

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5587762号  
(P5587762)

(45) 発行日 平成26年9月10日(2014.9.10)

(24) 登録日 平成26年8月1日(2014.8.1)

(51) Int.Cl.	F 1
A 6 1 K 38/21	(2006.01)
A 6 1 K 9/127	(2006.01)
A 6 1 K 47/20	(2006.01)
A 6 1 K 9/107	(2006.01)
A 6 1 P 15/00	(2006.01)
A 6 1 K	37/66
A 6 1 K	9/127
A 6 1 K	47/20
A 6 1 K	9/107
A 6 1 P	15/00

請求項の数 5 (全 19 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2010-500036 (P2010-500036)
(86) (22) 出願日	平成20年3月27日 (2008.3.27)
(65) 公表番号	特表2010-522698 (P2010-522698A)
(43) 公表日	平成22年7月8日 (2010.7.8)
(86) 国際出願番号	PCT/CA2008/000563
(87) 国際公開番号	W02008/119160
(87) 国際公開日	平成20年10月9日 (2008.10.9)
審査請求日	平成23年3月24日 (2011.3.24)
(31) 優先権主張番号	60/909,324
(32) 優先日	平成19年3月30日 (2007.3.30)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	504066807 ヘリックス バイオファーマ コーポレーション カナダ国 エル4ジー 6エックス7 オンタリオ, オーロラ, インダストリアル パークウェイ サウス 3-305
(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(74) 代理人	100062409 弁理士 安村 高明
(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 腹内送達により子宮頸部異形成を治療するための二相性脂質小胞組成物および方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

(a) それ自体が油、水、インターフェロン - 2 b およびメチオニンを含む水中油型エマルションを含む、第1の相と、  
 (b) 該第1の相中に懸濁された多重層脂質小胞を含む第2の相であって、該小胞は、  
 それ自体が油、水、インターフェロン - 2 b およびメチオニンを含む水中油型エマルションを含む組成物をその中に封入して含んでいる、第2の相と  
 を含む、腹内送達により子宮頸部異形成を治療するための二相性小胞組成物であって、ここで、各相が酸化防止剤としてある量のメチオニンを含む、組成物。

## 【請求項 2】

クリーム剤形態である、請求項1に記載の組成物。

## 【請求項 3】

組成物1グラム当たり1MIUと3MIUの間のヒトインターフェロン - 2 b のインターフェロン - 2 b 特異的活性を有する、請求項1に記載の組成物。

## 【請求項 4】

0.01重量パーセントと0.5重量パーセントの間のメチオニンを含む、請求項3に記載の組成物。

## 【請求項 5】

インターフェロン - 2 B およびメチオニンの少なくとも30%パーセントが、前記水中油型エマルションの一部として前記小胞中に封入される、請求項1に記載の組成物。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は、腔内送達により子宮頸部異形成を治療するための二相性脂質小胞組成物および方法に関する。

**【背景技術】****【0002】**

米国において毎年実施される推定5千5百万件のパパニコラウスミアのうち、5%を超えるものが異常と報告される(2003年度ALTIS調査)。毎年推定800,000人の女性に低度の扁平上皮内病変(LSIL)が見られる(非特許文献1)。

10

**【0003】**

これらの病変は、治療せずに時が経つと、CIN2~3もしくは侵襲性癌のいずれかに進行するか(特に高リスクHPVサブタイプを呈する女性では)、または時が経つとともに退行する。LSILと診断された女性のうち25%は、グレード2または3の子宮頸部上皮内新生物(CIN)に進行し、22~32%は持続性CIN1を有するが、約50%~70%は2年以内にLSILの自発的退行を経験するであろう(非特許文献2)。約75%は、5年以内に自発的退行を経験する。

**【0004】**

ベセスダシステムの細胞学的なLSILの定義は、ドイツおよびEU中で使用されているミュンヘン分類システムと異なる。LSILは、ベセスダシステムにおけるコンジローマまたはCIN1に対応する。ミュンヘン分類において、これらの所見はPap II W~III ID群で表される。しかしながら、III ID群にもCIN2(軽度異形成)のコルポスコピー診断を有する患者が含まれることは注目すべきである。

20

**【0005】**

現在のところ、LSILを呈しHPVを有する女性のため利用し得る直接的治療法はない。ひとたび低度の異常パパニコラウスミアが検出されると、患者と医師は、それを一度もしくは複数回繰り返すか、またはコルポスコピーに進むか選択するしかない。コルポスコピーはしばしば生検を伴って行われる。コルポスコピーおよび生検の所見に基づいて、治療の選択肢は、円錐切除、寒冷療法またはレーザー治療を含む。そのような選択肢の治療を受けた女性には、流産および早産の危険性が増大している可能性がある。

30

**【0006】**

子宮頸部の種々のHPV感染に対してインターフェロンが有効であると記載している刊行された多数の治験がある。子宮頸部上皮内新生物を治療するためのインターフェロンの使用についての研究は、0~100%の間の治癒率を報告している。これらのバラツキは、用量、治療期間、適用方式、研究計画、疾患重症度、および有効性の尺度における差を反映している可能性が最も大きい。

**【0007】**

非盲検試験において、Pennaら(1994年)(非特許文献3)は、HPV感染を伴うCINを有する女性の子宮頸部中の病変周囲内に3週間毎日3MIUのIFNを適用した後の、タイプ16/18HPVの80%の病変退行および51%の正常への逆転を報告した。同様に、非盲検の予備試験で、Katesmarkら(1999年)(非特許文献4)は、IFNが移行帯中に注入されたときの、CINの73%の病理学的完全応答率を示した。

40

**【0008】**

Schneiderら(1995年)(非特許文献5)は、CINを有する女性において、IFN-1bゲル療法後の、42%の完全応答、42%の部分応答を報告した。この研究において、CINI IIに比較してCINI Iを有する患者の応答の方が良好であった。非喫煙者に比較して、喫煙者は有意に低い治癒率を示したことも興味がある。

**【0009】**

Zarconeら(1995年)(非特許文献6)は、HPV+の女性におけるCINIおよ

50

び I I の治療において、筋肉内および局所併用 - I F N 療法で、12名の患者の小規模な研究における成功を報告している。3週間毎日筋肉内用量3M I U以下のI F N の投与を、治療の最後の2週間、用量が特定されないI F N クリーム剤の腔内適用と組み合わせたところ、7名の患者で完全応答、4名の患者で部分応答、そして1名の患者で無応答という結果であった。

#### 【0010】

Syedら(1998年)(非特許文献7)は、毎日16M I Uの用量のインターフェロンの親水性ゲルを、腔内に1週間当たり5日連続して4週間にわたる治療期間投与すると、腔疣贅の治療にプラセボより有意に有効であったことを示した。これらの研究は、インターフェロン療法が、コルポスコピーにより判定され、ランダム生検の細胞学的および病理学的検査により確認された、H P V 感染を伴うC I N の治療に有効であることを示すが、これらの研究のいずれも、治療後のH P V の状態を検査していない。

#### 【先行技術文献】

#### 【非特許文献】

#### 【0011】

【非特許文献1】Jones、BA、Davey DD. Quality management in gynaecologic cytology using interlaboratory comparison. Arch Pathol Lab Med 2000年；124巻(5号)：672～81頁

【非特許文献2】ALTS group 2003、Ostor AG Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. Int. J. Gynecol Pathol 1993年；12巻：186～92頁

【非特許文献3】Penna C、Fallan MG、Gordigiani Rら、Intralesional beta-interferon treatment of cervical intraepithelial neoplasia associated with human papilloma virus infection、Tumori 1994年；80巻：146～150頁

