(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-501594
(P2025-501594A)
(43)公表日　令和7年1月22日(2025.1.22)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*39/395 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｓ	４Ｃ０８４
Ｃ０７Ｋ	*16/08 (2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	16/08	ＺＮＡ	４Ｃ０８５
Ｃ１２Ｎ	*15/63 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/63	Ｚ	４Ｃ０８７
Ｃ１２Ｎ	*15/13 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/13		４Ｈ０４５
Ｃ１２Ｎ	*15/864 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/864	１００Ｚ	

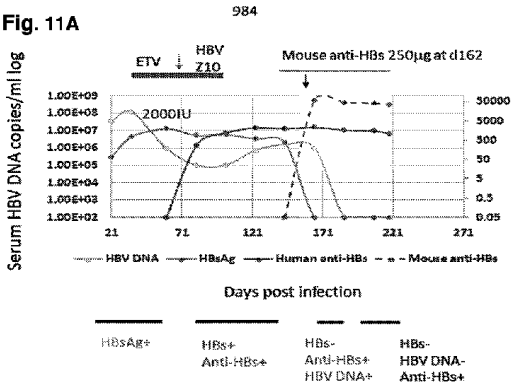
審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全41頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-538065(P2024-538065)
(86)(22)出願日　令和4年12月21日(2022.12.21)
(85)翻訳文提出日　令和6年8月20日(2024.8.20)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/081966
(87)国際公開番号　WO2023/122555
(87)国際公開日　令和5年6月29日(2023.6.29)
(31)優先権主張番号　63/265,816
(32)優先日　令和3年12月21日(2021.12.21)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/382,091
(32)優先日　令和4年11月2日(2022.11.2)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ
最終頁に続く

(71)出願人　524234651
エイチビーヴイテック・エルエルシー
アメリカ合衆国・メリーランド・２１７０４・フレデリック・メトロポリタン・コート・４５３９
(74)代理人　100108453
弁理士　村山 靖彦
(74)代理人　100110364
弁理士　実広 信哉
(74)代理人　100133400
弁理士　阿部 達彦
(72)発明者　ヨン－ユアン・ジャン
アメリカ合衆国・メリーランド・２０８８４・ジャーマンタウン・ララバイ・ストリート・１３９０１
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　Ｂ型肝炎ウイルスｃｃｃＤＮＡ及びｒｃＤＮＡを排除するための方法、並びにその方法で使用されるＢ型肝炎薬物

(57)【要約】
ＨＢＶ感染患者の肝臓細胞におけるｃｃｃＤＮＡを３ヶ月以上低減又は排除することによって、ヒト慢性Ｂ型肝炎ウイルス感染を治療する方法が本明細書に開示される。



10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ヒト慢性Ｂ型肝炎ウイルス（ＨＢＶ）感染患者の肝臓細胞におけるｃｃｃＤＮＡ（共有結合閉環状ＤＮＡ）及び／又はｒｃＤＮＡ（弛緩型環状ＤＮＡ）を３ヶ月以上低減又は排除することによって、ＨＢＶ感染を治療する、方法。
【請求項２】
前記ＨＢＶ感染患者の前記肝臓細胞におけるＨＢＶ　ｃｃｃＤＮＡレベルが、＜１コピー／細胞、＜１コピー／１０細胞、＜１コピー／１００細胞、＜１コピー／１，０００細胞、＜１コピー／１０，０００細胞、又は検出不能に低減される、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記感染患者の前記肝臓におけるｒｃＤＮＡのレベルが、＜１コピー／細胞、＜１コピー／１０細胞、＜１コピー／１００細胞、＜１コピー／１，０００細胞、＜１コピー／１０，０００細胞検出不能に低減される、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
前記ＨＢＶ感染患者の前記肝臓細胞における前記ＨＢＶ　ｃｃｃＤＮＡ及びｒｃＤＮＡレベルが、血液中の高レベルの抗ＨＢｓ抗体を維持するために内因的に抗ＨＢｓ抗体を発現する外因性抗ＨＢｓ抗体及び／又はウイルス若しくは非ウイルスベクター若しくはナノ粒子を投与することによって、持続的に低減される、請求項１～３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５】
前記ＨＢＶ感染患者の前記肝臓細胞におけるｃｃｃＤＮＡの低減又は排除が、前記患者の血液中の高レベルのＨＢＶ中和抗体を維持することによって前記患者の血液中のＨＢＶＤＮＡ、ＨＢｅＡｇ、及びＨＢｓＡｇのレベルを低減させるか、又は検出不能にすることによって明らかにされる、請求項４に記載の方法。
【請求項６】
患者の血液中の高レベルのＨＢＶ中和抗体を前記維持することが、血清ＨＢｓＡｇ陽性及び抗ＨＢｓ陰性（ＨＢｓＡｇ＋／抗ＨＢｓ－）を血清ＨＢｓＡｇ陰性及び抗ＨＢｓ陽性（ＨＢｓＡｇ－／抗ＨＢｓ＋）に持続的に変化させるのに十分な量の抗ＨＢｓ抗体を内因的に発現するか、又は外因的に注入することによって達成される、完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンによって表される、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
十分な抗ＨＢｓ抗体で完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現することが、血清ＨＢｓＡｇ損失又は血清クリアランスを誘導する最も効果的な方法のうちの１つである、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンが、ＨＢＶ治癒的治療の主な目標であり、より効果的なＨＢＶ機能的治癒をもたらすために必要とされる、請求項６に記載の方法。
【請求項９】
より効果的なＨＢＶ機能的治癒をもたらすことが、持続した高レベルの抗ＨＢｓ抗体を発現又は投与することによって、最初に血清ＨＢｓＡｇを除去することか、又は血清ＨＢｓＡｇを検出不能にすることを必要とする、請求項８に記載の方法。
【請求項１０】
完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンが、ヌクレオチド類似体、インターフェロン、及び／又はＮＡＰ若しくはＲＮＡｉなどのＨＢＶ薬物によって、血清ＨＢｓＡｇを一過性に除去したか、又は機能的治癒を達成したＨＢＶ薬物治療患者の間で、持続的なＨＢｓＡｇ血清クリアランス又は機能的治癒を確立するために必要とされる、請求項８に記載の方法。
【請求項１１】
前記患者の血液中の高レベルのＨＢＶ中和抗体が、１、２、３、４、５、６、７、又は

８ヶ月以上維持される、請求項５に記載の方法。
【請求項１２】
ＨＢＶ中和抗体が、ウイルス粒子が肝細胞に付着するのを防止することができ、したがって、ＨＢＶビリオンが肝細胞に入るのを効果的に遮断することができる前記抗体である、請求項１０に記載の方法。
【請求項１３】
前記高レベルのＨＢＶ中和抗体が、前記患者の血液中の＞１、＞１０、＞１００、＞２００、又は＞３００μｇ／ｍｌ、又は＞１０、＞１００、＞１，０００、＞１０，０００、＞２０，０００、又は＞３０，０００ｍＩＵ／ｍｌのレベルにある、請求項１１に記載の方法。
【請求項１４】
前記ＨＢＶ中和抗体が、約０．１ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、２０ｍｇ／ｋｇ、又は≧３０ｍｇ／ｋｇ体重の用量で１、２、又は３つの外因性ヒトＨＢＶ中和抗体を注入することによって前記患者に投与される、請求項１２に記載の方法。
【請求項１５】
前記患者の血液中の＞１、＞１０、＞１００、＞２００、若しくは＞３００μｇ／ｍｌ、又は＞１０、＞１００、＞１，０００、＞１０，０００、＞２０，０００、若しくは＞３０，０００ｍＩＵ／ｍｌの抗体のレベルを３ヶ月以上維持するために、単回、複数回、又は繰り返しの注入を含む外因性ヒト中和抗体の注入、請求項１３に記載の方法。
【請求項１６】
ＨＢＶ中和抗体が、１、２、又は３つの内因性発現ヒト中和抗体である、請求項１４に記載の方法。
【請求項１７】
内因性ヒトＨＢＶ中和抗体が、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）又はＧａｌＮＡｃ粒子のようなナノ粒子を含むウイルス又は非ウイルスベクターによって発現される、請求項１４に記載の方法。
【請求項１８】
ウイルス又は非ウイルスベクターが、前記ＨＢＶ中和抗体又は抗体断片をコードするＤＮＡ又はｍＲＮＡ配列を含有する、請求項１６に記載の方法。
【請求項１９】
アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクターを含むウイルスベクター、請求項１７に記載の方法。
【請求項２０】
前記ＡＡＶベクターが、前記ＨＢＶ中和抗体又はその抗体断片をコードする核酸配列を含み、したがって、ＡＡＶ－抗ＨＢＶベクターになる、請求項１８に記載の方法。
【請求項２１】
前記ＡＡＶ－抗ＨＢＶベクターが、それぞれ、約1×10^{9}ゲノムコピー／ｋｇ、1×10^{10}ゲノムコピー／ｋｇ、1×10^{11}ゲノムコピー／ｋｇ、1×10^{12}ゲノムコピー／ｋｇ、2×10^{12}ゲノムコピー／ｋｇ、2.5×10^{12}ゲノムコピー／ｋｇ又はそれ以上の用量でＨＢＶ患者の筋肉細胞に注射される、請求項１９に記載の方法。
【請求項２２】
ウイルス又は非ウイルスベクターが、必要に応じて一度又は複数回前記患者に注射される、請求項２０に記載の方法。
【請求項２３】
ＨＢＶ中和抗体の細胞内ＨＢＶ複製阻害剤との組み合わせを介してｒｃＤＮＡを枯渇させることが、著しい、ほぼ完全な、又は完全なｃｃｃＤＮＡ損失をもたらす、請求項２１に記載の方法。
【請求項２４】
細胞内ＨＢＶ阻害剤が、ＲＴ阻害剤、カプシド阻害剤、ＲＮＡｉ薬物、核酸ポリマー（

ＮＡＰ）、インターフェロン、先天性免疫アゴニスト、及び侵入阻害剤を含む、請求項２２に記載の方法。

【請求項２５】

ＨＢＶ中和抗体を発現する前記ＡＡＶ抗ＨＢＶベクターが、ＨＢＶ治療未経験である慢性ＨＢＶ感染者において、ｃｃｃＤＮＡを低減及び排除するためにｃｃｃＤＮＡ補充を遮断するため、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導するため、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現するため、かつより効果的なＨＢＶ治癒のために使用される、請求項２３に記載の方法。

【請求項２６】

ＨＢＶ中和抗体を発現する前記ＡＡＶ抗ＨＢＶベクターが、ＨＢＶ治療を受けているが、抗ウイルス薬物を安全に離脱することができない慢性ＨＢＶ感染者において、ｃｃｃＤＮＡを低減及び排除するためにｃｃｃＤＮＡ補充を遮断するため、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導するため、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現するため、かつより効果的なＨＢＶ治癒のために使用される、請求項２４に記載の方法。

【請求項２７】

ＨＢＶ中和抗体を発現する前記ＡＡＶ抗ＨＢＶベクターが、それらの感染状態／段階、又はそれらの治療状態（未経験又は治療された）にかかわらず、ＨＢＶ感染フリーになることを望む慢性ＨＢＶ感染者において、ｃｃｃＤＮＡを低減及び排除するためにｃｃｃＤＮＡ補充を遮断するため、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導するため、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現するため、かつより効果的なＨＢＶ治癒のために使用される、請求項２４に記載の方法。

【請求項２８】

ＨＢＶ中和抗体を発現する前記ＡＡＶ抗ＨＢＶベクターが、ＨＢＶ感染妊婦又は肝臓移植を有する患者において、ｃｃｃＤＮＡを低減及び排除するためにｃｃｃＤＮＡ補充を遮断するため、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導するため、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現するため、かつより効果的なＨＢＶ治癒のために使用される、請求項２４に記載の方法。

【請求項２９】

ＨＢＶ中和抗体を発現する前記ＡＡＶ抗ＨＢＶベクターが、ＨＢＶ感染が臨床的に解消されているが、ＨＢＶ再発又は再活性化のリスクが高い人々において、ｃｃｃＤＮＡを低減及び排除するためにｃｃｃＤＮＡ補充を遮断するため、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導するため、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現するため、かつより効果的なＨＢＶ治癒のために使用される、請求項２４に記載の方法。

【請求項３０】

ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、前記ＶＨが、配列番号２のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、前記ＶＬが、配列番号４のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片。

【請求項３１】

請求項２９に記載の単離結合分子又は抗原結合断片をコードする、核酸分子。

【請求項３２】

請求項３０に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項３３】

ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、前記ＶＨが、配列番号６のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、前記ＶＬが、配列番号８のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片。

【請求項３４】

請求項３２に記載の単離結合分子又は抗原結合断片をコードする、核酸分子。
【請求項３５】
請求項３３に記載の核酸分子を含む、ベクター。
【請求項３６】
ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、前記ＶＨが、配列番号１０のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、前記ＶＬが、配列番号１２のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片。
【請求項３７】
請求項３５に記載の単離結合分子又は抗原結合断片をコードする、核酸分子。
【請求項３８】
請求項３６に記載の核酸分子を含む、ベクター。
【請求項３９】
ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、前記ＶＨが、配列番号１４のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、前記ＶＬが、配列番号１６のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片。
【請求項４０】
請求項３８に記載の単離結合分子又は抗原結合断片をコードする、核酸分子。
【請求項４１】
請求項３９に記載の核酸分子を含む、ベクター。
【請求項４２】
ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、前記ＶＨが、配列番号１８のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、前記ＶＬが、配列番号２０のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片。
【請求項４３】
請求項４１に記載の単離結合分子又は抗原結合断片をコードする、核酸分子。
【請求項４４】
請求項４２に記載の核酸分子を含む、ベクター。
【請求項４５】
ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、前記ＶＨが、配列番号２２のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、前記ＶＬが、配列番号２４のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片。
【請求項４６】
請求項４４に記載の単離結合分子又は抗原結合断片をコードする、核酸分子。
【請求項４７】
請求項４５に記載の核酸分子を含む、ベクター。
【請求項４８】
ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、前記ＶＨが、配列番号２６のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、前記ＶＬが、配列番号２８のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片。
【請求項４９】

請求項４７に記載の単離結合分子又は抗原結合断片をコードする、核酸分子。
【請求項５０】
請求項４８に記載の核酸分子を含む、ベクター。
【請求項５１】
ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、前記ＶＨが、配列番号３０のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、前記ＶＬが、配列番号３２のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片。
【請求項５２】
請求項５０に記載の単離結合分子又は抗原結合断片をコードする、核酸分子。
【請求項５３】
ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、前記ＶＨが、配列番号３４のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、前記ＶＬが、配列番号３６のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片。
【請求項５４】
請求項５２に記載の単離結合分子又は抗原結合断片をコードする、核酸分子。
【請求項５５】
請求項５３に記載の核酸分子を含む、ベクター。
【請求項５６】
請求項２９、３２、３５、３８、４１、４４、４７、５０、及び５２のいずれか一項に記載の単離結合分子又は抗原結合断片を含む、組成物。
【請求項５７】
請求項５５に記載の抗体と、薬学的に許容される担体と、を含む、薬学的組成物。
【請求項５８】
ヒト患者において、慢性ＨＢＶ感染を治療し、新たなＨＢＶ感染ラウンドに対する保護を提供する方法であって、前記ＨＢＶ感染ヒト患者に、十分な量のＨＢＶ中和抗体又は抗体断片を投与することを含み、前記量のＨＢＶ中和抗体が、ｒｃＤＮＡ及びｃｃｃＤＮＡの両方を補充することを遮断するレベルにあり、ｒｃＤＮＡを＜１コピー／細胞に低減及び枯渇させることを可能にし、ｃｃｃＤＮＡを＜１コピー／細胞に低減及び排除することを促進し、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導し、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現し、より効果的なＨＢＶ治癒をもたらす、方法。
【請求項５９】
慢性ＨＢＶ感染の前記治療が、ＨＢＶに感染した新生児／小児を治療することを含む、請求項５７に記載の方法。
【請求項６０】
慢性ＨＢＶ感染の前記治療が、ＨＢＶに感染した成人を治療することを含む、請求項５７に記載の方法。
【請求項６１】
ＨＢＶ感染ヒト患者が、６ヶ月を超える間ＨＢｓＡｇ陽性であり、正常又は上昇したアラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）レベルを有する慢性ＨＢＶ感染個体である、請求項５７に記載の方法。
【請求項６２】
ＨＢＶ感染ヒト患者が、ＨＢＶ陽性の妊婦、又はＨＢｓＡｇ陽性若しくはＨＢｓＡｇ陰性／抗Ｂ型肝炎コア抗体（抗ＨＢｃ）陽性であり、移植後にＨＢＶ感染が再発しやすい臓器移植レシピエントである、請求項５７に記載の方法。
【請求項６３】
前記ＨＢＶ中和抗体又は抗体断片が、ＨＢＶ治療用ベクターによって産生される、請求

