

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-538779

(P2017-538779A)

(43) 公表日 平成29年12月28日 (2017. 12. 28)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16 Z N A	4 C 0 7 6
A 6 1 M 15/08 (2006.01)	A 6 1 M 15/08	4 C 0 8 4
A 6 1 M 15/00 (2006.01)	A 6 1 M 15/00 Z	4 C 0 8 5
A 6 1 M 16/06 (2006.01)	A 6 1 M 16/06 A	4 C 0 8 6
A 6 1 K 9/72 (2006.01)	A 6 1 K 9/72	4 C 2 0 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 92 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-538458 (P2017-538458)	(71) 出願人	517123807
(86) (22) 出願日	平成27年10月9日 (2015. 10. 9)		アブリンクス・エヌ・フェー
(85) 翻訳文提出日	平成29年6月7日 (2017. 6. 7)		ベルギー・B-9052・ヘントースヴェ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/073487		イナールデ・テフノロジーパルク・21
(87) 国際公開番号	W02016/055656	(71) 出願人	514152060
(87) 国際公開日	平成28年4月14日 (2016. 4. 14)		ベクチュラ・ゲーエムペーハー
(31) 優先権主張番号	62/062, 469		ドイツ・82131・ガウティング・ロバ
(32) 優先日	平成26年10月10日 (2014. 10. 10)		ートーコッホーアレー・29
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100108453
(31) 優先権主張番号	62/067, 096		弁理士 村山 靖彦
(32) 優先日	平成26年10月22日 (2014. 10. 22)	(74) 代理人	100110364
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 実広 信哉
(31) 優先権主張番号	62/074, 842	(74) 代理人	100133400
(32) 優先日	平成26年11月4日 (2014. 11. 4)		弁理士 阿部 達彦
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 RSV感染の治療方法

(57) 【要約】

若年の子供におけるRSV感染を治療するための方法を提供する。より詳しくは、hRSVのFタンパク質に結合してRSV感染を中和するポリペプチドが、特定の投与レジメンで若年の子供の肺に投与される、方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ポリペプチドをRSV感染に罹っている子供に投与することを含む、若年の子供におけるRSV感染を治療するための方法であって、該ポリペプチドは、 5×10^{-10} M又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し(イムノアッセイによって測定した場合)、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し(マイクロ中和アッセイによって測定した場合)、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなり、1日当たり0.020~0.040mg/kgの沈着用量で子供に吸入投与される、方法。

【請求項 2】

若年の子供におけるRSV感染の治療に使用するためのポリペプチドであって、 5×10^{-10} M又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなり、1日当たり0.020~0.040mg/kgの沈着用量でRSV感染に罹っている子供に吸入投与される、ポリペプチド。 10

【請求項 3】

沈着用量が、1日当たり0.020~0.035mg/kgである、請求項1又は2に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 4】

沈着用量が、1日当たり0.024mg/kgである、請求項3に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 5】

吸入用量が、1日当たり0.20~0.40mg/kgである、請求項1から4のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。 20

【請求項 6】

吸入用量が、1日当たり0.20~0.35mg/kgである、請求項5に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 7】

吸入用量が、1日当たり0.24mg/kgである、請求項6に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 8】

名目用量が、1日当たり1.00~2.00mg/kgである、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。 30

【請求項 9】

名目用量が、1日当たり1.00~1.75mg/kgである、請求項8に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 10】

名目用量が、1日当たり1.20mg/kgである、請求項9に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 11】

ポリペプチドが2~5日間連続して毎日投与される、請求項1から10のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 12】

ポリペプチドが3日間連続して毎日投与される、請求項11に記載の方法又はポリペプチド。 40

【請求項 13】

RSV感染がRSV下気道感染である、請求項1から12のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 14】

若年の子供が月齢24カ月未満である、請求項1から13のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 15】

若年の子供が月齢1カ月から24カ月未満である、請求項14に記載の方法又はポリペプチド。 50

【請求項 16】

若年の子供が月齢5カ月から24カ月未満である、請求項14に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 17】

若年の子供が月齢36カ月未満である、請求項1から16のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 18】

若年の子供が月齢1カ月から36カ月未満である、請求項17に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 19】

若年の子供が月齢5カ月から36カ月未満である、請求項17に記載の方法又はポリペプチド。

10

【請求項 20】

若年の子供が乳児である、請求項1から19のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 21】

若年の子供が幼児である、請求項1から19のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 22】

若年の子供がRSV下気道感染を有すると診断されているがそれ以外は健康である、請求項1から21のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。

20

【請求項 23】

若年の子供がRSV下気道感染のために入院中である、請求項1から22のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 24】

抗RSV免疫グロブリン単一可変ドメインが、配列番号46のアミノ酸配列を有するCDR1、配列番号49～50のうち1つのアミノ酸配列を有するCDR2、及び配列番号61のアミノ酸配列を有するCDR3を含む、請求項1から23のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 25】

抗RSV免疫グロブリン単一可変ドメインが、配列番号1～34のアミノ酸配列のうち1つから選択される、請求項24に記載の方法又はポリペプチド。

30

【請求項 26】

ポリペプチドが配列番号65～85のアミノ酸配列のうち1つから選択される、請求項25に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 27】

ポリペプチドが配列番号71である、請求項26に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 28】

ポリペプチドが単剤治療として投与される、請求項1から27のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 29】

少なくとも1つの更なる治療剤が投与される、請求項1から27のいずれか一項に記載の方法又はポリペプチド。

40

【請求項 30】

更なる治療剤が気管支拡張剤である、請求項29に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 31】

気管支拡張剤がβ2-模倣薬のクラスに属する、請求項30に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 32】

気管支拡張剤が長時間作用型β2-模倣薬のクラスに属する、請求項31に記載の方法又はポリペプチド。

50

【請求項 3 3】

気管支拡張剤が、フォルモテロール又はその溶媒和物、サルメテロール又はその溶媒和物、及びそれらの混合物から選択される、請求項32に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 3 4】

気管支拡張剤が短時間作用型 $\beta 2$ -模倣薬のクラスに属する、請求項31に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 3 5】

気管支拡張剤が、サルブタモール、テルブタリン、ピルブテロール、フェノテロール、ツロブテロール、レボサルブタモール、及びそれらの混合物から選択される、請求項34に記載の方法又はポリペプチド。

10

【請求項 3 6】

サルブタモールが200マイクログラムの用量で投与される、請求項35に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 3 7】

気管支拡張剤が抗コリン作動薬のクラスに属する、請求項30に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 3 8】

気管支拡張剤が、チオトロピウム、オキシトロピウム、臭化イプラトロピウム、及びそれらの混合物から選択される、請求項37に記載の方法又はポリペプチド。

【請求項 3 9】

50mg/mLのポリペプチドの組成物0.100~0.500mLを含むネブライザーであって、該ポリペプチドは、 5×10^{-10} M又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる、ネブライザー。

20

【請求項 4 0】

少なくとも1つの抗RSV免疫グロブリン単一可変ドメインが、配列番号46のアミノ酸配列を有するCDR1、配列番号49~50のうち1つのアミノ酸配列を有するCDR2、及び配列番号61のアミノ酸配列を有するCDR3を含む、請求項39に記載のネブライザー。

【請求項 4 1】

少なくとも1つの抗RSV免疫グロブリン単一可変ドメインが、配列番号1~34のアミノ酸配列のうち1つから選択される、請求項40に記載のネブライザー。

30

【請求項 4 2】

ポリペプチドが配列番号65~85のアミノ酸配列のうち1つから選択される、請求項41に記載のネブライザー。

【請求項 4 3】

ポリペプチドが配列番号71である、請求項42に記載のネブライザー。

【請求項 4 4】

振動メッシュ式ネブライザーである、請求項39から43のいずれか一項に記載のネブライザー。

【請求項 4 5】

空気又は酸素の固定流を有する、請求項39から44のいずれか一項に記載のネブライザー。

40

【請求項 4 6】

若年の子供におけるRSV感染の治療に使用するための、請求項39から45のいずれか一項に記載のネブライザー。

【請求項 4 7】

RSV感染がRSV下気道感染である、請求項46に記載のネブライザー。

【請求項 4 8】

若年の子供が月齢24カ月未満である、請求項46又は47に記載のネブライザー。

【請求項 4 9】

50

若年の子供が月齢1カ月から24カ月未満である、請求項48に記載のネブライザー。

【請求項50】

若年の子供が月齢5カ月から24カ月未満である、請求項48に記載のネブライザー。

【請求項51】

若年の子供が月齢36カ月未満である、請求項46から50のいずれか一項に記載のネブライザー。

【請求項52】

若年の子供が月齢1カ月から36カ月未満である、請求項51に記載のネブライザー。

【請求項53】

若年の子供が月齢5カ月から36カ月未満である、請求項51に記載のネブライザー。

10

【請求項54】

若年の子供が乳児である、請求項46から53のいずれか一項に記載のネブライザー。

【請求項55】

若年の子供が幼児である、請求項46から53のいずれか一項に記載のネブライザー。

【請求項56】

若年の子供がRSV下気道感染を有すると診断されているがそれ以外は健康である、請求項46から55のいずれか一項に記載のネブライザー。

【請求項57】

若年の子供がRSV下気道感染のために入院中である、請求項46から56のいずれか一項に記載のネブライザー。

20

【請求項58】

ポリペプチドが単剤治療として投与される、請求項39から57のいずれか一項に記載のネブライザー。

【請求項59】

少なくとも1つの更なる治療剤が投与される、請求項39から57のいずれか一項に記載のネブライザー。

【請求項60】

更なる治療剤が気管支拡張剤である、請求項59に記載のネブライザー。

【請求項61】

気管支拡張剤が $\beta 2$ -模倣薬のクラスに属する、請求項60に記載のネブライザー。

30

【請求項62】

気管支拡張剤が長時間作用型 $\beta 2$ -模倣薬のクラスに属する、請求項61に記載のネブライザー。

【請求項63】

気管支拡張剤が、フォルモテロール又はその溶媒和物、サルメテロール又はその溶媒和物、及びそれらの混合物から選択される、請求項62に記載のネブライザー。

【請求項64】

気管支拡張剤が短時間作用型 $\beta 2$ -模倣薬のクラスに属する、請求項61に記載のネブライザー。

【請求項65】

40

気管支拡張剤が、サルブタモール、テルブタリン、ピルブテロール、フェノテロール、ツロブテロール、レボサルブタモール、及びそれらの混合物から選択される、請求項64に記載のネブライザー。

【請求項66】

サルブタモールが200マイクログラムの用量で投与される、請求項65に記載のネブライザー。

【請求項67】

気管支拡張剤が抗コリン作動薬のクラスに属する、請求項60に記載のネブライザー。

【請求項68】

気管支拡張剤が、チオトロピウム、オキシトロピウム、臭化イプラトロピウム、及びそ

50

これらの混合物から選択される、請求項67に記載のネブライザー。

【請求項 69】

- (a) 振動メッシュを有するエアロゾル発生器；
- (b) 振動メッシュと流体連通している、噴霧される液体のためのリザーバー；
- (c) ガス吸気口；
- (d)

- ケーシングと、
- エアロゾル吸気口と、
- 患者の接触表面と、
- 0.5～5mbarの範囲から選択される呼気抵抗を有する、ケーシング中の一方向の呼

気バルブ又は二方向の吸気/呼気バルブと

を有するフェイスマスク；及び

(e) ガス吸気口からフェイスマスクのエアロゾル吸気口に伸びるフローチャネルであって、

- エアロゾル発生器がそれを通してフローチャネル中に少なくとも部分的に挿入されている、側方開口部と、

- ガス吸気口とフェイスマスクのエアロゾル吸気口の間で流速1～20L/分で一定の流れ抵抗と

を有する、フローチャネル

を備える、請求項39から68のいずれか一項に記載の吸入デバイス。

【請求項 70】

フローチャネルが、側方開口部のすぐ上流の位置で、流速2L/分で少なくとも4m/sの平均ガス速度を達成する大きさ及び形状であるか、及び/又は側方開口部の上流のフローチャネルが、ガスが1～20L/分の流速でフローチャネル中を流れる場合に層流をもたらす形状である、請求項69に記載の吸入デバイス。

【請求項 71】

ガス吸気口が、管継ぎ手として形成され、フローチャネルが、好ましくはガスを受けるための更なる吸気口を示さない、請求項69又は70に記載の吸入デバイス。

【請求項 72】

エアロゾル発生器が、噴霧されたエアロゾルを、フローチャネルの縦軸に対しておよそ90°の角度でフローチャネル中に放出するように配置されており、吸入デバイスが、好ましくはエアロゾル発生器の操作を開始及び終了するためのスイッチを備え、エアロゾル発生器の操作が、振動メッシュの連続的振動を含む、請求項69から71のいずれか一項に記載の吸入デバイス。

【請求項 73】

フェイスマスクが、90mLを超えない、70mLを超えない、又は約50mLを超えない名目内部容量を有するか、又は名目内部容量が、患者の平均1回換気量より小さい、請求項69から72のいずれか一項に記載の吸入デバイス。

【請求項 74】

フェイスマスクが、いずれかの方向に3mbarを超えない抵抗を有する二方向吸気及び呼気バルブを有し、フェイスマスクの名目内部容量が、約50mLを超えない、請求項69から73のいずれか一項に記載の吸入デバイス。

【請求項 75】

側方開口部とフェイスマスクのエアロゾル吸気口との間のフローチャネルの内部容量が、30mLを超えない、請求項69から74のいずれか一項に記載の吸入デバイス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、若年の子供におけるRSV感染を治療するための方法を提供する。より詳しくは、本発明は、若年の子供に肺内投与するための、RSVを中和する免疫グロブリン単一可

10

20

30

40

50

変ドメインの特定の投与レジメンを提供する。

【背景技術】

【0002】

呼吸合胞体ウイルス(RSV)は、乳児及び非常に若年の子供が重度の呼吸器感染を繰り返す原因であり、冬季の数カ月間で毎年の流行を引き起こす。RSVは、典型的には、侵入点、すなわち鼻腔及び気道を覆う繊毛上皮細胞でその一次感染を引き起こす(Black 2003、Respir. Care 48: 209~31頁; 考察231~3頁)。一次感染は通常、症候性であり、軽度の上気道の病気から、主に乳児に起こる気管支肺炎及び細気管支炎を含むより重度の下気道感染(LRTI)に及ぶ臨床兆候を有する(Aliyuら、2010、Bayero Journal of Pure and Applied Sciences 3:147~155頁)。

10

【0003】

膜貫通糖タンパク質F及びGは、RSVの主要な表面抗原である。結合タンパク質(G)は、細胞受容体との結合を媒介するが、Fタンパク質は、細胞膜との融合を促進し、宿主細胞への侵入を可能にする(Lopezら、1998、72: 6922~8頁)。Gタンパク質の抗原多様性及び遺伝子多様性に基づき、いくつかのサブタイプと共にRSVの2つの血清型が同定されている(A及びB)。

【0004】

Gタンパク質とは対照的に、Fタンパク質は、RSV血清型AとBとの間で高度に保存されており(89%のアミノ酸同一性)、したがって、ウイルス侵入阻害剤を開発するための主な標的と考えられている。糖タンパク質Fはまた、感染細胞と、隣接する非感染細胞との融合も誘導する。この顕著な特徴により、多核細胞構成(上皮細胞合胞体)が出現して、これにより複製されたウイルスリボ核酸(RNA)の細胞間伝搬が可能となり、宿主免疫応答に対して更なる保護を付与する(Black 2003)。

20

【0005】

特にRSV感染を予防するために利用可能なワクチンがないことから、RSV感染は、医療基盤において顕著な負担となっており、治療選択肢はなおも医学的に非常に必要とされている。

【0006】

市販されている唯一の薬物製品は、ウイルス糖タンパク質Fに対するヒト化モノクローナル抗体(SYNAGIS(登録商標)(パリビズマブ))であり、これは重度のhRSV感染に罹るリスクが非常に高い子供において予防的に使用される。SYNAGIS(登録商標)の使用が限定的であるのは、少なくとも一部には、この製品の費用が高いことが理由である。RSV感染の治療に利用できる適切な薬物治療がないことから、入院中の乳児の標準治療はほとんどが支持療法(例えば、液体/食事の補給、観察、及び必要に応じて呼吸補助)である。hRSVによる感染の予防及び/又は治療のために、改善された及び/又はより安価な予防及び/又は治療剤が必要なことは明らかである。

30

【0007】

本開示の配列番号65~85は、ヒト呼吸合胞体ウイルスの融合タンパク質に対する免疫グロブリン単一可変ドメインである。配列番号65~85は、フレキシブルリンカーによって組み換えにより連結された3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインからなる。

40

【0008】

配列番号65~85は、インビトロ及びインビボで広く特徴付けがなされている(例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2010/139808号を参照されたい)。抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインは、呼吸合胞体ウイルス(RSV)Fタンパク質に特異的且つ強力に結合する。HEp2細胞におけるインビトロのマイクロ中和試験により、これらの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインがウイルスのライフサイクルの初期事象を阻害して、細胞外ウイルスがウイルス未感染細胞に感染するのを防止することが示唆された。配列番号65~85の有効性は、RSV感染コットンラットにおいて確認された。

【0009】

配列番号65~85は、RSVを中和して阻害することが意図されることから、エアロゾルデ

50

バイスを通しての呼吸器への直接送達及び沈着は、好ましく、最も適した投与経路であると考えられる。ネブライザー溶液としての免疫グロブリン単一可変ドメイン(配列番号65～85を含む)の製剤は、国際公開第2011/098552号に広く記載されている。

【0010】

配列番号71の吸入の安全性、認容性、及び薬物動態(PK)パラメーターは更に、成人ボランティアにおける3つのフェーズI臨床試験において評価されている。これらの試験から、配列番号71の吸入及び静脈内(i.v.)注入が一般的に良好に認容されることが示された。しかし、RSVによって引き起こされる下気道疾患がこれらの成人集団に起こるのはまれであることから、成人から子供に、又はより大きい子供から若年の子供に有効性を外挿することはできない。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0011】

【特許文献1】国際公開第2010/139808号

【特許文献2】国際公開第2011/098552号

【特許文献3】欧州特許第0368684号

【特許文献4】国際公開第04/068820号

【特許文献5】国際公開第06/030220号

【特許文献6】国際公開第06/003388号

【特許文献7】国際公開第06/059108号

20

【特許文献8】国際公開第07/049017号

【特許文献9】国際公開第07/085815号

【特許文献10】国際公開第05/18629号

【特許文献11】国際公開第08/020079号

【特許文献12】国際公開第94/04678号

【特許文献13】国際公開第95/04079号

【特許文献14】国際公開第96/34103号

【特許文献15】国際公開第94/25591号

【特許文献16】国際公開第99/37681号

【特許文献17】国際公開第00/40968号

30

【特許文献18】国際公開第00/43507号

【特許文献19】国際公開第00/65057号

【特許文献20】国際公開第01/40310号

【特許文献21】国際公開第01/44301号

【特許文献22】欧州特許第1134231号

【特許文献23】国際公開第02/48193号

【特許文献24】国際公開第97/49805号

【特許文献25】国際公開第01/21817号

【特許文献26】国際公開第03/035694号

【特許文献27】国際公開第03/054016号

40

【特許文献28】国際公開第03/055527号

【特許文献29】国際公開第03/050531号

【特許文献30】国際公開第01/90190号

【特許文献31】国際公開第03/025020号(=欧州特許第1433793号)

【特許文献32】国際公開第04/041867号

【特許文献33】国際公開第04/041862号

【特許文献34】国際公開第04/041865号

【特許文献35】国際公開第04/041863号

【特許文献36】国際公開第04/062551号

【特許文献37】国際公開第05/044858号

50

- 【特許文献 3 8】国際公開第06/40153号
- 【特許文献 3 9】国際公開第06/079372号
- 【特許文献 4 0】国際公開第06/122786号
- 【特許文献 4 1】国際公開第06/122787号
- 【特許文献 4 2】国際公開第06/122825号
- 【特許文献 4 3】国際公開第06/040153号
- 【特許文献 4 4】国際公開第08/101985号
- 【特許文献 4 5】国際公開第08/142164号
- 【特許文献 4 6】国際公開第99/23221号
- 【特許文献 4 7】国際公開第2010/115998号 10
- 【特許文献 4 8】国際公開第99/42077号
- 【特許文献 4 9】国際公開第04/081026号
- 【特許文献 5 0】米国特許第5,586,550号
- 【特許文献 5 1】米国特許第5,938,117号
- 【特許文献 5 2】米国特許第6,014,970号
- 【特許文献 5 3】米国特許第6,085,740号
- 【特許文献 5 4】米国特許第6,205,999号
- 【非特許文献】
- 【0 0 1 2】
- 【非特許文献 1】Black 2003、Respir. Care 48: 209～31頁; 考察231～3頁 20
- 【非特許文献 2】Aliyuら、2010、Bayero Journal of Pure and Applied Sciences 3:147～155頁
- 【非特許文献 3】Lopezら、1998、72: 6922～8頁
- 【非特許文献 4】Sambrookら、「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」(第2版)、1～3巻、Cold Spring Harbor Laboratory Press社(1989)
- 【非特許文献 5】F. Ausubelら編、「Current protocols in molecular biology」、Green Publishing and Wiley Interscience社、New York (1987)
- 【非特許文献 6】Lewin、「Genes II」、John Wiley & Sons社、New York、N.Y.、(1985)
- 【非特許文献 7】Oldら、「Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering」、第2版、University of California Press社、Berkeley、CA (1981) 30
- 【非特許文献 8】Roittら、「Immunology」(第6版)、Mosby/Elsevier社、Edinburgh (2001)
- 【非特許文献 9】Roittら、Roitt's Essential Immunology、第10版、Blackwell Publishing社、UK (2001)
- 【非特許文献 10】Janewayら、「Immunobiology」(第6版)、Garland Science Publishing/ Churchill Livingstone社、New York (2005)
- 【非特許文献 11】Presta 2006 (Adv. Drug Deliv. Rev. 58 (5～6): 640～56頁)
- 【非特許文献 12】Levin及びWeiss 2006 (Mol. Biosyst. 2(1): 49～57頁)
- 【非特許文献 13】Irvingら、2001 (J. Immunol. Methods 248(1～2): 31～45頁)
- 【非特許文献 14】Schmitzら、2000 (Placenta 21 Suppl. A: S106～12頁) 40
- 【非特許文献 15】Gonzalesら、2005 (Tumour Biol. 26(1): 31～43頁)
- 【非特許文献 16】Oberら、2001、Intern. Immunology 13: 1551～1559頁
- 【非特許文献 17】Drakeら、2004、Analytical Biochemistry 328:35～43頁
- 【非特許文献 18】Fraleyら、2013、Bioanalysis 5: 1765～74頁
- 【非特許文献 19】Friguetら、1985 (J. Immunol. Methods 77: 305～19頁)
- 【非特許文献 20】Janssensら、2001、J. Aerosol Med. 14:433～41頁
- 【非特許文献 21】Amiravら、2002 (J. Nucl. Med. 43: 487～91頁)
- 【非特許文献 22】Amiravら、2012 (Arch. Dis. Child 97: 497～501頁)
- 【非特許文献 23】Chuaら、1994 (Eur. Respir. J. 7: 2185～91頁)
- 【非特許文献 24】Fokら、1996 (Pediatr. Pulmonol. 21: 301～9頁) 50

- 【非特許文献 2 5】 Wildhaberら、1999 (J. Pediatr. 135: 28～33頁)
- 【非特許文献 2 6】 Totapallyら、2002 (Crit. Care 6: 160～5頁)
- 【非特許文献 2 7】 Mundtら、2012 (Pediatr. 2012: 721295)
- 【非特許文献 2 8】 「Pulmonary Drug Delivery」、Karoline Bechtold-Peters及びHenrik Luessen編、2007、ISBN 978-3-87193-322-6 16～28頁
- 【非特許文献 2 9】 O'Callaghan及びBarry、1997、Thorax 52: S31～S44頁
- 【非特許文献 3 0】 Wardら、1989 (Nature 341: 544～546頁)
- 【非特許文献 3 1】 Holtら、2003 (Trends Biotechnol. 21: 484～490頁)
- 【非特許文献 3 2】 Muyldermans 2001(論評:Molecular Biotechnology 74: 277～302頁)
- 【非特許文献 3 3】 Davies及びRiechmann 1994 (FEBS 339: 285～290頁)、1995(Biotechnol. 13: 475～479頁)、1996(Prot. Eng. 9: 531～537頁) 10
- 【非特許文献 3 4】 Riechmann及びMuyldermans 1999 (J. Immunol. Methods 231: 25～38頁)
- 【非特許文献 3 5】 Riechmann及びMuyldermans 2000 (J. Immunol. Methods 240: 185～195頁)
- 【非特許文献 3 6】 Kabatら(「Sequence of proteins of immunological interest」、US Public Health Services、NIH Bethesda、MD、Publication No. 91)
- 【非特許文献 3 7】 Andersonら(1985、J. Clin. Microbiol. 22: 1050～1052頁; 1988、J. Virol. 62: 4232～4238頁)
- 【非特許文献 3 8】 Johnsonら(1997、J. Inf. Dis. 176: 1215～1224頁) 20
- 【非特許文献 3 9】 Conrathら、2001 (J. Biol. Chem. 276: 7346～7350頁)
- 【非特許文献 4 0】 「Drug Delivery: Principles and Applications」(2005) Binghe Wang、Teruna Siahaan及びRichard Soltero編、Wiley Interscience (John Wiley & Sons社)
- 【非特許文献 4 1】 「Pharmacology PreTest™ Self-Assessment and Review」(第11版) Rosenfeld G.C.、Loose-Mitchell D.S.
- 【非特許文献 4 2】 「Pharmacology」(第3版) Lippincott Williams & Wilkins、New York
- 【非特許文献 4 3】 Shlafer M. McGraw-Hill社、Medical Publishing Division、New York 30
- 【非特許文献 4 4】 Yang K.Y.、Graff L.R.、Caughey A.B. Blueprints Pharmacology、Blackwell Publishing社
- 【非特許文献 4 5】 Kawasakiら、2009、J. Med. Virol. 81: 2104～8頁
- 【非特許文献 4 6】 Remington's Pharmaceutical Sciences 1990 (第18版、Mack Publishing Company社、USA)
- 【非特許文献 4 7】 Remington 2005(the Science and Practice of Pharmacy、第21版、Lippincott Williams and Wilkins社)
- 【非特許文献 4 8】 Handbook of Therapeutic Antibodies (S. Dubel編)、Wiley社、Weinheim、2007
- 【非特許文献 4 9】 Newman 2005、J. Appl. Ther. Res. 5: 29～33頁 40
- 【非特許文献 5 0】 Barrettら、2012、Clin. Pharmacol. Ther. 92: 40～9頁
- 【非特許文献 5 1】 Khalil及びLaer 2011、J. Biomed. Biotechnol. Epub 2011年6月1日
- 【非特許文献 5 2】 Willmannら(2007、J. Pharmacokinet. Pharmacodyn. 34: 401～431頁; 2005、1: 159～168頁; 2003、Biosilico 1: 121～124頁)
- 【非特許文献 5 3】 Tschumperlin及びMargulies 1999、J. Appl. Physiol., 86: 2026～33頁
- 【非特許文献 5 4】 Patton 1996、Advanced Drug Delivery Reviews 19: 3～36頁
- 【非特許文献 5 5】 Bastackyら、1995、J. Appl. Physiol. 79: 1615～28頁
- 【非特許文献 5 6】 Conteら、1995、Antimicrob. Agents Chemother. 39: 334～8頁
- 【非特許文献 5 7】 Galaskeら、1979、Kidney Int. 16: 394～403頁 50

【非特許文献 5 8】Maackら、1979、Kidney Int. 16: 251～70頁

【非特許文献 5 9】Dall'Acquaら、J. Biol. Chem. 281: 23514～24頁

【非特許文献 6 0】Edgintonら、2006、Clin. Pharmacokinet. 45: 1013～1034頁

【非特許文献 6 1】Rhodinら、2009、Pediatr. Nephrol. 24: 67～76頁

【非特許文献 6 2】Hislopら、1986、Early Hum. Dev. 13: 1～11頁

【非特許文献 6 3】Kilaniら、2004、Chest 126: 186～91頁

【非特許文献 6 4】Singhら、2007、Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 293: L436～45頁

【非特許文献 6 5】Domachowske及びRosenberg 1999、Clin. Microbiol. Rev. 12: 298～309頁

【非特許文献 6 6】Johnsonら、2007、Mod. Pathol. 20: 108～19頁

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

特に子供等の高リスク集団におけるRSV感染の有効な予防及び/又は治療に関するこの長年の満たされていない要求に対処するために、本発明は、小児集団における生物薬剤の肺内投与のための投与レジメンを提供する。より詳しくは、本発明は、乳児及び幼児等の若年の子供に免疫グロブリン単一可変ドメインを肺内投与するための投与レジメンを提供する。

【0014】

上記のように、RSV中和薬に関して、RSVによって引き起こされる下気道疾患がこれらの成人集団に起こるのはまれであることから、成人から小児に、又はより大きい子供から若年の子供に有効性を外挿することはできない。したがって用量は、モデリングアプローチに基づいてしか決定できない。

【0015】

小児集団の用量決定は、従来では、体重、身長、又は年齢に関連する関数を使用して成人用量からスケーリングする。特定の治療薬(例えば、PULMOZYME(登録商標)(ドルナーゼα))は、乳児を含む全ての年齢に固定用量で投与される。これらの通常の用量決定とは異なり、本発明では、臓器の成熟、血流の変化、身体組成、並びに発達中の肺胞腔への薬物の送達及び沈着及び肺胞腔からの吸収を含む排泄機構の個体発生等の成長及び発達過程を考慮に入れて、モデリングアプローチを設計した。

【0016】

本発明は予想外にも、若年の子供に対する生物薬の肺内投与のための投与レジメンが、子供及びその成熟途中の臓器の生理学の差によって主に推進されることを決定した。より詳しくは、本発明者らは、本発明における用量決定が、成人の肺への送達、分布、及び吸収と比較した、発達中の子供の肺での薬物の肺への送達、分布、及び吸収の差によって主に誘導され得ることを決定した。したがって、RSVに感染した子供における全身並びに局所PKを推進する第一義的に重要なパラメーターは、肺胞吸収腔における薬物の量であるように思われる。本発明のモデリングアプローチに基づいて、体重1kg当たり0.024mgの沈着用量を使用して肺胞腔に達するために、RSV活性の臨床的に意味のある低減が得られる目標濃度(9 µg/mL)を推定した。肺胞表面積と共に肺胞気量は体重によってスケーリングされることから、肺胞濃度は、実質的に体重標準化用量に関して年齢依存的ではなかった。

【0017】

上記の設計されたモデル及び知見に基づいて、本発明は、小児対象にRSV中和免疫グロブリン単一可変ドメインを肺内投与するための投与レジメンであって、抗ウイルス活性が観察される下気道において局所薬物濃度が得られる、投与レジメンを提供する。

【課題を解決するための手段】

【0018】

したがって、本発明は、ポリペプチドをRSV感染に罹っている子供に投与することを含む、若年の子供におけるRSV感染を治療するための方法であって、該ポリペプチドは、5×

10

20

30

40

50

10^{-10}M 又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、から本質的になるか、又はからなり、1日当たり0.020~0.040mg/kg、好ましくは1日当たり0.020~0.035mg/kg、例えば1日当たり0.024mg/kg等の沈着用量で子供に吸入投与される、方法に関する。この方法の特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、この方法の特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

【0019】

本発明はまた、若年の子供におけるRSV感染の治療に使用するためのポリペプチドであって、 $5 \times 10^{-10}\text{M}$ 又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなり、1日当たり0.020~0.040mg/kg、好ましくは1日当たり0.020~0.035mg/kg、例えば1日当たり0.024mg/kg等の沈着用量でRSV感染に罹っている子供に吸入投与される、ポリペプチドにも関する。このポリペプチドの特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、このポリペプチドの特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

【0020】

本発明はまた、ポリペプチドをRSV感染に罹っている子供に投与することを含む、若年の子供におけるRSV感染を治療するための方法であって、該ポリペプチドは、 $5 \times 10^{-10}\text{M}$ 又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなり、1日当たり0.20~0.40mg/kg、好ましくは1日当たり0.20~0.35mg/kg、例えば1日当たり0.24mg/kg等の吸入用量で子供に吸入投与される、方法にも関する。この方法の特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、この方法の特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

【0021】

本発明はまた、若年の子供におけるRSV感染の治療に使用するためのポリペプチドであって、 $5 \times 10^{-10}\text{M}$ 又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなり、1日当たり0.20~0.40mg/kg、好ましくは1日当たり0.20~0.35mg/kg、例えば1日当たり0.24mg/kg等の吸入用量でRSV感染に罹っている子供に吸入投与される、ポリペプチドにも関する。このポリペプチドの特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、このポリペプチドの特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

【0022】

本発明はまた、ポリペプチドをRSV感染に罹っている子供に投与することを含む、若年の子供におけるRSV感染を治療するための方法であって、該ポリペプチドは、 $5 \times 10^{-10}\text{M}$ 又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなり、1日当たり1.00~2.00mg/kg、好ましくは1日当たり1.00~1.75mg/kg、例えば1日当たり1.20mg/kg等での名目用量で子供に吸入投与される、方法にも関する。この方法の特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、この方法の特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

【0023】

本発明はまた、若年の子供におけるRSV感染の治療に使用するためのポリペプチドであって、 $5 \times 10^{-10}\text{M}$ 又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなり、1日当たり1.00~2.00mg/kg、好ましくは1日当た

り1.00～1.75mg/kg、例えば1日当たり1.20mg/kg等の名目用量でRSV感染に罹っている子供に吸入投与される、ポリペプチドにも関する。このポリペプチドの特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、このポリペプチドの特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