【非特許文献4】Katesmark M.、Coulter Smith S.、Reynolds K.、Lawton F. A pilot study of the efficacy and tolerability of intralesional recombinant human beta interferons in cervical intraepithelial neoplasia. Ann Acad Singapore 1999年；28巻(6号)775～7頁

【非特許文献5】Schneider A、Grubert T、Kirchmayr R、Wagner D、Papendick U、Schlunck G. Efficacy trial of topically administered Interferon gamma-1b gel in comparison to laser treatment in cervical intraepithelial neoplasia. Arch Gynecol Obstet 1995年；256巻：75～83頁

【非特許文献6】Zarcone R.、Bellini P.、Cardone G.、Cardone A. Treatment of cervix condylomata with alpha-IFN leucocytar. Clin Exp Obst Gyn 1995年；22巻(4号)：326～9頁

【非特許文献7】Syed TA、Ahmadpour A. Human leukocyte derived interferon- inhibitory gel for the treatment of intravaginal warts in women: a placebo-controlled, double-blind study. Intl J STD and AIDS 1998年；9巻：769～772頁

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0012】

これらの研究における種々の制限に基づいて、疾患過程の初期段階中に異常な細胞像を逆転させて、H P V の存在を減少させまたは根絶することができる非侵襲的療法は、多くの若い女性の健康管理システムならびに身体的および精神的福祉に大きな利益を提供するであろう。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0013】

一態様において、本発明は、腔内送達により子宮頸部異形成を治療するための二相性脂質小胞組成物を含む。組成物は、水中油型エマルション、ヒトインターフェロン - 2 b

10

30

40

50

およびメチオニンをその中に封入している脂質二重層小胞の懸濁液を含み、組成物は、組成物1グラム当たり約1～10MIU(百万国際単位)のインターフェロン-2b特異的活性および0.01～0.5重量パーセントのメチオニンを有する。

本発明は、例えば以下の項目を提供する。

(項目1)

水中油型エマルション、ヒトイインターフェロン-2bおよびL-メチオニンをその中に封入している脂質二重層小胞の懸濁液を含み、組成物1グラム当たり約1と10MIU(百万国際単位)の間のインターフェロン-2b特異的活性、および0.01重量パーセントと0.5重量パーセントの間のL-メチオニンを有する、腔内送達により子宮頸部異形成を治療するための二相性脂質小胞組成物。

10

(項目2)

クリーム剤形態である、項目1に記載の組成物。

(項目3)

組成物1グラム当たり1MIUと3MIUの間のヒトイインターフェロン-2bのインターフェロン-2b特異的活性を有する、項目1に記載の組成物。

(項目4)

0.01重量パーセントと0.5重量パーセントの間のL-メチオニンを含む、項目3に記載の組成物。

(項目5)

組成物中のインターフェロン-2bおよびL-メチオニンの少なくとも30%パーセントが、封入された水中油型エマルション中に存在する、項目1に記載の組成物。

20

(項目6)

水中油型エマルション、ヒトイインターフェロン-2bおよびL-メチオニンをその中に封入している脂質二重層小胞の懸濁液を、1と20百万国際単位(MIU)の間のインターフェロン-2bの用量で、対象の腔内に投与するステップであって、組成物が、組成物1グラム当たり約1と10MIUの間のインターフェロン-2b特異的活性、および0.01重量パーセントと0.5重量パーセントの間のL-メチオニンを有するステップと、

少なくとも4週間の間、少なくとも3日/週の前記投与を繰り返すステップとを含む、対象における子宮頸部異形成を治療する方法。

30

(項目7)

投与する前記懸濁液が、組成物1グラム当たり1MIUと3MIUの間のヒトイインターフェロン-2bの特異的活性を有する、項目6に記載の方法。

(項目8)

投与する前記懸濁液がクリーム剤形態であり、投与1回当たり3gと7gの間の用量で投与される、項目6に記載の方法。

(項目9)

投与する前記懸濁液が、0.01重量パーセントと0.5重量パーセントの間のL-メチオニンを含む、項目6に記載の方法。

(項目10)

投与する前記組成物中のインターフェロン-2bおよびL-メチオニンの少なくとも30%パーセントが、封入された水中油型エマルション中に存在する、項目6に記載の方法。

40

(項目11)

少なくとも6週間の期間少なくとも3日/週の前記投与を繰り返す、項目6に記載の方法。

【0014】

組成物は、クリーム剤形態であってよく、特定の実施形態において、組成物1グラム当

50

たり 1 ~ 3 M I U ヒトイインターフェロン - 2 b の特異的活性のヒトイインターフェロン - 2 b および 0 . 0 1 ~ 0 . 5 重量パーセントの L - メチオニンを含む。

【 0 0 1 5 】

他の態様において、本発明は、1 ~ 2 0 M I U の間のインターフェロン - 2 b の用量で上記組成物を対象の臍内に投与して、少なくとも 4 週間の間、少なくとも 3 日 / 週の投与を繰り返すことにより、対象における子宮頸部異形成を治療する方法を含む。

【 0 0 1 6 】

本発明のこれらのおよび他の目的および特徴は、本発明の下記の詳細な説明を、添付図面と合わせて読めば、より十分に理解されるであろう。

【 図面の簡単な説明 】

10

【 0 0 1 7 】

【 図 1 】無水プラスチックプロリポソームゲル法を使用して調製した、本発明の組成物中の多重層脂質小胞のスキャンした像である。

【 図 2 A 】「無水プラスチックプロリポソーム - ゲル」（「溶融」または「融解」）法を使用して調製した多重層リポソームのスキャンした像である。

【 図 2 B 】 2 A と同じ組成物であるが、溶媒蒸発法により調製した多重層リポソームのスキャンした像である。

【 図 3 】中心部水性エマルションコアを有する二相性 M L V の模式的断面図である。

【 図 4 】図 3 の M L V の部分の拡大図である。

【 発明を実施するための形態 】

20

【 0 0 1 8 】

I . 二相性リポソーム組成物およびその調製方法

本発明は、インターフェロン、例えば、インターフェロン - 2 b を、経粘膜送達により、例えば、臍内投与により送達することに、特に子宮頸部異形成の治療に、使用するための脂質二重層またはリポソームまたは脂質小胞組成物に関する。

【 0 0 1 9 】

本発明の多重層脂質小胞を調製する好ましい方法は、下記の通りである。油と粘稠度増強剤を混合する。別に、水と界面活性剤を混合する。水溶性抗微生物剤、例えばメチルパラベンまたはプロピルパラベン、リン酸塩などの緩衝剤、および E D T A などのキレート剤も、水中に溶解することができる。これらを穏やかに、例えば、約 7 0 ℃ に加熱して、次に混合して油および粘稠度増強剤とホモゲナイズする。その結果、水を連続相とし、油および粘稠度増強剤を分散相とするエマルションが生成する。油滴は、直径約 1 μ m 未満特に約 0 . 5 μ m 未満であることが望ましく、必要であれば、油滴のサイズを減少させるために、エマルションを、追加のせん断または超音波処理にかけることができる。

30

【 0 0 2 0 】

別に、リン脂質、糖脂質および / またはセラミドおよび薬学的に許容し得る親水性溶媒、例えば、プロピレングリコールを混合し、それらを加熱して溶融物を形成させることにより、無水プロリポソームゲルが調製される。溶融物中に、脂質二重層の強度を増大させる材料、例えばコレステロール、浸透を促進する材料、例えばモノラウロイルリシン、および脂質二重層に電荷を賦与する材料、例えばステアリン酸を組み込むこともできる。少量の酸化防止剤、例えばアスコルビルパルミテート、ブチル化ヒドロキシトルエン、またはブチル化ヒドロキシアニソールを溶融物に組み込むことができる。水性エマルションを溶融物に加えて、種々の成分を攪拌すると、その結果、中心部コア区画中に、分散相として油および粘稠度増強剤を含む水性エマルションを有する所望の多重層脂質小胞が形成される。

