(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2022-544624
(P2022-544624A)
(43)公表日　令和4年10月19日(2022.10.19)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）	
C07K	*1/113(2006.01)*	C07K	1/113		4B065
A61K	*38/20 (2006.01)*	A61K	38/20	ZNA	4C076
A61K	*9/20 (2006.01)*	A61K	9/20		4C084
A61K	*9/48 (2006.01)*	A61K	9/48		4C085
A61K	*47/32 (2006.01)*	A61K	47/32		4H045

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全287頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-510140(P2022-510140)
(86)(22)出願日　令和2年8月14日(2020.8.14)
(85)翻訳文提出日　令和4年4月15日(2022.4.15)
(86)国際出願番号　PCT/US2020/046545
(87)国際公開番号　WO2021/034727
(87)国際公開日　令和3年2月25日(2021.2.25)
(31)優先権主張番号　62/888,144
(32)優先日　令和1年8月16日(2019.8.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/888,237
(32)優先日　令和1年8月16日(2019.8.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/887,963
最終頁に続く

(71)出願人　521195881
アプライド モレキュラー トランスポート インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， イースト ジェイミー コート ４５０
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田 貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川 大輔
(74)代理人　230113332
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　組成物、製剤およびインターロイキンの生成および精製

(57)【要約】
投与時の個体における明確な応答により特徴付けられ得るコリックス－ＩＬ－１０融合タンパク質およびその使用方法が、本明細書に記載される。この明確な応答は、個体における１つもしくは複数のマーカーのレベルの変化、および／または個体の粘膜固有層におけるＩＬ－１０の共局在化を含み得る。さらに、本明細書において、一部の実施形態では、コリックス－ＩＬ－１０融合タンパク質の経口製剤が記載される。生物活性二量体形態のＩＬ－１０送達構築物の高いパーセンテージの維持をもたらすことができる、リフォールディングおよび富化のための方法を含む、ＩＬ－１０送達構築物の精製のための方法が、本明細書に記載される。小腸または結腸における治療用タンパク質の部位特異的放出用に構成された経口製剤が、本明細書に記載される。

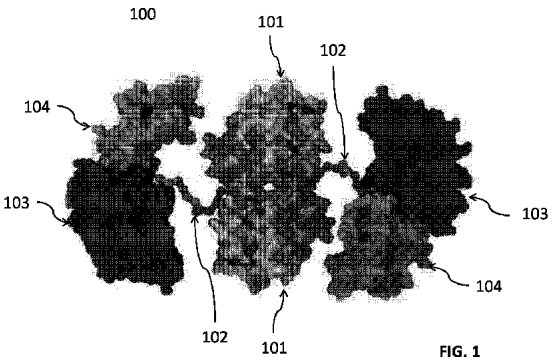


FIG. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
配列番号５または配列番号１３に記載のアミノ酸配列からなる送達構築物。
【請求項２】
配列番号５に記載のアミノ酸配列からなる、請求項１に記載の送達構築物。
【請求項３】
配列番号１３に記載のアミノ酸配列からなる、請求項１に記載の送達構築物。
【請求項４】
ホモ二量体の一部である、請求項１から３のいずれか一項に記載の送達構築物。
【請求項５】
経口投与用に製剤化される組成物内に配置されており、経口投与用の前記組成物が、前記送達構築物と同一の複数の送達構築物を含み、前記送達構築物の少なくとも８０％が、二量体形態である、請求項１から４のいずれか一項に記載の送達構築物。
【請求項６】
対象における炎症性疾患を処置する方法であって、請求項１から５のいずれか一項に記載の送達構築物の有効量を前記対象に投与するステップを含む、方法。
【請求項７】
前記炎症性疾患が、潰瘍性大腸炎、直腸炎、回腸嚢炎、クローン病、多発性硬化症（ＭＳ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、関節リウマチ、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、セリアック病、乾癬性関節炎、または乾癬である、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記炎症性疾患が、潰瘍性大腸炎である、請求項６に記載の方法。
【請求項９】
前記炎症性疾患が、クローン病である、請求項６に記載の方法。
【請求項１０】
前記炎症性疾患が、セリアック病である、請求項６に記載の方法。
【請求項１１】
ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディングする方法であって、
（ｉ）前記ＩＬ－１０送達構築物を含む封入体を、カオトロピック剤を含む可溶化溶液と接触させて、可溶性ＩＬ－１０送達構築物を生成するステップ；
（ｉｉ）前記可溶性ＩＬ－１０送達構築物を、還元型グルタチオンと酸化型グルタチオンとを含むリフォールディング溶液と接触させて、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物を生成するステップ
を含み、（ｉｉ）の接触させるステップの前に前記可溶性ＩＬ－１０送達構築物を亜硫酸分解剤または還元剤と接触させるステップを含まない、方法。
【請求項１２】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、担体を含む、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
前記担体が、細菌により分泌されるポリペプチドに由来する、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
前記細菌が、Ｖｉｂｒｉｏ　ｃｈｏｌｅｒａｅである、請求項１３に記載の方法。
【請求項１５】
Ｖｉｂｒｉｏ　ｃｈｏｌｅｒａｅにより分泌される前記ポリペプチドが、コリックスポリペプチドである、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、請求項１１から１５のいずれか一項に記載の方法。

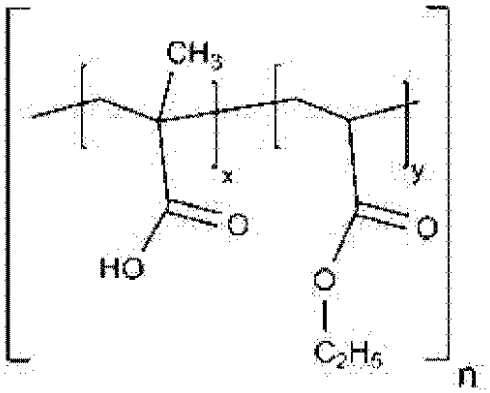
【請求項１７】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、前記担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する、請求項１６に記載の方法。
【請求項１８】
前記リフォールディング溶液が、０．８：１～１．２：１の前記還元型グルタチオンの前記酸化型グルタチオンに対する比を含む、請求項１１から１７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１９】
前記リフォールディング溶液が、０．７５ｍＭ～１．５ｍＭの還元型グルタチオンを含む、請求項１１から１８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２０】
前記リフォールディング溶液が、０．２５ｍＭ～０．７５ｍＭの酸化型グルタチオンを含む、請求項１１から１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２１】
前記リフォールディング溶液が、７．５～８．５のｐＨを有する、請求項１１から２０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２２】
前記リフォールディング溶液が、アルギニン、Ｔｒｉｓ、およびＥＤＴＡを含む、請求項１１から２１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３】
前記リフォールディング溶液が、スクロースを含む、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
前記リフォールディング溶液が、アルギニン、スクロース、Ｔｒｉｓ、ＥＤＴＡ、またはこれらの組合せを含む、請求項１１から２１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２５】
アルギニンが、前記リフォールディング溶液中に９００ｍＭ～１．１Ｍの間の濃度で存在する、請求項２２に記載の方法。
【請求項２６】
スクロースが、前記リフォールディング溶液中に２００ｍＭ～３００ｍＭの間の濃度で存在する、請求項２２から２５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２７】
Ｔｒｉｓが、前記リフォールディング溶液中に７５ｍＭ～１２５ｍＭの濃度で存在する、請求項２２から２６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２８】
ＥＤＴＡが、前記リフォールディング溶液中に１．７５ｍＭ～２．２５ｍＭの濃度で存在する、請求項２２から２７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２９】
前記封入体を含む細胞を溶解するステップをさらに含む、請求項１１から２８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３０】
前記細胞が、細菌である、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記細菌が、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉである、請求項３０に記載の方法。
【請求項３２】
前記溶解するステップが、高圧均質化を含む、請求項２９から３１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３３】
前記封入体を単離するステップをさらに含む、請求項１１から３２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３４】

前記カオトロピック剤が、グアニジン塩酸塩または尿素を含む、請求項１１から３３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３５】
前記可溶化溶液が、Ｔｒｉｓをさらに含む、請求項１１から３４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３６】
前記可溶性ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディング溶液と前記接触させるステップが、少なくとも１６時間行われる、請求項１１から３５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３７】
前記可溶性ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディング溶液と前記接触させるステップが、１２時間～１８時間行われる、請求項１１から３６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３８】
前記ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディング溶液と前記接触させるステップが、２℃～８℃で行われる、請求項１１から３７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３９】
前記リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物の第１の滅菌濾過をさらに含む、請求項１１から３８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４０】
前記第１の滅菌濾過が、前記リフォールディング溶液と前記接触させるステップの後に行われる、請求項３９に記載の方法。
【請求項４１】
前記リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物の接線流濾過を行うステップをさらに含む、請求項４０に記載の方法。
【請求項４２】
前記接線流濾過が、透析濾過を含む、請求項４１に記載の方法。
【請求項４３】
前記透析濾過が、第１のダイアボリューム、第２のダイアボリューム、第３のダイアボリューム、および第４のダイアボリュームを含む、請求項４２に記載の方法。
【請求項４４】
前記第１のダイアボリュームおよび前記第２のダイアボリュームが、低温緩衝液を含む、請求項４３に記載の方法。
【請求項４５】
前記第３のダイアボリュームおよび前記第４のダイアボリュームが、室温緩衝液を含む、請求項４４に記載の方法。
【請求項４６】
前記低温緩衝液および前記室温緩衝液が、ＴｒｉｓおよびＮａＣｌを含む、請求項４４または４５に記載の方法。
【請求項４７】
二量体形態、単量体形態および凝集体形態のＩＬ－１０送達構築物を含むプールからＩＬ－１０送達構築物二量体を富化する方法であって、
（ｉ）前記プールについての陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーを、前記ＩＬ－１０送達構築物二量体を陰イオン交換カラムに結合させ、そしてその後、前記ＩＬ－１０送達構築物二量体を前記陰イオン交換カラムから溶離することにより行い、それによって第１の複数の画分を生成するステップであって、この複数の画分のうちの１つが、前記二量体形態のＩＬ－１０送達構築物が富化された第１の画分である、ステップ；および
（ｉｉ）前記二量体形態のＩＬ－１０送達構築物が富化された前記画分についてのセラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）クロマトグラフィーを行い、それによって第２の複数の画分を生成するステップであって、この複数の画分のうちの１つが、前記二量体形態のＩＬ－１０送達構築物がさらに富化された第２の画分である、ステップ
を含む、方法。

【請求項４８】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、担体を含む、請求項４７に記載の方法。
【請求項４９】
前記担体が、細菌により分泌されるポリペプチドに由来する、請求項４８に記載の方法。
【請求項５０】
前記細菌が、Ｖｉｂｒｉｏ　ｃｈｏｌｅｒａｅである、請求項４９に記載の方法。
【請求項５１】
Ｖｉｂｒｉｏ　ｃｈｏｌｅｒａｅにより分泌される前記ポリペプチドが、コリックスポリペプチドである、請求項５０に記載の方法。
【請求項５２】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、請求項４７から５１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５３】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、前記担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する、請求項５２に記載の方法。
【請求項５４】
前記第１の複数の画分の各画分中の前記二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージを決定するステップをさらに含む、請求項４７から５３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５５】
前記決定するステップが、サイズ排除クロマトグラフィーによる、請求項５４に記載の方法。
【請求項５６】
前記サイズ排除クロマトグラフィーが、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー（ＳＥ－ＨＰＬＣ）である、請求項５５に記載の方法。
【請求項５７】
前記第２の複数の画分の各画分中の前記二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージを決定するステップをさらに含む、請求項４７に記載の方法。
【請求項５８】
前記決定するステップが、サイズ排除クロマトグラフィーによる、請求項５７に記載の方法。
【請求項５９】
前記サイズ排除クロマトグラフィーが、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー（ＳＥ－ＨＰＬＣ）である、請求項５８に記載の方法。
【請求項６０】
前記第１の画分中の前記ＩＬ－１０送達構築物の少なくとも７５％が、前記二量体形態のＩＬ－１０送達構築物である、請求項４７から５９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６１】
前記第２の画分中の前記ＩＬ－１０送達構築物の少なくとも８０％が、前記二量体形態のＩＬ－１０送達構築物である、請求項４７から６０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６２】
前記第２の画分の接線流濾過を行うステップをさらに含む、請求項４７から６１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６３】
前記接線流濾過が、限外濾過を含む、請求項６２に記載の方法。
【請求項６４】
透析濾過をさらに含む、請求項６３に記載の方法。
【請求項６５】

前記第２の画分の滅菌濾過を行うステップをさらに含む、請求項６４に記載の方法。
【請求項６６】
陽イオン交換クロマトグラフィーを含まない、請求項４７から６５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６７】
前記プールが、請求項１１から４６のいずれか一項に記載の方法から得られたリフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物を含む、請求項４７から６６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６８】
（ａ）ＩＬ－１０送達構築物と、
（ｂ）１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤と、
（ｃ）異なる名目上の溶出ｐＨを各々が有する２つまたはそれより多くのコポリマーを含む第１の被覆と
を含む経口製剤であって、
開放モードで４型溶出試験装置において１．０のｐＨを有する溶液への１時間の曝露後に実質的に全く前記ＩＬ－１０送達構築物を放出しないように構成されている、経口製剤。
【請求項６９】
１．０のｐＨを有する前記溶液が、塩酸を含有する溶出媒体である、請求項６８に記載の経口製剤。
【請求項７０】
開放モードで４型溶出試験装置において７．０のｐＨを有する溶液への２時間の曝露後に前記ＩＬ－１０送達構築物の少なくとも４０％を放出するように構成されている、請求項６８または請求項６９に記載の経口製剤。
【請求項７１】
７．０のｐＨを有する前記溶液への２時間の曝露後に放出される前記ＩＬ－１０送達構築物の少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも２０％、または少なくとも２５％が、二量体形態である、請求項６８から７０のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項７２】
７．０のｐＨを有する前記溶液が、クエン酸／リン酸緩衝液である、請求項７０または請求項７１に記載の経口製剤。
【請求項７３】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、担体を含む、請求項６８から７２のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項７４】
前記担体が、細菌により分泌されるポリペプチドに由来する、請求項７３に記載の方法。
【請求項７５】
前記細菌が、Ｖｉｂｒｉｏ　ｃｈｏｌｅｒａｅである、請求項７４に記載の方法。
【請求項７６】
Ｖｉｂｒｉｏ　ｃｈｏｌｅｒａｅにより分泌される前記ポリペプチドが、コリックスポリペプチドである、請求項７５に記載の方法。
【請求項７７】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、請求項７３から７６のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項７８】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、前記担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する、請求項７７に記載の経口製剤。

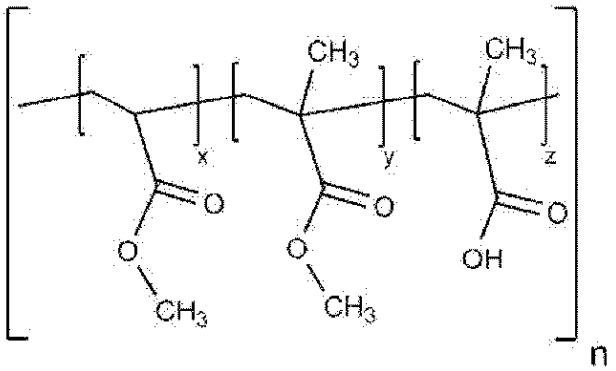
【請求項７９】
カプセル剤または錠剤中にある、請求項６８から７８のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項８０】
第１のコポリマーが、ｐＨ＞５．５で少なくとも５０％の名目上の溶出を有し、第２のコポリマーが、ｐＨ＞７．０で少なくとも５０％の名目上の溶出を有する、請求項６８から７９のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項８１】
前記第１のコポリマーが、メタクリル酸、およびアクリル酸エチルを含む、請求項８０に記載の経口製剤。
【請求項８２】
第１のポリマーが、２００，０００ｇ／ｍｏｌ～４５０，０００ｇ／ｍｏｌ、または２５０，０００ｇ／ｍｏｌ～４００，０００ｇ／ｍｏｌ、または２８０，０００ｇ／ｍｏｌ～３７０，０００ｇ／ｍｏｌ、または３００，０００ｇ／ｍｏｌ～３４０，０００ｇ／ｍｏｌの重量平均分子量を有する、請求項８０または請求項８１に記載の経口製剤。
【請求項８３】
前記第１のコポリマーが、式Ｉのポリマー：
【化１１】



式 I;

を含み、式中、ｘ、ｙ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい、
請求項８０から８２のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項８４】
前記第１のコポリマー中の遊離カルボキシル基のエステル基に対する比が、０．８：１～１．２：１である、請求項８０から８３のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項８５】
前記第２のコポリマーが、前記第１のコポリマーとは異なる、請求項８０から８４のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項８６】
前記第１の被覆中の前記第１のコポリマーの前記第２のコポリマーに対する比が、１５：８５～５５：４５である、請求項８０から８５のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項８７】
前記第１の被覆中の前記第１のコポリマーの前記第２のコポリマーに対する比が、２０：８０、３０：７０、４０：６０、または５０：５０である、請求項８０から８５のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項８８】
前記第２のコポリマーが、メタクリル酸、メタクリル酸メチル、およびアクリル酸メチルを含む、請求項８０から８７のいずれか一項に記載の経口製剤。

【請求項８９】
第２のポリマーが、１６０，０００ｇ／ｍｏｌ～４００，０００ｇ／ｍｏｌ、または２００，０００ｇ／ｍｏｌ～３６０，０００ｇ／ｍｏｌ、または２４０，０００ｇ／ｍｏｌ～３２０，０００ｇ／ｍｏｌ、または２６０，０００ｇ／ｍｏｌ～３００，０００ｇ／ｍｏｌの重量平均分子量を有する、請求項８０から８８のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項９０】
前記第２のコポリマーが、式ＩＩのポリマー：
【化１２】

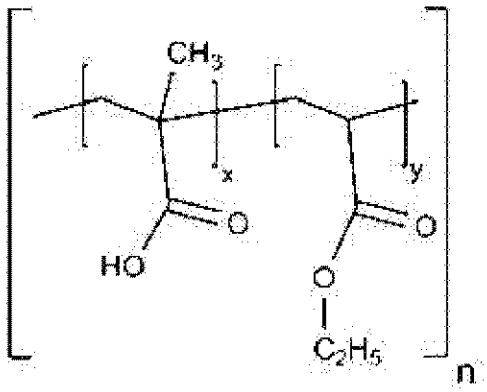


式 II;

を含み、式中、ｘ、ｙ、ｚ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい、請求項８０から８９のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項９１】
前記第２のコポリマー中の遊離カルボキシル基のエステル基に対する比が、０．８：１～１．２：１である、請求項８０から９０のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項９２】
前記第１の被覆が、粘着防止剤、可塑剤、界面活性剤、またはこれらの組合せをさらに含む、請求項８０から９１のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項９３】
前記第１の被覆が、粘着防止剤を含み、前記粘着防止剤が、モノステアリン酸グリセロールを含む、請求項９２に記載の経口製剤。
【請求項９４】
前記第１の被覆が、可塑剤を含み、前記可塑剤が、クエン酸トリエチルである、請求項９２または請求項９３に記載の経口製剤。
【請求項９５】
前記第１の被覆が、界面活性剤を含み、前記界面活性剤が、ポリソルベート８０である、請求項９２から９４のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項９６】
前記第１の被覆の５％～１５％（ｗ／ｗ）が、モノステアリン酸グリセロールとクエン酸トリエチルとポリソルベート８０の混合物である、請求項９２から９５のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項９７】
前記第１の被覆が、サイズ１カプセル上の６０ｍｇの被覆の厚さと実質的に同等の厚さを有する、請求項６８から９６のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項９８】
前記第１の被覆が、０．１ｍｇ／ｍｍ^2～０．２ｍｇ／ｍｍ^{2}の量で内側部分の周囲に配置されている、請求項６８から９６のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項９９】

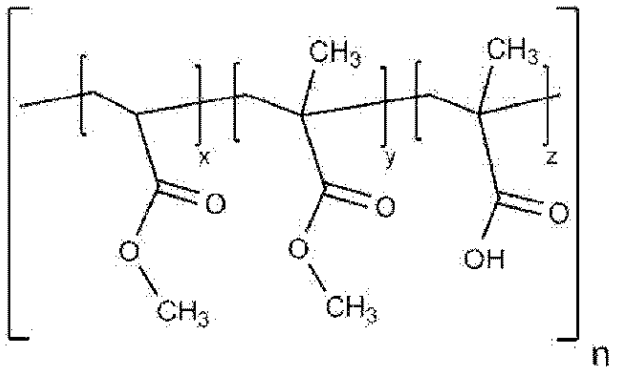
前記第１の被覆が、３０ｍｇ～６０ｍｇの質量を有する、請求項６８から９６のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１００】
前記第１の被覆の外側にある第２の被覆をさらに含む、請求項６８から９９のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１０１】
前記第２の被覆が、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）を含む、請求項１００に記載の経口製剤。
【請求項１０２】
前記第１の被覆の内側かつ前記ＩＬ－１０送達構築物および前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある、第３の被覆をさらに含む、請求項１００または請求項１０１に記載の経口製剤。
【請求項１０３】
前記第３の被覆が、ＨＰＭＣを含む、請求項１０２に記載の経口製剤。
【請求項１０４】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、１ｍｇ～２０ｍｇの量で前記経口製剤中に存在する、請求項６８から１０３のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１０５】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、１ｍｇ、５ｍｇ、または２０ｍｇの量で前記経口製剤中に存在する、請求項６８から１０３のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１０６】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、界面活性剤、浸透圧調節物質、塩、および増量剤を含む、請求項６８～１０５のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１０７】
前記塩が、リン酸カリウムを含み、前記増量剤が、グリシンを含み、前記浸透圧調節物質が、スクロースを含み、前記界面活性剤が、ポロキサマー１８８を含む、請求項１０６に記載の経口製剤。
【請求項１０８】
０．４５：１～０．５５：１、好ましくは約０．５：１の、前記浸透圧調節物質の前記ＩＬ－１０送達構築物に対する重量比を含む、請求項１０６または請求項１０７に記載の経口製剤。
【請求項１０９】
０．１２：１～０．１８：１、好ましくは約０．１５：１の、前記界面活性剤の前記ＩＬ－１０送達構築物に対する重量比を含む、請求項１０６から１０８のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１１０】
０．０５：１～０．０９：１、好ましくは約０．０７：１の、前記塩の前記ＩＬ－１０送達構築物に対する重量比を含む、請求項１０６から１０９のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１１１】
０．８：１～１．２：１、好ましくは約１：１の、前記増量剤の前記ＩＬ－１０送達構築物に対する重量比を含む、請求項１０６から１１０のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１１２】
固体である、請求項６８から１１１のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１１３】
単位用量形態である、請求項６８から１１２のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１１４】
少なくとも３カ月、少なくとも６カ月、少なくとも１２カ月、少なくとも１８カ月、または少なくとも２４カ月の有効期間を有する、請求項６８から１１３のいずれか一項に記載の経口製剤。

【請求項１１５】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、カリウム塩、グリシン、スクロースまたはトレハロース、およびポロキサマーを含み、前記ポロキサマーが、１５，０００～２５，０００ダルトンの重量平均分子量、および７０重量％～９０重量％のポリオキシエチレン含量を有し、
前記経口製剤が、
（ｃ）第１のコポリマーを含む第１の被覆であって、前記第１のコポリマーが、式Ｉのポリマー：
【化１３】



式 I;

を含み、式中、ｘ、ｙ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しく、そして
前記第１の被覆が、第２のコポリマーをさらに含み、前記第２のコポリマーが、式ＩＩのポリマー：
【化１４】



式 II;

を含み、式中、ｘ、ｙ、ｚ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しく、
前記第１のコポリマーの前記第２のコポリマーに対する比が、３０：７０であり、
前記第１の被覆が、５％～１５％（ｗ／ｗ）の、モノステアリン酸グリセロールとクエン酸トリエチルとポリソルベート８０との混合物をさらに含む、第１の被覆と；
（ｄ）前記第１の被覆の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第２の被覆と；
（ｅ）前記第１の被覆の内側かつ治療用ペイロードおよび前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第３の被覆と
をさらに含む、請求項６８に記載の経口製剤。
【請求項１１６】

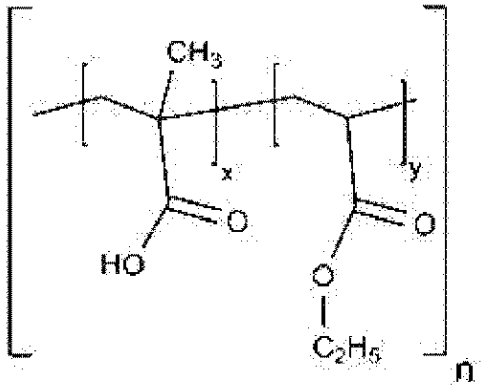
ＩＬ－１０送達構築物と
１つまたは複数の賦形剤と
を含む固体組成物であって、
前記ＩＬ－１０送達構築物の各々が、極性化腸上皮細胞を横断する前記ＩＬ－１０送達構築物のトランスサイトーシスを促進する担体に連結しているＩＬ－１０を含み、
前記ＩＬ－１０送達構築物の８０％より多くが二量体形態である、
固体組成物。
【請求項１１７】
凍結乾燥または噴霧乾燥されている、請求項１１６に記載の固体組成物。
【請求項１１８】
錠剤またはカプセル剤である、請求項１１６または請求項１１７に記載の固体組成物。
【請求項１１９】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、界面活性剤を含む、請求項１１６から１１８のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１２０】
前記界面活性剤が、ポロキサマーである、請求項１１９に記載の固体組成物。
【請求項１２１】
前記ポロキサマーが、ポロキサマー１８８である、請求項１２０に記載の固体組成物。
【請求項１２２】
前記界面活性剤が、ポリソルベートを含まない、請求項１１９に記載の固体組成物。
【請求項１２３】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、浸透圧調節物質を含む、請求項１１６から１２２のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１２４】
前記浸透圧調節物質が、スクロースである、請求項１２３に記載の固体組成物。
【請求項１２５】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、塩を含む、請求項１１６から１２４のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１２６】
前記塩が、リン酸カリウムである、請求項１２５に記載の固体組成物。
【請求項１２７】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、増量剤を含む、請求項１１６から１２６のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１２８】
前記増量剤が、グリシンである、請求項１２７に記載の固体組成物。
【請求項１２９】
前記ＩＬ－１０が、配列番号２に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、請求項１１６から１２８のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１３０】
前記ＩＬ－１０が、リンカーを介して前記担体に連結している、請求項１１６から１２９のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１３１】
前記リンカーが、配列番号６に記載のアミノ酸配列を含む、請求項１３０に記載の固体組成物。
【請求項１３２】
前記担体が、配列番号４に記載のアミノ酸配列を含む、請求項１１６から１３１のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１３３】
前記担体が、配列番号１２に記載のアミノ酸配列を含む、請求項１１６から１３１のい

ずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１３４】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、請求項１１６から１３２のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１３５】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、前記担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する、請求項１３４に記載の固体組成物。
【請求項１３６】
前記ＩＬ－１０送達構築物の８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、または９０％より多くが、二量体形態である、請求項１１６から１３５のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１３７】
前記ＩＬ－１０送達構築物の８５％～９２％が、二量体形態である、請求項１１６から１３５のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１３８】
第１の被覆を含む、請求項１１６から１３７のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１３９】
前記第１の被覆が、第１のコポリマーおよび第２のコポリマーを含み、前記第１の被覆が、前記ＩＬ－１０送達構築物および１つまたは複数の賦形剤の外側にある、請求項１３８に記載の固体組成物。
【請求項１４０】
前記第１のコポリマーが、メタクリル酸、およびアクリル酸エチルを含む、請求項１３９に記載の固体組成物。
【請求項１４１】
前記第２のコポリマーが、メタクリル酸、メタクリル酸メチル、およびアクリル酸メチルを含む、請求項１３９または請求項１４０に記載の固体組成物。
【請求項１４２】
前記第１の被覆中の前記第１のコポリマーの前記第２のコポリマーに対する比が、約１５：８５～約５５：４５である、請求項１３９から１４１のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１４３】
前記第１の被覆中の前記第１のコポリマーの前記第２のコポリマーに対する比が、２０：８０、３０：７０、４０：６０、または５０：５０である、請求項１３９から１４１のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１４４】
前記第１の被覆の外側にある第２の被覆をさらに含む、請求項１３８から１４３のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１４５】
前記第２の被覆が、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）を含む、請求項１４４に記載の固体組成物。
【請求項１４６】
前記第１の被覆の内側かつ前記ＩＬ－１０送達構築物および前記１つまたは複数の賦形剤の外側にある、第３の被覆をさらに含む、請求項１３８から１４５のいずれか一項に記載の固体組成物。
【請求項１４７】
前記第３の被覆が、ＨＰＭＣを含む、請求項１４６に記載の固体組成物。
【請求項１４８】
（ａ）極性化腸上皮細胞を横断するＩＬ－１０送達構築物のトランスサイトーシスを促

進する担体に連結しているＩＬ－１０を含むＩＬ－１０送達構築物と、
（ｂ）非イオン性滑沢剤を含む１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤と、
（ｃ）前記ＩＬ－１０送達構築物および前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を包囲する第１の被覆と
を含む固体経口製剤。
【請求項１４９】
前記非イオン性滑沢剤が、ベヘン酸グリセリルである、請求項１４８に記載の固体経口製剤。
【請求項１５０】
ステアリン酸マグネシウムを欠いている、請求項１４８または請求項１４９に記載の固体経口製剤。
【請求項１５１】
錠剤形態である、請求項１４８から１５０のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１５２】
開放モードで４型溶出試験装置においてｐＨ１．０の溶液への１時間の曝露後に実質的に全く前記ＩＬ－１０送達構築物が前記経口製剤から放出されないように構成されている、請求項１４８から１５１のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１５３】
開放モードで４型溶出試験装置においてｐＨ７．０の溶液への２時間の曝露後に前記ＩＬ－１０送達構築物の少なくとも４０％を放出するように構成されている、請求項１４８から１５２のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１５４】
異なる名目上の溶出ｐＨを各々が有する２つまたはそれより多くのコポリマーを含む第１の被覆をさらに含む、請求項１４８から１５３のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１５５】
前記ＩＬ－１０送達構築物の少なくとも４５％が、二量体形態である、請求項１４８から１５４のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１５６】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、増量剤、崩壊剤、またはこれらの組合せを含む、請求項１４８から１５５のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１５７】
前記増量剤が、ケイ化微結晶性セルロース（ＳＭＣＣ）である、請求項１５６に記載の固体経口製剤。
【請求項１５８】
前記崩壊剤が、クロスポビドン（架橋ポリビニルピロリドン）である、請求項１５６に記載の固体経口製剤。
【請求項１５９】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、請求項１４８から１５８のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１６０】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、前記担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する、請求項１５９に記載の固体経口製剤。
【請求項１６１】
前記ＩＬ－１０送達構築物および前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の圧縮により作製される、請求項１４８から１６０のいずれか一項の固体経口製剤。
【請求項１６２】
前記圧縮が、約２０００重量ポンド（ｌｂｆ）～約３５００ｌｂｆの圧縮力で行われる、請求項１６１に記載の固体経口製剤。

【請求項１６３】
前記第１の被覆が、第１のコポリマーおよび第２のコポリマーを含み、前記第１の被覆が、前記ＩＬ－１０送達構築物および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある、請求項１４８から１６２のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１６４】
前記第１のコポリマーが、メタクリル酸、およびアクリル酸エチルを含む、請求項１６３に記載の固体経口製剤。
【請求項１６５】
前記第２のコポリマーが、メタクリル酸、メタクリル酸メチル、およびアクリル酸メチルを含む、請求項１６３または請求項１６４に記載の固体経口製剤。
【請求項１６６】
前記第１の被覆中の前記第１のコポリマーの前記第２のコポリマーに対する比が、約１５：８５～約５５：４５である、請求項１６３から１６５のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１６７】
前記第１の被覆中の前記第１のコポリマーの前記第２のコポリマーに対する比が、２０：８０、３０：７０、４０：６０、または５０：５０である、請求項１６３から１６５のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１６８】
前記第１の被覆の外側にある第２の被覆をさらに含む、請求項１６３から１６７のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１６９】
前記第２の被覆が、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）を含む、請求項１６８に記載の固体経口製剤。
【請求項１７０】
前記第１の被覆の内側かつ前記ＩＬ－１０送達構築物および前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある、第３の被覆をさらに含む、請求項１６３から１６９のいずれか一項に記載の固体経口製剤。
【請求項１７１】
前記第３の被覆が、ＨＰＭＣを含む、請求項１７０に記載の固体経口製剤。
【請求項１７２】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、カリウム塩、グリシン、スクロースまたはトレハロース、およびポロキサマーをさらに含み、前記ポロキサマーが、１５，０００～２５，０００ダルトンの重量平均分子量、および７０重量％～９０重量％のポリオキシエチレン含量を有し、
前記経口製剤が、
（ｃ）第１のコポリマーを含む第１の被覆であって、前記第１のコポリマーが、式Ｉのポリマー：

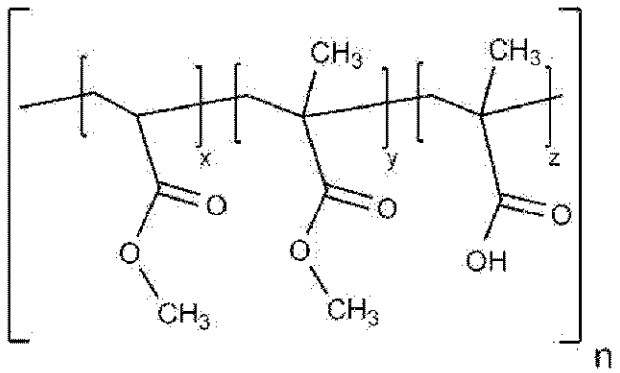
【化１５】



式 I;

を含み、式中、ｘ、ｙ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しく、そして
前記第１の被覆が、第２のコポリマーをさらに含み、前記第２のコポリマーが、式ＩＩのポリマー：

【化１６】



式 II;

を含み、式中、ｘ、ｙ、ｚ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しく
前記第１のコポリマーの前記第２のコポリマーに対する比が、３０：７０であり、
前記第１の被覆が、５％～１５％（ｗ／ｗ）の、モノステアリン酸グリセロールとクエン酸トリエチルとポリソルベート８０との混合物をさらに含む、第１の被覆と；
（ｄ）前記第１の被覆の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第２の被覆と；
（ｅ）前記第１の被覆の内側かつ治療用ペイロードおよび前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第３の被覆と
をさらに含む、請求項１４８に記載の固体経口製剤。

【請求項１７３】
（ａ）ＩＬ－１０と（ｂ）１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む経口製剤であって、前記経口製剤の用量の個体への投与が、
（ｉ）便中カルプロテクチン（ＦＣＰ）の濃度の、ＦＣＰベースラインと比べての低下、
（ｉｉ）Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）の濃度の、ＣＲＰベースラインと比べての低下、
（ｉｉｉ）Ｇｅｂｏｅｓスコアの、Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインと比べての減少、および

（ｉｖ）（ｉ）～（ｉｉｉ）の組合せ
からなる群より選択される免疫調節応答をもたらす経口製剤。
【請求項１７４】
前記免疫調節応答が、ＦＣＰの、前記ＦＣＰベースラインと比べての低下を含む、請求項１７３に記載の経口製剤。
【請求項１７５】
ＦＣＰの前記濃度が、糞便試料または結腸生検から決定される、請求項１７３または請求項１７４に記載の経口製剤。
【請求項１７６】
ＦＣＰの前記濃度の前記低下が、前記ＦＣＰベースラインと比べて少なくとも２０％、３０％、４０％、または５０％の低下である、請求項１７３から１７５のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１７７】
前記ＦＣＰベースラインが、前記投与の前の前記個体におけるＦＣＰの初期濃度である、請求項１７３から１７６のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１７８】
ＦＣＰの前記初期濃度が、前記個体の消化器適応症を示し得る、請求項１７７に記載の経口製剤。
【請求項１７９】
ＦＣＰの前記初期濃度が、１５０μｇ／ｇより高い、請求項１７８に記載の経口製剤。
【請求項１８０】
前記消化器適応症が、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）またはクローン病である、請求項１７８または請求項１７９に記載の経口製剤。
【請求項１８１】
ＦＣＰの前記濃度が、ＦＣＰの前記初期濃度と比べて少なくとも５０％低下し、前記経口製剤の前記用量が、約１ｍｇ～約３ｍｇである、請求項１７７から１８０のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１８２】
前記ＦＣＰベースラインが、プラセボ調整ＦＣＰベースラインである、請求項１７４から１７６のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１８３】
ＦＣＰの前記濃度が、前記プラセボ調整ＦＣＰベースラインと比べて少なくとも２０％低下し、前記経口製剤の前記用量が、約１ｍｇ～約３ｍｇである、請求項１８２に記載の経口製剤。
【請求項１８４】
ＦＣＰの前記濃度が、５０μｇ／ｇまたはそれ未満に低下する、請求項１７４から１８３のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１８５】
前記免疫調節応答が、ＣＲＰの前記濃度の、前記ＣＲＰベースラインと比べての低下を含む、請求項１７３から１８４のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１８６】
ＣＲＰの前記濃度が、ＣＲＰの全身濃度である、請求項１８５に記載の経口製剤。
【請求項１８７】
ＣＲＰの前記濃度が、血液試料から決定される、請求項１８５または請求項１８６に記載の経口製剤。
【請求項１８８】
ＣＲＰの前記濃度の前記低下が、前記ＣＲＰベースラインと比べて少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、または８０％の低下である、請求項１８５から１８７のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項１８９】

前記ＣＲＰベースラインが、前記投与の前の前記個体におけるＣＲＰの初期濃度である、請求項１８５から１８８のいずれか一項に記載の経口製剤。

【請求項１９０】

ＣＲＰの前記初期濃度が、５ｍｇ／Ｌより高い、請求項１８９に記載の経口製剤。

【請求項１９１】

ＣＲＰの前記初期濃度が、前記個体の消化器適応症を示す、請求項１８９または請求項１９０に記載の経口製剤。

【請求項１９２】

前記消化器適応症が、過敏性腸疾患（ＩＢＤ）である、請求項１９１に記載の経口製剤。

【請求項１９３】

ＣＲＰの前記濃度が、前記初期濃度ＣＲＰと比べて少なくとも４０％低下し、前記経口製剤の前記用量が、約１ｍｇ～約３ｍｇである、請求項１８９から１９２のいずれか一項に記載の経口製剤。

【請求項１９４】

前記ＣＲＰベースラインが、プラセボ調整ＣＲＰベースラインである、請求項１８５から１８８のいずれか一項に記載の経口製剤。

【請求項１９５】

ＣＲＰの前記濃度が、前記プラセボ調整ＣＲＰベースラインと比べて少なくとも１０％低下し、前記経口製剤の前記用量が、約３ｍｇである、請求項１９４に記載の経口製剤。

【請求項１９６】

ＣＲＰの前記濃度が、プラセボ調整ＣＲＰベースラインと比べて少なくとも４０％低下し、前記経口製剤の前記用量が、約１ｍｇである、請求項１９４に記載の経口製剤。

【請求項１９７】

ＣＲＰの前記濃度が、５ｍｇ／Ｌ未満に低下する、請求項１８５から１９６のいずれか一項に記載の経口製剤。

【請求項１９８】

前記免疫調節応答が、前記Ｇｅｂｏｅｓスコアの、前記Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインと比べての減少を含む、請求項１７３から１９７のいずれか一項に記載の経口製剤。

【請求項１９９】

前記Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインが、前記投与の前の初期Ｇｅｂｏｅｓスコアである、請求項１９８に記載の経口製剤。

【請求項２００】

前記Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインが、プラセボ調整Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインである、請求項１９８に記載の経口製剤。

【請求項２０１】

前記Ｇｅｂｏｅｓスコアが、前記プラセボ調整Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインと比べて少なくとも２単位減少し、前記経口製剤の前記用量が、約１ｍｇ～約３０ｍｇである、請求項２００に記載の経口製剤。

【請求項２０２】

投与された前記ＩＬ－１０の５％未満が、前記個体の血流に入る、請求項１７３から２０１のいずれか一項に記載の経口製剤。

【請求項２０３】

前記免疫調節応答が、前記経口製剤の前記用量の１４日間にわたる毎日の投与後に観察される、請求項１７３から２０２のいずれか一項に記載の経口製剤。

【請求項２０４】

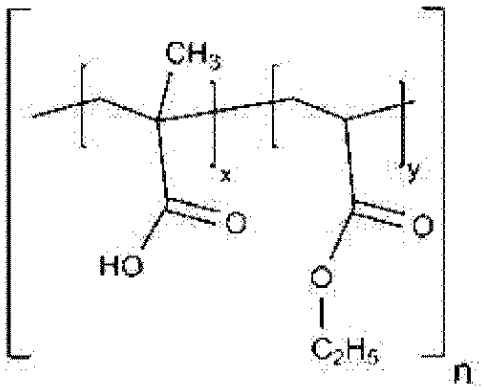
前記経口製剤の前記用量が、１０ｍｇまたはそれ未満である、請求項１７３から２０３のいずれか一項に記載の経口製剤。

【請求項２０５】

前記経口製剤の前記用量が、１ｍｇ～１０ｍｇ、３ｍｇ～１０ｍｇ、または１ｍｇ～３

ｍｇである、請求項２０４に記載の経口製剤。
【請求項２０６】
前記経口製剤の前記用量が、１ｍｇ、３ｍｇ、または１０ｍｇである、請求項２０４に記載の経口製剤。
【請求項２０７】
カプセル剤である、請求項１７３から２０６のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項２０８】
生分解性である、請求項１７３から２０７のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項２０９】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、界面活性剤を含む、請求項１７３から２０８のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項２１０】
前記界面活性剤が、ポロキサマー１８８である、請求項２０９に記載の経口製剤。
【請求項２１１】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、浸透圧調節物質を含む、請求項１７３から２１０のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項２１２】
前記浸透圧調節物質が、スクロースである、請求項２１１に記載の経口製剤。
【請求項２１３】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、塩を含む、請求項１７３から２１２のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項２１４】
前記塩が、リン酸カリウムである、請求項２１３に記載の経口製剤。
【請求項２１５】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、増量剤を含む、請求項１７３から２１４のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項２１６】
前記増量剤が、グリシンである、請求項２１５に記載の経口製剤。
【請求項２１７】
第１の被覆を含み、前記第１の被覆が、前記ＩＬ－１０および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある、請求項１７３から２１６のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項２１８】
前記第１の被覆が、メタクリル酸とアクリル酸エチルとを含む第１のコポリマー、およびメタクリル酸とメタクリル酸メチルとアクリル酸メチルとを含む第２のコポリマーを含む、請求項２１７に記載の経口製剤。
【請求項２１９】
前記第１の被覆中の前記第１のコポリマーの前記第２のコポリマーに対する比が、約１５：８５～５５：４５である、請求項２１８に記載の経口製剤。
【請求項２２０】
前記第１の被覆中の前記第１のコポリマーの前記第２のコポリマーに対する比が、２０：８０、３０：７０、４０：６０、または５０：５０である、請求項２１８に記載の経口製剤。
【請求項２２１】
前記第１の被覆の内側かつ前記ＩＬ－１０および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側に位置する、第２の被覆をさらに含む、請求項２１７から２１９のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項２２２】
前記第２の被覆が、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）を含む、請求項２２１に記載の経口製剤。

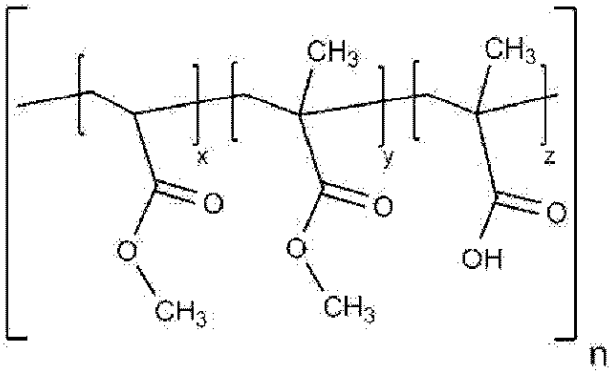
【請求項２２３】
前記第１の被覆の内側かつ前記ＩＬ－１０および前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある、第３の被覆をさらに含む、請求項２１７から２２２のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項２２４】
前記第３の被覆が、ＨＰＭＣを含む、請求項２２３に記載の経口製剤。
【請求項２２５】
前記ＩＬ－１０が、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有するＩＬ－１０送達構築物の一部である、請求項１７３から２２４のいずれか一項に記載の経口製剤。
【請求項２２６】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、担体を含む、請求項２２５に記載の経口製剤。
【請求項２２７】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、前記担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する、請求項２２６に記載の経口製剤。
【請求項２２８】
前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤が、カリウム塩、グリシン、スクロースまたはトレハロース、およびポロキサマーを含み、前記ポロキサマーが、１５，０００～２５，０００ダルトンの重量平均分子量、および７０重量％～９０重量％のポリオキシエチレン含量を有し、
前記経口製剤が、
（ｃ）第１のコポリマーを含む第１の被覆であって、前記第１のコポリマーが、式Ｉのポリマー：
【化１７】



式Ｉ;

を含み、式中、ｘ、ｙ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しく、そして
前記第１の被覆が、第２のコポリマーをさらに含み、前記第２のコポリマーが、式ＩＩのポリマー：

【化１８】



式 II;

を含み、式中、ｘ、ｙ、ｚ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しく
前記第１のコポリマーの前記第２のコポリマーに対する比が、３０：７０であり、
前記第１の被覆が、５％～１５％（ｗ／ｗ）の、モノステアリン酸グリセロールとクエン酸トリエチルとポリソルベート８０との混合物をさらに含む、第１の被覆と；
（ｄ）前記第１の被覆の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第２の被覆と；
（ｅ）前記第１の被覆の内側かつ治療用ペイロードおよび前記１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第３の被覆と
をさらに含む、請求項１７３に記載の経口製剤。

【請求項２２９】

個体における炎症性障害を処置する方法であって、ＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む経口製剤を前記個体に投与するステップを含み、前記投与するステップが、
（ｉ）便中カルプロテクチン（ＦＣＰ）の濃度の、ＦＣＰベースラインと比べての低下、
（ｉｉ）Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）の濃度の、ＣＲＰベースラインと比べての低下、
（ｉｉｉ）Ｇｅｂｏｅｓスコアの、ベースラインＧｅｂｏｅｓスコアと比べての減少、および
（ｉｖ）（ｉ）～（ｉｉｉ）の組合せ
からなる群より選択される免疫調節応答をもたらす、方法。

【請求項２３０】

前記炎症性障害が、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、直腸炎、回腸嚢炎、クローン病、セリアック病、多発性硬化症（ＭＳ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、関節リウマチ、乾癬性関節炎、または乾癬からなる群より選択される、請求項２２９に記載の方法。

【請求項２３１】

前記経口製剤が、請求項６８から１１５または１４８から２２８のいずれか一項に記載の経口製剤である、請求項２２９または請求項２３０に記載の方法。

【請求項２３２】

炎症性障害を有する個体におけるバイオマーカーをモジュレートする方法であって、ＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む経口製剤を前記個体に投与するステップを含み、
前記バイオマーカーが、便中カルプロテクチン（ＦＣＰ）、Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）およびこれらの組合せからなる群より選択される、方法。

【請求項２３３】

前記投与するステップが、前記ＦＣＰの濃度の、ＦＣＰベースラインと比べての低下をもたらす、請求項２３２に記載の方法。
【請求項２３４】
前記投与するステップが、前記ＣＲＰの濃度の、ＣＲＰベースラインと比べての低下をもたらす、請求項２３２または請求項２３３に記載の方法。
【請求項２３５】
前記投与するステップが、Ｇｅｂｏｅｓスコアの、ベースラインＧｅｂｏｅｓスコアと比べての減少をさらにもたらす、請求項２３２から２３４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３６】
前記炎症性障害を有する前記個体を処置するステップをさらに含む、請求項２３２から２３５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３７】
前記炎症性障害が、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、直腸炎、回腸嚢炎、クローン病、セリアック病、多発性硬化症（ＭＳ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、関節リウマチ、乾癬性関節炎、または乾癬からなる群より選択される、請求項２３２から２３６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３８】
前記経口製剤が、請求項６８から１１５または１４８から２２８のいずれか一項に記載の経口製剤である、請求項２３２から２３７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３９】
少なくとも１つの抗炎症剤に対して不応性または耐性の個体における炎症性障害を処置する方法であって、ＩＬ－１０を含む製剤を前記個体に投与するステップを含む、方法。
【請求項２４０】
前記抗炎症剤が、アミノサリチレートである、請求項２３９に記載の方法。
【請求項２４１】
前記アミノサリチレートが、５－アミノサリチル酸（５－ＡＳＡ；メサラジン）、４－アミノサリチル酸（４－ＡＳＡ）、バルサラジド、オルサラジン、およびスルファサラジンからなる群より選択される、請求項２４０に記載の方法。
【請求項２４２】
前記抗炎症剤が、コルチコステロイドである、請求項２３９から２４１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２４３】
前記コルチコステロイドが、プレドニゾンである、請求項２４２に記載の方法。
【請求項２４４】
前記コルチコステロイドが、経口投与コルチコステロイドまたは静脈内（ＩＶ）投与コルチコステロイドである、請求項２４２または請求項２４３に記載の方法。
【請求項２４５】
前記抗炎症剤が、免疫抑制剤である、請求項２３９から２４４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２４６】
前記免疫抑制剤が、アザチオプリン、６－メルカプトプリンおよびこれらの組合せからなる群より選択される、請求項２４５に記載の方法。
【請求項２４７】
前記抗炎症剤が、ＴＮＦα阻害剤である、請求項２３９から２４６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２４８】
前記ＴＮＦα阻害剤が、アダリムマブ、セルトリズマブ、エタネルセプト、ゴリムマブおよびインフリキシマブからなる群より選択される、請求項２４７に記載の方法。
【請求項２４９】
前記少なくとも１つの抗炎症剤が、ヤヌスキナーゼ（ＪＡＫ）阻害剤である、請求項２

３９から２４８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２５０】
前記ＪＡＫ阻害剤が、フィルゴチニブ、ウパダシチニブ、ペフィシチニブおよびトファシチニブからなる群より選択される、請求項２４９に記載の方法。
【請求項２５１】
前記少なくとも１つの抗炎症剤が、スフィンゴシン－１－リン酸（Ｓ１Ｐ）受容体アンタゴニストである、請求項２３９から２５０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２５２】
前記Ｓ１Ｐ受容体アンタゴニストが、オザニモド、アミセリモドおよびエトラシモドからなる群より選択される、請求項２５１に記載の方法。
【請求項２５３】
前記少なくとも１つの抗炎症剤が、インテグリン遮断薬である、請求項２３９から２５２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２５４】
前記インテグリン遮断薬が、エトロリズマブ、ナタリズマブ、ベドリズマブ、アブリルマブおよびカロテグラストメチルからなる群より選択される、請求項２５３に記載の方法。
【請求項２５５】
前記少なくとも１つの抗炎症剤が、ＩＬ－２３阻害剤である、請求項２３９から２５４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２５６】
前記ＩＬ－２３阻害剤が、ウステキヌマブ、ミリキズマブ、ブラジクマブ、グセルクマブおよびリサンキズマブからなる群より選択される、請求項２５５に記載の方法。
【請求項２５７】
前記少なくとも１つの抗炎症剤が、ホスホジエステラーゼ４（ＰＤＥ４）阻害剤である、請求項２３９から２５６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２５８】
少なくとも１つの前記ＰＤＥ４阻害剤が、アプレミラスト、シロミラスト、ロフルミラスト、テトミラストおよびロリプラムからなる群より選択される、請求項２５７に記載の方法。
【請求項２５９】
前記少なくとも１つの抗炎症剤が、ラキニモドである、請求項２３９から２５８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２６０】
炎症性疾患の処置を必要とする対象における炎症性疾患を処置する方法であって、前記対象にＩＬ－１０治療薬を経口投与するステップおよび前記対象に非ＩＬ－１０免疫抑制薬を投与するステップを含む、方法。
【請求項２６１】
炎症性疾患の処置を必要とする対象における炎症性疾患を処置する方法であって、前記対象にＩＬ－１０治療薬を経口投与するステップを含み、前記対象が、非ＩＬ－１０免疫抑制薬を同時に摂取する、方法。
【請求項２６２】
非ＩＬ－１０免疫抑制薬に対して不十分な応答を有した対象における炎症性疾患を処置する方法であって、前記対象にＩＬ－１０治療薬を経口投与するステップを含む、方法。
【請求項２６３】
前記非ＩＬ－１０免疫抑制薬を前記ＩＬ－１０治療薬とともに投与するステップをさらに含む、請求項２６２に記載の方法。
【請求項２６４】
前記対象が、前記不十分な応答を決定する前に少なくとも６週間、前記非ＩＬ－１０免疫抑制薬で処置された、請求項２６２に記載の方法。

【請求項２６５】
前記対象が、前記不十分な応答を決定する前に少なくとも１２週間、前記非ＩＬ－１０免疫抑制薬で処置された、請求項２６２に記載の方法。
【請求項２６６】
前記不十分な応答が、部分応答である、請求項２６２に記載の方法。
【請求項２６７】
前記炎症性疾患が、炎症性腸疾患、乾癬、尋常性乾癬、化膿性汗腺炎、乾癬性関節炎、関節リウマチ、若年性特発性関節炎、強直性脊椎炎、細菌性敗血症、クローン病、瘻孔形成性クローン病、中等度から重度の潰瘍性大腸炎、軽度から中等度の潰瘍性大腸炎、潰瘍性大腸炎、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、虚血性大腸炎、空置大腸炎、ベーチェット症候群、不確定大腸炎、膵炎、肝臓の炎症、回腸嚢炎、直腸炎、ぶどう膜炎、移植片対宿主病、および上皮細胞傷害からなる群より選択される、請求項２６０から２６６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２６８】
前記炎症性疾患が、炎症性腸疾患である、請求項２６０から２６７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２６９】
前記炎症性疾患が、関節リウマチ、潰瘍性大腸炎およびクローン病からなる群より選択される、請求項２６０～２６７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２７０】
前記炎症性疾患が、関節リウマチであり、不十分な応答を有する前記対象が、活動性疾患のある１つまたは複数の関節を有する、請求項２６２から２６６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２７１】
活動性疾患のある前記１つまたは複数の関節が、蛍光光学イメージングまたは磁気共鳴画像法により特定される、請求項２７０に記載の方法。
【請求項２７２】
不十分な応答を有する前記対象が、圧痛のある２つまたはそれより多くの関節をさらに有する、請求項２７０または２７１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２７３】
不十分な応答を有する前記対象が、腫脹している２つまたはそれより多くの関節をさらに有する、請求項２７０から２７２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２７４】
前記炎症性疾患が、潰瘍性大腸炎であり、不十分な応答を有する前記対象が、中等度から重度の潰瘍性大腸炎を有する、請求項２６２に記載の方法。
【請求項２７５】
不十分な応答を有する前記対象が、約４点～約９点の間の改訂Ｍａｙｏ　Ｃｌｉｎｉｃスコア（ＭＭＳ）を有する、請求項２７４に記載の方法。
【請求項２７６】
不十分な応答を有する前記対象が、グレード２またはそれより高い中央読影ＭＣＳ内視鏡サブスコアを有する、請求項２７４または２７５に記載の方法。
【請求項２７７】
不十分な応答を有する前記対象が、１点またはそれより高いＭＭＳ直腸出血サブスコアを有する、請求項２７４から２７６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２７８】
不十分な応答を有する前記対象が、肛門縁から１５ｃｍまたはそれを超えて広がる疾患を有する、請求項２７４から２７７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２７９】
前記ＩＬ－１０治療薬が、ＩＬ－１０送達構築物である、請求項２６０～２７８のいずれか一項に記載の方法。

【請求項２８０】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる担体を含む、請求項２７９に記載の方法。
【請求項２８１】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、配列番号４と少なくとも９０％同一のアミノ酸配列からなる担体を含む、請求項２７９に記載の方法。
【請求項２８２】
前記ＩＬ－１０送達構築物が、配列番号５に記載のアミノ酸配列を含む、請求項２７９に記載の方法。
【請求項２８３】
前記非ＩＬ－１０免疫抑制薬が、ＴＮＦアルファ阻害剤である、請求項２６０から２８２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２８４】
前記ＴＮＦアルファ阻害剤が、モノクローナル抗体である、請求項２８３に記載の方法。
【請求項２８５】
前記ＴＮＦアルファ阻害剤が、インフリキシマブ（Ｒｅｍｉｃａｄｅ）、アダリムマブ（Ｈｕｍｉｒａ）およびゴリムマブ（Ｓｉｍｐｏｎｉ）からなる群より選択される、請求項２８３に記載の方法。
【請求項２８６】
前記ＴＮＦアルファ阻害剤が、配列番号１５１および配列番号１５２を含む、請求項２８３に記載の方法。
【請求項２８７】
前記ＴＮＦアルファ阻害剤が、配列番号１５３および配列番号１５４を含む、請求項２８３に記載の方法。
【請求項２８８】
前記ＴＮＦアルファ阻害剤が、エタネルセプトではない、請求項２６０から２８７のいずれか一項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
相互参照
本願は、２０１９年８月１６日に出願した米国特許仮出願第６２／８８８，１４４号、２０１９年８月１６日に出願した米国特許仮出願第６２／８８８，２３７号、２０２０年３月６日に出願した米国特許仮出願第６２／９８６，５７９号、２０１９年８月１６日に出願した米国特許仮出願第６２／８８７，９６３号、２０１９年８月１６日に出願した米国特許仮出願第６２／８８７，９３３号、２０１９年９月１１日に出願した米国特許仮出願第６２／８９８，９３４号、２０２０年２月６日に出願した米国特許仮出願第６２／９７１，１２６号、２０１９年９月１１日に出願した米国特許仮出願第６２／８９８，７０９号、２０１９年９月１１日に出願した米国特許仮出願第６２／８９８，７２９号、２０１９年１１月２２日に出願した米国特許仮出願第６２／９３９，４９５号、２０２０年２月５日に出願した米国特許仮出願第６２／９７０，６２７号、２０２０年５月６日に出願した米国特許仮出願第６３／０２０，９９６号、２０２０年６月１日に出願した米国特許仮出願第６３／０３３，０７７号、２０１９年９月１１日に出願した米国特許仮出願第６２／８９８，８９９号、２０２０年４月２１日に出願した米国特許仮出願第６３／０１３，３０９号、２０２０年３月６日に出願した米国特許仮出願第６２／９８６，５５７号、および２０２０年７月２３日に出願した米国特許仮出願第６３／０５５，８８６号の利益を主張するものであり、これらの出願は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
配列表

本願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子的に提出した配列表を含有し、この配列表は、その全体がこれにより参照により本明細書に組み込まれる。２０２０年８月１２日に作成した前記ＡＳＣＩＩコピーは、４０５６６－７２１_６０１_ＳＬ．ｔｘｔという名であり、サイズは７２９，４３７バイトである。

【背景技術】

【０００３】

発明の背景

経口投与は、タンパク質医薬品の好都合で望ましい投与経路であり得る一方で、この投与経路により生じる難題には、二量体をはじめとするタンパク質構造の変性、および化学結合の加水分解を引き起こし得る、胃の酸性環境；消化管の様々な領域にわたって可変的なｐＨ；ならびにＧＩ管に分泌され、タンパク質をより小さい断片に分解するタンパク質分解酵素の存在が含まれる。さらに、たとえタンパク質医薬品がこれらの難題を乗り切り、無傷で下部ＧＩ管に到達することができたとしても、それらの大きいサイズのため、そのような医薬品が腸上皮を横断するのは困難であり得る。

【０００４】

加えて、一部の治療用タンパク質は、二量体形態で活性（またはより活性）である。したがって、それらの治療的有用性は、適切な二量体化をもたらさない様式で生成または形成された場合、損なわれ得る。一般的な精製および処理プロトコールは、望ましい二量体形成を妨げ、その結果、（例えば）過度に高い比率の単量体または凝集体が生じことになり得る。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００５】

発明の概要

本明細書において、ある特定の実施形態では、配列番号５または配列番号１３に記載のアミノ酸配列からなる送達構築物が記載される。一部の実施形態では、送達構築物は、配列番号５に記載のアミノ酸配列からなる。一部の実施形態では、送達構築物は、配列番号１３に記載のアミノ酸配列からなる。一部の実施形態では、送達構築物は、ホモ二量体の一部である。一部の実施形態では、送達構築物は、経口投与用に製剤化される組成物内に配置されており、経口投与用の組成物は、送達構築物と同一の複数の送達構築物を含み、送達構築物の少なくとも８０％は、二量体形態である。

【０００６】

本明細書において、ある特定の実施形態では、対象における炎症性疾患を処置する方法であって、本明細書に記載の送達構築物の有効量を対象に投与するステップを含む方法が記載される。一部の実施形態では、炎症性疾患は、潰瘍性大腸炎、直腸炎、回腸嚢炎、クローン病、多発性硬化症（ＭＳ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、関節リウマチ、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、セリアック病、乾癬性関節炎、または乾癬である。一部の実施形態では、炎症性疾患は、潰瘍性大腸炎である。一部の実施形態では、炎症性疾患は、クローン病である。一部の実施形態では、炎症性疾患は、セリアック病である。

【０００７】

本明細書において、ある特定の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディングする方法であって、（ｉ）ＩＬ－１０送達構築物を含む封入体を、カオトロピック剤を含む可溶化溶液と接触させて、可溶性ＩＬ－１０送達構築物を生成するステップ；（ｉｉ）可溶性ＩＬ－１０送達構築物を、還元型グルタチオンと酸化型グルタチオンとを含むリフォールディング溶液と接触させて、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物を生成するステップを含み、（ｉｉ）の接触させるステップの前に可溶性ＩＬ－１０送達構築物を亜硫酸分解剤または還元剤と接触させるステップを含まない、方法が記載される。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、担体を含む。一部の実施形態では、担体は、細菌により分泌されるポリペプチドに由来する。一部の実施形態では、細菌は、Ｖ

ｉｂｒｉｏ　ｃｈｏｌｅｒａｅである。一部の実施形態では、Ｖｉｂｒｉｏ　ｃｈｏｌｅｒａｅにより分泌されるポリペプチドは、コリックスポリペプチドである。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する。

【０００８】

一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、０．８：１～１．２：１の還元型グルタチオンの酸化型グルタチオンに対する比を含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、０．７５ｍＭ～１．５ｍＭの還元型グルタチオンを含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、０．２５ｍＭ～０．７５ｍＭの酸化型グルタチオンを含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、７．５～８．５のｐＨを有する。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、アルギニン、Ｔｒｉｓ、およびＥＤＴＡを含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、スクロースを含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、アルギニン、スクロース、Ｔｒｉｓ、ＥＤＴＡ、またはこれらの組合せを含む。一部の実施形態では、アルギニンは、リフォールディング溶液中に９００ｍＭ～１．１Ｍの間の濃度で存在する。一部の実施形態では、スクロースは、リフォールディング溶液中に２００ｍＭ～３００ｍＭの間の濃度で存在する。一部の実施形態では、Ｔｒｉｓは、リフォールディング溶液中に７５ｍＭ～１２５ｍＭの濃度で存在する。一部の実施形態では、ＥＤＴＡは、リフォールディング溶液中に１．７５ｍＭ～２．２５ｍＭの濃度で存在する。

【０００９】

一部の実施形態では、方法は、封入体を含む細胞を溶解するステップをさらに含む。一部の実施形態では、細胞は、細菌である。一部の実施形態では、細菌は、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉである。一部の実施形態では、溶解するステップは、高圧均質化を含む。一部の実施形態では、方法は、封入体を単離するステップをさらに含む。一部の実施形態では、カオトロピック剤は、グアニジン塩酸塩または尿素を含む。一部の実施形態では、可溶化溶液は、Ｔｒｉｓをさらに含む。一部の実施形態では、可溶性ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディング溶液と接触させるステップは、少なくとも１６時間行われる。一部の実施形態では、可溶性ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディング溶液と接触させるステップは、１２時間～１８時間行われる。

【００１０】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディング溶液と接触させるステップは、２℃～８℃で行われる。一部の実施形態では、方法は、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物の第１の滅菌濾過をさらに含む。一部の実施形態では、第１の滅菌濾過は、リフォールディング溶液と接触させるステップの後に行われる。一部の実施形態では、方法は、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物の接線流濾過を行うステップをさらに含む。一部の実施形態では、接線流濾過は、透析濾過を含む。一部の実施形態では、透析濾過は、第１のダイアボリューム（ｄｉａｖｏｌｕｍｅ）、第２のダイアボリューム、第３のダイアボリューム、および第４のダイアボリュームを含む。一部の実施形態では、第１のダイアボリュームおよび第２のダイアボリュームは、低温緩衝液を含む。一部の実施形態では、第３のダイアボリュームおよび第４のダイアボリュームは、室温緩衝液を含む。一部の実施形態では、低温緩衝液および室温緩衝液は、ＴｒｉｓおよびＮａＣｌを含む。

【００１１】

本明細書において、ある特定の実施形態では、二量体形態、単量体形態および凝集体形態のＩＬ－１０送達構築物を含むプールからＩＬ－１０送達構築物二量体を富化する方法であって、（ｉ）プールについての陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーを、ＩＬ－１０送達構築物二量体を陰イオン交換カラムに結合させ、そしてその後、ＩＬ－１０送達構築物二量体を陰イオン交換カラムから溶離することにより行い、それによって第１の

複数の画分を生成するステップであって、この複数の画分のうちの１つが、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物が富化された第１の画分である、ステップ；および（ｉｉ）二量体形態のＩＬ－１０送達構築物が富化された画分についてのセラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）クロマトグラフィーを行い、それによって第２の複数の画分を生成するステップであって、この複数の画分のうちの１つが、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物がさらに富化された第２の画分である、ステップを含む方法が記載される。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、担体を含む。一部の実施形態では、担体は、細菌により分泌されるポリペプチドに由来する。一部の実施形態では、細菌は、Ｖｉｂｒｉｏ ｃｈｏｌｅｒａｅである。一部の実施形態では、Ｖｉｂｒｉｏ ｃｈｏｌｅｒａｅにより分泌されるポリペプチドは、コリックスポリペプチドである。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する。一部の実施形態では、方法は、第１の複数の画分の各画分中の二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージを決定するステップをさらに含む。一部の実施形態では、決定するステップは、サイズ排除クロマトグラフィーによる。一部の実施形態では、サイズ排除クロマトグラフィーは、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー（ＳＥ－ＨＰＬＣ）である。一部の実施形態では、方法は、第２の複数の画分の各画分中の二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージを決定するステップをさらに含む。一部の実施形態では、決定するステップは、サイズ排除クロマトグラフィーによる。一部の実施形態では、サイズ排除クロマトグラフィーは、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー（ＳＥ－ＨＰＬＣ）である。一部の実施形態では、第１の画分中のＩＬ－１０送達構築物の少なくとも７５％は、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物である。一部の実施形態では、第２の画分中のＩＬ－１０送達構築物の少なくとも８０％は、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物である。一部の実施形態では、方法は、第２の画分の接線流濾過を行うステップをさらに含む。一部の実施形態では、接線流濾過は、限外濾過を含む。一部の実施形態では、方法は、透析濾過をさらに含む。一部の実施形態では、方法は、第２の画分の滅菌濾過を行うステップをさらに含む。一部の実施形態では、方法は、陽イオン交換クロマトグラフィーを含まない。一部の実施形態では、プールは、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物を含む。

【００１２】

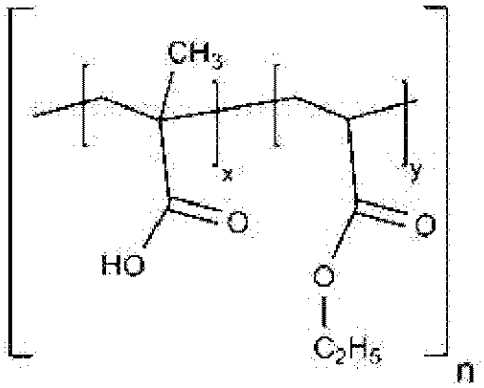
本明細書において、ある特定の実施形態では、（ａ）ＩＬ－１０送達構築物と、（ｂ）１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤と、（ｃ）異なる名目上の溶出ｐＨを各々が有する２つまたはそれより多くのコポリマーを含む第１の被覆とを含む経口製剤であって、開放モードで４型溶出試験装置において１．０のｐＨを有する溶液への１時間の曝露後に実質的に全くＩＬ－１０送達構築物が放出しないように構成されている、経口製剤が記載される。一部の実施形態では、１．０のｐＨを有する溶液は、塩酸を含有する溶出媒体である。一部の実施形態では、経口製剤は、開放モードで４型溶出試験装置において７．０のｐＨを有する溶液への２時間の曝露後にＩＬ－１０送達構築物の少なくとも４０％を放出するように構成されている。一部の実施形態では、７．０のｐＨを有する溶液への２時間の曝露後に放出されるＩＬ－１０送達構築物の少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも２０％、または少なくとも２５％は、二量体形態である。一部の実施形態では、７．０のｐＨを有する溶液は、クエン酸／リン酸緩衝液である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、担体を含む。一部の実施形態では、担体は、細菌により分泌されるポリペプチドに由来する。一部の実施形態では、細菌は、Ｖｉｂｒｉｏ ｃｈｏｌｅｒａｅである。一部の実施形態では、Ｖｉｂｒｉｏ ｃｈｏｌｅｒａｅにより分泌されるポリペプチドは、コリックスポリペプチドである。

【００１３】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９

８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する。一部の実施形態では、経口製剤は、カプセル剤または錠剤中にある。一部の実施形態では、第１のコポリマーは、ｐＨ＞５．５で少なくとも５０％の名目上の溶出を有し、第２のコポリマーは、ｐＨ＞７．０で少なくとも５０％の名目上の溶出を有する。一部の実施形態では、第１のコポリマーは、メタクリル酸、およびアクリル酸エチルを含む。一部の実施形態では、第１のポリマーは、２００，０００ｇ／ｍｏｌ～４５０，０００ｇ／ｍｏｌ、または２５０，０００ｇ／ｍｏｌ～４００，０００ｇ／ｍｏｌ、または２８０，０００ｇ／ｍｏｌ～３７０，０００ｇ／ｍｏｌ、または３００，０００ｇ／ｍｏｌ～３４０，０００ｇ／ｍｏｌの重量平均分子量を有する。一部の実施形態では、第１のコポリマーは、式Ｉのポリマー：

【化１】



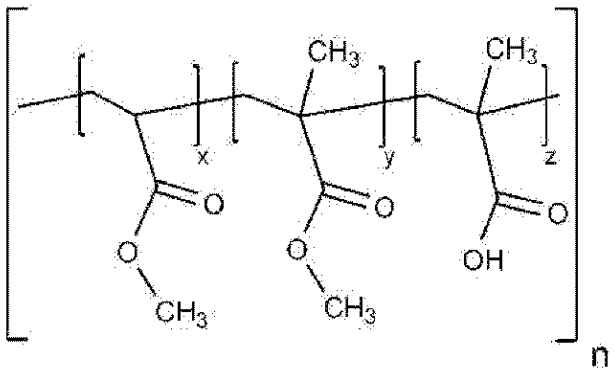
式 I;

（式中、ｘ、ｙ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい）
を含む。

【００１４】

一部の実施形態では、第１のコポリマー中の遊離カルボキシル基のエステル基に対する比は、０．８：１～１．２：１である。一部の実施形態では、第２のコポリマーは、第１のコポリマーとは異なる。一部の実施形態では、第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、１５：８５～５５：４５である。一部の実施形態では、第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、２０：８０、３０：７０、４０：６０、または５０：５０である。一部の実施形態では、第２のコポリマーは、メタクリル酸、メタクリル酸メチル、およびアクリル酸メチルを含む。一部の実施形態では、第２のポリマーは、１６０，０００ｇ／ｍｏｌ～４００，０００ｇ／ｍｏｌ、または２００，０００ｇ／ｍｏｌ～３６０，０００ｇ／ｍｏｌ、または２４０，０００ｇ／ｍｏｌ～３２０，０００ｇ／ｍｏｌ、または２６０，０００ｇ／ｍｏｌ～３００，０００ｇ／ｍｏｌの重量平均分子量を有する。一部の実施形態では、第２のコポリマーは、式ＩＩのポリマー：

【化２】



式 II;

（式中、ｘ、ｙ、ｚ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい）
を含む。

【００１５】

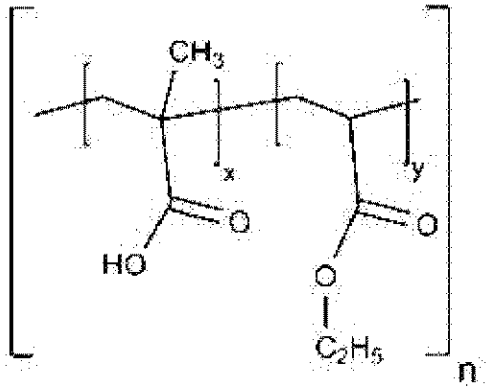
一部の実施形態では、第２のコポリマー中の遊離カルボキシル基のエステル基に対する比は、０．８：１～１．２：１である。一部の実施形態では、第１の被覆は、粘着防止剤、可塑剤、界面活性剤、またはこれらの組合せをさらに含む。一部の実施形態では、第１の被覆は、粘着防止剤を含み、粘着防止剤は、モノステアリン酸グリセロールを含む。一部の実施形態では、第１の被覆は、可塑剤を含み、可塑剤は、クエン酸トリエチルである。一部の実施形態では、第１の被覆は、界面活性剤を含み、界面活性剤は、ポリソルベート８０である。一部の実施形態では、第１の被覆の５％～１５％（ｗ／ｗ）は、モノステアリン酸グリセロールとクエン酸トリエチルとポリソルベート８０の混合物である。一部の実施形態では、第１の被覆は、サイズ１カプセル上の６０ｍｇの被覆の厚さと実質的に同等の厚さを有する。一部の実施形態では、第１の被覆は、０．１ｍｇ／ｍｍ^2～０．２ｍｇ／ｍｍ^{2}の量で内側部分の周囲に配置されている。一部の実施形態では、第１の被覆は、３０ｍｇ～６０ｍｇの質量を有する。一部の実施形態では、経口製剤は、第１の被覆の外側にある第２の被覆をさらに含む。一部の実施形態では、第２の被覆は、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）を含む。一部の実施形態では、経口製剤は、第１の被覆の内側かつＩＬ－１０送達構築物および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある、第３の被覆をさらに含む。一部の実施形態では、第３の被覆は、ＨＰＭＣを含む。

【００１６】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、１ｍｇ～２０ｍｇの量で経口製剤中に存在する。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、１ｍｇ、５ｍｇ、または２０ｍｇの量で経口製剤中に存在する。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、界面活性剤、浸透圧調節物質、塩、および増量剤を含む。一部の実施形態では、塩は、リン酸カリウムを含み、増量剤は、グリシンを含み、浸透圧調節物質は、スクロースを含み、界面活性剤は、ポロキサマー１８８を含む。一部の実施形態では、経口製剤は、０．４５：１～０．５５：１、好ましくは約０．５：１の、浸透圧調節物質のＩＬ－１０送達構築物に対する重量比を含む。一部の実施形態では、経口製剤は、０．１２：１～０．１８：１、好ましくは約０．１５：１の、界面活性剤のＩＬ－１０送達構築物に対する重量比を含む。一部の実施形態では、経口製剤は、０．０５：１～０．０９：１、好ましくは約０．０７：１の、塩のＩＬ－１０送達構築物に対する重量比を含む。一部の実施形態では、経口製剤は、０．８：１～１．２：１、好ましくは約１：１の、増量剤のＩＬ－１０送達構築物に対する重量比を含む。一部の実施形態では、経口製剤は、固体である。一部の実施形態では、経口製剤は、単位用量形態である。一部の実施形態では、経口製剤は、少なくとも３カ月、少なくとも６カ月、少なくとも１２カ月、少なくとも

１８カ月、または少なくとも２４カ月の有効期間を有する。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、カリウム塩、グリシン、スクロースまたはトレハロース、およびポロキサマーを含み、ポロキサマーは、１５，０００～２５，０００ダルトンの重量平均分子量、および７０重量％～９０重量％のポリオキシエチレン（ｐｏｌｙｏｘｙｔｈｙｌｅｎｅ）含量を有し、経口製剤は、（ｃ）第１のコポリマーを含む第１の被覆であって、第１のコポリマーが、式Ｉのポリマー：

【化３】

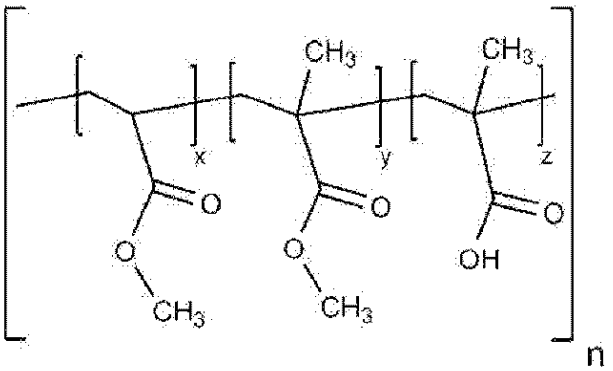


式 I;

（式中、ｘ、ｙ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい）

を含み、第１の被覆が、第２のコポリマーをさらに含み、第２のコポリマーが、式ＩＩのポリマー：

【化４】



式 II;

（式中、ｘ、ｙ、ｚ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい）

を含み、第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比が、３０：７０であり、第１の被覆が、５％～１５％（ｗ／ｗ）の、モノステアリン酸グリセロールとクエン酸トリエチルとポリソルベート８０との混合物をさらに含む、第１の被覆と；（ｄ）第１の被覆の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第２の被覆と；（ｅ）第１の被覆の内側かつ治療用ペイロードおよび１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第３の被覆とをさらに含む。

【００１７】

本明細書において、ある特定の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物と１つまたは複数の賦形剤とを含む固体組成物であって、ＩＬ－１０送達構築物の各々が、極性化腸上皮細胞を横断するＩＬ－１０送達構築物のトランスサイトーシスを促進する担体に連結しているＩＬ－１０を含み、ＩＬ－１０送達構築物の８０％より多くが二量体形態である、固体組成物が記載される。一部の実施形態では、固体組成物は、凍結乾燥または噴霧乾燥され

ている。一部の実施形態では、固体組成物は、錠剤またはカプセル剤である。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、界面活性剤を含む。一部の実施形態では、界面活性剤は、ポロキサマーである。一部の実施形態では、ポロキサマーは、ポロキサマー１８８である。一部の実施形態では、界面活性剤物は、ポリソルベートを含まない。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、浸透圧調節物質を含む。一部の実施形態では、浸透圧調節物質は、スクロースである。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、塩を含む。一部の実施形態では、塩は、リン酸カリウムである。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、増量剤を含む。一部の実施形態では、増量剤は、グリシンである。一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、配列番号２に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、リンカーを介して担体に連結している。一部の実施形態では、リンカーは、配列番号６に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号４に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号１２に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する。

【００１８】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物の８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、または９０％より多くは、二量体形態である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物の８５％～９２％は、二量体形態である。一部の実施形態では、固体組成物は、第１の被覆を含む。一部の実施形態では、第１の被覆は、第１のコポリマーおよび第２のコポリマーを含み、第１の被覆は、ＩＬ－１０送達構築物および１つまたは複数の賦形剤の外側にある。一部の実施形態では、第１のコポリマーは、メタクリル酸、およびアクリル酸エチルを含む。一部の実施形態では、第２のコポリマーは、メタクリル酸、メタクリル酸メチル、およびアクリル酸メチルを含む。一部の実施形態では、第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、約１５：８５～約５５：４５である。一部の実施形態では、第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、２０：８０、３０：７０、４０：６０、または５０：５０である。一部の実施形態では、固体組成物は、第１の被覆の外側にある第２の被覆をさらに含む。一部の実施形態では、第２の被覆は、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）を含む。一部の実施形態では、固体組成物は、第１の被覆の内側かつＩＬ－１０送達構築物および１つまたは複数の賦形剤の外側にある、第３の被覆をさらに含む。一部の実施形態では、第３の被覆は、ＨＰＭＣを含む。

【００１９】

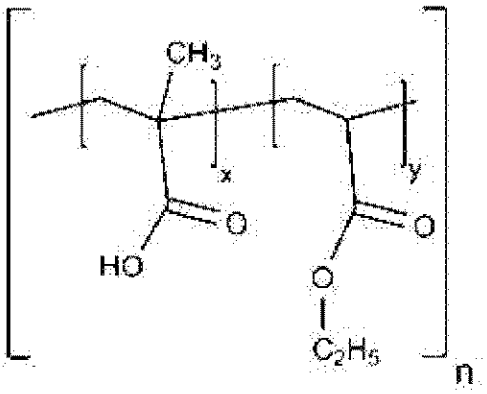
本明細書において、ある特定の実施形態では、（ａ）極性化腸上皮細胞を横断するＩＬ－１０送達構築物のトランスサイトーシスを促進する担体に連結しているＩＬ－１０を含むＩＬ－１０送達構築物と、（ｂ）非イオン性滑沢剤を含む１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤と、（ｃ）ＩＬ－１０送達構築物および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を包囲する第１の被覆とを含む固体経口製剤が記載される。一部の実施形態では、非イオン性滑沢剤は、ベヘン酸グリセリルである。一部の実施形態では、経口製剤は、ステアリン酸マグネシウムを欠いている。一部の実施形態では、経口製剤は、錠剤形態である。一部の実施形態では、経口製剤は、開放モードで４型溶出試験装置においてｐＨ１．０の溶液への１時間の曝露後に実質的に全くＩＬ－１０送達構築物が経口製剤から放出されないように構成されている。一部の実施形態では、経口製剤は、開放モードで４型溶出試験装置においてｐＨ７．０の溶液への２時間の曝露後にＩＬ－１０送達構築物の少なくとも４０％を放出するように構成されている。一部の実施形態では、経口製剤は、異なる名目上の溶出ｐＨを各々が有する２つまたはそれより多くのコポリマーを含む第１の

被覆をさらに含む。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物の少なくとも４５％は、二量体形態である。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、増量剤、崩壊剤、またはこれらの組合せを含む。一部の実施形態では、増量剤は、ケイ化微結晶性セルロース（ＳＭＣＣ）である。一部の実施形態では、崩壊剤は、クロスポビドン（架橋ポリビニルピロリドン）である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する。一部の実施形態では、経口製剤は、ＩＬ－１０送達構築物および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の圧縮により作製される。一部の実施形態では、圧縮は、約２０００重量ポンド（ｌｂｆ）～約３５００ｌｂｆの圧縮力で行われる。一部の実施形態では、第１の被覆は、第１のコポリマーおよび第２のコポリマーを含み、第１の被覆は、ＩＬ－１０送達構築物および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある。一部の実施形態では、第１のコポリマーは、メタクリル酸、およびアクリル酸エチルを含む。一部の実施形態では、第２のコポリマーは、メタクリル酸、メタクリル酸メチル、およびアクリル酸メチルを含む。

【００２０】

一部の実施形態では、第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、約１５：８５～約５５：４５である。一部の実施形態では、第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、２０：８０、３０：７０、４０：６０、または５０：５０である。一部の実施形態では、固体経口製剤は、第１の被覆の外側にある第２の被覆をさらに含む。一部の実施形態では、第２の被覆は、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）を含む。一部の実施形態では、固体経口製剤は、第１の被覆の内側かつＩＬ－１０送達構築物および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある、第３の被覆をさらに含む。一部の実施形態では、第３の被覆は、ＨＰＭＣを含む。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、カリウム塩、グリシン、スクロースまたはトレハロース、およびポロキサマーをさらに含み、ポロキサマーは、１５，０００～２５，０００ダルトンの重量平均分子量、および７０重量％～９０重量％のポリオキシエチレン含量を有し、経口製剤は、（ｃ）第１のコポリマーを含む第１の被覆であって、第１のコポリマーが、式Ｉのポリマー：

【化５】

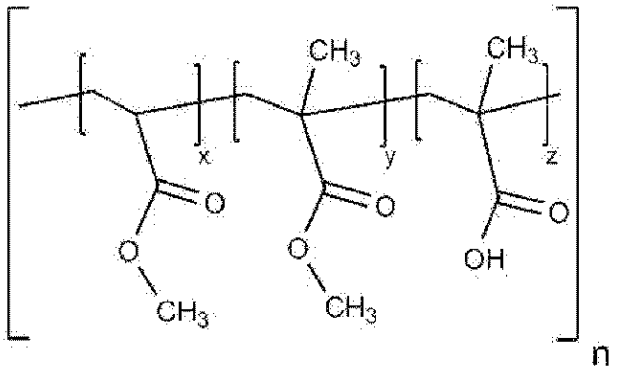


式Ｉ;

（式中、ｘ、ｙ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい）

を含み、第１の被覆が、第２のコポリマーをさらに含み、第２のコポリマーが、式ＩＩのポリマー：

【化６】



式 II;

（式中、ｘ、ｙ、ｚ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい）
を含み、第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比が、３０：７０であり、第１の被覆が、５％～１５％（ｗ／ｗ）の、モノステアリン酸グリセロールとクエン酸トリエチルとポリソルベート８０との混合物をさらに含む、第１の被覆と；（ｄ）第１の被覆の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第２の被覆と；（ｅ）第１の被覆の内側かつ治療用ペイロードおよび１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第３の被覆とをさらに含む。

【００２１】

本明細書において、ある特定の実施形態では、（ａ）ＩＬ－１０と（ｂ）１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む経口製剤であって、経口製剤の用量の個体への投与が、（ｉ）便中カルプロテクチン（ＦＣＰ）の濃度の、ＦＣＰベースラインと比べての低下、（ｉｉ）Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）の濃度の、ＣＲＰベースラインと比べての低下、（ｉｉｉ）Ｇｅｂｏｅｓスコアの、Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインと比べての減少、および（ｉｖ）（ｉ）～（ｉｉｉ）の組合せからなる群より選択される免疫調節応答をもたらす経口製剤が記載される。一部の実施形態では、免疫調節応答は、ＦＣＰの、ＦＣＰベースラインと比べての低下を含む。一部の実施形態では、ＦＣＰの濃度は、糞便試料または結腸生検から決定される。一部の実施形態では、ＦＣＰの濃度の低下は、ＦＣＰベースラインと比べて少なくとも２０％、３０％、４０％、または５０％の低下である。

【００２２】

一部の実施形態では、ＦＣＰベースラインは、投与の前の個体におけるＦＣＰの初期濃度である。一部の実施形態では、ＦＣＰの初期濃度は、個体の消化器適応症を示し得る。一部の実施形態では、ＦＣＰの初期濃度は、１５０μｇ／ｇより高い。消化器適応症が、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）またはクローン病である、請求項１７８または請求項１７９に記載の経口製剤。一部の実施形態では、ＦＣＰの濃度は、ＦＣＰの初期濃度と比べて少なくとも５０％低下し、経口製剤の用量は、約１ｍｇ～約３ｍｇである。一部の実施形態では、ＦＣＰベースラインは、プラセボ調整ＦＣＰベースラインである。一部の実施形態では、ＦＣＰの濃度は、プラセボ調整ＦＣＰベースラインと比べて少なくとも２０％低下し、経口製剤の用量は、約１ｍｇ～約３ｍｇである。一部の実施形態では、ＦＣＰの濃度は、５０μｇ／ｇまたはそれ未満に低下する。一部の実施形態では、免疫調節応答は、ＣＲＰの濃度の、ＣＲＰベースラインと比べての低下を含む。一部の実施形態では、ＣＲＰの濃度は、ＣＲＰの全身濃度である。一部の実施形態では、ＣＲＰの濃度は、血液試料から決定される。一部の実施形態では、ＣＲＰの濃度の低下は、ＣＲＰベースラインと比べて少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、または８０％の低下である。一部の実施形態では、ＣＲＰベースラインは、投与の前の個体におけるＣＲＰの初期濃度である。一部の実施形態では、ＣＲＰの初期濃度は、５ｍｇ／Ｌより高い。一部の実施形態では、ＣＲＰの初期濃度は、個体の消化器適応症を示す。

【００２３】
一部の実施形態では、消化器適応症は、過敏性腸疾患（ＩＢＤ）である。一部の実施形態では、ＣＲＰの濃度は、初期濃度ＣＲＰと比べて少なくとも４０％低下し、経口製剤の用量は、約１ｍｇ～約３ｍｇである。一部の実施形態では、ＣＲＰベースラインは、プラセボ調整ＣＲＰベースラインである。一部の実施形態では、ＣＲＰの濃度は、プラセボ調整ＣＲＰベースラインと比べて少なくとも１０％低下し、経口製剤の用量は、約３ｍｇである。一部の実施形態では、ＣＲＰの濃度は、プラセボ調整ＣＲＰベースラインと比べて少なくとも４０％低下し、経口製剤の用量は、約１ｍｇである。一部の実施形態では、ＣＲＰの濃度は、５ｍｇ／Ｌ未満に低下する。一部の実施形態では、免疫調節応答は、Ｇｅｂｏｅｓスコアの、Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインと比べての減少を含む。一部の実施形態では、Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインは、投与の前の初期Ｇｅｂｏｅｓスコアである。一部の実施形態では、Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインは、プラセボ調整Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインである。一部の実施形態では、Ｇｅｂｏｅｓスコアは、プラセボ調整Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインと比べて少なくとも２単位減少し、経口製剤の用量は、約１ｍｇ～約３０ｍｇである。

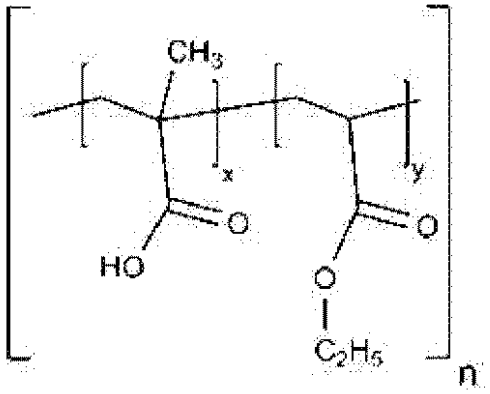
【００２４】
一部の実施形態では、投与されたＩＬ－１０の５％未満が、個体の血流に入る。一部の実施形態では、免疫調節応答は、経口製剤の用量の１４日間にわたる毎日の投与後に観察される。一部の実施形態では、経口製剤の用量は、１０ｍｇまたはそれ未満である。一部の実施形態では、経口製剤の用量は、１ｍｇ～１０ｍｇ、３ｍｇ～１０ｍｇ、または１ｍｇ～３ｍｇである。一部の実施形態では、経口製剤の用量は、１ｍｇ、３ｍｇ、または１０ｍｇである。一部の実施形態では、経口製剤は、カプセル剤である。

【００２５】
一部の実施形態では、経口製剤は、生分解性である。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、界面活性剤を含む。一部の実施形態では、界面活性剤は、ポロキサマー１８８である。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、浸透圧調節物質を含む。一部の実施形態では、浸透圧調節物質は、スクロースである。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、塩を含む。一部の実施形態では、塩は、リン酸カリウムである。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、増量剤を含む。一部の実施形態では、増量剤は、グリシンである。一部の実施形態では、経口製剤は、第１の被覆を含み、第１の被覆は、ＩＬ－１０および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある。一部の実施形態では、第１の被覆は、メタクリル酸とアクリル酸エチルとを含む第１のコポリマー、およびメタクリル酸とメタクリル酸メチルとアクリル酸メチルとを含む第２のコポリマーを含む。一部の実施形態では、第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、約１５：８５～５５：４５である。一部の実施形態では、第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、２０：８０、３０：７０、４０：６０、または５０：５０である。

【００２６】
一部の実施形態では、経口製剤は、第１の被覆の内側かつＩＬ－１０および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側に位置する、第２の被覆をさらに含む。一部の実施形態では、第２の被覆は、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）を含む。一部の実施形態では、経口製剤は、第１の被覆の内側かつＩＬ－１０および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある、第３の被覆をさらに含む。一部の実施形態では、第３の被覆は、ＨＰＭＣを含む。一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有するＩＬ－１０送達構築物の一部である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、担体を含む。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、担体のアミノ酸１位にＶ１Ｌ置換を有する。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、カリウム塩

、グリシン、スクロースまたはトレハロース、およびポロキサマーを含み、ポロキサマーは、１５，０００～２５，０００ダルトンの重量平均分子量、および７０重量％～９０重量％のポリオキシエチレン含量を有し、経口製剤は、（ｃ）第１のコポリマーを含む第１の被覆であって、第１のコポリマーが、式Ｉのポリマー：

【化７】

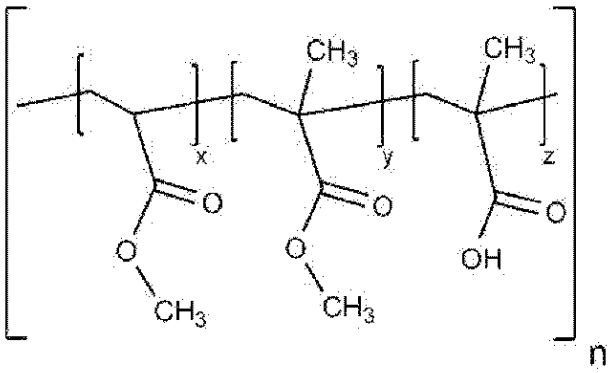


式 I;

（式中、ｘ、ｙ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい）

を含み、第１の被覆が、第２のコポリマーをさらに含み、第２のコポリマーが、式ＩＩのポリマー：

【化８】



式 II;

（式中、ｘ、ｙ、ｚ、およびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい）

を含み、第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比が、３０：７０であり、第１の被覆が、５％～１５％（ｗ／ｗ）の、モノステアリン酸グリセロールとクエン酸トリエチルとポリソルベート８０との混合物をさらに含む、第１の被覆と；（ｄ）第１の被覆の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第２の被覆と；（ｅ）第１の被覆の内側かつ治療用ペイロードおよび１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側に位置する、ＨＰＭＣを含む第３の被覆とをさらに含む。

【００２７】

本明細書において、ある特定の実施形態では、個体における炎症性障害を処置する方法であって、ＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む経口製剤を個体に投与するステップを含み、投与するステップが、（ｉ）便中カルプロテクチン（ＦＣＰ）の濃度の、ＦＣＰベースラインと比べての低下、（ｉｉ）Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）の濃度の、ＣＲＰベースラインと比べての低下、（ｉｉｉ）Ｇｅｂｏｅｓスコアのベースライン Ｇｅｂｏｅｓスコアと比べての減少、および（ｉｖ）（ｉ）～（ｉｉｉ）の組合せからなる群より選択される免疫調節応答をもたらす、方法が記載される。一部の実

施形態では、炎症性障害は、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、直腸炎、回腸嚢炎、クローン病、セリアック病、多発性硬化症（ＭＳ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、関節リウマチ、乾癬性関節炎、または乾癬からなる群より選択される。

【００２８】

本明細書において、ある特定の実施形態では、炎症性障害を有する個体におけるバイオマーカーをモジュレートする方法であって、ＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む経口製剤を個体に投与するステップを含み、バイオマーカーが、便中カルプロテクチン（ＦＣＰ）、Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）およびこれらの組合せからなる群より選択される、方法が記載される。一部の実施形態では、投与するステップは、ＦＣＰの濃度の、ＦＣＰベースラインと比べての低下をもたらす。一部の実施形態では、投与するステップは、ＣＲＰの濃度の、ＣＲＰベースラインと比べての低下をもたらす。一部の実施形態では、投与するステップは、Ｇｅｂｏｅｓスコアの、ベースラインＧｅｂｏｅｓスコアと比べての減少をさらにもたらす。一部の実施形態では、炎症性障害を有する個体を処置するステップを含むこと。一部の実施形態では、炎症性障害は、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、直腸炎、回腸嚢炎、クローン病、セリアック病、多発性硬化症（ＭＳ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、関節リウマチ、乾癬性関節炎、または乾癬からなる群より選択される。

【００２９】

本明細書において、ある特定の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤に対して不応性または耐性の個体における炎症性障害を処置する方法であって、ＩＬ－１０を含む製剤を個体に投与するステップを含む方法が記載される。一部の実施形態では、抗炎症剤は、アミノサリチレートである。一部の実施形態では、アミノサリチレートは、５－アミノサリチル酸（５－ＡＳＡ；メサラジン）、４－アミノサリチル酸（４－ａｍｉｎｏ　ｓａｌａｃｙｌｉｃ　ａｃｉｄ）（４－ＡＳＡ）、バルサラジド、オルサラジン、およびスルファサラジンからなる群より選択される。一部の実施形態では、抗炎症剤は、コルチコステロイドである。一部の実施形態では、コルチコステロイドは、プレドニゾンである。一部の実施形態では、コルチコステロイドは、経口投与コルチコステロイドまたは静脈内（ＩＶ）投与コルチコステロイドである。一部の実施形態では、抗炎症剤は、免疫抑制剤である。一部の実施形態では、免疫抑制剤は、アザチオプリン、６－メルカプトプリンおよびこれらの組合せからなる群より選択される。一部の実施形態では、抗炎症剤は、ＴＮＦα阻害剤である。一部の実施形態では、ＴＮＦα阻害剤は、アダリムマブ、セルトリズマブ、エタネルセプト、ゴリムマブおよびインフリキシマブからなる群より選択される。

【００３０】

一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、ヤヌスキナーゼ（ＪＡＫ）阻害剤である。一部の実施形態では、ＪＡＫ阻害剤は、フィルゴチニブ、ウパダシチニブ、ペフィシチニブおよびトファシチニブからなる群より選択される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、スフィンゴシン－１－リン酸（Ｓ１Ｐ）受容体アンタゴニストである。一部の実施形態では、Ｓ１Ｐ受容体アンタゴニストは、オザニモド、アミセリモドおよびエトラシモドからなる群より選択される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、インテグリン遮断薬である。一部の実施形態では、インテグリン遮断薬は、エトロリズマブ、ナタリズマブ、ベドリズマブ、アブリルマブおよびカロテグラストメチルからなる群より選択される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、ＩＬ－２３阻害剤である。一部の実施形態では、ＩＬ－２３阻害剤は、ウステキヌマブ、ミリキズマブ、ブラジクマブ、グセルクマブおよびリサンキズマブからなる群より選択される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、ホスホジエステラーゼ４（ＰＤＥ４）阻害剤である。一部の実施形態では、少なくとも１つのＰＤＥ４阻害剤は、アプレミラスト、シロミラスト、ロフルミラスト、テトミラストおよびロリプラムからなる群より選択される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、ラキニモドである。

【００３１】

本明細書において、ある特定の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディングする方法であって、（ｉ）ＩＬ－１０送達構築物を含む封入体を、カオトロピック剤を含む可溶化溶液と接触させて、可溶性ＩＬ－１０送達構築物を生成するステップ；（ｉｉ）可溶性ＩＬ－１０送達構築物を亜硫酸分解還元剤と接触させて、還元ＩＬ－１０送達構築物を生成するステップ；および（ｉｉｉ）還元ＩＬ－１０送達構築物を、還元型グルタチオンと酸化型グルタチオンとを含むリフォールディング溶液と接触させて、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物を生成するステップを含む方法が記載される。本明細書において、ある特定の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディングする方法であって、（ｉ）可溶性ＩＬ－１０送達構築物を、亜硫酸ナトリウムを含む亜硫酸分解還元剤と接触させて、還元ＩＬ－１０送達構築物を生成するステップ；（ｉｉ）還元ＩＬ－１０送達構築物を四チオン酸カリウムと接触させるステップ；（ｉｉｉ）還元ＩＬ－１０送達構築物を深層濾過により清澄化して、清澄化ＩＬ－１０送達構築物を生成するステップ；（ｉｖ）清澄化ＩＬ－１０送達構築物についての限外濾過、続いて透析濾過を行うステップ；ならびに（ｖ）清澄化ＩＬ－１０送達構築物を、０．８ｍＭ～１．２ｍＭの還元型グルタチオン、０．４ｍＭ～０．６ｍＭの酸化型グルタチオン、８００ｍＭ～１．２Ｍのアルギニン、２００ｍＭ～３００ｍＭのスクロース、７５ｍＭ～１２５ｍＭのＴｒｉｓおよび１．５ｍＭ～２．５ｍＭのＥＤＴＡを含むリフォールディング溶液と接触させるステップを含み、リフォールディング溶液が、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物を生成するために７．５～８．５のｐＨで緩衝されており、リフォールディング溶液と接触させるステップが、少なくとも１６時間行われる、方法が記載される。一部の実施形態では、亜硫酸分解還元剤は、亜硫酸ナトリウムを含む。

【００３２】

本明細書において、ある特定の実施形態では、ＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む経口製剤であって、個体への約１ｍｇ～約６０ｍｇの経口製剤の用量の投与が、個体におけるＩＬ－１Ｒａの血漿濃度の、ＩＬ－１Ｒａのベースライン血漿濃度と比べての２０％より大きい上昇をもたらす経口製剤が記載される。本明細書において、ある特定の実施形態では、個体における炎症性障害を処置する方法であって、ＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む経口製剤の用量を個体に投与するステップを含み、投与するステップが、個体におけるＩＬ－１Ｒａの血漿濃度をＩＬ－１Ｒａの、ベースライン血漿濃度と比べての２０％より大きい上昇をもたらす、方法が記載される。一部の実施形態では、経口製剤の用量は、約３ｍｇ～約３０ｍｇであり、ＩＬ－１Ｒａの血漿濃度の、ＩＬ－１Ｒａのベースライン血漿濃度と比べての上昇は、３０％より大きい。一部の実施形態では、経口製剤の用量は、約３ｍｇ～約３０ｍｇであり、ＩＬ－１Ｒａの血漿濃度の、ＩＬ－１Ｒａのベースライン血漿濃度と比べての上昇は、３０％～４５％、３０％～３５％、または４０％～４３％である。一部の実施形態では、個体への経口製剤の用量の投与は、１５００ｐｇ／ｍＬ、１０００ｐｇ／ｍＬ、５００ｐｇ／ｍＬ、１００ｐｇ／ｍＬ、または１０ｐｇ／ｍＬ以下である、個体におけるＩＬ－１０の血漿濃度をもたらす。一部の実施形態では、個体への経口製剤の投与は、個体の粘膜固有層におけるＣＤ３を発現する細胞とのＩＬ－１０の共局在化をもたらす。一部の実施形態では、ＣＤ３を発現する細胞は、リンパ球である。一部の実施形態では、リンパ球は、Ｔリンパ球である。一部の実施形態では、個体への経口製剤の投与は、個体の粘膜固有層におけるマクロファージとのＩＬ－１０の共局在化をもたらす。一部の実施形態では、個体への経口製剤の投与は、個体の粘膜固有層における細胞とのＩＬ－１０の共局在化をもたらさず、この場合、細胞は、樹状細胞、Ｂリンパ球、内皮細胞、およびこれらの組合せからなる群より選択される。

【００３３】

本明細書において、ある特定の実施形態では、ＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む経口製剤であって、個体への経口製剤の投与が、個体の血漿中のＩＬ－１Ｒａの濃度の、ベースラインレベルと比べての少なくとも５０００ｐｇ／ｍＬの上昇、ならびに以下（１）５０ｐｇ／ｍＬ未満のピークＩＬ－１０血漿濃度および（２

）個体の粘膜固有層におけるＣＤ３を発現する細胞とＩＬ－１０の共局在化のうちの少なくとも一方をもたらす経口製剤が記載される。本明細書において、ある特定の実施形態では、個体における炎症性障害を処置する方法であって、ＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む経口製剤を個体に投与するステップを含み、投与するステップが、個体の血漿中のＩＬ－１Ｒａの濃度の、ベースラインレベルと比べての少なくとも５０００ｐｇ／ｍＬの上昇、ならびに以下（１）５０ｐｇ／ｍＬ未満のピークＩＬ－１０血漿濃度および（２）個体の粘膜固有層におけるＣＤ３を発現する細胞とＩＬ－１０の共局在化のうちの少なくとも一方をもたらす、方法が記載される。一部の実施形態では、炎症性障害は、潰瘍性大腸炎、直腸炎、回腸嚢炎、クローン病、多発性硬化症（ＭＳ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、関節リウマチ、または乾癬からなる群より選択される。一部の実施形態では、個体の血漿中のピークＩＬ－１Ｒａ濃度は、投与の２～４時間または２～３時間後に得られる。一部の実施形態では、個体への経口製剤の投与は、１０ｐｇ／ｍＬ、２．５ｐｇ／ｍＬまたは１．５ｐｇ／ｍＬ未満の、個体の血漿中のピークＩＬ－１０濃度をもたらす。一部の実施形態では、ＩＬ－１Ｒａの濃度は、２５，０００ｐｇ／ｍＬ～２８，０００ｐｇ／ｍＬの最大値に達する。一部の実施形態では、個体への経口製剤の投与は、個体の結腸組織におけるＩＬ－Ｒａのインターロイキン１ベータに対する発現比の増加をもたらす。一部の実施形態では、ＩＬ－１ＲａのＩＬ－１ベータに対する比は、少なくとも２：１である。一部の実施形態では、個体への経口製剤の投与は、個体の結腸組織におけるインターロイキン１受容体アゴニスト（ＩＬ－１Ｒａ）の発現の増加をもたらす。

【００３４】

本明細書において、ある特定の実施形態では、配列番号１０に対して少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有する配列を含む非天然核酸が記載される。一部の実施形態では、非天然核酸は、配列番号１０に対して１００％同一性を有する配列を有する。

【００３５】

本明細書において、ある特定の実施形態では、（ｉ）極性化腸上皮細胞を横断するＩＬ－１０送達構築物のトランスサイトーシスを促進する担体に連結しているＩＬ－１０を含むＩＬ－１０送達構築物と、（ｉｉ）非イオン性滑沢剤を含む１つまたは複数の賦形剤と、（ｉｉｉ）ＩＬ－１０送達構築物および１つまたは複数の賦形剤を包囲する第１の被覆とを含む固体経口製剤が記載される。一部の実施形態では、非イオン性滑沢剤は、ベヘン酸グリセリルである。一部の実施形態では、経口製剤は、イオン性界面活性剤を欠いている。一部の実施形態では、経口製剤は、ステアリン酸マグネシウムを欠いている。一部の実施形態では、経口製剤は、錠剤形態である。

【００３６】

一部の実施形態では、経口製剤は、開放モードで４型溶出試験装置においてｐＨ１．０の溶液への１時間の曝露後に実質的に全くＩＬ－１０送達構築物が経口製剤から放出されないように構成されている。一部の実施形態では、経口製剤は、開放モードで４型溶出試験装置においてｐＨ７．０の溶液への２時間の曝露後にＩＬ－１０送達構築物の少なくとも４０％を放出するように構成されている。一部の実施形態では、第１の被覆は、異なる名目上の溶出ｐＨを各々が有するポリマーのブレンドを含む。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物の少なくとも４５％は、二量体形態である。

【００３７】

一部の実施形態では、１つまたは複数の賦形剤は、増量剤、崩壊剤、またはこれらの組合せを含む。一部の実施形態では、増量剤は、ケイ化微結晶性セルロース（ＳＭＣＣ）である。一部の実施形態では、崩壊剤は、クロスポビドン（架橋ポリビニルピロリドン）である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号１３に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５

％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。

【００３８】

本明細書において、ある特定の実施形態では、腸溶被覆により封入されたＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む錠剤形態の経口製剤であって、４型溶出試験装置においてｐＨ７．０の溶液への経口製剤の１時間の浸漬後、二量体形態のＩＬ－１０のパーセンテージが少なくとも４５％である、経口製剤が記載さる。一部の実施形態では、ｐＨ７．０の溶液は、クエン酸／リン酸緩衝液である。一部の実施形態では、腸溶被覆は、４ｍｇ／ｃｍ^2～２０ｍｇ／ｃｍ^2、４ｍｇ／ｃｍ^2～６ｍｇ／ｃｍ^2、５ｍｇ／ｃｍ^2～１０ｍｇ／ｃｍ^2、または５ｍｇ／ｃｍ^2～２０ｍｇ／ｃｍ^{2}の厚さを有する。一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、配列番号２に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【００３９】

一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、界面活性剤を含む。一部の実施形態では、界面活性剤は、ポロキサマー１８８である。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、浸透圧調節物質を含む。一部の実施形態では、浸透圧調節物質は、スクロースである。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、塩を含む。一部の実施形態では、塩は、リン酸カリウムである。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、増量剤を含む。一部の実施形態では、増量剤は、グリシンである。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、少なくとも１つの圧縮成形用賦形剤を含む。一部の実施形態では、少なくとも１つの圧縮成形用賦形剤は、増量剤を含む。一部の実施形態では、増量剤は、ケイ化微結晶性セルロース（ＳＭＣＣ）である。一部の実施形態では、少なくとも１つの圧縮成形用賦形剤は、崩壊剤を含む。一部の実施形態では、崩壊剤は、クロスポビドン（架橋ポリビニルピロリドン）である。一部の実施形態では、少なくとも１つの圧縮成形用賦形剤は、滑沢剤を含む。一部の実施形態では、滑沢剤は、非イオン性界面活性剤である。一部の実施形態では、非イオン性界面活性剤は、ベヘン酸グリセリルである。一部の実施形態では、非イオン性界面活性剤は、ジベヘン酸グリセリルである。一部の実施形態では、少なくとも１つの圧縮成形用賦形剤は、顆粒内相、顆粒外相、またはこれらの組合せの中に含まれる。

【００４０】

一部の実施形態では、経口製剤は、ＩＬ－１０および少なくとも１つの圧縮成形用賦形剤の圧縮により作製される。一部の実施形態では、圧縮は、約２０００重量ポンド（ｌｂｆ）～約３５００ｌｂｆの圧縮力で行われる。

【００４１】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有するＩＬ－１０送達構築物の一部である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、配列番号１３に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有するＩＬ－１０送達構築物の一部である。

【００４２】

一部の実施形態では、腸溶被覆は、第１のコポリマーおよび第２のコポリマーを含み、腸溶被覆は、ＩＬ－１０および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある。一部の実施形態では、第１のコポリマーは、メタクリル酸、およびアクリル酸エチルを含む。一部の実施形態では、第２のコポリマーは、メタクリル酸、メタクリル酸メチル、およびアクリル酸メチルを含む。一部の実施形態では、腸溶被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、重量で約５０：５０～約２０：８０である。一部の実施形態では、腸溶被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、重量で約２

５：７５～約３５：６５である。一部の実施形態では、腸溶被覆は、経口製剤の重量の５％～１２％である。一部の実施形態では、腸溶被覆は、経口製剤の重量の１２％以下である。一部の実施形態では、経口製剤は、腸溶被覆の内側かつＩＬ－１０および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側に位置する、第２の腸溶被覆をさらに含む。一部の実施形態では、第２の腸溶被覆は、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）を含む。一部の実施形態では、第２の腸溶性のものは、経口製剤の重量の３％～５％である。一部の実施形態では、二量体形態のＩＬ－１０のパーセンテージは、経口製剤が固体形態である場合、少なくとも４５％である。