項５７に記載の方法。
【請求項６４】
前記ＨＢＶ治療用ベクターが、ベクターの混合集団であって、その各々が、ＨＢＶエンベロープタンパク質の１つ以上のエピトープに結合する１つの特異的抗ＨＢｓ抗体若しくは抗体断片をコードする、ベクターの集合集団、又はＨＢＶエンベロープタンパク質の１つ以上のエピトープに結合する１つのＨＢＶ中和抗体若しくは抗体断片をコードする単一のベクターを含む、請求項６２に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
【背景技術】
【０００２】
Ｂ型肝炎ウイルス（ＨＢＶ）は、世界中で慢性的に３億２００万人に感染しており、毎年約１００万人がＨＢＶ関連疾患で死亡している。現在のＨＢＶ薬物は、ＨＢＶ治癒は言うまでもなく、何年もの投薬後に持続的な有効性をもたらすことはめったにない。
ＨＢＶ共有結合閉環状ＤＮＡ（ｃｃｃＤＮＡ）は、感染時に感染細胞の核内に形成され、転写鋳型として機能する（Ｎａｓｓａｌ Ｍ，Ｇｕｔ ６４，１９７２－１９８４（２０１５）、Ｔｕｔｔｌｅｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ ４７，４５１－４６０（１９８６））。ｃｃｃＤＮＡの存在は、持続的なＨＢＶ感染の根本原因とみなされる。現在のＨＢＶ治癒戦略は、ｃｃｃＤＮＡを直接的に排除又は永久的にサイレンシングすることを目的とする（Ａｌｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ ６７，１１２７－１１３１（２０１８））。ｃｃｃＤＮＡを直接排除又は永久的にサイレンシングすることができる薬物は、依然として見落としがちである。
【０００３】
臨床的証拠は、慢性ＨＢＶ感染において、頻繁な血清ウイルス集団転換、例えば、プレＣ、コア、プレＳ、Ｓ、又は薬物耐性変異体が頻繁に野生型（ＷＴ）ウイルスに置き換わることを示し（Ｂｒｕｎｅｔｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ８８，４１８６－４１９０（１９９１）、Ｃａｒｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｌａｎｃｅｔ ２，５８８－５９１（１９８９）．、Ｌｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９１，４０７７－４０８１（１９９４）．、Ｏｋａｍｏｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｖｉｒｏｌ ６８，８１０２－８１１０（１９９４）．、Ｚｏｕｌｉｍ ａｎｄ Ｌｏｃａｒｎｉｎｉ，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９１，４０７７－４０８１（１９９４））、肝臓における頻繁なｃｃｃＤＮＡ損失及び置換（転換）を示唆し、更に以下：１．初期ウイルス集団は頻繁に除去されること、及び２．感染した肝臓における初期ウイルス集団を除去すると、新たな感染ラウンドがあることを示唆する。
【０００４】
慢性ＨＢＶ感染を治療するための効果的な方法が必要である。本発明の先行発明（米国特許第１１１３６３７８Ｂ２号）において、慢性ＨＢＶ感染は、ＨＢＶ感染ヒト患者に、ＨＢＶ中和抗体又はそのようなＨＢＶ中和抗体を発現するＨＢＶ治療用ベクターを、ＨＢＶ感染ヒト患者における血清ＨＢＶ粒子のレベルよりも高いレベルで投与することによって治療することができ、その結果、ＨＢＶ中和抗体のレベルは、血清中の検出不能なＨＢＶ粒子のレベル、又はＨＢｓＡｇ陽性から抗ＨＢｓ抗体陽性への完全なＨＢｓＡｇセロコンバージョンをもたらすことが開示された。更なる研究が行われ、新しい発見が本出願に記載されている。
【発明の概要】
【０００５】
本発明は、慢性Ｂ型肝炎感染を効果的に治癒する方法、及び治癒的治療を簡素化し、かつ治療過程を短縮する方法を開示する。本発明が構築される発見のいくつかは、以下の要素：

１．ＨＢＶ分野における現在のコンセンサスとは対照的に、ＨＢＶ感染を除去することは、ＨＢＶ　ｃｃｃＤＮＡを直接標的化又は永久的にサイレンシングする必要はないこと、
２．更に、ＨＢＶ分野におけるコンセンサスとは対照的に、ＨＢＶ感染を除去することは、特定のＨＢＶ細胞免疫も必要としないこと、
３．ＨＢＶ　ｒｃＤＮＡプールを補充することを遮断することにより、ＨＢＶ感染患者の感染した肝臓からｃｃｃＤＮＡを低減及び排除すること、
４．持続した高レベルの抗ＨＢｓ抗体で新たな感染ラウンドを遮断することによって、ｒｃＤＮＡ補充を遮断すること、
５．宿主の適応免疫とは無関係である筋肉細胞への注射後に持続した高レベルの抗ＨＢｓ抗体を内因性に発現するＡＡＶベクターベースのＨＢＶ薬物を提供すること、
６．ほとんどの慢性ＨＢＶ感染患者は、ＡＡＶベクターベースのＨＢＶ薬物の単回注射によって治療することができること、
７．ＨＢｓＡｇ陽性及び抗ＨＢｓ抗体陰性（ＨＢｓＡｇ＋／抗ＨＢｓ－）からＨＢｓＡｇ陰性及び抗ＨＢｓ陽性（ＨＢｓＡｇ－／抗ＨＢｓ＋）への変化である、完全に持続した抗ＨＢｓ抗体セロコンバージョンは、より効果的なＨＢＶ治癒を達成するために必要であること、
８．血清ＨＢｓＡｇを検出不可能なレベル（ＨＢｓＡｇ血清クリアランス）に低減させる最も効果的な方法は、完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンを達成することであること、
９．現在の生涯にわたる毎日の投薬ベースのＨＢＶ治療は、それが、持続した高レベルの抗ＨＢｓ抗体を発現するＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターに添加されるか、又はそれと組み合わせられるとき、有限の期間に短縮され得ること、並びに
１０．ＨＢｓＡｇ血清クリアランス又はＨＢＶ機能的治癒を媒介する現在の療法、又は／及びそれを誘導する自然除去は、しばしば逆効果である、すなわち、非持続的であることを含む。しかしながら、これは、ＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターを添加するか、又は外因性抗ＨＢｓ抗体を与えることによって持続的にすることができる。

【図面の簡単な説明】

【０００６】

本明細書に援用され、本明細書の一部をなす添付の図面は、本発明の実施形態を例証し、説明とともに本発明の特徴、利点、及び原理を説明する役割を果たす。図面において、
【図１】マラリア群（Ａ、ｎ＝５）及び抗ＨＢｓ群（Ｂ、ｎ＝１５）における動態血清抗体レベルを示す。マラリア抗体又は抗ＨＢｓ抗体のいずれかを発現するＡＡＶベクターを、感染後（ｐｉ）４９日目に10^{11}ゲノムコピーの用量で筋肉内注射し、ＥＬＩＳＡによって決定された動態血清抗体レベルをｐｉ４９日目から１８３日目まで示す。抗ＨＢｓ群の２匹の試験動物Ｎｏ．９７０及び９０９に、対照としてマウス抗ＨＢｓを腹腔内に注射したことに留意されたい（１回の注射につき２５０ｍｇ、９回）。４９日目には抗体が検出されず、対数尺度で曲線をプロットするために０．１ｍｇ／ｍｌが割り当てられた。
【図２】ウイルス血症及び血清ＨＢｓＡｇレベルが、抗ＨＢｓ治療群で著しく低下したことを示す。図２Ａは、マラリア抗体と３つの抗ＨＢｓ群との間の異なるウイルス血症動態を示す。抗ＨＢｓ－合計は、抗ＨＢｓ抗体で治療した全１５匹のマウスを含む。１５匹のマウスを更に、以下の２つのサブグループに分けた。抗ＨＢｓ－Ａ群は９匹のマウスで構成され、それらの感染は１８３日目前にピークに達し、抗ＨＢｓ－Ｂ群は６匹の動物で構成され、それらの感染は著しく遅延し、ピークに達していない。抗ＨＢｓ－Ｂ群におけるウイルス血症レベルは、マラリア群と比較して、いくつかの時点で＞１００倍低下した。図２Ｂは、１８３日目の平均ウイルス血症（黒色のバー）が、抗ＨＢｓ－合計群と抗ＨＢｓ－Ｂ群の両方で著しく低下したことを示す。平均血清ＨＢｓＡｇレベル（灰色の曲線）は、１８３日目にマラリア群と比較して、３つの抗ＨＢｓ群全てで著しく低下した。
【図３】動物９７０におけるＨＢＶ機能的治癒を示す。図３Ａは、抗ＨＢｓ治療を開始した後、ウイルス血症及び血清ＨＢｓＡｇの両方が検出できなくなったことを示している。血清ＨＢＶ　ＤＮＡの検出の下限は、血清ＨＢｓＡｇ及び抗ＨＢｓ抗体についてそれぞれ

１００コピー／ｍｌ及び１ｎｇ／ｍｌである。動物９７３からの９７０の治療前レベルと同等のウイルス血症もまた、図３Ｂの肝内ＨＢＶ　ＤＮＡの治療前レベルの参照としてプロットされる。図３Ｂは、９７０における２ラウンドの２０回の肝臓サンプリングからの平均肝内ｒｃＤＮＡレベル（コピー／細胞）が、５００～１，８００倍（ｐ＝１．３３Ｅ－９及び１．２９Ｅ－９）まで著しく低下し、平均ｃｃｃＤＮＡレベルが、ｒｃＤＮＡ及びｃｃｃＤＮＡレベルが治療前レベル対照として機能する動物９７３よりも１００～６７５倍低下した（ｐ＝５．２７Ｅ－７及び４．６９Ｅ－７）ことを示す。図３Ｃは、第１ラウンドの２０回の肝臓サンプリングのうちの７回及び第２ラウンドの２０回のサンプリングのうちの２０回でｒｃＤＮＡ≦１コピー／細胞が検出されたことを示す（図３Ｃ２）。第１ラウンドの２０回のサンプリングのうち３回、第２ラウンドの２０回のサンプリングのうち７回でｃｃｃＤＮＡは検出されなかった。ほとんどのｃｃｃＤＮＡサンプリングで非常に低いｃｃｃＤＮＡレベルが検出され、４０回のサンプリングのいずれにおいてもｃｃＤＮＡ増幅が検出されなかった（図３Ｃ１及びＣ２）。

【図４】キメラマウスのＨＢＶ感染ヒト肝臓における感染細胞の一部における多様なｃｃｃＤＮＡレベル及びｃｃｃＤＮＡ損失を示す。異なるサンプリング間でのｃｃｃＤＮＡレベルの最大６０倍の差が、９０７肝臓の対応する肝臓サンプリング間で同等のｒｃＤＮＡレベルにもかかわらず検出された（図４Ａ）。動物９０９肝臓の対応する肝臓サンプリング間で同等のｒｃＤＮＡレベルにもかかわらず、異なる試料間で３０倍超のｃｃｃＤＮＡレベルの差が検出された（図４Ｂ）。≦１コピー／細胞のｃｃｃＤＮＡレベルは、動物９０７の２０回のサンプリングのうちの５回（図４Ａ）及び動物９０９の２０回のサンプリングのうちの１７回（図４Ｂ）で検出され、全５６６回のｃｃｃＤＮＡサンプリングのうちの２６０回（４６％）で検出された（図４Ｃ）。平均ｃｃｃＤＮＡレベルが≦１コピー／細胞の肝臓サンプリングの数は、マラリア抗体群よりも抗ＨＢｓ群の方が著しく多かった（X^2＝２５．２及びｐ＜０．００１）（図４Ｄ）。

【図５】マラリア抗体で治療された動物９０７と比較して、抗ＨＢｓ抗体で治療された９つの肝臓試料全てにおいて、平均肝内ｒｃＤＮＡレベルが４，０００～１０，０００コピー／細胞低下したことを示す。平均ｒｃＤＮＡレベルを、各肝臓試料の２０回のサンプリングから計算した。ｒｃＤＮＡレベルを低下させる効率は、主にウイルス血症レベルに依存する（図５Ａ）。Ｐ値は、Ｅ－９～Ｅ－１６の範囲であった（図５Ｂ）。

【図６】抗ＨＢｓ療法による肝内ｒｃＤＮＡレベルの低下に関与する３つの成分を例解する。図６Ａは、感染細胞からｒｃＤＮＡを排出するが、既存のｃｃｃＤＮＡがｒｃＤＮＡを補充するビリオン分泌を示す。図６Ｂは、ｃｃｃＤＮＡ自然損失を例解する。ビリオン分泌のｃｃｃＤＮＡ損失との組み合わせは、感染細胞からＨＢＶを除去することができるが、抗ＨＢｓの非存在下では持続的ではない。図６Ｃは、抗ＨＢｓによる新たな感染ラウンドの遮断が、持続的なＨＢＶ除去を確立することを例解する。

【図７】主な動物実験手順、タイミング、及び期間を示す。Ｎは、３つの時点における動物の数である。

【図８】動物９０７と９７３との間のＨＢＶ感染レベルの差を示す。動物９０７をマラリア抗体を発現するＡＡＶベクターで治療し、動物９７３を抗ＨＢｓ抗体を発現するＡＡＶベクターで治療した。図８Ａは、ウイルス血症の差が遅い時点で＞１００倍であることを示す。図８Ｂは、２匹の動物間で検出されたｒｃＤＮＡ及びｃｃｃＤＮＡレベルの有意差を示す。

【図９】９週間のエンテカビルで治療し、続いてＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターを添加した、ＨＢＶ感染ｕＰＡ／ＳＣＩＤキメラマウスの主な実験手順及びタイムラインを示す。

【図１０】９週間のＥＴＶ治療にＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターを添加することで、ＨＢＶ再発を予防し、上昇した抗ＨＢｓ抗体がＨＢｓＡｇ損失／完全な抗ＨＢｓセロコンバージョン及びＨＢＶ機能的治癒にレベルアップしたことを示す。図１０Ａは、未治療（青色）及びＥＴＶ単剤療法（オレンジ色）群における動態ウイルス血症曲線を示す。図１０Ｂは、未治療及びＥＴＶのみの群における動態血清ＨＢｓＡｇ曲線を示す。図１０Ｃ及び図１０Ｄは、アドオンを用いてＥＴＶ治療した１０匹の動物における動態ウイルス血症及び血清

ＨＢｓＡｇ曲線を示す。図１０Ｅは、ＨＢＶ再発がなく、かつＨＢｓＡｇが検出不能な動物の数を示している。図１０Ｆは、ＨＢＶ機能的治癒を有する動物の数を示す。

【図１１】異なる時点で抗ＨＢｓ抗体レベルを上昇させることによって達成された完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョン時又はその後にＨＢＶ機能的治癒が生じたことを示す。図１１Ａ～Ｅは、抗ＨＢｓセロコンバージョン時又はその後に確立されたＨＢＶ機能的治癒マーカーを示す。図１１Ｆは、血清ＨＢＶ　ＤＮＡが、ＨＢｓＡｇ－／ＨＢＶ　ＤＮＡ＋／抗ＨＢｓ＋又は治癒前段階で特徴付けられた実験終了時に検出可能なままであったことを示す。