40

【 0 0 2 1 】

水溶性の生物学的活性物質、特に、ヒトイインターフェロン - 2 b は、下で論ずるよう、エマルションの水相中の溶液に取り込むことができる。インターフェロン - 2 b を水性相中に取り込み、組成物 1 グラム当たり 1 ~ 1 0 M I U の特異的活性を有する最終組成物を形成させる。組成物は、0 . 0 1 ~ 0 . 5 重量パーセントの L - メチオニン、例え

50

ば 0.01 ~ 0.2 重量パーセントの L - メチオニン（この成分は、最終組成物中で所望の濃度を与えるのに効果的な濃度で水性相中に取り込むことができる）、および EDTA などのキレート剤または L - メチオニンなどの酸化防止剤および / またはグリシンなどのタンパク質安定剤も含むように製剤化することもできる。

#### A . 無水プラスチックプロリポソームゲルの形成

リポソーム形成成分および他の必要な賦形剤を、プロピレングリコールなどの薬学的に許容し得る親水性溶媒と溶融する。

##### 【 0022 】

「リポソーム形成成分」という表現は、脂質二重層の主成分として使用される材料または物質を表す。典型的リポソーム形成成分は、脂質二重層の形成における主成分として使用される糖脂質、レクチン、リン脂質、セラミドまたはそれらの混合物を含む。しかしながら、必要とされる両親媒性を有する他の天然および合成化合物を、リン脂質、糖脂質またはセラミドとともに取り込むことができて、脂質二重層の本質的特性が損なわれない限り、これらの高価な材料の一部を置き換える。適当な材料の選択は、当業者の知識のうちである。例には、ホスファチジルエタノールアミン、リソレクチン、リソホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、スフィンゴミエリン、カルジオリピン、ホスファチジン酸およびセレブロシド、エーテル脂質およびフィタノールが挙げられる。

10

##### 【 0023 】

本発明のリポソーム製剤は、好ましくは、飽和および / または不飽和リン脂質、より好ましくはホスファチジルコリン、リソホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、糖脂質およびセラミドを含む。リン脂質は、好ましくは、主に経皮送達を可能にするために、モノラウロイルセリン、ジパルミトイルセリンまたはサリチル酸メチルなどの浸透増強剤と組み合わせる。

20

##### 【 0024 】

「脂肪性物質」は、脂質二重層の強度を増大させるために使用することができる。有用な脂肪性物質の例には、コレステロール、コプロスタノール、コレスタノールおよびコレスタンおよび長鎖脂肪酸（C<sub>16</sub> から C<sub>22</sub>）、特にステアリン酸など飽和したものなどのステロイドが挙げられる。酸は、脂質二重層の強度を増大させることに加えて、負電荷を賦与する。飽和または不飽和の酸を使用することができる。使用することができる他の脂肪性物質は、C<sub>16</sub> から C<sub>22</sub> の脂肪族アミン、脂肪族アセチル化タンパク質、脂肪族アセチル化ペプチド、脂肪族アセチル化PEG および誘導体を含む。これらの脂肪性物質は、上記のリポソーム形成成分とともに組み込まれて製品の物理的安定性および外観を改善する。

30

##### 【 0025 】

親水性溶媒は、リポソーム形成成分の可塑剤および均一溶融物を調製する助剤として使用される。親水性溶媒の例には、プロピレングリコール、グリセリン、300 と 800 の間の分子量を有するポリエチレングリコール、エタノールおよびそれらの混合物が挙げられるが、これらに限定はされない。生成する溶融物は、無水プラスチックプロリポソームゲルであると記載することができる。この無水プラスチックプロリポソームゲルは、全ての脂質相成分を含み、予め大量に調製して貯蔵することができる。それは、粘稠度が均一な半固体材料である。

40

#### B . 多重層脂質小胞の形成

浸透増強剤、防腐剤などの親水性成分は、エマルションの連続相を形成する水溶液として、別に調製される。これを、40 から 80 の範囲であってよい適当な溶融温度に予め加熱された脂質相溶融物に加えて、所望の製品サイズを得ることを可能にする任意の所与の技法により、激しく攪拌する。混合技法の例には、ポルテックスにかけるかまたはプロペラによる混合が挙げられる。この段階で、脂質二重層内に封入される固体の生物学的活性剤を組み込む（溶解する）ことも可能である。

##### 【 0026 】

50

この手順は、種々の量の局所用リポソーム製品の調製に適している。攪拌としてボルテックス混合が使用されるなら、約20gまでの製品を調製することができる。実験室規模のプロペラミキサーが使用されるなら、約2Kgから10Kgまでの製品を作製することができる。この製剤化法は、大規模製造に適合させることもできる。したがって、プロペラ混合技法は、容器のサイズとプロペラミキサーの直径とを幾何学的に増大させることにより、そのままスケールアップすることができる。しかしながら、容器サイズが増大したとき、好ましい装置は、組合せミキサー、すなわち、プロペラミキサーの付いた高強力ミキサーと掻き取り表面攪拌機となる。水性相は、タンクAから無水プラスチックプロリポソームゲルを含むタンクBへポンプで送り込むことができ、または水性相をタンクBに加えて混合する前に、求められる温度でエマルションと混合することもできる。この手順は、任意の局所用リポソーム製品を大規模に製造するのに適している。

10

#### 【0027】

リポソーム組成物は、適当な医薬用添加剤を使用することにより、本発明の多重層脂質小胞を用いて調製することができる。例えば、増粘剤を最終リポソーム製剤に添加することが必要とされることもある。他の薬学的に許容される化合物の添加は、当業者の視野のうちである。

#### C. 最終多重層脂質小胞製品の特性

上記の方法により調製された多重層脂質小胞を模式的に示した図を、図3に示す。参照番号2により一般的に示される多重層脂質小胞は、一連の周辺性水溶液区画3および5の輪郭を定める一連の間隔で分かれた脂質二重層4、6および8で作られている。最小の脂質二重層7は、中心コア区画9の輪郭をその中央に定めている。6つの脂質二重層だけ示されているが、図は単純化されて模式的であり、実際には6を超える脂質二重層が存在することが理解されるべきである。

20

#### 【0028】

図4は、図3の小胞の拡大図であり、脂質二重層の中心部コア区画およびある一部を詳細に示す。中心部コア区画9は、連続相としての水10と分散相としての親油性液滴または固体微粒子11とからなる水性エマルションにより占められている。親油性液滴または固体微粒子は、界面活性剤分子12の層により囲まれ、各界面活性剤分子の親水性部分13は水性相中に伸びて、疎水性部分は油滴の表面にある。

#### 【0029】

30

コア区画を包囲しているのは、最内脂質二重層15である。脂質二重層は、脂質分子16の2層から構成されている。層中の各脂質分子16は、隣接の脂質二重層に実質的に平行に配向しており、二重層を形成する2層は、それらの分子の極性の端17を水性相に露出させ、非極性の端18を互いに隣接させている。最内脂質二重層15とその次の最内脂質二重層19との間に水または水性エマルションのいずれかで充填された周辺性区画20がある。示したように、界面活性剤で囲まれた親油性液滴または粒子11は、周辺性区画20中に存在することができる。