【0024】

RSV感染には、上気道のRSV感染、細気管支炎及び気管支肺炎を含む下気道のRSV感染、並びにRSV感染に関連する疾患及び/又は障害、例えばhRSVに関連する、呼吸器病、上気道感染、下気道感染、細気管支炎(肺の小さい気道の炎症)、肺炎、呼吸困難、咳、(再発性の)喘鳴、及び喘息又はCOPD(慢性閉塞性肺疾患)(の悪化)等が挙げられる。一態様において、RSV感染は、RSV下気道感染である。したがって、本発明は、ポリペプチドをRSV下気道感染に罹っている子供に投与することを含む、若年の子供におけるRSV下気道感染を治療するための方法であって、該ポリペプチドは、 5×10^{-10} M又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなり、1日当たり0.020～0.040mg/kg、好ましくは1日当たり0.020～0.035mg/kg、例えば1日当たり0.024mg/kg等の沈着用量;1日当たり0.20～0.40mg/kg、好ましくは1日当たり0.20～0.35mg/kg、例えば1日当たり0.24mg/kg等の吸入用量;1日当たり1.00～2.00mg/kg、好ましくは1日当たり1.00～1.75mg/kg、例えば1日当たり1.20mg/kg等の名目用量で子供に吸入投与される、方法に関する。この方法の特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、この方法の特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染の治療に使用するためのポリペプチドであって、 5×10^{-10} M又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなり、1日当たり0.020～0.040mg/kg、好ましくは1日当たり0.020～0.035mg/kg、例えば1日当たり0.024mg/kg等の沈着用量;1日当たり0.20～0.40mg/kg、好ましくは1日当たり0.20～0.35mg/kg、例えば1日当たり0.24mg/kg等の吸入用量;1日当たり1.00～2.00mg/kg、好ましくは1日当たり1.00～1.75mg/kg、例えば1日当たり1.20mg/kg等の名目用量でRSV下気道感染に罹っている子供に吸入投与される、ポリペプチドにも関する。このポリペプチドの特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、このポリペプチドの特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

【0025】

一態様において、若年の子供は、月齢24カ月未満である。

【0026】

一態様において、若年の子供は、月齢36カ月未満である。

【0027】

一態様において、若年の子供は、月齢1カ月から24カ月未満である。

【0028】

一態様において、若年の子供は、月齢1カ月から36カ月未満である。

【0029】

一態様において、若年の子供は、月齢5カ月から24カ月未満である。

【0030】

一態様において、若年の子供は、月齢5カ月から36カ月未満である。

【0031】

一態様において、若年の子供は乳児である。

【0032】

一態様において、若年の子供は幼児である。

【0033】

一態様において、若年の子供は、RSV下気道感染を有すると診断されているがそれ以外健康である。

10

20

30

40

50

【0034】

一態様において、若年の子供は、RSV下気道感染のために入院中である。

【0035】

ポリペプチド(「本発明のポリペプチド」とも呼ぶ)は、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる。一態様において、本発明のポリペプチドは、 5×10^{-10} M又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合する。一態様において、本発明のポリペプチドは、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和する。好ましい態様において、本発明のポリペプチドは、 5×10^{-10} M又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和する。このポリペプチドの特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、このポリペプチドの特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

10

【0036】

本発明の好ましいポリペプチドは、配列番号46のアミノ酸配列を有するCDR1、配列番号49~50のうち1つのアミノ酸配列を有するCDR2、及び配列番号61のアミノ酸配列を有するCDR3を含む、少なくとも1つ(好ましくは2つ、最も好ましくは3つ)の抗RSV免疫グロブリン単一可変ドメインを包含する。一態様において、本発明の好ましいポリペプチドは、配列番号1~34のアミノ酸配列のうち1つから選択される少なくとも1つ(好ましくは2つ、最も好ましくは3つ)の抗RSV免疫グロブリン単一可変ドメインを包含する。一態様において、本発明のポリペプチドは、配列番号65~85のアミノ酸配列のうち1つ、好ましくは配列番号71から選択される。

20

【0037】

本発明のポリペプチドは、単剤治療として、又は別の治療剤と併用して投与することができる。一態様において、本発明のポリペプチドは、単剤治療として投与される。一態様において、本発明のポリペプチドは、併用治療として投与される。

【0038】

したがって、本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染を治療するための方法であって、 5×10^{-10} M又はそれ未満の K_D でRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でRSVを中和し、3つの抗RSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる抗RSVポリペプチドと、気管支拡張剤とを、同時に、個別に、又は連続的に、RSV感染に罹っている子供に吸入投与することを含み、該ポリペプチドは、1日当たり0.020~0.040mg/kg、1日当たり0.020~0.035mg/kg、又は1日当たり0.024mg/kgの沈着用量で子供に吸入投与される、方法を提供する。この方法の特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、この方法の特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

30

【0039】

したがって、別の態様において、本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染を治療するための方法であって、 5×10^{-10} M又はそれ未満の K_D でRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でRSVを中和し、3つの抗RSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる抗RSVポリペプチドと、気管支拡張剤とを、同時に、個別に、又は連続的に、RSV感染に罹っている子供に吸入投与することを含み、該ポリペプチドは、1日当たり0.20~0.40mg/kg、1日当たり0.20~0.35mg/kg、又は1日当たり0.24mg/kg、の吸入用量で子供に吸入投与される、方法も提供する。この方法の特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、この方法の特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

40

【0040】

したがって、別の態様において、本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染を治療するための方法であって、 5×10^{-10} M又はそれ未満の K_D でRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でRSVを中和し、3つの抗RSV免疫グロブリン単

50

一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる抗RSVポリペプチドと、気管支拡張剤とを、同時に、個別に、又は連続的に、RSV下気道感染に罹っている子供に吸入投与することを含み、該ポリペプチドは、1日当たり1.00~2.00mg/kg、1日当たり1.00~1.75mg/kg、又は1日当たり1.20mg/kgの名目用量で子供に吸入投与される、方法も提供する。この方法の特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、この方法の特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

【0041】

一態様において、ポリペプチドは、2~5日間又はそれより長く連続して毎日、例えば2日間連続して、3日間連続して、4日間連続して、5日間連続して、又はそれより長く、例えば3日間連続して投与される。

10

【0042】

気管支拡張剤は、好ましくは $\beta 2$ 模倣薬のクラス、又は抗コリン作動薬のクラスに属する。一態様において、気管支拡張剤は、長時間作用型の $\beta 2$ 模倣薬、例えばフォルモテロール若しくはその溶媒和物、サルメテロール若しくはその溶媒和物、又はそれらの混合物である。別の態様において、気管支拡張剤は、短時間作用型の $\beta 2$ 模倣薬、例えばサルブタモール、テルブタリン、ピルブテロール、フェノテロール、ツロブテロール、レボサルブタモール、又はそれらの混合物である。別の態様において、気管支拡張剤は、抗コリン作動薬、例えばチオトロピウム、オキシトロピウム、臭化イプラトロピウム、又はそれらの混合物である。

20

【0043】

本発明はまた、50mg/mLの濃度で本発明のポリペプチドを含む組成物0.150~0.400mLを含むネブライザーにも関する。一態様において、ネブライザーは、振動メッシュ式ネブライザーである。一態様において、ネブライザーは、空気又は酸素の固定流を有する。本発明はまた、本発明の方法に使用するための、50mg/mLの濃度で本発明のポリペプチドを含む組成物0.150~0.400mLを含む、そのようなネブライザーにも関する。本発明の例示的なネブライザーは、 5×10^{-10} M又はそれ未満の K_D でhRSVのF-タンパク質に結合し、90ng/mL又はそれ未満の IC_{90} でhRSVを中和し、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなるポリペプチドを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる50mg/mLの組成物0.150~0.400mLを含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる。このネブライザーの特定の態様において、 K_D はイムノアッセイによって測定され得る。或いは又は更に、このネブライザーの特定の態様において、 IC_{90} はマイクロ中和アッセイにおいて測定され得る。

30

【図面の簡単な説明】

【0044】

【図1】本発明において使用されるモデリング戦略の概要を表す概略図である。名目用量:ネブライザーに充填される配列番号71の量;送達用量:振動メッシュ式ネブライザーによって生成され、吸入用のフェイスマスクで利用可能なエアロゾル粒子中の配列番号71の量;吸入用量:上気道で利用可能なエアロゾル粒子中の配列番号71の量(すなわち、吸入された用量);沈着用量:下気道に沈着したエアロゾル粒子中の配列番号71の量;全身用量:下気道の肺胞被覆液を介して吸収され、循環中に放出された配列番号71の量。

40

【図2】本発明の肺内投与のモデルでの肺臓器のグラフ表示である。標準的なPK-SIM(登録商標)モデルと比較したモデル構造の拡張部分を、肺胞被覆液(ALFコンパートメント)を表す太字の枠内に示す。

【図3】PBPKモデル作製及びスケーリングステップを表す概略図である。IP:肺内;IV:静脈内;物理化学データ:配列番号71の特徴づけ。

【図4】静的鼻腔内吸入に関してMPPDツールで計算した、呼吸器の異なる領域に沈着した吸入用量の画分を表すグラフである。月齢特異的肺モデル:3カ月、21カ月、23カ月、及び28カ月。

【図5】正常な呼吸の結果と比較して異なる呼吸窮迫シナリオに関してMPPDツールで計算

50

した、肺胞腔に沈着した吸入用量の月齢依存的画分を表すグラフである。

【図 6】図 6A～図 6B は、(A) ラットに単回用量を IV 適用した後(用量 5mg/kg)、記号: 実験データ、線: シミュレーション; (B) イヌに複数回の用量を IV 適用した後(用量を、3mg/kg、10mg/kg、及び 30mg/kg に漸増させる)、記号: 実験データ、線: シミュレーション、の配列番号 71 の実験的血漿中濃度-時間プロファイルの、シミュレートされた血漿中濃度-時間プロファイルに対する比較を提供する一対のグラフである。

【図 7】ラットに肺内適用後(Table B-1; 試験 1)(表 7)の配列番号 71 の実験的血漿中濃度-時間プロファイルの、シミュレートされた血漿中濃度-時間プロファイルに対する比較を提供する一連のグラフである。記号: 実験データ、線: シミュレーション。

【図 8】ラットに肺内適用後(Table B-1; 試験 1)(表 7)の BALF 中の配列番号 71 の実験量の、肺胞吸収コンパートメントにおける配列番号 71 のシミュレートされた量に対する比較を提供する一連のグラフである。記号: 実験データ(右肺からの実験的 BALF データを肺葉の質量に従って肺全体にスケーリングした)、線: シミュレーション。

【図 9】ラットに肺内適用後(Table B-1; 試験 4)(表 7)1 日目及び 14 日目での配列番号 71 の実験的血漿中濃度-時間プロファイルの、シミュレートされた血漿中濃度-時間プロファイルに対する比較を提供する一連のグラフである。記号: 実験データ、線: シミュレーション。

【図 10】ラットに肺内適用後(Table B-1; 試験 4)(表 7)1 日目及び 14 日目での配列番号 71 の BALF 中の実験量の、肺胞吸収コンパートメントにおけるシミュレートされた量に対する比較を提供する一連のグラフである。記号: 実験データ、線: シミュレーション。

【図 11 A】配列番号 71 を 70mg で肺内適用後(Table B-2; 試験 5)(表 8)の、個体 1 人ずつの実験的血漿中濃度-時間プロファイルの、シミュレートされた血漿中濃度-時間プロファイルに対する比較を提供するグラフである。記号: 実験データ、線: シミュレーション。

【図 11 B】配列番号 71 を 140mg で肺内適用後(Table B-2; 試験 5)(表 8)の、個体 1 人ずつの実験的血漿中濃度-時間プロファイルの、シミュレートされた血漿中濃度-時間プロファイルに対する比較を提供するグラフである。記号: 実験データ、線: シミュレーション。

【図 11 C】配列番号 71 を 210mg で肺内適用後(Table B-2; 試験 5)(表 8)の、個体 1 人ずつの実験的血漿中濃度-時間プロファイルの、シミュレートされた血漿中濃度-時間プロファイルに対する比較を提供するグラフである。記号: 実験データ、線: シミュレーション。

【図 12】IV 投与後(Table B-1; 試験 6)(表 7)の配列番号 71 の個々の実験的血漿中濃度-時間プロファイルの、ラットからスケーリングしたヒトモデルのシミュレーション結果に対する比較を提供するグラフである。灰色の線は、LLOQ を示す。

【図 13】IV 投与後(Table B-1; 試験 6)(表 7)の尿中に排泄された用量の個々の実験的累積画分の、ラットからスケーリングしたヒトモデルのシミュレーション結果に対する比較を提供するグラフである。

【図 14】図 14A～図 14B は、第 2 の臨床試験からの単回用量吸入後(A)及び複数回用量吸入後(B)(Table B-1; 試験 6)(表 7)の配列番号 71 の個々の実験的血漿中(丸)及び ALF(四角)中濃度-時間プロファイルの、ラットからスケーリングしたヒトモデルのシミュレーション結果(線)に対する比較を提供する一対のグラフである。

【図 15】IV 投与後(Table B-1; 試験 6)(表 7)の配列番号 71 の個々の実験的血漿中濃度-時間プロファイルの、精密化ヒト IV モデル(流体力学的半径: 2.46nm; 腎クリアランス: GFR の 5%、及び更なる血漿クリアランス過程)のシミュレーション結果に対する比較を提供するグラフである。灰色の線は LLOQ を示す。

【図 16】IV 投与後(Table B-1; 試験 6)(表 7)の尿中に排泄された用量の個々の実験的累積画分の、精密化ヒト IV モデル(流体力学的半径: 2.46nm; 腎クリアランス: GFR の 5%、及び更なる血漿クリアランス過程)のシミュレーション結果に対する比較を提供するグラフである。

【図 17】図 17A～図 17B は、第 2 の臨床試験からの単回用量吸入後(A)及び複数回用量吸入後(B)(Table B-1; 試験 6)(表 7)の配列番号 71 の個々の実験的血漿中(丸)及び ALF(四角)中濃度-時間プロファイルの、精密化ヒト吸入モデル(流体力学的半径: 2.46nm; 腎クリアランス

10

20

30

40

50

:GFRの5%、及び更なる血漿クリアランス過程;及び肺胞の厚さ:0.2 μm の代替値)のシミュレーション結果(線)に対する比較を提供する一対のグラフである。

【図18】図18A～図18Bは、IV適用後(Table B-1:試験6)(表7)後の配列番号71の個々の実験的血漿中濃度-時間プロファイル(A)及び累積的尿排泄(B)の、IV適用後の集団シミュレーション結果に対する比較を提供する一対のグラフである。影を付けた領域:集団シミュレーションの5～95パーセンタイル、実線:集団シミュレーションの中央値、丸:個々の実験データ。

【図19】図19A～図19Bは、単回用量の肺内適用後の、配列番号71の個々の実験的血漿中(A)及びALF中(B)濃度-時間プロファイルの、第2の臨床試験(Table B-1:試験6)(表7)の集団シミュレーション結果に対する比較を提供する一対のグラフである。影を付けた領域:集団シミュレーションの5～95パーセンタイル、実線:集団シミュレーションの中央値、白丸:個々の実験データ。塗りつぶした記号(血漿プロファイル);実験データの中央値、5及び95パーセンタイル(全ての個体(n=23)に関するデータが利用可能である場合に示す)。

【図20】図20A～図20Bは、複数回用量を肺内適用後の、配列番号71の個々の実験的血漿中(A)及びALF中(B)濃度-時間プロファイルの、第2の臨床試験(Table B-1:試験6)(表7)の集団シミュレーション結果に対する比較を提供する一対のグラフである。影を付けた領域:集団シミュレーションの5～95パーセンタイル、実線:集団シミュレーションの中央値、白丸:個々の実験データ。塗りつぶした記号(血漿プロファイル);実験データの中央値、5及び95パーセンタイル(全ての個体(n=15)に関するデータが利用可能である場合に示す)。

【図21】図21A～図21Bは、配列番号71の個々の実験的血漿中濃度-時間プロファイルの、第1のヒト試験(Table B-1:試験5)(表7)の単回用量の吸入(A)及び複数回用量の吸入(B)に関する集団シミュレーション結果に対する比較を提供する一対のグラフである。影を付けた領域:集団シミュレーションの5～95パーセンタイル、実線:集団シミュレーションの中央値、白丸:個々の実験データ。塗りつぶした記号(血漿プロファイル);実験データの中央値、5及び95パーセンタイル(全ての個体に関するデータ、単回投与に関してn=18及び複数回投与に関してn=12が利用可能である場合に示す)。

【図22】図22A～図22Bは、週齢0～1週の子供の群に関するALF中濃度-時間曲線を提供する一対のグラフである。灰色の線は、9 $\mu\text{g/mL}$ の目標濃度を示す。A:リニア濃度スケール。B:対数濃度スケール。

【図23】図23A～図23Bは、プールした集団(月齢5～24カ月の子供)の血漿中濃度-時間曲線を提供する一対のグラフである。投与スキーム:0～24～48時間。A:リニア濃度スケール。B:対数濃度スケール。

【図24】図24A～図24Bは、プールした集団(月齢5～24カ月の子供)のALF中濃度-時間曲線を提供する一対のグラフである。投与スキーム:0～24～48時間。A:リニア濃度スケール。B:対数濃度スケール。

【図25】図25A～図25Bは、プールした集団(月齢5～24カ月の子供)の血漿中濃度-時間曲線を提供する一対のグラフである。投与スキーム:0～24時間。A:リニア濃度スケール。B:対数濃度スケール。

【図26】図26A～図26Bは、プールした集団(月齢5～24カ月の子供)のALF中濃度-時間曲線を提供する一対のグラフである。投与スキーム:0～24時間。A:リニア濃度スケール。B:対数濃度スケール。

【図27】図27A～図27Bは、プールした集団(月齢5～24カ月の子供)の血漿中濃度-時間曲線を提供する一対のグラフである。投与スキーム:単回投与。A:リニア濃度スケール。B:対数濃度スケール。

【図28】図28A～図28Bは、プールした集団(月齢5～24カ月の子供)のALF中濃度-時間曲線を提供する一対のグラフである。投与スキーム:単回投与。A:リニア濃度スケール。B:対数濃度スケール。

【図29】hRSV感染新生仔ヒツジの肺におけるウイルス抗原検出を表すグラフである。感

10

20

30

40

50

染後6日目に、右肺中葉、左肺中葉、左肺前葉及び左肺後葉に関して肺組織片2個ずつを採取した。ウイルス抗原を免疫組織化学によって検出し、視野当たりの罹患気管支/細気管支、又は肺胞の数を計数した。結果を、3つの試験を合わせた全ての動物の評価した全ての肺葉の平均値±SEMとして表記する。

【図30A】実施例12に記載の分析の結果を表すグラフである。ウイルス病変に関する肉眼での肺の検査。Rt Cr:右肺前葉;Rt Mid:右肺中葉;Rt Cd:右肺後葉;Acc:副葉;Lt Cr:左肺前葉;Lt Mid:左肺中葉;Lt Cd:左肺後葉。結果を、3つの試験を合わせた全ての動物の用量レベル及び肺葉毎の平均値±SEMとして表記する。

【図30B】実施例12に記載の分析の結果を表すグラフである。hRSV感染新生仔ヒツジにおける組織学的肺浸潤影スコア。フェーズ2の仔ヒツジの肺を病変に関して採点した。浸潤影スコアは、典型的なhRSV病変の総合スコアである。これは、いくつかの特徴が1つの総合スコアに分類されたことを意味する。結果を3つの試験を合わせた全ての動物の平均値±SEMとして表記する。

【図31】臨床複合スコアを表すグラフである。臨床複合スコアは、Table B-4(表10)に示される基準に基づいて決定した。結果を3つの試験を合わせた全ての動物の用量レベル毎の平均値±SEMとして表す。

【図32】hRSV感染新生仔ヒツジにおける3～5日間連続毎日吸入投与後の上皮肺被覆液中の配列番号71の濃度を表すグラフである。配列番号71のELF中濃度は、死後に採取したBALF中で測定された濃度から、尿素補正方法(値をRBC補正した)に基づいて希釈に関して標準化した後に誘導された。BALFは、最後の投与の24時間後に採取した。3つ全ての試験を合わせた結果を平均値±SDとして示す。斜線は、目標濃度を表す。

【図33】本発明に従う吸入デバイスの特定の実施形態の断面側面図を示す。

【図34】本発明に従う吸入デバイスの特定の実施形態の透視図を示す。

【図35】本発明に従う吸入デバイスの特定の実施形態の上面図を示す。

【図36】本発明に従う吸入デバイスの特定の実施形態の側面図を示す。

【図37】本発明に従う吸入デバイスの特定の実施形態の底面図を示す。

【図38】本発明に従う吸入デバイスの特定の実施形態の前面図を示す。

【図39】本発明に従う吸入デバイスの特定の実施形態の後面図を示す。

【発明を実施するための形態】

【0045】

定義

特に表示又は定義されていない限り、使用される全ての用語は、当技術分野におけるその通常の意味を有し、これらは当業者に明らかである。例えば、Sambrookら、「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」(第2版)、1～3巻、Cold Spring Harbor Laboratory Press社(1989); F. Ausubelら編、「Current protocols in molecular biology」、Green Publishing and Wiley Interscience社、New York(1987); Lewin、「Genes II」、John Wiley & Sons社、New York、N.Y.、(1985); Oldら、「Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering」、第2版、University of California Press社、Berkeley、CA(1981); Roittら、「Immunology」(第6版)、Mosby/Elsevier社、Edinburgh(2001); Roittら、Roitt's Essential Immunology、第10版、Blackwell Publishing社、UK(2001);及びJanewayら、「Immunobiology」(第6版)、Garland Science Publishing/Churchill Livingstone、New York(2005)等の標準的な参考書並びに本明細書に引用される一般的な背景技術を参照されたい。

【0046】

特に表示されていない限り、具体的に詳細に記載されていない全ての方法、ステップ、技術、及び操作を実施することができ、当業者に明白であるように、それ自体公知の方法で実施されている。例えば、標準的な参考書及び本明細書において言及される一般的背景技術、並びにその中で引用される更なる参考文献;並びに例えば、免疫グロブリン等のタンパク質の特異性及び他の所望の特性を改善するためのアフィニティ成熟及び他の技術等のタンパク質工学に関する技術を記載する、以下の論評;Presta 2006 (Adv. Drug Deliv.

10

20

30

40

50

Rev. 58 (5~6): 640~56頁)、Levin及びWeiss 2006 (Mol. Biosyst. 2(1): 49~57頁)、Irvingら、2001 (J. Immunol. Methods 248(1~2): 31~45頁)、Schmitzら、2000 (Placenta 21 Suppl. A: S106~12頁)、Gonzalesら、2005 (Tumour Biol. 26(1): 31~43頁)を参照されたい。

【0047】

核酸配列又はアミノ酸配列は、例えばそれが得られた反応媒体又は培養培地と比較して、前記起源又は培地に通常関連する少なくとも1つの他の成分、例えば別の核酸、別のタンパク質/ポリペプチド、別の生物学的成分若しくは高分子、又は少なくとも1つの混入物質、不純物、若しくは微量の成分から分離されている場合、「本質的に単離(型)」であると考えられる。特に、核酸配列又はアミノ酸配列は、それが少なくとも2倍、特に少なくとも10倍、より特に少なくとも100倍、及び最大1000倍又はそれより高く精製されている場合に、「本質的に単離されている」と考えられる。「本質的に単離型」である核酸配列又はアミノ酸配列は、適した技術、例えば適したクロマトグラフィー技術、例えばポリアクリルアミドゲル電気泳動等を使用して決定した場合に、好ましくは本質的に均一である。

10

【0048】

ヌクレオチド配列又はアミノ酸配列がそれぞれ、別のヌクレオチド配列若しくはアミノ酸配列を「含む」と言われる場合、又は別のヌクレオチド配列若しくはアミノ酸配列「から本質的になる」と言われる場合、このことは、後者のヌクレオチド配列又はアミノ酸配列が、最初に言及したヌクレオチド配列又はアミノ酸配列の中にそれぞれ取り込まれていることを意味する場合があるが、より通常、これは一般的には、最初に言及された配列が実際にどのように生成されたか又は得られたかに関わらず(例えばいかなる適した方法で生成又は得られてもよい)、最初に言及したヌクレオチド配列又はアミノ酸配列がそれぞれ、その配列内に、後者の配列と同じヌクレオチド配列又はアミノ酸配列を有する一連のヌクレオチド又はアミノ酸残基を含むことを意味する。非限定的な例として、本発明のポリペプチドが、免疫グロブリン単一可変ドメインを含むと言われる場合、このことは、前記免疫グロブリン単一可変ドメイン配列が本発明のポリペプチドの配列に取り込まれていることを意味する場合があるが、より通常、これは本発明の前記ポリペプチドがどのように生成されたか又は得られたかに関わらず、本発明のポリペプチドが、免疫グロブリン単一可変ドメインの配列をその配列内に含有することを意味する。同様に、核酸又はヌクレオチド配列が別のヌクレオチド配列を含むと言われる場合、最初に言及した核酸又はヌクレオチド配列は好ましくは、それが発現産物(例えば、ポリペプチド)に発現される場合、後者のヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列が、前記発現産物の一部を形成するような配列である(言い換えれば、後者のヌクレオチド配列は、最初に言及したより大きい核酸又はヌクレオチド配列と同じ読み取り枠に存在する)。

20

30

【0049】

「から本質的になる(essentially consist(s) of)」又は「から本質的になる(consist(s) essentially of)」は、本発明の方法において使用される免疫グロブリン単一可変ドメインが、本発明のポリペプチドとまさに同じであるか、又はアミノ酸残基1~20個、例えばアミノ酸残基1~10個、好ましくはアミノ酸残基1、2、3、4、5、又は6個等のアミノ酸残基1~6個等の限られた数のアミノ酸残基が、免疫グロブリン単一可変ドメインのアミノ末端、カルボキシ末端、若しくはアミノ末端とカルボキシ末端の両方に付加されている、本発明のポリペプチドに対応することを意味する。

40

【0050】

更に、本明細書において使用される用語「配列」(例えば、「免疫グロブリン配列」、「可変ドメイン配列」、「免疫グロブリン単一可変ドメイン配列」、「V_{HH}配列」、又は「タンパク質配列」等の用語)は、本文がより限定的な解釈を必要としない限り、一般的に関連するアミノ酸配列、並びにアミノ酸配列をコードする核酸配列又はヌクレオチド配列の両方を含むと理解すべきである。

【0051】

50

特異的抗原決定基、エピトープ、抗原、又はタンパク質(又は少なくともその一部、断片、若しくはエピトープ)に(特異的に)結合することができる、親和性を有する及び/又は特異性を有するアミノ酸配列(本発明の免疫グロブリン単一可変ドメイン、抗体、ポリペプチド、又は一般的に抗原結合タンパク質若しくはポリペプチド若しくはその断片)は、前記抗原決定基、エピトープ、抗原、又はタンパク質に「対する」又は「に向けられる」と言われる。

【0052】

親和性は、分子の相互作用の強度又は安定性を指す。親和性は一般的に、mol/リットル(又はM)の単位を有する K_D 又は解離定数として与えられる。親和性はまた、 $1/K_D$ に等しく(mol/リットル) $^{-1}$ (又は M^{-1})の単位を有する結合定数 K_A としても表記することができる。本明細書において、2つの分子(本発明の免疫グロブリン単一可変ドメイン又はポリペプチドとhRSVのF-タンパク質等の)間の相互作用の安定性は、主にその相互作用の K_D 値に関して表記される; $K_A=1/K_D$ という関係を考慮すると、その K_D 値によって分子相互作用の強度を明記することを使用して、対応する K_A 値も計算することができることは当業者に明白である。 K_D 値は、それが周知の関係式: $DG=RT \cdot \ln(K_D)$ ($DG=RT \cdot \ln(K_A)$ と等価)(式中Rは、気体定数に等しく、Tは絶対温度に等しく、lnは自然対数を指す)によって結合の自由エネルギー(DG)に関連することから、熱力学的な意味でも分子相互作用の強度を特徴付ける。

【0053】

意味がある(例えば、特異的である)と考えられる生物学的相互作用の K_D は、典型的には、 $10^{-10}M(0.1nM) \sim 10^{-5}M(10000nM)$ の範囲である。相互作用がより強ければ、その K_D はより小さくなる。

【0054】

K_D はまた、 k_{off} と表示される複合体の解離速度定数の、 k_{on} と表示されるその結合速度定数に対する比として表記することもできる($K_D=k_{off}/k_{on}$ 及び $K_A=k_{on}/k_{off}$)。オフレート k_{off} は、単位 s^{-1} (sは、秒のSI単位表記法である)を有する。オンレート k_{on} は、単位 $M^{-1}s^{-1}$ を有する。オンレートは、 $10^2 M^{-1}s^{-1}$ から生体分子相互作用の拡散律速結合速度定数に近づく約 $10^7 M^{-1}s^{-1}$ の間で変化し得る。オフレートは、 $t_{1/2}=\ln(2)/k_{off}$ の関係によって所定の分子相互作用の半減期に関連する。オフレートは、 $10^{-6}s^{-1}$ (複数日の $t_{1/2}$ でほぼ不可逆的な複合体) $\sim 1s^{-1}(t_{1/2}=0.69s)$ の間で変化し得る。

【0055】

抗原又は抗原決定基に対する抗原結合タンパク質の特異的結合は、例えば、Scatchard分析、及び/又は競合結合アッセイ、例えばラジオイムノアッセイ(RIA)、酵素イムノアッセイ(EIA)、及びサンドイッチ競合アッセイ等、並びにそれ自体が当技術分野で公知のその様々な変化型、並びに本明細書において言及した他の技術を含む、それ自体が公知である任意の適した方法で決定することができる。

【0056】

2つの分子間の分子相互作用の親和性は、1つの分子がバイオセンサーチップ上に固定されて、他の分子が固定された分子の上を、 k_{on} 、 k_{off} 測定、したがって K_D (又は K_A)値が得られる流れの条件下で通過する、周知の表面プラズモン共鳴(SPR)バイオセンサー技術(例えば、Oberら、2001、Intern. Immunology 13: 1551~1559頁を参照されたい)等の、それ自体公知である異なる技術によって測定することができる。これは、例えば周知のBiacore機器(Pharmacia Biosensor AB社、Uppsala、Sweden)を使用して実施することができる。Kinetic Exclusion Assay(KinExA)(Drakeら、2004、Analytical Biochemistry 328:35~43頁)は、結合パートナーを標識することなく、溶液中の結合事象を測定し、複合体の解離を動力学的に除外することに基づいている。

【0057】

GYROLAB(商標)イムノアッセイシステムは、自動の生物分析及び迅速な試料の転換のためのプラットフォームを提供する(Fraleyら、2013、Bioanalysis 5: 1765~74頁)。

【0058】

測定された K_D は、測定過程が、例えば1つの分子のバイオセンサー上のコーティングに

関連するアーチファクトによって、含まれる分子の内因性の結合親和性に何らかの影響を及ぼす場合、見かけの K_D に対応し得ることは同様に当業者に明白である。同様に、見かけの K_D は、1つの分子が他の分子に関して1つより多くの認識部位を含有する場合に測定され得る。そのような状況において、測定される親和性は、2つの分子による相互作用のアビディティによって影響を受け得る。

【0059】

親和性を評価するために使用され得る別のアプローチは、Friguetら、1985 (J. Immunol. Methods 77: 305~19頁)の2ステップELISA(酵素結合免疫吸着アッセイ)技法である。この方法は、液相の結合平衡測定を確立しており、分子の1つがプラスチック等の支持体上に吸着することに関連して起こり得るアーチファクトを回避する。

10

【0060】

しかし、 K_D の正確な測定は非常に労力がかかり、そのために、2つの分子の結合強度を評価するためにしばしば見かけの K_D 値を決定する。全ての測定が一貫してなされる限り(例えば、アッセイ条件を不変のままで維持する)、見かけの K_D 測定値を、真の K_D の近似値として使用することができること、したがって本明細書において K_D と見かけの K_D は、等しい重要性又は関連性で処理すべきであることに注意すべきである。

【0061】

本明細書において使用される用語「ウイルスの感染力」は、前記ウイルスに曝露された場合に、実際に前記ウイルスに感染するようになる、生きている対象の割合を指す。

【0062】

本明細書において使用される「ウイルスの中和」は、適したインビトロ、細胞、又はインビボアッセイ(更に言及されるアッセイ等)を使用して測定した場合に、ビリオンに対する中和化合物の結合による、ウイルスの感染力(本明細書において定義される)の調節及び/又は低減及び/又は予防及び/又は阻害を指す。

20

【0063】

用語「用量」は、対象に投与される本発明のポリペプチドの量を指す。

【0064】

「名目用量」は、ネブライザーに充填される本発明のポリペプチドの量を指す。名目用量は、充填容量(ネブライザーに充填された治療組成物の容量)及び治療組成物中の本発明のポリペプチドの濃度に基づいて容易に決定することができる。

30

【0065】

「送達用量」は、振動メッシュ式ネブライザーによって生成され、吸入用のフェイスマスクで利用可能なエアロゾル粒子中の本発明のポリペプチドの量を指す。

【0066】

「吸入用量」は、上気道で利用可能なエアロゾル粒子中の本発明のポリペプチドの量(すなわち、吸入された用量)を指す。吸入用量は、名目用量からのパーセント(%)として計算することができ、ネブライザーの特徴に依存する。吸入用量は、通常、充填用量の10%~20%の間又はそれより大きく変化する。

【0067】

吸入用量は、例えば若年の子供の上気道の気道モデルを使用して決定することができる。そのようなモデルは、例えば、Sophia解剖学的乳児鼻咽頭(SAINT)モデル(Janssensら、2001、J. Aerosol Med. 14:433~41頁)である。SAINTモデルは、光造形技術を使用して作製され、若年の子供のエアロゾル沈着を研究するために使用される、月齢9カ月の子供の上気道の解剖学的に正確な鋳型/表示である。本発明の方法に適用される投与条件を厳密に模倣することができる。例えばFOXネブライザーによる投与により、ネブライザーに充填された全用量から、およそ20%が吸入されると予想されることが示された。