【図１２】ＨＢＶ再発が新たな感染ラウンドによって引き起こされることを示す。図１２Ａは、ｃｃｃＤＮＡが感染細胞に持続する場合、ＨＢＶ再発を抗ＨＢｓ治療によって防止することができないことを示す。図１２Ｂ。ＨＢＶ再発は、ｃｃｃＤＮＡ自然損失及びＥＴＶ離脱後の新たな感染ラウンドが存在するため、抗ＨＢｓ治療で予防された。図１２Ｃは、主にＨＢｓＡｇレベルの低減によって駆動されるほとんどの自然に治癒した症例において、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンに到達するまでに数年／数十年かかることを示す。図１２Ｄは、十分な抗ＨＢｓ抗体療法が、完全な抗ＨＢｓＡｇセロコンバージョンを迅速に実現することができ、ＨＢＶ機能的治癒に必要な期間を短縮することを示す。

【発明を実施するための形態】

【０００７】

本明細書で特定される実施形態は、例示的なものであり、限定的なものではないことが意図される。表１及び２は、本発明のいくつかの主な発明の特徴を概説し、それらは以下の説明で更に詳述される。

【表１】

表１．本発明のいくつかの発明的特徴

	本発明	現在の HBV 薬物及び治療
慢性 HBV 感染はどのように維持されているか	新たな感染ラウンドによる	cccDNA 分子の寿命による
治療標的	細胞外ウイルス粒子	細胞内複製ステップ
cccDNA を排除し、HBV 治癒をもたらすための方法	rcDNA を枯渇させることによって cccDNA 補充を遮断する	cccDNA 合成を阻害する及び/又は感染細胞を死滅させる
rcDNA を枯渇させるための方法	rcDNA 補充を遮断する	HBV 複製の細胞内阻害
rcDNA 補充を遮断するための方法	新たな感染ラウンドを遮断する	HBV 複製の細胞内阻害
HBV 治癒のために免疫のどの群を拡大する必要があるか	HBsAg に対する特異的体液性免疫	HBV に対する特異的細胞免疫
宿主の免疫を拡大するための方法	非免疫細胞を使用した適応免疫とは独立した工学的な体液免疫学又は遺伝子療法	従来の治療用ワクチンは、従来の免疫細胞を使用した宿主の適応免疫に依存する
HBV 治癒のための血清 HBsAg を効果的に低減及び除去するための方法	HBV が除去された細胞を再感染から保護する完全かつ持続した抗 HBs セロコンバージョン	感染細胞からの細胞内 HBsAg 合成を阻害するか、又は HBsAg 分泌を防止する
抗 HBs レベルを上昇させるための方法	内因性、かつ単回注射のみを必要とする場合がある	外因性、かつ繰り返しの注入が必要
治療計画	限定された治療期間のみが必要であり、単回注射のみが必要な場合がある	毎日の投薬及び無限の治療期間

本発明は、表２に概説されるように、血清抗ＨＢｓ抗体レベルを介在的に上昇させることによってＨＢＶ感染状態を変化させる方法を更に説明する。

【表２】

表２．血清抗ＨＢｓレベルを上昇させることは、ＨＢＶ感染の転帰及び血清学的マーカーを変化させる

抗 HBs レベル	なし	≦血清 HBsAg レベル	>血清 HBsAg レベル
血清学的マーカー	HBsAg+/抗 HBs-	HBsAg+/抗 HBs+	HBsAg-/抗 HBs+
HBV 感染状態	治療中止後の HBV 感染進行中又は HBV 再発	HBV 感染レベルの低減又は治療中止後の非再発につながる新たな感染ラウンドを部分的に遮断する	HBsAg 損失/抗 HBs セロコンバージョン及び機能的治癒

【０００８】

一実施形態では、消耗した特異的細胞免疫が慢性ＨＢＶ感染の原因であるというＨＢＶ

分野での確立されたコンセンサスとは対照的に、本発明は、Ｂ型肝炎を治癒するためには、ＨＢｓＡｇに対する高レベルの特異的体液性免疫が必要であることを強調する。

【０００９】

一実施形態では、本発明は、ｃｃｃＤＮＡ排除のための特異的ＨＢＶ細胞免疫を通じて、ＨＢＶ　ｃｃｃＤＮＡ合成を直接阻害するか、又はＨＢＶ感染細胞を死滅させることを目的とする現在の究極の治療標的とは区別する。本発明は、ｃｃｃＤＮＡ合成を直接阻害するか、又は感染細胞を死滅させることなく、ＨＢＶ　ｃｃｃＤＮＡを低減及び排除するための方法を考案する。

【００１０】

展開する一実施形態では、本発明は、ｃｃｃＤＮＡ排除法を考案する際の２つの原理：１．ＨＢＶ感染細胞からのｃｃｃＤＮＡ自然損失を含むＨＢＶ自然除去を利用すること、及び２．ｃｃｃＤＮＡ補充を遮断することを含む

【００１１】

一実施形態では、本発明は、ｃｃｃＤＮＡ補充を遮断することは、ＨＢＶ　ｒｃＤＮＡを枯渇させることによって媒介されるべきであることを強調する。

【００１２】

一実施形態では、本発明は、ＨＢＶ　ｒｃＤＮＡを枯渇させることは、ｒｃＤＮＡ補充を遮断することを含むことを強調する。

【００１３】

一実施形態では、本発明は、ｒｃＤＮＡ補充を遮断することは、主に、新たな感染ラウンドを遮断することを必要とすることを強調する。

【００１４】

承認されているか、又は開発中のＨＢＶ薬物に対する現在のＨＢＶ治療方法は、細胞内ＨＢＶ複製の阻害に焦点を当てており、本発明に開示されているＨＢＶ中和抗体レベルを直接増加させることを目的としていない。

【００１５】

いくつかのバイオ医薬品企業は、外因性のＨＢＶ中和抗体を開発している。しかしながら、彼らは、ヒトＩｇＧのＦｃ部分に変異を導入することなく、通常の抗ＨＢｓ抗体がｕＰＡ／ＳＣＩＤキメラマウスにおいて同等の治療有効性をもたらすことができるにもかかわらず、観察された有効性を、直接中和の機能ではなく、Ｆｃ受容体媒介細胞機能に帰する（Ｌａｍｐｐ，Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ　７４，５１３Ａ（２０２１）、Ｚｈａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｕｔ　６５，６５８－６７１（２０１６）．）。更に、これらの外因性抗体は、治療レベルを維持するために繰り返しの注入が必要であるため、持続的な治療効果をもたらすことができない。

【００１６】

一実施形態では、本発明は、ウイルス粒子がヒト肝臓内の肝細胞に付着するのを防止する完全及びサブウイルス粒子の付着部位に直接結合するＨＢＶ中和抗体による直接中和の機能を強調する。ウイルス粒子による肝細胞への付着がなくなると、新たな感染ラウンドを開始するためのウイルス侵入がなくなる。したがって、ウイルス粒子の付着部位に対するＨＢＶ抗体は、ＨＢＶ感染性の最も効果的な中和を提供する。そのような抗体結合特異性は、ｒｃＤＮＡ及びｃｃｃＤＮＡ補充を遮断するために重要である。

【００１７】

一実施形態では、本発明は、ＨＢＶ中和抗体を発現する内因性能力の増加が、持続的なｃｃｃＤＮＡ損失及び排除並びにＨＢＶ治癒をもたらすことにおいて最も効果的であることを強調する。

【００１８】

いくつかの既存のＨＢＶ治療用ワクチンは、臨床試験において失望的な結果を示す。治療用ワクチンの機能は、抗原処理及び提示からの宿主の免疫細胞に依存して、Ｔ細胞及びＢ細胞の活性化のためのシグナル伝達を行い、抗ウイルス機能を発揮する。更に、特異的Ｔ細胞又はＢ細胞の数は限られており、ＨＢＶ感染患者において持続的に高レベルのサブ

ウイルス粒子（ＨＢｓＡｇ）を遮断するための高レベルのＨＢＶ中和抗体を産生するのに十分な能力を有さない場合がある。

【００１９】

しかしながら、本発明では、ＨＢＶ中和抗体の内因性発現は、宿主の適応免疫系とは無関係であるべきであり、非伝統的な抗体発現細胞は、ＨＢＶ中和抗体を発現する内因性能力を拡大するために必要であることが見出される。

【００２０】

一実施形態では、本出願は、単回注射後に筋肉細胞を抗ＨＢｓ抗体産生細胞に変換するＨＢＶ薬物としてのＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターを発明する。この薬物は、持続した高レベルの抗ＨＢｓ抗体の内因性発現をもたらすため、治療有効性は持続的である。

【００２１】

治療離脱はしばしばＨＢＶ感染の再発、及び致命的な結果をもたらす可能性のある肝障害の再発につながるため、現在の主流のＨＢＶ治療には生涯にわたる毎日の投薬が必要な著しい非効率性がある。連続した実施形態では、本発明は、現在の無限のＢ型肝炎治療期間を、主に単回注射を必要とする限定された治療過程に短縮する。

【００２２】

一実施形態では、本発明は、現在のＨＢＶ治療が、ＨＢＶ感染の再発及び肝障害の再発なしに安全に離脱することを可能にする。

【００２３】

残念ながら、既存の抗ウイルス治療方法では、ＨＢＶ感染から除去された細胞はウイルス粒子の付着から保護されておらず、したがって頻繁に新たな感染ラウンドにさらされるため、達成されたウイルス粒子の除去は逆効果である場合が多い。

【００２４】

一実施形態では、本発明は、持続した高レベルのＨＢＶ中和抗体で、再発するＨＢＶ感染から、ＨＢＶ感染を除去した細胞を保護する。これにより、達成された除去は、持続的となり、完全なＨＢＶ治癒が確立されるまで徐々に拡大する。

【００２５】

一実施形態では、本発明は、ＨＢＶ治療を、現在の細胞内ＨＢＶ複製の阻害から、新たな感染ラウンドの遮断に移行させる。新たなＨＢＶ感染ラウンドを遮断するためには、持続した高レベルの抗ＨＢｓ抗体が必要である。抗ＨＢｓレベルを上昇させるために探求することができるアプローチはいくつかある。１つ目は治療用ワクチンである。しかしながら、治療用ワクチンの性能は、臨床試験において失望的である（Ｆｏｎｔａｉｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｇｕｔ ６４，１３９－１４７（２０１５）．、Ｇｏｄｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｔｈｅｒａｐｙ：ｔｈｅ ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｏｆ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ２２，６７５－６８４（２０１４）、Ｍｉｃｈｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ ５４，１２８６－１２９６（２０１１）、Ｚｏｕｌｉｍ ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍａｎ ｖａｃｃｉｎｅｓ＆ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，（２０１９））．２つ目は、外因性抗ＨＢｓ抗体を繰り返し注入することであり、これは持続的ではない（Ｇａｌｕｎ ｅｔ ａｌ．，Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ ３５，６７３－６７９（２００２）、Ｓｎｅｈａ Ｖ．Ｇｕｐｔａ ｅｔ ａｌ ＥＡＳＬ ２０２１ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｌｉｖｅｒ Ｃｏｎｇｒｅｓｓ．（２０２１），ｐｐ．ＰＯ＿４３＿ＩＬＣ２０２１）、又はＭｙｒｃｌｕｄｅｘ Ｂなどの侵入阻害剤の毎日の注射（Ｂｏｇｏｍｏｌｏｖ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ ６５，４９０－４９８（２０１６））であるが、これは、ウイルス粒子と反応せず、ＨＢＶ粒子が肝細胞に付着するのを防止することができず、ＨＢＶ感染したｕＰＡ／ＳＣＩＤキメラマウス及び慢性感染したヒトの両方における確立されたＨＢＶ感染における新たな感染ラウンドを遮断する有効性が低い。本発明の発明者は、工学的な体液性免疫学的アプローチを利用して、慢性ＨＢＶ感染患者における抗ＨＢｓ欠乏症を持続的に治療することができる新しいＨＢＶ治癒薬物を開発することを選択する。具体的には、最適化されたＡＡＶベクターを使用して、ヒト

抗ＨＢｓ遺伝子を担持し、得られた薬物は、ＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターと呼ばれ、主要な候補のうちの１つは、本出願に記載されているようなＨＢＶＺ１０である。ＨＢＶＺ１０は、骨格筋細胞への単回注射後に、持続的に高レベルの抗ＨＢｓ抗体を内因性に発現することができる。この工学的な体液性免疫学的アプローチは、慢性ＨＢＶ感染におけるＨＢＶ特異的Ｔ（Ｇｅｈｒｉｎｇ ａｎｄ Ｐｒｏｔｚｅｒ，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ １５６，３２５－３３７ （２０１９））及びＢ細胞（Ｂｕｒｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｉｎｖｅｓｔｉｇａｔｉｏｎ，（２０１８））の両方において顕著な欠失を回避する適応免疫に依存しない。

【００２６】

表３は、現在のＨＢＶ治療及び薬物に対する本発明の主な利点を要約する。

【表３】

表３．既存のＨＢＶ治療及び薬物に対する本発明の主な利点

	本発明	既存の HBV 治療及び薬物
安全に治療を中止	✓	X
1 回限りの出費	✓	X
持続的な有効性	✓	X
抗 HBs 変換	✓	X
rcDNA 補充の遮断	✓	X
cccDNA 補充の遮断	✓	X
rcDNA の枯渇	✓	X
cccDNA の排除	✓	X
HBV 治癒	✓	X
単回注射	✓	X
独立した宿主の適応免疫	✓	X

【００２７】

上記の発見に基づいて、本出願の発明者は、慢性Ｂ型肝炎感染を効果的に治療するためのいくつかの方法を開発した。

【００２８】

一実施形態では、本発明は、ヒト慢性Ｂ型肝炎ウイルス（ＨＢＶ）感染患者の肝臓細胞におけるｃｃｃＤＮＡ（共有結合閉環状ＤＮＡ）及び／又はｒｃＤＮＡ（弛緩型環状ＤＮＡ）を３ヶ月以上低減又は排除することによって、ＨＢＶ感染を治療する方法を対象とする。

【００２９】

一実施形態では、ＨＢＶ感染患者の肝臓細胞におけるＨＢＶ ｃｃｃＤＮＡレベルが、≦１コピー／細胞、≦１コピー／１０細胞、≦１コピー／１００細胞、≦１コピー／１，０００細胞、又は≦１コピー／１０，０００細胞に低減される。

【００３０】

別の実施形態では、感染患者の肝臓におけるｒｃＤＮＡのレベルが、≦１コピー／細胞、≦１コピー／１０細胞、≦１コピー／１００細胞、≦１コピー／１，０００細胞、又は≦１コピー／１０，０００細胞に低減される。

【００３１】

別の実施形態では、ＨＢＶ感染患者の肝臓細胞におけるＨＢＶ ｃｃｃＤＮＡ及びｒｃＤＮＡレベルが、血液中の高レベルの抗ＨＢｓ抗体を維持するために内因的に抗ＨＢｓ抗体を発現する外因性抗ＨＢｓ抗体及び／又はウイルス若しくは非ウイルスベクター若しくはナノ粒子を投与することによって、持続的に低減される。

【００３２】

別の実施形態では、ＨＢＶ感染患者の肝臓細胞におけるｃｃｃＤＮＡの低減又は排除が

、患者の血液中の高レベルのＨＢＶ中和抗体を維持することによって、患者の血液中のＨＢＶ　ＤＮＡ、ＨＢｅＡｇ、及びＨＢｓＡｇのレベルを低減させるか、又は検出不能にすることによって明らかにされる。