#### 【0030】

周辺性区画20を囲むものは次の最内脂質二重層19であり、それは順送りで、さらなる周辺性区画およびさらなる脂質二重層により囲まれている。

40

#### 【0031】

生物学的活性成分、例えば、インターフェロン-2b、およびL-メチオニン成分は、中心部コア区画9中および周辺性区画20中の水性エマルションの水中に存在することができる。粘稠度増強剤または取り込み増強剤など親油性である生物学的活性成分は、中心区画9中および周辺性区画20中のエマルションの分散相中に存在することができる。それらは、21に示した脂質二重層の内部に存在することもできる。生物学的活性成分は、親油性液滴21を構成することができ、または生物学的活性成分は、液滴21を形成する親油性溶媒中に溶解することもできる。したがって、本発明は、水溶性または水不溶性の生物学的活性成分の局所適用を可能にする。

#### 【0032】

50

組成物は、これらの水性成分の少なくとも約30重量パーセント、好ましくは約40～70重量パーセントが、組成物の小胞外のバルク相中に運ばれずに、リポソームに封入された形態で存在する条件下に形成されることが好ましい。これらのレベルの封入は、種々の既知の戦略、例えば、逆相蒸発法によりリポソームを形成し、かつ／またはリポソーム形成脂質が高濃度の状態で水性相材料をカプセル化し、それによってバルク水性相の量を最小化することにより達成することができる。

【0033】

図1は、局所用ローション剤として使用するために作製された小胞の440×拡大スキャン像である。この製品は、ローション剤または半固体クリーム剤の粘稠度を示した。スキャン像を検査すると、均一なサイズ分布を有する多重層構造であることがわかる。これらは、1年を超える長期間の物理的安定性を示した。

10

【0034】

本発明の好ましい方法にしたがって製造されたリポソーム集団内で観察された性質における差を示す目的で、同一成分からであるが、一方の場合は溶媒蒸発法で、および他方の場合は好ましい無水プラスチックプロリポソームゲル法で調製された、2つのリポソーム組成物間で、比較テストが実施された。図2Aは、無水プロリポソームゲル（「溶融」または「融解」）法を使用して調製されたリポソーム集団のスキャン像であり、および図2Bは、溶媒蒸発法を使用して調製されたリポソーム集団のスキャン像である。わかるように、無水プラスチックプロリポソームゲル法を使用して得られたリポソーム集団は、溶媒蒸発法を使用して得られたものより実質的に均一なリポソームサイズ分布を有する。また、無水プラスチックプロリポソームゲル法を使用したときは、極く少量の凝集したまたは融合したリポソームが形成されるが、溶媒蒸発法を使用して得られたリポソーム集団では、大きい凝集物を観察することができる。

20

【0035】

本発明のある実施形態において、親油性物質は、リポソーム中にカプセル化できる油または固体／半固体の親油性粘稠度増強剤である。固体または半固体の親油性粘稠度増強剤として、脂肪族アルコール、ワックス、脂肪族アルコール脂肪酸エステル、グリセリドエステル、白色ワセリンおよびそれらの混合物が挙げられる。リポソーム中に首尾よくカプセル化される油の例は、ペンタエリトリトルテトラカブリレート／カブレート、ペンタエリトリトルテトライソステアレート、セテアリルオクタノエートおよび菜種油、ホホバ油、ピーナツ油、米ヌカ油、綿実油、ヒマワリ油、コーン油、クルミ油、アボカド油、ペルーバルサム、チョウジ油およびオイゲノールである。油を主成分とする植物抽出物も、リポソーム中に首尾よく組み込める。固体／半固体親油性粘稠度増強剤成分は、ワックス、脂肪族アルコール、脂肪酸エステル、グリセリルステアレート、石油またはそれらの組合せから選択することができる。好ましい粘稠度増強剤の具体的な例には、蜜蠟、グリセリルトリベヘネート、グリセリルステアレート、ステアリルヘプタノエート、ステアリルパルミテート、セチルアルコール、ステアリルアルコール、ミリスチルミリステート、ベヘニルエルケートおよびセチルパルミテートが挙げられる。

30

【0036】

本発明による小胞および粘稠度増強剤を含む組成物の粘度は、粘稠度増強剤を含まないがその他については同一である対応する小胞の粘度より大きい。粘稠度増強剤の量を変更することにより、比較的流動性の液体から「ローション」、「クリーム状」ないし「濃厚クリーム」までの実質的に任意の求められる粘度を得ることが可能である。組成物の特定の粘度を得るための粘稠度増強剤量は、日常的実験により決定することができる。

40

【0037】

油滴または固体／半固体親油性粘稠度増強剤成分を被覆するために使用される界面活性剤は、親油性コアを多重層脂質小胞中に首尾よくカプセル化するために重要である。約30種類の異なる界面活性剤をスクリーニングして、第一級カチオン性乳化剤が最も満足な結果を与えることを見出した。最も好ましい界面活性剤は塩化ベンザルコニウムである。天然から誘導された乳化剤などのノニオン性または両性界面活性剤も使用することができ

50

る。すなわち：PEG-60アーモンドグリセリド、アボカド油ジエタノールアミン、エトキシル化ホホバ油（PEG-40ホホバ酸およびPEG-40ホホバアルコール）；ポリオキシエチレン誘導体：ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノオレエート、ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノステアレート；ラノリン誘導体：ポリコール（p o l y c h o l ）20（Laneth 20）、ポリコール40（Laneth 40）；中性リン酸エステル：PPG-セチルエーテルホスフェート、DEAオレス-3-ホスフェートである。アシルグルタメート：TEA-ココイルグルタメート、ナトリウムラウロイルグルタメート、ナトリウム水素化鰐脂グルタメートおよびナトリウムココイルグルタメートなどのアニオン性界面活性剤を使用することも可能である。界面活性剤は、高い臨界ミセル濃度（CMC）を有することが望ましい。

10

## 【0038】

水中親油性物質型エマルションを調製するとき、親水性成分および界面活性剤は全て水に取り込まれる。エマルションの水相が調製されたら、油および／または固体／半固体親油性成分を水に加えて、ホモジナイザー中5から30分の範囲の時間で比較的小さい液滴サイズを得る。好ましい液滴サイズの範囲は、0.1μmから1μm、最も好ましくは約0.5μm未満である。次に、脂質相溶融物を加熱して、水中親油性物質型エマルションを加え、製品サイズに応じてボルテックスにかけるかまたはプロペラ混合のいずれかにより激しく混合する。

## 【0039】

上記の製剤化手順は、大規模製造で容易に採用することができる。プロペラ混合手法は、容器のサイズおよびプロペラミキサーの直径を幾何学的に大きくすることによりそのままスケールアップすることができる。しかしながら、容器サイズが増大したとき、好ましい装置は、組合せミキサー、すなわち、プロペラミキサーの付いた高強力ミキサーと掻き取り表面攪拌機となる。大規模な操業において、水中親油性物質型エマルションを、第1タンクから、無水プラスチックプロリポソームゲルを含む第2タンクへ要求される温度で送り込み、混合することができる。

20

## 【0040】

本発明の多重層脂質小胞を用いて、可溶化された親油性生物学的活性化合物または油状植物抽出物を含む油滴は、リポソームカプセル化を通じて送達することができる。さらに、多区画カプセル化が可能なことにより、長期間に及ぶ薬剤放出が得られる。また、親油性固体／半固体の粘稠度増強剤の中心部親油性コア区画中へのカプセル化は、最終リポソーム組成物の粘度を増大させる。この場合、最終リポソーム製剤中への増粘剤の添加を避けることができる。

30

## 【0041】

全体として、中心部エマルションコア成分を有する多重層脂質小胞の調製は、物理的に安定で均一なリポソーム組成物を提供する。その組成物は、局所投与に適した粘度を有し、容易に大規模に製造することができる。