【００４３】

一部の実施形態では、腸溶被覆は、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート（ＨＰＭＣＡＳ）を含み、腸溶被覆は、ＩＬ－１０および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある。一部の実施形態では、ＨＰＭＣＡＳは、第１のＨＰＭＣＡＳおよび第２のＨＰＭＣＡＳを含む。一部の実施形態では、第１のＨＰＭＣＡＳは、６．８より高いまたはそれに等しいｐＨで可溶性である。一部の実施形態では、第１のＨＰＭＣＡＳは、ＨＰＭＣＡＳ－ＨＦを含む。一部の実施形態では、第２のＨＰＭＣＡＳは、６．０より高いまたはそれに等しいｐＨで可溶性である。一部の実施形態では、第２のＨＰＭＣＡＳは、ＨＰＭＣＡＳ－ＭＦを含む。一部の実施形態では、第１のＨＰＭＣＡＳの第２のＨＰＭＣＡＳに対する比は、約４０：６０～約６０：４０である。

【００４４】

本明細書において、ある特定の実施形態では、それを必要とする個体における疾患または状態の処置のための、本明細書に記載の製剤のいずれかを投与するステップを含む、方法が開示される。同様に、それを必要とする個体における疾患または状態を処置することにおける使用のための本明細書に記載のＩＬ－１０送達構築物または製剤が、本明細書で開示される。同様に、それを必要とする個体における疾患または状態を処置するための医薬の製造における本明細書で開示されるようなＩＬ－１０送達構築物の使用が、本明細書で開示される。一部の実施形態では、疾患または状態は、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、セリアック病、直腸炎、回腸嚢炎、クローン病、多発性硬化症（ＭＳ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、関節リウマチ、乾癬性関節炎、および乾癬からなる群より選択される。

【００４５】

本明細書において、ある特定の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物と１つまたは複数の賦形剤とを含む固体組成物であって、ＩＬ－１０送達構築物の各々が、極性化腸上皮細胞を横断するＩＬ－１０送達構築物のトランスサイトーシスを促進する担体に連結しているＩＬ－１０を含み、ＩＬ－１０送達構築物の８０％より多くが二量体形態である、固体組成物が開示される。一部の実施形態では、担体は、配列番号４に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号１２に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号２０～１４６のいずれか１つの１～３８６位を含むアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号１４７の１～３８６位を含むアミノ酸配列を含む。

【００４６】

一部の実施形態では、固体組成物は、錠剤またはカプセル剤である。一部の実施形態では、１つまたは複数の賦形剤は、ポロキサマー１８８、スクロース、リン酸カリウム、グリシン、またはこれらの組合せを含む。一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、配列番号２に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、リンカーを介して担体に連結している。一部の実施形態では、リンカーは、配列番号６に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物の８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、または９０％より多くは、二量体形態である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物の８５％～９２％は、二量体形態である。

【００４７】
一部の実施形態では、固体組成物は、腸溶被覆を含む。一部の実施形態では、腸溶被覆は、第１のコポリマーおよび第２のコポリマーを含み、腸溶被覆は、ＩＬ－１０送達構築物および１つまたは複数の賦形剤の外側にある。一部の実施形態では、第１のコポリマーは、メタクリル酸、およびアクリル酸エチルを含む。一部の実施形態では、第２のコポリマーは、メタクリル酸、メタクリル酸メチル、およびアクリル酸メチルを含む。一部の実施形態では、腸溶被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、約５０：５０～約２０：８０である。一部の実施形態では、腸溶被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、約２５：７５～約３５：６５である。
【００４８】
本明細書において、ある特定の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディングする方法であって、（ｉ）ＩＬ－１０送達構築物を含む封入体を、カオトロピック剤を含む可溶化溶液と接触させて、可溶性ＩＬ－１０送達構築物を生成するステップ；（ｉｉ）可溶性ＩＬ－１０送達構築物を、還元型グルタチオンと酸化型グルタチオンとを含むリフォールディング溶液と接触させて、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物を生成するステップを含み、（ｉｉ）の接触させるステップの前に可溶性ＩＬ－１０送達構築物を亜硫酸分解剤または還元剤と接触させるステップを含まない、方法が開示される。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、担体に連結しているＩＬ－１０を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号４に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号１２に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号２０～１４６のいずれか１つの１～３８６位を含むアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号１４７の１～３８６位を含むアミノ酸配列を含む。
【００４９】
一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、０．８：１～１．２：１の還元型グルタチオンの酸化型グルタチオンに対する比（ｗ／ｗ）を含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、０．７５ｍＭ～１．５ｍＭの還元型グルタチオンを含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、０．２５ｍＭ～０．７５ｍＭの酸化型グルタチオンを含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、７．５～８．５のｐＨを含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、アルギニン、Ｔｒｉｓ、およびＥＤＴＡを含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、スクロースを含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、アルギニン、スクロース、Ｔｒｉｓ、ＥＤＴＡ、またはこれらの組合せを含む。一部の実施形態では、アルギニンは、リフォールディング溶液中に９００ｍＭ～１．１Ｍの間の濃度で存在する。一部の実施形態では、スクロースは、リフォールディング溶液中に２００ｍＭ～３００ｍＭの間の濃度で存在する。一部の実施形態では、Ｔｒｉｓは、リフォールディング溶液中に７５ｍＭ～１２５ｍＭの濃度で存在する。一部の実施形態では、ＥＤＴＡは、リフォールディング溶液中に１．７５ｍＭ～２．２５ｍＭの濃度で存在する。
【００５０】
一部の実施形態では、方法は、封入体を含む細胞を溶解するステップをさらに含む。一部の実施形態では、細胞は、細菌である。一部の実施形態では、細菌は、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉである。一部の実施形態では、溶解するステップは、高圧均質化を含む。一部の実施形態では、方法は、封入体を単離するステップをさらに含む。一部の実施形態では、カオトロピック剤は、グアニジン塩酸塩または尿素を含む。一部の実施形態では、可溶化溶液は、Ｔｒｉｓをさらに含む。
【００５１】
一部の実施形態では、可溶性ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディング溶液と接触させるステップは、少なくとも１６時間行われる。一部の実施形態では、可溶性ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディング溶液と接触させるステップは、１２時間～１８時間行われる。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディング溶液と接触させるステップは、２℃～８℃で行われる。一部の実施形態では、方法は、リフォールディン

グされたＩＬ－１０送達構築物の第１の滅菌濾過をさらに含む。一部の実施形態では、第１の滅菌濾過は、リフォールディング溶液と接触させるステップの後に行われる。一部の実施形態では、方法は、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物の接線流濾過を行うステップをさらに含む。一部の実施形態では、接線流濾過は、透析濾過を含む。一部の実施形態では、透析濾過は、第１のダイアボリューム、第２のダイアボリューム、第３のダイアボリューム、および第４のダイアボリュームを含む。一部の実施形態では、第１のダイアボリュームおよび第２のダイアボリュームは、低温緩衝液を含む。一部の実施形態では、第３のダイアボリュームおよび第４のダイアボリュームは、室温緩衝液を含む。一部の実施形態では、低温緩衝液および室温緩衝液は、ＴｒｉｓおよびＮａＣｌを含む。

【００５２】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物二量体は、緩衝液中で、例えば２５℃で２日間、保管される。そのような緩衝液は、ｐＨ７．０の１０ｍＭリン酸ナトリウムで緩衝された１５０ｍＭまたは２００ｍＭ　ＮａＣｌである１×ＰＢＳなどの、塩を含み得る。ＩＬ－１０送達構築物二量体は、ｐＨ７．０の１０ｍＭリン酸ナトリウムのみを含む緩衝液中でよりも、ｐＨ７．０の１０ｍＭリン酸ナトリウムで緩衝された１５０ｍＭまたは２００ｍＭ　ＮａＣｌである１×ＰＢＳなどの、塩を含む緩衝液中で保管されたときのほうが、安定性であり得る。

【００５３】

本明細書において、ある特定の実施形態では、二量体形態、単量体形態および凝集体形態のＩＬ－１０送達構築物を含むプールからＩＬ－１０送達構築物二量体を富化する方法であって、（ｉ）プールについての陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーを、ＩＬ－１０送達構築物二量体を陰イオン交換カラムに結合させ、そしてその後、ＩＬ－１０送達構築物二量体を陰イオン交換カラムから溶離することにより行い、それによって第１の複数の画分を生成するステップであって、この複数の画分のうちの１つが、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物が富化された第１の画分である、ステップ；および（ｉｉ）二量体形態のＩＬ－１０送達構築物が富化された画分についてのセラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）クロマトグラフィーを行い、それによって第２の複数の画分を生成するステップであって、この複数の画分のうちの１つが、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物がさらに富化された第２の画分である、ステップを含む方法が記載される。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物の各々は、担体に連結しているＩＬ－１０を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号４に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号１２に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号２０～１４６のいずれか１つの１～３８６位を含むアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号１４７の１～３８６位を含むアミノ酸配列を含む。

【００５４】

一部の場合には、方法は、陽イオン交換クロマトグラフィーを、例えばＳｕｌｆａｔｅ６５０Ｆカラムを用いて、行うステップを含み得る。陽イオン交換クロマトグラフィーステップは、陰イオン交換クロマトグラフィーステップおよびセラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）精製ステップの後、陰イオン交換クロマトグラフィーステップおよびセラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）精製ステップの前、または陰イオン交換クロマトグラフィーステップとセラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）精製ステップの間に行われ得る。

【００５５】

一部の実施形態では、方法は、第１の複数の画分の各画分中の二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージを決定するステップをさらに含む。一部の実施形態では、決定するステップは、サイズ排除クロマトグラフィーによる。一部の実施形態では、サイズ排除クロマトグラフィーは、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー（ＳＥ－ＨＰＬＣ）である。一部の実施形態では、方法は、第２の複数の画分の各画分中の二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージを決定するステップをさらに含む。一部の実施形態では、決定するステップは、サイズ排除クロマトグラフィーによる。一部の実施形態では、

サイズ排除クロマトグラフィーは、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー（ＳＥ－ＨＰＬＣ）である。

【００５６】

一部の実施形態では、第１の画分中のＩＬ－１０送達構築物の少なくとも７５％は、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物である。一部の実施形態では、第２の画分中のＩＬ－１０送達構築物の少なくとも８０％は、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物である。一部の実施形態では、方法は、第２の画分の接線流濾過を行うステップをさらに含む。一部の実施形態では、接線流濾過は、限外濾過を含む。一部の実施形態では、方法は、透析濾過をさらに含む。一部の実施形態では、方法は、第２の画分の滅菌濾過を行うステップをさらに含む。一部の実施形態では、方法は、陽イオン交換クロマトグラフィーを含まない。一部の実施形態では、プールは、本明細書に記載の方法のいずれかから得られたリフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物を含む。

【００５７】

本明細書において、ある特定の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤に対して不応性または耐性の個体における炎症性障害を処置する方法であって、ＩＬ－１０を含む製剤を個体に投与するステップを含む方法が記載される。同様に、少なくとも１つの抗炎症剤に対して不応性または耐性の個体における炎症性障害を処置することにおける使用のための、本明細書に記載のＩＬ－１０送達構築物または製剤が、本明細書で開示される。同様に、少なくとも１つの抗炎症剤に対して不応性または耐性の個体における炎症性障害を処置するための医薬の製造における、本明細書で開示されるようなＩＬ－１０送達構築物の使用が、本明細書で開示される。一部の実施形態では、抗炎症剤は、アミノサリチレートである。一部の実施形態では、アミノサリチレートは、５－アミノサリチル酸（５－ＡＳＡ；メサラジン）、４－アミノサリチル酸（４－ＡＳＡ）、バルサラジド、オルサラジン、およびスルファサラジンからなる群より選択される。一部の実施形態では、抗炎症剤は、コルチコステロイドである。一部の実施形態では、コルチコステロイドは、プレドニゾンである。一部の実施形態では、コルチコステロイドは、経口投与コルチコステロイドまたは静脈内（ＩＶ）投与コルチコステロイドである。一部の実施形態では、抗炎症剤は、免疫抑制剤である。一部の実施形態では、免疫抑制剤は、アザチオプリン、６－メルカプトプリンおよびこれらの組合せからなる群より選択される。一部の実施形態では、抗炎症剤は、ＴＮＦα阻害剤である。一部の実施形態では、ＴＮＦα阻害剤は、アダリムマブ、セルトリズマブ、エタネルセプト、ゴリムマブおよびインフリキシマブからなる群より選択される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、ヤヌスキナーゼ（ＪＡＫ）阻害剤である。一部の実施形態では、ＪＡＫ阻害剤は、フィルゴチニブ、ウパダシチニブ、ペフィシチニブおよびトファシチニブからなる群より選択される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、スフィンゴシン－１－リン酸（Ｓ１Ｐ）受容体アンタゴニストである。一部の実施形態では、Ｓ１Ｐ受容体アンタゴニストは、オザニモド、アミセリモドおよびエトラシモドからなる群より選択される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、インテグリン遮断薬である。一部の実施形態では、インテグリン遮断薬は、エトロリズマブ、ナタリズマブ、ベドリズマブ、アブリルマブおよびカロテグラストメチルからなる群より選択される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、ＩＬ－２３阻害剤である。一部の実施形態では、ＩＬ－２３阻害剤は、ウステキヌマブ、ミリキズマブ、ブラジクマブ、グセルクマブおよびリサンキズマブからなる群より選択される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、ホスホジエステラーゼ４（ＰＤＥ４）阻害剤である。一部の実施形態では、少なくとも１つのＰＤＥ４阻害剤は、アプレミラスト、シロミラスト、ロフルミラスト、テトミラストおよびロリプラムからなる群より選択される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤は、ラキニモドである。一部の実施形態では、個体は、少なくとも５、７、１０、１２または１４日間、製剤を連日投与される。

【００５８】

一部の実施形態では、炎症性障害は、潰瘍性大腸炎、直腸炎、回腸嚢炎、クローン病、

多発性硬化症（ＭＳ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、関節リウマチ、または乾癬からなる群より選択される。一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、配列番号２に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、界面活性剤を含む。一部の実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート８０、ポリソルベート２０およびポロキサマー１８８からなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、浸透圧調節物質を含む。一部の実施形態では、浸透圧調節物質は、スクロースおよびトレハロースからなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、塩を含む。一部の実施形態では、塩は、リン酸カリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化マグネシウムおよび硫酸ナトリウムからなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、増量剤を含む。一部の実施形態では、増量剤は、グリシンおよびマンニトールからなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、崩壊剤を含む。一部の実施形態では、崩壊剤は、微結晶性セルロース（ＭＣＣ）、ケイ化微結晶性セルロース（ＳＭＣＣ）、デンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、Ｖｅｅｇｕｍ、ベントナイト、アルギン酸、アルギン酸カルシウム、クロスカルメロースナトリウム（架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム）、およびクロスポビドン（架橋ポリビニルピロリドン）からなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、結合剤を含む。一部の実施形態では、結合剤は、スクロース、ラクトース、デンプン、セルロース、ゼラチン、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）およびポリエチレングリコール（ＰＥＧ）からなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、滑沢剤を含む。一部の実施形態では、滑沢剤は、ステアリン酸マグネシウム、ベヘン酸グリセリル、ジベヘン酸グリセリル、フマル酸ステアリルナトリウム（ｓｏｄｉｕｍ　ｓｔｅａｒｙｌ　ｆｕｍｅｒａｔｅ）、ステアリン酸、タルク、シリカ、ステアリン酸カルシウム、炭酸マグネシウム、硬化油、鉱物油、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）およびモノステアリン酸グリセリンからなる群より選択される。

【００５９】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、担体に連結しているＩＬ－１０を含むＩＬ－１０送達構築物の一部である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、ＩＬ－１０を担体に連結するリンカーを含む。一部の実施形態では、リンカーは、配列番号６に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号４に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。一部の実施形態では、細胞と接触すると、担体は、ＩＬ－１０送達構築物のエンドサイトーシスまたはトランスサイトーシスを促進する。一部の実施形態では、細胞は、腸上皮細胞である。一部の実施形態では、腸上皮細胞は、極性化腸上皮細胞である。

【００６０】

一部の実施形態では、製剤は、経口製剤である。一部の実施形態では、経口製剤は、カプセル剤または錠剤中にある。一部の実施形態では、経口製剤は、第１のコポリマーと第２のコポリマーとを含む第１の被覆を含み、第１の被覆は、ＩＬ－１０および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある。一部の実施形態では、第１のコポリマーは、メタクリル酸、およびアクリル酸エチルを含む。一部の実施形態では、第２のコポリマーは、メタクリル酸、メタクリル酸メチル、およびアクリル酸メチルを含む。一部の実施形態では、第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比（ｗ／ｗ）は、０．８：１～１．２：１である。一部の実施形態では、投与するステップは、経口投

与を含む。

【００６１】

本明細書において、ある特定の実施形態では、個体における寛解期の炎症性障害の再発を防止する方法であって、ＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む製剤を個体に投与するステップを含む方法が開示される。一部の実施形態では、炎症性障害は、潰瘍性大腸炎、直腸炎、回腸嚢炎、クローン病、多発性硬化症（ＭＳ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、関節リウマチ、または乾癬からなる群より選択される。

【００６２】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、配列番号２に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、界面活性剤を含む。一部の実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート８０、ポリソルベート２０およびポロキサマー１８８からなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、浸透圧調節物質を含む。一部の実施形態では、浸透圧調節物質は、スクロースおよびトレハロースからなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、塩を含む。一部の実施形態では、塩は、リン酸カリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化マグネシウムおよび硫酸ナトリウムからなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、増量剤を含む。一部の実施形態では、増量剤は、グリシンおよびマンニトールからなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、崩壊剤を含む。一部の実施形態では、崩壊剤は、微結晶性セルロース（ＭＣＣ）、ケイ化微結晶性セルロース（ＳＭＣＣ）、デンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、Ｖｅｅｇｕｍ、ベントナイト、アルギン酸、アルギン酸カルシウム、クロスカルメロースナトリウム（架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム）、およびクロスポビドン（架橋ポリビニルピロリドン）からなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、結合剤を含む。一部の実施形態では、結合剤は、スクロース、ラクトース、デンプン、セルロース、ゼラチン、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）およびポリエチレングリコール（ＰＥＧ）からなる群より選択される。一部の実施形態では、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤は、滑沢剤を含む。一部の実施形態では、滑沢剤は、ステアリン酸マグネシウム、ベヘン酸グリセリル、ジベヘン酸グリセリル、フマル酸ステアリルナトリウム、ステアリン酸、タルク、シリカ、ステアリン酸カルシウム、炭酸マグネシウム、硬化油、鉱物油、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）およびモノステアリン酸グリセリンからなる群より選択される。

【００６３】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０は、担体に連結しているＩＬ－１０を含むＩＬ－１０送達構築物の一部である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、ＩＬ－１０を担体に連結するリンカーを含む。一部の実施形態では、リンカーは、配列番号６に記載のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、担体は、配列番号４に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する。一部の実施形態では、細胞と接触すると、担体は、ＩＬ－１０送達構築物のエンドサイトーシスまたはトランスサイトーシスを促進する。一部の実施形態では、細胞は、腸上皮細胞である。一部の実施形態では、腸上皮細胞は、極性化腸上皮細胞である。

【００６４】

一部の実施形態では、製剤は、経口製剤である。一部の実施形態では、経口製剤は、カ

プセル剤または錠剤中にある。一部の実施形態では、経口製剤は、第１のコポリマーと第２のコポリマーとを含む第１の被覆を含み、第１の被覆は、ＩＬ－１０および１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤の外側にある。一部の実施形態では、第１のコポリマーは、メタクリル酸、およびアクリル酸エチルを含む。一部の実施形態では、第２のコポリマーは、メタクリル酸、メタクリル酸メチル、およびアクリル酸メチルを含む。一部の実施形態では、第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する比は、０．８：１～１．２：１である。一部の実施形態では、投与するステップは、経口投与を含む。

【００６５】

一部の実施形態では、本開示は、炎症性疾患の処置を必要とする対象における炎症性疾患を処置する方法であって、対象にＩＬ－１０治療薬を経口投与するステップおよび対象に非ＩＬ－１０免疫抑制薬を投与するステップを含む方法を提供する。他の実施形態では、本開示は、炎症性疾患の処置を必要とする対象における炎症性疾患を処置する方法であって、対象にＩＬ－１０治療薬を経口投与するステップを含み、対象が、非ＩＬ－１０免疫抑制薬を同時に摂取する、方法を提供する。さらなる実施形態では、本開示は、非ＩＬ－１０免疫抑制薬に対して不十分な応答を有した対象における炎症性疾患を処置する方法であって、対象にＩＬ－１０治療薬を経口投与するステップを含む方法を提供する。

【００６６】

一部の場合には、方法は、非ＩＬ－１０免疫抑制薬をＩＬ－１０治療薬とともに投与するステップをさらに含む。一部の場合には、対象は、不十分な応答を決定する前に少なくとも６週間、非ＩＬ－１０免疫抑制薬で処置された。一部の場合には、対象は、不十分な応答を決定する前に少なくとも１２週間、非ＩＬ－１０免疫抑制薬で処置された。一部の場合には、不十分な応答は、部分応答である。

【００６７】

一部の場合には、炎症性疾患は、炎症性腸疾患、乾癬、尋常性乾癬、化膿性汗腺炎、乾癬性関節炎、関節リウマチ、若年性特発性関節炎、強直性脊椎炎、細菌性敗血症、クローン病、瘻孔形成性クローン病、中等度から重度の潰瘍性大腸炎、軽度から中等度の潰瘍性大腸炎、潰瘍性大腸炎、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、虚血性大腸炎、空置大腸炎（ｄｉｖｅｒｓｉｏｎ ｃｏｌｉｔｉｓ）、ベーチェット症候群、不確定大腸炎（ｉｎｄｅｔｅｒｍｉｎａｔｅ ｃｏｌｉｔｉｓ）、膵炎、肝臓の炎症、回腸嚢炎、直腸炎、ぶどう膜炎、移植片対宿主病、および上皮細胞傷害からなる群より選択される。一部の場合には、炎症性疾患は、炎症性腸疾患である。一部の場合には、炎症性疾患は、関節リウマチ、潰瘍性大腸炎およびクローン病からなる群より選択される。

【００６８】

一部の場合には、炎症性疾患は、関節リウマチであり、不十分な応答を有する対象は、活動性疾患のある１つまたは複数の関節を有する。一部の場合には、活動性疾患のある１つまたは複数の関節は、蛍光光学イメージングまたは磁気共鳴画像法により特定される。一部の場合には、不十分な応答を有する対象は、圧痛のある２つまたはそれより多くの関節をさらに有する。一部の場合には、不十分な応答を有する対象は、腫脹している２つまたはそれより多くの関節をさらに有する。

【００６９】

一部の場合には、炎症性疾患は、潰瘍性大腸炎であり、不十分な応答を有する対象は、中等度から重度の潰瘍性大腸炎を有する。一部の場合には、不十分な応答を有する対象は、約４点～約９点の間の改訂Ｍａｙｏ Ｃｌｉｎｉｃスコア（ＭＭＳ）を有する。一部の場合には、不十分な応答を有する対象は、グレード２またはそれより高い中央読影ＭＣＳ内視鏡サブスコア（ｃｅｎｔｒａｌｌｙ ｒｅａｄ ＭＣＳ ｅｎｄｏｓｃｏｐｉｃ ｓｕｂ ｓｃｏｒｅ）を有する。一部の場合には、不十分な応答を有する対象は、１点またはそれより高いＭＭＳ直腸出血サブスコアを有する。一部の場合には、不十分な応答を有する対象は、肛門縁から１５ｃｍまたはそれを超えて広がる疾患を有する。ＩＬ－１０治療薬が、ＩＬ－１０送達構築物である、上記請求項のいずれか一項に記載の方法。

【００７０】

一部の場合には、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる担体を含む。一部の場合には、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号４と少なくとも９０％同一のアミノ酸配列からなる担体を含む。一部の場合には、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号５に記載のアミノ酸配列を含む。

【００７１】

一部の場合には、非ＩＬ－１０免疫抑制薬は、ＴＮＦアルファ阻害剤である。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤は、モノクローナル抗体である。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤は、インフリキシマブ（Ｒｅｍｉｃａｄｅ）、アダリムマブ（Ｈｕｍｉｒａ）およびゴリムマブ（Ｓｉｍｐｏｎｉ）からなる群より選択される。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤は、配列番号１５１および配列番号１５２を含む。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤は、配列番号１５３および配列番号１５４を含む。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤は、エタネルセプトではない。

参照による組み入れ

【００７２】

本明細書で言及されるすべての公表文献、特許および特許出願は、個々の公表文献、特許または特許出願各々が参照により組み込まれると具体的かつ個別に示されている場合と同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

【００７３】

特許または出願ファイルは、カラーで描かれた少なくとも１つの図面を含む。カラー図面（複数可）を含むこの特許または特許出願公報のコピーは、要求および必要な手数料の納付により、特許庁によって提供される。本開示の種々の特色は、添付の特許請求の範囲に特に示される。本開示の特色および利点のより良い理解は、本開示の原理が利用される例示的な実施形態を示す以下の詳細な説明、および添付の図面を参照して得られる。

【図面の簡単な説明】

【００７４】

【図１】図１は、Ｘ線小角散乱（ＳＡＸＳ）によって決定された、コリックス－ＩＬ－１０送達構築物ホモ二量体（配列番号５の２つの同一なサブユニットを含む二量体）の構造を示す。

【００７５】

【図２－１】図２Ａ～２Ｂは、ＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物を発現、リフォールディングおよび精製するための例示的なプロセスを示す。図２Ａは、亜硫酸分解ステップありの、ＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物を発現、リフォールディングおよび精製するための例示的なプロセスを示す。図２Ｂは、亜硫酸分解ステップなしの、ＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物を発現、リフォールディングおよび精製するための例示的なプロセスを示す。

【図２－２】同上。

【００７６】

【図３】図３は、同じ反応器内で胃、小腸および結腸の生理的条件を経時的にシミュレートする、適応させたＳＨＩＭＥ（登録商標）システムを示す。

【００７７】

【図４】図４は、絶食条件下のシミュレートされたＧＩ管のｐＨプロファイルを示す。矢印は、胃インキュベーション段階（ＳＴ０；ＳＴ４５）および小腸インキュベーション段階（ＳＩ０；ＳＩ０，５；ＳＩ１；ＳＩ１，５；ＳＩ２；ＳＩ３）の間に取得した試料の時間および対応するｐＨを示す。

【００７８】

【図５－１】図５Ａ～５Ｅは、表１２のカプセル製剤によって示される、種々の被覆組成および被覆厚さを有するサイズ１のカプセルからのカフェインの平均放出（ｍｇ）を示す。平均放出を、３つの個々のカプセルから決定した。胃をシミュレートする条件を有する時点は、ＳＴ０およびＳＴ４５によって示される。小腸をシミュレートする条件を有する時点は、ＳＩ０、ＳＩ０，５、ＳＩ１、ＳＩ１，５、ＳＩ２およびＳＩ３によって示され

る。結腸をシミュレートする条件を有する時点は、Ｃ０、Ｃ０，５、Ｃ１、Ｃ１，５、Ｃ２、Ｃ３、Ｃ４およびＣ１８によって示される。図５Ａは、製剤Ａのカプセルからのカフェインの放出を示す。それらの先行する試料と比較した試料における差異は、統計的に有意な変化（ｐ＜０．０５）を示すアスタリスク（＊）で示される。カプセルの視覚的スコアは、棒の上に示される（１：インタクトなカプセル；２：損傷しているが、ほとんど全ての生成物がなおもカプセル中にあるカプセル；３：損傷した、全ての生成物が放出されるカプセル；４：破壊されたカプセル）。図５Ｂは、製剤Ｂのカプセルからのカフェインの放出を示す。図５Ｃは、製剤Ｃのカプセルからのカフェインの放出を示す。図５Ｄは、製剤Ｄのカプセルからのカフェインの放出を示す。図５Ｅは、製剤Ｅのカプセルからのカフェインの放出を示す。

【図５－２】同上。

【図５－３】同上。

【図５－４】同上。

【図５－５】同上。

【００７９】

【図６】図６Ａ～６Ｃは、最初の１時間はｐＨ１．０、残りの時間はｐＨ７．０での、種々のカプセル被覆からのパーセントカフェイン放出を示す。図６Ａは、カプセル被覆Ａ～Ｂからのパーセントカフェイン放出を示す。図６Ｂは、カプセル被覆Ｃ～Ｆからのパーセントカフェイン放出を示す。図６Ｃは、カプセル被覆Ｇ～Ｈからのパーセントカフェイン放出を示す。カプセル被覆Ａ～Ｈは、表２３に記載される。

【００８０】

【図７】図７Ａ～７Ｃは、最初の１時間はｐＨ１．０、残りの時間はｐＨ６．５での、種々のカプセル被覆からのパーセントカフェイン放出を示す。図７Ａは、カプセル被覆Ａ～Ｂからのパーセントカフェイン放出を示す。図７Ｂは、カプセル被覆Ｃ～Ｆからのパーセントカフェイン放出を示す。図７Ｃは、カプセル被覆Ｇ～Ｈからのパーセントカフェイン放出を示す。カプセル被覆Ａ～Ｈは、表２３に記載される。

【００８１】

【図８】図８Ａ～８Ｃは、最初の１時間はｐＨ１．０、残りの時間はｐＨ６．０での、種々のカプセル被覆からのパーセントカフェイン放出を示す。図８Ａは、カプセル被覆Ａ～Ｂからのパーセントカフェイン放出を示す。図８Ｂは、カプセル被覆Ｃ～Ｆからのパーセントカフェイン放出を示す。図８Ｃは、カプセル被覆Ｇ～Ｈからのパーセントカフェイン放出を示す。カプセル被覆Ａ～Ｈは、表２３に記載される。

【００８２】

【図９】図９Ａ～９Ｃは、最初の１時間はｐＨ１．０、残りの時間はｐＨ７．０での、種々のカプセル被覆からのパーセント標的構築物（配列番号５）放出を示す。図９Ａは、カプセル被覆Ａ～Ｂからのパーセント標的構築物放出を示す。図９Ｂは、カプセル被覆Ｃ～Ｆからのパーセント標的構築物放出を示す。図９Ｃは、カプセル被覆Ｇ～Ｈからのパーセント標的構築物放出を示す。カプセル被覆Ａ～Ｈは、表２３に記載される。

【００８３】

【図１０】図１０Ａ～１０Ｃは、最初の１時間はｐＨ１．０、残りの時間はｐＨ６．５での、種々のカプセル被覆からのパーセント標的構築物（配列番号５）放出を示す。図１０Ａは、カプセル被覆Ａ～Ｂからのパーセント標的構築物放出を示す。図１０Ｂは、カプセル被覆Ｃ～Ｆからのパーセント標的構築物放出を示す。図１０Ｃは、カプセル被覆Ｇ～Ｈからのパーセント標的構築物放出を示す。カプセル被覆Ａ～Ｈは、表２３に記載される。

【００８４】

【図１１】図１１Ａ～１１Ｃは、最初の１時間はｐＨ１．０、残りの時間はｐＨ６．０での、種々のカプセル被覆からのパーセント標的構築物（配列番号５）放出を示す。図１１Ａは、カプセル被覆Ａ～Ｂからのパーセント標的構築物放出を示す。図１１Ｂは、カプセル被覆Ｃ～Ｆからのパーセント標的構築物放出を示す。図１１Ｃは、カプセル被覆Ｇ～Ｈからのパーセント標的構築物放出を示す。カプセル被覆Ａ～Ｈは、表２３に記載される。

【００８５】
【図１２】図１２Ａ～１２Ｃは、最初の１時間はｐＨ１．０、残りの時間はｐＨ７．０での、種々のカプセル被覆から放出された二量体形態の標的構築物（配列番号５）のパーセントを示す。図１２Ａは、カプセル被覆Ａ～Ｂから放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを示す。図１２Ｂは、カプセル被覆Ｃ～Ｆから放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを示す。図１２Ｃは、カプセル被覆Ｇ～Ｈから放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを示す。カプセル被覆Ａ～Ｈは、表２３に記載される。
【００８６】
【図１３】図１３Ａ～１３Ｃは、最初の１時間はｐＨ１．０、残りの時間はｐＨ６．５での、種々のカプセル被覆から放出された二量体形態の標的構築物（配列番号５）のパーセントを示す。図１３Ａは、カプセル被覆Ａ～Ｂから放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを示す。図１３Ｂは、カプセル被覆Ｃ～Ｆから放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを示す。図１３Ｃは、カプセル被覆Ｇ～Ｈから放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを示す。カプセル被覆Ａ～Ｈは、表２３に記載される。
【００８７】
【図１４】図１４Ａ～１４Ｃは、最初の１時間はｐＨ１．０、残りの時間はｐＨ６．０での、種々のカプセル被覆から放出された二量体形態の標的構築物（配列番号５）のパーセントを示す。図１４Ａは、カプセル被覆Ａ～Ｂから放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを示す。図１４Ｂは、カプセル被覆Ｃ～Ｆから放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを示す。図１４Ｃは、カプセル被覆Ｇ～Ｈから放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを示す。カプセル被覆Ａ～Ｈは、表２３に記載される。
【００８８】
【図１５】図１５Ａ～１５Ｃは、表２５に示されるカプセル被覆Ａ、ＢまたはＣのうち１つを有する、標的構築物（配列番号５）およびカフェインを含むカプセルのサルへの投与後８時間の間の、カニクイザルにおけるＩＬ－１０、カフェインおよびインターロイキン－１受容体アンタゴニスト（ＩＬ－１ＲＡ）の血清レベルを示す。図１５Ａは、ＩＬ－１０の血清レベルを示す。図１５Ｂは、カフェインの血清レベルを示す。図１５Ｃは、ＩＬ－１ＲＡの血清レベルを示す。Ｘ軸およびＹ軸は、対数目盛である。各群についての平均が、平均の標準誤差を示す棒と共にプロットされる。
【００８９】
【図１６】図１６Ａ～１６Ｃは、表２５に示されるカプセル被覆Ａ、ＧおよびＨのうち１つを有する、標的構築物（配列番号５）およびカフェインを含むカプセルのサルへの投与後８時間の間の、カニクイザルにおけるＩＬ－１０、カフェインおよびＩＬ－１ＲＡの血清レベルを示す。図１６Ａは、ＩＬ－１０の血清レベルを示す。図１６Ｂは、カフェインの血清レベルを示す。図１６Ｃは、ＩＬ－１ＲＡの血清レベルを示す。Ｘ軸およびＹ軸は、対数目盛である。各群についての平均が、平均の標準誤差を示す棒と共にプロットされる。
【００９０】
【図１７】図１７Ａ～１７Ｃは、表２５に示されるカプセル被覆Ａ、Ｃ、Ｄ、ＥおよびＦのうち１つを有する、標的構築物（配列番号５）およびカフェインを含むカプセルのサルへの投与後８時間の間の、カニクイザルにおけるＩＬ－１０、カフェインおよびＩＬ－１ＲＡの血清レベルを示す。図１７Ａは、ＩＬ－１０の血清レベルを示す。図１７Ｂは、カフェインの血清レベルを示す。図１７Ｃは、ＩＬ－１ＲＡの血清レベルを示す。Ｘ軸およびＹ軸は、対数目盛である。各群についての平均が、平均の標準誤差を示す棒と共にプロットされる。
【００９１】
【図１８】図１８は、４０℃で３日間インキュベートした後の、異なる圧縮成形用賦形剤および凍結乾燥された標的構築物（配列番号５）粉末の組合せのサイズ排除クロマトグラム（ＳＥＣ）を示す。試験した圧縮成形用賦形剤は、以下を含んだ：デンプン、クロスカルメロースナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、ベヘン酸グリセリル、微結晶性セル

ロース（ＭＣＣ）、ラクトース、クロスポビドンおよびケイ化微結晶性セルロース（ＳＭＣＣ）。

【００９２】

【図１９】図１９は、標的構築物（配列番号５）二量体純度を示すサイズ排除クロマトグラム（ＳＥＣ）、ならびにＦ１およびＦ２製剤の標的構築物（配列番号５）の二量体純度を示す。

【００９３】

【図２０】図２０Ａ～２０Ｄは、異なる錠剤製剤の溶出後の、標的構築物（配列番号５）の総回収、二量体の回収、および二量体パーセンテージを示す。図２０Ａは、２０００重量ポンド（ｌｂｆ）の圧縮力を使用して作製したＦ１錠剤の溶出後の、標的構築物の総回収、二量体の回収、および二量体パーセンテージを示す。図２０Ｂは、２５００ｌｂｆの圧縮力を使用して作製したＦ１錠剤の溶出後の、標的構築物の総回収、二量体の回収、および二量体パーセンテージを示す。図２０Ｃは、２５００ｌｂｆの圧縮力を使用して作製したＦ２錠剤の溶出後の、標的構築物の総回収、二量体の回収、および二量体パーセンテージを示す。図２０Ｄは、３０００ｌｂｆの圧縮力を使用して作製したＦ２錠剤の溶出後の、標的構築物の総回収、二量体の回収、および二量体パーセンテージを示す。これらの実験では、二量体回収は、参照標準と比較した、特定された二量体の絶対量を示した。これらの実験では、二量体純度は、検出されたＩＬ－１０送達構築物の全ての形態（これは、凝集体および単量体を含んだ）と比較した、二量体のパーセントを示した。分析はｐＨ７．０で行った。

【００９４】

【図２１】図２１は、２５℃でのインキュベーションの前および後の、異なる凍結乾燥製剤における二量体形態の標的構築物（配列番号５）のパーセントを示す。水平線は、２５℃で３日間の後の、参照試料（１×ＰＢＳ　－　賦形剤なし）についての主要ピーク二量体純度を示す。

【００９５】

【図２２】図２２は、－２０℃における５回の凍結／解凍サイクル（Ｆ／Ｔ）の前および後の、異なる凍結乾燥製剤における二量体形態の標的構築物（配列番号５）のパーセントを示す。

【００９６】

【図２３】図２３Ａ～２３Ｂは、標的構築物（配列番号５）の凝集体および二量体に対する、－２０℃および－８０℃における５回の凍結／解凍サイクルの影響を示す。図２３Ａは、標的構築物凝集体（ＨＭＷ）パーセンテージに対する、５回の凍結／解凍サイクルの影響を示す。図２３Ｂは、標的構築物二量体パーセンテージに対する、５回の凍結／解凍サイクルの影響を示す。

【００９７】

【図２４－１】図２４Ａ～２４Ｂは、表１１の凍結乾燥緩衝液の異なる製剤における、１週間の時間経過にわたる、４℃または２５℃における標的凝集体または二量体のパーセントにおける変化を示す。凍結乾燥緩衝液中の２つの異なる濃度の標的構築物（配列番号５）（２０ｍｇ／ｍｌおよび４０ｍｇ／ｍｌ）を、４つの異なる製剤の各々について試験した。図２４Ａは、４℃における標的構築物凝集体のパーセントにおける変化を示す。図２４Ｂは、４℃における標的二量体のパーセントにおける変化を示す。図２４Ｃは、２５℃における標的構築物凝集体のパーセントにおける変化を示す。矢印は、ｐＨ７．５のスクロースを含む凍結乾燥緩衝液を示す。図２４Ｄは、２５℃における標的構築物二量体のパーセントにおける変化を示す。矢印は、ｐＨ７．５のスクロースを含む凍結乾燥緩衝液を示す。

【図２４－２】同上。

【図２４－３】同上。

【図２４－４】同上。

【００９８】

【図２５】図２５Ａ～２５Ｂは、リフォールディング溶液のアルギニン濃度および標的構築物（配列番号５）濃度を変動させた場合のリフォールディング効率を示す。図２５Ａは、リフォールディング効率（リフォールディングの終了時の二量体の％）の等高線プロットを示す。図２５Ｂは、リフォールディング効率の棒プロットを示す。

【００９９】

【図２６】図２６Ａ～２６Ｂは、リフォールディング溶液のグリセロール濃度およびｐＨを変動させた場合の、標的構築物（配列番号５）のリフォールディング効率を示す。図２６Ａは、リフォールディング効率の等高線プロットを示す。図２６Ｂは、リフォールディング効率の棒プロットを示す。

【０１００】

【図２７】図２７Ａ～２７Ｂは、リフォールディング溶液のスクロース濃度およびＰＥＧ３３５０濃度を変動させた場合の、標的構築物（配列番号５）のリフォールディング効率を示す。図２７Ａは、リフォールディング効率の等高線プロットを示す。図２７Ｂは、リフォールディング効率の棒プロットを示す。

【０１０１】

【図２８】図２８は、４つのリフォールディング溶液の各々についての標的構築物（配列番号５）の凝集体、二量体および単量体を示すサイズ排除高速液体クロマトグラフィー（ＳＥ－ＨＰＬＣ）クロマトグラムを示す。「Ａ」は、０．７Ｍアルギニンを含む対照リフォールディング溶液を示す。「Ｂ」は、１Ｍアルギニンを含むリフォールディング溶液を示す。「Ｃ」は、１Ｍアルギニンプラス０．２５Ｍスクロースプラス０．２％ＰＥＧ３３５０を含むリフォールディング溶液を示す。「Ｄ」は、１Ｍアルギニンプラス０．２５Ｍスクロースを示す。

【０１０２】

【図２９】図２９は、図２８に示される４つのリフォールディング溶液の各々のリフォールディング効率を示す。

【０１０３】

【図３０】図３０は、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ後の、精製プロセス中の種々の中間ステップにおける標的構築物のクマシーブルー染色を示す。レーン１および１１は、ｍａｒｋ　１２分子量マーカーを含む。レーン８、９、１０、１８、１９および２０は、ブランクである。レーン２～１０の試料は、還元条件においてＳＤＳ－ＰＡＧＥ泳動した。レーン１２～２０の試料は、非還元条件においてＳＤＳ－ＰＡＧＥ泳動した。レーン２および１２は、標的構築物（配列番号５）を含む。レーン３および１３は、濾過されたＴＦＦ－２保持液（サイクル数１）を含む。レーン４および１４は、濾過されたＴＦＦ－２保持液（サイクル数２）を含む。レーン５および１５は、Ｃａｐｔｏ（商標）Ｑプールされた溶離液を含む。レーン６および１６は、ＣＨＴプールされた溶離液を含む。レーン７および１７は、ＴＦＦ－３最終保持液を含む。

【０１０４】

【図３１】図３１Ａ～３１Ｂは、本明細書に記載される経口製剤３２００および３２０５の実施形態を示す。図３１Ａは、治療的タンパク質を含む内部領域（３２０１）、第１の被覆（３２０３）、第２の被覆（３２０２）および第３の被覆（３２０４）を含む経口製剤３２００を示す。図３１Ｂは、第１の被覆（３２０３）を含む経口製剤を示す。

【０１０５】

【図３２－１】図３２Ａ～３２Ｂは、表３５に記載される製剤１、２または３の被覆を有するカプセルからの放射能標識放出の時間を示す。図３２Ａは、健康なボランティアにおける経口カプセル被覆製剤の投与後の初期放射能標識放出の時間を示す。図３２Ｂは、健康なボランティアにおける経口カプセル被覆製剤の投与後の完全放射能標識放出の時間を示す。

【図３２－２】同上。

【０１０６】

【図３３－１】図３３Ａ～３３Ｂは、表３５に記載される製剤１、２または３の被覆を有

するカプセルからの放射能標識放出の解剖学的位置を示す。図３３Ａは、健康なボランティアにおける経口カプセル被覆製剤の投与後の初期放射能標識放出の解剖学的位置を示す。図３３Ｂは、健康なボランティアにおける経口カプセル被覆製剤の投与後の完全放射能標識放出の解剖学的位置を示す。ＰＳＢ＝近位小腸；ＤＳＢ＝遠位小腸；ＡＣ＝上行結腸；ＴＣ＝横行結腸；ＤＣ＝下行結腸。

【図３３－２】同上。

【０１０７】

【図３４】図３４は、標的構築物（配列番号５）二量体、凝集体および単量体を示すピークを特定するサイズ排除クロマトグラム（ＳＥＣ）を示す。

【０１０８】

【図３５】図３５は、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、体重におけるパーセンテージ変化に対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響を示す。体重を、侵襲の前および後に、マウスにおいて毎日記録した。データは、平均±ＳＥＭとして表される；１群当たりのｎ：ナイーブ（５）、ビヒクル（１０）、ＩＬ－１０送達構築物（１５）、５－ＡＳＡ（１５）。データを、ダネット事後検定と共に二元配置ＡＮＯＶＡによって分析して、各日における各群対ビヒクルの差異を比較した。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。

【０１０９】

【図３６】図３６は、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、生存率に対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響を示す。死亡率を、侵襲の前および後に、マウスにおいて毎日記録した。データは、パーセンテージ生存として表される。

【０１１０】

【図３７】図３７は、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、疾患重症度に対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響を示す。重症度を、侵襲の７日後に、炎症の結腸マーカーによって評価した。

【０１１１】

【図３８－１】図３８Ａは、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、結腸重量に対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響を示す。結腸重量を、侵襲の７日後に測定した。

【０１１２】

【図３８－２】図３８Ｂは、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、ヘモカルト陽性度に対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響を示す。

【０１１３】

図３８Ｃは、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、便の硬さ（ｃｏｎｓｉｓｔｅｎｃｙ）に対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響を示す。

【０１１４】

【図３８－３】図３８Ｄは、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、疾患活動性インデックス（ｄｉｓｅａｓｅ　ａｃｔｉｖｉｔｙ　ｉｎｄｅｘ）に対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響を示す。

【０１１５】

【図３８－４】図３８Ｅは、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、マクロファージコロニー刺激因子１（ＭＣＳＦ）の血清レベルに対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響を示す。

【０１１６】

図３８Ｆは、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、ＩＬ１２　ｐ７０タンパク質の血清レベルに対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響を示す。

【０１１７】

図３８Ｇは、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、ＩＬ－３の血清レベルに対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響を示す。

【０１１８】

【図３９】図３９Ａ～３９Ｅは、潰瘍性大腸炎に関連する炎症プロセスに関するタンパク質の細胞性発現に対する、経口ＩＬ－１０送達構築物投与の影響を示す。オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスからの近位、中間および遠位結腸からの断面を、免疫組織化学によって分析した。図３９Ａは、ＮＦκＢの細胞性発現に対する経口ＩＬ－１０送達構築物投与の影響を示す。図３９Ｂは、ＴＮＦαの細胞性発現に対する経口ＩＬ－１０送達構築物投与の影響を示す。図３９Ｃは、ＣＤ４の細胞性発現に対する経口ＩＬ－１０送達構築物投与の影響を示す。図３９Ｄは、ＩＬ－４の細胞性発現に対する経口ＩＬ－１０送達構築物投与の影響を示す。図３９Ｅは、Ｆｏｘｐ３の細胞性発現に対する経口ＩＬ－１０送達構築物投与の影響を示す。

【０１１９】

【図４０】図４０Ａ～４０Ｂは、ＩＬ－１０送達構築物投薬溶液の経口送達後の全身サイトカインのＬｕｍｉｎｅｘアレイを示す。図４０Ａは、ＩＬ－１０送達構築物投薬溶液の経口送達後のＩＬ－６のＬｕｍｉｎｅｘアレイを示す。図４０Ｂは、ＩＬ－１０送達構築物投薬溶液の経口送達後のＩＬ－２３のＬｕｍｉｎｅｘアレイを示す。

【０１２０】

【図４１－１】図４１Ａ～４１Ｊは、示された処置後の、ＭＳＤ炎症促進性パネル１を使用した、血漿試料中の１０種のサイトカインの濃度を示す。図４１Ａは、ＩＦＮγの血漿濃度を示す。図４１Ｂは、ＩＬ－１０の血漿濃度を示す。図４１Ｃは、ＩＬ－１２ｐ７０の血漿濃度を示す。図４１Ｄは、ＩＬ－１βの血漿濃度を示す。図４１Ｅは、ＩＬ－２の血漿濃度を示す。図４１Ｆは、ＩＬ－４の血漿濃度を示す。図４１Ｇは、ＩＬ－５の血漿濃度を示す。図４１Ｈは、ＩＬ－６の血漿濃度を示す。図４１Ｉは、ＫＣ／ＧＲＯの血漿濃度を示す。図４１Ｊは、ＴＮＦ－αの血漿濃度を示す。

【図４１－２】同上。

【０１２１】

【図４２】図４２は、オキサゾロン誘導性炎症性大腸炎後のマウスにおける、体重におけるパーセンテージ変化に対する配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の影響を示す。

【０１２２】

【図４３】図４３は、オキサゾロン誘導性炎症性大腸炎後のマウスにおける、パーセンテージ生存に対する配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の影響を示す。死亡率を、オキサゾロン侵襲の前および後に、マウスにおいて毎日記録した。データは、パーセンテージ生存として表される。

【０１２３】

【図４４】図４４は、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、疾患重症度に対する配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の影響を示す。疾患活動性インデックス（ＤＡＩ）を、オキサゾロン侵襲後の糞便の硬さおよびヘモカルト陽性度によってスコアリングした。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【０１２４】

【図４５】図４５は、オキサゾロン誘導性結腸炎症後のマウスにおける、結腸の重量／長さ比に対する配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の影響を示す。結腸の重量および長さを、オキサゾロン侵襲の７日後に測定した。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【０１２５】

【図４６】図４６は、マウスにおけるオキサゾロン誘導性結腸炎症後の近位、中間および遠位結腸の組織病理学を示す。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【０１２６】

【図４７－１】図４７Ａ～４７ＬＬは、マウスにおける循環サイトカイン、ケモカインおよび増殖因子の全身濃度を示す。循環サイトカインの血漿濃度を、Ｌｕｍｉｎｅｘビーズアレイを使用して分析した。データは、平均±ＳＥＭとして表される。図４７Ａは、ＧＣＳＦ／ＣＳＦ３の全身濃度を示す。図４７Ｂは、ＧＭＣＳＦの全身濃度を示す。図４７Ｃは、ＭＣＳＦの全身濃度を示す。図４７Ｄは、ＶＥＧＦの全身濃度を示す。図４７Ｅは、ＬＩＦの全身濃度を示す。図４７Ｆは、エキソタキシン（Ｅｘｏｔａｘｉｎ）の全身濃度

を示す。図４７Ｇは、ＧＲＯＡの全身濃度を示す。図４７Ｈは、ＩＰ１０の全身濃度を示す。図４７Ｉは、ＬＩＸの全身濃度を示す。図４７Ｊは、ＭＣＰ１の全身濃度を示す。図４７Ｋは、ＭＣＰ３の全身濃度を示す。図４７Ｌは、ＭＩＰ１αの全身濃度を示す。図４７Ｍは、ＭＩＰ１βの全身濃度を示す。図４７Ｎは、ＭＩＰ２の全身濃度を示す。図４７Ｏは、ＲＡＮＴＥＳの全身濃度を示す。図４７Ｐは、ＩＬ－１αの全身濃度を示す。図４７Ｑは、ＩＬ－１βの全身濃度を示す。図４７Ｒは、ＩＬ－２の全身濃度を示す。図４７Ｓは、ＩＬ－３の全身濃度を示す。図４７Ｔは、ＩＬ－４の全身濃度を示す。図４７Ｕは、ＩＬ－５の全身濃度を示す。図４７Ｖは、ＩＬ－６の全身濃度を示す。図４７Ｗは、ＩＬ－９の全身濃度を示す。図４７Ｘは、ＩＬ－１２ｐ７０の全身濃度を示す。図４７Ｙは、ＩＬ－１３の全身濃度を示す。図４７Ｚは、ＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒの全身濃度を示す。図４７ＡＡは、ＩＬ－１７Ａの全身濃度を示す。図４７ＢＢは、ＩＬ－１８の全身濃度を示す。図４７ＣＣは、ＩＬ－２３の全身濃度を示す。図４７ＤＤは、ＩＬ－２７の全身濃度を示す。図４７ＥＥは、ＩＬ－２８の全身濃度を示す。図４７ＦＦは、ＩＬ－３１の全身濃度を示す。図４７ＧＧは、ＩＦＮ－αの全身濃度を示す。図４７ＨＨは、ＩＦＮ－γの全身濃度を示す。図４７ＩＩは、ＴＮＦ－αの全身濃度を示す。図４７ＪＪは、ＩＬ－１０の全身濃度を示す。図４７ＫＫは、ＩＬ－２２の全身濃度を示す。図４７ＬＬは、ＴＧＦ－βの全身濃度を示す。

【図４７－２】同上。

【図４７－３】同上。

【０１２７】

【図４８－１】図４８Ａ～４８Ｊは、Ｖ－ＰＬＥＸ炎症促進性パネルを使用した、血漿試料中の１０種のサイトカインの濃度を示す。図４８Ａは、ＩＦＮγの血漿濃度を示す。図４８Ｂは、ＩＬ－１０の血漿濃度を示す。図４８Ｃは、ＩＬ－１２ｐ７０の血漿濃度を示す。図４８Ｄは、ＩＬ－１βの血漿濃度を示す。図４８Ｅは、ＩＬ－２の血漿濃度を示す。図４８Ｆは、ＩＬ－４の血漿濃度を示す。図４８Ｇは、ＩＬ－５の血漿濃度を示す。図４８Ｈは、ＩＬ－６の血漿濃度を示す。図４８Ｉは、ＫＣ／ＧＲＯの血漿濃度を示す。図４８Ｊは、ＴＮＦ－αの血漿濃度を示す。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【図４８－２】同上。

【０１２８】

【図４９－１】図４９Ａ～４９Ｄは、オキサゾロン誘導性炎症性大腸炎後のマウスにおける全身および結腸ＩＬ－１Ｒａ発現を示す。図４９Ａは、ＩＬ－１Ｒａの全身血漿濃度を示す。図４９Ｂは、ナイーブ、ビヒクルおよび９ｍｇ／ｋｇのＩＬ－１０送達構築物で処置したマウスの結腸組織におけるＩＬ－１Ｒａの遺伝子発現を示す。図４９Ｃは、ナイーブ、ビヒクルおよび９ｍｇ／ｋｇの配列番号５のＩＬ－１０送達構築物で処置したマウスの結腸組織におけるＩＬ－１βの遺伝子発現を示す。図４９Ｄは、ＩＬ－１Ｒａ／ＩＬ－１β比を示す。ｍＲＮＡ転写物レベルを、ＧＡＰＤＨに対して標準化した。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【図４９－２】同上。

【０１２９】

【図５０－１】図５０Ａは、大腸炎のデキストラン硫酸ナトリウム（ＤＳＳ）誘導および下向きの矢印によって指定された日における１００ｍＬのＰＢＳ中に溶解された配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の連日経口胃管栄養による処置（指定された通り）のタイムラインを示す。

【０１３０】

【図５０－２】図５０Ｂは、研究の生存中部分の間のＤＳＳ誘導性の重量減少を示す。

【０１３１】

【図５０－３】図５０Ｃは、ＤＳＳ誘導性大腸炎後の体重に対する配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の影響を示す。ＤＳＳ誘導性炎症後の、ベースラインからのパーセンテージ変化として示される体重。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【０１３２】

【図５１】図５１は、ＤＳＳ誘導性大腸炎後の疾患活動性インデックス（ＤＡＩ）に対する配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の影響を示す。重量減少、便の硬さおよび便のヘモカルトについての個々のスコア（０～３とスコアされる）を合計して、ＤＳＳ誘導性炎症に応答したＤＡＩ（０～９の範囲）を提供した。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【０１３３】

【図５２－１】図５２Ａ～Ｂは、ＤＳＳ誘導性大腸炎後の結腸の長さ（図５２Ａ）および重量（図５２Ｂ）に対する配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の影響を示す。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【図５２－２】同上。

【０１３４】

【図５３】図５３は、ＤＳＳ誘導性大腸炎後の合計された組織学パラメーター（炎症、腺消失、びらんおよび過形成）に対する配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の影響を示す。データは、平均±ＳＥＭとして表される。＊＊＊＊ｐ＜０．０００１、＊ｐ＜０．０５。

【０１３５】

【図５４】図５４は、ＤＳＳ誘導性大腸炎後の浮腫幅に対する配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の影響を示す。データは、平均±ＳＥＭとして表される。＊＊＊＊ｐ＜０．０００１、＊＊ｐ＜０．０１、＊ｐ＜０．０５。

【０１３６】

【図５５】図５５は、ＤＳＳ誘導性大腸炎後の結腸粘膜厚さに対する配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の影響を示す。データは、平均±ＳＥＭとして表される。＊＊＊＊ｐ＜０．０００１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊ｐ＜０．０１、＊ｐ＜０．０５。

【０１３７】

【図５６】図５６は、ＤＳＳ誘導性大腸炎後の結腸過形成に対する配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の影響を示す。データは、平均±ＳＥＭとして表される。＊＊＊＊ｐ＜０．０００１、＊＊ｐ＜０．０１。

【０１３８】

【図５７－１】図５７Ａ～５７Ｂは、ＤＳＳ研究における可変のヒトＩＬ－１０検出およびＩＬ－１Ｒａ誘導を示す。全身濃度を、ＤＳＳ侵襲後にサンドイッチイムノアッセイによって測定した。データは、平均±ＳＥＭとして表される。図５７Ａは、抗コリックスまたは抗ＩＬ－１０検出抗体によって検出した、ＩＬ－１０送達構築物の全身濃度を示す。図５７Ｂは、ＤＳＳ侵襲後のＩＬ－１Ｒａの全身濃度を示す。

【図５７－２】同上。

【０１３９】

【図５８】図５８は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による投薬後の非ヒト霊長類（ＮＨＰ）における総ＩＬ－１０の血漿濃度を示す。ＩＬ－１０送達構築物カプセルの経口投与後にイムノアッセイによって測定した、総ＩＬ－１０の全身濃度。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【０１４０】

【図５９】図５９は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による投薬後のＮＨＰにおけるＩＬ－１Ｒａの血漿濃度を示す。ＩＬ－１０送達構築物カプセルの経口投与後にイムノアッセイによって測定した、ＩＬ－１Ｒａの全身濃度。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【０１４１】

【図６０】図６０は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による投薬後のＮＨＰにおけるカフェインの血漿濃度を示す。ＩＬ－１０送達構築物カプセルの経口投与後にイムノアッセイによって測定した、カフェインの全身濃度。データは、平均±ＳＥＭとして表される。

【０１４２】

【図６１－１】図６１Ａ～６１Ｅは、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による経口投

薬後のＮＨＰにおける選択された炎症促進性サイトカインの血漿濃度を示す。図６１Ａは、ＩＦＮγの血漿濃度を示す。図６１Ｂは、ＩＬ－１βの血漿濃度を示す。図６１Ｃは、ＩＬ－２の血漿濃度を示す。図６１Ｄは、ＩＬ－８の血漿濃度を示す。図６１Ｅは、ＩＬ－６の血漿濃度を示す。

【図６１－２】同上。

【図６１－３】同上。

【０１４３】

【図６２】図６２は、ＩＬ－１０送達構築物が、１５分の時間経過研究にわたって、腸細胞においてＬＡＭＰ１陽性リソソームとの共局在化をほとんどまたは全く示さなかったことを示す。

【０１４４】

【図６３】図６３は、ＣＤ１１ｃ含有細胞（樹状細胞）およびＩＬ－１０の免疫蛍光画像を示す。

【０１４５】

【図６４】図６４は、ＣＤ１９含有細胞（Ｂリンパ球）およびＩＬ－１０の免疫蛍光画像を示す。

【０１４６】

【図６５】図６５は、ＣＤ３４含有細胞（内皮）およびコリックスの免疫蛍光画像を示す。

【０１４７】

【図６６】図６６は、ＣＤ３含有細胞（Ｔリンパ球）およびＩＬ－１０の免疫蛍光画像を示す。

【０１４８】

【図６７】図６７は、ＧＩ粘膜下層中のＴ細胞およびマクロファージへのＩＬ－１０送達構築物の細胞標的化を示す。

【０１４９】

【図６８】図６８は、４型溶出試験装置における、ＩＬ－１０送達構築物を含む被覆されたカプセルの溶出を示す。シンボルキー：四角：ＨＰＭＣサブ被覆のみ；丸：８０分間にわたるＨＰＭＣサブ被覆プラスＥｕｄｒａｇｉｔ　５０：５０被覆；プラス印：１２０分間にわたるＨＰＭＣサブ被覆プラスＥｕｄｒａｇｉｔ　５０：５０被覆；菱形：１２０分間にわたるＨＰＭＣサブ被覆プラスＥｕｄｒａｇｉｔ　５０：５０被覆、プラス２０分間にわたるＨＰＭＣ被覆；および三角：１２０分間にわたるＨＰＭＣサブ被覆プラスＥｕｄｒａｇｉｔ　５０：５０被覆、プラス６０分間にわたるＨＰＭＣ被覆。

【０１５０】

【図６９】図６９は、４型溶出試験装置における、ＩＬ－１０送達構築物を含む被覆された錠剤の溶出を示す。

【０１５１】

【図７０】図７０は、図６８および図６９に示される全時間経過にわたる、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物（各棒の下方の区域）ならびに単量体（ＬＭＷ）および凝集体（ＨＭＷ）形態（各棒の上方の区域）のＩＬ－１０送達構築物の回収を示す。データは、ｔ＝０から測定した最後の時点までの曲線下面積を示す。左から右に、棒は、以下を示す：（１）被覆されていない錠剤；（２）８ｍｇの被覆重量の２０：８０の重量比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄを有する錠剤；（３）１３ｍｇの被覆重量の２０：８０の重量比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄを有する錠剤；（４）２０ｍｇの被覆重量の２０：８０の重量比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄを有する錠剤；（５）８ｍｇの被覆重量の５０：５０の重量比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄを有する錠剤；（６）１３ｍｇの被覆重量の５０：５０の重量比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄを有する錠剤

；（７）８ｍｇの被覆重量の５０：５０の重量比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄを有する錠剤；（８）腸溶性　－　なし；（９）腸溶性　－　８０ｍ；（１０）腸溶性　－　１２０ｍ；（１１）腸溶性１２０ｍ＋ＨＰＭＣ　６０ｍ；（１２）腸溶性１２０ｍ＋ＨＰＭＣ　２０ｍ。

【０１５２】

【図７１－１】図７１Ａ～７１Ｃは、１、３および１０ｍｇ（ｎ＝３／群）におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸投与後、イムノアッセイによって２４時間にわたって測定したある特定のマーカーの全身濃度を示す。データは、平均±ＳＥＭとして表され、統計分析は行っていない。図７１Ａは、ＩＬ－１０の全身濃度を示す。図７１Ｂは、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の全身濃度を示す。図７１Ｃは、ＩＬ－１Ｒａの全身濃度を示す。

【図７１－２】同上。

【０１５３】

【図７２】図７２は、１、３および１０ｍｇ（ｎ＝３／群）におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸投与後、イムノアッセイによって２４時間にわたって測定したＩＬ－６の全身濃度を示す。データは、平均±ＳＥＭとして表され、統計分析は行っていない。

【０１５４】

【図７３】図７３は、１、３および１０ｍｇにおけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸投与後、イムノアッセイによって２４時間にわたって測定したＩＬ－１Ｒａの濃度を示す。データは、平均±ＳＥＭとして表される；ＩＬ－１０送達構築物用量当たりのｎ：投薬前（２）、１５分（３）、３０分（３）、４５分（３）、８時間（１）および２４時間（１）；統計分析は行っていない。

【０１５５】

【図７４】図７４は、ｐＳＴＡＴ３の総ＳＴＡＴ３に対する比によって測定した、結腸組織におけるＳＴＡＴ３リン酸化を示す。リン酸化および総発現を、１、３および１０ｍｇにおけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸投与後、イムノアッセイによって４５分間にわたって測定した。データは、平均±ＳＥＭとして表される、ＩＬ－１０送達構築物用量当たりのｎ：投薬前（２）、１５分（３）、３０分（３）および４５分（３）、統計分析は行っていない。

【０１５６】

【図７５】図７５は、１、３および１０ｍｇにおけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸投与後、イムノアッセイによって２４時間にわたって測定したＩＬ－６の組織濃度を示す。データは、平均±ＳＥＭとして表される；ＩＬ－１０送達構築物用量当たりのｎ：投薬前（２）、１５分（３）、３０分（３）、４５分（３）、８時間（１）および２４時間（１）；統計分析は行っていない。

【０１５７】

【図７６】図７６は、１、３および１０ｍｇ用量におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸投与の８時間後に評価した、結腸抗炎症性遺伝子の調節を示す；１群当たりのｎ：投薬前（４）、ＩＬ－１０送達構築物の全ての用量（２）。データは平均として表される；統計分析は行っていない。各用量について、棒は、左から右に、以下について観察された倍数変化（ｆｏｌｄ　ｃｈａｎｇｅ）を示す：ＣＤ１６３、ＳＣＮＮ１Ｇ、ＳＴＣ１、ＨＧＦ、ＳＧＫ１、ＭＩＲ２４－２、ＳＣＮＮ１Ｂ、ＰＴＧＤＲ、ＭＴＮＲ１Ａ、ＡＣＥ２、ＮＯＸ１、ＢＥＳＴ２、ＶＮＮ２、ＬＴＢ４Ｒ２、Ｂ３ＧＡＬＴ５、ＡＱＰ８、ＳＬＣ９Ａ３およびＣＹＰ１Ａ１。

【０１５８】

【図７７】図７７は、１、３および１０ｍｇ用量におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸投与の８時間後に評価した、結腸炎症促進性遺伝子の調節を示す；１群当たりのｎ：投薬前（４）、ＩＬ－１０送達構築物の全ての用量（２）。データは平均として表される；統計分析は行っていない。各用量について、棒は、左から右に、以下を示す

：ＭＨＣ－ＩＩ、ＨＰＧＤＳ、ＦＣＥＲ１Ａ、ＰＬＡ２Ｇ２Ｄ、ＣＣＬ１３、ＦＵＴ３、ＣＣＬ２８、ＵＧＴ１Ａ１、ＣＣＬ２０、ＮＬＲＰ１およびＴＰＨ。

【０１５９】

【図７８】図７８は、１、３および１０ｍｇ用量におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸投与の８時間後に評価した結腸炎症促進性遺伝子の調節を示す；１群当たりのｎ：投薬前（４）、ＩＬ－１０送達構築物の全ての用量（２）。データは、標的１つ当たり２～３つのプローブの平均として表される；統計分析は行っていない。各用量について、棒は、左から右に、以下を示す：ＭＭＰ１９、ＬＩＰＧ、ＭＭＰ１、ＣＨＩ３Ｌ１、ＭＭＰ３、ＬＡＭＣ２、Ｓ１００Ａ８、ＣＸＣＬ１、ＦＩＧＦ、ＰＣＳＫ１、ＣＡＳＰ５、ＣＸＣＬ２およびＣＨＧＢ。

【０１６０】

【図７９】図７９は、１、３および１０ｍｇ用量におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸投与の８時間後に評価した結腸組織修復遺伝子の調節を示す；１群当たりのｎ：投薬前（４）、ＩＬ－１０送達構築物の全ての用量（２）。データは平均として表される；統計分析は行っていない。各用量について、棒は、左から右に、以下を示す：ＳＣＮＮ１Ｇ、ＳＴＣ１、ＴＩＭＰ１、ＳＣＮＮ１Ｂ、ＢＥＳＴ２、Ｂ３ＧＡＬＴ５、ＡＱＰ８およびＳＬＣ９Ａ３。

【０１６１】

【図８０】図８０は、１、３および１０ｍｇ用量におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸投与の８時間後に評価した結腸抗微生物遺伝子の調節を示す；１群当たりのｎ：投薬前（４）、ＩＬ－１０送達構築物の全ての用量（２）。データは平均として表される；統計分析は行っていない。各用量について、棒は、左から右に、以下を示す：ＰＩ１５、ＰＩ３、ＢＤＫＲＢ１、ＣＣＩ２８およびＳＥＲＰＩＮＥ２。

【０１６２】

【図８１】図８１Ａ～８１Ｃは、マウス結腸の切片のヘマトキシリンおよびエオシン染色を示す。図８１Ａは、ナイーブ結腸の切片であり、図８１Ｂは、オキサゾロンで処置したマウスの結腸からの切片であり、図８１Ｃは、オキサゾロンおよび８．５ｍｇ／ｋｇのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）で処置したマウスからの結腸の切片である。

【０１６３】

【図８２－１】図８２Ａ～８２Ｇは、経口ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による処置の際の炎症マーカーの発現を示す。図８２Ａは、ＩＬ－４の発現を示す。図８２Ｂは、ＩＬ－６の発現を示す。図８２Ｃは、ＩＬ－１βの発現を示す。図８２Ｄは、ＩＬ－１７Ａの発現を示す。図８２Ｅは、ＩＬ－１０の発現を示す。図８２Ｆは、ＭＩＰ１αの発現を示す。図８２Ｇは、ＧＣＳＦ／ＣＳＦ３の発現を示す。＊ｐ＜０．０５；チューキー事後テストと共に一元配置ＡＮＯＶＡ。

【図８２－２】同上。

【図８２－３】同上。

【図８２－４】同上。

【０１６４】

【図８３－１】図８３Ａは、等モル量のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５；１ｍｇ／ｋｇ）または組換えヒトＩＬ－１０（０．９ｍｇ／ｋｇ）のいずれかによる処置後の、ｐＳＴＡＴ３の総ＳＴＡＴ３に対する比を示す。

【０１６５】

【図８３－２】図８３Ｂは、等モル量のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５；１０ｍｇ／ｋｇ）または組換えヒトＩＬ－１０（３ｍｇ／ｋｇ）のいずれかによる処置後の、全身ＩＬ－１Ｒａのレベルを示す。

【０１６６】

【図８４】図８４は、ＩＬ－１０送達構築物による処置の際のＩＬ－１Ｒａの全身発現を示す（用量は、ｘ軸上にｍｇ／ｋｇで示される）。

【０１６７】

【図８５－１】図８５Ａは、ｑＰＣＲによって測定し、ナイーブマウスにおける発現レベルに対して標準化した、ビヒクルまたは９ｍｇ／ｋｇのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）で処置したマウスにおけるＩＬ－１Ｒａの結腸発現を示す。

【０１６８】

図８５Ｂは、ｑＰＣＲによって測定し、ナイーブマウスにおける発現レベルに対して標準化した、ビヒクルまたは９ｍｇ／ｋｇのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）で処置したマウスにおけるＩＬ－１βの結腸発現を示す。

【０１６９】

【図８５－２】図８５Ｃは、図８５ＡおよびＢにおけるＩＬ－１ＲａのＩＬ－１βに対する比を示す。

【０１７０】

【図８６】図８６は、結腸組織におけるリン酸化されたＳＴＡＴ３（ｐＳＴＡＴ３）の総ＳＴＡＴ３に対する比に対する、ＩＬ－１０送達構築物による処置の影響を示す。

【０１７１】

【図８７】図８７は、示された用量のＩＬ－１０送達構築物を結腸Ｓ状結腸鏡検査によって投与したＭａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓサル（約５～約８ｋｇ）における、炎症促進マーカーの発現を示す。

【０１７２】

【図８８】図８８は、示された用量のＩＬ－１０送達構築物を結腸Ｓ状結腸鏡検査によって投与したＭａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓサル（約５～約８ｋｇ）における、抗炎症マーカーの発現を示す。

【０１７３】

【図８９】図８９は、示された用量のＩＬ－１０送達構築物を結腸Ｓ状結腸鏡検査によって投与したＭａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓサル（約５～約８ｋｇ）における、組織修復および創傷治癒に関連するバイオマーカーの発現を示す。

【０１７４】

【図９０－１】図９０Ａ～９０Ｂは、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の投与後の、非ヒト霊長類におけるＰＫおよびＰＤ測定値を示す。図９０Ａは、Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓサルにおける示された用量のＩＬ－１０送達構築物の経口（ＰＯ、Ｎ＝６）、皮下（ＳＣ、Ｎ＝３）または静脈内（ＩＶ、Ｎ＝３）送達後の、ＩＬ－１０の全身濃度を示す。図９０Ｂは、Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓサルにおける示された用量のＩＬ－１０送達構築物の経口（ＰＯ、Ｎ＝６）、皮下（ＳＣ、Ｎ＝３）または静脈内（ＩＶ、Ｎ＝３）送達後の、ＩＬ－１Ｒａの全身濃度を示す。

【図９０－２】同上。

【０１７５】

【図９１】図９１は、Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓサルにおける示された用量のＩＬ－１０送達構築物の経口（ＰＯ、Ｎ＝６）、皮下（ＳＣ、Ｎ＝３）または静脈内（ＩＶ、Ｎ＝３）送達後の、ＩＬ－１ＲａのＩＬ－１０に対する比（平均ＡＵＣの比）を示す。

【０１７６】

【図９２】図９２は、界面活性剤ありおよびなしの両方の、ボルテックスの前および後のＩＬ－１０送達構築物を含む溶液の濁度を示す。

【０１７７】

【図９３】図９３は、ボルテックス前のＳＥＣ－ＨＰＬＣクロマトグラムを示す。

【０１７８】

【図９４】図９４は、ボルテックス後のＳＥＣ－ＨＰＬＣクロマトグラムを示す。

【０１７９】

【図９５】図９５は、種々の異なる構成成分と共に圧縮成形した場合の、ＰＢＳ中でのＩＬ－１０送達構築物の安定性を示す。試料を、Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆバイアル中で０．３ｍｇ／ｍＬのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）でＰＢＳ中に復元し、ロティサリーシェ

イカー上に３７℃で５時間据え付けた。試料を、ＳＥＣによる分析のために定期的に採取した。

【０１８０】

【図９６】図９６は、溶液中でのＩＬ－１０送達構築物／賦形剤適合性を示す。

【０１８１】

【図９７】図９７は、種々の滑沢剤賦形剤とＩＬ－１０送達構築物との適合性を示す。

【０１８２】

【図９８】図９８は、４型溶出試験装置におけるＥｕｄｒａｇｉｔ被覆された錠剤（５０／５０　Ｌ３０Ｄ５５／ＦＳ３０Ｄ）からのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体放出を示す。

【０１８３】

【図９９】図９９は、４型溶出試験装置におけるＥｕｄｒａｇｉｔ被覆された錠剤（２０／８０　Ｌ３０Ｄ５５／ＦＳ３０Ｄ）からのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体放出を示す。

【０１８４】

【図１００】図１００は、ＨＰＭＣ－ＡＳ被覆された錠剤の溶出を示す（４型試験装置）。溶出は、０．１Ｎ　ＨＣＬ溶液で４０分間で開始し、その後、媒体を、ｐＨ７．０リン酸緩衝液に切り替えた。

【０１８５】

【図１０１】図１０１は、ＨＰＭＣ－ＡＳ被覆されたカプセルからのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）放出を示す（４型試験装置）。

【０１８６】

【図１０２】図１０２は、４型溶出試験装置でのＨＰＭＣ－ＡＳ被覆されたＦ３錠剤の溶出を示す。

【０１８７】

【図１０３】図１０３は、２型溶出試験装置でのＨＰＭＣ－ＡＳ被覆されたＦ３錠剤の溶出を示す。

【０１８８】

【図１０４－１】図１０４Ａ～１０４Ｃは、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の経口または静脈内送達後の、種々のタンパク質（例えば、バイオマーカー）の血漿濃度を示す。図１０４Ａは、ＩＬ－１０の血漿濃度を示す。図１０４Ｂは、ＩＬ－１Ｒａの血漿濃度を示す。図１０４Ｃは、ＩＦＮ－γの濃度を示す。

【図１０４－２】同上。

【図１０４－３】同上。

【０１８９】

【図１０５－１】図１０５Ａ～１０５Ｄは、非ヒト霊長類（ＮＨＰ）におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸送達後の、種々のバイオマーカーの全身または結腸組織濃度を示す。図１０５Ａは、ＩＬ－１０の全身濃度を示す。図１０５Ｂは、ＩＬ－１Ｒａの全身濃度を示す。図１０５Ｃは、結腸組織中のＩＬ－１０の濃度を示す。図１０５Ｄは、結腸組織中のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の濃度を示す。

【図１０５－２】同上。

【図１０５－３】同上。

【０１９０】

【図１０６－１】図１０６Ａ～１０６Ｄは、ＰＢＳ、ｒｈＩＬ－１０（１５９ｐモル）またはＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）（１５９ｐモル）の腔内注射の１０分内および４０分内の、正常および炎症を生じた腸組織（近位、中間および遠位結腸）ならびに血清における、ＥＬＩＳＡによって測定したｒｈＩＬ－１０レベルを示す。図１０６Ａは、ＰＢＳ、ｒｈＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の腔内注射の１０分後の、正常腸組織におけるｒｈＩＬ－１０レベルを示す。図１０６Ｂは、ＰＢＳ、ｒｈＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の腔内注射の１０分後の、炎症を生じ

た腸組織におけるｒｈＩＬ－１０レベルを示す。図１０６Ｃは、ＰＢＳ、ｒｈＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の腔内注射の４０分後の、正常腸組織におけるｒｈＩＬ－１０レベルを示す。図１０６Ｄは、ＰＢＳ、ｒｈＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の腔内注射の４０分後の、炎症を生じた腸組織におけるｒｈＩＬ－１０レベルを示す。

【図１０６－２】同上。

【０１９１】

【図１０７】図１０７は、Ｂａｌｂ／ＣマウスのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の腔内注射後のｒｈＩＬ－１０およびｐＳＴＡＴ３の組織局在化を示す。

【０１９２】

【図１０８】図１０８は、Ｂａｌｂ／ＣマウスのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の腔内注射後のｐＳＴＡＴ誘導の時間経過分析を示す。

【０１９３】

【図１０９】図１０９は、異なるマウスモデルにおける腸上皮を横断するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）輸送の免疫蛍光画像を示す。

【０１９４】

【図１１０】図１１０は、マウス腸の粘膜固有層に沿ったｐＳＴＡＴ３活性を示す。

【０１９５】

【図１１１】図１１１は、６つの用量（１ｍｇ、３ｍｇ、１０ｍｇ、３０ｍｇ、６０ｍｇ、１２０ｍｇ）における単一用量のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）またはプラセボ後のＩＬ－１Ｒａ発現を示す。

【０１９６】

【図１１２】図１１２は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の第１ｂ相試験における複数の漸増用量（ＭＡＤ）増大を示す。

【０１９７】

【図１１３】図１１３は、ベースラインＦＣＰ＞１５０μｇ／ｇを有する潰瘍性大腸炎（ＵＣ）患者における、１４日間のみのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による処置後の、ＦＣＰにおける低減を示す。

【０１９８】

【図１１４】図１１４は、ベースラインＣＲＰ＞５ｍｇ／Ｌを有するＵＣ患者における、１４日間のみのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による処置後の、全身循環中のＣＲＰにおける低減を示す。

【０１９９】

【図１１５】図１１５は、１４日間のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による処置にわたる、Ｇｅｂｏｅｓスコアにおける低減を示す。

【０２００】

【図１１６】図１１６は、１０ｍｇのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を投薬した第１ｂ相試験におけるＵＣ患者からの、投薬前（パネルＡ）および処置後（パネルＢ）組織学的画像を示し、ここで、Ｇｅｂｏｅｓスコアは、２２点のスケールを使用して、１５のスコアから３のスコアまで改善され、スコアが高いほど重症度が高い疾患活動性を示す。

【０２０１】

【図１１７－１】図１１７Ａ～１１７Ｃは、ラット空腸への、配列番号５に記載の配列を有する送達構築物の管腔適用後の種々の時点における、Ｗｉｓｔａｒラットにおける極性化腸上皮細胞を横断するＩＬ－１０のトランスサイトーシスを実証する顕微鏡画像を示す。緑色の蛍光は、ＩＬ－１０の存在を示す（抗ＩＬ－１０抗体による染色を介して）。青色の蛍光は、ＤＮＡを標識するＤＡＰＩ染色を示し、赤色の蛍光は、コリックス由来担体がトランスサイトーシスの間に（例えば、上皮細胞の核上領域中に）一緒に共局在化し得るＣＫ－８（サイトケラチン－８）の存在を示す。白色の矢印番号１は、上皮細胞の頂端膜を強調し、白色の矢印番号２は、上皮細胞の基底膜を強調し、白色の矢印番号３は、粘膜固有層中のＩＬ－１０の存在を示す。図１１７Ａは、ラット空腸への、配列番号５に記

載の配列を有する送達構築物の管腔適用の１分後の、ＩＬ－１０のトランスサイトーシスの程度を実証する。図１１７Ｂは、ラット空腸への、配列番号５に記載の配列を有する送達構築物の管腔適用の５分後の、ＩＬ－１０のトランスサイトーシスの程度を実証する。図１１７Ｃは、ラット空腸への、配列番号５に記載の配列を有する送達構築物の管腔適用の１０分後の、ＩＬ－１０のトランスサイトーシスの程度を実証する。

【図１１７－２】同上。

【０２０２】

【図１１８】図１１８は、コンフルエントな極性化したヒトＳＭＩ－１００単層の腸モデルシステムの結果を示す。抗ｈＩＬ－１０ウエスタンブロットは、それぞれのトランスウェルの基底区画（レーン４、ＩＬ－１０送達構築物、基底、ｔ＝２時間、およびレーン５、ｈＩＬ－１０、基底、ｔ＝２時間）に移動するＩＬ－１０送達構築物（レーン２、頂端、ｔ＝０時間）または市販のｈＩＬ－１０（レーン３、頂端、ｔ＝０時間）の等モル適用の程度を検出する。単一のウエスタンブロットからのレーンを接ぎ合わせて比較を容易にし、黒色の線によって示す。

【０２０３】

【図１１９】図１１９は、６時間後の、ＩＬ－１０送達構築物またはｈＩＬ－１０によって誘導された、Ｕ２ＯＳ骨肉腫細胞中に操作されたＩＬ－１０ＡおよびＩＬ－１０Ｂ受容体の二量体化を示す。

【０２０４】

【図１２０】図１２０は、２０分間の刺激後の、マウスマクロファージ様細胞系Ｊ７７４．２における、総ＳＴＡＴ３含量と比較したＳＴＡＴ３リン酸化の誘導を示す。データは、類似の結果を有する複数の研究の代表である。

【０２０５】

【図１２１】図１２１は、ＬＰＳ誘導性ＴＮＦａ分泌に対するＩＬ－１０の抑制効果を示す、健康なドナーから得られたゲートした生ＣＤ４５＋ＣＤ１４＋単球（ＰＢＭＣ）のフローサイトメトリー分析を示す；ダネット事後検定と共に二元配置ＡＮＯＶＡによって分析した、平均±ＳＥＭ（ｎ＝３）としての平均蛍光強度（ＭＦＩ）のデータ。０ｐＭの濃度値と比較した場合、．ｐ＜０．５、．．ｐ＜０．０１、”．ｐ＜０．００１、’．．．ｐ＜０．０００１。

【０２０６】

【図１２２】図１２２は、ＬＰＳ誘導性ＩＬ－６分泌に対するＩＬ－１０の抑制効果を示す、健康なドナーから得られたゲートした生ＣＤ４５＋ＣＤ１４＋単球（ＰＢＭＣ）のフローサイトメトリー分析を示す；ダネット事後検定と共に二元配置ＡＮＯＶＡによって分析した、平均±ＳＥＭ（ｎ＝３）としての平均蛍光強度（ＭＦＩ）のデータ。０ｐＭの濃度値と比較した場合、．ｐ＜０．５、．．ｐ＜０．０１、”．ｐ＜０．００１、’．．．ｐ＜０．０００１。

【０２０７】

【図１２３】図１２３は、ＬＰＳ誘導性のＨＬＡ－ＤＲの表面発現に対するＩＬ－１０の抑制効果を示す、健康なドナーから得られたゲートした生ＣＤ４５＋ＣＤ１４＋単球（ＰＢＭＣ）のフローサイトメトリー分析を示す；ダネット事後検定と共に二元配置ＡＮＯＶＡによって分析した、平均±ＳＥＭ（ｎ＝３）としての平均蛍光強度（ＭＦＩ）のデータ。０ｐＭの濃度値と比較した場合、．ｐ＜０．５、．．ｐ＜０．０１、”．ｐ＜０．００１、’．．．ｐ＜０．０００１。

【０２０８】

【図１２４】図１２４は、ＰＢＳを経口胃管栄養したＢＡＬＢ／ｃマウスにおけるオキサゾロン誘導性大腸炎を示す。単一チャネル画像を捕捉し、核（青色）、ＩＬ－１０（緑色）およびｐＳＴＡＴ３（赤色）を有する合成画像へとマージさせた。

【０２０９】

【図１２５】図１２５は、ｈＩＬ－１０を経口胃管栄養したＢＡＬＢ／ｃマウスにおけるオキサゾロン誘導性大腸炎を示す。単一チャネル画像を捕捉し、核（青色）、ＩＬ－１０

（緑色）およびｐＳＴＡＴ３（赤色）を有する合成画像へとマージさせた。
【０２１０】
【図１２６】図１２６は、ＩＬ－１０送達構築物を経口胃管栄養したＢＡＬＢ／ｃマウスにおけるオキサゾロン誘導性大腸炎を示す。単一チャネル画像を捕捉し、核（青色）、ＩＬ－１０（緑色）およびｐＳＴＡＴ３（赤色）を有する合成画像へとマージさせた。
【０２１１】
【図１２７】図１２７は、小腸組織セグメンテーション中のｐＳＴＡＴ３を発現する細胞のパーセントを示す。
【０２１２】
【図１２８】図１２８は、炎症Ｔ細胞移入モデルにおける示された腸組織および血清に対する、腔内注射後の、ＰＢＳ、ＩＬ－１０およびＩＬ－１０送達構築物によるｈＩＬ－１０　ＥＬＩＳＡ実行の結果を示す。
【０２１３】
【図１２９】図１２９は、粘膜固有層の細胞内でのそれらの同時の輸送および保持を実証する、ＩＬ－１０送達構築物のコリックス由来担体（赤色）およびｈＩＬ－１０（緑色）エレメントの共局在化を示す。ラット空腸の免疫蛍光顕微鏡画像を、ＰＢＳ中に約４０ｕＭで調製したＩＬ－１０送達構築物の５０ｕＬ腔内注射後に得た。図１２９～１３３について：矢印＝頂端（管腔）上皮膜；破線＝上皮細胞－基底膜境界；ｌ－ｐ＝粘膜固有層；Ｇ＝杯細胞。ＤＡＰＩ（青色）で染色した細胞核。
【０２１４】
【図１３０】図１３０は、前者については頂端優先傾向、後者については基底優先傾向を実証する、ＩＬ－１０送達構築物のｈＩＬ－１０（緑色）エレメントおよびＲａｂ７（赤色）の染色を示す。
【０２１５】
【図１３１】図１３１は、前者については頂端優先傾向、後者については基底優先傾向を実証する、ＩＬ－１０送達構築物のｈＩＬ－１０（緑色）エレメントおよびＲａｂ１１（赤色）の染色を示す。
【０２１６】
【図１３２】図１３２は、ラット空腸中へのＩＬ－１０送達構築物の腔内注射後の時間経過での、粘膜固有層の細胞内ではなく、腸細胞内での、ＬＭＡＮ１の再編成およびＩＬ－１０送達構築物との共局在化を示す。
【０２１７】
【図１３３】図１３３は、ラット空腸中へのＩＬ－１０送達構築物の腔内注射後の時間経過での、腸細胞内にＬＡＭＰ１の再分布も共局在化もないことを示すが、粘膜固有層の細胞内では広範な共局在化を示す。
【０２１８】
【図１３４】図１３４は、マウス腸組織におけるＴ細胞（ＣＤＣ３＋）およびｐＳＴＡＴ３＋細胞の局在化を示す。ｐＳＴＡＴ３＋ＣＤＣ３＋細胞は、白色の矢印によって示される。
【０２１９】
【図１３５】図１３５は、マウス腸組織におけるマクロファージ（Ｆ４／８０＋）およびｐＳＴＡＴ３＋細胞の局在化を示す。ｐＳＴＡＴ３＋Ｆ４／８０＋細胞は、黄色の矢印によって示される。
【０２２０】
【図１３６】図１３６は、図１３５のエリアのより高倍率の拡大図を示す。ｐＳＴＡＴ３＋Ｆ４／８０＋細胞は、黄色の矢印によって示される。
【０２２１】
【図１３７】図１３７は、ｐＳＴＡＴ３＋Ｆ４／８０＋腸細胞のさらなる画像を示す。
【０２２２】
【図１３８】図１３８は、ｐＳＴＡＴ３＋Ｆ４／８０＋結腸細胞の画像を示す。

【０２２３】
【図１３９】図１３９は、１０ｍｇ／ｋｇのＩＬ－１０送達構築物の経口胃管栄養後の時間経過にわたる、マウス血清におけるｈＩＬ－１０の濃度を示す。
【０２２４】
【図１４０】図１４０は、１０ｍｇ／ｋｇのＩＬ－１０送達構築物の経口胃管栄養後の時間経過にわたる、マウス遠位小腸組織におけるｈＩＬ－１０の濃度を示す。
【０２２５】
【図１４１】図１４１は、１０ｍｇ／ｋｇのＩＬ－１０送達構築物の経口胃管栄養後の時間経過にわたる、マウス結腸腸組織における、ｈＩＬ－１０の濃度を示す。
【０２２６】
【図１４２】図１４２は、１０ｍｇ／ｋｇのＩＬ－１０送達構築物の経口胃管栄養後の時間経過にわたる、マウス血清におけるＩＬ－１Ｒａの濃度を示す。
【０２２７】
【図１４３】図１４３は、示された用量のＩＬ－１０送達構築物による結腸内噴霧後の、結腸組織のスニップ生検におけるＩＬ－１０送達構築物の濃度を示す。
【０２２８】
【図１４４】図１４４は、示された用量のＩＬ－１０送達構築物による結腸内噴霧後の、結腸組織のスニップ生検におけるＩＬ－１０の濃度を示す。
【０２２９】
【図１４５】図１４５は、示された用量のＩＬ－１０送達構築物による結腸内噴霧後の、ＩＬ－１０送達構築物の血清濃度を示す。
【０２３０】
【図１４６】図１４６は、示された用量のＩＬ－１０送達構築物による結腸内噴霧後の、ＩＬ－１０の血清濃度を示す。
【０２３１】
【図１４７】図１４７は、示された用量のＩＬ－１０送達構築物による結腸内噴霧後の、ＩＬ－１Ｒａの血清濃度を示す。
【０２３２】
【図１４８】図１４８は、示された用量のＩＬ－１０送達構築物による結腸内噴霧後の、総ＳＴＡＴ３と比較したｐＳＴＡＴ３の比を示す。
【０２３３】
【図１４９】図１４９は、配列番号５のＩＬ－１０送達構築物のヒトＩＬ－１０（ｈＩＬ－１０）構成成分（レーン２）ならびに単量体形態（矢印）および二量体形態（二重矢印）を示す市販のｒｈＩＬ－１０（レーン３）についてプローブしたウエスタンブロットを示す。レーン１は、分子量標準を含む。
【０２３４】
【図１５０】図１５０は、配列番号５のＩＬ－１０送達構築物に対する、逆相クロマトグラフィーとその後の質量分析の結果を示す。二量体形態および単量体形態の両方に対応する質量が観察された。
【発明を実施するための形態】
【０２３５】
本開示の詳細な説明
ＩＬ－１０は、感染症または炎症に起因する組織への損傷を抑えることができる抗炎症性サイトカインであり、そのためＩＬ－１０は治療用薬物開発にとって魅力的なタンパク質である。ＩＬ－１０送達構築物と本明細書で呼ばれる、ＩＬ－１０と担体とを含む融合タンパク質を、錠剤またはカプセル剤などの経口投与に好適な形態に製剤化することができる。さらに、これらの錠剤またはカプセル剤を、ＩＬ－１０送達構築物二量体の構造的完全性を実質的に維持するような方法で製剤化することができる。加えて、これらの経口製剤の周囲の腸溶被覆は、ＩＬ－１０送達構築物の独特な溶出プロファイルの一因となり得る。このような経口製剤の個体への投与は、個体における独特な薬力学的（ＰＤ）およ

び薬物動態学的（ＰＫ）応答により特徴付けられ得る。

【０２３６】

ＩＬ－１０は、炎症の全身徴候および調節性Ｔ細胞の発生を低減させつつ、インフラマソームばかりでなく、マクロファージの活性化およびＩＬ－１、ＩＬ－６、ＴＮＦアルファ、ＭＭＰ－１／２の分泌をはじめとする疾患に関連して見出される多くの炎症事象も阻害すると考えられるので、自然および適応免疫系のマスター調節因子とみなされている。ＴＮＦアルファ阻害剤とともに使用することができる併用療法が必要である。ＴＮＦアルファ阻害剤に加えてＩＬ－１０送達構築物を提供することは、効果的であり得、患者のより良い転帰を実現し得る。

【０２３７】

以下の用語は、当業者によるこれらの用語の理解に加えて、本明細書で使用される場合の用語の意味を説明するために論じられる。本明細書でおよび添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「１つの（ａ）」、「１つの（ａｎ）」および「その（ｔｈｅ）」は、文脈による別段の明白な指図がない限り、複数の指示対象を含む。特許請求の範囲は、任意の必要に応じた要素を除外するように起草され得ることにさらに留意されたい。しかるが故に、この記述は、請求項の構成要素の記載に関する「だけに」、「のみに」などのような排他的用語の使用または「否定的」限定の使用についての先行詞として役立つことを意図したものである。

【０２３８】

ある特定の範囲または数は、本明細書では数値の前に用語「約」を付けて提示される。用語「約」は、用語が指す数のプラスまたはマイナス１％、２％、３％、４％または５％を意味するように本明細書では使用される。本明細書で使用される場合、用語「対象」および「個体」は、同義で使用され、哺乳動物（例えば、ヒトまたは非ヒト動物）を含む任意の動物であり得る。

【０２３９】

本明細書で使用される場合、用語「処置する」、「処置すること」または「処置」、および他の文法的等価表現は、疾患もしくは状態の１つもしくは複数の症状を軽減、寛解もしくは和らげること、疾患もしくは状態の１つもしくは複数のさらなる症状の出現、重症度もしくは頻度を和らげ、防止し、もしくは低下させること、疾患もしくは状態の１つもしくは複数の症状の基礎原因を和らげ、もしくは防止すること、疾患もしくは状態を抑制すること、例えば、予防的におよび／もしくは治療的に、疾患もしくは状態の発症を阻止すること、疾患もしくは状態を緩和すること、疾患もしくは状態の退行を生じさせること、疾患もしくは状態により引き起こされる状態を緩和すること、または疾患もしくは状態の症状を抑制することなどを含む。

【０２４０】

本明細書に記載される場合、アミノ酸配列または核酸配列の文脈での用語「配列同一性パーセント（％）」およびそれに関連する用語は、配列をアラインメントし、最大の配列同一性パーセントを達成するために必要に応じてギャップを導入した後の、いかなる保存的置換も配列同一性の一部と見なさない、選択配列中のアミノ酸残基または核酸残基とそれぞれ同一である候補配列中のアミノ酸残基または核酸残基のパーセンテージである。アミノ酸配列同一性パーセントまたは核酸同一性パーセントを決定することを目的とするアラインメントは、当技術分野における技能の範囲内である様々な方法で、例えば、Ｃｌｕｓｔａｌ　Ｏｍｅｇａ、ＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、ＡＬＩＧＮ－２またはＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェアなどの公開されているコンピュータソフトウェアを使用して達成することができ、好ましいアラインメントアルゴリズムはＢＬＡＳＴである。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメーターを決定することができるが、簡潔にするためにデフォルトパラメーターを使用することが好ましいだろう。

インターロイキン－１０（ＩＬ－１０）およびＩＬ－１０送達構築物

【０２４１】
本開示は、対象へのＩＬ－１０の送達のための組成物および方法を企図している。前述の通り、ＩＬ－１０は、感染症または炎症に起因する組織への損傷を抑えることができる抗炎症性サイトカインであり、そのためＩＬ－１０は治療用薬物開発にとって魅力的なタンパク質である。ヒトＩＬ－１０は、溶液中では主として、ＩＬ－１０の２つのサブユニットが非共有結合で会合しており、各サブユニットが２つの鎖内ジスルフィド結合を含有する、ホモ二量体として存在する。これらのジスルフィド結合の還元または亜硫酸分解などによる二量体構造の破壊は、サブユニットを解離させて、二量体の生物活性を欠き得る、ＩＬ－１０の単量体またはその凝集体を生じさせ得る。二量体形態のＩＬ－１０に関連する生物活性は、腫瘍壊死因子アルファ（ＴＮＦα）、インターロイキン－１β（ＩＬ－１β）、インターロイキン－１２（ＩＬ－１２）およびインターロイキン－６（ＩＬ－６）などの、炎症性サイトカインの誘導を含み得る。二量体形態のＩＬ－１０に関連する生物活性は、マクロファージ上のＴｈ１サイトカイン、ＭＨＣクラスＩＩ抗原および共刺激分子の発現の下方調節；Ｂ細胞生存、増殖および抗体産生の増進；ＮＦ－κＢ活性の遮断；ならびにＪＡＫ－ＳＴＡＴ経路の調節を含み得る。

【０２４２】
ＩＬ－１０を含む製剤であって、高度のＩＬ－１０が二量体形態で維持される製剤が、本明細書で企図される。ＩＬ－１０含有構築物のリフォールディング効率改善のためのリフォールディング溶液および方法、ならびに乾燥（例えば、凍結乾燥された）原薬中にはもちろん最終経口製剤中にも存在し得る高い二量体レベルをさらに生じさせるための後続の精製方法が、本明細書でさらに企図される。実施例３は、例示的なリフォールディングプロトコールを含有する。実施例４は、例示的な精製プロトコールを含有する。実施例５は、例示的な凍結乾燥プロトコール、ならびに凍結乾燥前および後の組成物の結果として得られる二量体含量を含有する。

【０２４３】
一部の実施形態では、ＩＬ－１０分子は、腸上皮細胞または極性化上皮細胞を横断してＩＬ－１０を送達することができる担体に連結している。これをＩＬ－１０送達構築物と呼ぶ。好ましくは、担体に連結しているＩＬ－１０は、二量体形態である。一部の事例では、二量体は、ホモ二量体である。一部の事例では、二量体は、ヘテロ二量体である。一部の事例では、ヘテロ二量体は、二量体ＩＬ－１０を形成するために、第１のＩＬ－１０単量体、および第１のＩＬ－１０単量体とは配列が異なるバリアントＩＬ－１０単量体を含み得る。ＩＬ－１０が二量体形態である場合、単一の単量体または両方の単量体のいずれかが担体に連結し得る。一実施形態では、各ＩＬ－１０は、独立して、担体に連結している。ＩＬ－１０送達構築物二量体は、図１により例示され得る。ＩＬ－１０送達構築物ホモ二量体１００は、２つのＩＬ－１０送達構築物（例えば、配列番号５）を含むことができ、各送達構築物は、スペーサー１０２により担体に接続されているＩＬ－１０　１０１を含む。担体は、結合ドメイン１０３、および転位ドメイン１０４を含むことができる。

【０２４４】
組成物中の二量体パーセントは、二量体のＩＬ－１０送達構築物の総数のパーセンテージを表すことができる。例えば、組成物がＩＬ－１０／担体融合タンパク質の３つのコピーを有し、そのうちの２つが二量体を形成する場合、送達構築物の６７％は、二量体形態であると考えることができる。

【０２４５】
ＩＬ－１０は、ヒトＩＬ－１０であり得る。ヒトＩＬ－１０は、配列番号１または配列番号２のアミノ酸配列を含み得るか、それから本質的になり得るか、またはそれからなり得る。ＩＬ－１０のバリアントは、参照配列と比較して１つまたは複数のアミノ酸置換、付加および／または欠失を有するものを含む。ＩＬ－１０のバリアントは、カニクイザルにおいて結腸内噴霧による投与後に結腸の組織または血清におけるＩＬ－１Ｒａを上方調節する能力を保持し得る。一部の事例では、ＩＬ－１０または配列番号１または配列番号

２のバリアントが、本明細書に記載の組成物および方法において企図される。ＩＬ－１０または配列番号１または配列番号２のバリアントは、それに対してまたはその断片に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列であり得る。ＩＬ－１０のバリアントは、配列番号１に対するＮ３６、Ｎ３６、Ｄ７３、Ｉ８７、Ｎ１１０、Ｎ１１５、Ｋ１１７、Ｒ１２８、Ｆ１２９およびＮ１７２のうちの１つまたは複数にアミノ酸置換を含み得る。ＩＬ－１０のバリアントは、配列番号１に対するＮ３６Ｙ、Ｎ３６Ｉ、Ｄ７３Ｖ、Ｉ８７Ｍ、Ｎ１１０Ｉ、Ｎ１１５Ｋ、Ｋ１１７Ｎ、Ｒ１２８Ｗ、Ｆ１２９ＬおよびＮ１７２Ｈなどの１つまたは複数のアミノ酸置換を含み得る。一部の場合には、ＩＬ－１０バリアントは、Ｎ３６Ｙ、Ｎ１１０Ｉ、Ｋ１１７ＮおよびＮ１７２Ｈ置換を含み得る。一部の場合には、ＩＬ－１０バリアントは、配列番号１に対するＮ３６Ｙ、Ｄ７３Ｖ、Ｉ８７Ｍ、Ｎ１１０Ｉ、Ｎ１１５ＫおよびＲ１２８Ｗを含み得る。一部の場合には、ＩＬ－１０バリアントは、配列番号１に対するＮ３６Ｉ、Ｎ１１０Ｉ、Ｋ１１７ＮおよびＦ１２９Ｌを含み得る。

【０２４６】

担体は、上皮（例えば、ヒトなどの対象の極性化腸上皮）を横断してまたはその中へ異種ペイロードを輸送することが可能である、タンパク質または別のタイプの分子であり得る。そのような輸送は、トランスサイトーシスを含み得る。トランスサイトーシスプロセスは、担体の、上皮の細胞（例えば、極性化腸上皮細胞）の頂端および／または基底面ならびに内部の１つまたは複数の受容体および／またはタンパク質との相互作用を含み得る。担体は、上皮、担体、ならびに／またはペイロードの生物学的および／もしくは治療的機能を損なうことなく、上皮を横断してＩＬ－１０などの異種ペイロードを輸送することが可能であり得る。

【０２４７】

一部の実施形態では、本明細書における担体は、内在性輸送経路を利用して、それに連結している異種ペイロードを極性化上皮細胞を横断して輸送する。そのような担体は、本明細書ではトランスサイトーシス担体と呼ばれ得る。一部の事例では、本明細書における担体は、内在性輸送経路を利用して、それに連結している異種ペイロードを極性化上皮細胞内に輸送することができる。そのような担体は、本明細書ではエンドサイトーシス担体と呼ばれ得る。エンドサイトーシス担体内には、それに連結しているペイロードを極性化上皮細胞内の特定の領域、例えば、頂端区画、核上区画または基底区画に送達する、担体があり得る。

【０２４８】

本明細書における担体のいずれも、それに連結している分子を、そのような上皮の１つまたは複数の内在性タンパク質と相互作用および／または共局在化することにより輸送することができる。１つまたは複数の内在性タンパク質は、上皮細胞内へまたはそれを横断して担体を移動させることが可能である受容体または酵素であり得る。上皮細胞の１つまたは複数の内在性タンパク質と相互作用および／または共局在化することは、上皮細胞内へのエンドサイトーシス、リソソーム破壊経路の回避、頂端区画から基底区画への輸送、および／または上皮細胞の基底膜から粘膜固有層などの粘膜下層区画へのエキソサイトーシスを含む、１つまたは複数の機能を、担体にもたらすことができる。

【０２４９】

担体は、細菌により分泌されるポリペプチドに由来し得る。そのような担体は、Ｖｉｂｒｉｏ ｃｈｏｌｅｒａｅまたはＰｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａから分泌されるポリペプチドに由来し得る。一部の実施形態では、担体は、コリックスポリペプチドである。一部の実施形態では、担体は、Ｖｉｂｒｉｏ ｃｈｏｌｅｒａｅにより分泌されるコリックスポリペプチドであるが、他の実施形態では、コリックスポリペプチドは、そのバリアントであるか、または何らかの他の種に由来する。コリックスポリペプチド（例えば、Ｖｉｂｒｉｏ ｃｈｏｌｅｒａｅから分泌されるコリックスポリペプチドまたはそのバリアント）は、例えば、表２の配列番号２０～１４６のいずれか１つの配列を含み得る。表４は、例示的な担体を、そのような担体の様々なアミノ酸残基配列、および配

列番号２０～１４７が短縮され得るＣ末端位置を同定することによって例示する。一部の実施形態では、コリックスポリペプチドは、配列番号１２６を含みも、それからなりもしない。コリックスポリペプチドは、天然に存在するおよび天然に存在しないコリックスポリペプチド配列はもちろん、本明細書に記載の天然に存在するコリックスポリペプチド（配列番号２０～７８または１３０～１４６）または天然に存在しないコリックスポリペプチド（配列番号３または１１）に対して少なくとも約７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有する配列も含み得る。コリックスポリペプチドはまた、天然に存在するまたは天然に存在しないコリックスポリペプチド配列のエンドサイトーシスおよび／またはトランスサイトーシス断片（例えば、コリックスポリペプチドのＮおよび／またはＣ末端短縮）も含み得、そのようなエンドサイトーシスおよび／またはトランスサイトーシス断片は、そのような天然に存在するまたは天然に存在しないコリックスポリペプチド配列のいずれかに対して少なくとも約７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有し得る。

【０２５０】

表３は、本明細書において担体として使用され得るコリックス由来ポリペプチドのコンセンサス配列（配列番号１４７、式Ｉ）を提供する。

【０２５１】

例えば、天然に存在しないコリックスポリペプチドは、配列番号３または配列番号１１（表１）に記載のアミノ酸配列を含む、またはそれからなり得る。コリックスポリペプチド担体は、完全長コリックスポリペプチドの短縮型および／または突然変異バリアントであり得る。トランスサイトーシス担体の例としては、配列番号３、１１、２０～７８、または１３０～１４６のいずれか１つのＣ末端短縮を有するものを挙げることができ、Ｃ末端短縮は、ポリペプチドのＣ末端において１９５位のＣ末端残基の後の任意のアミノ酸位置で起こり得る（例えば、配列番号３または１１の１９５～６３４位のいずれか１つでの短縮）。短縮のアミノ酸位置は、コンセンサス配列である配列番号１４７または参照配列である配列番号３もしくは１１のいずれかへの配列アラインメントを使用して、決定することができる。下記の表４は、例示的な担体に含まれているアミノ酸範囲を例示し、配列番号３、１１、２０～７８または１３０～１４６が短縮され得る様々なＣ末端位置を特定する。一部の事例では、トランスサイトーシス担体は、配列番号３、１１、２０～７８または１３０～１４６のいずれかのＣ末端短縮を有するものを含む。

【０２５２】

担体は、天然に存在しない、より長いコリックスポリペプチドの短縮型バージョンであり得る。例えば、担体は、配列番号３または配列番号１１のアミノ酸残基１～２０６、１～２４５、１～２５１、１～２６６、および１～３８６を含むかまたはそれらからなるアミノ酸配列を有し得る。天然に存在しないバリアントの突然変異は、天然に存在するコリックスポリペプチドに対する１つまたは複数の置換、欠失および／または付加を含み得る。一部の実施形態では、本明細書における担体は、Ｖ１Ｌ置換を含み得る。別の言い方をすれば、一部の実施形態では、コリックス関連担体は、「１」位にロイシンアミノ酸を有する。（１位は、一般に、Ｎ末端メチオニンを有さないバリアントの第１のアミノ酸、またはＮ末端メチオニンを含むバリアントの第２の位置を指す。言い換えれば、担体の長さを決定する際、Ｎ末端メチオニンは、存在しても、無視することができる。）一部の実施形態では、Ｖ１Ｌ置換を含む担体は、Ｎ末端アミノ酸の切断の低減または消失を経験する。一部の実施形態では、Ｖ１Ｌ置換を含む担体は、Ｎ末端アミノ酸のアセチル化の低減または消失を経験する。本明細書で提供される担体は、天然に存在するコリックスバリアントと比べて低減された（例えば、少なくとも５０％低減された）またはより小さくなったＡＤＰリボシル化活性（例えば、伸長因子２のリボシル化）を有し得る。一部の実施形態では、担体は、Ｎ末端メチオニンを含み得る。他の実施形態では、Ｎ末端メチオニンは存在しない。

【０２５３】

本明細書における担体は、低減された（例えば、少なくとも５０％低減された）または

より小さくなったＡＤＰリボシル化活性（例えば、伸長因子２のリボシル化）を有し得る。担体は、参照配列、例えば、配列番号３または配列番号１１と比較して、２０６～６３３位のいずれか１つにおいてさらに短縮されている、コリックスに由来するポリペプチドまたはそのバリアントであり得る。ＩＬ－１０送達構築物などの異種ペイロードをトランスサイトーシスによって輸送する能力があるコリックスタンパク質の短縮（例えば、配列番号１４７またはそのバリアントの短縮）は、機能性断片と呼ばれ得る。担体はまた、本明細書における担体配列のいずれかに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％の配列同一性を有する上記のいずれかのバリアントを含む。１つの事例では、担体は、配列番号３を含む。別の事例では、担体は、配列番号４を含む。本明細書におけるいずれの担体も、Ｖ１Ｌ置換を単独でまたはＮ末端メチオニンと組み合わせて有し得る。１つの事例では、担体は、配列番号１１を含む。１つの事例では、担体は、配列番号１２を含む。担体はまた、本明細書における配列のいずれかに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％の配列同一性を有する上記のいずれかのバリアントを含む。

【０２５４】

担体を、ＩＬ－１０に、共有結合でまたは非共有結合で直接または間接的に連結することができる。ＩＬ－１０を担体に共有結合で連結する場合、それを担体に直接またはスペーサーを介して連結することができる。ＩＬ－１０を担体のＣ末端またはＮ末端に連結することができる。スペーサーを使用してＩＬ－１０を担体に連結する場合、スペーサーは、１つまたは複数のアミノ酸を含み得る。本明細書で企図されるスペーサーの例としては、オリゴペプチド配列、例えば、Ｓ、（ＧＳ）$_x$、（ＧＧＳ）$_x$、（ＧＧＧＳ）$_x$（配列番号７）、（ＧＧＧＧＳ）$_x$（配列番号８）、または（ＧＧＧＧＧＳ）$_x$（配列番号９）（式中、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５）が挙げられる。一部の場合には、スペーサーは、ＩＬ－１０配列、例えば配列番号６（ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＧ）に隣接するＳ残基を含まない。

【０２５５】

担体および／またはＩＬ－１０は、それらのＮ末端および／またはＣ末端に１つまたは複数の修飾をさらに含み得る。そのような修飾は、Ｎ末端メチオニン残基、または異種系における発現のための他の公知の残基を含み得る。