【００３３】

別の実施形態では、患者の血液中の高レベルのＨＢＶ中和抗体を維持することが、血清ＨＢｓＡｇ陽性及び抗ＨＢｓ陰性（ＨＢｓＡｇ＋／抗ＨＢｓ－）を血清ＨＢｓＡｇ陰性及び抗ＨＢｓ陽性（ＨＢｓＡｇ－／抗ＨＢｓ＋）に持続的に変化させるのに十分な量の抗ＨＢｓ抗体を内因的に又は外因的に注入することによって達成される、完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンによって表される。

【００３４】

別の実施形態では、十分な抗ＨＢｓ抗体で完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現することが、血清ＨＢｓＡｇ損失又は血清クリアランスを誘導する最も効果的な方法のうちの１つである。

【００３５】

別の実施形態では、完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンが、ＨＢＶ治癒的治療の主な目標であり、より効果的なＨＢＶ機能的治癒をもたらすために必要とされる。

【００３６】

別の実施形態では、より効果的なＨＢＶ機能的治癒をもたらすことが、持続した高レベルの抗ＨＢｓ抗体を発現又は投与することによって、最初に血清ＨＢｓＡｇを除去することか、又は血清ＨＢｓＡｇを検出不能にすることを必要とする。

【００３７】

別の実施形態では、完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンが、ヌクレオチド類似体、インターフェロン、及び／又はＮＡＰ若しくはＲＮＡｉなどのＨＢＶ薬物によって、血清ＨＢｓＡｇを一過性に除去したか、又は機能的治癒を達成したＨＢＶ薬物治療患者の間で、持続的なＨＢｓＡｇ血清クリアランス又は機能的治癒を確立するために必要とされる。

【００３８】

別の実施形態では、患者の血液中の高レベルのＨＢＶ中和抗体が、１、２、３、４、５、６、７、又は８ヶ月以上維持される。

【００３９】

別の実施形態では、ＨＢＶ中和抗体は、ウイルス粒子が肝細胞に付着するのを防止することができ、したがって、ＨＢＶビリオンが肝細胞に入るのを効果的に遮断することができる抗体である。

【００４０】

別の実施形態では、高レベルのＨＢＶ中和抗体が、患者の血液中の＞１、＞１０、＞１００、＞２００、又は＞３００μｇ／ｍｌ、又は＞１０、＞１００、＞１，０００、＞１０，０００、＞２０，０００、又は＞３０，０００ｍＩＵ／ｍｌのレベルにある。

【００４１】

別の実施形態では、ＨＢＶ中和抗体が、約０．１ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、２０ｍｇ／ｋｇ、又は≧３０ｍｇ／ｋｇ体重の用量で１、２、又は３つの外因性ヒトＨＢＶ中和抗体を注入することによって患者に投与される。

【００４２】

別の実施形態では、患者の血液中の＞１、＞１０、＞１００、＞２００、若しくは＞３００μｇ／ｍｌ、又は＞１０、＞１００、＞１，０００、＞１０，０００、＞２０，０００、若しくは＞３０，０００ｍＩＵ／ｍｌの抗体のレベルを３ヶ月以上維持するために、単回、複数回、又は繰り返しの注入を含む外因性ヒト中和抗体の注入。

【００４３】

別の実施形態では、ＨＢＶ中和抗体が、１、２、又は３つの内因性発現ヒト中和抗体である。

【００４４】
別の実施形態では、内因性ヒトＨＢＶ中和抗体が、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）又はＧａｌＮＡｃ粒子のようなナノ粒子を含むウイルス又は非ウイルスベクターによって発現される。
【００４５】
別の実施形態では、ウイルス又は非ウイルスベクターは、ＨＢＶ中和抗体又は抗体断片をコードするＤＮＡ又はｍＲＮＡ配列を含有する。一実施形態では、ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクターであるか、又はアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクターを含む。一実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＨＢＶ中和抗体又はその抗体断片をコードする核酸配列を含み、したがって、ＡＡＶ－抗ＨＢＶベクターになる。
【００４６】
一実施形態では、ＡＡＶ－抗ＨＢＶベクターが、それぞれ、約１×１０^{9}ゲノムコピー／ｋｇ、１×１０^{10}ゲノムコピー／ｋｇ、１×１０^{11}ゲノムコピー／ｋｇ、１×１０^{12}ゲノムコピー／ｋｇ、２×１０^{12}ゲノムコピー／ｋｇ、２．５×１０^{12}ゲノムコピー／ｋｇ又はそれ以上の用量でＨＢＶ患者の筋肉細胞に注射される。
【００４７】
一実施形態では、ウイルス又は非ウイルスベクターが、必要に応じて一度又は複数回患者に注射される。
【００４８】
一実施形態では、ＨＢＶ中和抗体の細胞内ＨＢＶ複製阻害剤との組み合わせを介してｒｃＤＮＡを枯渇させることが、著しい、ほぼ完全な、又は完全なｃｃｃＤＮＡ損失をもたらす。
【００４９】
一実施形態では、細胞内ＨＢＶ阻害剤が、ＲＴ阻害剤、カプシド阻害剤、ＲＮＡｉ薬物、核酸ポリマー（ＮＡＰ）、インターフェロン、先天性免疫アゴニスト、及び侵入阻害剤を含む。
【００５０】
一実施形態では、ＨＢＶ中和抗体を発現するＡＡＶ抗ＨＢＶベクターが、ＨＢＶ治療未経験である慢性ＨＢＶ感染者において、ｃｃｃＤＮＡを低減及び排除するためにｃｃｃＤＮＡ補充を遮断するため、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導するため、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現するため、かつより効果的なＨＢＶ治癒のために使用される。
【００５１】
一実施形態では、ＨＢＶ中和抗体を発現するＡＡＶ抗ＨＢＶベクターが、ＨＢＶ治療を受けているが抗ウイルス薬物を安全に離脱することができない慢性ＨＢＶ感染者において、ｃｃｃＤＮＡを遮断するため、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導するため、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現するため、かつｃｃｃＤＮＡを低減及び排除するためのより効果的なＨＢＶ治癒補充のため、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導するため、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現するため、かつより効果的なＨＢＶ治癒のために使用される。
【００５２】
一実施形態では、ＨＢＶ中和抗体を発現するＡＡＶ抗ＨＢＶベクターが、それらの感染状態／段階、又はそれらの治療状態（未経験又は治療された）にかかわらず、ＨＢＶ感染フリーになることを望む慢性ＨＢＶ感染者において、ｃｃｃＤＮＡを低減及び排除するためにｃｃｃＤＮＡ補充を遮断するため、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導するため、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現するため、かつより効果的なＨＢＶ治癒のために使用される。
【００５３】
一実施形態では、ＨＢＶ中和抗体を発現するＡＡＶ抗ＨＢＶベクターが、ＨＢＶ感染妊婦又は肝臓移植を有する患者において、ｃｃｃＤＮＡを低減及び排除するためにｃｃｃＤＮＡ補充を遮断するため、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導するため、完全な抗ＨＢｓ

セロコンバージョンを実現するため、かつより効果的なＨＢＶ治癒のために使用される。

【００５４】

一実施形態では、ＨＢＶ中和抗体を発現するＡＡＶ抗ＨＢＶベクターが、ＨＢＶ感染が臨床的に解消されているが、ＨＢＶ再発のリスクが高い人々において、ｃｃｃＤＮＡを低減及び排除するためにｃｃｃＤＮＡ補充の遮断、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスの誘導、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンの実現、かつより効果的なＨＢＶ治癒のために使用される。

【００５５】

一実施形態では、本発明は、ヒト患者において、慢性ＨＢＶ感染を治療し、かつ／又はＨＢＶ感染の再発に対する保護を提供する方法であって、ＨＢＶ感染ヒト患者に、十分な量のＨＢＶ中和抗体又は抗体断片を投与することを含み、当該量のＨＢＶ中和抗体が、ｒｃＤＮＡ及びｃｃｃＤＮＡの両方を補充することを遮断するレベルにあり、ｒｃＤＮＡを＜１コピー／細胞に低減及び枯渇させることを可能にし、ｃｃｃＤＮＡを＜１コピー／細胞に低減及び排除することを促進する、方法を対象とする。

【００５６】

一実施形態では、慢性ＨＢＶ感染の治療が、ＨＢＶに感染した新生児／小児の治療を含む。別の実施形態では、慢性ＨＢＶ感染の治療が、ＨＢＶに感染した成人を治療することを含む。

【００５７】

一実施形態では、ＨＢＶ感染ヒト患者が、６ヶ月を超える間ＨＢｓＡｇ陽性であり、正常又は上昇したアラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）レベルを有する慢性ＨＢＶ感染個体である。別の実施形態では、ＨＢＶ感染ヒト患者が、ＨＢＶ陽性の妊婦、又はＨＢｓＡｇ陽性若しくはＨＢｓＡｇ陰性／抗Ｂ型肝炎コア抗体（抗ＨＢｃ）陽性であり、移植後にＨＢＶ感染が再発しやすい臓器移植レシピエントである。

【００５８】

一実施形態では、ＨＢＶ中和抗体又は抗体断片が、ＨＢＶ治療用ベクターによって産生される。

【００５９】

一実施形態では、ＨＢＶ治療用ベクターが、ベクターの混合集団であって、その各々が、ＨＢＶエンベロープタンパク質の１つ以上のエピトープに結合する１つの特異的抗ＨＢｓ抗体若しくは抗体断片をコードする、ベクターの集合集団、又はＨＢＶエンベロープタンパク質の１つ以上のエピトープに結合する１つのＨＢＶ中和抗体若しくは抗体断片をコードする単一のベクターを含む。一実施形態では、ＨＢＶ中和抗体又は抗体断片が、以下に記載される抗体のうちの１つである。

【００６０】

本発明で使用される抗Ｂ型肝炎薬物

ｃｃｃＤＮＡ及び／又はｒｃＤＮＡを排除又は枯渇させることができる任意の既存の又は新たに開発された抗Ｂ型肝炎薬物を、上記の治療方法において使用することができる。そのような薬物としては、外因性又は内因性に発現する抗体薬物、小分子薬物、ペプチド薬物、及びベクター薬物が挙げられるが、これらに限定されない。単回注射後に抗ＨＢｓ抗体を内因的に発現する以下のＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターベースのＨＢＶ薬物を本発明で設計及び試験し、上記の治療方法で使用した場合に慢性肝炎感染に対して有効であることが見出された。合計９つのＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターは、以下の配列を含む。

【００６１】

核酸配列番号１は、配列番号２のアミノ酸配列をコードする。配列番号２は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ１０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の重鎖の可変領域である。

【００６２】

核酸配列番号３は、配列番号４のアミノ酸配列をコードする。配列番号４は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ１０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の軽鎖

の可変領域である。
【００６３】
核酸配列番号５は、配列番号６のアミノ酸配列をコードする。配列番号６は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ２０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の重鎖の可変領域である。
【００６４】
核酸配列番号７は、配列番号８のアミノ酸配列をコードする。配列番号８は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ２０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の軽鎖の可変領域である。
【００６５】
核酸配列番号９は、配列番号１０のアミノ酸配列をコードする。配列番号１０は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ３０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の重鎖の可変領域である。
【００６６】
核酸配列番号１１は、配列番号１２のアミノ酸配列をコードする。
配列番号１２は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ３０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の軽鎖の可変領域である。
【００６７】
核酸配列番号１３は、配列番号１４のアミノ酸配列をコードする。
配列番号１４は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ４０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の重鎖の可変領域である。
【００６８】
核酸配列番号１５は、配列番号１６のアミノ酸配列をコードする。
配列番号１６は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ４０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の軽鎖の可変領域である。
【００６９】
核酸配列番号１７は、配列番号１８のアミノ酸配列をコードする。
配列番号１８は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ５０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の重鎖の可変領域である。
【００７０】
核酸配列番号１９は、配列番号２０のアミノ酸配列をコードする。
配列番号２０は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ５０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の軽鎖の可変領域である。
【００７１】
核酸配列番号２１は、配列番号２２のアミノ酸配列をコードする。
配列番号２２は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ６０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の重鎖の可変領域である。
【００７２】
核酸配列番号２３は、配列番号２４のアミノ酸配列をコードする。配列番号２４は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ６０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の軽鎖の可変領域である。
【００７３】
核酸配列番号２５は、配列番号２６のアミノ酸配列をコードする。
配列番号２６は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ７０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の重鎖の可変領域である。
【００７４】
核酸配列番号２７は、配列番号２８のアミノ酸配列をコードする。
配列番号２８は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ７０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の軽鎖の可変領域である。
【００７５】

核酸配列番号２９は、配列番号３０のアミノ酸配列をコードする。
配列番号３０は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ８０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の重鎖の可変領域である。
【００７６】
核酸配列番号３１は、配列番号３２のアミノ酸配列をコードする。配列番号３２は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ８０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の軽鎖の可変領域である。
【００７７】
核酸配列番号３３は、配列番号３４のアミノ酸配列をコードする。
配列番号３４は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ９０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の重鎖の可変領域である。
【００７８】
核酸配列番号３５は、配列番号３６のアミノ酸配列をコードする。配列番号３６は、４つの血清型のＨＢｓＡｇに対するＨＢＶＺ９０ヒト抗ＨＢｓモノクローナルＩｇＧ１抗体の軽鎖の可変領域である。
【００７９】
核酸配列番号３７は、２つのＩＴＲ（ＡＡＶからの逆方向末端反復）、チキンベータアクチンプロモーター、ヒトＩｇＧ１重鎖及び軽鎖の定常領域、ＷＰＲＥ（ウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント）、及びＳＶ４０ポリアデニル化シグナルを含む３７５８ｂｐからなるＡＡＶベクターの核酸配列である。このＡＡＶベクター（配列番号３７）は、重鎖及び軽鎖の両方の２つの可変領域をクローニングして、完全なヒトＩｇＧ１モノクローナル抗ＨＢｓ抗体を発現させることを可能にする。一実施形態では、本発明は、ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、ＶＨが、配列番号２のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、ＶＬが、配列番号４のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記単離結合分子又は抗原結合断片をコードする核酸分子を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記の核酸分子を含むベクターを対象とする。
【００８０】
一実施形態では、本発明は、ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、ＶＨが、配列番号６のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、ＶＬが、配列番号８のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記単離結合分子又は抗原結合断片をコードする核酸分子を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記の核酸分子を含むベクターを対象とする。
【００８１】
一実施形態では、本発明は、ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、ＶＨが、配列番号１０のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、ＶＬが、配列番号１２のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記単離結合分子又は抗原結合断片をコードする核酸分子を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記の核酸分子を含むベクターを対象とする。
【００８２】
一実施形態では、本発明は、ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、ＶＨが、配列番号１４のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、ＶＬが、配列番号１６のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有す

るそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記単離結合分子又は抗原結合断片をコードする核酸分子を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記の核酸分子を含むベクターを対象とする。

【００８３】

一実施形態では、本発明は、ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、ＶＨが、配列番号１８のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、ＶＬが、配列番号２０のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記単離結合分子又は抗原結合断片をコードする核酸分子を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記の核酸分子を含むベクターを対象とする。

【００８４】

一実施形態では、本発明は、ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、ＶＨが、配列番号２２のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、ＶＬが、配列番号２４のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記単離結合分子又は抗原結合断片をコードする核酸分子を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記の核酸分子を含むベクターを対象とする。

【００８５】

一実施形態では、本発明は、ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、ＶＨが、配列番号２６のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、ＶＬが、配列番号２８のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記単離結合分子又は抗原結合断片をコードする核酸分子を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記の核酸分子を含むベクターを対象とする。

【００８６】

一実施形態では、本発明は、ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、ＶＨが、配列番号３０のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、ＶＬが、配列番号３２のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記単離結合分子又は抗原結合断片をコードする核酸分子を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記の核酸分子を含むベクターを対象とする。

