

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-529440

(P2012-529440A)

(43) 公表日 平成24年11月22日(2012.11.22)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 48/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 48/00	4 B 0 2 4
<b>A 6 1 K 38/21 (2006.01)</b>	A 6 1 K 37/66	4 C 0 7 6
<b>A 6 1 K 35/76 (2006.01)</b>	A 6 1 K 35/76	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 P 31/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 31/00	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 P 37/02 (2006.01)</b>	A 6 1 P 37/02	4 C 0 8 7

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 85 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2012-514301 (P2012-514301)  
 (86) (22) 出願日 平成22年6月8日 (2010.6.8)  
 (85) 翻訳文提出日 平成24年2月1日 (2012.2.1)  
 (86) 国際出願番号 PCT/CA2010/000844  
 (87) 国際公開番号 W02010/142017  
 (87) 国際公開日 平成22年12月16日 (2010.12.16)  
 (31) 優先権主張番号 61/185, 261  
 (32) 優先日 平成21年6月9日 (2009.6.9)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 511299252  
 デフィルス、インコーポレイテッド  
 DEFYRUS, INC.  
 カナダ国オンタリオ州、トロント、プロア  
 ー、ストリート、2、スイート、2602  
 (74) 代理人 100117787  
 弁理士 勝沼 宏仁  
 (74) 代理人 100091487  
 弁理士 中村 行孝  
 (74) 代理人 100107342  
 弁理士 横田 修孝  
 (74) 代理人 100111730  
 弁理士 伊藤 武泰

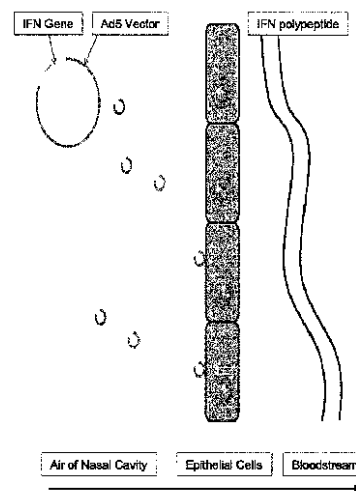
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 病原体感染を予防又は治療するためのインターフェロン投与

(57) 【要約】

本発明は、例えば、生物剤により引き起こされる疾患又は障害、自己免疫疾患、及び癌を含む、対象（例えば、ヒトなどの哺乳類）における疾患又は障害を予防又は治療するための組成物及び方法を提供する。組成物は、インターフェロン（例えば、IFN-）をコードする送達ベクター（例えば、Ad5ベクターなどのウイルスベクター）を含み、例えば、鼻腔内投与又は経肺投与により対象に提供される。

Figure 3



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

必要としている対象において感染、自己免疫疾患、又は癌の影響を治療、予防、又は軽減する方法であって、インターフェロン（IFN）をコードする核酸分子を含むベクターを含む組成物を前記対象の肺粘膜又は鼻粘膜に 1 回又は複数回投与するステップを含み、前記組成物が、

a) 乾燥した凍結乾燥粉末、ゲル、又は液体（前記組成物は室温で少なくとも 1 週間安定である）；又は

b) 凍結された、安定化されていない液体（前記組成物は解凍後に室温で少なくとも 2 4 時間安定である）

として製剤化される、方法。

## 【請求項 2】

前記インターフェロンが IFN アルファ（IFN - ）である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記 IFN - がコンセンサス IFN - （con IFN - ）である、請求項 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記ベクターがウイルスベクターである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記ウイルスベクターがアデノウイルスベクターである、請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記アデノウイルスベクターがアデノウイルス 5（Ad5）ベクターである、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記 Ad5 ベクターが、E1 及び E3 遺伝子の欠失を含む複製欠損ベクターである、請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記ベクターが非ウイルスベクターである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記 IFN の発現により、それを投与される哺乳動物において前記病原体に対する防御免疫応答が生じる、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記病原体が、細菌、ウイルス、真菌、又は寄生体である、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 11】

前記細菌が、シュードモナス・エルギノーサ（*Pseudomonas aeruginosa*）、サルモネラ・チフィムリウム（*Salmonella typhimurium*）、大腸菌（*Escherichia coli*）、クレブシエラ・ニューモニエ（*Klebsiella pneumoniae*）、ブルセラ属（*Bruscella*）、パークホルデリア・マレイ（*Burkholderia mallei*）、エルシニア・ペスチス（*Yersinia pestis*）、及びバチルス・アントラシス（*Bacillus anthracis*）から選択される、請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 12】

前記ウイルスが、フラビウイルス科（*Flaviviridae*）、アレナウイルス科（*Arenaviridae*）、ブニヤウイルス科（*Bunyaviridae*）、フィロウイルス科（*Filoviridae*）、トガウイルス科（*Togaviridae*）、ポックスウイルス科（*Poxviridae*）、ヘルペスウイルス科（*Herpesviridae*）、オルソミクソウイルス科（*Orthomyxoviridae*）、コ口

10

20

30

40

50

ナウイルス科 (Coronaviridae)、ラブドウイルス科 (Rhabdoviridae)、パラミクソウイルス科 (Paramyxoviridae)、ピコルナウイルス科 (Picornaviridae)、ヘパドナウイルス科 (Hepadnaviridae)、パピローマウイルス科 (Papillamoviridae)、パルボウイルス科 (Parvoviridae)、アストロウイルス科 (Astroviridae)、ポリオーマウイルス科 (Polyomaviridae)、カリシウイルス科 (Calciviridae)、レオウイルス科 (Reoviridae)、及びレトロウイルス科 (Retroviridae) のメンバーから選択される、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 13】

前記ウイルスが、C型肝炎ウイルス、黄熱ウイルス、ガジェットス Gully) ウイルス、カダム (Kadam) ウイルス、キャサヌール森林病ウイルス、ランガットウイルス、オムスク出血熱ウイルス、ポワッサンウイルス、ロイヤルファーム (Royal Farm) ウイルス、カルシ (Karshi) ウイルス、ダニ媒介脳炎ウイルス、ノイドルフル (Neudoerfl) ウイルス、ソフジン (Sofjin) ウイルス、跳躍病ウイルス、ネギシウイルス、メアバン (Meaban) ウイルス、ソーマレズリーフ (Saumarez Reef) ウイルス、チュレニー (Tyuleniy) ウイルス、アロア (Aroa) ウイルス、デングウイルス、ケドゥグ (Kedougo) ウイルス、カシパコア (Cacipacore) ウイルス、クタンゴ (Koutango) ウイルス、日本脳炎ウイルス、マレー溪谷脳炎ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ウスツ (Usutu) ウイルス、ウエストナイルウイルス、ヤウンデ (Yaounde) ウイルス、ココベラ (Kokobera) ウイルス、バガザ (Bagaza) ウイルス、イルヘウスウイルス、イスラエルターキー髄膜脳脊髄炎ウイルス、ウンタヤウイルス、テンブスウイルス、ジカウイルス、バンジ (Banzi) ウイルス、ブブイ (Bouboui) ウイルス、エッジヒル (Edge Hill) ウイルス、ジュグラ (Jugra) ウイルス、サボヤ (Saboya) ウイルス、セピック (Sepik) ウイルス、ウガンダ S ウイルス、ヴェッセルスブロンウイルス、黄熱ウイルス、エンテベ (Entebbe) コウモリウイルス、ヨコセウイルス、アポイウイルス、カウボーンリッジ (Cowbone Ridge) ウイルス、フティアパ (Jutiapa) ウイルス、モドック (Modoc) ウイルス、サルビエハ (Sal Vieja) ウイルス、サンペルリタ (San Perlita) ウイルス、ブカラサ (Bukalasa) コウモリウイルス、ケアリーアイランド (Carey Island) ウイルス、ダカール (Dakar) コウモリウイルス、モンタナ筋炎白質脳炎ウイルス、ブノンペン (Phnom Penh) コウモリウイルス、リオブラボーウイルス、タマナ (Tamana) コウモリウイルス、細胞融合因子ウイルス、イッピー (Ippy) ウイルス、ラッサウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)、モバラ (Mobala) ウイルス、モペイア (Mopeia) ウイルス、アマパリウイルス、フレキサ (Flexal) ウイルス、グアナリトウイルス、フニンウイルス、ラティノ (Latino) ウイルス、マチュボウイルス、オリベロス (Oliveros) ウイルス、パラナ (Parana) ウイルス、ピチンデウイルス、ピリタル (Piritall) ウイルス、サビアウイルス、タカリベウイルス、タミアミ (Tamiami) ウイルス、ホワイトウォーター・アロヨ (Whitewater Arroyo) ウイルス、チャパレウイルス、ルヨ (Lujó) ウイルス、ハンターウイルス、シンノンブレウイルス、ジュグベ (Dugbe) ウイルス、ブニヤンベラウイルス、リフトバレー熱ウイルス、ラクロスウイルス、プンタトロ (Punta Toro) ウイルス (PTV)、カリフォルニア脳炎ウイルス、クリミア - コンゴ出血熱 (CCHF) ウイルス、エボラウイルス、マールブルグウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス (VEE)、東部ウマ脳炎ウイルス (EEE)、西部ウマ脳炎ウイルス (WEE)、シンドビスウイルス、風疹ウイルス、セムリキ森林ウイルス、ロスリバーウイルス、バーマフォレストウイルス、オニオンニオンウイルス、チクングニヤウイルス、天然痘ウイルス、サル痘ウイルス、ワクシニアウイルス、単純ヘルペスウイルス (HSV)、ヒトヘルペスウイ

10

20

30

40

50

ルス、サイトメガロウイルス (CMV)、エプスタイン・バールウイルス (EBV)、水痘帯状疱疹ウイルス、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV)、インフルエンザウイルス、重症急性呼吸器症候群 (SARS) ウイルス、狂犬病ウイルス、水疱性口内炎ウイルス (HSV)、ヒト呼吸器合胞体ウイルス (RSV)、ニューカッスル病ウイルス、ヘンドラウイルス、ニパウイルス、麻疹ウイルス、牛痘ウイルス、イヌジステンパーウイルス、センダイウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス、ライノウイルス、ムンプスウイルス、コクサッキーウイルス、B型肝炎ウイルス、ヒトパピローマウイルス、アデノ随伴ウイルス、アストロウイルス、JCウイルス、BKウイルス、SV40ウイルス、ノーウォークウイルス、ロタウイルス、ヒト免疫不全ウイルス (HIV)、及びヒトTリンパ球向性ウイルス (HTLV) から選択される、請求項12に記載の方法。

10

【請求項14】

前記真菌が、アスペルギルス属 (*Aspergillus*)、ブラストミセス・デルマチジス (*Blastomyces dermatitidis*)、カンジダ属 (*Candida*)、コクシジオイデス・イミティス (*Coccidioides immitis*)、クリプトコッカス・ネオフォルマンズ (*Cryptococcus neoformans*)、ヒストプラズマ・カプスラーツム変種カプスラーツム (*Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*)、パラコクシジオイデス・ブラジリエンシス (*Paracoccidioides brasiliensis*)、スポロトリックス・シェンキイ (*Sporothrix schenckii*)、ジゴミセテス種 (*Zygomycetes* spp.)、アブシディア・コリンピフェラ (*Absidia corymbifera*)、リゾムコール・プシルス (*Rhizomorpus pusillus*)、及びリゾプス・アリズス (*Rhizopus arrhizus*) から選択される、請求項10に記載の方法。

20

【請求項15】

前記寄生体が、トキソプラズマ・ゴンジイ (*Toxoplasma gondii*)、プラスモジウム・ファルシバルム (*Plasmodium falciparum*)、P. ビバックス (*P. vivax*)、P. オバレ (*P. ovale*)、P. マラリエ (*P. malariae*)、トリパノソーマ種 (*Trypanosoma* spp.)、及びレジオネラ種 (*Legionella* spp.) から選択される、請求項10に記載の方法。

30

【請求項16】

前記ベクターの前記核酸分子が、SV40プロモーター、CMVプロモーター、アデノウイルス初期及び後期プロモーター、メタロチオネイン遺伝子 (MT-1) プロモーター、ラウス肉腫ウイルス (RSV) プロモーター、及びヒトユビキチンC (UbC) プロモーターから選択されるプロモーターに作動可能に連結される、請求項1~15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項17】

前記ベクターが、前記インターフェロンをコードする前記核酸分子の発現を促進するシグナル配列、ポリアデニル化配列、及びエンハンサー、上流活性化配列、及び転写終結因子の1つ又は複数をさらに含む、請求項1~16のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項18】

前記核酸分子によりコードされる前記 *conIFN-* が、配列番号11に示される配列を含むポリペプチド配列を有する、請求項3に記載の方法。

【請求項19】

前記組成物が薬学的に許容可能な賦形剤をさらに含む、請求項1~18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

前記賦形剤が前記組成物中に1重量%~90重量%の範囲の量で存在する、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

50

前記賦形剤が前記組成物中に5重量%～30重量%の範囲の量で存在する、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

前記賦形剤が、フルクトース、マルトース、ガラクトース、グルコース、D-マンノース、ソルボース、ラクトース、スクロース、トレハロース、セロビオース、ラフィノース、メレジットース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプン、マンニトール、キシリトール、キシロース、マルチトール、ラクチトール、キシリトール、ソルビトール、ソルビトース、ピラノシルソルビトール、ミオイノシトール、グリシン、CaCl<sub>2</sub>、ヒドロキシエクトイン、エクトイン、ゼラチン、ジ-ミオ-イノシトールリン酸(DIP)、環状2,3ジホスホグリセレート(cDPG)、1,1-ジ-グリセロールリン酸(DGP)、D-マンノシルグリセレート(フィロイン)、D-マンノシルグリセルアミド(フィロインA)、及びプロリンペタインの1つ又は複数から選択される、請求項19に記載の方法。

10

【請求項23】

前記組成物が室温で少なくとも1ヶ月から少なくとも1年にわたり安定である、請求項1～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項24】

追加的な治療剤を投与するステップをさらに含む、請求項1～23のいずれか一項に記載の方法。

【請求項25】

前記治療剤が、抗ウイルス剤、抗細菌剤、抗真菌剤、抗寄生体剤、免疫賦活剤、ワクチン、又は化学療法剤である、請求項24に記載の方法。

20

【請求項26】

前記ワクチンがエボラウイルスワクチンである、請求項25に記載の方法。

【請求項27】

前記エボラウイルスワクチンがAd-CAGoptZGPである、請求項26に記載の方法。

【請求項28】

前記ベクターが前記投与後、肺上皮細胞又は鼻上皮細胞をトランスフェクトする、請求項1～27のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項29】

前記ベクターをトランスフェクトすると、前記細胞中での前記インターフェロン(IFN)の発現がもたらされる、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

前記IFNが前記細胞によって分泌され、分泌部位で局所に留まるか、又は前記対象の血流中に入る、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

前記Ad5ベクターを、1用量当たり少なくとも約 $1 \times 10^3$ ～約 $1 \times 10^{14}$ 個のウイルス粒子の範囲の量で投与するステップを含む、請求項6に記載の方法。

【請求項32】

が、前記病原体に曝露される前に前記対象に前記組成物を投与する、請求項1～31のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項33】

が、前記病原体に曝露される少なくとも15分間前から少なくとも24時間前に、前記組成物を前記対象に投与する、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

前記病原体に曝露される少なくとも1週間前に、前記組成物を前記対象に投与する、請求項33に記載の方法。

【請求項35】

前記病原体に曝露された後に、前記組成物を前記対象に投与する、請求項1～31のい

50

ずれか一項に記載の方法。

【請求項 36】

前記病原体に曝露された少なくとも 6 時間後に、前記組成物を前記対象に投与する、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

前記病原体に曝露された少なくとも 15 分後から少なくとも 24 時間後に、前記組成物を前記対象に投与する、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 38】

前記病原体に曝露された少なくとも 48 時間後に、前記組成物を前記対象に投与する、請求項 37 に記載の方法。

10

【請求項 39】

前記組成物が、前記液体又はゲルを形成するため薬学的に許容可能な液体と混合される、請求項 1 ~ 38 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

前記組成物が凍結乾燥粉末として吸入される、請求項 1 ~ 38 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 41】

前記組成物がエアロゾル送達用に製剤化される、請求項 1 ~ 38 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 42】

前記組成物がゲルとして投与される、請求項 1 ~ 38 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 43】

前記組成物が薬学的に許容可能な液体と混合され、エアロゾルミストとして吸入される、請求項 1 ~ 38 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 44】

前記薬学的に許容可能な液体が水又は生理食塩水である、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 45】

前記エアロゾルミストが、2 μm より大きい直径の液滴を含む、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 46】

前記対象がヒトである、請求項 1 ~ 45 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 47】

前記組成物の投与前、前記対象が検査を受け、前記対象が前記病原体に曝露されているかどうか判断される、請求項 1 ~ 46 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 48】

前記組成物の投与後、前記方法が、前記対象の血清中 IFN レベルを測定するステップと、前記 IFN レベルが約 0.0001 ~ 5.0 × 10<sup>5</sup> IU/ml 未満である場合、前記組成物の追加用量を投与するステップとをさらに含む、請求項 1 ~ 47 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 49】

前記対象が少なくとも 2 用量の前記組成物を投与される、請求項 1 ~ 48 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 50】

前記組成物が前記対象を前記病原体による感染から少なくとも 24 時間にわたり防御する、請求項 1 ~ 49 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 51】

前記組成物が前記対象を前記病原体による感染から少なくとも 1 週間にわたり防御する、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

前記対象が前記組成物を投与する、請求項 1 ~ 51 のいずれか一項に記載の方法。

50

- 【請求項 5 3】  
前記治療剤が前記組成物と別個に、又は同時に投与される、請求項 2 4 に記載の方法。
- 【請求項 5 4】  
前記治療剤が前記組成物と混合される、請求項 2 4 に記載の方法。
- 【請求項 5 5】  
前記自己免疫疾患又は癌の診断、又はその症状の発症の前又はその後に前記組成物を前記対象に投与する、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 5 6】  
前記組成物の投与前に、前記対象が検査を受け、前記対象が前記自己免疫疾患又は癌を有するかどうか判断される、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。 10
- 【請求項 5 7】  
前記組成物が、前記対象を前記自己免疫疾患又は癌から少なくとも 2 4 時間 ~ 少なくとも 2 年間にわたり防御する、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 5 8】  
前記治療剤が化学療法剤である、請求項 2 5 に記載の方法。
- 【請求項 5 9】  
インターフェロン ( I F N ) をコードする核酸分子を含むベクターを含む組成物であって、  
a ) 乾燥した凍結乾燥粉末、ゲル、又は液体 ( 前記組成物は室温で少なくとも 1 週間安定である ) ; 又は  
b ) 凍結された、安定化されていない液体 ( 前記組成物は解凍後に室温で少なくとも 2 4 時間安定である )  
として製剤化される、組成物。 20
- 【請求項 6 0】  
前記インターフェロンが I F N アルファ ( I F N - ) である、請求項 5 9 に記載の組成物。
- 【請求項 6 1】  
前記 I F N - がコンセンサス I F N - ( c o n I F N - ) である、請求項 6 0 に記載の組成物。
- 【請求項 6 2】 30  
前記ベクターがウイルスベクターである、請求項 5 9 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の組成物。
- 【請求項 6 3】  
前記ウイルスベクターがアデノウイルスベクターである、請求項 6 2 に記載の組成物。
- 【請求項 6 4】  
前記アデノウイルスベクターがアデノウイルス 5 ( A d 5 ) ベクターである、請求項 6 3 に記載の組成物。
- 【請求項 6 5】  
前記 A d 5 ベクターが、E 1 及び E 3 遺伝子の欠失を含む複製欠損ベクターである、請求項 6 4 に記載の組成物。 40
- 【請求項 6 6】  
前記ベクターが非ウイルスベクターである、請求項 5 9 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の組成物。
- 【請求項 6 7】  
前記 I F N の発現により、それを投与される哺乳動物において前記病原体に対する防御免疫応答が生じる、請求項 5 9 ~ 6 6 のいずれか一項に記載の組成物。
- 【請求項 6 8】  
前記病原体が、細菌、ウイルス、真菌、又は寄生体である、請求項 5 9 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の組成物。
- 【請求項 6 9】 50

前記細菌が、シュードモナス・エルギノーサ (*Pseudomonas aeruginosa*)、サルモネラ・チフィムリウム (*Salmonella typhimurium*)、大腸菌 (*Escherichia coli*)、クレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)、ブルセラ属 (*Bruscella*)、バークホルデリア・マレイ (*Burkholderia mallei*)、エルシニア・ペスチス (*Yersinia pestis*)、及びバチルス・アントラシス (*Bacillus anthracis*) から選択される、請求項 68 に記載の組成物。

【請求項 70】

前記ウイルスが、フラビウイルス科 (*Flaviviridae*)、アレナウイルス科 (*Arenaviridae*)、ブニヤウイルス科 (*Bunyaviridae*)、フィロウイルス科 (*Filoviridae*)、トガウイルス科 (*Togaviridae*)、ポックスウイルス科 (*Poxviridae*)、ヘルペスウイルス科 (*Herpesviridae*)、オルソミクソウイルス科 (*Orthomyxoviridae*)、コロナウイルス科 (*Coronaviridae*)、ラブドウイルス科 (*Rhabdoviridae*)、パラミクソウイルス科 (*Paramyxoviridae*)、ピコルナウイルス科 (*Picornaviridae*)、ヘパドナウイルス科 (*Hepadnaviridae*)、パピローマウイルス科 (*Papillamoviridae*)、バルボウイルス科 (*Parvoviridae*)、アストロウイルス科 (*Astroviridae*)、ポリオーマウイルス科 (*Polyomaviridae*)、カリシウイルス科 (*Calciviridae*)、レオウイルス科 (*Reoviridae*)、及びレトロウイルス科 (*Retroviridae*) のメンバーから選択される、請求項 68 に記載の組成物。

10

20

【請求項 71】

前記ウイルスが、C型肝炎ウイルス、黄熱ウイルス、ガジェットス Gully ウイルス、カダム (*Kadam*) ウイルス、キャサヌール森林病ウイルス、ランガットウイルス、オムスク出血熱ウイルス、ポワッサンウイルス、ロイヤルファーム (*Royal Farm*) ウイルス、カルシ (*Karshi*) ウイルス、ダニ媒介脳炎ウイルス、ノイドルフル (*Neudoerfl*) ウイルス、ソフジン (*Sofjin*) ウイルス、跳躍病ウイルス、ネギシウイルス、メアバン (*Meaban*) ウイルス、ソーマレズリーフ (*Saumarez Reef*) ウイルス、チュレニー (*Tyuleniy*) ウイルス、アロア (*Aroa*) ウイルス、デングウイルス、ケドゥグ (*Kedougo*) ウイルス、カシパコア (*Cacipacore*) ウイルス、クタンゴ (*Koutango*) ウイルス、日本脳炎ウイルス、マレー渓谷脳炎ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ウスツ (*Usutu*) ウイルス、ウエストナイルウイルス、ヤウンデ (*Yaounde*) ウイルス、ココベラ (*Kokobera*) ウイルス、バガザ (*Bagaza*) ウイルス、イルヘウスウイルス、イスラエルターキー髄膜脳脊髄炎ウイルス、ウンタヤウイルス、テンブスウイルス、ジカウイルス、バンジ (*Banzi*) ウイルス、ブブイ (*Boubou*) ウイルス、エッジヒル (*Edge Hill*) ウイルス、ジュグラ (*Jugra*) ウイルス、サボヤ (*Saboya*) ウイルス、セピック (*Sepik*) ウイルス、ウガンダ S ウイルス、ヴェッセルスブロンウイルス、黄熱ウイルス、エンテベ (*Entebbe*) コウモリウイルス、ヨコセウイルス、アポイウイルス、カウボーンリッジ (*Cowbone Ridge*) ウイルス、フティアパ (*Jutiapa*) ウイルス、モドック (*Modoc*) ウイルス、サルビエハ (*Sal Vieja*) ウイルス、サンペルリタ (*San Perlita*) ウイルス、ブカラサ (*Bukalasa*) コウモリウイルス、ケアリーアイランド (*Carey Island*) ウイルス、ダカール (*Dakar*) コウモリウイルス、モンタナ筋炎白質脳炎ウイルス、フノンペン (*Phnom Penh*) コウモリウイルス、リオブラボーウイルス、タマナ (*Tamana*) コウモリウイルス、細胞融合因子ウイルス、イッピー (*Ippy*) ウイルス、ラッサウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (*LCMV*)、モバラ (*Mobala*) ウイルス、モペイア (*Mopeia*) ウイルス、アマパリウイルス、フレキサル (*Flexal*) ウイルス、グアナリトウイ

30

40

50



ルス、フニンウイルス、ラティノ ( Latino ) ウイルス、マチュボウイルス、オリベロス ( Oliveros ) ウイルス、パラナ ( Parana ) ウイルス、ピチンデウイルス、ピリタル ( Pirital ) ウイルス、サビアウイルス、タカリベウイルス、タミアミ ( Tamiami ) ウイルス、ホワイトウォーター・アロヨ ( Whitewater Arroyo ) ウイルス、チャパレウイルス、ルヨ ( Lujó ) ウイルス、ハンターンウイルス、シンノンブレウイルス、ジューグベ ( Dugbe ) ウイルス、ブニャンベラウイルス、リフトバレー熱ウイルス、ラクロスウイルス、プンタトロ ( Punta Toro ) ウイルス ( PTV )、カリフォルニア脳炎ウイルス、クリミア - コンゴ出血熱 ( CCHF ) ウイルス、エボラウイルス、マールブルグウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス ( VEE )、東部ウマ脳炎ウイルス ( EEE )、西部ウマ脳炎ウイルス ( WEE )、シンドビスウイルス、風疹ウイルス、セムリキ森林ウイルス、ロスリバーウイルス、バーマフォレストウイルス、オニオンニオンウイルス、チクングニヤウイルス、天然痘ウイルス、サル痘ウイルス、ワクシニアウイルス、単純ヘルペスウイルス ( HSV )、ヒトヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス ( CMV )、エプスタイン・バールウイルス ( EBV )、水痘帯状疱疹ウイルス、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス ( KSHV )、インフルエンザウイルス、重症急性呼吸器症候群 ( SARS ) ウイルス、狂犬病ウイルス、水疱性口内炎ウイルス ( VSV )、ヒト呼吸器合胞体ウイルス ( RSV )、ニューカッスル病ウイルス、ヘンドラウイルス、ニパウイルス、麻疹ウイルス、牛痘ウイルス、イヌジステンパーウイルス、センダイウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス、ライノウイルス、ムンプスウイルス、コクサッキーウイルス、B型肝炎ウイルス、ヒトパピローマウイルス、アデノ随伴ウイルス、アストロウイルス、JCウイルス、BKウイルス、SV40ウイルス、ノーウォークウイルス、ロタウイルス、ヒト免疫不全ウイルス ( HIV )、及びヒトTリンパ球向性ウイルス ( HTLV ) から選択される、請求項70に記載の組成物。

10

20

【請求項72】

前記真菌が、アスペルギルス属 ( *Aspergillus* )、ブラストミセス・デルマチチジス ( *Blastomyces dermatitidis* )、カンジダ属 ( *Candida* )、コクシジオイデス・イミティス ( *Coccidioides immitis* )、クリプトコッカス・ネオフォルマンズ ( *Cryptococcus neoformans* )、ヒストプラズマ・カプスラーツム変種カプスラーツム ( *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* )、パラコクシジオイデス・ブラジリエンシス ( *Paracoccidioides brasiliensis* )、スポロトリックス・シェンキイ ( *Sporothrix schenckii* )、ジゴミセテス種 ( *Zygomycetes* spp. )、アブシディア・コリンピフェラ ( *Absidia corymbifera* )、リゾムコール・プシルス ( *Rhizomucor pusillus* )、及びリゾプス・アリス ( *Rhizopus arrhizus* ) から選択される、請求項68に記載の組成物。

30

【請求項73】

前記寄生体が、トキソプラズマ・ゴンジイ ( *Toxoplasma gondii* )、プラスモジウム・ファルシパルム ( *Plasmodium falciparum* )、P. ビバックス ( *P. vivax* )、P. オバレ ( *P. ovale* )、P. マラリエ ( *P. malariae* )、トリパノソーマ種 ( *Trypanosoma* spp. )、及びレジオネラ種 ( *Legionella* spp. ) から選択される、請求項68に記載の組成物。

40

【請求項74】

前記ベクターの前記核酸分子が、SV40プロモーター、CMVプロモーター、アデノウイルス初期及び後期プロモーター、メタロチオネイン遺伝子 ( MT-1 ) プロモーター、ラウス肉腫ウイルス ( RSV ) プロモーター、及びヒトユビキチンC ( UbC ) プロモーターから選択されるプロモーターに作動可能に連結される、請求項59～73のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項75】

50

前記ベクターが、前記インターフェロンをコードする前記核酸分子の発現を促進するシグナル配列、ポリアデニル化配列、及びエンハンサー、上流活性化配列、及び転写終結因子の1つ又は複数をさらに含む、請求項59～74のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項76】

前記核酸分子によりコードされる前記conIFN- が、配列番号11に示される配列を含むポリペプチド配列を有する、請求項61に記載の組成物。

【請求項77】

前記組成物が薬学的に許容可能な賦形剤をさらに含む、請求項59～76のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項78】

前記賦形剤が前記組成物中に1重量%～90重量%の範囲の量で存在する、請求項77に記載の組成物。

【請求項79】

前記賦形剤が前記組成物中に5重量%～30重量%の範囲の量で存在する、請求項78に記載の組成物。

【請求項80】

前記賦形剤が、フルクトース、マルトース、ガラクトース、グルコース、D-マンノース、ソルボース、ラクトース、スクロース、トレハロース、セロビオース、ラフィノース、メレジトース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプン、マンニトール、キシリトール、キシロース、マルチトール、ラクチトール、キシリトール、ソルビトール、ソルビトース、ピラノシルソルビトール、ミオイノシトール、グリシン、CaCl<sub>2</sub>、ヒドロキシエクトイン、エクトイン、ゼラチン、ジ-ミオ-イノシトールリン酸(DIP)、環状2,3ジホスホグリセレート(cDPG)、1,1-ジ-グリセロールリン酸(DGP)、-マンノシルグリセレート(フィロイン)、-マンノシルグリセルアミド(フィロインA)、及びプロリンペタインの1つ又は複数から選択される、請求項77に記載の組成物。

【請求項81】

前記組成物がエアロゾル送達用に製剤化される、請求項59～80のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項82】

前記組成物が室温で少なくとも1ヶ月から少なくとも1年にわたり安定である、請求項59～81のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項83】

前記組成物が、前記液体又はゲルを形成するため薬学的に許容可能な液体と混合される、請求項59～82のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項84】

追加的な治療剤をさらに含む、請求項59～83のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項85】

前記治療剤が、抗ウイルス剤、抗細菌剤、抗真菌剤、抗寄生体剤、免疫賦活剤、ワクチン、又は化学療法剤である、請求項84に記載の組成物。

【請求項86】

前記ワクチンがエボラウイルスワクチンである、請求項85に記載の組成物。

【請求項87】

前記エボラウイルスワクチンがAd-CAGoptZGPである、請求項86に記載の組成物。

【請求項88】

請求項59～87のいずれか一項に記載の組成物を含む装置であって、

- a) 前記組成物を含む容器と、
- b) 前記組成物を対象の肺粘膜又は鼻粘膜に送り込むためのノズルと、
- c) 前記組成物を前記ノズルに送達するための機械式デリバリーポンプであって、前記

10

20

30

40

50

ポンプを作動させると、前記ノズルと前記容器との間に流体接続が生じる、機械式デリバリーポンプと、

d) 前記機械式デリバリーポンプを駆動する駆動機構と、を含む装置。

【請求項 89】

前記駆動機構が、前記デリバリーポンプを予め決定可能な圧力で駆動するトリガーを含む、請求項 88 に記載の装置。

【請求項 90】

前記駆動機構が、前記デリバリーポンプを予め決定可能な流量で駆動するトリガーを含む、請求項 88 又は 89 に記載の装置。

10

【請求項 91】

前記デリバリーポンプが、液体形態の前記組成物の所定容量を送達する液体デリバリーポンプを含む、請求項 88 又は 89 に記載の装置。

【請求項 92】

前記デリバリーポンプが、粉末形態の前記組成物の所定量を送達する粉末デリバリーポンプを含む、請求項 88 ~ 91 のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 93】

前記ノズルがエアロゾルを送達するように構成される、請求項 88 ~ 92 のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 94】

前記ノズルがジェットを送達するように構成される、請求項 88 ~ 92 のいずれか一項に記載の装置。

20

【請求項 95】

請求項 59 ~ 87 のいずれか一項に記載の組成物を含む第 1 の容器と、薬学的に許容可能な液体を含む第 2 の容器と、請求項 88 ~ 94 のいずれか一項に記載の装置と、場合により、前記第 1 の容器の内容物を送達するための前記装置の使用についての、又は前記第 1 及び第 2 の容器の内容物を組み合わせて複合組成物を形成し、その後前記装置を使用して、病原体による感染を治療又は阻害するために対象に前記複合組成物を送達することについての使用説明書とを含むキット。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、参照により全体として本明細書に援用される米国仮特許出願第 61 / 185 , 261 号明細書に対する優先権を主張する。

【0002】

本発明は、対象（例えば、ヒトなどの哺乳類）において生物剤又は化学剤により引き起こされる疾患又は障害の治療又は予防に関する。

【背景技術】

【0003】

40

地域流行性であったり、汎流行性であったり、人工的に改変されていたり、又は兵器化されていたりする一連の新興ウイルスがある。現在まで、有効にこれらのウイルスに起因する感染を予防し、又は疾病を治療する広域の抗ウイルス療法は存在しない。米国疾病管理予防センター（U . S . Centers for Disease Control and Prevention）（CDC；Rotzら、「CDC Emerging Infectious Diseases」第 8 巻、第 2 号、2002 年）によれば、6 つのカテゴリー A の脅威があり、これには例えば痘瘡ウイルス（天然痘）により引き起こされる天然痘、並びに例えばエボラウイルスなどのフィロウイルス、ハンタウイルスなどのブニヤウイルス、及びラッサウイルスなどのアレナウイルスにより引き起こされるウイルス性出血熱が含まれる。カテゴリー A の因子は、大量の死傷者を出して公衆衛生に有

50

害な影響を与える可能性が最も大きい。大規模に伝播して疾病を引き起こす可能性があるが、概して致死率がより低い生物剤はカテゴリーBの脅威として分類される。いくつかのウイルスの脅威がカテゴリーBの脅威として特定される；これには、ウイルス性脳炎、例えば、ベネズエラウマ脳炎ウイルス（VEEV）、東部ウマ脳炎ウイルス（EEEV）、及び西部ウマ脳炎ウイルス（WEEV）（これらは全てアルファウイルスである）が含まれる。新興のカテゴリーCの脅威も多くあり、これにはニパウイルス及びハンタウイルスにより引き起こされる疾患が含まれる。

【0004】

CDCのリストに加え、米国保健社会福祉省（U.S. Department of Health and Human Services: HHS）が、その公衆衛生緊急時医療対策事業（Public Health Emergency Medical Countermeasures Enterprise: PHEMCE）計画のもとにウイルスのリストを公表しており、アレナウイルス科（Arenaviridae）（例えば、フニンウイルス及びラッサウイルス）、フィロウイルス科（Filoviridae）（例えば、エボラウイルス及びマールブルグウイルス）、ポックスウイルス科（Poxviridae）（天然痘ウイルス及びサル痘ウイルス）、及びオルソミクソウイルス科（Orthomyxoviridae）（例えば、H5N1ウイルス及びH1N1ウイルスなどのA型インフルエンザウイルス）を挙げている。明らかに、これらのウイルス因子の全てのウイルス株に対するワクチンを全人口に接種することは実現不可能である。実際、バイオテロの脅威、例えば炭疽に対する公衆の大規模なワクチン接種は奏功しなかつた。

10

20

【0005】

インターフェロンアルファ（IFN- $\alpha$ ）の臨床的及び商業的な使用（例えば、RoferonA（登録商標）、IntronA（登録商標）、Pegasys（登録商標）、PegIntron（登録商標）等）が、例えば、悪性黒色腫、ヘアリー細胞白血病、非ホジキンリンパ腫、AIDS関連カポジ肉腫を含む様々な癌、並びに重症急性呼吸器症候群（SARS）、B型慢性肝炎、及びC型慢性肝炎などの感染症の治療において奏功している。IFN- $\alpha$  はIFN- $\alpha$  受容体に結合するI型インターフェロンである。

【0006】

IFN- $\alpha$  は、自然免疫応答の一部として抗原提示細胞から最も初期に放出されるサイトカインの一つである。IFN- $\alpha$  は、後続の免疫応答を駆動するNK細胞及びT細胞の応答性に直接関与する。IFN- $\alpha$  は免疫カスケードの初期に応答するため、その主な役割は感染に対する初期応答の間にプライミング状態を誘導することであると示唆され、低用量IFN- $\alpha$  がウイルス攻撃からの防御の向上をもたらすことが示されている。