【０２５６】

ＩＬ－１０送達構築物は、ＣＤ３を発現する粘膜固有層内の細胞と共局在化することができる。ＣＤ３を発現する細胞は、リンパ球であり得る。リンパ球は、Ｔ細胞であり得る。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、ＣＤ１１ｃを発現する粘膜固有層内の細胞（例えば、樹状細胞）とも、ＣＤ１９を発現する粘膜固有層内の細胞（例えば、Ｂリンパ球）とも、ＣＤ３４を発現する粘膜固有層内の細胞（例えば、内皮）とも共局在化しない。ＩＬ－１０送達構築物は、粘膜固有層内のマクロファージと共局在化することができる。ＩＬ－１０送達構築物の細胞との共局在化は、ＩＬ－１０送達構築物の、細胞の表面の受容体との相互作用または結合を含み得る。ＩＬ－１０送達構築物の担体またはＩＬ－１０は、受容体と相互作用または結合し得る。

【０２５７】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号５のアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号５に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有し得る。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号１３のアミノ酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。ＩＬ－１０送達構築物は、配列番号１３に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有し得る。本明細書で提供されるように、１つまたは複数の担体および１つまたは複数のスペーサーを必要に応じて伴う、ＩＬ－１０の発現および精製は、実質的に上昇した、二量体化したＩＬ－１０

送達構築物の濃度をもたらし得る。一例では、配列番号５の発現および精製は、ＩＬ－１０の８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％より多くが二量体形態である組成物をもたらすことができる。別の例では、配列番号１３の発現および精製は、ＩＬ－１０の８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％より多くが二量体形態である組成物をもたらすことができる。そのようなＩＬ－１０は、ｈＩＬ－１０またはコリックス^{386}－ＩＬ－１０がＮ末端メチオニン（Ｍ）を含む、Ｍ－ｈＩＬ１０またはＭ－コリックス^{386}－ＩＬ－１０であり得る。あるいは、ＩＬ－１０の８５％～９０％、８５％～９２％、または８５％～９５％は、二量体形態である。

【０２５８】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０の２％～５％は、凝集体形態である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０の２％、３％、４％または５％以下が、凝集体形態である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０の５％～７％または６％～７％は、単量体形態である。一部の実施形態では、ＩＬ－１０の５％、６％、７％または８％以下が、単量体形態である。

【０２５９】

サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥ－ＨＰＬＣ）を使用して、ＩＬ－１０送達構築物のサイズ分布を特徴付けることができる。液体組成物中、または液体中で復元された場合には凍結乾燥組成物中の二量体、単量体および凝集体形態で見出されるＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージを、ＳＥＣ－ＨＰＬＣにより決定することができる（図３４）。

【０２６０】

配列番号１０に記載の核酸配列、または配列番号１０に対して少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９８％もしくは少なくとも９９％の配列同一性を有する核酸配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる、天然に存在しない核酸が、本明細書にさらに記載される。核酸は、コドン最適化され得る。核酸は、ベクターによりコードされ得る。ベクターは、プラスミドまたはウイルスベクターであり得る。ウイルスベクターは、レンチウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）、レトロウイルス、または単純ヘルペスウイルスであり得る。ベクターは、複製能力があることも、複製能力がないこともある。ベクターは、組込み型ベクターであることも、非組込み型ベクターであることもある。細胞は、本明細書に記載のベクターのいずれかで形質転換され得る。細胞は、細菌細胞であり得る。細菌細胞は、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉ細胞であり得る。細胞は、酵母細胞であり得る。酵母細胞は、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ細胞であり得る。

表１－配列

【表１－１】

配列番号：	説明	配列
配列番号：1	IL-10	MHSSALLCCLVLLTGVRASPGQGTQSENSCTHFPGNLPNML RDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQ ALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLRLR LRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDI FINYIEAYMTMKIRN
配列番号：2	IL-10, 分泌された 活性形態	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKD QLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAEN QDPDIKAHVNSLGENLKTLRLRLRRCHRFLPCENKSKAVEQ VKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN
配列番号：3	天然に 存在しない コリックスバリアント	VEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLY YSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAP FGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIK ISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVT RPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWL VPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQ GIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKP RDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE PEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPG LTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESR

【表１－２】

		SGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFV
		GYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATH
		AEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL
		ERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGED
		ETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTK
		PPYKERKDELK
配列番号：4	天然に存在しないコリックスバリアント(コリックス^{386})	VEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLY
		YSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAP
		FGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIK
		ISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVT
		RPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWL
		VPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQ
		GIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKP
		RDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE
		PEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPG
		LTPEQTSAGAQA
配列番号：5	IL-10送達構築物	MVEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVL
		YYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDA
		PFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASI
		KISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSV
		TRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCW
		LVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQ
		GIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKP
		RDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE
		PEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPG
		LTPEQTSAGAQAGGGGSGGGGSGGGGSPGQGTQSENSCTH
		FPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLED
		FKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGE
		NLKTLRLRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIY
		KAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN
配列番号：6	スペーサー	GGGGSGGGGSGGGG
配列番号：10	IL-10送達構築物をコードするDNA配列	ATGGTAGAAGAAGCGCTGAATATTTTTGACGAGTGTCGT
		AGCCCGTGTAGCCTGACTCCGGAACCGGGCAAGCCGATT
		CAGTCCAAACTGTCTATCCCGAGCGACGTTGTGCTGGATG
		AGGGCGTGTTGTATTACAGCATGACGATCAATGATGAGC
		AAAACGACATCAAAGACGAAGATAAGGGTGAGTCTATTA
		TCACCATTGGCGAGTTTGCGACGGTGCGTGCAACGCGCC
		ATTACGTGAATCAAGACGCGCCGTTTGGTGTCATTCACCT

【表１－３】

		GGATATCACGACCGAAAATGGCACGAAAACCTATTCGTA
		TAATCGCAAAGAGGGCGAGTTCGCGATCAACTGGCTGGT
		TCCGATCGGTGAGGATAGCCCGGCGAGCATCAAGATCAG
		CGTTGATGAACTGGATCAGCAGCGCAACATTATTGAAGT
		CCCGAAGTTGTATAGCATCGACCTGGATAATCAGACCCT
		GGAGCAGTGGAAAACCCAGGGTAACGTTAGCTTCTCCGT
		GACCCGTCCGGAGCACAACATTGCCATTAGCTGGCCGAG
		CGTTAGCTACAAAGCCGCACAGAAAGAGGGTTCCCGCCA
		CAAGCGTTGGGCTCATTGGCATACCGGTTTGGCGCTGTGT
		TGGCTGGTGCCGATGGATGCGATCTATAACTACATCACGC
		AGCAAAATTGCACGCTGGGTGACAATTGGTTCGGTGGCA
		GCTACGAGACTGTGGCGGGTACCCCTAAGGTTATTACCGT
		CAAACAGGGTATTGAGCAAAAGCCTGTCGAGCAGCGTAT
		CCACTTTAGCAAGGGTAACGCCATGTCTGCTCTGGCGGCT
		CATAGAGTTTGCGGCGTTCCGCTGGAGACTCTGGCCCGTT
		CCCGCAAGCCGCGTGACCTGACCGATGACCTGAGCTGCG
		CGTATCAAGCGCAAAACATTGTTAGCTTATTCGTTGCGAC
		GCGCATTTTGTTTTCGCACCTGGATAGCGTGTTCACGCTG
		AACCTGGATGAACAGGAACCAGAAGTGGCAGAGCGTCTG
		TCAGATCTGCGTCGTATCAACGAAAACAACCCGGGCATG
		GTTACCCAGGTCCTTACGGTTGCACGCCAGATTTACAATG
		ATTACGTGACCCATCACCCGGGTCTGACCCCAGAACAAA
		CCAGCGCAGGCGCACAAGCGGGTGGCGGTGGTTCCGGTG
		GCGGTGGTAGCGGTGGCGGTGGTAGCCCTGGTCAAGGCA
		CCCAATCCGAGAATAGCTGCACGCATTTTCCAGGCAATCT
		GCCGAATATGCTGCGTGACCTCCGCGACGCGTTCTCTCGT
		GTTAAGACCTTTTTTCAGATGAAAGACCAGCTGGACAATC
		TGCTGCTGAAAGAATCCCTGCTGGAAGATTTCAAAGGCT
		ATCTGGGTTGCCAGGCCCTGAGCGAGATGATCCAATTCTA
		CTTGGAAGAGGTCATGCCGCAGGCCGAAAATCAAGACCC
		GGACATCAAGGCACACGTGAACAGCTTGGGCGAAAACCT
		GAAAACCCTGCGTTTGCGCCTGCGTCGTTGTCACCGTTTC
		CTGCCGTGCGAGAATAAGAGCAAAGCCGTCGAACAAGTC
		AAAAATGCATTCAACAAGCTGCAAGAGAAAGGTATCTAC
		AAGGCTATGAGCGAGTTTGACATTTTCATTAACTACATTG
		AAGCGTACATGACCATGAAGATCCGTAAC
配列番号：	天然に	LEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLY
11	存在しない	YSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAP

【表１－４】

	コリックスバリアント (V1L)	FGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIK ISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVT RPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWL VPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQ GIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKP RDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE PEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPG LTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESR SGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFV GYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATH AEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASL ERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGED ETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTK PPYKERKDELK	10
配列番号：12	天然に存在しない コリックスバリアント (コリックス^{386}) (V1L)	LEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLY YSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAP FGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIK ISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVT RPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWL VPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQ GIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKP RDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE PEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPG LTPEQTSAGAQA	20
配列番号：13	IL-10 送達構築物 (コリックスV1L)	MLEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVL YYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDA PFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASI KISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSV TRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCW LVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQ GIEQKPVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKP RDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQE PEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPG LTPEQTSAGAQAGGGGSGGGGSGGGGSPGQGTQSENSCTH FPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLED FKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGE NLKTLRLRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIY KAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN	30 40

50

【表１－５】

配列番号：151	Humira Fab 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPG KAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVA TYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
配列番号：152	Humira Fab 重鎖	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQA PGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
配列番号：153	Remicade Fab 軽鎖	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGS PRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYY CQQSHSWPFTFGSGTNLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
配列番号：154	Remicade Fab 重鎖	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQS PEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAVY LQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTLTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT

表２－さらなるコリックスポリペプチド

【表２－１】

配列番号：130	VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC WLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVE QRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVS LFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVA RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANIN IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL

【表２－２】

RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISTKPPYKERKDELK

配列番号：131 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAH
WHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQ
GIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCA
YQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGM
VTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVAS
NNDQANINVESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGY
VFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHG
YARIKEGTGEYGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHI
TQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEEL
AIDEEAVAKEQSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：132 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIMDEGKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYN
RKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQ
WENQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHT
GLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQ
KPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQA
QNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQ
VLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNND
QANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVG
YHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIK
EGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIG
HSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEE
AVAKEQSISTKPPYKERKDELK

配列番号：133 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY

【表２－３】

GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYERLTPAEEAVVKE
AIAKEQSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：134 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYERLTPAEEAVVKE
AIAKEQSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：135 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKQIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEKKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

配列番号：136 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVE
QRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVS
LFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANIN
IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN

【表２－４】

HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKERKDELK

配列番号：137 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVE
QRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVS
LFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANIN
IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVSTHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISTKPPYKERKDELK

配列番号：138 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEKKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

配列番号：139 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIE

【表２－５】

SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRVYIHRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

配列番号：140 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANIN
IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISTKPPYKERKDELK

配列番号：141 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLIPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKERKDELK

配列番号：142 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR

【表２－６】

QIYNDYVTHHPGLIPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

配列番号：143 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRMLFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLIPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINI
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：144 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARLKKGTGN
AELPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITHVIGHSLPL
RNEAFTGPERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEVLAIDEEAVAEE
QSISAKPPYKERKDELK

配列番号：145 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVFFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL

【表２－７】

FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVTERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRVYIHRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

配列番号：146 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANIN
IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKERKDELK

配列番号：20 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVALNNDQANIN
IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKERKDELK

配列番号：21 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ

【表２－８】

RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQAPEVAERLSALRQINENNPGVVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNG
GLPTRAERETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

配列番号：22 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNG
GLPTRAERETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITDVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

配列番号：23 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAIMVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRYLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISPKPPYKERKDELK

配列番号：24 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KDGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC

【表２－９】

WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSAIRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

配列番号：25 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KDGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKHCVASNNDQANINV
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKERKDELK

配列番号：26 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWRTGLALCW
LVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQR
IHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLF
VATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQ
IYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIES
RSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHV
AAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYG
LPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRN
EAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQS
ISTKPPYKERKDELK

配列番号：27 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW

【表２－１０】

KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVE
QRIHFSNGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVS
LFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANIN
IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISTKPPYKERKDELK

配列番号：28 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVE
QRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVS
LFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANIN
IESRSGRSYLLENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISTKPPYKERKDELK

配列番号：29 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPMDAIYNYITQKNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVE
QRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVS
LFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANIN
IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：30 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR

【表２－１１】

KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

配列番号：31 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANIN
VESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGT
NHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTG
EYGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLP
LRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAK
EQSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：32 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVE
QRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVS
LFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANIN
IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

【表２－１２】

配列番号：33
VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPMDAIYNYITQKNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVE
QRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVS
LFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANIN
IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISTKPPYKERKDELK

配列番号：34
VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

配列番号：35
VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNG
GLPTRAERETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITDVIGHSLPLR

【表２－１３】

NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISAKPPYKEQKDELK

配列番号：36 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAIHWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLEEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

配列番号：37 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATIRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVE
QRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVS
LFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANIN
IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：38 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITFGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYN
RKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQ
WKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLAL
CWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPV
EQRIHFSKGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIV
SLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTV
ARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANI
NIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGT
NHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTG

【表２－１４】

EYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLP
LRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAK
EQSISTKPPYKERKDELK

配列番号：39 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNR
KESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK
TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWL
VPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIH
FSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLA
TRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYN
DYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSG
RSYLPENRAVITQQGVTNWTYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAA
QSIVNRISPVPRGSDTESERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLT
PAERKARGVMLRVYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEA
FTGTDAEEGSDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISA
KPPYKEQKDELK

配列番号：40 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR
NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ
SISTKPPYKERKDELK

配列番号：41 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVA
RQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANIN
IESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN

【表２－１５】

	HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE YGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPL RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE QSISTKPPYKERKDELK
配列番号：42	VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIE SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH VAAQNIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR NEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQ SISTKPPYKERKDELK
配列番号：43	VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIE SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY GLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLR NEAFTGPESAGGEDETVIGWDIAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQS ISTKPPYKERKDELK
配列番号：44	VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINV

【表２－１６】

ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKERKDELK

配列番号：45 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMETLAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINV
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKERKDELK

配列番号：46 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINV
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：47 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMETLAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR

【表２－１７】

QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINV
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：48 VEDELNIFDECRSPCLLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINV
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：49 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVIPGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMETLAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINV
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTN
HVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGE
YGLPTRAEREARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPL
RNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKE
QSISAKPPYKERKDELK

配列番号：50 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNR
KESEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL

【表２－１８】

FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
EQETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQS
ISAKPPYKERKDELK

配列番号：51 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVT
LCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSQ
KNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRI
LFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYND
YVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGR
SYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQT
IVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTR
AEQETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFT
GPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKE
QSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：52 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
EQETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQS
ISAKPPYKERKDELK

配列番号：53 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK

【表２－１９】

NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
EQETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQS
ISAKPPYKEQKDELK

配列番号：54 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
EQETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQS
ISAKPPYKEQKDELK

配列番号：55 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGIPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
EQETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQS
ISAKPPYKERKDELK

配列番号：56 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL

【表２－２０】

CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGIPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
EQETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQS
ISAKPPYKEQKDELK

配列番号：57 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNR
KESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPEVVL
CFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKN
AMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILF
THIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVT
HHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYL
PENRAVITQQGVTNWTYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQTIV
NRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
QETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGP
ESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQSI
SAKPPYKEQKDELK

配列番号：58 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSFNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
TQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARHKRWAHWHTGLALCW
LVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGMEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVS
LFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIA
RQIYNDYVTEHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINI
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTN
HVAAQSIVNRITPVPRGNNTEKEEEWGGVYVATHAELAHRYARIKEGTGE
NGLPTTEEKKSRGVMLRVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLPL
RNEAFTGPESAGGEDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEHDELK

配列番号：59 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSFNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE

【表２－２１】

TQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARHKRWAHWHTGLALCW
LVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGMEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVS
LFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIA
RQIYNDYVTEHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINI
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTN
HVAAQSIVNRITPVPRGNNTEKEEEWGGVYVATHAEVNHRYARIKEGTGE
NGLPTTEEKKSRGVMLRVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLPL
RNEAFTGPESAGGEDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEHDELK

配列番号：60 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSFNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
TQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARHKRWAHWHTGLALCW
LVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGMEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVS
LFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIA
RQIYNDYVTEHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINI
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTN
HVAAQSIVNRITPVPRGNNTEKEEEWGGVYVATHAELAHRYARIKEGTGE
NGLPTTEKKKSRGVMLKVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLP
LRNEAFTGPESAGGENETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAK
EQSISAKPPYKEHDELK

配列番号：61 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
EQETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQS
ISAKPPYKEQKDELK

配列番号：62 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR

【表２－２２】

KEGEFAINWLVIPGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
EQETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEGLTTDEEAVVKEAIAKEQS
ISAKPPYKERKDELK

配列番号：63 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSFNR
KEGEFAINWLVIPGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
TQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAQKDGARHKRWAHWHTGLALCW
LVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGMEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVS
LFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIA
RQIYNDYVTEHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINI
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTN
HVAAQSIVNRITPVPRGNNTEKEEEWGGVYVATHAELAHRYARIKEGTGE
NGLPTTEEKKSRGVMLRVYLPRASLERFYRTNIPLENADEHVTQVIGHPLPL
RNEAFTGPESAGGEDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKE
QSISAKPPYKEHDELK

配列番号：64 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNR
KESEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPP
YKERKDELK

【表２－２３】

配列番号：65
VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNR
KESEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ETQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPP
YKERKDELK

配列番号：66
VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEQSIAISWPSVSYNAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINVESRSGR
SYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQT
IVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTR
AERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFT
GPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKP
PYKERKDELK

配列番号：67
VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVV
LCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRA
ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG

【表２－２４】

PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPP
YKEQKDELK

配列番号：68 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPP
YKERKDELK

配列番号：69 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKMYSYN
RKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVT
LCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSK
KNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRI
LFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYND
YVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGR
SYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQT
IVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTR
AERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFT
GPERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTK
PPYKERKDELK

配列番号：70 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQKRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVV
LCFYEEPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPEAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLQDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA

【表２－２５】

ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPP
YKEQKDELK

配列番号：71 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNR
KESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPEVVL
CFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKN
AMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILF
THIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVT
HHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYL
PENRAVITQQGVTNWTYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVN
RISPVPRGSDTESERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERK
ARGVMLRVYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTD
AEEGSDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYK
EQKDELK

配列番号：72 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNR
KESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPEVVL
CFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKN
AMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILF
THIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVT
HHPLLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYL
PENRAVITQQGVTNWTYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVN
RISPVPRGSDTESERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERK
ARGVMLRVYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTD
AEEGSDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYK
EQKDELK

配列番号：73 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNR
KESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPEVVL
CFFEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKN
AMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILF
THIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVT
HHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYL
PENRAVITQQGVTNWTYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVN

【表２－２６】

RISPVPRGSDTESERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERK
ARGVMLRVYLPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTD
AEEGSDETAIGWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYK
EQKDELK

配列番号：74 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLFIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVV
LCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAIEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILF
SHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYV
THHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSY
LPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIV
NRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
RDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGP
ESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPY
KERKDELK

配列番号：75 VEDELNIFDECRSPCSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
NQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTL
CFYEDPAQCTYGDDWYGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDTDKSCVASNNDQANINIESRSGRS
YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTI
VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPP
YKERKDELK

配列番号：76 VEDELKIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
ENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVV
LCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
FSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY
VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS

50

【表２－２７】

	YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTI
	VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
	ERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTG
	PESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPP
	YKEQKDELK
配列番号：77	VEDELKIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
	DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
	KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
	ENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVV
	LCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK
	NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL
	FSHLDSVFTLNLDEQAPEVAERLSDLRRINEDNPGMVTQVLTVARQIYNDY
	VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS
	YLPENRAVITPQGVTNWTYQELETTHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTI
	VNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRA
	ERETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGP
	ESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAKPP
	YKEQKDELK
配列番号：78	VEDELKIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
	DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
	KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
	ENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVV
	LCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKAVEQRIHFSK
	KNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRI
	LFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYND
	YVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGR
	SYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQT
	IVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTR
	AERETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFT
	GPESAGGEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAK
	PPYKEQKDELK
配列番号：79	TPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFA
	TVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFAINWLVPIGEDS
	PASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIA
	ISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTL
	GDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRV
	CGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLD
	GQEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS

【表２－２８】

AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQG
VTNWTYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDT
ESERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLRVY
LPQASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEGSDETAI
GWDMAIHGVAIPSTIPGNSYAQLPIDEEAVAKEQSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：80 SIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVN
QDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEL
DQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYK
AAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGS
YETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLA
RSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAE
RLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADI
LSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQE
LEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGG
LYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERF
YRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAV
AIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKERKDELK

配列番号：81 MTINDEQNDIMDEGKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTEN
GTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDL
DNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKR
WAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAIT
VKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDL
SCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNP
GMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSC
VASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTRE
GYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVA
HGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAE
EHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYE
ELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKERKDELK

配列番号：82 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFTINWLVPIG
EDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPE
QSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYN
YITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAM
EALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHL
DSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHH
PGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPE
NRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRI

【表２－２９】

APVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERD
ARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPES
AGGEDETIIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：83 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTR
PEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPMDAI
YNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKN
AMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILF
SHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYV
THHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSY
LPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIV
NRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAE
RDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGP
ESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：84 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTR
PEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIY
NYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNA
MEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFS
HLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVT
HHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYL
PENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVN
RIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAER
DARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPE
SAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：85 MTINDEQNDIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENG
TKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLD
NQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANW
LTTLPKVVLCFYEDPELCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKAV
EQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIV
SLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTV
ARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANI
NIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGT
NHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTG
NGGLPTRAERETRGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLP

【表２－３０】

LRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIYAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAK
EQSISAKPPYKEQKDELK

配列番号：86 MTINDEQNDIKDEDKGESIITIGDFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTEN
GTKTYSYNRKEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDL
DNQTLEQWENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWAN
WFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKT
VEQRIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNI
VSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLT
VARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQA
NINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYH
GTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEG
TGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHS
LPLRNEAFTGPERVDGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAV
AKEQSISTKPPYKERKDELK

配列番号：87 CSLTPEPGKPIQSQLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLEEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：88 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

【表２－３１】

配列番号：89
CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：90
CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
IPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEREARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：91
CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLEEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERETRG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITDVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：92
CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI

【表２－３２】

GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVALNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：93 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAIMVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRYLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERVDG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：94 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKDGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPAVAERLSAIRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：95 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKDGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ

【表２－３３】

QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYLTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：96 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：97 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYTRIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：98 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV

【表２－３４】

FTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFYPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：99 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERETRG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：100 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQ
KNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVITVKQGIEQKPVEQRIHFSKGNAMSAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：101 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA

【表２－３５】

VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：102 CSLTPELGKPIQSKLSISSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENR
AVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDAR
GVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：103 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：104 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLEEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG

【表２－３６】

VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：105 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASDNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：106 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINVESRSGRSYLPENR
AVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP
VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEREAR
GVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAERHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：107 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPERVDG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

【表２－３７】

配列番号：108 CSLTPELGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDDQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRP
EHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWLVPIDAIYNYITQ
QNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIHFSKKNAMEAL
AAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSV
FTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGL
TPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKPCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRA
VITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQNIVNRIAPV
PRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARG
VMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGG
EDETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：109 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIMDEGKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTR
PEQSIAKQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVVLCFFEDPE
LCTYGEDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALA
AHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVF
TLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLT
PEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAV
ITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVP
RGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGV
MLRVYIPRASLERFYRTNTLLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGE
DETVIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：110 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFAINWLVPIG
EDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPE
QSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGD
DWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVC
GVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLD
EQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQG
VTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNT
ENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVY
IPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIG
WDMAIHAVAIPS

配列番号：111 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFAINWLVPIG

【表２－３８】

EDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWETQGNVSFAVTRPE
QSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYGD
DWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVC
GVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLD
EQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQG
VTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHAAAQTIVNRIAPVPRGNNT
ENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLRVYI
PRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIG
WDMAIHAVAIPS

配列番号：112 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTR
PEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTY
GDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHR
VCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLN
LDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQ
TSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGN
NTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETV
IGWDMAIHAVAIPS

配列番号：113 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTR
PEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTY
GDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHR
VCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLN
LDEQAPEVAERLSDLRRINEDNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQ
TSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELETTHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGN
NTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETV
IGWDMAIHAVAIPS

配列番号：114 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTR
PEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTY

【表２－３９】

GDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHR
VCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLN
LDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQ
TSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITP
QGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGN
NTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGNGGLPTRAERETRGVMLR
VYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETV
IGWDMAIYAVAIPS

配列番号：115 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDEIDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRP
EQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWFTTSPKVTLCFYEDPAQCTYG
DDWHGGAYKTVAGIPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVC
GVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLD
EQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQG
VTNWTYQELEATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNT
ENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAEQETRGVMLRVYI
PRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIG
WDMAIHAVAIPS

配列番号：116 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTR
PEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVVLCFYEEPELCTYG
EDWHGGAYKTVAGTPGAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKGNAMSALAAHRVC
GVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLD
EQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQG
VTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNT
ENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVY
IPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIG
WDMAIHAVAIPS

配列番号：117 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQKRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTR
PEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVVLCFYEEPELCTYG
EDWHGGAYKTVAGTPEAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVC
GVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLD

【表２－４０】

EQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTS
AGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQG
VTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNT
ENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVY
IPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIG
WDMAIHAVAIPS

配列番号：118 CSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIIIIG
EFATVRATRHYVVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNRKEGEFAINWLVPI
GEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTR
PEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVVLCFYEDPELCTY
GDDWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKGNAMSALAAHR
VCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLN
LDEQEPEVAERLSDLRRINENNPGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQ
TSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRSYLPENRVVITP
QGVTNWTYQELDATHQALTREDYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRG
NNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERETRGVML
RVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDET
VIGWDMAIHAVAIPS

配列番号：119 CSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFAINWLVPIG
EDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPE
QSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPEVVLCFFEDPELCTYGD
DWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVC
GVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDG
QEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
GAQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGV
TNWTYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTES
ERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLRVYLP
QASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEGSDETAIGW
DMAIHGVAIPS

配列番号：120 CSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQNDIKDEDKGESIITIG
EFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNRKESEFAINWLVPIG
EDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWENQGNVSFAVTRPE
QSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPEVVLCFFEDPELCTYGD
DWHGGAYKTVAGTPKAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKKNAMEALAAHRVC
GVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLATRILFTHIDSIFTLNLDG
QEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSA
SAQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIESRSGRSYLPENRAVITQQGV

【表２－４１】

TNWTYQELEATHQALTQEGYVFVGYHGTNHVAAQSIVNRISPVPRGSDTES
ERAWGGLYVSTDASVAYGYARIQEGTADGGGLTPAERKARGVMLRVYLP
QASLERFYRINADLEKERNLVERVIGHPLPLRNEAFTGTDAEEGSDETAIGW
DMAIHGVAIPS

配列番号：121 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKQIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVINLDITTENGTKTYSYNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW
KTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALC
WLVPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDDLSCVYQAQNIVSL
FVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVAR
QIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIE
SRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNH
VAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEKKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEY
GLPTRAERDARGVMLRV

配列番号：122 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
TQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAEKDGARHKRWAHWHTGLALCW
LVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGMEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVS
LFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIA
RQIYNDYVTEHPGLTPEQTSAGAQAADILSLLCPDADGSCVASNSDQANINI
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTN
HVAAQSIVNRITPVPRGNNTEKEEEWGG

配列番号：123 VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN
DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSFNR
KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWE
TQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAEKDGARHKRWAHWHTGLALCW
LVPLDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGMEQKPVEQ
RIHFSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARGRKPRDLTDDLQCAYQAQNIVS
LFLATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLTDLRRINENNPGMVTQVLTIA
RQIYNDYVTEHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADESCVASNSDQANINI
ESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEAKHQTLTREGYVFVGYHGTN
HVAAQSIVNRITPVPRGNNTEKEEEWGG

配列番号：124 YSIDLDNQTLEQWKTQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKR
WAHWHTGLALCWLVPMDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKVI
TVKQGIEQKPVEQRIHFSNGNAMSALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLTDD

【表２－４２】

	LSCAYQAQNIVSLFVATRILFSHLDSVFTLNLDEQEPEVAERLSDLRRINENN PGMVTQVLTVARQIYNDYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSC VASNNDQANINIESRSGRSYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTRE GYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVA HGYARIKEGTGEYGLPTRAERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAE EHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYE ELAIDEEAVAKEQSISAKPPYKERKDELK
配列番号：125	VEDELNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPSDVVLDEGVLYYSMTINDEQN DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVNQDAPFGVIHLDITTENGTKTYSYNR KEGEFAINWLVPIGEDSPASIKISVDELDQKRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQW ENQGNVSFAVTRPEQSIAISWPSVSYKAAHKNGSRHKRWANWLTTLPKVV LCFYEEPELCTYGEDWHGGAYKTVAGTPEAITVKQGIEQKTVEQRIHFSKK NAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLQDDLSCAYQAQNIVSLFVATRIL FSHLDSVFTLNLDEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYNDY VTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGRS YLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHV
配列番号：126	VEEALNIFDECRSPCSLTPEPGKPIQSKLSIPGDVVLDEGVLYYSMTINDEQN DIKDEDKGESIITIGEFATVRATRHYVSQDAPFGVINLDITTENGTKTYSFNR KESEFAINWLVPIGEDSPASIKISIDELDQQRNIIEVPKLYSIDLDNQTLEQWK TQGNVSFSVTRPEHNIAISWPSVSYKAAQKEGSRHKRWAHWHTGLALCWL VPIDAIYNYITQQNCTLGDNWFGGSYETVAGTPKAITVKQGIEQKPVEQRIH FSKKNAMEALAAHRVCGVPLETLARSRKPRDLPDDLSCAYNAQQIVSLFLA TRILFTHIDSIFTLNLDGQEPEVAERLDDLRRINENNPGMVIQVLTVARQIYN DYVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNSDQANINIES
配列番号：127	LFSHLDSVFTLNLHEQEPAVAERLSALRQINENNPGMVTQVLTVARQIYND YVTHHPGLTPEQTSAGAQAADILSLFCPDADKSCVASNNDQANINIESRSGR SYLPENRAVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQT IVNRIAPVPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTR AERDARGVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFT GPESAGGEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISAK PPYKERKDELK
配列番号：128	AVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDAR GVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKER KDELK
配列番号：129	AVITPQGVTNWTYQELEATHQALTREGYVFVGYHGTNHVAAQTIVNRIAP VPRGNNTENEEKWGGLYVATHAEVAHGYARIKEGTGEYGLPTRAERDAR

【表２－４３】

GVMLRVYIPRASLERFYRTNTPLENAEEHITQVIGHSLPLRNEAFTGPESAG
GEDETVIGWDMAIHAVAIPSTIPGNAYEELAIDEEAVAKEQSISTKPPYKER
KDEL

表３－式Ｉ

【表３－１】

配列番号147 X1-E-X3-X4-L-X6-I-F-D-E-C-R-S-P-C-X16-L-T-P-E-X21-G-K-X24-I-Q-S-K-L-X30-I-P-X33-D-V-V-L-D-E-G-V-L-Y-Y-S-M-T-I-N-D-E-Q-N-D-I-X56-D-E-X59-K-G-E-S-I-I-T-X67-G-E-F-A-T-X73-R-A-T-R-H-Y-V-X81-Q-D-A-P-F-G-V-I-X90-L-D-I-T-T-E-N-G-T-K-X101-Y-S-X104-N-R-K-X108-X109-E-F-X112-I-X114-W-L-V-X118-X119-G-E-D-S-P-A-S-I-K-I-S-X131-D-E-X134-D-Q-X137-R-N-I-I-E-V-P-K-L-Y-S-I-D-L-D-N-Q-T-L-E-Q-W-X160-X161-Q-G-N-V-X166-F-X168-V-T-R-P-E-X174-X175-I-A-I-S-W-P-S-V-S-Y-X186-A-A-X189-K-X191-G-X193-R-H-K-R-W-A-X200-W-X202-T-X204-X205-X206-X207-X208-X209-L-X211-X212-X213-X214-X215-X216-X217-X218-X219-X220-X221-X222-X223-X224-C-T-X227-G-X229-X230-W-X232-G-G-X235-Y-X237-T-V-A-G-X242-P-X244-X245-I-X247-V-K-Q-G-X252-E-Q-K-X256-V-E-Q-R-I-H-F-S-X265-X266-N-A-X269-X270-X271-L-A-A-H-R-V-C-G-V-P-L-E-T-L-A-R-X288-R-K-P-R-X293-L-X295-D-D-L-X299-C-X301-Y-X303-A-Q-X306-I-V-S-L-F-X312-A-T-R-X316-L-F-X319-H-X321-D-S-X324-F-T-L-N-L-X330-X331-Q-X333-P-X335-V-X337-E-R-L-X341-X342-X343-R-X345-I-N-E-X349-N-P-G-X353-V-X355-Q-V-L-T-X360-A-R-Q-I-Y-N-D-Y-V-T-X371-H-P-X374-L-X376-P-E-Q-T-S-A-X383-A-Q-A-A-D-I-L-S-L-X393-X394-P-D-X397-D-X399-X400-C-V-A-X404-X405-X406-D-Q-A-N-I-N-X413-E-S-R-S-G-R-S-Y-L-X423-E-N-R-A-V-I-T-X431-Q-G-V-T-N-W-T-Y-Q-E-L-X443-X444-X445-H-Q-X448-L-T-X451-E-X453-Y-V-F-V-G-Y-H-G-T-N-H-X465-A-A-Q-X469-I-V-N-R-I-X475-P-V-P-R-G-X481-X482-T-E-X485-E-X487-X488-W-G-G-X492-Y-V-X495-T-X497-A-X499-X500-X501-X502-X503-Y-X505-R-X507-X508-X509-G-T-X512-X513-X514-X515-X516-X517-T-X519-X520-X521-X522-X523-X524-R-G-V-M-L-X530-V-Y-X533-X534-X535-A-S-L-E-R-F-Y-R-X544-N-X546-X547-L-E-X550-X551-X552-X553-X554-X555-X556-X557-V-I-G-H-X562-L-P-L-R-N-E-A-F-T-G-X573-X574-X575-X576-X577-G-X579-X580-E-T-X583-I-G-W-D-X588-A-I-X591-X592-V-A-I-P-S-T-I-P-G-N-X603-Y-X605-X606-L-X608-X609-X610-E-E-A-X614-A-X616-E-Q-S-I-S-X622-K-P-P-Y-K-E-X629-X630-D-E-L-K;

【表３－２】

式中、X1は、VおよびLからなる群より選択され; X3は、EおよびDからなる群より選択され; X4は、AおよびEからなる群より選択され; X6は、NおよびKからなる群より選択され; X16は、SおよびLからなる群より選択され; X21は、PおよびLからなる群より選択され; X24は、PおよびQからなる群より選択され; X30は、SおよびFからなる群より選択され; X33は、SおよびGからなる群より選択され; X56は、KおよびMからなる群より選択され; X59は、DおよびGからなる群より選択され; X67は、IおよびFからなる群より選択され; X73は、VおよびIからなる群より選択され; X81は、NおよびSからなる群より選択され; X90は、HおよびNからなる群より選択され; X101は、TおよびMからなる群より選択され; X104は、YおよびFからなる群より選択され; X108は、EおよびDからなる群より選択され; X109は、GおよびSからなる群より選択され; X112は、AおよびTからなる群より選択され; X114は、NおよびHからなる群より選択され; X118は、PおよびIからなる群より選択され; X119は、IおよびPからなる群より選択され; X131は、VおよびIからなる群より選択され; X134は、LおよびIからなる群より選択され; X137は、QおよびKからなる群より選択され; X160は、KおよびEからなる群より選択され; X161は、TおよびNからなる群より選択され; X166は、SおよびFからなる群より選択され; X168は、SおよびAからなる群より選択され; X174は、HおよびQからなる群より選択され; X175は、N、S、SIAKQS(配列番号 148)およびSIAKQSIAKQS(配列番号 149)からなる群より選択され; X186は、KおよびNからなる群より選択され; X189は、Q、EおよびHからなる群より選択され; X191は、E、NおよびDからなる群より選択され; X193は、SおよびAからなる群より選択され; X200は、HおよびNからなる群より選択され; X202は、H、L、FおよびRからなる群より選択され; X204は、GおよびTからなる群より選択され; X205は、LおよびSからなる群より選択され; X206は、AおよびPからなる群より選択され; X207は、L、EおよびKからなる群より選択され; X208は、CおよびVからなる群より選択され; X209は、W、VおよびTからなる群より選択され; X211は、Vおよび無アミノ酸からなる群より選択され; X212は、Pおよび無アミノ酸からなる群より選択され; X213は、M、I、L、および無アミノ酸からなる群より選択され; X214は、Dおよび無アミノ酸からなる群より選択され; X215は、Aおよび無アミノ酸からなる群より選択され; X216は、Iおよび無アミノ酸からなる群より選択され; X217は、YおよびCからなる群より選択され; X218は、NおよびFからなる群より選択され;

【表３－３】

X219は、YおよびFからなる群より選択され; X220は、IおよびEからなる群より選択され; X221は、TおよびDからなる群より選択され; X222は、QおよびPからなる群より選択され; X223は、Q、EおよびAからなる群より選択され; X224は、N、LおよびQからなる群より選択され; X227は、LおよびYからなる群より選択され; X229は、DおよびEからなる群より選択され; X230は、NおよびDからなる群より選択され; X232は、F、H、およびYからなる群より選択され; X235は、SおよびAからなる群より選択され; X237は、EおよびKからなる群より選択され; X242は、TおよびIからなる群より選択され; X244は、K、EおよびGからなる群より選択され; X245は、VおよびAからなる群より選択され; X247は、TおよびMからなる群より選択され; X252は、IおよびMからなる群より選択され; X256は、P、TおよびAからなる群より選択され; X265は、K、QおよびNからなる群より選択され; X266は、GおよびKからなる群より選択され; X269は、MおよびIからなる群より選択され; X270は、SおよびEからなる群より選択され; X271は、AおよびTからなる群より選択され; X288は、SおよびGからなる群より選択され; X293は、DおよびYからなる群より選択され; X295は、T、PおよびQからなる群より選択され; X299は、SおよびQからなる群より選択され; X301は、AおよびVからなる群より選択され; X303は、QおよびNからなる群より選択され; X306は、NおよびQからなる群より選択され; X312は、VおよびLからなる群より選択され; X316は、IおよびMからなる群より選択され; X319は、SおよびTからなる群より選択され; X321は、LおよびIからなる群より選択され; X324は、VおよびIからなる群より選択され; X330は、D、EおよびHからなる群より選択され; X331は、EおよびGからなる群より選択され; X333は、EおよびAからなる群より選択され; X335は、EおよびAからなる群より選択され; X337は、AおよびTからなる群より選択され; X341は、S、DおよびTからなる群より選択され; X342は、DおよびAからなる群より選択され; X343は、LおよびIからなる群より選択され; X345は、RおよびQからなる群より選択され; X349は、NおよびDからなる群より選択され; X353は、MおよびVからなる群より選択され; X355は、TおよびIからなる群より選択され; X360は、VおよびIからなる群より選択され; X371は、HおよびEからなる群より選択され; X374は、GおよびLからなる群より選択され; X376は、TおよびIからなる群より選択され; X383は、GおよびSからなる群より選択され; X393は、FおよびLからなる群より選択され; X394は、CおよびYから

【表３－４】

なる群より選択され; X397 は、A および T からなる群より選択され; X399 は、K、E および G からなる群より選択され; X400 は、S、P および H からなる群より選択され; X404 は、S および L からなる群より選択され; X405 は、N および D からなる群より選択され; X406 は、N および S からなる群より選択され; X413 は、I および V からなる群より選択され; X423 は、P および L からなる群より選択され; X431 は、P および Q からなる群より選択され; X443 は、E および D からなる群より選択され; X444 は、A および T からなる群より選択され; X445 は、T および K からなる群より選択され; X448 は、A および T からなる群より選択され; X451 は、R および Q からなる群より選択され; X453 は、G および D からなる群より選択され; X465 は、V および A からなる群より選択され; X469 は、T、S および N からなる群より選択され; X475 は、A、S、および T からなる群より選択され; X481 は、N および S からなる群より選択され; X482 は、N および D からなる群より選択され; X485 は、N、S、および K からなる群より選択され; X487 は、E、R、および K からなる群より選択され; X488 は、K、A、および E からなる群より選択され; X492 は、L および V からなる群より選択され; X495 は、A および S からなる群より選択され; X497 は、H および D からなる群より選択され; X499 は、E および S からなる群より選択され; X500 は、V および L からなる群より選択され; X501 は、A および N からなる群より選択され; X502 は、H および Y からなる群より選択され; X503 は、G および R からなる群より選択され; X505 は、A および T からなる群より選択され; X507 は、I および L からなる群より選択され; X508 は、K および Q からなる群より選択され; X509 は、E および K からなる群より選択され; X512 は、G および A からなる群より選択され; X513 は、E、D および N からなる群より選択され; X514 は、Y、G、A および N からなる群より選択され; X515 は、G および E からなる群より選択され; X516 は、L および G からなる群より選択され; X517 は、P および L からなる群より選択され; X519 は、R、P および T からなる群より選択され; X520 は、A および E からなる群より選択され; X521 は、E および K からなる群より選択され; X522 は、R、Q および K からなる群より選択され; X523 は、D、K および E からなる群より選択され; X524 は、A、T および S からなる群より選択され; X530 は、R および K からなる群より選択され; X533 は、I および L からなる群より選択され; X534 は、P および H からなる群より選択され; X535 は、R および Q からなる群より選択され; X544 は、T および I からなる群より選択され; X546 は、T、A および I からな

【表３－５】

る群より選択され; X547 は、P および D からなる群より選択され; X550 は、N および K からなる群より選択され; X551 は、A および E からなる群より選択され; X552 は、E、R および D なる群から選択され; X553 は、E、N および R からなる群より選択され; X554 は、H および L からなる群より選択され; X555 は、I および V からなる群より選択され; X556 は、T および E からなる群より選択され; X557 は、Q、R、H および D なる群から選択され; X562 は、S および P からなる群より選択され; X573 は、P および T からなる群より選択され; X574 は、E および D からなる群より選択され; X575 は、S、A および R からなる群より選択され; X576 は、A、E および V からなる群より選択され; X577 は、G、E および D からなる群より選択され; X579 は、E および S からなる群より選択され; X580 は、D および N からなる群より選択され; X583 は、V および A からなる群より選択され; X588 は、M および I からなる群より選択され; X591 は、H および Y からなる群より選択され; X592 は、A および G からなる群より選択され; X603 は、A および S からなる群より選択され; X605 は、E および A からなる群より選択され; X606 は、E、A、Q、G、V および R からなる群より選択され; X608 は、A、P および T からなる群より選択され; X609 は、I、T および P からなる群より選択され; X610 は、D および A からなる群より選択され; X614 は、V および VVKEAI(配列番号 150)からなる群より選択され; X616 は、K および E からなる群より選択され; X622 は、T、A および P からなる群より選択され; ならびに X629 は、R、Q および H からなる群より選択され; ならびに X630 は、K、および無アミノ酸からなる群より選択される。

表４－配列番号２０～１４７のいずれか１つのアミノ酸残基を特定する例示的なトランスサイトーシス担体

【表４－１】

AA 残基	AA 残基	AA 残基
1-195	1-269	1-343
1-196	1-270	1-344
1-197	1-271	1-345
1-198	1-272	1-346
1-199	1-273	1-347
1-200	1-274	1-348
1-201	1-275	1-349
1-202	1-276	1-350

【表４－２】

1-203	1-277	1-351
1-204	1-278	1-352
1-205	1-279	1-353
1-206	1-280	1-354
1-207	1-281	1-355
1-208	1-282	1-356
1-209	1-283	1-357
1-210	1-284	1-358
1-211	1-285	1-359
1-212	1-286	1-360
1-213	1-287	1-361
1-214	1-288	1-362
1-215	1-289	1-363
1-216	1-290	1-364
1-217	1-291	1-365
1-218	1-292	1-366
1-219	1-293	1-367
1-220	1-294	1-368
1-221	1-295	1-369
1-222	1-296	1-370
1-223	1-297	1-371
1-224	1-298	1-372
1-225	1-299	1-373
1-226	1-300	1-374
1-227	1-301	1-375
1-228	1-302	1-376
1-229	1-303	1-377
1-230	1-304	1-378
1-231	1-305	1-379
1-232	1-306	1-380
1-233	1-307	1-381
1-234	1-308	1-382
1-235	1-309	1-383
1-236	1-310	1-384
1-237	1-311	1-385
1-238	1-312	1-386
1-239	1-313	1-387
1-240	1-314	1-388
1-241	1-315	1-389
1-242	1-316	1-390
1-243	1-317	1-391
1-244	1-318	1-392
1-245	1-319	1-393
1-246	1-320	1-394
1-247	1-321	1-395
1-248	1-322	1-396
1-249	1-323	1-397
1-250	1-324	1-398
1-251	1-325	1-399
1-252	1-326	1-400
1-253	1-327	1-401
1-254	1-328	1-402

【表４－３】

1-255	1-329	1-403
1-256	1-330	1-404
1-257	1-331	1-405
1-258	1-332	1-406
1-259	1-333	1-407
1-260	1-334	1-408
1-261	1-335	1-409
1-262	1-336	1-410
1-263	1-337	1-411
1-264	1-338	1-412
1-265	1-339	1-413
1-266	1-340	1-414
1-267	1-341	1-415
1-268	1-342	

製造方法

【０２６１】

一実施形態では、発現、単離、精製およびリフォールディング（例えば、ＩＬ－１０送達構築物の）は、図２Ａに概要を示すプロセスに従って行われ得る。別の実施形態では、発現、単離、精製およびリフォールディング（例えば、ＩＬ－１０送達構築物の）は、図２Ｂに概要を示すプロセスに従って行われ得る。

【０２６２】

図２Ａのステップ２０１または図２Ｂのステップ３０１では、細胞は、ＩＬ－１０送達構築物をコードするプラスミドで細胞を形質転換することにより、配列番号５などのＩＬ－１０送達構築物を組換え発現するように操作され、培養される。一部の実施形態では、プラスミドは、細菌における発現のためのコドン改善配列である配列番号１０の配列（またはそれに対して少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％の配列同一性を有する配列）に対応する核酸を含む。プラスミドは、抗生物質耐性のマーカーをさらに含み得る。プラスミドが耐性を付与することができる抗生物質は、カナマイシン、アンピシリン、テトラサイクリン、またはクロラムフェニコールであり得る。一部の事例では、細胞は、細菌細胞である。細菌は、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉであり得る。形質転換細胞は、さらに拡大され得る。形質転換細胞の拡大は、クローン性拡大であり得る。拡大した細胞は、発酵のために生産バイオリアクターに移入され得る。発酵は、１５００Ｌバイオリアクターで行われ得る。一部の実施形態では、発酵は、プラスミドが耐性を付与する抗生物質の存在下で行われる。生産発酵は、細胞成長相、これに続く発現相を含み得る。発現相は、誘導剤としてのイソプロピルβ－Ｄ－１－チオガラクトピラノシド（ＩＰＴＧ）の使用を含み得る。ＩＬ－１０送達構築物は、不溶性封入体として細胞内に発現され得る。生産の終了時に、細胞は、遠心分離により回収され得る。この遠心分離により、細胞を含む第１のペレットが生成され得る。第１のペレットは、第１の緩衝液に再懸濁され得る。第１の緩衝液は、４０ｍＭ～６０ｍＭ、好ましくは５０ｍＭのＴｒｉｓを含み得る。第１の緩衝液は、７．５～８．５のｐＨの範囲であり、好ましくは８．０のｐＨであり得る。第１の緩衝液は、１５ｍＭ～２５ｍＭのＥＤＴＡ、好ましくは２０ｍＭのＥＤＴＡをさらに含み得る。第１のペレット中の細胞の第１の緩衝液に対する重量比は、１：４～１：６、好ましくは１：５であり得る。第１のペレットは、第１の緩衝液中で、均質混合物が得られるまで５０～７０分間、好ましくは６０分間、混合され得る。

【０２６３】

図２Ａのステップ２０２または図２Ｂのステップ３０２では、培養細胞は、例えば溶解することにより、破壊されて封入体を放出する。溶解することは、高圧均質化を含み得る

。高圧均質化は、マイクロフルイダイザーで行われ得る。高圧均質化は、１６，０００～２０，０００ｐｓｉ、または約１８，０００ｐｓｉで行われ得る。実質的にすべての細胞が溶解されたこと保証するために、２ラウンドの溶解が行われ得る。溶解細胞は、６０００ｒｐｍ～１０，０００ｒｐｍ、または約８０００ｒｐｍで遠心分離され得る。遠心分離は、３０～５０分、または約４０分間行われ得、第２のペレットが生成され得る。

【０２６４】

上清が除去され得、第２のペレットが第２の緩衝液に再懸濁され得る。第２の緩衝液は、４０ｍＭ～６０ｍＭ、好ましくは５０ｍＭのＴｒｉｓを含み得る。第２の緩衝液は、７．５～８．５のｐＨの範囲であり、好ましくは８．０のｐＨであり得る。第２の緩衝液は、１５ｍＭ～２５ｍＭのＥＤＴＡ、好ましくは２０ｍＭのＥＤＴＡをさらに含み得る。第２の緩衝液は、２％～３％、好ましくは２．５％のＴｒｉｏｎ　Ｘ－１００をさらに含み得る。第２の緩衝液は、４５０ｍＭ～５５０ｍＭ、好ましくは５００ｍＭのＮａＣｌをさらに含み得る。第２のペレットの第２の緩衝液に対する重量比は、１：４～１：６、好ましくは１：５であり得る。第２の緩衝液中の第２のペレットの再懸濁液は、６０００～１０，０００ｒｐｍ、または約８０００ｒｐｍで遠心分離され得る。遠心分離は、１５～２５分、または約２０分間行われ得、第３のペレットが生成され得る。

【０２６５】

上清が除去され得、第３のペレットが第３の緩衝液に再懸濁され得る。第３の緩衝液は、４０ｍＭ～６０ｍＭ、好ましくは５０ｍＭのＴｒｉｓを含み得る。第３の緩衝液は、７．５～８．５のｐＨの範囲であり、好ましくは８．０のｐＨであり得る。第３の緩衝液は、１５ｍＭ～２５ｍＭのＥＤＴＡ、好ましくは２０ｍＭのＥＤＴＡをさらに含み得る。第３のペレットの第３の緩衝液に対する重量比は、１：４～１：６、好ましくは１：５であり得る。第３の緩衝液中の第３のペレットの再懸濁液は、６０００～１０，０００ｒｐｍ、または約８０００ｒｐｍで遠心分離され得る。遠心分離は、１５～２５分、または約２０分間行われ得、第４のペレットが生成され得る。

【０２６６】

上清が除去され得、第４のペレットが第４の緩衝液に再懸濁され得る。第４の緩衝液は、４０ｍＭ～６０ｍＭ、好ましくは５０ｍＭのＴｒｉｓを含み得る。第４の緩衝液は、７．５～８．５のｐＨの範囲であり、好ましくは８．０のｐＨであり得る。第４のペレットの第４緩衝液に対する重量比は、１：４～１：６、好ましくは１：５であり得る。第４の緩衝液中の第４のペレットの再懸濁液は、６０００～１０，０００ｒｐｍ、または約８０００ｒｐｍで遠心分離され得る。遠心分離は、３５～５５分、または約４５分間行われ得、第５のペレットが生成され得る。第５のペレットは、ＩＬ－１０送達複合体を含む封入体を含み得る。ＩＬ－１０送達構築物を含む第５のペレットは、さらなる使用の前に凍結され得る。構築物は、－１５℃～－２５℃、好ましくは－２０℃で凍結され得る。

【０２６７】

図２Ａのステップ２０３または図２Ｂのステップ３０３では、ＩＬ－１０送達構築物を伴う封入体は、可溶化溶液を使用して可溶化される。可溶化溶液は、カオトロピック剤を含み得る。可溶化溶液は、カオトロピック剤を５Ｍ～８Ｍ、６Ｍ～７Ｍ、約６．６Ｍ、または約６Ｍの濃度で含み得る。カオトロピック剤は、グアニジン塩酸塩、尿素、またはこれらの組合せを含み得る。カオトロピック剤は、グアニジンの塩酸塩を含み得る。可溶化溶液は、Ｔｒｉｓをさらに含み得る。可溶化溶液は、Ｔｒｉｓを４０ｍＭ～６０ｍＭ、または約５０ｍＭの濃度で含み得る。可溶化溶液は、７～９のｐＨ、または約８であり得る。可溶化溶液は、細胞の溶解後に得られた１０の送達構築物を含むペレットに添加され得る。ＩＬ－１０送達構築物を含むペレットの可溶化溶液に対する比は、１：８～１：１２、または約１：１０（ｗ／ｗ）であり得る。可溶化により少なくともまたは約６０分間混合することができる。

【０２６８】

一部の実施形態では、図２Ａのステップ２０４に示されているように、ＩＬ－１０送達構築物は、亜硫酸分解剤または還元剤により修飾される。そのような修飾は、ステップ２

０３に示されているように封入体の可溶化と同時に、またはその後に行われ得る。一部の事例では、亜硫酸分解剤または還元剤は、封入体を可溶化溶液と接触させる前に可溶化溶液に添加される。そのような事例では、可溶化および亜硫酸分解／還元ステップは、同時に行われ得る。他の実施形態では、封入体が先ず可溶化溶液中で可溶化され、その後、亜硫酸分解剤または還元剤が添加される。別の言い方をすれば、亜硫酸分解または還元剤は、ＩＬ－１０送達構築物が実質的に可溶化した後に添加され得る。一部の実施形態では、亜硫酸分解剤は、亜硫酸ナトリウムを含む。例えば、一部の実施形態では、＿は、可溶化溶液に亜硫酸ナトリウムを添加することを含み得る。一部の実施形態では、３０ｍＭ～５０ｍＭ、３５ｍＭ～４５ｍＭ、３８ｍＭ～４２ｍＭ、または約４０ｍＭの亜硫酸ナトリウムが、可溶化溶液に添加される。一部の実施形態では、方法は、亜硫酸ナトリウムを含む可溶化溶液を２５～３５分間、またはより好ましくは約３０分間、インキュベートするステップを含む。亜硫酸ナトリウムを含む可溶化溶液をインキュベートするステップは、室温で行われ得る。次いで、四チオン酸カリウムが可溶化溶液に添加され得る。四チオン酸カリウムは、亜硫酸ナトリウムの添加後に可溶化溶液に添加され得る。一部の実施形態では、２３ｍＭ～４３ｍＭ、２８ｍＭ～３８ｍＭ、３１ｍＭ～３５ｍＭ、または約３３ｍＭの四チオン酸カリウムが、可溶化溶液に添加される。四チオン酸カリウムは、可溶化溶液と５５～６５分または約６０分間、混合され得る。この混合およびインキュベーションは、室温で行われ得る。ＤＴＴをジスルフィド結合の破壊に使用した場合に比べて、亜硫酸分解剤をジスルフィド結合の破壊に使用した場合に、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のより多い収量が得られ得る。例えば、亜硫酸分解剤の使用は、ＤＴＴが還元／破壊に使用された場合リフォールディング後に得られる収量よりも少なくとも２倍多い、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物の収量を、リフォールディング時にもたらすことができる。例えば、ＩＬ－１０送達構築物が還元のためにＤＴＴを使用して処理された場合、得られるＩＬ－１０送達構築物収量の５％未満が二量体形態であり得るが、その一方で、亜硫酸分解剤を使用して処理されたＩＬ－１０送達構築物は、得られるＩＬ－１０送達構築物収量の１０％より多くの二量体形態をもたらし得る。

【０２６９】

一部の実施形態では、図２Ａのステップ２０４は、必要に応じたものである（または明確に非存在である）。別の言い方をすれば、一部の実施形態では、可溶化ＩＬ－１０、ＩＬ－１０送達構築物、またはＩＬ－１０もしくはＩＬ－１０送達構築物を含有する可溶化封入体は、還元剤または亜硫酸分解剤での処理も、それとの接触もなく、処理される（例えば、清澄化される、濃縮される、および／またはリフォールディング溶液に送達される）（図２Ｂ）。言い換えれば、一部の実施形態では、封入体（ＩＢ）は、カオトロピック剤で可溶化され、その後、封入体を還元剤にも亜硫酸分解剤にも供せずにリフォールディング溶液（例えば、レドックスカクテル）に希釈される。

【０２７０】

方法は、清可溶化および／または還元ＩＬ－１０送達構築物を清澄化して、澄化ＩＬ－１０送達構築物を生成するステップ（図２Ａのステップ２０５または図２Ｂのステップ３０４）を含み得る。清澄化は、可溶化および亜硫酸分解の後の残留不溶性材料の除去を含み得、後続の下流の精製ステップの前に行われ得る。清澄化するステップは、深層濾過を含み得る。清澄化するステップは、一次清澄化を含み得る。一次清澄化は、可溶化および／または還元ＩＬ－１０送達構築物を、０．５μｍ～１０μｍ公称濾過精度を有するフィルターに通して濾過することを含み得る。清澄化するステップは、二次清澄化を含み得る。二次清澄化は、一次清澄化後に行われ得る。二次清澄化は、可溶化および／または還元ＩＬ－１０送達構築物を、０．２μｍ～２μｍ公称濾過精度を有するフィルターなどのフィルターに通して濾過することを含み得る。方法は、可溶化および／または還元ＩＬ－１０送達構築物の滅菌濾過を行うステップをさらに含み得る。滅菌濾過は、０．１μｍ～０．３μｍの細孔径を有するフィルターによる濾過を含み得る。フィルターは、カプセルフィルターであり得る。滅菌濾過を行うステップは、清澄化するステップの後に行われ得る。

【０２７１】
方法は、清澄化ステップとリフォールディングステップの間に接線流濾過ステップを行うことを含み得る。清澄化ステップとリフォールディングステップの間の接線流濾過ステップは、図２Ａのステップ２０６の第１の接線流濾過（ＴＦＦ－１）を含み得る。方法は、可溶化および／または還元ＩＬ－１０送達構築物の清澄化ステップとリフォールディングステップの間に接線流濾過ステップを行うことを含み得る。一部の実施形態では、亜硫酸分解剤が使用されない場合、方法は、清澄化ステップとリフォールディングステップの間に接線流濾過ステップを含まない（図２Ｂ）。別の言い方をすれば、一部の実施形態では、ステップ２０６は、ステップ２０５も非存在である場合には明確に非存在である（図２Ａ）。

【０２７２】
一部の場合には、亜硫酸分解剤も還元剤も使用しない精製は、亜硫酸分解または還元剤を使用する可溶化と比較してより高いＩＬ－１０送達構築物二量体パーセンテージを生じさせる。一部の場合には、亜硫酸分解剤も還元剤も使用しない精製は、亜硫酸分解によるまたは還元剤を用いる可溶化と比較してより多いＩＬ－１０送達構築物収量を生じさせる。一部の場合には、亜硫酸分解も還元剤も使用しない精製は、亜硫酸分解または還元剤を使用する可溶化と比較してより少ないＩＬ－１０送達構築物ＨＭＷ凝集体を生じさせる。

【０２７３】
さらに、一部の実施形態では、亜硫酸分解剤も還元剤も使用しない精製は、清澄化ステップとリフォールディングステップの間に接線流濾過ステップを必要とせず、精製プロセスを約１または２日短縮することができる。清澄化ステップとリフォールディングステップの間に接線流濾過ステップを行わないことで、清澄化ステップとリフォールディングステップの間に亜硫酸分解および接線流濾過ステップを含む精製プロセスと比べて精製ＩＬ－１０送達構築物の１０％～４０％、１０％～１５％、１５％～３０％、または３０％～３５％の損失を防止することができる。

【０２７４】
清澄化ステップとリフォールディングステップの間の第１の接線流濾過ステップは、清澄化ステップの後に行われ得る。清澄化ステップとリフォールディングステップの間の接線流濾過ステップは、可溶化および／または還元ＩＬ－１０送達構築物の滅菌濾過の後に行われ得る。清澄化ステップとリフォールディングステップの間の接線流濾過ステップは、限外濾過を含み得る。限外濾過は、１５ｍｇ／ｍＬ～２５ｍｇ／ｍＬ、１８ｍｇ／ｍＬ～２２ｍｇ／ｍＬ、または約２０ｍｇ／ｍＬへのＩＬ－１０送達構築物の濃縮を含み得る。限外濾過は、１０～２０ｐｓｉ、１２～１８ｐｓｉ、または約１５ｐｓｉの膜間圧（ＴＭＰ）で行われ得る。清澄化ステップとリフォールディングステップの間の接線流濾過ステップは、透析濾過を含み得る。透析濾過は、限外濾過の後に行われ得る。清澄化ステップとリフォールディングステップの間の接線流濾過ステップは、限外濾過および透析濾過（ＵＦ／ＤＦ）を含み得る。透析濾過は、第１のダイアボリューム、第２のダイアボリューム、第３のダイアボリューム、第４のダイアボリューム、および第５のダイアボリュームを含み得る。第１のダイアボリューム、第２のダイアボリューム、第３のダイアボリューム、第４のダイアボリューム、および第５のダイアボリュームは、緩衝液を含み得る。緩衝液は、カオトロピック剤を含み得る。緩衝液は、３．５Ｍ～４．５Ｍ、好ましくは４Ｍのカオトロピック剤を含み得る。カオトロピック剤は、グアニジンＨＣｌであり得る。緩衝液は、Ｔｒｉｓを含み得る。緩衝液は、４０ｍＭ～６０ｍＭ、好ましくは５０ｍＭのＴｒｉｓを含み得る。緩衝液は、７～８．５のｐＨを有し得る。透析濾過は、１０～２０ｐｓｉ、１２～１８ｐｓｉ、または約１５ｐｓｉの膜間圧（ＴＭＰ）で行われ得る。

【０２７５】
方法は、可溶化および／または還元ＩＬ－１０送達構築物をリフォールディング溶液と接触させて、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物を生成するステップ（図２Ａのステップ２０７または図２Ｂのステップ３０５）を含み得る。可溶化および／または還元ＩＬ－１０送達構築物は、可溶化および／または還元ＩＬ－１０送達構築物の清澄化

ステップとリフォールディングステップの間の接線流濾過ステップの後に得られる保持液中にあり得る。リフォールディング溶液は、還元型グルタチオンおよび酸化型グルタチオンを含み得る。還元型グルタチオンの酸化型グルタチオンに対する比（ｗ／ｗ）は、０．８：１～１．２：１、好ましくは１：１であり得る。還元型グルタチオンの酸化型グルタチオンに対するモル比は、０．８：２～１．１：２、好ましくは１：２であり得る。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、０．７５ｍＭ～１．５ｍＭ、好ましくは１．０ｍＭの還元型グルタチオンを含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、０．２５ｍＭ～０．７５ｍＭ、好ましくは０．５ｍＭの酸化型グルタチオンを含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、アルギニン、スクロース、Ｔｒｉｓ、ＥＤＴＡ、またはこれらの組合せを含む。リフォールディング溶液は、９００ｍＭ～１．１Ｍ、好ましくは１Ｍのアルギニンを含み得る。一部の実施形態では、アルギニンは、アルギニン－ＨＣｌである。リフォールディング溶液は、２００ｍＭ～３００ｍＭ、好ましくは２５０ｍＭのスクロースを含み得る。リフォールディング溶液は、７５ｍＭ～１２５ｍＭ、好ましくは１００ｍＭのＴｒｉｓを含み得る。Ｔｒｉｓは、約８．５のｐＨを有し得る。リフォールディング溶液は、１．７５ｍＭ～２．２５ｍＭ、好ましくは２ｍＭのＥＤＴＡを含み得る。一部の実施形態では、リフォールディング溶液は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）を含む。一部の実施形態では、リフォールディング溶液の０．１％～０．３％（ｗ／ｗ）、好ましくは０．２％は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）である。ＰＥＧは、ＰＥＧ　３３５０であり得る。リフォールディング溶液は、約７．５～約８．５のｐＨを含み得る。リフォールディング溶液は、約８．０のｐＨを含み得る。リフォールディング溶液は、約８．５のｐＨを含み得る。清澄化ステップとリフォールディングステップの間の接線流濾過ステップの後に得られた保持液は、０．８ｍｇ／ｍＬ～１．２ｍｇ／ｍＬ、好ましくは１ｍｇ／ｍＬのＩＬ－１０送達構築物の標的濃度に達するように、５０～７０分、好ましくは６０分にわたってリフォールディング溶液と混合され得る。後続の、リフォールディング溶液と接触させるステップは、１２時間～１８時間行われ得る。リフォールディング溶液と接触させるステップは、少なくとも１６時間行われ得る。リフォールディング溶液は、接触させるステップ中は２℃～８℃、または約４℃の温度であり得る。リフォールディング溶液は、接触させるステップの前に２℃～８℃の温度にまたは約４℃で予冷され得る。接触させるステップによって、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物が生成され得る。

【０２７６】

方法は、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物の第１の滅菌濾過するステップを行うことを含み得る。第１の滅菌濾過するステップは、０．１μｍ～０．３μｍ、好ましくは０．２μｍの細孔径を有するフィルターによる濾過を含み得る。フィルターは、カプセルフィルターであり得る。リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物の第１の滅菌濾過するステップは、リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップの前に行われ得る。

【０２７７】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物二量体は、緩衝液中で、例えば２５℃で２日間、保管され得る。そのような緩衝液は、ｐＨ７．０の１０ｍＭリン酸ナトリウムで緩衝された１５０ｍＭまたは２００ｍＭ　ＮａＣｌである１×ＰＢＳなどの、塩を含み得る。ＩＬ－１０送達構築物二量体は、ｐＨ７．０の１０ｍＭリン酸ナトリウムのみを含む緩衝液中でよりも、ｐＨ７．０の１０ｍＭリン酸ナトリウムで緩衝された１５０ｍＭまたは２００ｍＭ　ＮａＣｌである１×ＰＢＳなどの、塩を含む緩衝液中で保管されたときのほうが、安定性であり得る。

【０２７８】

方法は、リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間に接線流濾過ステップを行うことを含み得る。リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップは、図２Ａのステップ２０８の第２の接線流濾過（ＴＦＦ－２）、または図２Ｂのステップ３０６

の第１の接線流濾過（ＴＦＦ－１）を含み得る。リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップは、第１の滅菌濾過するステップの後に行われ得る。リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップは、限外濾過を含み得る。限外濾過は、１０～２０ｐｓｉ、１２～１８ｐｓｉ、または約１５ｐｓｉの膜間圧（ＴＭＰ）で行われ得る。リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップは、透析濾過を含み得る。透析濾過は、限外濾過の後に行われ得る。リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップは、限外濾過および透析濾過（ＵＦ／ＤＦ）を含み得る。透析濾過は、第１のダイアボリューム、第２のダイアボリューム、第３のダイアボリューム、および第４のダイアボリュームを含み得る。第１のダイアボリュームおよび第２のダイアボリュームは、低温緩衝液（例えば、２～８度Ｃ、または約４℃）を含み得る。第３のダイアボリュームおよび第４のダイアボリュームは、室温緩衝液を含み得る。低温緩衝液および室温緩衝液は、ＴｒｉｓおよびＮａＣｌを含み得る。Ｔｒｉｓは、２０ｍＭ～３０ｍＭ、好ましくは２５ｍＭの濃度であり得る。ＮａＣｌは、７５ｍＭ～１２５ｍＭ、好ましくは１００ｍＭの濃度であり得る。低温緩衝液および室温緩衝液は、７～８、好ましくは７．５のｐＨであり得る。リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップの後に得られた保持液は、一晩、室温で保持され得る。リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップの後に得られた保持液は、一晩、２℃～８℃、または約４℃で保持され得る。リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップの後に得られた保持液は、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物を含み得る。

【０２７９】

方法は、リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物の第２の滅菌濾過するステップを行うことを含み得る。第２の滅菌濾過するステップは、リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップの後に得られた保持液を、０．１μｍ～０．３μｍの細孔径を有するフィルターに通して濾過することを含み得る。フィルターは、カプセルフィルターであり得る。リフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物の第２の滅菌濾過するステップは、リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップの後に行われ得る。

【０２８０】

一部の実施形態では、リフォールディングステップから始まり、リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップを含む、方法のステップは、２℃～８℃、または３℃～５℃の温度で行われる。一部の実施形態では、リフォールディングステップから始まり、リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップを含む、方法のステップは、約４℃の温度で行われる。方法は、リフォールディングステップと陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーステップの間の接線流濾過ステップの後に得られた保持液についての陰イオン交換（ＡＥＸ）クロマトグラフィーを行うステップ（図２Ａのステップ２０９または図２Ｂのステップ３０７）を含み得る。ＡＥＸクロマトグラフィーを行うステップは、ＩＬ－１０送達構築物二量体を陰イオン交換カラムに結合させること、そしてその後、ＩＬ－１０送達構築物二量体を陰イオン交換カラムから溶離することを含み得る。ＩＬ－１０送達構築物のプールについてのＡＥＸクロマトグラフィーを行うステップは、それによってＩＬ－１０送達構築物の第１の複数の画分を生成することができる。ＡＥＸクロマトグラフィーは、Ｃａｐｔｏ（商標）Ｑ　ＩｍｐＲｅｓであり得る。

【０２８１】

第１の複数の画分の各画分中の二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージは、例えば、サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）、例えばサイズ排除高速液体クロマ

トグラフィー（ＳＥ－ＨＰＬＣ）を使用して、決定される。二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージは、第１の閾値と比較され得る。第１の閾値は、７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、または少なくとも９０％であり得る。好ましくは、第１の閾値は、７５％であり得る。閾値よりも高いパーセンテージのＩＬ－１０送達構築物二量体を含有するあらゆる画分が、第１の富化プールにプールされ得る。

【０２８２】

方法は、第１の富化プールについてのセラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）クロマトグラフィーステップを行うこと（図２Ａのステップ２１０または図２Ｂのステップ３０８）を含み得る。第１の富化プールについてのＣＨＴクロマトグラフィーを行うステップは、それによって二量体形態のＩＬ－１０送達構築物の第２の複数の画分を生成することができる。一部の実施形態では、第２の複数の画分中のＩＬ－１０送達構築物の濃度は、約１５ｍｇ／ｍＬ～約２５ｍｇ／ｍＬまたは約２０ｍｇ／ｍＬである。一部の実施形態では、方法は、陽イオン交換クロマトグラフィーを含まない。一部の実施形態では、方法は、ゲル濾過クロマトグラフィーを含まない。

【０２８３】

第２の複数の画分の各画分中の二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージは、例えば、サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）、例えばサイズ排除高速液体クロマトグラフィー（ＳＥ－ＨＰＬＣ）を使用して、決定される。二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージは、第２の閾値と比較され得る。第２の閾値は、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％であり得る。好ましくは、第２の閾値は、８０％であり得る。閾値より高いもパーセンテージのＩＬ－１０送達構築物二量体を含有するあらゆる画分が、第２の富化プールにプールされ得る。第２の富化プール中のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージは、第１の富化プール中のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージよりも高くなり得る。第２の富化プールは、８０％を超える、８５％を超える、または９０％を超える、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物を含み得る。

【０２８４】

方法は、第２の富化プールの第１の滅菌濾過するステップを含み得る。第２の富化プールの第１の滅菌濾過するステップは、０．１μｍ～０．３μｍの細孔径を有するフィルターなどのフィルターによる濾過を含み得る。フィルターは、カプセルフィルターであり得る。

【０２８５】

方法は、セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーステップの後に接線流濾過ステップを行うことを含み得る。セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーステップの後の接線流濾過ステップは、図２Ａのステップ２１１の第３の接線流濾過（ＴＦＦ－３）、または図２Ｂのステップ３０９の第２の接線流濾過（ＴＦＦ－２）を含み得る。セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーステップの後の接線流濾過ステップは、限外濾過を含み得る。限外濾過は、１０～２０ｐｓｉ、１２～１８ｐｓｉ、または約１５ｐｓｉの膜間圧（ＴＭＰ）で行われ得る。セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーステップの後の接線流濾過ステップは、透析濾過を含み得る。透析濾過は、限外濾過の後に行われ得る。セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーステップの後の接線流濾過ステップは、限外濾過および透析濾過（ＵＦ／ＤＦ）を含み得る。透析濾過は、第１のダイアボリューム、第２のダイアボリューム、第３のダイアボリューム、第４のダイアボリューム、および第５のダイアボリュームを含み得る。第１のダイアボリューム、第２のダイアボリューム、第３のダイアボリューム、第４のダイアボリューム、および第５のダイアボリュームは、緩衝液を含み得る。緩衝液は、凍結乾燥緩衝液であり得る。緩衝液は、塩、増量剤、および浸透圧調節物質を含み得る。緩衝液は、８ｍＭ～１２ｍＭ、好ましくは１０ｍＭの塩を含み得る。緩衝液は、１％～３％、好ましくは２％の増量剤を含み得る。緩衝液は、０．５％～１．５％、好ましくは１％の浸透圧調節物

質を含み得る。塩は、リン酸カリウムであり得る。増量剤は、グリシンであり得る。浸透圧調節物質は、スクロースであり得る。方法は、第２の滅菌濾過するステップを含み得る。第２の滅菌濾過するステップは、透析濾過の後に行われ得る。方法は、界面活性剤を緩衝液に添加するステップを含み得る。界面活性剤は、第２の滅菌濾過するステップの後に添加され得る。緩衝液への界面活性剤の添加後、緩衝液は、０．２％～０．４％、好ましくは０．３％の界面活性剤を含み得る。界面活性剤は、ポロキサマーであり得る。ポロキサマーは、ポロキサマー１８８であり得る。一部の実施形態では、緩衝液のリフォールディングされたＩＬ－１０送達構築物との混合物は、本明細書における前述の液体組成物であり得る。セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーステップの後の接線流濾過ステップは、第２の富化プールの第１の滅菌濾過するステップの後に行われ得る。方法は、第２の富化プールの第２の滅菌濾過するステップを行うことを含み得る。第２の滅菌濾過するステップは、０．１μｍ～０．３μｍ、好ましくは０．２μｍの細孔径を有するフィルターなどの、フィルターによる濾過を含み得る。フィルターは、カプセルフィルターであり得る。第２の滅菌濾過するステップは、セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーステップの後の接線流濾過ステップの後に行われ得る。第３の接線流濾過の後に得られた保持液は、－７０℃～－９０℃、好ましくは－８０℃で凍結され得る。セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーステップの後の接線流濾過ステップの後に得られる保持液は、本明細書に記載の液体組成物であり得る。第３の接線流濾過の後に得られる保持液は、８０％を超える、８５％を超える、または９０％を超える、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物を含み得る。

【０２８６】

一部の場合には、方法は、陽イオン交換クロマトグラフィーを、例えばＳｕｌｆａｔｅ６５０Ｆカラムを用いて、行うステップを含み得る。陽イオン交換クロマトグラフィーステップは、陰イオン交換クロマトグラフィーステップおよびセラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）精製ステップの後、陰イオン交換クロマトグラフィーステップおよびセラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）精製ステップの前、または陰イオン交換クロマトグラフィーステップとセラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）精製ステップの間に行われ得る。実施例３９および表６１で示されるように、陽イオン交換クロマトグラフィーステップ、続いて陰イオン交換クロマトグラフィーステップおよびセラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）精製ステップを行うことにより、９６％の純度を有するＩＬ－１０送達構築物二量体の回収率２０％が得られた。

経口製剤

【０２８７】

高レベルの二量体形態のＩＬ－１０を（単独でであろうと、またはＩＬ－１０送達構築物の一部としてであろうと）含む本明細書における溶液を経口投与のためにさらに処理することができる。

【０２８８】

先ず、そのような溶液を、溶液中のＩＬ－１０送達構築物の濃縮を含まないプロセスにより乾燥させて、ＩＬ－１０／ＩＬ－１０送達構築物組成物の乾燥または固体形態を生成することができ、そのようなプロセスの例としては、凍結乾燥（フリーズドライ（ＦＤ））または噴霧乾燥（ＳＤ）が挙げられる。フリーズドライは、Ｉｎｔｅｌｌｉｔｒｏｎｉｃｓソフトウェアを搭載したＶｉｒｔｉｓ　Ａｄｖａｎｔａｇｅマニホールド凍結乾燥機を使用して行うことができる。凍結した治療用タンパク質製剤を収容しているガラスバイアルを、ネオプレン凍結乾燥ストッパー（ｌｙｏ－ｓｔｏｐｐｅｒ）で半打栓し、次いで、凍結乾燥マニホールド（ｌｙｏ　ｍａｎｉｆｏｌｄ）に接続された広口瓶の中に真空下（例えば、１～１００ミリトル、またはそれ未満）で約１２～４８時間、入れておくことができる。凍結乾燥組成物を使用して、カプセル剤または錠剤製剤を製造することができる。一部の実施形態では、凍結乾燥組成物中のＩＬ－１０の８０％より多く、８５％より多く、または９０％より多くが、二量体形態である。

【０２８９】

ＩＬ－１０を含む製剤を、本明細書に記載の製剤で小腸または結腸に送達することができる。製剤を経口でまたは直腸に送達することができる。一部の実施形態では、そのような製剤は、他の製剤であったならＩＬ－１０の十分な治療可能性の実現を妨げ得る腸上皮細胞バリアを、構築物が（例えば、トランスサイトーシスによって）横断するのを助長することができる。さらに、経口経路による直接消化器組織へのＩＬ－１０の標的化送達は、全身投与で経験される副作用を回避することができ、より高い粘膜濃度、ならびに炎症および疾患の臨床的に意味がある軽減につながり得る。

【０２９０】

ＧＩ管における標的化放出のための被覆された経口製剤

【０２９１】

治療用ペイロードと１つまたは複数の賦形剤とを含む経口製剤であって、対象の消化（ＧＩ）管内のある特定の領域への任意のペイロードの選択的送達を可能にする改善された放出プロファイルをもたらす経口製剤が、本明細書では企図される。好ましくは、経口製剤は、回腸終端部、近位結腸または遠位結腸における治療用ペイロードの部位特異的放出用に構成される。実施例１３は、ＧＩ管における部位特異的放出用に構成された、被覆された経口製剤を記載する。

【０２９２】

本明細書で企図されるペイロードは、治療用、診断用およびイメージングを含む、任意の種類のものであり得る。ペイロードは、送達構築物の一部であり得る。送達構築物は、異種ペイロードに連結している担体を含み得る。ペイロードを担体に共有結合でまたは非共有結合で、直接または間接的に連結することができる。共有結合で付着させる場合、ペイロードを担体に直接またはスペーサーを介して付着させることができる。一実施形態では、ペイロードは、治療用タンパク質、例えば、ＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物（例えば、本明細書に記載のＩＬ－１０送達構築物）であるが、本明細書における開示は、いずれの治療用タンパク質にも、担体にも、ペイロードにも限定されない。

【０２９３】

治療用タンパク質などのペイロードの、下部ＧＩ管への送達のための経口製剤は、約５．５～約８．０の範囲のｐＨを有する小腸または結腸に見られるｐＨで溶解するように構成された被覆を伴うカプセル剤または錠剤を含み得る。一部の実施形態では、被覆は、約１．５～約３．５のｐＨの範囲であり得る胃の高酸性ｐＨでは溶解しないように構成される。

【０２９４】

本明細書における経口製剤は、ペイロードをそれ程放出せずに胃を通過するように構成され得る。ペイロードの放出は、ペイロードを含むカプセル剤または錠剤上の少なくとも１つの被覆の完全または部分的溶解の後に起こり得る。ペイロードの放出は、カプセル剤または錠剤が無傷に見えることがあるような微視的損傷を含む、カプセル剤または錠剤への損傷の後に起こり得る。一部の実施形態では、経口製剤は、胃においてペイロードの約５％未満、約４％未満、約３％未満、約２％未満、約１％未満、または０％を放出するように構成される。一部の実施形態では、経口製剤は、小腸または結腸内の特定の領域、例えば、回腸終端部、近位結腸および遠位結腸においてペイロードを放出するように構成される。回腸終端部、すなわち小腸の遠位端は、結腸と交差しており、この位置の炎症は、多くの場合、クローン病などのＧＩ障害に関連し得る。したがって、抗炎症特性を有する治療用ペイロードの回腸終端部における部位特異的放出は、そのような障害を処置する方法として望ましものであり得る。経口製剤を、約６．５～約７．０のｐＨの溶液への２～８時間の曝露時に治療用ペイロードの約２０％～１００％を放出するように構成することができる。溶液は、適切なｐＨのクエン酸／リン酸緩衝液であり得る。溶液は、消化液であり得る。消化液は、胃酸、腸液（ｉｎｔｅｓｔｉｎａｌ　ｊｕｉｃｅ）（腸液（ｓｕｃｃｕｓ　ｅｎｔｅｒｉｃｕｓ））、またはこれらの組合せであり得る。消化液は、消化酵素を含み得る。消化液は、胃、小腸、結腸、またはこれらの組合せにおいて見出すことができる。

【０２９５】
一部の実施形態では、経口製剤は、約６．９～約７．１のｐＨ、好ましくは７．０のｐＨの溶液への２～８時間の曝露時に治療用ペイロードの８０％～１００％を放出するように構成される。経口製剤を、約６．９～約７．１のｐＨ、好ましくは７．０のｐＨの溶液への２時間の曝露時に治療用ペイロードの７５％～１００％、７５％～８５％、または８５％～９５％を放出するように構成することができる。経口製剤を、約６．９～約７．１のｐＨ、好ましくは７．０のｐＨの溶液への２時間の曝露時に治療用ペイロードの少なくとも８０％、８５％、９０％または９５％を放出するように構成することができる。一部の場合には、溶液への曝露は、３７℃で行われ得る。
【０２９６】
一部の実施形態では、経口製剤は、約６．９～約７．１のｐＨ、好ましくは７．０のｐＨの溶液への２～８時間の曝露時にＩＬ－１０の８０％～１００％を放出するように構成される。経口製剤を、約６．９～約７．１のｐＨ、好ましくは７．０のｐＨの溶液への２時間の曝露時にＩＬ－１０の７５％～１００％、７５％～８５％、または８５％～９５％を放出するように構成することができる。経口製剤を、約６．９～約７．１のｐＨ、好ましくは７．０のｐＨの溶液への２時間の曝露時にＩＬ－１０の少なくとも８０％、８５％、９０％または９５％を放出するように構成することができる。一部の場合には、溶液への曝露は、３７℃で行われ得る。
【０２９７】
一部の実施形態では、経口製剤は、約６．４～約６．６のｐＨ、好ましくは６．５のｐＨの溶液への約２～８時間の曝露時に治療用ペイロードの５０％～１００％を放出するように構成される。経口製剤を、約６．４～約６．６のｐＨ、好ましくは６．５のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時に治療用ペイロードの５０％～９５％、６０％～７０％、または７５％～９０％を放出するように構成することができる。経口製剤を、約６．４～約６．６のｐＨ、好ましくは６．５のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時に治療用ペイロードの少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、または９０％を放出するように構成することができる。一部の場合には、溶液への曝露は、３７℃で行われ得る。
【０２９８】
一部の実施形態では、経口製剤は、約６．４～約６．６のｐＨ、好ましくは６．５のｐＨの溶液への約２～８時間の曝露時にＩＬ－１０の５０％～１００％を放出するように構成される。経口製剤を、約６．４～約６．６のｐＨ、好ましくは６．５のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時にＩＬ－１０の５０％～９５％、６０％～７０％、または７５％～９０％を放出するように構成することができる。経口製剤を、約６．４～約６．６のｐＨ、好ましくは６．５のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時にＩＬ－１０の少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、または９０％を放出するように構成することができる。一部の場合には、溶液への曝露は、３７℃で行われ得る。
【０２９９】
一部の実施形態では、経口製剤は、約５．９～約６．１のｐＨ、好ましくは６．０のｐＨの溶液への約２～８時間の曝露時に治療用ペイロードの２０％～１００％を放出するように構成される。経口製剤を、約５．９～約６．１のｐＨ、好ましくは６．０のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時に治療用ペイロードの２０％～８０％、または２０％～３０％を放出するように構成することができる。経口製剤を、約５．９～約６．１のｐＨ、好ましくは６．０のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時に治療用ペイロードの少なくとも２０％、２５％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、または９５％を放出するように構成することができる。一部の場合には、溶液への曝露は、３７℃で行われ得る。
【０３００】
一部の実施形態では、経口製剤は、約５．９～約６．１のｐＨ、好ましくは６．０のｐＨの溶液への約２～８時間の曝露時にＩＬ－１０の２０％～１００％を放出するように構

成される。経口製剤を、約５．９～約６．１のｐＨ、好ましくは６．０のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時にＩＬ－１０の２０％～８０％、または２０％～３０％を放出するように構成することができる。経口製剤を、約５．９～約６．１のｐＨ、好ましくは６．０のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時にＩＬ－１０の少なくとも２０％、２５％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、または９５％を放出するように構成することができる。一部の場合には、溶液への曝露は、３７℃で行われ得る。

【０３０１】

経口製剤は、固体であり得る。経口製剤は、凍結乾燥組成物または噴霧乾燥組成物を含み得る。凍結乾燥組成物または噴霧乾燥組成物は、治療用タンパク質および１つまたは複数の賦形剤を含み得る。凍結乾燥組成物または噴霧乾燥組成物は、粉末であり得る。凍結乾燥組成物または噴霧乾燥組成物は、微小粒子を含み得る。微小粒子は、約１μｍ～約５００μｍ、約５μｍ～約２５０μｍ、約５μｍ～約１００μｍ、約５μｍ～約５０μｍ、または約５μｍ～約１５μｍの直径を有し得る。凍結乾燥組成物または噴霧乾燥組成物は、顆粒を含み得る。固体経口製剤は、カプセル剤であり得る。カプセル剤は、凍結乾燥組成物を封入することができる。固体経口製剤は、錠剤であり得る。経口製剤は、単位用量形態であり得る。

【０３０２】

経口製剤は、約１ｍｇ～約５ｍｇ、約１ｍｇ～約１０ｍｇ、約１ｍｇ～約２０ｍｇ、約２０ｍｇ～約５０ｍｇ、約２０ｍｇ～約１００ｍｇ、または約５０ｍｇ～約１００ｍｇの治療用タンパク質を含み得る。経口製剤は、約１ｍｇ、５ｍｇ、または２０ｍｇの治療用タンパク質を含み得る。一部の実施形態では、凍結乾燥組成物の約３２％～約４２％（ｗ／ｗ）は、治療用タンパク質である。

【０３０３】

１つまたは複数の賦形剤は、界面活性剤、浸透圧調節物質、増量剤、塩、またはこれらの組合せを含み得るか、それから本質的になり得るか、またはそれからなり得る。１つまたは複数の賦形剤は、リン酸カリウム、グリシン、スクロースおよびポロキサマー１８８を含み得るか、それらから本質的になり得るか、またはそれらからなり得る。１つまたは複数の賦形剤は、圧縮成形用賦形剤をさらに含み得る。

【０３０４】

一部の実施形態では、１つまたは複数の賦形剤は、浸透圧調節物質であり得る。浸透圧調節物質は、タンパク質を含む医薬製剤においてタンパク質の安定性を向上させ、タンパク質凝集を減少させるために使用され得る。浸透圧調節物質は、アミノ酸（例えば、プロリンまたはグリシン）、メチル－アミン（例えば、ベタインまたはトリメチルアミン－Ｎ－オキシド）、またはポリオールもしくは糖（例えば、ソルビトールまたはスクロース）であり得る。浸透圧調節物質は、スクロース、トレハロース、グリシン、マンニトール、ヒスチジン、デキストロース（ｄｅｘｔｏｓｅ）／デキストラン、アルギニン、マルトース、ソルビトール、タウリン、グリシンベタイン、サルコシン、ラフィノース、グリセロール、プロリン、フルクタン、Ｌ－グルタメート、ラクトース、またはこれらの組合せであり得る。浸透圧調節物質は、スクロースであり得る。経口製剤は、約０．３：１～約０．７：１、約０．４：１～約０．６：１、約０．４５：１～約０．５５：１、約０．４９：１～約０．５１：１、またはより好ましくは約０．５：１の、浸透圧調節物質の治療用タンパク質に対する重量比を含み得る。一部の実施形態では、凍結乾燥組成物の約１５％～約２１％（ｗ／ｗ）は、浸透圧調節物質である。

【０３０５】

一部の実施形態では、１つまたは複数の賦形剤は、界面活性剤を含み得る。界面活性剤は、タンパク質を含む固体経口製剤、例えば、カプセル剤または錠剤において、固体経口製剤の崩壊を増進するおよびタンパク質の溶解度を上昇させるために使用され得る。界面活性剤は、ポリソルベート８０、ポリソルベート２０、ポロキサマー１８８、またはこれらの組合せであり得る。経口製剤は、約０．１：１～約０．１９：１、約０．１２：１～約０．１８：１、約０．１４：１～約０．１６：１、またはより好ましくは約０．１５：

１の、界面活性剤の治療用タンパク質に対する重量比を含み得る。一部の実施形態では、凍結乾燥組成物の約４．５％～約６．５％（ｗ／ｗ）は、界面活性剤である。界面活性剤は、非イオン性コポリマーであり得る。非イオン性コポリマーは、２本のポリオキシエチレン鎖が両側にある中央のポリオキシプロピレン鎖を含み得る。非イオン性コポリマーは、ポロキサマーであり得る。本明細書に記載の組成物における賦形剤としてのポロキサマーの使用は、ポリソルベートなどの他の界面活性剤の使用と比べて、ＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物の二量体化を促進または維持することができる。

【０３０６】

ポロキサマーは、１６００ｇ／ｍｏｌ～２０００ｇ／ｍｏｌの分子量のポリオキシプロピレンを含み得る。ポロキサマーは、７０％～９０％ポリオキシエチレンを含み得る。ポロキサマーは、ポロキサマー１８８であり得る。一部の実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート８０（例えば、Ｔｗｅｅｎ（登録商標）　８０）またはポリソルベート２０（例えば、Ｔｗｅｅｎ（登録商標）　２０）などのポリソルベートではない。ポロキサマーを賦形剤として含むＩＬ－１０送達構築物組成物は、ポリソルベートを賦形剤として含むＩＬ－１０送達構築物組成物と比べて、より多くの量の二量体形態のＩＬ－１０を有し得る。ポロキサマーを賦形剤として含むＩＬ－１０送達構築物組成物は、ポリソルベートを賦形剤として含むＩＬ－１０送達構築物組成物と比べて、減少量の凝集体または単量体形態のＩＬ－１０を有し得る。

【０３０７】

１つまたは複数の賦形剤は、塩を含み得る。塩は、リン酸カリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化マグネシウム、硫酸ナトリウム、またはこれらの組合せであり得る。塩は、リン酸カリウムであり得る。経口製剤は、約０．０３：１～約０．１：１、約０．０５：１～約０．０９：１、約０．０６：１～約０．０８：１、またはより好ましくは約０．０７：１の、塩の治療用タンパク質に対する重量比を有し得る。一部の実施形態では、凍結乾燥組成物の約２％～約３％（ｗ／ｗ）は、塩である。

【０３０８】

１つまたは複数の賦形剤は、水酸化ナトリウムを含み得る。経口製剤は、約０．０３：１～約０．１：１、約０．０５：１～約０．０９：１、約０．０６：１～約０．０８：１、またはより好ましくは約０．０７：１の、水酸化ナトリウムの治療用タンパク質に対する重量比を有し得る。一部の実施形態では、凍結乾燥組成物の約２％～約３％（ｗ／ｗ）は、水酸化ナトリウムである。

【０３０９】

一部の実施形態では、１つまたは複数の賦形剤は、増量剤を含み得る。増量剤は、製造しやすくするために経口製剤のサイズを増加させるために使用され得る。増量剤は、デンプン、ラクトース、デキストリン、グルコース、スクロース、ソルビトール、ラフィノース、トレハロース、グリシン、マンニトール、またはこれらの組合せであり得る。増量剤は、グリシンであり得る。経口製剤は、約０．７：１～約１．３：１、約０．８：１～約１．２：１、約０．９：１～約１．１：１、またはより好ましくは約１：１の、増量剤の治療用タンパク質に対する重量比を含み得る。一部の実施形態では、凍結乾燥組成物の約３２％～約４２％（ｗ／ｗ）は、増量剤である。一部の実施形態では、緩衝剤は、浸透圧調節物質である。

【０３１０】

凍結乾燥組成物を約２℃～約８℃で保管することができる。凍結乾燥組成物を約－１５℃～約－２５℃で保管することができる。凍結乾燥組成物は、約２℃～約８℃で、周囲相対湿度で、少なくとも１２カ月、安定性であり得る。一部の実施形態では、治療用タンパク質が二量体形態である場合、凍結乾燥組成物は、約２℃～約８℃で１年の保管後に治療用タンパク質二量体の量の減少が１％、２％、３％、４％、５％、１０％、２０％または２５％以下であれば安定性である。一部の実施形態では、治療用タンパク質が二量体形態である場合、凍結乾燥組成物は、約－１５℃～約－２５℃で１年の保管後に治療用タンパク質二量体の量の減少が１％、２％、３％、４％、５％、１０％、２０％または２５％以

下であれば安定性である。一部の実施形態では、凍結乾燥組成物は、本明細書に記載の経口製剤を製造するために錠剤に圧縮成形されるかまたはカプセルに充填される。

【０３１１】

本明細書において、ある特定の実施形態では、治療用タンパク質と１つまたは複数の賦形剤とを含む液体組成物であって、本明細書に記載の凍結乾燥組成物を生成するために凍結乾燥され得る液体組成物がさらに記載される。治療用タンパク質は、本明細書に記載されるようなＩＬ－１０送達構築物であり得る。液体組成物は、凍結乾燥緩衝液およびＩＬ－１０送達構築物を含み得る。液体組成物は、１５ｍｇ／ｍＬ～２５ｍｇ／ｍＬのＩＬ－１０、好ましくは約２０ｍｇ／ｍＬのＩＬ－１０送達構築物を含み得る。液体組成物は、１．５１ｍｇ／ｍＬ～１．９１ｍｇ／ｍＬ、好ましくは約１．７１ｍｇ／ｍＬのリン酸カリウムを含み得る。液体組成物は、１５ｍｇ／ｍＬ～２５ｍｇ／ｍＬ、好ましくは約２０ｍｇ／ｍＬのグリシンを含み得る。液体組成物は、８ｍｇ／ｍＬ～１２ｍｇ／ｍＬ、好ましくは約１０ｍｇ／ｍＬのスクロースを含み得る。液体組成物は、２．５ｍｇ／ｍＬ～３．５ｍｇ／ｍＬ、好ましくは約３ｍｇ／ｍＬのポロキサマー１８８を含み得る。液体組成物は、約５．０～約ｐＨ８．０、約６．０～約７．５、または約６．５～約７．５のｐＨを有し得る。液体組成物は、約７．４～約７．６のｐＨを有し得る。

【０３１２】

液体組成物は、約－８０℃～約－６０℃で、周囲相対湿度で、少なくとも１２カ月、安定性であり得る。一部の実施形態では、４℃で７日後、液体組成物の二量体形態の治療用タンパク質のパーセンテージの低下は、２％以下である。液体組成物を凍結させて、凍結した治療用タンパク質組成物を生成することができる。液体組成物を約－８５℃～約－１５℃の温度で凍結させることができる。一部の実施形態では、凍結した治療用タンパク質組成物は、凍結乾燥前に解凍される。

【０３１３】

一部の実施形態では、凍結乾燥組成物は、カプセルに封入される。カプセルは、サイズ０００、００、０、１、２、３、４または５カプセルであり得る。カプセルは、２ピースカプセルであり得る。カプセルは、ヒプロメロースカプセルとも呼ばれる、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）カプセルであり得る。

【０３１４】

あるいは、凍結乾燥組成物を圧縮力下で圧縮して錠剤を製造することができる。圧縮力は、１５００重量ポンド（ｌｂｆ）～４０００ｌｂｆまたは２０００ｌｂｆ～３５００ｌｂｆの範囲であり得る。圧縮力は、１５００ｌｂｆ、２０００ｌｂｆ、２５００ｌｂｆ、３０００ｌｂｆ、３５００ｌｂｆ、または４０００ｌｂｆであり得る。錠剤は、１５０ｍｇ～１０００ｍｇ、１５０ｍｇ～５００ｍｇ、２００ｍｇ～４００ｍｇ、１５０ｍｇ～２５０ｍｇ、１７５ｍｇ～２２５ｍｇ、または１９０ｍｇ～２１０ｍｇの重量を有し得る。錠剤は、０．２”～０．４”、０．２５”～０．３５”、または０．３”～０．２５”の直径を含み得る。錠剤は、１ｍｇ～５ｍｇ、１ｍｇ～１０ｍｇ、１ｍｇ～２０ｍｇ、２０ｍｇ～５０ｍｇ、２０ｍｇ～１００ｍｇ、または５０ｍｇ～１００ｍｇのＩＬ－１０送達構築物を含み得る。錠剤は、約１ｍｇ、約５ｍｇ、約１０ｍｇ、約２０ｍｇ、または約３０ｍｇのＩＬ－１０送達構築物を含み得る。錠剤は、４．５ｍｇ～５．５ｍｇ、９．５ｍｇ～１０．５ｍｇ、１９ｍｇ～２１ｍｇ、または２９ｍｇ～３１ｍｇのＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物を含み得る。錠剤は、３ｍｇ～９ｍｇ、４ｍｇ～８ｍｇ、５ｍｇ～７ｍｇの強度のＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物を含み得る。錠剤は、球形、楕円形、長円形、円形、または任意の他の好適な形状であり得る。

【０３１５】

経口製剤が錠剤である場合、１つまたは複数の賦形剤は、圧縮成形用賦形剤を含み得る。１つまたは複数の賦形剤は、１、２、３、４、または４つより多くの圧縮成形用賦形剤を含み得る。圧縮成形用賦形剤は、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、またはこれらの組合せであり得る。経口製剤は、約０．８：３～約１．２：３、約０．９：３～約１．１：３、約０．９５：３～約１．０５：３、またはより好ましくは約１：３の、前述の凍結乾燥組成物

の圧縮成形用賦形剤に対する重量比を含み得る。ＩＬ－１０送達構築物は、錠剤の約５％～約１５％（ｗ／ｗ）を構成し得る。一部の実施形態では、圧縮成形用賦形剤は、液体組成物の一部ではない。一部の実施形態では、凍結乾燥組成物は、圧縮成形用賦形剤を含まない。

【０３１６】

圧縮成形用賦形剤は、崩壊剤を含み得る。崩壊剤は、経口製剤の分散または分解を助長することができる。崩壊剤は、微結晶性セルロース（ＭＣＣ）、ケイ化微結晶性セルロース（ＳＭＣＣ）、デンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、Ｖｅｅｇｕｍ、ベントナイト、アルギン酸、アルギン酸カルシウム、クロスカルメロースナトリウム（架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム）、クロスポビドン（架橋ポリビニルピロリドン）、またはこれらの組合せを含み得る。

【０３１７】

圧縮成形用賦形剤は、結合剤を含み得る。結合剤は、経口製剤の構成成分を１つにまとめることができる。結合剤は、二糖、多糖、タンパク質、またはポリマーを含み得る。二糖は、スクロースまたはラクトースであり得る。ラクトースは、ラクトース一水和物であり得る。多糖は、デンプン、セルロース、またはその誘導体であり得る。タンパク質は、ゼラチンであり得る。ポリマーは、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）またはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）であり得る。

【０３１８】

圧縮成形用賦形剤は、滑沢剤であり得る。滑沢剤は、経口製剤における粒子間摩擦および接着を低減させることができる。滑沢剤は、ステアリン酸マグネシウム、ベヘン酸グリセリル、ジベヘン酸グリセリル、フマル酸ステアリルナトリウム、ステアリン酸、タルク、シリカ、ステアリン酸カルシウム、炭酸マグネシウム、硬化油、鉱物油、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、モノステアリン酸グリセリン、またはこれらの組合せを含み得る。滑沢剤は、非イオン性界面活性剤であり得る。非イオン性界面活性剤は、ベヘン酸グリセリルであり得る。ベヘン酸グリセリルは、ジベヘン酸グリセリルであり得る。一部の実施形態では、滑沢剤は、ステアリン酸マグネシウム、フマル酸ステアリルナトリウムおよびラウリル硫酸ナトリウム（ｓｏｄｉｕｍ　ｌａｕｒｉｓｕｌｆａｔｅ）などの、イオン性界面活性剤ではない。一部の実施形態では、錠剤の生成におけるベヘン酸グリセリルまたはジベヘン酸グリセリルなどの非イオン性界面活性剤の使用は、ステアリン酸マグネシウム、フマル酸ステアリルナトリウムまたはラウリル硫酸ナトリウムなどの、イオン性界面活性剤が錠剤の生成に使用された場合と比べて錠剤の改善された溶出プロファイルをもたらす。別の言い方をすれば、ベヘン酸グリセリルまたはジベヘン酸グリセリルなどの非イオン性界面活性剤の使用によって、ステアリン酸マグネシウム、フマル酸ステアリルナトリウムまたはラウリル硫酸ナトリウムなどの、イオン性界面活性剤を使用する対応する製剤と比べて、より高濃度のＩＬ－１０送達構築物がより長期間、二量体形態のままである製剤を得ることができる。

【０３１９】

一部の実施形態では、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤は、錠剤への圧縮成形またはカプセルの充填の前に、前述の凍結乾燥組成物と合わせられる。一部の実施形態では、圧縮成形用の組成物は、約６％～約１０％（ｗ／ｗ）の凍結乾燥組成物および約９０％～約９４％（ｗ／ｗ）の１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤を含み得る。一部の実施形態では、圧縮成形用の組成物は、約５％～約１５％（ｗ／ｗ）の凍結乾燥組成物および約８５％～約９５％（ｗ／ｗ）の１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤を含み得る。１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤は、少なくとも２つの崩壊剤を含み得る。

【０３２０】

一部の実施形態では、顆粒は、経口製剤の作製プロセス中に形成される。例えば、一部の場合には、造粒プロセスを使用する錠剤の製造には、顆粒内（ＩＧ）相および顆粒外（ＥＧ）相という２つの相がある。顆粒内相では、凍結乾燥組成物と１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第１のサブセットとをブレンドし、バインダーで造粒してブレンドされた

組成物を生成し、次いで、これを（例えば、ローラー圧縮成形により）圧縮成形し、顆粒へと粉砕することができる。顆粒外相では、乾燥顆粒を、その後、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第２のサブセットとブレンドし、錠剤などの経口製剤に圧縮成形することができる。

【０３２１】

顆粒内相で製造された顆粒は、約７：１～約１１：１、約８：１～約１０：１、または約８．５：１～約９．５：１の、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第１のサブセットの、ＩＬ－１０送達構築物を含む凍結乾燥粉末に対する重量比を含み得る。一部の実施形態では、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第１のサブセットは、少なくとも２つの崩壊剤を含み得る。一部の実施形態では、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第１のサブセットは、約２１：１～約２４：１、約２２：１～約２３．５：１、または約２２．３：１～約２３：１の、第１の崩壊剤の第２の崩壊剤に対する重量比を含み得る。第１の崩壊剤は、ケイ化微結晶性セルロース（ＳＭＣＣ）または第二リン酸カルシウム／微結晶性セルロース（ＤＣＰ／ＭＣＣ）であり得る。第２の崩壊剤は、クロスポビドンまたはクロスカルメロースナトリウムを含み得る。一部の実施形態では、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第１のサブセットは、滑沢剤を含む。１つまたは複数の賦形剤の第１のサブセットにおける少なくとも２つの崩壊剤の滑沢剤に対する重量比は、約６１：１～約８１：１、約６６：１～約７６：１、または約７１：１～約７３：１であり得る。滑沢剤は、ジベヘン酸グリセリルを含み得る。滑沢剤は、ベヘン酸グリセリルを含み得る。

【０３２２】

顆粒外相は、約２：１～約６：１、約３：１～約５：１、または約３．５：１～約４．５：１の、顆粒内相で製造された顆粒の、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第２のサブセットに対する重量比を含み得る。一部の実施形態では、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第２のサブセットは、少なくとも２つの崩壊剤を含み得る。一部の実施形態では、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第２のサブセットは、約１３．５：１～約２４：１、約１６：１～約２１．５：１、または約１７．５：１～約１９：１の、第１の崩壊剤の第２の崩壊剤に対する重量比を含み得る。第１の崩壊剤は、ＳＭＣＣまたはＤＣＰ／ＭＣＣであり得る。第２の崩壊剤は、クロスポビドンまたはクロスカルメロースナトリウムを含み得る。一部の実施形態では、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第２のサブセットは、滑沢剤を含む。１つまたは複数の賦形剤の第２のサブセットにおける少なくとも２つの崩壊剤の滑沢剤に対する重量比は、約６９：１～約８９：１、約７４：１～約８４：１、または約７７：１～約８１：１であり得る。滑沢剤は、ベヘン酸グリセリルを含み得る。ベヘン酸グリセリルは、ジベヘン酸グリセリルを含み得る。一部の実施形態では、圧縮成形用賦形剤は、ＳＭＣＣ、クロスポビドンおよびベヘン酸グリセリルを含み得るか、それらから本質的になり得るか、またはそれらからなり得る。

【０３２３】

一部の実施形態では、経口製剤は、約９：１～約１４：１、約１０：１～約１３：１、または約１１：１～約１２：１の、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の、凍結乾燥組成物に対する重量比を含み得る。一部の実施形態では、経口製剤は、約８．８：１～約１２．８：１、約９．８：１～約１１．８：１、または約１０．４：１～約１１．２：１の、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第１の崩壊剤の、凍結乾燥組成物に対する重量比を含み得る。一部の実施形態では、経口製剤は、約１．５：１～約２．５：１、約１．７５：１～約２．２５：１、または約１．９：１～約２．１：１の、凍結乾燥組成物の、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の第２の崩壊剤に対する重量比を含み得る。

【０３２４】

一部の実施形態では、経口製剤は、約５：１～約８．１：１、約５．５：１～約８．１：１、または約６．２：１～約６．６：１の、凍結乾燥組成物の、１つまたは複数の圧縮成形用賦形剤の滑沢剤に対する重量比を含み得る。

【０３２５】

経口製剤は、第１のコポリマー、第２のコポリマー、または第１のコポリマーと第２の

コポリマーの混合物を含む、第１の被覆を含み得る。経口製剤は、ヒプロメロースアセテートサクシネート（ＨＰＭＣＡＳまたはＨＰＭＣ－ＡＳ）の第１の被覆を含み得る。第１の被覆は、サイズ１カプセル上の２０ｍｇ～２００ｍｇ、２０ｍｇ～４０ｍｇ、５０ｍｇ～７０ｍｇ、１１５ｍｇ～１３５ｍｇ、または１７５ｍｇ～１８５ｍｇの第１の被覆と実質的に等価の厚さを有し得る。第１の被覆は、サイズ１カプセル上の５５ｍｇ～６５ｍｇの第１の被覆と実質的に等価の厚さを有し得る。第１の被覆は、サイズ０カプセル上の２０ｍｇ～２００ｍｇ、２０ｍｇ～４０ｍｇ、５０ｍｇ～８０ｍｇ、１１５ｍｇ～１３５ｍｇ、または１７５ｍｇ～１８５ｍｇの第１の被覆と実質的に等価の厚さを有し得る。第１の被覆は、サイズ０カプセル上の７０ｍｇ～８０ｍｇの第１の被覆と実質的に等価の厚さを有し得る。第１の被覆は、２０ｍｇ～２００ｍｇ、２０ｍｇ～４０ｍｇ、５０ｍｇ～８０ｍｇ、１１５ｍｇ～１３５ｍｇ、または１７５ｍｇ～１８５ｍｇの質量を有し得る。

【０３２６】

サイズ１カプセルの表面積は、おおよそ４１０ｍｍ^{2}であり得る。サイズ０カプセルの表面積は、おおよそ５００ｍｍ^{2}であり得る。０．１５ｍｇ／ｍｍ^{2}の被覆厚は、サイズ１カプセル上の６０ｍｇ被覆重量またはサイズ０カプセル上の７５ｍｇ被覆重量に相当し得る。一部の実施形態では、カプセルは、０．１ｍｇ／ｍｍ^2～０．２ｍｇ／ｍｍ^2、好ましくは０．１５ｍｇ／ｍｍ^{2}の被覆厚を有する。一部の実施形態では、カプセル上の被覆厚は、４ｍｇ／ｃｍ^2～２０ｍｇ／ｃｍ^2、４ｍｇ／ｃｍ^2～６ｍｇ／ｃｍ^2、５ｍｇ／ｃｍ^2～１０ｍｇ／ｃｍ^2、または５ｍｇ／ｃｍ^2～２０ｍｇ／ｃｍ^{2}であり得る。被覆厚は、第１の被覆の厚さであり得る。

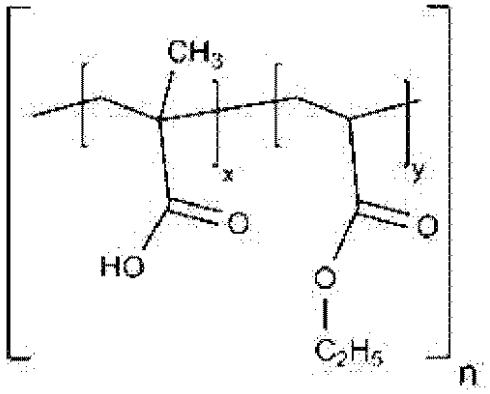
【０３２７】

一部の実施形態では、錠剤は、０．１ｍｇ／ｍｍ^2～０．２ｍｇ／ｍｍ^2、０．１ｍｇ／ｍｍ^2～０．５ｍｇ／ｍｍ^2、または０．１ｍｇ／ｍｍ^2～１．０ｍｇ／ｍｍ^2、好ましくは０．１５ｍｇ／ｍｍ^{2}の被覆厚を有する。一部の実施形態では、錠剤上の被覆厚は、４ｍｇ／ｃｍ^2～２０ｍｇ／ｃｍ^2、４ｍｇ／ｃｍ^2～６ｍｇ／ｃｍ^2、５ｍｇ／ｃｍ^2～１０ｍｇ／ｃｍ^2、または５ｍｇ／ｃｍ^2～２０ｍｇ／ｃｍ^{2}であり得る。被覆厚は、第１の被覆の厚さであり得る。