40

【0068】

「沈着用量」は、下気道に沈着したエアロゾル粒子中の本発明のポリペプチドの量を指す。沈着用量は、吸入用量から計算することができ、吸入された粒子の特徴及びRSV感染に罹っている若年の子供の呼吸パターンに依存する。RSV感染の子供における呼吸パター

50

ンは、例えば、Amiravら、2002(J. Nucl. Med. 43: 487~91頁)、Amiravら、2012 (Arch. Dis. Child 97: 497~501頁)、Chuaら、1994(Eur. Respir. J. 7: 2185~91頁)、Fokら、1996(Pediatr. Pulmonol. 21: 301~9頁)、Wildhaberら、1999(J. Pediatr. 135: 28~33頁)、Totapallyら、2002 (Crit. Care 6: 160~5頁)、Mundtら、2012(Pediatr. 2012: 721295)に記載されている。

【0069】

沈着用量は、最も好ましくは、肺の形態(年齢特異的)、粒子の特性(粒径及び密度)、並びに呼吸パターン(回数、量)を考慮に入れるモデリングを使用して決定すべきである。これらのパラメーターを考慮に入れるモデルは、例えばMultiple-Path Particle Dosimetry (MPPD)である。MPPDツールは、NIH情報技術センター(NIH Centre for Information Technology)(CIT、US)及びオランダの国立公衆衛生環境研究所(the National Institute of Public Health and the Environment(RIVM))によって開発された年齢特異的対称肺モデルであり、呼吸器におけるエアロゾルの沈着量を計算するために使用することができる。このモデルによって、異なる小児年齢群に関して、及び異なる粒径の粒子に関して、頭部、気管気管支、及び肺泡領域における領域沈着の平均値、並びに気道の世代毎の沈着の平均値の説明が可能となる。全体として、領域沈着は、肺の形態(年齢特異的)、粒子の特性(粒径及び密度分布)、及び呼吸パターン(回数、量)に依存する。RSV感染の子供による静的鼻腔内吸入及び粒子MAD(質量中央粒径)が2.63マイクロメートルの場合、肺泡腔に沈着する画分は、吸入用量の約10%であると計算された。

【0070】

「全身用量」は、下気道の肺泡被覆液を介して吸収されて、循環中に放出された本発明のポリペプチドの量を指す。全身用量は、全身循環中の本発明のポリペプチドの濃度を測定することによって容易に決定することができる。

【0071】

本発明において使用される「全身循環」は、心臓から身体に酸素を含む血液を送り、酸素を含まない血液を心臓に戻す心血管系の一部である。

【0072】

用語「投与する」は、本発明のポリペプチドの投与を指す。本発明の文脈において明白に異なることを示していない限り、用語「投与する」は、本発明のポリペプチドの肺内投与を指す。

【0073】

子供は一般的に、出生から思春期までの、又は子供の発達段階にあるヒト対象である。本発明の文脈において、「若年の子供」は、月齢24カ月未満又は36カ月(3歳)未満の小児を指す。「乳児」は、ヒトの非常に小さい子孫である。この用語は通常、赤ちゃんと同義であると考えられる。用語「乳児」は、典型的には月齢1月から12カ月の若年の子供に適用される。ヒトの子供が歩き始めると、その代わりに用語「幼児」が使用され得る。「幼児」は、1歳~3歳の子供である。本発明の文脈において、「幼児」は、1歳から月齢24カ月未満、又は1歳から月齢36カ月(3歳)未満の子供である。

【0074】

「小児科学」は、乳児及び子供の医療を扱う診療科である。

【0075】

「呼吸器」は、本発明の目的に関して、「呼吸系」、「気道組織」、又は「気道」と同等である。呼吸系は、2つの異なる区域を含む:気道及び血管コンパートメントが存在する導管域と呼吸域(例えば、「Pulmonary Drug Delivery」、Karoline Bechtold-Peters及びHenrik Luessen編、2007、ISBN 978-3-87193-322-6 16~28頁を参照されたい)。導管域は、鼻、咽頭、喉頭、気管、気管支、及び細気管支からなる。これらの構造は、空気が肺の中に入出入りするための連続的な通路を形成する。呼吸域は、肺の深部内部に見出され、呼吸細気管支、肺胞管、及び肺胞で構成される。これらの壁の薄い構造により、吸入された酸素は、肺毛細血管の中に二酸化炭素と引き換えに拡散する。解剖学的に同じ構造がしばしば上気道と下気道に分類される。上気道構造は、頭頸部に見出され、鼻、咽頭、及び喉

頭からなる。下気道構造は、胸郭又は胸部に位置し、気管、気管支、及び肺(すなわち、細気管支、肺胞管、及び肺胞)を含む。このため、下気道は、気管から肺までの気道の一部を指す。

【0076】

「肺胞(alveolus)」(複数形:「alveoli」)は、中空の腔の形状を有する解剖学的構造である。肺実質に見出される肺胞は呼吸樹の末端であり、いずれも血液とのガス交換部位である肺胞嚢又は肺胞管のいずれかから露出する。肺胞膜は、ガス交換表面である。二酸化炭素に富む血液は、身体に残りから肺胞血管へと押し出され、肺胞血管で、拡散を通して血液はその二酸化炭素を放出して酸素を吸収する。

【0077】

「肺胞被覆液(ALF)」は、肺胞、小さい気道、及び大きい気道の粘膜を覆う薄い液体層を形成する。これは、肺と外界との間の最初の障壁を構成する。本発明の文脈において、この用語は、より深部の肺を指す。

【0078】

「気管支肺胞洗浄(BAL)」は、気管支鏡を口又は鼻の中を肺まで通して、肺の小さい部分に液体を吹きかけた後検査のために回収する医学的技法である。BALは、肺胞被覆液(ALF)の成分を採取する最も一般的な方法である。

【0079】

本発明において使用される「吸入投与」、「肺内投与」、「吸入による送達」、及び「肺内送達」は、本発明のポリペプチドが呼吸器に投与されることを意味する。本発明において、この送達方法において、本発明のポリペプチドは、本発明のポリペプチドを(ネブライザーによって)噴霧することによって得られたエアロゾルとして存在する。

【0080】

「吸入デバイス」は、肺を介して体内に薬剤を送達するために使用される医療用デバイスである。

【0081】

本明細書において使用される「エアロゾル」は、ガスに分散される微細な粒子の形状(すなわち、微粒子を含有する微細なミスト又はスプレー)の液体の懸濁液を指す。本明細書において使用される用語「粒子」は、液体、例えば液滴を指す。本発明のポリペプチドを肺に送達するための薬学的エアロゾルは、口及び/又は鼻を介して吸入することができる。肺内送達では、微細粒子画分(FPF)(すなわち、呼吸細気管支及び肺胞領域における)として沈着させるためには、およそ5又は6マイクロメートルより小さい粒子の生成が必要であると考えられる(O'Callaghan及びBarry, 1997, Thorax 52: S31~S44頁)。エアロゾル中の粒径は、体積中央粒径(VMD)として表記することができる。「体積中央粒径」は、エアロゾル体積の50%がこの値より大きく、50%がこの値より小さい、エアロゾルの幾何学的粒径として定義される。「空気動力学的中央粒径(MMAD)」は、粒子の50質量%がこの値より小さく、50%がこの値より大きい、幾何平均空気動力学的粒径として定義される。エアロゾル粒子の密度が $1\text{g}/\text{cm}^3$ である場合、VMDとMMADは等価である。

【0082】

本発明において使用される用語「噴霧」は、ネブライザー(本明細書において更に説明する)によって、液体をミスト又は微細なスプレーに変換することを指す。

【0083】

「エアロゾル発生器」は、液体製剤、例えば、吸入用途のための医薬組成物からエアロゾルを生成することができるデバイス又はデバイス成分である。用語「ネブライザー」又は「噴霧手段」も、同義に使用され得る。

【0084】

特に明記していない限り、「ガス」は、吸入に適した任意のガス又はガス混合物を指す。

【0085】

「側方」又は「側方に」とは、デバイス又はデバイス成分の中心、中央、又は中心軸か

10

20

30

40

50

ら離れていることを意味する。

【0086】

本明細書において使用される用語「対象」及び「患者」は、互換的に使用される。本明細書において使用される用語「対象」及び「複数の対象」は、ヒトを指す。

【0087】

本明細書において使用される語句「薬学的に許容される」は、連邦政府若しくは州政府の規制当局によって承認されていること、又は動物での使用、より詳しくはヒトでの使用のために米国薬局方、欧州薬局方、若しくは他の一般的に認知されている薬局方に記載されていること、を意味する。この意味において、この語句は、製剤の他の成分と適合性でなければならず、対象において許容されない有害な効果を誘発してはならない。この用語は、健全な医学的判断の範囲内で、妥当な利益/リスク比に釣り合って、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症を引き起こすことなく、ヒト及び動物の組織に接触して使用するために適している化合物、材料、組成物、及び/又は剤形を指す。

10

【0088】

本明細書において使用される用語「薬学的活性量」は、1つ又は複数の疾患及び/又は障害の重症度及び/又は持続を低減させるために十分な治療剤(例えば、本発明のポリペプチド)の量を指す。

【0089】

本発明のポリペプチド

20

本発明のポリペプチドは、天然に存在しなくてもよい。このため、本発明のポリペプチドは、天然に存在しない配列を産生するように設計、製造、合成、及び/又は組み換えされていてもよい。

【0090】

免疫グロブリン単一可変ドメイン

特に明記していない限り、用語「免疫グロブリン配列」は、本発明において重鎖抗体又は従来の4本鎖の抗体を指すために使用されるかによらず、一般的な用語として完全長の抗体、その個々の鎖、並びにその全ての部分、ドメイン、又は断片(それぞれ、 V_{HH} ドメイン又は V_H/V_L ドメイン等の抗原結合ドメイン又は断片を含むがこれらに限定されない)を含むように使用される。更に、本明細書において使用される用語「配列」(例えば、「免疫グロブリン配列」、「抗体配列」、「可変ドメイン配列」、「 V_{HH} 配列」、又は「タンパク質配列」のような用語)は、本文がより限定的な解釈を必要としない限り、一般的には、関連するアミノ酸配列並びにそれらをコードする核酸配列又はヌクレオチド配列の両方を含むと理解すべきである。

30

【0091】

「単一可変ドメイン」と互換的に使用される用語「免疫グロブリン単一可変ドメイン」は、抗原結合部位が1つの免疫グロブリンドメインに存在して、それによって形成される分子を定義する。これは、2つの免疫グロブリンドメイン、特に2つの可変ドメインが相互作用して抗原結合部位を形成する「従来の」免疫グロブリン又はその断片とは異なる免疫グロブリン単一可変ドメインを定める。典型的に、従来の免疫グロブリンでは、重鎖可変ドメイン(V_H)と軽鎖可変ドメイン(V_L)は、相互作用して抗原結合部位を形成する。この場合、両方の V_H 及び V_L の相補性決定領域(CDR)が抗原結合部位に関与して、すなわち全体で6個のCDRが抗原結合部位の形成に関係する。

40

【0092】

これに対し、免疫グロブリン単一可変ドメインの結合部位は、1つの V_H 又は V_L ドメインによって形成される。よって、免疫グロブリン単一可変ドメインの抗原結合部位は3個以下のCDRによって形成される。

【0093】

よって、用語「免疫グロブリン単一可変ドメイン」及び「単一可変ドメイン」は、抗原結合部位の形成のために少なくとも2つの可変ドメインの相互作用を必要とする従来の免

50

疫グロブリン又はその断片を含まない。しかし、これらの用語は、抗原結合部位が1つの可変ドメインによって形成される従来の免疫グロブリンの断片を含む。

【0094】

一般的に、単一可変ドメインは、本質的に4つのフレームワーク領域(それぞれ、FR1からFR4)と3つの相補性決定領域(それぞれ、CDR1からCDR3)からなるアミノ酸配列であろう。そのような単一可変ドメイン及び断片は、それらが免疫グロブリンのひだを含むか、又は適した条件で免疫グロブリンのひだを形成することができることが最も好ましい。そのため、単一可変ドメインは、それが1つの抗原結合単位(すなわち、例えば従来の抗体に存在する可変ドメイン、及び機能的抗原結合ドメインを形成するために例えば V_H/V_L 相互作用を通して別の可変ドメインと相互作用する必要があるscFv断片の場合のように、1つの抗原結合ドメインが、機能的な抗原結合単位を形成するために別の可変ドメインと相互作用する必要があるように、本質的に単一可変ドメインからなる機能的抗原結合単位)を形成することができる限り、例えば軽鎖可変ドメイン配列(例えば、 V_L 配列)若しくはその適した断片;又は重鎖可変ドメイン配列(例えば、 V_H 配列若しくは V_{HH} 配列)若しくはその適した断片を含み得る。

10

【0095】

本発明の一実施形態において、免疫グロブリン単一可変ドメインは、軽鎖可変ドメイン配列(例えば、 V_L 配列)又は重鎖可変ドメイン配列(例えば、 V_H 配列)であり、より詳しくは、免疫グロブリン単一可変ドメインは、従来の4本鎖抗体に由来する重鎖可変ドメイン配列又は重鎖抗体に由来する重鎖可変ドメイン配列であり得る。

20

【0096】

例えば、単一可変ドメイン又は免疫グロブリン単一可変ドメイン(又は免疫グロブリン単一可変ドメインとして使用するために適したアミノ酸)は、(単一)ドメイン抗体(又は(単一)ドメイン抗体として使用するために適したアミノ酸)、「dAb」、又はdAb(又は、dAbとして使用するために適しているアミノ酸)、又はNanobody(本明細書において定義され、 V_{HH} を含むがこれらに限定されない);他の単一可変ドメイン、又はそのいずれか1つの任意の適した断片であり得る。

【0097】

(単一)ドメイン抗体の全般的説明に関しては、本明細書において引用した先行技術文献並びに欧州特許第0368684号も参照されたい。用語「dAb's」に関しては、Wardら、1989 (Nature 341: 544~546頁)、Holtら、2003(Trends Biotechnol. 21: 484~490頁)、並びに例えば国際公開第04/068820号、国際公開第06/030220号、国際公開第06/003388号、国際公開第06/059108号、国際公開第07/049017号、国際公開第07/085815号、並びにDomantis Ltd社の他の公表された特許出願を参照されたい。同様に、哺乳動物起源でないことから、本発明の文脈において好ましさは劣るが、単一可変ドメインは、特定のサメ種に由来し得る(例えば、いわゆる「IgNARドメイン」、例えば国際公開第05/18629号を参照されたい)ことに注意すべきである。

30

【0098】

特に、免疫グロブリン単一可変ドメインは、Nanobody(登録商標)(本明細書において定義される)又はその適した断片であり得る。[注意:Nanobody(登録商標)、Nanobodies(登録商標)、及びNanoclone(登録商標)は、Ablynx N.V.社の登録商標である]。Nanobodyの全般的説明に関しては、以下の更なる説明並びに国際公開第08/020079号(16頁)に記載される内容等の、本明細書において引用された先行技術文献を参照されたい。

40

【0099】

V_{HH} 及びNanobodyの更なる説明に関して、Muyldermans 2001による総評(Molecular Biotechnology 74: 277~302頁における論評)、並びに全般的背景技術として言及される以下の特許出願:Vrije Universiteit Brusselによる国際公開第94/04678号、国際公開第95/04079号及び国際公開第96/34103号;Unilever社による国際公開第94/25591号、国際公開第99/37681号、国際公開第00/40968号、国際公開第00/43507号、国際公開第00/65057号、国際公開第01/40310号、国際公開第01/44301号、欧州特許第1134231号、及び国際公開第02/48

50

193号;Vlaams Instituut voor Biotechnologie (VIB)社による国際公開第97/49805号、国際公開第01/21817号、国際公開第03/035694号、国際公開第03/054016号及び国際公開第03/055527号;Algonomics N.V.社及びAblynx N.V.社による国際公開第03/050531号;National Research Council of Canadaによる国際公開第01/90190号;Institute of Antibodies社による国際公開第03/025020号(=欧州特許第1433793号);並びにAblynx N.V.社による国際公開第04/041867号、国際公開第04/041862号、国際公開第04/041865号、国際公開第04/041863号、国際公開第04/062551号、国際公開第05/044858号、国際公開第06/40153号、国際公開第06/079372号、国際公開第06/122786号、国際公開第06/122787号、及び国際公開第06/122825号、並びにAblynx N.V.社により更に公表された特許出願を参照されたい。同様に、これらの出願において言及された更なる先行技術、及びそのリスト及び参考文献が参照により本明細書に組み込まれる国際公開第06/040153号の41~43頁に言及された参考文献リストも参照されたい。これらの文献に記載されるように、Nanobody(特に、 V_{HH} 配列及び特にヒト化Nanobody)は、特にフレームワーク配列の1つ又は複数における1つ又は複数の「顕著な特徴残基」の存在によって特徴付けられ得る。Nanobodyのヒト化及び/又はラクダ化、並びに他の修飾、一部、又は断片、誘導体、又は「Nanobody融合体」、多価構築物(リンカー配列のいくつかの非限定的な例を含む)、及びNanobodyの半減期を増加させる異なる修飾を含むNanobodyの更なる説明、並びにその調製は、例えば国際公開第08/101985号及び国際公開第08/142164号に見出すことができる。

【0100】

このように、本発明の意味において、用語「免疫グロブリン単一可変ドメイン」又は「単一可変ドメイン」は、非ヒト起源、好ましくはラクダ、好ましくはラクダ重鎖抗体に由来するポリペプチドを含む。それらは、先に記載したようにヒト化されていてもよい。その上、この用語は、例えば、Davies及びRiechmann 1994(FEBS 339: 285~290頁)、1995(Biotechnol. 13: 475~479頁)、1996(Prot. Eng. 9: 531~537頁)、並びにRiechmann及びMuyldermans 1999(J. Immunol. Methods 231: 25~38頁)に記載されているように、「ラクダ化」されている非ラクダ起源、例えばマウス又はヒトに由来するポリペプチドを含む。

【0101】

用語「免疫グロブリン単一可変ドメイン」は、マウス、ラット、ウサギ、ロバ、ヒト、及びラクダの免疫グロブリン配列を含む異なる起源の免疫グロブリン配列を包含する。この用語はまた、完全長のヒト、ヒト化、又はキメラ免疫グロブリン配列を含む。例えば、この用語は、ラクダ免疫グロブリン配列及びヒト化されたラクダ免疫グロブリン配列、又はラクダ化された免疫グロブリン単一可変ドメイン、例えばWardら、1989(例えば、国際公開第94/04678号並びにDavies及びRiechmann 1994、1995及び1996を参照されたい)に記載されるラクダ化dAbsを含む。

【0102】

この場合も、そのような免疫グロブリン単一可変ドメインは、任意の適した方法で、及び任意の適した起源から誘導してもよく、例えば部分的又は完全な「ヒト化」 V_{HH} 、「ラクダ化」免疫グロブリン配列(及び特にラクダ化 V_H)、並びにアフィニティ成熟(例えば、合成、ランダム、又は V_{HH} 配列等の天然に存在する免疫グロブリン配列から開始する)、CD Rグラフティング、ベニアリング、異なる免疫グロブリン配列に由来する断片の結合、オーバーラッププライマーを使用するPCRアセンブリ、及び当業者に周知の免疫グロブリン配列を工学操作する類似の技術等の技術によって得られているNanobody及び/又は V_{HH} を含むがこれらに限定されない、天然に存在する V_{HH} 配列(すなわち、ラクダの適した種由来)、又は合成若しくは半合成アミノ酸配列、又は前述のいずれかの任意の適した組み合わせであってもよい。

【0103】

免疫グロブリン単一可変ドメインにおけるアミノ酸残基の総数は、110~120の範囲であり得て、好ましくは112~115であり、最も好ましくは113である(本明細書並びに国際公開08/020079号、国際公開第06/040153号、並びにその中で引用されている更なる免疫グロブ

リン単一可変ドメイン関連参考文献に示される免疫グロブリン単一可変ドメイン配列の例に基づいて、アミノ酸残基の正確な数もまた、免疫グロブリン単一可変ドメインに存在する特異的CDRの長さに依存することは明白である)。

【0104】

免疫グロブリン単一可変ドメインのアミノ酸配列及び構造は、当技術分野及び本明細書においてそれぞれ、「フレームワーク領域1」又は「FR1」、「フレームワーク領域2」又は「FR2」、フレームワーク領域3又は「FR3」、及び「フレームワーク領域4」又は「FR4」と呼ばれる4つのフレームワーク領域又は「FR」で構成されると考えられ得るがこれらに限定されるわけではなく、フレームワーク領域はそれぞれ、当技術分野において「相補性決定領域1」又は「CDR1」、「相補性決定領域2」又は「CDR2」、「相補性決定領域3」又は「CDR3」と呼ばれる3つの相補性決定領域又は「CDR」で中断される。

10

【0105】

国際公開第08/020079号(参照により本明細書に組み込まれる)の58頁及び59頁の段落q)に詳しく記載されているように、免疫グロブリン単一可変ドメインのアミノ酸残基は、Reichmann及びMuyldermans 2000(J. Immunol. Methods 240: 185~195頁;例えば、本刊行物の図2を参照されたい)の記事におけるラクダからの V_{HH} ドメインに適用されるように、Kabataら(「Sequence of proteins of immunological interest」、US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91)によって与えられる V_H ドメインに関する一般的付番に従って番号を付けられ、したがって免疫グロブリン単一可変ドメインのFR1は、1~30位のアミノ酸残基を含み、免疫グロブリン単一可変ドメインのCDR1は、31~35位のアミノ酸残基を含み、免疫グロブリン単一可変ドメインのFR2は、36~49位のアミノ酸残基を含み、免疫グロブリン単一可変ドメインのCDR2は、50~65位のアミノ酸残基を含み、免疫グロブリン単一可変ドメインのFR3は、66~94位のアミノ酸残基を含み、免疫グロブリン単一可変ドメインのCDR3は95~102位のアミノ酸残基を含み、及び免疫グロブリン単一可変ドメインのFR4は、103~113位のアミノ酸残基を含む。

20

【0106】

本発明の方法において、免疫グロブリン単一可変ドメインは、hRSVのFタンパク質に結合し、したがって「抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメイン」又は「本発明の抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメイン」とも呼ばれる。より詳しくは、抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインは、好ましくは以下のような親和性(好ましくは K_D 値(実測又は見かけの)、 K_A 値(実測又は見かけの)、 k_{on} レート及び/又は k_{off} レートとして測定及び/又は表記される)でhRSVのFタンパク質に結合することができる:

30

- 1000nM~1nM若しくはそれ未満、好ましくは100nM~1nM若しくはそれ未満、より好ましくは15nM~1nM、又は更に10nM~1nM若しくはそれ未満の解離定数(K_D)でhRSVのFタンパク質に結合する;及び/又は
- $10^4 M^{-1} s^{-1}$ ~約 $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 、好ましくは $10^5 M^{-1} s^{-1}$ ~約 $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 、より好ましくは $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 又はそれより高い k_{on} レートでhRSVのFタンパク質に結合する;及び/又は
- $10^{-2} s^{-1}$ ($t_{1/2}=0.69s$)~約 $10^{-4} s^{-1}$ (複数日の $t_{1/2}$ を有するほぼ不可逆的複合体を提供する)、好ましくは $10^{-3} s^{-1}$ ~約 $10^{-4} s^{-1}$ 、又はそれ以下の k_{off} レートでhRSVのFタンパク質に結合する。

40

【0107】

一態様において、免疫グロブリン単一可変ドメインは、hRSVを中和することができる。分子の中和能を決定するためのアッセイは、例えばAndersonら(1985、J. Clin. Microbiol. 22: 1050~1052頁; 1988、J. Virol. 62: 4232~4238頁)に記述されるマイクロ中和アッセイ、又は国際公開第2010/139808号に記載のアッセイ等のこのアッセイの改変版、又は例えばJohnsonら(1997、J. Inf. Dis. 176: 1215~1224頁)に記載のプラーク低減アッセイ及びその改変版が挙げられる。例えば、hRSV Longに関するマイクロ中和アッセイ(例えば、国際公開第2010/139808号;375頁、実施例6に記載されるアッセイ等)において、抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインは、100nM~1000nM、好ましくは100nM~500nM又はそれ未満の IC_{50} 値を有し得る。

50

【0108】

好ましい抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインのCDR1、CDR2、及びCDR3配列の組み合わせをTable A-1(表3)に示す。好ましい態様において、抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインは、配列番号46であるCDR1、配列番号49及び50から選択されるCDR2、並びに配列番号61であるCDR3を有する。最も好ましくは、CDR1は、配列番号46であり、CDR2は配列番号49であり、及びCDR3は配列番号61である。Table A-1(表3)はまた、CDR配列とフレームワーク配列の好ましい組み合わせも示す。

【0109】

限定されないが、本発明のポリペプチドにおいて使用するために有利な免疫グロブリン単一可変ドメインは、国際公開第2010/139808号に記載されている。好ましくは、抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインは、Table A-2(表4)の配列番号1~34のいずれかから選択される。

10

【0110】

本発明のポリペプチド

本発明の方法において使用するための免疫グロブリン単一可変ドメインは、hRSVのFタンパク質に特異的に結合する1つ又は複数の免疫グロブリン単一可変ドメインを含む又は(本質的に)からなり得て、任意選択で1つ又は複数の更なるアミノ酸配列(全て、任意選択で1つ又は複数の適したリンカーによって連結される)を含み得るポリペプチド(本明細書において「本発明のポリペプチド」と呼ばれる)の一部を形成し得る。用語「免疫グロブリン単一可変ドメイン」はまた、本発明のそのようなポリペプチドも包含し得る。例えば、及び限定されないが、1つ又は複数の免疫グロブリン単一可変ドメインは、本発明の一価、多価、又は多重特異的ポリペプチド(1つ又は複数の V_{HH} ドメインを含有する多価及び多重特異的ポリペプチド並びにその調製に関しては、Conrathら、2001(J. Biol. Chem. 276: 7346~7350頁)、並びに例えば国際公開第96/34103号、国際公開第99/23221号、及び国際公開第2010/115998号も参照されたい)をそれぞれ提供するために、結合単位として作用することができる1つ又は複数の更なるアミノ酸配列を任意選択で含み得る、そのようなポリペプチドにおける結合単位として使用され得る。

20

【0111】

好ましくは、本発明のポリペプチドは、上記で概要したように、単一可変ドメインの形状で3つ以上の抗原結合単位を含む構築物を包含する。例えば、hRSVに結合する3つ以上の免疫グロブリン単一可変ドメイン(本明細書において「抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメイン」とも呼ばれる)を連結して、3価又は多価構築物を形成することができる。好ましくは、本発明のポリペプチドは、3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインからなる。

30

【0112】

上記のポリペプチドにおいて3つ以上の抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを互いに直接連結させてもよく、及び/又は1つ又は複数の適したリンカー若しくはスペーサーを介して連結してもよい。多価ポリペプチドにおいて使用するための適したスペーサー又はリンカーは、当業者に明白であり、一般的にアミノ酸配列を連結させるために当技術分野で使用される任意のリンカー又はスペーサーであり得る。好ましくは、前記リンカー又はスペーサーは、薬学的使用のために意図されるタンパク質又はポリペプチドの構築に使用するために適している。

40

【0113】

いくつかの特に好ましいスペーサーには、抗体断片又は抗体ドメインを連結させるために当技術分野で使用されるスペーサー及びリンカーが挙げられる。これらには、上記で引用した全般的背景技術において言及されるリンカー並びに例えばダイアボディ又はScFv断片を構築するために当技術分野で使用されるリンカーが挙げられる(しかし、この点に関して、ダイアボディ及びScFv断片において、使用されるリンカー配列は、適切な V_H 及び V_L ドメインが共に結合して完全な抗原結合部位を形成することができる長さ、ある程度の柔軟性、及び他の特性を有しなければならないが、それぞれの免疫グロブリン単一可変ド

50

メインは単独で完全な抗原結合部位を形成することから、本発明のポリペプチドに使用されるリンカーの長さ又は柔軟性に関して特定の制限はない)。

【0114】

例えば、リンカーは、適したアミノ酸配列、特に、アミノ酸残基1~50個、好ましくは1~30個、例えば1~20個、又は1~10個のアミノ酸配列であり得る。広く使用されるペプチドリンカーは、Gly-Serリピート、例えば1、2、3、4、5、6回又はそれより多くの繰り返しの(Gly)₄-Ser、例えば(gly_xser_y)_z型、例えば国際公開第99/42077号に記載の(gly₄ser)₃若しくは(gly₃ser₂)₃等、又は天然に存在する重鎖抗体のヒンジ領域又は類似の配列(国際公開第94/04678号に記載されるもの等)等のヒンジ様領域を含む。いくつかの他の特に好ましいリンカーは、ポリアラニン(AAA等)並びにTable A-4(表6)に言及したリンカーである。

10

【0115】

他の適したリンカーは一般的に、有機化合物又はポリマー、特に薬学的使用のためにタンパク質において使用するために適したものを含む。例として、ポリ(エチレングリコール)部分は抗体ドメインを連結するために使用されている。例えば、国際公開第04/081026号を参照されたい。

【0116】

一態様において、本発明のポリペプチドは、hRSVのFタンパク質に結合する。より詳しくは、本発明のポリペプチドは、好ましくは以下のような親和性(好ましくはK_D値(実測又は見かけの)、K_A値(実測又は見かけの)、k_{on}レート及び/又はk_{off}レートとして測定及び/又は表記される)でhRSVのFタンパク質に結合することができる:

20

- 100nM~0.1nM若しくはそれ未満、好ましくは10nM~0.1nM若しくはそれ未満、より好ましくは1nM~0.1nM若しくはそれ未満、例えば5×10⁻¹⁰M(0.5nM)若しくはそれ未満等の解離定数(K_D)でhRSVのFタンパク質に結合する;及び/又は
- 10⁴M⁻¹s⁻¹~約10⁷M⁻¹s⁻¹、好ましくは10⁵M⁻¹s⁻¹~約10⁷M⁻¹s⁻¹、より好ましくは10⁶M⁻¹s⁻¹若しくはそれより高いk_{on}レートでhRSVのFタンパク質に結合する;及び/又は
- 10⁻²s⁻¹(t_{1/2}=0.69s)~約10⁻⁴s⁻¹(複数日のt_{1/2}を有するほぼ不可逆的な複合体を提供する)、好ましくは10⁻³s⁻¹~約10⁻⁴s⁻¹、より好ましくは5×10⁻³s⁻¹~約10⁻⁴s⁻¹、若しくはそれ以下のk_{off}レートでhRSVのFタンパク質に結合する。

【0117】

30

一態様において、本発明のポリペプチドは、hRSVを中和することができる。分子の中和能を決定するためのアッセイは、例えばAndersonら(1985、J. Clin. Microbiol. 22: 1050~1052頁; 1988、J. Virol. 62: 4232~4238頁)に記載されるマイクロ中和アッセイ、又は国際公開第2010/139808号に記載のアッセイ等のこのアッセイの改変版、又は例えばJohnsonら(1997、J. Inf. Dis. 176: 1215~1224頁)に記載のプラーク低減アッセイ及びその改変版が挙げられる。例えば、hRSV Longに関するマイクロ中和アッセイ(例えば、国際公開第2010/139808号;375頁、実施例6に記載されるアッセイ等)において、本発明のポリペプチドは、10pM~1000pM、好ましくは10pM~250pM、より好ましくは50pM~200pM、又はそれ未満のIC₅₀値を有し得る。本発明のポリペプチドは、1nM~100nM、好ましくは1nM~10nM、より好ましくは1nM~5nM若しくはそれ未満、例えば2nM若しくはそれ未満等、又は90ng/mL若しくはそれ未満のIC₉₀値を有し得る。

40

【0118】

好ましい態様において、本発明のポリペプチドは、好ましくは、100nM~0.1nM又はそれ未満、好ましくは10nM~0.1nM又はそれ未満、より好ましくは1nM~0.1nM又はそれ未満、例えば5×10⁻¹⁰M(0.5nM)又はそれ未満等の解離定数(K_D)でhRSVのFタンパク質に結合するような親和性(好ましくは、本明細書において記述されるように、K_D値(実測又は見かけの))として測定及び/又は表記される)でhRSVのFタンパク質に結合する;更に、本発明のポリペプチドは、10pM~1000pM、好ましくは10pM~250pM、より好ましくは50pM~200pM若しくはそれ未満のIC₅₀値で、又は1nM~100nM、好ましくは1nM~10nM、より好ましくは1nM~5nM若しくはそれ未満、例えば2nM又はそれ未満、又は90ng/mL若しくはそれ未満のIC₉₀値を

50

有する。一態様において、本発明のポリペプチドは、 $5 \times 10^{-10} \text{M}$ (0.5nM) 又はそれ未満の親和性でhRSVのFタンパク質に結合して、90ng/mM又はそれ未満の IC_{50} 値でhRSVを中和する。

【0119】

特定の態様において、本発明の多価(3価等の)ポリペプチドは、配列番号1~34(Table A-2)(表4)のいずれかから選択される少なくとも3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインを含み得る又は本質的にからなり得る。限定されないが、本発明の方法において使用するために都合の良いポリペプチドは、国際公開第2010/139808号に記載されている。好ましくは、本発明のポリペプチドは、配列番号65~85(Table B-2)(表8)のいずれかから選択され、好ましくは配列番号71である。

【0120】

配列番号71は、重鎖のみのラマ抗体に由来する3つの抗hRSV免疫グロブリン可変ドメインからなる3価のポリペプチドである。3つの抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインのそれぞれは、hRSVのFタンパク質に結合する。

【0121】

本発明のポリペプチドは、以下のステップ:

- a) 適した宿主細胞若しくは宿主生物又は別の適した発現系において、本発明のポリペプチドをコードする核酸若しくはヌクレオチド配列又は遺伝子構築物を発現させるステップ; の後に任意選択で以下のステップ:
- b) このようにして得られた本発明のポリペプチドを単離及び/又は精製するステップを含む方法によって產生され得る。

【0122】

本発明のポリペプチドを產生する方法は、以下のステップ:

- a) 宿主又は宿主細胞が本発明の少なくとも1つのポリペプチドを発現する及び/又は產生するような条件で、前記宿主又は宿主細胞を培養及び/又は維持するステップ; の後に任意選択で以下のステップ:
- b) このようにして得られた本発明のポリペプチドを単離及び/又は精製するステップを含む得る。

【0123】

本発明の1つの好ましいが非限定的な実施形態によれば、本発明のポリペプチドは、細菌細胞、特に大規模な医薬產生に適した細菌細胞で產生される。

【0124】

本発明のもう1つの好ましいが非限定的な実施形態によれば、本発明のポリペプチドは、酵母細胞、特に大規模な医薬產生に適した酵母細胞で產生される。

【0125】

本発明のなもう1つの好ましいが非限定的な実施形態によれば、本発明のポリペプチドは、哺乳動物細胞、特にヒト細胞又はヒト細胞株の細胞、及び特に大規模な医薬產生に適したヒト細胞又はヒト細胞株の細胞で產生される。

【0126】

工業規模での產生に関して、免疫グロブリン単一可変ドメイン又は免疫グロブリン単一可変ドメイン含有タンパク質治療薬の(工業的)產生にとって好ましい異種宿主は、大規模な発現/產生/発酵に適した、特に大規模な医薬の発現/產生/発酵に適した大腸菌(*E. coli*)、ピチア・パストリス(*Pichia pastoris*)、出芽酵母(*S. cerevisiae*)の株が挙げられる。そのような株の適した例は、当業者に明白である。そのような株及び產生/発現系はまた、Biovitrum社(Uppsala, Sweden)等の企業から入手可能である。

【0127】

或いは、哺乳動物細胞株、特にチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞を大規模な発現/產生/発酵のために、特に大規模な医薬の発現/產生/発酵のために使用することができる。この場合も、そのような発現/產生系はまた、先に言及した企業のいくつかから入手可能である。

【0128】

10

20

30

40

50

その結果、本発明のポリペプチドは、宿主細胞/宿主生物から及び/又は前記宿主細胞又は宿主生物が培養される培地から、(分取)クロマトグラフィー及び/又は電気泳動技術、示差沈殿技術、アフィニティ技術(例えば、本発明のポリペプチドと融合した特異的な切断可能なアミノ酸配列を使用して)、及び/又は分取免疫学技術(すなわち、単離されるアミノ酸配列に対する抗体を使用して)等の、それ自体公知のタンパク質単離及び/又は精製技術を使用して、単離され得る。

【0129】

発明の方法

本発明は、本発明のポリペプチドを若年の子供に肺内投与するための方法及び投与スケジュールを提供する。そのため、これらの方法及び投与スケジュールは、これらの若年の子供におけるRSV感染の治療(本明細書において記載される)のために使用することができる。

10

【0130】

RSV感染は、軽度の上気道疾患、並びにより重度の下気道感染(LRTI)を含む。RSV下気道感染は、おそらく典型的な臨床兆候及び症状、例えば頻呼吸、喘鳴、咳、湿性ラ音、呼吸補助筋の使用、及び/又は鼻翼呼吸を示す、細気管支炎及び気管支肺炎を含み得る。

【0131】

RSV感染はまた、RSV感染に関連する疾患及び/又は障害も含み得る。RSV感染に関連するそのような疾患及び/又は障害の例は、当業者に明白であり、例えば、以下の疾患及び/又は障害が挙げられる：hRSVに関連する呼吸器疾患、上気道感染、下気道感染、細気管支炎(肺における小さい気道の炎症)、肺炎、呼吸困難、咳、(再発性の)喘鳴、及び喘息又はCOPD(慢性閉塞性肺疾患)(の悪化)。

20

【0132】

したがって、本発明はまた、hRSVに関連する呼吸器疾患、上気道感染、下気道感染、細気管支炎(肺における小さい気道の炎症)、肺炎、呼吸困難、咳、(再発性の)喘鳴、及び喘息又はCOPD(慢性閉塞性肺疾患)(の悪化)を治療するための方法及び投与スケジュールも提供する。

【0133】

本発明の文脈において、用語「治療」は、疾患を治療することを含むのみならず、一般的に、疾患の進行を遅らせる又は反転させること、疾患に関連する1つ若しくは複数の症状の発生を遅らせること、疾患に関連する1つ若しくは複数の症状を低減及び/若しくは軽減させること、疾患及び/若しくは疾患に関連する任意の症状の重症度及び/若しくは期間を低減させること、並びに/又は疾患の重症度及び/若しくは疾患に関連する任意の症状の重症度の更なる増加を予防すること、疾患によって引き起こされた任意の生理学的損傷を予防、減少、又は逆転させること、並びに治療される患者にとって有益である一般的に任意の薬理学的作用を含む。

30

【0134】

本発明の方法は、対象の呼吸器、より詳しくは下気道への本発明のポリペプチドの送達を提供する。呼吸器への送達及び/又は吸入による送達のための方法は当業者に公知であり、例えば、参考書「Drug Delivery: Principles and Applications」(2005)Binghe Wang、Teruna Siahaan及びRichard Soltero編、Wiley Interscience (John Wiley & Sons)社);「Pharmacology PreTest™ Self-Assessment and Review」(第11版) Rosenfeld G.C.、Loose-Mitchell D.S.;及び「Pharmacology」(第3版) Lippincott Williams & Wilkins、New York; Shlafer M. McGraw-Hill社、Medical Publishing Division、New York; Yang K.Y.、Graff L.R.、Caughey A.B. Blueprints Pharmacology、Blackwell Publishingに記載されている。本発明の方法において、本発明のポリペプチドは、吸入可能形態で送達される。より詳しくは、吸入可能形態は、本発明のポリペプチドを噴霧することによって(ネブライザーによって)得られるエアロゾルである。

40

【0135】

治療される対象は、ヒト、より詳しくは若年の子供である。当業者に明白であるように

50

、治療される対象は、特にRSV感染に罹っている若年の子供であろう。例えば、対象は、RSV下気道感染等のRSV感染に罹っている若年の子供であり得る。

【0136】

一態様において、対象は、月齢24カ月未満又は36カ月(3歳)未満の若年の子供である。一態様において、対象は、月齢5カ月から24カ月未満(例えば、5カ月から23カ月等)の若年の子供である。一態様において、対象は乳児である。一態様において、対象は幼児である。

【0137】

一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)を有すると診断された若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)を有すると診断された月齢24カ月未満又は36カ月(3歳)未満の若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)を有すると診断された、月齢5カ月から24カ月未満(例えば5カ月から23カ月等)、月齢5カ月から36カ月未満(例えば、5カ月から35カ月等)、月齢1カ月から24カ月未満(例えば、1カ月から23カ月等)、又は月齢1カ月から36カ月未満(例えば、1カ月から35カ月等)の若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)を有すると診断された乳児である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)を有すると診断された幼児である。

【0138】

一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)を有すると診断されているがそれ以外は健康である若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)を有すると診断されているがそれ以外は健康である月齢24カ月未満又は36カ月(3歳)未満の若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)を有すると診断されているがそれ以外は健康である、月齢5カ月から24カ月未満(例えば5カ月から23カ月等)、月齢5カ月から36カ月未満(例えば、5カ月から35カ月等)、月齢1カ月から24カ月未満(例えば、1カ月から23カ月等)、又は月齢1カ月から36カ月未満(例えば、1カ月から35カ月等)の若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)を有すると診断されているがそれ以外は健康である乳児である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)を有すると診断されているが、それ以外は健康である幼児である。

【0139】

一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中の若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中の月齢24カ月未満又は36カ月(3歳)未満の若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中の、月齢5カ月から24カ月未満(例えば5カ月から23カ月等)、月齢5カ月から36カ月未満(例えば、5カ月から35カ月等)、月齢1カ月から24カ月未満(例えば、1カ月から23カ月等)、又は月齢1カ月から36カ月未満(例えば、1カ月から35カ月等)の若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中の乳児である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中の幼児である。

【0140】

一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中で、RSV感染を有すると診断されている若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中で、RSV感染を有すると診断されている月齢24カ月未満又は36カ月(3歳)未満の若

年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中で、RSV感染を有すると診断されている月齢5カ月から24カ月未満(例えば5カ月から23カ月等)、月齢5カ月から36カ月未満(例えば、5カ月から35カ月等)、月齢1カ月から24カ月未満(例えば、1カ月から23カ月等)、又は月齢1カ月から36カ月未満(例えば、1カ月から35カ月等)の若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中で、RSV感染を有すると診断されている乳児である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中で、RSV感染を有すると診断されている幼児である。

【0141】

一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中で、RSV感染を有すると診断されているがそれ以外は健康である若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中で、RSV感染を有すると診断されているがそれ以外は健康である月齢24カ月未満又は36カ月(3歳)未満の若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中で、RSV感染を有すると診断されているがそれ以外は健康である月齢5カ月から24カ月未満(例えば5カ月から23カ月等)、月齢5カ月から36カ月未満(例えば、5カ月から35カ月等)、月齢1カ月から24カ月未満(例えば、1カ月から23カ月等)、又は月齢1カ月から36カ月未満(例えば、1カ月から35カ月等)の若年の子供である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中で、RSV感染を有すると診断されているがそれ以外は健康である乳児である。一態様において、対象は、RSV感染(例えば、細気管支炎又は気管支肺炎等のRSV下気道感染)のために入院中で、RSV感染を有すると診断されているがそれ以外は健康である幼児である。

【0142】

本発明の方法において、配列番号71等の本発明のポリペプチドは、RSV下気道感染等のRSV感染に罹っている対象に、治療が起こるように選択された投与スケジュールで吸入投与される。

【0143】

本発明のポリペプチドの活性は、治療の際のウイルス量の低減を測定することによって評価することができる。ウイルス量は、例えば若年の子供の鼻粘液中で決定することができる。粘液は、例えば鼻水吸引器による鼻水吸引、ゴムバルブシリンジ又は鼻スワブによって、鼻から採取することができる。ウイルス量は、例えばポリメラーゼ連鎖反応又は培養等の当技術分野で公知の任意の方法によって決定することができる。

【0144】

本発明のポリペプチドの活性はまた、例えばIL-8及びKL-6等の血清中の特定のバイオマーカーを測定することによっても評価することができる。

【0145】

インターロイキン-8(IL-8)は、損傷及び感染に対する宿主応答の重要なメディエーターである。血清中のIL-8レベルは、例えば以下の市販のアッセイ:ヒトIL-8 ELISAキット(Life Technologies社;カタログ番号KHC0081)、ヒトIL-8 ELISAキット(Thermo Fisher Scientific Inc.社;カタログ番号EH2IL8、EH2IL82、EH2IL85)、又はAlphaLISA IL8イムノアッセイ研究用キット(PerkinElmer Inc.社;カタログ番号AL224C、AL224F)等の当業者に公知の技術を使用して、それ自体公知である任意の方法によって測定することができる。

【0146】

Kerbs von Lungren 6抗原(KL-6)は、II型肺胞細胞の表面に発現される高分子量糖タンパク質である。KL-6の血清中レベルは、肺胞上皮細胞の損傷によって特徴付けられる多様な間質性肺疾患において上昇している。血清中のKL-6は、RSV細気管支炎の重症度に関連しており、これがRSV細気管支炎の重症度の有用なバイオマーカーであり得ることが示唆された(Kawasakiら、2009、J. Med. Virol. 81: 2104~8頁)。血清中のKL-6レベルは、例

えば以下の市販のアッセイ:KL-6ヒトELISA(BioVendor社;カタログ番号RSCYK243882R)、Krebs Von den Lungen 6イムノアッセイキット(BIOTREND Chemikalien GmbH社;カタログ番号E05k0061)、又はKL-6 ELISAキット(Biorbyt社;カタログ番号orb153677)等の当業者に公知の技術を使用して、それ自体公知の任意の方法によって測定することができる。

【0147】

本発明のポリペプチドの臨床活性を評価するために、以下の評価を実施することができる:心拍数及び末梢毛細管 O_2 飽和(SpO_2 レベル);食事(食事サポートの型、食事の十分性)、水分補給に対する特定の注意、及び食事の際の呼吸の快適さ;呼吸数;(呼気/吸気の際の)喘鳴;肺聴診時の湿性ラ音/捻髪ラ音;昼間の咳;夜間の咳(による睡眠障害);(呼吸筋)陥没呼吸(鎖骨上、肋間、及び肋骨下);一般外貌(活動度、苛立ち、環境に対する関心、及び反応性);及び入院期間。

10

【0148】

臨床活動度パラメーターに基づき、Clinical response, Respiratory Distress Assessment Instrument(RDAI)スコア及びRespiratory Assessment Changeスコア(RACS)等の更なるスコアを計算することができる。

【0149】

本発明のポリペプチドは、ウイルスのライフサイクルにおける初期事象を阻害して、標的細胞へのビリオンの融合を阻害することによって、細胞外ウイルスがウイルス未感染細胞に感染するのを防止する。本発明の方法及び投与スケジュールは、ウイルスライフサイクルにおけるこれらの初期事象を阻害するため、及び標的細胞へのビリオンの融合を阻害することによって細胞外ウイルスがウイルス未感染細胞に感染するのを防止するために使用される。

20

【0150】

中和アッセイ(本明細書において詳しく記載するHep-2細胞培養)において、インビトロでの濃度90ng/mLが、本発明のポリペプチドが最大阻害抗ウイルス効果の90%を達成する濃度(IC_{90})として決定された。次に、(i)Hep-2細胞培養におけるRSVの複製速度はインビボの状況を完全には反映しない可能性があるため、(ii)広く多様な臨床株の感染力及び複製速度はかなり変動し得ることから、及び(iii)いくつかの($n=6$)の臨床ウイルス株が、本発明のポリペプチドの阻害作用に対するその感受性に関して評価されているが、それらは臨床株の完全なスペクトルを表していない可能性があることから、未知で評価が困難な変数を説明するために、インビトロで決定された IC_{90} に100を乗じた。

30

【0151】

得られた値($9\mu\text{g/mL}$ 又はそれより高い)は、下気道においてRSV感染力の臨床的に意味のある低減を得るために必要な標的濃度であると考えられた。この濃度は、RSV感染乳児においてピークウイルス力価で利用可能な全ての標的を完全に飽和するために十分であると計算され、同様にRSV感染新生仔ヒツジ及びコットンラットにおける非臨床試験において有効性を示した局所目標濃度からも支持される。したがって、本発明は、RSV感染に罹っている子供に本発明のポリペプチドを投与することを含む、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染を治療するための方法であって、該ポリペプチドは、 $9\mu\text{g/mL}$ (この値は、任意選択で $\pm 0.5\mu\text{g/mL}$ の範囲を包含すると理解される)又はそれより高い目標濃度で子供に吸入投与される、方法に関する。本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染の治療に使用するための本発明のポリペプチドであって、 $9\mu\text{g/mL}$ (この値は、任意選択で $\pm 0.5\mu\text{g/mL}$ の範囲を包含すると理解される)又はそれより高い目標濃度で、RSV感染に罹っている子供に吸入投与される、本発明のポリペプチドにも関する。

40

【0152】

本発明において、適切な投与レジメンの指針を提供するために、及び本発明のポリペプチドの局所及び全身PK指数並びにその関連する変動を予測するために小児モデルを開発した(図1を参照されたい)。主な目的は、臓器の成熟、血流の変化、身体組成、及び排泄機構の個体発生等の成長及び発達過程を考慮に入れて、下気道において推定目標濃度($9\mu\text{g/mL}$)を超える濃度値(C_{trough})を確保することであった。小児モデルは、最初是非臨床デー

50

タを使用して、次に成人における本発明のポリペプチドの臨床PKパラメーターの予測値及び実測値を使用して、次に(i)解剖学的及び生理学的パラメーター、(ii)クリアランス過程、及び(iii)吸収過程をスケーリングすることによって子供に外挿する、多段階スケーリングによって開発した。

【0153】

開発された小児モデルを使用して、治療期間を通して個体の95%において推定目標濃度に等しい又はそれを超える局所濃度を達成して維持するために必要な用量を推定した。この小児モデルによるシミュレーションに基づいて、1回投与後に下気道に存在するために必要な沈着用量は、体重1kg当たり0.024mgの本発明のポリペプチドであった。したがって、本発明は、RSV感染に罹っている子供に本発明のポリペプチドを投与することを含む、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染を治療するための方法であって、該ポリペプチドは、1日当たり0.020～0.040mg/kgの沈着用量、より詳しくは1日当たり0.020～0.035mg/kgの沈着用量、例えば1日当たり0.024mg/kg(この値は、任意選択で±0.002mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の沈着用量で子供に吸入投与される、方法に関する。本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染の治療に使用するための本発明のポリペプチドであって、1日当たり0.020～0.040mg/kgの沈着用量、より詳しくは1日当たり0.020～0.035mg/kgの沈着用量、例えば1日当たり0.024mg/kg(この値は、任意選択で±0.002mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の沈着用量でRSV感染に罹っている子供に吸入投与される、本発明のポリペプチドにも関する。

【0154】

更なるシミュレーションにより、RSV感染乳児及び幼児を代表する呼吸パターンによって、下気道において本発明のポリペプチドの吸入量の約10%の沈着(年齢及び粒径に応じて、7～13%)が起こることが示された。それに対応して、1回投与後の下気道において0.024mg/kgの沈着用量を達成するためには、0.24mg/kgの用量(吸入用量)を吸入する必要があるであろう。したがって、本発明はまた、RSV感染に罹っている子供に本発明のポリペプチドを投与することを含む、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染を治療するための方法であって、該ポリペプチドは、1日当たり0.20～0.40mg/kgの吸入用量、より詳しくは0.20～0.35又は1日当たり0.20～0.45mg/kgの吸入用量、例えば1日当たり0.24mg/kg(この値は、任意選択で±0.02mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の吸入用量で子供に吸入投与される、方法にも関する。本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染の治療に使用するための本発明のポリペプチドであって、1日当たり0.20～0.40mg/kgの吸入用量、より詳しくは1日当たり0.20～0.35又は0.20～0.45mg/kgの吸入用量、例えば0.24mg/kg(この値は、任意選択で1日当たり±0.02mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の吸入用量でRSV感染に罹っている子供に吸入投与される、本発明のポリペプチドにも関する。

【0155】

エアロゾル沈着に関する研究を、ポリペプチドを振動メッシュ式ネブライザー、より詳しくは2L/分の一定流の更なる空気又はO₂を有する振動メッシュ式ネブライザー、例えばFOXネブライザー(Janssensら、2001、Journal of aerosol medicine : the official journal of the International Society for Aerosols in Medicine 14: 433～41頁)等によって投与する、Sophia解剖学的乳児鼻-咽喉(SAINT)モデルによって行った。結果から、ネブライザーに充填された総用量から約20%が吸入されると予想されることが示された。そのため、0.24mg/kgの吸入用量を確保するためにネブライザーに充填される名目用量は、1.2mg/kgであろう。したがって、本発明はまた、RSV感染に罹っている子供に本発明のポリペプチドを投与することを含む、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染を治療するための方法であって、該ポリペプチドは、1日当たり1.00～2.00mg/kgの名目用量、より詳しくは1日当たり1.00～1.75mg/kgの名目用量、例えば1日当たり1.20mg/kg(この値は、任意選択で±0.06mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の名目用量で子供に吸入投与される、方法にも関する。本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染の治療に使用するための本発明のポリペプチドであって、1日当たり1.00～2.00mg/kgの名目用

量、より詳しくは1日当たり1.00～1.75mg/kgの名目用量、例えば1日当たり1.20mg/kg(この値は、任意選択で±0.06mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の名目用量でRSV感染に罹っている子供に吸入投与される、本発明のポリペプチドにも関する。

【0156】

一態様においてポリペプチドは、2～5日間連続して又はそれより長く毎日、例えば2日間連続して毎日、3日間連続して毎日、4日間連続して毎日、5日間連続して又はそれより長く毎日投与され、好ましくは3日間連続して毎日投与される。

【0157】

上記の投与レジメンはまた、本発明において「選択された投与スケジュール」又は「選択用量」とも呼ばれる。

【0158】

好ましい態様において、本発明の上記の方法で使用される本発明のポリペプチドは、配列番号71である。

【0159】

したがって、本発明は、RSV感染に罹っている子供に配列番号71を投与することを含む、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染を治療するための方法であって、配列番号71は、9 µg/mL(この値は、任意選択で±0.5 µg/mLの範囲を包含すると理解される)又はそれより高い目標濃度で子供に吸入投与される、方法に関する。本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染の治療に使用するための配列番号71であって、9 µg/mL(この値は、任意選択で±0.5 µg/mLの範囲を包含すると理解される)又はそれより高い目標濃度で、RSV感染に罹っている子供に吸入投与される、配列番号71にも関する。

【0160】

したがって、本発明は、RSV感染に罹っている子供に配列番号71を投与することを含む、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染を治療するための方法であって、配列番号71は、1日当たり0.020～0.040mg/kgの沈着用量、より詳しくは1日当たり0.020～0.035mg/kgの沈着用量、例えば0.024mg/kg(この値は、任意選択で1日当たり±0.002mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の沈着用量で子供に吸入投与される、方法に関する。本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染の治療に使用するための配列番号71であって、1日当たり0.020～0.040mg/kgの沈着用量、より詳しくは1日当たり0.020～0.035mg/kgの沈着用量、例えば1日当たり0.024mg/kg(この値は、任意選択で±0.002mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の沈着用量でRSV感染に罹っている子供に吸入投与される、配列番号71に関する。

【0161】

したがって、本発明はまた、RSV感染に罹っている子供に配列番号71を投与することを含む、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染を治療するための方法であって、配列番号71は、1日当たり0.20～0.40mg/kgの吸入用量、より詳しくは1日当たり0.20～0.35又は0.20～0.45mg/kgの吸入用量、例えば1日当たり0.24mg/kg(この値は、任意選択で±0.02mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の吸入用量で子供に吸入投与される、方法にも関する。本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染の治療に使用するための配列番号71であって、1日当たり0.20～0.40mg/kgの吸入用量、より詳しくは1日当たり0.20～0.35又は0.20～0.45mg/kgの吸入用量、例えば1日当たり0.24mg/kg(この値は、任意選択で±0.02mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の吸入用量でRSV感染に罹っている子供に吸入投与される、配列番号71にも関する。

【0162】

したがって、本発明はまた、RSV感染に罹っている子供に配列番号71を投与することを含む、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染を治療するための方法であって、配列番号71は、1日当たり1.00～2.00mg/kgの名目用量、より詳しくは1日当たり1.00～1.75mg/kgの名目用量、例えば1日当たり1.20mg/kg(この値は、任意選択で±0.06mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の名目用量で子供に吸入投与される、方法にも関する。本発明はまた、若年の子供におけるRSV下気道感染等のRSV感染の治療に使用するための配列番号

71であって、1日当たり1.00～2.00mg/kgの名目用量、より詳しくは1日当たり1.00～1.75mg/kgの名目用量、例えば1日当たり1.20mg/kg(この値は、任意選択で±0.06mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の名目用量でRSV感染に罹っている子供に吸入投与される、配列番号71にも関する。

【0163】

一態様において、配列番号71を有するポリペプチドは、2～5日間連続して又はそれより長く毎日、例えば2日間連続して毎日、3日間連続して毎日、4日間連続して毎日、5日間連続して又はそれより長く毎日投与され、好ましくは3日間連続して毎日投与される。

【0164】

医薬組成物及び製剤

本発明は更に、特定の濃度の本発明のポリペプチドと、任意選択でそれ自体公知であるそのような組成物の1つ又は複数の更なる成分とを含む組成物(本発明において、「本発明の組成物」又は「本発明の製剤」とも呼ばれる)に関する。一般的に、医薬として使用するために、本発明のポリペプチドは、特定の濃度の本発明のポリペプチドと、少なくとも1つの薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤、及び/又は補助剤と、任意選択で1つ又は複数の更なる薬学的活性成分とを含む、製剤又は組成物(「本発明の医薬組成物」又は「本発明の医薬製剤」とも呼ばれる)として配合され得る。

【0165】

本発明のポリペプチドは、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences 1990(第18版、Mack Publishing Company社、USA)、Remington 2005(the Science and Practice of Pharmacy、第21版、Lippincott Williams and Wilkins社);又はHandbook of Therapeutic Antibodies(S. Dubel編)、Wiley社、Weinheim、2007(例えば252～255頁を参照されたい)等の標準的な参考書を参照して、それ自体公知の任意の適切な方法で配合及び投与することができる。

【0166】

本発明のポリペプチド及び/又は本発明のポリペプチドを含む組成物は、吸入によって(すなわち、呼吸器に)投与されることから、製剤は、好ましくは吸入投与に適した形態である。この点において、医薬組成物は、本発明のポリペプチドと、対象に吸入投与するために適した少なくとも1つの担体、希釈剤、又は賦形剤と、任意選択で1つ又は複数の更なる活性成分とを含む。

【0167】

本明細書において使用される用語「賦形剤」は、タンパク質安定性の増加、タンパク質溶解度の増加、及び/又は粘度の減少等の有益な物理的特性を製剤に付与する、薬物のための希釈剤、ビヒクル、保存剤、結合剤、又は安定化剤として一般的に使用される不活性な物質を指す。賦形剤の例には、タンパク質(例えば、血清アルブミン)、アミノ酸(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、グリシン)、界面活性剤(例えば、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS))、Tween 20及びTween 80等のポリソルベート、Pluronic等のポリオキサマー、並びにポリ(エチレングリコール)(PEG)等の他の非イオン性界面活性剤、糖類(例えば、グルコース、スクロース、マルトース、及びトレハロース)、ポリオール(例えば、マンニトール及びソルビトール)、脂肪酸及びリン脂質(例えば、アルキルスルホネート、及びカプリレート)が挙げられるがこれらに限定されない。賦形剤に関する更なる情報に関しては、その全体が参照により本明細書に組み込まれるRemington's Pharmaceutical Sciences(Joseph P. Remington、第18版、Mack Publishing Co.社、Easton、PA)を参照されたい。

【0168】

本明細書において使用される語句「吸入投与に適した担体」は、薬剤(例えば、予防剤又は治療剤)の例えば呼吸器への運搬又は輸送に関係する液体又は固体充填剤、希釈剤、賦形剤、又は溶媒等の薬学的に許容される材料、組成物、又はビヒクルを意味する。各担体は、製剤の他の成分と適合性であり、患者に対して有害でないという意味において、「許容可能」でなければならない。

10

20

30

40

50

【0169】

本発明の組成物に含まれる担体は、好ましくは例えば蒸留水、MilliQ(登録商標)水、又は注射用水(WFI)等の水性担体である。組成物は、薬学的に許容される任意の緩衝液によって緩衝され得る。本発明の組成物において使用するための好ましい緩衝液には、PBS、リン酸緩衝液、TrisHCl、ヒスチジン緩衝液、及びクエン酸緩衝液、例えばヒスチジンpH6.0~6.5、リン酸緩衝液pH7.0、TrisHCl pH7.5、及びクエン酸緩衝液/リン酸緩衝液pH6.5等、特にリン酸($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{NaHPO}_4$)緩衝液pH7.0が挙げられる(が、これらに限定されない)。他の薬学的に許容される担体も同様に、本出願の製剤において使用され得る。薬学的に許容される担体として役立ち得る材料のいくつかの例には、糖、例えばラクトース、グルコース及びスクロース等;グリコール、例えばプロピレングリコール等;ポリオール、例えばグリセリン、ソルビトール、マンニトール、及びポリエチレングリコール等;エステル、例えばオレイン酸エチル及びラウリン酸エチル等;緩衝剤、例えば水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウム等;発熱物質を含まない水;等張生理食塩水;リンゲル液;エチルアルコール;リン酸緩衝溶液;並びに医薬製剤において使用される他の非毒性の適合性の物質が挙げられる。

10

【0170】

実施例において実証されるように、濃度50mg/mLは、本発明のポリペプチドの肺内投与のために使用されている。したがって、これらの濃度に近い値(及び同様にこれらの値の外側の値、すなわちこれらの値より高い又は低い値)を有する他の濃度も同様に使用することができると予想される。例えば、濃度25、30、35、40、45、55、60、65、70、75mg/mLを使用することができる。本発明において決定された特異的な名目用量(mg/kg)を考慮して、ネブライザーに充填される医薬組成物の容量(充填容量)は、医薬組成物中の本発明のポリペプチドの濃度に依存することは当業者に明白である。

20

【0171】

本発明の方法において、RSV感染力の臨床的に意味のある低減を確保するためにネブライザーに充填される名目用量は、1日当たり1.00~2.00mg/kg、より詳しくは1日当たり1.00~1.75mg/kg、例えば1.20mg/kg(この値は、任意選択で1日当たり $\pm 0.06\text{mg/kg}$ の範囲を包含すると理解される)等であると決定された。若年の子供の体重に応じて、ネブライザーにロードすべき医薬組成物(例えば本発明のポリペプチドの50mg/mL等の特定の濃度で)の容量(同様に「充填容量」とも呼ばれる)は異なるであろう。他の吸入製品と一致して、本発明のポリペプチドの投与用量(及びそのため特定の濃度の本発明のポリペプチドを含む医薬組成物の充填容量)は、(狭い)体重区分に関して標準化することができる(例えば、50mg/mLの医薬組成物に関してTable B-2(表8)及びTable B-6(表9)を参照されたい)。

30

【0172】

吸入デバイス-ネブライザー

本発明はまた、本発明のポリペプチドの吸入による送達にとって適しており、及び本発明のポリペプチドを含む組成物の使用において適した薬学的デバイスにも関する。したがって、本発明は、選択された用量の本発明のポリペプチドを含むそのようなデバイスに関する。

【0173】

様々な吸入システムが例えば、論評(「Pulmonary Drug Delivery」、Bechtold-Peters及びLuessen編、上記)の129~148頁に記載されている。本発明の方法において、デバイスは、本発明のポリペプチドを含む液体(例えば、微細な固体粒子又は液滴の懸濁液)の吸入器である。好ましくはこのデバイスは、本発明のポリペプチドを含むエアロゾル送達システム又はネブライザーである。

40

【0174】

本発明の方法において使用されるエアロゾル送達システムは、本発明の組成物を含む容器と、容器に接続されたエアロゾル発生器とを含み得る。エアロゾル発生器は、本発明の組成物のエアロゾルを生成するように構成及び配置される。

【0175】

50

好ましい態様において、エアロゾル送達システムは、ネブライザーである。ネブライザーは、吸入のための薬物含有液滴のミストを産生する。本発明において使用される「噴霧」は、液体を微細なスプレーに変換することを意味する。ネブライザーは、医薬品を圧縮空気と混合して、フェイスマスク又はマウスピースを通して患者が吸い込む微細なミストを作製する。

【0176】

好ましくは、振動メッシュ式ネブライザーが使用される。振動メッシュ式ネブライザーは、受動的及び能動的な振動メッシュ式デバイスに分類される(Newman 2005、J. Appl. Ther. Res. 5: 29~33頁)。受動振動メッシュ式デバイス(例えば、Omron MICROAIR(登録商標)NE-U22ネブライザー)は、大きさ6000ミクロンまでの穴を有する穿孔プレートを使用する。ホーン振動子に取り付けた振動する圧電結晶が、その前に配置される穿孔プレートにおいて「受動的な」振動を誘発し、それによって、穴を通して液体が押し出されて、エアロゾルが生成される。能動的振動メッシュ式デバイス(例えば、AERONEB(登録商標)Proネブライザーは、1000個までのドーム形状の開口部を有するプレートと、電流が適用されると収縮及び拡大する振動要素とからなるエアロゾル発生器を含む「マイクロポンプ」システムを利用し得る。これによって、メッシュが上方及び下方に数マイクロメートル移動して、流体を押し出して、エアロゾルを生成する。振動メッシュ式ネブライザーの他の例には、全て、小児での使用のために適応させた、Akita2 Apixne(Activaero社、現在のVectura社、Germany)、EFLOW(登録商標)(PARI GmbH社、Grafelingen、Germany;同様に米国特許第5,586,550号も参照されたい)、AERONEB(登録商標)(Aerogen, Inc.社、Sunnyvale、California;同様に米国特許第5,586,550号;米国特許第5,938,117号;米国特許第6,014,970号;米国特許第6,085,740号;米国特許第6,205,999号も参照されたい)、又はFOXネブライザー(Activaeros社、現在のVectura社、Germany)が挙げられる。

【0177】

好ましい態様において、連続流のネブライザーが使用される。細気管支炎を有する小さい乳児は更なる酸素又は空気の供給を必要とし得ることを考慮して、送達システムを通して2L/分の連続的な酸素又は空気の供給を維持することが推奨される。

【0178】

したがって、ネブライザーは、更なる空気又は O_2 流と共に又はそれらなしで使用することができる。好ましくは、ネブライザーは、2L/分の更なる空気又は O_2 流等の更なる空気又は O_2 流と共に使用される。

【0179】

本発明のポリペプチドを患者に送達するための例示的な吸入デバイスは、(a)振動メッシュを有するエアロゾル発生器;(b)振動メッシュと流体連通している、噴霧される液体のためのリザーバー;(c)ガス吸気口;(d)ケーシングと、エアロゾル吸気口と、患者の接触表面と、0.5~5mbarの範囲で選択される吸気抵抗を有する、ケーシング中の一方向呼気バルブ又は二方向吸気/呼気バルブとを有するフェイスマスク;及び(e)ガス吸気口からフェイスマスクのエアロゾル吸気口に伸びるフローチャネルであって、エアロゾル発生器がそれを通してフローチャネル中に少なくとも部分的に挿入されている、側方開口部と、ガス吸気口とフェイスマスクのエアロゾル吸気口の間で流速1~20L/分で一定の流れ抵抗とを有する、フローチャネル、を備え得る。

【0180】

そのような吸入デバイスの例示的な一実施形態の断面側面図を図33に見ることができる。図33は、吸入デバイス(100);振動メッシュ(102)を有するエアロゾル発生器(101);振動メッシュ(102)と流体連通しているリザーバー(103);ガス吸気口(104);ケーシング(106)と、エアロゾル吸気口(107)と、患者の接触表面(108)と、一方向呼気バルブ又は二方向吸気/呼気バルブ(109)とを有するフェイスマスク(105);及びガス吸気口(104)からフェイスマスク(105)のエアロゾル吸気口(107)に伸びるフローチャネル(110)を描写する。フローチャネル(110)は、その中にエアロゾル発生器(101)の下方末端が部分的に挿入される、側方開口部(111)を有する。描写される実施形態において、リザーバーは、ねじ式の蓋(114)に