30

【0007】

組換えヒト治療剤としてのIFN- $\alpha$  は、cGMP製造コストが高く、生体内でのその短い半減期が妨げとなり、且つ非グリコシル化形態で産生される。IFN- $\alpha$  は初期分布半減期が7分、及び半減期が2～5時間である。このように減衰が急速なため、治療レベルを維持するために通常は週3回の頻回注射が必要である。従って、1用量当たり2,500ドルの小売りでは、組換えヒトIFN- $\alpha$  はバイオテロ対策又は軍事行動における広域抗ウイルス薬として使用するにはあまりにも高コストである。

40

【0008】

この急速な生体内分解を緩和するため、PEG化された形態のIFN- $\alpha$  が開発されており、これは半減期が数時間ではなく数日程度で、従って注射回数が週1回にまで低減される。しかしながら、PEG化プロセスによりIFN- $\alpha$  の活性が低下することが示されており、及びPEG-IFN- $\alpha$  の製造コストはIFN- $\alpha$  よりさらに高い。

【発明の概要】

【0009】

現在、感染症、例えばウイルス脅威（例えば、テロ事件で使用されるウイルス生物兵器、又は汎流行病が起こった場合）から防護する曝露前予防、又はそれに対応して防護する

50

曝露後予防のために投与することのできる広域抗ウイルス薬が必要とされている。

【0010】

第1の態様において、本発明は、インターフェロン（IFN）をコードする核酸分子を有するベクターと薬学的に許容可能な賦形剤とを含む組成物を特徴とし、組成物は、乾燥した凍結乾燥粉末、ゲル、又は液体として製剤化され、及び組成物は室温で少なくとも1週間安定である。一実施形態において、インターフェロンはIFNアルファ（IFN- $\alpha$ ）；例えばコンセンサスIFN- $\alpha$ （conIFN- $\alpha$ ）；例えば配列番号11に示される）又は配列番号11に示される配列と実質的に同一（例えば、少なくとも約75%、80%、85%、90%、95%、97%、又は99%又はそれ以上同一）であるもの）である。別の実施形態において、ベクターはウイルスベクター（例えば、アデノウイルスベクター（例えばアデノウイルス5株（Ad5）ベクター））である。別の実施形態において、アデノウイルスベクター（例えばAd5ベクター）はE1及びE3遺伝子の全て又は一部の欠失を含み、それにより複製欠損性となっている。さらに別の実施形態において、ベクターは非ウイルスベクターである。

10

【0011】

本発明の第1の態様の別の実施形態において、本発明の第1の態様の組成物の投与後IFNが生体内で発現すると、組成物を投与される哺乳動物（例えばヒト）において病原体（例えば、細菌、ウイルス、真菌、又は寄生体）に対する防御免疫応答が生じ、又は哺乳動物において病原体による感染が治療される。別の実施形態において、本発明の第1の態様の組成物の投与後IFNが生体内で発現すると、組成物を投与される哺乳動物（例えばヒト）において自己免疫疾患に対する防御応答が生じる。

20

【0012】

本発明の第1の態様の他の実施形態において、ベクターの核酸分子は、SV40プロモーター、CMVプロモーター、アデノウイルス初期及び後期プロモーター、メタロチオネイン遺伝子（MT-1）プロモーター、ラウス肉腫ウイルス（RSV）プロモーター、及びヒトユビキチンC（UbC）プロモーターから選択されるプロモーターに作動可能に連結され、又はベクターは、インターフェロンをコードする核酸分子の発現を促進するシグナル配列、ポリアデニル化配列、及びエンハンサー、上流活性化配列、及び転写終結因子のうちの1つ又は複数をさらに含む。さらに他の実施形態において、組成物中に1重量%～90重量%の範囲の量で（例えば、5重量%～30重量%の範囲の量で）存在する賦形剤は、フルクトース、マルトース、ガラクトース、グルコース、D-マンノース、ソルボース、ラクトース、スクロース、トレハロース、セロビオース、ラフィノース、メレジトース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプン、マンニトール、キシリトール、キシロース、マルチトール、ラクチトール、キシリトール、ソルビトール、ソルビトース、ピラノシルソルビトール、ミオイノシトール、グリシン、CaCl<sub>2</sub>、ヒドロキシエクトイン、エクトイン、ゼラチン、ジ-ミオ-イノシトールリン酸（DIP）、環状2,3ジホスホグリセレート（cDPG）、1,1-ジ-グリセロールリン酸（DGP）、 $\alpha$ -マンノシルグリセレート（フィロイン（firoin））、 $\beta$ -マンノシルグリセルアミド（フィロインA）、及びプロリンペタインの1つ又は複数から選択される。

30

【0013】

好ましい実施形態において、賦形剤は、IFNをコードする送達媒体（例えば、Ad5-IFN送達媒体）を室温で長期間（例えば、1週間より長く、及び好ましくは1年より長く又はそれ以上）にわたりウイルス価又は生物活性（例えば、送達媒体が非ウイルス性の場合）の損失を20%未満に安定させる能力を有するものである。かかる賦形剤の非限定的な例としては、例えば、トレハロース、ソルビトール、スクロース、マンニトール、グリシン、CaCl<sub>2</sub>、ヒドロキシエクトイン（hydroxiectoin）、エクトイン、フィロイン及びゼラチンが挙げられる。

40

【0014】

さらに他の実施形態において、組成物はエアロゾル送達用に製剤化されてもよく；室温で少なくとも1ヶ月間（例えば、1年間又はそれ以上）安定であり；及び薬学的に許容可

50

能な液体と混合して液体又はゲルを形成することができる。

【0015】

第2の態様において、本発明は、対象（例えば、霊長類、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、ヤギ、ラット、マウス、若しくはヒトなどの哺乳類、又は鳥類）の肺粘膜又は鼻粘膜に対し、1回又は複数回（例えば1ヶ月以上若しくは1年以上の経過内に、例えば2、3、4、5、6、7、8、9、又は10回、又は必要に応じて）ある量の本発明の第1の態様の組成物を投与することにより、必要がある対象（例えば、霊長類、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、ヤギ、ラット、マウス、若しくはヒトなどの哺乳類、又は鳥類）において生物剤（例えば、細菌、ウイルス、真菌、又は寄生体などの感染性病原体）による感染、自己免疫疾患、又は癌を予防又は治療する方法を特徴とする。一実施形態において、ベクターは前記投与後、肺上皮細胞又は鼻上皮細胞を標的とする。さらに別の実施形態において、ベクターが標的細胞にトランスフェクトされると対象の細胞においてインターフェロン（IFN；例えば、コンセンサスIFN-（conIFN-；例えば配列番号11に示される）などのIFN-）が発現し、IFNは局所的に作用し、及び/又は細胞によって対象の血流中に分泌される。他の実施形態において、組成物はIFNをコードするアデノウイルス5株（Ad5）ベクターを含み、組成物はAd5ベクターを1用量当たり少なくとも約 $1 \times 10^3$ ～約 $1 \times 10^{14}$ 個のウイルス粒子の範囲の量で含む。

10

【0016】

本発明の第2の態様のさらに他の実施形態において、対象は病原体に曝露される前に（例えば、病原体に曝露される少なくとも約15～30分前、好ましくは病原体に曝露される少なくとも約1、2、4、6、8、10、15、20、又は24時間前、及びより好ましくは病原体に曝露される少なくとも約1～2週間前に）組成物の投与を受け、又は対象は病原体に曝露された後に（例えば、病原体に曝露された直後又は病原体に曝露された少なくとも約15～30分後、又は病原体に曝露された少なくとも約1、2、4、6、8、10、15、20、24、48、又は72時間後、又はそれ以上後に組成物の投与を受ける。他の実施形態において、病原体は、細菌、ウイルス、真菌、又は寄生体である。

20

【0017】

他の実施形態において、対象は、自己免疫疾患又は癌、又はその症状の発症前又は発症後に、本発明の第1の態様の組成物の投与を受ける。

【0018】

本発明の第2の態様のさらに他の実施形態において、組成物は、凍結乾燥粉末として（例えば、非再構成粉末として）吸入されてもよく、又は薬学的に許容可能な液体（例えば、水又は生理食塩水）と混合され、エアロゾルミストとして吸入されてもよい。他の実施形態において、エアロゾルミストは $2 \mu\text{m}$ より大きい直径の液滴を含む。さらに別の実施形態において、本発明の第1の態様の組成物の投与前、対象は検査を受け、対象が病原体に曝露されているかどうか、自己免疫疾患の症状を呈しているかどうか、又は癌を有しているかが判断される。別の実施形態において、本発明の第1の態様の組成物の投与後、本方法は、対象の血清中IFNレベルを測定するステップと、血清中IFNレベルが約 $1000 \text{ IU/ml}$ 未満、好ましくは約 $500 \text{ IU/ml}$ 未満、より好ましくは $100 \text{ IU/ml}$ 未満、例えば約 $0.0001$ ～約 $250 \text{ IU/ml}$ の範囲である場合、組成物の追加用量を投与するステップとをさらに含む。他の実施形態において、血清中IFNレベルは、本発明の組成物の投与後、約 $100 \text{ IU/ml}$ ～約 $5.0 \times 10^5 \text{ IU/ml}$ の範囲、好ましくは約 $200 \sim 10,000 \text{ IU/ml}$ の範囲、より好ましくは約 $250 \sim 5,000 \text{ IU/ml}$ の範囲である。他の実施形態において、対象は少なくとも2用量（例えば、3、4、5、6、7、8、9、及び10用量）の組成物を投与される。好ましくは、組成物は対象を病原体による感染から少なくとも約24時間、36時間、48時間、又は72時間にわたり、好ましくは少なくとも約1、2、3、4、又は5週間にわたり、及びより好ましくは少なくとも約2、6、12、18又は24ヶ月又はそれ以上にわたり防御する。他の実施形態において、本発明の第1の態様の組成物の投与により、自己免疫疾患に関連する症状が軽減若しくは減弱され、又は標準方法を用いて判定するとき腫瘍サ

30

40

50

イズ又は癌性細胞数が20、40、60、80、又は100%減少する(例えば、治療を受ける対象の少なくとも20、40、60、80、90、又は95%が、腫瘍又は癌のあらゆるエビデンスが消失する完全寛解に入る)。望ましくは、腫瘍又は癌は再発せず、又は少なくとも5、10、15、又は20年後に再発する。

【0019】

他の実施形態において、組成物は液体又はゲルとして投与される。組成物は対象により投与されても、又は医療従事者などの別の人により投与されてもよい。

【0020】

本発明の第2の態様の他の実施形態において、本発明の第1の態様の組成物の投与後、本方法は、対象におけるIFNの活性に相関するものとしてIFN誘導応答のレベルを決定するステップをさらに含む。例えば、本方法は、二本鎖RNA(dsRNA)依存性プロテインキナーゼR(PKR)、2'-5'-オリゴアデニル酸シテターゼ(2'-5'-OAS)、IFN誘導性Mxタンパク質、トリプトファン分解酵素(例えば、Pfefferkorn、Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:908~912頁、1984年を参照のこと)、アデノシンデアミナーゼ(ADAR1)、IFN活性化遺伝子20(ISG20)、p56、ISG15、mGBP2、GBP-1、APOBECタンパク質、ピペリン、又は他の因子(例えば、Zhangら、J.Virology、81:11246~11255頁、2007年、及び参照により全体として本明細書に援用される米国特許第7,442,527号明細書を参照のこと)の上方制御又は活性を決定又は計測するステップを含み得る。

10

20

【0021】

本発明の第3の態様は、本発明の第1の態様の任意の実施形態の組成物を含む装置を特徴とする。好ましくは、この装置は、a)組成物を含む容器と；b)組成物を対象の肺粘膜又は鼻粘膜に送り込むためのノズルと；c)組成物をノズルに送達するための機械式デリバリーポンプであって、ポンプを駆動させるとノズルと容器との間が流体接続するポンプと；d)機械式デリバリーポンプを作動させるための駆動機構(例えば、デリバリーポンプを所定の圧力又は流量で駆動することが可能なトリガー)とを含む。デリバリーポンプはまた、液体形態の組成物の所定容量を送達するための液体デリバリーポンプ又は粉末形態の組成物の所定量を送達するための粉末デリバリーポンプも含み得る。一実施形態において、ノズルはエアロゾル(例えばミスト)又はジェットを送達するように構成され得る。本発明の第3の態様で使用される装置は本明細書に記載される。

30

【0022】

本発明の第4の態様は、本発明の第1の態様の任意の実施形態の組成物を有する第1の容器と、薬学的に許容可能な液体を有する第2の容器と、本発明の第3の態様の任意の実施形態の装置と、場合により、病原体による感染、自己免疫疾患若しくはその症状、又は癌を治療又は阻害するため、例えば対象に対し、装置を使用して第1の容器の内容物を送達することについての、又は第1及び第2の容器の内容物を組み合わせて複合組成物を形成し、次に装置を使用して複合組成物を送達することについての使用説明書とを含むキットを特徴とする。本発明の全ての態様の一実施形態において、ベクターは、サイトカイン(例えば、コンセンサスIFN-などのインターフェロナルファ(IFN-))をコードする核酸分子を含む組換えウイルスベクター(例えば、Ad5などのアデノウイルスベクター)であり；組成物を対象(例えば、霊長類、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、ヤギ、ラット、マウス、若しくはヒトなどの哺乳類、又は鳥類)に投与することで、生物剤の攻撃から防御し、又は生物剤による感染を治療することができる。生物剤は、細菌、ウイルス、真菌、又は寄生体などの感染性病原体であってもよい。

40

【0023】

本発明の全ての態様の一実施形態において、細菌は、シュードモナス・エルギノーサ(Pseudomonas aeruginosa)、サルモネラ・チフィムリウム(Salmonella typhimurium)、大腸菌(Escherichia coli)、クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumoniae)

50

、ブルセラ属 (*Bruscella*)、バークホルデリア・マレイ (*Burkholderia mallei*)、エルシニア・ペスチス (*Yersinia pestis*)、及びバチルス・アントラシス (*Bacillus anthracis*) から選択される。

【0024】

本発明の全ての態様の一実施形態において、ウイルスはフラビウイルス科 (*Flaviviridae*) のメンバー (例えば、フラビウイルス属 (*Flavivirus*)、ペスチウイルス属 (*Pestivirus*) 及びヘパシウイルス属 (*Hepadnavirus*) のメンバー) から選択され、これには、C型肝炎ウイルス、黄熱ウイルス; ガジェットガリー (*Gadgets Gully*) ウイルス、カダム (*Kadam*) ウイルス、キャサヌール森林病ウイルス、ランガットウイルス、オムスク出血熱ウイルス、ポワッサンウイルス、ロイヤルファーム (*Royal Farm*) ウイルス、カルシ (*Karshi*) ウイルス、ダニ媒介脳炎ウイルス、ノイドルフル (*Neudoerfl*) ウイルス、ソフジン (*Sofjin*) ウイルス、跳躍病ウイルス及びネギシウイルスなどのダニ媒介ウイルス; メアバン (*Meaban*) ウイルス、ソーマレズリーフ (*Saumarez Reef*) ウイルス、及びチュレニー (*Tyuleniy*) ウイルスなどの海鳥ダニ媒介ウイルス; アロア (*Aroa*) ウイルス、デングウイルス、ケドゥグ (*Kedougou*) ウイルス、カシパコア (*Cacipacore*) ウイルス、クタンゴ (*Koutango*) ウイルス、日本脳炎ウイルス、マレー渓谷脳炎ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ウスツ (*Usutu*) ウイルス、ウエストナイルウイルス、ヤウンデ (*Yaounde*) ウイルス、ココベラ (*Kokobera*) ウイルス、バガザ (*Bagaza*) ウイルス、イルヘウスウイルス、イスラエルターキー髄膜脳脊髄炎ウイルス、ウンタヤウイルス、テンプスウイルス、ジカウイルス、バンジ (*Banzi*) ウイルス、ブビ (*Boubou*) ウイルス、エッジヒル (*Edge Hill*) ウイルス、ジュグラ (*Jugra*) ウイルス、サボヤ (*Saboya*) ウイルス、セピック (*Sepik*) ウイルス、ウガンダSウイルス、ヴェッセルスブロンウイルス、黄熱ウイルスなどの蚊媒介ウイルス; 及びエンテベ (*Entebbe*) コウモリウイルス、ヨコセウイルス、アポイウイルス、カウボーンリッジ (*Cowbone Ridge*) ウイルス、フティアパ (*Jutiapa*) ウイルス、モドック (*Modoc*) ウイルス、サルビエハ (*Sal Vieja*) ウイルス、サンペルリタ (*San Perlita*) ウイルス、ブカラサ (*Bukalasa*) コウモリウイルス、ケアリーアイランド (*Carey Island*) ウイルス、ダカール (*Dakar*) コウモリウイルス、モンタナ筋炎白質脳炎ウイルス、プノンペン (*Phnom Penh*) コウモリウイルス、リオブラボーウイルス、タマナ (*Tamana*) コウモリウイルス、及び細胞融合因子ウイルス (*Cell fusing agent virus*) などの既知の媒介節足動物を伴わないウイルスが含まれる。

【0025】

本発明の全ての態様の別の実施形態において、ウイルスはアレナウイルス科 (*Arenaviridae*) のメンバーから選択され、これには、イッピー (*Ippy*) ウイルス、ラッサウイルス (例えば、ジョサイア (*Josiah*) 株、LP株、又はGA391株)、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (*LCMV*)、モバラ (*Mobala*) ウイルス、モペイア (*Mopeia*) ウイルス、アマパリウイルス、フレキサル (*Flexal*) ウイルス、グアナリトウイルス、フニンウイルス、ラティノ (*Latino*) ウイルス、マチュポウイルス、オリベロス (*Oliveros*) ウイルス、パラナ (*Parana*) ウイルス、ピチンデウイルス、ピリタル (*Piritall*) ウイルス、サビアウイルス、タカリベウイルス、タミアミ (*Tamiami*) ウイルス、ホワイトウォーター・アロヨ (*Whitewater Arroyo*) ウイルス、チャパレウイルス、及びルヨ (*Lujo*) ウイルスが含まれる。

【0026】

本発明の全ての態様のさらに他の実施形態において、ウイルスはブニヤウイルス科 (*Bunyaviridae*) のメンバー (例えば、ハンタウイルス属 (*Hantavirus*)



s)、ナイロウイルス属(Nairovirus)、オルトブニヤウイルス属(Orthobunyavirus)、及びフレボウイルス属(Phlebovirus)のメンバー)から選択され、これには、ハンターンウイルス、シンノブレウイルス、ジューグベ(Dugbe)ウイルス、ブニヤンペラウイルス、リフトパレー熱ウイルス、ラクロスウイルス、プンタトロ(Punta Toro)ウイルス(PTV)、カリフォルニア脳炎ウイルス、及びクリミア-コンゴ出血熱(CCHF)ウイルスが含まれる。

【0027】

本発明の全ての態様のさらに他の実施形態において、ウイルスはフィロウイルス科(Filoviridae)のメンバー(これにはエボラウイルス(例えば、ザイル株、スーダン株、コートジボワール株、レストン株、及びウガンダ株)及びマールブルグウイルス(例えば、アンゴラ株、Ci67株、ムソケ(Musoke)株、ポップ(Popp)株、ラヴン(Ravn)株及びレイクビクトリア株)が含まれる);トガウイルス科(Togaviridae)のメンバー(例えば、アルファウイルス属(Alphavirus)のメンバー)(これにはベネズエラウマ脳炎ウイルス(VEE)、東部ウマ脳炎ウイルス(EEE)、西部ウマ脳炎ウイルス(WEE)、シンドビスウイルス、風疹ウイルス、セムリキ森林ウイルス、ロスリパーウイルス、パーマフォレストウイルス、オニオンニオンウイルス、及びチクングニヤウイルスが含まれる);ポックスウイルス科(Poxviridae)のメンバー(例えば、オルトポックスウイルス属(Orthopoxvirus)のメンバー)(これには天然痘ウイルス、サル痘ウイルス、及びワクシニアウイルスが含まれる);ヘルペスウイルス科のメンバー(これには単純ヘルペスウイルス(HSV; 1型、2型、及び6型)、ヒトヘルペスウイルス(例えば、7型及び8型)、サイトメガロウイルス(CMV)、エプスタイン・バールウイルス(EBV)、水痘帯状疱疹ウイルス、及びカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)が含まれる);オルソミクソウイルス科(Orthomyxoviridae)のメンバー(これにはH5N1トリインフルエンザウイルス又はH1N1ブタインフルエンザなどのインフルエンザウイルス(A型、B型、及びC型)が含まれる);コロナウイルス科(Coronaviridae)のメンバー(これには重症急性呼吸器症候群(SARS)ウイルスが含まれる);ラブドウイルス科(Rhabdoviridae)のメンバー(これには狂犬病ウイルス及び水疱性口内炎ウイルス(VSV)が含まれる);パラミクソウイルス科(Paramyxoviridae)のメンバー(これにはヒト呼吸器多核体ウイルス(RSV)、ニューカッスル病ウイルス、ヘンドラウイルス、ニバウイルス、麻疹ウイルス、牛痘ウイルス、イヌジステンパーウイルス、センダイウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス(例えば、1型、2型、3型、及び4型)、ライノウイルス、及びムンプスウイルスが含まれる);ピコルナウイルス科(Picornaviridae)のメンバー(これにはポリオウイルス、ヒトエンテロウイルス(A型、B型、C型、及びD型)、A型肝炎ウイルス、及びコクサッキーウイルスが含まれる);ヘパドナウイルス科(Hepadnaviridae)のメンバー(これにはB型肝炎ウイルスが含まれる);パピローマウイルス科(Papillamoviridae)のメンバー(これにはヒトパピローマウイルスが含まれる);パルボウイルス科(Parvoviridae)のメンバー(これにはアデノ随伴ウイルスが含まれる);アストロウイルス科(Astroviridae)のメンバー(これにはアストロウイルスが含まれる);ポリオーマウイルス科(Polyomaviridae)のメンバー(これにはJCウイルス、BKウイルス、及びSV40ウイルスが含まれる);カリシウイルス科(Calciviridae)のメンバー(これにはノーウォークウイルスが含まれる);レオウイルス科(Reoviridae)のメンバー(これにはロタウイルスが含まれる);及びレトロウイルス科(Retroviridae)のメンバー(これにはヒト免疫不全ウイルス(HIV; 例え、1型及び2型)、及びヒトTリンパ球向性ウイルスI型及びII型(それぞれHTLV-1及びHTLV-2)が含まれる)から選択される。

【0028】

本発明の全ての態様のさらに他の実施形態において、真菌は、アスペルギルス属(As

10

20

30

40

50

pergillus)、プラストミセス・デルマチチジス(Blastomyces dermatitidis)、カンジダ属(Candida)、コクシジオイデス・イミテイス(Coccidioides immitis)、クリプトコッカス・ネオフォルマンズ(Cryptococcus neoformans)、ヒストプラズマ・カプスラーツム変種カプスラーツム(Histoplasma capsulatum var. capsulatum)、パラコクシジオイデス・ブラジリエンシス(Paracoccidioides brasiliensis)、スポロトリックス・シェンキイ(Sporothrix schenckii)、ジゴミセテス種(Zygomycetes spp.)、アブシディア・コリンピフェラ(Absidia corymbifera)、リゾムコール・プシルス(Rhizomucor pusillus)、又はリゾプス・アリズス(Rhizopus arrhizus)であってもよい。

10

【0029】

本発明の全ての態様の別の実施形態において、寄生体は、トキソプラズマ・ゴンジイ(Toxoplasma gondii)、プラスモジウム・ファルシパルム(Plasmodium falciparum)、P. ビバックス(P. vivax)、P. オバレ(P. ovale)、P. マラリエ(P. malariae)、トリパノソーマ種(Trypanosoma spp.)、及びレジオネラ種(Legionella spp.)から選択される。

【0030】

本発明の全ての態様の別の実施形態において、自己免疫疾患には、全身性自己免疫疾患及び臓器特異的自己免疫疾患が含まれる。自己免疫疾患の典型的な例としては、インスリン依存性糖尿病(1型糖尿病としても知られる)、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、橋本病、円形脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫性アジソン病、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、セリアックスブルー-皮膚炎、慢性疲労免疫不全症候群(CFIDS)、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー、チャグ・シュトラウス症候群、癩痕性類天疱瘡、CREST症候群、寒冷凝集素症、クローン病、円板状ループス、潰瘍性大腸炎、乾癬性関節炎、本態性混合型クリオグロブリン血症、線維筋痛症-線維筋炎、グレーブス病、ギラン・バレー、甲状腺機能低下症、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、IgA腎症、若年性関節炎、扁平苔癬、ループス、メニエール病、混合結合組織病、多発性硬化症、重症筋無力症、尋常性天疱瘡、悪性貧血、結節性多発性動脈炎、多発性軟骨炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎及び皮膚筋炎、原発性無ガンマグロブリン血症、原発性胆汁性肝硬変、乾癬、レイノー現象、ライター症候群、リウマチ熱、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、スティフマン症候群、デヴィック病、高安動脈炎、側頭動脈炎/巨細胞性動脈炎、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、血管炎、白斑、及びウェゲナー肉芽腫症が挙げられる。

20

30

【0031】

本発明の全ての態様の別の実施形態において、癌としては、メラノーマ、明細胞肉腫、頭頸部癌、膀胱癌、乳癌、結腸癌、卵巣癌、子宮内膜癌、胃癌、膵癌、腎癌、前立腺癌、唾液腺癌、肺癌、肝癌、皮膚癌、及び脳癌などの癌が挙げられる。

40

【0032】

本発明の全ての態様のさらに別の実施形態において、本発明の第1、第2、第3、及び第4の態様の組成物及び方法は、補助治療剤又はレジメン、例えば、抗体又は抗体断片(例えば、組換え、ヒト化、キメラ、又はモノクローナル抗体又は断片)、微生物抗原、サイトカイン又は成長因子、ホルモン、凝固因子、薬剤耐性又は抗ウイルス耐性ポリペプチド、抗毒素剤、抗酸化剤、受容体又はリガンド、免疫調節因子、検出可能標識、細胞性因子、又はワクチンなどのポリペプチドを、ベクター(例えば、ウイルスベクター)とともに投与するステップ、又はそこで発現させるステップをさらに含む。他の実施形態において、抗体又は抗体断片は、一本鎖抗体(scFv)、Fab、Fab'2、scFv、SMIP、ジアボディ、ナノボディ、アプタマー、又はドメイン抗体であってもよい。さら

50

に他の実施形態において、サイトカイン又は成長因子は、腫瘍壊死因子アルファ (TNF- $\alpha$ )、TNF- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、IFN- $\delta$ 、インターロイキン1 (IL-1)、IL-2、インターロイキン2~14、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、RANTES、MIP-1 $\alpha$ 、形質転換成長因子 (TGF- $\beta$ )、血小板由来成長因子 (PDGF)、インスリン様成長因子 (IGF)、上皮成長因子 (EGF)、血管内皮成長因子 (VEGF)、ケラチノサイト成長因子 (KGF)、エリスロポエチン (EPO)、又はトロンプオエチン (TPO) であってもよい。ホルモンは、アンジオテンシノーゲン、アンジオテンシン、副甲状腺ホルモン (PTH)、塩基性線維芽細胞成長因子2、黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモン、副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)、バソプレシン、オキシトシン、ソマトスタチン、ガストリン、コレシストキニン、レプチン、心房性ナトリウム利尿ペプチド、エピネフリン、ノルエピネフリン、ドーパミン、カルシトニン、又はインスリンであってもよい。凝固因子は、因子VII、因子VIII、因子IX、又はフィブリノゲンであってもよい。酵素は、ブチリルコリンエステラーゼ (BChE)、アデノシンデアミナーゼ、グルコセレブロシダーゼ、 $\alpha$ 1アンチトリプシン、ウイルスチミジンキナーゼ、ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ、マンガンスーパーオキシドジスムターゼ (Mn-SOD)、カタラーゼ、銅-亜鉛スーパーオキシドジスムターゼ (CuZn-SOD)、細胞外スーパーオキシドジスムターゼ (EC-SOD)、グルタチオンレダクターゼ、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ、 $\alpha$ -酸化窒素シンテターゼ、又はパラオキシナーゼ (paraoxinasase) であってもよい。受容体又はリガンドは、T細胞受容体 (TCR)、LDL受容体、表面結合免疫グロブリン、可溶性CD4、嚢胞性線維症膜貫通コンダクタンズ受容体 (CFTR)、又はFc受容体であってもよい。免疫調節因子は、CTLA-4、VCP、PLIF、LSF-1、Nip、CD200、ウロモジュリン、CD40L (CD154)、FasL、CD27L、CD30L、4-1BBL、CD28、CD25、B7.1、B7.2、又はOX40Lであってもよい。検出可能標識は緑色蛍光タンパク質 (GFP) であってもよい。細胞性因子は、シトクロムb、ApoE、ApoC、ApoAI、MDR、組織プラスミノゲン活性化因子 (tPA)、ウロキナーゼ、ヒルジン、 $\alpha$ -グロビン、 $\beta$ -グロビン、HbA、ras、src、又はbcl1であってもよい。ポリペプチドは、抗原として作用し、それにより対象において生物剤又は化学剤に対する免疫応答を生じさせる細胞タンパク質であってもよい。ワクチンは、本明細書に記載される細菌、ウイルス、真菌、又は寄生体因子の1つ又は複数を処置することが当該技術分野において公知の、例えば、細菌、ウイルス、真菌、又は寄生体ワクチンであってもよい。例えば、ワクチンは、シュードモナス・エルギノーサ (*Pseudomonas aeruginosa*)、サルモネラ・チフィムリウム (*Salmonella typhimurium*)、大腸菌 (*Escherichia coli*)、クレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)、ブルセラ属 (*Bruceella*)、バークホルデリア・マレイ (*Burkholderia mallei*)、エルシニア・ペスチス (*Yersinia pestis*)、及びバチルス・アントラシス (*Bacillus anthracis*) から選択される細菌；フラビウイルス科 (Flaviviridae) メンバー (例えば、フラビウイルス属 (*Flavivirus*)、ペスチウイルス属 (*Pestivirus*)、及びヘパシウイルス属 (*Hepacivirus*) のメンバー) から選択されるウイルス (これにはC型肝炎ウイルス、黄熱ウイルス；ガジェットガリー (*Gadgets Gully*) ウイルス、カダム (*Kadam*) ウイルス、キャサヌール森林病ウイルス、ランガットウイルス、オムスク出血熱ウイルス、ポワッサンウイルス、ロイヤルファーム (*Royal Farm*) ウイルス、カルシ (*Karshi*) ウイルス、ダニ媒介脳炎ウイルス、ノイドルフル (*Neudoerfl*) ウイルス、ソフジン (*Sofjin*) ウイルス、跳躍病ウイルス及びネギシウイルスなどのダニ媒介ウイルス；メアバン (*Meaban*) ウイルス、ソーマレズリーフ (*Samararez Reef*) ウイルス、及びチュレニー (*Tyuleniy*) ウイルスなどの海鳥ダニ媒介ウイルス；アロア (*Aroa*) ウイルス、デングウイルス、ケドゥグ (K

edougou) ウイルス、カシパコア (Cacipacore) ウイルス、クタンゴ (Koutango) ウイルス、日本脳炎ウイルス、マレー溪谷脳炎ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ウスツ (Usutu) ウイルス、ウエストナイルウイルス、ヤウンデ (Yaounde) ウイルス、ココベラ (Kokobera) ウイルス、バガザ (Bagaza) ウイルス、イルヘウスウイルス、イスラエルターキー髄膜脳脊髄炎ウイルス、ウンタヤウイルス、テンブスウイルス、ジカウイルス、バンジ (Banzhi) ウイルス、ブブイ (Boubou) ウイルス、エッジヒル (Edge Hill) ウイルス、ジュグラ (Jugra) ウイルス、サボヤ (Saboya) ウイルス、セピック (Sepik) ウイルス、ウガンダSウイルス、ヴェッセルスブロンウイルス、黄熱ウイルスなどの蚊媒介ウイルス；及びエンテベ (Entebbe) コウモリウイルス、ヨコセウイルス、アポイウイルス、カウボーンリッジ (Cowbone Ridge) ウイルス、フティアパ (Jutiapa) ウイルス、モドック (Modoc) ウイルス、サルビエハ (Sal Vieja) ウイルス、サンペルリタ (San Perlita) ウイルス、ブカラサ (Bukalasa) コウモリウイルス、ケアリーアイランド (Carey Island) ウイルス、ダカール (Dakar) コウモリウイルス、モンタナ筋炎白質脳炎ウイルス、ブノンペン (Phnom Penh) コウモリウイルス、リオブラボウイルス、タマナ (Tamana) コウモリウイルス、及び細胞融合因子ウイルスなどの既知の媒介節足動物を伴わないウイルス；アレナウイルス科 (Arenaviridae) のメンバーから選択されるウイルス (これにはイッピー (Ippy) ウイルス、ラッサウイルス (例えば、ジョサイア (Josiah) 株、LP株、又はGA391株)、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)、モバラ (Mobala) ウイルス、モペイア (Mopeia) ウイルス、アマパリウイルス、フレキサル (Flexal) ウイルス、グアナリトウイルス、フニンウイルス、ラティノ (Latino) ウイルス、マチュポウイルス、オリベロス (Oliveros) ウイルス、パラナ (Parana) ウイルス、ピチンデウイルス、ピリタル (Piritall) ウイルス、サビアウイルス、タカリベウイルス、タミアミ (Tamiami) ウイルス、ホワイトウォーター・アロヨ (Whitewater Arroyo) ウイルス、チャパレウイルス、及びルヨ (Lujó) ウイルスが含まれる)；ブニヤウイルス科 (Bunyaviridae) のメンバー (例えば、ハンタウイルス属 (Hantavirus)、ナイロウイルス属 (Nairovirus)、オルトブニヤウイルス属 (Orthobunyavirus)、及びフレボウイルス属 (Phlebovirus) のメンバー) から選択されるウイルス (これにはハンタウイルス、シンノンブレウイルス、ジュグベ (Dugbe) ウイルス、ブニヤンベラウイルス、リフトバレー熱ウイルス、ラクロスウイルス、プンタトロ (Punta Toro) ウイルス (PTV)、カリフォルニア脳炎ウイルス、及びクリミア - コンゴ出血熱 (CCHF) ウイルスが含まれる)；フィロウイルス科 (Filoviridae) のメンバーから選択されるウイルス (これにはエボラウイルス (例えば、ザール株、スーダン株、コートジボワール株、レ斯顿株、及びウガンダ株) 及びマールブルグウイルス (例えば、アンゴラ株、Ci67株、ムソケ (Musoke) 株、ポップ (Popp) 株、ラヴン (Ravn) 株及びレイクビクトリア株) が含まれる)；トガウイルス科 (Togaviridae) のメンバー (例えば、アルファウイルス属 (Alphavirus) のメンバー) (これにはベネズエラウマ脳炎ウイルス (VEE)、東部ウマ脳炎ウイルス (EEE)、西部ウマ脳炎ウイルス (WEE)、シンドビスウイルス、風疹ウイルス、セムリキ森林ウイルス、ロスリバーウイルス、パーマフォレストウイルス、オニオンニオンウイルス、及びチクングニヤウイルスが含まれる)；ポックスウイルス科 (Poxviridae) のメンバー (例えば、オルトポックスウイルス属 (Orthopoxvirus) のメンバー) (これには天然痘ウイルス、サル痘ウイルス、及びワクシニアウイルスが含まれる)；ヘルペスウイルス科 (Herpesviridae) のメンバー (これには単純ヘルペスウイルス (HSV；1型、2型、及び6型)、ヒトヘルペスウイルス (例えば、7型及び8型)、サイトメガロウイルス (CMV)、エプスタイン・パールウイルス (EBV)、水痘帯状疱疹ウイルス、及びカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) が含まれる)；オル