【０３２８】

第１のコポリマーは、ｐＨ＞５．５の個別の名目上の溶出を有し得る。名目上の溶出ｐＨは、コポリマーが可溶性になるｐＨを示す。第１のコポリマーは、メタクリル酸、およびアクリル酸エチルを含み得る。第１のポリマーは、２００，０００ｇ／ｍｏｌ～４５０，０００ｇ／ｍｏｌ、または２５０，０００ｇ／ｍｏｌ～４００，０００ｇ／ｍｏｌ、または２８０，０００ｇ／ｍｏｌ～３７０，０００ｇ／ｍｏｌ、または３００，０００ｇ／ｍｏｌ～３４０，０００ｇ／ｍｏｌの重量平均分子量を有し得る。第１のポリマーは、０．８：１～１．２対１である、第１のコポリマー中の遊離カルボキシル基のエステル基に対する比を含み得る。第１のコポリマーは、式Ｉのポリマー（式中、ｘ、ｙおよびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい）を含み得る。第１のコポリマーは、Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ　３０　Ｄ－５５を含み得る。

【化９】

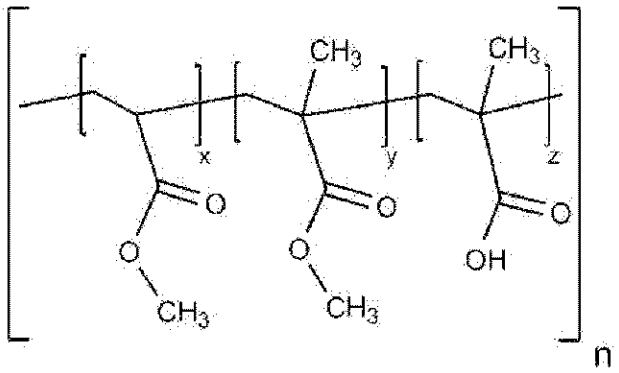


式Ｉ

【０３２９】

第２のコポリマーは、名目上の溶出をｐＨ＞７．０で有し得る。第２のコポリマーは、メタクリル酸、メタクリル酸メチル、およびアクリル酸メチルを含み得る。第２のポリマーは、１６０，０００ｇ／ｍｏｌ～４００，０００ｇ／ｍｏｌ、または２００，０００ｇ／ｍｏｌ～３６０，０００ｇ／ｍｏｌ、または２４０，０００ｇ／ｍｏｌ～３２０，０００ｇ／ｍｏｌ、または２６０，０００ｇ／ｍｏｌ～３００，０００ｇ／ｍｏｌの重量平均分子量を有し得る。第２のポリマーは、０．８：１～１．２対１である、第２のコポリマー中の遊離カルボキシル基のエステル基に対する比を含み得る。第２のポリマーは、式ＩＩのポリマー（式中、ｘ、ｙ、ｚおよびｎは、各々、１より大きいかまたはそれに等しい）を含み得る。第２のコポリマーは、Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ　３０　Ｄを含み得る。

【化１０】



式ＩＩ

【０３３０】

第２のコポリマーは、第１のコポリマーとは異なり得る。第１のコポリマーと第２のコポリマーの混合物の名目上の溶出ｐＨは、個別に第１のコポリマーまたは第２のコポリマーの名目上の溶出ｐＨとは異なり得る。例えば、第１のコポリマーと第２のコポリマーの混合物の名目上の溶出ｐＨは、第１のコポリマーの名目上の溶出と第２のコポリマーの名目上の溶出との間の名目上の溶出であり得る。第１の被覆は、第１のコポリマーの量と比べて等量の第２のコポリマーを含み得る。第１の被覆は、第１のコポリマーの量と比べてより多い量の第２のコポリマーを含み得る。第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する重量比は、約５０：５０、４５：５５、４０：６０、３５：６５、３０：７０、２５：７５、２０：８０、１５：８５、１０：９０、５：９５、もしくは０：１００、またはこれらのいずれかの間であり得る。Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：Ｅｕｄｒ

ａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄの重量比は、約５０：５０、４５：５５、４０：６０、３５：６５、３０：７０、２５：７５、２０：８０、１５：８５、１０：９０、５：９５、または０：１００であり得る。

【０３３１】

第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する重量比は、０：１００～１００：０であり得る。第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する重量比は、４５：５５～５５：４５、２５：７５～３５：６５、１５：８５～２５：７５、または１５：８５～０：１００であり得る。

【０３３２】

一部の実施形態では、サイズ１カプセル上の４０ｍｇ～７０ｍｇの等価被覆厚での４５：５５～５５：４５の第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する重量比は、回腸終端部における治療用ペイロードの放出をもたらす。一部の実施形態では、約０．１５ｍｇ／ｍｍ^{2}の被覆厚での５０：５０の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する重量比は、回腸終端部における治療用ペイロードの放出をもたらす。

【０３３３】

一部の実施形態では、サイズ１カプセル上の約１１８ｍｇ～１３８ｍｇの等価被覆厚での１５：８５～２５：７５の第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する重量比は、遠位結腸における治療用ペイロードの放出をもたらす。

【０３３４】

一部の実施形態では、サイズ１カプセル上の４０ｍｇ～７０ｍｇの等価被覆厚での１５：８５～２５：７５の第１の被覆中の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する重量比は、近位結腸における治療用ペイロードの放出をもたらす。一部の実施形態では、約０．１５ｍｇ／ｍｍ^{2}の被覆厚での２０：８０の第１のコポリマーの第２のコポリマーに対する重量比は、近位結腸における治療用ペイロードの放出をもたらす。

【０３３５】

第１の被覆は、粘着防止剤、可塑剤、界面活性剤、またはこれらの組合せをさらに含み得る。粘着防止剤は、モノステアリン酸グリセロールであり得る。可塑剤は、クエン酸トリエチルであり得る。界面活性剤は、ポリソルベート８０であり得る。

【０３３６】

一部の実施形態では、第１の被覆の５％～１５％（ｗ／ｗ）は、粘着防止剤と可塑剤と界面活性剤の混合物である。一部の実施形態では、第１の被覆の４０％～５０％（ｗ／ｗ）は、第１のコポリマーである。一部の実施形態では、第１の被覆の４０％～５０％（ｗ／ｗ）は、第２のコポリマーである。一部の実施形態では、第１のコポリマーおよび第２のコポリマーの、粘着防止剤と可塑剤と界面活性剤の混合物に対する重量比は、８：１～１０：１、８．５：１～９．５：１、または８．８：１～９．２：１である。

【０３３７】

一部の実施形態では、第１の被覆の５％～１５％（ｗ／ｗ）は、モノステアリン酸グリセロールとクエン酸トリエチルとポリソルベート８０の混合物である。一部の実施形態では、第１の被覆の４０％～５０％（ｗ／ｗ）は、メタクリル酸とアクリル酸エチルとを含む第１のコポリマーである。一部の実施形態では、第１の被覆の４０％～５０％（ｗ／ｗ）は、メタクリル酸とメタクリル酸メチルとアクリル酸メチルとを含む第２のコポリマーである。

【０３３８】

前述の通り、経口製剤は、ヒプロメロースアセテートサクシネート（ＨＰＭＣＡＳまたはＨＰＭＣ－ＡＳ）の第１の被覆を含み得る。ＨＰＭＣＡＳの第１の被覆は、第１のＨＰＭＣＡＳと第２のＨＰＭＣＡＳの混合物を含み得る。第１のＨＰＭＣＡＳは、６．８より高いまたはそれに等しいｐＨで可溶性になり得る。第２のＨＰＭＣＡＳは、６．０より高いまたはそれに等しいｐＨで可溶性になり得る。第１のＨＰＭＣＡＳは、ＨＰＭＣＡＳ－ＨＦを含み得る。第２のＨＰＭＣＡＳは、ＨＰＭＣＡＳ－ＭＦを含み得る。第１のＨＰＭＣＡＳの第２のＨＰＭＣＡＳに対する比は、約４０：６０～約６０：４０または約４５：

５５～約５５：４５であり得る。

【０３３９】

一部の実施形態では、経口製剤は、図３１Ａにより表されるような経口製剤であり得る。経口製剤３２００は、カプセル剤または錠剤を含むことができ、カプセル剤または錠剤は、治療用タンパク質と１つまたは複数の賦形剤とを含む内部領域３２０１を含む。経口製剤３２００は、第１の被覆３２０３を含み得る。第１の被覆３２０３は、第１のコポリマーと第２のコポリマーの混合物を含み得る。第１の被覆３２０３は、粘着防止剤、可塑剤、および界面活性剤をさらに含み得る。経口製剤３２００は、第２の被覆３２０２をさらに含み得る。第２の被覆３２０２は、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）を含み得る。第２の被覆は、カプセル剤の継ぎ目を密封することができる。一部の実施形態では、カプセル剤は、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）カプセル剤である。経口製剤３２００は、第３の被覆３２０４を含み得る。第３の被覆３２０４は、ＨＰＭＣを含み得る。一部の実施形態では、第１の被覆３２０３、第２の被覆３２０２、第３の被覆、またはこれらの組合せは、スプレーコーティングによりカプセル剤または錠剤に塗布される。一部の実施形態では、６．５％～８．５％（ｗ／ｗ）のＨＰＭＣ濃度を有するＨＰＭＣ溶液が、第２の被覆３２０２、第３の被覆、または第２の被覆３２０２と第３の被覆の両方を塗布するために、カプセル剤または錠剤にスプレーコーティングされる。一部の実施形態では、第２の被覆３２０２は、サイズ０カプセル上の９ｍｇ～１３ｍｇ、１０ｍｇ～１２ｍｇ、または１０．５ｍｇ～１１．５ｍｇのＨＰＭＣを含む。第２の被覆３２０２の等価被覆重量を、他のカプセルサイズに塗布することができる。一部の実施形態では、第３の被覆３２０４は、サイズ０カプセル上の９ｍｇ～１３ｍｇ、１０ｍｇ～１２ｍｇ、または１０．５ｍｇ～１１．５ｍｇのＨＰＭＣを含む。第３の被覆３２０４の等価被覆重量を、他のカプセルサイズに塗布することができる。

【０３４０】

一部の実施形態では、経口製剤は、図３１Ｂにより表されるような経口製剤であり得る。経口製剤３２０５は、カプセル剤または錠剤を含むことができ、カプセル剤または錠剤は、治療用タンパク質と１つまたは複数の賦形剤とを含む内部領域３２０１を含む。経口製剤３２００は、第１の被覆３２０３を含み得る。第１の被覆３２０３は、第１のコポリマーと第２のコポリマーの混合物を含み得る。第１の被覆３２０３は、粘着防止剤、可塑剤、および界面活性剤をさらに含み得る。一部の実施形態では、経口製剤３２０５は、第２の被覆も第３の被覆も含まない。

【０３４１】

経口製剤は、少なくとも３カ月、少なくとも６カ月、少なくとも１２カ月、少なくとも１８カ月、または少なくとも２４カ月の有効期間を有し得る。有効期間は、示した期間、錠剤を保管すること、錠剤から被覆を除去すること、錠剤の内核を溶出すること、および本明細書に記載されるように二量体パーセンテージを評定することにより、評定することができる。

【０３４２】

経口製剤を、約６．５～約７．０のｐＨの溶液への２～８時間、３７℃での曝露時にＩＬ－１０の約２０％～１００％を放出するように構成することができる。溶液は、適切なｐＨのクエン酸／リン酸緩衝液であり得る。溶液は、消化液であり得る。消化液は、胃酸、腸液（ｉｎｔｅｓｔｉｎａｌ　ｊｕｉｃｅ）（腸液（ｓｕｃｃｕｓ　ｅｎｔｅｒｉｃｕｓ））、またはこれらの組合せであり得る。消化液は、消化酵素を含み得る。消化液は、胃、小腸、結腸、またはこれらの組合せにおいて見出すことができる。ＩＬ－１０は、ＩＬ－１０送達構築物の形態であり得る。

【０３４３】

一部の実施形態では、経口製剤は、約６．９～約７．１のｐＨ、好ましくは７．０のｐＨの溶液への２～８時間の曝露時にＩＬ－１０の８０％～１００％を放出するように構成される。経口製剤を、約６．９～約７．１のｐＨ、好ましくは７．０のｐＨの溶液への２時間の曝露時にＩＬ－１０の７５％～１００％、７５％～８５％、または８５％～９５％

を放出するように構成することができる。経口製剤を、約６．９～約７．１のｐＨ、好ましくは７．０のｐＨの溶液への２時間の曝露時にＩＬ－１０の少なくとも８０％、８５％、９０％または９５％を放出するように構成することができる。

【０３４４】

一部の実施形態では、経口製剤は、約６．４～約６．６のｐＨ、好ましくは６．５のｐＨの溶液への約２～８時間の曝露時にＩＬ－１０の５０％～１００％を放出するように構成される。経口製剤を、約６．４～約６．６のｐＨ、好ましくは６．５のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時にＩＬ－１０の５０％～９５％、６０％～７０％、または７５％～９０％を放出するように構成することができる。経口製剤を、約６．４～約６．６のｐＨ、好ましくは６．５のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時にＩＬ－１０の少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、または９０％を放出するように構成することができる。

【０３４５】

一部の実施形態では、経口製剤は、約５．９～約６．１のｐＨ、好ましくは６．０のｐＨの溶液への約２～８時間の曝露時にＩＬ－１０の２０％～１００％を放出するように構成される。経口製剤を、約５．９～約６．１のｐＨ、好ましくは６．０のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時にＩＬ－１０の２０％～８０％、または２０％～３０％を放出するように構成することができる。経口製剤を、約５．９～約６．１のｐＨ、好ましくは６．０のｐＨの溶液への２または３時間の曝露時にＩＬ－１０の少なくとも２０％、２５％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、または９５％を放出するように構成することができる。

【０３４６】

一部の実施形態では、経口製剤は、約６．５～７．０のｐＨの溶液への２時間の曝露時に放出されるＩＬ－１０の２０％～３０％が二量体形態であるように構成される。一部の実施形態では、経口製剤は、約６．５～７．０のｐＨの溶液への２時間の曝露時に放出されるＩＬ－１０の少なくとも１５％、２０％、２５％または３０％が二量体形態であるように構成される。一部の実施形態では、経口製剤は、約６．５～７．０のｐＨの溶液への２時間の曝露時に放出されるＩＬ－１０の５０％、６０％、７０％、８０％、または９０％以下が二量体形態であるように構成される。一部の実施形態では、ｐＨ７．０の溶液への経口製剤の浸漬後、二量体形態のＩＬ－１０のパーセンテージは、少なくとも３５％、４０％、４５％、または５０％である。

【０３４７】

ＩＬ－１０送達構築物を含む経口製剤を、ＩＬ－１０送達構築物の少なくとも１５％を模擬腸液（ＳＩＦ）／パンクレアチンとの５分のインキュベーション後に二量体形態のままであるように、製剤化することができる。パンクレアチンアッセイは、治療用タンパク質を含む経口製剤をＰＢＳ（１００μＬ）中、３７℃でパンクレアチン（１０μｇ）とともにインキュベートすることを含む。

【０３４８】

経口製剤は、０．３ｍｇ～１０ｍｇ、０．３ｍｇ～５ｍｇ、０．３ｍｇ～３ｍｇ、１ｍｇ～３ｍｇ、１ｍｇ～５ｍｇ、１ｍｇ～１０ｍｇ、１ｍｇ～２０ｍｇ、２０ｍｇ～５０ｍｇ、２０ｍｇ～１００ｍｇ、または５０ｍｇ～１００ｍｇのＩＬ－１０送達構築物を含み得る。経口製剤は、０．３ｍｇ、１ｍｇ、２ｍｇ、３ｍｇ、４ｍｇ、５ｍｇ、６ｍｇ、７ｍｇ、８ｍｇ、９ｍｇ、１０ｍｇ、または２０ｍｇのＩＬ－１０送達構築物を含み得る。

【０３４９】

ＩＬ－１０送達構築物を含む経口製剤は、少なくとも３カ月、少なくとも６カ月、少なくとも１２カ月、少なくとも１８カ月、または少なくとも２４カ月の有効期間を有し得る。ＩＬ－１０送達構築物を含む経口製剤は、指定温度（例えば、２～８℃または室温）で指定期間（例えば、少なくとも１カ月、３カ月、少なくとも６カ月、少なくとも１２カ月、少なくとも１８カ月、または少なくとも２４カ月間）、安定性であり得る。例えば、ＩＬ－１０送達構築物を含む経口製剤は、二量体形態のＩＬ－１０送達構築物のパーセンテ

ージが、指定温度（例えば、２～８℃または室温）で指定期間（例えば、少なくとも１カ月、３カ月、少なくとも６カ月、少なくとも１２カ月、少なくとも１８カ月、または少なくとも２４カ月間）、保管されたときに１％、２％、３％、４％または５％より大きく低下しないような、十分な安定性を有し得る。一部の実施形態では、経口製剤は、時間が経過した後に経口製剤中のＩＬ－１０送達構築物の二量体のレベルが８０％より高い、８５％より高い、または９０％より高いままであるために十分なほど安定性である。

【０３５０】

本明細書において、ある特定の実施形態では、本明細書に記載の経口製剤の単位剤形の少なくとも１つを含むキットが記載される。単位剤形は、パック、ディスペンサーデバイス、またはボトルに入れて提供され得る。パックは、金属またはプラスチック箔を含み得る。パックの例としては、ブリスターパックを挙げることができるが、これに限定されない。ボトルは、高密度ポリエチレン（ＨＤＰＥ）ボトルであり得る。ボトルは、誘導シールをさらに含み得る。単位剤形は、キット内に別々に（例えば、ブリスターパックの異なるユニットに）、または一緒に（例えば、ボトルなどの単一容器内に合わせて）包装され得る。キットは、炎症を引き起こす障害の処置に単位剤形を使用するための使用説明書をさらに含み得る。キットは、医薬品の製造、使用または販売を規制する政府機関により規定された形態の、容器に付随する注意書きを含み得る。政府機関は、アメリカ食品医薬品局であり得る。注意書きは、承認された製品添付文書であり得る。

処置

【０３５１】

本明細書において、ある特定の実施形態では、それを必要とする個体における疾患または状態を処置する方法が記載される。個体は、哺乳動物であり得る。哺乳動物は、霊長類であり得る。霊長類は、ヒトであり得る。個体は、疾患もしくは状態があると診断された、疾患もしくは状態を有する疑いがある、または疾患もしくは状態のリスクがある個体であり得る。疾患または状態は、炎症性障害とも呼ばれる、個体の組織の炎症をもたらす疾患または状態であり得る。炎症を引き起こす疾患または状態は、ＩＬ－１０発現の欠損により特徴付けられる疾患または状態であり得る。疾患または状態（例えば、炎症性障害）を処置することは、疾患もしくは状態（例えば、炎症性障害）に罹患している、疾患もしくは状態に罹患している疑いがある、または疾患もしくは状態が再燃している個体に、ＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物の治療有効量を投与するステップを含み得る。

【０３５２】

用語「治療有効量」は、本明細書で使用される場合、例えば、投与される組成物、例えば本明細書に記載の製剤または経口製剤、に含有されているＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物の量が、例えば、疾患または状態、例えば炎症を引き起こす疾患または状態を処置することなどの、所期の目的を達成するために十分な分量のものであることを意味し得る。一部の実施形態では、製剤を個体に投与するステップは、製剤の治療有効量を個体に投与することを含む。

【０３５３】

それを必要とする個体は、少なくとも１つの抗炎症剤に対して不応性または耐性の個体であり得る。抗炎症剤は、アミノサリチレートであり得る。アミノサリチレートは、５－アミノサリチル酸（５－ＡＳＡ；メサラジン）、４－アミノサリチル酸（４－ＡＳＡ）、バルサラジド、オルサラジン、スルファサラジン、またはこれらの組合せであり得る。抗炎症剤は、コルチコステロイドであり得る。コルチコステロイドは、経口投与コルチコステロイドまたは静脈内（ＩＶ）投与コルチコステロイドであり得る。コルチコステロイドは、プレドニゾンであり得る。抗炎症剤は、免疫抑制剤であり得る。免疫抑制剤は、アザチオプリン、６－メルカプトプリン、またはこれらの組合せであり得る。抗炎症剤は、ＴＮＦα阻害剤であり得る。ＴＮＦα阻害剤は、アダリムマブ、セルトリズマブ、エタネルセプト、ゴリムマブ、インフリキシマブ、またはこれらの組合せであり得る。少なくとも１つの抗炎症剤は、ヤヌスキナーゼ（ＪＡＫ）阻害剤であり得る。ＪＡＫ阻害剤は、フィルゴチニブ、ウパダシチニブ、ペフィシチニブ、トファシチニブ、またはこれらの組合せ

であり得る。少なくとも１つの抗炎症剤は、スフィンゴシン－１－リン酸（Ｓ１Ｐ）受容体アンタゴニストであり得る。Ｓ１Ｐ受容体アンタゴニストは、オザニモド、アミセリモド、エトラシモド、またはこれらの組合せであり得る。少なくとも１つの抗炎症剤は、インテグリン遮断薬であり得る。インテグリン遮断薬は、エトロリズマブ、ナタリズマブ、ベドリズマブ、アブリルマブ、カロテグラストメチル、またはこれらの組合せであり得る。少なくとも１つの抗炎症剤は、ＩＬ－２３阻害剤であり得る。ＩＬ－２３阻害剤は、ウステキヌマブ、ミリキズマブ、ブラジクマブ、グセルクマブ、リサンキズマブ、またはこれらの組合せであり得る。少なくとも１つの抗炎症剤は、ホスホジエステラーゼ４（ＰＤＥ４）阻害剤であり得る。少なくとも１つのＰＤＥ４阻害剤は、アプレミラスト、シロミラスト、ロフルミラスト、テトミラスト、ロリプラム、またはこれらの組合せであり得る。少なくとも１つの抗炎症剤は、ラキニモドであり得る。

【０３５４】

一部の場合には、それを必要とする個体は、抗炎症剤で処置されたことがない個体であり得る。一部の場合には、それを必要とする個体は、５－ＡＳＡで処置されたことがない個体であり得る。一部の場合には、それを必要とする個体は、５－ＡＳＡが部分的にまたは十分に応答した個体であり得る。一部の場合には、それを必要とする個体は、ＩＬ－１０送達構築物および５－ＡＳＡで処置され得る。

【０３５５】

一部の実施形態では、本明細書に記載のＩＬ－１０送達構築物を含む経口製剤は、それを必要とする個体に経口投与される。一部の実施形態では、本明細書に記載のＩＬ－１０送達構築物を含む製剤は、それを必要とする個体に直腸投与される。ＩＬ－１０送達構築物を含む製剤を、個体に少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３または１４日間投与することができる。製剤を１日１回、１日２回、または１日３回投与することができる。それを必要とする個体は、ヒトであり得る。それを必要とする個体は、炎症を引き起こす疾患もしくは状態があると診断された、そのような疾患もしくは状態を有する疑いがある、またはそのような疾患もしくは状態のリスクがある個体であり得る。炎症を引き起こす疾患または状態は、ＩＬ－１０発現の欠損により特徴付けられる疾患または状態であり得る。炎症を引き起こす疾患または状態は、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、セリアック病、直腸炎、回腸嚢炎、クローン病、多発性硬化症（ＭＳ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、関節リウマチ、乾癬性関節炎、または乾癬であり得る。潰瘍性大腸炎は、軽度から中等度の潰瘍性大腸炎または中等度から重度の潰瘍性大腸炎であり得る。クローン病は、瘻孔形成性クローン病であり得る。一部の実施形態では、経口製剤は、炎症を引き起こす障害の処置に使用される。経口製剤を使用して、炎症を引き起こす障害を処置することができる。方法は、ＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む経口製剤の用量を個体に投与するステップを含み得る。経口製剤の用量の個体への投与は、免疫調節応答をもたらし得る。

【０３５６】

免疫調節応答は、便中カルプロテクチン（ＦＣＰ）の濃度の、ＦＣＰベースラインと比べての低下を含み得る。便中カルプロテクチンは、腸炎のバイオマーカーである。ＦＣＰの濃度は、糞便試料からまたは結腸生検から決定され得る。ＦＣＰの濃度は、イムノアッセイにより決定され得る。イムノアッセイは、酵素結合イムノアッセイ（ＥＬＩＳＡ）であり得る。一部の実施形態では、ＦＣＰの濃度は、糞便１キログラム当たりのカルプロテクチンのｍｇ、または糞便１グラム当たりのカルプロテクチンのμｇで表される。ＦＣＰの濃度の低下は、ＦＣＰベースラインと比べて少なくとも２０％、３０％、４０％、または５０％の低下であり得る。ＦＣＰの濃度の低下は、ＦＣＰベースラインと比べて約５０％～約８０％の低下であり得る。一部の実施形態では、ＦＣＰの濃度は、５０μｇ／ｇまたはそれ未満に低下する。一部の実施形態では、ＦＣＰの濃度の低下は、消化器の炎症の減少を示す。

【０３５７】

ＦＣＰベースラインは、投与の前の個体または集団におけるＦＣＰの初期濃度であり得る。ＦＣＰの初期濃度は、疾患を有することを示し得る。疾患を示すＦＣＰの初期濃度は、１５０μｇ／ｇより高いＦＣＰ濃度であり得る。一部の実施形態では、１５０μｇ／ｇより高いＦＣＰ濃度は、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）を有することを示す。一部の実施形態では、ＦＣＰの濃度は、ＦＣＰの初期濃度と比べて少なくとも５０％低下し、経口製剤の用量は、約１ｍｇ～約３ｍｇである。

【０３５８】

ＦＣＰベースラインは、プラセボ調整ＦＣＰベースラインであり得る。プラセボ調整ＦＣＰベースラインは、個体または集団へのプラセボの投与後のＦＣＰ濃度の、投与前の初期ＦＣＰ濃度に対する、変化パーセントであり得る。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物で処置された個体または集団におけるＦＣＰの濃度は、プラセボ調整ＦＣＰベースラインと比べて少なくとも２０％低下し、ＩＬ－１０送達構築物の経口製剤の用量は、約１ｍｇ～約３ｍｇである。

【０３５９】

１つの説明に役立つ例では、プラセボ投与個体または集団は、２００μｇ／ｇのＦＣＰ濃度で開始し、プラセボの投与後に２５０μｇ／ｇに上昇し（２５％上昇を表す）、ＩＬ－１０送達構築物投与個体または集団は、２００μｇ／ｇのＦＣＰ濃度で開始し、ＩＬ－１０送達構築物の投与後に１００μｇ／ｇに低下する（５０％低下を表す）。この例では、ＩＬ－１０送達構築物投与個体または集団のＦＣＰ濃度は、（ｉ）ＦＣＰベースラインが投与の前のＩＬ－１０送達構築物投与個体もしくは集団におけるＦＣＰの初期濃度である場合、ＦＣＰ濃度の５０％低下がある、または（ｉｉ）ＦＣＰベースラインがプラセボ調整ＦＣＰベースラインである場合、ＦＣＰ濃度の７５％低下（５０％＋２５％）があると、言うことができる。

【０３６０】

別の説明に役立つ例では、プラセボ投与個体または集団は、２００μｇ／ｇのＦＣＰ濃度で開始し、プラセボの投与後に１５０μｇ／ｇに低下し（２５％低下を表す）、ＩＬ－１０送達構築物投与個体または集団は、２００μｇ／ｇのＦＣＰで開始し、ＩＬ－１０送達構築物の投与後に１００μｇ／ｇに低下する（５０％低下を表す）。この例では、ＩＬ－１０送達構築物投与個体または集団のＦＣＰ濃度は、（ｉ）ＦＣＰベースラインが投与の前のＩＬ－１０送達構築物投与個体もしくは集団におけるＦＣＰの初期濃度である場合、ＦＣＰ濃度の５０％低下がある、または（ｉｉ）ＦＣＰベースラインがプラセボ調整ＦＣＰベースラインである場合、ＦＣＰ濃度の２５％低下（５０％－２５％）があると、言うことができる。

【０３６１】

免疫調節応答は、Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）の濃度の、ＣＲＰベースラインと比べての低下を含み得る。Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）は、全身性炎症のバイオマーカーである。ＣＲＰの濃度は、血液試料から決定され得る。ＣＲＰ濃度は、血清ＣＲＰ濃度であり得る。ＣＲＰの濃度は、イムノアッセイまたは比濁分析により決定され得る。イムノアッセイは、酵素結合イムノアッセイ（ＥＬＩＳＡ）であり得る。ＣＲＰの濃度の低下は、ＣＲＰベースラインと比べて少なくとも５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、または８０％の低下であり得る。ＣＲＰの濃度の低下は、ＣＲＰベースラインと比べて約５％～約６０％、約１０％～約５０％、約３０％～約９０％、または約４０％～約８０％の低下であり得る。一部の実施形態では、ＣＲＰの濃度は、５ｍｇ／Ｌ未満に低下する。一部の実施形態では、ＣＲＰの濃度の低下は、全身性炎症または消化器炎症の軽減を示す。

【０３６２】

ＣＲＰベースラインは、投与の前の個体または集団におけるＣＲＰの初期濃度であり得る。ＣＲＰの初期濃度は、疾患を有することを示し得る。疾患を示すＣＲＰの初期濃度は、５ｍｇ／Ｌより高いＣＲＰ濃度であり得る。一部の実施形態では、５ｍｇ／Ｌより高いＣＲＰ濃度は、過敏性腸疾患（ＩＢＤ）を示す。一部の実施形態では、ＣＲＰの濃度は、

初期濃度ＣＲＰと比べて少なくとも４０％低下し、経口製剤の用量は、約１ｍｇ～約３ｍｇである。

【０３６３】

ＣＲＰベースラインは、プラセボ調整ＣＲＰベースラインであり得る。プラセボ調整ＣＲＰベースラインは、プラセボ投与個体または集団へのプラセボの投与後の、投与前の初期ＣＲＰ濃度に対する、ＣＲＰ濃度の変化パーセントであり得る。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物で処置された個体または集団におけるＣＲＰの濃度は、プラセボ調整ＣＲＰベースラインと比べて少なくとも１０％低下し、ＩＬ－１０送達構築物の経口製剤の用量は、約３ｍｇである。一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物で処置された個体または集団におけるＣＲＰの濃度は、プラセボ調整ＣＲＰベースラインと比べて少なくとも４０％低下し、ＩＬ－１０送達構築物の経口製剤の用量は、約１ｍｇである。

【０３６４】

１つの説明に役立つ例では、プラセボ投与個体または集団は、８ｍｇ／ＬのＣＲＰ濃度で開始し、プラセボの投与後に１０ｍｇ／Ｌに上昇し（２５％上昇を表す）、ＩＬ－１０送達構築物投与個体または集団は、８ｍｇ／ＬのＣＲＰ濃度で開始し、ＩＬ－１０送達構築物の投与後に４ｍｇ／Ｌに低下する（５０％低下を表す）。この例では、ＩＬ－１０送達構築物投与個体または集団のＣＲＰ濃度は、（ｉ）ＣＲＰベースラインが投与の前のＩＬ－１０送達構築物投与個体もしくは集団におけるＣＲＰの初期濃度である場合、ＣＲＰ濃度の５０％低下がある、または（ｉｉ）ＣＲＰベースラインがプラセボ調整ＣＲＰベースラインである場合、ＣＲＰ濃度の７５％低下（５０％＋２５％）があると、言うことができる。

【０３６５】

別の説明に役立つ例では、プラセボ投与個体または集団は、８ｍｇ／ＬのＣＲＰ濃度で開始し、プラセボの投与後に６ｍｇ／Ｌに低下し（２５％低下を表す）、ＩＬ－１０送達構築物投与個体または集団は、８ｍｇ／ＬのＣＲＰ濃度で開始し、ＩＬ－１０送達構築物の投与後に４ｍｇ／Ｌに低下する（５０％低下を表す）。この例では、ＩＬ－１０送達構築物投与個体または集団のＣＲＰ濃度は、（ｉ）ＣＲＰベースラインが投与の前のＩＬ－１０送達構築物投与個体もしくは集団におけるＣＲＰの初期濃度である場合、ＣＲＰ濃度の５０％低下がある、または（ｉｉ）ＣＲＰベースラインがプラセボ調整ＣＲＰベースラインである場合、ＣＲＰ濃度の２５％低下（５０％－２５％）があると、言うことができる。

【０３６６】

免疫調節応答は、Ｇｅｂｏｅｓスコアの、Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインと比べての減少を含み得る。Ｇｅｂｏｅｓスコアリングシステムは、組織学的応答の標準的な測定基準である（Ｇｅｂｏｅｓ ｅｔ ａｌ． Ｇｕｔ． ２０００ Ｓｅｐ；４７（３）：４０４－９）。本明細書で使用される場合、Ｇｅｂｏｅｓスコアは、０～２２点の組織学的スコアリングシステムであり得、スコアが高いほど重症度が高い疾患を表す。Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインは、投与の前の個体または集団の初期Ｇｅｂｏｅｓスコアであり得る。Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインは、プラセボ調整Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインであり得る。プラセボ調整Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインは、個体または集団へのプラセボの投与後のＧｅｂｏｅｓスコアとプラセボの投与前の初期Ｇｅｂｏｅｓスコアとの差であり得る。一部の実施形態では、Ｇｅｂｏｅｓスコアは、プラセボ調整Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインと比べて少なくとも２単位減少し、経口製剤の用量は、約１ｍｇ～約３０ｍｇである。

【０３６７】

１つの説明に役立つ例では、プラセボ投与個体または集団は、１０のＧｅｂｏｅｓスコアで開始し、このスコアが、プラセボの投与後に１２に増加し（２単位の増加または２０％の上昇を表す）、ＩＬ－１０送達構築物個体または集団は、１０のＧｅｂｏｅｓスコアで開始し、このスコアが、ＩＬ－１０送達構築物の投与後の５に減少する（５単位の減少または５０％の低下を表す）。この例では、ＩＬ－１０送達構築物投与個体のＧｅｂｏｅ

ｓスコアは、（ｉ）Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインが、ＩＬ－１０送達構築物投与個体の初期Ｇｅｂｏｅｓスコアである場合、５単位の減少もしくは５０％の低下がある、または（ｉｉ）Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインが、プラセボ調整Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインである場合、７単位の減少もしくは７０％（５０％＋２０％）の低下があると、言うことができる。

【０３６８】

別の説明に役立つ例では、プラセボ投与個体または集団は、１０のＧｅｂｏｅｓスコアで開始し、このスコアが、プラセボの投与後に８に減少し（２単位の減少または２０％の低下を表す）、ＩＬ－１０送達構築物個体または集団は、１０のＧｅｂｏｅｓスコアで開始し、このスコアが、ＩＬ－１０送達構築物の投与後の５に減少する（５単位の減少または５０％の低下を表す）。この例では、罹患個体のＧｅｂｏｅｓスコアは、（ｉ）Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインが、ＩＬ－１０送達構築物投与個体の初期Ｇｅｂｏｅｓスコアである場合、５単位の減少もしくは５０％の低下がある、または（ｉｉ）Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインが、プラセボ調整Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインである場合、３単位の減少もしくは３０％（５０％－２０％）の低下があると、言うことができる。

【０３６９】

一部の実施形態では、免疫調節応答は、ＦＣＰの濃度の、ＦＣＰベースラインと比べての低下、およびＣＲＰの濃度の、ＣＲＰベースラインと比べての低下を含む。一部の実施形態では、免疫調節応答は、ＦＣＰの濃度の、ＦＣＰベースラインと比べての低下、およびＧｅｂｏｅｓスコアの、Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインと比べての減少を含む。一部の実施形態では、免疫調節応答は、ＣＲＰの濃度の、ＣＲＰベースラインと比べての低下、およびＧｅｂｏｅｓスコアの、Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインと比べての減少を含む。一部の実施形態では、免疫調節応答は、ＦＣＰの濃度の、ＦＣＰベースラインと比べての低下、ＣＲＰの濃度の、ＣＲＰベースラインと比べての低下、およびＧｅｂｏｅｓスコアの、Ｇｅｂｏｅｓスコアベースラインと比べての減少を含む。

【０３７０】

消化器の炎症性障害を有する個体の結腸組織は、陰窩構造の破壊、びらん、および潰瘍化に関連する上皮への好中球浸潤に加えて、単核細胞、好酸球、および組織球、またはこれらの組合せによる粘膜固有層の浸潤を示し得る。個体へのＩＬ－１０送達構築物の投与は、陰窩構造の破壊、びらん、および潰瘍化に関連する上皮への好中球浸潤に加えて、単核細胞、好酸球、および組織球、またはこれらの組合せによる粘膜固有層の浸潤の低減をもたらすことができる。

【０３７１】

一部の実施形態では、ＩＬ－１０送達構築物のＩＬ－１０の５％未満、４％未満、３％未満、２％未満、または１％未満が、血流に入る。

【０３７２】

一部の実施形態では、本明細書に記載のＩＬ－１０送達構築物を含む経口製剤は、それを必要とする個体に経口投与される。ＩＬ－１０送達構築物を含む製剤は、個体に少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３または１４日間投与することができる。製剤は、１日１回投与することができる。

【０３７３】

個体への約１ｍｇ～約６０ｍｇの経口製剤の治療有効量の用量の投与は、個体におけるＩＬ－１Ｒａの血漿濃度の、ＩＬ－１Ｒａのベースライン血漿濃度と比べての２０％より大きい上昇をもたらし得る。一部の実施形態では、ＩＬ－１Ｒａのベースライン血漿濃度は、投与の前の個体のＩＬ－１Ｒａの血漿濃度である。一部の実施形態では、経口製剤の用量は、約３ｍｇ～約３０ｍｇであり、ＩＬ－１Ｒａの血漿濃度の、ＩＬ－１Ｒａのベースライン血漿濃度と比べての上昇は、３０％より大きい。一部の実施形態では、経口製剤の用量は、約３ｍｇ～約３０ｍｇであり、ＩＬ－１Ｒａの血漿濃度の、ＩＬ－１Ｒａのベースライン血漿濃度と比べての上昇は、３０％～４５％である。一部の実施形態では、経口製剤の用量は、約３ｍｇ～約１０ｍｇであり、ＩＬ－１Ｒａの血漿濃度の、ＩＬ－１Ｒ

ａのベースライン血漿濃度と比べての上昇は、３０％～３５％である。一部の実施形態では、経口製剤の用量は、約３０ｍｇであり、ＩＬ－１Ｒａの血漿濃度の、ＩＬ－１Ｒａのベースライン血漿濃度と比べての上昇は、４０％～４３％である。経口製剤の用量は、経口製剤中のＩＬ－１０またはＩＬ－１０送達構築物の量を指すこともある。

【０３７４】

個体への経口製剤の用量の投与は、１５００ｐｇ／ｍＬ、１０００ｐｇ／ｍＬ、９００ｐｇ／ｍＬ、８００ｐｇ／ｍＬ、７００ｐｇ／ｍＬ、６００ｐｇ／ｍＬ、５００ｐｇ／ｍＬ、４００ｐｇ／ｍＬ、３００ｐｇ／ｍＬ、２００ｐｇ／ｍＬ、１００ｐｇ／ｍＬ、５０ｐｇ／ｍＬ、または１０ｐｇ／ｍＬ以下である、個体におけるＩＬ－１０の血漿濃度をもたらし得る。個体への経口製剤の用量の投与は、１５００ｐｇ／ｍＬ以下である、個体におけるＩＬ－１０の血漿濃度をもたらし得る。個体への経口製剤の用量の投与は、１０００ｐｇ／ｍＬ以下である、個体におけるＩＬ－１０の血漿濃度をもたらし得る。個体への経口製剤の用量の投与は、５００ｐｇ／ｍＬ以下である、個体におけるＩＬ－１０の血漿濃度をもたらし得る。個体への経口製剤の用量の投与は、１００ｐｇ／ｍＬ以下である、個体におけるＩＬ－１０の血漿濃度をもたらし得る。

【０３７５】

個体の血漿中のＩＬ－１Ｒａの濃度の上昇をもたらし得る、ＩＬ－１０を含む製剤の治療有効量の個体への投与は、個体の血漿中のＩＬ－１Ｒａの濃度の、ＩＬ－１Ｒａのベースラインレベルと比べての少なくとも５０００ｐｇ／ｍＬの上昇をもたらし得る。ＩＬ－１Ｒａのベースラインレベルは、投与の前の個体の血漿中のＩＬ－１Ｒａの典型的な濃度であり得る。ＩＬ－１Ｒａの濃度は、最高で少なくとも５０００ｐｇ／ｍＬ、６０００ｐｇ／ｍＬ、７０００ｐｇ／ｍＬ、８０００ｐｇ／ｍＬ、９０００ｐｇ／ｍＬ、１０，０００ｐｇ／ｍＬ、１１，０００ｐｇ／ｍＬ、１２，０００ｐｇ／ｍＬ、１５，０００ｐｇ／ｍＬ、２０，０００ｐｇ／ｍＬ、または２５，０００ｐｇ／ｍＬに達し得る。ＩＬ－１Ｒａの濃度は、最高で１０００ｐｇ／ｍＬ～１０，０００ｐｇ／ｍＬ、８０００ｐｇ／ｍＬ～１２，０００ｐｇ／ｍＬ、または２５，０００ｐｇ／ｍＬ～２８，０００ｐｇ／ｍＬに達し得る。ＩＬ－１Ｒａの最高濃度には、少なくとも１、２、３または４時間後に達し得る。ＩＬ－１Ｒａの最高濃度には、投与後２～４時間、２～３時間、または３～４時間で達し得る。一例では、ＩＬ－１Ｒａの濃度は、投与後２．５時間～３．５時間で、最高で２５，０００ｐｇ／ｍＬ～２８，０００ｐｇ／ｍＬに達し得る。別の例では、ＩＬ－１Ｒａの濃度は、投与後３．５時間～４．５時間で、最高で８，０００ｐｇ／ｍＬ～１２，０００ｐｇ／ｍＬに達し得る。

【０３７６】

ＩＬ－１０を含む製剤の治療有効量の、疾患または状態（例えば、炎症性障害）を有する個体への投与は、（１）個体の血漿中５０ｐｇ／ｍＬ未満のピークＩＬ－１０濃度および（２）個体の粘膜固有層におけるＣＤ３を発現する細胞とのＩＬ－１０の共局在化のうちの少なくとも一方をもたらし得る。ピークＩＬ－１０濃度は、５０ｐｇ／ｍＬ、４０ｐｇ／ｍＬ、３０ｐｇ／ｍＬ、２０ｐｇ／ｍＬ、１０ｐｇ／ｍＬ、２．５ｐｇ／ｍＬ、２．０ｐｇ／ｍＬ、１．５ｐｇ／ｍＬまたは１．０ｐｇ／ｍＬ未満であり得る。ピークＩＬ－１０濃度には、投与後１時間～５時間、１時間～３時間、２時間～３時間、または３時間～５時間で達し得る。ＣＤ３を発現する細胞は、リンパ球であり得る。リンパ球は、Ｔ細胞であり得る。

【０３７７】

ＩＬ－１０を含む製剤の治療有効量の、疾患または状態（例えば、炎症性障害）を有する個体への投与は、個体の結腸組織におけるＩＬ－Ｒａのインターロイキン１ベータ（ＩＬ－１β）に対する発現比（ＩＬ－１Ｒａ：ＩＬ－１β）の増加をもたらし得る。ＩＬ－１Ｒａ：ＩＬ－１βの比は、少なくとも１：１、１．５：１、２：１、２．５：１、または３：１であり得る。ＩＬ－１Ｒａ：ＩＬ－１βの比は、２：１～３：１であり得る。

【０３７８】

ＩＬ－１０を含む製剤の治療有効量の、疾患または状態（例えば、炎症性障害）を有す

る個体への投与は、個体の血漿中の少なくとも１つの炎症性サイトカインの濃度の大幅な増加をもたらすことができない。少なくとも１つの炎症性サイトカインは、インターフェロンガンマ（ＩＦＮ－γ）、ＩＬ－１β、インターロイキン２（ＩＬ－２）、インターロイキン８（ＩＬ－８）、またはこれらの組合せであり得る。ＩＬ－１０を含む製剤の治療有効量の、疾患または状態（例えば、炎症性障害）を有する個体への投与は、個体の血漿中のＩＬ－１Ｒａの濃度の増加をもたらし得る。ＩＬ－１Ｒａの濃度は、投与後２．５時間～３．５時間で、最高で２５，０００ｐｇ／ｍＬ～２８，０００ｐｇ／ｍＬに達し得る。

【０３７９】

ＩＬ－１０を含む製剤の治療有効量の、疾患または状態（例えば、炎症性障害）を有する個体への投与は、（ａ）個体の結腸組織におけるインターロイキン１受容体アゴニスト（ＩＬ－１Ｒａ）の発現の増加、（ｂ）結腸組織における少なくとも１つの炎症性遺伝子の発現を減少、（ｃ）個体の結腸組織における少なくとも１つの抗炎症性遺伝子の発現の増加、（ｄ）個体の結腸組織における少なくとも１つの組織修復遺伝子の発現の増加、（ｅ）個体の結腸組織における少なくとも１つの抗菌性遺伝子の発現の増加、または（ｆ）これらの組合せをもたらし得る。一部の実施形態では、ＩＬ－１０を含む製剤の治療有効量の、疾患または状態（例えば、炎症性障害）を有する個体への投与は、個体の結腸組織におけるＩｌ－１Ｒａのインターロイキン１ベータに対する発現比（ＩＬ－１Ｒ：ＩＬ－１β）の増加をもたらす。ＩＬ－１Ｒ：ＩＬ－１βの比は、１：１、１．５：１、２：１、２．５：１、または３：１より高いことがある。

【０３８０】

少なくとも１つの炎症性遺伝子は、ＭＨＣ－ＩＩ、ＨＰＧＤＳ、ＦＣＥＲ１Ａ、ＰＬＡ２Ｇ２Ｄ、ＣＣＬ１３、ＦＵＴ３、ＣＣＬ２８、ＵＧＴ１Ａ１、ＣＣＬ２０、ＮＬＲＰ１、ＴＰＨ、またはこれらの組合せであり得る。少なくとも１つの抗炎症性遺伝子は、ＣＤ１６３、ＳＣＮＮ１Ｇ、ＳＴＣ１、ＨＧＦ、ＳＧＫ１、ｍｉＲ－２４－２、ＳＣＮＮ１Ｂ、ＰＴＧＤＲ、ＭＴＮＲ１Ａ、ＡＣＥ２、ＮＯＸ２、ＢＥＳＴ２、ＶＮＮ２、ＬＴＢ４Ｒ２、Ｂ２ＧＡＬＴ５、またはこれらの組合せであり得る。少なくとも１つの組織修復遺伝子は、ＳＣＮＮ１Ｇ、ＳＴＣ１、ＴＩＭＰ１、ＳＣＮＮ１Ｂ、ＢＥＳＴ２、Ｂ３ＧＡＬＴ５、またはこれらの組合せであり得る。少なくとも抗菌性遺伝子は、ＰＩ１５、ＰＩ３、ＢＤＫＲＢ１、ＣＣＩ２８、ＳＥＲＰＩＮＥ２、またはこれらの組合せであり得る。

【０３８１】

本明細書において、ある特定の実施形態では、炎症性障害の寛解期の個体における炎症性障害の再発を防止する方法であって、ＩＬ－１０と１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む製剤を個体に投与するステップを含む方法がさらに記載される。個体は、少なくとも１カ月、６カ月、８カ月、１年、２年、３年、４年または５年間、炎症性障害の寛解期にあり得る。

【０３８２】

本明細書において、ある特定の実施形態では、少なくとも１つの抗炎症剤に対して不応性または耐性の個体における炎症性障害を処置する方法であって、ＩＬ－１０を含む製剤を個体に投与するステップを含む方法が記載される。抗炎症剤は、アミノサリチレートであり得る。一部の実施形態では、アミノサリチレートは、５－アミノサリチル酸（５－ＡＳＡ；メサラジン）、４－アミノサリチル酸（４－ＡＳＡ）、バルサラジド、オルサラジン、およびスルファサラジンからなる群より選択される。抗炎症剤は、コルチコステロイドであり得る。一部の実施形態では、コルチコステロイドは、プレドニゾンである。一部の実施形態では、コルチコステロイドは、経口投与コルチコステロイドまたは静脈内（ＩＶ）投与コルチコステロイドである。抗炎症剤は、免疫抑制剤であり得る。一部の実施形態では、免疫抑制剤は、アザチオプリン、６－メルカプトプリンおよびこれらの組合せからなる群より選択される。抗炎症剤は、ＴＮＦα阻害剤であり得る。一部の実施形態では、ＴＮＦα阻害剤は、アダリムマブ、セルトリズマブ、エタネルセプト、ゴリムマブおよびインフリキシマブからなる群より選択される。少なくとも１つの抗炎症剤は、ヤヌスキ

ナーゼ（ＪＡＫ）阻害剤であり得る。一部の実施形態では、ＪＡＫ阻害剤は、フィルゴチニブ、ウパダシチニブ、ペフィシチニブおよびトファシチニブからなる群より選択される。少なくとも１つの抗炎症剤は、スフィンゴシン－１－リン酸（Ｓ１Ｐ）受容体アンタゴニストであり得る。一部の実施形態では、Ｓ１Ｐ受容体アンタゴニストは、オザニモド、アミセリモドおよびエトラシモドからなる群より選択される。少なくとも１つの抗炎症剤は、インテグリン遮断薬であり得る。一部の実施形態では、インテグリン遮断薬は、エトロリズマブ、ナタリズマブ、ベドリズマブ、アブリルマブおよびカロテグラストメチルからなる群より選択される。少なくとも１つの抗炎症剤は、ＩＬ－２３阻害剤であり得る。一部の実施形態では、ＩＬ－２３阻害剤は、ウステキヌマブ、ミリキズマブ、ブラジクマブ、グセルクマブおよびリサンキズマブからなる群より選択される。少なくとも１つの抗炎症剤は、ホスホジエステラーゼ４（ＰＤＥ４）阻害剤であり得る。一部の実施形態では、少なくとも１つのＰＤＥ４阻害剤は、アプレミラスト、シロミラスト、ロフルミラスト、テトミラストおよびロリプラムからなる群より選択される。少なくとも１つの抗炎症剤は、ラキニモドであり得る。一部の実施形態では、個体は、少なくとも５、７、１０、１２または１４日間、製剤を連日投与される。

併用療法

【０３８３】

それを必要とする対象における炎症性障害を処置する方法であって、ＩＬ－１０治療薬を非ＩＬ－１０免疫抑制薬と組み合わせて投与するステップを含む方法が、本明細書で提供される。一部の場合には、ＩＬ－１０治療薬は、経口治療薬である。一部の場合には、非ＩＬ－１０免疫抑制薬での処置は、経口ＩＬ－１０治療薬での処置の前に開始される。一部の場合には、非ＩＬ－１０免疫抑制薬での処置は、経口ＩＬ－１０治療薬での処置と同時に開始される。一部の場合には、対象は、以前に非ＩＬ－１０免疫抑制薬で処置されたことがあり、不十分な応答であった。一部の場合には、対象は、病歴、家族歴、遺伝的特徴、またはバイオマーカーの発現に基づいて、非ＩＬ－１０免疫抑制薬が不十分な応答であると予測される。一部の場合には、非ＩＬ－１０免疫抑制薬は、インターロイキンではない。

【０３８４】

一部の場合には、非ＩＬ－１０免疫抑制薬は、抗インテグリン療法薬、例えば、ベドリズマブである。一部の場合には、非ＩＬ－１０免疫抑制薬は、ヤヌスキナーゼ阻害剤（ＪＡＫ阻害剤）である。一部の場合には、非ＩＬ－１０免疫抑制薬は、ＩＬ－２３アンタゴニストおよび／またはＩＬ－１２／ＩＬ－２３アンタゴニストである。一部の場合には、非ＩＬ－１０免疫抑制薬は、スフィンゴシン－１－リン酸（Ｓ１Ｐ）モジュレーターまたはスフィンゴシン－１－リン酸受容体モジュレーターである。他の場合には、非ＩＬ－１０免疫抑制薬は、ＩＬ－２２またはＩＬ－２２アゴニストである。

【０３８５】

一部の場合には、非ＩＬ－１０免疫抑制薬は、ＴＮＦアルファ阻害剤である。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤での処置は、ＩＬ－１０治療薬での処置の前に開始される。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤での処置は、ＩＬ－１０治療薬での処置と同時に開始される。一部の場合には、対象は、以前にＴＮＦアルファ阻害剤で処置されたことがあり、不十分な応答であった。一部の場合には、対象は、病歴、家族歴、遺伝的特徴、またはバイオマーカーの発現に基づいてＴＮＦアルファ阻害剤が不十分な応答であると予測される。

【０３８６】

ＴＮＦアルファ阻害剤での処置が不十分な応答であった対象における炎症性疾患を処置する方法であって、ＩＬ－１０治療薬を投与するステップを含む方法が、さらに提供される。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤での処置は、ＩＬ－１０治療薬と併せて継続される。

【０３８７】

一部の場合には、炎症性疾患は、腸または消化管の疾患であり得る。一部の場合には、

炎症性疾患は、消化管より遠位のまたは消化管から遠く離れている組織に現れ得るかまたは存在し得る。一部の場合には、炎症性疾患は、炎症性腸疾患、乾癬、尋常性乾癬、化膿性汗腺炎、乾癬性関節炎、関節リウマチ、若年性特発性関節炎、強直性脊椎炎、細菌性敗血症、クローン病、瘻孔形成性クローン病、中等度から重度の潰瘍性大腸炎、軽度から中等度の潰瘍性大腸炎、潰瘍性大腸炎、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、虚血性大腸炎、空置大腸炎、ベーチェット症候群、不確定大腸炎、関節リウマチ、膵炎、肝臓の炎症、回腸嚢炎、直腸炎、ぶどう膜炎、移植片対宿主病、および上皮細胞傷害からなる群より選択され得る。一部の場合には、炎症性疾患は、関節リウマチである。一部の場合には、炎症性疾患は、炎症性腸疾患である。一部の場合には、炎症性腸疾患は、潰瘍性大腸炎である。一部の場合には、炎症性腸疾患は、クローン病である。

【０３８８】

一部の場合には、ＩＬ－１０治療薬を疾患部位に局所投与することができる。例えば、ＩＬ－１０治療薬を経口投与して、消化管の疾患、例えば、潰瘍性大腸炎またはクローン病を処置することができる。一部の場合には、ＩＬ－１０治療薬を経口投与して、消化管より遠位の疾患を処置することができる全身用量を実現することができる。例えば、ＩＬ－１０治療薬を経口投与して、関節リウマチまたは乾癬を処置することができる。

【０３８９】

治療薬の不十分な応答は、部分応答、または応答不足を含み得る。一部の場合には、不十分な応答は、疾患の完全治癒または完全寛解以外の応答である。治療薬が不十分な応答であった対象は、処置前と比較して処置中または処置後により少数の症状を有し得るか、または重症度のより低い症状を有し得る。他の場合には、疾患に対する応答が不十分であった対象は、処置の前と同じ症状数または同じ症状を有し得る。一部の場合には、治療薬が不十分な応答であった対象は、処置前と比較して処置後により多くの症状または重症度のより高い症状を有し得る。

【０３９０】

一部の場合には、治療薬が不十分な応答であった関節リウマチを有する対象は、治療薬（例えば、抗ＴＮＦアルファ阻害剤単独）での処置後に関節炎の１つまたは複数の症状を有し続け得る。例えば、対象は、活動性疾患のある１つまたは複数の関節を有し得る。活動性疾患は、蛍光光学イメージングまたは磁気共鳴画像法により特定することができる。関節リウマチの処置が不十分な応答を有する対象は、圧痛のある１つもしくは複数の関節、および／または腫脹している１つもしくは複数の関節を有し得る。存在し得る他の症状としては、関節のこわばりまたは衰弱、関節上の皮膚の発赤、関節上のしこり、フレア、口内乾燥、肉体的奇形、またはしびれ感が挙げられる。

【０３９１】

一部の場合には、治療薬が不十分な応答であった潰瘍性大腸炎を有する対象は、治療薬（例えば、抗ＴＮＦアルファ阻害剤単独）での処置後に潰瘍性大腸炎の１つまたは複数の症状を有し続け得る。潰瘍性大腸炎処置が不十分な応答を有する対象は、約４点～約９点の間の改訂Ｍａｙｏ　Ｃｌｉｎｉｃスコア（ＭＭＳ）を有し得る。対象は、グレード２またはそれより高い中央読影ＭＣＳ内視鏡サブスコアを有し得る。一部の場合には、対象は、１点またはそれより高いＭＭＳ直腸出血サブスコアを有し得る。一部の場合には、対象は、肛門縁から１５ｃｍまたはそれを超えて広がる疾患を有し得る。潰瘍性大腸炎の他の症状としては、腹痛／腹部不快感、血便または便中の膿、発熱、体重減少、頻発する下痢、疲労、食欲低下、およびしぶりが挙げられる。

【０３９２】

一部の場合には、対象は、ＴＮＦアルファ阻害剤での処置後に不十分な応答であったことがある。一部の場合には、対象は、ＴＮＦアルファ阻害剤での少なくとも６または少なくとも１２週間の処置後にＴＮＦアルファ阻害剤が不十分な応答であったことがある。

【０３９３】

ＴＮＦアルファ阻害剤は、モノクローナル抗体であり得る。抗ＴＮＦアルファ治療薬の例としては、インフリキシマブ（Ｒｅｍｉｃａｄｅ）、アダリムマブ（Ｈｕｍｉｒａ）お

よびゴリムマブ（Ｓｉｍｐｏｎｉ）が挙げられる。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤は、エタネルセプトである。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤は、エタネルセプトではない。

【０３９４】

ＴＮＦアルファ阻害剤は、皮下注射によりまたは任意の他の好適な方法により投与することができる。例えば、アダリムマブを皮下注射により投与することができる。一部の場合には、アダリムマブを４０ｍｇの用量で隔週投与することができる。一部の場合には、１つまたは複数の初回用量は、維持用量よりも高くてもよい。例えば、アダリムマブ治療レジメンは、１６０ｍｇの第１の用量、これに続く約２週間後の８０ｍｇの第２の用量、この２週間後に続く隔週での４０ｍｇの維持用量を含み得る。一部の場合には、アダリムマブの初回用量は、８０ｍｇであり得、この２週間後に隔週での４０ｍｇの維持用量が続き得る。

【０３９５】

ＴＮＦアルファ阻害剤は、静脈内注入により投与することができる。例えば、インフリキシマブを静脈内注入により投与することができる。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤を少なくとも２時間の期間にわたって静脈内注入により投与することができる。一部の場合には、インフリキシマブを５ｍｇ／ｋｇの用量で投与することができる。他の場合には、インフリキシマブを３ｍｇ／ｋｇの用量で、または１０ｍｇ／ｋｇの用量で投与することができる。一部の場合には、処置レジメンは、より高頻度の初期用量、これに続く維持用量を含み得る。一部の場合には、処置レジメンは、ＴＮＦアルファ阻害剤を０、２および６週目に、その後、８週間ごとに投与することを含み得る。

【０３９６】

ＴＮＦアルファ阻害剤は、医療専門家により投与されることもあり、または自己投与のために患者に提供されることもある。一部の場合には、ＴＮＦアルファ阻害剤を、単回用量が予め充填された注射器で、または単回用量自動注射器で提供することができる。例えば、アダリムマブを単回用量ＨＵＭＩＲＡ　Ｐｅｎで提供することができる。

【０３９７】

一部の場合には、ＩＬ－１０治療薬を経口投与することができる。一部の場合には、ＩＬ－１０治療薬を、ＴＮＦアルファ阻害剤とほぼ同時に投与することができる。例えば、ＩＬ－１０治療薬を、ＴＮＦアルファ阻害剤の直前または直後に投与することができる。一部の場合には、ＩＬ－１０治療薬を、ＴＮＦアルファ阻害剤と同じ日に、またはＴＮＦアルファ阻害剤の投与を開始する日もしくはその翌日に投与することができる。例えば、ＩＬ－１０治療薬およびＴＮＦアルファ阻害剤を０、２および６週間目に、次いで、その後、８週間ごとに投与することができる。別の例では、ＩＬ－１０治療薬およびＴＮＦアルファ阻害剤を２週間ごとに投与することができる。

【０３９８】

一部の場合には、ＩＬ－１０治療薬は、ＩＬ－１０送達構築物であり得る。

【実施例】

【０３９９】

（実施例１）

ＩＬ－１０送達構築物の設計

【０４００】

ＩＬ－１０は、複数の自然および適応免疫細胞の活性化およびエフェクター機能を抑制する免疫調節性サイトカインである。ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を設計した。この構築物は、組換えホモ二量体性融合タンパク質であり、各単量体は、Ｎ末端メチオニン、グリシンおよびセリン（ポリＧｌｙＳｅｒ）残基（配列番号６）のアミノ酸ポリペプチドスペーサーによって接続されたコリックス^{386}ドメイン（配列番号４）および組換えヒトＩＬ－１０（ｒｈＩＬ－１０）ドメイン（配列番号２）からなる。コリックス^{386}ドメインは、３８６アミノ酸を含むＶｉｂｒｉｏ　ｃｈｏｌｅｒａに由来する非毒性突然変異体であるコリックスのバリアントの短縮形態であった。この構築物は、１２５，７

９６Ｄａの分子量、５．４９の等電点（ｐＩ）を有した。

【０４０１】

コリックス^{３８６}ドメインは、小胞トランスサイトーシスを介して上皮細胞を横断して局所消化器粘膜下組織への配列番号５のＩＬ－１０送達構築物の能動輸送を容易にする。経口経路を介した粘膜固有層への直接的なｒｈＩＬ－１０の標的化送達は、全身投与によって経験される１つまたは複数の難点を回避することができ、より高い粘膜濃度ならびに炎症および疾患の臨床的に意味がある低減につながり得る。

【０４０２】

本明細書の実施例で使用される場合、薬物物質（ＤＳ）は、凍結乾燥された粉末に言及する場合に使用し、薬物生成物（ＤＰ）は、カプセルまたは錠剤形態に言及する場合に使用した。

【０４０３】

（実施例２）

標的構築物の発現

【０４０４】

標的構築物（配列番号５）のコード配列（配列番号１０）を含むプラスミドを、ｐＥＴ２６（ｂ）骨格のＮｄｅ　Ｉ部位およびＥｃｏＲ　Ｉ部位中にクローニングすることによって構築した。配列番号１０によってコードされる配列は、細菌細胞における発現のためにコドン改善された配列である。このプラスミドは、Ｔ７プロモーターを含み、カナマイシン耐性を付与した。ＢＬ２１　Ｅ．ｃｏｌｉ細胞を、以下のように、ヒートショック法の形質転換を使用して、標的構築物プラスミドでトランスフェクトした：ＢＬ２１細胞および標的構築物プラスミドを、管中にアリコート化し、氷上で３０分間インキュベートした。次いで、管を、水浴中４２℃±２℃で３０～４５秒間ヒートショックした。ヒートショックの直後に、管を氷中に２～５分間置いた。培地を各管に添加し、管を３７℃で６０分間インキュベートした。形質転換された細胞を、ＬＢ／Ｋａｎ寒天プレート上にプレートし、３７℃で一晩インキュベートした。次いで、単一のコロニーを寒天プレートから取り、４ｍＬのＬＢ培地中に接種し、シェイカーフラスコ中で一晩成長させた。グリセロールストック（８０％）を培養物に添加し、これを次いで、クライオバイアル中に充填し、－８０±１０℃で貯蔵した。次いで、プレ－ＲＣＢ（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｃｅｌｌ　Ｂａｎｋ；培養物＋グリセロールストック）をさらに製造して、マスター細胞バンク（ＭＣＢ）を生成した。

【０４０５】

ＭＣＢを生成するために、ＲＣＢ由来の細胞を、十分な細胞量が蓄積されるまで振盪フラスコ中で拡大増殖させ、遠心分離によって回収し、凍結保存培地中に再懸濁し、３００個のクライオバイアル中にアリコート化し、凍結するまで冷却した。ＭＣＢを、制御されたアクセスのＧＭＰ施設において－８０±５℃で貯蔵した。ＭＣＢを製造し、ｃＧＭＰ手順ならびにＩＣＨ　Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅｓ　Ｑ５ＢおよびＱ５Ｄに従って維持する。

【０４０６】

振盪フラスコにおける拡大増殖後、細胞を、生成生物反応器中に移した。発酵を、選択圧のためのカナマイシンの存在下で、１５００Ｌの生物反応器中で行った。生成発酵は、細胞成長段階と、その後の、誘導剤としてイソプロピルβ－Ｄ－１－チオガラクトピラノシド（ＩＰＴＧ）を使用する発現段階とからなり、ここで、タンパク質は、不溶性封入体として細胞内で発現された。生成反応器を、製造手順において特定したように、設定されたｐＨ、温度および溶存酸素レベルで制御した：ｐＨを、リン酸および水酸化アンモニウムの添加によって制御した；溶存酸素を、空気および酸素ガスの流れによって制御した。全てのガスは、０．２２μｍまたはそれ未満の孔サイズのメンブレンフィルターを通過させた。生成反応器は、規定された構成成分を有する細菌成長培地を含んだ。接種前に、これらの成分を、文書の標準的な操作手順に従って無菌化した。生成段階は、流加プロセスであり、ここでは、細胞の成長および培養物の生存度を維持するために、グルコースベースの供給培地が添加される。

【０４０７】
生成の終了時に、細胞を遠心分離によって収集し、細胞ペーストを、さらに処理したか、または後日の処理のために凍結させた。高圧均質化を使用して、生成物含有封入体を放出させた。次いで、封入体を、再懸濁し、洗浄し、遠心分離によって他の細胞構成成分から分離した。封入体を、先に即座に処理したか、または後日の使用のために凍結させた。細胞ペーストおよび／または封入体スラリーを、さらなる使用の前に、－２０±５℃で貯蔵した。

【０４０８】
（実施例３）
リフォールディング最適化

【０４０９】
封入体（ＩＢ）の可溶化を、高濃度の、強いカオトロープである塩酸グアニジンを使用して行った。可溶化後、ＤＴＴで還元し、次いで、酸化還元カクテル中に希釈する従来のリフォールディングアプローチを使用する初期の試みは、低収量の適切にフォールディングされた二量体（＜５％二量体）を生成した。より高い回収を生じた、亜硫酸分解を利用する第２のアプローチを行った。ペプチドを、亜硫酸ナトリウムで最初に還元し、次いで、遊離スルフヒドリルを、テトラチオン酸カリウムでキャップした。残留亜硫酸分解試薬を除去するための透析濾過の後、タンパク質を酸化還元カクテル中に希釈し、これにより、タンパク質をリフォールディングおよび酸化させた。このアプローチを利用すると、収量は、約２倍高かったが（約１０％の二量体）、所望よりもまだ低かった。浸透圧調節物質、例えばスクロース、ならびに他の水改変剤、例えばグリセロールの存在下でのリフォールディング影響を、さらに調査した。

【０４１０】
リフォールディング効率を、リフォールディング溶液のアルギニン濃度および標的構築物（タンパク質）濃度を変動させた後に評価した（表５；図２５Ａ～２５Ｂ）。この実施例における表および図面に示されるリフォールディング効率は、得られたリフォールディングされた標的構築物のパーセント二量体と同等であり、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー（ＳＥ－ＨＰＬＣ）によってそれを評価した。４つの異なるリフォールディング溶液の使用からの二量体％を示すクロマトグラムの例は、図２８に示される。図２８のクロマトグラムに示される４つのリフォールディング溶液のリフォールディング効率は、図２９に示される。

表５－アルギニン濃度（Ｍ）および標的構築物濃度（ｍｇ／ｍＬ）が変動する、９つのリフォールディング溶液中の構成成分の濃度

【表５】

	アルギニン	タンパク質濃度
1	0.50	0.75
2	0.50	1.00
3	0.50	1.50
4	0.75	1.00
5	0.75	1.00
6	0.75	1.50
7	1.00	0.75
8	1.00	1
9	1.00	1.5

【０４１１】
リフォールディング効率を、リフォールディング溶液のｐＨおよびグリセロール濃度を変動させた後に評価した（表６；図２６Ａ～２６Ｂ）。

表６－グリセロール（ｍＭ）濃度およびｐＨが変動する、９つのリフォールディング溶液中の構成成分の濃度

【表６－１】

	アルギニン	タンパク質濃度	グリセロール	pH
1	0.75	1.00	0	7.5
2	0.75	1.00	10	7.5
3	0.75	1.00	30	7.5
4	0.75	1.00	0	8
5	0.75	1.00	10	8
6	0.75	1.00	30	8
7	0.75	1.00	0	8.5
8	0.75	1.00	10	8.5

【表６－２】

9	0.75	1.00	30	8.5

【０４１２】

リフォールディング効率を、リフォールディング溶液のスクロース濃度およびＰＥＧ濃度を変動させた後に評価した（表７；図２７Ａ～２７Ｂ）。

表７－％ＰＥＧおよびスクロース濃度（Ｍ）が変動する、９つのリフォールディング溶液中の構成成分の濃度

【表７】

	アルギニン	タンパク質濃度	PEG 3350	スクロース, M
1	0.75	1.00	0	0
2	0.75	1.00	0.1	0
3	0.75	1.00	0.5	0
4	0.75	1.00	0	0.25
5	0.75	1.00	0.1	0.25
6	0.75	1.00	0.5	0.25
7	0.75	1.00	0	0.5
8	0.75	1.00	0.1	0.5
9	0.75	1.00	0.5	0.5

【０４１３】

リフォールディング効率を、リフォールディング溶液のスクロース、グリセロールおよびＰＥＧ濃度を変動させた後に評価した（表８）。

表８－１０個のリフォールディング溶液中の構成成分の濃度、および得られたリフォールディング効率（二量体％）

【表８】

	アルギニン、M	タンパク質濃度、mg/ml	スクロース、M	グリセロール、%	PEG 3350、%	二量体(%)
1	1.00	1.00	0	0	0.2	17.38%
2	1.00	1.00	0.1	0	0	18.29%
3	1.00	1.00	0.25	0	0	18.16%
4	1.00	1.00	0	5	0.1	17.71%
5	1.00	1.00	0.1	5	0.2	19.00%
6	1.00	1.00	0.25	5	0.1	18.21%
7	1.00	1.00	0	10	0	16.30%
8	1.00	1.00	0.1	10	0.1	18.10%
9	1.00	1.00	0.25	10	0.2	16.61%
10	1.00	1.00	0.25	5	0	17.90%

【０４１４】

（実施例４）

リフォールディングされた構築物の精製

【０４１５】

クロマトグラフィーのいくつかのモードを、プロセス開発の間に評価した。このタンパク質は、標的構築物のｐＩ（ｐＨ５．５）よりも低いｐＨで沈殿するので、陽イオン交換（ＣＥＸ）は、比較的低いｐＨでは不首尾であった。このタンパク質は、結合に必要な高い塩中で不安定であったようなので、疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）もまた不首尾であった。

【０４１６】

このタンパク質は、より高いｐＨで安定であり、合理的な能力で結合したので、陰イオン交換（ＡＥＸ）は良好に機能した。種々の業者からのいくつかのＡＥＸ支持体を評価し、Ｃａｐｔｏ（商標）Ｑ　ＩｍｐＲｅｓは、特に、２つの主要な生成物関連不純物である残留単量体および凝集した種からの活性二量体種の分離に関して、最良の全体的性能を与えた。洗練するステップとして、セラミックヒドロキシアパタイト（ＣＨＴ）を、混合モード直交ステップとして行って、生成物およびプロセス関連不純物をさらに低減させた。

【０４１７】

リフォールディングされた標的構築物を、ＡＥＸクロマトグラフに供し、その後ＣＨＴクロマトグラフィーに供した。両方のクロマトグラフィーステップでの勾配溶離を、初期臨床キャンペーンのために利用し、最適化された段階溶離を開発する機会を、臨床開発の進行の際に評価した。溶離の間に、画分を収集し、各画分を、標的構築物の二量体含量について、ＳＥ－ＨＰＬＣによってアッセイした。次いで、所望の二量体含量パーセンテージを満たすために、特定された閾値（例えば、７５％）を上回って含む画分をプールした。ＣＨＴステップの後、最終バルクを濃縮し、ＵＦ／ＤＦを使用して製剤化緩衝液中に透析濾過した。主要なプロセス中間体のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析は、図３０に示され、これは、下流の処理の間の二量体純度における増加を実証した。

【０４１８】

（実施例５）

液体中間体の凍結乾燥

【０４１９】

ＩＬ－１０送達構築物を含む経口カプセルを生成するために、実施例４に記載される精製プロトコール後に生成された精製された液体中間体を、乾燥粉末に変換した。凍結乾燥は、凝集体形成を最小化しながら粉末を生成するための適切な方法であると決定された。

【０４２０】

凍結乾燥緩衝液を確立するための製剤開発を、以下に概説するいくつかの構成成分の組合せ中への透析後に、標的構築物の凍結－解凍および剪断誘導性の液体安定性を最初にス

クリーニングすることによって行った：
１）界面活性剤：ポリソルベート８０、２０およびポロキサマー１８８
２）５～８の範囲のｐＨ
３）浸透圧調節物質：５％スクロース
４）塩：塩化ナトリウム（ＮａＣｌ）、塩化カリウム（ＫＣｌ）、塩化マグネシウム（$MgCl_2$）、硫酸アンモニウム（NH_4SO_4）および硫酸ナトリウム（Na_2SO_4）。

【０４２１】
初期液体製剤スクリーニングからのデータに基づいて、ポロキサマー１８８が、剪断応力下での標的構築物の凝集を低減させたこと、ならびにリン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）および１５０～２００ｍＭのＮａＣｌもまた、増加した安定性を実証したことが決定された。

【０４２２】
初期液体製剤スクリーニングからの結果に基づいてさらに試験して、初期凍結乾燥実現可能性研究を、表９中の条件を使用して行った。不定形増量剤としてタンパク質の凍結乾燥において有用であることが公知のグリシンおよびマンニトールを、このスクリーニングに添加し、ヒスチジンをｐＨ７．０で添加して、７．０～７．５の範囲のｐＨの影響のより粒度の細かい評価を提供し、トレハロースを、浸透圧調節物質としてのスクロースのオプションとして添加した。図２１および２２は、２５℃で３日間のインキュベーションの前および後（図２１）ならびに５回の凍結／解凍サイクルの前および後（図２２）の、二量体形態にある標的構築物のパーセンテージを示す。

表９－初期凍結乾燥実現可能性研究において使用した条件の概要

【表９】

緩衝液	増量剤	安定剤
10mM ヒスチジン pH 7.0	-	150 mM NaCl
	2% グリシン	-
	2% グリシン	0.5% スクロース
	2% グリシン	0.5%トレハロース
	3% グリシン	-
	4% グリシン	50 mM NaCl, 0.5%トレハロース
	4% グリシン	150 mM NaCl, 0.5% トレハロース
	4% グリシン	50 mM NaCl, 0.5% スクロース
10mM リン酸ナトリウム pH 7.5	-	150 mM NaCl
	2% グリシン	-
	2% グリシン	0.5% スクロース
	2% グリシン	0.5%トレハロース
	3% グリシン	-
	4% マンニトール	50 mM NaCl, 0.5%トレハロース
	4% マンニトール	150 mM NaCl, 0.5% トレハロース
	4% マンニトール	50 mM NaCl, 0.5% スクロース

【０４２３】

この初期凍結乾燥実現可能性研究は、標的構築物が、低減された凝集に関して、スクロースおよびグリシンを伴うｐＨ７．５においてより安定であったことを実証した。この初期研究からの結果に基づいて、第２の凍結乾燥スクリーニングを、表１０に列挙した製剤を使用して行った。

表１０－二次製剤化緩衝液スクリーニングの概要

【表１０】

					凍結乾燥前(%)			凍結乾燥後(%)		
緩衝液	緩衝剤	安定剤	界面活性剤	pH	HMW	二量体	単量体	HMW	二量体	単量体
AMT-10(出発材料)					2.6	89.2	8.2			
10 mM リン酸ナトリウム	2%グリシン	0.5% スクロース	0.3% ポロキサマー	7.5	2.9	89.8	7.4	4.3	89.3	6.4
		1%スクロース			2.96	90.1	6.9	4.1	89	6.9
		1% トレハロース			2.9	90.3	6.8	3.6	89.8	6.6
	4%マンニトール	スクロース、1.3% アルギニン			3.1	90.1	6.8	3.9	89.5	6.6
		2.6% アルギニン			4.9	86.7	8.4	4.1	89.5	6.4
10 mM カリウム	2%グリシン	1%スクロース			3.15	90.3	6.6	3.7	89.8	6.4
		1% トレハロース			3.2	90.1	6.7	3.9	89.5	6.6
10 mM ヒスチジン		1%スクロース		7	2.8	90.9	6.3	3.5	89.9	6.6
		1% トレハロース			2.95	90.5	6.6	3.3	90.2	6.5

【０４２４】

このスクリーニングから、最良の安定性を実証した２つの製剤は、以下であった：

１）１０ｍＭリン酸カリウム、２％グリシン、１％スクロースまたは１％トレハロース、０．３％ポロキサマー１８８、ｐＨ７．５

２）１０ｍＭヒスチジン、２％グリシン、１％スクロースまたは１％トレハロース、０．３％ポロキサマー、ｐＨ７．０。

【０４２５】

これら２つの製剤を使用して、ＵＦ／ＤＦステップが意図したとおりに機能すること、および凍結乾燥プロセスの開始時の凍結が許容されることを確実にするために、最終液体製剤凍結／解凍スクリーニングおよび短期安定性研究を、以下の表１１に概説されるように、より高いタンパク質濃度で行った。

表１１－凍結／解凍スクリーニングのための製剤

【表１１－１】

製剤
10mM リン酸カリウム, 2% グリシン, 1% スクロース, 0.3% Poloxamer 188, pH 7.5
10mM リン酸カリウム, 2% グリシン, 1% トレハロース, 0.3% Poloxamer 188, pH 7.5
10mM ヒスチジン, 2% グリシン, 1% スクロース, 0.3% ポロキサマー 188, pH 7.0

【表１１－２】

10mM ヒスチジン, 2% グリシン, 1% トレハロース, 0.3% ポロキサマー 188, pH 7.0

【０４２６】

２０ｍｇ／ｍＬの濃度の標的構築物は、試験したいずれの条件についても、凍結／解凍の間に、または４℃で１週間の時点で、凝集におけるいずれの有意な増加も示さなかった

。１０ｍＭリン酸カリウム、２％グリシン、１％スクロース、０．３％ポロキサマー１８８、ｐＨ７．５からなる製剤化緩衝液は、２～８℃および２５℃で、１週間にわたって最良の全体的安定性を有することが決定された（図２４Ｃおよび図２４Ｄに示されるデータを参照のこと、ボックスおよび矢印は、最良の製剤を強調する）。この製剤が、凍結乾燥前のＵＦ／ＤＦ製剤ステップにおいて使用される緩衝液として進めるために推奨された。凍結／解凍実験からのデータは、図２３Ａおよび図２３Ｂに示される。短期安定性研究からのデータは、図２４Ａ～２４Ｄに示される。

【０４２７】

バルク凍結乾燥を、液体中間体を解凍し、それをトレイに分配し、それを凍結乾燥機中に投入することによって行った。凍結乾燥サイクルの間の制御パラメーター、例えば、温度および真空圧を、時間に基づいて実行した。インプロセス試料を、サイクルの完了後に採取した。凍結乾燥された粉末を、低密度ポリエチレン（ＬＤＰＥ）一次ライナー中でプールおよび混合し、これを、二次ＬＤＰＥライナーの内側に配置した。第２のライナーを熱融着し、次いで、マイラーバッグ中に配置し、これもまた熱融着した。凍結乾燥されると、標的構築物は、白色～オフホワイトの粉末を生じた。合わせた凍結乾燥された粉末は、標的構築物薬物物質（ＤＳ）である。

【０４２８】

（実施例６）

被覆製剤のｉｎ　ｖｉｔｒｏ評価

【０４２９】

その所望の作用部位への活性医薬成分（ＡＰＩ）の標的化送達を容易にするため、およびその安定性に影響し得る消化管中に存在する特定の生理的条件に対してＡＰＩを保護するために、異なる製剤型が使用され得る。摂取の際に、ＡＰＩは、その安定性に影響し得る低い胃のｐＨおよび胃中のタンパク分解性ペプシンと接触する。胃の通過後、ＡＰＩは、より高いｐＨ値によって特徴付けられる小腸に進入する。胆汁酸塩およびタンパク分解性膵酵素の分泌は、ＡＰＩの安定性に対して大きな影響を有し得る。さらに、胃のｐＨおよびタンパク分解性酵素の濃度は、給餌状態と絶食状態との間で大幅に変動する。このように、この実施例の目的は、完全な消化管の通過の間の、５つの異なる製剤の崩壊およびカフェインの引き続く標的化された放出を調査することであった。

【０４３０】

この実験で使用した反応器設定は、これにより参照により本明細書に組み込まれるＭｏｌｌｙ　ｅｔ　ａｌ．（Ａｐｐｌ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ　３９：２５４－２５８（１９９３））によって記載されるように、成人ヒトの消化（ＧＩ）管に相当するＳｉｍｕｌａｔｏｒ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｈｕｍａｎ　Ｉｎｔｅｓｔｉｎａｌ　Ｍｉｃｒｏｂｉａｌ　Ｅｃｏｓｙｓｔｅｍ（ＳＨＩＭＥ（登録商標））から適応させた。このシステムでは、最初の２つの反応器が、食物の取り込みおよび消化における異なるステップをシミュレートし、蠕動ポンプが、規定された量の食餌ならびに膵液および胆汁液を、それぞれ胃および小腸区画に添加し、特定された間隔の後にそれぞれの反応器を空にした。最後の３つの区画、一定の体積およびｐＨ制御で連続的に撹拌された反応器は、上行、横行および下行結腸をシミュレートした。異なる容器の保持時間およびｐＨを、ＧＩ管の異なる部分におけるｉｎ　ｖｉｖｏ条件に似せるために選択する。

【０４３１】

この実験では、同じ反応器内で胃および小腸の生理的条件を経時的に示す適応させたＳＨＩＭＥ（登録商標）システムを使用した（図３）。給餌条件または絶食条件を模倣するために、胃懸濁物を反応器に添加した。この後に、標準化された酵素および胆汁液を添加して、小腸条件をシミュレートした。インキュベーション条件（ｐＨプロファイル、インキュベーション時間）を、絶食条件または給餌条件について、消化管の異なる領域中のｉｎ　ｖｉｖｏ条件に似せるために最適化した。

【０４３２】

胃および小腸のシミュレーションのためのプロトコール

【０４３３】
この研究の間、絶食条件下の胃および小腸の通過の間のカプセルの溶出を試験した。
【０４３４】
胃段階では、インキュベーションは、撹拌を介してｐＨ２．０で混合しながら、３７℃で４５分間の間行った（図３）。給餌条件と比較して４分の１のレベルのペプシンおよびホスファチジルコリンを添加した。背景媒体として、塩およびムチンのみを供給した。
ｔ＝０および４５分間の胃インキュベーションの時点でのサンプリングおよび視覚的スコアリング
【０４３５】
小腸段階では、撹拌を介して混合しながら、ｐＨは、５分の期間内に２．０から５．５まで最初に自動的に増加し、その後、媒体のｐＨは、第１の１時間の間に５．５から６．５まで、第２の１時間の間に６．５から７．０まで増加し、小腸インキュベーションの第３の１時間の間、７．０の値で一定のままであった（図５）。温度を３７℃で制御した。膵酵素に関して、特定の比で全ての関連する酵素を含む、ならびに規定された比の異なる酵素を含む、両方の生動物膵抽出物（パンクレアチン）を使用した。絶食条件下では、給餌条件下で行った実験と比較して５分の１のレベルの膵酵素を添加した。胆汁酸塩に関して、ウシ胆汁は、タウロコール酸およびグリココール酸に関してブタよりもヒトに類似しているので、３．３ｍＭのウシ胆汁抽出物を通常は補充した。
【０４３６】
結腸のシミュレーションのためのプロトコール
【０４３７】
この研究の間、１人のドナーの糞便試料を収集し、上部ＧＩ管の通過に続く全ての結腸インキュベーションの間の使用のための結腸微生物叢（ｍｉｃｒｏｂｉｏｔｉｃ）の供給源として、さらなる使用まで－８０℃で貯蔵した。したがって、同じ結腸微生物叢の使用は、異なる実験の間に得られる結果の比較を可能にした。サンプリングボックス中の糞便試料の提供後に、Ａｎａｅｒｏｇｅｎバッグを添加し、ボックスを即座に密封した。Ａｎａｅｒｏｇｅｎバッグ中の粉末は、サンプリングボックスから全ての酸素を即座に除去した。引き続いて、嫌気性ＰＢＳを糞便試料に添加し、糞便スラリーを、ストマッカー中での均質化によって調製した。糞便スラリーを短時間遠心分離して、大きい粒子を除去した。その後、等体積の凍結保護物質溶液を、糞便上清に添加した。均質化後、凍結保護された糞便スラリーを、液体窒素中で急速凍結させ、－８０℃で貯蔵した。
【０４３８】
実際の結腸実験を開始する前に、凍結保存された糞便試料を、結腸インキュベーションを接種するために使用する完全に代謝的に活性な結腸背景微生物叢を得るために、生物反応器中で事前インキュベートした。簡潔に述べると、２．５％（ｖｏｌ／ｖｏｌ）の糞便スラリーを、宿主由来基質および食餌由来基質の両方を含む肥えた結腸媒体中に接種した。容器を、窒素ガスを流すことによって嫌気性にし、３７℃で２４時間インキュベートした。こうして、完全に確立された代謝的に活性な結腸微生物叢が、２４時間のインキュベーション後に得られた。
【０４３９】
胃／小腸実験の終了時にＳＩｅｎｄ（小腸終末または回腸）を採取した後、結腸インキュベーションを開始した。宿主由来基質および食餌由来基質を含む新鮮な結腸媒体２００ｍＬを、２００ｍＬの胃／小腸懸濁物に添加することによって、これを行った。代謝的に活性な管腔結腸微生物叢のシミュレーションを、３００ｍＬの事前インキュベートした糞便材料を生物反応器に添加することによって得た。容器を、窒素ガスを流すことによって嫌気性にし、引き続いて、３７℃で１８時間インキュベートした。カプセルの視覚的スコアリングおよび反応器のサンプリングを、０；０，５；１；１，５；２；３；４時間；および１８時間の結腸インキュベーション後に行った。
【０４４０】
カプセルの崩壊

【０４４１】
シミュレートされたＧＩ管における移動の間に、カプセルの視覚的検査を、以下のスコアに従って行った：１：インタクトなカプセル；２：損傷しているが、ほとんど全ての生成物がなおもカプセル中にあるカプセル；３：損傷した、全ての生成物が放出されたカプセル；４：破壊されたカプセル。
【０４４２】
ＨＰＬＣ－ＵＶ／Ｖｉｓ法を行って、反応器から採取された試料中のカフェインの濃度を定量化を可能にした。簡潔に述べると、試料を、Ｃ１８カラム上でのアイソクラティック分離法（２５％メタノール：７５％水）を使用して実行した。カラム温度を２５℃で制御した。試料１つ当たりの総実行時間は、７分間であった。注入体積は１０μＬであり、ＵＶ／Ｖｉｓ検出器を２７２ｎｍで操作した。カフェインの定量化を、外部標準を使用して行った。カラムへの注入の前に、試料を、９０００ｒｐｍで１５分間遠心分離した。引き続いて、上清を０．２μｍフィルターを介してＨＰＬＣバイアル中に濾過した。
【０４４３】
カフェインの濃度間の統計的に有意な差異を、絶食条件下での実験の間に、各サンプリングポイントとその先行するサンプリングポイントとの間で決定して、時間の関数で変化を示した。統計学に関して、議論される、「ｐ＜０．０５」または「＊」によって示される全てのデータについて、差異は、スチューデントｔ検定を使用して実証した場合、９５％の信頼区間で有意であった。
【０４４４】
ＧＩ管の通過の間の５つの異なる製剤型の崩壊を調査した（表１２）。これら５つの製剤を用いた実験の次に、対照実験を行って、背景中のカフェインの濃度を決定した。各反応器に、１つのカプセルを添加し、カプセルを、カプセルシンカー中に据え付けた。全ての実験を、生物学的三連で行った。
表１２－試験した製剤
【表１２】

カプセル識別名	Eudragit® L30D55: Eudragit® FS30D 比	カプセル内容物	被覆厚さ	カフェイン放出プロファイルを示す図面
A	50 :50	20 mg 配列番号: 5 10mg カフェイン	60 mg	FIG. 5A
B	50 :50	20 mg 配列番号: 5 10mg カフェイン	128 mg	FIG. 5B
C	20 :80	10 mg rHSA 10mg カフェイン	60 mg	FIG. 5C
D	20 :80	10 mg rHSA 10mg カフェイン	120 mg	FIG. 5D
E	0 :100	10 mg rHSA 10mg カフェイン	60 mg	FIG. 5E

【０４４５】
対照実験の間の異なるサンプリングポイントにおいて存在するカフェインの濃度の決定

により、この化合物が、ＧＩ管通過実験の胃、小腸および結腸段階には存在しなかったことが明らかになった。したがって、５つの製剤を用いた実験の間に使用した背景媒体は、カプセルから放出されたカフェインの検出への干渉を生じ得なかった。

【０４４６】

サイズ１のカプセル上の６０ｍｇの被覆厚さおよび５０：５０のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）比Ｌ３０Ｄ５５：ＦＳ３０Ｄを有するカプセル１は、シミュレートされた絶食胃の通過の間、完全にインタクトなままであり、それにより、ＡＰＩを、胃インキュベーション段階の間に存在する低ｐＨ条件に対して保護する。カプセルは、媒体のｐＨが５．５の値から６．５の値まで増加する小腸インキュベーションの第１の１時間の間、視覚的にインタクトなままであった。カプセルは、ｐＨが６．５の値から７．０の値まで増加する小腸インキュベーションの第２の１時間の間に損傷した。図５Ａは、カプセル１からのカフェインの放出を示す。

【０４４７】

カプセルへの視覚的損傷にもかかわらず、粉末の大部分は、２時間の小腸インキュベーション後に測定された低い量のカフェインによって実証されたように、カプセル中に残存した。カプセルは、小腸インキュベーションの第３の１時間（７．０の安定なｐＨ）の間にさらにいっそう損傷し、このサンプリングポイントにおけるカフェインの定量化によって明らかであったように、カプセルの内側の粉末の大部分の放出を生じた。結腸インキュベーションの間、カフェインの量は、ほとんど一定のままであった。小さい増加が観察され、これは主に、複製２の実験の間のカプセルからのカフェインの不完全な放出に起因した。カプセルは、結腸インキュベーション段階の終了時に完全には破壊されておらず、カプセルの視覚的検査により、粉末の小部分がカプセルの内側になおも存在したことが明らかになった。これは、カプセル中に存在した１０ｍｇのカフェインの総用量が、結腸インキュベーションの終了までにほとんど完全に放出されたことの理由を説明する。このように、カプセル１は、消化管（ＧＩＴ）の終末回腸に対応する小腸インキュベーション段階の最終段階におけるＡＰＩの標的化送達を容易にすると結論付けることができる。

【０４４８】

サイズ１のカプセル上の被覆厚さ１２８ｍｇおよび５０：５０のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：ＦＳ３０Ｄ比を有するカプセル２は、絶食胃の通過の間、完全にインタクトなままであった（図５Ｂ）。

【０４４９】

さらに、カプセル１（同じＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）比）と比較して、カプセル２の被覆の増加した厚さは、媒体のｐＨが５．５の値から７．０の値まで増加する小腸インキュベーション段階の通過の間にカプセルが損傷することを防止した。

【０４５０】

結腸環境中へのカプセルの進入は、１．５時間のインキュベーション後に、カプセルへの視覚的損傷を生じ、４時間の結腸インキュベーション後のカフェインの小さい放出を生じた。延長された結腸インキュベーションは、カプセルへのさらなる損傷を誘導し、これは、１８時間の結腸インキュベーション後の、結腸管腔中への高い量のカフェインの放出を生じた。結腸インキュベーション段階を通じて、媒体のｐＨを、５．８の値よりも上に制御した。このように、カプセル２の被覆の増加した厚さが、カプセル１と比較して遅延されたカフェインの放出を生じたと結論付けることができる。カプセルは、ＧＩ管の通過後に完全には破壊されておらず、これは、カプセルのポリマーの１つが、ＧＩ管通過の間に存在したｐＨ値で溶出しなかったことを示している。このように、カプセル２が、ＧＩ管の遠位結腸に対応する結腸インキュベーション段階の最終段階におけるＡＰＩの標的化送達を容易にすると結論付けることができる。

【０４５１】

サイズ１のカプセル上の６０ｍｇの被覆厚さおよび２０：８０のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：ＦＳ３０Ｄを有するカプセル３は、絶食胃の通過の間、完全にインタクトなままであった（図５Ｃ）。カプセルは、小腸の通過の間視覚的に損傷されなか

ったが、少量のカフェインが、３時間の小腸インキュベーション後に検出され、これは、カプセルへの検出不能な微視的損傷の発生を示している。カプセルは、０．５時間の結腸インキュベーション後に視覚的に損傷され、増加した量のカフェインが４時間の結腸インキュベーション後にカプセルから放出されるという結果を生じた。結腸媒体中の検出されたカフェインの量は、４時間の結腸インキュベーションと１８時間の結腸インキュベーションとの間でさらに増加した。カプセルは、ＧＩ管全体の通過の終了時に、完全には破壊されていなかった。このように、カプセル１および３を用いた実験の間に得られたデータの比較は、Ｌ３０Ｄ５５を代償にしたＦＳ３０Ｄのパーセンテージの増加が、ＧＩ管の近位結腸に対応する結腸インキュベーション段階の開始時におけるＡＰＩの標的化送達を生じたことを示した。

【０４５２】

サイズ１のカプセル上の１２０ｍｇの被覆厚さおよび２０：８０のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：ＦＳ３０Ｄ比を有するカプセル４は、完全なＧＩ管の通過を通じて、視覚的にインタクトなままであった（図５Ｄ）。複製２および３の実験の間にのみ、微量のカフェインが検出された。したがって、被覆厚さの増加およびＬ３０Ｄ５５を代償にしたＦＳ３０Ｄの比の増加は、上部ＧＩ管および近位結腸におけるＡＰＩの放出を防止した。内容物が、増加するｐＨにおけるより長いインキュベーション時間の際に、遠位結腸のみを目指して放出されると仮説を立てることができた。

【０４５３】

サイズ１のカプセル上の６０ｍｇの被覆厚さおよび０：１００のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：ＦＳ３０Ｄ比を有するカプセル５は、小腸懸濁物のｐＨが７と等しい３時間の小腸インキュベーション後に、視覚的に損傷した（図５Ｅ）。しかし、ほとんど全ての粉末は、小腸インキュベーション段階の終了時の測定可能な量のカフェインの不存在によって実証されたように、カプセルの内側に捕捉されたままであった。結腸に進入する際に、カプセルは、視覚的にさらに損傷されることはなかった。複製３の実験的実行の間にのみ、カフェインが、１８時間の結腸インキュベーション後に適切な量で検出された。このように、カプセルポリマー混合物からのＬ３０Ｄ５５の除外が、上部ＧＩＴおよび近位結腸の通過の間のＡＰＩの標的化送達の非存在を生じたと結論付けることができる。内容物が、増加するｐＨにおけるより長いインキュベーション時間の際に、遠位結腸のみを目指して放出されると仮説を立てることができた。

【０４５４】

結論

【０４５５】

本研究の間、胃、小腸および結腸の通過の間の５つの異なる製剤の崩壊を評価した。カプセルの溶出を、示された時点における視覚的スコアリングを介して、および消化管（ＧＩＴ）の通過の間にカプセルから放出されたカフェインの量の決定を介して、研究した。

【０４５６】

５つ全ての製剤は、それらの被覆厚さおよびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：ＦＳ３０Ｄ比によって決定される異なる溶出特徴を示した。６０ｍｇの被覆厚さを有する本研究のカプセルは、それらのＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：ＦＳ３０Ｄ比がそれぞれ５０：５０または２０：８０であった場合、小腸インキュベーションの終了時または結腸インキュベーションの開始時におけるＡＰＩの標的化送達を容易にした。５０：５０のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：ＦＳ３０Ｄ比を有するカプセルの被覆厚さを６０ｍｇから１２８ｍｇまで増加させると、近位結腸インキュベーションの最終段階におけるＡＰＩの標的化送達が生じた。カプセル１、２、３は、ＡＰＩの標的化送達を提供することができたが、これらのカプセルは、ＧＩＴの通過の終了時に完全には溶出されず、結腸インキュベーションの最終段階におけるカプセル材料の存在を生じた。カプセル４（被覆厚さ１２０、２０：８０のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：ＦＳ３０Ｄ比）およびカプセル５（６０ｍｇの被覆厚さおよび０：１００のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：ＦＳ３０Ｄ比）は、上部ＧＩＴおよび近位結腸の

通過の間に崩壊せず、進行中の実験の間のＡＰＩの標的化送達の非存在を生じた。内容物が、増加するｐＨにおけるより長いインキュベーション時間の際に、遠位結腸のみを目指して放出されると仮説を立てることができた。

【０４５７】

（実施例７）

腸溶性被覆の評価

【０４５８】

腸溶性被覆の組成を、腸溶性被覆されたカプセルの研究バッチに対して行った実験に基づいて選択した。これらの研究バッチの組成は、表１３中に要約される。サイズ１のＨＰＭＣカプセルを全てのバッチに使用した。各々のタンパク質含量は、粉末重量のおよそ３分の１であったので、ｒＨＳＡ（組換えヒト血清アルブミン）または物質粉末の充填重量は、およそ３０ｍｇであった。被覆組成物は、名目上の溶出ｐＨ＞５．５を有するＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５と名目上の溶出ｐＨ＞７を有するＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄ（Ｅｖｏｎｉｋ　ＧｍｂＨ製品情報）との混合物を含んだ。およそ６．５のｐＨ値でのカプセル放出は、腸における標的構築物の放出を可能にしつつ、適切な腸溶性保護を提供することが所望された。

表１３－製剤開発のためのカプセルの組成。全てのバッチをサイズ１のＨＰＭＣカプセルに充填した。

【表１３】

Eudragit 被覆組成 (L30D55 : FS30D の比)	腸溶性被覆 標的重量 (mg)	カプセル内容物
50:50 30:70 20:80 0:100	60 120 180	カフェイン (10 mg), rHSA (10 mg) カフェイン (10 mg), IL-10 送達構築物 (配列番号 : 5) (10 mg)

【０４５９】

被覆評価を、被覆されたカプセルの複数のバッチを用いた２つの研究において行った。

【０４６０】

第１の研究について、４つの異なる被覆組成および３つの異なる被覆厚さの順列を含む、カフェインおよび組換えヒト血清アルブミン（ｒＨＳＡ）を含む１２バッチのカプセルを調製した。被覆組成物は、５０：５０～０：１００の間のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄの重量比を含んだ。

【０４６１】

カフェインは、カプセル放出についての容易に検出されるマーカーとして、この研究に含めた。ｒＨＳＡは、標的構築物薬物物質に使用されるのと同じ凍結乾燥緩衝液を使用して、標的構築物薬物物質とおよそ同じタンパク質含量で、凍結乾燥された組成物として調製され、凍結乾燥された組成物の物理的形態は匹敵するので、これを、この研究における標的構築物の適切な代理タンパク質であるとみなした。

【０４６２】

第２の研究について、等量のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄを含む被覆製剤の３つの異なる被覆厚さを含む、カフェインおよび標的構築物を含む３バッチのカプセルを調製した。

【０４６３】

各研究バッチからのカプセルを、０．１Ｎ　ＨＣｌの撹拌溶液中に少なくとも６０分間配置し、その後、特定されたより高いｐＨ値の緩衝液に移した。これらの条件は、胃の酸性環境と、その後の腸への通過の際のおよそ中性のｐＨへの曝露をシミュレートすることを意図したものである。各実験において、上清を定期的にサンプリングし、カプセルから溶液中に放出されたカプセル内容物の濃度について試験した。

【０４６４】

これらの実験の結果を以下に要約する。０．１Ｎ　ＨＣｌ中での１時間のインキュベーション段階の間には、いずれの腸溶性被覆されたカプセルも、内容物を放出しなかった。したがって、表中に示されるデータは、緩衝液インキュベーション段階のみの間の放出を示す。予想されるように、酸性環境からの腸溶性保護は、評価した全ての被覆によって実証される。

【０４６５】

第１の研究：被覆組成の選択

【０４６６】

腸溶性被覆の組成を、放出マーカーとしてカフェインを含み、標的構築物のタンパク質代理物としてｒＨＳＡを含むカプセルを使用する初期研究から選択した。Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５とＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄとの比は、カプセル放出に対する被覆組成の影響を、溶液ｐＨの関数として調査するために、５０：５０～０：１００の間で変動した。

【０４６７】

表１４～１７は、ｐＨ７．０の緩衝液中での、カフェインおよびｒＨＳＡを含む１２セットの被覆されたカプセルの挙動を示す。カフェインおよびｒＨＳＡの値を、最大放出に達するカプセルについての１００％に対して標準化し、他の点ではデータは未調整とした。カフェインおよびｒＨＳＡの放出動態は、カプセル被覆の重量および組成に基づいて変動したが、両方の化合物の放出は、各個々のカプセルバッチについて匹敵した。したがって、カフェイン（小分子）およびｒＨＳＡ（タンパク質）は、これらの条件下で、カプセル放出について類似の情報を提供した。

表１４－５０：５０比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄ、ｐＨ７．０緩衝液で被覆されたカプセルからのカフェインおよびｒＨＳＡのパーセント放出

【表１４】

	示された時間でのカフェイン放出						示された時間での rHSA 放出					
被覆重量 (mg)	1h	2h	3h	4h	6h	8h	1h	2h	3h	4h	6h	8h
60	6	84	87	87	88	90	41	97	97	100	97	98
125	2	6	77	95	98	100	0	5	94	97	98	100
180	1	2	3	56	97	100	0	0	4	53	100	100

表１５－３０：７０比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄ、ｐＨ７．０緩衝液で被覆されたカプセルからのカフェインおよびｒＨＳＡのパーセント放出

【表１５】

	示された時間でのカフェイン放出						示された時間での rHSA 放出					
被覆重量 mg	1h	2h	3h	4h	6h	8h	1h	2h	3h	4h	6h	8h
61	15	95	96	98	99	100	24	98	98	98	98	100
118	1	4	82	91	95	100	0	3	92	95	98	100
182	0	1	3	55	93	100	0	0	0	74	94	100

表１６－２０：８０比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄ、ｐＨ７．０緩衝液で被覆されたカプセルからのカフェインおよびｒＨＳＡのパーセント放出

【表１６－１】

	示された時間でのカフェイン放出	示された時間での rHSA 放出

【表１６－２】

被覆重量 (mg)	1h	2h	3h	4h	6h	8h	1h	2h	3h	4h	6h	8h
56	5	87	97	97	100	98	7	96	98	97	99	100
120	1	2	7	78	95	100	0	0	2	89	98	100
177	1	1	1	5	56	100	0	0	0	2	87	100

表１７－０：１００比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄ、ｐＨ７．０緩衝液で被覆されたカプセルからのカフェインおよびｒＨＳＡのパーセント放出

【表１７】

	示された時間でのカフェイン放出						示された時間での rHSA 放出					
被覆重量 (mg)	1h	2h	3h	4h	6h	8h	1h	2h	3h	4h	6h	8h
59	1	19	93	97	99	100	0	50	97	98	98	100
120	1	1	3	23	83	100	0	0	0	0	94	100
181	1	2	2	ND	2	18	0	0	0	0	0	45

【０４６８】

これらのカプセルバッチについて、腸溶性被覆のより大きい総重量は、ｐＨ７．０の緩衝液中でのカフェインおよびｒＨＳＡの放出のより緩徐な開始と相関し、完全放出を達成するまでのより長い時間と相関した。あまり顕著でない相関が、ｐＨ７．０の緩衝液中での放出と被覆組成との間に見られた。ほとんど全てのカプセルは、ＦＳ３０ＤのＬ３０Ｄ

５５に対する１００：０の比で被覆されたカプセルが、より大きい被覆重量について、放出の遅延された開始および不完全な放出を示したことを例外として、試験の過程にわたって、ｐＨ７．０の緩衝液中でその内容物を完全に放出した。

【０４６９】

表１８～１９は、ｐＨ６．５およびｐＨ６．０の緩衝液中での同じカプセルの挙動を要約する。カフェイン放出およびｒＨＳＡの動態は、各カプセルについてこれもまた匹敵したので、ｒＨＳＡ値のみが示される。ｒＨＳＡ値を、最大放出に達するカプセルについての１００％に対して標準化し、他の点ではデータは未調整とした。表１８～１９に示される被覆重量は、標的被覆重量であるが、実際の被覆重量は、標的被覆重量から５ｍｇ以下変動した。

表１８－異なる比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄ、ｐＨ６．５緩衝液で被覆されたカプセルからのｒＨＳＡの放出

【表１８】

	示された時間での示された被覆組成のカプセルからのrHSAの放出																	
被覆組成	50:50 FS30D/L30D55						70:50 FS30D/L30D55						80:50 FS30D/L30D55					
被覆重量 (mg)	1h	2h	3h	4h	6h	8h	1h	2h	3h	4h	6h	8h	1h	2h	3h	4h	6h	8h
60	11	93	96	98	99	100	8	78	95	97	98	100	0	17	64	77	82	92
120	0	2	13	94	98	100	0	7	36	64	92	100	0	0	0	0	12	42
180	0	0	2	3	94	100	0	0	0	4	43	85	0	0	0	0	1	10

表１９－異なる比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄ、ｐＨ６．０緩衝液で被覆されたカプセルからのｒＨＳＡの放出

【表１９】

	示された時間での示された被覆組成のカプセルからのrHSAの放出																	
被覆組成	50:50 FS30D/L30D55						70:30 FS30D/L30D55						80:20 FS30D/L30D55					
被覆重量(mg)	1h	2h	3h	4h	6h	8h	1h	2h	3h	4h	6h	8h	1h	2h	3h	4h	6h	8h
60	12	79	97	98	100	100	4	30	43	58	62	67	0	0	29	39	52	100
120	0	6	21	23	83	98	0	0	0	0	39	72	0	0	0	0	0	0
180	0	0	0	0	6	30	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0

【０４７０】

いずれの緩衝液条件でも、被覆重量に関して、放出動態における明確な傾向が観察され、腸溶性被覆の増加した総重量は、ｒＨＳＡの放出のより緩徐な開始と相関し、完全放出を達成するまでのより長い時間と相関した。ｐＨ６．５およびｐＨ６．０では、被覆組成における傾向も明らかであった。より高い割合のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄを含む被覆は、より低い緩衝液ｐＨで放出の遅延された開始を示し、不完全な放出または放出なしが、これらの場合においてより大きい被覆重量について観察された。ｐＨ６．５または６．０におけるこれらの条件下では、ＦＳ３０ＤのＬ３０Ｄ５５に対する１００：０の比で被覆されたいずれのカプセルについても、放出は観察されなかった。

【０４７１】

したがって、ｒＨＳＡの放出は、腸溶性被覆の重量および組成の両方に依存した。Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄの５０：５０組成を有する６０ｍｇの被覆重量は、これらの条件下で試験したカプセルの最も迅速な放出を提供した。

【０４７２】

第２の研究：被覆重量の選択

【０４７３】

被覆重量の評価を、標的構築物を含むカプセルを用いた第２の研究において継続した。

【０４７４】

表２０～２２は、５０：５０のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ポリマーＬ３０Ｄ５５およびＦＳ３０Ｄの異なる被覆重量を有する、３バッチのカフェインおよび標的構築物を含むカプセルの挙動を示す。ｐＨ７．０、ｐＨ６．５およびｐＨ６．０の緩衝液中でのカフェインおよび標的構築物の放出を試験した。これらのカプセルを、０．１Ｎ　ＨＣｌ中で１時間の事前インキュベーションに供したところ、いずれの場合にも、カフェインの放出も標的構築物の放出も検出されなかった。カフェインおよび標的構築物の値を、最大放出に達するカプセルについての１００％に対して標準化し、他の点ではデータは未調整とした。ＮＤは、試料喪失に起因して決定できなかったデータポイントを示す。

表２０－５０：５０比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄ、ｐＨ７．０緩衝液で被覆されたカプセルからのカフェインおよび標的構築物の放出

【表２０】

	示された時間でのカフェイン放出						示された時間での AMT-101 放出					
被覆重量 (mg)	1h	2h	3h	4h	6h	8h	1h	2h	3h	4h	6h	8h
60	13	100	97	97	98	100	8	81	81	81	78	75
128	0	3	60	95	98	100	0	0	60	81	81	ND
178	0	1	3	5	76	100	0	0	6	6	45	39

表２１－５０：５０比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄ、ｐＨ６．５緩衝液で被覆されたカプセルからのカフェインおよび標的構築物の放出

【表２１】

	示された時間でのカフェイン放出						示された時間での AMT-101 放出					
被覆重量 (mg)	1h	2h	3h	4h	6h	8h	1h	2h	3h	4h	6h	8h
60	5	22	97	98	98	100	0	60	72	72	73	70
128	0	1	6	36	81	100	0	0	0	32	41	39
178	0	0	0	2	11	37	0	0	0	0	0	5

表２２－５０：５０比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５およびＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄ、ｐＨ６．０緩衝液で被覆されたカプセルからのカフェインおよび標的構築物の放出

【表２２】

	示された時間でのカフェイン放出						示された時間での AMT-101 放出					
被覆重量 (mg)	1h	2h	3h	4h	6h	8h	1h	2h	3h	4h	6h	8h
60	3	16	56	88	98	100	7	13	18	18	17	17
128	0	0	3	8	51	88	0	0	0	0	6	6
178	0	0	0	2	11	34	0	0	0	0	0	0

【０４７５】
カフェインおよび標的構築物の放出の開始までの時間は、各カプセルについて匹敵した。ｒＨＳＡカプセルについて上で見られたように、被覆重量に関して、放出動態における明確な傾向が観察され、腸溶性被覆の増加した総重量は、カフェインおよび標的構築物の放出のより遅い開始と相関し、完全放出を達成するまでのより長い時間と相関する。一般に、標的構築物の放出は、カプセル充填重量に基づいて計算したものよりも低い濃度に達した。より高い濃度の標的構築物は、より早い時間の放出の開始を伴うカプセルについて、一般に達成された。標的構築物の予想された放出よりも低いことの理由を、さらなる研究において調査する。開発のこの初期段階では、高速放出性の被覆組成を、カプセル放出の間の標的構築物の潜在的な喪失を最小化するために選択した。

【０４７６】
腸溶性被覆の選択

【０４７７】
調査カプセル研究に基づいて、Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ポリマーＬ３０Ｄ５５およびＦＳ３０Ｄの５０：５０混合物を含む被覆組成を、臨床的カプセル提示のために選択した。サイズ１のカプセル上の６０ｍｇの標的被覆重量を、胃酸からの腸溶性保護を提供するが、中性ｐＨ環境に達するとカプセル内容物を放出するように選択した。サイズ１のカプセル上の６０ｍｇの被覆重量は、臨床的提示のために選択されたサイズ０のカプセルについての７５ｍｇの被覆と同等な被覆厚さを提供する。

