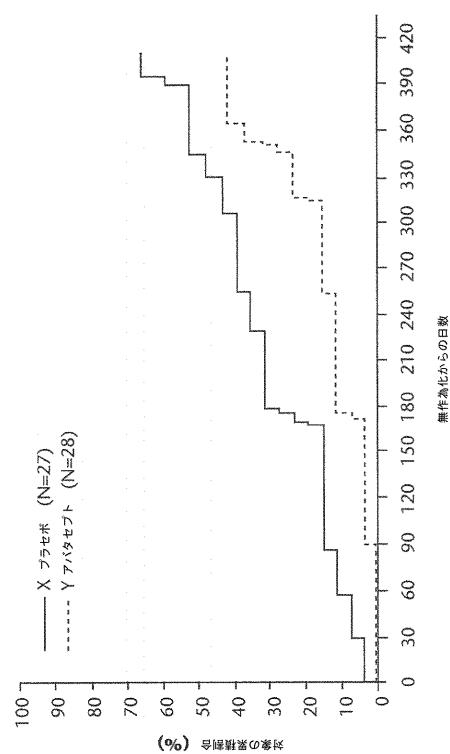
【図1-2】

FIG.1(続き)

587 CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA
 P E V T C V V V D V S H E
 626 GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG
 D P E V K F N W Y V D G V
 665 GAG GTG CAT AAT GCC ARG ACA ARG CCG CGG GAG GAG CAG
 E V H N A K T K P R E E Q
 704 TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC
 Y N S T Y R V V S V L T V
 743 CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GCC AAG GAG TAC ARG TGC
 L H Q D W L N G K E Y K C
 782 AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA
 K V S N K A L P A P I E K
 821 ACC ATC TCC AAA GCC ARA GGG CAG CCC CGA GAA CCA CAG
 T I S K A K G Q P R E B Q
 → ヒトIgG1 CH3ドメイン →
 860 GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAT GAG CTG ACC AAG
 V Y T L P P S R D E L T K
 899 AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT
 N Q V S L T C L V K G F Y
 938 CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG
 P S D I A V E W E S N G Q
 977 CCG GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC
 P E N N Y K T T P P V L D
 1016 TCC GAC GGC TCC TTC CTC TAC AGC AAG CTC ACC GTG
 S D G S F F L Y S K L T V
 1055 GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC
 D K S R W Q Q G N V F S C
 1094 TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CRC AAC CAC TAC ACG CAG
 S V M H E A L H N H Y T Q
 1133 AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA GTGCGACG
 K S L S P G K -
 1172 GCCGGCAAGC CCCGCTCCCC GGGCTCTCGC GGTCGCAC GAGGATGCTT
 1222 CTAGA

【図2】

FIG.2



【配列表】

2011522795000001.xml

【手続補正書】

【提出日】平成23年1月5日(2011.1.5)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2011522795000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 09/42761									
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C07K 16/00 (2009.01) USPC - 530/387.1 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) IPC(8): C07K 16/00 (2009.01) USPC: 530/387.1											
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC: 530/350											
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST (USPT, PGPB, EPAB, JPAB); DialogPRO (Chemical Engineering and Biotechnology Abstracts, INSPEC, NTIS (National Technical Information Service), PASCAL, Current Contents Search, MEDLINE); arthritide, (CTLA4 or CD or CD152 or CD28 or CELIAC3 or CTLA-4 or GSE or ICOS or IDDM12 or OTTHUMP00000163781), binds CD80 C											
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category*</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">US 2004/0022787 A1 (Cohen, et al.) 5 Feb 2004 (05.02.2004), para [0019]-[0020], [0073], [0112], [0154], [0164], [0208], [0229], [0274]-[0275], [0373], [0403], [0421]-[0422], Fig 18</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-8, 10-14</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">US 5,434,131 A (Linsley, et al.) 18 Jul 1995 (18.07.1995), Fig 1, 3; col 5, ln 13; col 5, ln 18</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">9</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	US 2004/0022787 A1 (Cohen, et al.) 5 Feb 2004 (05.02.2004), para [0019]-[0020], [0073], [0112], [0154], [0164], [0208], [0229], [0274]-[0275], [0373], [0403], [0421]-[0422], Fig 18	1-8, 10-14	Y	US 5,434,131 A (Linsley, et al.) 18 Jul 1995 (18.07.1995), Fig 1, 3; col 5, ln 13; col 5, ln 18	9
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.									
X	US 2004/0022787 A1 (Cohen, et al.) 5 Feb 2004 (05.02.2004), para [0019]-[0020], [0073], [0112], [0154], [0164], [0208], [0229], [0274]-[0275], [0373], [0403], [0421]-[0422], Fig 18	1-8, 10-14									
Y	US 5,434,131 A (Linsley, et al.) 18 Jul 1995 (18.07.1995), Fig 1, 3; col 5, ln 13; col 5, ln 18	9									
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>											
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed											
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family											
Date of the actual completion of the international search 30 July 2009 (30.07.2009)	Date of mailing of the international search report 12 AUG 2009										
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. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774										

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 37/06	(2006.01)	A 6 1 P 43/00 107
C 1 2 N 15/09	(2006.01)	A 6 1 P 37/06
C 0 7 K 14/705	(2006.01)	C 1 2 N 15/00 A
C 0 7 K 19/00	(2006.01)	C 0 7 K 14/705
		C 0 7 K 19/00

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

(74)代理人 100127638

弁理士 志賀 美苗

(74)代理人 100144923

弁理士 中川 将之

(72)発明者 ジョージ・プラトサノス

アメリカ合衆国 1 9 0 6 7 ペンシルベニア州ヤードリー、カントリー・ヒルズ・ロード 1 0 8 7 番

(72)発明者 ジーン - クロード・ベッカー

アメリカ合衆国 0 8 5 4 3 ニュージャージー州プリンストン、ルート 2 0 6 アンド・プロビンス・

ライン・ロード、プリストル -マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72)発明者 マイケル・コーポ

アメリカ合衆国 0 8 5 4 3 ニュージャージー州プリンストン、ルート 2 0 6 アンド・プロビンス・

ライン・ロード、プリストル -マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA61 BA63

4C085 AA34 BB31 CC22 CC32 EE01

4H045 BA10 CA40 DA50 DA75 EA20