10

20

30

40

50

ソミクソウイルス科 (*Orthomyxoviridae*) のメンバー (これには H5N1 トリインフルエンザウイルス又は H1N1 ブタインフルエンザなどのインフルエンザウイルス (A 型、B 型、及び C 型) が含まれる) ; コロナウイルス科 (*Coronaviridae*) のメンバー (これには重症急性呼吸器症候群 (SARS) ウイルスが含まれる) ; ラブドウイルス科 (*Rhabdoviridae*) のメンバー (これには狂犬病ウイルス及び水疱性口内炎ウイルス (VSV) が含まれる) ; パラミクソウイルス科 (*Paramyxoviridae*) のメンバー (これにはヒト呼吸器合胞体ウイルス (RSV) 、ニューカッスル病ウイルス、ヘンドラウイルス、ニパウイルス、麻疹ウイルス、牛痘ウイルス、イヌジステンパーウイルス、センダイウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス (例えば、1 型、2 型、3 型、及び 4 型)、ライノウイルス、及びムンプスウイルスが含まれる) ; ピコルナウイルス科 (*Picornaviridae*) のメンバー (これにはポリオウイルス、ヒトエンテロウイルス (A 型、B 型、C 型、及び D 型)、A 型肝炎ウイルス、及びコクサッキーウイルスが含まれる) ; ヘパドナウイルス科 (*Hepadnaviridae*) のメンバー (これには B 型肝炎ウイルスが含まれる) ; パピローマウイルス科 (*Papillamoviridae*) のメンバー (これにはヒトパピローマウイルスが含まれる) ; パルボウイルス科 (*Parvoviridae*) のメンバー (これにはアデノ随伴ウイルスが含まれる) ; アストロウイルス科 (*Astroviridae*) のメンバー (これにはアストロウイルスが含まれる) ; ポリオーマウイルス科 (*Polyomaviridae*) のメンバー (これには JC ウイルス、BK ウイルス、及び SV40 ウイルスが含まれる) ; カリシウイルス科 (*Calciviridae*) のメンバー (これにはノーウォークウイルスが含まれる) ; レオウイルス科 (*Reoviridae*) のメンバー (これにはロタウイルスが含まれる) ; 及びレトロウイルス科 (*Retroviridae*) のメンバー (これにはヒト免疫不全ウイルス (HIV; 例えば、1 型及び 2 型)、及びヒト T リンパ球向性ウイルス I 型及び II 型 (それぞれ HTLV-1 及び HTLV-2) が含まれる) ; 又はアスペルギルス属 (*Aspergillus*) 、ブラストミセス・デルマチチジス (*Blastomyces dermatitidis*) 、カンジダ属 (*Candida*) 、コクシジオイデス・イミティス (*Coccidioides immitis*) 、クリプトコッカス・ネオフォルマンズ (*Cryptococcus neoformans*) 、ヒストプラズマ・カプスラーツム変種カプスラーツム (*Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*) 、パラコクシジオイデス・ブラジリエンシス (*Paracoccidioides brasiliensis*) 、スポロトリックス・シェンキイ (*Sporothrix schenckii*) 、ジゴミセテス種 (*Zygomycetes* spp.) 、アブシディア・コリンピフェラ (*Absidia corymbifera*) 、リゾムコール・プシルス (*Rhizomucor pusillus*) 、及びリゾプス・アリズス (*Rhizopus arrhizus*) から選択される真菌 ; 又はトキシプラズマ・ゴンジイ (*Toxoplasma gondii*) 、プラスモジウム・ファルシパルム (*Plasmodium falciparum*) 、P. ビバックス (*P. vivax*) 、P. オバレ (*P. ovale*) 、P. マラリエ (*P. malariae*) 、トリパノソーマ種 (*Trypanosoma* spp.) 、及びレジオネラ種 (*Legionella* spp.) から選択される寄生体を対象とするものであり得る。

### 【0033】

本発明の全ての態様のさらに他の実施形態において、ベクター (例えば、ウイルスベクター) は、ウイルス複製又は感染の阻害能を有する 1 つ又は複数のオリゴヌクレオチド、例えば RNA 干渉 (RNAi) 分子を発現するよう修飾され得る。RNAi 分子は低分子阻害性 RNA (siRNA) 又は短鎖ヘアピン RNA (shRNA) 分子であってもよい。

### 【0034】

本発明の全ての態様の別の実施形態において、対象は、本発明の医薬組成物の投与を受ける前に、生物剤又は化学剤に曝露されているか、又は曝露された疑いがある。本発明の

10

20

30

40

50

全ての態様の別の実施形態において、対象は、本発明の医薬組成物の投与を受ける前に、自己免疫疾患又は癌であると診断されているか、又はその症状を呈する。対象は、本発明の医薬組成物の単一用量又は複数用量を投与され得る。本発明の全ての態様の別の実施形態において、本発明の医薬組成物は、対象（例えば、ヒトなどの哺乳類）に対して予防薬として、例えばワクチンタイプの予防薬として、対象を防御するため生物剤又は化学剤に曝露される前に（例えば、曝露直前、例えば、曝露される少なくとも約5、10、又は30分前、又は好ましくは曝露される少なくとも約1、2、3、4、又は5時間前、より好ましくは曝露される少なくとも約6、24、36、48、又は72時間前、及びより好ましくは曝露される少なくとも約1、2、3、又は4週間前又はそれ以上前に）、又は自己免疫疾患又は癌の診断前、又はその症状の発症前に投与され得る。本発明の医薬組成物は対象に対して静脈内に、筋肉内に、経口的に、吸入により、非経口的に、腹腔内に、動脈内に、経皮的に、舌下に、経鼻的に、経口腔的に、リポソームで、脂肪で、眼に（*ophthalmically*）、眼内に、皮下に、髄腔内に、局所的に、又は局在的に投与され得る。好ましい一実施形態において、医薬組成物は対象の肺粘膜又は鼻腔内粘膜に投与される。IFNをコードする送達媒体組成物がウイルスベクターである場合、対象は、少なくとも約 $1 \times 10^3$ 個のウイルス粒子（vp）/用量又は $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^{14}$  vp/用量、好ましくは $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^{12}$  vp/用量、及びより好ましくは $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^{10}$  vp/用量を投与され得る。IFNをコードする送達媒体組成物が非ウイルスベクターである場合、対象は、少なくとも約 $1 \times 10^1$ 分子/用量、例えば、 $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^{15}$ 分子/用量、好ましくは $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^{10}$ 分子/用量、及びより好ましくは $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^8$ 分子/用量の非ウイルス送達ベクターを投与され得る。

10

20

30

40

50

#### 【0035】

本発明の全ての態様の他の実施形態において、対象における異種タンパク質（例えば、コンセンサスIFN- などのIFN）の発現は（血清レベルを計測することにより決定するとき）、1週間、1ヶ月、2ヶ月、又は6ヶ月より長くにわたり生じる。さらに他の実施形態において、インターフェロン（例えば、コンセンサスIFN- などのIFN- ）の発現の効果は、（本明細書で考察するとおり、インターフェロン発現に対するサロゲートマーカーを使用して決定する）1週間、1ヶ月、2ヶ月、6ヶ月又は1～2年より長くにわたり生じる。

#### 【0036】

本発明の全ての態様の別の実施形態において、本発明の医薬組成物は、インターフェロン（例えば、コンセンサスIFN- ）処置の予防又は治療効果を亢進又は遷延させる1つ又は複数の補助剤と組み合わせて対象に投与され得る。補助剤は、例えば、サイトカイン、抗ウイルス剤、抗細菌剤、抗真菌剤、抗寄生体剤、免疫賦活剤、又は免疫化ワクチンであってもよい。別の実施形態において、本発明の医薬組成物は、IFN発現ベクター（例えば、IFN- をコードするAd5ベクター）と、ワクチンと、薬学的に許容可能な担体とを含み、この組成物は、曝露後少なくとも24時間（例えば、1、2、4、6、8、10、12、15、又は18時間）以内又はさらには曝露後僅か15～30分以内に投与したとき、速効性の（例えば、 $> 80\%$ （例えば、85%、90%、95%、又は99%又はそれ以上（例えば100%）が発現する）治効（例えば、生存率により計測する）である。別の実施形態において、ワクチンはウイルスワクチン（例えば、エボラワクチン（例えば、エボラザイルワクチンAd-CAGoptZGP; Richardsonら（PLoS 4: e5308、2009年）を参照のこと）である。別の実施形態において、本発明の医薬組成物は、IFN発現ベクター（例えば、IFN- をコードするAd5ベクター）と、個別に、又はワクチン（例えば、エボラワクチン（例えばエボラザイルワクチンAd-CAGoptZGP; Richardsonら（PLoS 4: e5308、2009年）を参照のこと）などのウイルスワクチン）と組み合わせて投与される薬学的に許容可能な担体とを含む。例えば、本発明の医薬組成物はワクチンの15～30分以内に、又はワクチンの1、2、4、8、10、12、24、48、若しくは72時間

以内に、又はワクチン後 1 ~ 2 週間以内に投与される。

【 0 0 3 7 】

本発明の全ての態様のさらに別の実施形態において、ベクター（例えば、A d 5 ベクターなどのウイルスベクター）は薬学的に許容可能な担体又は賦形剤と共に投与される。

【 0 0 3 8 】

#### 定義

用語「約」は、本明細書では、記載される値の  $\pm 10\%$  である値を意味して用いられる。

【 0 0 3 9 】

本明細書で使用されるとき、「投与する」とは、ある投薬量の医薬組成物を対象に与える方法を意味する。本明細書に記載される方法で利用される組成物は、例えば、非経口、皮膚、経皮、眼球、吸入、口腔、舌下、経舌、経鼻、直腸、局所、及び経口から選択される経路により投与することができる。非経口投与には、動脈内、静脈内、腹腔内、皮下、及び筋肉内投与が含まれる。好ましい投与方法は様々な要因（例えば、投与される組成物の成分及び治療される病態の重症度）によって異なり得る。

10

【 0 0 4 0 】

「治療に十分な量」は、対象の病態、又は障害の症状を臨床的に関連性のある形で改善するか、阻害するか、又は寛解させる（例えば、例えば 1 つ又は複数のウイルス又はウイルス株による感染、又は感染後に起こる 1 つ又は複数の症状を改善するか、阻害するか、又は寛解させ、又は自己免疫疾患又は癌、又はその 1 つ又は複数の症状を改善するか、治療するか、又は寛解させる）ために投与される組成物の量を意味する。対象における任意の改善が、治療の達成に十分と考えられる。好ましくは、治療に十分な量は、ウイルス感染の発症又は 1 つ若しくは複数の症状（例えば、少なくとも 1 つ及び好ましくは 2 つ以上のウイルス又はウイルス株による感染によってもたらされる症状）を軽減、阻害、又は予防する量であり、又は 1 つ又は複数の感染症状の重症度、又は対象がそれを患う期間の長さを（例えば、本発明の組成物で治療されない対照の対象と比べて少なくとも 10%、20%、又は 30%、より好ましくは少なくとも 50%、60%、又は 70%、及び最も好ましくは少なくとも 80%、90%、95%、99%、又はそれ以上）低減する量である。本明細書に記載される方法（例えば、1 つ又は複数のウイルス感染症の治療）の実施に使用される十分な量の医薬組成物は、投与方法並びに治療される対象の年齢、体重、及び全般的な健康状態によって異なる。医師又は研究者は適切な量及び投薬レジメンを判断することができる。

20

30

【 0 0 4 1 】

「宿主」、「対象」又は「患者」とは、哺乳類（例えば、霊長類、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、ヤギ、ラット、及びマウス）又は鳥類などの任意の生物を意味する；好ましくは、生物はヒトである。宿主はまた、家畜（例えば農業用動物）又はコンパニオン動物（例えばペット）であってもよい。

【 0 0 4 2 】

「免疫応答を誘導する」とは、医薬組成物（例えばワクチン）が投与された対象において 1 つ又は複数のウイルス又はウイルス株（例えば、2 つ、3 つ、4 つ、又はそれ以上のウイルス又はウイルス株）に対する体液性応答（例えば、抗体の産生）又は細胞性応答（例えば、T 細胞、マクロファージ、好中球、及びナチュラルキラー細胞の活性化）を誘発することを意味する。

40

【 0 0 4 3 】

本明細書で使用されるとき、「インターフェロン」又は「IFN」は、IFN - （例えば、IFN - 1 a；全体として参照により本明細書に援用される米国特許出願公開第 2 0 0 7 0 2 7 4 9 5 0 号明細書を参照のこと）、IFN - 1 b（配列番号 1 及び 2）、IFN - 2 a（全体として参照により本明細書に援用される国際公開第 0 7 / 0 4 4 0 8 3 号パンフレットを参照のこと）及び IFN - 2 b（配列番号 3 及び 4）、コンセンサス IFN - （配列番号 1 1）、IFN - （例えば、全体として参照に

50

より援用される米国特許第7, 238, 344号明細書に記載される; IFN - 1 a、米国特許第6, 962, 978号明細書に記載されるとおり; 全体として参照により援用される) 及びIFN - 1 b (米国特許第4, 588, 585号明細書; 同第4, 959, 314号明細書; 同第4, 737, 462号明細書; 及び同第4, 450, 103号明細書に記載されるとおり; 全体として参照により援用される; 配列番号5及び6もまた参照)、IFN - (例えば、配列番号7及び8を参照のこと)、及びIFN - (米国特許第5, 738, 845号明細書及び米国特許出願公開第20040247565号明細書及び同第20070243163号明細書に記載されるとおり; 全体として参照により援用される; 配列番号9及び10もまた参照) などのインターフェロン(例えばヒトインターフェロン)の配列の全て又は一部と実質的に同一である(例えば、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又はさらには100%同一である)アミノ酸配列を有するペプチド又はタンパク質を指す。

10

## 【0044】

用語「インターフェロンアルファ」又は「IFN - 」は、本明細書で使用される時、ウイルス複製及び細胞増殖を阻害し、且つ免疫応答を調整する高度に相同な種特異的タンパク質のファミリーを意味する。典型的な好適なインターフェロンアルファとしては、限定はされないが、組換えインターフェロンアルファ-2 a、組換えインターフェロンアルファ-2 b、組換えインターフェロンアルファ-2 c、アルファ2インターフェロン、及びコンセンサスアルファインターフェロン、例えば、参照により本明細書に援用される米国特許第4, 897, 471号明細書及び同第4, 695, 623号明細書(特にその実施例7、8又は9)に記載されるものが挙げられる。

20

## 【0045】

「医薬組成物」とは、対象への投与に好適な、且つ少なくとも1つのウイルス(例えば、少なくとも2つ、3つ、4つ、又はそれ以上の異なるウイルス又はウイルス株)に対する免疫応答を誘導する能力を有する、又は自己免疫疾患又は癌を治療し、又は自己免疫疾患又は癌の1つ又は複数の症状を軽減し、又は寛解させる治療活性又は生物活性を有する薬剤(例えば、ウイルスベクターに組み込まれているか、又はウイルスベクターから独立している(例えば、リポソーム、微粒子、又はナノ粒子に組み込まれている)サイトカイン(例えば、IFN - (例えば、コンセンサスIFN - )などのインターフェロン)の全て又は一部をコードする少なくとも1つの核酸分子)を含む任意の組成物を意味する。本発明の目的上、治療活性又は生物活性を有する薬剤の送達に好適な医薬組成物としては、例えば、錠剤、ジェルキャップ、カプセル、丸薬、粉末、顆粒、懸濁液、乳剤、溶液、ゲル、ハイドロゲル、経口ゲル、ペースト、点眼薬、軟膏、クリーム、硬膏剤、飲薬、デリバリー装置、坐薬、浣腸、注射液、インプラント、スプレー、又はエアロゾルを挙げることができる。これらの製剤のいずれも、当該技術分野で周知され認められている方法により調製することができる。例えば、Remington: 「The Science and Practice of Pharmacy」(第21版)、編者A. R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins、2005年、及び「Encyclopedia of Pharmaceutical Technology」、編者J. Swarbrick, Informa Healthcare、2006年(各々が本明細書によって参照により援用される)を参照のこと。

30

40

## 【0046】

「薬学的に許容可能な希釈剤、賦形剤、担体、又はアジュバンド」とは、共に投与される医薬組成物の治療特性を維持しながらも対象にとって生理学的に許容可能である希釈剤、賦形剤、担体、又はアジュバンドを意味する。薬学的に許容可能な担体の一例は、生理食塩水である。他の生理学的に許容可能な希釈剤、賦形剤、担体、又はアジュバンド及びその製剤化は当業者に公知である。

## 【0047】

ベクター、例えばウイルスベクターに関連して「組換え」とは、例えば組換え核酸技術を用いてベクターに変化を導入するように(例えば、異種核酸配列(ウイルスゲノム(例

50



例えば複製欠損 Ad5 ゲノム)における IFN (例えば conIFN - )などを導入するように)インビトロで操作されたベクター(例えば、1つ又は複数の送達媒体(例えば、プラスミド、コスミド等)に組み込まれたウイルスゲノム)を意味する。本発明の組換えウイルスベクターの例は、アデノウイルス(例えばアデノウイルス5株(Ad5))ゲノムの全て又は一部を含み、且つ例えば、インターフェロン- 遺伝子などのサイトカイン遺伝子配列(例えばコンセンサスIFN - 配列)の全て又は一部に対する核酸配列を含むベクターである。

【0048】

「室温」とは、約5 ~ 約30、特に約10 ~ 約27 (例えば、約23 ~ 27)の温度を意味する。

【0049】

ポリヌクレオチド又はポリペプチド配列の参照配列との比較に関連して使用される時、用語「実質的な同一性」又は「実質的に同一である」とは、ポリヌクレオチド又はポリペプチド配列が参照配列と同じ配列を有すること、又は2つの配列を最適にアラインメントしたとき参照配列内の対応する位置において同じであるヌクレオチド又はアミノ酸残基を特定の割合だけ有することを意味する。例えば、参照配列と「実質的に同一である」アミノ酸配列は、BLAST又はBLAST 2.0配列比較アルゴリズムをデフォルトパラメータで使用して、又は手動のアラインメント及び目視検査により計測して(例えば、NCBIウェブサイトを参照のこと)、参照配列の全長にわたり最大の一致となるよう比較及びアラインメントしたとき、参照配列と少なくとも約60%の同一性、好ましくは65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれより高い割合の同一性(最高100%)を有する。

【0050】

「処置する」とは、本発明の医薬組成物を予防及び/又は治療目的で投与することを意味する。予防的処置は、例えば、まだ病気ではないが、特定の生物学的状態、例えば、細菌、ウイルス、真菌、又は寄生体による感染(例えば、対象は感染性因子に既に曝露されているが、無症状であるか、又は感染性因子に対する曝露レベルが不明であり得る)、又は自己免疫疾患又は癌の発症を起こしやすい、又はそれを起こすリスクがある対象に投与され得る。治療的処置は、例えば、生物剤との接触によって既に罹患している対象(例えば、病原性ウイルスに既に感染している患者)に対して対象の病態を改善し、又は安定させるために、又は自己免疫疾患又は癌に既に罹患している対象に対して投与され得る。従って、特許請求の範囲及び本明細書に記載される実施形態において、処置するとは、治療又は予防を目的とした対象への投与である。ある場合には、同等の未処置の対照と比較したとき、処置は障害(例えば、ウイルスなどの病原体による感染、自己免疫疾患、及び癌)又は障害の症状を寛解させ得るか、又は障害の1つ又は複数の症状の進行、重症度、又は頻度を、例えば、任意の標準的な技術により計測して5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、又は100%低減し得る。例えば、感染の症状の計測には、例えば、病原体に対する抗体又は抗原それ自体を調べる血液検査;血液、体液、又は感染範囲から採取される他の材料の試料の培養;脊椎穿刺による脳脊髄液検査;ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)技術による病原体からの核酸材料の増幅;磁気共鳴映像法(MRI)による側頭葉の腫脹増加の検出)を用いてもよい。病原体感染の症状は、軽度から重症まで様々であり得るとともに、身体の中のどの部分が罹患しているか、病原体の種類、並びに罹患者の年齢及び全般的な健康状態に依存し得るが、例えば、発熱、筋肉痛、咳嗽、くしゃみ、鼻水、咽頭痛、頭痛、悪寒、下痢、嘔吐、発疹、脱力、眩暈、皮下出血、内臓出血、又は口、眼、若しくは耳などの身体開口部からの出血、ショック、神経系の機能不全、譫妄、発作、腎(腎臓)不全、人格変化、頸部硬直、脱水、発作、嗜眠、四肢の麻痺、錯乱、背痛、感覚消失、膀胱及び腸機能障害、及び昏睡又は死亡に進行し得る眠気が挙げられる。ある場合には、処置の結果、病原体感染の障害、感染の治療、及び/又は感染症状(例えば、出血熱)の寛解がもたらされ得る。1つ又は複

10

20

30

40

50

数の感染症状の改善、又はその欠如が検出されれば、それが処置の奏功を示す。処置はまた、処置を受ける対象において病原体（例えばウイルス）が存在しないことにより、又はその存在を検出できないことにより確認することもできる。

【0051】

自己免疫疾患の処置又は予防については、例えば、自己抗体レベルの低下、自己反応性T細胞レベルの低下、標的細胞（例えば 膵島細胞）の増加、並びに疲労、うつ病、寒さに対する感受性、体重増加、筋力低下、便秘、不眠症、被刺激性、体重減少、びくり眼、筋肉振戦、皮疹、有痛性の又は腫脹した関節、日光感受性、協調運動障害、及び麻痺の改善を尺度とすることができる。

【0052】

癌の処置又は軽減については、腫瘍サイズ若しくは癌細胞数の低下、腫瘍サイズ若しくは癌細胞増殖の増加の遅延若しくは阻止、腫瘍若しくは他の癌の消失とその再発との間の無病生存期間の増加、腫瘍若しくは他の癌の最初の若しくは後続の発症の阻止、又は腫瘍若しくは他の癌に関連する有害な症状の低減を尺度とすることができる。所望の実施形態において、処置後に生き残る腫瘍細胞又は癌性細胞の割合は、任意の標準アッセイ（例えば、カスパーゼアッセイ、TUNEL及びDNA断片化アッセイ、細胞透過性アッセイ、及びアネキシンVアッセイ）を用いて計測したとき、当初の腫瘍細胞数又は癌性細胞数と比べて少なくとも20、40、60、80、又は100%低い。望ましくは、本発明の薬剤の投与により誘導される腫瘍細胞数又は癌性細胞数の減少は、非腫瘍細胞数又は非癌性細胞数の減少より少なくとも2、5、10、20、又は50倍多い。望ましくは、本発明の方法は、標準方法を用いて決定するとき腫瘍サイズ又は癌性細胞数の20、40、60、80、又は100%の減少をもたらす。望ましくは、処置を受ける対象の少なくとも20、40、60、80、90、又は95%が、腫瘍又は癌のあらゆるエビデンスが消失する完全寛解に達する。望ましくは、腫瘍又は癌は再発せず、又は少なくとも5、10、15、又は20年後に再発する。

【0053】

本明細書に記載される方法により治療される対象（例えば、細菌、ウイルス、真菌、若しくは寄生体に感染した、又は感染するリスクがある対象）は、医療実務者によってかかる病態を有すると診断された者であり得る。診断は任意の好適な手段により実施され得る。感染の発症が抑えられている対象は、かかる診断を受け受けたことがあることも、又はないこともある。当業者は、本発明により治療される対象が標準的な検査に供されていてもよく、又は試験なしに、1つ又は複数のリスク要因（例えば、ウイルスなどの生物剤に対する曝露）が存在するためリスクが高いと特定されていてもよいことを理解するであろう。

【0054】

「ウイルスベクター」は、ウイルス源又は非ウイルス源の1つ又は複数の異種遺伝子を宿主又は対象に伝染させることが可能なアデノウイルス種（例えばAd5）などのウイルス種由来の1つ又は複数の遺伝子を含む組成物を意味する。ウイルスベクターの核酸材料は、例えば、脂質膜中に、又は1つ又は複数のウイルスポリペプチド（例えば糖タンパク質）を含み得る構造タンパク質（例えばカプシドタンパク質）により被包化されてもよい。ウイルスベクターを用いて対象の細胞（例えば鼻上皮）を感染させることができ、次にそれがウイルスベクターの1つ又は複数の異種遺伝子のタンパク質産物（例えばIFN-）への翻訳を促進する。

【0055】

或いは、ウイルスベクターを対象に投与すると、対象の1つ又は複数の細胞がそれに感染し、次にウイルスベクターの1つ又は複数の異種遺伝子の発現が促進され、病原体（例えば、細菌、ウイルス、真菌、又は寄生体）による感染からの防御性を有する、又は病原体による感染を治療する免疫応答が（直接的又は間接的に）刺激され得る。

【0056】

用語「ワクチン」は、本明細書で使用されるとき、対象へのワクチンの投与後に免疫応

10

20

30

40

50

答を誘発し、免疫を付与するために使用される材料として定義される。

【0057】

用語「ウイルス」は、本明細書で使用されるとき、宿主細胞の外部では増殖又は複製できず、且つ哺乳類（例えばヒト）又は鳥類に感染する感染性因子として定義される。

【0058】

本発明の他の特徴及び利点は、詳細な説明及び特許請求の範囲から明らかとなるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0059】

【図1】図1は、ヒト白血球インターフェロンサブタイプ及びコンセンサスヒト白血球インターフェロンの比較アミノ酸配列を提供する表である。

【図2】図2は、コンセンサスインターフェロンアルファ（conIFN- $\alpha$ ）をコードする核酸分子のアデノウイルスベクターへの挿入を示す概略図である。

【図3】図3は、患者の鼻上皮細胞への本発明のAd5-conIFN- $\alpha$  コンストラクトの送達、細胞でのconIFN- $\alpha$  核酸分子の発現、及び患者の血流中へのIFNポリペプチドの放出を示す概略図である。

【図4】図4は、本発明のAd5-conIFN- $\alpha$  コンストラクトの利点を示す略図である。

【図5】図5は、本発明の組成物を使用して示されるウイルスによる感染を治療又は予防する（示される動物モデルにおける）実験の結果を要約する表である。

【図6】図6は、プンタトロ（Punta Toro）ウイルス（PTV）で攻撃したハムスターにおける鼻腔内（IN）Ad5-IFN $\alpha$  処置の生存転帰に対する効果を示すグラフである。各群の動物は、PTVのIN点滴注入の24時間前に1回、示される量のAd5-IFN $\alpha$  又はエンベティベクターウイルス粒子により処置した。リバビリン処置は、PTV感染4時間前から始めて6日間にわたり1日1回のi.p.であった。 $^* P < 0.05$ 、 $^{**} P < 0.01$ （PBSビヒクルプラセボ処置動物との比較）。 $^a < 0.001$ （EV処置動物との比較時）。

【図7】図7A及び図7Bは、WEEウイルスで攻撃したマウスにおけるIN Ad5-IFN $\alpha$  処置の生存転帰に対する効果を示すグラフである。各群の動物は、以下の実施例9に概説する群のとおり $10^7$  PFUのAd5-IFN $\alpha$  で処置し、IN点滴注入によりWEEウイルスで攻撃した。陽性対照群としてIFN $\beta$ /Dを毎日与えた。

【図8】図8Aおよび図8Bは、SARSウイルスで攻撃したマウスにおけるIN Ad5-IFN $\alpha$  処置の生存転帰に対する効果を示すグラフである。図8Aは、予防（prophylaxis）の結果を示す：各群の動物は、以下の実施例10に概説する群のとおり $10^6$  PFUのAd5-IFN $\alpha$  で処置し、IN点滴注入によりSARSウイルスで攻撃した図8Bは、治療の結果を示す：各群の動物は、以下の実施例10に概説する群のとおり $10^6$  又は $10^5$  PFUのAd5-IFN $\alpha$  で処置し、IN点滴注入によりSARSウイルスで攻撃した。ポリIC/LCを陽性対照群として使用し、生理食塩水を陰性対照として使用した。

【図9】図9Aおよび図9Bは、YFウイルスで攻撃したマウスにおけるIN Ad5-IFN $\alpha$  処置の生存転帰に対する効果を示すグラフである。図9Aは、予防（prophylaxis）についての用量範囲の結果を示す：動物は、以下の実施例11に概説する群のとおりAd5-IFN $\alpha$  で処置し、IN点滴注入によりYFウイルスで攻撃した。2つの最高用量で完全防御が観察され、より低用量については用量反応曲線が得られた。図9Bは、治療の結果を示す：各群の動物は、以下の実施例11に概説する群のとおり $5 \times 10^7$  PFUのAd5-IFN $\alpha$  で処置し、IN点滴注入によりSARSウイルスで攻撃した。-4時間群及び+1dpi群について完全生存が観察され、他の群では処置の遅延と相関して生存率が下がった。

【図10】図10Aおよび図10Bは、ZEBOVで攻撃したマウスにおけるIN Ad5-IFN $\alpha$  処置の生存転帰に対する効果を示すグラフである。図10Aは、マウス処置

10

20

30

40

50

の結果を示す：動物は100 LD50 EBOVで攻撃し、30分間後、IM又はINのいずれかの経路によりAd5-IFNで処置した。双方の投与経路とも $10^7$  PFUで完全防御が観察された。図10Bは、モルモット処置の結果を示す：動物は100 LD50 EBOVで攻撃し、30分間後、Ad5-IFNでIN処置した。 $2 \times 10^8$  PFUで完全防御が観察された。

【図11】図11は、ピチンデウイルスで攻撃したマウスにおけるIN Ad5-IFN処置の生存転帰に対する効果を示すグラフである。動物は、以下の実施例13に概説する群のとおりAd5-IFNで処置し、IN点滴注入によりPCVで攻撃した。最高用量で完全防御が観察され、より低用量では用量反応曲線が得られた。

【図12】図12は、EBOVで攻撃したマウスにおけるAd-EBOVワクチンと併せたIN Ad5-IFN処置の生存転帰に対する効果を示すグラフである。動物は、以下の実施例14に概説する群のとおりAd5-IFNで処置し、IN点滴注入によりPCVで攻撃した。最高用量で完全防御が観察され、より低用量で用量反応曲線が得られた。

【発明の具体的説明】

【0060】

本発明は、対象（例えば、ヒトなどの哺乳類）において感染性病原体（例えば、ウイルス、細菌、真菌、及び寄生体などの感染性因子）により引き起こされる疾患又は障害を予防（曝露前又は曝露後）及び治療するための組成物及び方法の特徴とする。感染性病原体は天然に存在するものであってもよく、又は生物剤として使用するために製剤化されたもの、若しくは生物剤としての使用に適合されたものであってもよい。本発明はまた、対象（例えば、ヒトなどの哺乳類）において自己免疫疾患及び癌の1つ又は複数の症状を治療若しくは軽減するための本発明の組成物の使用も特徴とする。

【0061】

本発明の組成物は、例えば、いくつかの異なる感染性病原体、特にウイルス因子による感染から防護し、又はそれを治療するための広域の予防又は治療として使用することができる。特に注目すべきことに、本発明の組成物は、曝露前予防のため（例えば、感染性因子に曝露する1～30分前（例えば、15～30分前）、好ましくは曝露する1、2、3、4、5、6～12、24～72時間前、又は曝露する1～6週間又はそれ以上前（例えば、少なくとも2週間前））、並びに曝露後予防又は治療のため（例えば、感染性因子に曝露した直後、例えば、曝露した1～30分後（例えば、15～30分後）、又は曝露後1、2、3、4、5、6～12、24、48、若しくは72時間、又は1～2週間以内に）投与することができる。従って、本発明の組成物は、例えば、感染性病原体（例えば、パイオテロ攻撃などにおけるウイルス）に対する曝露に備えた、又はその後における、それぞれ対象の予防又は治療において利点を提供する。これらの利点には、必要に応じた長時間にわたる持続的防御並びに迅速な防御の双方が含まれる。

【0062】

従来のIFN-タンパク質ベースの薬物の生体内での急速な減衰を回避するため、本発明の組成物は、IFNをコードする核酸分子を送達する能力を有する送達ベクター（例えば、アデノウイルスベクター（例えば、アデノウイルス5（Ad5）送達プラットフォーム）などのウイルスベクター）を利用し、これにより送達ベクターを形質導入又はトランスフェクトされた細胞によるIFN（例えば、コンセンサスIFN-（conIFN-）などのヒトIFN-）の連続的なインサイチュ（in situ）産生が駆動される。IFNの産生は、形質導入又はトランスフェクトされた細胞中で（例えば、細胞の寿命にわたり）続く。

【0063】

例えば、IFN-をコードする核酸分子が複製欠損Ad5ウイルスに挿入され、次にAd5-IFN-ベクターが対象（例えば、ヒトなどの哺乳類）に送達される。一実施形態において、ウイルスベクターの送達は鼻腔内である。本発明の組成物を鼻腔内投与することで宿主免疫系によるAd5ベクターの認識が抑制され、従って典型的には送達ベク

ターそれ自体に対して対象が呈し得る任意の既存の免疫が回避される。加えて、鼻腔内投与により針を使用せずに済み、それにより、例えばパイオテロ攻撃を受けて公衆への集団投与が必要となった場合に、又は医療施設を容易に利用できないときに、より容易で侵襲性の低い投与が可能となる。本発明の組成物はまた、口から肺への送達により肺系統（例えば、上気道及び/又は下気道）に送達することもできる。

#### 【0064】

本発明の組成物はまた、長期保存が可能で有効期間が長いことによる利点も提供する。本発明の組成物は、相当の期間にわたり（例えば、少なくとも1週間及び最長1年又はそれ以上）室温で保存することができる。或いは、本発明の組成物は、30 ~ 55 の範囲の温度で（例えば、45 で）相当の期間にわたり（例えば、少なくとも2 ~ 3日間、1 ~ 3週間、1 ~ 6ヶ月、及び最長1年又はそれ以上）保存することができる。一実施形態において、本発明の組成物は、30 ~ 55 の範囲の温度で保存される場合は粉末形態である。さらに他の実施形態において、本発明の組成物は、粉末又は液体のいずれかの形態で、（例えば、少なくとも4 未満（例えば、0 ~ 20 の範囲）の温度で）凍結保存され得る。例えば、組成物は、安定化されていない液体製剤として（例えば、安定化剤、例えばトレハロース、ソルビトール、スクロース、マンニトール、グリシン、CaCl<sub>2</sub>、ヒドロキシエクトイン（hydroxiectoin）、エクトイン、フィロイン及びゼラチンを全く、又は1種若しくは数種しか含まず）凍結保存され得る。

10

#### 【0065】

一実施形態において、本発明の組成物は安定凍結乾燥粉末として保存される。粉末は直接使用されてもよく（例えば、いかなる種類の再構成も伴わない粉末形態で）、又は使用直前に再構成され（例えば、生理食塩水又は水などの水和媒体、好ましくは無菌の、又は任意の他の薬学的に許容可能な水和媒体を使用して）、例えば水性ミストとして投与されてもよい。粉末形態の本発明の組成物の再構成は、医療施設又は軍隊の後方梯隊など、清浄な水が利用可能なところで可能である。或いは、本発明の粉末組成物はゲル形態に再構成することができる。経鼻ゲルは高粘度の濃厚溶液又は懸濁液である。経鼻ゲルの利点としては、高粘度による後鼻漏の低減、嚥下の減少による味覚に対する影響の低減、鼻の外に流れ出る製剤の低減、鎮痛性/粘滑性賦形剤の使用による刺激作用の低減、及び粘膜の標的化によるより良好な吸収が挙げられる。

20

#### 【0066】

粉末形態の本発明の組成物は、粉末の再構成（例えば、液体又はゲルの形成）に使用することができる無菌水和媒体（例えば、水又は生理食塩水）のバイアルを有するキットで提供することができる。水和媒体として水が使用される場合、本発明の組成物は、その最終形態の組成物の条件（例えば、pH、容積モル浸透圧濃度、又はイオン濃度）を、組成物を投与される対象に好適又は耐容可能であるように調整する試薬（例えば、緩衝剤）を含むように製剤化することができるがそのことは必須ではない。

30

#### 【0067】

粉末形態の本発明の組成物の投与は、例えば、新興経済国、遠征軍事行動において、及び早急な対応を要する状況において行われる可能性が高い。室温で、又はより高い温度で長い有効期間を呈するには製剤化されない本発明の組成物（例えば、室温での保存時に1週間未満の有効期間を呈する本発明の組成物）については、有効期間を延ばすため、組成物は - 20 ~ 約 20 の範囲の温度で保存されることが好ましい。こうした組成物は、冷蔵しない限り、室温で変化しない状態を維持することのできる期間が例えば1週間から1ヶ月未満であるように、Ad5 - IFN送達媒体を安定させない賦形剤と共に製剤化されてもよい。

40

#### 【0068】

本発明の組成物（例えば、Ad5 - IFN コンストラクト）は、これまで、マウス、モルモット、及びハムスターモデルなどのヒト疾患の動物モデルにおいて、重要なウイルス科の代表的ウイルス、例えば、フィロウイルス科（Filoviridae）（エボラウイルス、ザイル株）、フラビウイルス科（Flaviviridae）（黄熱）、ア

50

レナウイルス科 ( Arenaviridae ) ( ピチンデ )、ブニヤウイルス科 ( Bunyaviridae ) ( プンタトロ ( Punta Toro ) )、コロナウイルス科 ( Coronaviridae ) ( SARS )、トガウイルス科 ( Togaviridae ) ( VEEV 及び WEEV ) による攻撃に対する試験に奏功している；図 5 を参照のこと。本発明の組成物は優れた治療プロファイル及び良好な予防ウィンドウを有し、データは 21 日間の完全な防御と、以降の時間点における部分的な防御を示している。本発明の組成物は速効性であり、数分から数時間以内に被投与者に治療上及び予防上の双方の効果を付与する；本発明の組成物の効果は投与後数日、さらには数ヶ月にわたり有効性が持続する。