よって覆われており、ガス吸気口(104)は、管継ぎ手(113)として形成されるか、又は管継ぎ手(113)を備えている。

【0181】

図33の例示的な吸入デバイスを更に図34の透視側面図、図35～図37の上面図、側面図及び底面図で描写する。この例示的な吸入デバイスの前面図及び後面図をそれぞれ、図38及び図39に提供する。

【0182】

一態様において、本発明の方法において使用される吸入デバイスの振動メッシュ(102)は、その最小直径が主に1.5～3.0 μm の範囲である1,000～4,000個の開口部を含み得る。

【0183】

一態様において、本発明の方法において使用される吸入デバイスのリザーバー(103)は、典型的には、活性成分を含む医薬組成物である液体をその中に入れるために0.1～10mL、又は0.5～5mLの容量を有し得る。好ましくは、リザーバー(103)は、エアロゾル発生器(101)の本体より上位に位置する。リザーバーは、ねじ式の蓋又はスナップ式の蓋によって閉じることができる。例えば、図33に描写されるねじ式の蓋(114)を参照されたい。

【0184】

月齢18カ月までの乳児は、実質的に強制的に鼻呼吸を行っていることから、マウスピースを通しての制御吸入は現実的ではなく、患者との境界面は、異なる年齢にとって適切なフェイスマスクの型及び大きさに関して特に注意を必要とする。

【0185】

本発明の方法において使用される吸入デバイスのフェイスマスク(105)は、マスクを通して患者が呼気できるように構成され得る。これは、かなり小さい呼気抵抗を示すバルブによって達成される。バルブ又はバルブの呼気抵抗は、上記で明記した範囲内で及び患者を考慮して選択され得る。

【0186】

好ましくは、フェイスマスクの名目内部容量は、約120mLを超えない。本明細書において使用されるように、名目内部容量は、患者の接触表面を平坦な表面に置いた場合に、エアロゾル吸気口から患者の接触表面までのケーシングによって囲まれる内部容量として理解される。この容量は、有効内部容量、又は患者の顔にマスクを当てた場合のマスクによって囲まれる容量であるいわゆるデッドスペースよりわずかに大きく、したがって患者の顔の大きさ及び形状に依存する。患者が学齢期の子供である場合、名目内部容量は、好ましくは患者の顔の大きさに応じてそれぞれ、約90mLを超えず、又は更に約80mLを超えず、又は約70mLを超えず、又は約60mLを超えず、又は約50mLを超えず、又は約40mLを超えない。患者が新生児である場合には、約40又は50mLを超えない名目内部容量を有するマスクを選択することが一般に好ましい。

【0187】

患者の平均1回換気量に関してフェイスマスクの名目内部容量を選択することが更に好ましい。マスクの名目内部容量は、1回換気量より小さいことが都合がよい。例えば、患者が、正常呼吸時約80mLの平均1回換気量を有する小児患者である場合、フェイスマスクの名目内部容量は、これより小さくなければならない。特に、それぞれの容量は、平均1回換気量の約10%～約80%の範囲であり得る。更なる実施形態において、フェイスマスクの名目内部容量は、患者の平均1回換気量の約60%を超えず、又は更に約50%を超えない。

【0188】

一実施形態において、フェイスマスクは、いずれかの方向に3mbarを超えない抵抗を有する二方向吸気呼気バルブを有してもよく、フェイスマスクの名目内部容量は、約50mLを超えない。この実施形態は、新生児、乳児及び幼児等の小さい小児患者にとって特に適している。別の実施形態において、フェイスマスクは、1つ又は複数の吸気バルブと1つ又は複数の呼気バルブとを有してもよく、呼気バルブは3mbarを超えない抵抗を有し、及びマスクの名目内部容量は、70mLを超えない。この実施形態は、幼児及び子供にとって特に適している。

【0189】

任意選択で、フェイスマスクは、更なる吸気及び/又は呼気バルブを含み得る。そのような場合、複合バルブの有効な呼気圧はなおも明記された範囲、すなわち約0.5～5mbarでなければならない。任意選択で、呼気圧はまたそれぞれ、約0.5mbar～約3mbar、例えば約1mbar又は約2mbarから選択され得る。フェイスマスクに提供されるバルブは、この呼気抵抗を提供するために適した任意の構造、例えば例を挙げればスリットバルブ、ダックビルバルブ、又は膜バルブを有し得る。例えば、バルブは、クロススリットとシリコン膜等の重層膜とを有する一方向バルブであり得る。バルブは、一方向にクロススリットから膜まで開き、反対方向では、膜がクロスの上にしっかり押しつけられて、このようにバルブを遮断する。バルブがフェイスマスクに挿入される方向に応じて、バルブは、吸気又は呼気バルブとしていずれにも作用することができる。

10

【0190】

本発明の方法において使用される吸入デバイスは、ガスがガス吸気口を通してフローチャンネルに入るように吸入デバイスに接続されている、1～5L/分の範囲の一定の流速でガスを提供するガス源に接続され得る。前記ガス源によって提供されるガスは、酸素、空気、酸素に富む空気、酸素と窒素の混合物、及びヘリウムと酸素の混合物から選択され得る。

【0191】

ガス吸気口(104)は、好ましくは、直接、又はチューブ若しくは他の導管を介して間接的に外部ガス源に接続される。ガス吸気口(104)は、例えば図33及び図34に認められ得るように、ガス源の結合を容易にするために管継ぎ手(113)として形成されてもよく、又は管継ぎ手(113)を備えてもよい。ガス吸気口(104)は、例示的な実施形態に関して図33～図37及び図39に示されるように、吸入デバイス(100)の後部位置に収容され得る。

20

【0192】

好ましい実施形態において、ガス吸気口(104)は、エアロゾル発生器又はエアロゾル発生器に接続されたりザーバーを除き、ガスをフローチャンネル(110)中に流させるための唯一の吸気口であり、それを通して非常に少量のガス(典型的に空気)がデバイスの中に入り、噴霧された液体と置き換えられる。

【0193】

本明細書において描写していない一実施形態において、デバイスは、フローチャンネル中のガスの流れを1～5L/分の範囲で選択される一定の流速に制限するように適応させた側方開口部の上流のフローチャンネルに流量制限器を含み得る。

30

【0194】

一態様において、本発明の方法において使用される吸入デバイスは、ガス吸気口(104)からフェイスマスク(105)のエアロゾル吸気口(107)に伸びるフローチャンネル(110)を有し得る。フローチャンネルは、図34に描写されるデバイスによって例示されるように、エアロゾル発生器がそれを通してフローチャンネル中に少なくとも部分的に挿入されている、側方開口部(111)を有し得る。その上、フローチャンネルは、1～20L/分の流速で、特に約1L/分～約5L/分の範囲の流速でガス吸気口とフェイスマスクのエアロゾル吸気口の間で一定の流れ抵抗を示し得る。

【0195】

フローチャンネルは、フローチャンネルの上流末端を形成するガス吸気口を通して外部ガス源からのガスを受けよう構成され得る。フローチャンネルの上流部分、すなわちガス吸気口(104)から(及びガス吸気口を含む)その中にエアロゾル発生器(101)が少なくとも部分的に挿入される側方開口部(111)までのセグメントは、好ましくは、1～20L/分の範囲で選択される一定の流速で、特に約1L/分～約5L/分の範囲の一定の流速でフローチャンネルを通るガスの層流を達成するような大きさ及び形状である。

40

【0196】

フローチャンネルはまた、ガス吸気口とフェイスマスクのエアロゾル吸気口の間で一定の流れ抵抗を有し得る。

【0197】

50

エアロゾル発生器(101)を受ける側方開口部(111)は、好ましくは例えば図33及び図34に描写されるように使用されるデバイスの通常の方角に関してフローチャネル(110)の上方位置に存在し得る。開口部は、好ましくはエアロゾル発生器を受けた場合に完全にしっかりと閉じられるように、エアロゾル発生器の寸法にマッチする大きさである。好ましくは、エアロゾル発生器は、使用時に部分的に挿入された位置に存在し、エアロゾル発生器の下流末端は、フローチャネルの縦方向の中心軸に向かって(又は更には対して)突出する。

【0198】

一実施形態において、エアロゾル発生器は、噴霧されたエアロゾルを、フローチャネルの縦軸に対しておよそ90°の角度でフローチャネルに放出するように配置され得る。この場合、エアロゾル発生器は、およそ垂直方向に配置され、振動メッシュはほぼ水平である。

10

【0199】

任意選択で、エアロゾル発生器は、少なくとも約0.1mL/分又は少なくとも約0.2mL/分のエアロゾル生成速度(又は噴霧速度)を有するように選択及び操作される。いくつかの実施形態において、エアロゾル発生器は、少なくとも0.3mL/分、0.4mL/分、0.5mL/分、0.6mL/分、又は更に少なくとも0.7mL/分の噴霧速度を有する。

【0200】

フローチャネルの寸法は、側方開口部からフェイスマスクのエアロゾル吸気口までのチャネルの総内部容量が約30mLを超えないような寸法であり得る。任意選択で、これはそれぞれ、約25mLを超えない、又は約20mLを超えない。いくつかの場合において、フローチャネルの内部容量は、約18mL未満又は更に約15mL未満であり得る。

20

【0201】

特定の実施形態において、フローチャネルは、任意選択で約6mm〜約8mmの総直径を有する振動メッシュと組み合わせて、側方開口部のすぐ上流の位置で約10mm〜約13mmの内径を有し得る。開口部又は開き穴を有するメッシュの領域の直径は、総直径より例えば約1〜3mm小さくなり得ることに注意されたい。

【0202】

特定の実施形態において、側方開口部のすぐ上流のフローチャネルの内径の、振動メッシュの直径に対する比はそれぞれ、約1〜約2.5、又は約1.2〜約2であり得る。更に、側方開口部のすぐ上流のフローチャネルの内径の、振動メッシュの開き穴領域の直径に対する比は、約1.2〜約4、例えば約1.6〜約3等であり得る。

30

【0203】

本発明の方法において使用される吸入デバイスはまた、例えば図34に示すように、エアロゾル発生器(101)の操作を開始及び終了するためのスイッチ(112)を含み得る。この文脈において、エアロゾル発生器の操作は、振動メッシュの連続的振動を含む。

【0204】

一態様において、本発明の方法において使用される吸入デバイスは、a)エアロゾル発生器(101)を制御するための電子コントローラーと、ガス吸気口(104)を含むフローチャネルの上流部分とを含むベースユニット(118);及びb)側方開口部の下流に位置してフローチャネルが下流方向に広がるセグメントを含む、側方開口部(111)を含むフローチャネルの下流部分を含む混合チャネルユニット(119)を含み得る。

40

【0205】

任意選択で、電子コントローラーを有するベースユニットは更に、図39に描写するように、バッテリー(例えば、再充電可能なバッテリー)、データ保存手段及び/又はデータをチャージ及び回収するためのUSBポート(116)を含み得る、又は収容し得る。

【0206】

更に任意選択で、例えば熱を生成し得る電子コントローラー又はベースユニット(118)の他の任意のパーツを空冷するために、小さい穴(117)を、例えば図34及び図39に示す吸入デバイスの後部に及び/又は図37に示す吸入デバイスの底部に任意選択で提供してもよい。しかし、これらの小さい穴(117)は、フローチャネル(110)と流体連通していない。

50

【0207】

本発明の方法によって使用するための吸入デバイスの例に関しては、「Inhalation device for use in aerosol therapy of respiratory diseases」と題する、本出願と同じ提出日のAblynx N.V.社及びVectura GmbH社による同時継続中の国際特許出願を参照されたい。

【0208】

吸入デバイス又はネブライザーに、本発明の医薬組成物をロードする。したがって、本発明はまた、本発明のポリペプチドを含む医薬組成物を含有する吸入デバイス又はネブライザーにも関する。好ましい態様において、吸入デバイス又はネブライザーは、配列番号71を含む医薬組成物を含有する。上記のように、本発明のポリペプチドは、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75mg/mL等の任意の適した濃度で、好ましくは50mg/mLの濃度でネブライザーに存在し得る。

【0209】

本明細書において記載されるRSVの臨床的に意味のある低減を確保するために、本発明のポリペプチドは、1日当たり、1.00～2.00mg/kg、好ましくは1.00～1.75mg/kg、例えば1.20mg/kg(この値は、任意選択で±0.06mg/kgの範囲を包含すると理解される)等の名目用量で投与される。若年の子供の体重に応じて、ネブライザーにロードすべき(同様に「充填容量」とも呼ばれる)医薬組成物の容量(本発明のポリペプチドの50mg/mLの濃度)は以下の通りである(同様にTable B-2(表8)を参照されたい)。

【0210】

【表1】

体重の区分	充填容量	充填用量	名目用量 (mg/kg)
5.0 - 6.0 kg	0.150 mL	7.5 mg	1.50-1.25
6.1 - 8.0 kg	0.200 mL	10.0 mg	1.64 ^c -1.25
8.1 - 10.0 kg	0.250 mL	12.5 mg	1.54-1.25
10.1 - 12.0 kg	0.300 mL	15.0 mg	1.49-1.25
12.1 - 14.0 kg	0.350 mL	17.5 mg	1.45-1.25
14.1 - 16.0 kg	0.400 mL	20.0 mg	1.42-1.25

【0211】

又は以下の通りである(同様にTable B-6(表12)を参照されたい)

【0212】

【表 2】

体重の区分	充填容量	充填用量	名目用量 (mg/kg)
3.5 - 3.9 kg	0.100 mL	5.0 mg	1.43-1.28
4.0 - 5.0 kg	0.130 mL	6.5 mg	1.63-1.30
5.1 - 6.0 kg	0.150 mL	7.5 mg	1.47-1.25
6.1 - 8.0 kg	0.200 mL	10.0 mg	1.64-1.25
8.1 - 10.0 kg	0.250 mL	12.5 mg	1.54-1.25
10.1 - 12.0 kg	0.300 mL	15.0 mg	1.49-1.25
12.1 - 14.0 kg	0.350 mL	17.5 mg	1.45-1.25
14.1 - 16.0 kg	0.400 mL	20.0 mg	1.42-1.25
16.1 - 19.0 kg	0.500 mL	25.0 mg	1.32-1.55

10

20

【0213】

上記の容量はまた、本明細書において「選択された投与スケジュール」と呼ばれる。

【0214】

したがって、本発明は、本発明のポリペプチド、好ましくは配列番号71の50mg/mLの組成物0.150~0.400mL又は0.100~0.500mL(例えば0.100mL、0.130mL、0.150mL、0.200mL、0.250mL、0.300mL、0.350mL、0.400mL、0.500mL等)を含む吸入デバイス又はネブライザーに関する。より詳しくは、本発明は、若年の子供における例えばRSV下気道感染等のRSV感染の治療に使用するための、本発明のポリペプチド、好ましくは配列番号71の50mg/mLの組成物0.150~0.400mL又は0.100~0.500mL(例えば0.100mL、0.130mL、0.150mL、0.200mL、0.250mL、0.300mL、0.350mL、0.400mL等)を含む吸入デバイス又はネブライザーに関する。

30

【0215】

一態様において、若年の子供は月齢24カ月未満である。

【0216】

一態様において、若年の子供は月齢36カ月(3歳)未満である。

【0217】

一態様において、若年の子供は月齢1カ月から24カ月未満である。

【0218】

一態様において、若年の子供は月齢1カ月から36カ月(3歳)未満である。

【0219】

一態様において、若年の子供は月齢5カ月から24カ月未満である。

40

【0220】

一態様において、若年の子供は月齢5カ月から36カ月(3歳)未満である。

【0221】

一態様において、若年の子供は乳児である。

【0222】

一態様において、若年の子供は幼児である。

【0223】

一態様において、若年の子供は、RSV下気道感染を有すると診断されているが、それ以外健康である。

50

【0224】

一態様において、若年の子供はRSV下気道感染のために入院中である。

【0225】

更なる治療剤

本発明のポリペプチドは、単剤治療として、又はRSV感染の治療のためであるか若しくは治療のために使用することができる他の薬学的活性化化合物若しくは原理と組み合わせて、その結果相乗効果が得られても得られなくてもよい併用で投与され得る。そのような化合物及び原理、並びにそれらを投与するための経路、方法、及び医薬製剤又は組成物の例は医師に明白である。

【0226】

2つ以上の物質又は原理を併用治療レジメンの一部として使用する場合、それらは同じ投与経路によって、又は異なる投与経路によって本質的に同時又は異なる時期に(例えば、本質的に同時、連続的、又は交互のレジメンに従って)投与することができる。物質又は原理を同じ投与経路によって同時に投与する場合、それらは、当業者に明白であるように異なる医薬製剤若しくは組成物として、又は複合医薬製剤若しくは組成物の一部として投与され得る。

【0227】

同様に、2つ以上の活性物質又は原理を併用治療レジメンの一部として使用する場合、物質又は原理のそれぞれを、化合物又は原理を単独で使用する場合と同じ量で同じレジメンに従って投与してもよく、そのような併用使用によって相乗効果が得られても得られなくてもよい。しかし、2つ以上の活性物質又は原理の併用使用によって相乗効果が得られる場合、投与される物質又は原理の1つ、それより多く、又は全ての量を低減させることが可能であり、それでもなお所望の治療作用が達成される。これは例えば、その通常量で使用される場合に物質又は原理の1つ又は複数の使用に関連する任意の望ましくない副作用を回避、制限、又は低減するために有用であり得て、それでもなお所望の薬学的又は治療効果を得ることができる。

【0228】

そのため、本発明はまた、hRSVに結合して中和する本発明のポリペプチドの肺内投与のための方法及び投与スケジュールであって、ポリペプチドが少なくとも1つの更なる治療剤と併用して投与される、投与スケジュールを提供する。

【0229】

限定されないが、更なる治療剤は、気管支拡張剤、抗生物質(例えば、入院中の二次細菌感染(重複感染)の場合)、エピネフリン、抗コリン作動薬、解熱剤、及び/又は非ステロイド性抗炎症薬を含む(がこれらに限定されない)、RSV下気道感染等のRSV感染のために入院時の標準治療から選択することができる。

【0230】

一態様において、本発明のポリペプチドは、気管支拡張剤と併用して投与される。したがって、本発明はまた、RSV感染に罹っている子供に本発明のポリペプチドを投与することを含む、若年の子供におけるRSV感染を治療するための方法であって、該ポリペプチドは、気管支拡張剤と併用して選択された投与スケジュールで子供に吸入投与される、方法にも関する。本発明の方法において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、併用治療(パーツのキット)として呼吸器に(すなわち、吸入によって)投与される。この方法において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、併用治療レジメンの一部として使用される。より詳しくは、この併用治療の両方の部分は、同時、個別、又は連続的に呼吸器に(すなわち、吸入によって)投与される。

【0231】

2つの主要なクラスの気管支拡張剤、すなわち短時間作用型及び長時間作用型の $\beta 2$ -模倣薬を含む交感神経模倣薬と抗コリン作動薬が存在する。短時間作用型の模倣薬には、サルブタモール、テルブタリン、フェノテロール、ピルブテロール、及びツロブテロールが挙げられる(がこれらに限定されない)。それらは、塩基又は許容される薬学的塩として使

用することができる。長時間作用型の β 2-模倣薬には、フォルモテロール及びサルメテロールが挙げられる(がこれらに限定されない)。それらはまた、塩基又は許容可能な薬学的塩として使用することができる。抗コリン作動薬には、イプラトロピウム、オキシトロピウム、及びチオトロピウムが挙げられる(がこれらに限定されない)。

【0232】

限定されないが、本発明の方法において使用される更なる気管支拡張剤には、Accu Hal e、アルブテロール、ビトルテロール、エフェドリン、エピネフリン、イソエタリン、イソプロテレノール、メタプロテレノール、ピルブテロール、ラセピネフリン、リトドリン、テルブタリン、レボサルブタモール、レバブテロール、クレンブテロール、アンフェタミン、メタンフェタミン、コカイン、テオフィリン、カフェイン、テオブロミン、THC、及びMDPVが挙げられる。

10

【0233】

超長時間作用型分子の気管支拡張剤のクラスは、1日1回投与するだけでよい(例えば、チオトロピウム)。フォルモテロール及びサルメテロール等の長時間作用型の β 2-模倣薬は通常、1日2回投与される。最後に、サルブタモール、テルブタリン、イプラトロピウム、又はオキシトロピウム等の短時間作用型の気管支拡張剤は1日に4~6回投与しなければならない。そのような情報に基づき、併用治療を最適に利用するために治療スケジュールを設計することができる。治療スケジュールは、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤の同時、個別、又は連続投与を包含し得る。併用治療を投与するための最も一般的なデバイス(パーツのキット)は、ネブライザー、定量噴霧式吸入器(MDI)及びこれらの組み合わせである。

20

【0234】

一態様において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は同時に投与される。この実施形態において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、吸入可能形態で混合して投与される。限定されないが、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤の吸収可能形態は、好ましくはいずれも(本発明の)同じ組成物に存在する本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤の同時噴霧によって(例えば、ネブライザーによって)得られたエアロゾルであり得る。

【0235】

別の態様において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、個別に投与される。この実施形態において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、個別の吸収可能形態で投与される。限定されないが、本発明のポリペプチド及び/又は気管支拡張剤の個別の吸収可能形態は、(本発明の)組成物に個別に存在する本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤の噴霧によって(例えば、ネブライザーによって)得られたエアロゾルであり得る。或いは、本発明のポリペプチド及び/又は気管支拡張剤の個別の吸収可能形態は、本発明のポリペプチドの噴霧によって(例えば、ネブライザーによって)得られたエアロゾルと、揮発性のプロペラントに溶解又は懸濁した気管支拡張剤を液滴に分解した後これらの液滴を急速に蒸発させることによって(例えば、定量噴霧式吸入器(MDI)によって)得られた個別のエアロゾルであり得る。そのため、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、それぞれが個別の吸収可能形態を産生する2つの異なる(型の)吸入器によって投与される。限定され

30

40

れないが、以下の組み合わせを提案することができる：

- MDIによる気管支拡張剤の吸入と、ネブライザーによる本発明のポリペプチドの吸入；
- ネブライザーによる気管支拡張剤の吸入と、別のネブライザーによる本発明のポリペプチドの吸入。

【0236】

別の態様において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、連続的に投与される。この実施形態において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、吸収可能形態で個別に連続的に投与される。限定されないが、本発明のポリペプチド及び/又は気管支拡張剤の吸収可能形態は、(本発明の)組成物に個別に存在する本発明のポリペプチド又は気管支拡張剤の噴霧によって(例えば、ネブライザーによって)得られたエアロゾルであり得る。

50

或いは、本発明のポリペプチド及び/又は気管支拡張剤の個別の吸収可能形態は、本発明のポリペプチドの噴霧によって(例えば、ネブライザーによって)得られたエアロゾルと、揮発性のプロペラントに溶解又は懸濁した気管支拡張剤を液滴に分解した後これらの液滴を急速に蒸発させることによって(例えば、定量噴霧式吸入器(MDI)によって)得られた個別のエアロゾルであり得る。併用治療のこの連続投与に関して、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、2つの個別の連続的吸収可能形態が生成され得るように、吸入デバイスに個別にロードされる本発明の2つの異なる(個別の)組成物に存在しなければならない。この実施形態において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、2つの異なる(型の)吸入器で投与され得る。しかし、個別の組成物を連続的にロードすることができるいくつかのデバイス(例えば、ネブライザー等)では、2つの異なる吸入器の使用は必ずしも必要ではない。限定されないが、以下の組み合わせを提案することができる:

- 気管支拡張剤をMDIによって吸入後に、本発明のポリペプチドをネブライザーによって吸入する;
- 気管支拡張剤をネブライザーによって吸入後に、本発明のポリペプチドをネブライザー(同じ又は異なり得る)によって吸入する;
- 本発明のポリペプチドをネブライザーによって吸入後に、気管支拡張剤をMDIによって吸入する;
- 本発明のポリペプチドをネブライザーによって吸入後に、気管支拡張剤をネブライザー(同じ又は異なり得る)によって吸入する。

【0237】

本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤の連続投与の好ましい間隔は、使用される本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤(本明細書に記載される)に依存して、5分~24時間又はそれより長く、例えば5分、10分、15分、20分、30分、1時間、4時間、6時間、8時間、12時間等が挙げられ得る。

【0238】

好ましい態様において、気管支拡張剤は、例えばサルブタモール等の短時間作用型の β 2-アゴニストである。

【0239】

好ましい態様において、短時間作用型の β 2-アゴニスト等の気管支拡張剤は、ネブライザーによる本発明のポリペプチドの投与前にMDIによって投与される。例えば、気管支拡張剤、短時間作用型の β 2-アゴニストは、本発明のポリペプチド投与の10~15分前に投与することができる。例えば、サルブタモール等の短時間作用型の β 2-アゴニストは、本発明のポリペプチドの投与の15分前に200マイクログラム(例えば、100マイクログラムを2回噴霧)の用量で若年の子供に投与される。

【0240】

別の好ましい態様において、気管支拡張剤は、本発明のポリペプチドのネブライザーによる投与の前にネブライザーによって投与される。この好ましい態様において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、同じネブライザー(すなわち、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤のそれぞれが個別の組成物に存在して、これらがネブライザーに連続的にロードされる)又は2つの異なるネブライザーによって投与することができる。

【0241】

別の好ましい態様において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、ネブライザーによって同時に投与される。この好ましい態様において、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、好ましくは本発明の1つの組成物に存在して、ネブライザーにロードされる。或いは、本発明のポリペプチド及び気管支拡張剤は、本発明の2つの異なる組成物に存在して、いずれもネブライザーにロードされる。

【実施例】

【0242】

(実施例1)

小児集団における用量決定モデルの開発

10

20

30

40

50

疾患を有する子供のPBPKモデルを、前臨床データ並びに予測及び実測の臨床データを使用する多段階スケーリングアプローチ(図3、実施例2～10)によって開発した(Table B-1(表7))。

【0243】

用量の選択は、有効性を得るための典型的なインビトロマイクロ中和アッセイから生成された複数の IC_{90} 値に基づいた。マイクロ中和アッセイにおいて決定した最も感受性の低いプロトタイプRSV B 18537株に関する配列番号71の IC_{90} の平均値は、約90ng/mL(n=20)であった。この IC_{90} の100倍高い値(9 μ g/mL)を、RSV臨床単離体について起こり得る感受性の差を説明するための目標濃度として設定した。

【0244】

標的(RSV Fタンパク質)は、ヒトにおいて発現されず、有効性を成人から子供に外挿することは不可能であることから、用量は、モデリングアプローチに基づいてしか決定できない。本発明のアプローチにおいて、若年の子供の解剖学及び生理学、臓器成熟等の成長発達過程、血流の変化、身体組成、及び呼吸器系の変化を含む排泄機構の個体発生を考慮に入れたモデルを開発した(図1、及び以下のより詳細な説明を参照されたい)。

【0245】

小児と成人の薬理学の溝を埋めるために、PBPKモデリング(Barrettら、2012、Clin. Pharmacol. Ther. 92: 40～9頁; Khalil及びLaer 2011、J. Biomed. Biotechnol. Epub 2011年6月1日)を使用した。これは成人に関するPBPK吸入モデルを確立して、これを子供にスケーリングすることによって行われた。PBPKモデルは、ソフトウェアPK-Sim(登録商標)(Bayer Technology Services社、Leverkusen、Germany; www.pk-sim.com、PBPKモデル作製の場合はバージョン5.1.3、集団シミュレーションの場合にはバージョン5.2.2及び5.3.2)を使用して作製した。PK-Sim(登録商標)は、実験動物及びヒトにおける薬物のPBPKモデリングのための市販のツールである。PK-Sim(登録商標)は、タンパク質治療薬及び高分子のための一般的PBPKモデルを含む(図2)。PK-Sim(登録商標)において実行される一般的なPBPKモデル構造に関する詳細な説明に関しては、Willmannら(2007、J. Pharmacokinet. Pharmacodyn. 34: 401～431頁; 2005、1: 159～168頁; 2003、Biosilico 1: 121～124頁)を参照されたい。このモデルを使用して、静脈内(IV)投与のためのPBPKモデル及び肺内投与のための基本モデルを作製した。

【0246】

肺胞腔からの吸収を記載するために、肺胞被覆液(ALF)を表す更なるコンパートメントを、PK-Sim(登録商標)からエクスポートした標準的な全身PBPKモデルの肺に挿入した(図2)。肺胞被覆液は、吸入後の肺胞腔に沈着した用量の量を含有する。異なる種のALFコンパートメントの容量を、肺胞表面積及び肺胞被覆液の厚さに関する文献値から計算した(Tschumperlin及びMargulies 1999、J. Appl. Physiol., 86: 2026～33頁; Patton 1996、Advanced Drug Delivery Reviews 19: 3～36頁; Bastackyら、1995、J. Appl. Physiol. 79: 1615～28頁)。ALFコンパートメントの容量は、吸入された水の迅速な再吸収によりエアロゾルの吸入後一定であると仮定された。

【0247】

同様に、肺胞腔を肺組織(間質)と結ぶ拡散交換経路をモデルに挿入した。拡散速度は以下の一次式から計算した:

$$dN/dt = P_{alv} * A_{alv} * (C_{alf} - C_{int})$$

式中、N:薬物の量

P_{alv} :肺胞の透過性(上皮細胞障壁)。パラメーター値を、ラットにおいて吸入後に血漿中濃度-時間プロファイルにフィットさせた。

A_{alv} :文献からの肺胞表面積。

C_{alf} :ALF中の薬物濃度。

C_{int} :肺間質中の薬物濃度。

【0248】

吸入後、エアロゾル粒子は呼吸器の様々な領域に沈着する。配列番号71の吸入後の下気

10

20

30

40

50

道に沈着した画分を推定するために、異なる小児年齢群のエアロゾル沈着を、PBPKモデルに組み入れられた専用ツール、Multiple-Path Particle Dosimetry (MPPD) V2.11 (2002～2009、詳細な説明は<http://www.ara.com/products/mppd.htm>に認められ得る)を使用してスケーリングした。MPPDモデルは、米国のApplied Research Associates, Inc.社及びThe Hamner Institutes for Health Sciences社によって、オランダの国立公衆衛生環境研究所(the National Institute of Public Health and the Environment)(RIVM)及びオランダの住宅国土計画環境省(the Ministry of Housing, Spatial Planning and the Environment)と共同で開発された。これによって、異なる小児年齢群及び異なる粒径の粒子に関して、頭部、気管気管支、及び肺胞領域における領域沈着の平均値、並びに気道の世代毎の沈着の平均値の説明が可能となる。全体として、領域沈着は、肺の形態(年齢特異的)、粒子の特性(粒径及び密度分布)、及び呼吸パターン(回数、容量)に依存する。そのため、MPPDツールは、異なる粒径の粒子に関する成人及び子供(月齢3、21、23、28カ月、年齢3、8、9、14、及び18歳)の呼吸器中のエアロゾルの沈着を計算する。沈着は、理論的に誘導された拡散による沈着効率、気道又は気道分岐内での沈降及び固着を使用して計算する。頭部によるエアロゾルのろ過は、経験的な効率関数を使用して決定する。

【0249】

(実施例2)

PBPKモデルの評価:PBPK IVモデル

PVPK IVモデルを以下の情報を使用して確立した:i)配列番号71の物理化学特徴に関する化合物特異的情報、ii)ラットにおける初回PK試験からのデータ(Table B-1:試験1)(表7)、iii)ラットにおける毒性試験からのデータ(Table B-1:試験2)(表7)、及びiv)IV投与後のイヌにおける心血管安全性薬理学試験(Table B-1:試験3)(表7)。モデル作製(IVモデル)のこの最初のレベルは、分布及びクリアランス過程を考慮した。

【0250】

実験的血漿中濃度プロファイルをフィットさせることによって、2つのパラメーター、すなわち配列番号71の流体力学的半径と腎クリアランス(CL)を推定した(図6A及び図6B)。配列番号71について得られた流体力学的半径は、2nmであり、これは予測実験値3.5nmより小さい。半径2nmは、三価のポリペプチドの一価単位の半径とマッチする。このため、パラメーターの同定後に得られた小さい薬物半径は、ポリペプチドの柔軟性によって説明され得る。ラットにおいて、最良の結果は、糸球体ろ過速度(GFR)の58%の腎CLで得られた。

【0251】

(実施例3)

PBPKモデルの評価:ラットにおける肺への送達

吸収過程を説明するために、第2のレベルのモデル作製において肺への送達をモデル化した。実施例2で記載された流体力学的薬物半径2nm及びGFRの58%の腎クリアランスを使用して、実施例1で記載された肺コンパートメントの追加によってIV適用のモデルを肺吸収に拡大した。このパートは、実験的血漿中濃度-時間プロファイル、並びにラットで実施した単回投与後の肺における局所薬物量(Table B-1:試験1)(表7)及び反復用量毒性試験(Table B-1:試験4)(表7)に基づいて確立した。

【0252】

肺胞の透過性及び肺胞吸収腔に沈着した用量の画分を、ラットにおける肺内投与後の実験的血漿中濃度-時間プロファイルにマッチするようにフィットさせた(Table B-1:試験1)(表7)(図7)。実験データは、シミュレーション曲線に良好にマッチして、肺胞透過性 P_{alv} 4.58E-9cm/分を生じ、肺胞腔に沈着した用量画分0.37%を生じた。

【0253】

同じモデルを使用して、ALF吸収コンパートメントにおける配列番号71のシミュレートされた量を、実験により気管支肺胞洗浄液(BALF)中に見出された量と比較した(図8)。全ての用量に関して、配列番号71の計算量は、実験値とマッチしたが、シミュレートされた半減期は観察された半減期よりごくわずかに大きかった。