## D. 膜内使用のための典型的IFN- - 2bクリーム剤の製剤化

表1は、本発明にしたがって形成された1つの典型的脂質二重層組成物中の成分を示し、表中、各成分の量はmg/g最終組成物の単位で表し、また、範囲と典型的量（括弧内）の両方を示す。得られる組成物は以下の検討で「製剤Q25C」と表され、以下に詳述するようにして形成される。

40

## 【0042】

【表1】

表1

成分	量 mg/g
<u>活性成分</u>	
インターフェロン $\alpha$ -2b薬剤物質	.01-5 (0.808)
<u>賦形剤および保護剤</u>	
塩化ベンザルコニウム50%溶液	1-10 (2)
ブチル化ヒドロキシトルエン	0.1-0.5 (0.102)
セチルアルコール	2-40 (20.514)
コレステロール	2-40 (20)
エデト酸二ナトリウム・二水和物	0.1-0.5 (0.103)
グリセロールモノステアレート40~55、1型	5-50 (30.771)
グリシン	0.1-5 (1)
L-メチオニン	0.1-5 (1.126)
メチルパラベン	0.1-5 (1.538)
オリーブ油、精製極上品	10-70 (51.285)
PEG-40ヒマシ油、水素化物	10-70 (51.285)
リン酸ナトリウム、二塩基性、七水和物	1-2 (1.670)
リン酸ナトリウム、一塩基性、無水	0.25-1 (0.480)
Phospholipon 90H	60-200 (100)
プロピレングリコール	30-100 (69.95)
プロピルパラベン	0.1-1 (0.513)
精製水	Q.S. to 1000 (646.846)

10

20

30

## Q 25C の製造プロセスの説明

ステップ1. 水中油型マイクロエマルションの調製：オリーブ油、グリセロールモノステアレート40-55 I型、セチルアルコールおよびブチル化ヒドロキシトルエンを一緒にして75 ± 5 で溶融する。エマルションの精製水を含む水性成分、水素化PEG-40ヒマシ油、塩化ベンザルコニウム50%溶液、メチルパラベン、プロピルパラベン、L-メチオニン、エデト酸二ナトリウム・二水和物、およびリン酸塩と一緒にしてステンレス鋼容器中で、成分が溶解するまで攪拌しながら75 ± 5 で加熱する。次に、油性成分(75 ± 5)を、水性成分(75 ± 5)に混合しながらゆっくり加え、粗いエマルションを形成させる。次に、粗いエマルションを、Microfluidizerによる処理により、均質なエマルションが形成されるまでホモジナイズする。このマイクロエマルションを8 ~ 12 に冷却する。

## 【0043】

ステップ2：脂質相の調製：脂質相は、Phospholipon 90H、コレステロールおよびブチル化ヒドロキシトルエンをプロピレングリコールとともにMMU10ミキサー中で、低速で混合しながら、約80 ~ 90 に加熱して溶融することにより調製する。脂質相成分の混合および加熱を、透明な溶融物が形成されるまで継続し、次に溶融物を約60 に冷却する。

## 【0044】

ステップ3：水性相の調製：必要量のIFN-2bストック溶液を加えてL-メチオニン、グリシンおよび精製水の混合物と穏やかに混合する。

## 【0045】

ステップ4：製品製剤化：インターフェロン-2bを含む水性相(ステップ3から)を、ステンレス鋼ジャケット付混合タンク中でシステムA(ステップ1から)に加える。この混合物を8 ~ 12 の間に維持し、その間、混合物を緩やかに攪拌し、窒素ガスを流す。システムAと水性相の冷却された混合物を、MMU10ミキサー中で高速攪拌されている脂質相に急速に加える。混合を10 ~ 15分間続け、その間、混合物の温度は約57 ~ 60 に維持する。このようにして形成されたバルク製品を、MMU10ミキサー中でゆっくりと混合して19 ~ 25 に冷却する。製品をMMU10ミキサーから10 L

40

50

ステンレス鋼貯蔵容器中に移して窒素ガスを流す。Unipac 100充填機を使用して、バルク製品を1gポリプロピレンチューブ中に充填する。チューブに窒素を流して、次に求められる量の製品をチューブ中に充填し、チューブを熱で封じる。インターフェロン - 2bクリーム剤充填チューブは、5 ± 3で貯蔵する。

#### I I . L S I Lに対する有効性についての前臨床および臨床試験

##### A . 試験の根拠

現在のところ、L S I Lを呈するH P V感染女性のために利用し得る直接的療法がない。インターフェロンは、種々のH P V誘発病変、特に性器疣などの皮膚病変に対して有効であることが知られている。初期段階の子宮頸部H P V感染を治療できる療法は、多くの若い女性の身体的および精神的福祉に大きい利益を提供するであろう。

##### B . Q 2 5 Cについての前臨床試験のまとめ

本発明を支持して実施された毒性試験は、「非臨床実験室試験のためのG L P (Good Laboratory Practice)」および「G L PのためのO E C D基準」の基準に準拠して実施した。以下の3つのタイプの毒性試験を実施した：

局所用インターフェロン - 2bクリーム剤のモルモットにおける皮膚感作 (Buehler方法)。

##### 【0046】

局所用B i p h a s i xインターフェロン - 2bクリーム剤のウサギにおける反復投与皮膚刺激試験。

##### 【0047】

ウサギにおけるインターフェロン - 2bクリーム剤の膣内刺激試験。

##### 【0048】

3つの上記の毒性試験を別にして、本発明のI F N - - 2b組成物の毒性プロファイルについて、以下のことを考慮に入れるべきである：有効薬剤物質、インターフェロン - 2bは、H e l i xの薬物の供給業者、S c h e r i n g P l o u g hにより世界的に広く市販されている安全な薬剤療法剤 (I n t r o n A (登録商標)) と広く考えられている。

##### 【0049】

S c h e r i n g P l o u g hは、多くの種で、インターフェロン - 2bについて大規模な毒性のプロファイリングを既に完了している。

##### 【0050】

本特許所有者は、患者に対する毎日および全体のインターフェロン - 2b投与が、報告されている安全性の限界を超えないようにして、本明細書に記載した治験を実施した。

##### 【0051】

組成物を構成する成分は、全て品質が認められている成分である。

##### 【0052】

前臨床プロファイリングは、組成物および調製方法を上で説明した「製剤Q 2 5 C」と命名したインターフェロン - 2bクリーム剤の2つの製剤を含んでいた。

##### B 1 . 皮膚感作試験

製剤Q 2 5 Cを、ニュージーランド白ウサギの背側の剃毛した皮膚の部位に、クリーム剤1グラム当たり2M I Uインターフェロン - 2bの濃度 (1 × 提案された臨床濃度) で1日2回適用する、10日間の探索的試験を実施した。テスト部位は、前回の適用から残留するいかなるクリーム剤も除去するために、上記の濡れガーゼ技法を使用して、適用と適用の間に清浄化した。試験対照は、陰性対照 (食塩水) および媒体対照 (インターフェロン - 2bを入れず、追加の精製水で置き換えた、製剤Q 2 5 Cと同一の組成) を含む。

##### 【0053】

皮膚部位の外観を、紅斑および浮腫の徴候について毎日評価し、標準D r a i z eスコアシステムを使用してスコアを付けた。それに加えて、全身毒性のいかなる徴候について

10

20

30

40

50

も、動物を毎日観察した。試験の終わりに剖検のアセスメントは実施しなかった。

【0054】

この探索的試験の過程を通して、紅斑の所見は全般的に良好であり（赤さについてのDraizeスコアは、一般的に2）、非常に僅かなまたは僅かな浮腫（スコア1～2）が観察されただけである。最も目立つのは、完全な表面に存在する皮膚亀裂は、1頭の動物でだけ明らかであったことである。全身毒性の徴候は認められなかった。