#### 【 0069 】

##### 本発明の組成物

本発明の組成物は、サイトカイン ( 例えば、conIFN - などの IFN ) をコードする核酸分子を含む送達ベクターを含む。本発明の組成物は、任意の投与経路 ( 例えば、上気道及び / 又は下気道に送達するための経鼻吸入及び / 又は口からの吸入によるなどの、本明細書に記載される投与経路 ) 向けに製剤化され得る。組成物は、感染性病原体に対する曝露前或いは曝露後に、又は自己免疫疾患若しくは癌の診断前、或いはその症状の発症後に、必要としている対象に単一用量又は複数用量で投与され得る。本発明の組成物はまた、二次薬剤を ( 対象の細胞が発現する核酸分子として、或いはポリペプチド又は薬物として ) さらに含んでもよく、又は以下で考察するとおり、1つ又は複数の追加的な治療レジメン ( 例えば、ワクチン ) と組み合わせて投与されてもよい。

#### 【 0070 】

##### インターフェロン

病原体感染 ( 例えば、ウイルス、細菌、真菌、又は寄生体感染 ) の曝露前予防又は曝露後治療に使用される、又は自己免疫疾患又は癌 ( 又はその 1 つ又は複数の症状 ) の治療に使用される本発明の組成物は、IFN をコードする核酸分子を含む送達ベクターを含む。核酸分子は、ヒト IFN - ( 例えば、IFN - 1a、IFN - 1b、IFN - 2a、IFN - 2b、及びコンセンサス IFN - ( conIFN - ) )；図 1 )、ヒト IFN - ( 例えば、IFN - 1a 及び IFN - 1b )、ヒト IFN - )、又は IFN - の配列と実質的に同一の ( 例えば、少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又はさらには 100% 同一の ) アミノ酸配列を有するインターフェロン、又はインターフェロンと同じ又は同様の生物活性 ( 例えば、ヒト IFN - 、ヒト IFN - 、ヒト IFN - 、IFN - 、又は conIFN - ( それぞれ配列番号 2、4、6、8、10、及び 11 ) の活性の少なくとも 50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は 100% ) を示すポリペプチドをコードする。核酸分子は、ヒト IFN - 、ヒト IFN - 、ヒト IFN - 、又は IFN - にそれぞれ対応する配列番号 1、3、5、7、又は 9 のいずれか一つに示される配列を有してもよく、又は核酸分子は、配列番号 1、3、5、7、又は 9 の一つと少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又はさらには 100% の同一性を有する配列を有してもよい。

#### 【 0071 】

本発明のインターフェロンの生物活性は、例えば、ウイルス - ブラーク還元アッセイ、細胞増殖の阻害、機能的細胞活性の調節、細胞分化の調節、及び IFN により媒介される免疫修飾を計測するアッセイ、並びに IFN 応答性遺伝子のプロモーター領域が異種レポーター遺伝子、例えば、ホタルルシフェラーゼ又はアルカリホスファターゼと連結されて IFN 感受性細胞系にトランスフェクトされ、従って安定にトランスフェクトされた細胞系が IFN に曝露されると、IFN の用量と直接相関してレポーター遺伝子産物の発現が増加するレポーター遺伝子アッセイを使用して確認することができる ( 例えば、Balducciら、Appl. Microbiol. 11: 310~314 頁、1963 年；McNeil、J. Immunol. Methods 46: 121~127 頁、1981

10

20

30

40

50

年；及び Meagerら、*J. Immunol. Methods* 261:21~36頁、2002年を参照のこと）。IFNの活性を計測する他のアッセイとしては、二本鎖RNA(dsRNA)依存性プロテインキナーゼR(PKR)、2'-5'-オリゴアデニル酸シテターゼ(2'-5'-OAS)、IFN誘導性Mxタンパク質、トリプトファン分解酵素(例えば、Pfefferkorn、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:908~912頁、1984年を参照のこと)、アデノシンデアミナーゼ(ADAR1)、IFN活性化遺伝子20(ISG20)、p56、ISG15、mGBP2、GBP-1、APOBECタンパク質、ビペリン、又は他の因子の上方制御又は活性の計測が挙げられる(例えば、Zhangら、*J. Virol.*、81:11246~11255頁、2007年、及び参照により全体として本明細書に援用される米国特許第7,442,527号明細書を参照のこと)。

10

#### 【0072】

インターフェロンアルファ(IFN-)は、本明細書で使用されるとき、例えばPfefferら(*Cancer Res.* 58:2489~2499頁、1998年)に例示されるとおり、抗ウイルス活性、細胞の増殖及び分化の調節並びに免疫修飾を含む複数の生物活性を有するサイトカインを指す。本発明の一実施形態において、IFN-は、例えば、IFN-2a、IFN-2b、IFN-2c、及びコンセンサスIFN-(conIFN-)から選択されてもよい(図4、及び例えば参照により本明細書に援用される米国特許第4,695,623号明細書を参照のこと)。一実施形態において、IFN-はconIFN-である。

20

#### 【0073】

本発明の組成物とは異なり、組換えヒトIFN、特に、Infergen(登録商標)としてC型慢性肝炎の治療用に最終承認を受け市販されているrhconIFN-は、原核生物の発酵により作製され、従ってグリコシル化していない。さらに、Infergen(登録商標)は、患者に注射投与するように製剤化されている。

#### 【0074】

##### ウイルスベクター

本明細書に記載される発明において、インターフェロン(例えば、conIFN-などのIFN-)は、インターフェロンをコードする核酸分子を含むウイルスベクターを使用して送達するように製剤化されてもよい。例えば、アデノウイルス(例えば、Ad2、Ad5、Ad9、Ad15、Ad17、Ad19、Ad20、Ad22、Ad26、Ad27、Ad28、Ad30、又はAd39；例えば図2を参照のこと)、ラドウイルス(例えば、水疱性口内炎ウイルス)、レトロウイルス(例えば、Miller、*Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 158:1~24頁、1992年；Salmons及びGunzburg、*Human Gene Therapy* 4:129~141頁、1993年；及びMillerら、*Methods in Enzymology* 217:581~599頁、1994年を参照のこと)、アデノ関連ベクター(Carter、*Curr. Opinion Biotech.* 3:533~539頁、1992年；及びMuzyczka、*Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 158:97~129頁、1992年に概説される)、ポックスウイルス、ヘルペスウイルスベクター、及びシンドビスウイルスベクターを含め(例えば、Jolly、*Cancer Gene Therapy* 1:51~64頁、1994年；Latchman、*Molec. Biotechnol.* 2:179~195頁、1994年；Johanningら、*Nucl. Acids Res.* 23:1495~1501頁、1995年；Berencsiら、*J. Infect. Dis.* 183:1171~1179頁、2001年；Rosenwirthら、*Vaccine* 19:1661~1670頁、2001年；Kittlesenら、*J. Immunol.* 164:4204~4211頁、2000年；Brownら、*Gene Ther.* 7:1680~1689頁、2000年；Kanesa-thasanら、*Vaccine* 19:483~491頁、2000年；及びSten Drug 60:249~271頁、2000年に概し

30

40

50

て考察されるウイルスベクターを参照のこと)、任意の好適なウイルスベクター系を使用することができる。かかるベクターと許容可能な賦形剤とを含む組成物もまた、本発明の特徴である。

#### 【0075】

Ad5は、アデノウイルス科(Adenoviridae)C種サブタイプ5のウイルスである。このウイルスは天然に存在し、軽度の上気道感染を通常は小児に引き起こす。Ad5は、遺伝情報を送達してヒトインターフェロンをインサイチュで作るための送達プラットフォームとして使用することができる。典型的には、Ad5は複製欠損にされる(特異的遺伝子欠失による;例えば、E1又はE3遺伝子の全て又は一部)。Ad5ベクター化ワクチンは、過去には広く臨床研究のために承認されてきた。Ad5は臨床試験においてベクター送達系として広く使用される。2010年6月時点で、生物学的製剤/薬物のAd5ベクター化送達を使用する実施中の臨床試験が29件ある。アデノウイルス5ベースのベクターは優れた安全性プロファイルを呈する。Ad5ベクターは、病原性ウイルスが注射前に化学的又は熱的处理によって部分的に無能化されるタイプのワクチンである弱毒化生ワクチンなどの従来ワクチンと比べ、Ad5系が復帰して病気を引き起こすリスクがない点でさらなる利点を有する。さらに、Ad5は、速やかな免疫防御を提供することが示されている生ワクチンである。生物兵器に対する防御を提供するためのサイトカイン遺伝子を送達するAd5ベースのベクターが、例えば、米国特許第6,565,853号明細書及び同第6,936,257号明細書(双方とも参照により本明細書に援用される)に記載されている。

10

20

#### 【0076】

Ad5系を使用した生物兵器防衛医療対策に適応を有する薬剤の静脈内又は筋肉内投与は、身体の免疫系がこのウイルスベクターを認識し、遺伝子が宿主細胞に送達される前にベクターを破壊するため、これまで奏功していない。これは、最近ではMerckのHIV-1ワクチン臨床試験で起こっており、結果としてこの試験は無効であるとの理由で早期に中止された(Robb, Lancet 372, 2008年を参照のこと)。本発明の組成物(例えば、IFNをコードするAd5ベクター)の鼻腔内投与は、本明細書で考察するとおり、身体によるAd5ベクターの免疫標的化を避けることによってこの問題を回避する。

#### 【0077】

ウイルスベクターは、当業者に公知の従来技術を使用して構築され得る。例えば、ウイルスベクターは異種遺伝子(例えば、コンセンサスIFN-)をコードする少なくとも1つの配列を含んでもよく、これは細胞(例えば、鼻又は肺上皮細胞などの上皮細胞)におけるその発現を誘導する調節配列の制御下にある。異種遺伝子のベクター媒介送達に適切な量は、本明細書に提供される情報に基づき当業者が容易に決定し得る。

30

#### 【0078】

アデノウイルスベクターを使用したIFN-の送達については、例えば、Ahmedら(J. Interferon Cytokine Res. 21:399408, 2001年)、Zhangら(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:4513~4518頁、1996年)、Ahmed(Hum. Gene Ther. 10:77~84頁、1999年)、及びSantodonatoら(Cancer Gene Ther. 8:63~72頁、2001年)に記載されている。レトロウイルスベクターを使用したIFN-の送達については、例えば、Tuttingら(Gene Ther. 4:1053~1060頁、1997年)及びMecchiaら(Gene Ther. 7:167~179頁、2000年)に記載されている。

40

#### 【0079】

一実施形態において、Ad5ベクターは、CMVの中間-初期プロモーター及びサルウイルス40(SV40)ポリアデニル化配列の転写調節下にあるヒトインターフェロンアルファコンセンサス配列をコードする核酸分子を含む。別の実施形態において、ヒトAd5ベクターは、それを複製欠損にするE1及びE3欠失を含む。Ad5-IFN-ベク

50



ターはさらに、本明細書に記載されるとおり、凍結乾燥中及び保存中に多糖類及び電解質の賦形剤により安定化されてもよい。アデノウイルスは熱ストレスに弱く、現場でのコールドチェーンの管理が厄介であるため、本発明の組成物の温度安定性は大きい利点となる。本発明者らは、新規の固有ベクトル手法に基づき、アデノウイルスを含むウイルスベクターのワクチンを安定化させるための系統的な方法を開発した（例えば、Kue l t z o r a、J . P h a r m . S c i . 9 2 : 1 8 0 5 ~ 1 8 2 0 頁、2 0 0 3 年；F a n r a、J . P h a r m . S c i . 9 4 : 1 8 9 3 ~ 1 9 1 1 頁、2 0 0 5 年；A u s a r a、M o l . P h a r m . 2 : 4 9 1 ~ 4 9 9 頁、2 0 0 5 年；及びR e x r o a d r a、J . P h a r m . S c i . 9 5 : 2 3 7 ~ 2 4 7 頁、2 0 0 5 年を参照のこと）。次に複数のアッセイを用いて、活性（例えば物理化学的完全性、生物活性等）の喪失をもたらす物理的及び化学的分解経路に対してウイルスを安定化させる能力について試験される複数の候補賦形剤を特定する。

10

#### 【0080】

宿主細胞（例えば、鼻又は肺上皮細胞などの上皮細胞）中でのトランスフェクトされた核酸分子（例えば、conIFN-配列）の発現レベルの増加は、選択された発現宿主において機能し得るオープンフレーム発現制御配列に核酸分子を作動可能に連結することにより促進することができる。真核生物宿主細胞に有用な発現制御配列は、発現させる核酸分子にとって、並びに送達ベクターにとって、天然であっても、又は外来性であってもよい。発現制御配列の例としては、限定はされないが、リーダー配列、ポリアデニル化配列、プロペプチド配列、プロモーター、エンハンサー、上流活性化配列、シグナルペプチド配列、及び転写終結因子が挙げられる。発現制御配列は、例えば、SV40（例えば、SV40の初期及び後期プロモーター）、ウシパピローマウイルス、アデノウイルス（例えば、アデノウイルスの初期及び後期プロモーター）、サイトメガロウイルス（CMV；例えば、ヒトサイトメガロウイルス初期遺伝子プロモーター）、MT-1（メタロチオネイン遺伝子）プロモーター、ラウス肉腫ウイルス（RSV）プロモーター、及びヒトユビキチンC（Ubc）プロモーターに由来するものを含む。哺乳動物細胞での発現をさらに向上させるため、IFN-ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の非転写領域に合成イントロン配列を挿入することができる。

20

#### 【0081】

本発明の実施において使用することのできる他のベクター要素としてはシグナルペプチドが挙げられる。この配列は、典型的にはタンパク質をコードする遺伝子の5'に位置し、従って発現中にタンパク質のアミノ末端に付加される。シグナルペプチドの存在又は不在は、IFN-ポリペプチドの産生に使用される発現宿主細胞、及び分泌産物を産生する嗜好性によって（すなわち、IFN-ポリペプチドの発現が細胞内か、又は細胞外かに応じて）異なる。一実施形態において、IFN-（例えばconIFN-）は発現中に宿主細胞から分泌される。シグナルペプチドはIFN-ポリペプチドに対して、或いは宿主細胞に対して、同種であっても、又は異種であってもよい。

30

#### 【0082】

核酸分子は、別の核酸分子に対し、それらが機能上関係して並んでいるとき、「作動可能に連結されている」。これは、適切な分子（例えば転写アクチベータ）が、1つ又は複数の調節配列、遺伝子、又は核酸分子の発現を調節する形で連結された1つ又は複数の調節配列に結合することを意味する。例えば、プレ配列又は分泌リーダーが成熟タンパク質の分泌に寄与する場合、それらはプロモーターに作動可能に連結されている。プロモーターがコード配列の転写に影響を与える場合、そのプロモーターはコード配列に作動可能に連結されている。リボソーム結合部位がコード配列として読み取られることが可能な位置にある場合、そのリボソーム結合部位はコード配列に作動可能に連結されている。概して「作動可能に連結されている」は、連結された核酸分子及び分泌リーダーと接触してリーディングフレームにあることを意味する。

40

#### 【0083】

非ウイルスベクター

50

治療用核酸分子（例えば、IFN- $\alpha$  をコードする核酸分子）を細胞に導入することによる病原体感染（例えばウイルス感染）の治療若しくは予防、又は自己免疫疾患若しくは癌の症状の治療若しくは軽減に対し、非ウイルス手法もまた用いることができる。例えば、異種遺伝子（例えば、IFN- $\alpha$ （例えば、コンセンサスIFN- $\alpha$ ）などのインターフェロンを、リポフェクション（例えば、Felgnerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7413頁、1987年；Onoら、Neuroscience Letters 17:259頁、1990年；Brighamら、Am. J. Med. Sci. 298:278頁、1989年；Staubingerら、Methods in Enzymology 101:512頁、1983年を参照のこと）、アシアロオロソムコイド-ポリリジン共役（例えば、Wuら、Journal of Biological Chemistry 263:14621頁、1988年；Wuら、Journal of Biological Chemistry 264:16985頁、1989年を参照のこと）、又は、次に好ましくは、手術条件下でのマイクロインジェクション（例えば、Wolffら、Science 247:1465頁、1990年を参照のこと）により細胞（例えば、鼻又は肺上皮細胞などの上皮細胞）に導入することができる。遺伝子導入はまた、リン酸カルシウム、DEAEデキストラン、電気穿孔、及びプロトプラスト融合の使用により達成することもできる。リボソーム、微粒子、又はナノ粒子はまた、病原体（例えばウイルス）に対する免疫応答を刺激するための核酸分子（例えば、IFN- $\alpha$  をコードする核酸分子）又はタンパク質の細胞又は患者への送達に有益である可能性があり得る。その他の、ウイルスによらないIFN- $\alpha$ 送達法については、例えば、Colemanら、Hum. Gene Ther. 9:2223~2230頁、1998年、及びHortonら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:1553~1558頁、1999年）に記載されている。

#### 【0084】

#### 本発明の組成物を使用した病原体感染の予防又は治療方法

本発明の医薬組成物は、細菌、ウイルス、真菌、及び寄生体などの病原体による感染を治療又は阻害するための遺伝子療法及び/又は遺伝子ワクチンとして使用することができる。特に、本発明の組成物は、ウイルス（例えば、フラビウイルス科（Flaviviridae）のメンバー（例えば、フラビウイルス属（Flavivirus）、ペスチウイルス属（Pestivirus）、及びヘパシウイルス属（Hepadnavirus）のメンバー）（これにはC型肝炎ウイルス、黄熱ウイルス；ガジェットツガリー（Gadgets Gully）ウイルス、カダム（Kadam）ウイルス、キャサヌール森林病ウイルス、ランガットウイルス、オムスク出血熱ウイルス、ポワッサンウイルス、ロイヤルファーム（Royal Farm）ウイルス、カルシ（Karshi）ウイルス、ダニ媒介脳炎ウイルス、ノイドルフル（Neudoerfl）ウイルス、ソフジン（Sofjin）ウイルス、跳躍病ウイルス及びネギシウイルスなどのダニ媒介ウイルス；メアバン（Meaban）ウイルス、ソーマレズリーフ（Saumarez Reef）ウイルス、及びチュレニー（Tyuleniy）ウイルスなどの海鳥ダニ媒介ウイルス；アロア（Aroa）ウイルス、デングウイルス、ケドゥグ（Kedougou）ウイルス、カシパコア（Cacipacore）ウイルス、クタンゴ（Koutango）ウイルス、日本脳炎ウイルス、マレー溪谷脳炎ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ウスツ（Usutu）ウイルス、ウエストナイルウイルス、ヤウンデ（Yaounde）ウイルス、ココベラ（Kokobera）ウイルス、バガザ（Bagaza）ウイルス、イルヘウスウイルス、イスラエルターキー髄膜脳脊髄炎ウイルス、ウンタヤウイルス、テンブスウイルス、ジカウイルス、バンジ（Banzhi）ウイルス、ブブイ（Boubouyi）ウイルス、エッジヒル（Edge Hill）ウイルス、ジュグラ（Jugra）ウイルス、サボヤ（Saboya）ウイルス、セピック（Sepik）ウイルス、ウガンダSウイルス、ヴェッセルズブロンウイルス、黄熱ウイルスなどの蚊媒介ウイルス；及びエンテベ（Entebbe）コウモリウイルス、ヨコセウイルス、アポイウイルス、カウボーンリッジ（Cowbone Ridge）ウイルス、フティアパ（Jutiapa）ウイルス、モドック（

Modoc) ウイルス、サルビエハ (Sal Vieja) ウイルス、サンペルリタ (San Perlita) ウイルス、ブカラサ (Bukalasa) コウモリウイルス、ケアリーアイランド (Carey Island) ウイルス、ダカール (Dakar) コウモリウイルス、モンタナ筋炎白質脳炎ウイルス、プノンペン (Phnom Penh) コウモリウイルス、リオブラボウイルス、タマナ (Tamana) コウモリウイルス、及び細胞融合因子ウイルスなどの既知の媒介節足動物を伴わないウイルスが含まれる) ; アレナウイルス科 (Arenaviridae) のメンバー (これにはイッピー (Ippy) ウイルス、ラッサウイルス (例えば、ジョサイア (Josiah) 株、LP 株、又は GA391 株)、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)、モバラ (Mobala) ウイルス、モペイア (Mopeia) ウイルス、アマバリウイルス、フレキサ (Flexal) ウイルス、グアナリトウイルス、フニンウイルス、ラティノ (Latino) ウイルス、マチュポウイルス、オリベロス (Oliveros) ウイルス、パラナ (Parana) ウイルス、ピチンデウイルス、ピリタル (Piritall) ウイルス、サビアウイルス、タカリベウイルス、タミアミ (Tamiami) ウイルス、ホワイトウォーター・アロヨ (Whitewater Arroyo) ウイルス、チャパレウイルス、及びルヨ (Lujó) ウイルスが含まれる) ; ブニヤウイルス科 (Bunyaviridae) のメンバー (例えば、ハンタウイルス属 (Hantavirus)、ナイロウイルス属 (Nairovirus)、オルトブニヤウイルス属 (Orthobunyavirus)、及びフレボウイルス属 (Phlebovirus) のメンバー) (これにはハンターウイルス、シンノンブレウイルス、ジューグベ (Dugbe) ウイルス、ブニヤンベラウイルス、リフトバレー熱ウイルス、ラクロスウイルス、プンタトロ (Punta Toro) ウイルス (PTV)、カリフォルニア脳炎ウイルス、及びクリミア - コンゴ出血熱 (CCHF) ウイルスが含まれる) ; フィロウイルス科 (Filoviridae) のメンバー (これにはエボラウイルス (例えば、ザール株、スーダン株、コートジボワール株、レ斯顿株、及びウガンダ株) 及びマールブルグウイルス (例えば、アンゴラ株、Ci67 株、ムソケ (Musoke) 株、ポップ (Popp) 株、ラヴン (Ravn) 株及びレイクビクトリア株) が含まれる) ; トガウイルス科 (Togaviridae) のメンバー (例えば、アルファウイルス属 (Alphavirus) のメンバー) (これにはベネズエラウマ脳炎ウイルス (VEE)、東部ウマ脳炎ウイルス (EEE)、西部ウマ脳炎ウイルス (WEE)、シンドビスウイルス、風疹ウイルス、セムリキ森林ウイルス、ロスリバーウイルス、パーマフォレストウイルス、オニオンニオンウイルス、及びチクングニヤウイルスが含まれる) ; ポックスウイルス科 (Poxviridae) のメンバー (例えば、オルトポックスウイルス属 (Orthopoxvirus) のメンバー) (これには天然痘ウイルス、サル痘ウイルス、及びワクシニアウイルスが含まれる) ; ヘルペスウイルス科 (Herpesviridae) のメンバー (これには単純ヘルペスウイルス (HSV; 1 型、2 型、及び 6 型)、ヒトヘルペスウイルス (例えば、7 型及び 8 型)、サイトメガロウイルス (CMV)、エプスタイン・バールウイルス (EBV)、水痘帯状疱疹ウイルス、及びカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) が含まれる) ; オルソミクソウイルス科 (Orthomyxoviridae) のメンバー (これには H5N1 トリインフルエンザウイルス又は H1N1 ブタインフルエンザなどのインフルエンザウイルス (A 型、B 型、及び C 型) が含まれる) ; コロナウイルス科 (Coronaviridae) のメンバー (これには重症急性呼吸器症候群 (SARS) ウイルスが含まれる) ; ラブドウイルス科 (Rhabdoviridae) のメンバー (これには狂犬病ウイルス及び水疱性口内炎ウイルス (VSV) が含まれる) ; パラミクソウイルス科 (Paramyxoviridae) のメンバー (これにはヒト呼吸器合胞体ウイルス (RSV)、ニューカッスル病ウイルス、ヘンドラウイルス、ニパウイルス、麻疹ウイルス、牛痘ウイルス、イヌジステンパーウイルス、センダイウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス (例えば、1 型、2 型、3 型、及び 4 型)、ライノウイルス、及びムンプスウイルスが含まれる) ; ピコルナウイルス科 (Picornaviridae) のメンバー (これにはポリオウイルス、ヒトエンテロウイルス (A 型、B 型、C 型、及び D 型)、A 型肝炎ウイルス、

及びコクサッキーウイルスが含まれる) ; ヘパドナウイルス科 (Hepadnaviridae) のメンバー (これにはB型肝炎ウイルスが含まれる) ; パピローマウイルス科 (Papillomoviridae) のメンバー (これにはヒトパピローマウイルスが含まれる) ; パルボウイルス科 (Parvoviridae) のメンバー (これにはアデノ随伴ウイルスが含まれる) ; アストロウイルス科 (Astroviridae) のメンバー (これにはアストロウイルスが含まれる) ; ポリオーマウイルス科 (Polyomaviridae) のメンバー (これにはJCウイルス、BKウイルス、及びSV40ウイルスが含まれる) ; カリシウイルス科 (Calciviridae) のメンバー (これにはノーウォークウイルスが含まれる) ; レオウイルス科 (Reoviridae) のメンバー (これにはロタウイルスが含まれる) ; 及びレトロウイルス科 (Retroviridae) のメンバー (これにはヒト免疫不全ウイルス (HIV ; 例えば、1型及び2型)、及びヒトTリンパ球向性ウイルスI型及びII型 (それぞれHTLV-1及びHTLV-2) が含まれる) ) による感染の (曝露前又は曝露後の) 処置に使用することができる。

10

【0085】

医薬組成物は、IFN (例えば、conIFN - などのIFN - ) をコードするベクターであって、インピボ又はエキソピボで投与することのできるベクターを含む。

【0086】

IFN - は、自然免疫応答の一部として抗原提示細胞から最も初期に放出されるサイトカインの一つであり、後続の免疫応答を駆動するNK細胞及びT細胞の応答性に直接関与する。NK細胞は、初期抗ウイルス免疫応答に現れる最初の、殺傷を専ら働きとする細胞の一つである。加えて、IFN - は、CD8+ T細胞の増殖を媒介する主要なサイトカインであるとみられる。IFN - は免疫カスケードの初期に応答するため、その主な役割は感染に対する初期応答の間にプライミング状態を誘導することであると示唆され、低用量IFN - がウイルス攻撃に対する防御の向上をもたらすことが示されている (例えば、Brassardら、J. Leuk. Biol. 71 : 565 ~ 581頁、2002年を参照のこと)。

20

【0087】

加えて、インターフェロンはMXタンパク質の発現を誘導し、MXタンパク質は7~80kDaのタンパク質で、インフルエンザ及び他のマイナス鎖RNAウイルスの転写を妨げることによりウイルス複製に影響を与えるGTPアーゼ活性を有する (すなわち、MXタンパク質はウイルスRNAポリメラーゼを阻害する) (Acheson、*Fundamentals of Molecular Virology* J. Wiley and Sons、Hoboken NJ、2007年所収)。

30

【0088】

インターフェロンはまたリボヌクレアーゼLの発現も誘導し、リボヌクレアーゼLはウイルス (及び宿主) mRNAを分解し、従ってウイルスタンパク質合成を抑制することによるウイルス複製の阻害をもたらす (Acheson、2007年)。従って、対象の形質導入細胞/トランスフェクト細胞 (例えば、上皮細胞) 中でのIFN - の発現は、一部には、対象の免疫応答を刺激し、且つ病原体 (例えばウイルス) 感染から対象を曝露前及び曝露後に防御するこれらの及び他の経路を活性化することにより、病原体感染の予防及び/又は治療を提供する。

40

【0089】

本発明の医薬組成物は二段階プロセス、すなわち投与及び発現を介して作用する。例えば、鼻腔内投与後、Ad5ウイルスは上気道及び/又は下気道の上皮細胞に侵入し、IFN - 核酸分子を核に運ぶ。次に、IFN - 核酸分子は転写され、生じたmRNAが翻訳され、グリコシル化により翻訳後修飾され、成熟IFN - サイトカインとして細胞表面上で発現する。アデノウイルスそれ自体は複製欠損にされているため複製しない。IFN - は細胞表面上で発現すると、天然でインサイチュ産生されるIFN - と同じ形で機能する。

【0090】

50

従って、ベクターを本明細書において考察される投薬量及び形態で（例えば、エアロゾル粉末、液状ミスト、又はゲルとして）対象に（例えば、鼻腔内投与又は経肺投与により）投与することにより、生体内での対象の細胞（例えば、鼻又は肺上皮細胞などの上皮細胞）の形質導入又はトランスフェクションにベクターを使用して、病原体感染の予防及び／又は治療を提供することができる。或いは、細胞を対象から取り出し、IFNをコードするベクターをエキソピポで形質導入又はトランスフェクトしてもよく、それらの細胞を対象に戻して病原体感染の予防及び／又は治療を提供してもよい。一実施形態において、対象の細胞は取り出され、エキソピポで本発明のAd5-IFN-ベクターにより処置される。その後細胞が患者に曝露前又は曝露後に投与され、病原体感染が治療又は阻害される。好ましくは少なくとも約 $1 \times 10^4$ ～約 $10 \times 10^6$ 個の細胞が処置され、対象に再び導入される。

10

#### 【0091】

一実施形態において、十分な量の医薬組成物が対象に投与されると、少なくとも約 $0.0001 \sim 5.0 \times 10^5$  IU/ml、好ましくは約 $0.0002 \sim 2.0 \times 10^5$  IU/ml、及び最も好ましくは約 $0.0005 \sim 1.0 \times 10^5$  IU/mlのトランスフェクト細胞/形質導入細胞から発現するため、IFN-の最大血中濃度が実現される（例えば、NIBSCコード：94/784及び94/786；WHO International Standard for INTERFERON ALPHA（ヒト白血球由来）；2008年2月14日付；Meagerら、J. Immunol. Methods 257：17～33頁、2001年；及びMire-Sluisら、J. Interferon Cytokine Res. 16：637～643頁、1996年を参照のこと）。別の実施形態において、循環IFN-量は約 $100$  IU/ml～ $1,000$  IU/ml（例えば、約 $250$  IU/ml）である。好ましくは、IFN-の循環濃度は、少なくとも1～15日間、又は少なくとも1、2、3、若しくは4週間、又は少なくとも2～6ヶ月間にわたりこの範囲内に維持される。IFN-の発現レベルは、例えば対象の血清中におけるIFN-の量を計測することにより決定することができる（例えば、Fortiら、J. Clin. Microbiol. 21：689～693頁、1985年を参照のこと）。他の実施形態において、IFN-の抗ウイルス効果は、少なくとも1、2、3、若しくは4週間にわたり、より好ましくは少なくとも2、4、又は6ヶ月間にわたり、及び最も好ましくは1年若しくはそれ以上にわたり対象において顕在化したまま維持される。IFN-の抗ウイルス効果は、二本鎖RNA（dsRNA）依存性プロテインキナーゼR（PKR）、2'-5'-オリゴアデニル酸シンターゼ（2'-5'-OAS）、IFN誘導性Mxタンパク質、トリプトファン分解酵素（例えば、Pfefferkorn、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81：908～912頁、1984年を参照のこと）、アデノシンデアミナーゼ（ADAR1）、IFN活性化遺伝子20（ISG20）、p56、ISG15、mGBP2、GBP-1、APOBECタンパク質、ピペリン、又は他の因子の上方制御又は活性を計測することにより決定することができる（例えば、Zhangら、J. Virol.、81：11246～11255頁、2007年を参照のこと）。IFN-の抗ウイルス効果を計測するためのアッセイについては、例えば、参照により全体として本明細書に援用される米国特許第7,442,527号明細書に見ることができる。

20

30

40

#### 【0092】

IFN-送達ベクター（例えば、Ad5送達ベクター）を含む医薬組成物を、例えば鼻上皮細胞又は肺上皮細胞に投与すると、IFN-をコードする核酸分子が細胞に組み込まれる。これらの細胞は、次にその寿命が経過する間にわたり、死又はアポトーシスまでIFN-を産生し、従って外因的に投与されるrhIFN-の数時間と比較して、数ヶ月、数日、又は数週間又はそれ以上にわたり（例えば、約1～15日間、1～4週間、又は2～6ヶ月間）持続するヒトIFN-の発現が可能となる。さらに、例えばAd5-hIFNベクターから産生されるIFNは、現在真核生物発酵により商業的に調製されているrhIFN-（すなわち、Infergen（登録商標）（Alfacon；

50

D I N 2 2 3 9 8 3 2 ) )とは異なり、完全にグリコシル化される。加えて、I F N - の治療効果（例えば抗ウイルス効果）は少なくとも1、2、3、又は4週間、より好ましくは少なくとも2、4、又は6ヶ月間、及び最も好ましくは1年間又はそれ以上に及び得る。

#### 【0093】

天然に存在するI F N - はグリコシル化されている。ほとんどのr h I F N製剤は原核生物発酵により作製されるため、グリコシル化されていない。グリコシル化部位の位置のため、グリコシル化を加えても受容体結合を妨げるリスクはない。しかしながら、グリコシル化されたI F N - とグリコシル化されていないI F N - とは薬物動態が異なり得るとともに、ヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子の場合と同様に、グリコシル化によってタンパク質の安定性が影響を受け得る（G M - C S F ; A d o l f r a ( B i o c h e m . J . 2 7 6 : 5 1 1 ~ 5 1 8 頁、1991年を参照のこと）。さらに、r h I F N - の免疫原性がグリコシル化の欠如により影響され得る。G r i b b e n r a は、酵母で産生されたr h G M - C S Fの投与を受けた16人の患者のうち4人において、このタンパク質に対する抗体が生じたことを報告している；これらの抗体は、組換え因子で露出していたがグリコシル化によって保護されていたはずのエピトープと反応した（G r i b b e n r a , L a n c e t 3 3 5 : 4 3 4 ~ 4 3 7 頁、1990年を参照のこと）。患者の長期治療後の非グリコシル化r h I F N - に対する抗体の誘導について記載されており、組換えタンパク質と比べて天然I F N - の免疫原性がより低い可能性があるとは推測されている（F i g l i n 及びI t r i , S e m i n . H e m a t o l . 2 5 : 9 ~ 1 5 頁、1988年、及びG a l t o n r a , L a n c e t 2 : 5 7 2 ~ 5 7 3 頁、1989年を参照のこと）。

10

20

#### 【0094】

あらゆる形態のI F N（例えば、  
、  
、  
）を使用した、グリコシル化がタンパク質の特定の抗ウイルス活性/生物活性に影響しないものと思われるエビデンスはあるものの（B o c c i , T r e n d s B i o c h e m S c i 8 : 4 3 2 ~ 4 3 4 頁、1983年、及びA d o l f r a , B i o c h e m J . 2 7 6 : 5 1 1 ~ 5 1 8 頁、1991年を参照のこと）、I F Nのグリコシル化は他の理由で重要であり得るとされる。完全にグリコシル化されたh I F N Aをエキソピボで製造する種々の翻訳的方法に特化して取り組む研究（例えば、R o s s m a n n r a , P r o t . E x p . P u r i f . 7 : 3 3 5 ~ 3 4 2 頁、1996年を参照のこと）、及びそれらの方法を保護して出願された特許（例えば、米国特許第7,445,774号明細書；同第7,338,654号明細書；同第7,311,903号明細書；及び同第7,129,390号明細書を参照のこと）がある。従って、グリコシル化はI F Nにおいて明らかに望ましい要素である。完全にグリコシル化されたh I F Nのインサイチュ発現を促進するベクターを送達する本発明の医薬組成物は、グリコシル化を欠く現在投与されているr h I F Nポリペプチドと比べて、同じレベルの治療活性（例えば、抗ウイルス活性）を維持する一方で安定性がより高く、且つ免疫原性効果がより低いタンパク質をもたらす可能性が高い。

30

#### 【0095】

本発明の送達ベクターをトランスフェクト/形質導入された対象の細胞中でI F N - （例えばc o n I F N - ）が発現すると、対象に病原体感染（例えばウイルス感染）に対する速効性の防御が提供される。本発明のI F N - 送達ベクターが速効性であるのは、A d 5ベクターが上皮細胞（例えば、鼻又は肺上皮細胞）に組み込まれ、30分以内に細胞表面から核に至るためである。本発明のI F N - 送達ベクターは、例えば鼻腔内に投与されるとき、鼻腔は表面積が大きい（100~200平方cm）、A d 5送達ベクターが何百万もの上気道及び/又は下気道上皮細胞に侵入することが可能となって特に有効である。組み込み後、上皮細胞はI F N - （例えばc o n I F N - ）を、それが細胞に内因的であるかのように生成し始める；I F N - が細胞表面上で発現し、宿主循環中に分泌される。