【0254】

反復投与試験(Table B-1:試験4)(表7)のシミュレーションに関して、肺胞透過性の同じ値を、上記の一回投与試験(4.58E-9cm/分)に関して使用した。1日1回14日間肺内適用後の配列番号71の血漿中濃度曲線のシミュレーションは、肺胞吸収腔に沈着した用量画分の調製後では、1日目及び14日目の実験データ(図9)と優れたマッチを生じた。これまでの試験とは対照的に、妥当なフィットを得るために、沈着した用量の画分に関して異なる値(15mg/kgに関して1.8%、50mg/kgに関して0.93%、及び150mg/kgに関して0.47%)を仮定する必要があった。エアロゾル粒子の直径を増加させると肺胞沈着がより小さくなる傾向は、異なる用量群に関して血漿中PK曲線が異なることを説明し得る。

【0255】

図9と同じモデルを使用してALF吸収コンパートメントにおいてシミュレートされた量を、実験により気管支肺胞洗浄液(BALF)中で見出された量と比較した(図10)。シミュレートされた曲線は実験量から大きく逸脱した(一桁)。この相違は、BALF中の実験量が全ての呼吸器からの関与を含有するが、シミュレートされた量は肺胞吸収腔の量のみを指すことから、BALFデータでは器官/気管支の関与があることによって説明され得る。実験とシミュレーションとの間の逸脱は、試験1ではかなり大きい。これは、おそらく異なるBALF採取技法のために(試験4では気管を含む肺全体、試験1では右肺)試験4での薬物回収量がより大きいことによって説明され得る。実験的BALFデータの蓄積/半減期は、シミュレーションによって良好に説明され、血漿中の蓄積/半減期と類似であった。

【0256】

(実施例4)

PBPKモデルの評価:健康な成人ヒトにおける肺内投与

4.1 第1の臨床試験(Table B-1:試験5)(表7)

配列番号71の吸入の安全性、認容性、及びPKを、最初に、フェーズ1試験において健康な男性ボランティアにおいて評価した(Table B-1:試験5)(表7)。フェーズ1試験は、2.1mg~210mgの範囲の6つの用量レベルを試験する、対象44人における単一用量漸増パートを含んだ。次に、複数回用量パートを16人の健康な男性において開始し、対象には配列番号71を1日2回、1日用量150mg及び210mgをそれぞれ5日間投与した。

【0257】

4.2 モデルの評価

ヒトPK-Sim(登録商標)データベースからの臓器の体積、臓器における血液及びリンパの流れ等の生理的パラメーターを適応させることによって、ラットにおけるPBPKモデルをヒトにスケーリングした。配列番号71の流体力学的半径及び腎CLを、ラットにおける全ての計算において2nm及びGFRの58%に設定した。肺胞の吸収は、ラットと同じ機構によって説明された。ALFの厚さ及び肺胞の透過性は、ラットと同じであると仮定したが、肺胞の表面積は102.2m²へとスケーリングした(Patton 1996、Advanced Drug Delivery Reviews 19: 3~36頁)。

【0258】

ヒトにおけるこの第1の臨床試験からのヒト血漿中PKデータ(Table B-1:試験5)(表7)を使用して、モデル及びスケーリングの理論的根拠を評価した。肺胞腔に沈着した画分は、実験データにフィットしなかった。しかし、このパラメーターの変動(有効用量の変動に等しい)によって、濃度軸に沿ってシミュレートされたプロファイルのシフトのみが起こったが、プロファイルの形状は保存された。このため、シミュレーションは、吸収速度によって決定された終末相半減期を含む濃度プロファイルの予測特徴を有した。

【0259】

図11において、配列番号71のシミュレートされた血漿中濃度-時間プロファイルを、配列番号71の肺内投与後の1人の健康なボランティアからの実験データと比較した。最良のフィッティングの結果は、肺胞腔に沈着した用量の画分に関して15%の値を使用して得られた。図11は、健康なヒトボランティアにおける吸収速度がラットモデルからスケーリングしたPBPKモデルによって非常に良好に予測され、したがってヒトにおいて肺胞透過性に

関してラットと同じ値を仮定することができることを示している。

【0260】

(実施例5)

PBPKモデルの評価:健康な成人ヒトにおけるIV及び肺内投与

5.1 第2の臨床試験(Table B-1:試験6)(表7)

健康な成人男性ボランティアに吸入投与した配列番号71の単回投与及び反復投与のPKを評価するために、別のフェーズ1試験を実施した。配列番号71の単回静脈内投与もまた、その後のPKモデリング及びシミュレーションに関して更なる情報を提供するために、試験に含めた。44人の対象を無作為化して処置した:対象23人に配列番号71の単回用量の吸入を行い、対象15人に配列番号71の複数回用量吸入を行い、及び対象6人に配列番号71の静脈内注入を行った。試験は、経口吸入又は静脈内投与した場合の配列番号71の局所(気管支及び肺胞腔)及び/又は全身の濃度を調べた。

10

【0261】

5.2 モデルの評価

モデルを、IV及び肺内投与後の第2の臨床試験からの尿及び肺胞被覆液(ALF)のデータによって更にバリデートして精密化した(Table B-1:試験6)(表7)。

【0262】

第1の臨床試験を使用して評価した同じヒトモデル(Table B-1:試験5)(表7)を、第2の臨床試験のIV投与後の血漿中濃度-時間曲線及び尿排泄データと比較した(Table B-1:試験6)(表7)。

20

【0263】

ラットからスケーリングしたヒトモデルによるシミュレーションは、投与後最初の12時間に関して非常に良好に実験IVデータにマッチする。しかし、投与後24時間での実験データ点は、シミュレーションでは過小評価され、同様に後の時点でも過小評価されているように思われる(図12)。

【0264】

実験によって尿中に見出された薬物の量(6~23%)は、シミュレーション(91%)よりかなり低かった(図13)。このため、モデルの腎クリアランス(GFRの58%)は、大きすぎるように思われた。この第2の臨床試験において利用可能となった尿データを考慮すると(Table B-1:試験6)(表7)、モデルの腎クリアランスを減少させなければならなかった。血漿中濃度時間曲線をなおも説明するために、更なるクリアランス過程をモデルに導入しなければならなかった。

30

【0265】

当初開発された平均的なヒトモデルもまた、第2の臨床試験からの吸入データによって評価した(Table B-1:試験6)(表7)(図14)。当初のモデルを、いかなる変更もなく使用した(肺胞腔に沈着した用量の15%画分を含む)。比較のために使用した実験的ALF中濃度を、尿素希釈方法(Conteら、1995、Antimicrob. Agents Chemother. 39: 334~8頁)を使用して補正した。

【0266】

吸入後のシミュレートされた血漿中濃度-時間曲線は、実験データに良好にマッチした。初期相において、実験的血漿中濃度は、わずかに過小評価された。初期相では、第1の臨床試験からの実験的血漿中濃度(Table B-1:試験5)(表7)も同様に、第2の臨床試験からの濃度(Table B-1:試験6)(表7)よりわずかに低かった。同様に、シミュレートされたALF中濃度は実験データと一致するが、実験データはわずかに過小評価され、すなわち平均的なモデルは、より高い個々のALF中濃度とマッチした。

40

【0267】

(実施例6)

PBPKモデルの精密化

6.1 モデルの精密化

以下のモデル特徴をモデル評価に従って精密化した:

50

1. IV投与後24時間より後の時点で血漿中濃度-時間プロファイルをよりよく説明するために、流体力学的半径を適応させた。
2. 実験により観察された尿中の用量の画分にマッチさせるために腎クリアランスを低減させた。大きさおよそ40kDaのタンパク質に関して、腎クリアランス<10%が文献において報告されており(Galaskeら、1979、Kidney Int. 16: 394~403頁; Maackら、1979、Kidney Int. 16: 251~70頁)、腎クリアランスの低減は正当である。IV投与後の観察された血漿中濃度プロファイルをなおも説明することができるように、全ての血漿コンパートメント内で更なる一次クリアランス過程をモデルに追加した。更なるクリアランス過程は血漿中プロテアーゼに帰することができる。一次速度定数をIV投与後の血漿中濃度プロファイルにフィットさせた。
3. 吸入モデルに関して、吸入後のALF中濃度をよりよく説明するために肺胞の厚さに関する代替の文献値を使用した。当初確立されたモデルでは、Patton 1996 (Advanced Drug Delivery Reviews 19: 3~36頁)による論評において引用された肺胞の厚さ0.068 μm を使用した。精密化モデルでは0.2 μm の値を使用した。この代替値も同様にPattonによって引用された。同じ値が、ラットに関する肺胞の厚さの領域-質量平均値として独立して報告された(Dall'Acquaら、J. Biol. Chem. 281: 23514~24頁)。大きいほうの厚さ0.2 μm を使用すると、肺胞気量はより大きくなり、その結果肺胞濃度が減少する。肺胞の透過性がこれに対応して増加しても、全吸収速度及びこのように全身での濃度は、変化しなかった。このため、精密化モデルでは、以下のスケーリングした肺胞透過性を使用した: $4.58\text{E-}9\text{cm}/\text{分} \times 0.2/0.068 = 1.35\text{E-}8\text{cm}/\text{分}$ 。

10

20

【0268】

精密化モデルによって実施したシミュレーションは、第2の臨床試験の実験データ(Table B-1: 試験6)(表7)に非常に良好にマッチする平均血漿中及び尿中濃度-時間プロファイルを生じた(図15及び図16)。フィットさせた流体力学的半径に関して、2.46nmの値が得られ、腎クリアランスに関してはGFRの5%の値が得られ、及び更なる血漿クリアランス速度定数に関しては 0.0142分^{-1} が得られた。

【0269】

肺胞の厚さに関する代替の文献値を使用して、実験的ALF中濃度は、非常に良好に説明された(図17)。精密化モデルのシミュレーションに関して、肺胞腔に沈着した用量の画分を、血漿中濃度のよりよい説明を得るために更にわずかに適応させた(10.6%)。

30

【0270】

6.2 精密化モデルによる集団シミュレーション

精密化された成人モデルに関する集団のシミュレーションを評価するために、集団シミュレーション結果を第2の臨床試験(Table B-1: 試験6)(表7)並びに第1の臨床試験(Table B-1: 試験5)(表7)からのPKデータと比較した。2つの試験からの範囲内に均等に分布する人口統計学パラメーターを有する、European ICRP2002集団の男性1000人を含む集団を作製した。

【0271】

配列番号71の個々の実験的血漿中濃度-時間プロファイルと累積的尿中排泄(Table B-1: 試験6)(表7)の、IV適用後の集団シミュレーションからの結果に対する比較を図18に示す。

40

【0272】

第2のヒト試験(Table B-1: 試験6)(表7)からの単回吸入後及び複数回吸入後の実験的血漿中及びALF中濃度に対する集団シミュレーションの比較をそれぞれ、図19及び図20に示す。

【0273】

精密化モデルを使用する集団シミュレーションもまた、第1のヒト試験からのデータ(Table B-1: 試験5)(表7)と比較することによって再評価した(図21)。

【0274】

いずれの試験に関しても、集団シミュレーションは実験データと妥当に良好に合致する

50

。

【0275】

(実施例7)

成人PBPKモデルの健康な子供へのスケーリング

次に、精密化された成人PBPKモデルを、文献(Edgintonら、2006、Clin. Pharmacokinet. 45: 1013~1034頁; Rhodinら、2009、Pediatr. Nephrol. 24: 67~76頁; Hislopら、1986、Early Hum. Dev. 13: 1~11頁)から入手可能な確立されたパラメーター及び等式に主として基づいて、(i)解剖学的及び生理的パラメーター、(ii)クリアランス過程、及び(iii)吸収過程をスケーリングすることによって子供に外挿した。

【0276】

肺胞吸収腔に沈着した吸入用量の画分を推定するために、MPPDツールを使用した。月齢3カ月、21カ月、23カ月、及び28カ月はMPPDツール内で利用可能である。使用した粒径分布は、 $2.63\text{ }\mu\text{m}$ MAD(質量中央粒径)であり、幾何標準偏差は1.46であった。呼吸パラメーターに関して静的鼻腔内吸入を使用した。他のパラメーターに関してMPPDのデフォルト設定を使用した。肺胞腔における吸入用量の画分は、約20%であると計算された(図4)。

【0277】

人体測定及び生理的パラメーター(例えば、臓器の体積、血流、GFR)の標準的な多様性を有する小児PK-Sim集団を使用した。それぞれ1000人ずつで、男女均等比の8つの年齢群の仮想白人集団を作製して、集団の薬物動態を推定した。年齢群は: 0~1週、1~2週、2~4週、1~3カ月、3~6カ月、6~9カ月、9~12カ月、12~24カ月、2~3歳、3~4歳、4~5歳、及び5~6歳(早産で生まれた子供を除外する)であった。

【0278】

集団シミュレーションにおいて3つの更なるパラメーターを変化させた: 肺胞透過性、肺胞腔に沈着した用量画分、及び更なる血漿クリアランス過程。3つ全てのパラメーターに関して、対数正規分布を仮定した。肺胞透過性(幾何平均: $1.35\text{E-}8\text{cm/分}$)に関して、幾何標準偏差1.4を、第1のヒト成人臨床試験(Table B-1: 試験5)(表7)に対する個々のフィットから推定して使用した。肺胞腔における用量は、肺胞目標濃度に達するように選択した。全ての年齢群に関して肺胞腔における用量画分に関して幾何標準偏差2を使用した。1日1回5日間の吸入(吸入時間: 吸入毎に3分間)をシミュレーションの適用スキーマとして使用した。複数回用量スキームの各投与に関して、肺胞腔における用量画分の値を、他の投与の値から独立して分布から得た。更なる血漿クリアランスに関して、幾何標準偏差1.1を成人集団に使用した(幾何平均: 0.0142分^{-1})。

【0279】

モデリング目的に従って、全ての投与間隔で、個体の95%に関して少なくとも $9\text{ }\mu\text{g/mL}$ (100^*IC_{90})を達成する用量を選択した。用量に関して、PBPKモデルにおいて全身並びに局所PKを推進する主な重要なパラメーターは、肺胞吸収腔における薬物量であるように思われた。PBPKシミュレーションに基づいて、全ての年齢群に関して肺胞腔における体重 1kg 当たり 0.024mg の量(沈着用量)を使用して $9\text{ }\mu\text{g/mL}$ の目標濃度が達成された。肺胞表面積及び肺胞気量は、体重によってスケーリングされることから、肺胞濃度は、体重標準化用量に関して実質的に年齢依存的ではなかった。このため、体重 1kg 当たり 0.024mg の肺胞吸収腔における沈着用量を、血漿中濃度に関する全てのシミュレーションに使用した(図22)。

【0280】

(実施例8)

成人PBPKモデルの疾患を有する子供へのスケーリング

次に、疾患に関連する潜在的な生理学的差異を説明するために、成人PBPKモデルを、疾患を有する子供にスケーリングした。RSV感染の子供と健康な子供とを直接比較する文献データはほとんどないことから、モデル開発過程において適応/フィットさせた重要なパラメーター(肺胞腔に沈着した画分、クリアランス、肺胞透過性、肺胞腔の厚さ、及び流体力学的薬物半径)に関して感度分析を行った。利用可能な非臨床結果に基づき、利用可能な文献(Kilaniら、2004、Chest 126: 186~91頁; Singhら、2007、Am. J. Physiol. L

10

20

30

40

50

ung Cell Mol. Physiol. 293: L436~45頁; Domachowske及びRosenberg 1999、Clin. Microbiol. Rev. 12: 298~309頁; Johnsonら、2007、Mod. Pathol. 20: 108~19頁)、及びモデルに既に組み込まれたPK指標に関する多様性の予測を考慮に入れると、RSV感染を説明するために、肺胞腔からのクリアランス及び/又は吸収の特異的变化は必要なかった。

【0281】

肺胞腔に沈着した画分に関して、RSV感染を反映する変化した呼吸パターンを考慮するMPPD計算を使用して、RSV感染の子供における肺胞腔に沈着した吸入用量の画分を推定した。第1のシナリオでは、Totapallyら、2002(Crit. Care 6: 160~5頁)によって観察された1歳未満の子供の呼吸回数及び1回換気量を使用した。第2のシナリオでは、細気管支炎の効果を模倣するために、Mundtら、2012(ISRN Pediatr. 2012、721295頁)によって使用された呼吸回数及び1回換気量の同じ相対的变化を使用して、それぞれのMPPDデフォルト値を採用した。呼吸窮迫パターンによってMPPDツールにより予想される肺胞腔に沈着した画分は、特にMundtら、2012(図5)から採用された呼吸パターンを使用するシナリオでは、正常な呼吸の結果と比較して低かった。

【0282】

シミュレーションにより、RSV感染乳児及び幼児(月齢5~24カ月の年齢範囲)を代表する呼吸パターンによって、配列番号71の吸入量の約10%が下気道に沈着することが示された(年齢及び粒径に応じて7~13%)。これに対応して、1回投与後に下気道において0.024mg/kgの沈着用量に達するためには、0.24mg/kgの用量(吸入用量)を吸入する必要がある。

【0283】

(実施例9)

若年の子供におけるRSV下気道感染の治療のための用量決定

振動メッシュ式ネブライザーは、配列番号71等の免疫グロブリン単一可変ドメインを噴霧するために最も適切な技術であると考えられている(国際公開第2011/098552号)。更に記載される試験において(実施例11を参照されたい)、配列番号71は、小児での使用のために適応させたFOXネブライザー(Activaero社、現在のVectura社、Germany)を使用して投与する。ネブライザーは常に、2L/分の更なる空気又はO₂の流れと共に使用され、小児用フェイスマスクを備える(2種類の大きさ)。

【0284】

Sophia解剖学的乳児鼻咽頭(SAINT)モデルを使用して、上記のネブライザーによる配列番号71の投与のために特にデータを作成した(Janssensら、2001)。SAINTモデルは、光造形技術を使用して作製され、若年の子供におけるエアロゾル沈着を試験するために使用される、月齢9カ月の子供の上気道の解剖学的に正確な鋳型/表示である。健康な及びRSV感染の乳児及び幼児を代表する呼吸パターンを含む臨床の状況で使用される投与条件を厳密に模倣した。結果から、ネブライザーに充填された総用量から約20%が吸入されると予想されることが示された。したがって、吸入用量0.24mg/kgを確保するためにネブライザーに充填される用量は、1.2mg/kg(名目用量)である。

【0285】

他の吸入製品と一致して、配列番号71の投与用量を、(狭い)体重区分(6つの用量群、1又は2kgの段階的增加、Table B-2(表8)及びTable B-6(表12)を参照されたい)に関して標準化する。これは、安全域による裏付けがあり、同様に(0.01mL)の目盛付き1mLシリンジによってネブライザーに適切な容量を正確に測定して充填する実現可能性も考慮に入れる。体重区分の適切性もまた、更なるPBPKシミュレーションを介して確認した。

【0286】

デバイスの仕様を考慮に入れて、体重に基づく区分に対応する投与時間は、45秒(5.0~6.0kgの対象)~120秒(14.1~16.0kgの対象)まで変動する。約7µL(充填容量とは無関係に)の残留容量がネブライザーのリザーバーに残っているが、これは、Table B-2(表8)に記載の充填容量において考慮されている。

【0287】

デバイスの仕様を考慮に入れて、体重に基づく区分に対応する投与時間は、30秒(3.5~

3.9kgの対象)～150秒(16.1～19.0kgの対象)まで変動する。約7 μ L(充填容量とは無関係に)の残留容量がネブライザーのリザーバーに残っているが、これは、Table B-6(表8)に記載の充填容量において考慮されている。

【0288】

(実施例10)

集団のシミュレーション

実施例9に記載されるように、6つの用量群に関して集団のシミュレーションを行って、若年の子供(月齢5カ月から24カ月の範囲)における血漿中及びALF中濃度を推定した。

【0289】

異なる投与スキームに関してシミュレーションを実施した：

- 1日1回3回投与(0、24、48時間)；
- 1日1回2回投与(0及び24時間)；
- 単回投与(0時間)

【0290】

0、24、48時間の投与スキームの血漿中及びALF中濃度時間プロファイルを図23及び図24にそれぞれ示す。最初の吸入後72時間(3×24時間)の間に、肺胞濃度は個体の95%において14 μ g/mLより高かった。これは、沈着される画分の幾何標準偏差の低減及び6つの用量群での投与(群内での体重範囲により、肺胞腔における用量は、0.024mg/kgよりわずかに大きくなり得る)のために、これまでのシミュレーション(9 μ g/mL)より高い。最後の投与から34時間後に限って、5パーセンタイル濃度は9 μ g/mLの目標濃度より下に低下する。

【0291】

0～24時間投与スキームに関する血漿中及びALF中濃度時間プロファイルをそれぞれ、図25及び図26に示す。0～24時間の投与スキームに関して、総集団に関する肺胞濃度の5パーセンタイルが57時間後に9 μ g/mLより下に低下する。これは、初回投与後72時間の間の時間の20%で9 μ g/mLの目標濃度より低い。総集団の肺胞濃度の中央値は、91時間後に9 μ g/mLより下に低下する。

【0292】

単回用量投与スキームの血漿中及びALF中濃度時間プロファイルをそれぞれ、図27及び図28に示す。単回投与に関して、総集団の肺胞濃度の5パーセンタイルが、31時間後に9 μ g/mLより下に低下する。これは初回投与後72時間の間の時間の57%で9 μ g/mLの目標濃度より低い。総集団の肺胞濃度の中央値は、59時間後に9 μ g/mLより下に低下する。これは、これは初回投与後72時間の間の時間の18%で9 μ g/mLの目標濃度より低い。

【0293】

(実施例11)

乳児及び幼児におけるRSV感染の治療

上記のように、子供において、肺胞吸収腔における配列番号71の量(体重1kg当たり0.024mg)は、目標肺胞腔における配列番号71の既定の濃度(9 μ g/mL)に達すると予測された。これらの予測は、いくつかの試験及びいくつかの種から観察されたデータを組み入れるバリデートされたモデルによるPBPKモデリングアプローチを使用してなされた。

【0294】

RSV下気道感染のために入院中で、RSV下気道感染を有すると診断された乳児及び幼児の肺に投与される配列番号71のこの投与レジメンの安全性及び認容性を評価する試験を実施する。更に、配列番号71の臨床効果、薬物動態(PK)、薬物動力学(PD)、及び免疫原性に及ぼす配列番号71のこの投与レジメンの効果を評価する。

【0295】

11.1試験計画

標準治療に加えて、吸入投与される配列番号71の安全性、認容性、及び臨床活性を評価するために、呼吸合胞体ウイルスの下気道感染のために入院中で、呼吸合胞体ウイルスの下気道感染を有すると診断されているがそれ以外は健康である乳児及び幼児(月齢5カ月から24カ月未満、又は月齢3カ月から24カ月未満)において多施設試験を実施する。

【0296】

試験は、2つのパートからなる：オープンラベルの導入パートの後に二重盲検プラセボ対照パート。適用可能な欧州医薬品庁ヒト用医薬品委員会(Committee for Medicinal Products for Human Use)(CHMP)のガイドラインに沿って、独立したデータモニタリング委員会(DMC)が指定される。

【0297】

- 試験のオープンラベル導入パート(群I、N=5)：

最初の対象5人をオープンラベル導入パートに含めて、活性試験薬(配列番号71)のみを投与する。試験のこのパートから利用可能なデータをDMCが審査した後、試験の二重盲検プラセボ対照パートを開始する。

- 試験の二重盲検プラセボ対照パート(群II、N=30)：

DMCによって承認推奨がなされた後、対象30人を次に試験の二重盲検プラセボ対照パートに登録する。対象を、配列番号71又はプラセボのいずれかが投与されるように2:1の比率(配列番号71にN=20、プラセボにN=10)で無作為に割付する。

【0298】

試験薬の投与の約15分前に、短時間作用型の β 2-アゴニストであるサルブタモールの吸入用量を投与する。2回の噴霧($2 \times 100 \mu\text{g}$)を低用量噴霧式吸入器(スパーサー付き)によって与える。

【0299】

標準治療に加えて、配列番号71を1日1回、3日間連続して吸入投与する。配列番号71又はマッチするプラセボを、専用の振動メッシュ式ネブライザー(小児での使用のために適応させたFOXデバイス)を使用して投与する。ネブライザーに充填される適切な容量(体重の区分毎に)及び適切な噴霧時間の概要をTable B-2(表8)に示す。配列番号71は、配合緩衝液($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 10mM、NaCl 130mM、pH 7.0)中に配列番号71の50mg/mL濃度で存在する。

【0300】

ネブライザーを、2L/分の固定流の空気、又は必要に応じて O_2 (対象の O_2 の必要性に基づいて医師が決定する)と共に使用する。

【0301】

各対象の計画試験期間はおおよそ15日間であり(スクリーニングを含む)、急性感染期(及び配列番号71の試験薬曝露及び半減期を考慮する)に重点を置く。各対象に関する試験薬の最長処置期間は3日間である。

【0302】

対象を試験薬の投与前24時間以内に適格性に関してスクリーニングする。対象は、試験薬を1日1回、3日間連続して投与される。試験薬の治療期間後にまだ退院していない対象に関しては、追加の投与後診察を予定する。退院前に退院時診察を計画する(必要に応じて)。1回の外来での再診を予定する(14日目)。

【0303】

11.2 主な安全性評価

安全性を、治療下で発現した有害事象(TEAE)、臨床検査結果(臨床化学及び血液学)、身体検査結果(肺の聴診を含む)、並びに心拍数及び肺毛細管 O_2 飽和(SpO_2)によって他者が評価する。

【0304】

11.3 主な臨床活性評価

臨床活性を、食事、呼吸数(1分間)、喘鳴(呼気/吸気の際)、湿性ラ音/捻髪ラ音(肺聴診時)、昼間の咳、夜間の咳(による睡眠障害)、呼吸筋陥没呼吸(鎖骨上、肋間、及び肋骨下);一般外貌(活動度、苛立ち、環境に対する関心、及び反応性)によって他者が評価する。試験の際に測定された臨床活性パラメーターに基づいて、臨床反応、呼吸窮迫評価尺度(RDAI)スコア、及び呼吸評価変化スコア(RACS)等の更なるスコアを計算する。

【0305】

11.3 薬物動態探索研究

配列番号71の全身濃度を、局所(肺)濃度を評価する代用として血清中で評価する。

【0306】

11.4 薬物動力学探索研究

探索的PDパラメーターとして、鼻スワブから得られた試料中のウイルス量を評価する。他の探索バイオマーカー(血清中)には、インターロイキン-8(IL-8)及びKrebs von den Lungen(KL-6)が挙げられる。

【0307】

11.5 免疫原性探索研究

可能性がある免疫原性(ADA)も同様に全身で評価する(血清)。

【0308】

(実施例12)

新生仔ヒツジRSV感染モデルにおける配列番号71Nanobodyのインビボ有効性

新生仔ヒツジのRSV感染モデルを使用して、吸入による送達後の配列番号71のインビボ有効性を評価した。全体として、3つの独立した有効性試験を実施した。簡単に説明すると、2~5日齢の初乳を与えない仔ヒツジに、0日目にRSVをPARI LC SPRINT(商標)ネブライザー(PARI Respiratory Equipment, Inc.社、Lancaster、PA、USA)を使用して噴霧によって感染させた。ウイルス含有培地又は対照培地の3つの2mLアリコートを各動物に4L/分で16 PSI(Philips Respironics Air Compressor社、Andover、MA、USA)で23分間投与し、各仔ヒツジに全量約6mLを吸入させた。各仔ヒツジに関して同一のウイルス接種用量(hRSVメンフィス37株を20質量/体積%のスクロースを含む培地中で 1.27×10^7 FFU/mL)を使用した。配列番号71の処置を、感染の1日後(1つの試験)又は3日後(2つの試験)に開始して、感染の5日後まで毎日繰り返した。投与は、振動メッシュ式AERONEB(登録商標)Solo System(Aerogen Ltd社、Galway、Ireland)を使用して噴霧によって行った。全体で3つの用量レベルを試験して、これらは配列番号71の11mg(低用量)、36mg(中用量)、及び110mg(高用量)の送達用量に対応した。

【0309】

仔ヒツジを、一般的健康問題及び呼吸数に関して毎日モニターし、心拍数、体温、血中酸素飽和、体重、喘鳴、及び呼吸努力を記録した。ウイルス病変、肺のウイルス力価、ウイルス抗原、及び肺の組織病理学の定量のために、呼吸組織及び気管支肺胞洗浄液(BAL)を接種後6日目に収集した。全ての評価をTable B-3(表9)及びTable B-4(表10)に記載されるように実施した。

【0310】

RSV感染ビヒクル処置仔ヒツジにおいて、ウイルスRNA及び培養可能なウイルスはいずれも一貫して、実施した全ての試験に関して6日目に全ての肺葉に存在した(Table B-5)(表11)。更に、肉眼での肺の検査により、全ての肺葉の約12~40%に罹患する広範なウイルス病変が明らかとなり、気管支/肺胞におけるウイルス抗原の発現及び組織学的浸潤影と一致した(図29及び図30)。感染後3~4日目に、感染の最初の臨床兆候が検出され、これには、呼吸数の増加及び呼吸努力、喘鳴、不快感が挙げられるが、これらの症状は、試験毎に多様であった。

【0311】

配列番号71で処置した群において、3つの異なる用量を仔ヒツジに投与した。各用量レベルは、処置開始日にかかわらず、ウイルス力価(Table B-5)(表11)、ウイルス抗原発現(図29)、肉眼的ウイルス病変、及び組織病理学スコア(図30)を強く低減させた。その上、臨床兆候は異なるように現れるが、複合臨床スコアに及ぼす陽性効果は、試験した全ての用量に関して観察された(図31)。

【0312】

併せた全ての動物の肺上皮被覆液中の配列番号71の濃度の平均値は、全ての用量に関して約 $9 \mu\text{g/mL}$ に近いが、又はそれより上であった(図32)。この $9 \mu\text{g/mL}$ は、RSV-Bプロトタイプ株(18537)を使用するインビトロ中和アッセイから $\text{IC}_{50} \times 100$ として定義された。メン

10

20

30

40

50

フィス37株によるデータから、これがRSV-B 185371より約6倍高い感受性を有することが示された。

【0313】

結論すると、配列番号71の処置は、新生仔ヒツジにおいて3又は5日間毎日送達した場合に、RSV感染誘導変化に対して有益な効果を発揮した。用量依存性は明白ではなかったが、これは、標的組織において達成された濃度(ELF)が、全ての用量で完全な有効性を伝え、と予想される標的濃度又はそれより上であったことを考慮すると、予想された。

【0314】

表

【0315】

【表 3 A】

Table A-1: 抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインのアミノ酸配列(FR及びCDR配列を示す)

Nanobody	配列番号	FR1	CDR 1	配列番号	FR2	配列番号	CDR 2	配列番号	FR3	配列番号	CDR 3	配列番号	FR4	配列番号
NC41	1	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	47	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLAPDDTAVYYCGA	51	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	62
NC41 E1D	2	DVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	47	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLAPDDTAVYYCGA	51	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	62
NC41v01	3	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLAPDDTAVYYCGA	52	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v02	4	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLAPDDTAVYYCGA	53	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v03	5	SLRISCRASGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	54	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v03 E1D	6	DVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	54	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v04	7	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	55	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v05	8	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	53	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v06	9	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	50	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	56	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v06 E1D	10	DVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	50	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	56	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v07	11	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	57	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v08	12	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	56	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v09	13	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	55	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v10	14	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	51	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v11	15	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	51	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v12	16	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	47	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	51	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63
NC41v13	17	EVQLVESGGGLVQAGGSL	NYVLG	46	WFRQAPG KREFVA	48	AINNRGDITI GPPNVEG	49	RFTISDRNAKNTGLQ MNSLRPDDTAVYYCGA	58	GTPLNFGAYI YDWSYDY	61	WGRTGTQVTSS	63

【 0 3 1 6 】

10

20

30

40

【表 3 B】

Table A-1: 続き

Nanobody (登録商標)	配列 番号	FR1	配列 番号	CDR 1	配列 番号	FR2	配列 番号	CDR 2	配列 番号	FR3	配列 番号	CDR 3	配列 番号	FR4	配列 番号
NC41v14	18	EVQLVESGGGLVQPGG	37	NYVLG	46	WFRQAPG	48	AINWRGDITI	49	RTTISRDNKNTLYLQ	53	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v15	19	SLRLSCAASGGSL	43	NYVLG	46	WFRQAPG	48	GPNNVEG	49	MNSLAPEDTAVYYCGA	52	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v17	20	EVQLVESGGGLVQPGG	37	NYVLG	46	WFRQAPG	48	GPNNVEG	49	MNSLAPEDTAVYYCGA	54	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v17 E1D	21	DVQLVESGGGLVQPGG	41	NYVLG	46	WFRQAPG	48	AINWRGDITI	49	RTTISRDNKNTLYLQ	54	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v18	22	EVQLVESGGGLVQPGG	37	NYVLG	46	WFRQAPG	48	AINWRDDITI	50	MNSLAPEDTAVYYCGA	54	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v18 E1D	23	DVQLVESGGGLVQPGG	41	NYVLG	46	WFRQAPG	48	GPNNVEG	49	RTTISRDNKNTLYLQ	54	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v19	24	EVQLVESGGGLVQPGG	44	NYVLG	46	WFRQAPG	47	GPNNVEG	49	MNSLAPDDTAVYYCGA	51	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v20	25	EVQLVESGGGLVQPGG	44	NYVLG	46	WFRQAPG	47	AINWRGDITI	49	RTTISRDNKNTLYLQ	59	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v21	26	EVQLVESGGGLVQPGG	44	NYVLG	46	WFRQAPG	47	GPNNVEG	49	MNSLAPEDTAVYYCGA	58	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v21 E1D	27	SLRLSCAASGGSL	45	NYVLG	46	WFRQAPG	47	GPNNVEG	49	RTTISRDNKNTLYLQ	58	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v22	28	EVQLVESGGGLVQPGG	44	NYVLG	46	WFRQAPG	47	GPNNVEG	49	MNSLAPEDTAVYYCGA	60	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v22 E1D	29	DVQLVESGGGLVQPGG	45	NYVLG	46	WFRQAPG	47	GPNNVEG	49	MNSLAPEDTAVYYCGA	60	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	63
NC41v23	30	EVQLVESGGGLVQPGG	44	NYVLG	46	WFRQAPG	47	GPNNVEG	49	RTTISRDNKNTLYLQ	51	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	64
NC41v24	31	EVQLVESGGGLVQPGG	44	NYVLG	46	WFRQAPG	47	GPNNVEG	49	MNSLAPDDTAVYYCGA	59	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	64
NC41v25	32	SLRLSCAASGGSL	44	NYVLG	46	WFRQAPG	47	GPNNVEG	49	RTTISRDNKNTLYLQ	58	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	64
NC41v26	33	EVQLVESGGGLVQPGG	44	NYVLG	46	WFRQAPG	47	GPNNVEG	49	MNSLAPEDTAVYYCGA	60	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	64
NC41v26 E1D	34	DVQLVESGGGLVQPGG	45	NYVLG	46	WFRQAPG	47	GPNNVEG	49	RTTISRDNKNTLYLQ	60	GTPLNPGAYI	61	WGQGTILVTYSS	64