【００８７】

一実施形態では、本発明は、ＨＢＶビリオン及び／又はＨＢｓＡｇサブウイルス粒子に特異的に結合する単離結合分子又はその抗原結合断片であって、抗体ＶＨであって、ＶＨが、配列番号３４のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＨ、及び抗体ＶＬであって、ＶＬが、配列番号３６のアミノ酸配列を含む、抗体ＶＬ、又は少なくとも９５％の配列相同性を有するそれらのバリアントを含む、単離結合分子又はその抗原結合断片を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記単離結合分子又は抗原結合断片をコードする核酸分子を対象とする。一実施形態では、本発明は、上記の核酸分子を含むベクターを対象とする。

【００８８】

一実施形態では、本発明は、上記の単離結合分子又は抗原結合断片のうちの１つ以上を含む組成物を対象とする。

【００８９】

一実施形態では、本発明は、上記の抗体のうちの１つ以上と、薬学的に許容される担体と、を含む、薬学的組成物に関する。

【００９０】

一実施形態では、完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンは、血清ＨＢｓＡｇ損失を誘導する最も効果的な方法である。

【００９１】

ＲＮＡｉ薬物（ｓｉＲＮＡ又はアンチセンスＲＮＡ）及び核酸ポリマー（ＮＡＰ）を含むいくつかの薬物候補があり、これらは、ＨＢｓＡｇの合成を直接抑制するか、又は／及び感染細胞からのＨＢｓＡｇ分泌を遮断し、数ヶ月かかる血清ＨＢｓＡｇの低減につながる。ＲＮＡｉ薬物による平均血清ＨＢｓＡｇ低減は、約１．５ｌｏｇである。利用可能なデータは、＞１０，０００ＩＵ／ｍｌの高ＨＢｓＡｇレベルを有する患者が、ＲＮＡｉ薬物にあまり反応しないことを示す。ＮＡＰ誘発性血清ＨＢｓＡｇの低減は、通常、安全性の懸念を引き起こす肝損傷を伴う。

【００９２】

本発明は、血清ＨＢｓＡｇを、検出不可能なレベルに低減させる最も効果的な方法、すなわち、発現又は注入されるか、又はその両方の組み合わせのいずれかの十分な量の抗ＨＢｓ抗体を提供することによって、完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンを誘導することを意味する。図７に示すように、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンは、ベースラインレベルに応じて血清ＨＢｓＡｇレベルを３～５ｌｏｇから低減させ、ＲＮＡｉ薬物による平均１．５ｌｏｇよりもはるかに効果的であった。＞血清ＨＢｓＡｇレベルである十分な抗ＨＢｓ抗体が提供される場合、血清ＨＢｓＡｇレベルが検出できなくなるまで数日しかかからない。抗ＨＢｓレベル＞血清ＨＢｓＡｇレベルを維持すると、ＨＢｓＡｇ損失が持続的になる。

【００９３】

一実施形態では、ＡＡＶ－抗ＨＢｓベクター又は抗ＨＢｓ抗体を添加又は組み合わせると、現在の生涯にわたる毎日の投薬は、９週間という短い有限期間に短縮することができる。

【００９４】

生涯にわたる投薬を必要とする主な理由は、現在のヌクレオチドアナログによる療法が、慢性ＨＢＶ感染で発生する新たな感染ラウンドに対処しておらず、抗ＨＢｓレベルが不十分であることを改善しておらず、療法を停止した場合に反発するウイルス複製を抑制する生涯にわたる治療を必要とすることである。図７に実証されるように、９週間のエンテカビル治療へのＡＡＶ－抗ＨＢｓベクター及び外因性抗ＨＢｓ抗体の遅延添加は、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを有する８匹中５匹のマウスにおいてＨＢＶ機能的治癒を達成し、現在の生涯にわたるＨＢＶ治療が９週間という短い有限期間に短縮され得るという概念実証を確立した。したがって、ＨＢＶ治療を短縮するための重要な方法は、現在の療法に十分なＡＡＶ－抗ＨＢｓベクター及び／又は外因性抗ＨＢｓ抗体を追加することであり、抗ＨＢｓ抗体レベルは血清ＨＢｓＡｇレベルよりも常に高くなければならない。

【００９５】

一実施形態では、現在の療法によって、又はＨＢＶ自然除去によって媒介される非持続的な血清ＨＢｓＡｇ損失又は機能的治癒は、予防され、持続的なＨＢｓＡｇ損失及び機能的治癒に変換され得る。

【００９６】

血清ＨＢｓＡｇ損失又はＨＢＶ機能的治癒は、自然に又は現在の療法を通じて達成することができるが、そのような治癒又はＨＢｓＡｇ損失はまれであり、非持続的である場合がある。非持続的なＨＢｓＡｇ損失又は機能的治癒の主な理由は、慢性ＨＢＶ感染患者における十分な抗ＨＢｓ抗体の欠如である。図７に実証されるように、十分に高レベルの抗ＨＢｓ抗体が提供され、維持された場合、血清ＨＢｓＡｇ損失又はＨＢＶ機能的治癒は持続的になった。したがって、持続的な血清ＨＢｓＡｇ損失及び／又は持続的なＨＢＶ機能的治癒を達成するための重要な方法は、血清ＨＢｓＡｇレベルよりも常に高くあるべき抗ＨＢｓレベルを提供し、維持することである。

【００９７】

一実施形態では、本発明は、ヒト患者において、慢性ＨＢＶ感染を治療し、再発新たな

ＨＢＶ感染ラウンドに対する保護を提供する方法であって、ＨＢＶ感染ヒト患者に、十分な量のＨＢＶ中和抗体又は抗体断片を投与することを含み、当該量のＨＢＶ中和抗体が、ｒｃＤＮＡ及びｃｃｃＤＮＡの両方を補充することを遮断するレベルにあり、ｒｃＤＮＡを＜１コピー／細胞に低減及び枯渇させることを可能にし、ｃｃｃＤＮＡを＜１コピー／細胞に低減及び排除することを促進し、ＨＢｓＡｇ血清クリアランスを誘導し、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを実現し、より効果的なＨＢＶ治癒をもたらす、方法を対象とする。

【００９８】

一実施形態では、慢性ＨＢＶ感染の治療が、ＨＢＶに感染した新生児／小児の治療を含む。

【００９９】

一実施形態では、慢性ＨＢＶ感染の治療が、ＨＢＶに感染した成人を治療することを含む。

【０１００】

一実施形態では、ＨＢＶ感染ヒト患者が、６ヶ月を超える間ＨＢｓＡｇ陽性であり、正常又は上昇したアラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）レベルを有する慢性ＨＢＶ感染個体である。

【０１０１】

一実施形態では、ＨＢＶ感染ヒト患者が、ＨＢＶ陽性の妊婦、又はＨＢｓＡｇ陽性若しくはＨＢｓＡｇ陰性／抗Ｂ型肝炎コア抗体（抗ＨＢｃ）陽性であり、陽性であり、移植後にＨＢＶ感染が再発しやすい臓器移植レシピエントである。

【０１０２】

一実施形態では、ＨＢＶ中和抗体又は抗体断片が、ＨＢＶ治療用ベクターによって産生される。

【０１０３】

一実施形態では、ＨＢＶ治療用ベクターが、ベクターの混合集団であって、その各々が、ＨＢＶエンベロープタンパク質の１つ以上のエピトープに結合する１つの特異的抗ＨＢｓ抗体若しくは抗体断片をコードする、ベクターの集合集団、又はＨＢＶエンベロープタンパク質の１つ以上のエピトープに結合する１つのＨＢＶ中和抗体若しくは抗体断片をコードする単一のベクターを含む。

【実施例】

【０１０４】

実施例１．ＨＢＶ感染及び治療のためのｕＰＡ／ＳＣＩＤキメラマウスを使用する実験手順。

合計３２匹の雄ｕＰＡ／ＳＣＩＤキメラマウスを、１日目に5×10^{8}個のＨＢＶ　ＤＮＡコピーの接種物で感染させた。マラリア抗体（抗体特異性対照）又は抗ＨＢｓ抗体を発現するＡＡＶベクターを、感染後（ｐｉ）７週間の1×10^{11}ゲノムコピーの用量で右大腿筋細胞に筋肉内注射し、次いで追加の３０週間モニタリングした（図７）。１８３日目までに２０匹の動物が残っており、２５３日目（終了日）には１０匹の動物が残っていた。

【０１０５】

統計分析のための十分な数の動物を有する理由から、血清学的データを１８３日目まで報告した。１８個の肝臓からの肝内ＨＢＶ　ＤＮＡデータであって、そのうちの８個は、２０４日目前後に収集され、残りの１０個は、２５３日目に収集された。各肝臓は、各サンプリングについて２０～３０ｍｇの組織を切断することによって、少なくとも２０回無作為にサンプリングされ、また分析された。各サンプリングにおけるＨＢＶレベルを個別に定量的に決定し、各肝臓の２０回のサンプリングから平均ＨＢＶレベルを計算した。

【０１０６】

実施例２．２つの群における動態血清抗体レベル

図１Ａに示すように、５匹のマウスに、ｐｉ４９日目に、発現対照としてマラリア抗体

を発現するＡＡＶベクターを注射し、発現した抗体レベルを、観察期間（約２００日、１８３日後の時点は示さない）を通して１００ｍｇ／ｍｌを超えて維持したことから、この最適化されたＡＡＶベクターは、単回注射後に、持続した高レベルの抗体を発現することができることが示唆される。

【０１０７】

抗ＨＢｓ治療を行った１５匹の動物（図１Ｂ）のうち、１３匹に、抗ＨＢｓ抗体を発現するＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターを注射し、残りの２匹の動物（Ｎｏ．９７０及びＮｏ．９０９）に、対照として、ｐｉ７４日目に開始した１注射当たり２５０ｍｇの用量で、外因性マウス抗ＨＢｓ抗体を３週間毎に注射した。ほとんどのマウスにおける動態抗ＨＢｓレベルは、マラリア抗体レベルに匹敵する約１００ｍｇ／ｍｌであったが、いくつかの動物においても約１０ｍｇ／ｍｌ以下を検出した。

【０１０８】

実施例３．ＨＢＶ感染レベルは、抗ＨＢｓ抗体で治療された動物で著しく低かった

全ての動物の平均ウイルス血症は、ｐｉ４９日目に$1E^{8}$～$1E^{9}$ＨＢＶ　ＤＮＡコピー／ｍｌの範囲であり、ヘパドナウイルスが感受性細胞内でインビボ又はインビトロ感染を確立するのに＜２４時間しかかからないため、それらの肝臓が３５日間（ｐｉ１４日目～４９日目、図２Ａ）、＞1×10^{7}ＨＢＶ　ＤＮＡコピー／ｍｌのウイルス血症に曝露されていたため、全ての感染性細胞が感染したはずであることを示唆している。抗ＨＢｓ抗体（抗ＨＢｓ－合計）で治療した１５匹のマウスにおける平均ウイルス血症は、４９日目のＡＡＶ注射前のマラリア抗体群における平均ウイルス血症よりも低かった。抗ＨＢｓ－合計群のウイルス血症は、ＡＡＶベクター又は抗ＨＢｓ注射後に減少し、マラリア抗体群よりも低下し、抗ＨＢｓ治療に対する応答を実証した。その後、両群のウイルス血症は急増し、ピークに達した。抗ＨＢｓ－合計群における低減したウイルス血症は、ピーク後に再び検出可能になったが、マラリア群におけるウイルス血症は安定したままであった（図２Ａ）。

【０１０９】

抗ＨＢｓ群の１５匹のマウスを、ＨＢＶ感染が典型的なピークウイルス血症に達したかどうかに基づいて、抗ＨＢｓ－Ａ（ｎ＝９）及び抗ＨＢｓ－Ｂ群（ｎ＝６）に更に分けた。抗ＨＢｓ－Ａ群のウイルス血症は、典型的なピーク（血清ＨＢＶ　ＤＮＡレベル＞$1E^{10}$コピー／ｍｌ）に達した後、ウイルス血症の低減が続き、抗ＨＢｓ－Ｂ群のＨＢＶ感染は、遅延したが、まだピークに達していなかった。マラリア抗体と抗ＨＢｓ－Ｂ群との間のウイルス血症の差は、いくつかの時点で＞１００倍であった。

【０１１０】

１８３日目の平均ウイルス血症は、マラリア群と比較して、抗ＨＢｓ－合計群及び抗ＨＢｓ－Ｂ群の両方で著しく低かった（ｐ＝０．０２９及びｐ＝０．０１２、図２Ｂを参照）。３つの抗ＨＢｓ群全てにおける１８３日目の平均血清ＨＢｓＡｇレベルは、マラリア群と比較して著しく低かった（図２Ｂ。抗ＨＢｓ－合計についてはｐ＝０．０００９、抗ＨＢｓ－Ａについてはｐ＝０．０１２８、抗ＨＢｓ－Ｂについてはｐ＝０．０００８）。

【０１１１】

ウイルス血症及びＨＢｓＡｇデータの両方が、全ての感染性細胞が感染した後に新たな感染ラウンドを遮断することが、ＨＢＶ感染レベルを著しく低下させることができることを示唆している。言い換えれば、ＨＢＶ感染レベルは、新たな感染ラウンドのレベルによって決定される。

【０１１２】

実施例４．試験動物Ｎｏ．９７０におけるＨＢＶ機能的治癒

試験動物Ｎｏ．９７０におけるベースラインウイルス血症は、ＣＨＢ患者における高ウイルス血症に類似して、抗ＨＢｓ治療前に4.6×10^{8}ＨＢＶ　ＤＮＡコピー／ｍｌに達した。抗ＨＢｓ治療により、ウイルス血症を1×10^{8}から1×10^{4}に４ｌｏｇ低減させ、それを一時的に治療前レベルまで急増させ、その後、終了まで４週間検出不能になった（図３Ａ）。