40

#### 【0096】

50

I F N - の発現は、典型的には送達ベクターの投与後 2 4 時間又はそれ未満の内に（例えば、早ければ 3 時間で）起こる。この結果は、特に速い治療反応が好ましい場合（例えば、公の場でのウイルスの大発生又は病原体が（例えば、前線で展開している軍人に対して）意図的に放出された状況下）に有益である。本発明の I F N - 送達ベクターは、公共部門の医療関係者、並びに軍事計画者及びその他に対し、感染性病原体の存在に関する不確定要素があり得る様々なオペレーションが脅かされる状況に対応して迅速に行動する能力を提供する。例えば、今日の軍事計画者は、適切なワクチン接種がなければ、地方病性の病原体リスクを伴う地域には展開しないであろう。これは、軍隊、法執行機関、又は地域緊急時コーディネーター（L E C）が大域的な脅威に迅速に対応する能力を大幅に滞らせる。本発明の医薬組成物を使用してこうしたリスクを軽減し、病原体の曝露又は大発生に対して対応をとるまでの時間を短縮することができる。

10

## 【 0 0 9 7 】

本発明の組成物は、病原体感染に対する他の療法（例えばワクチン）とは別個に、若しくはそれと同時に、又は単独治療として単一用量又は複数用量で投与され得る。本発明の組成物はまた、必須ではないが、追加的な治療剤を含んでもよい。こうした追加的な治療剤は、同じ、又は異なる送達ベクター（例えばウイルスベクター）内の核酸分子としてコードされ、I F N と共にポリペプチドとして発現することもでき、又はポリペプチド又は薬物として本発明の組成物と共に、例えば単一の医薬組成物として、又は別個の医薬組成物において投与することもできる。

20

## 【 0 0 9 8 】

本発明の組成物は、病原体感染（例えばウイルス感染）に対する曝露前又は曝露後に対象（例えばヒト）に投与し、対象における病原体感染の 1 つ又は複数の症状を治療し、予防し、寛解させ、その進行を阻害し、又はその重症度を軽減することができる。本発明の組成物を使用して治療することのできる病原体感染、特にウイルス感染の症状の例としては、例えば、発熱、筋肉痛、咳嗽、くしゃみ、鼻水、咽頭痛、頭痛、悪寒、下痢、嘔吐、発疹、脱力、眩暈、皮下出血、内臓出血、又は口、眼、若しくは耳などの身体開口部からの出血、ショック、神経系の機能不全、譫妄、発作、腎（腎臓）不全、人格変化、頸部硬直、脱水、発作、嗜眠、四肢の麻痺、錯乱、背痛、感覚消失、膀胱及び腸機能障害、及び昏睡又は死亡に進行し得る眠気が挙げられる。これらの症状、及び治療中におけるその消散は、例えば、医師により理学検査の間に、又は当該技術分野において公知の他の検査及び方法により計測され得る。

30

## 【 0 0 9 9 】

本発明の組成物の用量（例えば、I F N をコードする送達ベクター、ウイルス又はその他の数）又は本発明の組成物を使用する治療の回数は、患者における病原体感染の重症度、発生、又は進行に基づき（例えば、例えばウイルス感染の 1 つ又は複数の症状の重症度に基づき）増加又は減少させることができる。

## 【 0 1 0 0 】

使用

I F N は広範囲の病原体、特にウイルスに対して有効であることが知られている。従ってこの発明の医薬組成物を「広域抗ウイルス薬」と称する。本発明の組成物を使用することのできるウイルスとしては、以下が挙げられる：フラビウイルス科（Flaviviridae）のメンバー（例えば、フラビウイルス属（Flavivirus）、ペスチウイルス属（Pestivirus）、及びヘパシウイルス属（Hepacivirus）のメンバー）（これには C 型肝炎ウイルス、黄熱ウイルス；ガジェットガリー（Gadgets Gully）ウイルス、カダム（Kadam）ウイルス、キャサヌール森林病ウイルス、ランガットウイルス、オムスク出血熱ウイルス、ポワッサンウイルス、ロイヤルファーム（Royal Farm）ウイルス、カルシ（Karshi）ウイルス、ダニ媒介脳炎ウイルス、ノイドルフル（Neudoerfl）ウイルス、ソフジン（Sofjin）ウイルス、跳躍病ウイルス及びネギシウイルスなどのダニ媒介ウイルス；メアバン（Meaban）ウイルス、ソーマレズリーフ（Saumarez Reef）ウイルス、

40

50

及びチュレニー (Tyuleniy) ウイルスなどの海鳥ダニ媒介ウイルス; アロア (Aroa) ウイルス、デングウイルス、ケドゥグ (Kedougou) ウイルス、カシパコア (Cacipacore) ウイルス、クタンゴ (Koutango) ウイルス、日本脳炎ウイルス、マレー渓谷脳炎ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ウスツ (Usutu) ウイルス、ウエストナイルウイルス、ヤウンデ (Yaounde) ウイルス、ココベラ (Kokobera) ウイルス、バガザ (Bagaza) ウイルス、イルヘウスウイルス、イスラエルターキー髄膜脳脊髄炎ウイルス、ウンタヤウイルス、テンブスウイルス、ジカウイルス、バンジ (Banzi) ウイルス、ブブイ (Bouboui) ウイルス、エッジヒル (Edge Hill) ウイルス、ジュグラ (Jugra) ウイルス、サボヤ (Saboaya) ウイルス、セピック (Sepik) ウイルス、ウガンダSウイルス、ヴェッセルスブロンウイルス、黄熱ウイルスなどの蚊媒介ウイルス; 及びエンテベ (Entebbe) コウモリウイルス、ヨコセウイルス、アポイウイルス、カウボーンリッジ (Cowbone Ridge) ウイルス、フティアパ (Jutiapa) ウイルス、モドック (Modoc) ウイルス、サルビエハ (Sal Vieja) ウイルス、サンペルリタ (San Perlita) ウイルス、ブカラサ (Bukalasa) コウモリウイルス、ケアリーアイランド (Carey Island) ウイルス、ダカール (Dakar) コウモリウイルス、モンタナ筋炎白質脳炎ウイルス、ブノンペン (Phnom Penh) コウモリウイルス、リオブラボウイルス、タマナ (Tamana) コウモリウイルス、及び細胞融合因子ウイルスなどの既知の媒介節足動物を伴わないウイルスが含まれる);

アレナウイルス科 (Arenaviridae) のメンバー (これにはイッピー (Ippy) ウイルス、ラッサウイルス (例えば、ジョサイア (Josiah) 株、LP株、又はGA391株)、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)、モバラ (Mobala) ウイルス、モペイア (Mopeia) ウイルス、アマパリウイルス、フレキサ (Flexal) ウイルス、グアナリトウイルス、フニンウイルス、ラティノ (Latino) ウイルス、マチュポウイルス、オリベロス (Oliveros) ウイルス、パラナ (Parana) ウイルス、ピチンデウイルス、ピリタル (Piritall) ウイルス、サビアウイルス、タカリベウイルス、タミアミ (Tamiami) ウイルス、ホワイトウォーター・アロヨ (Whitewater Arroyo) ウイルス、チャパレウイルス、及びルヨ (Lujó) ウイルスが含まれる);

ブニヤウイルス科 (Bunyaviridae) のメンバー (例えば、ハンタウイルス属 (Hantavirus)、ナイロウイルス属 (Nairovirus)、オルトブニヤウイルス属 (Orthobunyavirus)、及びフレボウイルス属 (Phlebovirus) のメンバー) (これにはハンターウイルス、シンノンブレウイルス、ジュグベ (Dugbe) ウイルス、ブニヤンベラウイルス、リフトバレー熱ウイルス、ラクロスウイルス、プンタトロ (Punta Toro) ウイルス (PTV)、カリフォルニア脳炎ウイルス、及びクリミア-コンゴ出血熱 (CCHF) ウイルスが含まれる);

フィロウイルス科 (Filoviridae) のメンバー (これにはエボラウイルス (例えば、ザール株、スーダン株、コートジボワール株、レ斯顿株、及びウガンダ株) 及びマールブルグウイルス (例えば、アンゴラ株、Ci67株、ムソケ (Musoke) 株、ポップ (Popp) 株、ラヴン (Ravn) 株及びレイクピクトリア株) が含まれる);

トガウイルス科 (Togaviridae) のメンバー (例えば、アルファウイルス属 (Alphavirus) のメンバー) (これにはベネズエラウマ脳炎ウイルス (VEE)、東部ウマ脳炎ウイルス (EEE)、西部ウマ脳炎ウイルス (WEE)、シンドビスウイルス、風疹ウイルス、セムリキ森林ウイルス、ロスリバーウイルス、バーマフォレストウイルス、オニオンニオンウイルス、及びチクングニヤウイルスが含まれる);

ポックスウイルス科 (Poxviridae) のメンバー (例えば、オルトポックスウイルス属 (Orthopoxvirus) のメンバー) (これには天然痘ウイルス、サル痘ウイルス、及びワクシニアウイルスが含まれる);

ヘルペスウイルス科 (Herpesviridae) のメンバー (これには単純ヘルペスウイルス (HSV; 1型、2型、及び6型)、ヒトヘルペスウイルス (例えば、7型及び8型)、サイトメガロウイルス (CMV)、エプスタイン・パールウイルス (EBV)、水痘帯状疱疹ウ



イルス、及びカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) が含まれる) ; オルソミクソウイルス科 (Orthomyxoviridae) のメンバー (これには H5N1 トリインフルエンザウイルス又は H1N1 ブタインフルエンザなどのインフルエンザウイルス (A 型、B 型、及び C 型) が含まれる) ; コロナウイルス科 (Coronaviridae) のメンバー (これには重症急性呼吸器症候群 (SARS) ウイルスが含まれる) ; ラブドウイルス科 (Rhabdoviridae) のメンバー (これには狂犬病ウイルス及び水疱性口内炎ウイルス (VSV) が含まれる) ; パラミクソウイルス科 (Paramyxoviridae) のメンバー (これにはヒト呼吸器合胞体ウイルス (RSV)、ニューカッスル病ウイルス、ヘンドラウイルス、ニパウイルス、麻疹ウイルス、牛痘ウイルス、イヌジステンパーウイルス、センダイウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス (例えば、1 型、2 型、3 型、及び 4 型)、ライノウイルス、及びムンプスウイルスが含まれる) ; ピコルナウイルス科 (Picornaviridae) のメンバー (これにはポリオウイルス、ヒトエンテロウイルス (A 型、B 型、C 型、及び D 型)、A 型肝炎ウイルス、及びコクサッキーウイルスが含まれる) ; ヘパドナウイルス科 (Hepadnaviridae) のメンバー (これには B 型肝炎ウイルスが含まれる) ; パピローマウイルス科 (Papillamoviridae) のメンバー (これにはヒトパピローマウイルスが含まれる) ; パルボウイルス科 (Parvoviridae) のメンバー (これにはアデノ随伴ウイルスが含まれる) ; アストロウイルス科 (Astroviridae) のメンバー (これにはアストロウイルスが含まれる) ; ポリオーマウイルス科 (Polyomaviridae) のメンバー (これには JC ウイルス、BK ウイルス、及び SV40 ウイルスが含まれる) ; カリシウイルス科 (Calciviridae) のメンバー (これにはノーウォークウイルスが含まれる) ; レオウイルス科 (Reoviridae) のメンバー (これには口タウイルスが含まれる) ; 及びレトロウイルス科 (Retroviridae) のメンバー (これにはヒト免疫不全ウイルス (HIV; 例えば、1 型及び 2 型)、及びヒト T リンパ球向性ウイルス I 型及び II 型 (それぞれ HTLV-1 及び HTLV-2) が含まれる)。

10

20

30

40

50

#### 【0101】

本発明の医薬組成物について企図され、且つ国立アレルギー感染症研究所 (National Institute of Allergy and Infectious Disease: NIAID) の一部門の微生物学及び感染症部門 (Division of Microbiology and Infectious Disease: DMID) と協力して現在評価されている、又は評価されてきた特定の適応としては、デング、プンタトロ (Punta Toro) (リフトバレー熱の BSL-2 サロゲート)、サル痘、A 型インフルエンザ (H5N1 及び H1N1)、SARS、黄熱、ピチンデ (ラッサ熱の BSL-2 サロゲート)、西部ウマ脳炎、ベネズエラウマ脳炎、及びウエストナイルウイルスが挙げられる。より広い観点では、IFN- 送達ベクター及びそれを含む医薬組成物は、少なくとも以下のウイルス科に対して有効である: アルファウイルス科 (Alphaviridae)、フィロウイルス科 (Filoviridae)、フラビウイルス科 (Flaviviridae)、オルソミクソウイルス科 (Orthomyxoviridae)、ブニヤウイルス科 (Bunyaviridae)、アレナウイルス科 (Arenaviridae)、ヘルペスウイルス科 (Herpesviridae)、ヘパドナウイルス科 (Hepadnaviridae)、コロナウイルス科 (Coronaviridae)、及びポックスウイルス科 (Poxviridae) (実施例を参照のこと)。

#### 【0102】

ヒト集団の相当の割合が、Ad5 を含めた多くのアデノウイルス株に曝露されたことがある。従って、本発明の医薬組成物の任意の潜在的被投与者の免疫系は過去に Ad5 に「会った」ことがある可能性が高く、それに対する免疫応答を急速に装備することができるものと思われる。2008 年の第 II 相臨床試験において HIV 陰性患者に対して試験された MRKAd5 HIV-1 gag/pol/nef HIV ワクチンが、それに該

当した。注射が利用されたこの試験の結果は、防御が認められなかったことを意味する「無効」となった：接種された対象における感染レベルは接種されなかった対象と同じであった（Buchbinderら、Lancet 372：1881～1893頁、2008年）。Ad5について陽性の血清状態は、獲得と有意な関連性を有した（Robb、Lancet 372：1857～1858頁、2008年）とともに、ワクチンの設計が「研究の失敗の核心」にある（White、Lancet 373：805頁、2009年）。従ってAd5ベクター化ワクチンは、免疫が既に存在する可能性が高いため無益であると考えられた。実際、軍人は全員が入隊後の基本訓練の医学的準備の間に能動的にAd4及びAd7ワクチンの接種を受ける。

#### 【0103】

送達ベクターに対する既存の免疫を回避するため、本発明のIFN-送達ベクター、及びそれを含む医薬組成物は、例えば、送達ベクターに対する既存免疫の問題を回避する経肺経路又は鼻腔内経路により投与することができる。これは、ベクターが投与後に例えば上皮細胞に直接組み込まれるため、ベクター（例えば、アデノウイルスベクター（例えばAd5））と免疫系（例えば、血液中の免疫成分）との間の接触がないことに起因すると考えられる。こうした上皮細胞は機能上、免疫系の細胞及び抗体に対するバリアとして働く。従って、送達ベクターは循環に曝露されない；IFNのみが血流中に放出され、ベクターの痕跡は残らない（図3を参照のこと）。

#### 【0104】

本発明の組成物を使用した自己免疫疾患又は癌の予防又は治療方法

本発明の医薬組成物はまた、自己免疫疾患及び癌の1つ又は複数の症状を治療又は軽減するための遺伝子療法及び/又は遺伝子ワクチンとしても使用することができる。上記に記載される本発明の組成物の作用機序は、この関連におけるその使用にも等しく適用される。

#### 【0105】

インターフェロンは抗ウイルス活性及び抗増殖活性の双方を示す。IFN-は、現在、米国及び他の国においてヘアリー細胞白血病、性病疣贅、カボジ肉腫、及び慢性非A型、非B型肝炎の治療用に承認されている。2種のIFN-が治療用途の認可を受けている：ROFERON（商標）-Aの商標で市販されているインターフェロンアルファ-2a、及びINTRON（商標）Aの商標で市販されているインターフェロンアルファ-2b。ROFERON（商標）-A及びINTRON（商標）Aのアミノ酸配列は単一の位置で異なるが、その他はアルファインターフェロンサブタイプ2（サブタイプA）のアミノ酸配列と同じである。

#### 【0106】

ラベルに表示されている適応に加え、IFN-は単独で、又は化学療法剤との併用で、慢性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、表在性膀胱癌、皮膚癌（基底細胞癌及び悪性黒色腫）、腎細胞癌、卵巣癌、低悪性度リンパ球性リンパ腫及び皮膚T細胞リンパ腫、並びに神経膠腫を含む様々な他の細胞増殖障害において使用され、又は評価されている。IFN-は、肺癌、結腸直腸癌及び乳癌から生じる固形腫瘍の治療用の他の化学療法剤との組み合わせで有効であり得る（Rosenbergら「Principles and Applications of Biologic Therapy」「Cancer：Principles and Practices of Oncology」第3版、Devitaら編 301～547頁（1989年）所収、Balmer DICP、Ann Pharmacother 24、761～768頁（1990年）を参照のこと）。

#### 【0107】

BETASERON（商標）（Schering Corpの組換えインターフェロンベータ-1b）は、特にMSの治療を適応とする最初の薬物であった。主臨床試験において、BETASERON（商標）はMS患者が起こす増悪又は再発の回数及び重症度の軽減、並びに磁気共鳴画像法（MRI）による脳内MS活性のエビデンスの減少に有効であ

10

20

30

40

50

ることが認められた。重要なことに、この試験の結果は、試験に他の形態のMSが含まれなかったため、再発寛解型患者群のみに関するものであった。さらにこの試験は、研究の2～3年間ではMSの最終的な能力障害に対する薬物の有益な作用は実証しておらず、薬物の有効性はその副作用によって著しく損なわれる。米国特許第7,105,154号明細書；同第5,372,808号明細書；同第5,846,526号明細書；同第6,204,022号明細書；同第6,060,450号明細書；及び同第6,361,769号明細書もまた、自己免疫疾患及び癌を治療するためのIFN療法の使用について記載している；これらの文献の各々は、参照により本明細書に援用される。米国特許第7,442,380号明細書は、ウイルス感染によって引き起こされる自己免疫疾患のインターフェロンを使用した治療について記載している。

10

#### 【0108】

従って、本発明の組成物（例えばAd5-IFN）を対象（例えばヒト）に投与することで、対象における自己免疫疾患（例えば、多発性硬化症、I型糖尿病、ループス、アジソン病、重症筋無力症、及び筋萎縮性側索硬化症）又は癌の1つ又は複数の症状を治療又は軽減することができる。本発明の組成物を使用して治療又は軽減することのできる自己免疫疾患の症状の例としては、例えば、自己抗体レベルの上昇、自己反応性T細胞レベルの上昇、標的細胞（例えば 脾臓細胞）の減少、疲労、うつ病、寒さに対する感受性、体重増加、筋力低下、便秘、不眠症、被刺激性、体重減少、びくくり眼、筋肉振戦、皮疹、有痛性の又は腫脹した関節、日光感受性、協調運動障害、及び麻痺が挙げられる。これらの症状、及び治療中のその消散は、例えば医師により理学検査において、又は当該技術分野において公知の他の検査若しくは方法により計測され得る。

20

#### 【0109】

本発明の組成物の用量（例えば、IFNをコードする送達ベクター、ウイルス又はその他の数）又は本発明の組成物を使用する治療の回数は、患者における疾患又は症状の重症度、発生、又は進行に基づき増加又は減少させることができる。

#### 【0110】

##### 追加的な治療レジメン

必要であれば、対象はまた追加的な治療レジメンを受けてもよい。例えば、追加的な治療剤が、本明細書に記載される医薬組成物と共に、かかる治療剤に有効であることが分かっている濃度で単一の製剤中に混合されてもよい。追加的な治療剤はまた、別個に送達されてもよい。薬剤が別々の医薬組成物中に存在する場合、異なる投与経路が用いられてもよい。特に有用な治療剤としては、例えば、抗ウイルス剤、免疫賦活剤、及び他の免疫化ワクチンが挙げられる。本発明の組成物で癌を治療する場合、特に有用な追加的な治療剤としては、例えば、カンプトテシン、ホモカンプトテシン、コルヒチン、チオコルヒチン、コンプレタスタチン、ドラスタチン、ドキシソルピシン、メトトレキサート、ポドフィロトキシン、リゾキシン、リゾキシンド、タキソール、パクリタキセル、CC1065、及びマイタンシノイドなどの化学療法剤が挙げられる。

30

#### 【0111】

ある場合には、医薬組成物と追加的な治療剤とは、少なくとも1時間、2時間、4時間、6時間、10時間、12時間、18時間、24時間、3日、7日、14日、又は1ヶ月を空けて投与される。各成分の投薬量及び投与頻度は独立して制御され得る。本明細書に記載される追加的な治療剤は、例えば従来の薬学的に許容可能な担体中に、追加的な活性成分又は不活性成分と共に混合されてもよい。医薬担体は、本発明の組成物を対象に投与するのに好適な任意の適合性を有する非毒性物質であってよい。薬学的に許容可能な担体としては、例えば、水、生理食塩水、緩衝液及び例えばMerck Index、Merck & Co.、Rahway、New Jerseyに記載される他の化合物が挙げられる。徐放性製剤又は徐放装置もまた連続投与に使用され得る。追加的な治療レジメンには、治療される対象の生活様式の変更を含め、他の療法が含まれ得る。

40

#### 【0112】

##### 抗ウイルス剤

50

追加的な治療剤として抗ウイルス剤が、ワクチンとの組み合わせで、或いは別個の投与で使用されてもよい。例示的抗ウイルス剤は、アバカビル、アシクロビル ( a c i c l o v i r )、アシクロビル ( a c y c l o v i r )、アデホビル、アマンタジン、アンブレナビル、アルピドール、アタザナビル、アトリプラ、プリブジン、シドホビル、コンビビル、ダルナビル、デラビルジン、ジダノシン、ドコサノール、エドクスジン、エファビレンツ、エムトリシタピン、エンフビルチド、エンテカビル、侵入阻害薬、ファムシクロビル、定用量合剤 ( f i x e d d o s e c o m b i n a t i o n )、ホミビルセン、ホスアンブレナビル、ホスカルネット、ホスホネット、融合阻害薬、ガンシクロビル、ガーダシル、イバシタピン、イムノビル ( i m u n o v i r )、イドクスウリジン、イミキモド、インジナビル、イノシン、インテグラゼ阻害薬、III型インターフェロン、II型インターフェロン、I型インターフェロン、インターフェロン、ラミブジン、ロピナビール、ロビリド、MK - 0518、マラビロク、モロキシジン、ネルフィナビル、ネビラピン、ネキサビル ( n e x a v i r )、ヌクレオシド類似体、オセルタミビル、ペンシクロビル、ペラミビル、プレコナリル、ポドフィロトキシン、プロテアーゼ阻害薬、逆転写酵素阻害薬、リバビリン、リマンタジン、リトナビル、サキナビル、スタブジン、相乗賦活薬、テノホビル、テノホビルジソプロキシル、チプラナビル、トリフルリジン、トリジビル、トロマンタジン、ツルバダ、バラシクロビル、バルガンシクロビル、ピクリピロク、ビダラピン、ピラミジン、ザルシタピン、ザナミビル、及びジドブジンである。例示的抗ウイルス剤は、例えば、参照によって本明細書により援用される米国特許第 6, 093, 550号明細書及び同第 6, 894, 033号明細書に掲載される。

10

20

#### 【 0 1 1 3 】

##### 抗細菌剤

本発明の組成物 (例えば Ad5 - IFN ) は、抗生物質 (例えば、1つ又は複数のペニシリン、セファロsporin、アミノグリコシド、マクロライド、サルファ系化合物、フルオロキノロン、又はテトラサイクリン) などの抗細菌剤と共に投与することができる。抗細菌剤の他の例としては、ペニシリンG、ペニシリンV、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン ( d i c l o x a c i l l i o n )、アンピシリン、アモキシシリン、バカンピシリン、シクラシリン、カルペニシリンインダニル、チカルシリン、メズロシリン、ピペラシリン、セファロチン、セファゾリン、セファピリン、セフラジン、セファレキシン、セファドロキシル、セファマンドールナファート、セフロキシム、セフォニシド、セフォラニド、セファクロル、セフォキシチン、セフォテタン、セフメタゾール、セファタキシム ( c e f a t a x i m e )、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セフトラジウム、セフォペラゾン、モキサラクタム、セフィキシム、エリスロマイシン、ステアレート、エチルスクシネート、エストレート、ラクトビオネート、グルセプテート、アジスロマイシン、クラリスロマイシンオキシテトラサイクリン、デメクロサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、硫酸アミカシン、硫酸ゲンタマイシン、髄腔内、硫酸カナマイシン、硫酸ネチルマイシン、硫酸ストレプトマイシン、硫酸トブラマイシン、硫酸ネオマイシン、スルファジアジン、スルファメチゾール、スルフィソキサゾール、スルフィソキサゾールアセチル、スルファメトキサゾール、トリスルファピリミジン、フェナゾピリジン、エチルコハク酸エリスロマイシン、トリメトプリム、シプロフロキサシン、塩酸シプロフロキサシン、エノキサシン、塩酸ロメフロキサシン、ノルフロキサシン、オフロキサシン、塩酸バンコマイシン、テイコプラニン、リファンピン、メトロニダゾール、塩酸メトロニダゾール、ポリミキシン ( p o l m y x i n )、バシトラシン、メテナミン、馬尿酸メテナミン、マンデル酸メテナミン、ニトロフラントイン、塩酸フェナゾピリジン、硝酸銀、酢酸、ドメボロ溶液、m - クレゾール酢酸、コリマイシンS耳科用液、コーティスポリン、トリデシロン、シクロピロクスオラミン、クリオキノール、グリセオフルビン、フルビシン、グリサクチン、グリサクチンウルトラ ( g r i s a c t i n u l t r a )、グリフルビンV、ハロプロジン ( h a l a p r o g i n )、亜鉛ピリチオン、硫化セレン、トルナフタート、ウンデシレン酸、ナフチフィン ( n a f t f i n e )、テルビナフィン ( t e r b i n a f i n d )、イミダゾール、エコナ

30

40

50

ゾール、ケトコナゾール、硝酸ミコナゾール (miconazole nitrate)、Monistat-Derm、硝酸オキシコナゾール、硝酸スルコナゾール、ピストリアゾール、イトラコナゾール、アムホテリシンB、ナイスタチン、マイコルスタチン (mycostatin)、ニルスタット、ブトコナゾール、クロトリマゾール、チオコナゾール (tioconazole)、フルコナゾール、イトラコナゾール、テルコナゾール、ナイスタチン、マイコスタチン、O-Vスタチン、カンタリジン、病巣内、ポドフィリン樹脂、ポドフィロックス、サリチル酸、安息香酸ベンジル、クロタミトン、リンデン、マラチオン、ペルメトリン、プレトリン (phrethrin)、ピペロニルブトキシド、硫黄、イソニアジド、ピラジナミド、エタンブトール、硫酸カプレオマイシン、サイクロセリン、塩酸エタンブトール、エチオナミド、クロファジミン、ダブソーン、エチオナミド、イトラコナゾール、ヨウ化カリウム フルシトシン、リン酸クロロキン、リン酸ヒドロキシクロロキン、塩酸クロロキン、硫酸キニーネ、ピリメタミン/スルファドキシニン、メフロキン、グルコン酸キニジン、ジロキサニドフロエート (dilozanide furoate)、塩酸エフロルニチン、フラゾリドン、ヨードキノール、メラルソプロール、メトロニダゾール、ニフルチモックス、硫酸パロモマイシン、イセチオン酸ペンタミジン、リン酸プリマキン、硫酸キニーネ、スチボグルコン酸ナトリウム、アンチモン酸メグルミン、グルクロン酸トリメトレキサート、ピリメタミン、アルベンダゾール、クエン酸ジエチルカルバマジン (diethylcarbamazine citrate)、イベルメクチン、メベンダゾール、メトリホネート、ニコロサミド、オキサムニキン、パモ酸ピランテル、スラミンナトリウム、チアベンダゾール、シタラビン、イドクスウリジン、トリフルリジン、ピダラビン、アシクロビル (acyclovir)、ジドブジン、リバビリン、プロモピニルデオキシウリジン、フルオロヨードアラシトシン、アマンタジン、アセマンナン、アムホテリシンBメチル、アンプリジェン、カスタノスペルミン、可溶性CD<sub>4</sub>、硫酸デキストラン、ジデオキシシチジン、ジデオキシイノシン、ジジヒドロジデオキシチミジン (didihydrodideoxythymidine)、ホスカルネットナトリウム、フシジン酸、HPA-23、イソプリノシン、ペニシラミン、ペプチドT、リバビリン、リファブチン、ジダノシン、ザルシタピンなどが挙げられる。

10

20

30

40

50

#### 【0114】

##### 免疫賦活剤

本発明の医薬組成物の免疫原性は、本発明の組成物 (例えば Ad5-IFN) が免疫賦活剤又はアジュバントと共に同時投与される場合、著しく向上し得る。例示的免疫賦活剤としては、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、QS21、Quil A (並びにその誘導体及び成分)、リン酸カルシウム、水酸化カルシウム、水酸化亜鉛、糖脂質類似体、アミノ酸のオクトデシルエステル (octodecyl ester)、ムラミルジペプチド、ポリホスファゼン、リポタンパク質、ISCOMマトリックス、DC-Chol、DDA、サイトカイン、及び他のアジュバント及びこれらの誘導体が挙げられる。

#### 【0115】

##### 免疫化ワクチン

ある場合には、本発明の組成物を、他のウイルスに対する防御応答を誘導する組成物と組み合わせることが望ましいことがある。例えば、本発明の組成物 (例えば Ad5-IFN) は、免疫化ワクチン、例えば、インフルエンザ、マラリア、結核、天然痘、麻疹、風疹、ムンプスに対するワクチン、又は当該技術分野において公知の任意の他のワクチンと同時に、別個に、又は連続して投与することができる。

#### 【0116】

例えばワクチンは、例えば、細菌、ウイルス、真菌、又は寄生体物質を処置するための当該技術分野において公知の、それぞれ細菌ワクチン、ウイルスワクチン、真菌ワクチン、又は寄生体ワクチンであり得る。ワクチンは、シュードモナス・エルギノーサ (Pseudomonas aeruginosa)、サルモネラ・チフィムリウム (Salmonella typhimurium)、大腸菌 (Escherichia coli)

、クレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)、ブルセラ属 (*Bruscella*)、パークホルデリア・マレイ (*Burkholderia mallei*)、エルシニア・ペスチス (*Yersinia pestis*)、及びバチルス・アントラシス (*Bacillus anthracis*) から選択される細菌；フラビウイルス科 (*Flaviviridae*) のメンバー (例えば、フラビウイルス属 (*Flavivirus*)、ペスチウイルス属 (*Pestivirus*)、及びヘパシウイルス属 (*Hepacivirus*) のメンバー) から選択されるウイルス (これにはC型肝炎ウイルス、黄熱ウイルス；ガジェットガリー (*Gadgets Gully*) ウイルス、カダム (*Kadam*) ウイルス、キャサヌール森林病ウイルス、ランガットウイルス、オムスク出血熱ウイルス、ポワッサンウイルス、ロイヤルファーム (*Royal Farm*) ウイルス、カルシ (*Karshi*) ウイルス、ダニ媒介脳炎ウイルス、ノイドルフ (*Neudoerfl*) ウイルス、ソフジン (*Sofjin*) ウイルス、跳躍病ウイルス及びネギシウイルスなどのダニ媒介ウイルス；メアバン (*Meaban*) ウイルス、ソーマレズリーフ (*Saumarez Reef*) ウイルス、及びチュレニー (*Tyuleniy*) ウイルスなどの海鳥ダニ媒介ウイルス；アロア (*Aroa*) ウイルス、デングウイルス、ケドゥグ (*Kedougou*) ウイルス、カシパコア (*Cacipacore*) ウイルス、クタンゴ (*Koutango*) ウイルス、日本脳炎ウイルス、マレー溪谷脳炎ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ウスツ (*Usutu*) ウイルス、ウエストナイルウイルス、ヤウンデ (*Yaounde*) ウイルス、ココベラ (*Kokobera*) ウイルス、バガザ (*Bagaza*) ウイルス、イルヘウスウイルス、イスラエルターキー髄膜脳脊髄炎ウイルス、ウンタヤウイルス、テンブスウイルス、ジカウイルス、バンジ (*Banzi*) ウイルス、ブビ (*Bouboui*) ウイルス、エッジヒル (*Edge Hill*) ウイルス、ジュグラ (*Jugra*) ウイルス、サボヤ (*Saboya*) ウイルス、セピック (*Sepik*) ウイルス、ウガンダSウイルス、ヴェッセルスブロンウイルス、黄熱ウイルスなどの蚊媒介ウイルス；及びエンテベ (*Entebbe*) コウモリウイルス、ヨコセウイルス、アポイウイルス、カウボーンリッジ (*Cowbone Ridge*) ウイルス、フティアパ (*Jutiapa*) ウイルス、モドック (*Modoc*) ウイルス、サルビエハ (*Sal Vieja*) ウイルス、サンペルリタ (*San Perlita*) ウイルス、ブカラサ (*Bukalasa*) コウモリウイルス、ケアリーアイランド (*Carey Island*) ウイルス、ダカール (*Dakar*) コウモリウイルス、モンタナ筋炎白質脳炎ウイルス、ブノンペン (*Phnom Penh*) コウモリウイルス、リオブラボーウイルス、タマナ (*Tamana*) コウモリウイルス、及び細胞融合因子ウイルスなどの既知の媒介節足動物を伴わないウイルスが含まれる)；アレナウイルス科 (*Arenaviridae*) のメンバーから選択されるウイルス (これにはイッピー (*Ippy*) ウイルス、ラッサウイルス (例えば、ジョサイア (*Josiah*) 株、LP株、又はGA391株)、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)、モバラ (*Mobala*) ウイルス、モペイア (*Mopeia*) ウイルス、アマパリウイルス、フレキサ (*Flexal*) ウイルス、グアナリトウイルス、フニンウイルス、ラティノ (*Latino*) ウイルス、マチュポウイルス、オリベロス (*Oliveros*) ウイルス、パラナ (*Parana*) ウイルス、ピチンデウイルス、ピリタル (*Pirital*) ウイルス、サビアウイルス、タカリベウイルス、タミアミ (*Tamiami*) ウイルス、ホワイトウォーター・アロヨ (*Whitewater Arroyo*) ウイルス、チャパレウイルス、及びルヨ (*Lujo*) ウイルスが含まれる)；ブニヤウイルス科 (*Bunyaviridae*) のメンバー (例えば、ハントウイルス属 (*Hantavirus*)、ナイロウイルス属 (*Nairovirus*)、オルトブニヤウイルス属 (*Orthobunyavirus*)、及びフレボウイルス属 (*Phlebovirus*) のメンバー) から選択されるウイルス (これにはハンターウイルス、シンノンブレウイルス、ジュグベ (*Dugbe*) ウイルス、ブニヤンベラウイルス、リフトバレー熱ウイルス、ラクロスウイルス、プンタトロ (*Punta Toro*) ウイルス (PTV)、カリフォルニア脳炎ウイルス、及びクリミア-コンゴ出血熱 (CCHF) ウイルスが含まれる)；フィロウイルス科 (*Filovir*

i d a e ) のメンバー (これにはエボラウイルス (例えば、ザイール株、スーダン株、コ  
 ートジボワール株、レストン株、及びウガンダ株) 及びマールブルグウイルス (例えば、  
 アンゴラ株、C i 6 7 株、ムソケ ( M u s o k e ) 株、ポップ ( P o p p ) 株、ラヴン ( R a v n ) 株及び  
 レイクピクトリア株) が含まれる) ; トガウイルス科 ( T o g a v i r i d a e ) のメンバー (例  
 えば、アルファウイルス属 ( A l p h a v i r u s ) のメンバー) (これにはベネズエラウマ脳炎  
 ウイルス ( V E E ) 、東部ウマ脳炎ウイルス ( E E E ) 、西部ウマ脳炎ウイルス ( W E E ) 、シ  
 ンドビスウイルス、風疹ウイルス、セムリキ森林ウイルス、ロスリバーウイルス、パー  
 マフォレストウイルス、オニョンニョンウイルス、及びチクングニヤウイルスが含ま  
 れる) ; ポックスウイルス科 ( P o x v i r i d a e ) のメンバー (例えば、オルトポックス  
 ウイルス属 ( O r t h o p o x v i r u s ) のメンバー) (これには天然痘ウイルス、サル痘  
 ウイルス、及びワクシニアウイルスが含まれる) ; ヘルペスウイルス科 ( H e r p e s v i r i d a e )  
 のメンバー (これには単純ヘルペスウイルス ( H S V ; 1 型、2 型、及び 6 型 ) 、ヒトヘル  
 ペスウイルス (例えば、7 型及び 8 型) 、サイトメガロウイルス ( C M V ) 、エプスタイン・  
 バールウイルス ( E B V ) 、水痘帯状疱疹ウイルス、及びカポジ肉腫関連ヘルペス  
 ウイルス ( K S H V ) が含まれる) ; オルソミクソウイルス科 ( O r t h o m y x o v i r i d a e ) の  
 メンバー (これには H 5 N 1 トリインフルエンザウイルス又は H 1 N 1 ブタインフル  
 エンザなどのインフルエンザウイルス ( A 型、B 型、及び C 型) が含まれる) ; コ  
 ロナウイルス科 ( C o r o n a v i r i d a e ) のメンバー (これには重症急性呼吸器症候群  
 ( S A R S ) ウイルスが含まれる) ; ラブドウイルス科 ( R h a b d o v i r i d a e ) のメン  
 10  
 20  
 30  
 40  
 50