【０４７８】
（実施例８）
ｉｎ　ｖｉｔｒｏ溶出データ

【０４７９】
８つのカプセル被覆製剤（表２３中の製剤Ａ～Ｈ）を、変動するｐＨでのｉｎ　ｖｉｔｒｏ溶出速度について試験した。最初の１時間は、１．０のｐＨの０．１Ｍ塩酸を含む溶出媒体にカプセルが曝露される酸性段階であった。残りの時間は、７．０、６．５または６．０のｐＨのクエン酸／リン酸緩衝液を含む溶出媒体にカプセルが曝露される緩衝液段階に費やした。各カプセルを、媒体を交換しながら、プラスチックスパチュラを使用して取り出した。カプセルを、１００ｒｐｍで撹拌する撹拌棒および３７℃に設定したヒーターを有する、１５０ｍＬガラスビーカーの内側に配置した。カフェインのパーセント放出を、ＵＶ吸光度を測定することによって決定した。ＩＬ－１０送達構築物のパーセント放出を、サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）によって決定したところ（表２４）、二量体形態が単一のピークとして検出された。記録された値を、それぞれの分析物の検量線から決定した。ＳＥ－ＨＰＬＣの間に、ＵＶ吸光度および屈折率（ＲＩ）検出と組み合わせた多角度光散乱（ＭＡＬＳ）検出を使用して、溶離したピークの分子量を決定する。検出を、２８０ｎｍにおける吸光度によって行った。

【０４８０】
Ｅｕｄｇｒａｇｉｔ被覆されたカプセルを、１時間の酸性段階の溶出に供し、次いで、緩衝液段階の溶出に供した。Ｅｕｄｒａｇｉｔ被覆なしの（ＨＰＭＣ被覆のみの）カプセルを、緩衝液段階のみで試験した。溶出媒体を、アッセイの持続時間全体にわたって、１００ｒｐｍで撹拌した。５００μＬアリコートの試料を、酸性段階の終了時において、１時間、２時間、３時間、４時間、６時間および２４時間の緩衝液段階において、０．２２μｍ酢酸セルロースＳｐｉｎ－Ｘ遠心分離管フィルター（Ｃｏｓｔａｒカタログ番号８１６１）中に収集した。遠心分離を、１５，０００×ｇで２分間行った。次いで、１５０μＬアリコートの試料を、ＨＰＬＣバイアル中に移し、最初にＳＥＣクロマトグラフィーで、次いでＲＰクロマトグラフィーで分析した。

表２３－カプセル内容物のｉｎ　ｖｉｔｒｏ溶出について試験したカプセルの製剤

【表２３】

製剤識別子	カプセル１つ当たりの標的構築物量 (mg)	カプセル１つ当たりのカフェイン量 (mg)	HPMC カプセル被覆 (mg)	Eudragit® 組成 (L30D55/FS30D)	Eudragit® 被覆重量増加	説明
A	10	10	10	50/50	60	参照組成物
B	10	10	10	50/50	30	薄い Eudragit® 50/50
C	10	10	10	30/70	30	薄い Eudragit® 30/70
D	10	10	10	30/70	60	標準的な 30/70
E	10	10	10	30/70	90	標準的な 30/70
F	10	10	10	30/70	120	厚い 30/70
G	10	10	60	50/50	30	HPMC を増加
H	10	10	180	50/50	30	厚い HPMC

表２４－ＳＥ－ＨＰＬＣ法

【表２４】

システム	PDA 検出器を備えた Vanquish UHPLC システム
カラム	Waters ACQUITY UPLC Protein BEH SEC 200Å 1.7 µm, 4.6 x 150 mm 品番:186005225
カラム温度	25 °C
オートサンプラー温度	4 °C
移動相	100 mM リン酸ナトリウム, 150 mM 塩化ナトリウム, pH 7.0±0.1
分離モード	アイソクラティック
流速	0.3 mL/min
総実行時間	10 min
検出波長	215 nm, 280 nm
注入体積	100 µL (または変動する)

【０４８１】

ｐＨ７．０において放出されたカフェインのパーセントを、カプセル製剤Ａ～Ｂ（図６Ａ）、カプセル製剤Ｃ～Ｆ（図６Ｂ）およびカプセル製剤Ｇ～Ｈ（図６Ｃ）の各々について測定した。ｐＨ６．５において放出されたカフェインのパーセントを、カプセル製剤Ａ～Ｂ（図７Ａ）、カプセル製剤Ｃ～Ｆ（図７Ｂ）およびカプセル製剤Ｇ～Ｈ（図７Ｃ）の各々について測定した。ｐＨ６．０において放出されたカフェインのパーセントを、カプセル製剤Ａ～Ｂ（図８Ａ）、カプセル製剤Ｃ～Ｆ（図８Ｂ）およびカプセル製剤Ｇ～Ｈ（図８Ｃ）の各々について測定した。

【０４８２】

ｐＨ７．０において放出された標的構築物のパーセントを、カプセル製剤Ａ～Ｂ（図９Ａ）、カプセル製剤Ｃ～Ｆ（図９Ｂ）およびカプセル製剤Ｇ～Ｈ（図９Ｃ）の各々について測定した。ｐＨ６．５において放出された標的構築物のパーセントを、カプセル製剤Ａ～Ｂ（図１０Ａ）、カプセル製剤Ｃ～Ｆ（図１０Ｂ）およびカプセル製剤Ｇ～Ｈ（図１０Ｃ）の各々について測定した。ｐＨ６．０において放出された標的構築物のパーセントを、カプセル製剤Ａ～Ｂ（図１１Ａ）、カプセル製剤Ｃ～Ｆ（図１１Ｂ）およびカプセル製剤Ｇ～Ｈ（図１１Ｃ）の各々について測定した。

【０４８３】

放出された二量体形態の標的構築物のパーセントもまた決定した。ｐＨ７．０において放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを、カプセル製剤Ａ～Ｂ（図１２Ａ）、カプセル製剤Ｃ～Ｆ（図１２Ｂ）およびカプセル製剤Ｇ～Ｈ（図１２Ｃ）の各々について測定した。ｐＨ６．５において放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを、カプセル製剤Ａ～Ｂ（図１３Ａ）、カプセル製剤Ｃ～Ｆ（図１３Ｂ）およびカプセル製剤Ｇ～Ｈ（図１３Ｃ）の各々について測定した。ｐＨ６．０において放出された二量体形態の標的構築物のパーセントを、カプセル製剤Ａ～Ｂ（図１４Ａ）、カプセル製剤Ｃ～Ｆ（図１４Ｂ）およびカプセル製剤Ｇ～Ｈ（図１４Ｃ）の各々について測定した。

【０４８４】

（実施例９）

カニクイザルにおけるカプセル被覆研究

【０４８５】

８つのカプセル被覆製剤（表２５中の製剤Ａ～Ｈ）を、雄性カニクイザルにおいて試験した。カプセルを、単一用量として、動物１匹当たり２つのカプセルで投与し、ピルガンで経口投与した。血漿試料を、カプセル投与の８時間後に収集し、ＩＬ－１０（図１５Ａ、１６Ａおよび１７Ａ）、カフェイン（図１５Ｂ、１６Ｂおよび１７Ｂ）およびインターロイキン－１受容体アンタゴニスト（ＩＬ－１ＲＡ）（図１５Ｃ、１６Ｃおよび１７Ｃ）について分析した。

表２５－カニクイザルに投与したカプセルの製剤

【表２５－１】

製剤識別子	カプセル1つ当たりの標的構築物量 (mg)	カプセル1つ当たりのカフェイン量 (mg) capsule	HPMCカプセル被覆 (mg)	Eudragit® 組成 (L30D55/FS30D)	Eudragit® 被覆重量増加	説明	動物１匹当たりのカプセルの数	N
A	10	10	10	50/50	62	参照組成物	2	3
B	10	10	10	50/50	31	薄いEudragit® 50/50	2	3
C	10	10	10	30/70	31	薄いEudragit® 30/70	2	3
D	10	10	10	30/70	62	標準的な30/70	2	3

【表２５－２】

E	10	10	10	30/70	92	標準的な30/70	2	3
F	10	10	10	30/70	123	厚い30/70	2	3
G	10	10	60	50/50	31	HPMCを増加	2	3
H	10	10	180	50/50	31	厚いHPMC	2	3

【０４８６】

ロバストなカフェインシグナルは、カプセル開放挙動を示した。カプセル開放時間および動態（カフェインから）は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ溶出データと十分に相関した。より薄い被覆は、最も迅速な開放を示した（５０／５０のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５／ＦＳ３０Ｄおよび３０／７０のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５／ＦＳ３０Ｄの３０ｍｇ被覆）。全身Ｉｌ－１０およびＩＬ－１ＲＡレベルは、一部の製剤について上昇した。ＰＫおよびバイオマーカーシグナルの時間経過は、カフェイン放出時間経

過データと十分に相関した。より薄い被覆は、全身ＩＬ－１０およびＩＬ－１ＲＡの最も有意な上昇を示した（５０／５０のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５／ＦＳ３０Ｄおよび３０／７０のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５／ＦＳ３０Ｄの３０ｍｇ被覆）。

【０４８７】

（実施例１０）

改善された特徴を有する粉末の開発

【０４８８】

低密度の凍結乾燥された組成物は、不十分な流れ特徴を有し得る。目的は、増加した密度および改善された流れ特性を有する凍結乾燥された組成物製剤を開発することであった。凍結乾燥された組成物を、賦形剤とブレンドして、カプセル充填を改善し、または錠剤製剤化を可能にした。

【０４８９】

組換えヒト血清アルブミン（ｒＨＳＡ）を、充填のための代理タンパク質として使用した。凍結乾燥されたｒＨＳＡ（ｌｙｏ－ｒＨＳＡ）を、カプセル１つ当たり２０ｍｇのＡＰＩの標的（５６ｍｇの凍結乾燥された組成物と同等）で、凍結乾燥された標的構築物と同じプロセス、組成および密度で作製した。

【０４９０】

Ｐｒｏｆｉｌｌカプセル充填システムを使用して、凍結乾燥された薬物物質を含む（凍結乾燥されたｒＨＳＡのみを含む）、ならびに他の賦形剤、例えば、グリシンおよびスクロースに加えて凍結乾燥された薬物物質を含む、７つの異なるブレンド（表２６）を生成した。

表２６－Ｐｒｏｆｉｌｌブレンド

【表２６－１】

混合物	標的充填重量 (mg)	標的充填カプセル重量 (mg)	% 許容されるカプセル± 5%	% 許容されるカプセル± 7.5%
100% lyo-rHSA	56.4	118.0	53	82
95% lyo-rHSA, 5% グリシン	59.4	121.0	65	78
90% lyo-rHSA, 10% グリシン	62.6	124.4	45	63
80% lyo-rHSA, 20% グリシン	70.4	132.0	29	42
95% lyo-rHSA, 5% 2:1 スクロース:グリシン	59.4	121.0	61	75
90% lyo-rHSA, 10% 2:1 スクロース:グリシン	62.8	124.4	57	66

【表２６－２】

80% lyo-rHSA, 10% 2:1 スクロース:グリシン	70.4	132.0	55	69

【０４９１】

結論として、ＰｒｏＦｉｌｌは、凍結乾燥されたＩＬ－１０送達構築物などの粉末をカプセルに充填するために使用する、実現可能なシステムであった。賦形剤の添加は、ＰｒｏＦｉｌｌによる粉末充填を達成するために必要でなかったことも結論付けることができた。さらに、重量標的を満たさないカプセルからの粉末は、回収およびリサイクルすることができる。

【０４９２】

（実施例１１）

標的構築物および圧縮成形用賦形剤の適合性スクリーニング

【０４９３】

種々の錠剤賦形剤とＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）との適合性を、乾燥（粉末）状態で評価した。

【０４９４】

乾燥状態のＩＬ－１０送達構築物（実施例５に記載されるように、最良の全体的安定性を有することが以前に決定された製剤化緩衝液（１０ｍＭリン酸カリウム、２％グリシン、１％スクロース、０．３％ポロキサマー１８８、７．５のｐＨ）を使用して開発される、ＩＬ－１０送達構築物薬物物質、即ちＤＳ）を、各個々の賦形剤とブレンドし、次いで、分析前に４０℃で７２時間静置してインキュベートした。各試料の組成および分析概要は、表２７に記載される。ＩＬ－１０送達構築物ＤＳおよび賦形剤（各々等しい重量、１：３比のＡＰＩ：賦形剤）を、キャップ付き４ｍＬホウケイ酸ガラスバイアル中に配置し、ＴＵＲＢＵＬＡ（登録商標）システムを使用して２分間ブレンドし、次いで、試料を、キャップ付き４ｍＬホウケイ酸ガラスバイアル中で４０℃で７２時間静置してインキュベートした。次いで、粉末ブレンドを、ＰＢＳで復元して、ＩＬ－１０送達構築物の０．５ｍｇ／ｍＬ溶液にした。次いで、試料を、ＳＥＣ分析前に０．２μｍフィルターを通過させた（図１８）。標的構築物との不適合性は、粉末状態では観察されなかった。

表２７－乾燥ブレンドされたＩＬ－１０送達構築物／賦形剤粉末の組成およびＳＥＣ分析

【表２７－１】

組成					SEC 分析		
試料 #	賦形剤	グレード	重量 (mg)	API 重量 (mg)	HMW	二量体	単量体
1	DS のみ	NA	0	12	10.1	81.5	7.1
2	ケイ化微結晶性セルロース	Prosolv SMCC 90	36	12	11.7	82.4	5.9
3	クロスポビドン	Kollidon CL	36	12	11.7	80.3	8
4	ラクトース一水和物	Ligamed	36	12	12.2	81.2	6.7

【表２７－２】

5	MCC	VIVAPUR	36	12	12.7	81.0	6.2
6	ベヘン酸グリセリル	COMPRITOL	36	12	12.3	80.1	7.6
7	ステアリン酸マグネシウム	Ligamed	36	12	11.5	79.2	9.3
8	クロスカルメロースナトリウム	VIVASOL GF	36	12	12.9	79.2	7.8
9	デンプン	Aldrich	36	12	12.5	80.8	6.7

【０４９５】

錠剤製造のために、材料を、圧縮成形プロセスおよび圧縮プロセスに供した。潜在的に感受性な三次および四次構造を有するタンパク質薬物について、これらの機械的応力は、タンパク質完全性の保持についての調査を要求する。

【０４９６】

ＩＬ－１０送達構築物の適合性を、錠剤形成の初期ステップについて評価した。ブレン

ドプロセスおよび圧縮成形プロセスを行った。各場合において、ローラー圧縮成形およびスラッギングの両方を行い、引き続いて製粉して顆粒にした。各製剤の組成は、表２８に示される。賦形剤の機能性および適合性を調査するために、異なる賦形剤を３つの製剤中に含めた。

表２８－圧縮成形／造粒のための初期製剤の組成；ＩＧ＝顆粒内組成；ＥＧ＝顆粒外組成。％値はｗ／ｗであり、名目上の値（タンパク質含量について補正していない）である。

【表２８】

	F1 製剤			F2 製剤			スラッギング/造粒製剤		
構成成分	識別名	IG (%)	EG (%)	識別名	IG (%)	EG (%)	識別名	IG (%)	EG (%)
活性成分	配列番号 5	8.00	-	配列番号 5	8.00	-	配列番号 5	17.31	-
増量剤	SMCC	68.00	18.35	DCP/MCC	68.00	18.35	スクロース	72.32	-
崩壊剤	クロスポビドン	3.00	1.00	クロスカルメロースナトリウム	3.00	1.00	クロスポビドン	3.24	1.94
滑沢剤	ステアリン酸 Mg	1.00	0.25	ステアリン酸 Mg	1.00	0.25	ベヘン酸グリセリル	3.24	1.94

【０４９７】

２つのプレブレンド製剤（Ｆ１およびＦ２）からの結果は、表２９に示される。ローラー圧縮成形を、２つの力で行い、得られたリボンを個々に造粒した。材料を、ＰＢＳ中に０．６５ｍｇ／ｍＬの配列番号５で復元し、ＳＥＣ分析前に０．２ｕｍフィルター（Ａｄｖａｎｔｅｃ）で濾過した。試料をまた、復元および分析の前に、２週間にわたって４０℃でインキュベートした。

表２９－製剤Ｆ１およびＦ２のための造粒プロセスの間のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体純度；小規模装置での２つの力でのローラー圧縮成形。１．２μｍスクリーンを介した造粒。

【表２９】

	室温（RT）での二量体純度		40℃での二量体純度	
中間体	F1	F2	F1	F2
薬物物質（DS）	75.9		78.6	
ブレンド前	75.1	73.7	77.3	76.3
リボン（低い力）	72.5	74.4	76.1	74.5
リボン（高い力）	71.6	71.1	73.7	72.6
顆粒（低い力）	74.3	74.6	74.5	72.6
顆粒（高い力）	74.5	73.8	71.9	72.4

【０４９８】

Ｆ１およびＦ２中間体の二量体純度データは、これらの処理ステップの結果として、ほとんど差異を示さず、４０℃でのインキュベーション後の値は、初期試料と類似であった。それにもかかわらず、各プロセス中間体は、薬物物質と比較して、幾分低減された二量体純度を示した。

【０４９９】

同じ分析を、スラッギング／造粒プロセスにおいて生成された中間体について行った（表３０）。異なる圧縮成形法だけでなく、スラッギング／造粒バッチは、バインダーおよび滑沢剤の組成において異なった。試料二量体純度は、インプロセス試料の間で、差異をほとんど～全く示さず、薬物物質と比較して、二量体純度における僅かな減退のみを示した。これは、スラッギング／造粒試料の組成およびプロセスが、ＩＬ－１０送達構築物の完全性を維持したことを示唆した。

表３０－スラッギング／造粒製剤のための造粒プロセスの間のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体純度

【表３０】

中間体	薬物物質(DS)	篩過したDS	プレミックスブレンド	最終ブレンド	スラグ	顆粒
純度	81.2	79.5	79.4	80.4	79.3	78.9

【０５００】

選択されたプロセス中間体試料を、ＰＢＳ中での復元後に、安定性評価に供した（図９５）。ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）溶液は、実験の過程にわたり、ＲＴで安定であったが、３７℃で貯蔵した場合、有意な分解を示した。ほとんどの試料は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）ＤＳに匹敵する溶液安定性を示したが、Ｆ１ブレンドおよびＦ２ブレンドは共に、スラッギング／造粒プロセスからの試料と比較して、より速い分解を示した。

【０５０１】

これらの結果は、Ｆ１製剤およびＦ２製剤の構成成分が、配列番号５とあまり適合性でないこと、または圧縮成形プロセスが、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）に影響している可能性があることを示唆した。

【０５０２】

有害な構成成分がＦ１／Ｆ２組成物中に存在したかどうかを特定するために、個々の賦形剤を、溶液中でのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）との適合性について評価した。ＤＳおよび単一の賦形剤を、ＰＢＳ中に０．３ｍｇ／ｍＬのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）で懸濁した。試料を、５時間振盪しながら３７℃でインキュベートし、試料を、ＳＥＣ分析のために定期的に採取した。結果は、図９６に示される。

【０５０３】

ほとんどの試料は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）ＤＳと匹敵する分解を示したが、Ｆ１／Ｆ２組成物において滑沢剤として使用したステアリン酸マグネシウムの存在は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）分解速度における有意な増加を引き起こした。特に、ジベヘン酸グリセリルは、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体純度に対して有害効果を示さなかった。

【０５０４】

ステアリン酸マグネシウムは、イオン性界面活性剤様特性を有するが、ベヘン酸グリセリルは、非イオン性界面活性剤である。滑沢剤適合性をさらに特徴付けるために、一連のさらなる滑沢剤候補を評価した。結果は、図９７に示される。

【０５０５】

ステアリン酸マグネシウムに関連する脂肪酸塩であるフマル酸ステアリルナトリウムは、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の僅かに加速された分解を引き起こした。強く陰

イオン性の硫酸基を有するラウリル硫酸ナトリウムは、混合の際にＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を即座に分解した。

【０５０６】

（実施例１２）

錠剤開発のための圧縮力のスクリーニング

【０５０７】

種々の圧縮力を使用して、Ｆ１錠剤（表３１）およびＦ２錠剤（表３２）を作製した。標的構築物の二量体純度もまた、錠剤への圧縮成形後に試験した。標的構築物タンパク質は、圧縮成形および造粒に対してロバストであったが、いくらかの凝集が、最終錠剤形態において観察された（図１９）。二量体回収もまた、ｐＨ７．０における種々の錠剤の溶出後に評価した（図２０Ａ～２０Ｄ）。

表３１－Ｆ１錠剤特性

【表３１－１】

生成物	圧縮力 lb.f	厚さ mm	摩損度 スクリーニング (n=1), % (±0.5%)	硬度 kp	崩壊 (断片), 37°C
IL-10 送達構築物	2,000	4.04	0.0	18.4	2 分 45 秒: 膨潤+侵食

【表３１－２】

(配列番号 5)、最終ブレンドロット番号 44A からの F-1 錠剤	2,500	3.88	0.0	25.0	10 分: 最初に僅かな膨潤、次いで緩徐な侵食
	3,000	3.83	0.0	26.5	14 分 30 秒: 緩徐な侵食
	3,500	3.80	0.0	27.1	16 分: 緩徐な侵食

表３２－Ｆ２錠剤特性

【表３２】

生成物	圧縮力 lb.f	厚さ mm	摩損度スクリーニング (n=1), % (±0.5%)	硬度 kp	崩壊 (断片), 37°C
IL-10 送達構築物 (配列番号 5)、最終ブレンドロット番号 46A からの F-2 錠剤	2,000	3.74	0.0	14.4	1 分 10 秒: 微細な粒子への迅速な崩壊
	2,500	3.61	0.0	16.2	10 分: 僅かな膨潤
	3,000	3.49	0.0	20.4	3 分: 侵食 5 分 30 秒: 緩徐な侵食
	3,500	3.49	0.0	20.4	7 分: 緩徐な侵食

【０５０８】

ステアリン酸マグネシウムの代わりにジベヘン酸グリセリルを含むこと以外、Ｆ１錠剤と類似した、さらなる錠剤（Ｆ３）もまた作製した（表３３）。この置換は、溶液中での標的構築物の溶出におけるステアリン酸マグネシウムの不適合性が理由で行った。

表３３－Ｆ３錠剤組成物Ｆ３

【表３３】

相	構成要素	グレード	割合，%	錠剤１つ当たりの質量、mg	15g バッチのための量 (g)
IG	IL-10 送達構築物	n/a	8.000%	16	1.2000
	SMCC	Prosolv SMCC 90	68.000%	136	10.2000
	クロスポビドン	Kollidon CL	3.000%	6	0.4500
	ジベヘン酸グリセリル	Compritol 888 ATO	1.000%	2	0.1500
EG	SMCC	Prosolv SMCC 90	18.750%	37.5	2.8125
	クロスポビドン	Kollidon CL	1.000%	2	0.1500
	ジベヘン酸グリセリル	Compritol 888 ATO	0.250%	0.5	0.0375
総コア重量			100.000%	200	15.0000

【０５０９】

（実施例１３）

健康な対象における経口カプセル被覆製剤のｉｎ　ｖｉｖｏ性能の評価

【０５１０】

研究の一次目標は以下である：シンチグラフィー法を使用して、カプセル被覆製剤の単一経口用量のｉｎ　ｖｉｖｏ性能を評価すること、ならびにシンチグラフィー法を使用して、給餌状態および絶食状態での選択されたカプセル被覆製剤の単一経口用量のｉｎ　ｖｉｖｏ性能を比較すること。研究の二次目標は以下である：経口投与後のカプセル被覆製剤の安全性についての情報を提供すること。研究の探索目標は以下である：ＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）が腸を介して移動する際に、各研究対象について、絶食でのｐＨ、温度および圧力プロファイルを収集すること。

【０５１１】

研究設計

【０５１２】

これは、健康な対象における単一施設、非盲検、非ランダム化、逐次的、単一用量、４期間、シンチグラフィーイメージング研究であった。１２人の対象の単一のコホートを登録した。各対象は、表３４に概説したレジメンを受けた。サイズ０のカプセルに適用したカプセル被覆製剤は、表３５に記載され、ＩＬ－１０送達構築物の放出は、回腸、近位結腸（後部＋１）または遠位結腸（後部＋２）において生じると予測された。経口カプセル被覆製剤を、経口投与を意図した腸溶性被覆されたサイズ０のカプセルとして供給した。この研究は、カプセル被覆製剤を試験したが、配列番号５のＩＬ－１０送達構築物は試験しなかった。この研究のカプセルは、いずれの活性成分も含まなかった。用量間に３日間の最低ウォッシュアウト期間が存在した。期間３の後に、期間４において給餌状態で投与するためにどのカプセル被覆製剤を選択すべきであるかを決定するために、以前の期間からの安全性およびシンチグラフィーデータの暫定的な分析および審査の期間が存在した。

表３４－健康な患者に投与したレジメン

【表３４】

期間	レジメン	試験生成物（TP）用量
1	A	カプセル被覆製剤1、NMT 1MBq ^{111}Inで放射能標識、絶食状態
2	B	カプセル被覆製剤2、NMT 1MBq ^{111}Inで放射能標識、絶食状態
3	C	カプセル被覆製剤3、NMT 1MBq ^{111}Inで放射能標識、絶食状態
4	D	カプセル被覆製剤1、2または3、NMT 1MBq ^{111}Inで放射能標識、給餌状態

^{111}Ｉｎ：インジウム－１１１；ＮＭＴ：～以下；ＭＢｑ：メガベクレル

表３５－シンチグラフィー研究のための被覆製剤

【表３５】

番号	腸溶性被覆組成 (L30D55/FS30D)	腸溶性被覆厚さ (mg)	HPMC 厚さ (mg)	予測された放出
1	50/50	75	10	回腸
2	30/70	75	10	後部 +1
3	20/80	40	10	後部 +2

【０５１３】

対象を、期間１における投薬の最大で２８日前に、研究に参加する適格性についてスクリーニングした。各処置期間について、適格な対象を、投薬（１日目）の前日の夕方に、臨床単位に入れた。対象は、最低１０時間の一晩の絶食後（レジメンＡ、ＢおよびＣ）または高脂肪の朝食後（レジメンＤ）に、１日目の朝に製剤を受けた。投与を、シンチグラフィーイメージング要件に基づいて、対象間で適切な間隔（例えば、およそ１０分間）で、１日目に行った。開始時間は、ロジスティクスに基づいて決定した。対象は、投薬後２４時間まで、臨床単位中に存在したままであった。各絶食レジメンの間に、４人の対象が、経口カプセルの投与の直後に、ＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）カプセルを受けた。各対象は、１つのレジメンのみにおいて、ＳｍａｒｔＰｉｌｌを受けた；対象００１～００４は、レジメンＡにおいて、ＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）を受け、対象００５～００８は、レジメンＢにおいて、ＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）を受け、対象００９～０１２は、レジメンＣにおいて、ＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）を受けた。データが、ｉｎｓｉｔｕでＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）からなおも捕捉されていた場合、対象には次の投薬機会で投薬しなかった。各生成物投与間に、３日間の最低ウォッシュアウト期間が存在した。全ての期間において、９９ｍＴｃ－ＤＴＰＡドリンクを、各放射能標識した試験生成物（ＴＰ）と共に投与して、シンチグラフィー分析を可能にするために、ＧＩ管の輪郭を提供した。追跡電話連絡を、最終用量の５～７日後に行い、対象の現在の健康状態を保証した。

【０５１４】

ガンマシンチグラフィー

【０５１５】

全てのレジメンについて、およそ５０秒の持続時間の前方二重同位体画像を、投薬の２４時間後まで、一定間隔で収集した。９９ｍＴｃ－ＤＴＰＡ放射能標識ドリンクからの画像を使用して、ＧＩ管輪郭を提供したのみとし、分析はしなかった。定性的シンチグラフィーデータ分析を、以下のパラメーターを決定するために行った：カプセルからの初期放

射能標識放出の時間および解剖学的位置、ならびにカプセルからの完全放射能標識放出の時間および解剖学的位置。放射能標識放出の解剖学的位置を、以下から定義した：胃、近位小腸、遠位小腸、上行結腸（肝湾曲部を含む）、横行結腸（脾湾曲部を含む）および下行結腸（Ｓ状結腸および直腸を含む）。完全放射能標識放出前の、ＧＩ管を介したカプセルの移動の定性的シンチグラフィー評価を、以下のパラメーターを分析することによって行った：胃内容排出の時間および結腸到着の時間。完全放射能標識放出の後、さらなる移動パラメーターは評価しなかった。

【０５１６】

ｐＨテレメトリーカプセル

【０５１７】

各絶食レジメンの間、４人の対象が、ＴＰの投与の直後に、ＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）カプセルを受けた。各対象は、１つのレジメンのみにおいて、ＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）を受けた。ＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）カプセルは、診断目的のための医師による使用のために市販されている、単回使用の摂取可能なカプセルである。カプセルがＧＩ管の長さを移動する際に、センサー搭載の摂取可能なカプセルは、ｐＨ、温度および圧力を測定する。測定値を、ＧＩ管内のカプセルから、４３４ＭＨｚの振幅シフトキーイングモジュレートされた高周波シグナルを介して、対象に装着されたデータ受信器に伝送し、カプセルが通過した後の分析および審査のために、ラップトップコンピュータに引き続いてダウンロードした。ＭｏｔｉｌｉＧＩ（商標）ソフトウェアは、データ分析を自動的に行い、胃内容排出時間および運動性インデックスを含む印刷可能な報告を医師に提供した。ＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）カプセルは、典型的には、数日以内に通過した。

【０５１８】

被覆されたプラセボカプセルおよびＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）の形状、サイズおよび重量は同じではなく、したがって、２つのカプセルは、正確に同時にＧＩ管を介して移動しない場合がある。しかし、ＳｍａｒｔＰｉｌｌ（登録商標）は、腸の異なる領域からのｐＨ、圧力および温度情報が特徴付けられるのを可能にするデータを提供した。

【０５１９】

結果

【０５２０】

カプセル被覆製剤１による投与の後、初期放射能標識放出が、投薬後２．６７５時間の平均値で観察された（表３６、３７；図３２Ａ）。完全放射能標識放出は、投薬後３．７５８時間の平均時間で、およそ１．１時間後に達成された（表３６、３７；図３２Ｂ）。崩壊の解剖学的位置は、初期放出については胃から上行結腸（ＡＣ）までの範囲（図３３Ａ）、完全放出については胃から下行結腸（ＤＣ）までの範囲（図３３Ｂ）で、高度に可変であることが認められた。

【０５２１】

カプセル被覆製剤２による投与の後、初期放射能標識放出が、投薬後４．９０３時間の平均値で観察された（表３６、３８；図３２Ａ）。カプセル被覆製剤１と同様に、完全放射能標識放出は、投薬後６．１７６時間の平均時間で、およそ１．３時間後に生じた（表３６、３８；図３２Ｂ）。初期崩壊（図３３Ａ）および完全崩壊（図３３Ｂ）の解剖学的位置は、バリエーションをあまり示さず、全ての放射能標識放出は、遠位小腸（ＤＳＢ）とＡＣとの間で生じた。

【０５２２】

カプセル被覆製剤３による投与の後、初期放射能標識放出は、投薬の４．０８２時間後に、カプセル被覆製剤２よりも僅かに早い時間で生じた（表３６、３９；図３２Ａ）。カプセル被覆製剤１および２と同様に、完全放射能標識放出は、投薬後５．３０８時間の平均時間で、およそ１．２時間後に生じたことが留意された（表３６、３９；図３２Ｂ）。崩壊の解剖学的位置は、カプセル被覆製剤２について認められた崩壊の解剖学的位置よりも可変的であったが、カプセル被覆製剤１についての崩壊の解剖学的位置ほど可変的では

なかった。初期放出は、近位小腸（ＰＳＢ）からＡＣまでの範囲であったが（図３３Ａ）、完全放出は、ＤＳＢから横行結腸（ＴＣ）までの範囲であった（図３３Ｂ）。

表３６－経口カプセル被覆製剤の投与後の健康なボランティアにおける初期および完全放射能標識放出の時間および場所についての定性的シンチグラフィーパラメーター

【表３６】

	初期放射能標識放出*（投薬後の時間）	初期場所カテゴリーa (n)	完全放射能標識放出*（投薬後の時間）	完全場所カテゴリー[a] (n)	崩壊の持続時間（時間）
レジメンＡ カプセル被覆製剤１ (N=12)	2.675 (1.140)	胃 (n=1) 胃/PSB (n=1) PSB (n=2) DSB (n=5) DSB/AC (n=1) AC (n=2)	3.758 (1.736)	胃 (n=1) PSB (n=2) DSB (n=5) DSB/AC (n=1) AC (n=1) TC (n=1) DC (n=1)	1.083 (0.857)
レジメンＢ カプセル被覆製剤２ (N=12)	4.903 (1.298)	DSB (n=9) AC (n=3)	6.176 (2.289)	DSB (n=5) DSB/AC (n=2) AC (n=5)	1.273 (1.444)
レジメンＣ カプセル被覆製剤３ (N=12)	4.082 (1.769)	PSB (n=1) DSB (n=8) DSB/AC (n=1) AC (n=2)	5.308 (2.738)	DSB (n=8) AC (n=3) TC (n=1)	1.226 (1.454)

＊平均（±ＳＤ）

[a]以下から定義される場所カテゴリー：胃、近位小腸（ＰＳＢ）、遠位小腸（ＤＳＢ）、上行結腸（ＡＣ；肝湾曲部を含む）、横行結腸（ＴＣ；脾湾曲部を含む）、下行結腸（ＤＣ；Ｓ状結腸および直腸を含む）。正確な場所を特定することが不可能な場合、接合部場所カテゴリーを使用した。

表３７－経口カプセル被覆製剤１（レジメンＡ）の投与後の健康なボランティアにおける定性的シンチグラフィーパラメーター

【表３７－１】

対象番号	初期放射能標識放出（投薬後の時間）	初期放出の時点でのカプセルの解剖学的位置[a]	完全放射能標識放出（投薬後の時間）	完全放出の時点でのカプセルの解剖学的位置[a]	崩壊の持続時間 (h)
001	2.63	PSB	4.13	DSB	1.50
002	1.63	DSB	2.88	DSB	1.25
003	2.14	DSB	2.39	DSB	0.25
004	2.38	PSB	2.88	PSB	0.50
005	2.13	胃	2.38	胃	0.25
006	5.13	AC	7.88	DC	2.75
007	3.88	AC	4.13	AC	0.25
008	4.13	DSB/AC	5.88	TC	1.75

【表３７－２】

009	1.38	胃/PSB	1.63	PSB	0.25
010	2.88	DSB	4.13	DSB	1.25
011	1.89	DSB	4.15	DSB/AC	2.26
012	1.90	DSB	2.64	DSB	0.74
平均	2.675		3.758		1.083
SD	1.140		1.736		0.857
中央値	2.260		3.505		0.995
最小	1.38		1.63		0.25
最大	5.13		7.88		2.75
n=	12		12		12

[a]以下から定義される場所カテゴリー：胃、近位小腸（ＰＳＢ）、遠位小腸（ＤＳＢ）、上行結腸（ＡＣ；肝湾曲部を含む）、横行結腸（ＴＣ；脾湾曲部を含む）、下行結腸（ＤＣ；Ｓ状結腸および直腸を含む）。正確な場所を特定することが不可能な場合、接合部場所カテゴリーを使用した。

表３８－経口カプセル被覆製剤２（レジメンＢ）の投与後の健康なボランティアにおける定性的シンチグラフィーパラメーター

【表３８】

対象番号	初期放射能標識放出（投薬後の時間）	初期放出の時点でのカプセルの解剖学的位置[a]	完全放射能標識放出（投薬後の時間）	完全放出の時点でのカプセルの解剖学的位置[a]	崩壊の持続時間(h)
001	5.88	AC	6.13	AC	0.25
002	6.88	AC	11.50	AC	4.62
003	3.13	DSB	4.38	AC	1.25
004	4.14	DSB	4.40	DSB	0.26
005	6.14	DSB	6.89	DSB	0.75
006	5.88	DSB	9.53	DSB/AC	3.65
007	4.38	DSB	5.13	DSB	0.75
008	4.38	DSB	5.13	DSB	0.75
009	4.13	DSB	4.38	DSB/AC	0.25
010	3.88	DSB	4.13	DSB	0.25
011	3.39	DSB	5.38	AC	1.99
012	6.63	AC	7.13	AC	0.50
平均	4.903		6.176		1.273
SD	1.298		2.289		1.444
中央値	4.380		5.255		0.750
最小	3.13		4.13		0.25
最大	6.88		11.50		4.62
n=	12		12		12

[a]以下から定義される場所カテゴリー：胃、近位小腸（ＰＳＢ）、遠位小腸（ＤＳＢ）、上行結腸（ＡＣ；肝湾曲部を含む）、横行結腸（ＴＣ；脾湾曲部を含む）、下行結腸（ＤＣ；Ｓ状結腸および直腸を含む）。正確な場所を特定することが不可能な場合、接合部場所カテゴリーを使用した。

表３９－経口カプセル被覆製剤３（レジメンＣ）の投与後の健康なボランティアにおける定性的シンチグラフィーパラメーター

【表３９－１】

対象番号	初期放射能標識放出（投薬後の時間）	初期放出の時点でのカプセルの解剖学的位置[a]	完全放射能標識放出（投薬後の時間）	完全放出の時点でのカプセルの解剖学的位置[a]	崩壊の持続時間(h)
001	5.63	DSB	5.63	DSB	0.00
002	3.64	DSB	3.88	DSB	0.24

【表３９－２】

003	8.50	AC	11.50	TC	3.00
004	5.38	DSB	8.50	DSB	3.12
005	3.88	DSB	4.63	DSB	0.75
006	3.38	AC	3.63	AC	0.25
007	4.15	DSB/AC	8.51	AC	4.36
008	1.88	DSB	3.38	DSB	1.50
009	3.65	DSB	4.14	AC	0.49
010	3.88	DSB	4.13	DSB	0.25
011	2.63	PSB	2.88	DSB	0.25
012	2.38	DSB	2.88	DSB	0.50
平均	4.082		5.308		1.226
SD	1.769		2.738		1.454
中央値	3.765		4.135		0.495
最小	1.88		2.88		0.00
最大	8.50		11.50		4.36
n=	12		12		12

[a]以下から定義される場所カテゴリー：胃、近位小腸（ＰＳＢ）、遠位小腸（ＤＳＢ）、上行結腸（ＡＣ；肝湾曲部を含む）、横行結腸（ＴＣ；脾湾曲部を含む）、下行結腸（ＤＣ；Ｓ状結腸および直腸を含む）。正確な場所を特定することが不可能な場合、接合部場所カテゴリーを使用した。

【０５２３】

（実施例１４）

Ｔｈ２潰瘍性大腸炎のオキサゾロン誘導性マウスモデルにおけるＩＬ－１０送達構築物の有効性の評価

【０５２４】

炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病（ＣＤ）および潰瘍性大腸炎（ＵＣ）は、消化（ＧＩ）管の炎症によって特徴付けられる慢性再発性障害である。ＩＢＤ患者は、遺伝的寄与、環境要因、および粘膜免疫系によって惹起される、管腔抗原に対する不適切な宿主炎症応答の複雑な相互作用から生じる、進行性および衰弱性の症状に苦しむ。

【０５２５】

サイトカインは、健康および疾患の多くの側面を制御する炎症促進性または抗炎症性バイアスの確立および／または維持に関与する免疫応答の多数の側面を制御する。消化（ＧＩ）管に沿って、免疫調節性細胞は、広範な種々の環境刺激に応答し、病理学的抗原に応答して炎症促進性シグナル伝達カスケードを開始させることを担う。上皮細胞、およびＧＩ管の下敷きになる粘膜固有層に局在化した細胞は、この組織の炎症状態を制御する無数のサイトカインに応答する。ＵＣおよびＣＤを含むＧＩ関連ＩＢＤの場合、炎症促進性経路の活性化は、あまりに容易に生じるようであり、ＧＩ恒常性を維持するためのこれらの事象の解消は、不十分である。したがって、ＩＢＤ状態の開始、進行および解消は、炎症促進性サイトカインと抗炎症性サイトカインとのバランスによって調節される。環境的侵襲の作用を介してＧＩ関連の炎症促進性サイトカインを操作することによって、ＩＢＤ患者において観察される多くの病態生理学的側面を再現する前臨床動物モデルを確立することが可能である。

【０５２６】

オキサゾロン誘導性マウス大腸炎は、環境的侵襲が急性炎症性状態を誘発するために使用される、ＩＢＤに対する潜在的処置を評価するための信頼性のあるシステムである。これは、潰瘍化に関連する、粘膜の表在層に限定される混合好中球およびリンパ球浸潤によって特徴付けられる。このモデルでは、末梢事前感作の後に、ハプテン化剤（ｈａｐｔｅｎｉｚｉｎｇ　ａｇｅｎｔ）であるオキサゾロンの直腸滴下注入が続く。この感作／活性化プロトコールは、ＵＣの識別性の分子特徴を反映する、組織インターロイキン（ＩＬ）－４およびＩＬ－５分泌における増加によって示されるＴｈ２媒介性免疫応答をもたらす。重要なことに、オキサゾロン曝露は、ケモカイン単球走化性タンパク質（ＭＣＰ）－１

、マクロファージ炎症性タンパク質（ＭＩＰ）－１β、増殖因子顆粒細胞－コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）ならびに炎症促進性サイトカイン腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）－αおよびＩＬ－１αを含む、炎症において役割を果たす他の組織サイトカインもまた増加させる。炎症促進性サイトカインおよびケモカインの全身濃度もまた、ＩＢＤ患者において概して上昇する；具体的には、ＴＮＦ－α分泌は、疾患重症度と相関し得る。したがって、血漿サイトカインのサンプリングは、腸炎症および薬物有効性を反映し得るだけでなく、薬物についての作用機構の解明を補助し得る。

【０５２７】

この研究の目標は、以下であった：（１）研究終結時の複数の生存中疾患パラメーター（体重減少、便の硬さ、ヘモカルト）、生存率、剖検後の結腸形態学（重量および長さ）および結腸組織病理学を評価することによって、マウスにおいてオキサゾロン誘導性大腸炎を防止する、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）溶液、経口胃管栄養による送達の能力を評価すること；（２）結腸ＴＮＦ－α、ＮＦκＢ、ＩＬ－４、ＣＤ４およびＦｏｘｐ３の免疫組織化学染色を介して、単離された腸組織におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の抗炎症有効性および機構を評価すること；ならびに（３）ＬｕｍｉｎｅｘおよびＭｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ（ＭＳＤ）プラットフォームを使用してサイトカインおよびケモカインの血漿濃度を測定することによって、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の抗炎症作用を評価すること。

【０５２８】

方法

【０５２９】

雌性ＳＪＬ／Ｊマウスは、Ｔｈｅ　Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ、Ｂａｒ　Ｈａｒｂｏｒ、Ｍａｉｎｅ　０４６０９　ＵＳＡから得た。研究の開始時に、マウスは、７～８の間の週齢、体重１８～２２ｇであった。マウスを、７０～７２°Ｆの温度、湿度３０～７０％、ならびに１２時間の明期および１２時間の暗期の光サイクルで制御された環境中で維持した。マウスに、ＴＥＫＬＡＤ　２０１８－Ｇｌｏｂａｌ　１８％食およびＡｒｒｏｗｈｅａｄ飲用水を適宜提供した。マウスを、７日間の期間にわたって順応させた。

【０５３０】

マウスにおける大腸炎の誘導および処置は、Ｉｎｖｉｔｅｋ　Ｉｎｃ．（Ｈａｙｗａｒｄ、ＣＡ）が行った。マウスを、－５日目に、背側皮膚のパッチ上で、１００％のエタノール中３％のオキサゾロン（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ、ＵＳＡ；カタログ番号：Ｅ０７５３）で事前感作し、０日目に、４０％のエタノール中１％のオキサゾロンで直腸内チャレンジした。対照マウス（ナイーブ）を、１００％（－５日目）および４０％エタノール（０日目）で処置した。マウスを、－５日目から６日目まで、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）（８．４５ｍｇ／ｋｇ）、アミノサリチレート（５－ＡＳＡ、１００ｍｇ／ｋｇ、水中に溶解；Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ、ＵＳＡ；カタログ番号：Ａ３５３７）、またはＩＬ－１０送達構築物についてのビヒクル対照の経口胃管栄養（１０ｍＬ／ｋｇ）によって、ｑ．ｄ．処置した。実験設計および群番号は、表４０に要約される。毎日の体重および疾患パラメーター（糞便の硬さ、ヘモカルト陽性度）を記録して、疾患活動性インデックス（ＤＡＩ）を生成した。血漿および結腸組織を、７日目の研究終結時に収集した。結腸の重量および長さを、固定前に測定した。

表４０－実験設計

【表４０】

群	説明	N	投与の経路	用量 (mg/kg)	用量体積 (ml/kg)	投薬頻度
1	対照、 オキサゾロンなし（ナイーブ）	5	p.o.	n/a	10	q.d., -5 - +6日目
2	オキサゾロン処置 +経口胃管栄養ビヒクル (ビヒクル)	10	p.o.	n/a	10	q.d., -5 - +6日目
3	IL-10送達構築物	15	p.o.	8.45	10	q.d., -5 - +6日目
4	5-ASA	15	p.o.	100	10	q.d., -5 - +6日目

【０５３１】

おおよその近位、中間および遠位結腸のホルマリン固定しパラフィン包埋した断面のヘマトキシリンおよびエオシン染色、ならびにそれらの組織病理学スコアリングは、ＩＤＥＸＸ　Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．が行った。大腸炎の存在および重症度スコアを、炎症の存在、白血球浸潤、脈管密度、結腸壁厚さ、陰窩膿瘍ならびに杯細胞および潰瘍化の存在に従って評価した。

【０５３２】

処置マウスの近位、中間および遠位結腸領域（各々２つの切片）のホルマリン固定しパラフィン包埋した断面は、ＨｉｓｔｏＴｏｘ（Ｂｏｕｌｄｅｒ、ＣＯ）が、マウスＮＦ－ｋＢ　ｐ６５、ＴＮＦ－α、ＩＬ－４、ＣＤ４、Ｆｏｘｐ３のＩＨＣ染色のために処理した。画像分析を、以下の手順を使用して、Ｖｉｓｉｏｐｈａｒｍソフトウェアを使用してデジタルスライド画像に対して行った。組織を、対比染色から陽性染色を分離するためにイメージングフィルターを使用して処理し、次いで、処理された画像を、閾値化法を使用して分類したが、閾値は、陽性染色された組織に関連するピクセル値に基づいて確立される。陽性染色の量の定量化を、標識された画像を分析することによって決定した；パーセント陽性度を、陽性組織の面積を総組織面積によって除算することによって計算して、陽性度についての測定基準を提供した。

【０５３３】

血漿サイトカインを、Ｖ－ｐｌｅｘ　Ｐｒｏｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ　Ｐａｎｅｌ　１　Ｍｏｕｓｅ　Ｋｉｔを使用して定量化した。血漿ＩＬ－１Ｒａを、Ｍｏｕｓｅ　ＩＬ－１Ｒａ／ＩＬ－１Ｆ３　ＤｕｏＳｅｔ　ＥＬＩＳＡ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　番号ＤＹ４８０）、Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ　ＳＵＬＦＯ－ＴＡＧ　Ｌａｂｅｌｅｄ（ＭＳＤ番号Ｒ３２ＡＤ－１）、Ｍｕｌｔｉ－Ａｒｒａｙ　９６　Ｐｌａｔｅ　Ｐａｃｋ、ＳＥＣＴＯＲ　Ｐｌａｔｅ　ＭＳＤ　番号Ｌ１５ＸＡ－３およびＲｅａｄ　Ｂｕｆｆｅｒ　Ｔ（４ｘ）（ＭＳＤ　番号Ｒ９２ＴＣ－２）からの抗体対を使用するサンドイッチイムノアッセイによって定量化した。試料を、ＱｕｉｃｋＰｌｅｘ　ＳＱ　１２０プレートリーダー（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ、Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ、ＭＤ）上で読み取った。

【０５３４】

Ｌｕｍｉｎｅｘアッセイを、Ｈｕｍａｎ　Ｉｍｍｕｎｅ　Ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ　Ｃｅｎｔｅｒ　ａｔ　Ｓｔａｎｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙにおいて行った。Ｍｏｕｓｅ　３８　ｐｌｅｘキットを、ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ／Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘから購入し、本明細書に記載される改変を伴って、製造業者の推奨に従って使用した。ビーズを、９６ウェルプレートに添加し、Ｂｉｏｔｅｋ　ＥＬｘ４０５洗浄機中で洗浄した。試料を、混合抗体連結ビーズを含むプレートに添加し、室温で１時間インキュベートし、その後、

４℃で振盪しながら一晩インキュベートした。低温および室温インキュベーションステップを、オービタルシェイカー上で５００～６００ｒｐｍで行った。一晩のインキュベーションの後、プレートを、Ｂｉｏｔｅｋ　ＥＬｘ４０５洗浄機中で洗浄し、次いで、ビオチン化検出抗体を、振盪しながら室温で７５分間にわたって添加した。プレートを、上記のように洗浄し、ストレプトアビジン－ＰＥを添加した。室温で３０分間のインキュベーション後、洗浄を上記のように行い、読み取り緩衝液をウェルに添加した。各試料を二連で測定した。プレートを、サイトカイン１つ当たり試料１つ当たり５０個のビーズの下限で、Ｌｕｍｉｎｅｘ　２００機器を使用して読み取った。Ｒａｄｉｘ　Ｂｉｏｓｏｌｕｔｉｏｎｓによるカスタムアッセイ対照ビーズを、全てのウェルに添加した。

【０５３５】

統計分析を、Ｐｒｉｓｍ　５．０（Ｉｎｖｉｔｅｋ　ｄａｔａ）またはＰｒｉｓｍ　７．０（ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｉｎｃ．）を使用して行った。データを、一元配置ＡＮＯＶＡまたは二元配置ＡＮＯＶＡを使用し、その後、ボンフェローニ、チューキーまたはダネットの事後検定を使用して分析した。Ｐ値＜０．０５を有意とみなした。

【０５３６】

結果

【０５３７】

オキサゾロン誘導性結腸炎症は、体重における有意な低減および低減された生存率に関連した（ビヒクル対照対ナイーブ対照群；図３５および図３６）。体重におけるこの低下は、５－ＡＳＡによる処置によって減弱されることが見出された（４～７日目にｐ＜０．０５）；しかし、統計的差異は、ＩＬ－１０送達構築物を受けているマウスでは検出されなかった（図３５）。ＩＬ－１０送達構築物処置は、ビヒクルと比較して生存を改善したが（３％の増加）、一方で、５－ＡＳＡ処置は、生存におけるより顕著な改善をもたらした（１０％）（図３６）。いずれの群間でも、便の硬さにおいてもヘモカルト陽性度（便中の血液の存在）においても差異は検出されなかった（データ示さず）。オキサゾロン処置は、組織病理学的重症度スコアによって示されるように、ビヒクル処置マウスにおいて結腸炎症を誘導し、これは、ＩＬ－１０送達構築物による処置によって減弱されたが（ｐ＜０．０５；ビヒクル対ＩＬ－１０送達構築物）、５－ＡＳＡ処置によっては減弱されなかった（図３７）。オキサゾロン処置はまた、ビヒクル群において、結腸重量を有意に増加させ、これは、ＩＬ－１０送達構築物および５－ＡＳＡの両方の存在によって和らげられた（それぞれｐ＜０．０１およびｐ＜０．００１）（図３８Ａ）。ビヒクル処置動物と比較して、送達構築物による処置についての改善が、ヘモカルト陽性度（図３８Ｂ）、便の硬さ（図３８Ｃ）および疾患活動性インデックス（図３８Ｄ）について観察された。マクロファージコロニー刺激因子１（ＭＣＳＦ、図３８Ｅ）、ＩＬ１２　ｐ７０タンパク質（図３８Ｆ）およびＩＬ－３（図３８Ｇ）の増加した血清レベルの、処置媒介性の抑制が観察された。

【０５３８】

ＮＦκＢは、炎症において根本的な役割を果たす転写因子である；ＮＦκＢを介したシグナル伝達は、炎症促進性サイトカインＩＬ－１β、ＩＬ－６およびＴＮＦ－αを調節する。ＩＬ－１０送達構築物の局所的効果を理解するために、結腸切片におけるＴＮＦ－α、ＮＦ－ｋＢ、ＩＬ－４、ＣＤ４およびＦｏｘｐ３のタンパク質発現を、ＩＨＣによって分析した（図３９Ａ～３９Ｅ）。オキサゾロンによって誘導された炎症（ビヒクル処置群によって示される）は、ＣＤ４を発現する結腸中の細胞の増加した数に向かう傾向をもたらした。このデータは、より大きい数の活性化されたＣＤ４＋Ｔ細胞の存在を示し、これは、このモデルにおける炎症の主要な駆動因子であるＴｈ２エフェクター細胞を含み得る。Ｆｏｘｐ３発現もまた、ビヒクル群において増加することが見出された（ナイーブ動物と比較して３５６％）。しかし、５－ＡＳＡと同様、ＩＬ－１０送達構築物による処置は、調査したいずれのタンパク質の発現に対しても、有意な効果を全く惹起しなかった。

【０５３９】

ＩＬ－１０送達構築物の有効性をさらに評価し、その作用機構を理解するために、３８種のケモカイン、増殖因子、抗炎症性サイトカインおよび炎症促進性サイトカインの循環濃度を、Ｌｕｍｉｎｅｘアレイを使用して決定した。オキサゾロン誘導性大腸炎（ビヒクル群）は、オキサゾロンに曝露させていない動物（ナイーブ群）と比較して、これらの分子の血漿レベルにおいて統計的に有意な変化を生じなかった。しかし、ナイーブ群と比較して、オキサゾロン誘導性大腸炎を有する動物において、炎症促進性サイトカインＩＬ－６およびＩＬ－２３の増加した血漿レベルの傾向が観察された（図４０Ａ～４０Ｂ）；これらのサイトカインの血漿レベルは、ＩＢＤにおいて上昇する。

【０５４０】

炎症促進性サイトカインＩＬ－６およびＩＬ－２３のオキサゾロン誘導の傾向の抑制が、５－ＡＳＡおよびＩＬ－１０送達構築物処置で観察された（図４０Ａ～４０Ｂ）。ビヒクル対照と比較して、予防的ＩＬ－１０送達構築物処置は、それぞれ７３％および３３％低減された血漿ＩＬ－２３およびＩＬ－６濃度を生じた。

【０５４１】

炎症において重要なエフェクターまたは調節因子の役割を果たす１０種のサイトカインおよびケモカインの血漿濃度を、ＭＳＤ電気化学発光イムノアッセイの高い感度を使用して決定した（図４１Ａ～４１Ｊ）。オキサゾロンによる大腸炎の誘導は、ＩＬ－５を除く全てのサイトカインの増加したレベルの傾向を生じたが、いずれについても統計的有意性には到達しなかった（おそらく、ビヒクル対照群において観察された高い変動性が理由である）。ビヒクル対照と比較して、ＩＬ－１０送達構築物は、ＩＬ－１βおよびＩＬ－２の発現を有意に低減させ（ｐ＜０．０５）、ＩＬ－４（６２％）、ＩＬ－６（６１％）、ＩＬ－１２ｐ７０（６５％）および好中球化学誘引物質ＫＣ／ＧＲＯ（５１％）の誘導を抑制する傾向を明らかにした。

【０５４２】

考察

【０５４３】

このｉｎ　ｖｉｖｏ有効性研究は、経口胃管栄養によって投与された８．４５ｍｇ／ｋｇのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）が、ハプテンオキサゾロンによって引き起こされる化学的に誘導された大腸炎の発症を予防する（予防的モードの処置）能力を評価した。ＩＬ－１０送達構築物処置は、マウスにおける誘導された大腸炎のこのモデルを用いて以前に確立された関連する病理学的疾患インデックスである結腸重量および組織病理学的重症度スコアに対する有益な効果によって明らかなように、このモデルにおいて有効性を示した。いずれの特定の理論にも束縛されないが、これらの観察は、粘膜固有層に対するＩＬ－１０送達構築物の直接的な効果に帰せられる可能性が高い。

【０５４４】

分子レベルでは、オキサゾロンは、結腸内のＣＤ４発現Ｔ細胞およびＦｏｘｐ３発現Ｔ細胞の数を増加させた。しかし、オキサゾロン誘導性結腸炎症のこのモデルは、ＵＣにおける免疫応答に一般に関連するケモカインおよびサイトカインの重要なカスケードを開始させなかった。ロバストな応答の非存在は、処置群内の高い変動性の存在に起因し得る。

【０５４５】

結論

【０５４６】

結論として、これらの結果は、８．４５ｍｇ／ｋｇ（ｍｐｋ）の経口投薬溶液として送達されたＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による予防的処置が、ＵＣの臨床的徴候によって評価した場合に、マウスにおいてオキサゾロン誘導性大腸炎を抑制する能力を有したことを集合的に実証した。ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の経口送達は、結腸内の免疫学的発現プロファイルに対する明らかな効果を有さなかったが、亜慢性投薬は、腸炎症に関連する全身性炎症促進性サイトカインの有意かつ傾向性をもった抑制を惹起した。

【０５４７】

（実施例１５）

オキサゾロン誘導性潰瘍性大腸炎およびデキストラン硫酸ナトリウム（ＤＳＳ）誘導性潰瘍性大腸炎のマウスモデルにおけるＩＬ－１０送達構築物の用量応答有効性

【０５４８】

マウスにおけるＤＳＳ誘導性実験的大腸炎モデルは、飲用水中での抗凝固特性を有する化学的腸炎惹起性物質（ｃｏｌｉｔｏｇｅｎ）の送達を使用する。侵襲は、大腸の上皮単層への損傷、および下敷きになる組織中への炎症促進性腸内容物の分散を生じる。ＩＢＤ研究においてこのモデルが好まれるのは、その迅速さおよび再現性によるものであり、このモデルは、ＤＳＳの濃度および投与の頻度に依存して、ＩＢＤの急性、慢性および再発性モデルを惹起するために操作され得る。

【０５４９】

実施例１３は、予防的に投薬された場合のＩＬ－１０送達構築物の治療的潜在力を実証した；８．４５ｍｇ／ｋｇのＩＬ－１０送達構築物の経口投薬溶液は、複数の疾患パラメーターによって測定されるように、大腸炎発症を予防する中等度の有効性を示した。

【０５５０】

この実施例では、オキサゾロン誘導性大腸炎モデルおよびＤＳＳ誘導性大腸炎モデルの両方を使用して、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の用量応答有効性を評価した。抗炎症剤５－ＡＳＡを、オキサゾロン誘導性炎症の抑制についての陽性対照として機能するように、この研究内に含めた。５－ＡＳＡは、その相対的な有効性、安全性および高い忍容性に起因して、軽度から中等度のＵＣを処置するためにクリニックで広く使用されてきた。免疫抑制薬シクロスポリン（ＣｓＡ）を、ＤＳＳ研究において陽性対照として利用した；この処置は、クローン病（ＣＤ）の処置のためにクリニックにおいて頻繁に使用されている。

【０５５１】

本発明者らの投薬溶液の標的エンゲージメントを評価するために、ＩＬ－１受容体アンタゴニスト（ＩＬ－１Ｒａ）を、ＩＬ－１０送達構築物の候補薬力学的バイオマーカーとして評価した。上皮、免疫細胞および脂肪細胞によって分泌されると、ＩＬ－１Ｒａは、ＩＬ－１受容体に結合するが、シグナル伝達を誘導することはできず、したがって、ＩＬ－１媒介性炎症をアンタゴナイズする。ＩＬ－１０送達構築物予防的処置の有効性を、いくつかの疾患パラメーターをｉｎ　ｖｉｖｏで評価することによって評価した。さらに、腸炎症と共に変更されるサイトカインおよびケモカインの循環濃度に対するＩＬ－１０送達構築物の効果もまた評価した。

【０５５２】

この研究の目標は以下であった：（１）複数の生存中疾患パラメーター（体重減少、便の硬さ、ヘモカルト）、生存率、剖検後の結腸形態学（重量および長さ）および結腸組織病理学を評価することによって、オキサゾロン誘導性マウス大腸炎におけるＩＬ－１０送達構築物（０．３、１、３および９ｍｇ／ｋｇ）に対する用量応答を評価すること；（２）生存中および剖検疾患パラメーターならびに組織学を評価することによって、ＤＳＳ大腸炎モデルにおけるＩＬ－１０送達構築物（０．３、３、１０、３０ｍｇ／ｋｇ）に対する用量応答を評価すること；（３）ＬｕｍｉｎｅｘおよびＭＳＤプラットフォームを使用して、サイトカインおよびケモカインの血漿濃度を測定することによって、ＩＬ－１０送達構築物の抗炎症有効性および機構を評価すること；ならびに（４）ＩＬ－１Ｒａの組織遺伝子発現および血漿濃度ならびにｐＳＴＡＴ３の組織濃度を決定することによって、潜在的なＩＬ－１０送達構築物誘導性の薬力学的バイオマーカーを評価すること。

【０５５３】

方法

【０５５４】

マウスを、７０～７２°Ｆの温度、湿度３０～７０％、ならびに１２時間の明期および１２時間の暗期の光サイクルで制御された環境中で維持した。マウスに、ＴＥＫＬＡＤ２０１８－Ｇｌｏｂａｌ　１８％食およびＡｒｒｏｗｈｅａｄ飲用水を適宜提供した。マ

ウスを、７日間の期間にわたって順応させた。

【０５５５】

マウスにおいて、オキサゾロンによる大腸炎誘導および予防的処置を行った。７～８の間の週齢の雌性ＳＪＬ／Ｊマウスを、－５日目に、背側皮膚のパッチ上で、１００％のエタノール中のオキサゾロンの３％溶液（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ、ＵＳＡ；カタログ番号：Ｅ０７５３）で事前感作し、０日目に、４０％のエタノール中１％のオキサゾロン溶液で直腸内チャレンジした。動物を、－５日目から６日目まで、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）（０．３、１、３および９ｍｇ／ｋｇ）、アミノサリチレート（５－ＡＳＡ、１００ｍｇ／ｋｇ；Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ、ＵＳＡ；カタログ番号：Ａ３５３７）またはビヒクル対照（２００ｍＭの重炭酸ナトリウム中１０ｍｇ／ｍＬのダイズトリプシン阻害剤；ＩＬ－１０送達構築物製剤化緩衝液）の投薬溶液で経口ｑ．ｄ．処置した。ナイーブマウスを、エタノール単独で事前感作およびチャレンジした。毎日の体重および疾患パラメーター（糞便の硬さ、ヘモカルト陽性度）を記録して、疾患活動性インデックス（ＤＡＩ）を生成した。血漿および結腸組織を、７日目の研究終結時に収集した。この研究は、非ＧＬＰ条件下で行い、ＩＮＶＩＴＥＫプロトコールおよびＩＮＶＩＴＥＫ　Ｓｔａｎｄａｒｄ　Ｏｐｅｒａｔｉｎｇ　Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅｓに従って行った。オキサゾロン処置についての実験設計および群番号は、表４１に要約される。

【０５５６】

マウス大腸炎のＤＳＳ誘導は、Ｂｏｌｄｅｒ　ＢｉｏＰＡＴＨ，Ｉｎｃ．（ＣＯ、ＵＳＡ）が行った。雌性Ｃ５７ＢＬ６／Ｊマウス（８～１０週齢）に、０日目から７日目まで、飲用水中で２．５％のデキストラン硫酸ナトリウム（ｗ／ｖ）（Ｓｐｅｃｔｒｕｍ、ロット番号２ＤＣ００２０）を適宜与えた。７日目に、ＤＳＳを水で置き換え、動物を１０日目まで維持した。マウスに、ＩＬ－１０送達構築物（０．３、３．０、１０または３０ｍｇ／ｋｇ）、ビヒクル対照（２００ｍＭ重炭酸ナトリウム中１０ｍｇ／ｍＬのダイズトリプシン阻害剤；ＩＬ－１０送達構築物のための製剤化緩衝液）、またはＫｏｌｌｉｐｈｏｒ　ＥＬ（Ｓｉｇｍａ、Ｃ５１３５、ロット番号ＢＣＢＰ４７７３Ｖ）および１％カルボキシメチルセルロース（ＣＭＣ：ＢＢＰ、バッチ番号２０１７、ロット番号３）中で調製した陽性対照シクロスポリンＡ（Ｔｅｖａ、ロット番号４Ｒ５０６００１）７５ｍｇ／ｋｇを、０日目に開始して１０日目まで経口投与（ｑ．ｄ．）し、１０日目に、マウスを、投薬の４時間後に血漿および組織の収集のために　　殺した。ＤＳＳ処置についての実験設計および群番号は、表４２に要約される。

表４１－オキサゾロン群および処置情報

【表４１－１】

群	説明	N	投与の経路	用量 (mg/kg)	用量体積 (ml/kg)	投薬頻度
A	対照、 オキサゾロンなし (ナイーブ)	5	p.o.	N/A	10	q.d., - 5 - +6日目
B	オキサゾロン +経口胃管栄養ビヒクル (ビヒクル)	10	p.o.	N/A	10	q.d., - 5 - +6日目
C	5-ASA (陽性対照)	15	p.o.	100	10	q.d., - 5 - +6日目

【表４１－２】

D	IL-10送達構築物(9.0 mg/kg; 青色)	15	p.o.	N/A	10	q.d., -5 - +6日目
E	IL-10送達構築物(3.0 mg/kg; 緑色)	15	p.o.	N/A	10	q.d., -5 - +6日目
F	IL-10送達構築物(1.0 mg/kg; 赤色)	15	p.o.	N/A	10	q.d., -5 - +6日目
G	IL-10送達構築物(0.3 mg/kg; 紫色)	15	p.o.	N/A	10	q.d., -5 - +6日目

表４２－ＤＳＳ群および処置情報

【表４２】

群	説明	N	投与の経路	用量 (mg/kg)	用量体積 (ml/kg)	投薬頻度
1	ナイーブ	5	n/a	n/a	n/a	n/a
2	ビヒクル	10	PO	n/a	10	q.d., 0 - 10日目
3	CsA	10	PO	75	10	q.d., 0 - 10日目
4	IL-10送達構築物	10	PO	0.3	10	q.d., 0 - 10日目
5	IL-10送達構築物	10	PO	3	10	q.d., 0 - 10日目
6	IL-10送達構築物	10	PO	10	10	q.d., 0 - 10日目
7	IL-10送達構築物	10	PO	30	10	q.d., 0 - 10日目

【０５５７】

オキサゾロン大腸炎研究およびＤＳＳ大腸炎研究の両方について、おおよその近位、中間および遠位結腸のホルマリン固定しパラフィン包埋した断面のヘマトキシリンおよびエオシン染色は、Ｂｏｌｄｅｒ ＢｉｏＰａｔｈ（Ｂｏｕｌｄｅｒ、ＣＯ）が行った。各領域について、２つの等距離のピースを切り取り、パラフィン中に包埋した。各ピースを個々に評価し、値を、近位、中間、遠位、および総結腸について別々に平均する。組織病理学を、浮腫、炎症、腺消失、びらん、粘膜厚さおよび過形成の存在によって盲検的に評価して、合計スコアを得た。炎症細胞浸潤物の存在ならびにリンパ様凝集体の計数および直径もまた決定した。

【０５５８】

Ｌｕｍｉｎｅｘアッセイを、Ｈｕｍａｎ Ｉｍｍｕｎｅ Ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ Ｃｅｎｔｅｒ ａｔ Ｓｔａｎｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙにおいて行った。Ｍｏｕｓｅ ３８ ｐｌｅｘキットをｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ／Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘから購入し、本明細書に記載される改変を伴って、製造業者の推奨に従って使用した。ビーズを、９６ウェルプレートに添加し、Ｂｉｏｔｅｋ ＥＬｘ４０５洗浄機中で洗浄した。試料を、混合抗体連結ビーズを含むプレートに添加し、室温で１時間インキュベートし、その後、４℃で振盪しながら一晩インキュベートした。低温および室温インキュベーションステップ

を、オービタルシェイカー上で５００～６００ｒｐｍで行った。一晩のインキュベーションの後、プレートを、Ｂｉｏｔｅｋ　ＥＬｘ４０５洗浄機中で洗浄し、次いで、ビオチン化検出抗体を、振盪しながら室温で７５分間にわたって添加した。プレートを、上記のように洗浄し、ストレプトアビジン－ＰＥを添加した。室温で３０分間のインキュベーション後、洗浄を上記のように行い、読み取り緩衝液をウェルに添加した。各試料を二連で測定した。プレートを、サイトカイン１つ当たり試料１つ当たり５０個のビーズの下限で、Ｌｕｍｉｎｅｘ　２００機器を使用して読み取った。Ｒａｄｉｘ　Ｂｉｏｓｏｌｕｔｉｏｎｓによるカスタムアッセイ対照ビーズを、全てのウェルに添加した。

【０５５９】

ＲＮＡを、オキサゾロン炎症マウスおよび処置マウスの近遠位結腸セグメント（直腸から１～２ｃｍの間）から抽出した。ＲＮＡ純度を、２６０／２８０における吸光度比１．９～２．１５および２６０／２３０における吸光度比＞１．７で確認した。ＲＮＡ試料を、ＲＮｅａｓｙ　Ｍｉｎｉ　Ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ、番号７４１０６）およびｉＳｃｒｉｐｔ（商標）ｃＤＮＡ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ　Ｋｉｔ（Ｂｉｏ－Ｒａｄ、番号１７０８８９１ＢＵＮ）を使用して、ｃＤＮＡに逆転写した。マウスＩＬ－１Ｒａ、ＩＬ－１βおよびＧＡＰＤＨのＲＴ－ＰＣＲ分析を、Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　ＰｏｗｅｒＵｐ　ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、番号Ａ２５７７７）を使用して、技術的二連で行った。プライマー配列は表４３に列挙される。転写物発現を、内部対照ＧＡＰＤＨの発現に対して標準化し、倍数変化を、ΔΔ－ＣＴ法を使用して計算した。

表４３－ＲＴ－ＰＣＲプライマー配列

【表４３】

プライマー名	配列	配列番号：
ms IL-1Ra-F	GCTCATTGCTGGGTACTTACAA	配列番号：14
ms IL-1Ra-R	CCAGACTTGGCACAAGACAGG	配列番号：15
ms IL-1β-F	CACAGCAGCACATCAACAAG	配列番号：16
ms IL-1β-R	GTGCTCATGTCCTCATCCTG	配列番号：17
ms GAPDH-F	TGTGTCCGTCGTGGATCTGA	配列番号：18
ms GAPDH-R	CCTGCTTCACCACCTTCTTGA	配列番号：19

【０５６０】

血漿サイトカインを、Ｖ－ｐｌｅｘ　Ｐｒｏｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ　Ｐａｎｅｌ　１　Ｍｏｕｓｅ　Ｋｉｔを使用して定量化した。血漿ＩＬ－１Ｒａを、Ｍｏｕｓｅ　ＩＬ－１Ｒａ／ＩＬ－１Ｆ３　ＤｕｏＳｅｔ　ＥＬＩＳＡ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　番号ＤＹ４８０）、Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ　ＳＵＬＦＯ－ＴＡＧ　Ｌａｂｅｌｅｄ（ＭＳＤ　番号Ｒ３２ＡＤ－１）、Ｍｕｌｔｉ－Ａｒｒａｙ　９６　Ｐｌａｔｅ　Ｐａｃｋ、ＳＥＣＴＯＲ　Ｐｌａｔｅ　ＭＳＤ　番号Ｌ１５ＸＡ－３およびＲｅａｄ　Ｂｕｆｆｅｒ　Ｔ（４ｘ）（ＭＳＤ　番号Ｒ９２ＴＣ－２）からの抗体対を使用するサンドイッチイムノアッセイによって定量化した。試料を、ＱｕｉｃｋＰｌｅｘ　ＳＱ　１２０プレートリーダー（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ、Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ、ＭＤ）上で読み取った。

【０５６１】

Ｈｕｍａｎ　ＩＬ－１０　Ｂａｓｅキット（ＭＳＤ　番号Ｋ１５１ＡＯＡ－４）を使用して、血漿中のｒｈＩＬ－１０を測定した。このイムノアッセイにおける抗ヒトＩＬ－１０捕捉抗体および検出抗体の対は、マウスＩＬ－１０とは反応しなかったが、ヒトＩＬ－１０とは反応した。ＭＳＤ　Ｓｍａｌｌ　Ｓｐｏｔ　ＩＬ－１０プレートを、使用前に、振盪しながら室温で３０分間、Ｄｉｌｕｅｎｔ　４１（２５μＬ／ウェル）と共にインキュベートした。対照および試料を、プールされたＣＤ－１マウス血漿（ＢｉｏＩＶＴ、カスタムオーダー）で２倍希釈し、較正標準もまた、マウス血漿中で調製した。標準、希釈された試料および対照を添加し（２５μＬ／ウェル）、プレートを、振盪しながら室温で

２時間インキュベートした。プレートを、Ｔｗｅｅｎ（登録商標）－２０を含むリン酸緩衝食塩水（ＰＢＳＴ）で３回洗浄し、２５μＬ／ウェルの１×ＳＵＬＦＯ　ＴＡＧ抗ヒトＩＬ－１０抗体（Ｄｉｌｕｅｎｔ　４５中で調製した）をプレートに添加した。プレートを、振盪しながら室温で１時間インキュベートした。洗浄ステップの後、１５０μＬ／ウェルの２×ＭＳＤ読み取り緩衝液を添加し、プレートを、ＭＳＤ　Ｓｅｃｔｏｒ　Ｉｍａｇｅｒ　６００プレートリーダーにおいて読み取った。

【０５６２】

統計分析を、Ｐｒｉｓｍ　５．０（Ｉｎｖｉｔｅｋ　ｄａｔａ）またはＰｒｉｓｍ　７．０（ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｉｎｃ．）を使用して行った。オキサゾロン研究について、データを、一元配置ＡＮＯＶＡまたは二元配置ＡＮＯＶＡを使用し、その後、ボンフェローニ、ダネットまたはチューキーの事後検定を使用して分析した。ＤＳＳデータを、一元配置ＡＮＯＶＡを使用し、その後、パラメトリックデータについてはダネット事後検定、またはノンパラメトリックデータについてはクラスカル・ウォリス検定をダン事後検定と共に使用して、分析した。＜０．０５のｐ値を有意とみなした。

【０５６３】

結果：オキサゾロン誘導性大腸炎

【０５６４】

オキサゾロン誘導性結腸炎症は、顕著な体重減少（最大で１５％）および低減された生存率をもたらした（図４２および図４３）。抗炎症剤５－ＡＳＡは、侵襲の６日後から、体重におけるオキサゾロン誘導性の低下を有意に減弱させた（ｐ＜０．０５）。最も高い濃度（１、３および９ｍｇ／ｋｇ）でのＩＬ－１０送達構築物は、体重減少の和らぐ傾向を生じた。糞便の硬さおよびヘモカルト陽性度を反映するＤＡＩに対しては、処置群間で有意な効果は検出されなかった（図４４）。

【０５６５】

さらに、オキサゾロンは、結腸の重量／長さ比における増加によって反映される、結腸長さにおける低減および結腸重量における増加を誘導した（図４５）。この増加は、５－ＡＳＡによる処置によって和らげられた；しかし、ＩＬ－１０送達構築物は、試験したいずれの用量でも、結腸の重量に対しても長さに対しても、統計的に有意な効果を有さなかった。

【０５６６】

７つの炎症パラメーター（粘膜／粘膜下層の炎症、びらん、腺消失、過形成、浮腫、貫壁性炎症、漿膜の炎症）を、１～４（１＝最小限、２＝軽度、３＝中等度、４＝著明）のスケールでスコアリングして、近位、中間および遠位結腸の組織病理学を評価した。これら７つのパラメーターの合計スコア（組織学スコア）に基づいて、組織病理学は、全ての処置群について、遠位結腸において最も顕著であり、近位結腸において最低であることが見出された（図４６）。ＩＬ－１０送達構築物は、試験した全ての用量において、ビヒクル対照と比較した場合、近位、中間または遠位結腸における組織学スコアにおいて、いずれの変化も誘導しなかった。

【０５６７】

巨視的疾患パラメーターに加えて、ＩＬ－１０送達構築物の有効性を、３８種の増殖因子、ケモカインおよびサイトカインの循環濃度を評価することによっても評価した（図４７Ａ～４７ＬＬ）。オキサゾロン処置は、顆粒細胞コロニー刺激因子（コロニー刺激因子３またはＣＳＦ３としても公知のＧＣＳＦ；図４７Ａ）の血漿濃度における増加、ならびに好中球およびマクロファージの放出および分化をそれぞれ動員する、マクロファージ化学誘引物質ＭＩＰ１α（図４７Ｌ）ならびに増殖因子顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭＣＳＦ；図４７Ｂ）およびマクロファージコロニー刺激因子（ＭＣＳＦ；図４７Ｃ）における増加に向かう傾向を誘導した。陽性対照５－ＡＳＡ、またはＩＬ－１０送達構築物による予防的事前処置は、ＧＣＳＦ／ＣＳＦ３におけるオキサゾロン誘導性の増加を減弱させた。ＭＳＣＦもまた、最も高い用量のＩＬ－１０送達構築物において低減された。低減に向かう傾向は、ＭＩＰ１αについても観察された（図４７Ｌ）。Ｏｘａによ

って誘導された、ＬＰＳ誘導性ＣＸＣケモカイン（ＬＩＸ、図４７Ｉ）、白血病阻害因子（ＬＩＦ、図４７Ｅ）およびＩＰ１０（ＣＸＣＬ１０、図４７Ｈ）レベルにおける変化は、ＩＬ－１０送達構築物による処置によって軽減された。

【０５６８】

自然免疫細胞に影響を与えることに加えて、サイトカインは、エフェクターＴ細胞機能もまた制御する。抗炎症効果と一致して、ＩＬ－１０送達構築物事前処置（９．０ｍｇ／ｋｇ用量）は、それぞれＴｈ１細胞およびＴｈ１７細胞の重要なエフェクターであるＩＬ－１２およびＩＬ－１７の生成を予防した。ＩＬ－１０送達構築物による処置は、近ベースラインレベルまでの、ＩＬ－３（９．０ｍｇ／ｋｇ用量；図４７Ｓ）、ＩＬ－４（９．０ｍｇ／ｋｇ；図４７Ｔ）、ＩＬ－２８（３．０および９．０ｍｇ／ｋｇ；図４７ＥＥ）およびＩＬ－３１（０．３ｍｇ／ｋｇ；図４７ＦＦ）の濃度における低減をもたらした。ＩＬ－１３（図４７Ｙ）およびＩＬ－１５（図４７Ｚ）の血漿濃度は、ビヒクル対照と比較して、ＩＬ－１０送達構築物媒介性の低下に向かう傾向を明らかにした。炎症促進性サイトカインを超えて、オキサゾロン（ビヒクル処置単独）は、内因性ＩＬ－１０（図４７ＪＪ）および免疫抑制的サイトカインＴＧＦ－β（図４７ＬＬ）の増加した分泌に向かう傾向を示した。この明らかな、炎症に対抗する応答は、ＵＣ結腸組織におけるＴＧＦ－βの観察された増加と一致する。ＩＬ－１０送達構築物処置（３．０ｍｇ／ｋｇ）は、ビヒクルと比較してＴＧＦ－βを低減させ、内因性ＩＬ－１０の増加した分泌に向かうこの傾向を和らげた。分析したサイトカインの多くについて、血漿濃度は、オキサゾロン処置後に有意には誘導されなかった。さらに、オキサゾロン誘導性の増加が観察された場合、５－ＡＳＡは、試験したパラメーターの多くにおいて、サイトカインの発現をベースライン（ナイーブ）レベルまで効果的に戻すことはなかった。

【０５６９】

オキサゾロン誘導性大腸炎およびＩＬ－１０送達構築物による予防的処置に曝露されたマウスにおける全身サイトカイン濃度を、ＭＳＤ　１０－ｐｌｅｘ炎症促進性パネルを使用してさらに評価した。血漿ＩＦＮ－γおよびＩＬ－５は、ナイーブ対照と比較して、オキサゾロン誘導性大腸炎を有するビヒクル処置マウスにおいて低減されたが、測定した他のサイトカインに関して、これらの群間で有意な差異は存在しなかった（図４８Ａ～４８Ｊ）。ＩＬ－１βおよびＩＬ－６の発現における増加の傾向が、オキサゾロン侵襲に応答して観察された。しかし、この応答は、陽性対照５－ＡＳＡの送達によってもＩＬ－１０送達構築物の送達によっても減弱されなかった。実質的なオキサゾロン誘導性炎症応答の非存在に起因して、ＩＬ－１０送達構築物処置の効果は、容易には解読できなかった；しかし、ビヒクル処置とＩＬ－１０送達構築物との間での有意な差異は、分析したサイトカインのいずれについても検出されなかった。

【０５７０】

全身循環および結腸組織におけるＩＬ－１０送達構築物の有効性を、ＩＬ－１０によって強化されるＩＬ－１βアンタゴニストであるＩＬ－１Ｒａの発現を分析することによって評価した。ＩＬ－１Ｒａの循環レベルは、データ変動性および低い統計的検出力におそらくは起因して、オキサゾロン侵襲後にも、５－ＡＳＡまたはＩＬ－１０送達構築物による処置後にも、有意には変更されなかった（図４９Ａ）。しかし、ＩＬ－１０送達構築物処置は、増加したＩＬ－１Ｒａに向かう用量依存性の傾向を誘導した。近遠位結腸組織では、９ｍｇ／ｋｇの最も高い用量でのＩＬ－１０送達構築物処置は、ＩＬ－１Ｒａの増大されたｍＲＮＡ発現に向かう傾向を明らかにした（図４９Ｂ）。この結果は、ＩＬ－１Ｒａ／ＩＬ－１β比における増加によっても反映された（図４９Ｄ）。

【０５７１】

結果：デキストラン硫酸ナトリウム（ＤＳＳ）誘導性大腸炎

【０５７２】

この実施例は、この中鎖長の脂肪酸結合剤が飲用水中で提示される場合の炎症、浮腫および粘膜壊死によって特徴付けられる、デキストラン硫酸ナトリウム（ＤＳＳ）によって誘導される軽度から中等度の多発性大腸炎を抑制するＩＬ－１０送達構築物の能力を試験

する。マウスに、ＤＳＳ誘導性大腸炎の誘導から１０日間にわたって、ビヒクル（陰性対照として）または配列番号５のＩＬ－１０送達構築物（０．３～３０ｍｇ／ｋｇ）を１日１回経口投薬した（図５０Ａ）。７５ｍｇ／ｋｇのシクロスポリンＡ（ＣｓＡ）を連日投薬したマウスを、治療的比較基準としてではなく、モデルのための陽性対照として使用した。配列番号５の送達構築物は、研究の生存中部分の間、ＤＳＳ誘導性の重量減少を有意に低減させた（図５０Ｂ）。ＤＳＳ侵襲は、ビヒクル群において約１０％の重量減少（または重量が増加したナイーブ群とは約１７％差次的）をもたらした（図５０Ｃ）。ＣｓＡによる処置は、試験した最も高い用量（３０ｍｇ／ｋｇ）のＩＬ－１０送達構築物で観察されたように、体重におけるＤＳＳ誘導性の減少を部分的に減弱させた（ｐ＜０．０５）。処置群のいずれでも死亡率は存在しなかった。重量減少、便の硬さおよび便のヘモカルトについての個々のスコア（０～３とスコアされる）もまた合計して、ＤＡＩ（０～９の範囲）を提供した。７日目（ナイーブ群については０日目）のビヒクル群についての３．８の合計スコアと比較して、ＩＬ－１０送達構築物処置群についてのスコアは、用量相関なしに４．０から４．３までの範囲であり、したがって、ＩＬ－１０送達構築物による疾患活動性インデックス（ＤＡＩ）改善を支持しない（スコアは、１０日目については入手不能であった）（図５１）。ＩＬ－１０送達構築物の上位２つの用量における結腸長さにおける有意な改善（１０および３０ｍｇ／ｋｇ；ビヒクルと比較してｐ＜０．０５）は、ＩＬ－１０送達構築物依存的な治療効果の存在を示す（図５２）。

【０５７３】

結腸組織学を、炎症、腺消失、びらんおよび過形成に基づいてスコアリングし（各々最大で５）、これらを合計して概要スコアとした。４つ全てのパラメーターが、中間および遠位結腸において、ＤＳＳ侵襲後に有意に増加した（ナイーブと比較してｐ＜０．０５）。ＣｓＡ処置は、測定された４つのパラメーターの合計スコアを緩和したが、ＩＬ－１０送達構築物による処置は、いずれの有意な改善も明らかにしなかった（図５３）。５つのさらなるパラメーター（浮腫、好中球浸潤、粘膜厚さ、リンパ様凝集体およびリンパ様凝集体サイズ）もまた定量化した。遠位結腸から近位結腸までの疾患の広がりと一致して、組織病理学は、いくつかのパラメーターについて、ビヒクル処置では、遠位結腸において最も重度であり、近位結腸においては無視できた。ビヒクルと比較して、ＩＬ－１０送達構築物（３０ｍｇ／ｋｇ）処置は、中間領域において、浮腫幅（図５４）、粘膜厚さ（図５５）および過形成（図５６）を有意に改善した。ＣｓＡは、好中球スコアにおける改善（ビヒクルと比較してｐ＜０．０５）を除き、ＤＳＳ侵襲後にいずれの明らかな治療効果も示さなかった。したがって、これらの組織学的結果は、軽度の局所薬物有効性を示す。

【０５７４】

ＩＬ－１０送達構築物は、ＤＳＳ研究において、最終用量の４時間後に、循環中で可変の濃度で検出された。ｒｈＩＬ－１０のレベル（抗ｒｈＩＬ－１０捕捉抗体によって検出した）は、０．３および３ｍｇ／ｋｇの用量のＩＬ－１０送達構築物で処置された動物において、ビヒクル処置の背景濃度よりも１０～３００倍高い範囲であった（図５７Ａ）；しかし、この効果は、より高いＩＬ－１０送達構築物の投薬では失われた。さらに、これらの低いＩＬ－１０送達構築物用量では、ＩＬ－１０送達構築物よりも高い濃度のｒｈＩＬ－１０（抗コリックス捕捉抗体を用いて決定した）が、ＧＩ環境に行き渡ったプロテアーゼ活性と一致する、ＩＬ－１０送達構築物の切断生成物の存在を示す。ＩＬ－１０送達構築物による予防的処置は、試験したいずれの用量でも、ＩＬ－１Ｒａの血漿濃度に影響しないようであった（図５７Ｂ）。

【０５７５】

考察

【０５７６】

これらの研究では、オキサゾロンモデルおよびＤＳＳモデルにおいて炎症性大腸炎の発症を予防することについてのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の有効性を評価した。両方の研究において、いくつかの生存中および剖検パラメーターにおける改善の傾向が観察された。ＤＳＳ侵襲後のＩＬ－１０送達構築物の２つの最も高い用量（１０および３０

ｍｇ／ｋｇ）での、結腸長さにおける改善が、ＩＬ－１０送達構築物依存的な治療効果の証拠を提供した。ＤＳＳ研究では死亡率は存在しなかったが、生存は、オキサゾロン処置後に最大で３０％低減され、これは、オキサゾロンプロトコールが、大腸炎のさらにいっそう重度のモデルを誘導したことを示唆している。

【０５７７】

ＤＳＳモデルの目立った特色は、組織病理学が生物学的複製間でより一貫していたということであった；群内変動性は、オキサゾロンモデルと比較して、ＤＳＳモデルにおいて低減されるようであった。ＤＳＳモデルでは、最も高い用量（３０ｍｇ／ｋｇ）のＩＬ－１０送達構築物は、遠位結腸ではなく中間結腸において、３つの組織学パラメーター、即ち、浮腫幅、粘膜厚さおよび過形成を効果的に低減させた。

【０５７８】

示された用量応答オキサゾロン研究では、有効性を、ＩＬ－１０送達構築物によって媒介される、循環サイトカイン濃度における変化によって実証した。ＧＣＳＦ（またはＣＳＦ３）の血漿濃度は、オキサゾロン侵襲に応答して増加し、この応答は、５－ＡＳＡまたはＩＬ－１０送達構築物による予防的事前処置によって軽減された。ＩＬ－１０送達構築物（９．０ｍｇ／ｋｇ用量）による事前処置もまた、Ｔｈ１およびＴｈ１７細胞の重要なエフェクターであるＩＬ－１２およびＩＬ－１７の生成を予防した。さらに、ＩＬ－１０送達構築物は、近基底（ナイーブ）レベルまでの、ＭＣＳＦ（９．０ｍｇ／ｋｇ用量）、ＩＬ－３（９．０ｍｇ／ｋｇ）、ＩＬ－４（９．０ｍｇ／ｋｇ）、ＩＬ－２８（３．０ｍｇ／ｋｇおよび９．０ｍｇ／ｋｇ）およびＩＬ－３１（０．３ｍｇ／ｋｇ）の濃度における低減をもたらした。分析したサイトカインの多くについての血漿濃度は、オキサゾロン処置後に有意には変更されなかった。オキサゾロン誘導性の増加が存在した場合、陽性対照５－ＡＳＡは、試験したパラメーターの多くにおいて、サイトカインの発現をベースラインレベルまで効果的に戻さなかった。したがって、５－ＡＳＡによる炎症性サイトカインのロバストな減弱の非存在下では、対照処置としてのこの薬剤の適切性が疑問視され得る。さらに、オキサゾロン誘導性炎症のこのモデルは、これらのマウスにおいて実質的な全身サイトカイン応答を誘発するには十分でない場合がある。

【０５７９】

９ｍｇ／ｋｇの最も高い用量でのＩＬ－１０送達構築物処置は、結腸組織において、ＩＬ－１Ｒａの増大されたｍＲＮＡ発現に向かう傾向、およびＩＬ－１Ｒａ／ＩＬ－１β比における増加に向かう傾向を明らかにした。以前の臨床データは、ＩＬ－１Ｒａ／ＩＬ－１βの比が、ＩＢＤ重症度と逆に相関すること、およびＩＬ－１０がＩＬ－１Ｒａ／ＩＬ－１β比を回復させ得ることを実証している。これらの結果は、このモデルにおけるＩＬ－１０送達構築物処置の有効性の証拠を提供する。

【０５８０】

結論

【０５８１】

結論として、オキサゾロン誘導性炎症性大腸炎およびＤＳＳ誘導性炎症性大腸炎の両方に関して、この報告中に提示されたデータは、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による処置が、炎症パラメーターにおけるｉｎ　ｖｉｖｏの改善として測定した場合、治療的有効性を実証したことを示した。オキサゾロン研究では、ＩＬ－１２、ＩＬ－１７およびＩＬ－２８の循環濃度は、ＩＬ－１０送達構築物による処置によって減弱され、これには、結腸組織におけるＩＬ－１Ｒａ／ＩＬ－１β比における増加に向かう傾向が伴った。

【０５８２】

（実施例１６）

Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓにおけるＩＬ－１０送達構築物の単一用量の経口投与

【０５８３】

非ヒト霊長類（ＮＨＰ）であるＭａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓを、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の前臨床的有効性、薬理学的活性および薬物動態を試験評価

するためのモデル系として選択した。ヒトとＭａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓなどのＮＨＰとの間の顕著な遺伝的類似性に起因して、ＮＨＰは、ヒトの生物学および免疫学をより緊密に模倣するので、ＮＨＰは、一般に、マウスよりも、ヒトの代わりのより適切なモデルを提示する。ＩＬ－１０送達構築物カプセルへの１０ｍｇのカフェインの添加をこの研究で利用して、カプセル開放を調査した。

【０５８４】

この研究の目標は以下であった：（１）Ｍａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓにおいて、ＩＬ－１０送達構築物の薬物動態学的プロファイル（総ＩＬ－１０および確立されたバイオマーカーＩＬ－１Ｒａによって測定した）に対する、経口カプセルによる複数のレベル（１、４、２０．５および８２ｍｇ）の単回投薬の影響を評価すること；（２）Ｍａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓにおいて、カプセルによるＩＬ－１０送達構築物の複数のレベル（１、４、２０．５および８２ｍｇ）での単一経口用量に対する炎症促進性サイトカインＩＦＮγ、ＩＬ－１β、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＩＬ－８およびＴＮＦαの応答を評価すること；ならびに（３）上述の経口投薬したカプセル中に含めたときの、投薬されたＭａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓにおいてカフェインの血漿レベルをモニタリングすることによって、カプセル性能を調査すること。

【０５８５】

方法

【０５８６】

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）およびカフェインを、経口投与のために、サイズ１のＣａｐｓｕｇｅｌ Ｖ－Ｃａｐ Ｈｙｄｒｏｘｙｐｒｏｐｙｌ Ｍｅｔｈｙｌｃｅｌｌｕｌｏｓｅ（ＨＰＭＣ）カプセル中に、重量で充填した。次いで、これらのカプセルを、三層のポリマーで、パンスプレーコーター中で連続的に被覆した。第１および第３の層は、ＨＰＭＣの薄い被覆であり、第１の層は、カプセルシェルが一緒になる地点の皺を密封するためであり、第３の層は、カプセルの互いとの粘着を最小化するためである。第２の被覆層は、ｐＨ６．５でカプセルを溶出させ、カプセルを開放させるように設計された、Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）（Ｅｖｏｎｉｋ Ｉｎｄｕｓｔｒｉｅｓ ＡＧ）腸溶性アクリルポリマーＦＳ ３０ ＤおよびＬ ３０ Ｄ－５５の５０：５０混合物から構成した。記載された試験物品の概要、およびそれらの対応するロット番号は、表４４に示される。

表４４－試験物品の概要

【表４４】

名称	説明
1 mg IL-10送達構築物カプセル カプセル	1mgのIL−10送達構築物（配列番号5）+10mgのカフェインを含む、 サイズ1の腸溶性被覆されたカプセル
20.5 mg IL-10送達構築物 カプセル	20.5mgのIL−10送達構築物（配列番号5）+10mgのカフェインを含む、 サイズ1の腸溶性被覆されたカプセル

【０５８７】

ＭＳＤ Ｓｍａｌｌ Ｓｐｏｔ ＩＬ－１０プレートを、使用前にＰＢＳＴで３回洗浄した。標準を、Ｄｉｌｕｅｎｔ ２（ＭＳＤ カタログ番号Ｒ５１ＢＢ）中で調製し、試料を、Ｄｉｌｕｅｎｔ ２中に２倍希釈した。標準および希釈された試料を、アッセイプレートに添加し、プレートを、振盪しながら室温で２時間インキュベートした。プレートを、ＰＢＳＴおよび１×ＳＵＬＦＯ ＴＡＧ抗ｈｕＩＬ－１０で３回洗浄した。抗体を、振盪しながら室温で１時間のインキュベーション前に、プレートに添加した。洗浄ステップの後、２×ＭＳＤ読み取り緩衝液をプレートのウェルに添加し、プレートを、ＭＳＤ Ｓｅｃｔｏｒ Ｉｍａｇｅｒ ６００プレートリーダー中で読み取る。各分析物の検出下限を、背景の２．５標準偏差上と定義する。

【０５８８】

ＩＬ－１Ｒａアッセイの目的は、ＮＨＰ血漿中の内因性ＩＬ－１Ｒａを測定することで

あった。このサンドイッチイムノアッセイにおける抗体対は、ヒトおよびＮＨＰの両方のＩＬ－１Ｒａと反応した。試料を、ヒトＩＬ－１Ｒａ検量用試料（５．５～４０２１ｐｇ／ｍＬの範囲、プラス０ｐｇ／ｍＬ）から作成した８点検量線を使用して定量化した。ビオチン化抗ＮＨＰ　ＩＬ－１Ｒａ捕捉抗体を、ＭＳＤ　Ｓｍａｌｌ　Ｓｐｏｔ　Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎプレートに添加し、振盪しながらＲＴで１時間インキュベートした。低い（１６ｍｇ／ｍＬ）、中間の（１６０ｍｇ／ｍＬ）および高い濃度（３２４５ｐｇ／ｍＬ）を示す対照を、プールされた血漿中で調製し、標準（Ｃａｌｉｂｒａｔｏｒ　９　Ｂｌｅｎｄ）を、Ｄｉｌｕｅｎｔ　４３（ＭＳＤ　カタログ番号Ｒ５０ＡＧ）中で調製し、試料を、Ｄｉｌｕｅｎｔ　４３中に１０倍希釈した。標準、対照および希釈された試料を、アッセイプレートに添加し、プレートを、振盪しながら室温で２時間インキュベートした。プレートを、ＰＢＳＴで３回洗浄し、１×ＳＵＬＦＯ　ＴＡＧ抗ＩＬ－１Ｒａ抗体をプレートに添加した。プレートを、振盪しながら室温で１時間インキュベートした。洗浄ステップの後、２×ＭＳＤ読み取り緩衝液をプレートのウェルに添加し、プレートを、ＭＳＤ　Ｓｅｃｔｏｒ　Ｉｍａｇｅｒ　６００プレートリーダーを使用して読み取った。各分析物の検出下限を、背景の２．５標準偏差上と定義する。

【０５８９】

血漿カフェインレベルを定量化するために、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ検出システムを使用した。２５μＬのマトリックスアリコートを、２５μＬの２．００μｇ／ｍＬカフェイン－トリメチル－$^{13}C_3$内部標準作業溶液で強化した。分析物を、支持液体抽出（ＳＬＥ）を介して単離した。溶離液の一部分を移し、およそ４５℃で窒素ストリーム下で蒸発させ、残りの残渣を、５００μＬの水／アセトニトリル（９５：５、ｖ／ｖ）で復元した。最終抽出物を、陽イオンエレクトロスプレーおよび逆相クロマトグラフィーを使用するＭＳ／ＭＳ検出を用いたＨＰＬＣを介して分析した。カフェイン濃度を、同様に実行された較正対照を使用して決定した。

【０５９０】

サイトカイン（ＩＦＮγ、ＩＬ－１β、ＩＬ－２、ＩＬ－６およびＩＬ－８）のパネルを、ＭＳＤから入手可能な多重キットを使用して評価した。このパネルにおけるアッセイは、サンドイッチイムノアッセイであった。ＭＳＤプレートを、独立した事前に規定されたスポット上で、捕捉抗体で事前被覆し、試料を、ＭＳＤからのサイトカインの混合物（Ｐｒｏｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ　Ｐａｎｅｌ　１　（ｈｕｍａｎ）　Ｃａｌｉｂｒａｔｏｒ　Ｂｌｅｎｄ）を使用して作成した８点検量線に対して定量化した。標準は、０ｐｇ／ｍＬおよびこれらの濃度範囲を含んだ：ＩＦＮγ（０．３７～１５００ｐｇ／ｍＬ）、ＩＬ－１β（０．１４～５８９ｐｇ／ｍＬ）、ＩＬ－２（０．３６～１４９０ｐｇ／ｍＬ）、ＩＬ－６（０．１８～７２１ｐｇ／ｍＬ）およびＩＬ－８（０．１４～５５３ｐｇ／ｍＬ）。

【０５９１】

ＭＳＤプレート（捕捉抗体で事前被覆された）を、使用前にＰＢＳＴで３回洗浄した。標準を、Ｄｉｌｕｅｎｔ　２（ＭＳＤ　カタログ番号Ｒ５１ＢＢ）中で調製し、試験試料を、Ｄｉｌｕｅｎｔ　２中に２倍希釈した。標準および希釈された試料を、アッセイプレートに添加し、プレートを、振盪しながら室温で２時間インキュベートした。プレートを、ＰＢＳＴで３回洗浄し、１×ＳＵＬＦＯ　ＴＡＧ検出抗体の混合物をプレートに添加した。プレートを、振盪しながら室温で２時間インキュベートした。洗浄ステップの後、２×ＭＳＤ読み取り緩衝液をプレートのウェルに添加し、プレートを、ＭＳＤ　Ｓｅｃｔｏｒ　Ｉｍａｇｅｒ　６００プレートリーダーを使用して読み取った。各分析物の検出下限を、背景の２．５標準偏差上と定義した。

【０５９２】

ＴＮＦαイムノアッセイの目的は、血漿中のＮＨＰ　ＴＮＦα濃度を定量化することであった。このイムノアッセイにおける抗体対は、ヒトおよびＮＨＰの両方のＴＮＦαと反応した。試料を、濃度が５．６～４０５２ｐｇ／ｍＬの範囲であり、０ｐｇ／ｍＬを含む、ヒトＴＮＦα検量用試料から作成した８点検量線を使用して定量化した。

【０５９３】

ビオチン化抗ＮＨＰ　ＴＮＦα捕捉抗体を、ＭＳＤ　Ｓｍａｌｌ　Ｓｐｏｔ　Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎプレートに添加し、振盪しながらＲＴで１時間インキュベートした。対照を、プールされた血漿中で調製し、標準を、Ｄｉｌｕｅｎｔ　４３（ＭＳＤ　カタログ番号Ｒ５０ＡＧ）中で調製し、試験試料をＤｉｌｕｅｎｔ　４３中に２倍希釈した。標準、対照および希釈された試料を、アッセイプレートに添加し、プレートを、振盪しながら室温で２時間インキュベートした。プレートを、ＰＢＳＴで３回洗浄し、１×ＳＵＬＦＯＴＡＧ抗ｈｕＴＮＦα抗体をプレートに添加した。プレートを、振盪しながら室温で１時間インキュベートした。洗浄ステップの後、２×ＭＳＤ読み取り緩衝液をプレートのウェルに添加し、プレートを、ＭＳＤ　Ｓｅｃｔｏｒ　Ｉｍａｇｅｒ　６００プレートリーダーを使用して読み取った。各分析物の検出下限を、背景の２．５標準偏差上と定義した。

【０５９４】

血漿試料を、総ＩＬ－１０、ＩＬ－１Ｒａ、カフェイン含量、および炎症促進性サイトカインのパネルについて分析した。アッセイＬＬＯＱは以下であった：総ＩＬ－１０＝０．３ｐｇ／ｍＬ；ＩＬ－１Ｒａ＝７８ｐｇ／ｍＬ；およびカフェイン＝２５ｎｇ／ｍＬ。ＩＬ－１０の血漿濃度は、天然に存在するＩＬ－１０および担体に付属したＩＬ－１０（例えば、本明細書に記載されるＩＬ－１０送達構築物中のＩＬ－１０）の両方の、血漿中の濃度を指し得る。

【０５９５】

非ナイーブ成体雄性Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓにおける複数の固定用量でのＩＬ－１０送達構築物投薬は、Ｖａｌｌｅｙ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（Ｗｅｓｔ　Ｓａｃｒａｍｅｎｔｏ、ＣＡ）が行った。成体ＮＨＰを、固定用量のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）および１０ｍｇのカフェイン（１、４、２０．５および８２ｍｇ）を含むカプセルで経口処置した。投薬群は、表４５に記載される。

表４５－用量群の概要

【表４５－１】

群	N	経路	試験物品	配列番号5の用量	動物1匹当たりの用量	カフェイン用量

【表４５－２】

A	1群当たり6	経口胃管栄養	IL-10送達構築物 + 10mgカフェイン	20.5 mg	20.5mgのカプセル1つ	10 mg
B	1群当たり6	経口胃管栄養	IL-10送達構築物 + 10mgカフェイン	82 mg	20.5mgのカプセル4つ	40 mg
C	1群当たり6	経口胃管栄養	IL-10送達構築物 + 10mgカフェイン	1 mg	1mgのカプセル1つ	10 mg
D	1群当たり6	経口胃管栄養	IL-10送達構築物 + 10mgカフェイン	4 mg	1mgのカプセル4つ	40 mg

【０５９６】

動物を、３時間の血液試料収集の後まで絶食にし、その時点で食物を与えた。投薬のために、動物を手動で拘束し、咬合阻止器を顎の間に配置した。投薬カプセルを含むピルガンを、口腔の奥深くに挿入し、カプセルを放出した。最大で４つのカプセルを連続して投与し、少量の水を与えて嚥下を誘導した。用量の投与が確認されたら、咬合阻止器を除去し、頭部を解放した。

【０５９７】
血液試料を、投薬前に、ならびに投薬の０．５、１、２、３、４、５、６、７、８および２４時間後に、各動物からK_2ＥＤＴＡ管中に収集した。動物を、２時間の試料収集後に、ホームケージに戻した。身体的拘束の後、血液試料を、橈側皮静脈、大腿静脈または伏在静脈を使用する直接的静脈穿刺を介して収集し、これを血漿へと処理し、発送まで－６０℃で凍結貯蔵した。
【０５９８】
結果
【０５９９】
全ての投薬群についての血漿中の総ＩＬ－１０についての濃度－時間プロファイルは、図５８に示される。８２ｍｇ（４×２０．５ｍｇカプセル）でのカプセルによるＩＬ－１０送達構築物の経口投与の後、総ＩＬ－１０の血漿濃度は、投薬の２時間後のＴｍａｘにおいて、１．３４ｐｇ／ｍＬのＣｍａｘに達した。２０．５ｍｇ（１×２０．５ｍｇカプセル）のＩＬ－１０送達構築物による投薬もまた、８２ｍｇ用量よりも有意に低いＣｍａｘ（０．４５ｐｇ／ｍＬ）で、投薬の２時間後にＴｍａｘを生じた。１ｍｇ（１×１ｍｇカプセル）および４ｍｇ（４×１ｍｇカプセル）用量についてのＴｍａｘは、より高い用量よりも遅く（それぞれ、４時間および３時間）、特に、１ｍｇ用量についてのＣｍａｘは、４ｍｇ用量のＣｍａｘよりも高かった（それぞれ、０．３９対０．２７ｐｇ／ｍＬ）。投薬の６時間後に、総ＩＬ－１０の血漿濃度は、ベースラインレベルに戻った。
【０６００】
全ての投薬群についての血漿中のＩＬ－１Ｒａの濃度－時間プロファイルは、図５９に示される。８２ｍｇのＩＬ－１０送達構築物による経口投薬の後、ＮＨＰ　ＩＬ－１Ｒａ血漿濃度は、投薬の３時間後に、２６，３６７ｐｇ／ｍＬのＣｍａｘに達した。Ｃｍａｘについて、より低い用量レベル（１、４および２０．５ｍｇ）にわたり、用量応答関係は観察されなかった。全ての用量群について、ＩＬ－１Ｒａの血漿濃度は、投薬後２４時間の時点までに、ベースラインレベルに戻った。
【０６０１】
表４５で特定されたＩＬ－１０送達構築物／カフェインカプセルによる単一用量後の、ＮＨＰにおける血漿カフェインの濃度は、図６０に示される。１ｍｇ（１×１ｍｇカプセル）および２０．５ｍｇ（１×２０．５ｍｇカプセル）投薬群中の動物は各々、１×１０ｍｇ用量のカフェインを受けたが、４ｍｇ（４×１ｍｇカプセル）および８２ｍｇ（４×２０．５ｍｇカプセル）用量が投与された動物は各々、４×１０ｍｇ用量のカフェインを受けたことに留意すべきである。これは、１および２０．５ｍｇ投薬群（それぞれ、１３５２ｎｇ／ｍＬおよび８００ｎｇ／ｍＬ）についてよりも、４および８２ｍｇ投薬群（それぞれ、６１１７ｎｇ／ｍＬおよび３７９３ｎｇ／ｍＬ）について見られた、カフェインの有意に高いC_{max}を説明する。カフェインの吸収は、投薬後２～３時間観察可能であり（カプセルの開放を実証している）、全ての用量についてのＴｍａｘは、投薬の４時間後であった。
【０６０２】
ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）カプセルの投与は、血漿ＩＦＮγ（図６１Ａ）、ＩＬ－１β（図６１Ｂ）、ＩＬ－２（図６１Ｃ）、ＩＬ－８（図６１Ｄ）またはＩＬ－６レベル（図６１Ｅ）において、いずれの一貫した傾向も伴わなかったが、高い変動性、および個々の時点についての平均値に対する異常値の著明な影響が、血漿ＩＦＮγ、ＩＬ－２、ＩＬ－６およびＩＬ－８について観察された。ＴＮＦαの類似の定量化は、全ての試料についてのシグナルが検出限界を下回ったので、誘導を示さなかった（データ示さず）。
【０６０３】
さらに、ＩＬ－１０、ＩＬ－１ＲａおよびＩＦＮ－γの血漿レベルを、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の投与後に評価した。カプセルを、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の静脈内投与と比較した（図１０４Ａ～１０４Ｃ）。腸溶性被覆されたカプセルを

介した非ヒト霊長類におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の経口送達は、ＩＦＮ－γの有意な誘導なしにＩＬ－１Ｒａを増加させた。

【０６０４】

考察および結論

【０６０５】

ＩＬ－１０送達構築物の全身濃度（総ＩＬ－１０によって測定した）は、全ての用量レベル（１、４、２０．５および８２ｍｇ）においてベースラインレベルを有意に上回って増加し、用量投与の６時間以内にベースラインレベルに戻った。総ＩＬ－１０曝露について明確な用量関係は存在しないようであったが、ＩＬ－１０送達構築物の最も高い用量（８２ｍｇ）が最も高いC_{max}を生じた。ＩＬ－１Ｒａは、明確な用量関係なしに、全ての投薬群においてＩＬ－１０送達構築物投与によって誘導されたが、総ＩＬ－１０に関しては、ＩＬ－１０送達構築物の最も高い用量（８２ｍｇ）が最も高いC_{max}を生じた。

【０６０６】

血漿カフェイン濃度を、カプセルの開放および性能についてのマーカーとして使用した。カフェインの吸収は、投薬後２～３時間観察可能であり（カプセルの開放を実証している）、全ての用量についてのＴｍａｘは、投薬の４時間後であった。

【０６０７】

ＩＬ－１０送達構築物カプセルの投与は、血漿ＩＦＮγ、ＩＬ－１β、ＩＬ－２、ＩＬ－６またはＩＬ－８レベルにおいて、いずれの一貫した傾向も伴わなかった。

【０６０８】

（実施例１７）

粘膜固有層における細胞標的化

【０６０９】

平均重量約２５０ｇの雄性成体（７～８週齢）Ｗｉｓｔａｒラットを使用して、粘膜固有層におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の細胞標的化を試験するｉｎ　ｖｉｖｏ研究を行った。ラットを、吸入イソフルランを使用して麻酔し、吸入CO_2によって安楽死させた。

【０６１０】

実験を、小腸の空腸中間領域にアクセスするためにおよそ４ｃｍの腹部切開を行うことによって開始した。切開を行った後、ＩＬ－１０送達構築物の調製された溶液（典型的には、約１ｍｇ／ｍＬ）５０μｌを、１ｍＬシリンジを使用して２７ゲージ針を介して、食糧のないエリアの腸管腔中に注射した。注射の部位に隣接する腸間膜を、マーカーで標識し、腸を腹腔に戻し、切開をクランプで閉じた。

【０６１１】

特定の時間において、注射された腸を回収し、外科的に単離し、４℃の等張ＰＢＳで洗い流した。洗浄した切除された試料を、４℃で一晩固定し（ＰＢＳ中４％のパラホルムアルデヒド）、その後、段階的な一連のエタノール／水溶液を介して脱水し、クロロホルム中で一晩インキュベートした。