C. 膣内刺激試験

製剤Q25Aを膣内に、クリーム剤1グラム当たり2MIUおよび20MIUインターフェロン-2b（1×および10×提案された臨床濃度）の濃度で、1週間に5日間連続して毎日6週間投与した。試験対照は、陰性対照（食塩水）およびインターフェロンを入れない媒体対照（-2bを追加の精製水で置き換えた）を含む。

10

【0055】

膣口および会陰の外観を、紅斑、浮腫および膣分泌物の徴候について毎日評価した。それに加えて、全身毒性のいかなる徴候についても動物を毎日観察し、試験の終わりに屠殺して肉眼的病理所見のいかなる徴候も判定した。

【0056】

ウサギは、試験中に、全身毒性、または膣口および会陰の生体観察に基づく膣刺激の証拠を示さなかった。剖検で、組織／器官（膣を含む）に肉眼的病理所見は認められなかった。組織病理学的等級付けに基づいて、クリーム剤は刺激性微少と分類された。

【0057】

微少から軽度の、膣上皮の過形成、化生および上皮または固有層の大きい空胞化が、媒体対照クリーム剤を投与した数頭の動物および1頭の食塩水対照の動物で観察された。過形成および化生は、6週間の試験期間を通じて反復される毎日の媒体クリーム剤投与に対する微少から軽度の上皮の適応応答を表している可能性がある。どの動物にも、膣上皮の壊死、糜爛または潰瘍形成は存在しなかった。

20

これまでの毒性試験の結論

上記の研究は、製剤Q25Cに具体化された本発明の組成物は、非感作性であり、最悪でも、最初の過渡的期間、軽度から中等度に刺激性で、その後は、30日の試験期間にわたって、あるとしても、軽度に刺激性であるだけであるという結論を支持する。

D. 臨床試験

30

Q25C製剤に具体化された本発明の組成物を、HPV感染LSIL状態（ヒトパピローマウイルス感染低度扁平上皮の上皮内病変状態）の治療における臨床有効性および副作用についてテストした。ここで「上皮内」は、子宮頸部の表面層にだけ存在する異常細胞を意味する。試験の目的は、疾患の進行または退行の自然経過を説明するために、対照集団として実施した第2の試験と比較して、局所用インターフェロン-2bクリーム剤Q25Cの適用の有効性および安全性を判定することであった。方法および臨床試験、試験の被検者数、および臨床評価項目を表2に、および評価基準を表3に示す。

【0058】

【表2-1】

表2：治療のまとめ：細胞学的に確認されたHPV感染LSIL状態の治療のための低用量インターフェロンαクリーム剤

40

検討された製品	IFN002: 局所用インターフェロンα-2bクリーム剤 HPV001: 無治療
試験の題目	• プロトコル番号：IFN002 細胞学的に確認されたHPV感染LSIL状態の治療のための局所用インターフェロンα-2bクリーム剤の非盲検試験（第II相）

【0059】

【表2-2】

	• プロトコル番号: HPV001 細胞学的に確認されたHPV+のLSIL状態を呈する女性の3ヶ月予想試験—非介入的試験																		
研究者 :	主任研究者 • IFN002: Prof. Dr. med. Achim Schneider, ドイツ • HPV001: Dr. med. Gerd Böhmer, ドイツ																		
研究センター :	• IFN002: ドイツ内の3センター • HPV001: ドイツ内の1センター																		
目的 :	• IFN 002: 局所用インターフェロン $\alpha$ -2bクリーム剤適用の有効性および安全性を判定すること • HPV001: 疾患進行または退行の自然経過を記載すること																		
方法 :	• IFN 002: 6週間の治療および6週間の追跡観察期間での予想、非盲検試験 • HPV001: 12週間の観察期間での予想単一コホート試験																		
被検者総数 (計画時および分析時) :	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>IFN002 (治療)</th> <th>HPV001 (対照)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PPのために計画</td> <td>20</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>登録/スクリーニング*</td> <td>78</td> <td>38</td> </tr> <tr> <td>安全性分析</td> <td>20</td> <td>21</td> </tr> <tr> <td>ITT分析</td> <td>20</td> <td>21</td> </tr> <tr> <td>PP分析</td> <td>15</td> <td>19</td> </tr> </tbody> </table>		IFN002 (治療)	HPV001 (対照)	PPのために計画	20	20	登録/スクリーニング*	78	38	安全性分析	20	21	ITT分析	20	21	PP分析	15	19
	IFN002 (治療)	HPV001 (対照)																	
PPのために計画	20	20																	
登録/スクリーニング*	78	38																	
安全性分析	20	21																	
ITT分析	20	21																	
PP分析	15	19																	
診断および主な選択基準:	両方の試験: 細胞学的に確認されたHPV+状態のLSILを呈する女性																		
治療の種類および期間:	• IFN 002: 局所用インターフェロン $\alpha$ -2bクリーム剤で6週間 • HPV001: 無治療																		
評価基準:	<p>有効性 :</p> <p>第1評価項目: • IFN002: PAP応答率: 治療を意図した集団(ITT)における、治療期間開始後12週間の間(すなわち、第2または第4または第6または第12週=受診V04、V05、V06およびV07)に異常なババニコラウスマリアの消散を有する患者の比率として定義される。</p> <p>• HPV001: 12週間の観察期間の終わりに異常なババニコラウスマリアの消散を有する患者の比率。</p> <p>第2評価項目: • プロトコル準拠集団(PP)に対する第1評価項目と同じであるが、しかしながら • 観察期間開始後12週間の間にHPV+状態から陰性に逆行した患者の比率(定性的アセスメント)(ITTおよびPP) • 観察期間開始後12週間の間にHPVウイルス量の定量的に減少した患者の比率(ITT)</p> <p>安全性:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 有害事象</li> <li>• 安全性臨床検査</li> <li>• ウィルスのパラメーター</li> </ul>																		