リゾプス・アリスス (*Rhizopus arrhizus*) から選択される真菌；又はトキソプラズマ・ゴンジイ (*Toxoplasma gondii*)、プラスモジウム・ファルシパルム (*Plasmodium falciparum*)、P. ビバックス (*P. vivax*)、P. オバレ (*P. ovale*)、P. マラリエ (*P. malariae*)、トリパノソーマ種 (*Trypanosoma spp.*)、及びレジオネラ種 (*Legionella spp.*) から選択される寄生体を対象とするものであり得る。

【0117】

本発明の組成物（例えば、本明細書に記載される Ad5 - IFN コンストラクト）と組み合わせて投与することのできる当該技術分野において公知のワクチンの例としては、炭疽に対する AVA (*BioThrax*)；水痘に対する VAR (*Varivax*) 及び MMRV (*ProQuad*)；ジフテリアに対する DTaP (*Daptacel*、*Infanrix*、*Tripedia*)、Td (*Decavaca*、ジェネリック)、DT (-ジェネリック-)、Tdap (*Boostrix*、*Adacel*)、DTaP - IPV (*Kinrix*)、DTaP - HepB - IPV (*Pediarix*)、DTaP - IPV / Hib (*Pentacel*)、及び DTaP / Hib (*TriHIBit*)；A型肝炎に対する HepA (*Havrix*、*Vaqta*) 及び HepA - HepB (*Twinrix*)；B型肝炎に対する HepB (*Engerix - B*、*Recombivax HB*)、Hib - HepB (*Comvax*)、DTaP - HepB - IPV (*Pediarix*)、及び HepA - HepB (*Twinrix*)；ヘモフィルスインフルエンザ b 型菌に対する Hib (*ActHIB*、*PedvaxHIB*、*Hiberix*)、Hib - HepB (*Comvax*)、DTaP / Hib (*TriHIBit*)、及び DTaP - IPV / Hib (*Pentacel*)；ヒトパピローマウイルス (HPV) に対する HPV4 (*Gardasil*) 及び HPV2 (*Cervarix*)；インフルエンザに対する TIV (*Afluria*、*Agriflu*、*FluLaval*、*Fluarix*、*Fluvirin*、*Fluzone*) 及び LAIV (*Flumist*)；日本脳炎 (JE) に対する JE (*Ixiaro* 及び *JE - Vax*)；麻疹に対する MMR (*M - M - R II*) 及び MMRV (*ProQuad*)；髄膜炎に対する MCV4 (*Menactra*)、MPSV4 (*Menomune*)、及び MODC (*Menveo*)；ムンプスに対する MMR (*M - M - R II*) 及び MMRV (*ProQuad*)；百日咳に対する DTaP (*Daptacel*、*Infanrix*、*Tripedia*)、Tdap (*Adacel*、*Boostrix*)、DTaP - IPV (*Kinrix*)、DTaP - HepB - IPV (*Pediarix*)、DTaP - IPV / Hib (*Pentacel*)、及び DTaP / Hib (*TriHIBit*)；細菌性肺炎に対する PCV7 (*Prevnar*)、PCV13 (*Prevnar13*)、及び PPSV23 (*Pneumovax 23*)；ポリオに対するポリオ (*Ipol*)、DTaP - IPV (*Kinrix*)、DTaP - HepB - IPV (*Pediarix*)、及び DTaP - IPV / Hib (*Pentacel*)；狂犬病 (*Imovax Rabies* 及び *RabAvert*)；口タウイルスに対する RV1 (*Rotarix*) 及び RV5 (*RotaTeq*)；風疹に対する MMR (*M - M - R II*) 及び MMRV (*ProQuad*)；帯状疱疹に対する ZOS (*Zostavax*)；天然痘及びサル痘に対する ワクシニア (*ACAM2000*、*Dryvax*)；破傷風に対する DTaP (*Daptacel*、*Infanrix*、*Tripedia*)、Td (*Decavac*、ジェネリック)、DT (-ジェネリック-)、TT (-ジェネリック-)、Tdap (*Boostrix*、*Adacel*)、DTaP - IPV (*Kinrix*)、DTaP - HepB - IPV (*Pediarix*)、DTaP - IPV / Hib (*Pentacel*)、及び DTaP / Hib (*TriHIBit*)；結核 (TB) に対する BCG (*TICE BCG*、*Mycobax*)；腸チフスに対する 腸チフス経口 (*Vivotif*) 及び 腸チフスポリサッカライド (*Typhim Vi*)；及び黄熱に対する YF (*YF - Vax*) が挙げられる。

【0118】

エボラワクチン

10

20

30

40

50



Ad-CAGoptZGPは、アデノウイルス5骨格を使用し、且つエボラウイルスの表面タンパク質をコードするワクチンである（Richardsonら（PLoS 4 : e5308、2009年）を参照のこと）。このワクチンの初期のバージョンは、ザイールエボラウイルスの本来致死的である攻撃からマウス、モルモット及び非ヒト霊長類を防御することがこれまでに示されている。Ad-CAGoptZGPは3つの改良点を組み込む：遺伝子インサートのコドン最適化、コンセンサスコザック配列の包含、及びCAGプロモーターの再構成。Ad-CAGoptZGPを細胞にトランスフェクト又は形質導入すると、これらの細胞からのエボラ糖タンパク質の高発現がもたらされ、他のアデノウイルスベースのエボラワクチンコンストラクトの場合と比べて約100倍少ない機能的用量が可能となり、且つ免疫化までの時間がより速い。最後に、Ad-CAGoptZGPは、攻撃後30分間を与えればマウスに対して完全防御を（モルモットに対して部分的防御を）誘導する能力を有する一方、曝露後前回のワクチンは機能しなかった。このワクチンの長所はその持続的な免疫である。

10

20

30

40

50

【0119】

一実施形態において、本発明の医薬組成物（例えば、本明細書に記載されるAd5-IFN $\alpha$  コンストラクト）はAd-CAGoptZGPエボラワクチンと同時に、別個に、又は連続して投与することができる。好ましくは、薬剤の一方又は双方が鼻腔内投与又は経肺投与用に製剤化される。本発明者らの実験データは、例えばAd5-IFN $\alpha$  とAd-CAGoptZGPとを組み合わせたとき高い相乗効果を示している（単一の組成物で投与するか、又は別個の組成物で投与するかに関わらず；例えば、本明細書の実施例14を参照のこと）。具体的には、完全な治効は、マウス及びモルモットの双方のモデルでZEBOVによる曝露後30分で見られ、体重の減少はない。本発明者らは、表1に見られるとおり双方の成分の防御効果を最大化するため、Ad5-IFN $\alpha$  の迅速な発現（3時間）及びAd-CAGoptZGPの長時間持続する防御の双方の利益を得ることを期待する。免疫刺激剤とエボラワクチンとの組み合わせは高度に有効な集中療法に寄与し、広域抗ウイルス薬によってこの組み合わせは優れた治療オプションとなる。

【0120】

【表1】

表1:Ad5-IFN $\alpha$ 、Ad-CAGoptZGP エボラワクチン、及びそれらの組み合わせのエボラウイルス予防薬としての能力の概要

併用予防薬	-速効性且つ持続性の免疫 -曝露前及び曝露後の優れた有効性 -無針 -費用対効果の高い製造
Ad-CAGoptZGP	-持続性免疫 -曝露後のいくらかの有効性 -無針 -単純で費用対効果の高い製造
Ad5-IFN $\alpha$	-迅速な発現(3時間) -広域防御 -無針 -単純で費用対効果の高い製造 -曝露前及び曝露後の有効性 -全成分の周知の及び許容できる安全性プロファイル

【0121】

Ad5-IFN と Ad-CAGoptZGP との組み合わせはまた、治療効果及び予防効果の迅速な発現並びに再感染に対する持続的防御も提供する。Ad5-IFN と Ad-CAGoptZGP との組み合わせは（個別でも、又は組み合わせでも）、1～10時間以内に（例えば、3時間以内に）自然免疫系の直接的な刺激を促進し、例えば被投与者の体内に存在するウイルス性出血熱ウイルスを無効にするよう作用する。防御に至るまでの発現が速いことは、併用療法の多くの利点のうちの一つである。Ad5-IFN と Ad-CAGoptZGP との組み合わせはまた、単一用量で迅速に完全に機能し、しかしながら必要に応じて薬剤の一方又は双方の複数用量（例えば、2、3、4、又は5用量）が投与されてもよい。

#### 【0122】

#### エクスペディション性 (expeditionary) 及び貯蔵安定性

ロジスティック上の制約を最小限に抑えるため、Ad5-IFN と Ad-CAGoptZGP との組み合わせは、貯蔵安定性を有し、且つエクスペディション性に関して耐久であるように製剤化され得る。本明細書に記載される製剤により、必要であれば35超で例えば30～90日間（例えば、少なくとも60日間）より長く、及び90もの高さの温度でも30分間～5時間の短い期間（例えば、少なくとも1時間）にわたり1つ又は複数の薬剤を配備することが可能となる。

#### 【0123】

#### フィロウイルス有効性データ

Ad5-IFN 及び Ad-CAGoptZGP は、各々、十分に特徴付けられたフィロウイルス感染（ザイルエボラ；ZEBOV）の動物モデルにおいて別個に、及び組み合わせで試験されている。マウス試験では、 $10^4 \sim 10^6$  プラーク形成単位（PFU）の範囲の Ad-CAGoptZGP の投与が完全な防御性を有し、及び  $10^7$  PFU の Ad5-IFN で処置又は前処置したマウスが全て生き残り、体重減少は無視できる程度であったことが示された。

#### 【0124】

致死性 ZEBOV 感染のモルモットモデルから同様の結果が得られ、ここでは  $2 \times 10^8$  PFU の mAd5-IFN を鼻腔内送達した結果、未処置動物についての100%の致死率と比較して、処置動物については100%の生存率となり、体重減少は僅かであった。 $10^{10}$  PFU の Ad-CAGoptZGP では生存率は33%となった一方、Ad5-IFN と Ad-CAGoptZGP との組み合わせでは生存率が100%となり、体重減少はなかった。ZEBOV に対するモルモットの感受性を考えると、これらの結果は特に目覚ましいものである。この試験では、組換え IFN タンパク質の1日1回注射の有効性もまた評価し、いくらかの生存効果が認められたことが指摘された（図10B）。

#### 【0125】

#### 本発明の医薬組成物の製剤及び投与

本明細書に記載される方法で使用される組成物は、例えば、非経口、皮膚、経皮、眼球、吸入、口腔、舌下、舌周囲、経鼻、直腸、局所投与、及び経口投与から選択される経路による投与用に製剤化することができる。投与は、例えば鼻腔内放出によってもよい。非経口投与としては、静脈内、腹腔内、皮下、及び筋肉内投与が挙げられる。非経口、鼻腔内又は眼内投与は、例えば、水性懸濁液、等張生理食塩水、薬理的に適合性を有する分散剤及び/又は可溶化剤、例えばプロピレングリコール又はポリエチレングリコールを含む無菌注射用溶液、凍結乾燥粉末製剤、及びゲル製剤を使用して提供されてもよい。好ましい投与方法は、様々な要因（例えば、投与される組成物の成分及び治療される病態の重症度）によって異なり得る。経口又は経鼻投与に好適な製剤は、液溶体、例えば希釈剤（例えば、水、生理食塩水、又はPEG-400）に溶解された有効量の組成物、カプセル、サシェ、錠剤、又はゲルからなってもよく、各々が本発明の組成物のIFN送達媒体の所定量を含む。医薬組成物はまた、例えば気道に吸入するためのエアロゾル製剤であってもよい。エアロゾル製剤は、加圧された薬学的に許容可能な噴射剤（例えば、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、又は窒素）と混合されてもよい。特に、吸入による投与は、

10

20

30

40

50

例えば三オレイン酸ソルビタン又はオレイン酸を含むエアロゾルを、例えばトリクロロフルオロメタン、ジクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、又は任意の他の生物学的に適合性を有する噴射ガスと共に使用することにより達成することができる。

【0126】

本発明の組成物の免疫原性は、免疫賦活剤又はアジュバントと共に同時投与する場合に著しく向上し得る。当業者に公知の好適なアジュバントとしては、例えば、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、QS21、Quil A（並びにその誘導体及び成分）、リン酸カルシウム、水酸化カルシウム、水酸化亜鉛、糖脂質類似体、アミノ酸のオクトデシルエステル（octodecyl ester）、ムラミルジペプチド、ポリホスファゼン、リポタンパク質、ISCOMマトリックス、DC-Chol、DDA、サイトカイン、並びに他のアジュバント及びその誘導体が挙げられる。

10

【0127】

ある場合には、本発明の組成物を、他のウイルスに対する防御応答を誘導する組成物と組み合わせることが望ましい場合もある。例えば、本発明の組成物は、例えば、インフルエンザ、マラリア、結核に対するワクチン、又は当該技術分野において公知の任意の他のワクチンなどの他の免疫化ワクチンと同時に、別個に、又は連続して投与することができる。

【0128】

本明細書に記載される本発明に係る医薬組成物は、組成物を投与直後に放出するように（例えば、標的化デリバリー）、又は放出制御製剤若しくは徐放性製剤を使用して、投与後に任意の所定の時間が経った時点で放出するように製剤化されてもよい。組成物が、単独で、或いは組み合わせで、(i) 狭い治療指数（例えば、有害な副作用又は毒性反応に至る血漿濃度と治療効果に至る血漿濃度との差が小さい；概して、治療指数TIは致死量中央値(LD<sub>50</sub>)の有効用量中央値(ED<sub>50</sub>)に対する比として定義される)；(ii) 放出部位（例えば胃腸管）における狭い吸収ウィンドウ；又は(iii) 短い生物学的半減期（従って治療レベルを維持するために一日の間に頻繁な投与が必要とされる）を有する場合には、放出制御製剤又は徐放性製剤中にある医薬組成物の投与が有用である。

20

【0129】

放出速度が医薬組成物の代謝速度を上回る放出制御又は徐放を達成するには、多くの方策を追求することができる。例えば、放出制御は、製剤パラメータ及び成分、例えば、適切な放出制御組成物及びコーティングを適切に選択することにより達成することができる。好適な製剤は当業者に公知である。例としては、シングルユニット型又はマルチプルユニット型の錠剤又はカプセル組成物、油溶液、懸濁液、乳剤、マイクロカプセル、マイクロスフェア、ナノ粒子、パッチ、及びリポソームが挙げられる。

30

【0130】

本発明の組成物は曝露前予防を提供するために投与されても、又は対象がウイルスなどの病原体に曝露された後に投与されてもよい。組成物は、例えば、曝露される1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、35、40、45、50、55、又は60分前、2、4、6、10、15、又は24時間前、2、3、5、又は7日前、2、4、6又は8週間前、又はさらには3、4、又は6ヶ月前に投与されてもよく、又は病原体（例えばウイルス病原体）に曝露された15～30分間後又は1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、20、24、48、72時間後、又はそれ以上後に対象に投与されてもよい。

40

【0131】

自己免疫疾患又は癌を治療する場合、本発明の組成物は、症状の発生又は確定診断の前に、或いは診断又は症状が顕性化した後に、対象に投与され得る。例えば、組成物は、例えば、診断若しくは症状の臨床的認識の直後、又は診断若しくは症状の検出の2、4、6、10、15、又は24時間後、2、3、5、又は7日後、2、4、6又は8週間後、又はさらには3、4、又は6ヶ月後に投与されてもよい。

【0132】

50

組成物は従来の滅菌技術により滅菌されてもよく、又は滅菌し過ぎられてもよい。得られる水溶液はそのまま使用するようパッケージされても、又は凍結乾燥されてもよく、凍結乾燥製剤は粉末形態で、又は投与前に無菌水性担体と組み合わせてから投与されてもよい。製剤のpHは典型的には3～11であり、より好ましくは5～9又は6～8であり、及び最も好ましくは7～8、例えば7～7.5である。得られる固形形態の組成物は、複数の単一用量単位でパッケージされてもよく、各々が一定量のIFN送達ベクター（例えば、Ad5 conIFN - 送達ベクター）と、必要であれば1つ又は複数の免疫調節剤とを、錠剤又はカプセルの密封パッケージ、又は1つ又は複数の用量を投与可能な好適なドライパウダー吸入器（DPI）などに含む。

#### 【0133】

10

##### 経鼻又は経肺送達

鼻腔内投与又は経肺投与は、例えば経口投与、血管内投与又は筋肉内投与と比べていくつかの利点を有する。特に、鼻腔内又は経肺投与経路はアデノウイルスベクター系にとってそれほど過酷でない。例えば鼻上皮に存在するタンパク質分解酵素はより少なく、環境はより中性に近いpHを有する（すなわち、酸性度が低い）。また、腸管腔の内容物の変化が大きく、従って当該の環境でベクターが細胞を形質導入/トランスフェクトする能力により大きいばらつきが出るであろう腸と比べて、鼻粘膜又は肺粘膜ではウイルス送達ベクターの粒子の取り込みがより一貫しているものと思われる。さらに、鼻粘膜には十分な水分があり、従って透過性が高い粘膜部位である。

#### 【0134】

20

従って、一実施形態において、本発明のIFN - 送達ベクター、及びそれを含む医薬組成物は鼻腔内経路又は経肺経路により、例えば凍結乾燥粉末形態で、エアロゾル液体形態で、又はゲル形態で送達される。これらの投与経路は宿主免疫系による例えばAd5ベクターの認識を回避し、従って宿主が有し得る任意の既存免疫が回避される。加えて、鼻腔内送達及び経肺送達は、集団配布が必要な場合に容易に投与することが可能である。

#### 【0135】

本発明の組成物の経肺投与及び/又は鼻腔内投与は、例えばミスト（水性又は細末）を、それぞれ肺（上気道及び/又は下気道）又は鼻上皮に提供することを含む。この投与形態は、従来の有針注射と比べて数多くの利点を有する。第一に、これには針の使用が関与せず、すなわち「無痛」であるため患者コンプライアンスが良好となることを意味する。第二に、経肺投与及び鼻腔内投与により自己投与が可能のため医師の時間が節約され、器具の使用が不要となり、且つ患者の不安が取り除かれる。第三に、砂糖又は塩ベースのプラセボ粉末又は溶液を使用することにより、痛みなしに投与訓練が促進される。第四に、例えば、針を介した細菌/ウイルス汚染により引き起こされる医療問題又は不潔な注射部位による他の問題が起こるリスクがない。第五に、エアロゾル又は粉末の分散により、ワクチンが綿密に且つより一様に適用される。第六に、投与装置の特徴に基づき、例えば上気道及び/又は下気道での効果的な付着が起こるようにワクチンの粒度を制御することができる。さらに、有針投与は典型的には、注入された薬物が身体の正しいコンパートメント（すなわち、筋肉内と比べたときの静脈内）に適切に送達されることを確実にするため、訓練を受けた医療専門家が必要である。エアロゾル化アデノウイルスベクターの調製

30

40

etacgi/nph-  
Parser?Sect1=PTO1&Sect2=HITOFF&d=PALL&p=1&u=%2Fnetacgi/nph-  
Fsrchnum.htm&r=1&f=G&l=50&s1=7,097,827.PN.&OS=PN/7,097,827&RS=PN/-  
hOhttp://patft.uspto.gov/netacgi/nph-  
Parser?Sect1=PTO1&Sect2=HITOFF&d=PALL&p=1&u=%2Fnetacgi/nph-  
Fsrchnum.htm&r=1&f=G&l=50&s1=7.097,827.PN.&OS=PN/7.097.827&RS=PN/-  
h2第7,097,827号明細書に記載されている。

#### 【0136】

ジェット式或いは超音波式のネブライザーでの使用に好適な製剤は、典型的にはベクタ

50

ー（例えば、Ad5-conIFN-ベクター）を、例えば溶液1mL当たり約0.01~25mgのベクター、好ましくは約0.1~10mg/mLの濃度で水性媒体中に含む。製剤はまた、緩衝剤及び単糖（例えば、タンパク質を安定化させ、及び浸透圧を調節するため）、及び/又はヒト血清アルブミンも0.1~10mg/mLの濃度範囲で含む得る。用いられ得る緩衝剤の例は、酢酸ナトリウム、クエン酸塩及びグリシンである。好ましくは、緩衝剤は、溶液を3~9の範囲のpHに調整するのに好適な組成及びモル濃度を有し得る。概して、1mM~50mMの緩衝剤モル濃度がこの目的に好適である。通常は製剤の1重量%~90重量%（例えば、1重量%~50重量%、より好ましくは5重量%~30重量%）の範囲の量である賦形剤の例としては、例えば、フルクトース、マルトース、ガラクトース、グルコース、D-マンノース、ソルボースなどの単糖類；ラクトース、スクロース、トレハロース、セロビオースなどの二糖類；ラフィノース、メレジットース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプンなどの多糖類；マンニトール、キシリトール、キシロース、マルチトール、ラクチトール、キシリトール、ソルビトール（グルシトール）、ソルビトース、ピラノシルソルビトール、ミオイノシトールなどのアルジトール；及びグリシン、CaCl<sub>2</sub>、ヒドロキシエクトイン、エクトイン、ゼラチン、ジミオ-イノシトールリン酸（DIP）、環状2,3ジホスホグリセレート（cDPG）、1,1-ジ-グリセロールリン酸（DGP）、-マンノシルグリセレート（フィロイン）、-マンノシルグリセルアミド（フィロインA）、プロリンベタイン及び/又はその誘導体並びに組み合わせが挙げられる。

10

20

#### 【0137】

ネブライザー製剤はまた、エアロゾルを形成する際の溶液の霧化によって引き起こされる組成成分の表面誘起凝集を低減又は防止するため、界面活性剤も含有し得る。ポリオキシエチレン脂肪酸エステル及びアルコール、並びにポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルなどの、様々な従来 of 界面活性剤を用いることができる。量は、概して製剤の0.001重量%~4重量%の範囲である。本発明の目的上特に好ましい界面活性剤は、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエートである。

#### 【0138】

本発明の液状粒子の好適な分散体を生成する特定の製剤及び方法については、例えば、国際公開第94/20069号パンフレット、米国特許第5,915,378号明細書、米国特許第5,960,792号明細書、米国特許第5,957,124号明細書、米国特許第5,934,272号明細書、米国特許第5,915,378号明細書、米国特許第5,855,564号明細書、米国特許第5,826,570号明細書、及び米国特許第5,522,385号明細書（その各々が参照により本明細書に援用される）に記載される。

30

40

#### 【0139】

本発明の組成物（例えば、インターフェロン（例えば、Ad5-conIFN-）をコードする核酸分子を含むアデノウイルスベクター）は、選択的に鼻腔内投与される。Ad5ウイルスは、遺伝子を鼻粘膜の上皮細胞に送達する効率が極めて高い。粘膜投与は、侵入口で全身性免疫及び粘膜免疫の双方を刺激するため効率的である（例えば、Gutierreroら、Vaccine 20:2181~2190頁、2002年；及びPatelら、J. Infect. Dis. 196:S413~420頁、2007年を参照のこと）。加えて、生Ad5ウイルスをIFNの送達に利用すると、さらなる免疫刺激経路が提供され、従って最大効果の実現を確実にするアジュバントとして作用する。従って、本発明の組成物を感染病原体（例えばウイルス）が侵入する部位に送達すると、所要用量は下がるものと思われる。エアロゾル液滴（直径>2μm）をこのコンパートメントに効果的に送達するための特別な器具が開発されている（例えば、粘膜用噴霧装置（Mucosal Atomization Device）（MAD300）、Wolfe Torry Medicalを参照のこと）。1μm未満のエアロゾルは気道に至るまでさらに侵入して有害な作用を引き起こし得るため、液滴（又は粉末状粒子）のサイズは重要である。

50

## 【0140】

本発明の組成物はまた、例えば定量噴霧式吸入装置を使用して、粉末形態で送達することもできる。この粉末は凍結乾燥により製造されてもよく、またヒト血清アルブミン(HSA)などの安定剤も含み得る。典型的には0.5%(w/w)超のHSAが添加される。加えて、必要であれば、1つ又は複数の特徴を増進するため(例えば、装置からの粉末の散布を容易にするため、ワクチン組成物の有効期間を延ばすため、又は凍結乾燥中のワクチン組成物の安定性を向上させるため)以下の1つ又は複数が賦形剤として製剤に添加されてもよい:フルクトース、マルトース、ガラクトース、グルコース、D-マンノース、ソルボースなどの単糖類;ラクトース、スクロース、トレハロース、セロビオースなどの二糖類;ラフィノース、メレジトース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプン、などの多糖類;マンニトール、キシリトール、キシロース、マルチトール、ラクチトール、キシリトール、ソルビトール(グルシトール)、ソルビトース、ピラノシルソルビトール、ミオイノシトールなどのアルジトール;及びグリシン、CaCl<sub>2</sub>、ヒドロキシエクトイン、エクトイン、ゼラチン、ジ-ミオ-イノシトールリン酸(DIP)、環状2,3ジホスホグリセレート(cDPG)、1,1-ジ-グリセロールリン酸(DGP)、-マンノシルグリセレート(フィロイン)、-マンノシルグリセルアミド(フィロインA)、プロリンベタイン及び/又はそれらの誘導体並びに組み合わせ。製剤への添加量は、存在するベクターの約0.01~200%(w/w)、好ましくは約1~50%(w/w)、及びより好ましくは約5~30%(w/w)の範囲であり得る。次にかかる製剤は凍結乾燥され、所望の粒度に粉碎される。粉末の粒子は鼻腔及び肺内で空力特性を有するものでなければならず、これは50µm未満、好ましくは1.5~10µm、より好ましくは1.8~7.0µm、及び最も好ましくは約2.0~4µmの直径中央値を有する約1g/cm<sup>2</sup>の密度の粒子に相当する。平均粒子直径は、Cascade Impactor(Anderesen, Ga.)などの従来機器を使用して計測することができる。

10

20

## 【0141】

本発明の乾燥粉末製剤は、好都合には、初めにベクター(例えば、インターフェロン(例えばAd5-conIFN-)をコードする核酸分子を含むアデノウイルスベクター又は本発明の他の核酸コンストラクト)を水溶液中に懸濁することにより製剤化され得る。ベクター及び任意の添加賦形剤材料の相対量は、ベクターの賦形剤に対する所望の最終比に依存し得る。好都合には、ベクターの賦形剤に対する比は約2:1~1:100(ベクター:賦形剤)、好ましくは1:1~1:10の範囲であり、水性懸濁液中における総固形分濃度は一般的には5重量%未満であり、より一般的には3重量%未満である。

30

40

## 【0142】

粉末は、界面活性剤を用いることにより噴射剤中に懸濁されてもよい。噴射剤は、クロロフルオロカーボン、ヒドロクロロフルオロカーボン、ヒドロフルオロカーボン、又は炭化水素、例えば、トリクロロフルオロメタン、ジクロロジフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタノール、及び1,1,1,2-テトラフルオロエタン、又はそれらの組み合わせなどの、この目的に用いられる任意の従来材料であってよい。好適な界面活性剤としては、三オレイン酸ソルビタン及び大豆レシチンが挙げられる。オレイン酸もまた界面活性剤として有用であり得る。この混合物は、その後デリバリー装置に装填される。

## 【0143】

ウイルスベクターを含む本発明の組成物の場合、乾燥後のウイルスベクターの活性を増進するため、通常は水溶液を緩衝することが望ましい。緩衝剤又はpH調整剤は、典型的には例えば有機酸又は塩基から調製される塩を含む。代表的な緩衝剤としては、クエン酸、アスコルビン酸、グルコン酸、炭酸、酒石酸、コハク酸、酢酸、又はフタル酸の有機酸塩、トリス、塩酸トロメタミン、又はリン酸緩衝剤が挙げられる。

## 【0144】

本発明の組成物の製剤中に含めることのできるさらなるポリマー賦形剤/添加剤としては、例えば、ポリビニルピロリドン、誘導体化セルロース、例えばヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、及びヒドロキシプロピルメチルセルロースなど、

50

F i c o l l (ポリマー糖)、ヒドロキシエチルデンプン、デキストレート(例えば、2-ヒドロキシプロピル-シクロデキストリン及びスルホブチルエーテル-シクロデキストリンなどのシクロデキストリン)、ポリエチレングリコール、及びペクチンが挙げられる。

【0145】

こうした装置で使用される本発明の粉末組成物は、国際公開第96/32149号パンフレット、国際公開第97/41833号パンフレット、及び国際公開第98/29096号パンフレット、及び米国特許第7,482,024号明細書; <http://patft.uspto.gov/netacgi/nph-Parser?Sect1=PTO1&Sect2=HTO&f=G&l=50&s1=7.481.212.PN.&OS=PN/7.481.212&RS=PN/-h0http://patft.uspto.gov/netacgi/nph-Parser?Sect1=PTO1&Sect2=HTO&f=G&l=50&s1=7.481.212.PN.&OS=PN/7.481,212&RS=PN/-h2>

10

同第7,481,212号明細書;同第7,371,373号明細書;同第6,303,582号明細書;同第6,001,336号明細書;同第5,997,848号明細書;同第5,993,783号明細書;同第5,985,248号明細書;同第5,976,574号明細書;同第5,922,354号明細書;同第5,785,049号明細書;及び米国特許第5,654,007号明細書(その各々が参照により本明細書に援用される)に開示される方法により生成及び/又は送達され得る。粉末形態はまた、例えば、

20

予め充填された投与装置、例えば米国特許第5,437,267号明細書;同第6,068,199号明細書;同第6,715,485号明細書;同第5,994,314号明細書;同第7,235,391号明細書;及び同第6,398,774号明細書(その各々が参照により本明細書に援用される)に記載される装置を使用して投与することもできる。粉末は、概して約20重量%未満、通常は約10重量%未満、及び好ましくは約6重量%未満の含水率を有し得る。かかる低含水率の固形物は、パッケージング及び貯蔵時により高い安定性を呈する傾向がある。

【0146】

本発明の組成物の経肺送達及び/又は経鼻送達用に設計された機械的装置としては、限定はされないが、ネブライザー、定量噴霧式吸入器、及びパウダー吸入器が挙げられ、これらは全て当業者に周知されている。本発明の実施に好適な市販の装置の具体例は、Mallinckrodt, Inc., St. Louis, Mo., 米国により製造される Ultravent ネブライザー; 粘膜用噴霧装置 (Mucosal Atomization Device) (例えば、MAD300)、Wolfe Tory Medical; Marquest Medical Products, Englewood, Colo., 米国により製造される Acorn II ネブライザー; Glaxo Inc., Research Triangle Park, N.C., 米国により製造される Ventolin 定量噴霧式吸入器; OptiNose, Oslo, ノルウェーにより製造される OptiNose 装置; Fisons Corp., Bedford, Mass., 米国により製造される Spinhaler パウダー吸入器 Nektar Therapeutics, Inc., San Carlos, Calif., 米国の「スタンディング・クラウド (standing cloud)」装置; Alkermes, Cambridge, Mass., 米国により製造される AIR 吸入器; 及び Aradigm Corporation, Hayward, Calif., 米国により製造される AERx 肺薬物送達システムである。また、例えば、米国特許第5,522,378号明細書;同第5,775,320号明細書;同第5,934,272号明細書;及び同第5,960,792号明細書に記載されるデリバリー装置;米国特許第6,715,485号明細書;同第7,347,201号明細書;及び同第7,481,218号明細書における OptiNose 装置; 及び米国特許出願公開第2004/0112378号明細書;同第2005/0072430号明細書;同第2004/0112379号明細書;同第2004

30

40

50





レシチンなどの界面活性剤；1 - 置換アザシクロヘプタン - 2 - オン、特に1 - n - ドデシルシクラザシクロヘプタン - 2 - オン；ラウリルアルコール、ミリスチルアルコール、オレイルアルコールなどの脂肪アルコール；ラウリン酸、オレイン酸及び吉草酸などの脂肪酸；ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、メチルプロピオネート、及びオレイン酸エチルなどの脂肪酸エステル；ポリオール及びそのエステル、例えば、プロピレングリコール、エチレングリコール、グリセロール、ブタンジオール、ポリエチレングリコール、及びポリエチレングリコールモノラウレート、アミド及び他の窒素化合物、例えば、尿素、ジメチルアセトアミド (DMA)、ジメチルホルムアミド (DMF)、2 - ピロリドン、1 - メチル - 2 - ピロリドン、エタノールアミン、ジエタノールアミン及びトリエタノールアミン、テルペン；アルカノン、及び有機酸、特にサリチル酸及びサリチラート、クエン酸及びコハク酸が挙げられる。透過促進剤は約0.1 ~ 約30% w/w存在し得る。好ましい透過促進剤は脂肪アルコール及び脂肪酸である。ゲル組成物はまた、緩衝剤、例えば、炭酸緩衝剤、クエン酸緩衝剤、リン酸緩衝剤、酢酸緩衝剤、塩酸、乳酸、酒石酸、無機及び有機塩基も含み得る。緩衝剤は、当業者は理解するとおり、使用される1つ又は複数の緩衝剤のタイプに応じて約1 ~ 約10重量パーセントの濃度で存在してもよく、より好ましくは約2 ~ 約5重量パーセントの濃度である。しかしながら1つ又は複数の緩衝剤の濃度は様々であり得るとともに、緩衝剤は組成物中で最大100%の量の水に置き換えられてもよい。

10

【0149】

投薬量

20

本発明の医薬組成物は、ウイルスなどの病原体による感染に対する免疫原性及び/又は防御作用を提供する治療上の有効量で投与することができる。例えば、組成物が、IFN (例えば、conIFN - などのIFN - )をコードするウイルスベクター (例えば、Ad5ベースのベクター)を含む場合、少なくとも約 $1 \times 10^3$ 個のウイルス粒子 (vp) /用量又は $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^{14}$  vp /用量、好ましくは $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^{12}$  vp /用量、及びより好ましくは $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^{11}$  vp /用量 (例えば、 $1.5 \sim 3.0 \times 10^8$  vp /ml)のウイルスベクターが、宿主細胞で発現した後にIFNの治療上の有効量を提供する。単一のウイルス粒子が、ウイルス及び非ウイルスタンパク質 (例えば、ウイルス構造及び非構造タンパク質及び非内因性IFNを含む)をコードし、且つタンパク質サブユニットを含む保護膜 (例えば、脂質ベースのエンベロップ又はタンパク質ベースのカプシド)により囲まれた1つ又は複数の核酸分子 (DNA又はRNAのいずれか)を含む。ウイルス粒子数は、例えばベクター粒子の溶解と、それに続く260nmでの吸光度計測に基づき計測することができる (例えば、Steel, Curr. Opin. Biotech. 10: 295 ~ 297頁、1999年を参照のこと)。

30

【0150】

組成物が、IFN (例えば、conIFN - などのIFN - )をコードする核酸分子を含む非ウイルスベクターである場合、対象は少なくとも約 $1 \times 10^1$ 分子 /用量、例えば、 $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^{15}$ 分子 /用量、好ましくは $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^{10}$ 分子 /用量、及びより好ましくは $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^8$ 分子 /用量の非ウイルス送達ベクターを投与されなければならない。非ウイルスベクターの単一の核酸分子には、例えば、プラスミド、コスミド、酵母又は細菌人工染色体の形態の1つ又は複数の核酸分子 (例えば、DNA又はRNA)、及び裸の形態で投与されるか、又は保護物質 (例えば、脂質又は脂質ベースのエンベロップ、ペプチド、及びポリマー)により取り囲まれているか、若しくはそれと複合体を形成しているバクテリオファージ (bacteriophage)が含まれる。

40

【0151】

投与される投薬量は、治療される対象 (例えば、年齢、体重、免疫系の能力、及び治療される対象の全般的健康状態)、投与形態 (例えば、固体又は液体として)、投与方法 (例えば、注射、吸入、乾燥粉末噴射剤により)、及び標的とされる細胞 (例えば、血管上皮細胞、鼻上皮細胞、又は肺上皮細胞などの上皮細胞)に依存する。組成物は、好ましく

50

は、治療により宿主において過度の有害な生理学的影響が引き起こされることなしに免疫応答を誘発するのに十分なレベルのIFNの発現を提供する量で投与される。

【0152】

加えて、本発明の組成物の単回又は複数回投与が（曝露前又は曝露後に）対象に与えられ得る（例えば、1回の投与又は2回以上の投与）。例えば、例えばウイルス感染を特に起こしやすい対象は、ウイルスに対する防御を確立及び/又は維持するために複数回の処置が必要となり得る。本明細書に記載される医薬組成物により提供される誘導免疫のレベルは、例えば中和分泌及び血清抗体量を計測することによりモニタすることができる。次に必要に応じて投薬量が調整又は反復され、例えばウイルス感染に対する所望のレベルの防御が維持され得る。