【０６１２】

脱水された組織を蝋中に浸漬し、切片化し、ポリリシンスライド上に据え付け、クエン酸ナトリウムを使用して抗原賦活化のために処理した。その後、切片を、ＰＢＳ中０．２％のＴｒｉｔｏｎ（登録商標）－Ｘ１００で透過処理し、その後、ＰＢＳ中で３回洗浄し、２％ＢＳＡ＋２％の、二次抗体が生じた動物の血清を用いてブロッキングした。一次抗体を、ＰＢＳ中１％のＢＳＡ、０．１％のＴｒｉｔｏｎ（登録商標）－Ｘ１００中に希釈し、加湿空気中で４℃で一晩インキュベートした。蛍光二次抗体を、ＰＢＳ中１％のＢＳＡ、０．１％のＴｒｉｔｏｎ（登録商標）－Ｘ１００中に希釈し、ＲＴで２時間インキュベートし、その後、共焦点顕微鏡のために処理した。時折、注射部位におけるおよそ１ｃｍの腸切片を、生化学的研究のために収集した。

【０６１３】

特定の細胞型についてのタンパク質を、共焦点顕微鏡を使用する免疫蛍光によって試験

した。ＩＬ－１０送達構築物の構成成分（本明細書で「コリックス」とも呼ばれる担体、およびＩＬ－１０）を、ＩＬ－１０に対するポリクローナル抗体（ｐＡｂ）もしくはモノクローナル抗体（ｍＡｂ）または担体ドメインに対するｐＡｂもしくはｍＡｂのいずれかで別々に追跡して、利用可能なｐＡｂもしくはｍＡｂとの共局在化を可能にした（表４６）。

表４６－ｐＡｂおよびｍＡｂの概要

【表４６－１】

標的	pAb/mAb	種反応性	宿主	IHC (P) のための希釈	標識した細胞	Cat. #
担体	pAb		ウサギ	1/500		
IL-10	pAb	ヒト	ヤギ	1/25		Ab10775

【表４６－２】

CD11c					樹状細胞	
CD19	mAb	マウス	マウス		B 細胞	Ab25177
CD34	mAb	マウス, ヒト	マウス	1/500	内皮	Ab187282
CD3	mAb	ラット	マウス		T 細胞	Ab185763

【０６１４】

ＩＬ－１０送達構築物は、腸細胞においてＬＡＭＰ１陽性リソソームとの共局在化をほとんどまたは全く示さなかったが、それらの最終的な消費と一致する粘膜固有層の細胞内に集まり、この場所で、このタンパク質はリソソームに指向される（図６２）。１分間のパルスとその後の時間経過研究を行って、１５分までに、広範な量のＩＬ－１０送達構築物が粘膜固有層に達し、この構築物の担体構成成分によって標的化される細胞中に進入したことが検証された。

【０６１５】

ＣＤ１１ｃ抗原は、ラット空腸の粘膜固有層内の僅かなセットの細胞（例えば、樹状細胞）を標識した。ＩＬ－１０送達構築物は、ＣＤ１１ｃ抗原と著しい程度までは共局在化しなかった（図６３）。興味深いことに、腸細胞の頂端表面近傍の小胞は、ＣＤ１１ｃおよびＩＬ－１０について共標識され、これは、担体タンパク質とこの抗原を有する小胞区画との間の相互作用を示唆している。

【０６１６】

ＩＬ－１０送達構築物は、粘膜固有層内の少数のＣＤ１９陽性細胞（例えば、Ｂリンパ球）と共局在化することができなかった（図６４）。

【０６１７】

ＩＬ－１０送達構築物は、粘膜固有層内の少数のＣＤ３４陽性細胞（例えば、内皮）と共局在化することができなかった（図６５）。

【０６１８】

ＩＬ－１０送達構築物は、ＣＤ３抗原との著しい共局在化を実証し、これは、粘膜固有層内のＴリンパ球への担体タンパク質の顕著な標的化を示唆している（図６６）。さらに、上皮内リンパ球と一致した細胞もまた、共局在化の部位であった。

【０６１９】

マウス空腸の粘膜固有層内の細胞は、ラットについて観察されたものと同じ標的化結果の一部を示した。しかし、これらの研究の複雑さは、ヒトＩＬ－１０がマウスＩＬ－１０受容体によって認識される能力であり、これが、一部の場合には、２つの潜在的な細胞運

命をもたらす。

【０６２０】

結論として、腸細胞を横断するヒトＩＬ－１０のトランスサイトーシスを容易にするために使用したＩＬ－１０送達構築物中の担体は、粘膜固有層内の細胞の選択された集団にアクセスするようである。これらの標的化された細胞内での担体の運命は、リソソームである可能性が最も高いＬＡＭＰ１陽性区画と交わるようであり、これは、粘膜固有層内で局所的破壊を受けるようであることを示唆している。Ｔリンパ球は、ＩＬ－１０送達構築物において使用した担体によって標的化される、粘膜固有層内に存在する最も大きな細胞型であるようである。

【０６２１】

（実施例１８）

錠剤対カプセルの比較

【０６２２】

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）カプセルからの薬物放出を評価するため、およびその性能を錠剤の性能と比較するために、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）カプセルを、異なる重量増加で、ＨＰＭＣ被覆のみからＥｕｄｒａｇｉｔ被覆までの種々の被覆条件を用いて得た。

【０６２３】

ＨＰＭＣ被覆のみを有するカプセルは、腸溶性被覆を有するカプセルと比較して、有意により高いＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体純度および濃度を示した。その上、予想されるように、Ｅｕｄｒａｇｉｔ被覆の存在は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の遅延された放出を引き起こし、二量体純度および放出された活性薬物の量に対する影響は、同じ溶出条件下でＨＰＭＣ被覆された錠剤について得られた結果と対照をなす（図６８）。

２０ｍｇのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を含み、変動する量（約１０ｍｇ～約３５ｍｇ）の５０：５０被覆重量比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄで被覆された、サイズ１のＨＰＭＣカプセルの溶出を試験した。Ｅｕｄｒａｇｉｔ被覆は、カプセルからのＩＬ－１０送達構築物の放出を遅延させたが、ＩＬ－１０送達構築物二量体純度（二量体％）に対しては負の影響を有した（図６８）。溶出を、４型溶出試験装置で、フロースルーモードで、ｐＨ７．０の溶出緩衝液中３７℃で測定した。これらの決定のために使用されるｉｎ　ｖｉｔｒｏ溶出試験は、特に持続放出錠剤について、当該分野で標準的ないくつかの試験のうち１つである。例えば、ＵＳＰ　＜７１１＞　ＤｉｓｓｏｌｕｔｉｏｎまたはＰｈ．　Ｅｕｒ．　２．９．３を参照のこと。ＩＬ－１０送達構築物についての試験は、ＵＳＰ試験装置４（フロースルー細胞試験装置、開放モード、ｐＨ７．０溶出緩衝液中３７℃）で行う。個々の錠剤を試験装置中に配置し、サンプリングを、特定された時間（例えば、１０、２０、３０および６０分）において行う。サンプリングを、廃棄物ボトルにつながるチューブからフロースルー溶液を収集することによって行った。試料溶液を、氷上でバイアル中に維持し、その後ＳＥＣ　ＨＰＬＣ分析した。各時点において、流体試料中のＩＬ－１０送達構築物の濃度を決定し（例えば、有効なＨＰＬＣ法によって）、それにより、錠剤から放出された量の計算を可能にする。

【０６２４】

対照的に、錠剤について、Ｅｕｄｒａｇｉｔ被覆は、ＩＬ－１０送達構築物二量体純度（二量体％）に影響することなしに、錠剤からのＩＬ－１０送達構築物の放出を遅延させた（図６９）。錠剤は、ＨＰＭＣで噴霧被覆された、６ｍｇのＩＬ－１０送達構築物強度を有するＦ３錠剤製剤の錠剤であり、その後、５０：５０の被覆重量比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄを有した。２つの異なるＥｕｄｒａｇｉｔ被覆重量を試験した（８ｍｇおよび２０ｍｇ）。溶出を、４型溶出試験装置で、フロースルーモードで、ｐＨ７．０の溶出緩衝液中３７℃で測定した。

【０６２５】

放出されたＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の量を、異なる量の被覆を有する錠剤およびカプセルについて計算した（図７０）。関連不純物（ＨＭＷ凝集体およびＬＭＷ単量体）を、ＳＥＣによって定量化した。活性な（二量体）および不純物の総和は、製剤から放出されたＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）関連材料の総量を提供した。得られた結果は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）放出に関して、錠剤とカプセルとの間の性能差をさらに示した。

【０６２６】

一般に、被覆された錠剤は、被覆されていない錠剤と匹敵するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体の放出を示した。錠剤から放出されたＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）関連物質の総量は、一般に、錠剤中のＩＬ－１０送達構築物の量と近かったが、タンパク質の幾分かの喪失が、より高い被覆レベルにおいて観察された。さらに、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体の相対的二量体純度は、溶出研究の過程にわたって全ての材料について検討したとき、全ての錠剤について、放出された総材料のおよそ５０％であった。Ｅｕｄｒａｇｉｔ被覆されたカプセルは、比較的低い割合および量のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体放出を示し、タンパク質の大部分は、ＨＭＷ凝集体と特定された。放出された総タンパク質もまた、おそらくは進行した凝集の上に形成した不溶性種の結果として、低減された。

【０６２７】

不活性構成成分、例えば、高分子凝集体および単量体の程度もまた、このモデルにおいて決定され得る。図７０の左側に示された錠剤溶出群では、被覆されていない錠剤を参照として使用し、被覆組成は、８ｍｇ、１３ｍｇおよび２０ｍｇの増加した被覆重量増加で、５０：５０（ＦＳのＬ３０Ｄに対する）から８０：２０（ＦＳのＬ３０Ｄに対する）まで変動した。

【０６２８】

カプセルと比較して改善された錠剤の性能は、各製剤内のＡＰＩの形態、溶出プロセスの性質、および／またはＥｕｄｒａｇｉｔの相対的な量から生じ得る。

【０６２９】

腸溶性被覆された錠剤上の被覆重量は、所与のＡＰＩ重量のためのより低い表面積（圧縮された錠剤対カプセルへの粉末充填）、およびまた、所与の重量について均一な錠剤被覆を達成することをより容易にする、カプセルキャップとカプセルボディとの間の接合のない錠剤表面の幾何学に起因して、カプセル上の被覆重量よりも有意に少なくすることができる。錠剤は、より低い被覆厚さを使用し得る。したがって、より小さい表面積および／またはより小さい厚さに起因して、錠剤は、カプセルと比較して、ＩＬ－１０送達構築物の量当たり、より少ないポリマー（例えば、Ｅｕｄｒａｇｉｔ）を有し得る。

【０６３０】

さらに、カプセル溶出の性質は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）放出にとって有害であり得る。カプセル化されたＩＬ－１０送達構築物は、カプセルボディ内に粉末形態で内側に比較的ゆるく配置され得る。溶出しているカプセルを介した流体の初期アクセスの際に、実質的に（例えば、全体）量のタンパク質が湿潤され得る。かかる迅速な湿潤は、凝集をもたらし得る、または二量体構造を他の方法で破壊し得る。対照的に、錠剤では、ＩＬ－１０送達構築物は、初期流体接触の際に即座にくまなく湿潤されることはないが、カプセルが溶出するにつれて崩壊し、より長い期間にわたって溶出する不溶性マトリックス中で、ブレンドおよび圧縮され得る。これは、錠剤溶出の間の凝集に向かう傾向を低減させ得、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を活性な二量体形態で維持する可能性を増加させ得る。

【０６３１】

（実施例１９）

４型溶出デバイスにおける被覆された錠剤対被覆されていない錠剤の比較

【０６３２】

被覆されていない錠剤と比較して、被覆された錠剤の溶出の際に観察された、より低い

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体純度は、溶出されたＥｕｄｒａｇｉｔポリマーおよびＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の、溶液中での同時の存在を反映し得ると仮説を立てたが、それは、この組合せが、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体の喪失を引き起こすことが以前に示されていたからである。しかし、被覆材料は、経口投与後にＧＩ管中でＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）とのより限定的な接触を有し得るので、これは、錠剤溶出についてのｉｎ　ｖｉｖｏ状況を反映していない可能性がある。その代わり、錠剤が腸に沿って移動する際に、被覆材料は、薬物の完全放出前に錠剤コアから徐々に除去され得、そうして、被覆材料をタンパク質から分離する。

【０６３３】

ＵＳＰ溶出４型試験装置を用いたｉｎ　ｖｉｔｒｏフロースルー法（図９８）を行って、ＧＩ管における薬物放出をより良好に予測した。２型試験装置（能動的な流れなしに、撹拌チャンバ中で行われる溶出）と比較して、４型機器は、「開放モード」で動作し得、それにより、溶出媒体の一定の流入が、無限シンク（ｉｎｆｉｎｉｔｅ　ｓｉｎｋ）条件（即ち、タンパク質または錠剤構成成分の局所的集積なし）を維持するために送達される。

【０６３４】

被覆されたおよび被覆されていないＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）錠剤を、４型試験装置を開放モード（フロースルー）で使用して、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ溶出によって評価した（図６９）。予想されるように、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の放出は、増加していく被覆重量の関数として遅延されたが、放出プロファイル（二量体含量）は、被覆によって影響されず、これは、各錠剤についての匹敵する初期二量体純度および分解速度を示している（図６９）。

【０６３５】

被覆された錠剤もまた、遅延された放出を示したが、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体含量は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）とＥｕｄｒａｇｉｔポリマーとの不適合性におそらくは起因して、被覆されていない錠剤と比較して実質的に低減された。４型機器は、ＧＩ管における被覆されたＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）錠剤の挙動をより代表する環境を提供し、したがって、ｉｎ　ｖｉｖｏ性能を良好にシミュレートするはずであると予想される。

【０６３６】

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体純度をモニタリングするだけでなく、各時点において放出された薬物の量を、４型溶出の間に得た（図９８）。各錠剤は、薬物放出の類似の持続時間を示し、被覆量の増加は、薬物溶出を遅延させた。これらのデータは、錠剤崩壊がいったん開始すると、放出プロセスが類似の様式で進行し、被覆材料が除去されると、被覆厚さにかかわらず、被覆された錠剤コアが、同じ表面水和および崩壊プロセスを受けることを示唆した。したがって、腸溶性被覆によって提供された遅延された放出特色は、あるとしても、錠剤コア中の薬物品質にほとんど影響を示さなかった。

【０６３７】

異なるＥｕｄｒａｇｉｔ製剤で被覆された第２のセットの錠剤は、類似の溶出挙動を示し（図９９）、これは、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の放出が、４型試験装置において、これらの条件下で被覆によって顕著には影響されなかったことをさらに示唆している。

【０６３８】

（実施例２０）

錠剤のＨＰＭＣ－ＡＳ被覆

【０６３９】

Ｅｕｄｒａｇｉｔ被覆の代替法もまた評価した。ＡＱＯＡＴ（登録商標）（Ｓｈｉｎ－Ｅｔｓｕ）ヒプロメロース酢酸エステルコハク酸エステル（ＨＰＭＣＡＳ）を、その類似のｐＨ応答特性、およびその弱いイオン構造特徴のために選択した。これらの特徴は、Ｅｕｄｒａｇｉｔの強いイオン構造とは対照的であり、薬物錠剤被覆プロセスおよび薬物放

出プロセスの間のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の構造的完全性へのより良い適合性をもたらし得る。適合性の前臨床スクリーニングを行った。Ｅｕｄｒａｇｉｔ　Ｌ３０Ｄ－５５およびＦＳ　３０Ｄを、報告によればそれぞれｐＨ６．８およびｐＨ６．０で可溶性になるＡＱＯＡＴ（登録商標）製品ＡＳ－ＨＦおよびＡＳ－ＭＦと比較した。二量体含量によって測定した、ＰＢＳ中で種々の被覆剤と共にインキュベートしたＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の二量体純度は、表４７に示される。ＡＳ－ＨＦおよびＡＳ－ＭＦとのインキュベーションは、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の分解をほとんどまたは全く示さず、これは、かかるＨＰＭＣ－ＡＳ誘導体による薬物適合性の有意な改善を示している。

表４７－被覆材料とＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）との適合性；ＰＢＳ中でのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）タンパク質との２時間のインキュベーション、構造完全性をＳＥＣ法によって分析した。

【表４７－１】

構成成分	二量体	単量体	HMW
IL-10 送達構築物 (配列番号 5)	88.1	8.8	3.2
Eudragit FS30D	45.8	12.2	42.0

【表４７－２】

Eudragit L30D55	12.6	45.2	42.1
HPMCAS-HF	86.2	11.5	2.3
HPMCAS-MF	88.3	8.7	3.0

【０６４０】

５０：５０のＡＳ－ＨＦおよびＡＳ－ＭＦで被覆されたＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）錠剤を、４型デバイスでの溶出によって評価した（図１００、図１０１）。放出された材料の初期二量体純度は、薬物物質（凍結乾燥されたＩＬ１０送達構築物）と本質的に同一であることが見出され、これは、ＨＰＭＣＡＳ被覆が、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の二量体純度に対してほとんど影響を有さないことを示している。放出の遅延は、錠剤被覆厚さと相関し、初期遅延後に、被覆されていない錠剤のものと類似の匹敵する放出速度を示し、錠剤崩壊の間に、被覆材料の負の影響が存在しないことをさらに示した。

【０６４１】

ＨＰＭＣ－ＡＳ被覆された錠剤は、Ｅｕｄｒａｇｉｔ被覆されたＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）錠剤と比較した場合、ｉｎ　ｖｉｔｒｏの薬物純度、分解速度および薬物曝露（二量体濃度のＡＵＣ）によって特徴付けられる、本質的に同等なまたは改善された放出プロファイルを示した。これは、２型試験装置での溶出試験によってさらに示された（図１０２、図１０３）。４型溶出試験装置での試験と比較して、被覆とＩＬ－１０送達構築物との間の不適合性の影響は、かかる設定においてより明らかになった。実際のｉｎ　ｖｉｖｏ放出は、４型溶出試験装置で使用した条件とより類似している可能性が高い。それにもかかわらず、両方の場合において、ＨＰＭＣ－ＡＳ被覆は、Ｅｕｄｒａｇｉｔ被覆を超える有利な薬物安定性プロファイルを示した。

【０６４２】

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）放出の二量体純度および濃度を、溶出時間に対してプロットした。２型溶出試験装置では、増加した被覆重量を有する錠剤は、放出のより長い遅延と相関した。薬物濃度は、初期崩壊後２０～３０分で最大累積濃度に達し、これは、被覆が最初に破られた後に類似の時間間隔で崩壊が完了したという、４型デバイスでの溶出において観察されたことと相関している。

【０６４３】
要約すると、ＨＰＭＣＡＳ被覆材料は、Ｅｕｄｒａｇｉｔと比較して、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体との優れた化学的適合性を実証した。ＨＰＭＣＡＳ被覆されたＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）錠剤は、２つの一般に使用されるｉｎ　ｖｉｔｒｏ溶出モデルにおいて、二量体純度および曝露に関して、本質的に同等なまたは改善された放出プロファイルを示した。フロースルーモデルでの２段階の溶出により、この被覆は、より低いｐＨで安定であり、薬物放出のための高いｐＨで不安定になっていたので、ｐＨ応答性であったことが確認された。低いｐＨでＩＬ－１０送達構築物の保護を提供したＨＰＭＣＡＳ被覆は、有効であることが見出された。溶出試験における薬物曝露は、酸処置ありでもなしでも同じままであったので、低いｐＨでの被覆による薬物保護が有効であることが見出された。
【０６４４】
（実施例２１）
非ヒト霊長類における、Ｓ状結腸鏡検査を介した汎結腸投与を介したＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の薬物動態および薬力学の評価
【０６４５】
この非ＧＬＰ研究を行って、Ｓ状結腸鏡検査を介した汎結腸投与を介した１、３または１０ｍｇのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の単一用量を投与した雄性カニクイザル（ｎ＝３／群）におけるＰＫおよびＰＤを調査した。ＩＬ－１０送達構築物溶液（低い、中間のおよび高い用量群について、それぞれ、０．１、０．３および１．０ｍｇ／ｍＬの濃度）を、Ｓ状結腸鏡検査および３６０°の噴霧パターンを有する噴霧ノズルに接続されたシリンジを使用する直腸経路を介して投与した。連続生検試料を、Ｓ状結腸鏡検査によって収集した（投薬前、投薬の０．２５、０．５、０．７５、８および２４～２８時間後）。投薬前０分から投薬の２４～２８時間後までの連続血漿試料を、ＩＬ－１０送達構築物についての分析のために収集した。
【０６４６】
総ＩＬ－１０およびＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の血漿濃度
【０６４７】
Ｓ状結腸鏡を介して結腸に直接送達された単一用量のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）から生じた、総ＩＬ－１０濃度によって決定した曝露が、投与の１５分以内に血漿において検出された（図７１Ａ）。総ＩＬ－１０への曝露は、３つ全ての用量群（１、３および１０ｍｇ）において、用量と共に増加し、t_{max}は、送達の１時間以内に生じた（図７１Ａ）。総ＩＬ－１０分析に加えて、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）濃度を、抗ヒトＩＬ－１０検出抗体と併せて、抗コリックス^{386}捕捉抗体によって決定した。ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）濃度（図７１Ｂ）は、３ｍｇおよび１０ｍｇ用量ではＩＬ－１０の濃度の１０分の１であった（図７１Ａ）。ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）における用量依存的応答は、群間で明らかにならなかった。総ＩＬ－１０と比較して低い血漿ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）濃度は、循環ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）が、コリックス^{386}ドメイン（配列番号４）がｒｈＩＬ－１０にもはやコンジュゲートされていない、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の切断バージョンまたは他の方法でプロセシングされたバージョンから構成され得ることを暗示している。
【０６４８】
ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）投与後のＩＬ－１Ｒａの血漿濃度
【０６４９】
ＩＬ－１Ｒａの血漿濃度の誘導が、３つ全ての用量（１、３および１０ｍｇ）において観察された。ＩＬ－１Ｒａは、１ｍｇと比較して、３ｍｇおよび１０ｍｇの用量に応答してより高い濃度で検出された（図７１Ｃ）；しかし、高い群内変動性が検出され、明らかな用量依存的応答は観察されなかった。ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）のより高い濃度における用量依存的効果の非存在は、ＩＬ－１ＲａのＩＬ－１０誘導が１０ｍｇ用量において飽和したことを示唆した。総ＩＬ－１０は、およそ０．５～１時間の時点でピー

クに達し（図７１Ａ）、最大血漿ＩＬ－１Ｒａ濃度が３～４時間の時点で続いた（図７１Ｃ）。動物間での、曝露およびＩＬ－１Ｒａ生成におけるかなりのバリエーションにもかかわらず、総ＩＬ－１０およびＩＬ－１Ｒａ検出の相対的動態は、ＩＬ－１Ｒａ誘導が、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）によって媒介され得ることを示唆した。

【０６５０】

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）投与後の炎症促進性サイトカインの血漿濃度

【０６５１】

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の結腸投与は、炎症促進性サイトカインＩＦＮ－γ、ＩＬ－１β、ＩＬ－２またはＩＬ－８の全身濃度における増加をもたらさなかったが、ＩＬ－６は、３ｍｇ群および１０ｍｇ群において中等度に誘導された（図７２）。

【０６５２】

Ｓ状結腸鏡を介して結腸に直接送達された単一用量のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）からの、総ＩＬ－１０濃度によって評価した曝露を、結腸組織（図１０５Ｃ）および全身循環（図１０５Ａ）において検出した。曝露を、全身循環中のＩＬ－１Ｒａ濃度によっても評価した（図１０５Ｂ）。総ＩＬ－１０における用量依存的増加が、組織において検出され、これは、１５分の最初のサンプリング時点においてピークに達した。総ＩＬ－１０分析に加えて、結腸組織におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の濃度を決定した。組織ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）濃度は、群間で明確な用量依存性を明らかにしなかった（図１０５Ｄ）。ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）濃度は、１ｍｇ用量および１０ｍｇ用量の１５分後に増加し、群内で高い変動性が検出された。

【０６５３】

汎結腸ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）投与後の結腸組織におけるＩＬ－１Ｒａ濃度

【０６５４】

ＩＬ－１Ｒａ濃度を、１、３および１０ｍｇ用量のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）での汎結腸送達後に、ＮＨＰの結腸組織において評価した。高い濃度の内因性ＩＬ－１Ｒａが、ベースラインにおいて結腸組織溶解物中で検出され、ＩＬ－１Ｒａ濃度は、ＩＬ－１０送達構築物に応答してさらに増大されることはなかった（図７３）。

【０６５５】

汎結腸ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）投与後の組織におけるＳＴＡＴ３のリン酸化

【０６５６】

ＳＴＡＴ３のリン酸化は、ＩＬ－１０受容体活性化後の初期の下流の事象である。ＳＴＡＴ３リン酸化を、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）投与後のいくつかの時点（１５、３０および４５分、８時間および２４時間）からの結腸組織試料において調査した。結腸ＳＴＡＴ３活性化を示す、結腸組織ｐＳＴＡＴ３／ＳＴＡＴ３のより高い比が、試験した全ての用量において、ＩＬ－１０送達構築物処置後に観察された（図７４）。

【０６５７】

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の汎結腸投与後の、結腸組織溶解物における炎症促進性サイトカイン濃度の分析

【０６５８】

結腸組織における炎症促進性サイトカインの誘導は観察されなかった；しかし、ＩＬ－６の血漿濃度における増加の証拠が、ＩＬ－１０送達構築物処置で存在した（図７５）。

【０６５９】

各組織時点での結腸生検を、ＩＬ－１０送達構築物の投与後に、ＩＬ－１０送達構築物の局所濃度、総ＩＬ－１０、ＩＬ－１Ｒａ、可溶性サイトカイン、ＳＴＡＴ３の活性化、および遺伝子発現について分析した。ＩＬ－１０送達構築物処置は、免疫寛容原性Ｍ２マクロファージの分化または機能において役割を果たす、特にＣＤ１６３、ｍｉＲ２４－２およびＮＯＸ１が含まれるいくつかの抗炎症性遺伝子を上方調節した。さらに、ＳＴＣ１、ＭＴＮＲ１ＡおよびＶＮＮ２は、ＮＦｋβシグナル伝達経路を抑制するタンパク質をコ

ードするが、これは、重要な炎症促進性サイトカインがそれを介して調節される経路である。ＩＬ－１０送達構築物処置は、薬物代謝酵素ＣＹＰ１Ａ１の発現を下方調節した；しかし、処置前の１２時間の絶食は、ＣＹＰ１Ａ１発現に影響し得た（図７６）。ＩＬ－１０送達構築物投与は、樹状細胞およびマクロファージによって発現されるＭＨＣＩＩおよびＰＬＡ２Ｇ２Ｄが含まれるいくつかの炎症促進性遺伝子を低下させた。これは、これらの細胞の、炎症促進性免疫表現型に向かう活性化または分化を抑制するＩＬ－１０の能力と一致している。さらに、ＩＬ－１０送達構築物は、それぞれマクロファージおよび自然免疫細胞を動員する化学誘引物質であるＣＣＬ２０およびＣＣＬ１３を下方調節した（図７７）。ＩＬ－１０送達構築物処置により、マトリックスメタロプロテイナーゼ：ＭＭＰ１、ＭＭＰ３およびＭＭＰ１９が含まれるいくつかの炎症促進性遺伝子もまた上方調節された（図７８）。重要なことに、ＩＬ－１０の調節機能と一致して、ＩＬ－１０送達構築物は、マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤ＴＩＭＰ１、ならびに他の組織修復遺伝子（図７９）および抗微生物遺伝子（図８０）もまた増加させた。

【０６６０】

（実施例２２）

潰瘍性大腸炎のマウスモデルにおけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の効果の評価

【０６６１】

この研究は、マウスオキサゾロン誘導性潰瘍性大腸炎モデルにおける、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による経口処置の有効性を調査するために行った。マウスにおけるオキサゾロン誘導性大腸炎は、ヒト潰瘍性大腸炎において記載された炎症の組織病理学的特徴および分布との類似性を有するＵＣの動物モデルを構成し、潜在的治療剤をスクリーニングするために使用され得る。

【０６６２】

健康な若い雌性ＳＪＬ／Ｊマウスを、外用適用した１００％エタノール中のオキサゾロン（４－エトキシメチレン－２－フェニル－２－オキサゾリン－５－オン）の３％（ｗ／ｖ）溶液２００μｌで事前感作した。事前感作の５日後、マウスを、４０％のエタノール中１％のオキサゾロン１５０μＬで直腸内チャレンジした。対照マウスを、－５日目に１００％エタノールで事前感作し、その後、１５０μＬの４０％エタノールを直腸内投与した（オキサゾロンなし）。マウスに、合計１２用量にわたって、－５日目から＋６日目まで、ＩＬ－１０送達構築物、５－ＡＳＡ（１００ｍｇ／ｋｇ、１５匹のマウス）またはビヒクルを、１日１回（ｑ．ｄ．）の経口胃管栄養によって投薬した。ＩＬ－１０送達構築物を、４つの異なる用量で提供した：９ｍｇ／ｋｇ、３ｍｋ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇおよび０．３ｍｇ／ｋｇ。各処置群には１５匹のマウスが存在し、ビヒクル処置群には１０匹のマウスが存在し、ナイーブ対照群には５匹のマウスが存在した。

【０６６３】

血液試料を、ＥＤＴＡを含むマイクロティナ（ｍｉｃｒｏｔａｉｎｅｒ）管（ＢＤ　３６５９７４）中に収集し、５００ＲＣＦで室温（ＲＴ）で１０分間遠心分離した。上清を収集し、きれいな管に移し、１３，０００ＲＣＦでＲＴで１０分間再遠心分離した。血漿試料を、２つの８０～１００μＬサイズのアリコートにアリコート化し、－８０℃で貯蔵した。各生存マウスから空腸および回腸を取り出し、低温ＰＢＳを用いて全ての糞便内容物を取り除き、およそ１ｃｍの各切片を瞬間凍結した。生存マウスの各々から結腸（マイナス盲腸）を取り出し、低温ＰＢＳを用いて全ての糞便物を取り除いた。結腸の長さおよび重量を記録した。試料を、結腸の長さに沿った異なるポイント（領域１近位、領域２中間、領域２と領域４との間の領域３、および領域４遠位）において、結腸から切り取り、１０％中性ホルマリン緩衝液中で２４時間保存し、次いで、７０％ＥｔＯＨに移した。これらの試料を切片化し、ヘマトキシリンおよびエオシン染色または免疫蛍光によって染色した。同じ結腸の領域３を瞬間凍結した。

【０６６４】

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による処置は、改善された結腸組織病理学を生じ

た。図８１Ａは、ナイーブ結腸のヘマトキシリンおよびエオシン染色を示し、図８１Ｂは、疾患状態を誘導するためにオキサゾロンで処置したが、処置段階においてビヒクルを受けたマウスからの結腸切片を示す。結腸組織病理学は、ＩＬ－１０送達構築物（８．５ｍｇ／ｋｇ）で処置した代表的なオキサゾロン誘導されたマウスからの切片を示す図８１Ｃでは改善されている。

【０６６５】

経口ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による処置は、炎症マーカーＩＬ－４（図８２Ａ）、ＩＬ－６（図８２Ｂ）、ＩＬ－１β（図８２Ｃ）、ＩＬ－１７Ａ（図８２Ｄ）、ＩＬ－１０（図８２Ｅ）、ＭＩＰ１α（図８２Ｆ）およびＧＣＳＦ／ＣＳＦ３（図８２Ｇ）の発現を低下させた。統計分析を、チューキー事後テストと共に一元配置ＡＮＯＶＡを使用して行った。

【０６６６】

経口ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による処置は、組織および循環バイオマーカーの上方調節を誘導した。図８４は、ＩＬ－１Ｒａの全身発現が、ＩＬ－１０送達構築物による処置の際に用量依存的様式で増加したことを示す（用量は、ｘ軸上にｍｇ／ｋｇで示される）。９ｍｇ／ｋｇのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）による処置は、ビヒクルと比較してＩＬ－１Ｒａの結腸発現を増加させ（図８５Ａ）、ビヒクルと比較してＩＬ－１βの結腸発現を低下させ（図８５Ｂ）、ＩＬ－１ＲａのＩＬ－１βに対する比を約２．５倍増加させた（図８５Ｃ）。ＩＬ－１０送達構築物による処置は、リン酸化されたＳＴＡＴ３（ｐＳＴＡＴ３）の総ＳＴＡＴ３に対する比を、小腸組織において約２倍、結腸組織において約３倍増加させた（図８６）。

【０６６７】

（実施例２３）

非炎症マウスにおける結腸組織におけるＳＴＡＴ３に対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響の評価

【０６６８】

非炎症結腸組織におけるＳＴＡＴ３に対する経口ＩＬ－１０送達構築物の影響を評価するために、マウスに、ビヒクル、ＩＬ－１０送達構築物（１ｍｇ／ｋｇ）または組換えヒトＩＬ－１０（ｒｈＩＬ－１０、０．９ｍｇ／ｋｇ、ＩＬ－１０送達構築物と等モル用量）を投与した。総ＳＴＡＴ３およびリン酸化されたＳＴＡＴ３（ｐＳＴＡＴ３）を、ＥＬＩＳＡ　ＭＳＤによってアッセイした。図８３Ａは、ＩＬ－１０送達構築物による処置が、ｐＳＴＡＴ３の総ＳＴＡＴ３に対する比におけるおよそ５０％の増加を生じたが、ｒｈＩＬ－１０処置は、ｐＳＴＡＴ３の総ＳＴＡＴ３に対する比を有意には変更させなかったことを示している。

【０６６９】

非炎症結腸組織におけるＩＬ－１Ｒａに対する経口ＩＬ－１０送達構築物の影響を評価するために、マウスに、ビヒクル、ＩＬ－１０送達構築物（１０ｍｇ／ｋｇ）または組換えヒトＩＬ－１０（ｒｈＩＬ－１０、３ｍｇ／ｋｇ、ＩＬ－１０送達構築物と等モル用量）を投与した。全身ＩＬ－１Ｒａを、ＥＬＩＳＡ　ＭＳＤによってアッセイした。図８３Ｂは、全身ＩＬ－１ＲａのレベルがＩＬ－１０送達構築物で処置したマウスにおいて約３倍増加したが、ｒｈＩＬ－１０による処置は、全身ＩＬ－１Ｒａレベルを有意には増加させなかったことを示している。

【０６７０】

（実施例２４）

非ヒト霊長類における免疫恒常性および創傷治癒に対するＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の影響の評価

【０６７１】

炎症促進および抗炎症マーカーに対するＩＬ－１０送達構築物の影響を評価するために、ＩＬ－１０送達構築物を、噴霧ノズルを有する結腸Ｓ状結腸鏡検査によって雄性Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓサル（約５～約８ｋｇ）に送達した。アルブミン中に

製剤化したＩＬ－１０送達構築物を、１ｍｇ、３ｍｇおよび１０ｍｇの用量で投与した。ＩＬ－１０送達構築物による処置は、炎症促進マーカーの発現を低下させ（図８７）、抗炎症マーカーの発現を増加させ（図８８）、組織修復および創傷治癒に関連するバイオマーカーの発現を増加させた（図８９）。

【０６７２】

（実施例２５）

非ヒト霊長類におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の薬物動態および薬力学の評価

【０６７３】

異なる経路の送達を比較するために、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を、Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｕｌａｒｉｓサルに、１ｍｇ（Ｎ＝６）もしくは５ｍｇ（Ｎ＝６）で経口、０．２ｍｇ／ｋｇで皮下（Ｎ＝３）、または０．０５ｍｇ／ｋｇで静脈内（Ｎ＝３）投与した。経口投与について、ＩＬ－１０送達構築物を、サイズ０の腸溶性被覆されたカプセル中に製剤化した。静脈内投与または皮下投与について、ＩＬ－１０送達構築物を、ＤＳ　ｌｙｏ製剤中の液体として製剤化した。ＩＬ－１０送達構築物による経口処置は、皮下または静脈内のいずれかの投与と比較して、ＩＬ－１０の最小限の全身レベルを生じた（図９０Ａ）。ＩＬ－１Ｒａの全身レベルは、図９０Ｂに示される。ＩＬ－１０送達構築物による経口処置は、１ｍｇ用量においてＩＬ－１Ｒａ／ＩＬ－１０比を約１５，０００：１に増加させ、３ｍｇ用量については２０，０００：１よりも上まで増加させたが、最小限の効果が、皮下または静脈内のいずれかの投与から見られた（図９１）。

【０６７４】

（実施例２６）

界面活性剤の評価

【０６７５】

剪断応力に供する前および後の、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の二量体化に対する界面活性剤の影響を調査した。より特には、種々の界面活性剤を、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を含む溶液に添加し、得られた溶液を、剪断応力に供する前、および８００ｒｐｍで４時間連続的にボルテックスした後に試験した。以下の界面活性剤を検討した：（１）対照（１×ＰＢＳ、界面活性剤なし）、（２）ポリソルベート８０（ＰＳ８０）、１×ＰＢＳ中０．１％、（３）ポリソルベート２０（ＰＳ２０）、１×ＰＢＳ中０．１％、およびポロキサマー１８８（Ｆ６８）、１×ＰＢＳ中０．３％。

【０６７６】

ボルテックスの後、溶液を視覚的に検査した。ボルテックス後に、界面活性剤なしの試料は、僅かに濁っていたが、界面活性剤ありの試料は、澄んでいた。溶液の濁度（３４０～３６０ｎｍ）を、ボルテックス後に評価した。界面活性剤なしの場合、３４０～３６０ｎｍの範囲の吸光度は増加し（図９２）、吸光度における増加は、０．１％のＰＳ２０でも観察された。

【０６７７】

ＳＥＣ－ＨＰＬＣを、ボルテックスの前（図９３）および後（図９４）に、ＩＬ－１０送達構築物製剤に対して行った（表４８）。これらの結果は、ＩＬ－１０送達構築物の全ての試料について、ボルテックスの前および後で有意な変化を示さなかった。しかし、ポリソルベート８０は、ボルテックス前に、ＨＭＷ凝集体および単量体（ＩＬ－１０送達構築物の）における増加を示し、これは、ＩＬ－１０送達構築物に対するいくらかの不安定化効果を示している。さらに、ポリソルベート２０は、ボルテックス前に、最大量の単量体を示し、これは、ＩＬ－１０送達構築物のいくらかの解離の発生を示している。結論として、０．３％の界面活性剤Ｆ６８（ポロキサマー１８８）は、剪断応力下で、１×ＰＢＳ中でＩＬ－１０送達構築物を安定化するようであった。

表４８－ボルテックスの前および後にＳＥＣ－ＨＰＬＣによって評価した、単量体、二量体および凝集体（ＨＭＷ）形態のパーセントＩＬ－１０送達構築物

【表４８－１】

SEC(%)	ボルテックス前				ボルテックス後			
	対照	0.3%F68	0.1%PS80	0.1%PS20	対照	0.3%F68	0.1%PS80	0.1%PS20
HMW	0.57	0.49	3.47	0.9	0.82	0.81	3.43	0.94
二量体	93.6	94	87.3	82.5	92.5	93.5	86.6	82.9

【表４８－２】

単量体	5.81	5.5	9.2	16.65	6.73	5.66	10	16.17

【０６７８】

（実施例２７）

ｐＳＴＡＴ３のｉｎ　ｖｉｖｏ評価

【０６７９】

マウスにおけるｉｎ　ｖｉｖｏ研究を行って、トランスサイトーシス後のヒトＩＬ－１０の生物学的活性を、マウスＩＬ－１０受容体を刺激するその能力および粘膜固有層内の細胞におけるＳＴＡＴ３のリン酸化（ｐＳＴＡＴ３）を増加させるその能力について評価した。これらの研究は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）（担体分子なしのＩＬ－１０単独ではない）が、上皮細胞を横断して選択的に輸送されることが示されたこと、および上皮細胞を横断する輸送の後の粘膜固有層内の細胞におけるＳＴＡＴ３リン酸化を増加させることが可能であったことを実証した。さらに、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）曝露は、腸組織において増加し、全身曝露は最小化された。

【０６８０】

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の腔内注射は、粘膜固有層内の細胞におけるＳＴＡＴ３のリン酸化を増加させた。ｒｈＩＬ－１０およびｐＳＴＡＴ３の組織局在化を、Ｂａｌｂ／Ｃマウスの空腸中へのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の腔内注射の約１０分後に、免疫蛍光共焦点顕微鏡によって検出した（図１０７）。広範な量のｒｈＩＬ－１０（配列番号５）が、腸細胞を介して輸送された。さらに、腸細胞の基底外側表面において、および粘膜固有層内に、ｐＳＴＡＴ３陽性のリンパ球様細胞の集団が存在した。経時的なｐＳＴＡＴ３のリン酸化における増加は、図１０８に示される。

【０６８１】

腸上皮を横断するＩＬ－１０送達構築物の輸送が、共焦点顕微鏡に示されるように、異なるマウスモデルにおいて立証された（図１０９）。

【０６８２】

マウスの腸全体を単離し、「腸管ロール（ｓｗｉｓｓ　ｒｏｌｅ）」として処理し、ｐＳＴＡＴ３の局在化を、免疫蛍光共焦点顕微鏡によって検出した（図１１０）。ＩＬ－１０活性が、免疫学的シグナル伝達経路の活性化を示す、粘膜固有層に沿ったＳＴＡＴ３リン酸化の検出を介して、経口胃管栄養後に腸の長さ（結腸を含む全ての腸セグメントにおいて）に沿って実証された。

【０６８３】

（実施例２８）

炎症性腸疾患のＴ細胞移入モデルにおける配列番号５の腔内注射

【０６８４】

この研究は、炎症を生じた腸組織において、ｒｈＩＬ－１０を腸管腔から粘膜下領域中に輸送する担体タンパク質の潜在力を試験するために行った。Ｔリンパ球（Ｔ細胞）移入モデルは、マウスにおける誘導された慢性大腸炎の十分に確立されたモデルであり、ＩＢＤ患者において観察される本質的な免疫学的特徴の多くを示すので、これを使用した。９匹のＢＡＬＢ／ｃマウス、および炎症の大腸炎様モデルを有する９匹を含む１２匹のＳＣＩＤマウスに、遠位回腸ならびに近位、中間および遠位結腸中に、腔内注射を介して２０μｌの試験物品を投薬した。１５９ｐモルのＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を、健

康なＢＡＬＢ／ｃマウスおよび誘導された大腸炎を有するＳＣＩＤマウスに投与し、１５９ｐモルのｒｈＩＬ－１０を、健康なＢＡＬＢ／ｃマウスおよび誘導された大腸炎を有するＳＣＩＤマウスに投与し、ＰＢＳビヒクルを、健康なＢＡＬＢ／ｃマウスならびに健康なＳＣＩＤマウスおよび大腸炎が誘導されたＳＣＩＤマウスに投与した（ｎ＝３／群）。各群において、２匹のマウスを、腔内注射の１０分後に終わらせ、１匹を腔内注射の４０分後に終わらせた。腸組織および血清を収集した。収集した組織を固定し、包埋し、切片化し、炎症状態の組織学的評価のためにＨ＆Ｅ染色した。ｒｈＩＬ－１０を測定するためのＥＬＩＳＡ分析を、腸組織および血清から調製した溶解物に対して行った（図１０６Ａ～１０６Ｄ）。

【０６８５】

組織の組織病理学的評価により、結腸の全てのレベルにおいて、全てのＳＣＩＤ　Ｔ細胞移入マウスにおいて炎症が確認された。

【０６８６】

１０分の曝露時点におけるｒｈＩＬ－１０のＥＬＩＳＡ測定値は、ｒｈＩＬ－１０単独を注射したマウスと比較して、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）注射マウスにおいて、かなり高かった（図１０６Ａ～１０６Ｂ）。さらに、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）は、非炎症組織よりも効率的に、炎症を生じた組織中に輸送された。正常腸組織では、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）取り込みは、ｒｈＩＬ－１０単独を注射したマウスと比較して、２～５倍高かった。炎症を生じた組織では、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）注射後に測定されたｒｈＩＬ－１０レベルは、ｒｈＩＬ－１０単独後に測定されたｒｈＩＬ－１０レベルよりもおよそ１０倍高かった（図１０６Ｂ）。ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）投与後に検出された組換えヒトＩＬ－１０は、ほとんどの組織において、曝露の４０分後の時間に検出されたが、炎症を生じた組織と比較して、健康な組織においてより安定なようであった（図１０６Ｃ～１０６Ｄ）。

【０６８７】

ｒｈＩＬ－１０投与ではなくＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）投与は、時間依存的様式で、健康な動物の血清において中等度に高いｒｈＩＬ－１０の検出を生じた。炎症を生じた動物では、最小限の量のｒｈＩＬ－１０が、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）およびｒｈＩＬ－１０腔内注射の両方から、血清において検出され、これは、炎症を生じた腸組織におけるいくらかの軽度の非特異的漏出を示している。

【０６８８】

健康なマウス対疾患マウスにおける全身曝露における差異は、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）が標的化し得る、疾患状態にあるより高い数の浸潤した免疫細胞を記述する、腸の「シンク効果（ｓｉｎｋ　ｅｆｆｅｃｔ）」に起因し得る。腸の粘膜および粘膜下層において組織病理学によって観察された多数の浸潤性白血球は、全身曝露を制限しつつ、ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）／ｒｈＩＬ－１０を粘膜固有層に限定する。ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）投与は、結腸組織におけるｒｈＩＬ－１０の増強された腸取り込みを生じ、これは、コリックス^{386}が上皮を介したｒｈＩＬ－１０のトランスサイトーシスを容易にすることの証拠である。

【０６８９】

（実施例２９）

第１ａ相臨床研究

【０６９０】

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を、健康な雄性対象における増加する単一経口用量のＩＬ－１０送達構築物の安全性および忍容性、薬物動態ならびに薬力学を評価するために設計した（パートＡ）。研究のパートＢでは、初期のデータを、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）患者における複数の漸増用量のＩＬ－１０送達構築物後の、安全性および忍容性、薬物動態、薬力学ならびに早期臨床応答について集めた（パートＢ）。

【０６９１】

一次目標は、健康な成人ボランティアおよび活動性ＵＣを有する患者において、単一お

よび複数の漸増用量のＩＬ－１０送達構築物の安全性および忍容性を評価することであった。研究の他の目標は、以下であった：ＩＬ－１０送達構築物の薬物動態（ＰＫ）および薬力学（ＰＤ）を評価すること、ＩＬ－１０送達構築物に対する抗薬物抗体の発生率を評価すること、血漿および組織におけるＩＬ－１０送達構築物の潜在的ＰＤバイオマーカーを評価すること（パートＢのみ）、ＰＤ応答に基づいて、結腸組織へのＩＬ－１０送達構築物の送達を評価すること、ならびに活動性ＵＣを有する患者における２週間の処置後に、ＩＬ－１０送達構築物の臨床活性を評価すること。

【０６９２】

第１ａ相試験設計

【０６９３】

パートＡは、健康な男性ボランティアにおける単一漸増用量（ＳＡＤ）増大からなった。経口投与された単一漸増用量からなる６つのコホートを行った。各用量レベルにおいて、６人の対象を登録し、単一用量のプラセボまたはＩＬ－１０送達構築物を１日目に受けるように、２：４でランダム化した。選択された用量は、１ｍｇ、３ｍｇ、１０ｍｇ、３０ｍｇ、６０ｍｇおよび１２０ｍｇであった。

【０６９４】

前臨床第１ａ相データ

【０６９５】

パートＡの結果により、ＩＬ－１０送達構築物が安全であり、十分に耐容性が示されることが確認される。合計で３つの有害事象が生じ、１つは１２人のプラセボ患者において、２つは合計で２４人の活動性ＩＬ－１０送達構築物患者において生じた。全ての事象は、軽度の自己限定的有害事象であった。薬物は血液中では検出されなかったので、全ての用量（１～１２０ｍｇ）からの薬物動態学的分析の結果により、ＩＬ－１０送達構築物が腸選択的であったことが確認された。

【０６９６】

前臨床モデルは、粘膜リンパ球におけるＩＬ－１０ＲへのＩＬ－１０エンゲージメントのマーカーとして、末梢ＩＬ－１Ｒａ生成を特定している。ＩＬ－１０送達構築物が、上皮細胞裏打ちを横断して粘膜固有層中に能動的に輸送されたかどうか、およびリンパ球と相互作用できたかどうかを決定するために、ＩＬ－１Ｒａ誘導のレベルを評価した。

【０６９７】

これらの結果により、ＩＬ－１０送達構築物がＩＬ－１Ｒａ発現を誘導できたことが確認された（図１１１）。６０ｍｇおよび１２０ｍｇにおける免疫調節活性（ＩＬ－１Ｒａ誘導）の喪失は、ＩＬ１０の生物学と一致している。

【０６９８】

（実施例３０）

第１ｂ相臨床研究

【０６９９】

データを、１４日間の処置にわたって、活動性ＵＣを有する成人患者におけるＩＬ－１０送達構築物の複数の漸増用量（ＭＡＤ）後の、安全性、忍容性、薬物動態、薬力学および初期臨床応答について集めた。ＩＬ－１０送達構築物および賦形剤（グリシン、スクロース、ポロキサマー１８８およびリン酸カリウム）の凍結乾燥された組成物を、サイズ０のＨＰＭＣカプセルに添加して、１ｍｇ、５ｍｇおよび２０ｍｇの用量強度を有する３つの異なるバッチを調製した。５０：５０の重量比のＥｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）Ｌ３０Ｄ５５：Ｅｕｄｒａｇｉｔ（登録商標）ＦＳ３０Ｄを有する被覆を、各カプセルに、１４．８～１６．０ｍｇ／ｃｍ^{2}の厚さおよびおよそ７６ｍｇの重量で適用した。プラセボカプセルを、同様に被覆された空のカプセルを使用して生成した。

【０７００】

第１ｂ相試験設計

【０７０１】

図１１２に示されるように、第１ｂ相試験は、活動性ＵＣを有する成人患者におけるＭ

ＡＤ増大からなった。合計で４つのコホートに、１ｍｇ、３ｍｇ、１０、ｍｇまたは３０ｍｇのいずれかのＩＬ－１０送達構築物を投薬し、１４日間にわたって１日１回投与されるＩＬ－１０送達構築物またはプラセボを受けるように、３：１でランダム化した。この試験の目的は、内視鏡検査、組織学、バイオマーカーおよび血清試料を介して、ＩＬ－１０送達構築物の安全性およびＵＣ疾患活動性における任意の変化を評価することであった。便の試料および結腸生検を、ベースラインおよび処置の１４日目に得て、便中カルプロテクチン、ならびにＧｅｂｏｅｓスコアリングシステムの盲検中央読影に基づく組織学を評価した。便中カルプロテクチンは、ＵＣ研究における臨床応答の客観的マーカーであり、Ｇｅｂｏｅｓスコアリングシステムは、組織学的応答の尺度である。この実施例のＧｅｂｏｅｓスコアリングシステムは、０～２２点の組織学的スコアリングシステムを使用し、スコアが高いほど重症度が高い疾患を示す。

【０７０２】

前臨床第１ｂ相データは、経口ＩＬ－１０送達構築物が十分に耐容性が示されることを実証している

【０７０３】

第１ｂ相試験の結果は、経口ＩＬ－１０送達構築物が、ＵＣを有する患者によって十分に耐容性が示されることが観察されたことを実証した。表４９は、４人のプラセボ患者における３つを含む、合計で２３個のＴＥＡＥが観察されたこと、および１２人の活動性ＩＬ－１０送達構築物患者において２０個が観察されたことを示している。第１ｂ相試験の有害事象は、鼻咽頭炎、ならびに下敷きになるＵＣ症状に関連する有害事象、例えば、腹部疼痛、下痢および悪心を含んだ。全ての有害事象は、自己限定的でありかつ軽度から中等度であり、処置の早期中断の理由になる有害事象は有さなかった。重要なことに、以前の研究における全身送達されたＩＬ－１０とは異なり、貧血または血小板減少症の処置緊急ＡＥは観察されなかった。

表４９－活動性の対象とプラセボとの間で観察された処置緊急有害事象（ＴＥＡＥ）

【表４９】

	1 mg (n=3)	3 mg (n=3)	10 mg (n=3)	30 mg (n=3)	活動性全て (n=12)	プラセボ (n=4)
TEASの数 (% pts)	2 (67%)	7 (67%)	5 (67%)	6 (67%)	20 (67%)	3 (50%)

【０７０４】

臨床応答の前臨床結果

【０７０５】

便中カルプロテクチン（ＦＣＰ）は、ＵＣを有する患者における疾患活動性の臨床的マーカーである。１５０μｇ／ｇよりも高いＦＣＰ値は、活動性炎症と相関する。図１１３で見ることができるように、１ｍｇおよび３ｍｇのＩＬ－１０送達構築物の投薬は、僅か１４日間の投薬後に、４４％および２７％の、ＦＣＰのプラセボ調整された平均低減をもたらした。ＩＬ－１０を全身送達する以前の臨床研究は、より高い用量において活動性の減退を示したが、これは、１０ｍｇおよび３０ｍｇ用量のＩＬ－１０送達構築物でも観察される。

【０７０６】

Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）は、全身性炎症のバイオマーカーである。１ｍｇおよび３ｍｇでは、プラセボと比較した場合、ＣＲＰレベルにおけるより大きい低減が、５ｍｇ／Ｌよりも大きいベースラインＣＲＰを有するＵＣ患者において観察された（図１１４）。設計上、ＩＬ－１０送達構築物は、ＧＩ選択的タンパク質であり、全身循環では検出されなかった。しかし、ＣＲＰレベルにおける低減は、経口ＧＩ選択的ＩＬ－１０送達構築物によるＵＣ患者の処置が、局所腸ならびに全身免疫調節活性を生じ、これが、末梢炎症兆候の処置を可能にすることを助けることを示唆している。

【０７０７】
Ｇｅｂｏｅｓ組織学的スコアリングシステムは、粘膜固有層および上皮中への免疫細胞（リンパ球および好中球）浸潤、ならびに陰窩のアーキテクチャおよび破壊、ならびに潰瘍化およびびらんの存在を組み込むシステムである。各構成成分が加算される場合、総スコアは、０（正常）から２２（重度の炎症および組織破壊）までの範囲になり得る。ＧＩ粘膜に対するＩＬ－１０送達構築物の活性を評価するために、結腸生検をベースラインにおいて得、次いで、１４日間の投薬後、Ｇｅｂｏｅｓスコアを、盲検中央読影ＧＩ病理学者が評価した。ＩＬ－１０送達構築物は、０％（２／１０）のプラセボ患者と比較して、６０％（６／１０）の活動性ＩＬ－１０送達構築物患者において、Ｇｅｂｏｅｓスコアを低減させた（図１１５）。

【０７０８】
図１１６は、１０ｍｇのＩＬ－１０送達構築物を投薬した第１ｂ相試験のＵＣ患者からの投薬前および処置後の組織学的画像を示し、Ｇｅｂｏｅｓスコアは、２２点のスケールを使用して、１５のスコアから３のスコアまで改善し、スコアが高いほど重症度が高い疾患活動性を示す。投薬前画像により、ＵＣ患者が、ベースラインにおいて、結腸中に陰窩破壊および炎症細胞浸潤物を有したことが明らかになり、これは、１４日間のＩＬ－１０送達構築物による処置後の処置後画像では解消されている。

【０７０９】
（実施例３１）
亜硫酸分解ありおよびなしのＩＬ－１０送達構築物の精製の比較

【０７１０】
ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を、図２Ａに記載される亜硫酸分解ステップを含むプロセス、または図２Ｂに記載される、類似ではあるが、亜硫酸分解ステップおよび清澄化ステップとリフォールディングステップとの間の接線流濾過ステップを含まないプロセスを使用して、封入体から精製した。両方のプロセス中のリフォールディングは、４℃で行った。両方のプロセスにおいて使用したリフォールディング溶液は、１ｍＭ還元型グルタチオン、０．５ｍＭ酸化型グルタチオン、１Ｍアルギニン－ＨＣｌ、２５０ｍＭスクロース、４℃でｐＨ８．５の１００ｍＭ　Ｔｒｉｓ、および２ｍＭ　ＥＤＴＡを含んだ。ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体含量を、リフォールディングの後であるがＴｏｓｏｈ　ＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓのＴＳＫｇｅｌ　ＳＷ３０００　４μｍ、４．６／３００を使用するＡＥＸクロマトグラフィーの前の限外濾過／透析濾過ステップ後にＳＥＣ－ＨＰＬＣによって特徴付け（表５０）、Ｃａｐｔｏ　Ｑ　ＩｍｐＲｅｓ（登録商標）（ＧＥ）クロマトグラムによって、ＡＥＸクロマトグラフィーの後にさらに特徴付けた（表５１～５２）。

表５０－種々の形態（高分子量凝集体、二量体および単量体）のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）のパーセンテージ

【表５０】

プロセス型*	凝集体 %	二量体 %	単量体 %
SIB の亜硫酸分解 (RT で 20 時間にわたる TFF-2)	68	17	8
SIB の亜硫酸分解なし (4℃における 2×UF/DF)	36	27	22
SIB の亜硫酸分解なし (RT で 66 時間にわたる 2×UF/DF)	57	22	11

丸括弧中に含まれる＊は、リフォールディングとＡＥＸクロマトグラフィーとの間のＴＦＦステップの説明である。

表５１－Ｃａｐｔｏ Ｑクロマトグラフィー後のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）収量

【表５１】

プロセス型	Capto Q 積載 (mg)	UFDF 濃度 (mg/mL)	Capto Q プール 体積 (mL)	Capto Q収量	二量体 純度 (%)
SIB の亜硫酸分解 (97mL の Capto Q)	1680	1.85	270	151	74
SIB の亜硫酸分解なし (97mL の Capto Q)	1680	1.68	270	262	84

表５２－Ｃａｐｔｏ　Ｑクロマトグラフィー後のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体回収

【表５２】

プロセス型	Capto Q 積載中の 二量体 含量（%）	Capto Q 総タンパク質 回収（%）	Capto Q 二量体 回収（%）	二量体 純度 (%)
SIB の亜硫酸分解 (3 つの平均)	20	17	55	82-83
SIB の亜硫酸分解 (97 mL Capto Q)	16.5	9	54.5	74
SIB の亜硫酸分解なし (97 mL Capto Q)	25	15.6	62.4	84

【０７１１】

（実施例３２）

亜硫酸分解ありおよびなしのＩＬ－１０送達構築物の精製の比較

【０７１２】

この実施例は、Ｗｉｓｔａｒラットにおける、インタクトな極性化腸上皮細胞を横断する、配列番号５に記載のアミノ酸配列からなる送達構築物のｉｎ　ｖｉｖｏトランスサイトーシスを実証している。このデータは、送達構築物が、極性化腸上皮細胞を横断して粘膜固有層中にＩＬ－１０ペイロードを迅速かつ効率的に輸送したことを実証している。

【０７１３】

ｉｎ　ｖｉｖｏトランスサイトーシスを、雄性Ｗｉｓｔａｒラットを使用して試験した。雄性Ｗｉｓｔａｒラットを、１２／１２時間の明／暗サイクルで、１ケージ当たり３～５匹で収容し、研究に入った時点で、これらのラットは、約２２５～２７５ｇ（およそ６～８週齢）であった。実験を、持続的イソフルラン麻酔を使用する非回復プロトコールを使用して、明期の間に行った。４～５ｃｍの正中腹部切開を行って、空腸中間領域を露出させた。３．８６×１０$^{-5}$Ｍの送達構築物のストック溶液を、リン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）中で調製し、５０μＬ（２５０ｇのラット１匹当たり）を、２９ゲージ針を使用して腔内注射（ＩＬＩ）によって投与した。次いで、注射部位の腸間膜を、永続的マーカーでマークした。研究終結時に、マークされた腸セグメントを捕捉した３～５ｍｍ領域を単離し、微視的評価のために処理した。ｉｎ　ｖｉｖｏ実験を、Ｕ．Ｋ．　Ａｎｉｍａｌｓ（Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅｓ）　Ａｃｔ　ｏｆ　１９８６，　ｔｈｅ　Ｅｕｒｏｐｅａｎ　Ｃｏｍｍｕｎｉｔｉｅｓ　Ｃｏｕｎｃｉｌ　Ｄｉｒｅｃｔｉｖｅ　ｏ

ｆ　１９８６　（８６／６０９／ＥＥＣ）に従って行った。

【０７１４】

配列番号５を有する送達構築物のトランスサイトーシス活性の結果は、図１１７Ａ～１１７Ｃに示される。このデータは、ラット空腸への、配列番号５に記載の配列を有する送達構築物の管腔適用後の種々の時点における、Ｗｉｓｔａｒラットにおける極性化腸上皮細胞を横断するＩＬ－１０ペイロードの輸送を実証する顕微鏡画像を示す。送達構築物（配列番号５）は、配列番号６に記載のアミノ酸を有するスペーサーを介して配列番号２に記載のアミノ酸を有するＩＬ－１０ペイロードに結合された配列番号４を有するコリックス担体（Ｎ末端メチオニンをさらに含む）を含んだ。緑色の蛍光は、ＩＬ－１０の存在を示す（抗ＩＬ－１０抗体による染色を介して）。青色の蛍光は、ＤＮＡを標識するＤＡＰＩ染色を示し、赤色の蛍光は、コリックス由来担体がトランスサイトーシスの間に（例えば、上皮細胞の核上領域において）一緒に共局在化し得るＣＫ－８（サイトケラチン－８）の存在を示す。白色の矢印番号１は、上皮細胞の頂端膜を強調し、白色の矢印番号２は、上皮細胞の基底膜を強調する。

【０７１５】

図１１７Ａは、ラット空腸への、配列番号５に記載の配列を有する送達構築物の管腔適用の１分後の、ＩＬ－１０のトランスサイトーシスの程度を実証する。このデータは、頂端から基底部位へのおよび粘膜固有層中へのＩＬ－１０ペイロードの輸送が、送達構築物の適用の早くも１分後に生じたことを示している。白色の矢印番号３は、粘膜固有層におけるＩＬ－１０の存在を示す。

【０７１６】

図１１７Ｂは、ラット空腸への、配列番号５に記載の配列を有する送達構築物の管腔適用の５分後の、ＩＬ－１０のトランスサイトーシスの程度を実証する。このデータは、送達構築物の管腔適用の５分後に粘膜固有層中に存在した輸送されたＩＬ－１０ペイロード（例えば、白色の矢印番号３を参照のこと）の増加した量を示している。

【０７１７】

図１１７Ｃは、ラット空腸への、配列番号５に記載の配列を有する送達構築物の管腔適用の１０分後の、ＩＬ－１０のトランスサイトーシスの程度を実証する。このデータは、送達構築物の管腔適用の１０分後に粘膜固有層中に存在した輸送されたＩＬ－１０ペイロード（例えば、白色の矢印番号３を参照のこと）のさらにより高い量を示している。

【０７１８】

このデータは、配列番号４に記載の配列を有するコリックス由来担体（Ｎ末端メチオニンをさらに含む）が、送達構築物（配列番号５）の管腔適用の早くも１分後の、粘膜固有層におけるＩＬ－１０ペイロードの存在によって実証されたように、インタクトな極性化腸上皮細胞を横断してｉｎ　ｖｉｖｏでＩＬ－１０ペイロード（配列番号２）を迅速かつ効率的に輸送することが可能であることを実証している。この実験の過程にわたって、輸送されたＩＬ－１０の増加する量が、粘膜固有層において検出された。

【０７１９】

（実施例３３）

配列番号５の送達構築物のエレメントは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで機能的に活性である

【０７２０】

この実施例は、半透膜上でｉｎ　ｖｉｔｒｏで培養したヒト小腸細胞の極性化したコンフルエントな単層を使用して検証した、腸上皮を横断してＩＬ－１０ペイロード（配列番号２）を輸送するコリックス由来担体（配列番号４）の能力の機能的評価を提供する（図１１８）。かなり大きい分子量にもかかわらず、送達構築物（配列番号５）は、組換えヒトＩＬ－１０（ｒｈＩＬ－１０）よりも高い程度まで、これらの単層を横断して輸送され、これは、配列番号５のコリックス由来担体が、頂端から基底（Ａ→Ｂ）へのトランスサイトーシスを受けるその能力を保持していることを実証している。送達構築物（配列番号５）を次にｉｎ　ｖｉｔｒｏで試験して、融合タンパク質のＩＬ－１０エレメントが生物学的に活性であったことを保証した。ＩＬ－１０シグナル伝達に関与する２つの受容体（

ＩＬ－１０ＲＡおよびＩＬ－１０ＲＢ）を発現し、リガンド誘導性受容体二量体化の結果として蛍光事象を示すように操作されたＵ２ＯＳ骨肉腫細胞系を使用して、増加する用量の送達構築物、コリックス由来担体単独およびｒｈＩＬ－１０単独を試験した。送達構築物は、ｒｈＩＬ－１０についての９１．５３ｐＭと比較して、９７１．４ｐＭのＥＣ５０を有したが（図１１９）、コリックス由来担体単独は、ＩＬ－１０Ｒ二量体化を誘導しなかった。下流のポテンシーを評価するために、シグナル伝達および転写活性化因子３（ＳＴＡＴ３）のリン酸化を誘導する送達構築物、ｒｈＩＬ－１０またはコリックス由来担体の潜在力を、マウスマクロファージＪ７７４．２細胞を使用して試験した。配列番号５の送達構築物は、このアッセイにおいて、ｈＩＬ－１０の市販の調製物についての４０．９８ｐＭと比較して、２６３．６ｐＭのＥＣ５０を実証した（図１２０）。特に、送達構築物は、２．１９％のｈＩＬ－１０と比較して、約１．４７％の、ｐＳＴＡＴ３／総ＳＴＡＴ３の低減された大きさを有する。最後に、配列番号５の送達構築物によるヒト末梢血単核球（ＰＢＭＣ）の事前処置は、分泌された腫瘍壊死因子アルファ（ＴＮＦα、図１２１）およびＨＬＡ－ＤＲの表面発現（図１２２）の用量依存的低減を生じたが、内毒素（リポポリサッカリド）処置によって通常誘導される分泌されたＩＬ－６（図１２３）の用量依存的低減は生じなかった。合わせると、これらのデータは、ＧＳポリペプチド配列スペーサーを介してｈＩＬ－１０を配列番号４のコリックス由来担体に結合させることで、腸粘膜固有層内の細胞に到達し、その区画においてＩＬ－１０受容体シグナル伝達経路を活性化するために要求される特性を保持したキメラが生成されたことを示している。

【０７２１】

（実施例３４）

配列番号５の送達構築物のｉｎ　ｖｉｖｏでのトランスサイトーシス

【０７２２】

この実施例は、ＰＢＳ、ｒｈＩＬ－１０または送達構築物による経口胃管栄養の４０分後に単離されたラット腸組織を使用してｐＳＴＡＴ３誘導を試験することによって、配列番号５の送達構築物が効率的なトランスサイトーシスをｉｎ　ｖｉｖｏで受けることができるかどうかの評価を提供する。ＰＢＳ処置動物由来の組織の免疫蛍光顕微鏡は、粘膜固有層または腸上皮のいずれにおいても、ｈＩＬ－１０に対する免疫反応性またはｐＳＴＡＴ３誘導の存在を示すことができなかった（図１２４）。一部の例では、ｒｈＩＬ－１０処置動物は、腸細胞においてｐＳＴＡＴ３誘導を示したが、粘膜固有層内の細胞においては示さなかった；組織内ではｈＩＬ－１０は検出されなかった（図１２５）。この観察は、腸上皮細胞が、障壁機能の発達および維持に関連するある特定の条件下で、それらの頂端表面にＩＬ－１０受容体を発現し得るという、マウスにおける知見と一致している。配列番号５のＩＬ－１０送達構築物で処置した動物から単離された組織は、広範な量のｈＩＬ－１０および粘膜固有層内のｐＳＴＡＴ３陽性の多数の細胞を実証した（図１２６）。試験物品がどのように腸ＩＬ－１０シグナル伝達経路に影響を与えたかを定量化するために、画像分析を行った：ハイスループット画像バッチを収集し、上皮対粘膜固有層の局在化によって、次いで、細胞特色によってセグメンテーションした。得られたセグメンテーションパターンは、構成成分データに適用されるバイナリマップの作成を可能にし、核ｐＳＴＡＴ３＋細胞の腸絨毛分布スコアリングを生じた（図１２７）。配列番号５の送達構築物で処置した組織は、粘膜固有層内および腸細胞中の両方の細胞において、ＰＢＳ処置動物またはｒｈＩＬ－１０処置動物から収集された腸組織において観察されたものよりも大きいｐＳＴＡＴ３誘導を示した。

【０７２３】

この実施例もまた、配列番号５の送達構築物が炎症を生じた腸組織を横断して輸送され得るかどうかを評価した。ＣＤ４＋ＣＤ４５ＲＢｈｉｇｈ　Ｔ細胞の移入によって誘導された大腸炎のマウスモデルを、ＰＢＳ中約１６０ｐモルのＩＬ－１０送達構築物またはｒｈＩＬ－１０が遠位回腸、または結腸の近位、中間もしくは遠位領域中に投与されるＩＬＩ形式で使用した（図１２８）。腸組織の組織病理学的微視的評価により、結腸の全てのレベルにおいて炎症が確認されたが、回腸では確認されなかった。ＩＬＩの１０分後に、

遠位回腸組織は、ｒｈＩＬ－１０処置と比較して、配列番号５の送達構築物について、約５倍高いレベルのｈＩＬ－１０を含んだ；炎症を生じた組織では、配列番号５の送達構築物のＩＬＩ後に測定されたｈＩＬ－１０レベルは、ｒｈＩＬ－１０処置と比較して約１０倍高かった（図１２８）。非炎症遠位回腸と比較して炎症を生じた結腸において観察されたｈＩＬ－１０のより高い組織レベルは、これらの組織の障壁特性における差異に起因する可能性が高かった。ＩＬＩの４０分後の時点で試験した組織は、配列番号５の送達構築物を介して送達されたｈＩＬ－１０が、１０分の時点で得られたデータを反映しており、より高い相対的取り込みが非炎症遠位回腸において観察されたことを示唆した（データ示さず）。重要なことに、ｈＩＬ－１０は、全身循環では観察されなかった（図１２８）。

【０７２４】

アッセイを行って、配列番号５の送達構築物の遺伝的構築が、極性化腸細胞におけるリソソーム分解経路を標的化することなしに、受容体媒介性取り込みおよび小胞輸送に関与するコリックス由来担体によって付与されるはずのＡ－Ｂトランスサイトーシス特性を保持したことを保証した。配列番号５の送達構築物の融合タンパク質のコリックス由来担体およびｈＩＬ－１０エレメントは、Ａ－Ｂトランスサイトーシスの間、粘膜固有層内で一緒のままであり、ｈＩＬ－１０の局在化が配列番号５の送達構築物の分布を正確に記載するのを可能にした（図１２９）。Ｒａｂ７＋小胞（後期エンドソームを定義する）は、腸細胞の頂端および基底の両方の小胞区画中に存在し、送達構築物との共局在化は、頂端小胞区画において主に生じた（図１３０）。Ｒａｂ１１＋小胞（リサイクリングエンドソームを定義する）もまた、腸細胞の頂端および基底の両方の区画において観察されたが、Ｒａｂ７とは反対に、共局在化は、大部分が基底小胞区画において生じた（図１３１）。配列番号５の送達構築物は、粘膜固有層中の細胞内のＲａｂ７と比較して、より高い程度までＲａｂ１１と共局在化した（図１３０および１３１）。

【０７２５】

小胞体－ゴルジ中間区画（ＥＲＧＩＣ）に存在し、タンパク質および脂質の選別またはリサイクルに関与することが公知のＭＡＮ１（レクチン、マンノース結合１）タンパク質は、コリックストランスサイトーシスに関与することが示されている。配列番号５の送達構築物は、Ａ－Ｂトランスサイトーシスの間に、再分布するＬＭＡＮ１とも共局在化した（図１３２）：送達構築物が管腔膜に進入したばかりの１分の時点では、ＬＭＡＮ１は、頂端区画中に局在化した；５分の時点では、ＬＭＡＮ１、および内在化された配列番号５の送達構築物の一部は、ＥＲＧＩＣ分布に関連する核上領域中に存在した；１０分の時点までに、配列番号５の送達構築物およびＬＭＡＮ１は、基底区画中で広範に共局在化した；１５分の時点までに、腸細胞の至る所でのＬＭＡＮ１の再分布および配列番号５の送達構築物との共局在化の程度は、最大化された。基底区画へのＬＭＡＮ１再分布のタイミングは、ｈＩＬ－１０がＬＭＡＮ１に関連しなかった、粘膜固有層内の極性化していない細胞において最終的に検出されるｈＩＬ－１０の存在と同時に起こる。配列番号５の送達構築物のＡ－Ｂトランスサイトーシスに関連するＬＭＡＮ１のこの再分布は、コリックスについて以前に観察されたものと同一である。

【０７２６】

コリックスによってアクセスされるＡ－Ｂトランスサイトーシス経路は、Ｒａｂ７＋およびＬＡＭＰ１＋小胞と交差することが示されている；一方で、これらは、後期エンドソームおよびリソソームの両方のマーカーであり、コリックスは、腸細胞内のリソソーム様構造に輸送されないようである。配列番号５の送達構築物についてこの点を試験するために、ＬＡＭＰ１および送達構築物の共局在化の時間経過を行った（図１３３）。限定的なＬＡＭＰ１／送達構築物共局在化が、ＩＬＩの１分後に、極性化腸細胞において観察され、これらの程度は、送達構築物のＡ－Ｂトランスサイトーシスの完了のために要求される１５分の時間経過にわたって増加しなかった。粘膜固有層内の極性化していない細胞中のＬＡＭＰ１＋構造は、ＩＬＩの１分後および５分後に、配列番号５の送達構築物との共局在化を示さなかった。しかし、ＩＬＩの１０分後および１５分後に、粘膜固有層内の極性化していない細胞において、広範なＬＡＭＰ１／送達構築物共局在化が存在した。合わせ

ると、これらのデータは、配列番号５の送達構築物のＡ－Ｂトランスサイトーシスが、１０～１５分の時間経過を経て完了し、コリックスのＡ－Ｂトランスサイトーシスについて以前に観察されたものと類似の、腸細胞における頂端区画Ｒａｂ７＋小胞、基底区画Ｒａｂ１１＋小胞、ＬＭＡＮ１再分布、およびリソソーム運命の回避に関与したことを示唆している。最終的に、送達構築物は、粘膜固有層内の細胞の大きい画分内のリソソーム様構造に送達され、これは、Ａ－Ｂトランスサイトーシス後のその全身分布を制限する成果である。

【０７２７】

（実施例３５）

粘膜固有層中のマクロファージは、配列番号５の送達構築物によって活性化される

【０７２８】

配列番号５の送達構築物がｉｎ　ｖｉｖｏで生物学的に活性であることを決定した後、送達構築物の細胞標的を、免疫蛍光顕微鏡を使用して調査した。粘膜固有層へのｈＩＬ－１０送達の実証は、ｐＳＴＡＴ３誘導および免疫細胞標識化と共に、マウス空腸組織試料において示された（図６７）。経口胃管栄養の４０分後のこの時点では、ｈＩＬ－１０は、腸細胞の基底領域において、ならびに乳糜管および／または血管と一致した粘膜固有層内の直線的機構において観察された。検出されたｈＩＬ－１０に隣接するエリアは、粘膜固有層内の多くの細胞において、強いｐＳＴＡＴ３発現を実証し、極性化腸細胞の一部の核において、かなりより低いレベルまでｐＳＴＡＴ３発現を実証した。粘膜固有層内の中等度の割合のＣＤ３＋細胞が、ｐＳＴＡＴ３と共局在化することが観察された：この区画内に存在する多くのＣＤ３＋細胞は、ｐＳＴＡＴ３について陽性ではなく、ＣＤ３について陽性でない多くのｐＳＴＡＴ３＋細胞が存在した（図１３４）。しかし、マクロファージ特異的マーカーＦ４／８０を使用して、本発明者らは、ｐＳＴＡＴ３との広範な共局在化を観察した（図１３５および１３６）。Ｆ４／８０およびｐＳＴＡＴ３標識化のさらなる例は、マウスにおける配列番号５の送達構築物の胃管栄養投薬後に得られた小腸（図１３７）および結腸（図１３８）から得られた組織試料において強調され、これは、粘膜固有層内のマクロファージ細胞集団の広範なＩＬ－１０活性化と一致した。これらの結果は、配列番号５の送達構築物が、そのコリックス由来担体エレメントによって駆動される相互作用をおそらくは介して、Ａ→Ｂトランスサイトーシス後にＣＤ３＋Ｔリンパ球を最終的に標的化したが、マクロファージはｈＩＬ－１０エレメントによって広範に標的化されたことを示唆している。

【０７２９】

（実施例３６）

循環ＩＬ－１Ｒａおよび全身ｈＩＬ－１０は、マウスにおいて、配列番号５の送達構築物による経口胃管栄養に応答して増加する

【０７３０】

ＩＬ－１βの炎症作用は、ＩＬ－１Ｒａとして公知の特異的受容体アンタゴニストの存在によってモジュレートされる。増加した血清ＩＬ－１Ｒａレベルは、ＩＬ－１０によって誘導され得、これは、炎症促進状態の非存在下で生じ得る。どのくらい多くの生物学的に活性な送達構築物が胃から放出されて小腸に達するか、およびそれがいつ起こるか、ならびに経口胃管栄養後の粘膜固有層内でのその取り込みおよび作用のタイミングに関連する不確実性を理解した上で、本発明者らは、ＩＬ－１Ｒａが、ＩＬ－１０送達構築物の作用のバイオマーカーとして非炎症マウスにおいて機能するかを試験した。

【０７３１】

１０ｍｇ／ｋｇの配列番号５の送達構築物の経口胃管栄養は、早くも１時間で全身循環において検出された約５０ｐＭのｈＩＬ－１０を生じたが、これは、４時間の時点で約７００ｐＭまで増加した（図１３９）。遠位小腸（図１４０）および結腸（図１４１）組織におけるｈＩＬ－１０の検出は、１時間および２．５時間の時点では、ベースラインを上回って有意に上昇されることはなかったが、４時間の時点では、高い変動性を伴って、僅かな増加が示された；小腸溶解物中のｈＩＬ－１０は、結腸溶解物よりも約１０倍高かっ

た。血清ＩＬ－１Ｒａレベルは、４時間の時点で有意に増加した（図１４２）。これらの結果は、ＩＬ－１Ｒａ誘導の開始が、経口胃管栄養後２．５～４時間の間に起こることを実証し、ほぼ同時に、ｈＩＬ－１０の組織レベルにおける検出可能な増加が、遠位小腸および結腸組織において観察された。この結果は、遠位小腸および結腸組織において、送達構築物の取り込み後に、ＩＬ－１Ｒａのほぼ即座の誘導が存在したこと、またはこの誘導が、経口胃管栄養後に、上部小腸において、送達構築物のほぼ迅速な取り込みの数時間後に生じたことのいずれかを示唆している。この問題を試験するために、送達構築物を、非ヒト霊長類モデルにおいて、結腸腸粘膜の管腔表面上に直接沈着させた。

【０７３２】

（実施例３７）

非ヒト霊長類（ＮＨＰ）における配列番号５の送達構築物による結腸内噴霧後のＩＬ－１Ｒａの誘導

【０７３３】

外用噴霧アプローチを使用して、健康な絶食非ヒト霊長類（カニクイザル）の結腸粘膜（近位、中間および遠位）の管腔表面上に、１、３または１０ｍｇ（総用量）の配列番号５の送達構築物を投与した。これは、関連した噴霧ノズルを有する結腸鏡を使用して達成した。この方法で、ＩＬ－１Ｒａ誘導の開始および持続時間についての詳細な情報が、特定の局所用量において得られ得る。ＩＬ－１Ｒａの循環レベルは、試験した最も低い用量における飽和に近いこの応答を示唆する様式で、結腸噴霧後２～３時間の間に増加した（図１４７）。結腸組織生検におけるｐＳＴＡＴ３誘導の分析は、管腔適用後に配列番号５の送達構築物が粘膜固有層に達するための約１５分間と相関する、この事象についての開始およびベースラインまでの回復の、見込まれた時間経過を示した（図１４８）。検出されたｐＳＴＡＴ３／総ＳＴＡＴ３の変動性は、このｉｎ　ｖｉｖｏモデルにおける組織捕捉および安定性の課題と一致した。組織送達構築物レベルの測定は、収集された組織試料における低い可変性の量を示す、類似の組織捕捉および安定性の課題を有している（図１４３）。重要なことに、配列番号５の送達構築物は、結腸組織において検出され得るが、送達構築物の血清レベルは、腸粘膜固有層におけるこの材料の保持と一致して、アッセイ検出限界を下回った（図１４５）。ＩＬ－１０は、より多くのＩＬ－１０を生成するように細胞を誘導することができるので、本発明者らは、誘導されたＩＬ－１０もまた期待した。配列番号５の送達構築物による結腸内噴霧後１５分以内に、組織ＩＬ－１０レベルにおける用量依存的な一過性の増加が観察された（図１４４）。ＩＬ－１０の血清レベルもまた、結腸噴霧によって投薬された送達構築物の量に対して用量依存的な様式で増加した（図１４６）；これらの増加した血清レベルは、ピコモル濃度範囲にあり続けてはいるが、結腸組織において観察されたものよりも長持ちした。ヒトおよびＮＨＰのＩＬ－１０の類似性に起因して、示されたＥＬＩＳＡ値は、送達構築物分子の担体ドメインから何らかの形で分離されたｈＩＬ－１０もまた含み得ることに留意することが重要である。これは排除することができないが、これを成果として支持する他のデータは存在せず、全てではないにしても、測定された組織および血清ＩＬ－１０の大部分が、可能性として、ＮＨＰ供給源を示すようである。

【０７３４】

（実施例３８）

プロセシングの間の二量体安定性についての塩スクリーニング

【０７３５】

種々の塩および塩濃度のスクリーニングを行って、種々の液体媒体におけるＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）の安定性を評価した。製剤を、表５３に示される塩および塩濃度を有するｐＨ７．０の１０ｍＭリン酸ナトリウム中２０ｇ／Ｌの送達構築物を用いて調製した。二量体形態、単量体形態および高分子量凝集体（ＨＭＷ　Ａｇｇ）で存在するＩＬ－１０送達構築物のパーセンテージを、以前に示されたように、サイズ排除ＨＰＬＣによって評価した。表５３は、製剤化の直後および２５℃で２日間のインキュベーションの後の結果を示す。表５４は、初期時点におけるさらなる塩濃度についての結果を示す。評

価した製剤のうち、１×ＰＢＳ、１５０ｍＭおよび２００ｍＭＮａＣｌが、最も高い安定性を示した。より高い濃度を、Na_2SO_4およびNH_4SO_4について検討した（データ示さず）。しかし、ＩＬ－１０送達構築物は、緩衝液交換の間に沈殿すると思われた。

表５３－異なる塩製剤中のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体パーセンテージ

【表５３－１】

製剤	t0			25C, 2日間		
	HMW Agg	二量体	単量体	HMW Agg	二量体	単量体
出発材料	3.5	88.8	7.7	5.1	86.76	8.2
NaCl 150mM	3.7	91.3	5.0	6.3	83.9	9.8
NaCl 200mM	2.8	91.7	5.4	5.7	84.3	9.97
NaCl 250mM	3.6	91.4	4.97	5.5	84.3	10.1
KCl 50mM	3.5	91.6	4.9	7.0	84.1	8.9

【表５３－２】

KCl 100mM	3.9	91.5	4.6	7.8	81.5	10.6
KCl 150mM	3.1	91.6	5.3	6.3	83.9	9.8
$MgCl_2$ 25mM	9.6	85.6	4.8	40.8	52.8	6.4
$MgCl_2$ 50mM	8.5	87.2	4.3	31.9	60.5	7.5
$MgCl_2$ 75mM	7.2	86.2	6.6	23.0	67.9	9.0
Na_2SO_4 250mM	3.3	90.9	5.7	5.0	82.5	12.5
Na_2SO_4 500mM	4.2	90.9	4.9	6.7	83.4	9.9
NH_4SO_4 250mM	3.2	89.6	7.1	6.1	79.6	14.3
NH_4SO_4 500mM	3.5	89.7	6.8	8.5	74.1	17.4

表５４－異なる塩製剤中のＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）二量体パーセンテージ

【表５４－１】

緩衝液	塩	濃度	HMW Agg	二量体	単量体
出発材料			3.1	92.3	4.6
10mM リン酸ナトリウム	NaCl	150mM	3.3	91.8	4.9
		500mM	2.7	92.0	5.2
		1M	2.8	91.6	5.6
	Na_2SO_4	25mM	3.1	91.7	5.2
		50mM	2.9	91.9	5.1
		75mM	3.4	91.4	5.2

【表５４－２】

	NH_4SO_4	25mM	4.1	90.5	5.4
		50mM	2.9	91.9	5.2
		75mM	3.2	91.5	5.3
		100mM	3.2	91.0	5.8

【０７３６】

（実施例３９）

ＩＬ－１０送達構築物のための、Ｓ－６５０Ｆ陽イオン交換カラムを用いた異なる精製条件の比較

【０７３７】

ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を、図２Ｂに記載されたプロセスと類似のプロセスを使用して、封入体から精製した。リフォールディングを、１ｍＭ還元型グルタチオン、０．５ｍＭ酸化型グルタチオン、１Ｍアルギニン－ＨＣｌ、２５０ｍＭスクロース、４℃でｐＨ８．５の１００ｍＭ　Ｔｒｉｓ、および２ｍＭ　ＥＤＴＡを含むリフォールディング溶液中で４℃で行った。ＩＬ－１０送達構築物（配列番号５）を、表５５～５７に記載される３つのプロセストレインの各々を使用して精製した。表５６中のＣＨＴ結合／溶離ステップのための緩衝液Ａは、２５ｍＭ　Ｔｒｉｓ、ｐＨ７．５、３００ｍＭ　ＮａＣｌ、５．０ｍＭ　ＮａＰｉ、０．５ｍＭ　$CaCl_2$もまた含み得る。使用したカラムは表５８に記載される。

【０７３８】

表５５：プロセストレイン１

【表５５－１】

カラム	緩衝液Ａ	緩衝液Ｂ	試料調製	カラム平衡化	カラム洗浄	溶離
Capto Q ImpRes	25 mM Tris pH7.5	25 mM Tris pH7.5, 1M NaCl	2xUFDF (25 mM Tris pH7.5, 150 mM NaCl)	15% B	15% B	15-40% B, 16 CV
S-650F	20 mM NaPi pH7.0	20 mM NaPi pH7.0, 1M NaCl	40 mM NaPi pH7.0 で 1/1 希釈	20% B	20% B	20-45% B, 10 CV
CHT (FT-モード)	80 mM NaPi pH7.0	200 mM NaPi pH7.0	60mM の最終になるように 1M NaPi pH7.0 を添加する	0% B	100% B	FT-モード

【表５５－２】

			(X L x 0.0417)			

【０７３９】

表５６：プロセストレイン２

【表５６】

カラム	緩衝液 A	緩衝液 B	試料調製	カラム平衡化	カラム洗浄	溶離
Capto Q ImpRes	25 mM Tris pH7.5	25 mM Tris pH7.5, 1M NaCl	2xUFDF (25 mM Tris pH7.5, 150 mM NaCl)	15% B	15% B	15-40% B, 16 CV 勾配溶離
CHT (結合/溶離)	25 mM Tris pH7.5, 150 mM NaCl	200 mM NaPi pH7.0	なし	0% B	0% B	30%B 2CV 段階溶離
S-650F	20 mM NaPi pH7.0	20 mM NaPi pH7.0, 1M NaCl	水で 1:1 希釈	20% B	20% B	20-45% B, 10 CV 勾配溶離

【０７４０】

表５７：プロセストレイン３

【表５７－１】

カラム	緩衝液A	緩衝液B	試料調製	カラム平衡化	カラム洗浄	溶離
S-650F	20 mM NaPi pH7.0	20 mM NaPi pH7.0, 1M NaCl	2xUFDF (NaPi pH7.0, 200 mM)	20% B	20% B	ステップ勾配 (45% B), 2-3 CV
Capto Q ImpRes	25 mM Tris pH7.5	25 mM Tris pH7.5, 1M NaCl	75 mM Tris pH7.5 で 1/2 希釈	15% B	15% B	15-40% B, 16 CV

【表５７－２】

CHT (FT-モード)	40 mM NaPi pH7.0	200 mM NaPi pH7.0	60mM の最終になるように 1M NaPi pH7.0 を添加する (X L x 0.064)	0% B	100% B	FT-モード

【０７４１】

表５８：カラム

【表５８】

カラム	DBC	出発量 (5 L リフォールディング)	カラム体積
Capto Q ImpRes	16 g/L	5 g (20 cm h)	320 mL
S-650F	20 g/L	200 mg (20 cm h)	41 mL
CHT	20 g/L	200 mg (20 cm h)	106 mL

【０７４２】

ＩＬ－１０送達構築物の収量、回収および純度を、各ステップ後および各プロセストレイン後に評価した。表５９は、プロセストレイン２と対照プロセスとの間の比較を示す。

【０７４３】

表５９：プロセストレイン２（ＰＴ２）と対照との間の比較

【表５９】

名称	プロセス	収量	純度	回収
PT2	Capto Q ImpRes CHT 段階 B/E 80 mM NaPi S-650F	26 mg	78.5%	1%
対照	Capto Q ImpRes CHT 勾配 B/E	68 mg	78.2	1.5%

【０７４４】

表６０：異なるプロセストレインの比較

【表６０】

プロセストレイン	クロマトグラフィー	純度	回収	内毒素
対照*	Capto Q CHT (線形溶離)	*85%	-	*8 EU/mg
PT1	Capto Q S-650F CHT (FT モード)	92%	24%	8.9 EU/mg
PT2	Capto Q CHT (段階溶離) S-650F	91%	24%	5 EU/mg
PT3	S-650F Capto Q CHT (FT モード)	96%	20%	0.4 EU/mg

＊病歴データに基づく

【０７４５】

表６０は、３つの異なるプロセストレインと、Ｓ－６５０Ｆカラムなしの対照プロセストレインとの比較を示す。Ｓ－６５０Ｆ陽イオン交換カラム精製を用いる３つ全てのプロセストレインは、より高い純度のＩＬ－１０送達構築物を生じた。プロセストレイン２および３は、対照プロセスよりも低いレベルの内毒素を生じた。陽イオン交換樹脂は負に荷電しており、したがって、正の電荷を有するタンパク質に結合するので、陽イオン交換樹脂がＩＬ－１０送達構築物の精製において有用であったことは、驚くべきことであった。ここで、ＩＬ－１０送達構築物は、５．４９の計算された等電点（ｐＩ）を有し、したがって、陽イオン交換クロマトグラフィーにおいて従来から使用されている条件下では、負の電荷を有すると見込まれる。しかし、驚くべきことに、ＩＬ－１０送達構築物は、陽イオン交換樹脂に結合した。

【０７４６】

Ｓｕｌｆａｔｅ－６５０Ｆ樹脂へのＩＬ－１０送達構築物の結合についての可能な説明は、ＩＬ－１０送達構築物についての計算されたｐＩは５．４９であるが、各ドメイン（コリックスおよびＩＬ－１０）が、それ自身の独自の特性を維持し、構築物全体のｐＩとは顕著に異なる局所ｐＩを有するというものである。例えば、ＩＬ－１０の計算されたｐＩは、８．１であり、作業条件（例えば、ｐＨ７）下では、ＩＬ－１０送達構築物は、陽イオン交換樹脂に結合する正に荷電したＩＬ－１０ドメインを有する。

（実施例４０）

抗ＴＮＦ療法に対する応答不十分（部分応答）を実証した活動性関節リウマチを有する成人における、ランダム化二重盲検プラセボ対照探索薬試験

【０７４７】

ＩＬ－１０は、炎症の全身徴候および調節性Ｔ細胞の発達を低減させつつ、インフラマソームだけでなく、マクロファージ活性化およびＩＬ－１、ＩＬ－６、ＴＮＦアルファ、

ＭＭＰ－１／２の分泌で始まるＲＡに関連することが見出された多くの炎症事象もまた阻害するので、自然および適応免疫系のマスター調節因子とみなされている。

【０７４８】

ＩＬ－１０送達構築物の経口送達は、薬物の高い全身レベルを回避しつつ、ＧＩ粘膜免疫系へのＩＬ－１０の局所送達を提供する。ＧＩ粘膜へのＩＬ－１０の局所送達の提供は、全身免疫調節をもたらすことができる可能性もある。ＧＩ粘膜を介した免疫細胞輸送の際の免疫細胞活性のモジュレーションは、これらの細胞が身体中を次いで移動する際に、有効な全身免疫調節を生じ得る。したがって、ＧＩ粘膜免疫系へのＩＬ－１０の標的化送達は、増強された安全性を伴って、例えば、関節リウマチ対象の処置のための有効な免疫調節を引き起こすことができる可能性がある。

【０７４９】

この研究は、ＴＮＦ阻害剤に対する部分応答のみを実証した活動性関節リウマチを有する対象における、ＩＬ－１０送達構築物を介した１２週間の連日経口ＩＬ－１０の安全性および忍容性を評価する。この研究は、疾患活動性スコア２８（ＤＡＳ－２８）（ＣＲＦ）、簡易疾患活動性インデックス（ＳＤＡＩ）および臨床疾患活動性インデックス（ＣＤＡＩ）における変化によって、ＩＬ－１０送達構築物による１２週間の連日経口処置の生物学的活性もまた評価する。さらに、この研究は、ＩＬ－１０送達構築物の薬物動態学的および薬力学的効果を試験し、ＩＬ－１０送達構築物の免疫原性を試験する。この研究はまた、ＩＬ－１０送達構築物を介した１２週間の連日経口ＩＬ－１０後に、障害なしの健康評価質問票インデックス（ＨＡＱ－ＤＩ）を用いて生活の質（ＱＯＬ）を評価する。

【０７５０】

これは、抗ＴＮＦ療法に対する応答不十分（部分応答）を有した活動性関節リウマチを有するおよそ１８人の対象におけるランダム化二重盲検プラセボ対照研究である。対象を、１２週間にわたってＩＬ－１０送達構築物またはプラセボのいずれかを受けるように、２：１の比でランダム化する。研究集団は、抗ＴＮＦ療法に対する応答不十分（部分応答）を有した活動性関節リウマチを有する成人対象を含む。

【０７５１】

以下の組み入れ基準に適合した場合、その対象を研究に含める。対象は、インフォームドコンセントの時点で、≧１８歳かつ＜７５歳の年齢である。対象は、１９８７ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｏｌｌｅｇｅ ｏｆ Ｒｈｅｕｍａｔｏｌｏｇｙ（ＡＣＲ）または２０１０ ＡＣＲ／Ｅｕｒｏｐｅａｎ Ｌｅａｇｕｅ Ａｇａｉｎｓｔ Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（ＥＵＬＡＲ）基準の下での関節リウマチ（ＲＡ）の診断を有する。対象は、承認された投薬量および投与の下で、≧１２週間にわたって抗ＴＮＦ生物製剤処置を受けているが、部分応答のみを有した。生物製剤処置の履歴は、アダリムマブ、インフリキシマブ、ゴリムマブ、エタネルセプト（バイオシミラーを含む）の中の１または２種の抗ＴＮＦ剤に限定されるべきである。対象は、スクリーニング段階において、ＭＲＩ／ＦＯＩによる活動性疾患を示す少なくとも１つの関節、ならびに２つまたはそれよりも多くの圧痛関節（２８の関節のうち）および２つまたはそれよりも多くの関節腫脹を有する。対象は、完了までまたは研究中断まで、抗ＴＮＦの安定な用量レジメンを継続することができる。対象は、スクリーニング段階において、Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）レベル≧０．６ｍｇ／デシリットル（ｄＬ）または赤血球沈降速度（ＥＳＲ）≧２８ミリメートル／時間（ｍｍ／時間）を有する。対象は、≧３０キログラム（ｋｇ）かつ≦１００ｋｇの重量を有する。対象は、この研究に参加するために、書面による自発的同意を要求される。全ての対象は、研究への参加のための条件について十分に概要説明を受け、プロトコールの全ての側面を理解することができ、それに従う意思がありかつそれに従うことができなければならない。

【０７５２】

対象は、増加したリスクまたは可能な交絡因子を示唆し得る任意の医療歴を有する場合、研究から除外される。対象は、関節リウマチもしくはシェーグレン症候群以外の炎症性関節炎障害を有する場合、または関節リウマチクラスＩＶ（ＡＣＲ １９９１ Ｒｅｖｉ

ｓｅｄ Ｃｒｉｔｅｒｉａ ｆｏｒ ｔｈｅ Ｃｌａｓｓｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ Ｇｌｏｂａｌ Ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ Ｓｔａｔｕｓに従う）と診断されている場合、研究から除外される。対象は、免疫グロブリン調製物、血液生成物または生ワクチンを最近受けた場合にも、除外される。対象は、重度のアレルギー（ショックまたはアナフィラキシー様症状）の履歴を有する場合、この研究から除外される。対象は、がんまたは免疫不全の履歴またはその現在の状態を有する場合にも、除外される。感染性疾患の履歴を有するまたは現在の感染性疾患を有する対象もまた、除外され得る。対象は、妊娠中であっても授乳中であってもならず、試験の持続時間にわたって、かつ試験後しばらくの間、高度に有効な避妊の方法を使用することに同意しなければならない。対象は、治験責任医師または副治験責任医師の意見で、研究を安全に完了する参加者の能力を損なう医学的状態または付随する医学的状態の任意の履歴を有する場合、この研究から除外される。

転帰尺度

【０７５３】

対象を、身体検査、血液学、化学、ＥＫＧおよび尿検査によるものを含め、臨床的にモニタリングする。臨床的有効性を、いくつかの異なる尺度によって評価する。疾患活動性スコア２８（ＤＡＳ－２８）は、以下の構成成分の各々に与えられた差次的重み付けを有する、数学的に計算された持続的な複合エンドポイントである：圧痛関節数（２８の関節）、関節腫脹数（２８の関節）、急性段階反応物、および関節炎の患者の全体的評価。簡易疾患活動性インデックス（ＳＤＡＩ）は、関節腫脹および圧痛関節の数（肩、肘、手首、中手指骨関節および手の近位指骨関節）を測定する、患者および医師による疾患活動性の包括的評価ならびにＣＲＰ。ＣＤＡＩは、ＣＲＰ値を除外すること以外、ＳＤＡＩと同じである。ＨＡＱ－ＤＩは、毎日の生活活動の８つの分域における過去１週間の間に患者が経験した困難の程度を評価する：身支度および身繕い、起き上がり、摂食、歩行、衛生、手を伸ばすこと（ｒｅａｃｈ）、握りならびに他の活動。ＤＡＳ２８（症例報告形態）、ＳＤＡＩおよびＣＤＡＩは全て、ベースライン、２、４、８および１２週目において評価する；肉体的機能変化を評価するための健康評価質問票－障害インデックス（ＨＡＱ－ＤＩ）は、ベースライン、ならびに４、８、１２および１６週目（最後の用量の４週間後）において評価する。

【０７５４】

ＩＬ－１０送達構築物およびＩＬ－１０の血清レベルを、ベースライン、ならびに投薬の４、８および２４時間後に１日目に、ならびに２、４、８、１２および１６週目において評価する。

【０７５５】

評価される薬力学的マーカーには、ベースライン、ならびに１日目の２４時間、ならびに２、４、８、１２および１６週目において得られる、単球ＨＬＡ－ＤＲ発現；血清ＩＬ－１Ｒａ、ＣＲＰ、血清アミロイドＡ、ＶＣＡＭ－１、ＩＬ－１、ＩＬ－６、ＴＮＦアルファ、ＭＭＰ１／２、ＥＳＲ、ＥＧＦおよびＶＥＧＦ－アルファが含まれる。抗ＩＬ－１０送達構築物レベルの総計／力価を、１２および１６週目において評価する。

【０７５６】

対象安全性をモニタリングし、対象は、有害事象もしくは重篤有害事象、または臨床的に顕著な実験室変化を経験する場合、この研究から排除される。

【０７５７】

処置有効性を、以下における、経時的な変化、ならびに療法の完了時および完了の４週間後の変化の両方に関して、検討する：

１．　ＤＡＳ－２８（症例報告形態）、ＳＤＡＩおよびＣＤＡＩ；

２．　２．６未満のＤＡＳ－２８を有する対象の割合；

３．　ベースラインと比較したＨＡＱ－ＤＩ；ならびに

４．　急性段階反応物（ＣＲＦ、ＥＳＲ）における変化。

【０７５８】

ベースラインと比較した、１日目の８および２４時間、ならびに２、４、８および１２

週目の、ＩＬ－１０送達構築物および血清ＩＬ－１０レベルにおける変化をプロットし、検討する。バイオマーカーにおける変化を、単球ＨＬＡ－ＤＲ発現、血清ＩＬ－１Ｒａ、血清アミロイドＡ、ＶＣＡＭ－１、ＩＬ－１、ＩＬ－６、ＴＮＦアルファ、ＭＭＰ１／２、ＥＧＦおよびＶＥＧＦ－アルファについてのベースラインと比較する：ベースライン、ならびに１日目の８および２４時間、ならびに２、４、８および１２週目。１２および１６週目における抗薬物抗体の発生率を、ベースラインと比較する。陽性転帰は、ＴＮＦアルファ阻害剤単独と比較した、併用療法を用いた場合の、上述のパラメーターのいずれかにおける漸進的利益であり得る。

（実施例４１）

探索医学的試験　－　潰瘍性大腸炎ＴＮＦ部分応答者

【０７５９】

この研究は、抗腫瘍壊死因子α抗体処置に対する部分応答者である中等度から重度の活動性潰瘍性大腸炎を有する患者において、ＩＬ－１０送達構築物の有効性および安全性を評価することを目的とする。

【０７６０】

この研究は、ＴＮＦモノクローナル抗体阻害剤に対して部分応答のみを実証した中等度から重度の潰瘍性大腸炎を有する対象における、経口ＩＬ－１０送達構築物を介した１２週間の連日ＩＬ－１０の安全性および忍容性を評価する。この研究はまた、改訂Ｍａｙｏスコア、ＭＭＳサブスケールおよび組織病理学における変化によって、経口ＩＬ－１０送達構築物を介した１２週間の連日ＩＬ－１０の臨床活性を評価する。この研究は、ＩＬ－１０送達構築物の薬物動態学的および薬力学的効果、ならびにその免疫原性を試験する。

【０７６１】

これは、抗ＴＮＦ療法に対する応答不十分（部分応答）を有した中等度から重度の潰瘍性大腸炎を有するおよそ１２人の対象における非盲検研究である。対象は、抗ＴＮＦ療法の安定な用量を継続しながら、１２週間にわたって配列番号５のアミノ酸配列に対応するＩＬ－１０送達構築物を受け、さらに４週間にわたって安全性について追跡される。

【０７６２】

研究集団は、抗ＴＮＦモノクローナル抗体療法に対する応答不十分（部分応答）を有した中等度から重度の活動性潰瘍性大腸炎（ＧＰＡを除外する４～９の改訂Ｍａｙｏスコア、および２または３の中央読影Ｍａｙｏ内視鏡サブスコアを有する）を有する成人対象から選ばれる。

【０７６３】

潜在的対象を、以下の適格性基準によって評価する。組み入れのためには、全ての患者が、書面によるインフォームドコンセントを提出し、１８～７５歳の間でなければならない。

【０７６４】

対象は、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｃｏｌｌｅｇｅ　ｏｆ　Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙガイドラインに従ってＵＣの診断を有する。対象は、スクリーニングの時点で、以下として定義される、中等度から重度の活動性ＵＣを有する：４～９点の間の改訂Ｍａｙｏ　Ｃｌｉｎｉｃスコア（ＭＭＳ）、ならびにグレード２またはそれよりも高い中央読影ＭＣＳ内視鏡サブスコア、ならびに１点またはそれよりも高いＭＭＳ直腸出血サブスコア、ならびに肛門縁から１５ｃｍまたはそれよりも長く伸びる疾患。許容される付随する薬物適用の安定な用量には、以下が含まれる：Ｄ１投薬の２週間以上前の安定な経口コルチコステロイド（即ち、≦２０ｍｇ／日のプレドニゾン、≦９ｍｇ／日のブデソニド）；研究の間の治験責任医師の裁量に従う経口コルチコステロイドの漸減が許容される；Ｄ１投薬の２週間以上前の安定な経口５－アミノサリチル酸（５－ａｍｙｉｎｏｓａｌｉｃｙｌｉｃ　ａｃｉｄ）用量；Ｄ１投薬の２週間以上前の安定な用量のプロバイオティクス；ならびにＤ１投薬の２週間以上前の安定な下痢止め薬。患者は、ＵＣに対する抗腫瘍壊死因子アルファ療法を受けており、Ｄ１投薬前に応答不十分（部分応答）を実証していなければならず、またはスクリーニング前に抗ＴＮＦ療法に対してナイーブでなければならない；許容

される抗ＴＮＦには、インフリキシマブ（Ｒｅｍｉｃａｄｅ）、アダリムマブ（ｈｕｍｉｒａ）およびゴリムマブ（Ｓｉｍｐｏｎｉ）が含まれるが、エタネルセプトは除外する。

【０７６５】

シクロスポリンまたはタクロリムスで以前に処置された患者は、Ｄ１投薬の４週間以上前に療法を中断していなければならない。外用コルチコステロイドおよび外用５－アミノサリチル酸調製物は、Ｄ１投薬の２週間以上前に休薬されていなければならない。非ステロイド性抗炎症薬物（ＮＳＡＩＤ）は、Ｄ１投薬の４週間以上前に中断されていなければならない。トファシチニブまたは他のヤヌスキナーゼ（ＪＡＫ）阻害剤は、Ｄ１投薬の２週間以上前に中断されていなければならない。生殖能力を有する女性は、登録前に陰性の妊娠試験結果を有していなければならない。生殖能力を有する男性および女性は、研究開始から、研究薬物の最終用量の３カ月以上後まで、高度に有効な避妊の方法を使用する意思がなければならない。受胎調節の高度に有効な方法は、低い失敗率（年間１％未満）を生じる方法として定義される。

【０７６６】

対象は、以下のＧＩ関連の除外基準のいずれかを有する場合、この研究から除外される：不確定大腸炎（ＩＢＤ－Ｕ）または疑われるクローン病、結腸切除術の任意の履歴、回腸瘻造設術または人工肛門造設術の存在、結腸粘膜異形成または短腸症候群の履歴または証拠。

【０７６７】

対象は、以下の総体的健康関連の除外基準のいずれかを有する場合、この研究から除外される：妊娠中もしくは授乳中、治験責任医師の意見で、研究プロトコールに従うことができないこと、皮膚の完全に切除された基底細胞癌もしくは扁平上皮癌または子宮頸部の上皮内癌を除く、最近５年間の異形成もしくは悪性腫瘍の履歴、治験責任医師の判断に従う肝硬変もしくは活発なアルコール乱用、管理不良の糖尿病（ＨｂＡ１ｃ＞８．０％）、顕著なスクリーニング時ＥＣＧ異常、あるいは損なわれた腎機能。現在のまたは以前の臨床的に顕著な疾患の証拠、治験責任医師の意見では、患者の安全性またはデータの品質を損なう、検診における医学的状態または知見を有する対象は、この研究から除外される。

【０７６８】

対象を、身体検査、血液学、化学、ＥＫＧおよび尿検査によるものを含め、臨床的にモニタリングする。臨床的有効性を、いくつかの異なる尺度によって評価する。１２週目に臨床的寛解を有する患者の割合を評価する。臨床的寛解は、０／１の内視鏡サブスコア、０の直腸出血サブスコア、およびベースラインからの少なくとも１点の低減を有する０または１の排便頻度サブスコアとして定義される。臨床的寛解は、以下としても定義され得る：排便頻度＝０；排便出血＝０；０または１の内視鏡検査スコア。排便頻度サブスコアはまた、排便頻度サブスコア＝０または１を達成する、ベースライン（試験の開始時）からの排便頻度サブスコアにおける少なくとも１点の低下であり得る。

【０７６９】

内視鏡的応答を有する患者の割合を評価する。内視鏡的応答は、０または１の改訂Ｍａｙｏ　Ｃｌｉｎｉｃａｌスコア内視鏡サブスケールスコアとして定義される。ＧｅｂｏｅｓまたはＲｏｂａｒｔｓ組織病理学インデックスシステムを使用した、ベースラインからの組織学的活動性グレードの変化を評価する。組織学的治癒は、組織学的グレード＝０として定義される。

【０７７０】

ＩＬ－１０送達構築物およびＩＬ－１０の血清レベルを、ベースライン、ならびに１日目、２、４、８および１２週目に評価する。

【０７７１】

評価される薬力学的エンドポイントには、ベースライン、ならびに１日目、ならびに２、４、８、１２および１６週目に得られる、単球ＨＬＡ－ＤＲ発現；血清ＩＬ－１Ｒａ、ＣＲＰ、ＥＳＲ、便中カルプロテクチン変化、ＩＬ－１、ＩＬ－６、ＴＮＦアルファ、ＭＭＰ１／２およびＩＦＮｇが含まれる。

【０７７２】
抗ＩＬ－１０送達構築物レベルの総計／力価を、ベースライン、ならびに８、１２および１６週目に評価する。光学顕微鏡、免疫組織化学、フローサイトメトリーおよび遺伝子アレイによって試験した、ベースラインおよび処置段階の終了時における結腸の生検。
【０７７３】
対象安全性をモニタリングし、対象は、有害事象もしくは重篤有害事象、または臨床的に顕著な実験室変化を経験する場合、この研究から排除される。
【０７７４】
処置有効性を、以下における、経時的な変化、ならびに４、８および１２週間目、ならびに完了の４週間後の変化の両方に関して、検討する：
１．　改訂Ｍａｙｏスコアにおける変化；
２．　排便出血サブスケールにおける変化；
３．　排便頻度サブスケールにおける変化；
４．　内視鏡検査サブスケールにおける変化；
５．　急性段階反応物（ＣＲＦ、ＥＳＲ）における変化；および
６．　組織病理学スコア（ＧｅｂｏｅｓまたはＲｏｂａｒｔｓ）における変化。
【０７７５】
ベースラインと比較した、１日目の８および２４時間、ならびに２、４、８および１２週目の、ＩＬ－１０送達構築物および血清ＩＬ－１０レベルにおける変化をプロットし、検討する。ベースラインと比較したバイオマーカーにおける変化を、ベースライン、ならびに１日目の８および２４時間、ならびに２、４、８および１２週目における、単球ＨＬＡ－ＤＲ発現、血清ＩＬ－１Ｒａ、ＩＬ－１、ＩＬ－６、ＴＮＦアルファ、ＭＭＰ１／２、ＥＧＦおよびＶＥＧＦ－アルファについて検討する。１２および１６週目における抗薬物抗体の発生率を、ベースラインと比較する。特定の株を、免疫化学および／またはフローサイトメトリーおよび遺伝子アレイによって、浸潤性炎症細胞、および結腸上皮におけるＨＬＡ－ＤＲ発現を可視化するために使用する。陽性転帰は、ＴＮＦアルファ阻害剤単独と比較した、併用療法を用いた場合の、上述のパラメーターのいずれかにおける漸進的利益であり得る。
【０７７６】
本発明の好ましい実施形態が、本明細書に示され記載されてきたが、かかる実施形態が例としてのみ提供されていることは、当業者に明らかである。ここで、多数の変形形態、変化および置換が、本発明から逸脱することなしに、当業者に想起される。本明細書に記載される発明の実施形態の種々の代替法が本発明を実施する際に使用され得ることを理解すべきである。以下の特許請求の範囲が、本発明の範囲を定義すること、ならびにこれらの特許請求の範囲およびそれらの均等物の範囲内の方法および構造がそれによりカバーされることが意図される。