【 0 3 1 7 】

10

20

30

40

【表 4 A】

Table A-2: 抗hRSV免疫グロブリン単一可変ドメインのアミノ酸配列

Nanobody (登録商標)	配列番号	配列
NC41	1	EVQLVESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSS
NC41 E1D	2	DVQLVESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSS
NC41v01	3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v02	4	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v03	5	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v03 E1D	6	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGT PLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v04	7	EVQLLESGGGLVQPGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v05	8	EVQLLESGGGLVQPGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v06	9	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRDDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v06 E1D	10	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA INWRDDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGT PLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v07	11	EVQLLESGGGLVQPGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v08	12	EVQLLESGGGLVQPGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v09	13	EVQLLESGGGLVQPGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v10	14	EVQLLESGGGLVQPGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v11	15	EVQLLESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v12	16	EVQLLESGGGLVQPGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS
NC41v13	17	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIIDWSYDYWGQGLTVTVSS

【 0 3 1 8 】

【表 4 B】

Table A-2: 続き

Nanobody (登録商標)	配列番号	配列
NC41v14	18	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v15	19	EVQLLESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v17	20	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v17 E1D	21	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v18	22	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRDDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v18 E1D	23	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRDDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGT PLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v19	24	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v20	25	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLRPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v21	26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v21 E1D	27	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v22	28	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v22 E1D	29	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLVTVSS
NC41v23	30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS
NC41v24	31	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLRPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS
NC41v25	32	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS
NC41v26	33	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS
NC41v26 E1D	34	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS

10

20

30

40

【表 5 A】

Table A-3: 本発明の好ましいポリペプチドのアミノ酸配列

Nanobody (登録商標)	配列番号	配列
RSV407	65	EVQLVESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAI NWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAIIINWRGDTIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYD YWGRGTQVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAIIINWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSS
RSV408	66	EVQLVESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAI NWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSSAAAEVQLVESGGGLVQAGGSLISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAIIINWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSS AAAEVQLVESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFA AIIINWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAG TPLNPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSS
RSV409	67	EVQLVESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAI NWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSL SISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAIIINWRGDTIGPPNVEGRFT ISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWGRGT QVTVSSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGW FRQAPGKEREFAAIIINWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLA PDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSS
RSV410	68	EVQLVESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAI NWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAIIINWRGDTIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSY DYWGRGTQVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLISCAA SGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAIIINWRGDTIGPPNVE GRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYW GRGTQVTVSS
RSV411	69	EVQLVESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAI NWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAIIINWRGDTIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYD YWGRGTQVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGLTLDYYALGWFRQAPGKEREGVSCISSDHSTTYTDSVKGRFTISWDNA KNTLYLQMNSLKPGLTAVYYCAADPALGCYSGSYYPRIYDWGQGTQVTVSS
RSV413	70	EVQLVESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAI NWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGLTLDYYALGWFRQAPKEREVSCISSDHSTTYTDS VKGRFTISWDNAKNTLYLQMNSLKPGLTAVYYCAADPALGCYSGSYYPRIY DWGQGTQVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAIIINWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSS

10

20

30

【0320】

【表 5 B】

Table A-3: 続き

RSV434	71	DVQLVESGGGLVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAI NWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNKNTGLYQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAINWRGDTIGPPN VEGRFTISRDNKNTGLYQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYD YWGRGTQVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFAAINWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGLYQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWGRGTQVTVSS
RSV414 V03	72	EVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAI NWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDTIGPPN VEGRFTISRDNKNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYD YWQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDTIGPPNVEGRFTISRDN KNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWQGTTLVTVSS
RSV443 V3D	73	DVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAI NWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDTIGPPN VEGRFTISRDNKNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYD YWQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDTIGPPNVEGRFTISRDN KNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWQGTTLVTVSS
RSV426 V06	74	EVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAI NWRDDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRDDITIGPPN VEGRFTISRDNKNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYD YWQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRDDITIGPPNVEGRFTISRDN KNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWQGTTLVTVSS
RSV444 V6D	75	DVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAI NWRDDITIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRDDITIGPPN VEGRFTISRDNKNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYD YWQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRDDITIGPPNVEGRFTISRDN KNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWQGTTLVTVSS
RSV442 V17	76	EVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAI NWRGDTIGPPNVEGRFTISRDNKNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDTIGPPN VEGRFTISRDNKNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYD YWQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDTIGPPNVEGRFTISRDN KNTLYQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWQGTTLVTVSS

10

20

30

【表 5 C】

Table A-3: 続き

RSV435 V17D	77	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN KNTLYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSS
RSV427 V18	78	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAI NWRDDITIGPPNVEGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRDDITIGPPN VEGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRDDITIGPPNVEGRFTISRDN KNTLYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSS
RSV445 V18D	79	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAI NWRDDITIGPPNVEGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRDDITIGPPN VEGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRDDITIGPPNVEGRFTISRDN KNTLYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSS
RSV436 V20	80	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN AKNTGYLQMN SLRPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDN AKNTGYLQMN SLRPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN KNTGYLQMN SLRPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSS
RSV437 V20D	81	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN AKNTGYLQMN SLRPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDN AKNTGYLQMN SLRPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN KNTGYLQMN SLRPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSS
RSV438 V22	82	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN AKNTGYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDN AKNTGYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN KNTGYLQMN SLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGLTVTVSS

10

20

30

【表 5 D】

Table A-3: 続き

RSV439 V26	83	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWGRGTLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYD YWGRGTLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN KNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWGRGTLTVTVSS
RSV440 V26D	84	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWGRGTLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYD YWGRGTLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN KNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWGRGTLTVTVSS
RSV441 V22D	85	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIIDWSYDYWQGTLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYD YWQGTLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN KNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIIDWSYDYWQGTLTVTVSS

10

20

【 0 3 2 3 】

【表 6】

Table A-4: リンカーのアミノ酸配列

リンカー	配列番号	配列
5GS	86	GGGGS
7GS	87	SGGSGGS
GS8	88	GGGSGGGS
9GS	89	GGGSGGGS
10GS	90	GGGSGGGS
15GS	91	GGGSGGGS
18GS	92	GGGSGGGS
20GS	93	GGGSGGGS
25GS	94	GGGSGGGS
30GS	95	GGGSGGGS
35GS	96	GGGSGGGS
G1 ヒンジ	97	EPKSCDKTHTCPPCP
9GS-G1 ヒンジ	98	GGGSGGGSEPKSCDKTHTCPPCP
ラマの上部の長いヒンジ 領域	99	EPKTPKPQAAA
G3 ヒンジ	100	ELKTPPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPP PCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP
Ala	101	AAA

【 0 3 2 4 】

10

20

30

【表 7】

Table B-1: PBPK モデリングで使用した前臨床及び臨床試験

試験の型	種	投与	用量
試験 1: 初回 PK 試験	ラット	IV	5mg/kg の単回投与
		肺内 鼻腔内吸入 吸入時間を変化させる エアロゾル濃度及び粒 径分布は固定する	10～250mg/kg の単回投与
試験 2: 毒性試験	ラット	IV	5～50mg/kg の 1 日 1 回 14 日 間投与
試験 3: 心血管安全性薬 理学試験	ビーグル犬	IV	3mg/kg、10mg/kg、及び 30mg/kg の漸増用量
試験 4: 毒性試験	ラット	肺内 鼻腔内吸入 吸入時間を固定する エアロゾル濃度及び粒 径分布を変化させる	15mg/kg、50mg/kg、150mg/kg の複数回投与
試験 5:臨床試験	ヒト	肺内 ボース吸入(エアロゾ ルは全身吸入時には存 在しない) 逆呼吸(口から吸入して 鼻から呼気)	7、21、70、140、210mg の単 回投与並びに 70 mg 及び 105 mg の 1 日 2 回投与
試験 6:臨床試験	ヒト	IV 経口吸入	0.3mg/kg の単回投与、5 分間 の注入 200mg の単回及び複数回投与

【 0 3 2 5 】

Table B-2:本発明のポリペプチド(配列番号 71 など)の肺内投与の用量選択のための体重区分

	体重区分	充填容量	充填用量	噴霧化時間 ^a	名目用量 (mg/kg)	吸入用量 (mg/kg)	沈着用量 ^b (mg/kg)
1kg 段階的増加	5.0 - 6.0 kg	0.150 mL	7.5 mg	約 45 秒	1.50-1.25	0.30-0.25	0.030-0.025
	6.1 - 8.0 kg	0.200 mL	10.0 mg	約 60 秒	1.64 ^c -1.25	0.33-0.25	0.033-0.025
	8.1 - 10.0 kg	0.250 mL	12.5 mg	約 75 秒	1.54-1.25	0.31-0.25	0.031-0.025
2kg 段階的増加	10.1 - 12.0 kg	0.300 mL	15.0 mg	約 90 秒	1.49-1.25	0.30-0.25	0.030-0.025
	12.1 - 14.0 kg	0.350 mL	17.5 mg	約 105 秒	1.45-1.25	0.29-0.25	0.029-0.025
	14.1 - 16.0 kg	0.400 mL	20.0 mg	約 120 秒	1.42-1.25	0.28-0.25	0.028-0.025

^a デバイスの出力速度約 200 μL/分に基づく

^b 目標濃度(9 μg/mL)に達するために必要な沈着用量は 0.024 mg/kg である。

^c 安全域の計算は、最高名目用量(1.64 mg/kg)に基づいた。

【表 9 A】

Table B-3:新生仔ヒツジの試験において測定されたエンドポイント

エンドポイント	方法
体重	各動物の体重を電子天秤(DP-6200、Yamato Corp.社)を使用して毎日測定し、個々の仔ヒツジのデータシートに記録した。
心拍数及び呼吸数	心拍数及び呼吸数を、聴診器による聴診によって、及び胸郭に指をあてて触診し、胸郭の運動を肉眼で検査することにより、毎日測定した。
体温	電子体温計によって直腸温を毎日測定した。
喘鳴、呼吸努力、及び不快感	呼吸窮迫又は不快感を、聴診又は肉眼での検査によって各仔ヒツジに関して毎日評価した。
血液の酸素飽和	動脈血の酸素飽和レベルを、パルスオキシメーター(PalmSAT 2500A VET、Nonin Medical, Inc 社、Plymouth, MN、USA)を使用して毎日評価した。オキシメーターのプローブを、肛門に最も近い尾根部(本来無毛の部位)に手で固定した。次に大腿動脈を触診して、脈拍を測定し、オキシメーターに表示される脈拍と比較した。SpO2 値は、2つの脈拍が互いの20%以内である場合に限って記録した。
肉眼的ウイルス病変	それぞれの個々の肺葉に関して肺実質罹患の(肉眼的病変)パーセントを採点した。採点される全肺葉組織に関連する罹患した特異的肺葉組織のパーセントは、治験責任医師の判断に基づいて推定した。
浸潤影組織学スコア	肺罹患のパーセントを評価することによって、組織学スコアを決定した。肺胞の罹患は、好中球、リンパ球、形質細胞の肺胞中隔浸潤、及び好中球、マクロファージ、及び少量の細胞破片の管腔内蓄積を伴うⅡ型細胞肥大による、肺胞管腔拡張の低減によって定義された。スコアは複合病変尺度に基づいて、観察されたパーセント範囲を単純な整数に変換することによって定義した: 0%罹患=0、1~9%罹患=1、10~39%罹患=2、40~69%罹患=3、70~100%罹患=4。
免疫組織化学	肺における hRSV 抗原の検出、位置特定、及び定量のための免疫組織化学を、既に記述されている方法[1,2]と類似であるが、以下の変更を加えた方法を使用して、4つの肺葉(免疫組織化学及び組織病理学に関して2つの肺小片/非 BALF 洗浄肺葉)からのパラフィン包埋組織について行った:プロナーゼ E による抗原賦活化の代わりに、加熱緩衝液抗原賦活化を TRIS-EDTA-0.05% Tween 20、pH 9.0 中で実施した。次に、切片を TBS-0.05% Tween 20、pH 7.4 中の 3%BSA によって 15 分間ブロックした後、TBS-Tween 中での 20%正常ブタ血清によって 15 分間さらにブロックした。一次ポリクローナルヤギ抗 hRSV 抗体(EMD/Millipore/Chemicon 社、Billerica、MA)を 1:500 希釈で 22°C で 1.5 時間適用した。二次検出は、ビオチニル化ウサギ抗ヤギ二次抗体(Kirkegaard-Perry Labs 社、Gaithersburg、MD)を 45 分間使用した後、ストレプトアビジンコンジュゲート HRP を 30 分間使用することによって実施した。Nova Red (Vector 社、Burlingame、CA)を 90 秒間使用して、発色を行った。スライドガラス(2つの肺試料)を以下のように評価して採点した:各スライドガラスに関して独自の 10 倍視野 20 か所を、抗原染色に関して評価して、視野当たりの罹患気管支/細気管支及び肺胞の数を計数した。

10

20

30

40

【表 9 B】

病巣形成単位アッセイ	連続希釈した BALF 試料を、12-ウェル培養プレート(Fisher Scientific 社、Hanover、IL)において 10%熱不活化ウシ胎児血清(FBS) (Atlanta Biologicals 社、Atlanta、GA)及び 50µg/mL 硫酸カナマイシン (Invitrogen 社)を補充した DMEM 培地(Mediatech, Inc.社、Manassas、VA)中で 70%コンフルエンスまで増殖させた HEP-2 細胞に適用した。各試料を未希釈及び 4 つの更なる連続希釈液 1:10、1:100、1:1,000、及び 1:10,000 によって 2 回の反復実験により分析した。37℃、5% CO ₂ で 48 時間インキュベートした後、細胞を冷 60%アセトン/40%メタノール溶液で 1 分間固定した。一次抗体(hRSV[全ての抗原]に対するヤギポリクローナル Ab(Millipore 社、Billerica、MA)の終夜インキュベーション後に洗浄して、二次抗体(AlexaFluor 488 をコンジュゲートしたウサギ抗ヤギ Fab'、Invitrogen 社)と共に 30 分間インキュベートした。プレートをすすぎ、蛍光倒立顕微鏡 (Olympus 社 CKX41、Center Valley、PA)において FITC/GFP フィルターを使用して蛍光を発する感染病巣の存在に関して調べた。蛍光を発する細胞 5 個以上を 1 つの病巣事象として計数した。	10
qPCR	全ての動物に関して鼻腔(鼻洗浄液)及び肺(右肺後葉の BALF、及びプールした組織試料からの肺ホモジネート)におけるウイルス RNA を、逆転写定量的ポリメラーゼ連鎖反応(RT-qPCR)を使用して定量した。BALF、鼻洗浄液、及び肺スラリーからの RNA 単離を製造元 (Invitrogen 社)の説明書に従って実施し、その後 DNase 処理(Ambion 社、TURBO DNase、Austin、TX)を実施した。260 及び 280 nm での吸光度の読みを測定して RNA 濃度及び純度を決定した。RT-qPCR は、GeneAmp 5700 Sequence Detection System (Applied Biosystems 社、Carlsbad、CA)において、全てのセットアップ計算に関して PREXCEL-Q を利用して、One-Step Fast qRT-PCR Kit マスターミクス(Quanta、BioScience 社、Gaithersburg、MD)を使用して行った。hRSV M37 ノクレオタンパク質に関するプライマー及びプローブは、hRSV 受託番号 M74568 に基づいて ABI Primer Express 2.0 によって設計した。	20
上皮被覆液中の配列番号 71	定量的 ELISA 方法を、仔ヒツジ BALF 中の配列番号 71 の定量のために使用した。剖検時の上皮被覆液中の配列番号 71 の濃度を、BALF 中で測定された配列番号 71 濃度に基づいて計算し、その後尿素方法[3]によって標準化した。	30
[1] Olivier, A.ら、Human respiratory syncytial virus A2 strain replicates and induces innate immune responses by respiratory epithelia of neonatal lambs. International journal of experimental pathology、2009. 90(4): 431~8 頁 [2] Olivier, A.K.ら、Exogenous administration of vascular endothelial growth factor prior to human respiratory syncytial virus a2 infection reduces pulmonary pathology in neonatal lambs and alters epithelial innate immune responses. Experimental lung research、2011. 37(3): 131~43 頁. [3] Rennard, S.I.ら、Estimation of volume of epithelial lining fluid recovered by lavage using urea as marker of dilution. Journal of applied physiology、1986. 60(2): 532~8 頁.		40

【表 10】

Table B-4:臨床複合採点基準

パラメータ	スコア	
	0	1
体重	6日目での%増加が0日目の20%より大きい	6日目での%増加が0日目の20%以下
血液酸素飽和	初回投与後の全ての日での%減少が0日目の10%以下	初回投与後の任意の日での%減少が0日目の10%より大きい
体温	初回投与後の全ての日の%増加が0日目の10%以下	初回投与後の任意の日での%増加が0日目の10%より大きい
呼吸数	初回投与後の全ての日の%増加が0日目の10%以下	初回投与後の任意の日での%増加が0日目の10%より大きい
呼吸努力	初回投与後の全ての日で存在しない	初回投与後の任意の日で存在する
喘鳴	初回投与後の全ての日で存在しない	初回投与後の任意の日で存在する
不快感	初回投与後の全ての日で存在しない	初回投与後の任意の日で存在する
最小値-最大値総スコア/仔ヒツジ	0	7

10

20

【0329】

30

Table B-5.配列番号 71 又はビヒクルによって処置した新生仔ヒツジにおけるウイルス量

試験	配列番号 71 の送達 用量 [§]	治療レジメ ン	培養可能なウイルス		ウイルス転写物		
			ビヒクルに対するウイルス量 の低減(log ₁₀ FFU/mL BALF 又は 鼻洗浄液)		ビヒクルに対するウイルス RNA の低減(鼻洗浄液及び BALF に関して Log ₁₀ ウイルス RNA コピー数/mL、又は Log ₁₀ ウイルス RNA コピー数/mg 肺)		
			鼻洗浄液	BALF	鼻洗浄液	BALF	肺組織
1	ビヒクル	1、2、3、4 、5 日目	ND	[4.49 ± 0.43]	ND	[6.39 ± 0.1]	[6.02 ± 0.13]
	11 mg			ND		1.82	1.21
	36 mg			ND		1.44	0.83
2	110 mg	3、4、5 日 目	[0.99 ± 0.3] 0.29 0.29	[4.83 ± 0.04] 4.13 4.13	[2.89 ± 0.34] 2.59 -0.92	[7.15 ± 0.2] 1.25 0.14	[7.63 ± 0.07] 1.84 0.54
	ビヒクル						
	11 mg						
3	110 mg	3、4、5 日 目	ND	[4.98 ± 0.41] 4.11	ND	[7.26 ± 0.3] 0.55	[5.47 ± 0.21] 0.47
	ビヒクル						

独立して実施した試験における hRSV 感染新生仔ヒツジにおいて得られたウイルス学の結果のリスト。

[§]送達用量は、噴霧化された総薬物として定義される(すなわち、噴霧化された容量×配列番号 71 の濃度)

ND: 未実施

注意:統計分析に関して、病巣 0 は、培養可能なウイルスに関して 0.7 log₁₀ FFU/mL BALF 又は鼻洗浄液として計数され、検出限界より下のウイルス RNA コピーは 0.3 log₁₀ ウイルス RNA コピー数/mL 鼻洗浄液として計数された。

ビヒクル群における培養可能なウイルス及びウイルス転写物の評価の平均値を各欄において[平均値±標準誤差]として記す。

【表 1 2】

Table B-6: 本発明のポリペプチド(配列番号 71 等)の肺内投与の用量選択のための体重区分

	体重区分	充填容量	充填用量	噴霧化時間 ^a	名目用量 (mg/kg)	吸入用量 (mg/kg)	沈着用量 ^b (mg/kg)
0.5 kg 段階的增加	3.5 - 3.9 kg	0.100 mL	5.0 mg	約 30 秒	1.43-1.28	0.39-0.26	0.029-0.026
1 kg 段階的增加	4.0 - 5.0 kg	0.130 mL	6.5 mg	約 40 秒	1.63-1.30	0.33-0.26	0.033-0.026
	5.1 - 6.0 kg	0.150 mL	7.5 mg	約 45 秒	1.47-1.25	0.29-0.25	0.029-0.025
	6.1 - 8.0 kg	0.200 mL	10.0 mg	約 60 秒	1.64 ^c -1.25	0.33-0.25	0.033-0.025
2 kg 段階的增加	8.1 - 10.0 kg	0.250 mL	12.5 mg	約 75 秒	1.54-1.25	0.31-0.25	0.031-0.025
	10.1 - 12.0 kg	0.300 mL	15.0 mg	約 90 秒	1.49-1.25	0.30-0.25	0.030-0.025
	12.1 - 14.0 kg	0.350 mL	17.5 mg	約 105 秒	1.45-1.25	0.29-0.25	0.029-0.025
	14.1 - 16.0 kg	0.400 mL	20.0 mg	約 120 秒	1.42-1.25	0.28-0.25	0.028-0.025
3 kg 段階的增加	16.1 - 19.0 kg	0.500 mL	25.0 mg	約 150 秒	1.32-1.55	0.31-0.26	0.031-0.026

^a 約 200 μ L/分のデバイス出力速度に基づく。^b 目標濃度(9 μ g/mL)に達するために必要な沈着用量は 0.024 mg/kg である。^c 安全域の計算は最高名目用量(1.64 mg/kg)に基づいた。

【符号の説明】

【0 3 3 1】

10

20

30

40

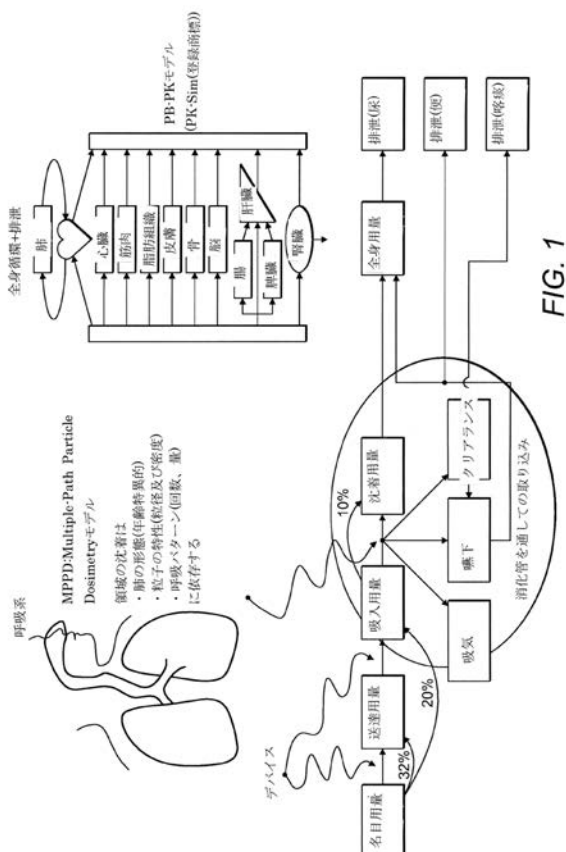
50

- 100 吸入デバイス
 101 エアロゾル発生器
 102 振動メッシュ
 103 リザーバー
 104 ガス吸気口
 105 フェイスマスク
 106 ケーシング
 107 エアロゾル吸気口
 108 患者の接触表面
 109 バルブ(一方向呼気バルブ又は二方向吸気/呼気バルブ)
 110 フローチャネル
 111 側方開口部
 112 スイッチ
 113 管継ぎ手
 114 蓋
 115 キーロック
 116 USBポート
 117 穴
 118 ベースユニット
 119 混合チャンネルユニット
 200 SAINTモデル
 201 SAINTモデルの顔/喉部分
 202 SAINTモデルの鼻部分
 300 ガラス繊維フィルターアセンブリ

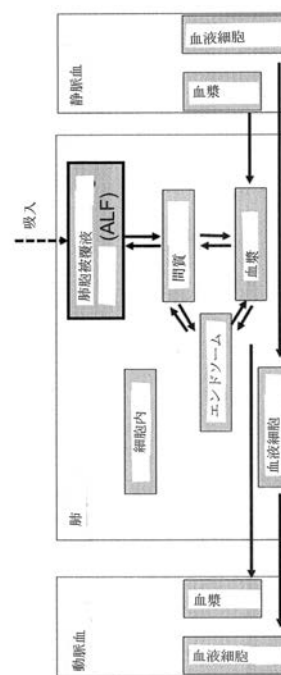
10

20

【図 1】



【図 2】



【図 3】

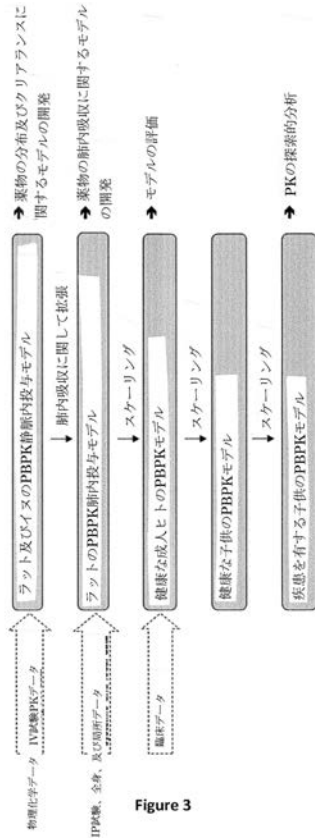


Figure 3

【図 5】

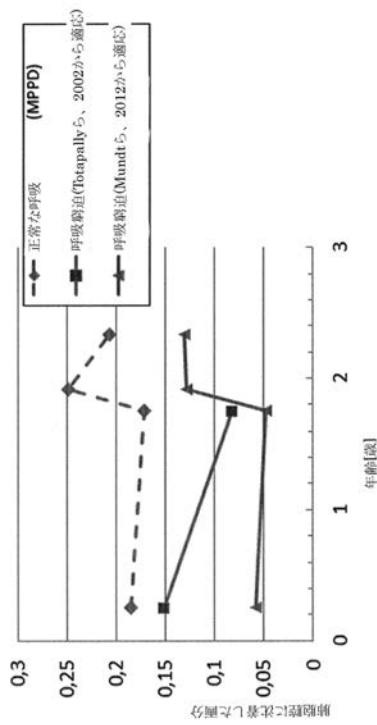


Figure 5

【図 4】

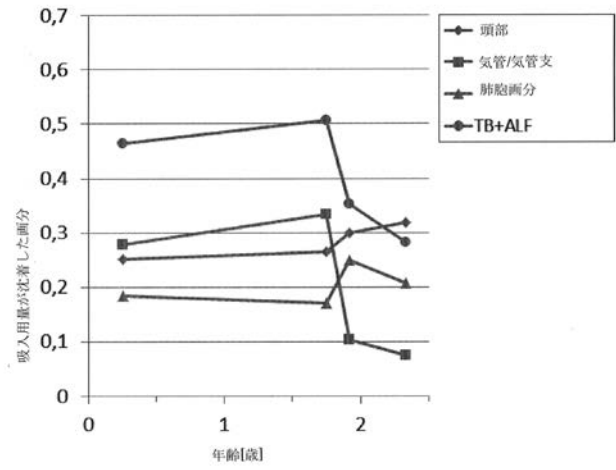


Figure 4

【図 6】

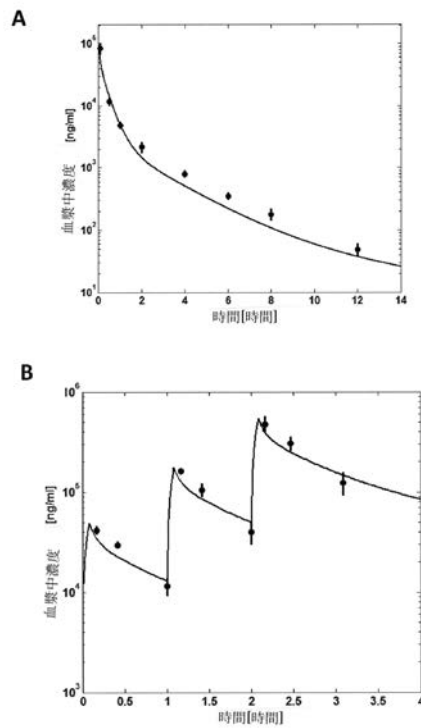


Figure 6

【図 7】

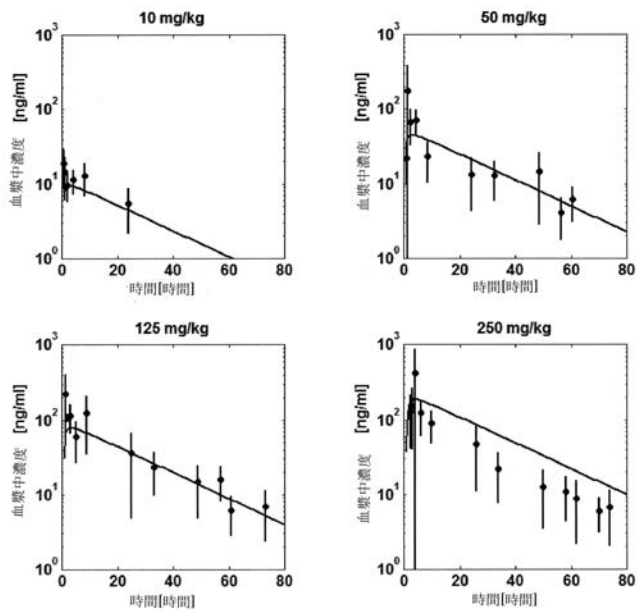


Figure 7

【図 8】

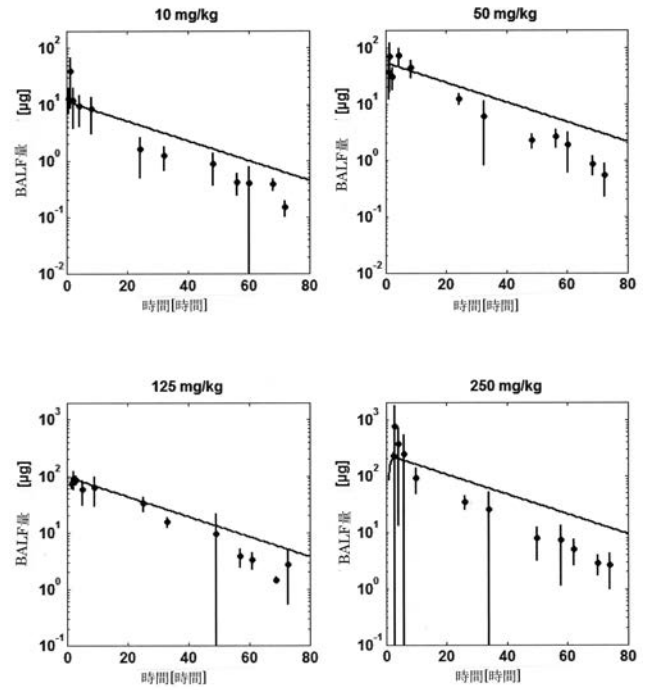


Figure 8

【図 9】

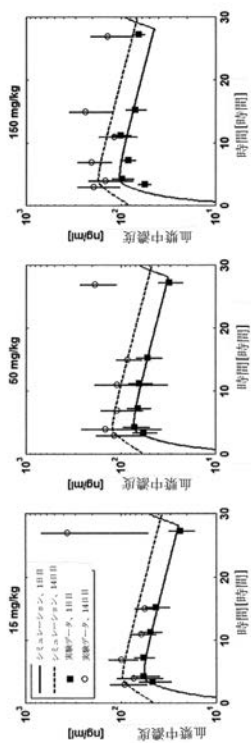


Figure 9

【図 10】

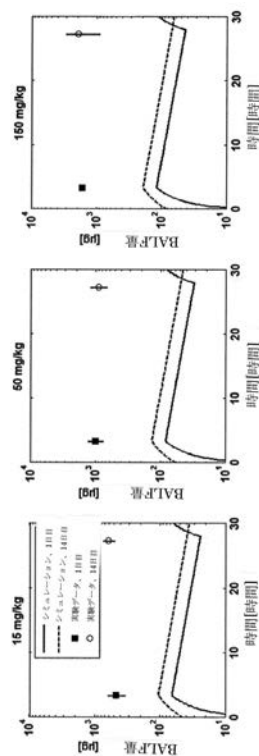
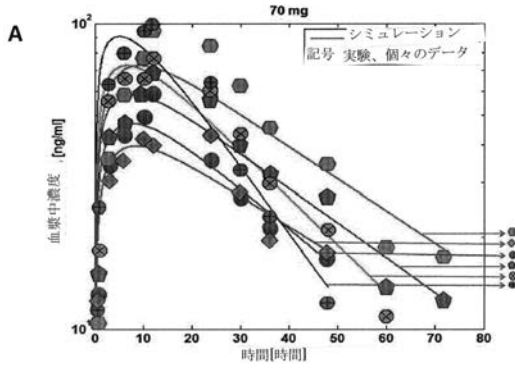
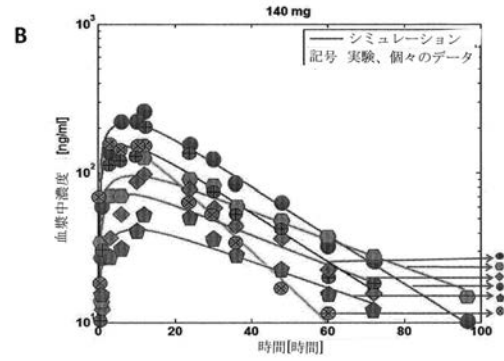