10

【0153】

或いは、治療の効力は、対象（例えばヒト）において本発明の組成物（例えば、Ad5-IFN-ベクター）の投与後に発現するIFN-のレベルをモニタすることにより決定することができる。例えば、対象の血液又はリンパをIFN-レベルについて、例えば当該技術分野において公知の標準アッセイを使用して検査することができる（例えば、Pestka Biomedical Laboratories (PBL)、Piscataway、New JerseyからのヒトインターフェロンアルファマルチスピーシーズELISAキット（製品番号41105）及びヒトインターフェロンアルファ血清サンプルキット（製品番号41110）を参照のこと）。治療の有効性はまた、二本鎖RNA (dsRNA) 依存性プロテインキナーゼR (PKR)、2'-5'-オリゴアデニル酸シンターゼ (2'-5'-OAS)、IFN誘導性Mxタンパク質、トリプトファン分解酵素（例えば、Pfefferkorn、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:908~912頁、1984年を参照のこと）、アデノシンデアミナーゼ (ADAR1)、IFN活性化遺伝子20 (ISG20)、p56、ISG15、mGBP2、GBP-1、APOBECタンパク質、ビペリン、又は他の因子などのIFN-上方制御因子の発現又は活性化のレベルをモニタすることにより決定することもできる（例えば、Zhangら、J. Virol.、81:11246~11255頁、2007年、及び参照により全体として本明細書に援用される米国特許第7,442,527号明細書を参照のこと）。

20

【0154】

本発明の組成物の単一の鼻腔内用量により、曝露前に、感染病原体（例えばウイルス因子）からの防御が実現される。これは、現在のIFN-治療に必要な週に数回の用量又はさらには1日に複数回の用量からの劇的な向上である。加えて、ウイルス性又は他の感染性の因子への曝露後（例えば、24時間以内）に直接投与される単一用量が、本発明に係る処置として機能し得る。本発明の組成物の単一用量の有効性により、典型的には広範なパニック状態が続いて起こる汎流行又はバイオテロ攻撃において難題となる被治療者の追跡及び再治療若しくは再ワクチン接種の必要性がなくなる。

30

【0155】

また、本発明の組成物の単一の鼻腔内用量を用いて、自己免疫疾患又は癌の処置を受ける対象において治療を実現することもできる。必要に応じて、そうした対象に複数用量（例えば、2、3、4、5用量又はそれ以上）もまた投与され得る。

40

【0156】

貯蔵安定性

本発明の組成物の医薬製剤（例えば、Ad5-conIFN-送達ベクターを含む製剤）は長い有効期間を実証し、これは他のアデノウイルス、抗ウイルス、又はワクチン製品と比べて利点を提供する。特に、製造して凍結乾燥（フリーズドライ）され得る本発明のAd5ベースのIFN-送達ベクターは、室温で保存したとき少なくとも約1、2、3、又は4週間、好ましくは少なくとも約1、2、3、4、5、6、12、又は18ヶ月、より好ましくは少なくとも20ヶ月、さらにより好ましくは少なくとも約22ヶ月、及び最も好ましくは少なくとも約24ヶ月の有効期間を示す。これは軍隊にとって、及び公

50

衆衛生部門が薬物の冷蔵を保証できない発展途上国において、極めて重要である。本発明の組成物の有効期間は、4 で保存することにより延長することができる。

【0157】

本発明のアデノウイルスベクター含有組成物の有効期間は、例えばアデノウイルスベクター力価を測定することにより（例えば、Croyler, Gene Therapy 8:1281~1290頁、2001年を参照のこと）、又はIFNを含有する送達媒体（例えば、ウイルス又は非ウイルス送達媒体）の生物活性（例えば、細胞をトランスフェクトし、生物学的に活性なIFNを発現する能力）を評価することにより、評価することができる。一実施形態において、本発明の組成物は、少なくとも12ヶ月にわたり室温で保存した後、元の力価（又は生物活性）の20%未満、より好ましくは10%未満、及び最も好ましくは5%未満の喪失を示す。他の実施形態において、本発明の組成物は、少なくとも24ヶ月にわたり室温で保存した後、元の力価（又は生物活性）の40%未満、より好ましくは30%未満、及び最も好ましくは20%未満の喪失を示す。

10

【0158】

本発明の組成物の医薬製剤はまた、約30~約55の範囲の温度（例えば、約45）で保存したとき、少なくとも約1~15日又は2~4週間又はさらには少なくとも約2~6ヶ月の有効期間を示す。一実施形態において、保存される組成物は乾燥した非再構成粉末形態である。好ましくは、約30~約55の範囲の温度で保存される本発明の組成物は、1週間~2ヶ月の範囲内のある期間保存されるとき、元の力価（又は生物活性）の40%未満（より好ましくは30%、20%、又は10%未満、及び最も好ましくは5%未満）を示す。

20

【0159】

別の実施形態において、本発明の組成物の医薬製剤は、凍結して（例えば、4未満の範囲の温度（例えば、0~約-1900）で）保存されるとき、少なくとも約1、2、3、又は4週間、好ましくは少なくとも約1、2、3、4、5、6、12、又は18ヶ月、より好ましくは少なくとも20ヶ月、さらにより好ましくは少なくとも約22ヶ月、及び最も好ましくは少なくとも約24ヶ月の有効期間を示す。この実施形態において、組成物は、安定化されていない凍結液として保存することができる。好ましくは、4未満の温度（例えば、0~約-20）で保存される本発明の組成物は、2ヶ月~2年の範囲のある期間保存したとき、元の力価（又は生物活性）の40%未満（より好ましくは30%、20%、又は10%未満、及び最も好ましくは5%未満）の喪失を示す。

30

【0160】

本発明の組成物の長期にわたる安定性及び有効期間の利点としては、以下が挙げられる：  
 a) コールドチェーンが不要であることに伴う組成物の保存の容易さ、これにより、電気を安定的に利用できない地域（例えば、第三世界経済諸国及び被災若しくは紛争地帯）に組成物を普及させて貯蔵できる可能性が高まり、及び冷蔵手段のない地域において輸送又は使用しなければならない「物資」が減るため軍事行動のテンポが向上する；  
 b) 薬物を兵士のバックパック又はWHO災害輸送車両の後部に投入することができる場合、前方展開が可能である；  
 c) 解凍による損失が軽減されるため、薬物の無駄が少ない；及び  
 d) 組成物の保存に冷蔵手段を含む必要がなく、戦略的国家備蓄資材（Strategic National Stockpile (SNS)）保管スペース倉庫の使用の費用対効果がより高い。

40

【0161】

本発明のAd5ベースのIFN-送達ベクターの他の利点が図4に示される。

【0162】

キット

本発明はまた、凍結乾燥粉末形態の本発明のIFN-送達ベクターと、粉末の再構成に使用することのできる水和媒体（例えば、滅菌水又は生理食塩水）のバイアルとを含むキットも提供する。別の実施形態において、キットは、凍結乾燥粉末形態の本発明のIFN-送達ベクターの容器と、容器と組み合わせて投与中に容器の内容物を放出させるこ

50

とのできる別個のデリバリー装置とを含む。キットはまた、凍結乾燥粉末形態の本発明の I F N - 送達ベクターの容器と、必要であれば、粉末の再構成に使用することのできる水和媒体（例えば、滅菌水又は生理食塩水）のバイアルと、エアロゾル形態の粉末又は再構成された液体としての I F N - 送達ベクターの放出に使用することのできる（例えば、経肺投与又は鼻腔内投与による）デリバリー装置とを含み得る。本発明のキットは、場合により、治療又は予防方法を含めた本明細書に記載される任意の方法の実施についての使用説明書、本明細書に特定される任意の組成物の使用についての使用説明書、及び/又は本明細書に記載される任意の機器、システム、装置、又は構成要素の操作についての使用説明書、並びにパッケージング材料を含む。

【実施例】

【0163】

以下の実施例は本発明を例示するものである。これらはいかなる形においても本発明を限定することは意図しない。

【0164】

実施例 1：西部ウマ脳炎ウイルス及びベネズエラウマ脳炎ウイルスに対する曝露前及び曝露後防御の有効性

A d 5 - I F N - 送達ベクターの使用により、米国疾病管理予防センター（U . S . Centers for Disease Control and Prevention : CDC）によりカテゴリー B 病原体として分類される節足動物（蚊）媒介アルファウイルスである西部ウマ脳炎ウイルスに対して曝露前及び曝露後の双方の防御がもたらされることが示されている（W E E V ; Wu ら、V i r o l o g y 3 6 9 : 2 0 6 ~ 2 1 3 頁、2 0 0 7 年）。この試験では、マウスに筋肉内注射により  $10^7$  PFU の A d 5 - m I F N A を接種し、一連の時間点で様々な W E E V 株により攻撃した。A d 5 - m I F N A は、曝露の 2 4 時間前、4 8 時間前、及び 1 週間前に投与したとき完全防御を示し、及び曝露の 1 3 週間前に処置したとき 3 8 % の防御を示した。攻撃の 6 時間後の単回接種により W E E V 感染の進行が遅延し、約 6 0 % の防御がもたらされた。

【0165】

ベネズエラウマ脳炎ウイルス（V E E V）を用いた試験においても同様の結果が得られた。V E E V はより感染性の高いウイルスであり、A d 5 - I F N - を筋肉内投与した結果、曝露 2 4 時間前に投与したとき 1 0 L D 5 0 に対する完全防御が（他の時間点は試験しなかった）、及び 1 0 0 L D 5 0 に対する 7 5 % の生存率がもたらされた。この場合、曝露後投与したときは A d 5 - I F N は防御を示さなかった（O ' B r i e n ら、J . Gen . V i r o l . 9 0 : 8 7 4 ~ 8 8 2 頁、2 0 0 9 年）。

【0166】

実施例 2：本発明の組成物の使用

曝露前（イベント後）予防：本発明の組成物は、例えば、ウイルスベースの生物兵器の脅威又は地域流行性のウイルス脅威に曝されるリスクに対する単回投与型広域抗ウイルス予防医療対策として使用することができる。

【0167】

軍隊又は法執行機関のオペレーション

本発明の組成物は、オペレーション中にウイルスベースの生物兵器脅威に曝される軍隊、法執行機関、又は地域緊急時コーディネーター（L E C）人員のための予防として使用することができる。本発明の組成物（例えば、c o n I F N - をコードする核酸分子を含み、且つ鼻粘膜に送達するための凍結乾燥粉末として製剤化される A d 5 送達ベクター）の兵士に対する投与の決定は、例えば、a）バイオセンサーにより計測したときの（機器上のエアロゾル又は表面汚染としての）特定可能な生物兵器剤の存在、b）敵によってかかるウイルスベースの兵器が展開されている、又は展開され得るという情報、又は c）罹患した歩哨動物、又は d）ウイルス疾患の症状を呈すると見込まれる被害者との兵士による接触に基づき得る。

【0168】

10

20

30

40

50

研究中の曝露

その仕事そのものの性質上、病原性ウイルス又は他の生物学的脅威に日常的に接している研究者又は製造者により、及び機器又はプロトコルのエラーに対するさらなる予防措置のため、同様のシナリオが提示される。本発明の組成物は、こうした個人に対しても同様に予防（曝露前又は曝露後）として使用することができる。

【0169】

実施例3：メディカルチェーン

本発明の組成物は、メディカルチェーンにおいて従事する者、例えば、医師、看護師、清掃員、及びその他の、ウイルス又は細菌感染症に罹患しているか、又は感染症を有し得る患者と接触する者に対して予防的に投与することができる。本発明の組成物は広域性であるため、生物病原体についての情報を入手する前、及びウイルス病原体を確実に特定する時間がない場合にも、対象に投与することが可能である。本発明の組成物はまた、ウイルスが汎流行の間に突然変異し、確立されたワクチンが無効となるか、又は防御性が低くなる場合にも有益である。

【0170】

実施例4：公衆衛生曝露直後のリングトリートメント (ring treatment)

患者が先立つ24時間内にウイルス脅威と接触したことが分かった場合、本発明の組成物（例えば、IFN-（例えばconIFN-）をコードする核酸分子を含み、且つ経鼻又は経肺送達用に、例えばエアロゾル粉末又は液体ミストとして製剤化されるAd5送達ベクター）を曝露後処置として投与することができる。必要であれば、本発明の組成物は、感染症が発生した周辺の所定範囲内にいる感受性を有する全ての人に、例えば「リング」トリートメントとして投与することができる。リングトリートメントは、各感染者の周辺一円の人々を処置及び監視することにより発生を制御する。

【0171】

疑いのある曝露の処置

生物脅威に対する曝露が確認されない場合であっても、IFNの副作用は最小限であるため、本発明の組成物は被曝したと考えられる（「過度に不安を感じる (worried well)」）人々に投与することができる。例えば、マサチューセッツ州のあるクランベリー栽培者が蚊に刺されて病気になる。例えば、東部ウマ脳炎 (EEE) の地方病的流行のリスクがあるため、その人には本発明の組成物を、例えば経鼻送達又は経肺送達により（例えば、エアロゾル粉末又は液体ミストとして）投与し、クランベリー湿地帯付近での農作業の前に改善の兆候を観察することができる。

【0172】

曝露後予防

集団レベルでは、ウイルス脅威の広がりが分かっているか、又はそれが起こったと考えられる場合、本発明の組成物を、例えば経鼻送達又は経肺送達により（例えば、エアロゾル粉末又は液体ミストとして）投与し、ウイルス脅威の蔓延を阻止することができる。この場合、被投与者の感染状況が分からないまま介入 (intervention) が施され、従って予防及び治療の機能が適用される可能性が高い。

【0173】

実施例5：Ad5ベクター化IFNの獣医学的適応

インターフェロンポリペプチドの広域性の抗ウイルス能力は、獣医学においてよく認識されている。実際、IFNの経口投与は、サラブレッド競走馬の輸送熱 (Akaiら、J. Equine Sci. 19: 91頁、2008年) 及びウシが罹るウシ呼吸器病 (BRDC; Cumminsら、J. Inf. & Cyto. Res. 19: 907頁、1999年) に、及びウマの呼吸器疾患の全般的な処置において (Mooreら、Can. Vet. J. 45: 594頁、2004年) 有効な処置である。Ad5-IFNの鼻腔内送達又は経肺送達は、反復投与及び高コストという現在の制約を解消し得る。本発明の組成物の投与に用い得るウマに対する鼻腔内デリバリーシステムについて、例えば参照により

本明細書に援用される米国特許第 6, 398, 774 号明細書に記載されている。Ad5-IFN 産生系の使用は、実験動物で安全且つ有効であることが示されている（例えば、Wuら、Virology 369:206頁、2007年を参照のこと）。

【0174】

他の獣医学的適応としては、リフトバレー熱などの病原体による汎流行の治療又は予防、地方病性病原体の治療又は予防、及び意図的に放出される病原体の治療又は予防が挙げられる。これに関連して治療又は予防は、食物連鎖内の動物の破局的消失が起こる可能性を防止又は軽減する。

【0175】

実施例 6：Ad5-VEE/WEE/EEE ウマワクチン

これまでのところ、ワクチン接種は極めて感染性の高い蚊媒介脳炎アルファウイルスに効く唯一の手段である。北米の全てのウマがリスクを有し、ワクチン接種が推奨される。従来の技術によって製造される現在市販の三価ワクチンが防御を提供するには、1年に複数回の注射及び追加免疫が必要である。アデノウイルスを使用する「生ワクチン」手法は、ただ1回の鼻腔内投与を使用して迅速且つ持続的な防御をもたらす安全な手段を提供する。

【0176】

実施例 7：1つ又は複数の二次抗ウイルス薬とのAd5-IFNの同時投与

Ad5-IFN送達媒体（例えば、conIFN-又は本明細書に記載される別のIFNをコードする）は、抗ヒスタミン薬及びノイラミニダーゼ阻害薬と組み合わせて鼻腔内投与するための薬学的に許容可能な賦形剤と共に製剤化することができる。この組成物は、ウイルス曝露前に、或いは曝露の48時間以内に対象に投与することができる。抗ヒスタミン薬は任意の鼻閉、例えば、ウイルス感染又は鼻炎により引き起こされる鼻道の詰まり又は閉塞の低減を促し、それによりAd5-IFN及びノイラミニダーゼ阻害薬の分散及び上気道及び/又は下気道の上皮によるその吸収を最大化する。かかる抗ヒスタミン薬の例は、フェキソフェナジン又はロラタジンなどのH1拮抗薬であり得る。ザナミビル（Relenza（登録商標）、GlaxoSmithKline）などのノイラミニダーゼ阻害薬は、例えば、A型及びB型インフルエンザウイルス並びに他のウイルスのウイルス複製に重要なウイルスノイラミニダーゼ糖タンパク質の強力な選択的阻害薬である。この3つの薬物の組み合わせの正味の効果はウイルス予防性の向上であり、ここではIFNが広域免疫応答を惹起し、ノイラミニダーゼ阻害薬が感染細胞からのウイルス放出を阻止し、及び抗ヒスタミン薬が鼻上皮への薬物の送達を確実にし、又は向上させる。

【0177】

或いは、Ad5-IFN送達ベクターは別個の組成物として鼻腔内に（intranasally）投与することができ、抗ヒスタミン薬及びノイラミニダーゼ阻害薬（例えば、リン酸オセルタミビル（Tamiflu（登録商標）、Roche Pharma））は別個の組成物又は単一の組成物で経口投与することができる（例えば、参照により本明細書に援用される米国特許第 6, 605, 302 号明細書を参照のこと）。

【0178】

実施例 8：プンタトロ（Punta Toro）ウイルス（ブニヤウイルス科（Bunyaviridae））の予防又は処置

リフトバレー熱ウイルス（RVFV）は、ヒト及び家畜に直接感染を引き起こす節足動物媒介ウイルス熱である。伝播様式は、感染性のヤブカ属（Aedes）又はイエカ属（Culex）の蚊に刺されることによる。家畜又は汚染された屠体を使って作業したり、それを取り扱ったり、又は処理したりする人においては、エアロゾル又は感染血液による機械的感染が報告されている。男女ともにあらゆる年齢の人が感受性を有し、RVFVに感染すると、網膜炎、脳炎、又は肝炎を発症し、致死性である出血を伴い得る（Heyman、Americian Public Health Association、Washington DC、2008年）。ケニヤでの最近の大発生では118人が死亡し、症例致死率は29%であった（CDC、Morb. Mortal. Wkly. Rep. 5

10

20

30

40

50

6 : 73 ~ 76 頁、2007年)。RVFVに対する認可済みワクチン又は有効な治療法はない。公衆衛生当局者の懸念を反映し、RVFVは国立アレルギー感染症研究所 (National Institute for Allergic and Infectious Diseases) によりカテゴリーA病原体として分類されており、保健社会福祉省 (Department of Health and Human Services) 及び米国農務省 (US Department of Agriculture) により「デュアル・エージェント (Dual Agent)」のステータスを受けている。

#### 【0179】

安定性が高く、投与が容易で、且つ長時間持続性の防御免疫を誘発する有効な対策が強く求められている。RVFVで直接作業することは極めて制約が大きく、高度なBSL-3+施設が必要となるため、本発明者らは最近になってシリアンハムスターで鼻腔内 (IN) 呼吸器経路プンタトコ (Punta Toro) ウイルス (PTV) 感染モデルを確立した。PTVはRVFVのBSL-2サロゲートであり、ヒトにおけるRVFV感染及び疾患の進行をモデル化するハムスターにおいて疾患を生じる (Gowenら、Antiviral Res. 77: 215 ~ 224 頁、2008年)。

10

#### 【0180】

この実験の目的は、PTVに対する曝露を無効にする予防剤としてのAd5-IFNを評価することであった。Ad5-IFN曝露の経路は、呼吸粘膜表面送達を刺激する鼻腔内 (IN) - ヒトにおいて提案される投与経路 - によった。10<sup>8</sup>、10<sup>7</sup>、及び10<sup>6</sup> PFUのAd5-IFNの用量 (n = 15) をPTVによる感染攻撃の24時間前に投与した。選択した用量は、高レベルの防御を実証する先行研究を基礎とし、及び体表面積を使用する典型的な投与量外挿式に基づきハムスターモデルにスケーリングした。図6に示されるとおり、PTVによる攻撃の少なくとも24時間前に示される用量でAd5-IFNを投与すると、リバビリン (ribavirin) 処置、エンブティベクター処置、及びプラセボ対照と比較して、100%の生存率となった。

20

#### 【0181】

加えて、本発明者らは、a) 予防として攻撃前 (最大で攻撃の21日前) 及びb) 最大で曝露の+48時間後に与えられる処置としてAd5-IFNで処置したマウスにおいて、気道及び皮下の双方のPTV攻撃感染に対する有意な防御を実証した。

30

#### 【0182】

実施例9：西部ウマ脳炎 (トガウイルス科 (Togaviridae) ) の予防又は処置

西部ウマ脳炎は、家畜及びヒトにおける蚊媒介性の重度に神経病原性の新興病原体群に相当するトガウイルス (Togavirus) 科のアルファウイルス (Alphavirus) 属に属する。WEEVは北アメリカ西部の地方病であり、自然界では野鳥を保有宿主として、及びクレスクレクス・タルサリス (Culex tarsalis) 蚊を媒介動物として含むサイクルを通じて維持され (Wuら、Virology 369: 206 ~ 213 頁、2007年)、全体的な症例致死率は年齢に応じて3% ~ 8%である。

#### 【0183】

兵器としては、WEEVはエアロゾル経路を介して容易に伝染させることができ、致死率は研究室の事故で40%もの高さである (Hansonら、Science 158: 1283 ~ 1286 頁、1967年)。近縁のウイルス - ベネズエラウマ脳炎ウイルス - が、米国及び旧ソビエト連邦により戦場での無能力化剤としてエアロゾル散布するために兵器化された。媒介動物のウマ及び蚊が生息する地域における生物兵器攻撃により流行を惹起し得ることが予想された (Eitzenら、「Medical Management of Biological Casualties」第3版、米国陸軍感染症医学研究所 (US Army Medical Research Institute of Infectious Disease)、Fort Detrick、Frederick MDにより国防総省 (Department of Defense) 向けに刊行、1998年)。既存の生物兵器として現在も続くこれらのウイルスに対する懸念及

40

50

び安全で有効なワクチン又は抗ウイルス薬の欠如は、公衆衛生上の懸念を提起しており、これらのウイルスはCDCでカテゴリーBバイオテロ脅威として挙げられている(CDC、疾病管理予防センター(Centers for Disease Control and Prevention);「Public Health Assessment of Potential Biological Terrorism Agents」第8巻、2010年)。

【0184】

この試験では140匹の雌性Balb/cマウス(10匹/群)を使用し、2つの試験に分けた;各々、合計70匹のマウスを使用した。第1の試験はWEEVカリフォルニア株に対する効力を調べ、第2の研究はWEEV CBA87株に対する効力を調べた。以下の処置群を双方の試験に使用した:

第1群~第5群:(それぞれ-21日目、-14日目、-7日目、-1日目又は+4時間目に)  $10^7$  PFUのAd5-IFNによる単回IN処置

第6群-攻撃4時間前を始端として0~8日目まで1日1回のIFN B/D(組換えマウス)  $2 \times 10^7$  IU/kg

第7群-対照:未処置で攻撃

【0185】

全てのマウスを、試験1では致死量の  $2.5 \times 10^3$  pfuのWEEVカリフォルニア株で、及び試験2では500 pfuのWEEV CBA87株で0日目に鼻腔内攻撃し、14日間にわたり疾患の臨床徴候を追跡し、瀕死状態/病的状態になった時点で安楽死させた。Ad5-IFN(マウス)の投与により予防ウィンドウにおける全ての動物で完全防御がもたらされ、及び+4時間処置群で100%(カリフォルニア)及び70%(CBA87)の生存率となった(図7A及び図7B)。

【0186】

実施例10:重症急性呼吸器症候群(コロナウイルス科(Coronaviridae))の予防又は治療

SARSは、近年に至り致死的な呼吸器疾患としてヒト集団に出現した。重篤な罹患者は急性呼吸窮迫症候群を発症し、これは剖検でびまん性肺胞障害に対応する。新しく発見されたコロナウイルスSCVがSARSの主な原因として特定されている。SARS患者は、リバビリン、オセルタミビル、抗生物質及びコルチコステロイドの組み合わせで実験的に治療されており、部分的に奏功している。組換えヒトインターフェロン(Alfacon(登録商標))による治療が臨床的に有望であることが示されている。

【0187】

10匹のマウスの群にウイルス曝露前(PVE)14日、7日、5日、又は3日の時点で1回、50  $\mu$ lのAd5-IFN(マウス、 $10^6$  PFU)をIN投与した。加えて、10匹のマウスの群にウイルス曝露後6時間、12時間、24時間の時点で1回、50  $\mu$ lのAd5-IFN(マウス)( $10^6$  PFU又は $10^5$  PFU)をIN投与した。双方の実験において、ポリICLCをウイルス曝露前24時間及びウイルス曝露後8時間の時点でIN経路により1mg/kgで与え、ウイルス感染の対照をとるための陽性対照として供し、及び15匹のマウスを各時間点において緩衝生理食塩水で処置してプラセボ対照とした。動物の死亡はウイルス曝露後最大21日間記録した。

【0188】

図8A及び図8Bに示されるとおり、Ad5-IFN(マウス)での処置により、処置群における全ての動物の完全防御がもたらされた。

【0189】

実施例11:黄熱ウイルス(フラビウイルス科(Flaviviridae))の予防又は処置

黄熱(YF)は急性感染性ウイルス疾患であり、症例致死率が20~50%で黄疸及び出血症状を特徴とする。YFは、都市部では蚊、典型的にはアエデス種(Aedes spp)により、及び森林地帯ではヘモゴグス種(Haemogogus spp)又はサベ

10

20

30

40

50



テス種 (*Sabethes spp*) により伝染し、ヒト又は霊長類が保有体となる。YF は、北緯 15 度から南緯 10 度の間の風土病地帯を有し、アフリカ 33 ヶ国及び南アフリカ 9 ヶ国及びカリブ海の島を包含し、総人口は合計 5 億人を超える (Heymann、*「Control of Communicable Disease Manual」*、米国公衆衛生協会 (American Public Health Association)、Washington, DC、2008 年)。有効なワクチンは利用可能だが、免疫化のカバレッジは一定せず、アフリカでは 30 ~ 95 % の範囲にわたる。認可済みの治療は存在しない。

#### 【0190】

ハムスターに (15 ~ 20 匹 / 群)、0.1 ml の希釈ウイルス ( $10 \text{ CCID}_{50}$  / 動物) を腹腔内 (IP) 注入した。Ad5-IFN は、 $1 \times 10^8$ 、 $5 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^6$ 、又は  $5 \times 10^5$ 、 $1.25 \times 10^6$  PFU / 動物の用量で -4 時間目に 1 回、鼻腔内点滴注入により投与した。21 日間にわたり毎日死亡率を観察し、0、3、及び 6 dpi に体重を記録した。4 dpi にウイルス力価測定のため剖検で各群 5 匹の動物から肝組織を摘出した。第 2 の試験において、動物に -4 時間、又は感染後日数 (dpi) + 1 日、+ 2 日又は + 3 日の時点で  $5 \times 10^7$  PFU の IN Ad5-IFN を投与し、前の実験と同じ対照を使用した。

#### 【0191】

Ad5-IFN の  $1 \times 10^8$  pfu 及び  $5 \times 10^7$  pfu の上位 2 つの用量でハムスターの完全防御が観察された (図 9A)。用量が低いほど死亡率の上昇が起こる用量反応が見られたが、しかしながらこれらの群では対象と比べて生存率が大幅に向上し、並びに死亡率曲線の遅れが見られた。全体として、全ての Ad5-IFN 用量がエンブティアデノウイルスベクター対照と比較して有意な防御をもたらし、陽性対照の効力と比べて同様又はそれより高い効力であった。 $5 \times 10^7$  PFU の Ad5-IFN の用量を使用すると、+1 日目の処置で完全生存、及び +2 dpi で 90 % の生存率が認められた (図 9B)。

#### 【0192】

##### 実施例 12 : エボラウイルス (フィロウイルス科 (Filoviridae)) の処置

エボラ出血熱は 1976 年にスーダン及びザイールにおける 2 つの同時発生で始めて認識され、そこでの罹患者は 600 人を超え、それぞれ 55 % 及び 90 % の症例致死率であった。人から人への接触は、感染者からの血液、分泌液、臓器、又は精液との直接的な接触を介して確実に起こる。院内感染の頻度が高く、汚染された針から感染した事実上全ての人が死亡した。広範に研究がなされているにもかかわらず、エボラについての天然動物保有体はいまだ知られていない。フィロウイルス感染に対する承認済みのワクチン又は有効な治療はない (Heymann、*「Control of Communicable Disease Manual」*、米国公衆衛生協会 (American Public Health Association)、Washington, DC、2008 年)。

#### 【0193】

エボラウイルスは CDC (CDC、2010 年、上記) によりカテゴリー A バイオテロ因子と見なされ、最優先の公衆衛生生物学的脅威 (PHEMCE、公衆衛生緊急時医療対策事業 (Public Health Emergency Medical Countermeasures Enterprise)、Health & Human Services、Washington DC、2007 年) である。かかる因子は人から人へと容易に伝播又は伝染し得ることから、高死亡率をもたらす、公衆衛生に甚大な影響を与える可能性があり、且つ公衆衛生上の準備に特別な取り組みを要するものであり、国家の安全にリスクをもたらす。

#### 【0194】

ここでは、エボラウイルスザイール株 (ZEBOV) のマウス及びモルモットモデルで Ad5-IFN を試験した。10 匹のマウスの群を腹腔内 (IP) 注射により 1000

10

20

30

40

50

×LD<sub>50</sub>の Maus 適応エボラウイルスで攻撃した。30分後、IM経路（各後肢につき50μl）又はIN経路（50μl）のいずれかにより Maus 当たり単一用量の1×10<sup>7</sup>IFU（感染単位）mAd5-IFNを投与した。対照 Maus にはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）をIM注入した（各後肢につき50μl）。いずれの経路によっても Maus mAd5-IFNの投与による完全生存効果が認められ、対照と比べて処置群において有意な体重減少はなかった（図10A）。

【0195】

Maus 試験の成功後、エボラウイルスザイル株（ZEBOV）のモルモット（GP）モデルでAd5-IFNを試験した。GPモデルはヒトにおける疾患の病態生理をより緊密に模倣し、動物は攻撃に対する感受性がより高いため、陽性結果を達成するにはより困難なモデルである。8匹のハートレイ系モルモットをIP注射により100×LD<sub>50</sub>のモルモット適応ZEBOVで攻撃した。30分後、2匹の動物にモルモット当たり2×10<sup>8</sup>PFUのAd5-IFNをIN投与した。加えて、組換えIFNタンパク質を3匹のGPに毎日6日間にわたり投与してタンパク質単独での治療可能性を評価した一方、3匹の動物は未処置とし、陰性対照群として供した。インターフェロンタンパク質群の66%と比較して、Ad5-IFNで処置した全ての動物が生存し、一方、全ての対照動物が死亡した（図10B）。

【0196】

実施例13：ピチンデウイルス（アレナウイルス科（*Arenaviridae*））の予防

アレナウイルスは急性ウイルス性疾患を引き起こし、20%の患者で重篤な多臓器疾患に進行し、入院症例致死率は最大15%である。この疾患は妊娠中に重篤となり、胎児消失率は80%に達し、関連して妊産婦死亡の頻度が高い。アレナウイルスは血清学的に旧世界（例えばラッサ熱）と新世界（例えばマチュポ又はフニン）とに分けられる。ラッサ熱は出血熱により公衆衛生に対して最も大きい影響を与えており、西アフリカで100,000例を超える地域流行感染例があり、毎年5,000人の死者がでている（Fischer-Hochら、*J. Virol.* 74: 6777~6783頁、2000年）。感染様式はエアロゾルを介するか、又は汚染されたげっ歯類の排泄物との直接接触か、又は咽頭分泌液、精液若しくは尿によって人から人を介するものである。

【0197】

アレナウイルスはCDC（CDC、2010年、上記）によりカテゴリーAバイオテロ因子と見なされ、優先的な公衆衛生生物兵器脅威（PHEMCE、2007年、上記）である。かかる因子は人から人へと容易に伝播又は伝染し得ることから、高死亡率をもたらす、公衆衛生に甚大な影響を与える可能性があり、且つ公衆衛生上の準備に特別な取り組みを要するものであり、国家の安全にリスクをもたらす。ピチンデウイルス（PCV）は新世界アレナウイルスであり、ハムスターにおいては極めて病原性が高いがヒトでは非病原性である（Buchmeierら、*Infect. Immun.* 9: 821~823頁、1974年）。ハムスターにおけるPCV感染は十分に特徴付けられた動物モデルであり、全身のウイルス価が高まる血管漏出症候群を経て劇症疾患を生じ、最後に末期的なショック死に至る。感染宿主内でのウイルス抗原の分布は（Connollyら、*A. J. Trop. Med. Hyg.* 4: 10~24頁、1993年）、ヒトアレナウイルス症例で報告されている疾患症状を模倣するが（Walkerら、*Am. J. Path.* 107: 349~356頁、1982年）、BSL-2条件下で安全に利用することができる（Gowen及びHolbrook、*Antiviral Res.* 78: 79~90頁、2007年）。

【0198】

ピチンデウイルス感染のハムスターモデルでAd5-IFNを試験した。攻撃1日前、10匹の動物の群にIN経路によりハムスター当たり10<sup>8</sup>、10<sup>7</sup>、又は10<sup>6</sup>PFUのAd5-IFNのいずれかの単一用量を投与した（200μl）。動物を腹腔内（IP）注射によりLD<sub>95</sub>のハムスター適応PCVで攻撃した。対照 Maus にはリン酸緩

10

20

30

40

50

衝生理食塩水 (PBS) を IN 投与した (鼻孔当たり  $100 \mu\text{l}$ )。最高用量の Ad5-IFN の投与で完全生存効果が認められ、それより低いレベルでは用量に依存した生存率の低下が認められた (図 11)。

【0199】

実施例 14：エボラ (フィロウイルス (Filovirus) 科) についての併用「即効性ワクチン」を含む処置

ワクチンと併せて投与される Ad5-IFN

1796年のジェンナー (Jenner) 以降、ワクチンは有効な感染症予防の基礎となっている。ワクチンは費用対効果が高く、投与が容易で、概して安全で且つ持続性がある。しかしながら、生物兵器脅威に直面したとき、広範な全国的ワクチンキャンペーンは相当な反対を受けてきた。ワクチン接種に対する偏見は、低確率の生物兵器脅威のリスクと、それに対する少数の患者における確実なワクチンの有害作用とを公衆が均衡させた結果である。実際、これまでに根絶された最初で唯一の感染症を誇る天然痘ワクチン接種キャンペーンでさえ、大統領が警官及び医療従事者のワクチン接種を支持したにもかかわらず、およそ30年前に中止された。第2の公衆衛生問題は、時間の遅延である。ワクチンはワクチン接種及び追加免疫に対して徐々に (多くの場合に7~21日を要する) 効いて防御を実現する。この時間の遅延が、致死的な帰結又は最も病原性の高いウイルス生物兵器への感染をはらむ。そのため、現在の公衆衛生ワクチン接種戦略及び備蓄は、疾患の緩和並びに二次感染及び疾患蔓延の予防を対象としている。グラウンドゼロでの感染者は対症的なケアを受けるのみである。本発明者らは、Ad5-IFN 及びワクチンを使用して、治療及び予防を含むようにこの疾患管理パラダイムを根本的に変えることを提案する。さらに、既存のワクチン備蓄をここで改めて目的化し、「即効性ワクチン」の一環として利用することができる。

10

20

【0200】

Ad5-IFN が予防 (prophylactic) 及び治療の双方として作用し得ることは明らかである。この例では、本発明者らは Ad5-IFN (一種のアジュバントとして作用する) を標準的なワクチンと組み合わせて「即効性ワクチン」を形成する。この手法の利点は大きい。Ad5-IFN は免疫系刺激薬として機能し、これには以下の利点が伴う; a) Ad5-IFN をワクチンと共に投与すると、ワクチンが機能している限りウイルス傷害から宿主を防御することができる、及び b) Ad5-IFN が免疫系を刺激することでワクチンに対する反応がより速く、又はより強くなり、従って防御抗体レベルをより速く確立することができる。