【図面】

【図１】

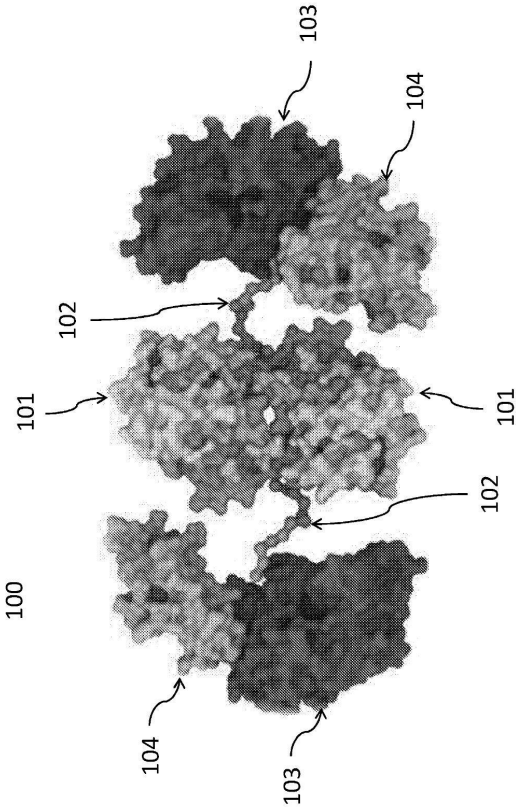


FIG. 1

【図２－１】

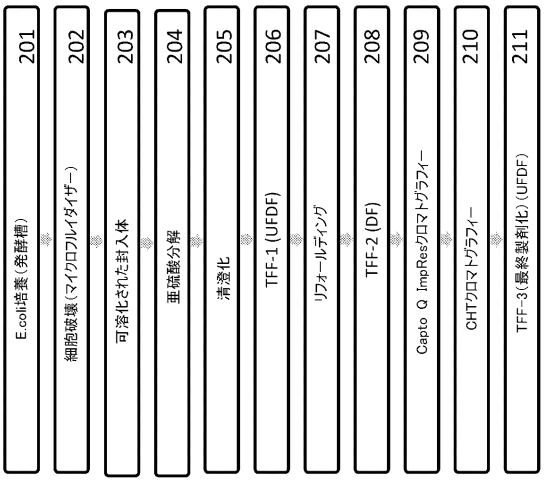


FIG. 2A

【図２－２】

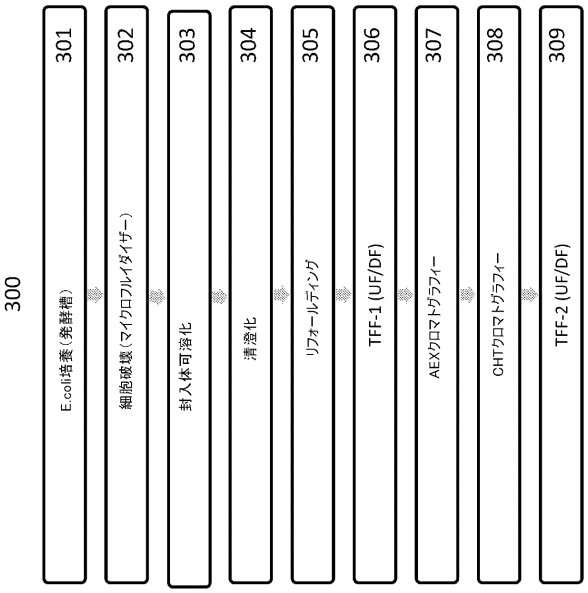


FIG. 2B

【図３】

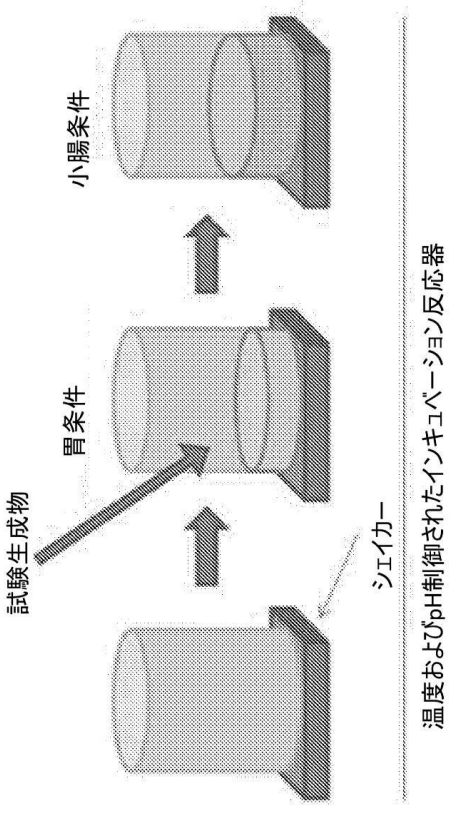


FIG. 3

【図４】

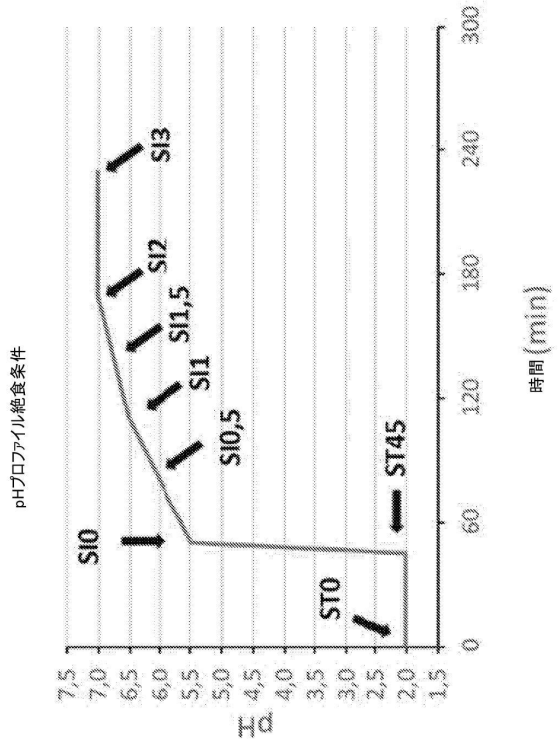


FIG. 4

【図５－１】

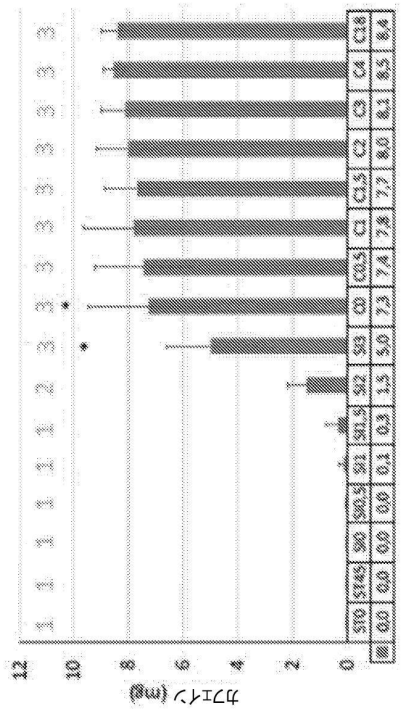


FIG. 5A

【図５－２】

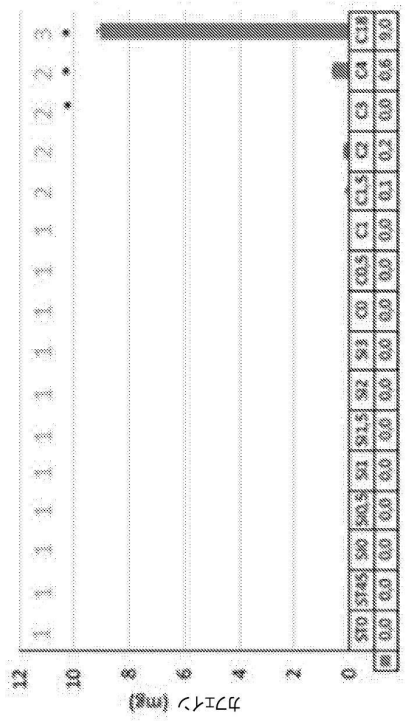


FIG. 5B

【図５－３】

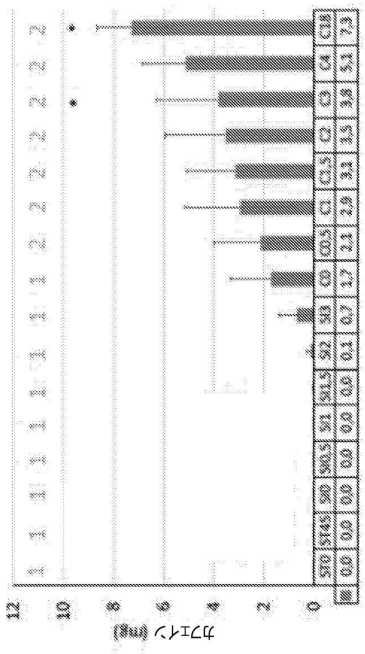


FIG. 5C

【図５－４】

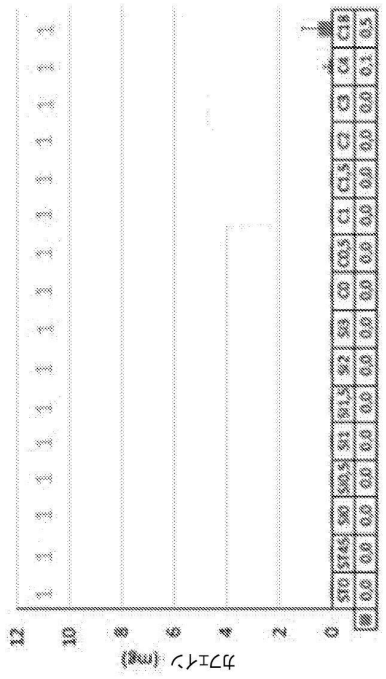


FIG. 5D

【図５－５】

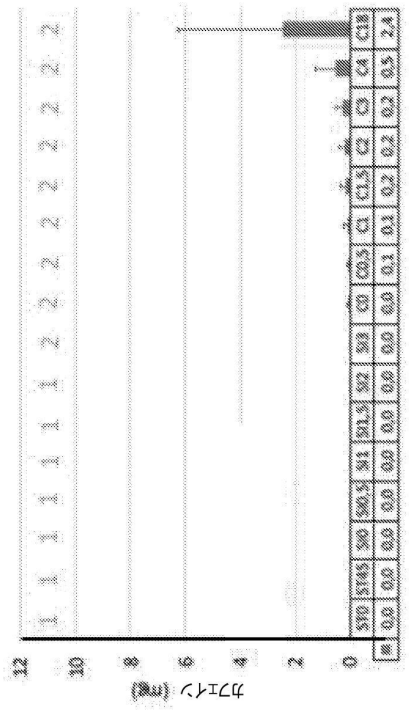


FIG. 5E

【図６】

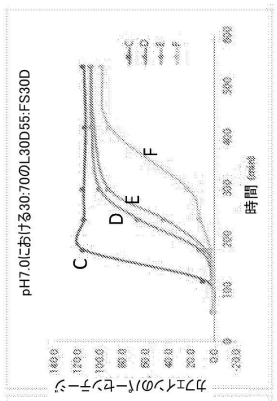


FIG. 6B

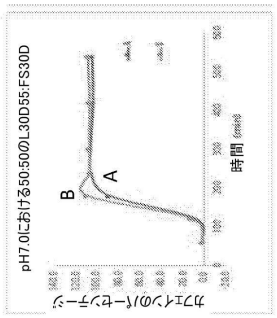


FIG. 6A

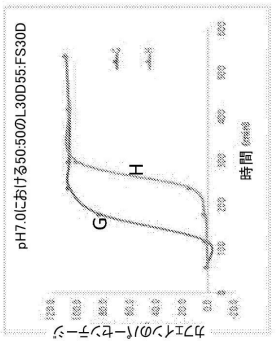


FIG. 6C

【図７】

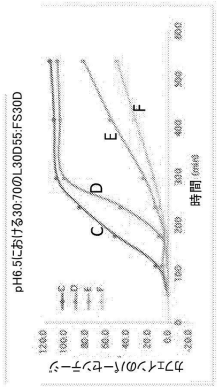


FIG. 7B

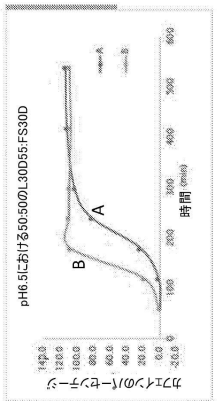


FIG. 7A

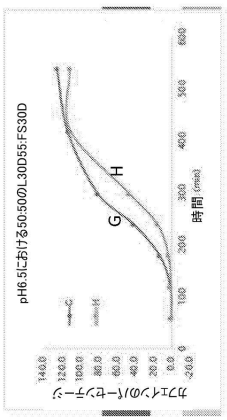


FIG. 7C

【図８】

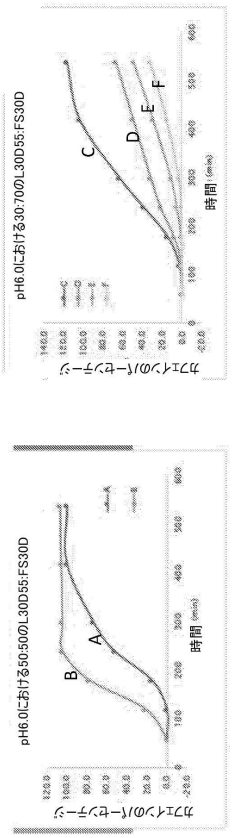


FIG. 8B

FIG. 8A

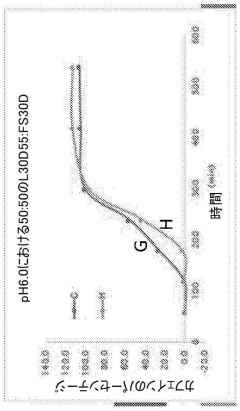


FIG. 8C

【図９】

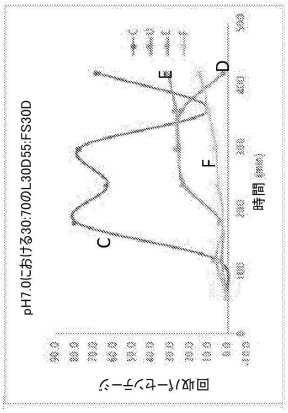


FIG. 9B

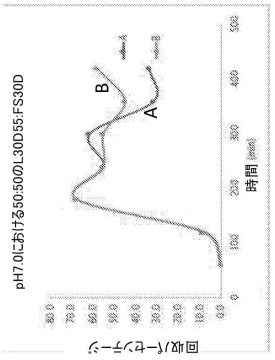


FIG. 9A

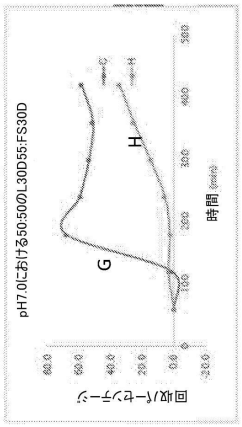


FIG. 9C

【図１０】

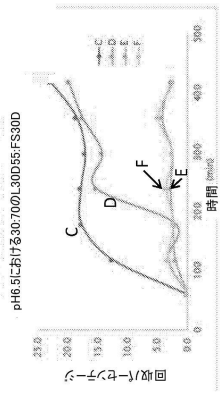


FIG. 10B

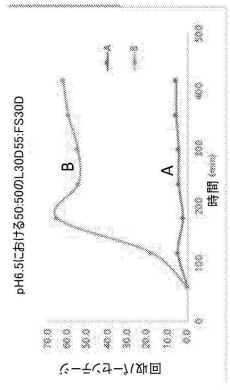


FIG. 10A

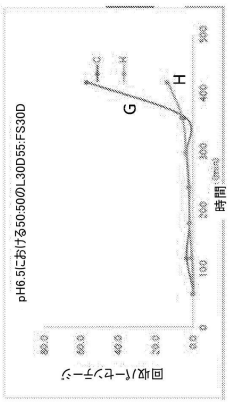


FIG. 10C

【図１１】

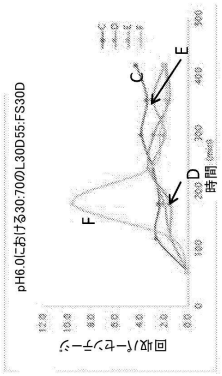


FIG. 11B

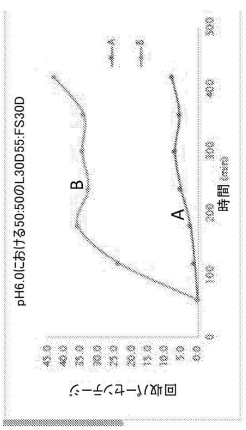


FIG. 11A

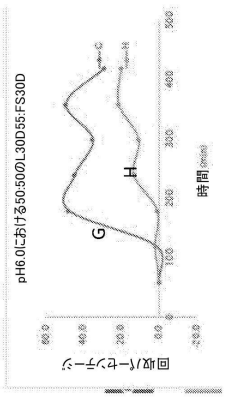


FIG. 11C

【図１２】

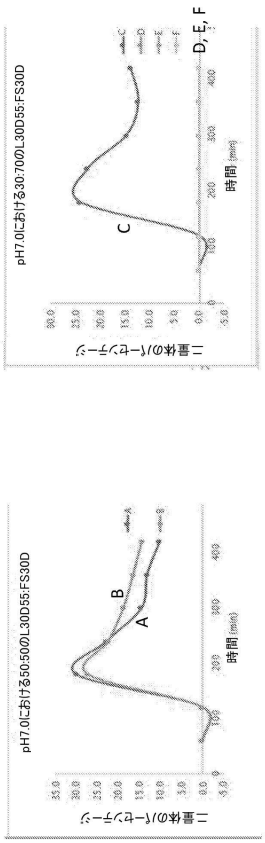


FIG. 12A

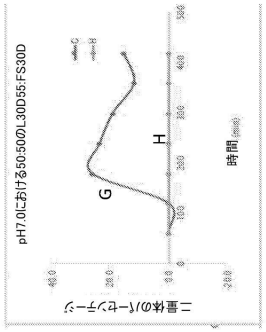


FIG. 12B

FIG. 12C

【図１３】

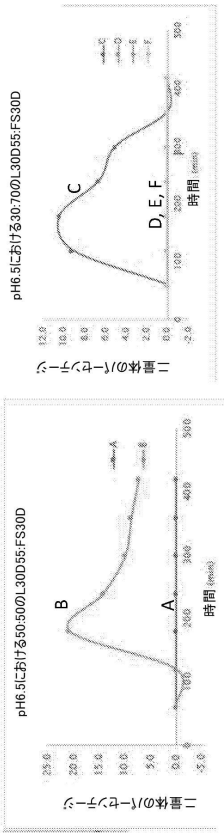


FIG. 13A

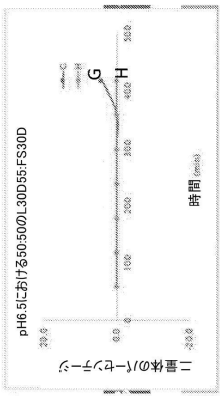


FIG. 13B

FIG. 13C

【図１４】

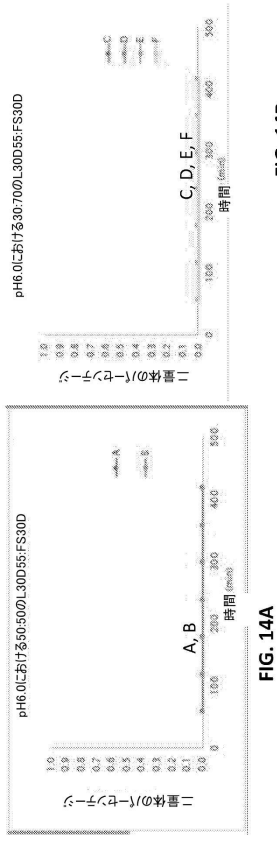


FIG. 14A

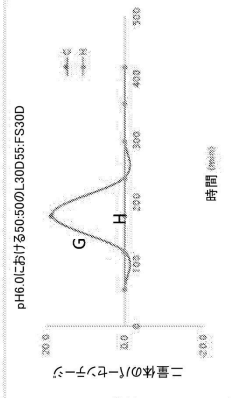


FIG. 14B

FIG. 14C

【図１５】

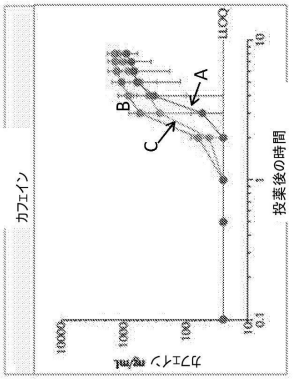


FIG. 15B

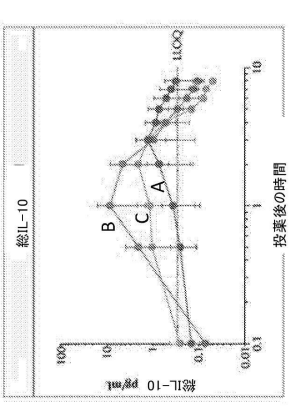


FIG. 15A

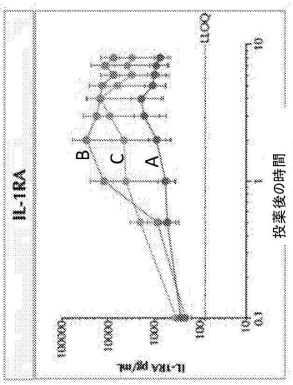


FIG. 15C

【図１６】

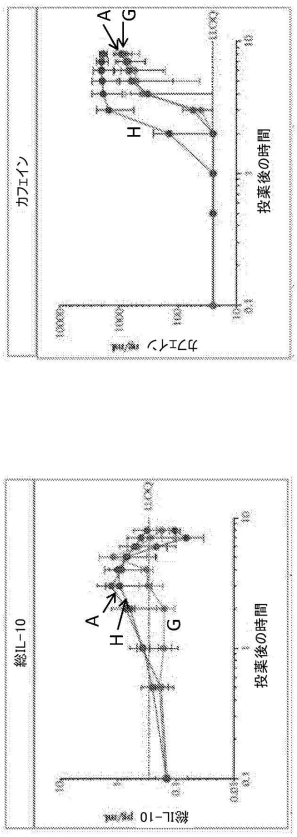


FIG. 16B

FIG. 16A

FIG. 16C

【図１７】

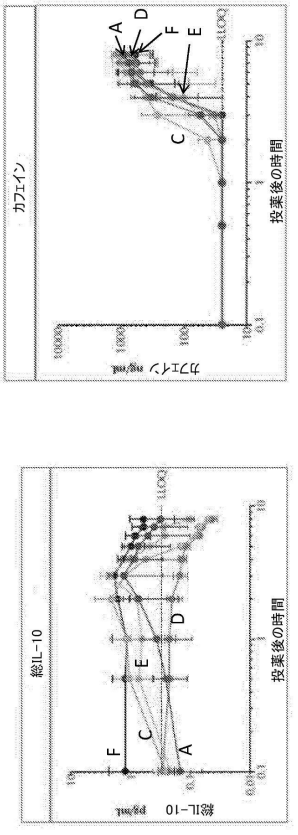


FIG. 17B

FIG. 17A

FIG. 17C

【図１８】

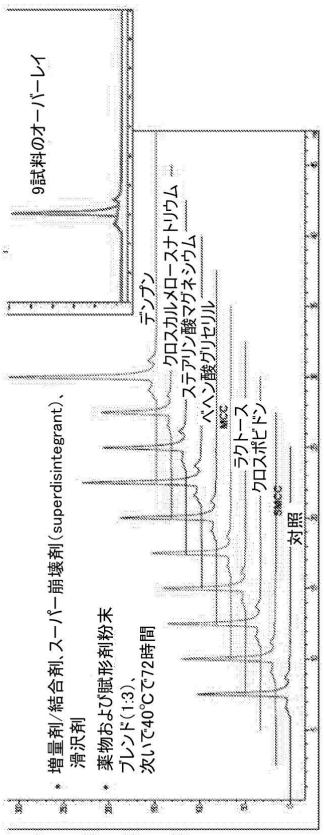
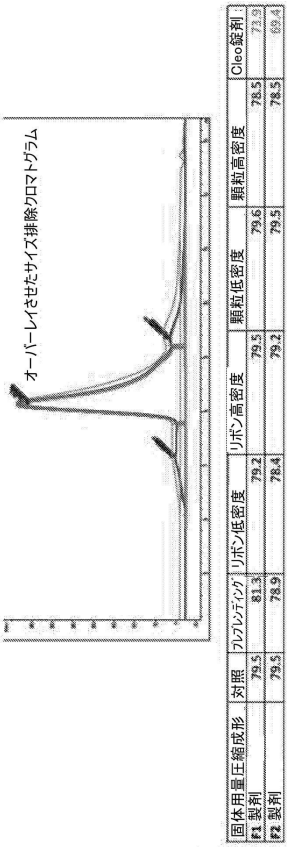


FIG. 18

【図１９】



固体用量圧縮成形	対照	フレンティング	リボン低密度	リボン高密度	顆粒低密度	顆粒高密度	Cleo錠剤
F1 製剤	79.5	81.3	79.2	79.5	79.6	78.5	73.9
F2 製剤	79.5	78.9	78.4	79.2	79.5	78.5	69.4

FIG. 19

【図２０】

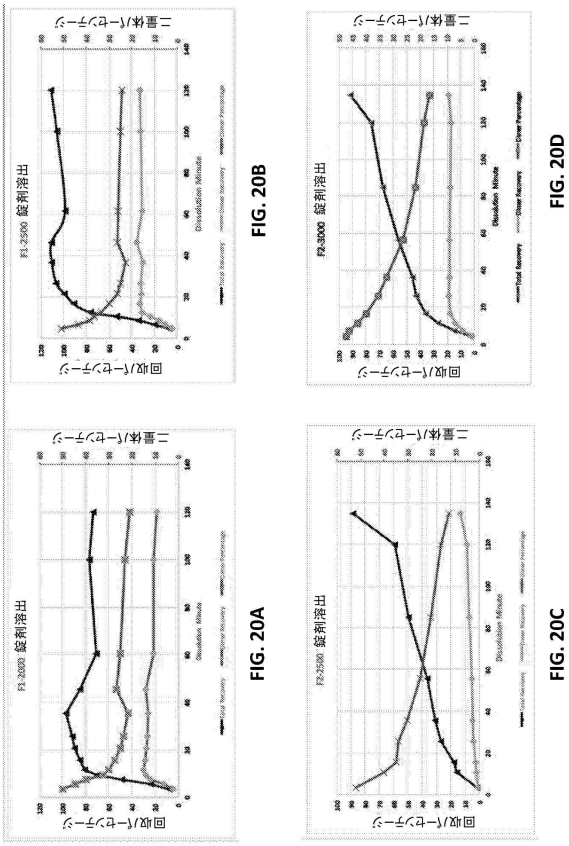


FIG. 20B

FIG. 20D

FIG. 20A

FIG. 20C

【図２１】

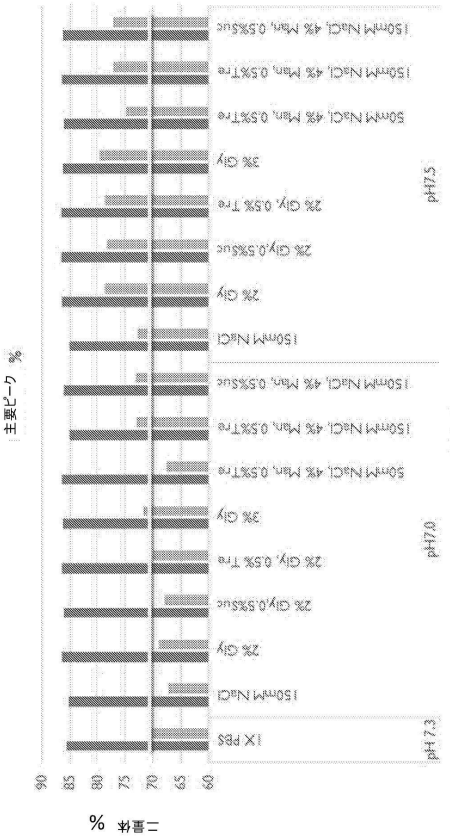


FIG. 21

【図２２】

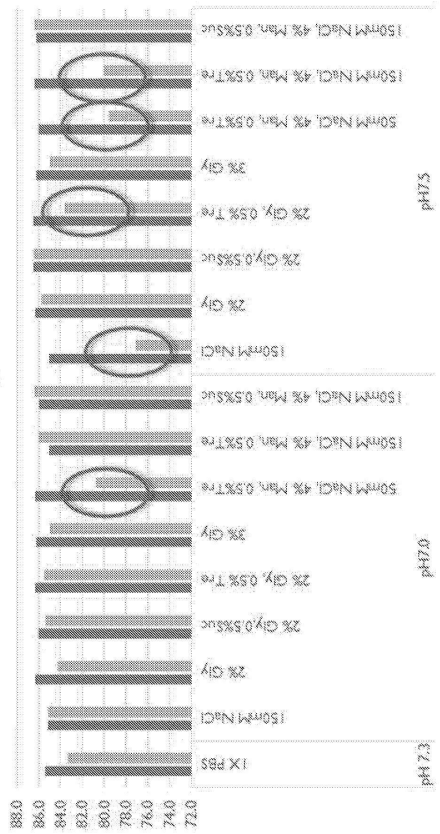


FIG. 22

【図２３】

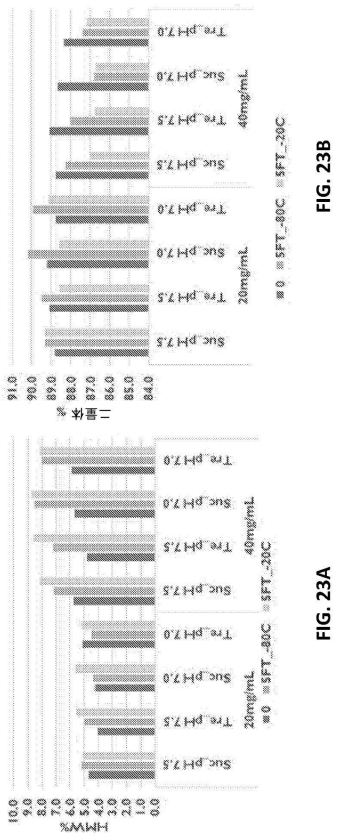


FIG. 23B

FIG. 23A

【図２４－１】

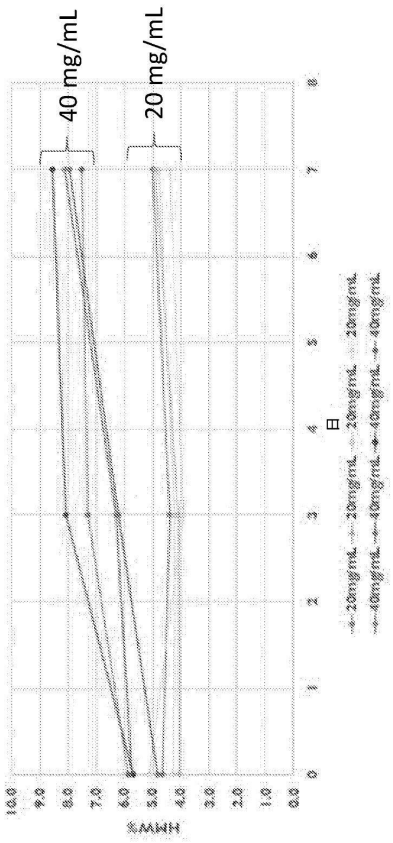


FIG. 24A

【図２４－２】

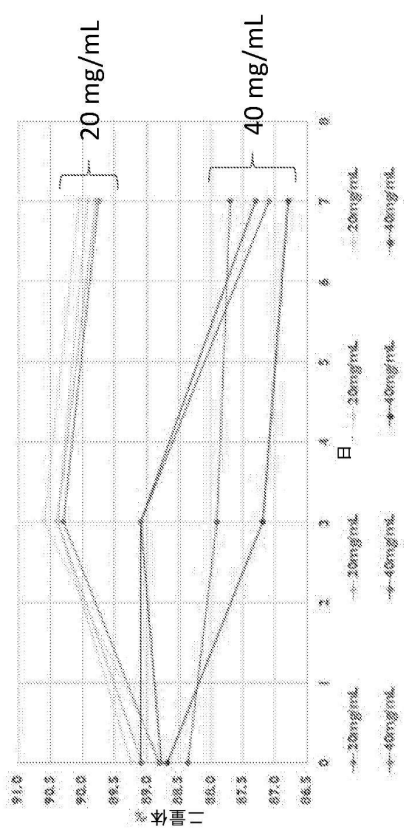


FIG. 24B

【図２４－３】

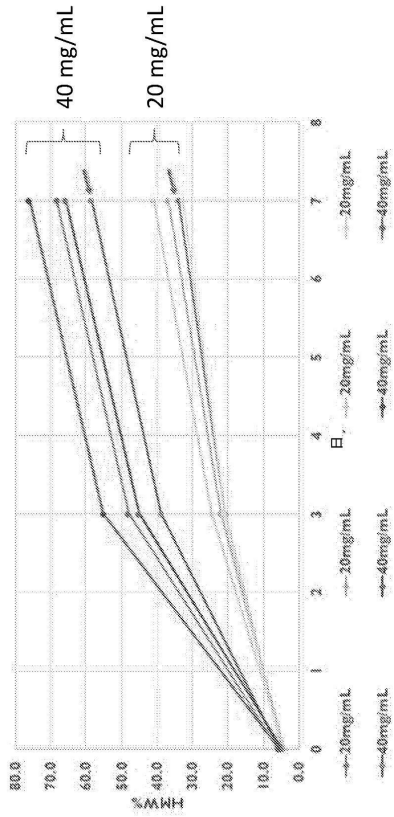


FIG. 24C

【図２４－４】

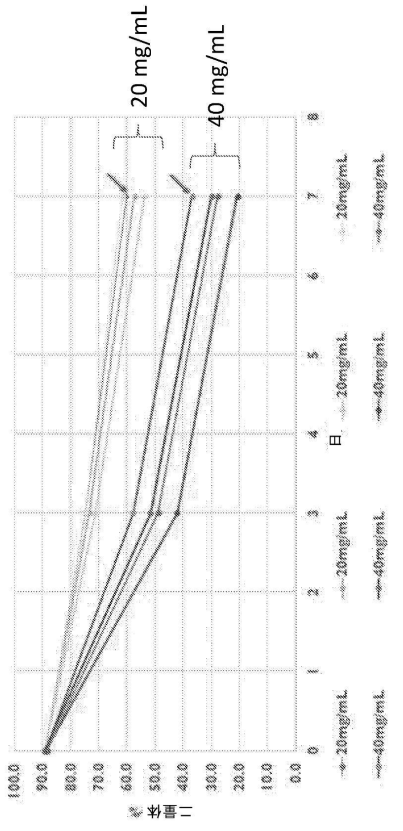


FIG. 24D

【図２５】

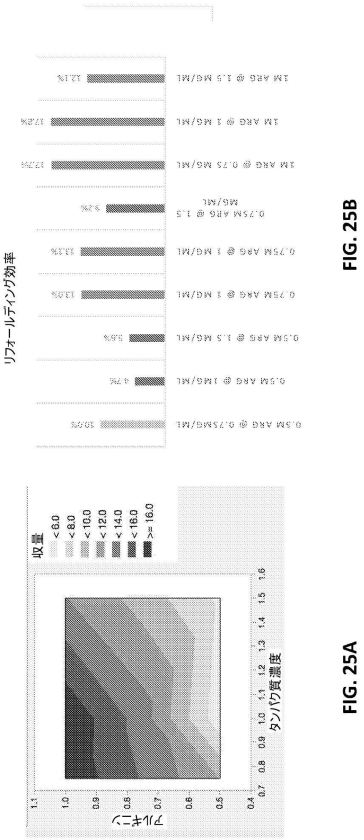


FIG. 25B

FIG. 25A

【図２６】

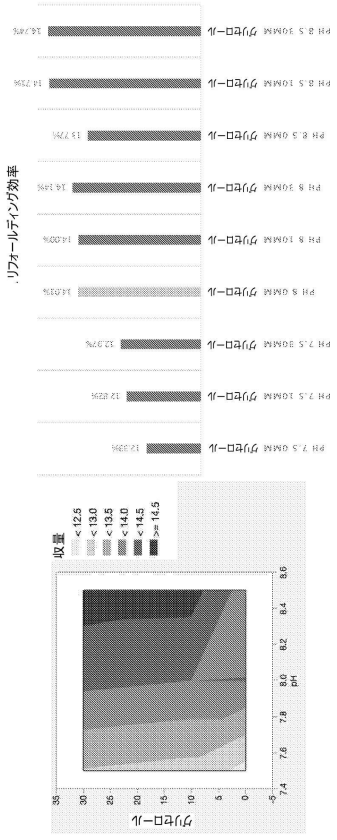


FIG. 26B

FIG. 26A

【図２７】

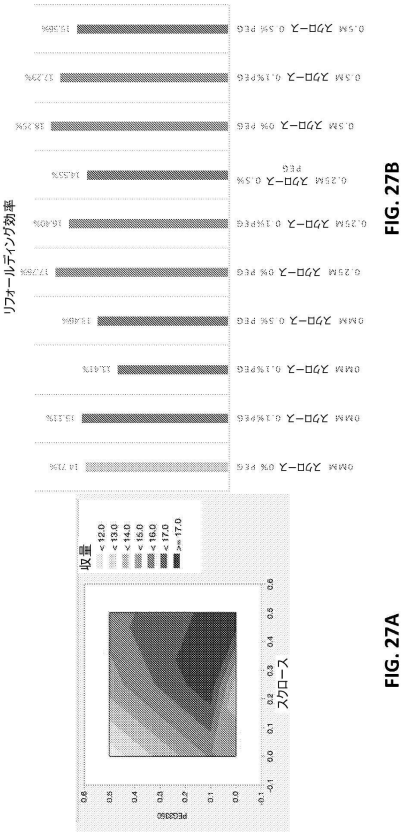


FIG. 27B

FIG. 27A

【図２８】

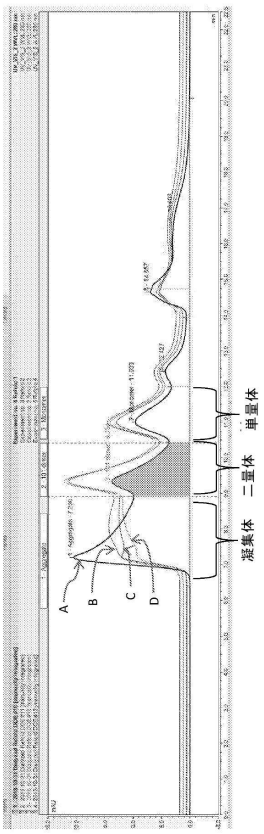


FIG. 28

【図２９】

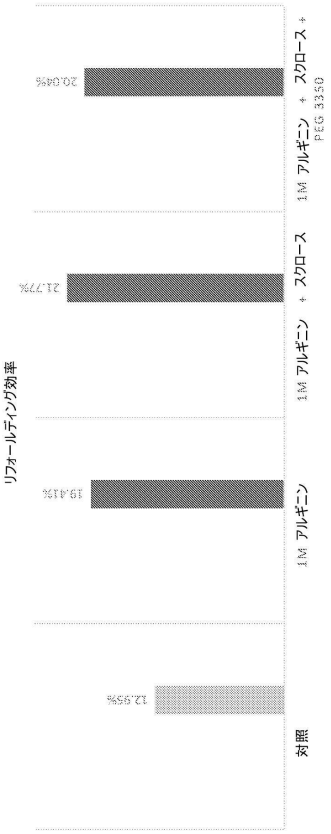


FIG. 29

【図３０】

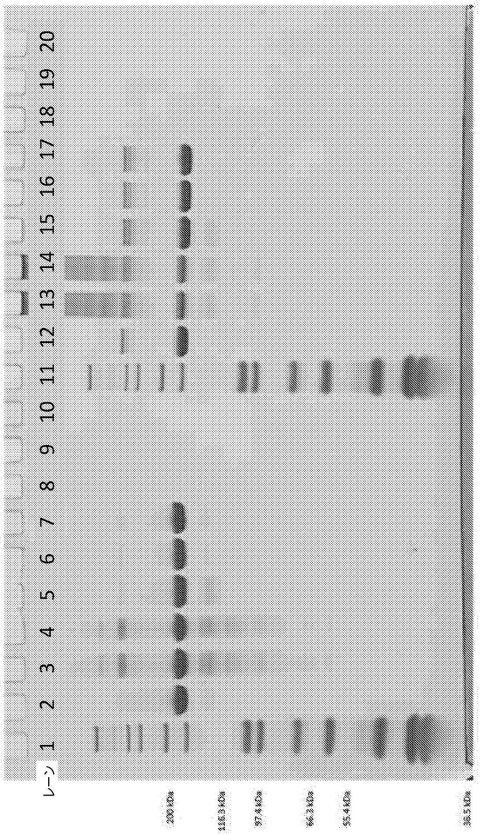


FIG. 30

【図３１】

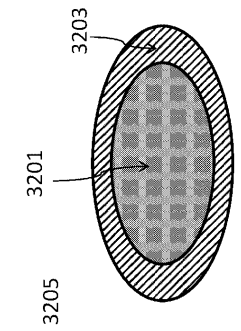


FIG. 31B

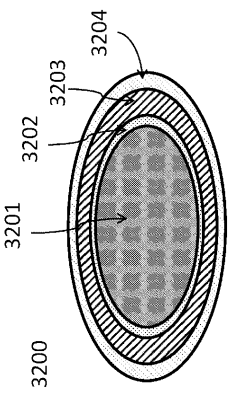


FIG. 31A

【図３２－１】

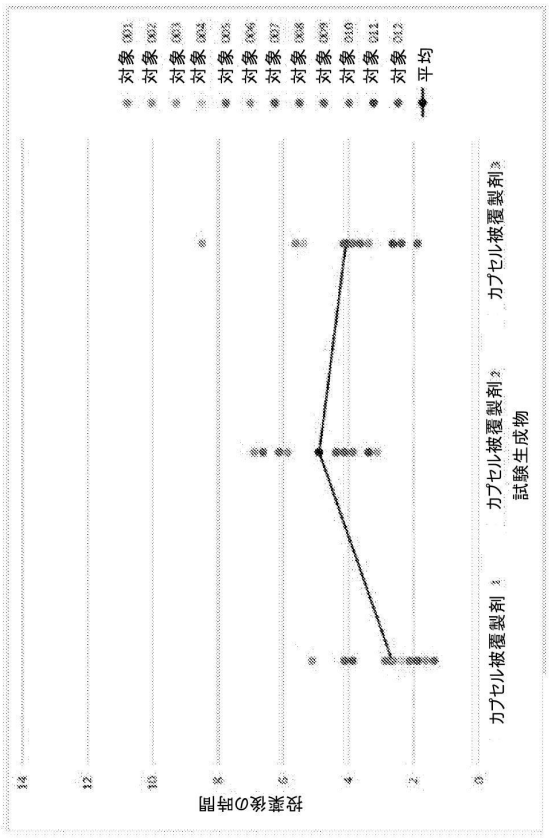


FIG. 32A

【図３２－２】

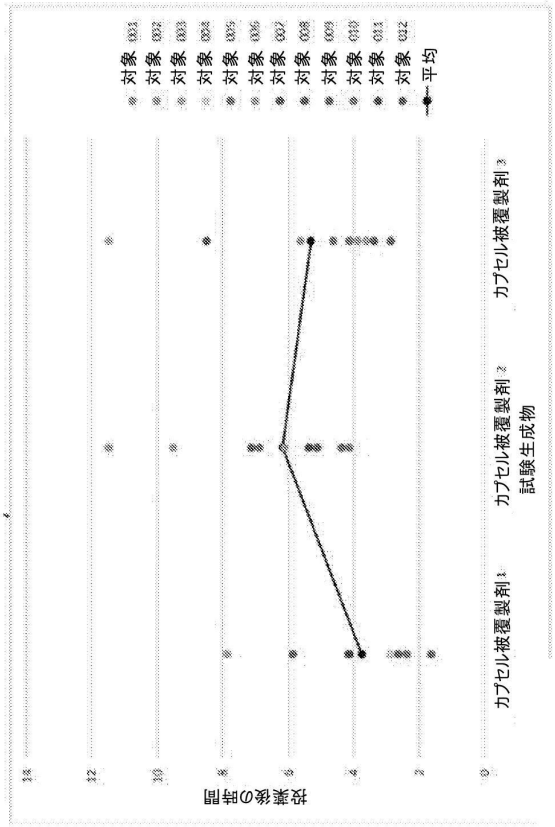


FIG. 32B

【図３３－１】

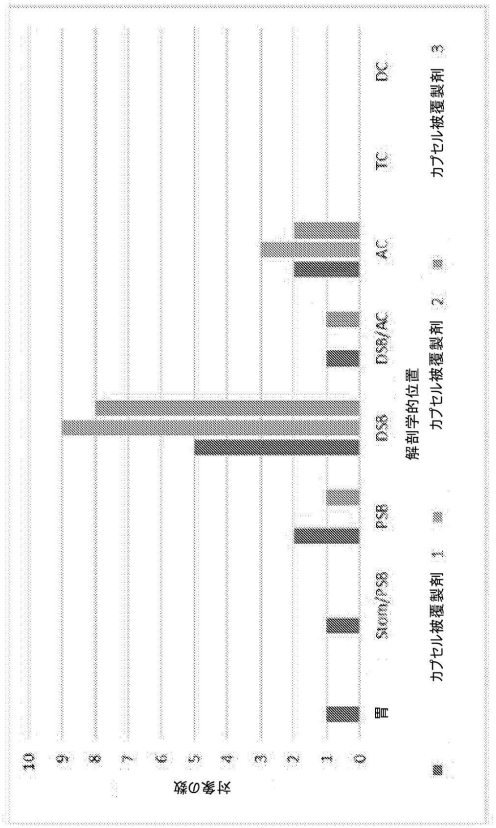


FIG. 33A

【図３３－２】

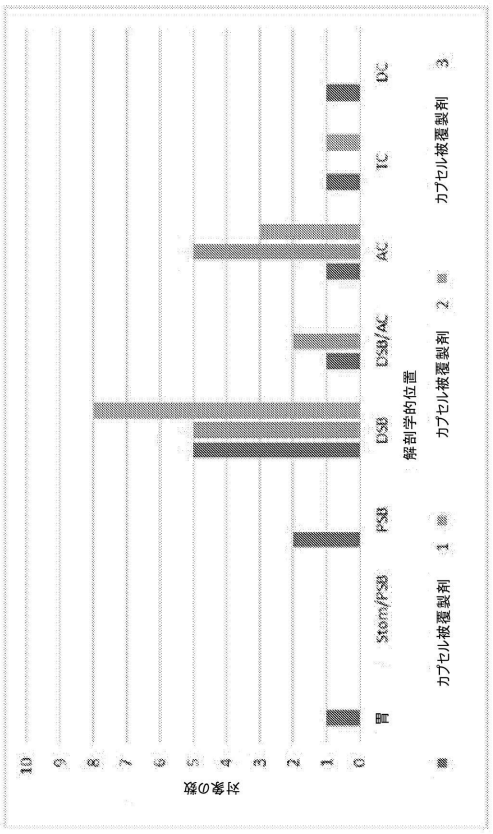


FIG. 33B

【図３４】

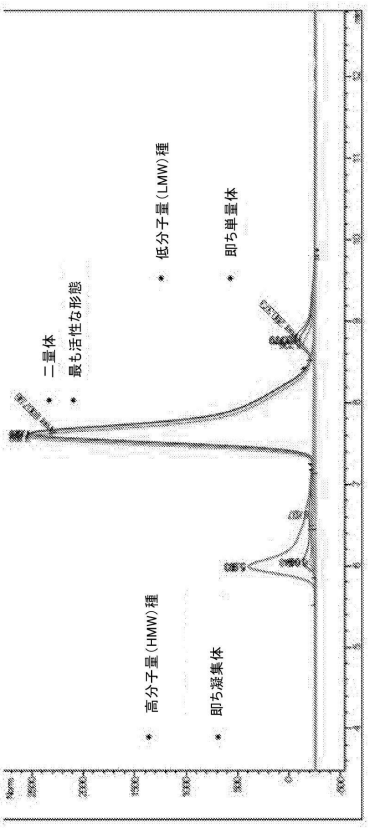


FIG. 34

【図３５】

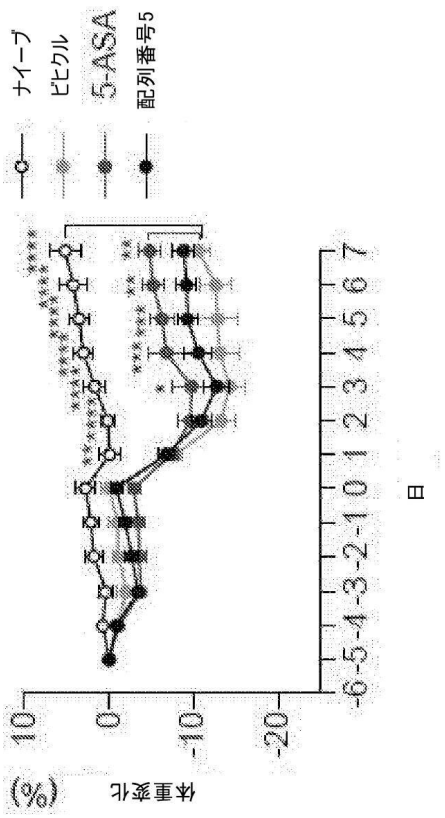


FIG. 35

【図３６】

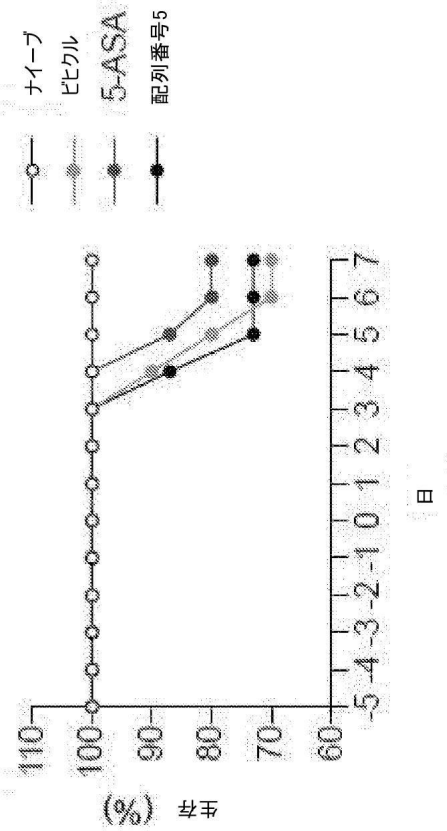


FIG. 36

【図３７】

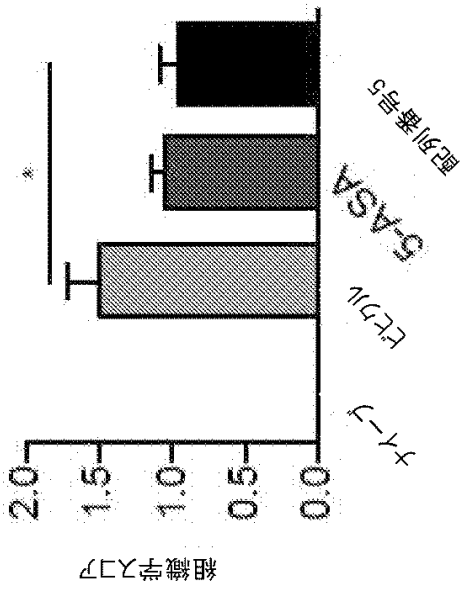


FIG. 37

【図３８－１】

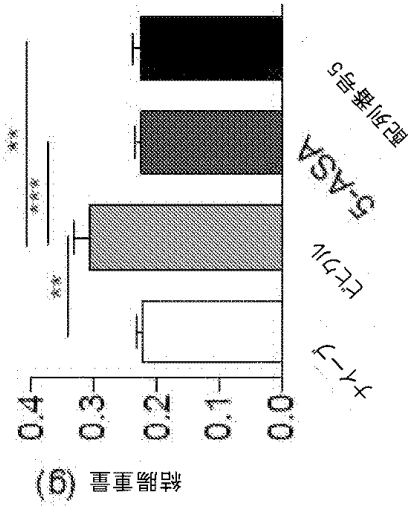


FIG. 38A

【図３８－２】

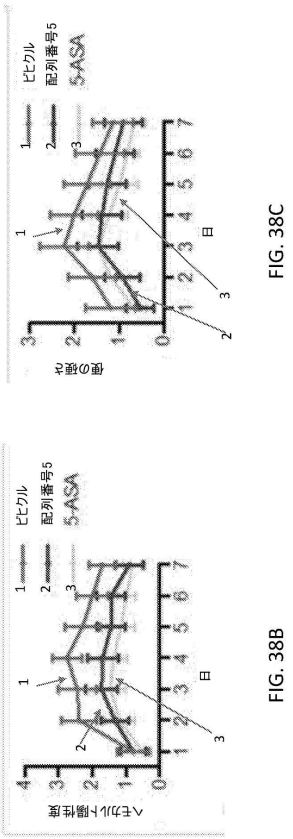


FIG. 38C

FIG. 38B

【図３８－３】

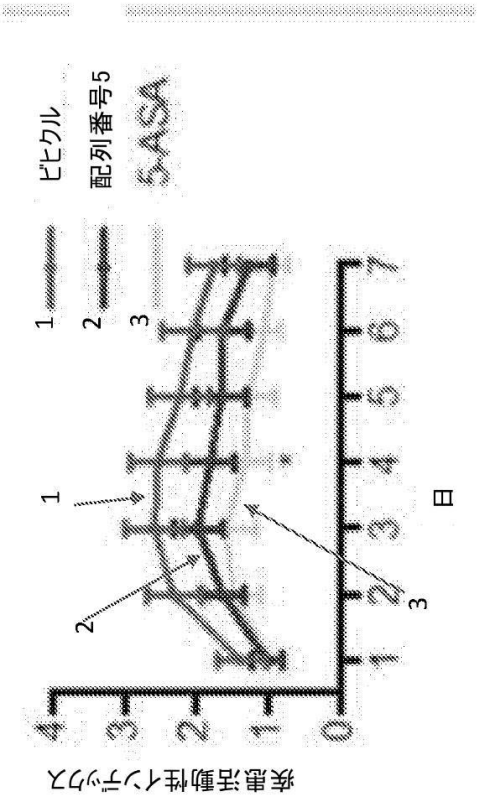


FIG. 38D

【図３８－４】

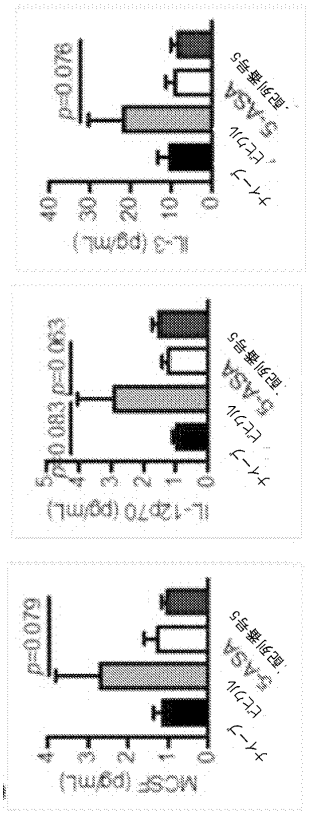


FIG. 38G

FIG. 38F

FIG. 38E

【図３９】

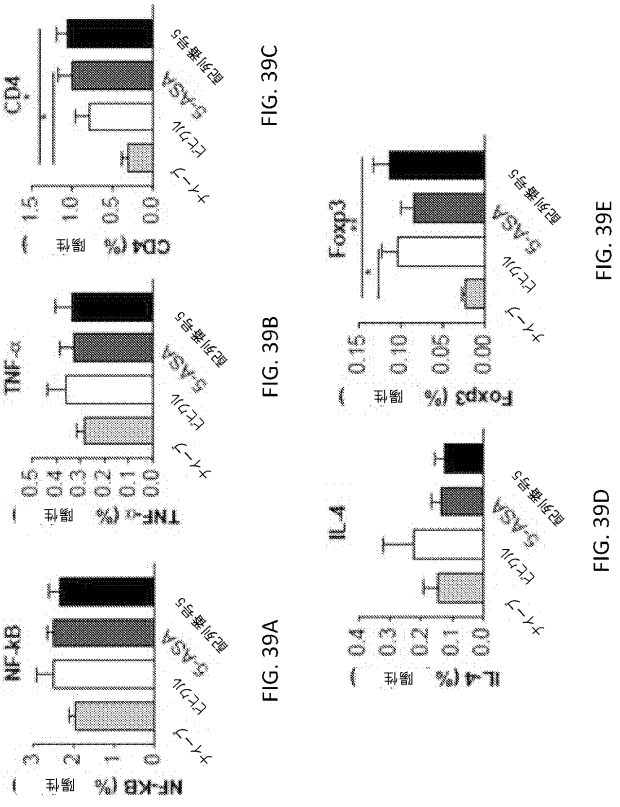


FIG. 39C

FIG. 39B

FIG. 39A

FIG. 39E

FIG. 39D

【図４０】

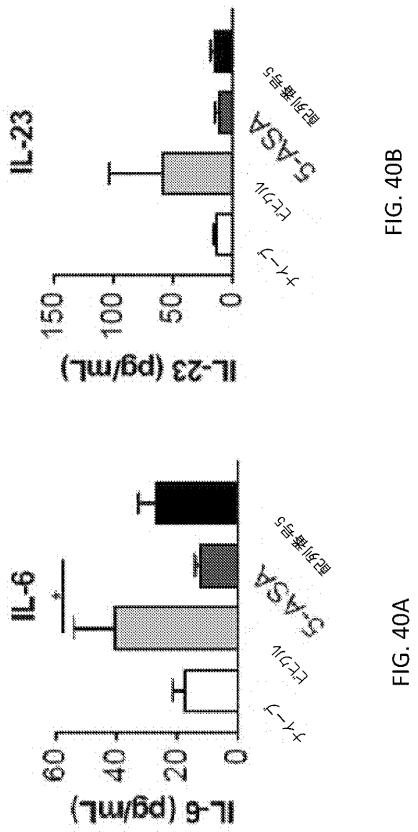


FIG. 40A

FIG. 40B

【図４１－１】

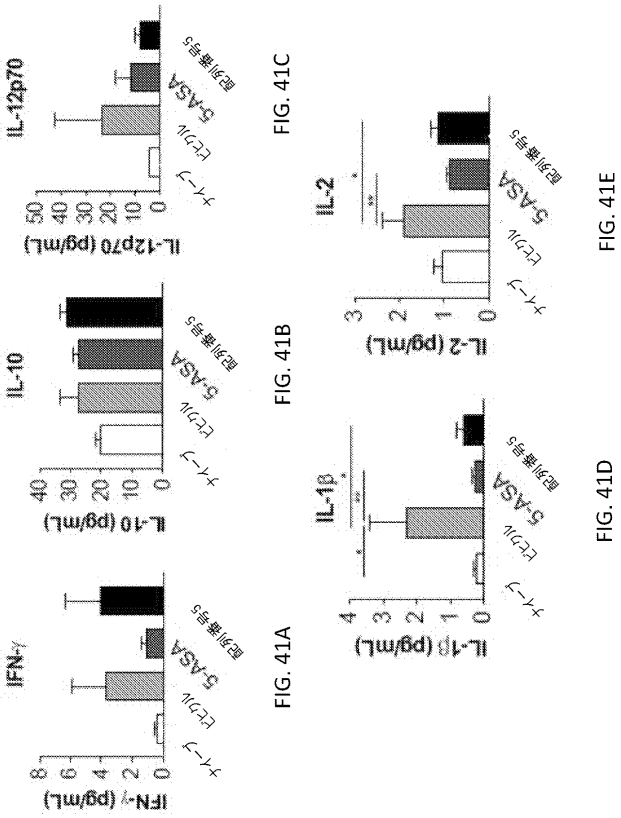


FIG. 41A

FIG. 41B

FIG. 41C

FIG. 41D

FIG. 41E

【図４１－２】

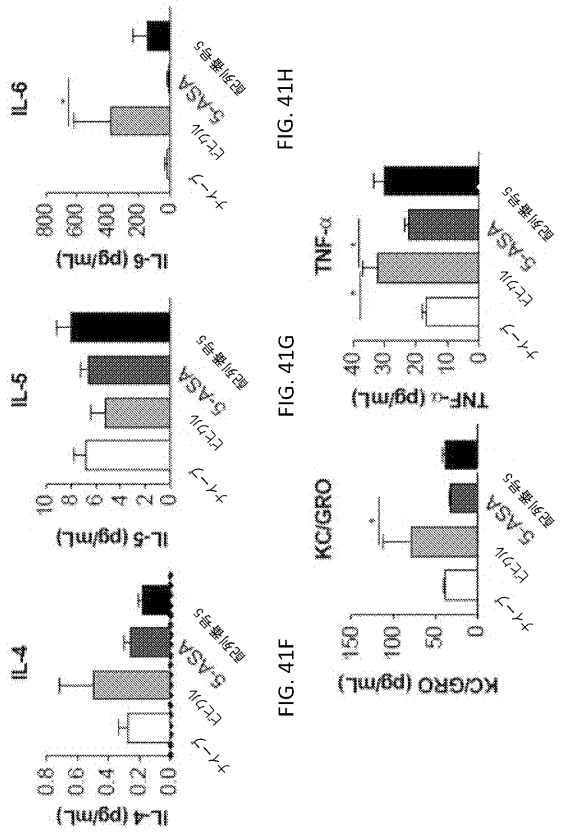


FIG. 41F

FIG. 41G

FIG. 41H

FIG. 41I

FIG. 41J

【図４２】

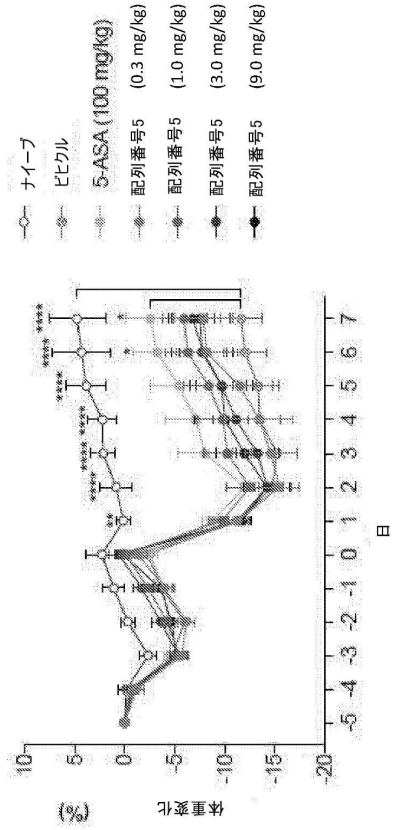


FIG. 42

【図４３】

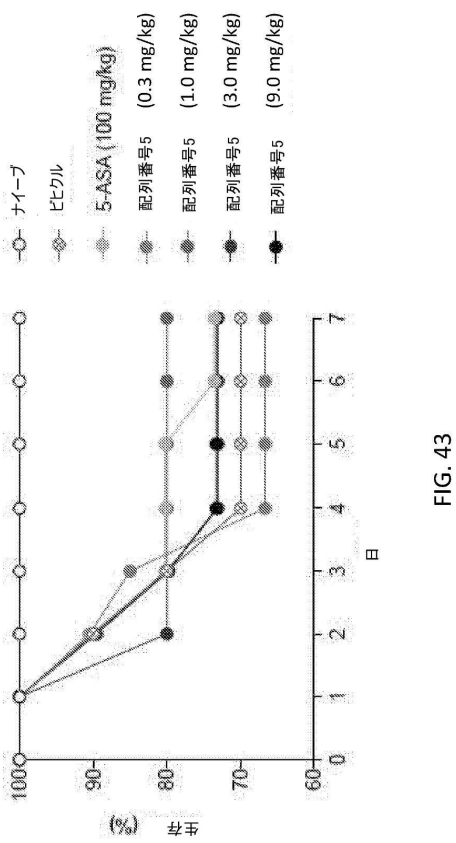


FIG. 43

【図４４】

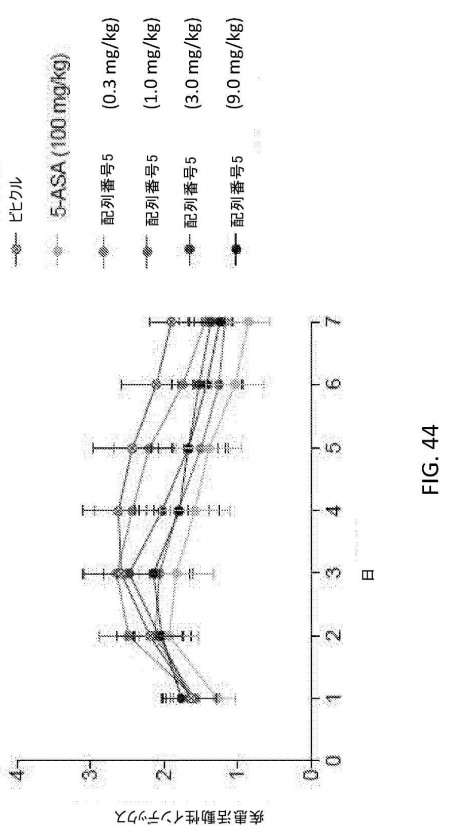


FIG. 44

【図４５】

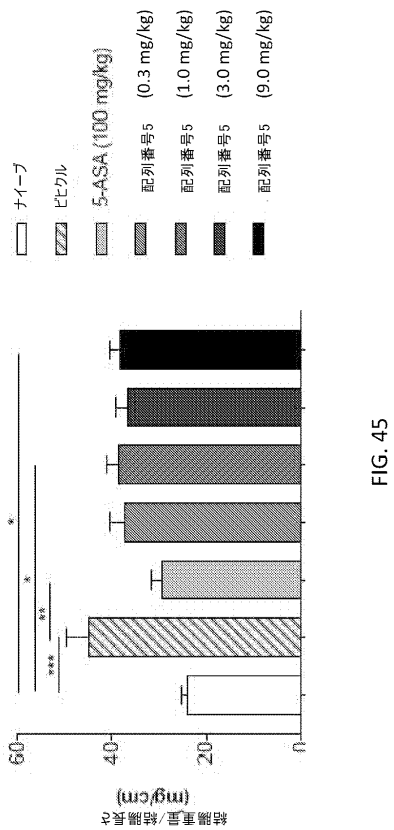


FIG. 45

【図４６】

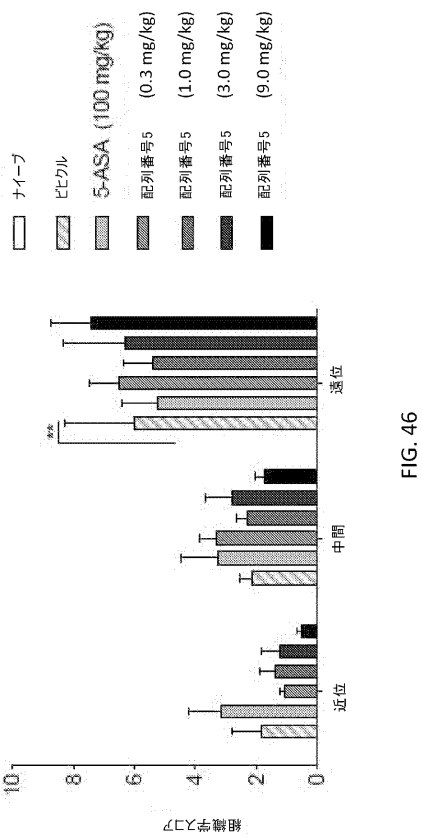


FIG. 46

【図４７－１】

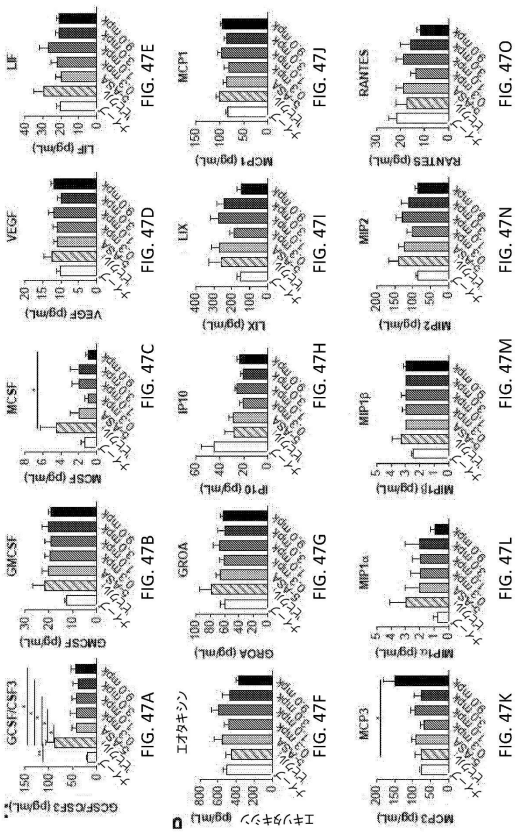


FIG. 47A FIG. 47B FIG. 47C FIG. 47D FIG. 47E FIG. 47F FIG. 47G FIG. 47H FIG. 47I FIG. 47J FIG. 47K FIG. 47L FIG. 47M FIG. 47N FIG. 47O

【図４７－２】

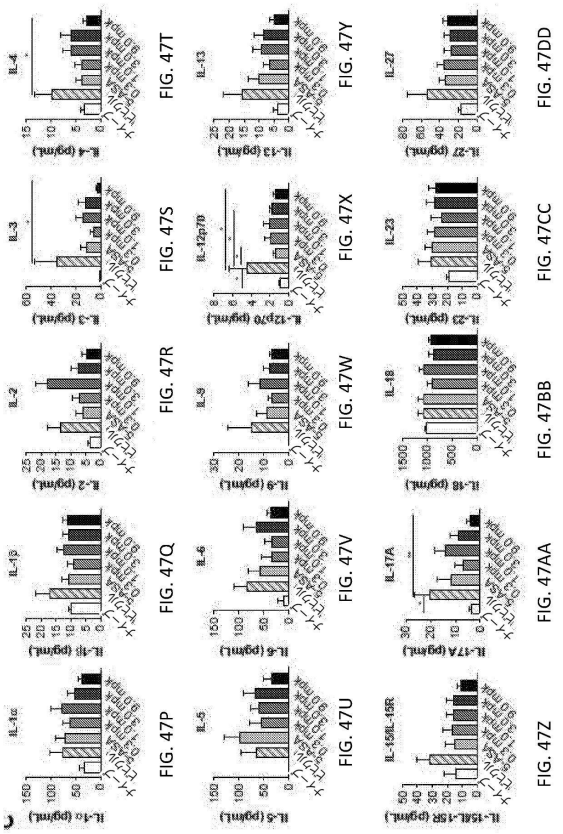


FIG. 47P FIG. 47Q FIG. 47R FIG. 47S FIG. 47T FIG. 47U FIG. 47V FIG. 47W FIG. 47X FIG. 47Y FIG. 47Z FIG. 47AA FIG. 47BB FIG. 47CC FIG. 47DD