Figure 10

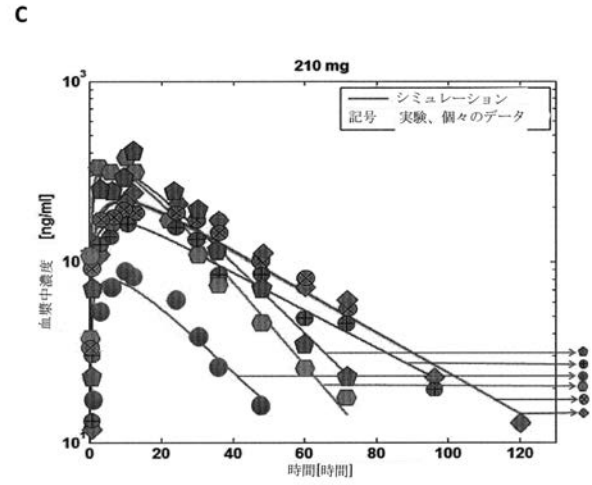
【図 1 1 A】



【図 1 1 B】



【図 1 1 C】



【図 1 2】

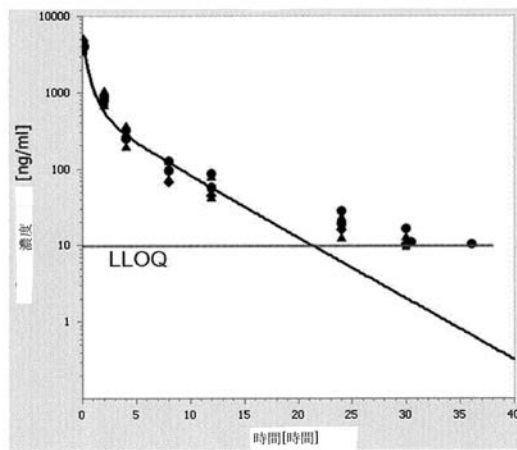


Figure 12

【図 1 3】

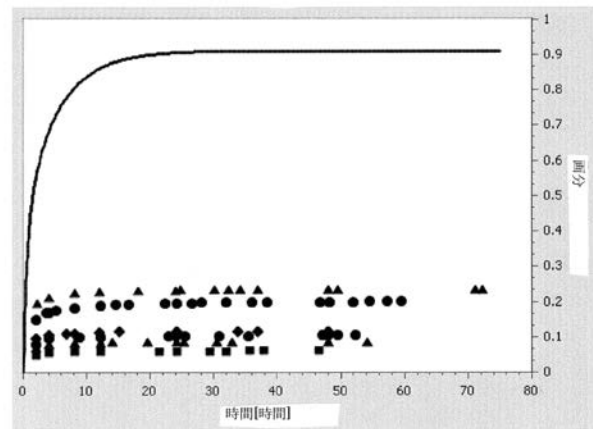


Figure 13

【図 14】

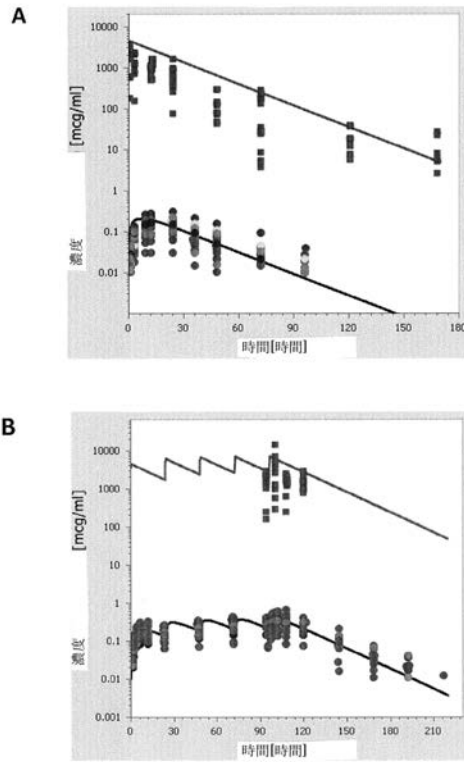


Figure 14

【図 15】

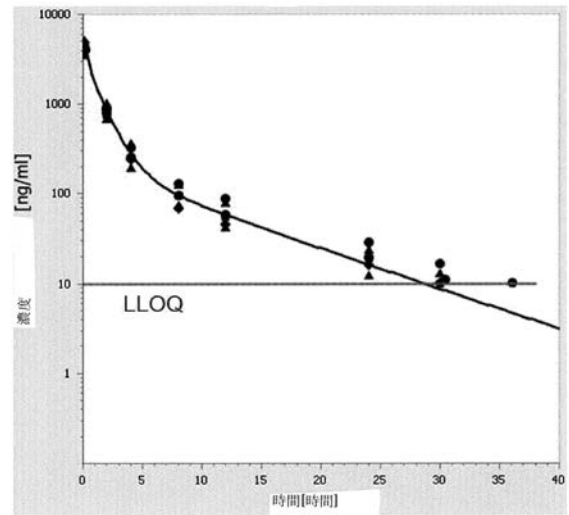


Figure 15

【図 16】

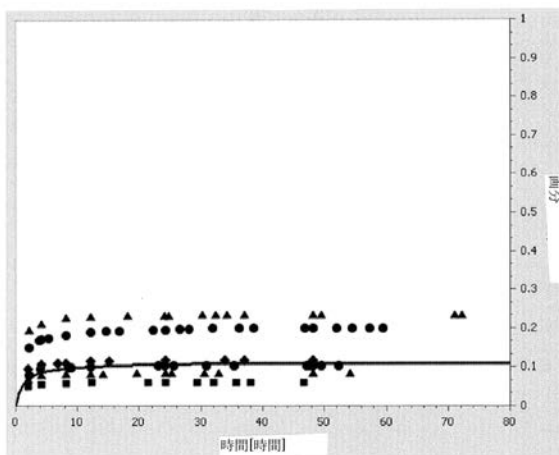


Figure 16

【図 17】

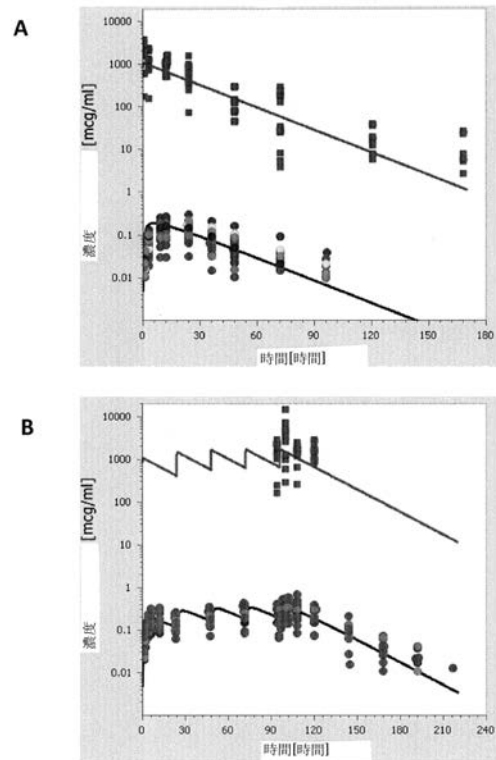


Figure 17

【図 18】

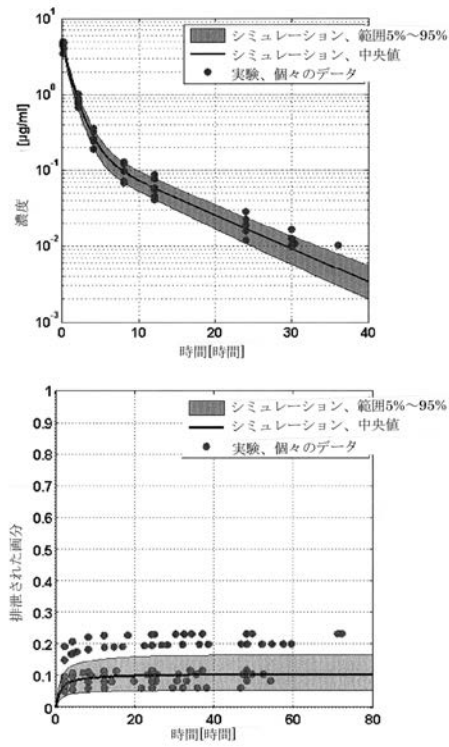


Figure 18

【図 19】

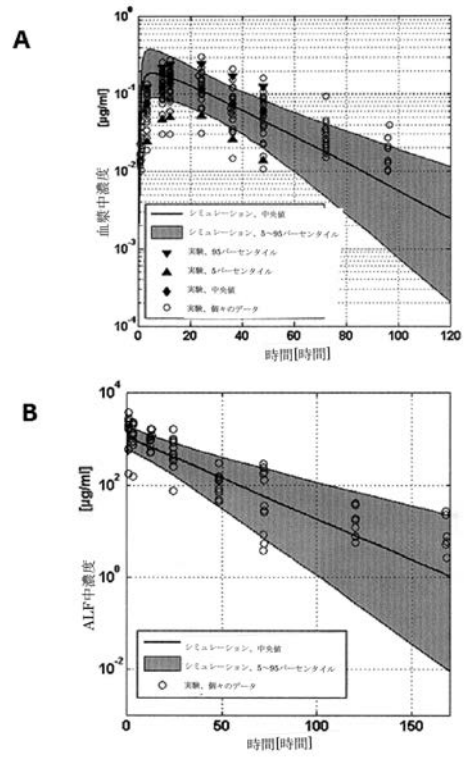


Figure 19

【図 20】

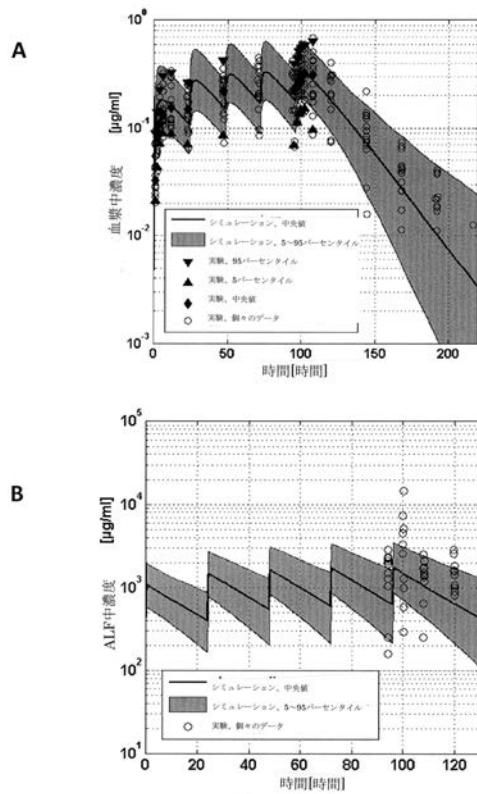


Figure 20

【図 21】

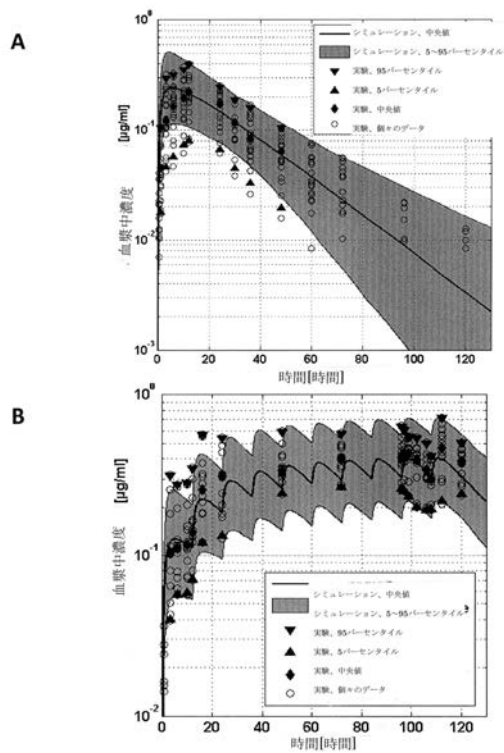


Figure 21

【図 22】

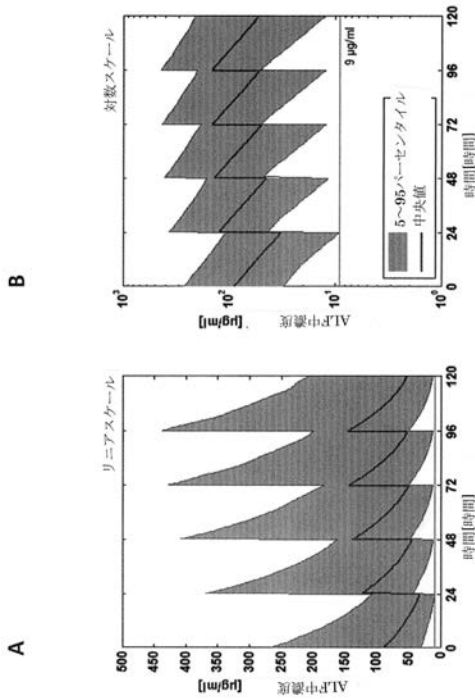


Figure 22

【図 23】

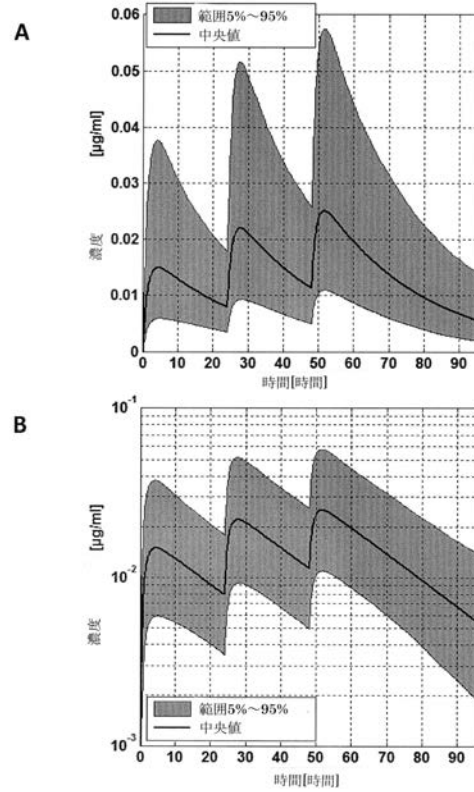


Figure 23

【図 24】

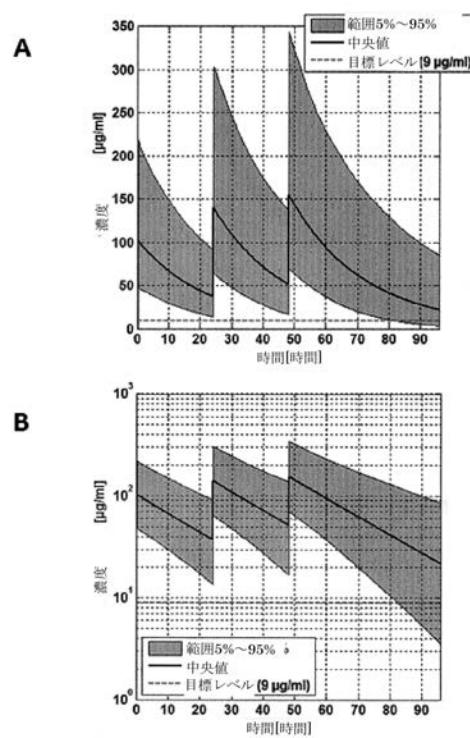


Figure 24

【図 25】

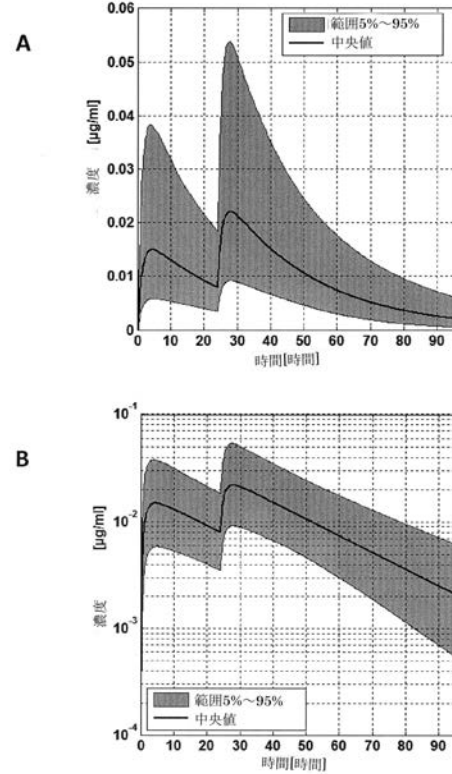


Figure 25

【図 26】

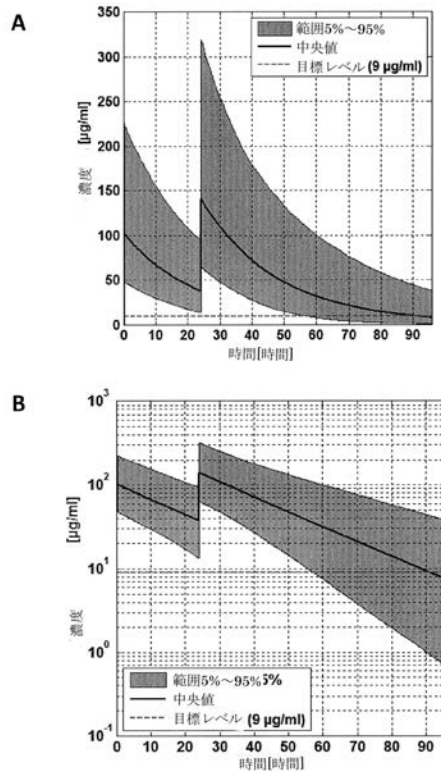


Figure 26

【図 27】

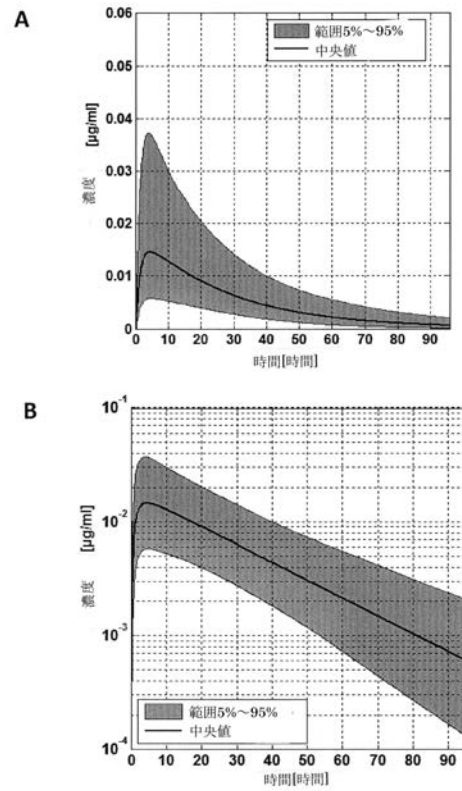


Figure 27

【図 28】

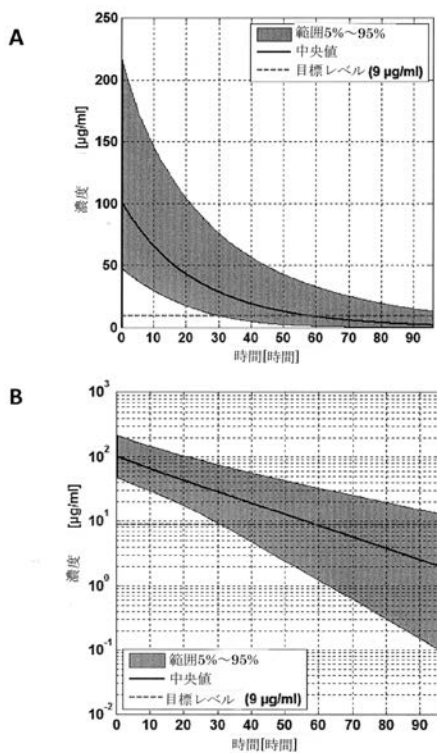


Figure 28

【図 29】

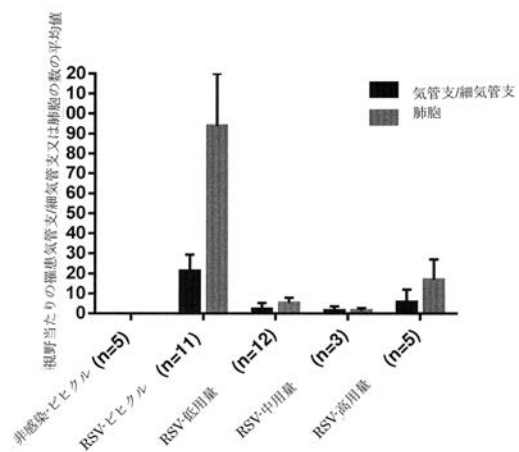
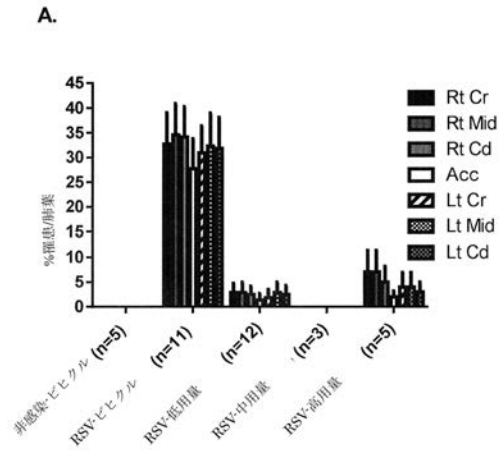
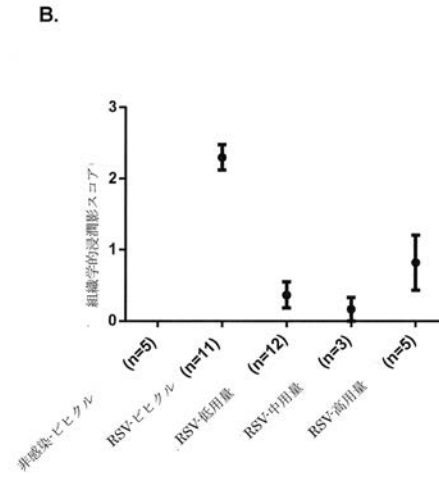


Figure 29

【図 30 A】



【図 30 B】



【図 31】

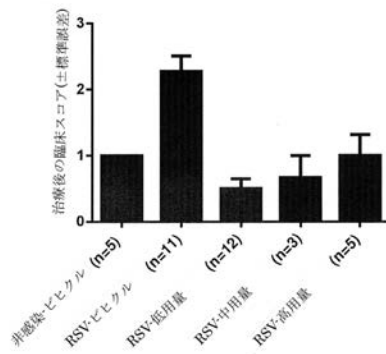


Figure 31

【図 32】

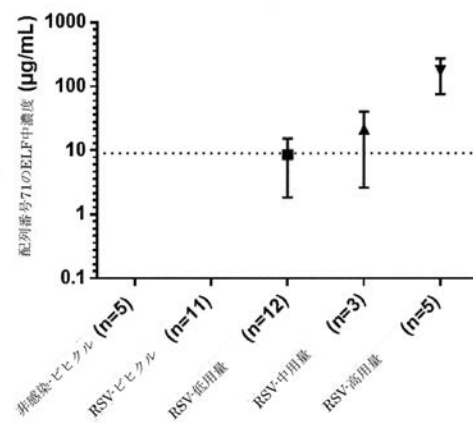


Figure 32

【図 3 3】

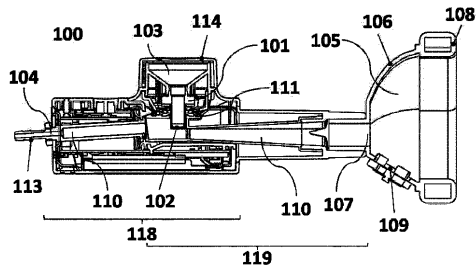


Figure 33

【図 3 5】

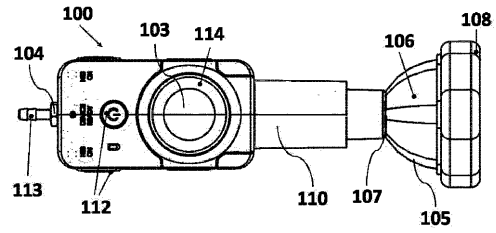


Figure 35

【図 3 4】

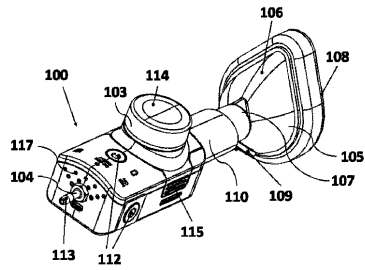


Figure 34

【図 3 6】

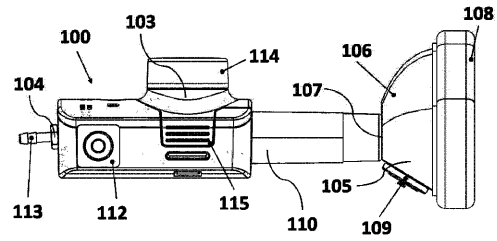


Figure 36

【図 3 7】

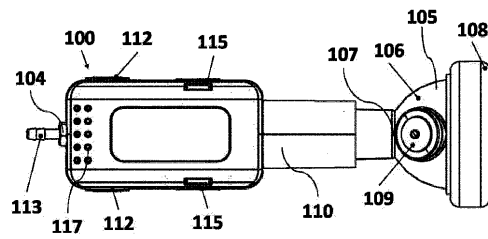


Figure 37

【図 3 9】

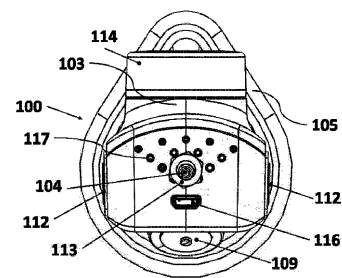


Figure 39

【図 3 8】

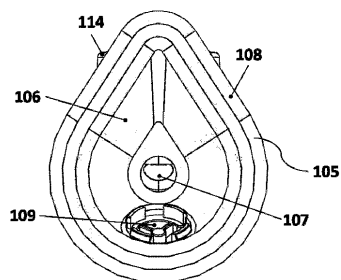


Figure 38

【配列表】

2017538779000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2015/073487

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/395 A61K47/10 A61K9/00 A61K47/26 A61M11/00
A61M15/00 A61M11/04 A61M15/02 A61M16/00 A61M16/20
A61P11/00 A61M15/06

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K A61P A61M

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

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

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011/098552 A2 (ABLYNX NV [BE]; DEPLA ERIK [BE]; SERGI MAURO [BE]; CASTEELS PETER [BE]) 18 August 2011 (2011-08-18) cited in the application	37-44, 56,57, 67-69
Y	page 61; example 8 page 63; example 11 page 38, lines 7-15 page 10, lines 13-15 claims ----- -/--	1-73

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 December 2015

Date of mailing of the international search report

05/01/2016

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Lemarchand, Aude

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/073487

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Erik Depla: "Nanobodies - Inspired by nature Development of ALX-0171, an inhaled Nanobody for the treatment of respiratory syncytial virus infection in infants", Human Antibodies and Hybridomas, 2 April 2014 (2014-04-02), XP055235944, Vienna, Austria Retrieved from the Internet: URL: http://www.ablynx.com/uploads/data/files/rsv_hah-2014.pdf [retrieved on 2015-12-14] title page 7 page 12 pages 15-16	1-73
Y	----- Ingrid Ottevaere ET AL: "IL-40 Population PK of ALX-0171, an inhaled Respiratory Syncytial Virus (RSV) neutralizing Nanobody", PAGE 2014 meeting, Twenty-third meeting 10-13 June 2014, Abstract 3114, 11 June 2014 (2014-06-11), XP055236302, Alicante Spain Retrieved from the Internet: URL: http://www.page-meeting.org/pdf_assets/3309-PAGE_23_(2014)_POSTER_ABSRTACT_3114.pdf [retrieved on 2015-12-14] Part related to "conclusions"; Introduction	1-73
Y	----- US 2012/128669 A1 (DEPLA ERIK [BE] ET AL) 24 May 2012 (2012-05-24) claims	1-73
Y	----- S. P. Collingwood ET AL: "RESPIRATORY DRUG DISCOVERY, CURRENT DEVELOPMENTS AND FUTURE CHALLENGES", Drugs of the Future, 1 August 2012 (2012-08-01), pages 619-625, XP055061153, DOI: 10.1358/dof.2012.37.8.1854604 Retrieved from the Internet: URL: http://journals.prous.com/journals/ser/vlet/xmlxsl/dof/20123708/pdf/df370619.pdf?p_JournalId=2&p_refId=1854604&p_IsPs=N [retrieved on 2013-04-25] page 621, right-hand column, paragraph - page 622, left-hand column, paragraph 3 ----- -/--	1-73

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/073487

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2013/273037 A1 (SIEGEL DUSTIN [US] ET AL) 17 October 2013 (2013-10-17) pages 45-47, paragraph 391-402 claims 35, 40	27-73
Y	----- US 2013/136744 A1 (BOUCHE MARIE-PAULE LUCIENNE ARMANDA [BE] ET AL) 30 May 2013 (2013-05-30) claims examples -----	1-73

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2015/073487

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/073487

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011098552 A2	18-08-2011	AU 2011214299 A1 CA 2787718 A1 CN 102753148 A EP 2533761 A2 JP 2013519654 A US 2013019860 A1 WO 2011098552 A2	02-08-2012 18-08-2011 24-10-2012 19-12-2012 30-05-2013 24-01-2013 18-08-2011
US 2012128669 A1	24-05-2012	AU 2010255638 A1 CA 2764398 A1 CN 102459332 A CN 105061592 A EP 2438087 A2 JP 2012528584 A KR 20140015113 A NZ 597314 A RU 2011153239 A SG 176095 A1 US 2012128669 A1 US 2015118233 A1 WO 2010139808 A2	12-01-2012 09-12-2010 16-05-2012 18-11-2015 11-04-2012 15-11-2012 06-02-2014 26-07-2013 20-07-2013 29-12-2011 24-05-2012 30-04-2015 09-12-2010
US 2013273037 A1	17-10-2013	AU 2013249280 A1 CA 2870024 A1 CN 104583211 A EA 201491889 A1 EP 2838900 A1 JP 2015516976 A KR 20140145615 A US 2013273037 A1 US 2015238501 A1 WO 2013158776 A1	06-11-2014 24-10-2013 29-04-2015 31-03-2015 25-02-2015 18-06-2015 23-12-2014 17-10-2013 27-08-2015 24-10-2013
US 2013136744 A1	30-05-2013	NONE	

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 K 39/155 (2006.01)	A 6 1 K 39/155	4 H 0 4 5
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 31/14 (2006.01)	A 6 1 P 31/14	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 31/167 (2006.01)	A 6 1 K 31/167	
A 6 1 K 31/137 (2006.01)	A 6 1 K 31/137	
A 6 1 K 31/135 (2006.01)	A 6 1 K 31/135	
A 6 1 K 31/44 (2006.01)	A 6 1 K 31/44	
A 6 1 K 31/46 (2006.01)	A 6 1 K 31/46	
C 0 7 K 16/10 (2006.01)	C 0 7 K 16/10	

(31)優先権主張番号 14193094.1

(32)優先日 平成26年11月13日(2014.11.13)

(33)優先権主張国 欧州特許庁(EP)

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

(72)発明者 コエン・アロセリー

ベルギー・B-8400・オーストエンデ・ニューポールツェステーンウェフ・98

(72)発明者 エリック・デプラ

ベルギー・B-9052・ヘントーズヴェイナールデ・テフノロジーパルク・21・アブリックス・エヌ・フェー

(72)発明者 マルティン・フーバー

ドイツ・35285・ゲミュンデン・ヴォーラーアー・シュトラッセ・37・ベクチュラ・ゲーエムベーハー

(72)発明者 トビアス・コルブ

ドイツ・35285・ゲミュンデン・ヴォーラーアー・シュトラッセ・37・ベクチュラ・ゲーエムベーハー

(72)発明者 ベルンハルト・ミューリンガー

ドイツ・35285・ゲミュンデン・ヴォーラーアー・シュトラッセ・37・ベクチュラ・ゲーエムベーハー

(72)発明者 マッシミリアーノ・ジェルマーニ

ベルギー・B-2275・リール・グロエーヌウェフ・6

(72)発明者 ユリアーネ・シック

ドイツ・35285・ゲミュンデン・ヴォーラーアー・シュトラッセ・37・ベクチュラ・ゲーエムベーハー

(72)発明者 マリアーラウラ・サルゲンティニー

ベルギー・B-1200・ブリュッセル・リュ・ドゥ・ラ・リヴ・96

Fターム(参考) 4C076 AA93 CC35

4C084 AA02 AA03 AA19 BA44 DC50 MA13 MA56 NA10 ZA592 ZB332

ZC751

4C085	AA14	BA57	CC23	DD62	EE01	EE03	GG10			
4C086	AA01	AA02	BC17	CB15	CB22	MA03	MA05	MA07	MA13	MA56
	NA10	ZA59	ZB33	ZC75						
4C206	AA01	AA02	FA08	FA10	FA14	GA01	GA31	KA01	MA03	MA05
	MA11	MA33	MA76	NA10	ZA59	ZB33	ZC75			
4H045	AA11	AA30	BA41	DA76	EA29	FA74				