【０１１３】
動物Ｎｏ．９７０の血清ＨＢｓＡｇは、抗ＨＢｓ治療後、連続して６ヶ月間検出不能になったが、抗ＨＢｓレベルは、ｐｉ７７日目に６０ｍｇ／ｍｌに達し、観察期間のほとんどの時点で＞１００ｍｇ／ｍｌで持続し（図３Ａ）、これは、完全で持続した抗ＨＢｓセロコンバージョンを表した。
【０１１４】
図３Ｂにおける肝内ｒｃＤＮＡ及びｃｃｃＤＮＡの前処理レベルへの参照を提供するために、図３Ａにプロットされた参照として、試験動物番号９７０の前処理レベルと同等のベースラインウイルス血症を有した試験動物番号９７３を使用した。
【０１１５】
血清学的データは、ＨＢＶ感染の機能的治癒が試験動物Ｎｏ．９７０において達成されたことを示唆する。このＨＢＶ治癒過程は、約６ヶ月かかった（第１の抗ＨＢｓ注射を用いた７４日目から、検出不可能なＨＢＶ　ＤＮＡを用いた２３９日目まで）。
【０１１６】
知る限りでは、試験動物番号９７０は、堅牢なＨＢＶ感染を支持するＨＢＶ感染キメラマウスモデルにおける試験された介入を伴うＨＢＶ機能的治癒の成功の最初の事例を表す。
【０１１７】
試験動物Ｎｏ．９７０の第１及び第２ラウンドの２０回の肝臓サンプリングにおける平均細胞内ｒｃＤＮＡレベルは、０．６６及び０．１８コピー／細胞であり、これは、肝臓が治療前レベル対照として機能する動物９７３（ｐ＝１．３３ｘ１０$^{-9}$及び１．２９ｘ１０$^{-9}$）よりも５００及び１８００倍低かった。平均ｃｃｃＤＮＡレベルは、動物９７０における２ラウンドの２０回のサンプリングにおいて、それぞれ、２００細胞当たり１コピー（０．００５コピー／細胞）及び１２５０細胞当たり１コピー（０．０００８／細胞）であり、すなわち、ｃｃｃＤＮＡは、試験動物Ｎｏ．９７３と比較して１００～６７５倍低かった（ｐ＝５．２７ｘ１０$^{-7}$及び４．６９ｘ１０$^{-7}$、図３Ｂ）。結果は、ｒｃＤＮＡ及びｃｃｃＤＮＡの両方が、試験動物Ｎｏ．９７０において著しい損失を受けたことを示す。
【０１１８】
第１ラウンドの２０回のサンプリングのうちの７回及び第２ラウンドの２０回のサンプリングのうちの２０回の平均ｒｃＤＮＡレベルは、≦１コピー／細胞であり、第１ラウンド及び第２ラウンドの２０回のサンプリングのうちの３回及び８回のｃｃｃＤＮＡサンプリングでは、それぞれ、ｃｃｃＤＮＡが検出されなかったが、ほとんどのサンプリングで検出されたｃｃｃＤＮＡレベルは、７７細胞当たり１コピーから１１，１００細胞まで非常に低く（図３Ｃ１及びＣ２）、これは、感染細胞の圧倒的多数が２５３日目にこの肝臓でｃｃｃＤＮＡを失ったことを示唆している。
【０１１９】
抗ＨＢｓ抗体は主に細胞外で機能し、ｃｃｃＤＮＡ排除は、ｃｃｃＤＮＡ自然損失の結果であった。試験動物Ｎｏ．９７０からのｃｃｃＤＮＡデータはまた、抗ＨＢｓ単独療法が、持続した高レベルの抗ＨＢｓ抗体によるｒｃＤＮＡ補充を遮断することによって、完全なｃｃｃＤＮＡ除去をもたらす可能性があることを示唆する。
【０１２０】
実施例５．動的ｃｃｃＤＮＡ状態及びｃｃｃＤＮＡ自然損失
多様なｃｃｃＤＮＡレベルが、同じ肝臓の異なるサンプリングで観察され、例えば、最低のｃｃｃＤＮＡレベルは０．５コピー／細胞（サンプリング１７）であり、最高のｃｃｃＤＮＡレベルは３１コピー／細胞（サンプリング１８）であり、差は、マラリア抗体で治療された動物９０７のサンプリング間で６０倍であった（図４Ａ）。抗ＨＢｓ抗体で治療した試験動物Ｎｏ．９０９では、最高レベルは６．６コピー／細胞であり、最低レベルは０．１８コピー／細胞であり（図４Ｂ）、差は＞３０倍であった。試験動物Ｎｏ．９０９及び試験動物Ｎｏ．９０７の両方における多様なｃｃｃＤＮＡレベルは、動的ｃｃｃＤ

ＮＡ状態を示し、すなわち、ｃｃｃＤＮＡは、いくつかの細胞において増幅され、一方、他の細胞において消失した。試験動物Ｎｏ．９０７及び試験動物Ｎｏ．９０９の２０回のサンプリング中の平均ｒｃＤＮＡレベルは、それぞれ、１０，４６７（６，９９２～１４，６１０コピー／細胞の範囲）及び３，５８３コピー／細胞（２，３０４～１１，１４５コピー／細胞の範囲）であり、サンプリングのうちほとんどの細胞がＨＢＶ感染細胞であったことを示唆していることに留意されたい。

【０１２１】

この実験では、ｃｃｃＤＮＡ分子が感染細胞の一部において既に消失していたことも観察された。

【０１２２】

≦１コピー／細胞の平均ｃｃｃＤＮＡレベルを、マラリア抗体で治療した試験動物Ｎｏ．９０７における２０回のサンプリングのうちの５回で検出し、抗ＨＢｓ抗体で治療した試験動物Ｎｏ．９０９における２０回のサンプリングのうちの１７回で検出した（図４Ａ及びＢ）。合計５６６個のｃｃｃＤＮＡ試料を分析し、そのうちの２６０個（４６％）でｃｃｃＤＮＡレベル≦１コピー／細胞を検出した（図４Ｃ）。平均ｃｃｃＤＮＡレベルが≦１コピー／細胞である場合、いくつかの細胞におけるｃｃｃＤＮＡは、他の細胞には存在しないが＞１コピーであり、ｃｃｃＤＮＡは、キメラマウスにおけるＨＢＶ感染ヒト肝細胞における感染細胞の一部において既に消失していたことを示唆する。肝臓を採取したｐｉ２５３日目までに、全てのＨＢＶ感染細胞がヒト肝臓細胞に感染していなければならないことに留意されたい。

【０１２３】

平均ｃｃｃＤＮＡレベルが≦１コピー／細胞の肝臓サンプリングの割合は、マラリア抗体群よりも抗ＨＢｓ群で著しく高く（ｐ＜０．００１、図４Ｄ）、これは、新たな感染ラウンドを遮断することが、ｃｃｃＤＮＡを自然に消失した細胞における新規感染媒介ｃｃｃＤＮＡ補充を遮断し、ｃｃｃＤＮＡが≦１コピー／細胞の細胞の数を拡大する可能性が高く、すなわち、新たな感染ラウンドを遮断することが、十分な抗ＨＢｓ抗体がない場合に補充され得る正味ｃｃｃＤＮＡ損失を確立し、拡大することを示唆している。

【０１２４】

感染細胞の一部分で観察されたｃｃｃＤＮＡ自然損失は、ｃｃｃＤＮＡ生物学を理解するためだけでなく、ＨＢＶ治癒治療のためにも重要な知見であり、ｃｃｃＤＮＡが、感染細胞から自然に排除されることができるという証拠を提供する。これは、ＨＢＶ治癒を確立するための基礎を形成する。

【０１２５】

実施例６．新たな感染ラウンドを遮断することによって著しく低下したｒｃＤＮＡレベル

ＨＢＶ感染ｕＰＡ／ＳＣＩＤキメラマウスからの肝内ｒｃＤＮＡレベルを、２組の肝臓試料において分析した。第１の組の試料は、８つの肝臓を含み、それらのうちの３つは、治療対照としてＡＡＶベクター発現マラリア抗体で治療され、残りの５つの肝臓は、抗ＨＢｓ抗体で治療され、抗ＨＢｓ抗体を発現するＡＡＶベクターを有する４つ及びマウス抗ＨＢｓ抗体を注射された１つを含む。８つの肝臓のうちの７つをｐｉ２０４日前後に収集し、１つ（動物番号９６９）を１８３日目に収集した。発現又は注射された抗ＨＢｓ抗体による治療は、ウイルス血症を２倍から１００倍に低下させた（図５Ａ）。マラリア抗体治療を受けた３つの肝臓の各々の２０個の試料からの平均ｒｃＤＮＡレベルは、ほぼ２，０００～２，７００コピー／細胞の範囲であり、抗ＨＢｓ抗体で治療された５個の肝臓では、平均２１９～４５４コピー／細胞が検出され、すなわち、ｒｃＤＮＡレベルは、１３０日間の抗ＨＢｓ治療中に少なくとも１５００コピー／細胞著しく低下した（図５Ｂを参照）。Ｐ値は、E^{-23}～E^{-25}の範囲であった。

【０１２６】

第２の組の肝臓は、２５３日目に収集され、１０個の肝臓を含む。１つの肝臓は、ＡＡＶベクター発現マラリア抗体で治療され、他の９つの肝臓は、抗ＨＢｓ抗体で治療された（７つは、ＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターによって発現された抗ＨＢｓ抗体で、動物番号９７

０及び９０９の他の２つの肝臓は、注射されたマウス抗ＨＢｓ抗体で治療された）。マラリア抗体で治療した動物Ｎｏ．９０７における２０個の試料からの平均ｒｃＤＮＡレベルは、１０，４６７コピー／細胞であり、平均ｒｃＤＮＡレベルは、抗ＨＢｓ抗体で治療した９つの肝臓全てにわたって著しく低かった（図５Ｃを参照）。ｒｃＤＮＡレベルを低下させる効率は、異なる動物間で同等のビリオン分泌速度を想定すると、主にピークウイルス血症レベルに依存していた。例えば、１×１０^{8}～１×１０^{9}ＨＢＶ　ＤＮＡコピー／ｍｌのウイルス血症を有する動物９７０におけるｒｃＤＮＡレベルは、０．６６コピー／細胞であり、１×１０^{9}～１×１０^{10}ＨＢＶ　ＤＮＡコピー／ｍｌのウイルス血症を有する動物９５９におけるｒｃＤＮＡレベルは、６６１コピー／細胞であり、動物９０７と比較してほぼ１０，０００コピー／細胞の低減であった。平均ｒｃＤＮＡレベルは、１×１０^{10}～１×１０^{11}のウイルス血症を有する残りの７つの肝臓において４，０００～８，０００コピー／細胞低下したか、又は＞１×１０^{9}ＨＢＶ　ＤＮＡコピー／ｍｌで遅れてピークに達した。Ｐ値は、Ｅ$^{-9}$～Ｅ$^{-16}$の範囲であった（図５Ｄを参照）。

【０１２７】

実施例７．９週間のエンテカビル（ＥＴＶ）治療へのＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターのアドオン

別のラウンドの実験では、ＨＢＶに感染したｕＰＡ／ＳＣＩＤキメラマウスを、３つの群：ｉ）未治療。ｉｉ）ＥＴＶ単独療法、及びｉｉｉ）ＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターのアドオンを有するＥＴＶに分けた。ＥＴＶ治療は、ｐｉ（感染後）６週目に開始され、０．３ｍｇ／ｋｇの用量で９週間にわたって週に３回、腹腔内注射した。アドオン群では、ヒトモノクローナル抗ＨＢｓ抗体を発現するＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターを、ＥＴＶ治療の６週目又はｐｉ１１週目に１Ｅ１１ゲノムコピーの用量で筋肉内注射によって投与した。ＥＴＶは、ｐｉ１４週目に離脱され、ＨＢＶ感染は３０週までモニタリングされた。

【０１２８】

未治療のマウスにおけるＨＢＶ感染

ＨＢＶ感染は、ｐｉ８１日目頃にピークレベルに達し、３Ｅ９～２Ｅ１０　ＨＢＶ　ＤＮＡコピー／ｍｌの範囲のウイルス血症によって、及び５，０００～１０，０００ＩＵ／ｍｌの範囲の血清ＨＢｓＡｇによって実証された。その後、血清ＨＢＶ　ＤＮＡ及びＨＢｓＡｇを、安定したレベルで維持した（図６Ａ及びＢを参照）。

【０１２９】

ＥＴＶ単剤療法群でＥＴＶ中止後にＨＢＶ感染が再発した

３５日目（治療開始）のベースラインのウイルス血症は、この群では８Ｅ７～１Ｅ９の範囲であった。予想通り、ＥＴＶ治療はウイルス血症を２～３ｌｏｇ低減させたが、血清ＨＢｓＡｇレベルへの影響は検出されなかった。ＥＴＶ離脱後、ＨＢＶ　ＤＮＡレベルは徐々に回復し、最終的には未治療の動物に匹敵するレベルに達したが、血清ＨＢｓＡｇレベルは安定したままであった（図６Ａ及びＢ）。

【０１３０】

ＥＴＶ及びＡＡＶ－抗ＨＢｓベクターのアドオンで治療された動物において、ＨＢＶ再発が予防された。

【０１３１】

３５日目のベースラインのウイルス血症は、この群では３Ｅ７～１Ｅ９の範囲であった。血清ＨＢＶ　ＤＮＡレベルは、ＥＴＶ治療中に２～３ｌｏｇ低減して１Ｅ６以下であった。血清ＨＢＶ　ＤＮＡ及びＨＢｓＡｇレベルの両方におけるＨＢＶ再発は、ＥＴＶ離脱後の観察期間を通してアドオン療法を用いた１０匹の全ての動物において観察されなかった（図６Ｃ及びＤ）。抗ＨＢｓ抗体単独療法によるＨＢＶ再発の予防に成功したことは、ＨＢＶ再発が主に新たな感染ラウンドによって引き起こされることを確認した。

【０１３２】

ＨＢＶ再発の成功した予防は、ＥＴＶ離脱後のＨＢＶ感染の拡大の欠如を反映している。また、ＨＢＶの著しい低減も示さず、すなわち、ＨＢＶ感染は、二重ＨＢｓＡｇ及び抗ＨＢｓ陽性を特徴とする平衡状態に維持された。そのような共存血清学的プロファイルは

、全ての血清ＨＢｓＡｇ物品に完全に結合することができなかったか、又は新たな感染ラウンドが完全に遮断されなかった比較的不十分な抗ＨＢｓレベルを示した。

【０１３３】

ＨＢＶ機能的治癒には完全な抗ＨＢｓ抗体セロコンバージョンが必要である

抗ＨＢｓレベルを上昇させることが治療転帰を変えるかどうかを試験するために、１０匹のマウスのうちの８匹が、異なる時点で開始される２５０ｍｇの外因性マウス抗ＨＢｓ抗体の３週間の注射を受けた（それらのうちの６匹が図７Ａ～Ｆに示される）。抗ＨＢｓレベルを上昇させた結果、血清ＨＢｓＡｇ損失及び完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンが全８匹のマウスで確立された（図６Ｃ）。更に、ＨＢＶ機能的治癒は、実験の終了までに８匹のマウスのうちの５匹で達成された（図７Ａ～Ｅ）。

【０１３４】

この実験は、異なる抗ＨＢｓレベルが、異なる転帰を決定することを示している：１．抗ＨＢｓの不在は、ＨＢｓＡｇ陽性のみで特徴付けられたＨＢＶ再発を引き起こした。２．準最適な抗ＨＢｓレベル、すなわち、ＨＢｓＡｇ及び抗ＨＢｓの二重陽性を特徴とした抗ＨＢｓレベル≦血清ＨＢｓＡｇレベルは、重大なＨＢＶ再発を抑制し得るが、新たな感染ラウンドを完全に遮断することはできず、安定した感染レベルをもたらす。３．十分な抗ＨＢｓレベル、すなわち、ＨＢｓＡｇ損失及び完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンをもたらした抗ＨＢｓレベル＞血清ＨＢｓＡｇレベルは、新たな感染ラウンドを完全に遮断し、ＨＢｓＡｇ－／抗ＨＢｓ＋を特徴とするその後の機能的治癒につながる可能性がある。６匹のマウスにおける全てのＨＢＶ機能的治癒は、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョン時又はその後に生じた（図３及び図７Ａ～７Ｅ）。ＨＢＶ機能的治癒は、観察期間が不十分であるため、抗ＨＢｓセロコンバージョン後の残りの３匹のマウスではまだ発生しておらず、２匹は、抗ＨＢｓセロコンバージョンの１週間又は３週間後に死亡し、最後の１匹９７１は、高ベースラインウイルス血症１Ｅ９コピー／ｍＬ及び血清ＨＢｓＡｇレベル１１，０００ＩＵ／ｍＬの両方を有し、１６５日目に抗ＨＢｓセロコンバージョンを達成したが、終了するまでＨＢＶ　ＤＮＡは陽性のままであった（２１８日目、図７Ｆ）。

【０１３５】

実施例８．完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンは、通常数年又は数十年かかる自然除去又は現在の療法を媒介とするＨＢＶ治療の希少性と比較して、数ヶ月で達成されるより高いＨＢＶ治癒率を特徴とするより効果的なＨＢＶ機能的治癒をもたらす。

図７に示すように、ＨＢＶ機能的治癒は、１６週間の観察の間に完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを有する５匹のＨＢＶ感染キメラマウスのうちの４匹で達成された。ＨＢＶ治癒は、ベースラインＨＢｓＡｇ及びＨＢＶ　ＤＮＡレベルが最も高く、１６２日目に完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを達成した最後の動物ではまだ発生していなかった。しかしながら、この動物は、５６日間のみ追跡され、実験は２１８日目に終了した。