【図４７－３】

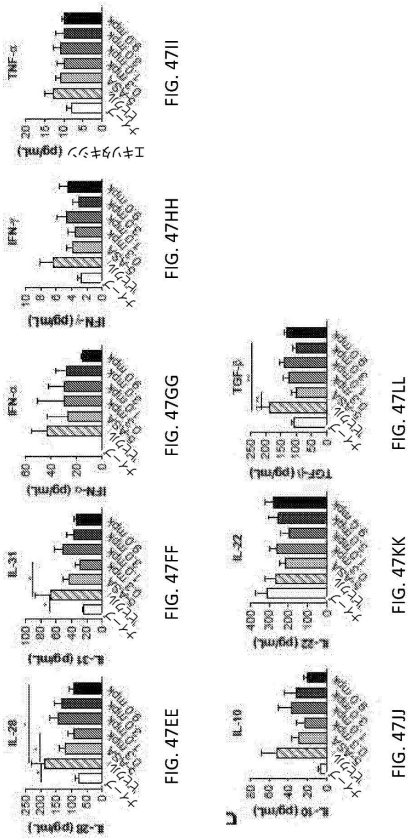


FIG. 47EE FIG. 47FF FIG. 47GG FIG. 47HH FIG. 47II FIG. 47JJ FIG. 47KK FIG. 47LL

【図４８－１】

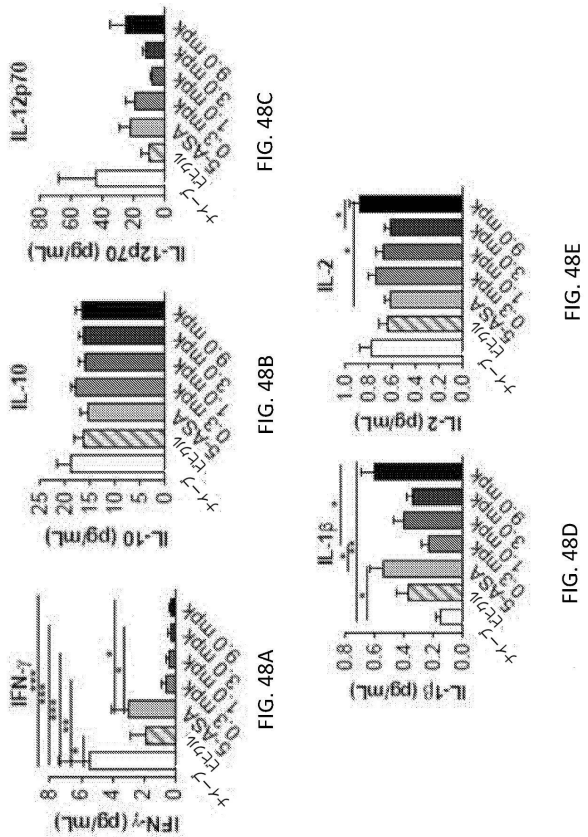


FIG. 48A FIG. 48B FIG. 48C FIG. 48D FIG. 48E

【図４８－２】

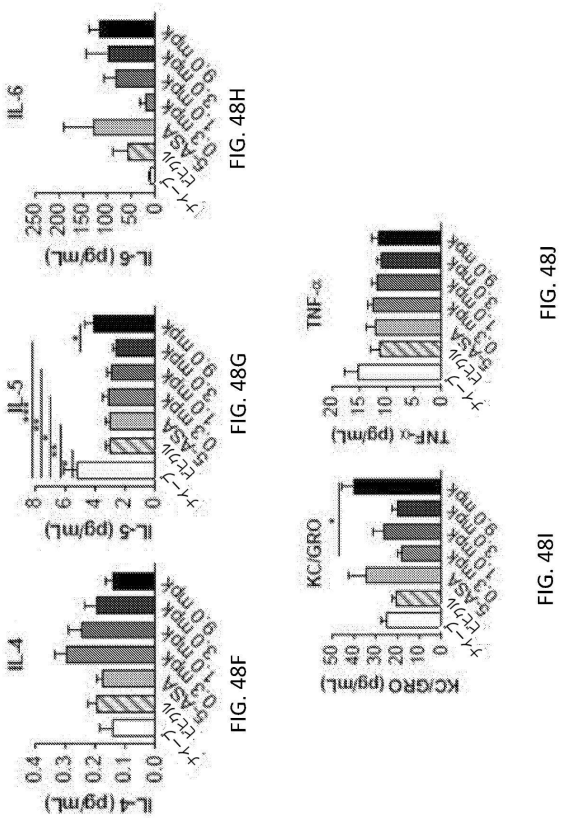


FIG. 48H
FIG. 48G
FIG. 48F
FIG. 48J
FIG. 48I

【図４９－１】

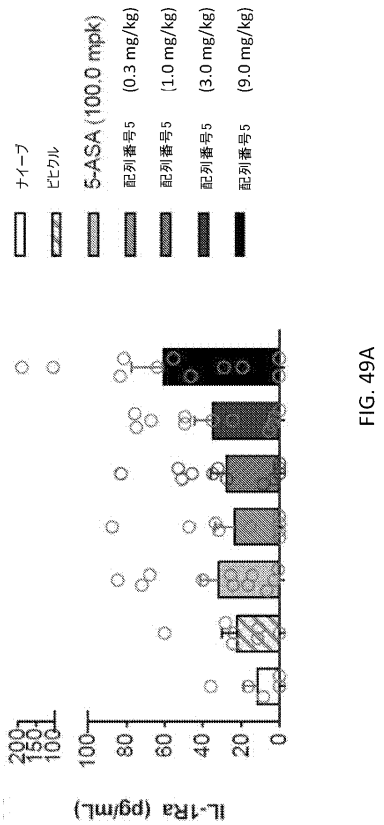


FIG. 49A

【図４９－２】

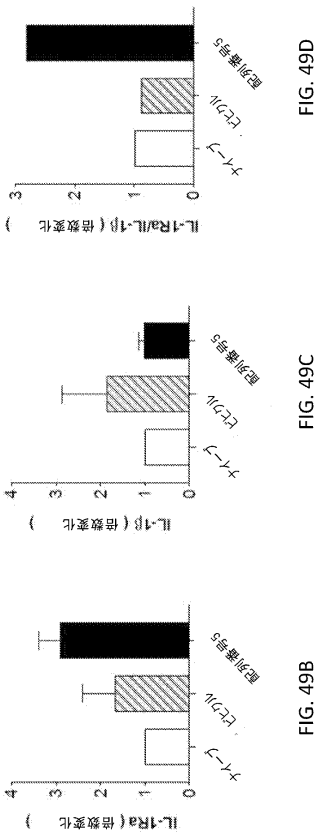


FIG. 49B
FIG. 49C
FIG. 49D

【図５０－１】

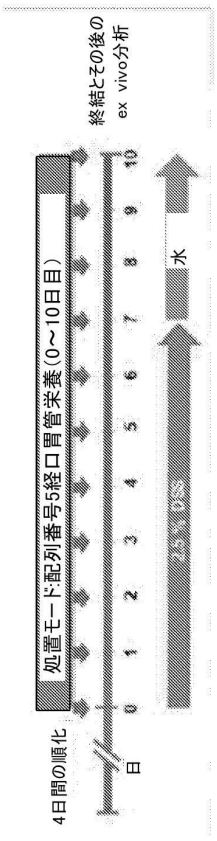


FIG. 50A

【図５０－２】

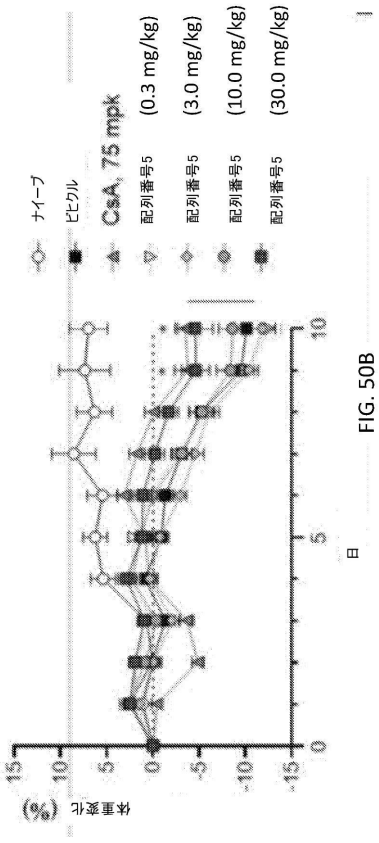


FIG. 50B

【図５０－３】

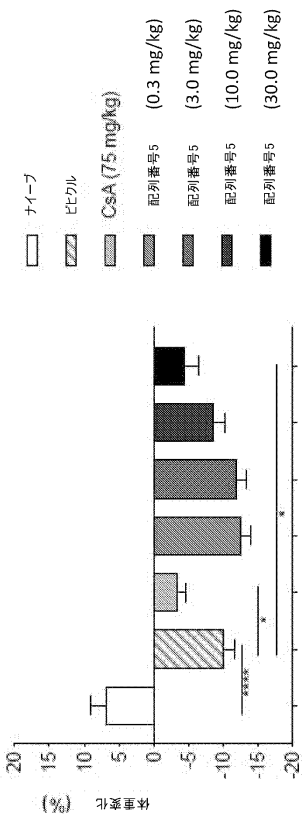


FIG. 50C

【図５１】

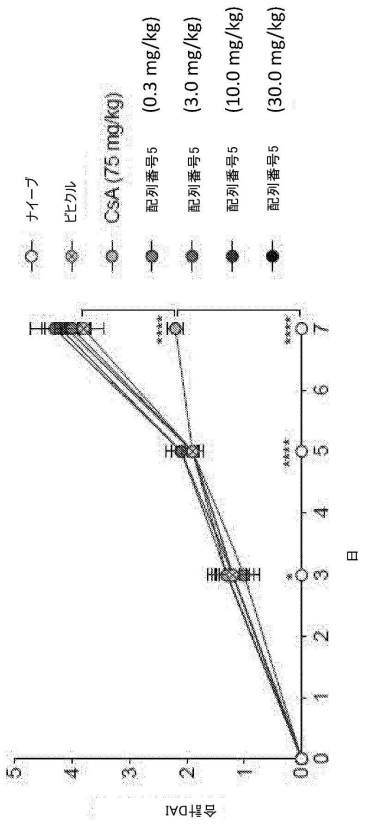


FIG. 51

【図５２－１】

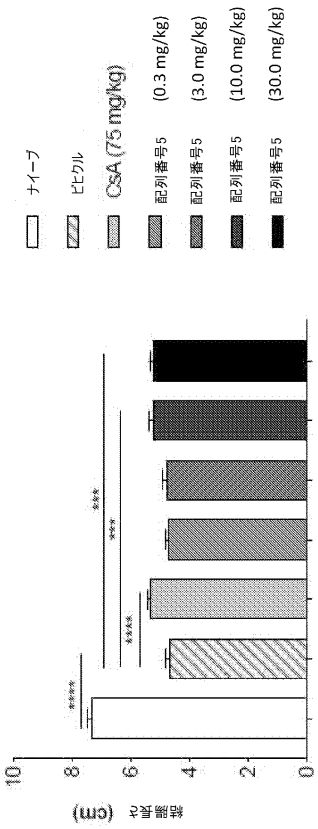


FIG. 52A

【図５２－２】

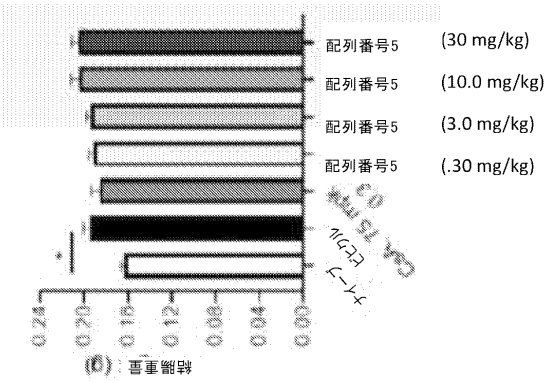


FIG. 52B

【図５３】

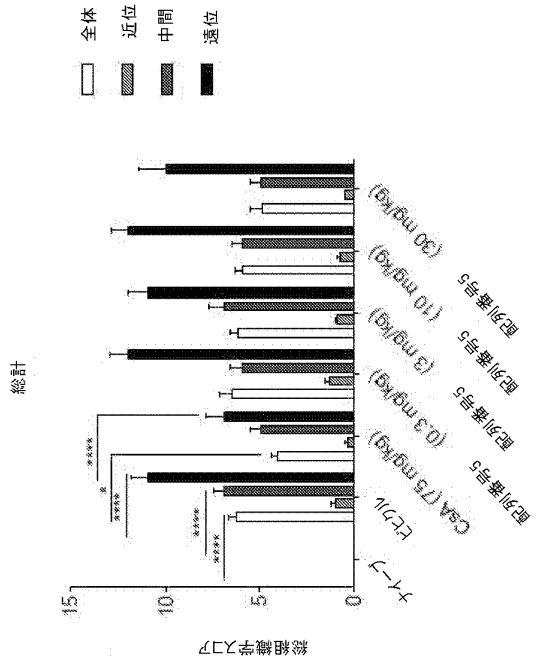


FIG. 53

【図５４】

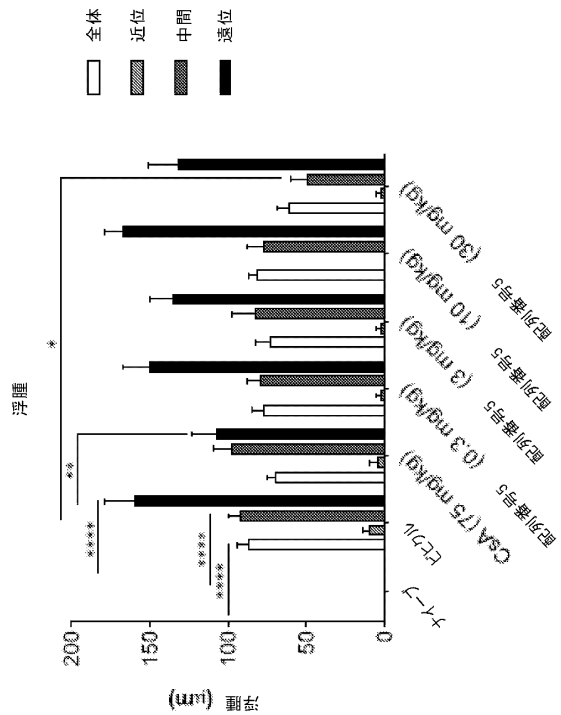


FIG. 54

【図５５】

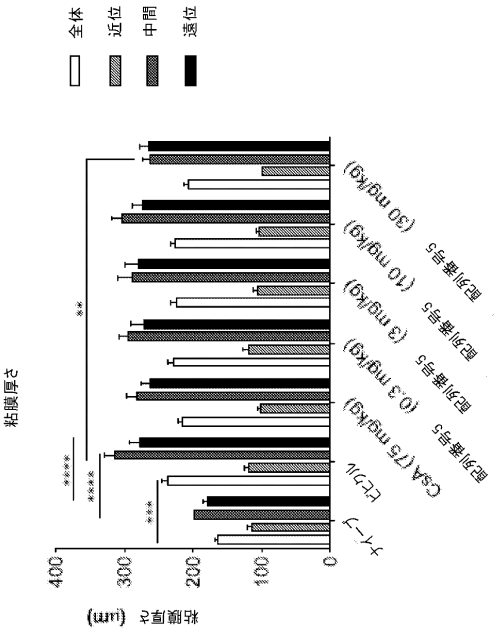


FIG. 55

【図５６】

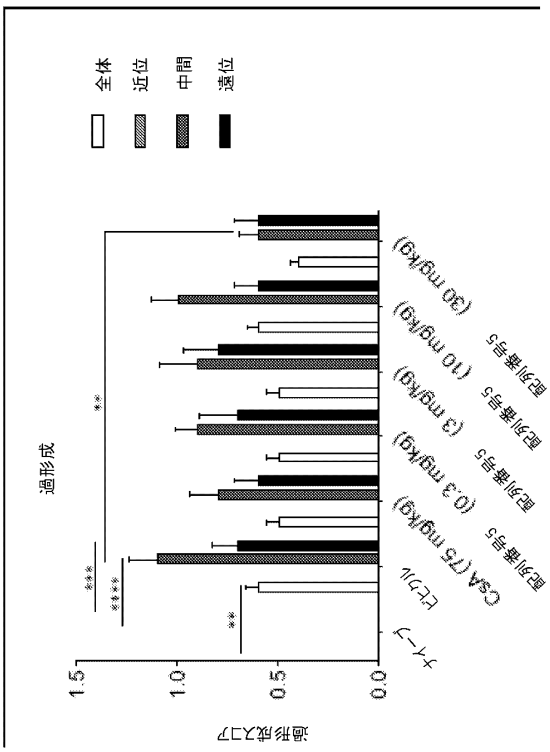


FIG. 56

【図５７－１】

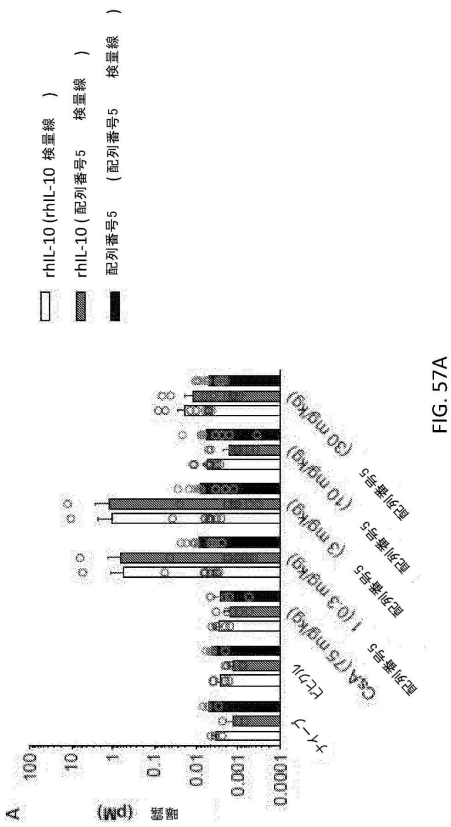


FIG. 57A

【図５７－２】

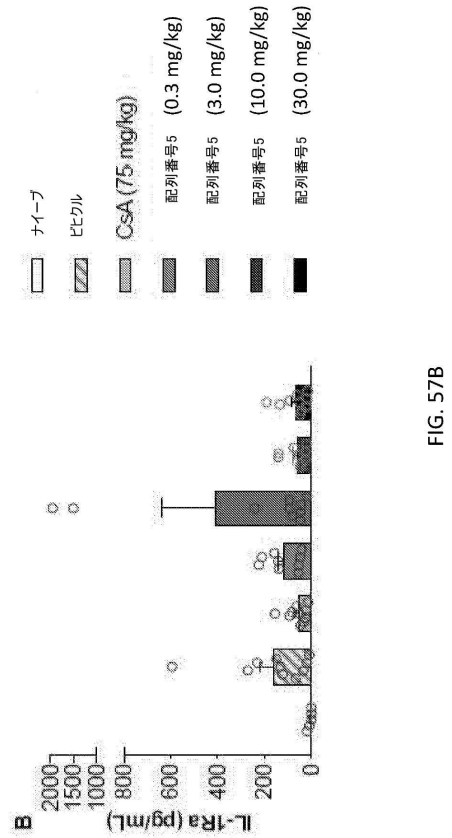


FIG. 57B

【図５８】

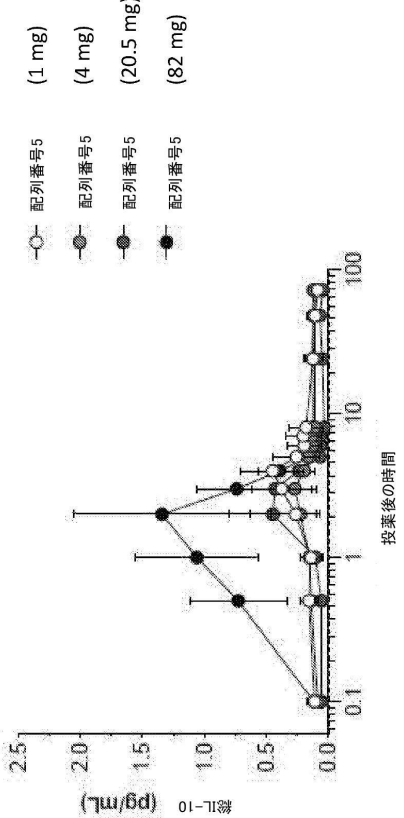


FIG. 58

【図５９】

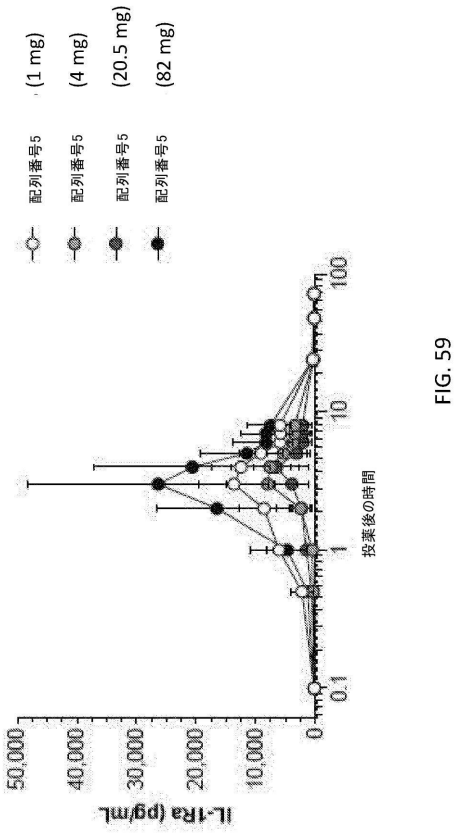


FIG. 59

【図６０】

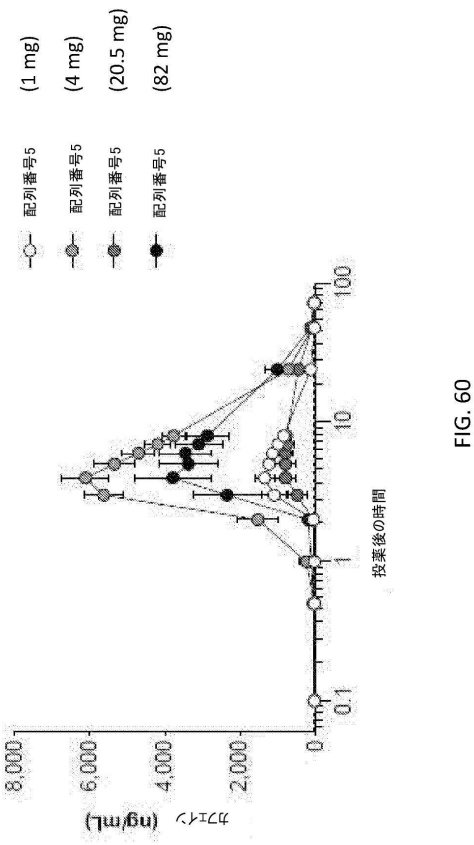


FIG. 60

【図６１－１】

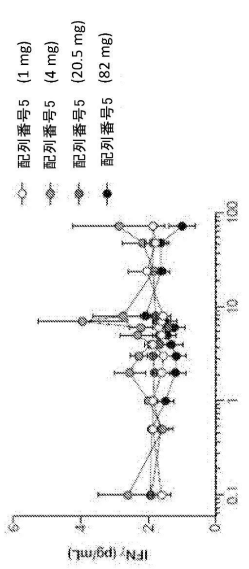


FIG. 61A

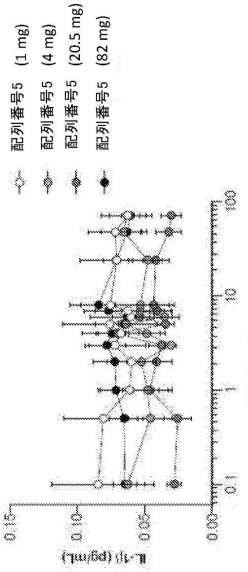


FIG. 61B

【図６１－２】

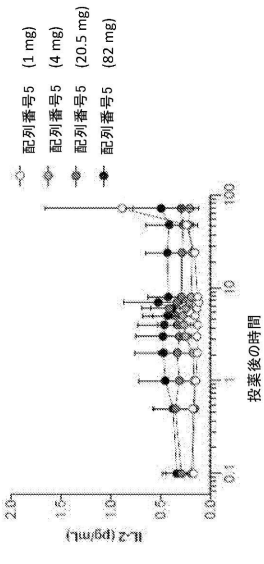


FIG. 61C

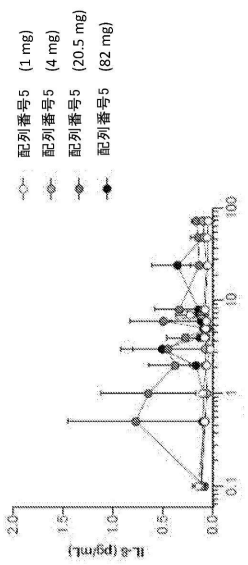


FIG. 61D

【図６１－３】

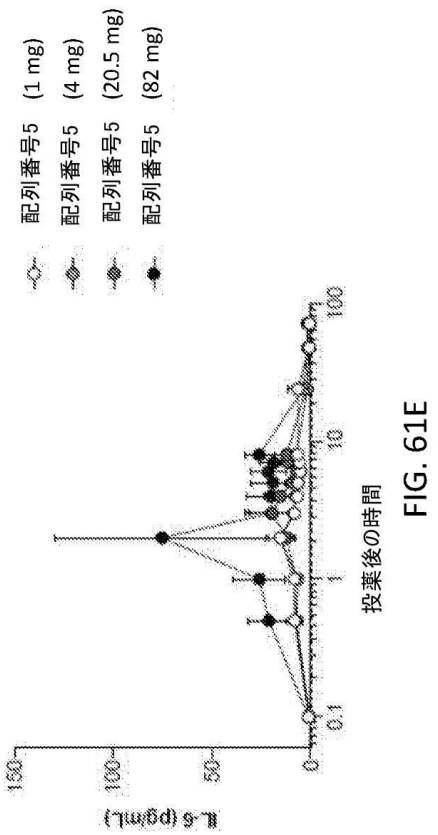


FIG. 61E

【図６２】

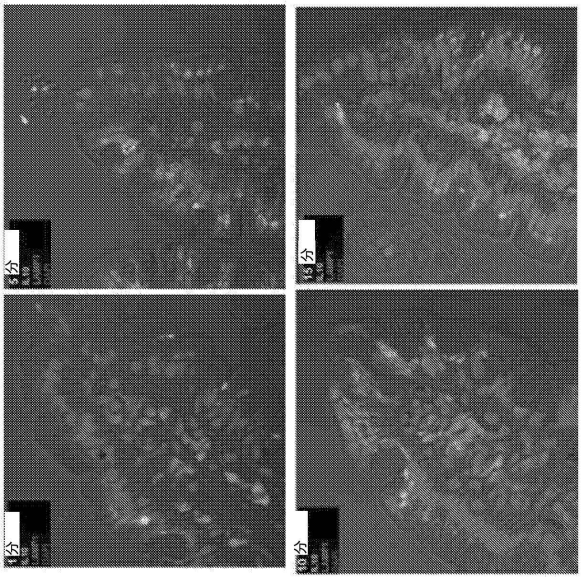


FIG. 62

【図６３】

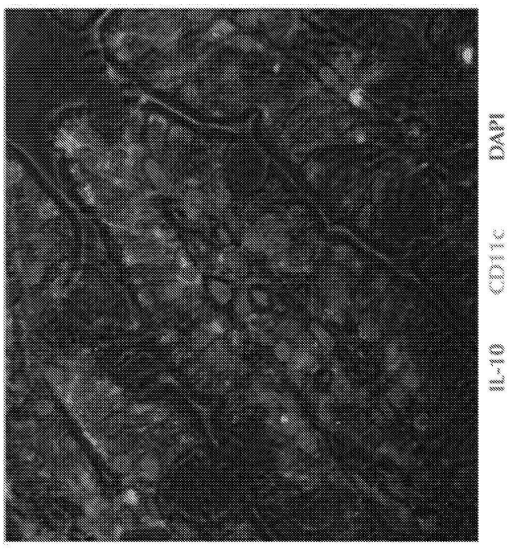


FIG. 63

【図６４】

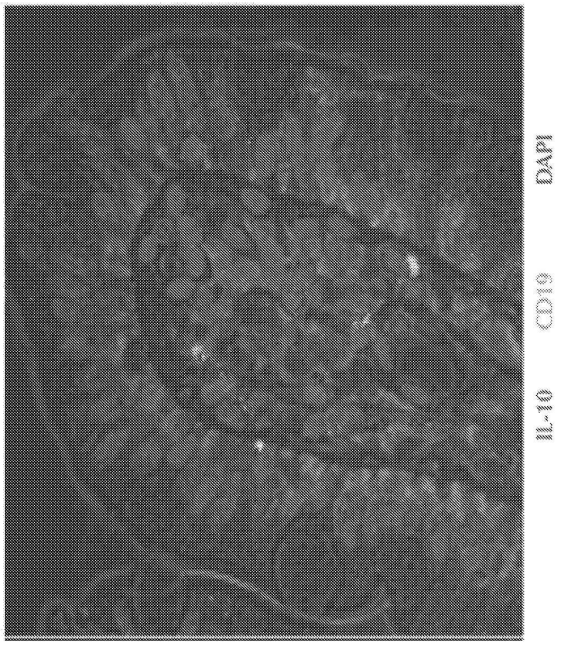


FIG. 64

【図６５】

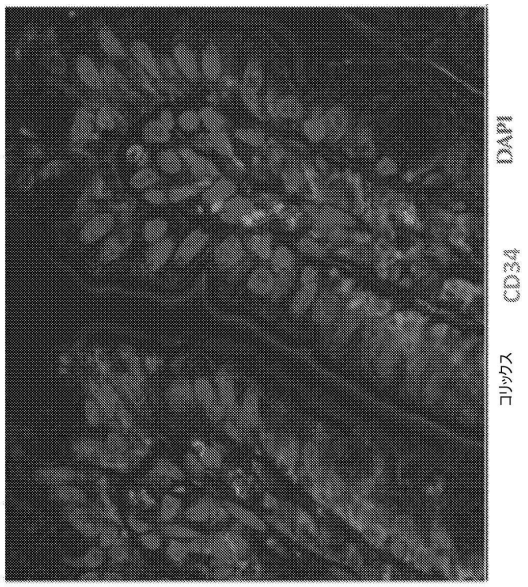


FIG. 65

【図６６】

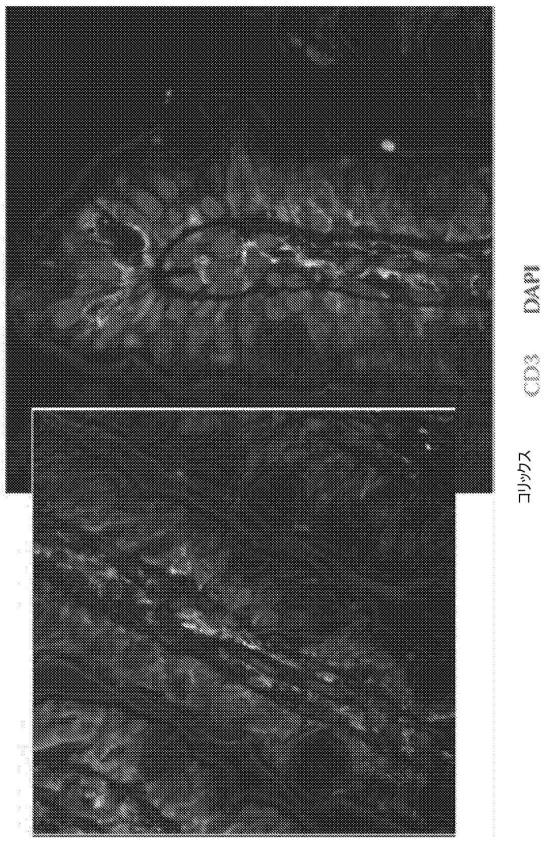


FIG. 66

【図６７】

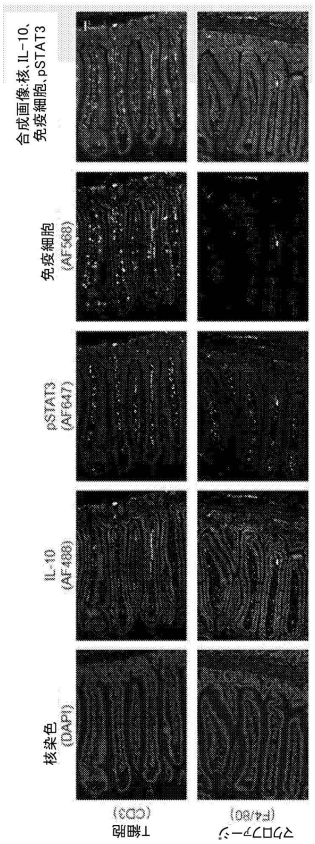


FIG. 67

【図６８】

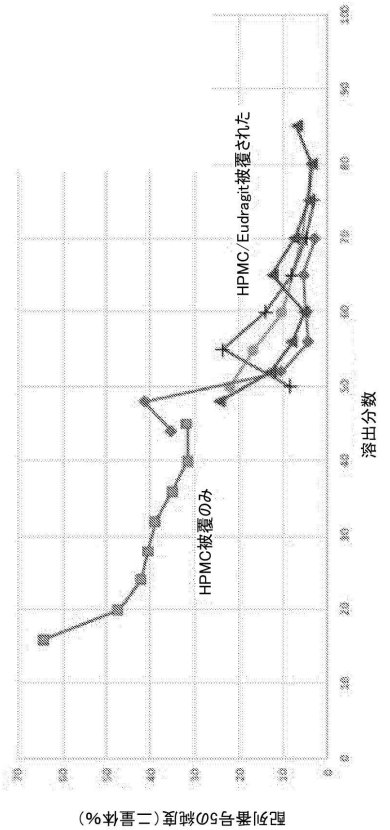


FIG. 68

【図６９】

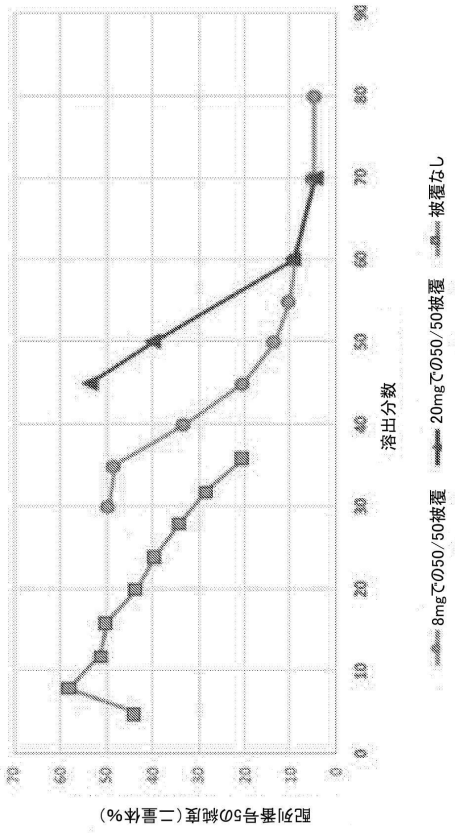


FIG. 69

【図７０】

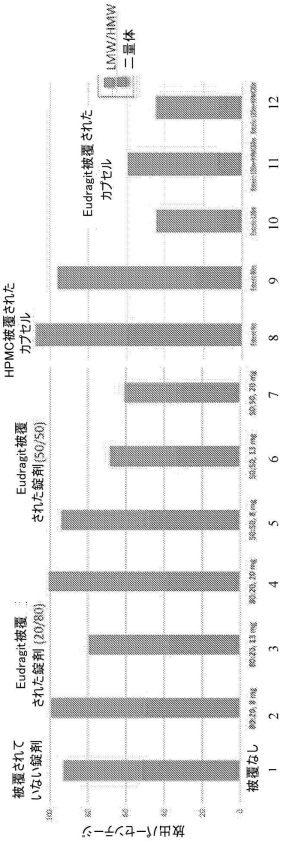


FIG. 70

【図７１－１】

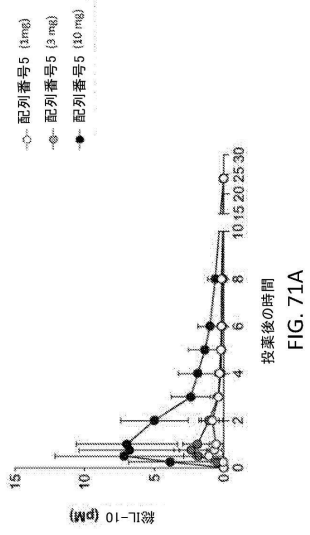


FIG. 71A

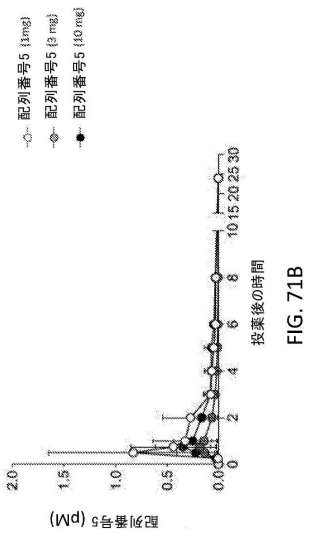


FIG. 71B

【図７１－２】

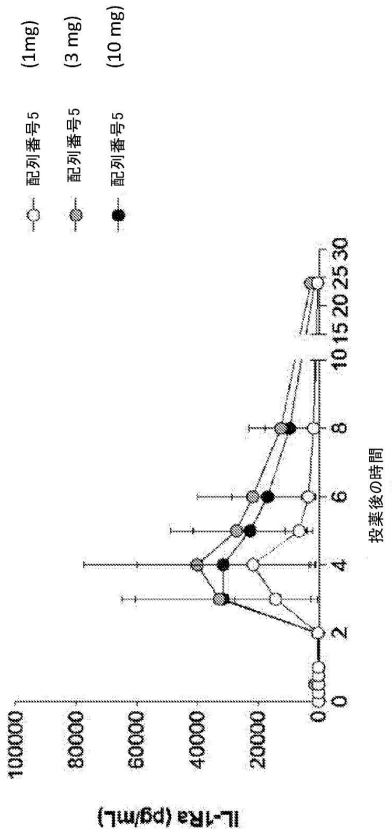


FIG. 71C

【図７２】

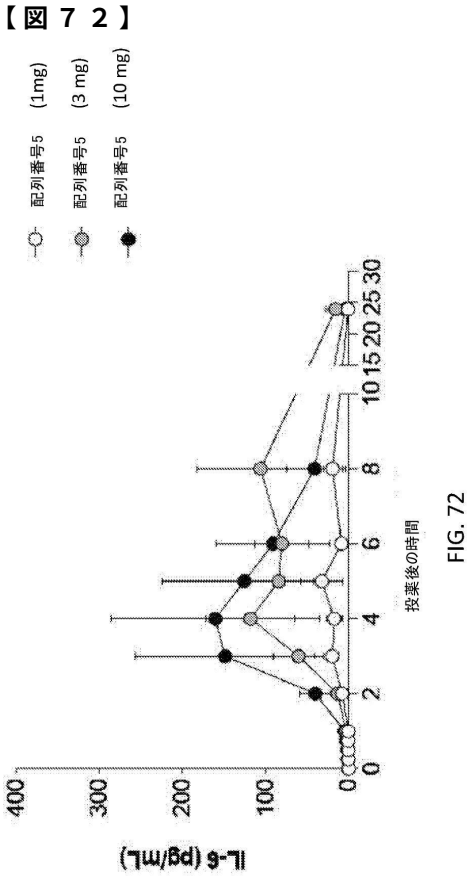


FIG. 72

【図７３】

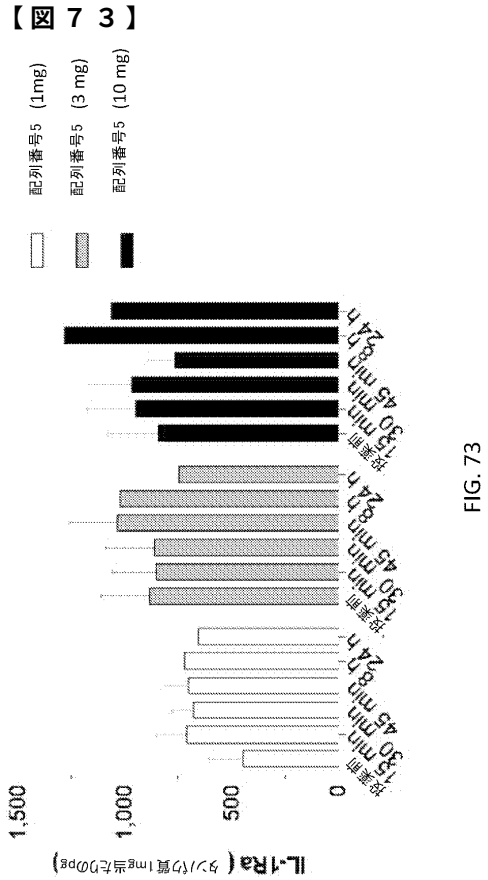


FIG. 73

【図７４】

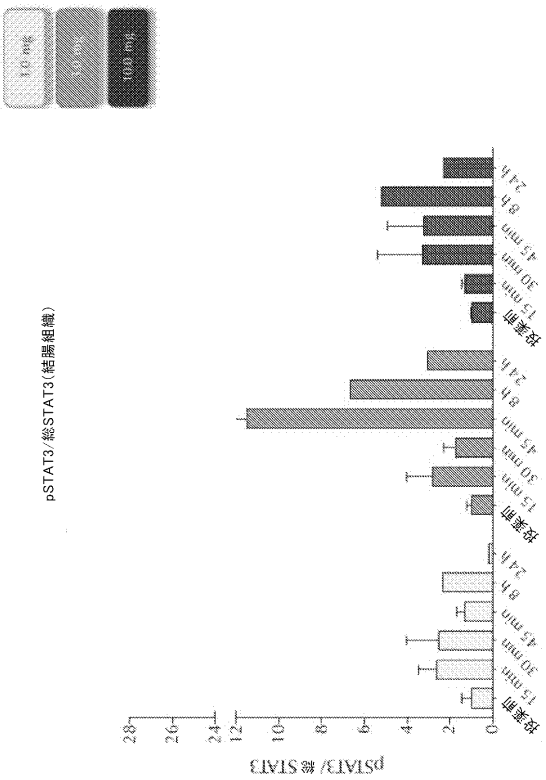


FIG. 74

【図７５】

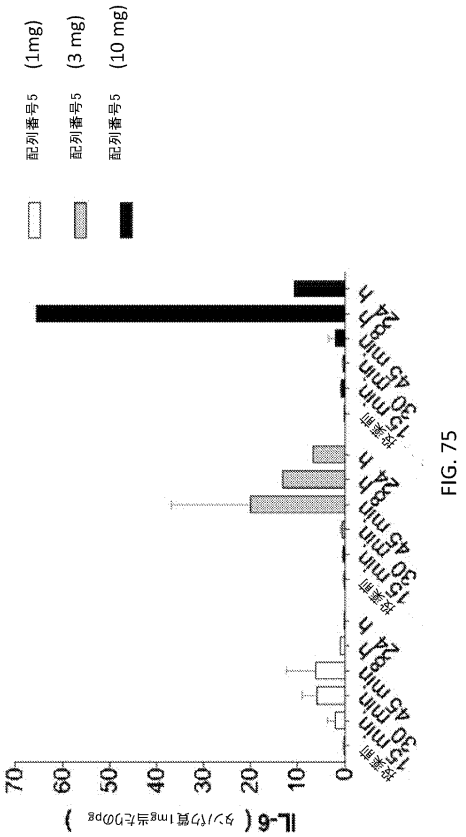


FIG. 75

【図７６】

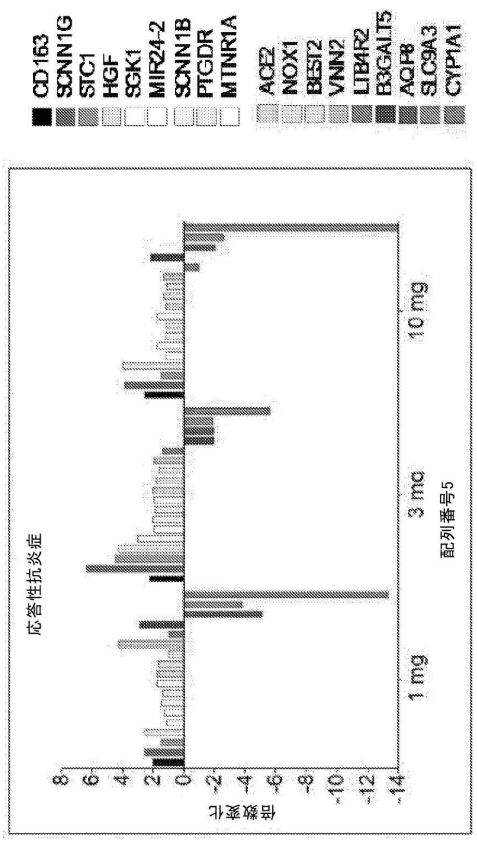


FIG. 76

【図７７】

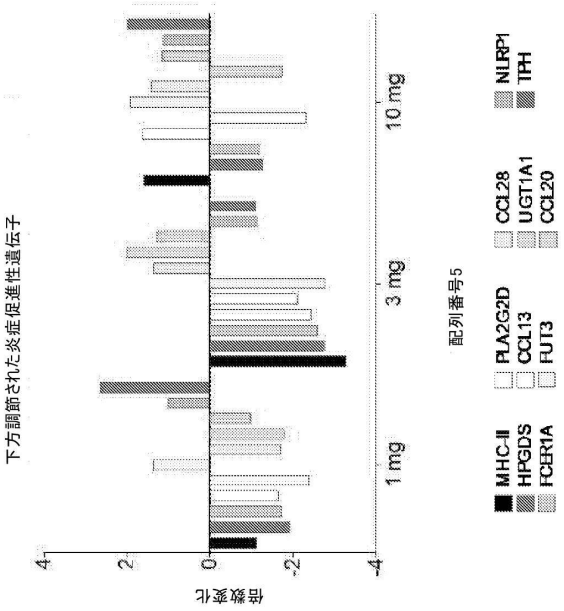


FIG. 77

【図７８】

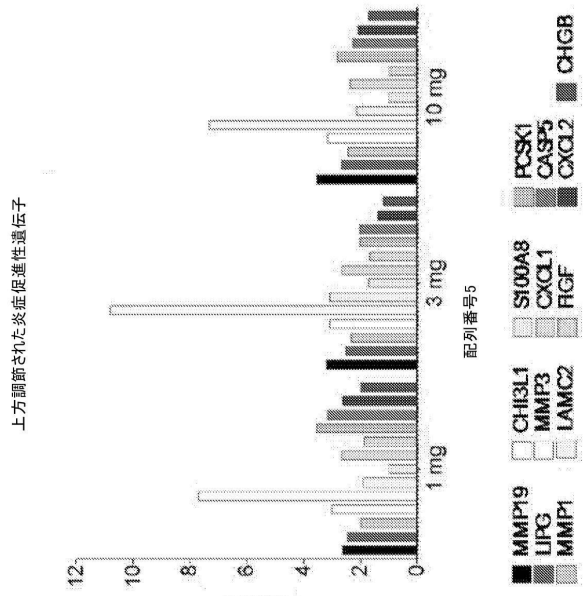


FIG. 78

【図７９】

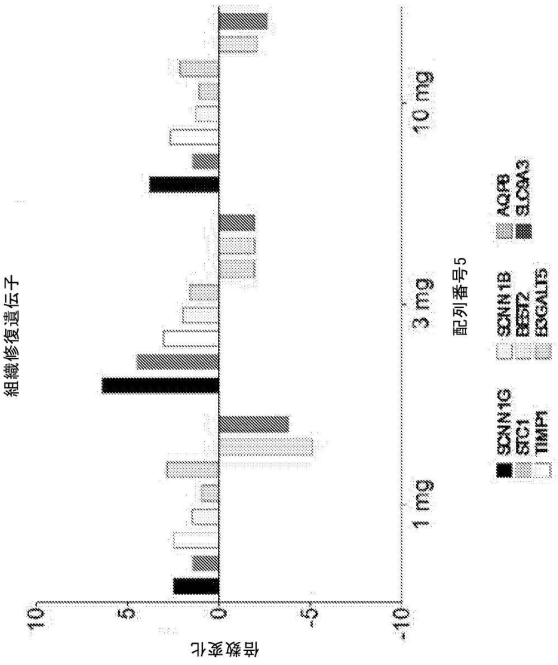


FIG. 79

【図８０】

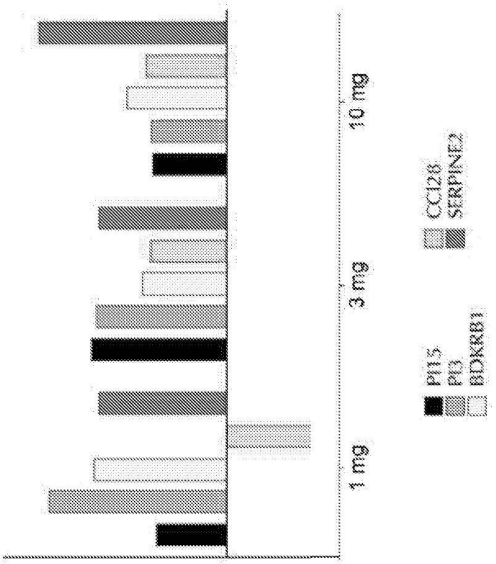


FIG. 80

【図８１】

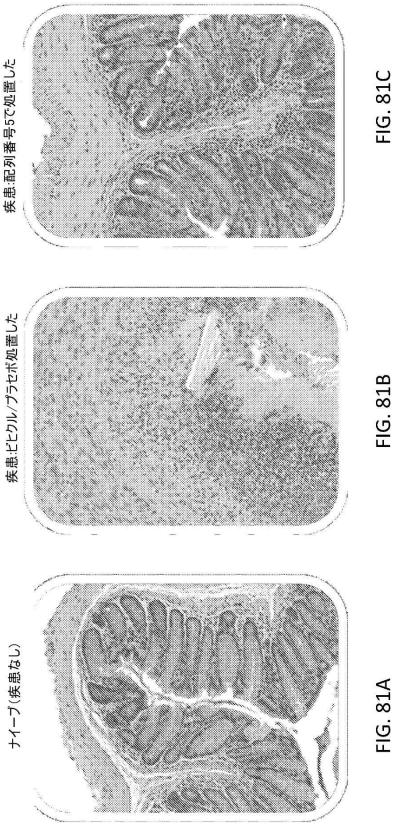


FIG. 81A

FIG. 81B

FIG. 81C

【図８２－１】

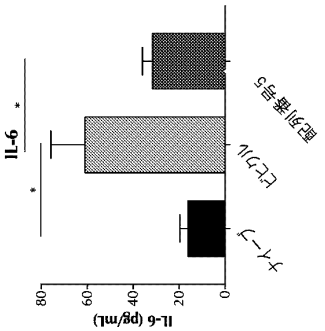


FIG. 82B

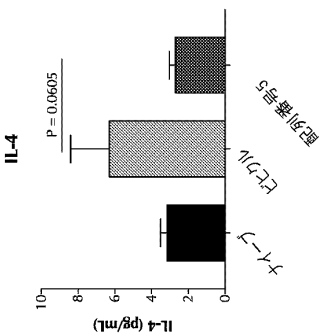


FIG. 82A

【図８２－２】

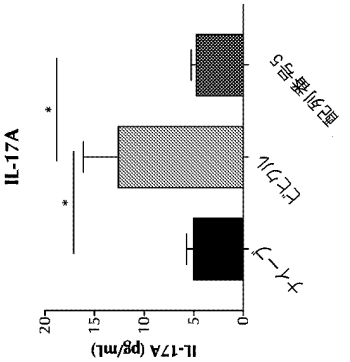


FIG. 82D

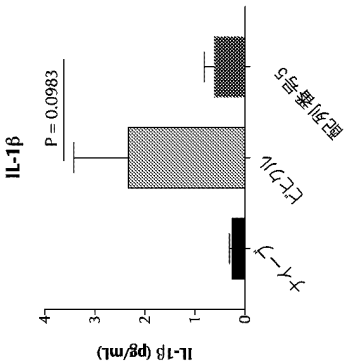


FIG. 82C

【図８２－３】

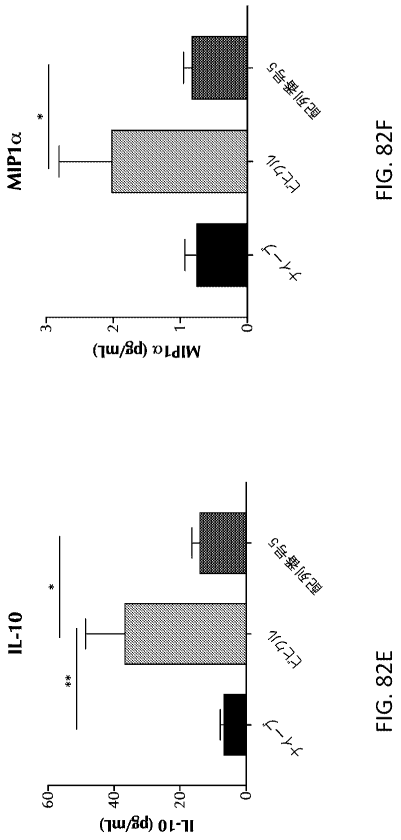


FIG. 82E

FIG. 82F

【図８２－４】

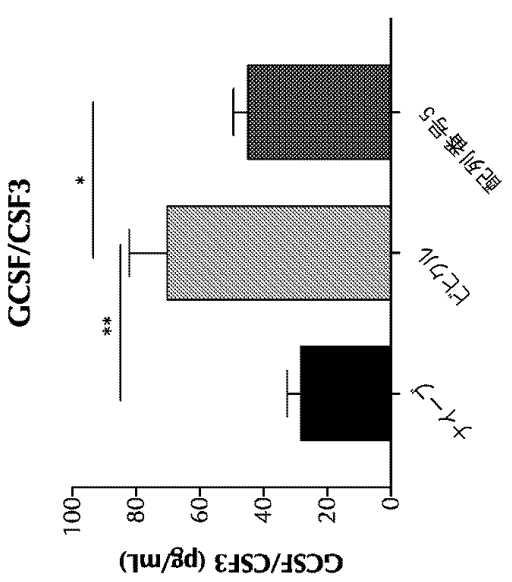


FIG. 82G

【図８３－１】

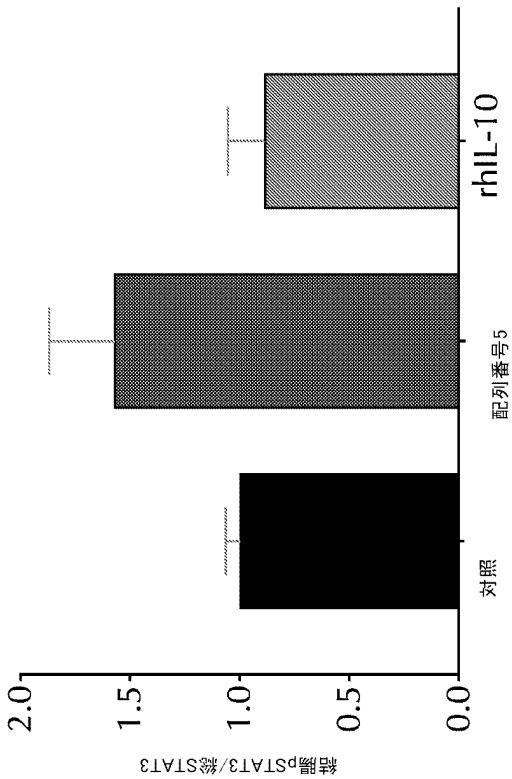


FIG. 83A

【図８３－２】

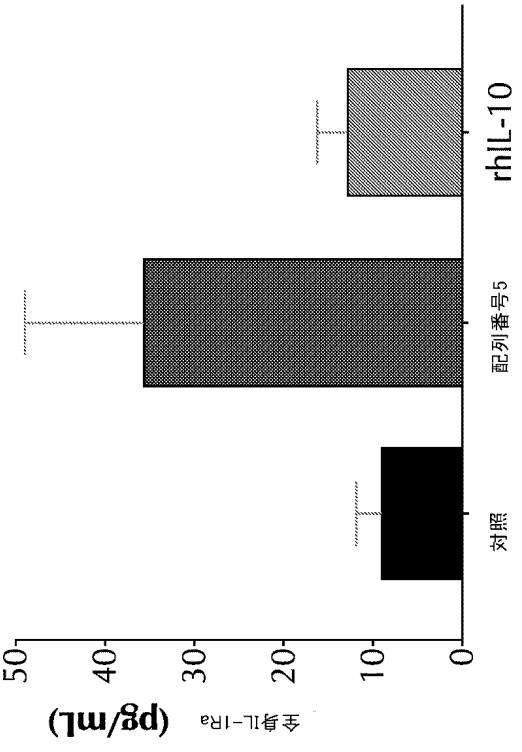


FIG. 83B

【図８４】

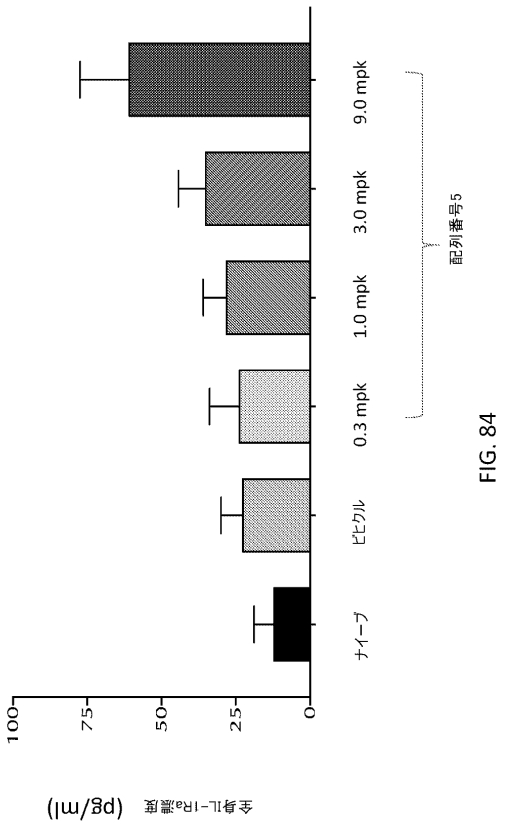


FIG. 84

【図８５－１】

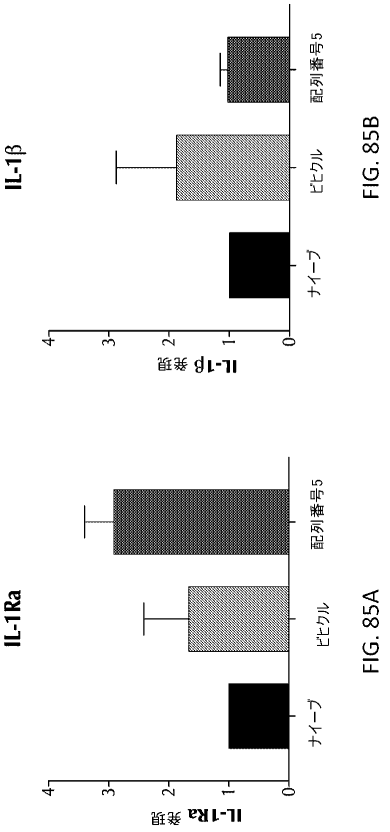


FIG. 85B

FIG. 85A

【図８５－２】

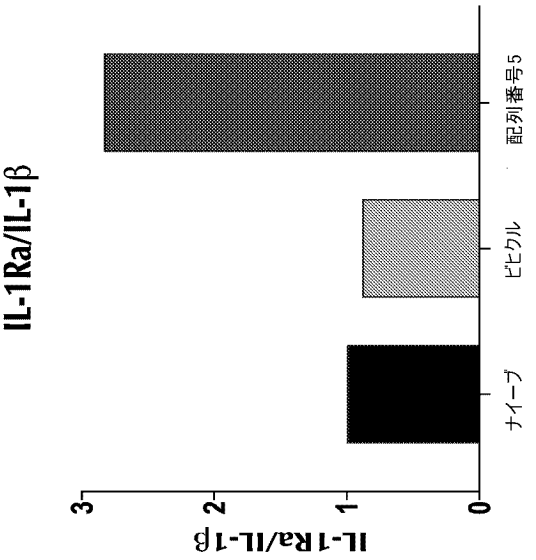


FIG. 85C

【図８６】

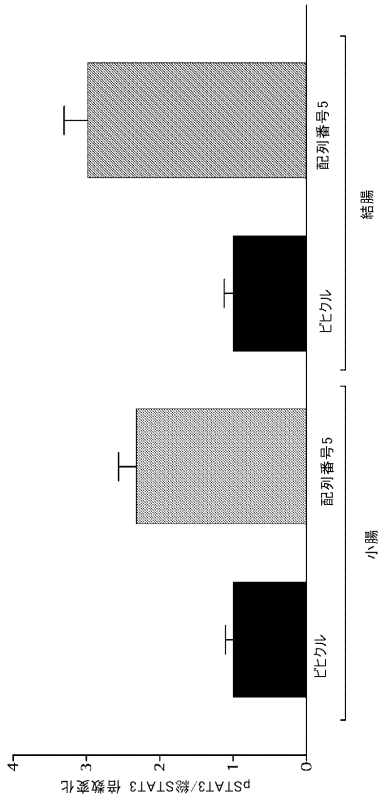


FIG. 86

【図８７】

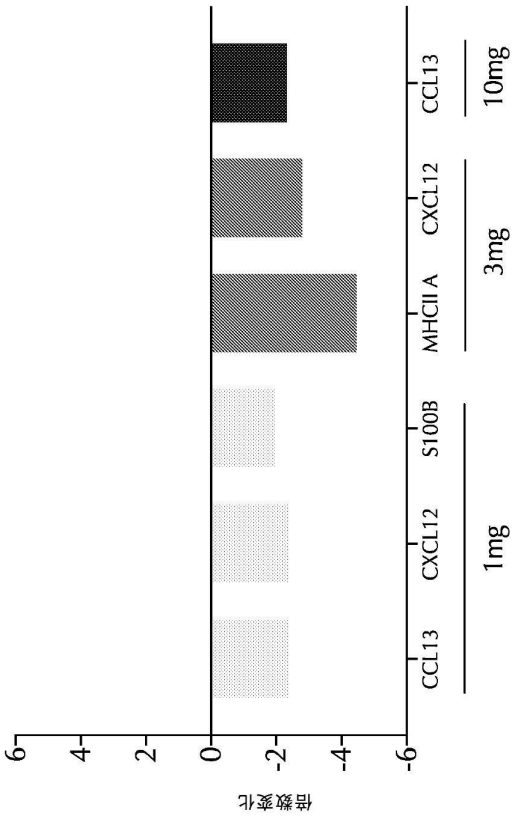


FIG. 87

【図８８】

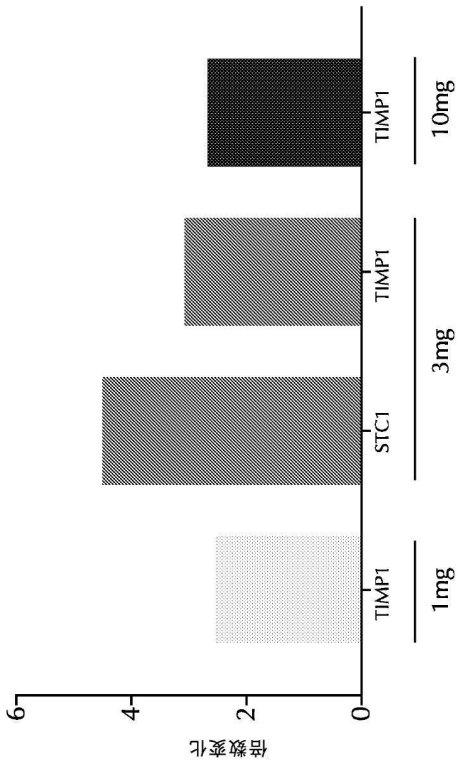


FIG. 88

【図８９】

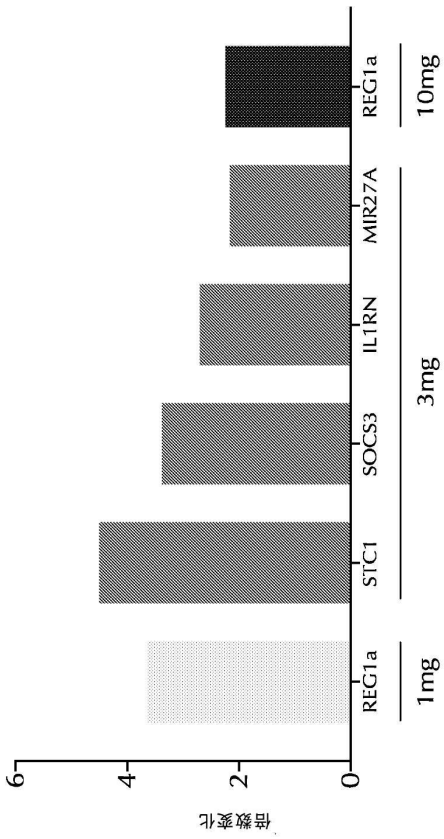


FIG. 89

【図９０－１】

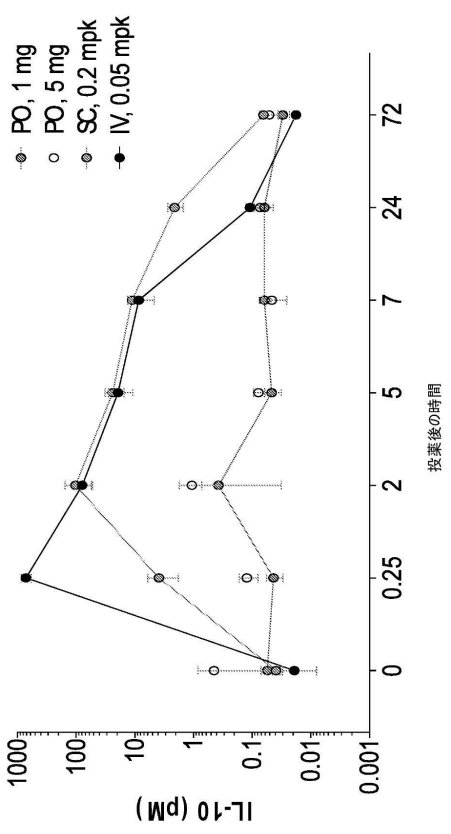


FIG. 90A

【図９０－２】

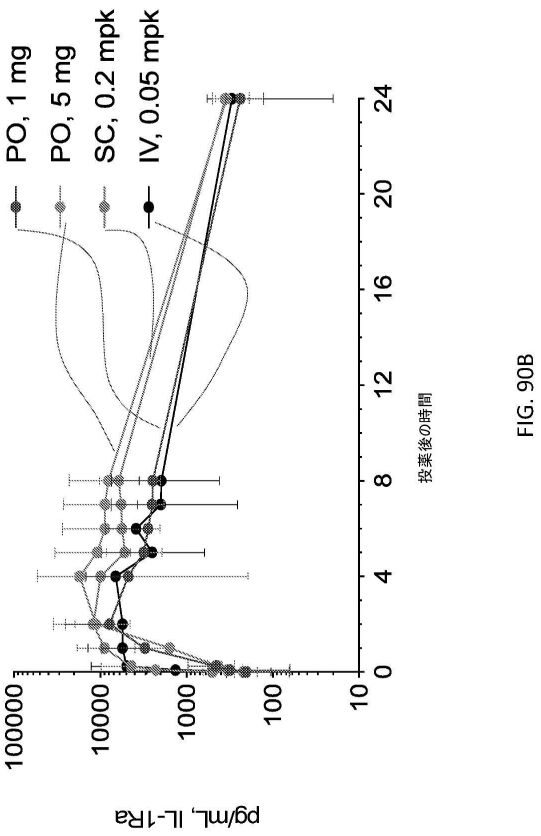


FIG. 90B

【図９１】

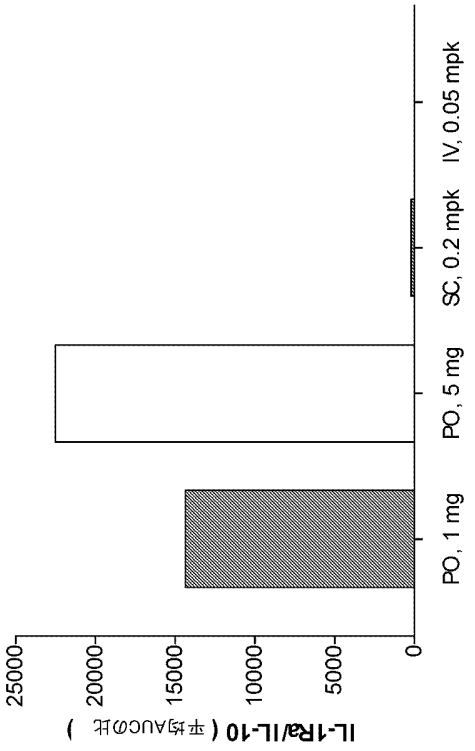


FIG. 91

【図９２】

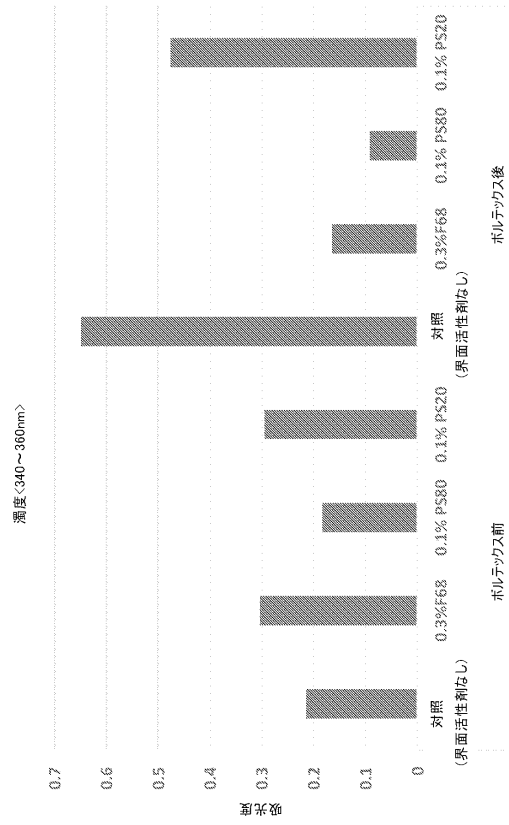


FIG. 92

【図９３】

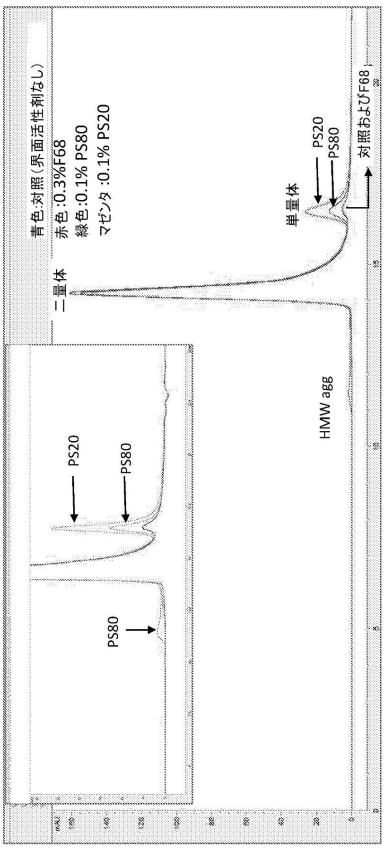


FIG. 93

【図９４】

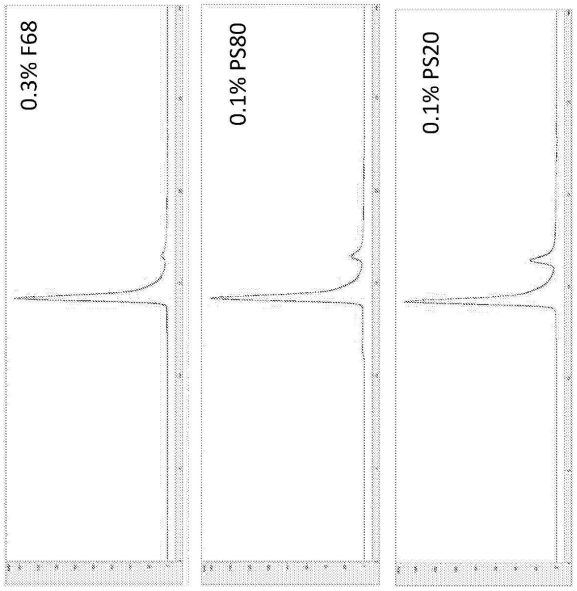


FIG. 94

【図９５】

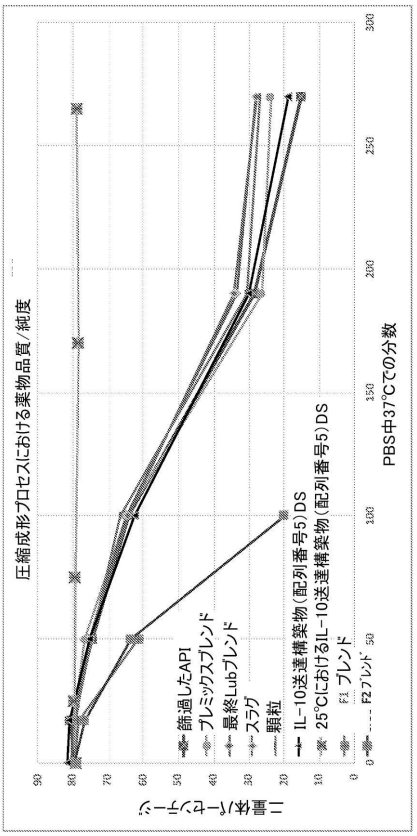


FIG. 95

【図９６】

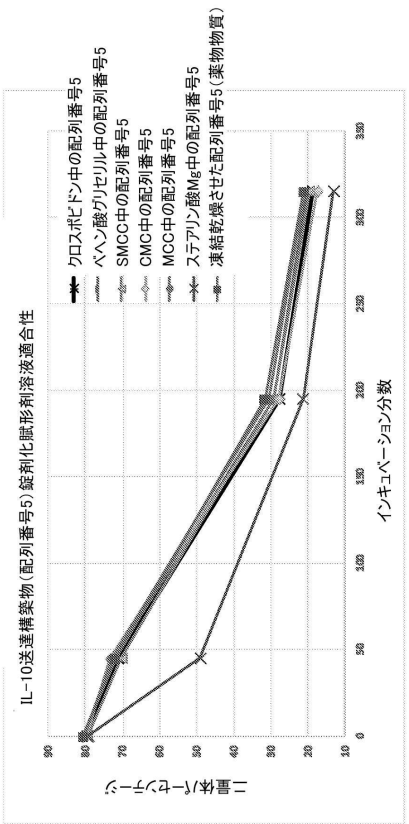


FIG. 96

【図９７】

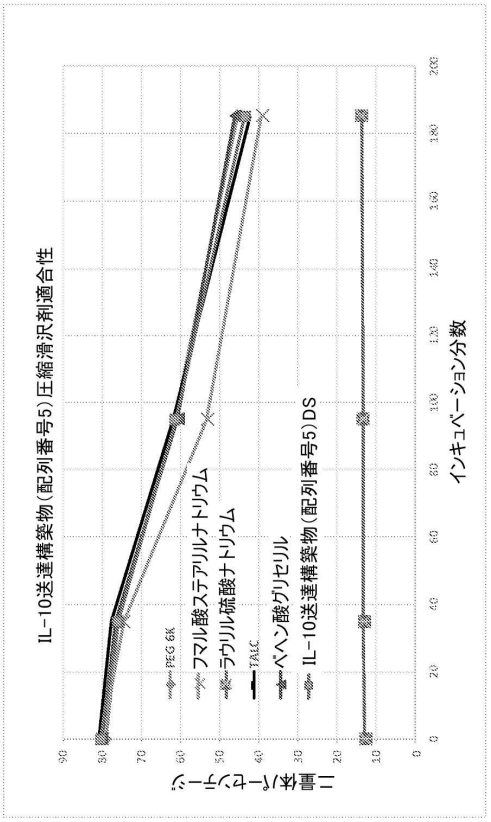


FIG. 97

【図９８】

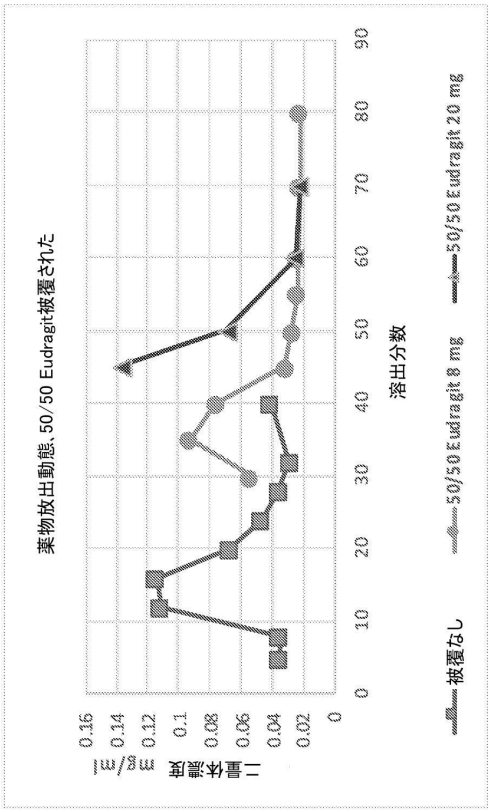


FIG. 98

【図９９】

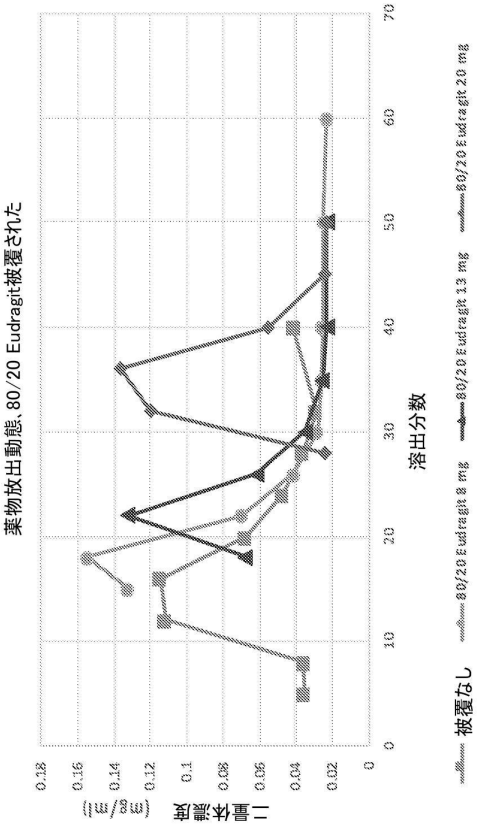


FIG. 99

【図１００】

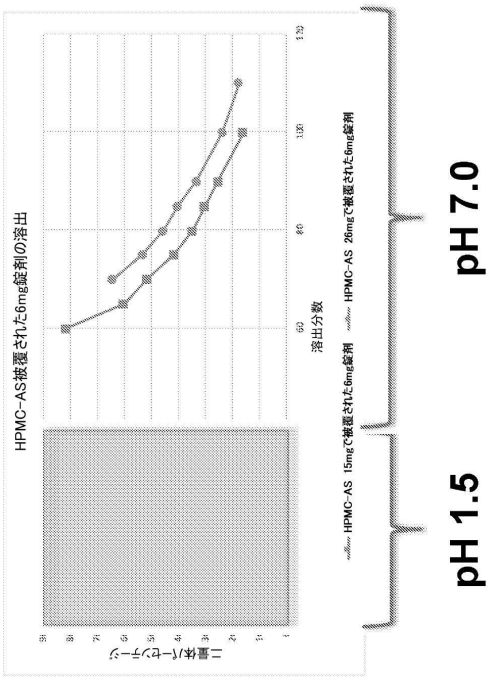


FIG. 100

【図１０１】

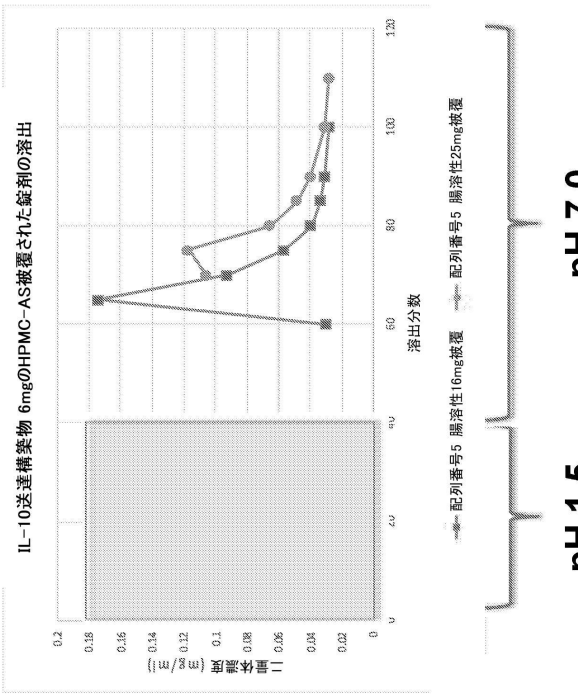


FIG. 101

【図１０２】

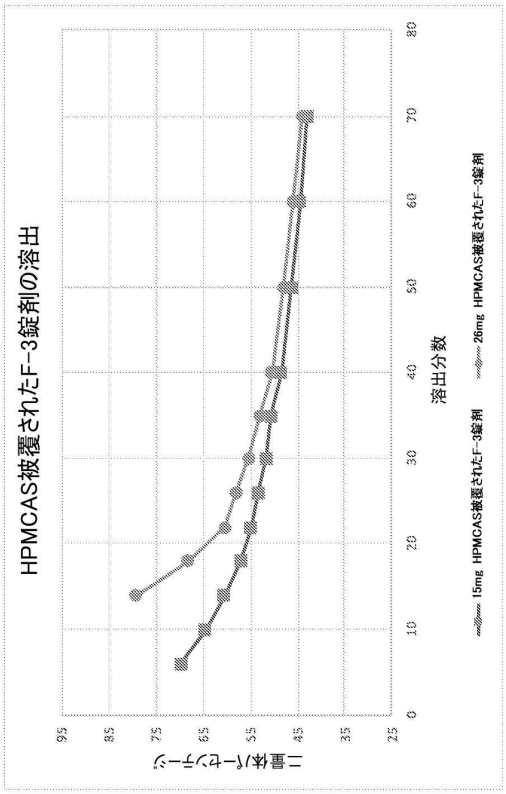


FIG. 102

【図１０３】

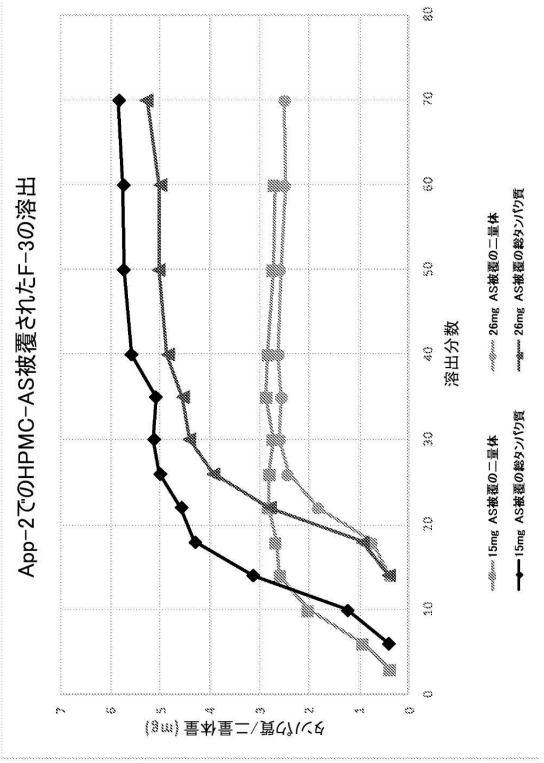


FIG. 103

【図１０４－１】

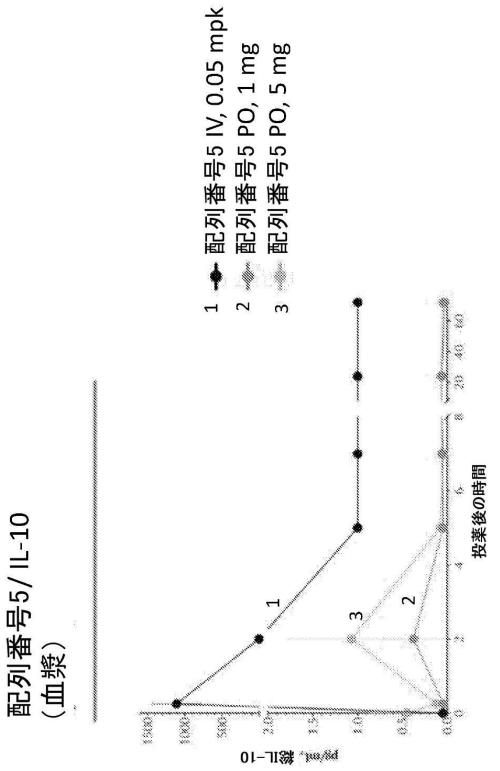


FIG. 104A

【図１０４－２】

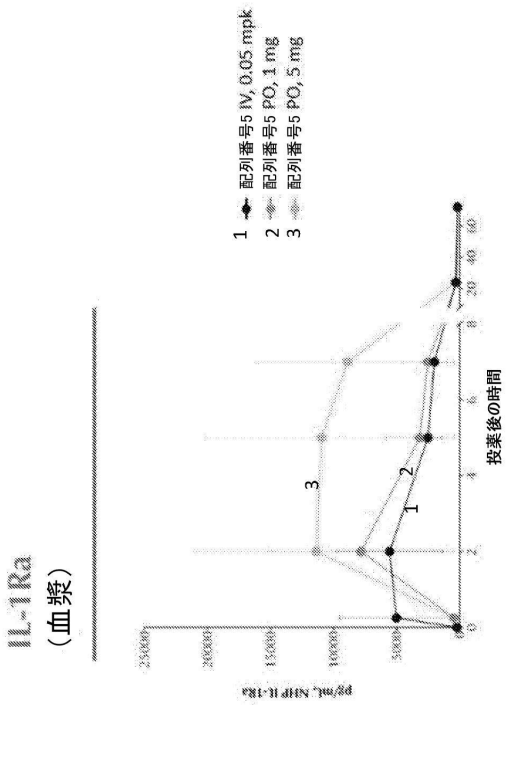


FIG. 104B

【図１０４－３】

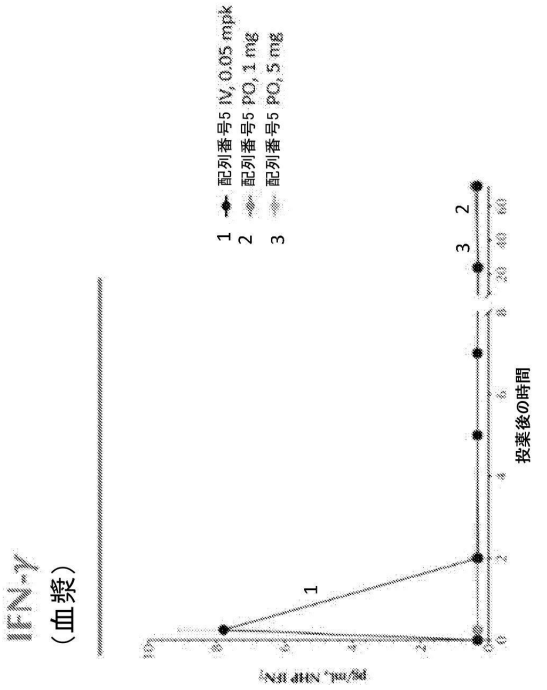


FIG. 104C

【図１０５－１】

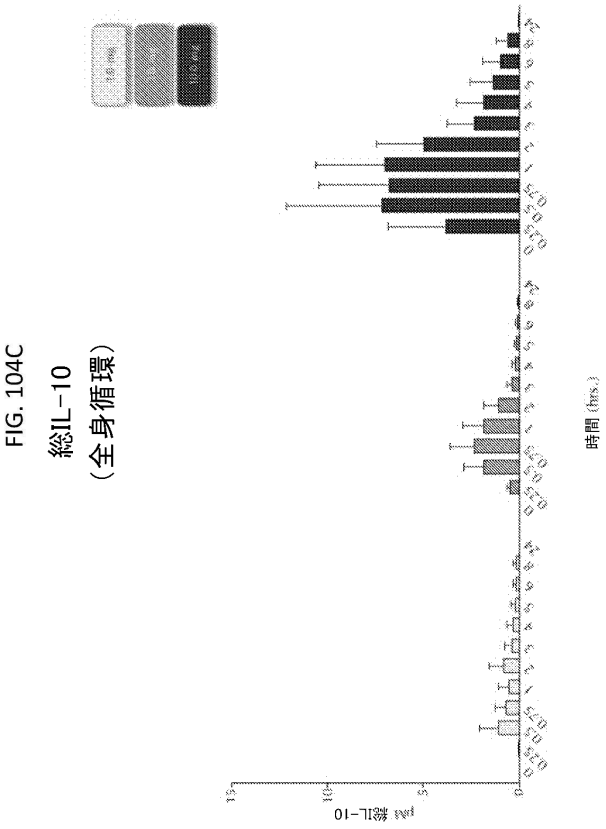


FIG. 105A

【図１０５－２】

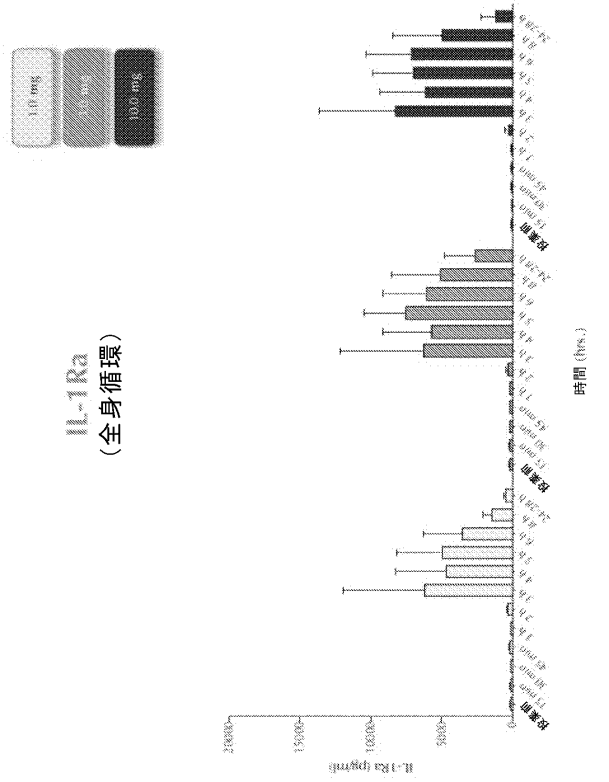


FIG. 105B

【図１０５－３】

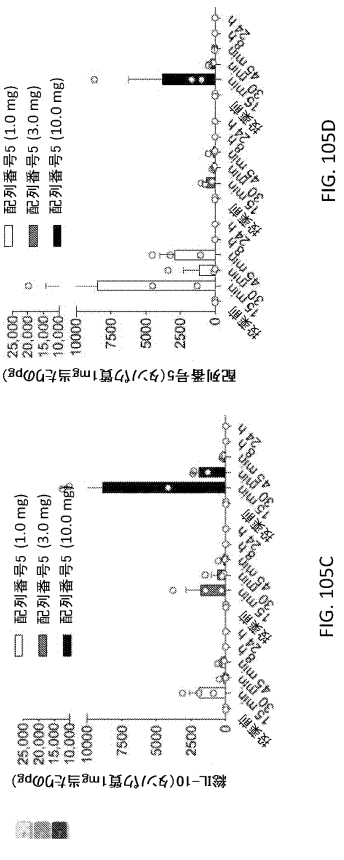


FIG. 105D

FIG. 105C

【図１０６－１】

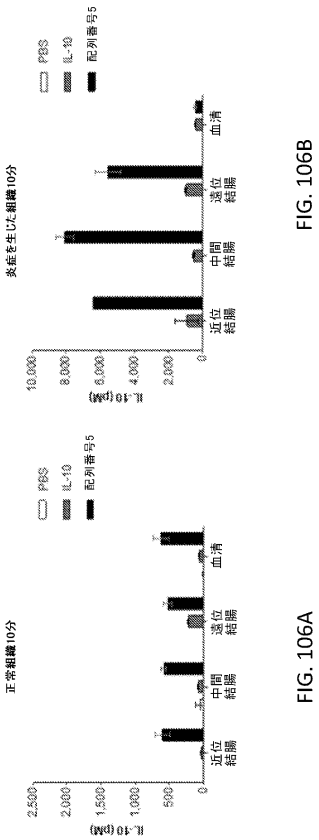


FIG. 106B

FIG. 106A

【図１０６－２】

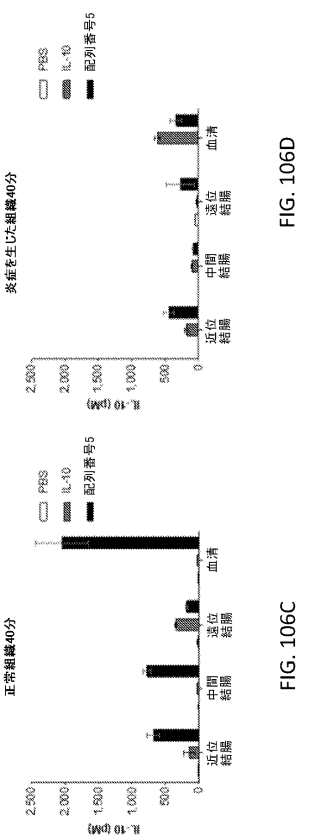


FIG. 106D

FIG. 106C

【図１０７】

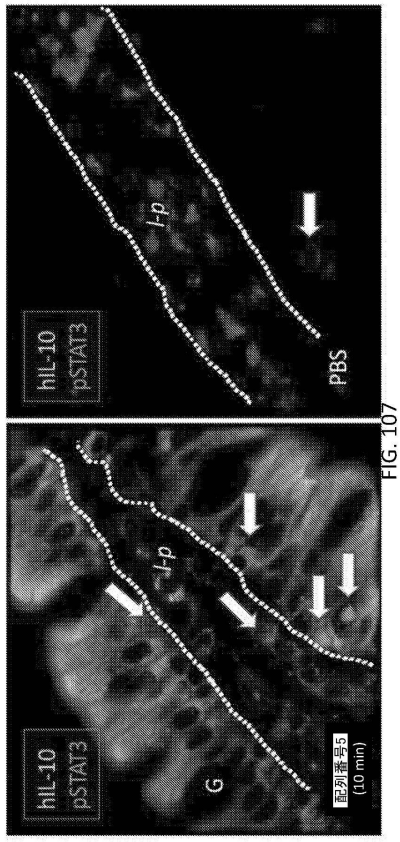


FIG. 107

【図１０８】

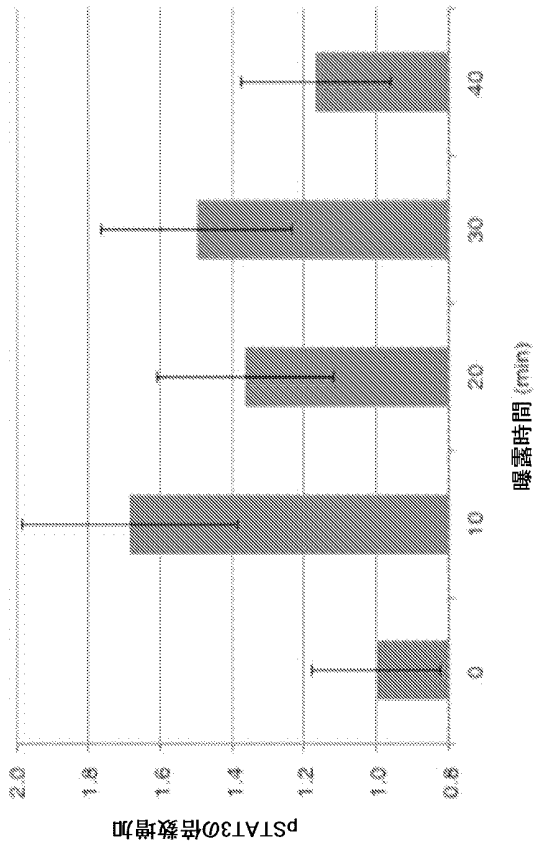


FIG. 108

【図１０９】

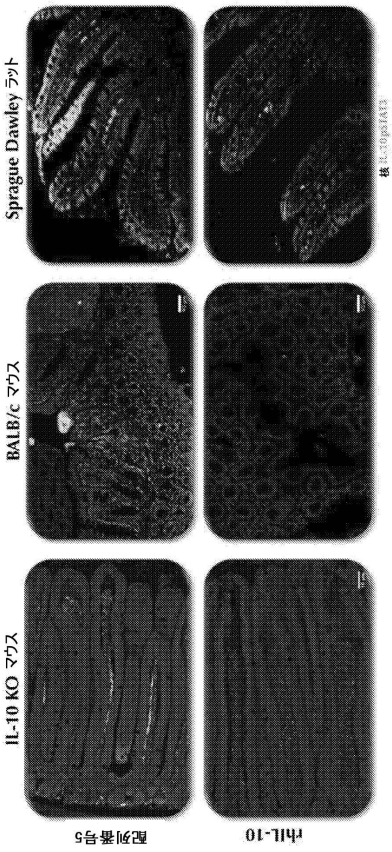


FIG. 109

【図１１０】

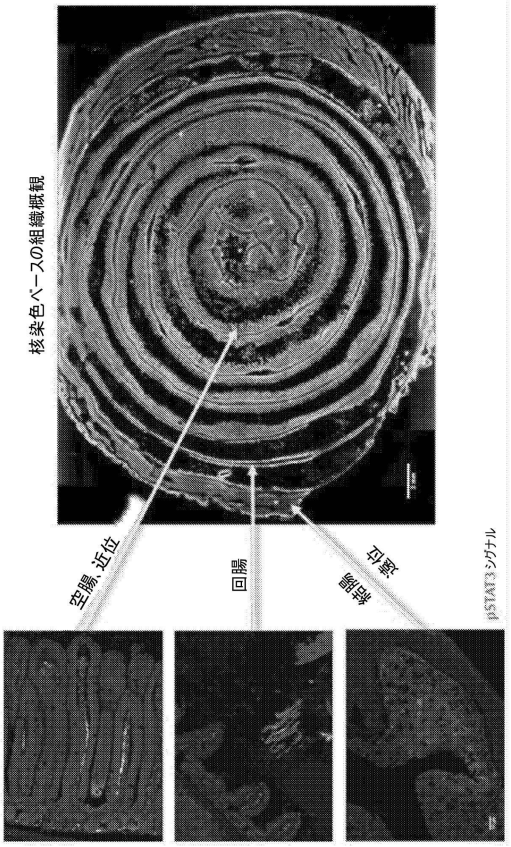


FIG. 110

【図１１１】

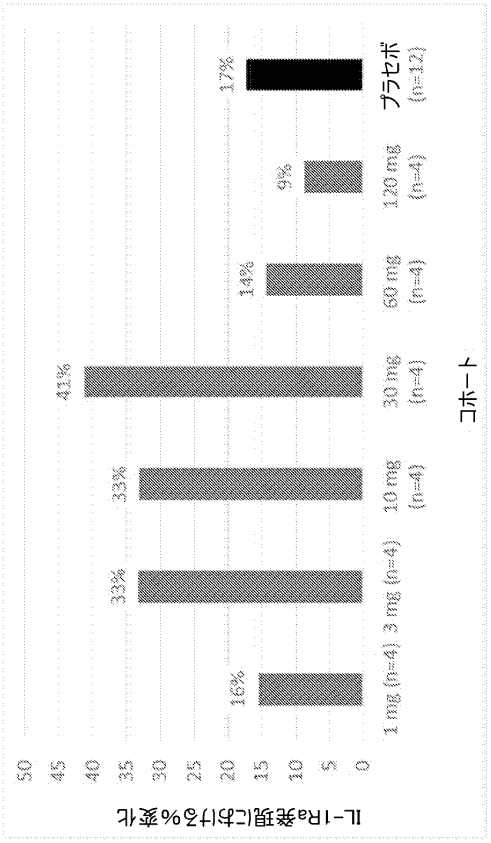


FIG. 111

【図１１２】

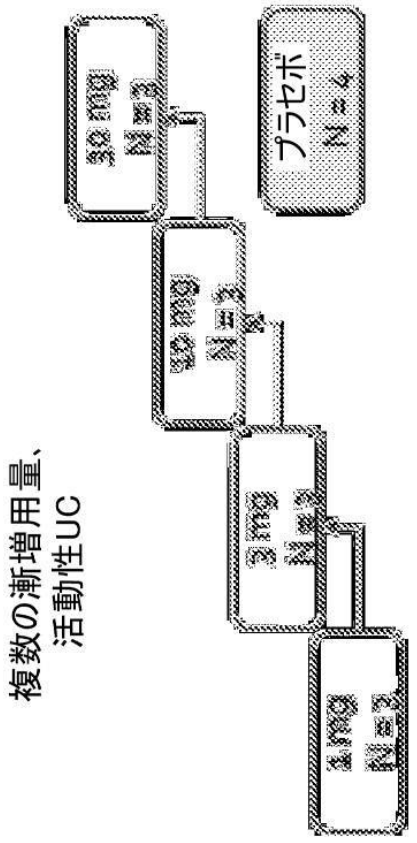


FIG. 112

【図１１３】

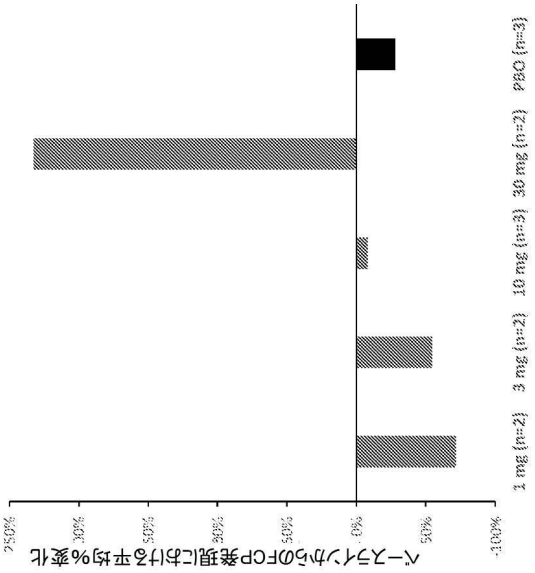


FIG. 113

【図１１４】

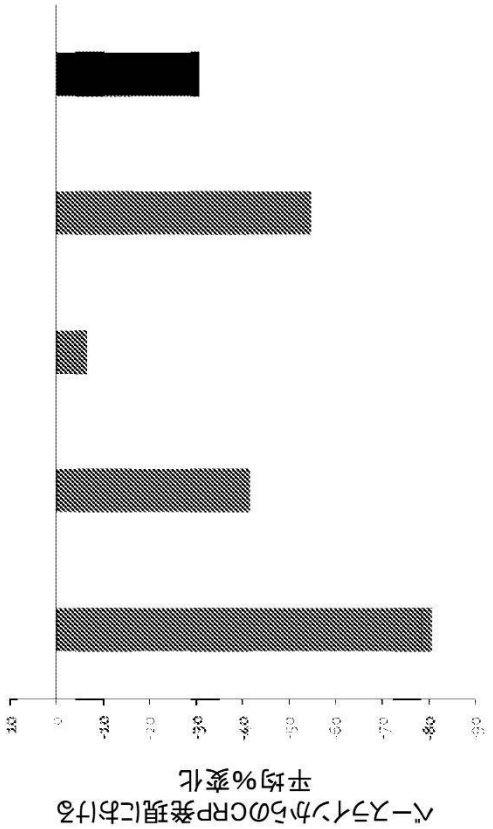


FIG. 114

【図１１５】

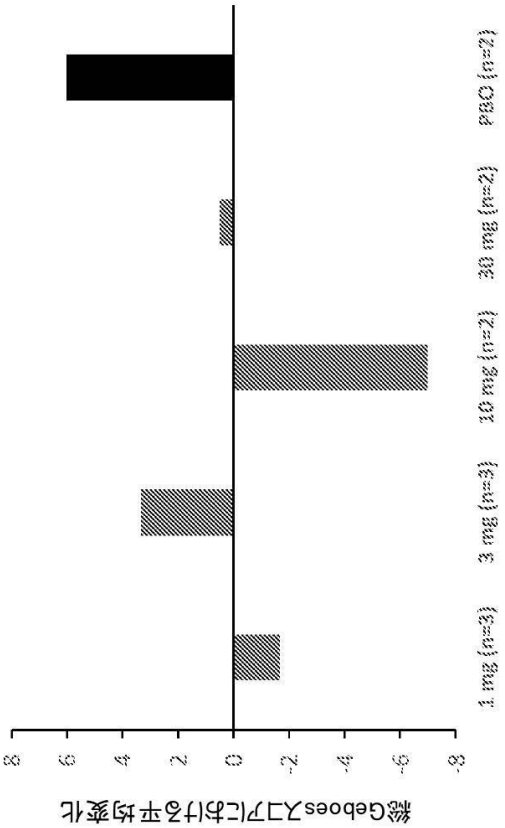


FIG. 115

【図１１６】

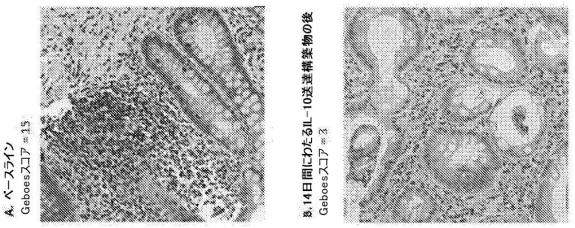


FIG. 116

【図１１７－１】

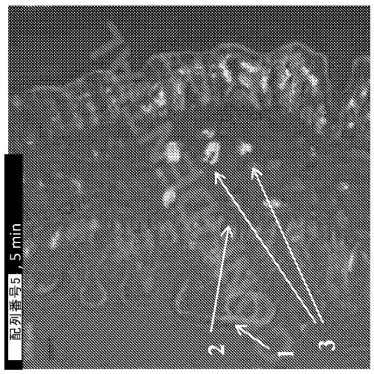


FIG. 117B

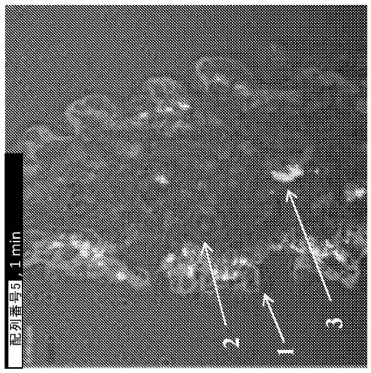


FIG. 117A

【図１１７－２】

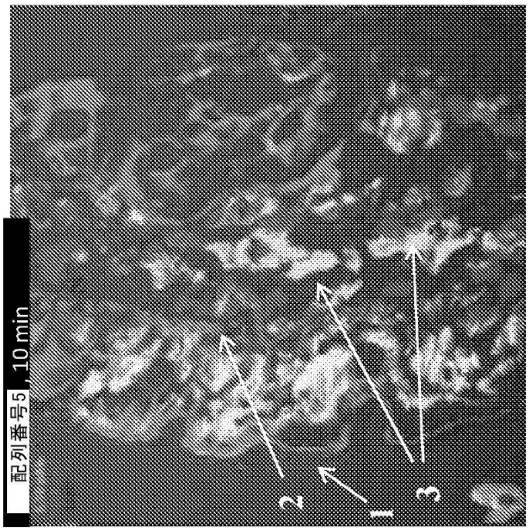


FIG. 117C

【図１１８】

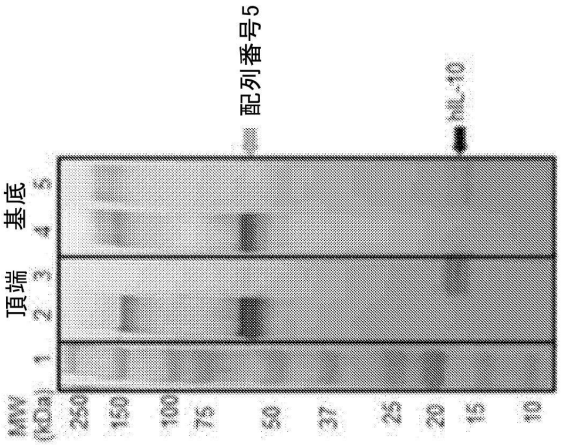


FIG. 118

【図１１９】

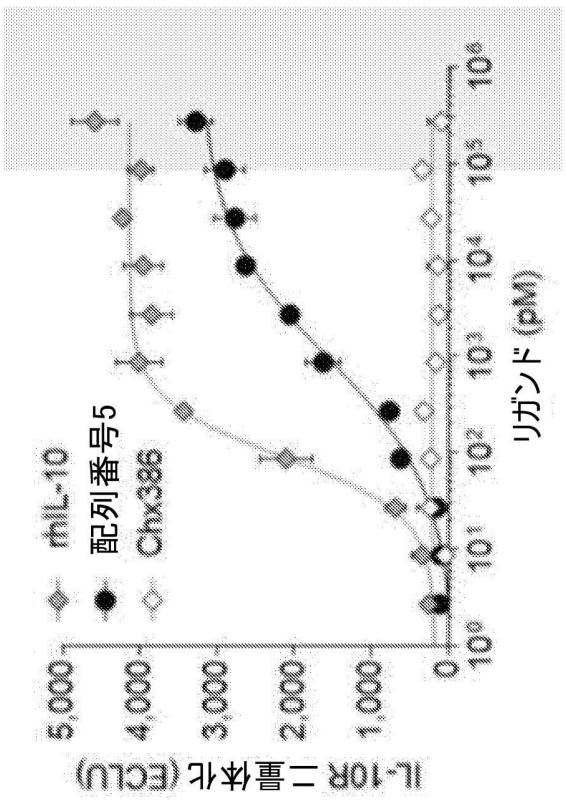


FIG. 119

【図１２０】

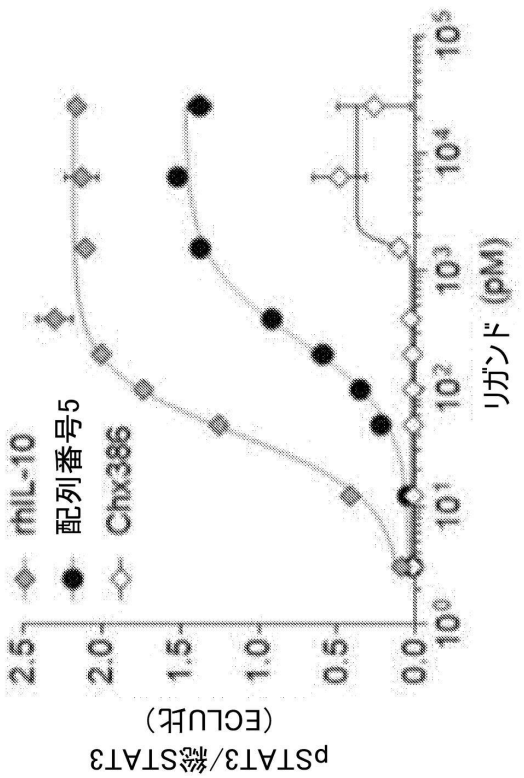


FIG. 120

【図１２１】

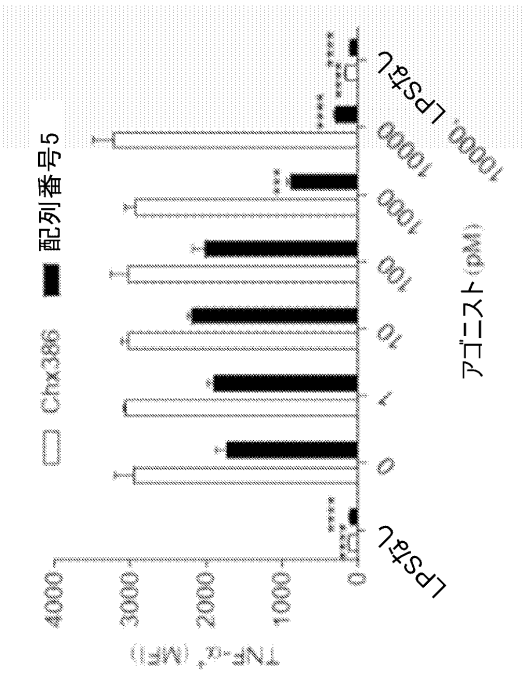


FIG. 121

【図１２２】

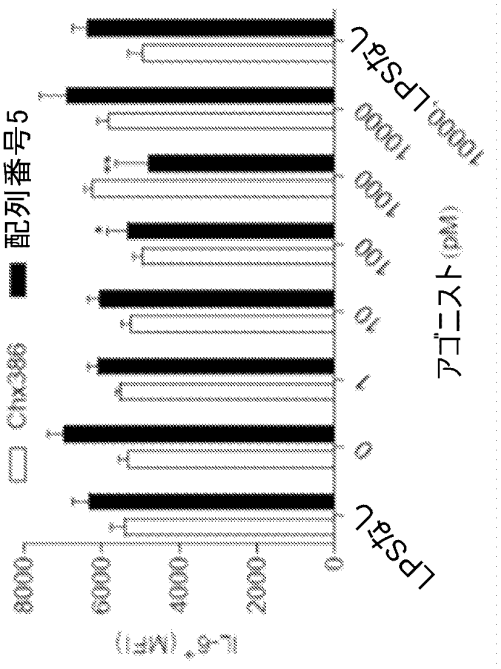


FIG. 122

【図１２３】

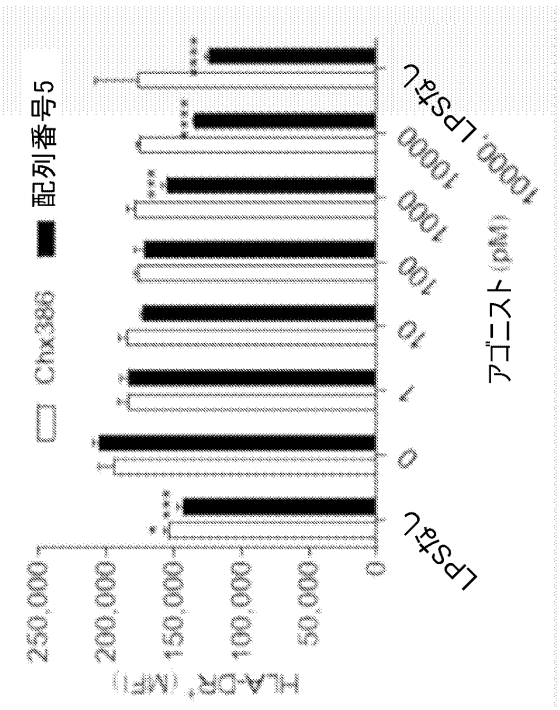


FIG. 123

【図１２４】

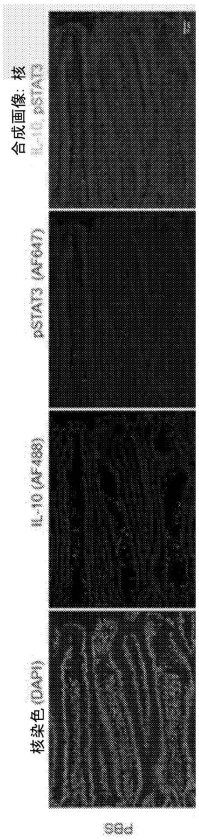


FIG. 124

【図１２５】

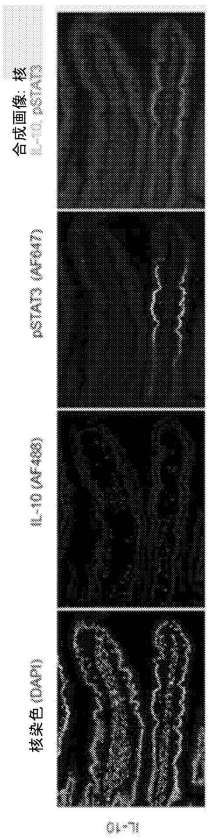


FIG. 125

【図１２６】

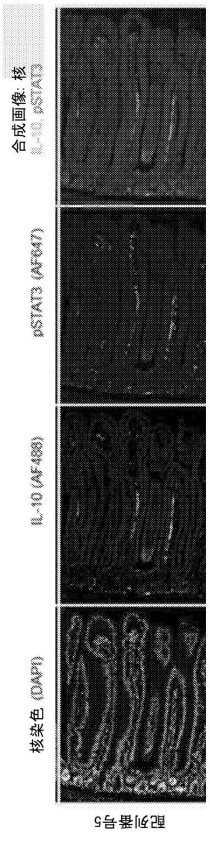


FIG. 126

【図１２７】

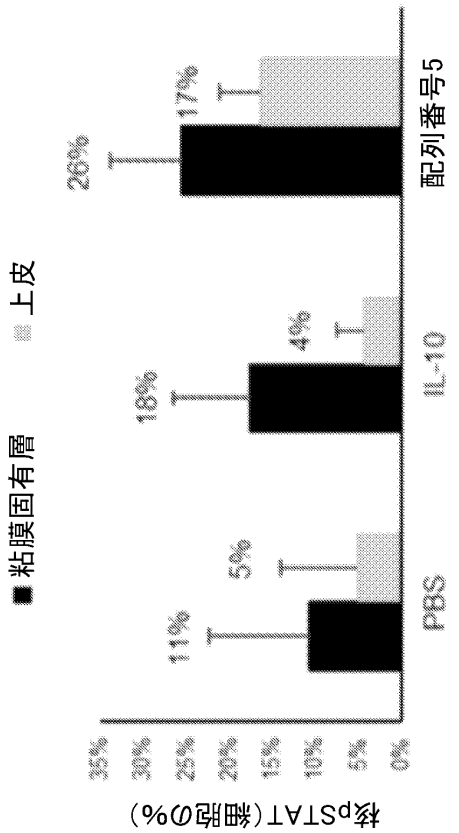


FIG. 127

【図１２８】

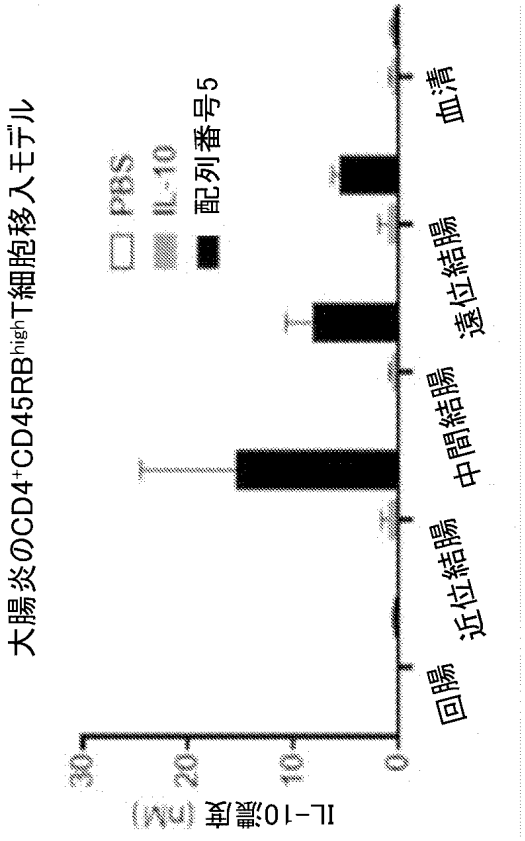


FIG. 128

【図１２９】

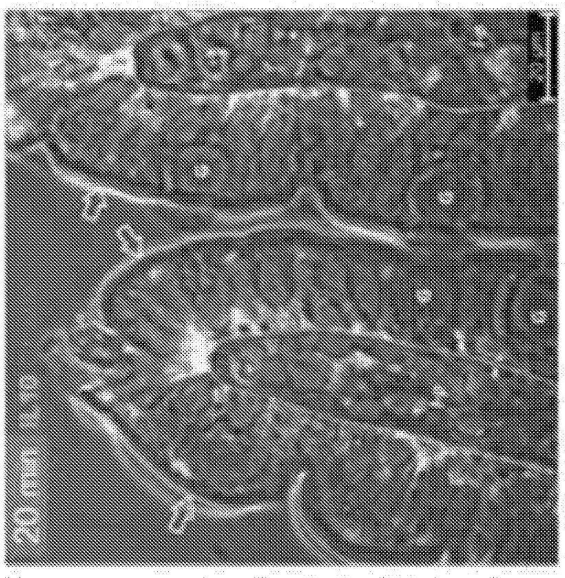


FIG. 129

【図１３０】

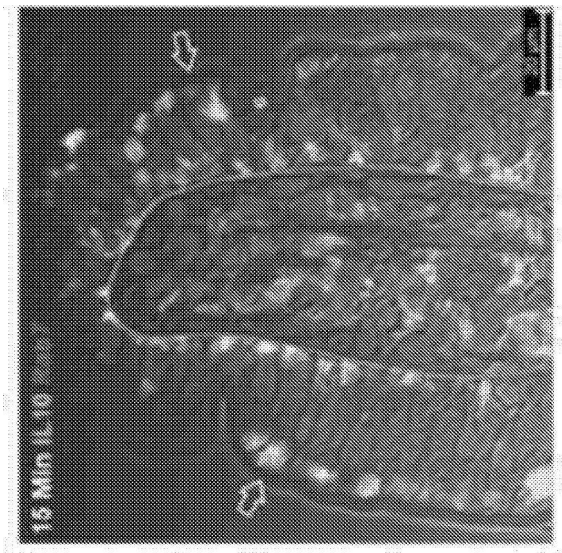


FIG. 130

【図１３１】

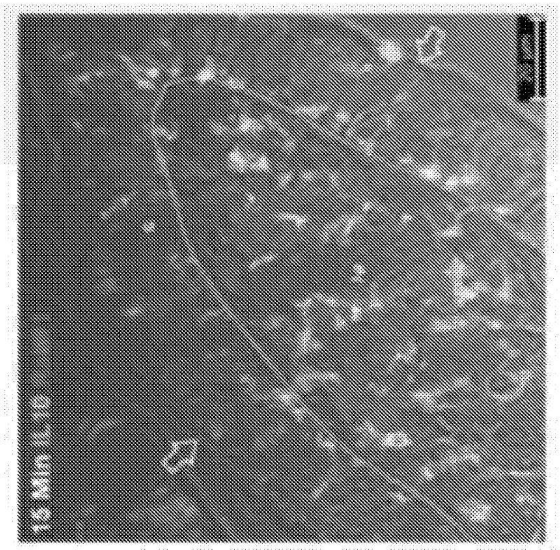


FIG. 131

【図１３２】

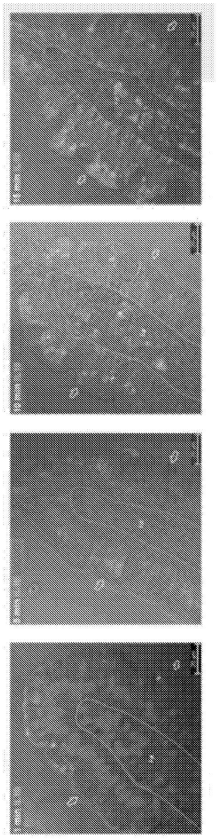


FIG. 132

【図１３３】

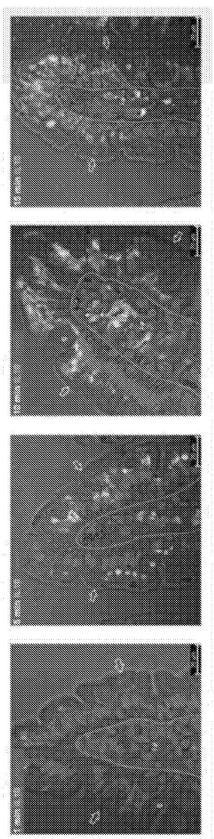


FIG. 133

【図１３４】

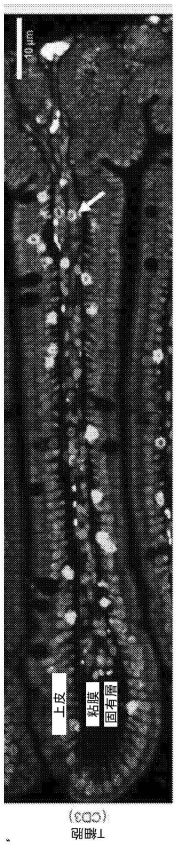


FIG. 134

【図１３５】

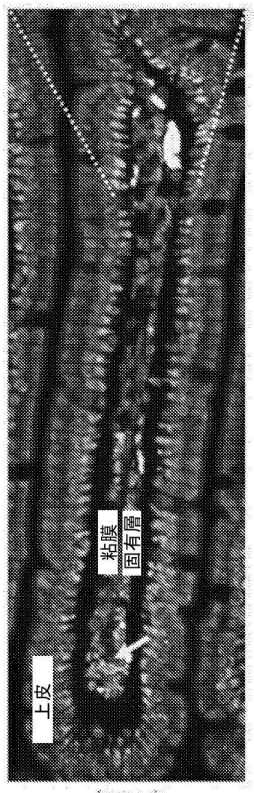


FIG. 135

【図１３６】

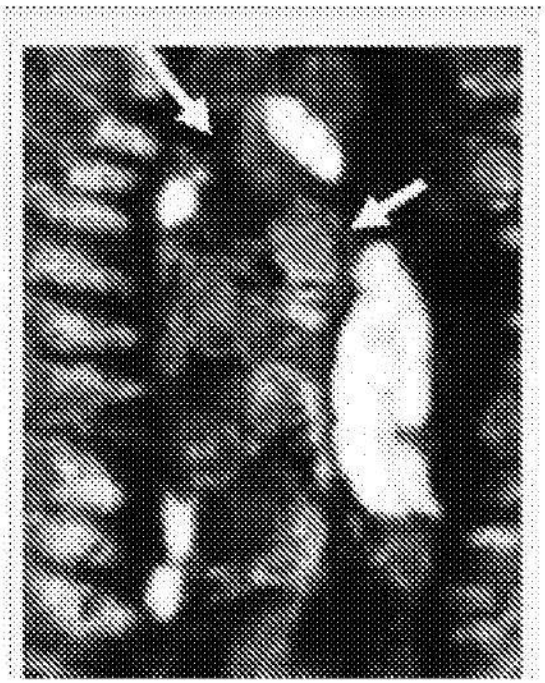


FIG. 136

【図１３７】

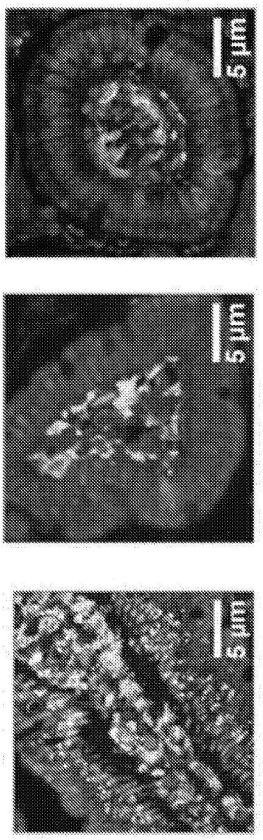


FIG. 137

【図１３８】

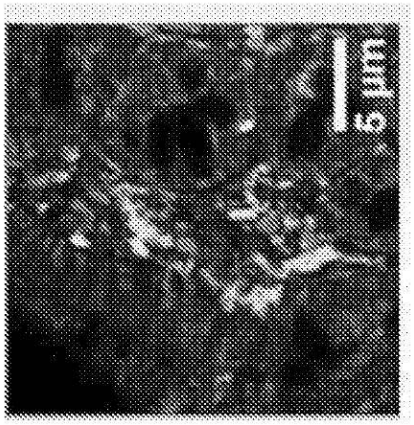


FIG. 138

【図１３９】

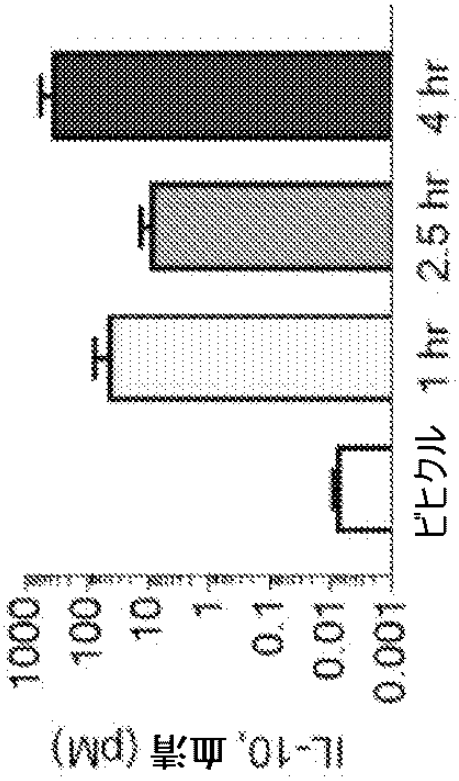


FIG. 139

【図１４０】

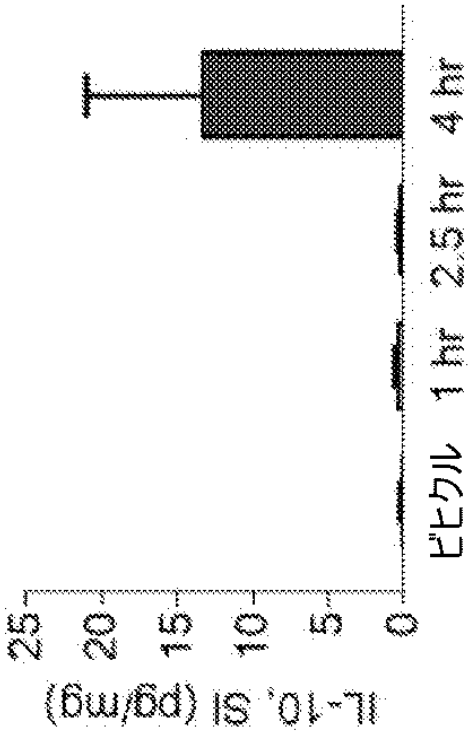


FIG. 140

【図１４１】

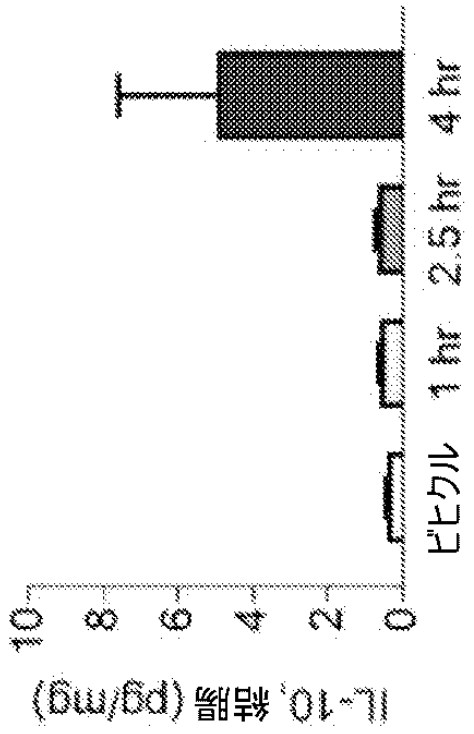


FIG. 141

【図１４２】

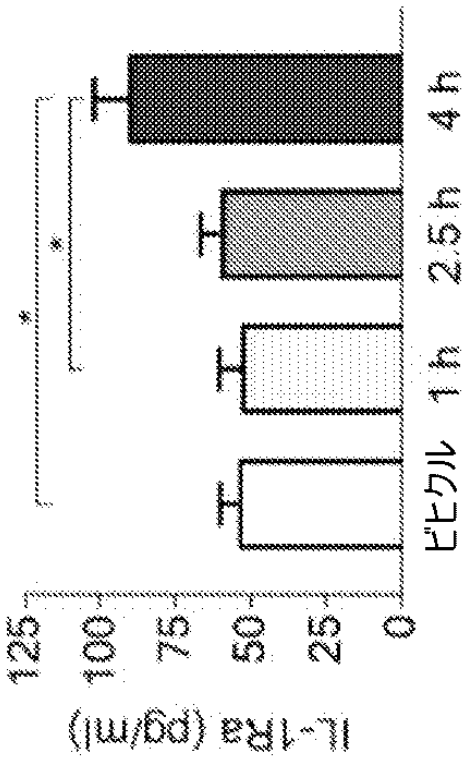


FIG. 142

【図１４３】

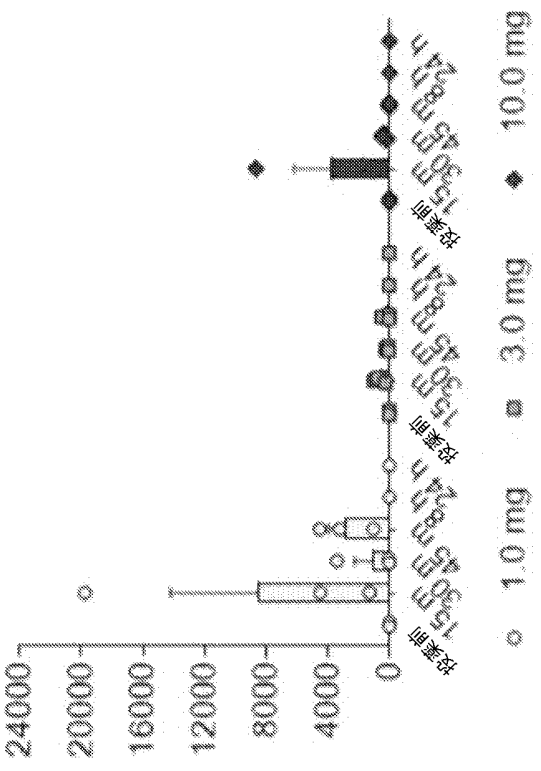


FIG. 143

【図１４４】

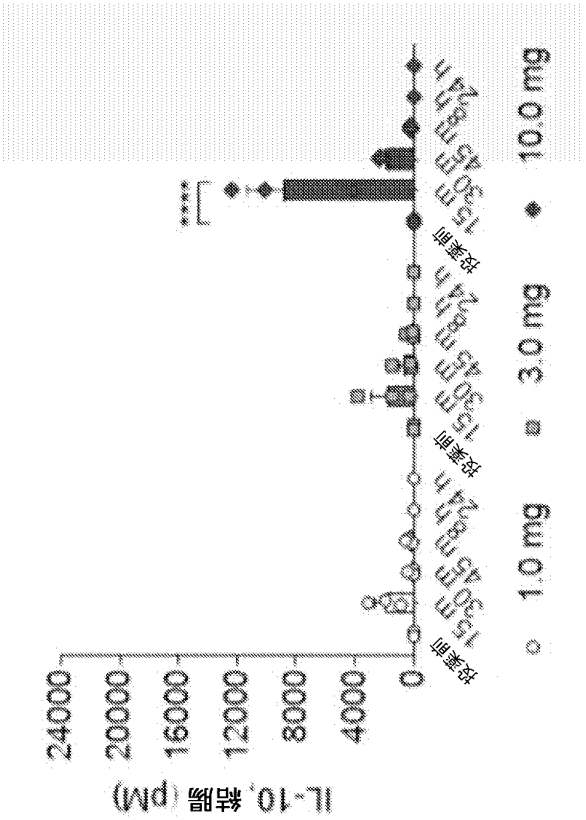


FIG. 144

【図１４５】

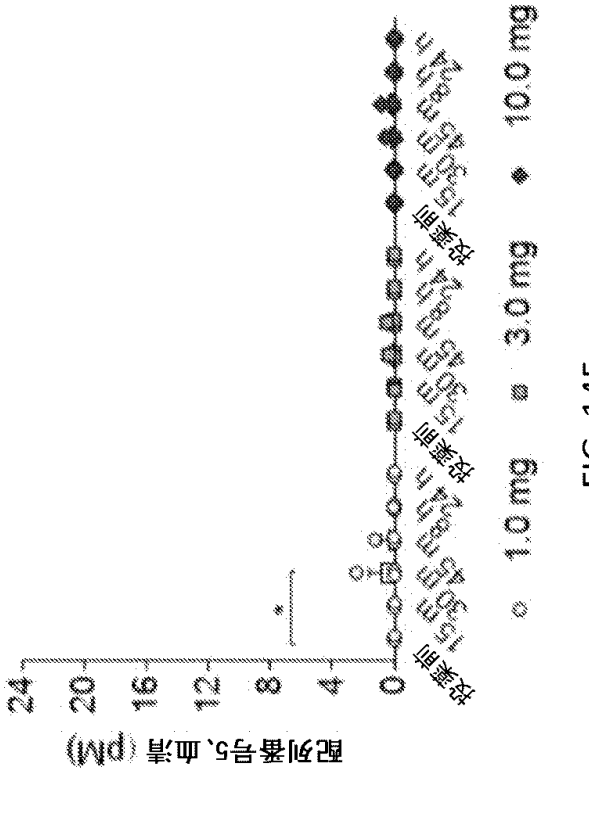


FIG. 145

【図１４６】

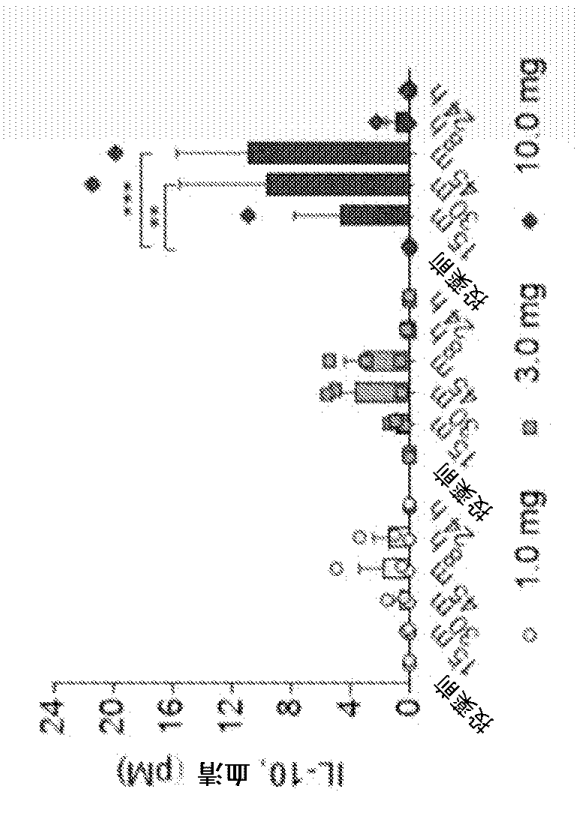


FIG. 146

【図１４７】

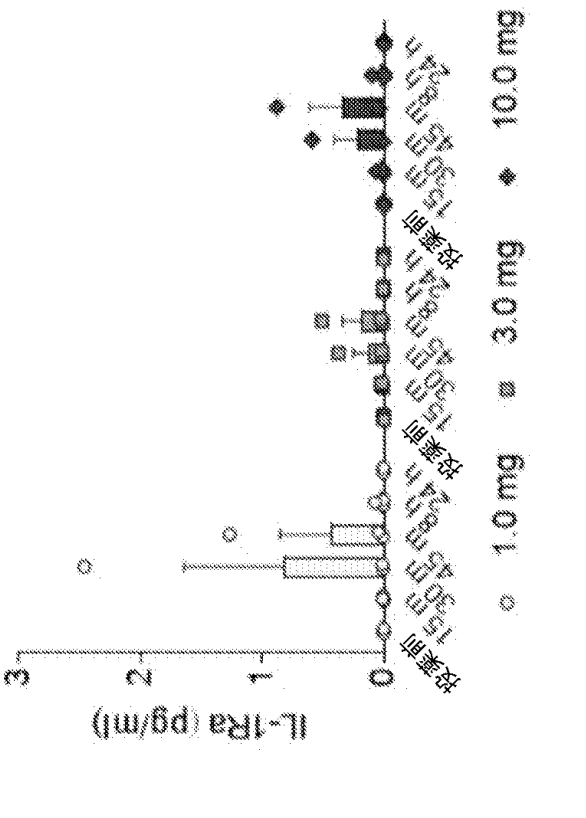


FIG. 147

【図１４８】

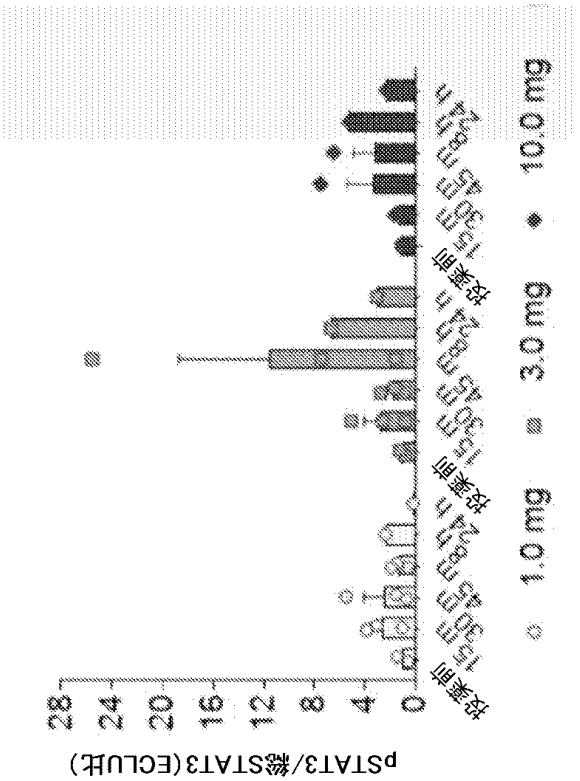


FIG. 148

【図１４９】

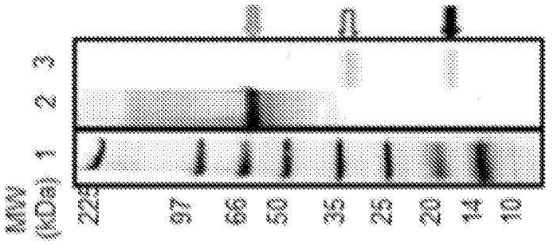


FIG. 149

【図１５０】

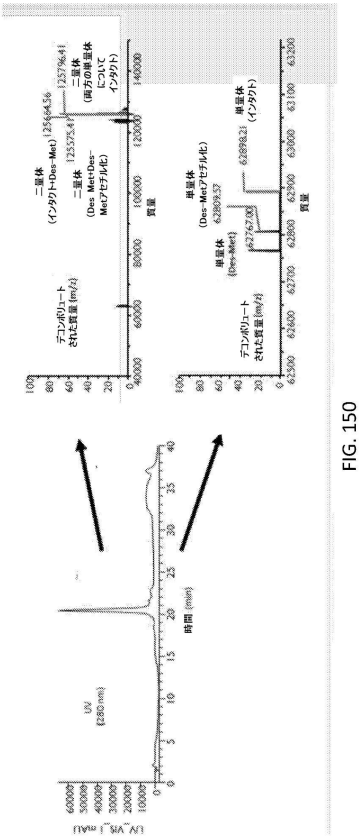


FIG. 150

【配列表】

2022544624000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/046545

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 13*ter*.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 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.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:

SEQ ID NOs: 1-36 and 151-154 were searched.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/046545

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.: 5-10, 18-46, 54-56, 60-67, 71-114, 119-147, 151-171, 176-227, 231, 235-238, 244-259, 268, 269, 272, 273, 277-288
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:

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.:

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/US2020/046545

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C07K 1/113; C07K 1/34; C07K 14/54; C12N 15/09; C12P 21/02 (2020.01)
CPC - C07K 14/5428; C07K 16/241; C07K 19/00; C07K 2317/76 (2020.08)

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 data base consulted during the international search (name of data base 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 -- Y	US 2017/0362291 A1 (ARMO BIOSCIENCES, INC.) 21 December 2017 (21.12.2017) entire document	11, 12 --- 13-16
X -- Y	US 5,710,251 A (VELLEKAMP et al) 20 January 1998 (20.01.1998) entire document	47, 57-59 --- 48-52
X -- Y	US 2019/0105375 A1 (APPLIED MOLECULAR TRANSPORT INC.) 11 April 2019 (11.04.2019) entire document	116-118, 260, 261, 267, 270, 271 --- 13-16, 48-52, 148-150, 173-175, 229, 230, 232-234, 262-266, 274-276
Y	US 2015/0030675 A1 (VALEANT INTERNATIONAL BERMUDA) 29 January 2015 (29.01.2015) entire document	148-150
Y	US 9,023,397 B2 (PIERCE et al) 05 May 2015 (05.05.2015) entire document	150
Y	US 2004/0219240 A1 (BABISH et al) 04 November 2004 (04.11.2004) entire document	173-175, 229, 230, 232-234

☒ 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
04 November 2020	07 DEC 2020
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Blaine R. Copenheaver Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/046545

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 2018/0180630 A1 (NOGRA PHARMA LIMITED) 28 June 2018 (28.06.2018) entire document	234
Y	BERG et al. "Rapid Development of Colitis in NSAID-Treated IL-10 --Deficient Mice," Gastroenterology, 01 November 2002 (01.11.2002), Vol. 123, Iss. 5, Pgs. 1527-1542. entire document	262-266, 274-276

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 2019)

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	*47/14*	*(2006.01)*	A61K	47/14		
A61K	*47/26*	*(2006.01)*	A61K	47/26		
A61K	*47/38*	*(2006.01)*	A61K	47/38		
A61K	*47/02*	*(2006.01)*	A61K	47/02		
A61K	*47/18*	*(2006.01)*	A61K	47/18		
A61K	*47/10*	*(2006.01)*	A61K	47/10		
A61K	*47/64*	*(2017.01)*	A61K	47/64		
A61K	*9/32*	*(2006.01)*	A61K	9/32		
A61K	*45/00*	*(2006.01)*	A61K	45/00		
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61K	39/395	U	
A61P	*29/00*	*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P	*1/00*	*(2006.01)*	A61P	1/00		
A61P	*1/04*	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P	*17/06*	*(2006.01)*	A61P	17/06		
A61P	*17/00*	*(2006.01)*	A61P	17/00		
A61P	*19/02*	*(2006.01)*	A61P	19/02		
A61P	*31/04*	*(2006.01)*	A61P	29/00	101	
A61P	*1/18*	*(2006.01)*	A61P	31/04		
A61P	*1/16*	*(2006.01)*	A61P	1/18		
A61P	*27/02*	*(2006.01)*	A61P	1/16		
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61P	27/02		
A61P	*37/06*	*(2006.01)*	A61P	43/00	121	
C07K	*14/54*	*(2006.01)*	A61P	37/06		
C07K	*1/18*	*(2006.01)*	C07K	14/54		
C07K	*14/28*	*(2006.01)*	C07K	1/18		
C07K	*16/24*	*(2006.01)*	C07K	14/28		
C12N	*1/20*	*(2006.01)*	C07K	16/24		
C12N	*15/12*	*(2006.01)*	C12N	1/20	A	
			C12N	15/12		

(32)優先日　令和1年8月16日(2019.8.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/887,933
(32)優先日　令和1年8月16日(2019.8.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/898,934
(32)優先日　令和1年9月11日(2019.9.11)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/898,709
(32)優先日　令和1年9月11日(2019.9.11)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/898,899
(32)優先日　令和1年9月11日(2019.9.11)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/898,729
(32)優先日　令和1年9月11日(2019.9.11)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号　62/939,495
(32)優先日　令和1年11月22日(2019.11.22)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/970,627
(32)優先日　令和2年2月5日(2020.2.5)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/971,126
(32)優先日　令和2年2月6日(2020.2.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/986,579
(32)優先日　令和2年3月6日(2020.3.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/986,557
(32)優先日　令和2年3月6日(2020.3.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/013,309
(32)優先日　令和2年4月21日(2020.4.21)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/020,996
(32)優先日　令和2年5月6日(2020.5.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/033,077
(32)優先日　令和2年6月1日(2020.6.1)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/055,886
(32)優先日　令和2年7月23日(2020.7.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　PCT/US2019/050708
(32)優先日　令和1年9月11日(2019.9.11)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　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,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW
弁護士　山本　健策

(72)発明者 マクリーン， デレク
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 マースニー， ランドル ジェイ．
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 イン， ケヴィン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 マームード， タヒール
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 カンワル， ビトゥー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 ポラット， アミール
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 オルソン， チャールズ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 ポストレスウェイト， サリー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 キム， ヒョジン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 フェン， ウェイジュン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 マンガット， クシュディープ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 ダルジール， ショーン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 タンデール， ラジェドラ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 ガロボイ， マーヴィン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 コレング， ジョン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 バット， エリザベス
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １ ， スイート ８５０ 気付
(72)発明者 ホイットニー， ジェイムズ アンドリュー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， タワー プレイス １

，スイート ８５０ 気付

Ｆターム（参考） 4B065 AA26X CA44
4C076 AA36 AA45 AA53 AA60 AA95 BB01 CC05 CC07 CC09 CC10
CC16 CC18 CC20 CC31 CC41 DD08 DD08J DD09F DD09J DD26 DD46C
DD47 DD47J DD51 DD67 EE10J EE11J EE12J EE16 EE31 EE32H EE41
EE59 FF06 FF07 FF09 FF25 FF68 GG06
4C084 AA02 AA06 AA07 AA19 BA01 BA08 BA23 BA42 DA12 MA02
MA35 MA37 MA52 NA05 NA14 ZA021 ZA331 ZA661 ZA681 ZA751 ZA891
ZA961 ZB051 ZB081 ZB082 ZB111 ZB151 ZB351 ZC75
4C085 AA14 CC23 EE03
4H045 AA10 AA30 BA09 CA11 CA40 DA02 DA76 EA20 FA74 GA23