10

20

30

【0060】

40

【表 3 - 1】

表 3

統計的方法：	<p>有効性パラメーター：有効性パラメーターの推計学的分析は、純粹に外挿的であり、各検定に対して <math>\alpha = 0.05</math> を使用し、多くの検定に対して <math>\alpha</math>調整をせずに実施した。両群間の応答率における差は <math>\chi^2</math> 検定で判定した。</p> <p>安全性パラメーター：全ての分析は記述的な性質のものである。検査値は、従属標本 (dependent sample) に対して、漸近的 Mann-Whitney-U 検定 (群間差) および漸近的 Wilcoxon 検定 (群内差) により分析した。全ての AE は、MedDRA にしたがってコードをつけ完全にリスト化して、試験群により分離した。AE 関連および患者関連分析を実施した。</p>
主な有効性の結果	<ul style="list-style-type: none"> <li>第 1 評価項目 (ITT)：治療群における 20 名の患者のうち 8 名 (40.00%) が、比較した対照群においては 21 名の患者のうち 3 名 (14.29%) が応答した。しかしながら、治療群の 2 名の患者のババニコラウスミアの結果は、以前の受診のときの予備的 PAP 応答の後で悪化した。したがって、12 週間の観察期間後の PAP 応答だけ考慮するなら、治療群の 20 名の患者のうち 6 名 (30.00%) が応答した者である。</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>プロトコル準拠集団 (PP) における PAP 応答：治療群において、15 名の患者のうち 7 名 (46.67%) が、比較した対照群においては 19 名の患者のうち 3 名 (15.79%) が応答した。12 週間の観察期間後の PAP 応答だけ考慮するなら、治療群の 15 名の患者のうち 6 名 (40.00%) が応答した。</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>12 週間の治療期間中に HPV+ 状態の消散のあった患者の比率 (ITT および PP)、すなわち、V03 = 治療開始の後で少なくとも 1 回 HPV- がかった患者。ITT：治療群において 20 名の患者のうち 3 名 (15.00%) が HPV- の応答で、それに対して対照群においては 21 名の患者のうち 2 名であった (9.52%)。コメント：1 名の治療群患者の HPV- 状態は V06 で悪化したが、V07 の受診で再び陰性であった。PP：治療群において 15 名の患者のうち 2 名 (13.33%) が、対照群においては 19 名の患者のうち 2 名 (10.53%) が HPV- の応答であった。</li> </ul>
追加の有効性の結果	<ul style="list-style-type: none"> <li>PAPIIID (すなわち、LSIL 細胞診断の「ベセスタ分類システム」による) として試験に参加した患者だけの層別集団からの PAP 応答。PAPIIID を呈する患者の亜群分析は、治療群間の有意の差を明らかにした。試験 I FN002 の ITT 集団からの 14 名の PAPIIID 患者のうち 6 名は応答し、比較して PP 集団からの 14 名の PAPIIID 患者で応答した者はなかった。</li> <li>コルポスコピード診断結果。コルポスコピード診断は、個人の最終観察時に対照群に比較して治療群で統計的に有意に良好であった。I FN002 の試験において、12 名の患者 (60%) は、「正常」または「非定型」に向かって改善した。比較によると、非介入試験においては、個人の最終観察時に、2 名の患者 (9.52%) が改善しただけであった。</li> </ul>
主な安全性の結果	<ul style="list-style-type: none"> <li>有害事象：36 例の AE を記録に残した。治療群における 34 例の AE：これらの 7 例は治療開始前に発症した。2 例の SAE は、対照群の 1 名の患者で観察された。AE 分析は、治療群の、治療開始後に始まった 27 例の AE (「治療出現 AE」) に基づく。</li> </ul>

( 0 0 6 1 )

【表3-2】

	<p>これらの27例のAEは、治療群の20名の患者の14名(70.00%)に起こった。国際医薬用語集－主要用語にしたがえば、3例のAEは分類「不正子宮出血」からおよび4例は分類「頭痛」からくる；他の全てのAEクラスは、1回または2回だけ起こった。3名の患者における5例のSAEは、試験の薬物療法中に、全て治療に関するいかなる因果関係もなしに起こった(治療群：1名の患者における治療開始前の妊娠、1名の患者における脳振盪および頸椎圧迫を伴った水泳中の事故；対照群：1名の患者における流産を伴った妊娠)。死亡はなく、他の有意のAEもなかった。</p>
	<p>• 臨床検査：尿：尿pH値に関して時間経過による有意の変化は観察されなかった。1つのセンターで、若干の尿パラメーターを定量的に測定した：平均赤血球数の明確な増加があったが、前後の変化は小さくて、このおよび他のパラメーターについて有意でなかった。若干の患者において、定性的に測定した、白血球数、硝酸塩、タンパク質、ウロビリノーゲン、ビリルビンおよび／または血液が尿中に検出された。血液：群間の有意の差が、ヘマトクリット、MCV、MCHC、血小板および好塩基球に関して試験開始時および終了時に見出されたが、しかしながら、平均の前後の変化に関しては見出されなかつた。治療群患者においては、白血球(しかし有意ではない)、リンパ球[Gpt/1](有意)、単球[Gpt/1](有意)および好塩基球[Gpt/1](有意)において、増加の傾向があるように思われる。クレアチニン、ASTおよびアルカリホスファターゼ(AP)に関して、有意の群間差が見出されたが、しかしながら、試験開始および終了時の平均の前後の変化に関しては見出されなかつた。ビリルビンに関して両群において有意の平均の低下があり、また、ALTに関しては、対照群において有意の平均の低下があつた。CRFに関する全ての検査値について、研究者のアセスメント(正常か正常範囲外か：臨床に関連しているかまたは臨床に関連していないか)が必要とされた。臨床への関連性は稀な例で記録されただけである。</p>
	<p>• 身体検査および生命徵候：治療群の1例でだけ、V06の受診で病理学的所見が観察された(アンギナ)。各試験群内で、治験期間中、生命徵候は、正常な変動および測定誤差の限界内で殆ど一定のままであった。治療群において、V01の受診時の拡張期の血圧および心拍数に関して高い値で群間の有意の差(U検定)があつたが、前後の差に関して有意の差はなかつた。</p>
結論：	<p>総じて、治療群は、無治療比較群より高い応答率を有している。<math>\alpha = 0.05</math>を使用する統計的有意性は、直接比較するならば第1評価項目のためには合わない。しかしながら、小さい試料サイズ、および試験が僅かに異なるコルボスコピー検査スケジュールで別々にかつ独立に実施されたという事実のために、この種の比較が困難になる。</p> <p>PAPIII dを呈する患者の亜群分析は、治療群間の有意の差を明らかにした。試験IFNO02のITT集団からの14名のPAPIII d患者の6名は応答し、それに比較して、PP集団からの14名のPAPIII d患者に応答した者はいなかつた。</p>

【0062】

10

20

30

40

【表3-3】

	<p>コルボスコピ－診断は、個人の最終観察時において、対照群に比較して、治療群で統計的に有意に良好であった。試験I F N 0 0 2において、12名の患者（6.0%）が「正常」または「非定型」に向かって改善していた。比較により、非介入試験においては、個人の最終観察時に、2名の患者（9.52%）が改善していただけであった。</p> <p>S A Eのいずれも試験薬剤と関係しておらず、その他の重大なA Eも起らなかった。本治療は、すぐれた安全性プロファイルを示す。</p> <p>臨床的利益の可能性があることおよび有意の薬剤関連有害事象がないことは、テストされた薬剤に対する肯定的な指示である。</p>
--	--

10

有効性パラメーター：有効性パラメーターの推計学的分析は、純粹に探索的なものであり、各検定に対して  $\alpha = 0.05$  を使用して、多くの検定に対して 調整をせずに実施した。両群間の応答率における差は  $\chi^2$  検定で判定した。

## 【0063】

主な試験結果は、2つの試験集団間で比較したP a p 応答率に基づいた。患者のパパニコラウスミアが、L S I L 細胞診断の共通ヨーロッパすなわち「ミュンヘン分類」システムによるパパニコラウスミアのI I WからI I I D群までのいずれかからI I 群またはそれより良好に改善したならば、パパニコラウスミアの正常化が起らったとみなした。

20

## 【0064】

安全性パラメーター：全ての分析は記述的な性質のものである。検査値は、従属標本に対して、漸近的M a n n - W h i t n e y - U 検定（群間差）および漸近的W i l c o x o n 検定（群内差）により分析した。全てのA Eは、M e d D R A にしたがってコードをつけ完全にリスト化して、試験群により分離した。A E 関連および患者関連分析を実施した。

第1評価項目（I T T）：治療群における20名の患者のうち8名（40.00%）が、比較した対照群においては21名の患者のうち3名（14.29%）が応答した。しかしながら、治療群の2名の患者のパパニコラウスミアの結果は、以前の受診時の予備的P A P 応答の後で悪化した。したがって、12週間の観察期間後のP A P 応答だけ考慮するなら（対照群における定義によるように）、治療群の20名の患者のうち6名（30.00%）が応答した者である。

30

## 【0065】

プロトコル準拠集団（P P ）におけるP A P 応答：治療群において、15名の患者のうち7名（46.67%）が、比較した対照群においては19名の患者のうち3名（15.79%）が応答した。12週間の観察期間後のP A P 応答だけ考慮するなら、