【０１３６】

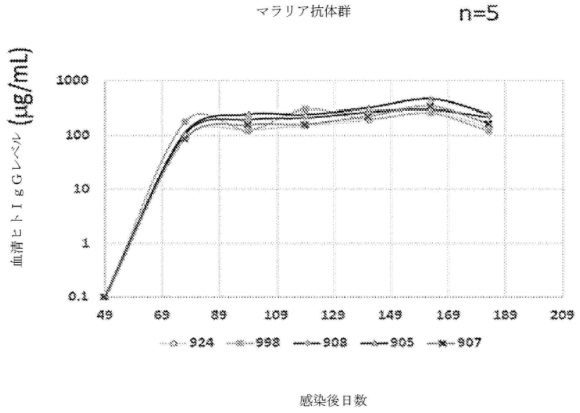
そのような結果は、抗ＨＢｓ抗体セロコンバージョンが急性ＨＢＶ感染の解消を示すという観察と一致する[21]。実際、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンは、抗ＨＢｓレベルが既に血清ＨＢｓＡｇレベルを上回っており、それが新たな感染ラウンドを完全に遮断し、漸進的なＨＢＶ除去を確立することにつながることを示す。したがって、ＨＢＶ治癒治療の主な目標は、可能な限り早期に、十分な抗ＨＢｓ抗体を有する完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンを確立することでなければならない。

【０１３７】

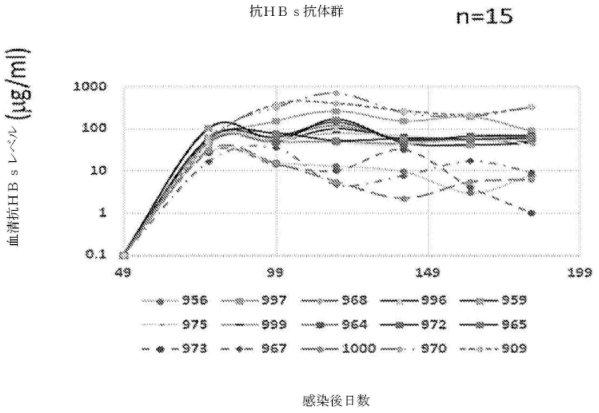
ＨＢＶ自然治癒は、慢性ＨＢＶ感染で起こり、主に、ＨＢｓＡｇレベルが徐々に低減することによって引き起こされるが、抗ＨＢｓセロコンバージョンを即座に完全に達成することができず、新たな感染ラウンドが継続したままである。これが、ＨＢＶ機能的自然治癒を達成するのに数年／数十年かかる理由である（図８Ｃ）。しかしながら、完全な抗ＨＢｓセロコンバージョンは、持続的した、かつ高レベルの抗ＨＢｓ抗体を発現することで迅速に実現することができ、これは、ＨＢＶ自然治癒経過と比較して、ＨＢＶ治癒期間を著しく短縮する（図８Ｄ）。