有害事象：36例のA Eを記録に残した。治療群における34例のA E：これらの7例は治療開始前に発症した。2例のS A Eは、対照群の1名の患者で観察された。A E分析は、治療群の、治療開始後に始まった27例のA E（「治療出現A E」）に基づく。これらの27例のA Eは、治療群の20名の患者の14名（70.00%）に起らった。国際医薬用語集 - 主要用語にしたがえば、3例のA Eは分類「不正子宮出血」からおよび4例は分類「頭痛」からくる；他の全てのA Eクラスは、1回または2回だけ起らった。3名の患者における5例のS A Eは、試験の薬物療法中に全て治療についていかなる因果関係もなしに起らった（治療群：1名の患者における治療開始前の妊娠、1名の患者における脳振盪および頸椎圧迫を伴った水泳中の事故；対照群：1名の患者における流産を伴った妊娠）。死亡はなく、他の有意のA Eもなかった。

40

臨床検査：尿：尿p H値に関して時間経過による有意の変化は観察されなかった。1つのセンターで、若干の尿パラメーターを定量的に測定した：平均赤血球数の明確な増加があったが、前後の変化は小さくて、このおよび他のパラメーターについて有意でなかった。定性的に測定した若干の患者において、白血球数、硝酸塩、タンパク質、ウロビリノ-

50

ゲン、ビリルビンおよび／または血液が尿中に検出された。血液：試験開始時および終了時のヘマトクリット、M C V、M C H C、血小板および好塩基球に関して、有意の群間差が見出されたが、しかしながら、平均の前後の変化に関しては見出されなかった。治療群患者においては、白血球（しかし有意ではない）、リンパ球 [ G p t / l ]（有意）、単球 [ G p t / l ]（有意の）および好塩基球 [ G p t / l ]（有意）において、増加の傾向があるように思われる。試験開始時および終了時のクレアチニン、A S A T およびアルカリホスファターゼ（A P）に関して、有意の群間差が見出されたが、しかしながら、平均の前後の変化に関してはなかった。ビリルビンに関して両群において有意の平均の低下があり、また、A L A T に関しては、対照群において有意の平均の低下があった。C R F に関する全ての検査値について、研究者のアセスメント（正常か正常範囲外か：臨床に関連しているかまたは臨床に関連していないか）が必要とされた。臨床への関連性は稀な例で記録されただけである。

#### 【 0 0 6 6 】

身体検査および生命徵候：治療群の 1 例でだけ、V 0 6 の受診で病理学的所見が観察された（アンギナ）。各試験群内で、治験期間中、生命徵候は、正常な変動および測定誤差の限界内で殆ど一定のままであった。治療群において、V 0 1 の受診時の拡張期の血圧および心拍数に関して、高い値で群間に有意の差（U 検定）があったが、前後の差に関して有意の差はなかった。

#### 【 0 0 6 7 】

総じて、治療群は、無治療比較群より高い応答率を有している。 = 0 . 0 5 を使用する統計的有意性は、直接比較するならば第 1 評価項目のためには合わない。しかしながら、小さい試料サイズ、および試験が僅かに異なるコルポスコピー検査スケジュールで別々にかつ独立に実施されたという事実のために、この種の比較が困難になる。

#### 【 0 0 6 8 】

追加の有効性結果：P A P I I I d を呈する患者の亜群分析は、治療群間の有意の差を明らかにした。試験 I F N 0 0 2 の I T T 集団からの 1 4 名の P A P I I I d 患者のうち 6 名は応答し、比較した P P 集団からの 1 4 名の P A P I I I d 患者に応答した者はいなかった。

#### 【 0 0 6 9 】

P A P 応答率パラメーターを超えて、コルポスコピー診断は、個人の最終観察時に対照群に比較して治療群で統計的に有意に良好であった。I F N 0 0 2 の試験において、1 2 名の患者（6 0 %）は、「正常」または「非定型」に向かって改善した。比較によると、非介入試験においては、個人の最終観察時に、2 名の患者（9 . 5 2 %）が改善しただけであった。

#### 【 0 0 7 0 】

本発明を、特定の実施形態に関して説明したが、本発明から逸脱することなく、種々の変更および改変が為され得ることは、当業者には明らかであろう。

10

20

30

【図1】

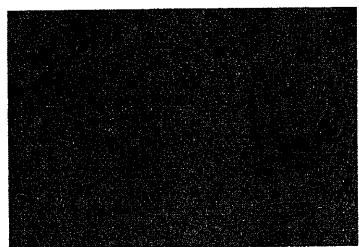


Fig. 1

【図2B】

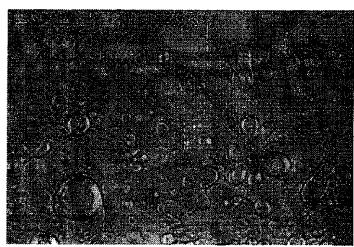


Fig. 2B

【図2A】



Fig. 2A

【図3】

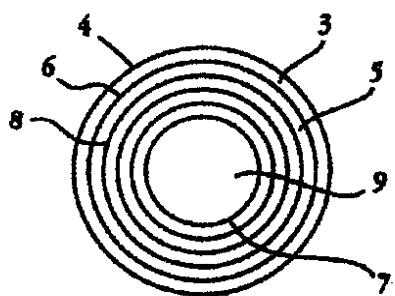


Fig. 3

【図4】

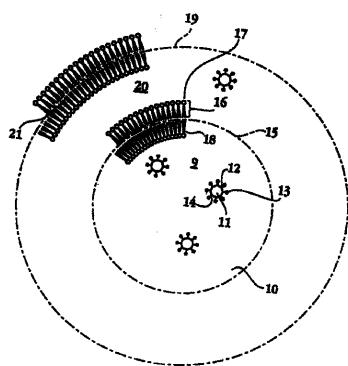


Fig. 4

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I

A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 31/12	(2006.01)	A 6 1 P 31/12

(72)発明者 フォルドバリ, マリアンナ

カナダ国 エヌ2シー 2アール2 オンタリオ, キッチナー, ヒドゥン バレー クレセン  
ト 2231

(72)発明者 クマー, ブラビーン

カナダ国 エス7ジェイ 4エヌ3 サスカチュワン, サスカトゥーン, ウェイアク温

ドライブ 111

(72)発明者 ドチャーティー, ジヨン エム.

カナダ国 エル4イー 4エス4 オンタリオ, リッチモンド ヒル, バーバリー クレセン  
ト 12

審査官 天野 貴子

(56)参考文献 米国特許第06656499(US, B1)

国際公開第2005/087201(WO, A1)

特表2006-525280(JP, A)

Wang W, Instability, stabilization, and formulation of liquid protein pharmaceuticals.  
, Int J Pharm. , 1999年 8月20日, Vol.185 no.2, pp.129-188

Qiu J et al., Multivesicular liposome formulations for the sustained delivery of interferon alpha-2b., Acta Pharmacol Sin. , 2005年11月, Vol.26 No.11, pp.1395-1401

Stellato G. , Intralesional recombinant alpha 2B interferon in the treatment of human papillomavirus-associated cervical intraepithelial neoplasia. , Sex Transm Dis. , 1992年 5月, Vol.19 No.3, pp.124-126

Mantripragada S , A lipid based depot (DepoFoam technology) for sustained release drug delivery. , Prog Lipid Res. , 2002年 9月, Vol.41 No.5, pp.392-406

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 38 / 21

A 6 1 K 9 / 107

A 6 1 K 9 / 127

A 6 1 K 47 / 20

A 6 1 P 15 / 00

A 6 1 P 31 / 12

A 6 1 P 35 / 00

CA / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)

JST Plus / JMED Plus / JST7580 (JDreamIII)