【図面】

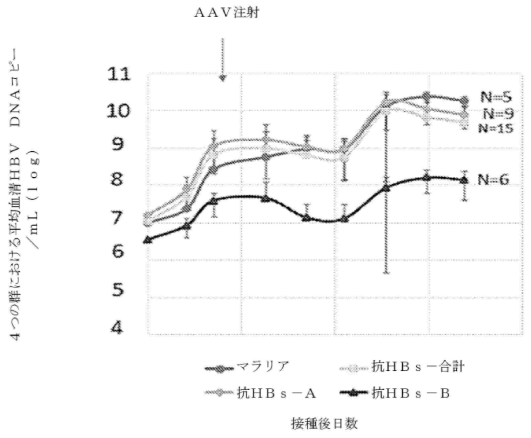
【図１Ａ】



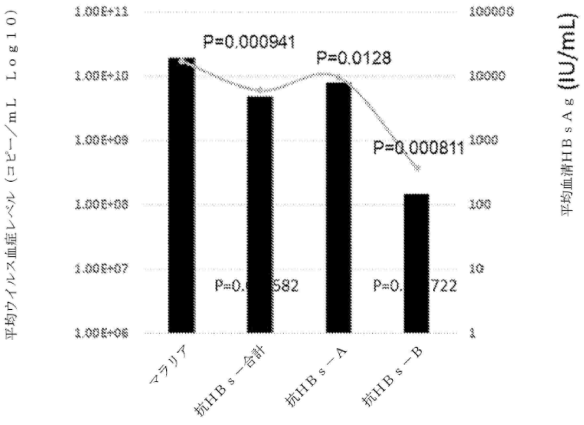
【図１Ｂ】



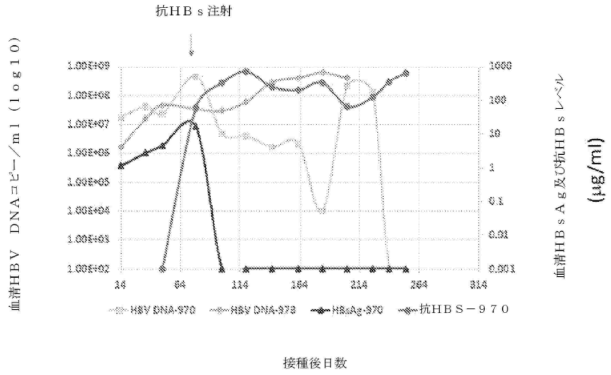
【図２Ａ】



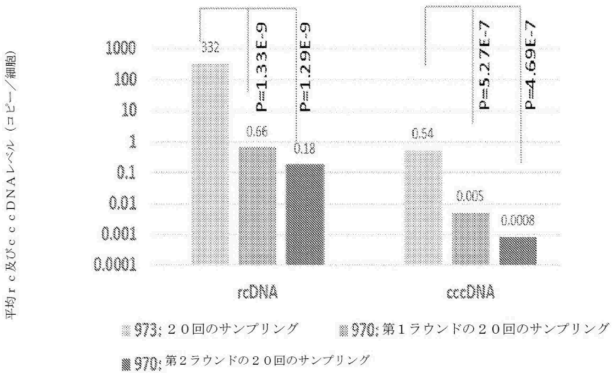
【図２Ｂ】



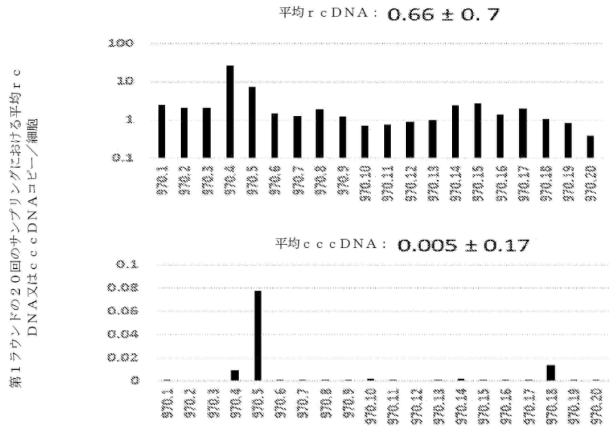
【図３Ａ】



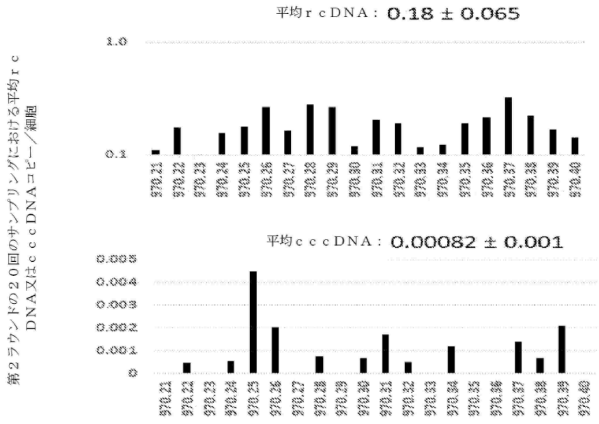
【図３Ｂ】



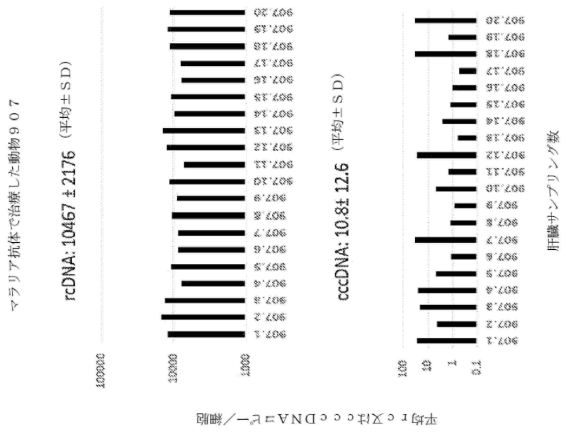
【図３Ｃ－１】



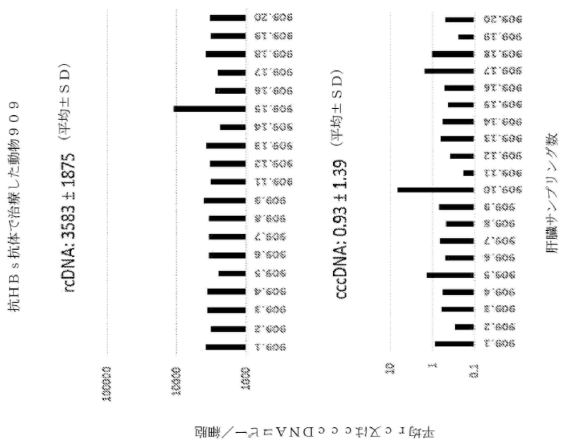
【図３Ｃ－２】



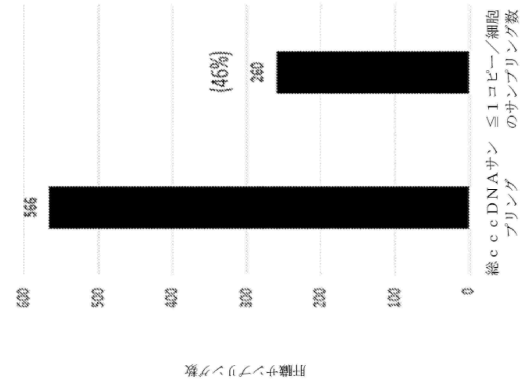
【図４Ａ】



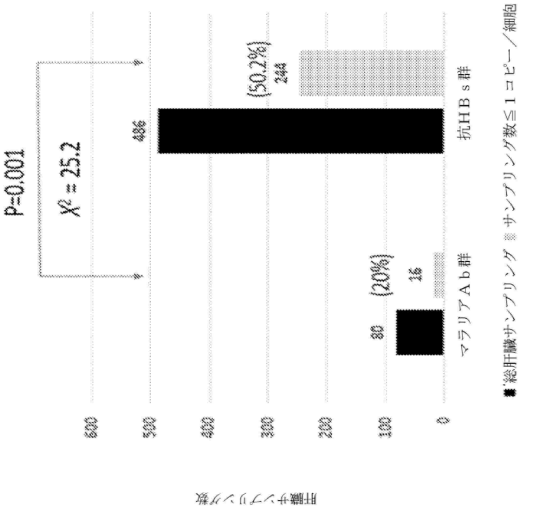
【図４Ｂ】



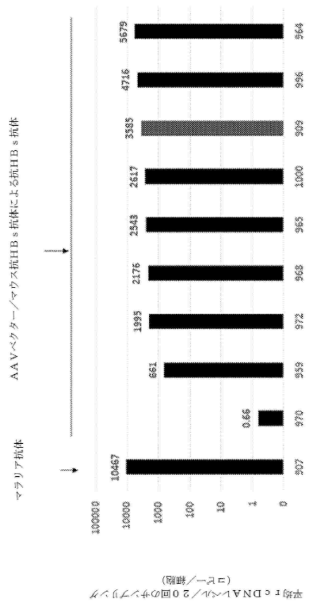
【図４Ｃ】



【図４Ｄ】



【図５Ａ】

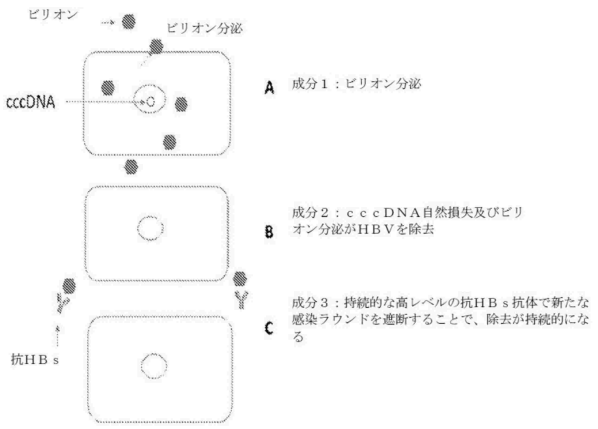


【図５Ｂ】

ピークウイルス血症1E11 1E8～1E9 1E9～ 1E10～1E11又は1E9～1E10で運れてピークに達した

970	959	972	968	965	1000	909	996	964	
6.95E-14	2.5E-14	1.04E-14	7.09E-16	4.77E-15	1.03E-13	3.13E-13	1.04E-14	4.24E-9	P値

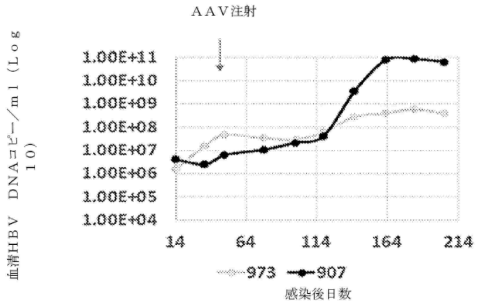
【図６】



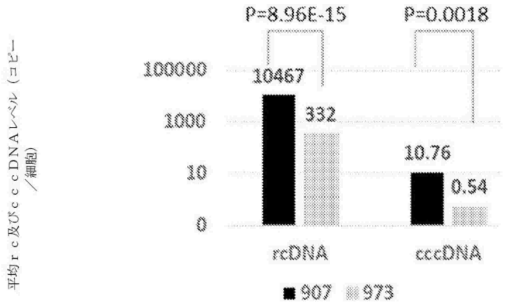
【図７】



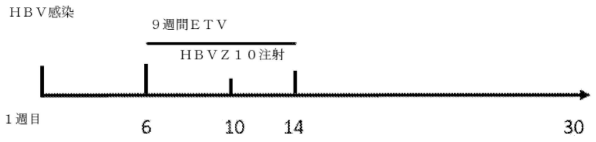
【図８Ａ】



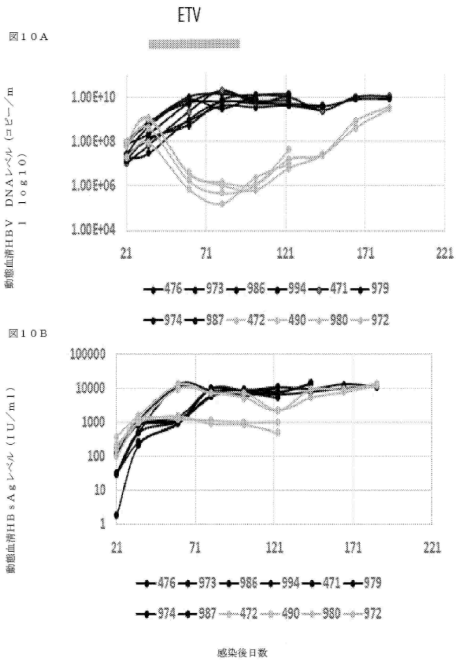
【図８Ｂ】



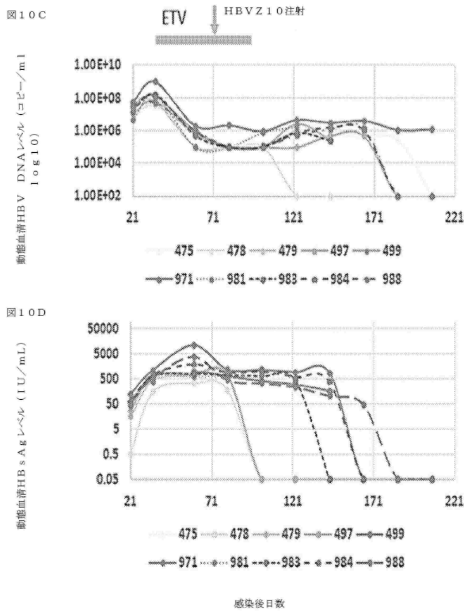
【図９】



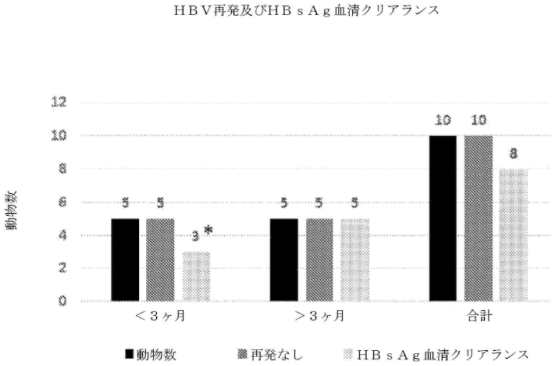
【図１０Ａ－１０Ｂ】



【図１０Ｃ－１０Ｄ】

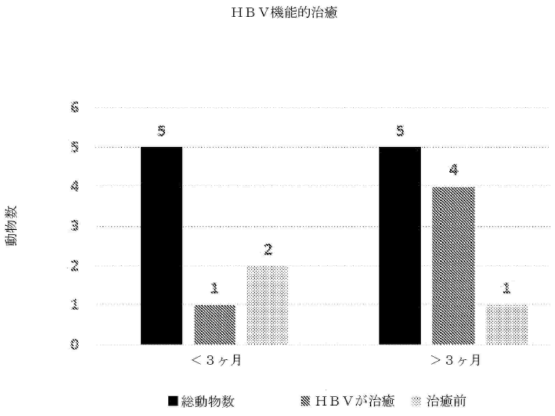


【図１０Ｅ】

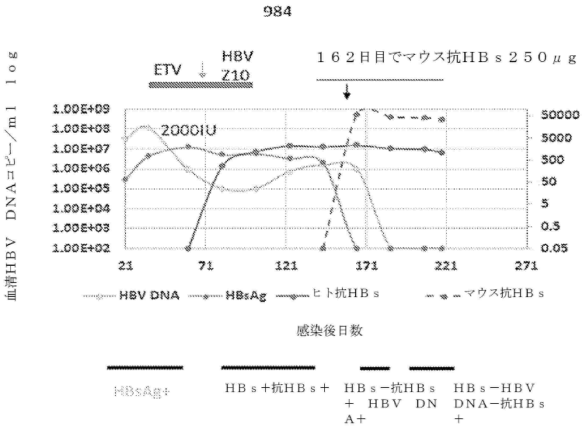


＊上昇した抗ＨＢｓ抗体を受けたマウスは３匹のみであった

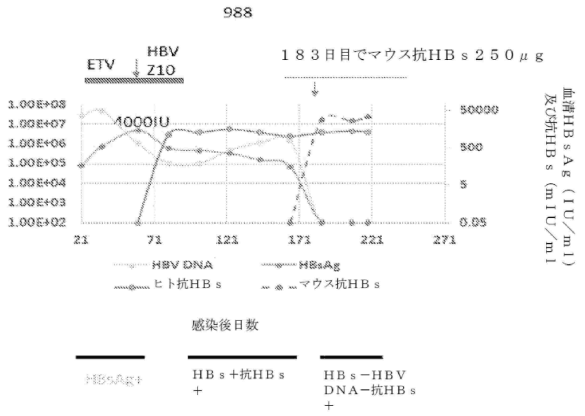
【図１０Ｆ】



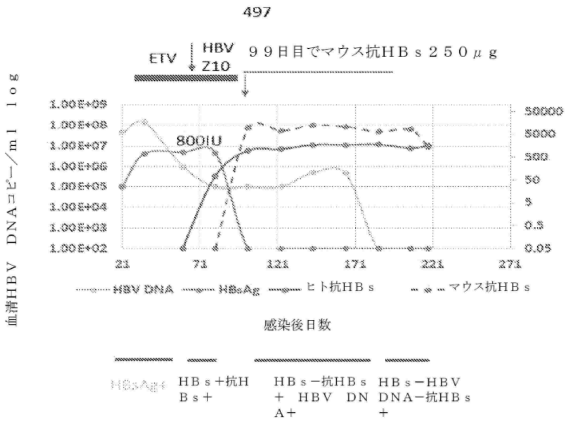
【図１１Ａ】



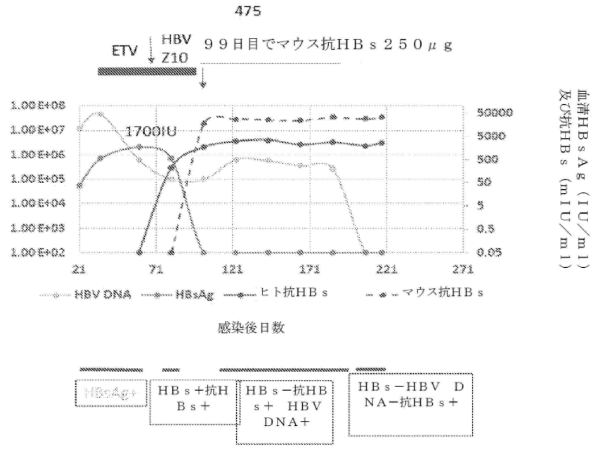
【図１１Ｂ】



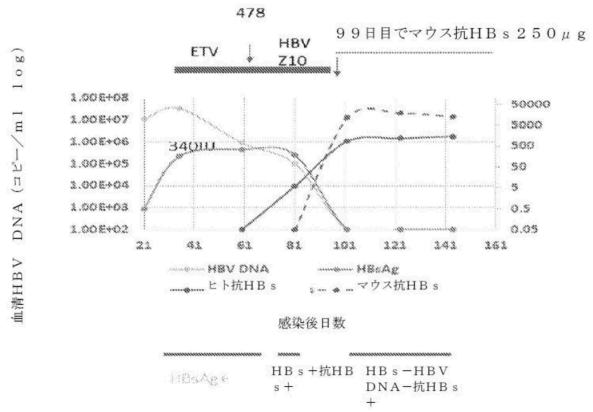
【図１１Ｃ】



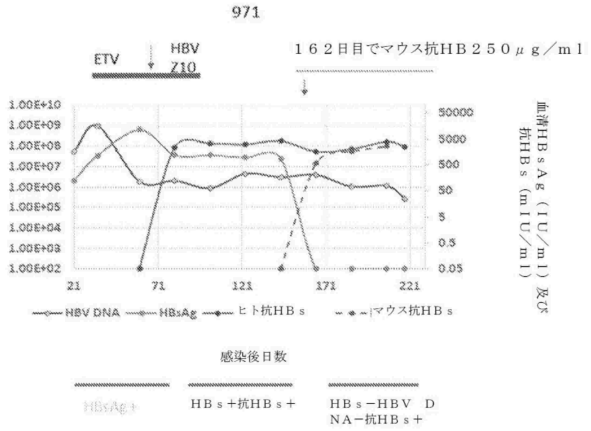
【図１１Ｄ】



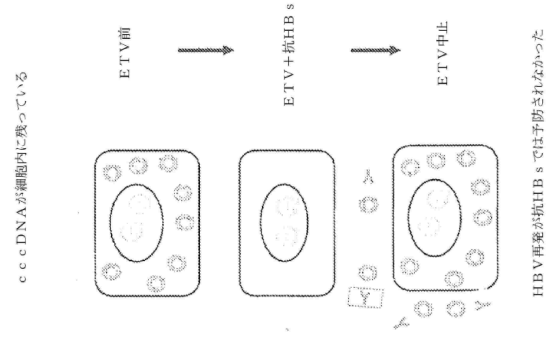
【図１１Ｅ】



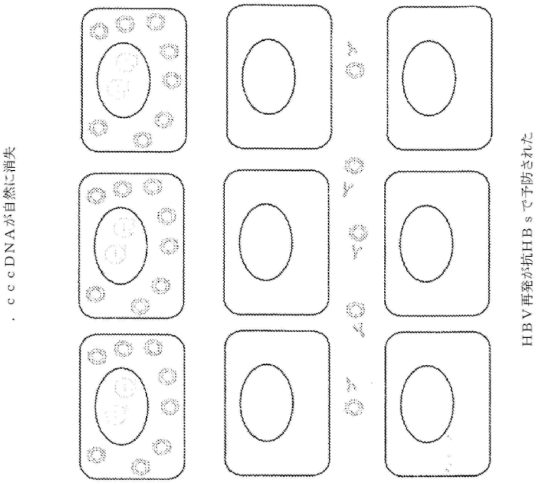
【図１１Ｆ】



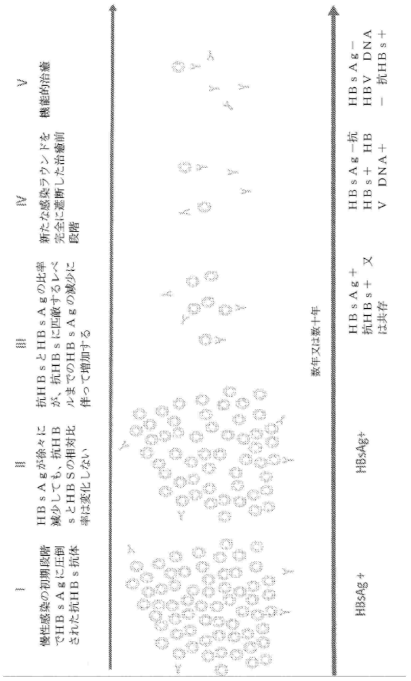
【図１２Ａ】



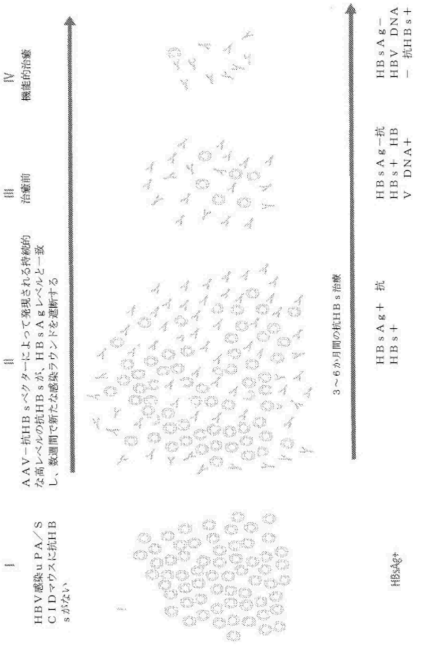
【図１２Ｂ】



【図１２Ｃ】



【図１２Ｄ】



【配列表】

<u>20255015940000001.xml</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/081966

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - INV. - A61P 31/20; A61K 39/42; C07K 16/08 (2023.01)
ADD. - A61K 39/29; C12N 15/85 (2023.01)

CPC - INV. - A61P 31/20; A61K 39/42; C07K 16/082 (2023.05)
ADD. - A61K 39/292; C07K 2317/76; C12N 15/85 (2023.05)

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2021/0040183 A1 (HUMABS BIOMED SA) 11 February 2021 (11.02.2021) entire document	1, 2, 58-64
X	WO 2019/240503 A1 (AM SCIENCES INC) 19 December 2019 (19.12.2019) entire document	1, 3
A	US 2021/0052566 A1 (INSERM (INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE) et al.) 25 February 2021 (25.02.2021) entire document	1-3, 58-64
A	LI et al., "A potent human neutralizing antibody Fc-dependently reduces established HBV infections," eLife, 26 September 2017 (26.09.2017), Vol. 6: e26738, Pgs. 1-30. entire document	1-3, 58-64
A	US 2017/0152303 A1 (ZHANG et al.) 01 June 2017 (01.06.2017) entire document	1-3, 58-64

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
26 May 2023	JUL 19 2023
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Taina Matos Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/081966

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.

   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),

      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/081966

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

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

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

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

3. ☒ Claims Nos.: 4-29, 56
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet(s).

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-3, 58-64

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/081966

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

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

Group I: claims 1-3 and 58-64 are drawn to methods of treating human chronic hepatitis B virus (HBV) infection by reducing or eliminating cccDNA.

Group II+: claims 30-55 and 57 are drawn to isolated binding molecules or antigen-binding fragments thereof which specifically binds to HBV virions and/or HBsAg subviral particles.

The first invention of Group II+ is restricted to an isolated binding molecule comprising an antibody VH, wherein the VH comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO: 2 and an antibody VL, wherein the VL comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO: 4.

Applicant is invited to elect additional antibody VH, VL, and their respective, corresponding, SEQ ID NOs to be searched in a specific combination by paying additional fee for each set of election. An exemplary election would be an isolated binding molecule comprising an antibody VH, wherein the VH comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO: 6 and an antibody VL, wherein the VL comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO: 8. Additional VH, VL, and their respective, corresponding, SEQ ID NOs will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I and II+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups II+ formulas do not share a significant structural element responsible for binding HBV virions and/or HBsAg subviral particles requiring the selection of alternative VH and VL where "An isolated binding molecule or antigen-binding fragment thereof which specifically binds to HBV virions and/or HBsAg subviral particles comprising an antibody VH, wherein the VH comprises the amino acid sequences of SEQ ID NO: 2 and an antibody VL, wherein the VL comprises the amino acid sequences of SEQ ID NO: 4, or a variant thereof with at least 95% sequence homology," and "An isolated binding molecule or antigen-binding fragment thereof which specifically binds to HBV virions and/or HBsAg subviral particles comprising an antibody VH, wherein the VH comprises the amino acid sequences of SEQ ID NO: 6 and an antibody VL, wherein the VL comprises the amino acid sequences of SEQ ID NO: 8, or a variant thereof with at least 95% sequence homology."

The special technical features of Group I, a method of treating human chronic hepatitis B virus (HBV) infection by reducing or eliminating cccDNA (covalently closed circular DNA) and/or rcDNA (relaxed circular DNA), are not present in Groups II+; and the special technical features of Groups II+, an isolated binding molecule or antigen-binding fragment, are not present in group I.

Additionally, even if Groups I, and II+ were considered to share the technical features of hepatitis B virus, a vector, a nucleic acid molecule, and HBV neutralizing antibodies or antibody fragments. However, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2021/0040183 A1 to Humabs Biomed Sa discloses hepatitis B virus (hepatitis B virus, Para. [0041]), a vector (a vector, Para. 0179]), a nucleic acid molecule (oligonucleotide, Para. [0179]), and HBV neutralizing antibodies or antibody fragments (antibodies are required in order to neutralize hepatitis B virus, Para. [0041]).

The inventions listed in Groups I and II+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61K 35/76	*(2015.01)*	A61K	39/395	D	
A61K 48/00	*(2006.01)*	A61K	35/76		
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61K	48/00		
A61P 31/20	*(2006.01)*	A61K	45/00		
A61P 1/16	*(2006.01)*	A61P	31/20		
C12N 15/113	*(2010.01)*	A61P	1/16		
C07K 14/555	*(2006.01)*	C12N	15/113	100Z	
		C07K	14/555		

,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,ME,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,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

Fターム（参考）
4C084 AA13 AA19 MA02 MA65 NA05 NA13 ZA751 ZA752 ZB211 ZB212 ZB331 ZB332 ZC751 ZC752
4C085 AA13 BA89 BA90 EE01 EE03 GG03
4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 MA66 NA05 NA13 ZA75 ZB21 ZB33 ZC75
4H045 AA10 AA30 BA09 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74