30

【0201】

エボラの場合、本発明者らは Ad5-IFN を Ad5ベクター化エボラ糖タンパク質ワクチン (Ad-CAGoptZGP; Richardsonら、2009、上記; Croyleら、PLoS 3: 1~9頁、2008年に記載されるワクチン) と併せて投与し、即効性ワクチンの方法及び効果を実証した。6匹のモルモットに対し、ZEBOVによる1000LD50攻撃の30分後に Ad5-IFN ( $2 \times 10^8$  PFU) を含むワクチン ( $10^9$  又は  $10^{10}$  感染単位) を IN 投与により投与した。この併用処置により動物の100%生存率がもたらされた (図 12)。Ad5-IFN 単独では攻撃を受けた動物の50%が生き残ることができ、ワクチン単独では1/10の攻撃のモデルで30%しか生き残ることができなかった。従って、2つの要素が相乗的に作用することにより、各要素が個別ではエボラによる攻撃から救うことはできなかったであろう動物が生き残る。

40

【0202】

このデータを踏まえると、Ad5-IFN は、幅広い範囲のワクチンに対するワクチンアジュバントとして機能し、それにより予防又は治療のいずれのモデルにおいても防御までの時間を速める著しい可能性を有する。

【0203】

実施例 15：ワクチン安定性

50

本発明者らは、併用療法 Ad5 - IFN + Ad - CAGoptZGP の高耐久性貯蔵安定性製剤を開発した。本発明者らの予備試験データは、Ad5 ベクターが安定しており、37 で 84 日間、及び 100 で少なくとも 1 時間にわたり感知し得るほどの活性の損失はないことを示している (ASM 2010)。

【0204】

#### 実施例 16：安全性データ

Ad5 ベクター系及び組換えヒト IFN が個別に安全であることを示す臨床データは大量にある (複数回反復投与を用いて投与した場合を含む)。加えて、ドイツでは、ある研究員の疑わしいエボラ感染の治療に対する Ad - CAGoptZGP の単独使用が奏功している。患者は、一般に抗ウイルスワクチンに付随する発熱及び頭痛を起こしたが、完全回復を果たした。

10

【0205】

上記で考察されるマウス及びモルモット ZEBOV モデルで評価したときの Ad5 - IFN + Ad - CAGoptZGP の用量は、最高予想用量であっても安全性を実証する。これまでの本発明者らの経験では、他の疾患 (例えばプンタトロ (Punta Toro)、WEE、及び SARS) の動物モデルで使用されたより低い用量の Ad5 - IFN (1/1000 ほどの低さ) であっても優れた効力を示す。この結果は、2つの要素 (Ad5 - IFN + Ad - CAGoptZGP) の相乗的な関係を加味すると、より低い用量であっても病原体による感染、例えばエボラ感染に対して実質的に有効であろうことを示している。

20

【0206】

これまで、Ad5 を遺伝子送達ベクターとして 60 件を超える臨床試験を実施してきたことで、本発明の Ad5 - IFN 含有組成物についての確かな毒性研究的枠組みが (例えば、Ad5 - IFN と Ad - CAGoptZGP との組み合わせを含め) 提供される。例えば、ヒトにおいて、Ad5 - IFN と Ad - CAGoptZGP との組み合わせについては 70 kg の人に対して  $1.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^{12}$  (例えば、 $1.6 \times 10^9$  PFU) の範囲の投薬量が、病原体 (例えばウイルス因子) の攻撃又は曝露に対して治療及び予防効果を提供することが予想される。本発明者らは、その動物モデル試験において、10:1 のウイルス粒子 (vp) 対 PFU 比で Ad5 - IFN と Ad - CAGoptZGP との組み合わせを試験して奏功している。例えば、50:1 のウイルス粒子 (vp) 対 PFU 比に関しては、より高い投与範囲限度であると予想され、用量は  $8 \times 10^{10}$  vp となり得る。

30

【0207】

#### 複製欠損 Ad5 ベクターの安全性

複製欠損 Ad5 ベクターの安全性は、Ad5 が鼻腔内送達された 12 人の患者を含む用量漸増試験で確認されている ( $2 \times 10^7 \sim 2 \times 10^{10}$  PFU / 患者; Knowles ら、N.E.J. Med. 333: 823 ~ 831 頁、1995 年を参照のこと)。最高用量では、有害作用は中程度と見なされ (耳痛及び粘膜過敏)、3 週間以内に消散した。最近になって、試験的な第 I 相安全性試験において用量制限毒性が  $2 \times 10^{12}$  vp で、Ad5 ベクターの反復用量は十分に耐容されることが指摘された (Keedy ら、J. Clin. Oncol. 26: 4166 ~ 4171 頁、2008 年を参照のこと)。米国国立衛生研究所組換え DNA 諮問委員会 (NIH Recombinant DNA Advisory Committee) (NIH Report, Hum. Gene Ther. 13: 3 ~ 13 頁、2002 年) は、複製欠損 Ad5 ベクターの毒性を示さない安全上限を  $7 \times 10^{13}$  vp と報告している。これらの先行研究を用いて、本発明者らは、Ad5 - IFN 及び Ad - CAGoptZGP などの併用療法の有効用量が Ad5 投与に対する安全用量低閾値より少なくとも 1 ~ 2 桁低いであろうと予想する。

40

【0208】

#### インターフェロンの安全性

インターフェロンは C 型肝炎及び SARS の治療用に臨床で安全に使用され、ここで高

50

用量の副作用は、体温の上昇、頭痛、筋肉痛、痙攣、及び眩暈などのインフルエンザ様症状であり得る。ある場合には、薄毛及びうつ病もまた観察されている。高リスクのメラノーマの場合、最大耐容量が1ヶ月間にわたり毎日使用され(4.5 × 10<sup>5</sup> U/kg) (Jonaschら、Cancer J. 6: 1390145頁、2000年を参照のこと)、続いて48週間にわたり週3回、半分の用量が使用された。注射後12時間にわたり得られる血流中IFNレベルは約230 U/mLと推定することができる(Cantelliら、J. Gen. Virol. 22: 453~455頁、1974年を参照のこと)。本発明者らのマウスモデルで計測された血清IFNレベルは250 U/mLであった(Wuら、Virology 369: 206~213頁、2007年を参照のこと)。ここでもこの比較は、本発明者らの最大予想用量が、抗ウイルス療法を受けている患者に見られるものと一致する血清IFNレベルをもたらすことを示している。

10

## 【0209】

他の実施形態

本発明はその特定の実施形態に関連して記載されているが、さらなる変形例が可能であり、本願は、本発明の原理に概して従い、且つ本発明が関連する、以上に記載される本質的な特徴に適用され得る当該技術分野の公知の又は通常の実施の範囲内に含まれる本開示からのかかる逸脱を含む本発明の任意の変法、使用、又は適合を包含するよう意図されることは理解されるであろう。

## 【0210】

本明細書に記載される全ての刊行物及び特許出願は、各単独の刊行物又は特許出願が全体として参照により援用されるものとして具体的且つ個別に示された場合と同じ程度に参照により本明細書に援用される。

20

## 【0211】

付録インターフェロナルファ1b - IFNA1

ヌクレオチド：NCBI参照配列：NM\_024013.1 ヒト(Homo sapiens) (配列番号1)

## 【化1】

```

1  agaacctaga  gcccaagggtt  cagagtcacc  catctcagca  agcccagaag  tatctgca
61  atctacgatg  gcctcgcctt  ttgctttact  gatggtcctg  gtggtgctca  gctgcaag
121 aagctgctct  ctgggctgtg  atctccctga  gacccacagc  ctggataaca  ggaggacc
181 gatgctcctg  gcacaaatga  gcagaatctc  tccttcctcc  tgtctgatgg  acagacat
241 ctttgatttt  ccccaggagg  agtttgatgg  caaccagttc  cagaaggctc  cagccatc
301 tgtcctccat  gagctgatcc  agcagatctt  caacctcttt  accacaaaag  attcatct
361 tgcttgggat  gaggacctcc  tagacaaatt  ctgcaccgaa  ctctaccagc  agctgaat
421 cttggaagcc  tgtgtgatgc  aggaggagag  ggtgggagaa  actcccctga  tgaatgcy
481 ctccatcttg  gctgtgaaga  aatacttccg  aagaatcact  ctctatctga  cagagaag
541 atacagccct  tgtgcctggg  aggttgatcag  agcagaaatc  atgagatccc  tctcttta
601 aacaaacttg  caagaaagat  taaggaggaa  ggaataacat  ctggtccaac  atgaaaac
661 ttcttattga  ctcatacacc  aggtcacgct  ttcatgaatt  ctgtcatttc  aaagactc
721 acccctgcta  taactatgac  catgctgata  aactgattta  tctatttaa  tattttatt
781 actattcata  agatttaa  tatttttgg  catataacgt  catgtgcacc  tttacact
841 ggtagtgta  ataaaacatg  ttccttatat  ttactc

```

30

40

## 【0212】

アミノ酸：NCBI参照配列：NP\_076918.1 ヒト(Homo sapiens) (配列番号2)

50

## 【化2】

1 maspfallmv lvvlscckssc slgcdlpeth sldnrtrlml laqmsrisps sclmdrhd  
 61 fpqeefdgng fqkapaisvl heliqqifnl fttkdssaaw dedlldkfct elyqqldnd  
 121 acvmqeervg etplmnadsi lavkkyfrri tlyltekkys pcawevvrae imrslsls  
 181 lqerlrrke

## 【0213】

インターフェロナルファ2b - IFNA2

ヌクレオチド：NCBI参照配列：NM\_000605.3 ヒト (Homo sapiens) (配列番号3) 10

## 【化3】

1 gagaacctgg agcctaaggt ttaggctcac ccatttcaac cagtctagca gcatctgc  
 61 catctacaat ggccttgacc tttgctttac tgggtggcct cctggtgctc agctgcaa  
 121 caagctgctc tgtgggctgt gatctgcctc aaaccacag cctgggtagc aggaggac  
 181 tgatgctcct ggcacagatg aggagaatct ctcttttctc ctgcttgaag gacagaca  
 241 actttggatt tccccaggag gagtttggca accagttcca aaaggctgaa accatccc  
 301 tcctccatga gatgatccag cagatcttca atctcttcag cacaaaggac tcactctgc  
 361 cttgggatga gaccctccta gacaaattct aactgaact ctaccagcag ctgaatga 20  
 421 tgggaagcctg tgtgatacag ggggtggggg tgacagagac tcccctgatg aaggagga  
 481 ccattctggc tgtgaggaaa tacttccaaa gaatcactct ctatctgaaa gagaagaa  
 541 acagcccttg tgcctgggag gttgtcagag cagaaatcat gagatctttt tctttgtc  
 601 caaacttgca agaaagttta agaagtaagg aatgaaaact ggttcaacat ggaaatga  
 661 ttcattgatt cgtatgccag ctccactttt tatgatctgc cttttcaaag actcatgt  
 721 ctgctatgac catgacacga tttaaatctt ttcaaagtgt tttaggagta ttaatcaa  
 781 ttgtattcag ctcttaaggc actagtccct tacagaggac catgctgact gatccatt  
 841 ctattttaa attttttaaaa tattatttat ttaactattt ataaaacaac ttattttt 30  
 901 tcatattatg tcatgtgcac ctttgcacag tggttaatgt aataaaatat gttctttg  
 961 tttggtaa at ttattttgtg ttgttcattg aacttttgct atggaaactt ttgtactt  
 1021 ttattcttta aaatgaaatt ccaagcctaa ttgtgcaacc tgattacaga  
 ataactggta  
 1081 cacttcattt atccatcaat attatattca agatataagt aaaaataaac  
 tttctgtaaa  
 1141 cca

## 【0214】

アミノ酸：NCBI受託番号AAP20099 ヒト (Homo sapiens) (配列番号4) 40

## 【化4】

1 mcdlpqthsl gsrtrlmlla qmrrislfsc lkdrhdfgfp  
 41 qeefgnqfqk aetipvlhem iqqifnlfst kdssaawdet  
 81 lldkfytely qqIndleacv iqgvgtetp lmkedsilav  
 121 rkyfqritley lkekkyspca wevvraeimr sfslstnlqe  
 161 slrske

## 【0215】

10

インターフェロンベータ1a - IFNB1

ヌクレオチド：NCBI参照配列：NM\_002176.2 ヒト (Homo sapiens) (配列番号5)

## 【化5】

1 acattotaac tgcaaccttt cgaagccttt gctctggcac aacaggtagt aggcgaca  
 61 gttcgtggtg tcaacatgac caacaagtgt ctctccaaa ttgctctcct gttgtgct  
 121 tccactacag ctctttccat gagctacaac ttgcttgat tcctacaaag aagcagca  
 181 tttcagtgtc agaagctcct gtggcaattg aatgggaggc ttgaatactg cctcaagg  
 241 aggatgaact ttgacatccc tgaggagatt aagcagctgc agcagttcca gaaggagg  
 301 gccgcattga ccatctatga gatgctccag aacatctttg ctatcttcag acaagatt  
 361 totagcactg gctggaatga gactattggt gagaacctcc tggctaattg ctatcatc  
 421 ataaaccatc tgaagacagt cctggaagaa aaactggaga aagaagattt caccaggg  
 481 aaactcatga gcagtctgca cctgaaaaga tattatggga ggattctgca ttacctga  
 541 gccaaggagt acagtcactg tgccctggacc atagtcagag tggaaatcct aaggaact  
 601 tacttcatta acagacttac aggttacctc cgaaactgaa gatctcctag cctgtgcc  
 661 tgggactgga caattgcttc aagcattctt caaccagcag atgctgttta agtgactg  
 721 ggctaagtga ctgcatatga aaggacacta gaagatcttg aaatttttat taaattat  
 781 gttatcttta tttatttaaa ttttattttg gaaaataaat ttttttggt gcaaaagt

20

30

## 【0216】

アミノ酸：NCBI参照配列：NP\_002167.1 ヒト (Homo sapiens) (配列番号6)

## 【化6】

1 mtnkcllqia lllcfsttal smsynllgfl qrssnfqcqk llwqlngrle yclkdrmn  
 61 ipeeikqlqq fqkedaalti yemlqnifai frqdssstgw netivenlla nvyhqinh  
 121 tvleekleke dftrgklmss lhlkryygri lhylkakeys hcawtivrve ilrnfyfi  
 181 ltgyln

40

## 【0217】

インターフェロンガンマ - IFNG

ヌクレオチド：NCBI参照配列：NM\_000619.2 ヒト (Homo sapiens) (配列番号7)

## 【化7】

1 cacattgttc tgatcatctg aagatcagct attagaagag aaagatcagt taagtcc  
 61 ggacctgac agcttgatac aagaactact gatttcaact tctttggctt aattctct  
 121 gaaacgatga aatatacaag ttatatcttg gcttttcagc tctgcatcgt tttggggt  
 181 cttggctggt actgccagga cccatatgta aaagaagcag aaaaccttaa gaaatatt  
 241 aatgcaggtc attcagatgt agcggataat ggaactcttt tcttaggcat tttgaaga  
 301 tggaaagagg agagtgcag aaaaataatg cagagccaaa ttgtctcctt ttacttca  
 361 ctttttaaaa actttaaaga tgaccagagc atccaaaaga gtgtggagac catcaagg 10  
 421 gacatgaatg tcaagttttt caatagcaac aaaaagaaac gagatgactt cgaaaagc  
 481 actaattatt cggtaactga cttgaatgtc caacgcaaag caatacatga actcatcc  
 541 gtgatggctg aactgtcgcc agcagctaaa acaggggaagc gaaaaaggag tcagatgc  
 601 tttcgaggtc gaagagcatc ccagtaatgg ttgtcctgcc tgcaatattt gaatttta  
 661 tctaaatcta tttattaata tttaacatta tttatatggg gaatatattt ttagactc  
 721 caatcaaata agtatttata atagcaactt ttgtgtaatg aaaatgaata tctattaa  
 781 tatgtattat ttataattcc tatatcctgt gactgtctca cttaatcctt tgttttct  
 841 ctaattaggc aaggctatgt gattacaagg ctttatctca ggggccaaact aggcagcc  
 901 cctaagcaag atcccatggg ttgtgtggtt atttcacttg atgatacaat gaacactt 20  
 961 aagtgaagtg atactatcca gttactgccg gtttgaaaat atgcctgcaa tctgagcc  
 1021 tgctttaatg gcatgtcaga cagaacttga atgtgtcagg tgacctgat  
 gaaaacatag  
 1081 catctcagga gatttcatgc ctggtgcttc caaatattgt tgacaactgt  
 gactgtaccc  
 1141 aaatggaaag taactcattt gttaaaatta tcaatatcta atatatatga  
 ataaagtga  
 1201 agttcacaac aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 30

## 【0218】

アミノ酸：NCBI参照配列：NP\_000610.2 ヒト(Homo sapiens) (配列番号8)

## 【化8】

1 mkytsyilaf qlcivlgslg cycqdpvke aenlkkyfna ghsdvdngt lflgilkn  
 61 eesdrkimqs qivsfykflf knfkddqsiq ksvetikedm nvkffnsnkk krddfekl  
 121 ysvtdlnvqr kaiheliqvm aelspaaktg krkrsqmlfr grrasq

## 【0219】

40

インターフェロントウ - IFNT

ヌクレオチド：NCBI参照配列：NM\_001015511.2 ウシ(Bos taurus) (配列番号9)



## 【化 9】

1 gatccccgga aactagaatt cacctgaagg ttcacccaga ccccatctca gccagccc  
 61 cagcagccac atcttcccca tggccttcgt gctctctcta ctgatggccc tgggtgctg  
 121 cagctacggc cagggacgat ctctgggttg ttacctgtct gaggaccaca tgctaggt  
 181 cagggagaac ctccaggtcc tggcccgaat gaacagaactc tctcctcacc cctgtctg  
 241 ggacagaaaa gactttggtc ttcctcagga gatggtggag ggcaaccagc tccagaag  
 301 tcaggctatc tctgtgctcc acgagatgct ccagcagtgc ctcaacctct tctacaca  
 361 gcaactcgtct gctgcttggg acaccaccct cctggagcag ctctgcaactg ggctccaa  
 421 gcagctggag gacctggacg cctgctggg cccagtgatg ggagagaaa actctgac  
 481 ggggaaggatg ggccccattc tgactgtgaa gaagtacttc cagggtatcc atgtctac  
 541 gaaagaaaaa gaatacagtg actgctgctg ggaaatcacc agagtggaga tgatgaga  
 601 cctctcttca tcaaccacct tgcaaaaaag gttaagaaa atgggtggag atctgaac  
 661 actttgagat gactctcgct gactaagatg ccacatcacc ttcgtacact cacctgtg  
 721 catttcagaa gactctgatt tctgcttcag ccaccgaaat cattgaatta cttaact  
 781 tactttgtca gcagtaataa gcaagtagat ataaaagtac tcagctgtag gggcatga  
 841 ccttaagtga tgcctgccct gatgttatct gttgttgatt tatgtattcc ttcttgca  
 901 taacatactt aaaatattag gaaatttga aagttacatt tcatttgtac atctatta  
 961 atttctaaaa catgtttacc attttgtgtt attaaatttg tcctttgttc tatttatt  
 1021 atcaaagaaa atc

10

20

## 【 0 2 2 0】

アミノ酸：GenBank：AAK53058.1 ウシ(Bos taurus) (配列番号10)

## 【化 1 0】

1 mkytsyilaf qlcivlgslg cycqdpvke aenlkkyfna ghsvadngt lflgilkn  
 61 eesdrkimqs qivsfyfklf knfkddqsiq ksvetikedm nvkffnsnkk krddfekl  
 121 ysvtdlnvqr kaiheliqvm aelspaaktg krkrsqmlfr grrasq

30

## 【 0 2 2 1】

コンセンサインターフェロン (conIFN - )

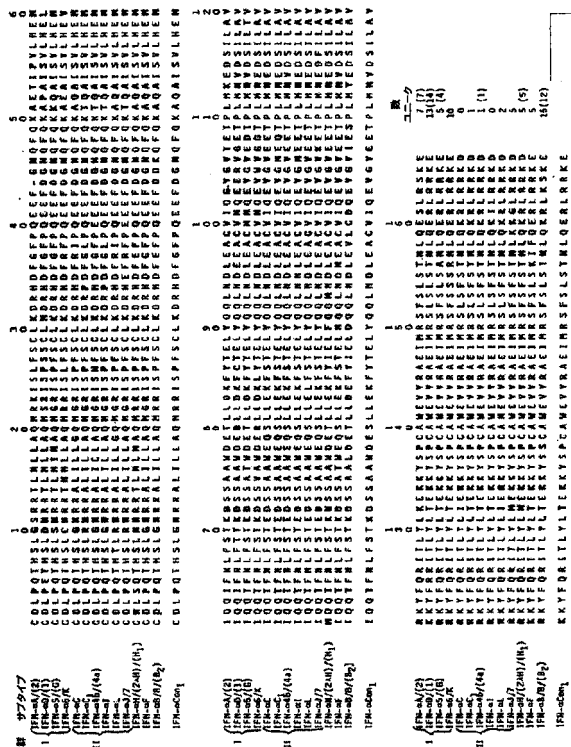
アミノ酸：(配列番号11)

## 【化 1 1】

1 cdlpqthslg nrralillaq mrrispsfsc1 kdrhdfgfpq eefdgnqfjk aqaisvlh  
 61 iqqrfnlfst kdssaawdes llekfytely qqlndleacv iqevgveetp lmnvdsil  
 121 kkyfqritle ltekkyspca wevvraeimr sfslstnlqe rllrke

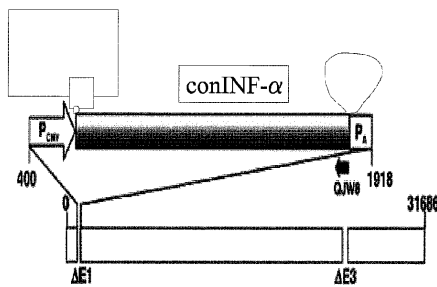
40

【 図 1 】



【 図 2 】

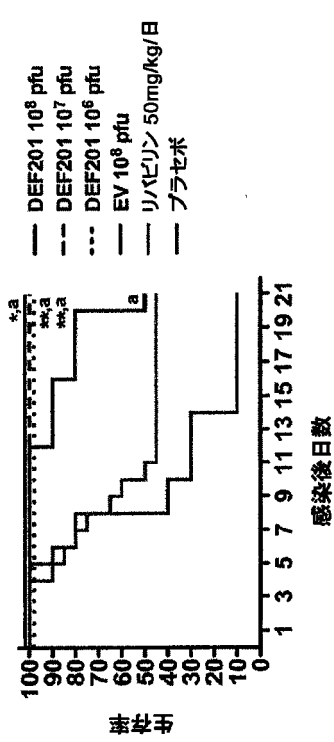
Figure 2



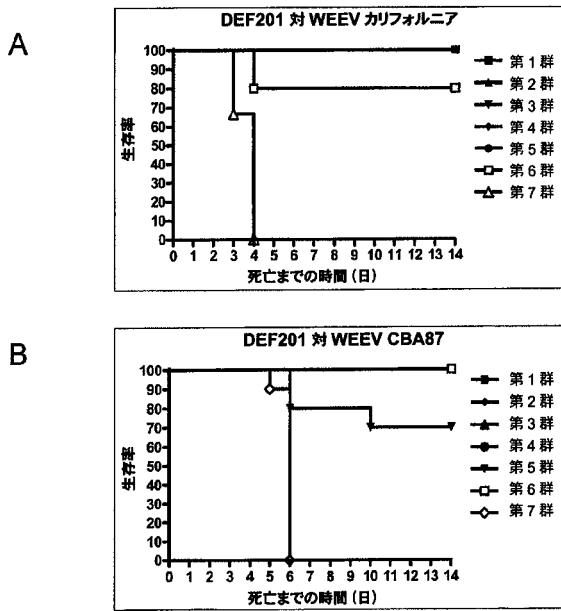
【 図 5 】

ウイルス科	ウイルス	群番号; 数/群	製剤; 毎群レベル	接種経路; スケジュール	攻撃経路; スケジュール	重要な所見
アレンウイルス	ビテンデ	10; シリアンハムスター	液体 DEF201; 10 <sup>6</sup> , 10 <sup>7</sup> , 10 <sup>8</sup>	IN; 100uL; 単一用量; -4 時間	IP; LD95; 単一用量; (0 日目)	100% 生存 予防
ブニヤウイルス	ブンタロ	10; シリアンハムスター	液体 DEF201; 10 <sup>6</sup> , 10 <sup>7</sup> , 又は 10 <sup>8</sup> PFU/動物	IN; 100uL; 単一用量; -4 時間	IN; LD95; 単一用量; (0 日目)	100% 生存 予防
ブニヤウイルス	ブンタロ	10; 10 Balb/c 群	液体 mDEF201; 5x10 <sup>6</sup> PFU/動物	IN; 50uL; 単一用量; -21, -14, -7, 又は -1 日	IN; LD95; 単一用量; (0 日目)	ウイルス価及び 血清 ALT の 有意な低下
コロナウイルス	SARS	4; 10 Balb/c 群	液体 mDEF201; 10 <sup>6</sup> 又は 10 <sup>8</sup> PFU/動物	IN; 50uL; 単一用量; -24 時間	IN; LD95; 単一用量; (0 日目)	100% 生存 予防
コロナウイルス	SARS	5; 10 Balb/c 群	液体 mDEF201; 10 <sup>6</sup> 又は 10 <sup>8</sup> PFU/動物	IN; 50uL; 単一用量; +6, 12, 又は 24 時間	IN; LD95; 単一用量; (0 日目)	90% 治療 生存
フラビウイルス	黄熱	15-20; シリアンハムスター	液体 DEF201; 10 <sup>6</sup> , 5x10 <sup>6</sup> , 5x10 <sup>8</sup> , 5x10 <sup>10</sup> PFU/動物	IN; 100uL; 単一用量; -4 時間	IP; 10 CCID <sub>50</sub> ; 単一用量; (0 日目)	100% 生存 予防
フラビウイルス	黄熱	15-20; シリアンハムスター	液体 DEF201; 5x10 <sup>6</sup> PFU/動物	IN; 100uL; 単一用量; +1 日, +2 日 又は +3 日	IP; 10 CCID <sub>50</sub> ; 単一用量; (0 日目)	100% 治療 生存
フィロウイルス	エボラ- ザイル	3; 10 B10.BR/群	液体 mDEF201; 10 <sup>7</sup> PFU/動物	IN 又は IM; 50uL; 単一用量; +30 分	IP; 1000LD50; 単一用量; (0 日目)	100% 治療 生存
フィロウイルス	エボラ- ザイル	5; 3/ハートレイ系 モルモット/群	液体 mDEF201; 2x10 <sup>6</sup> PFU/動物	IN 又は IM; 250uL; 単一用量; +30 分	IP; 100LD50; 単一用量; (0 日目)	100% 治療 生存
トガウイルス	WEE	5; 10 Balb/c 群	液体 mDEF201; 10 <sup>7</sup> PFU/動物	IN; 50uL; 単一用量; -21 日, -14 日, -7 日, 又は -1 日	IN; 43LD50 単一用量; (0 日目)	100% 生存 予防
トガウイルス	WEE	3; 10 Balb/c 群	液体 mDEF201; 10 <sup>7</sup> PFU/動物	IN; 50uL; 単一用量; +6 時間	IN; 43LD50 単一用量; (0 日目)	100% 治療 生存
トガウイルス	VEE	3; 8 Balb/c 群	液体 mDEF201; 10 <sup>7</sup> PFU/動物	IM; 50uL; 単一用量; -24 時間	Sub Q; 10 LD50; 単一用量; (0 日目)	100% 生存 予防

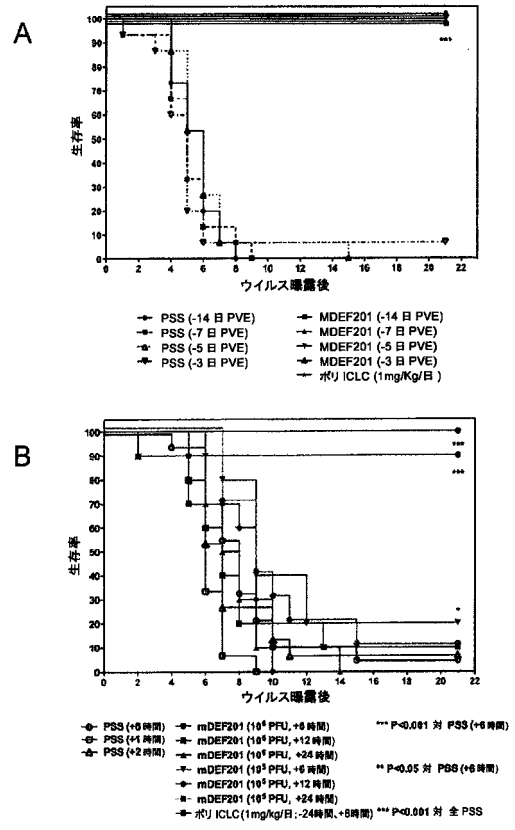
【 図 6 】



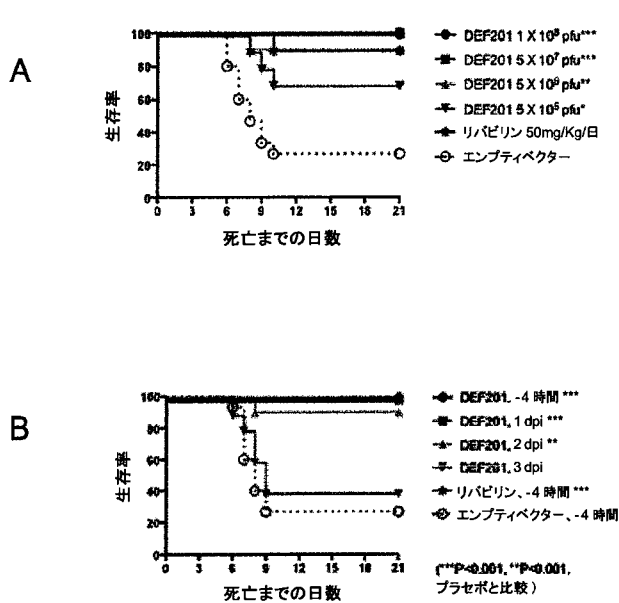
【 図 7 】



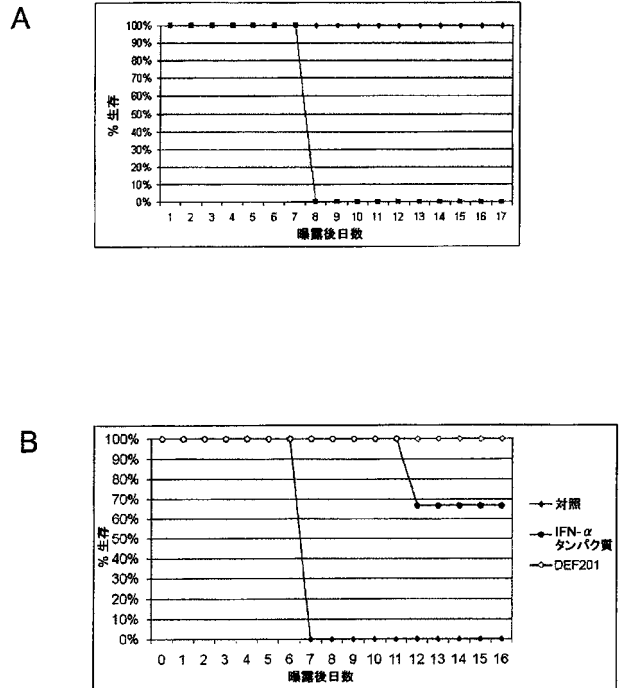
【 図 8 】



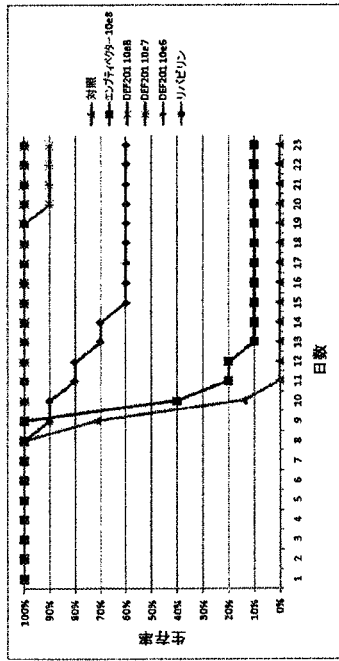
【 図 9 】



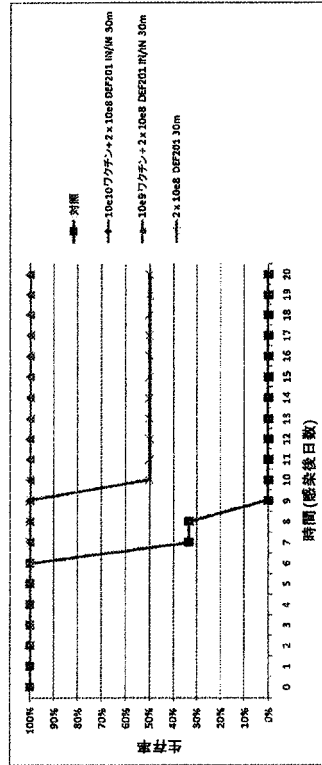
【 図 10 】



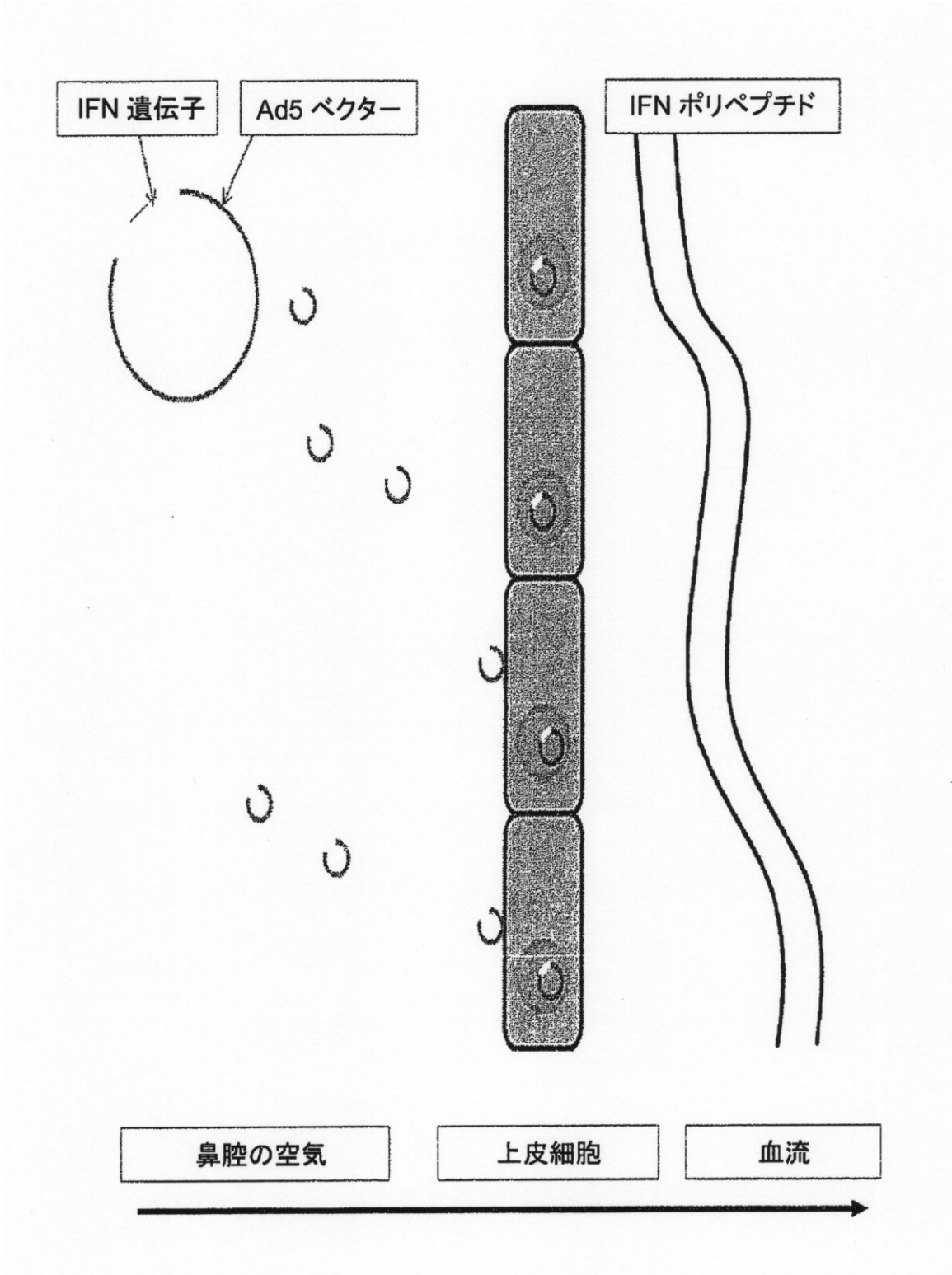
【 図 1 1 】



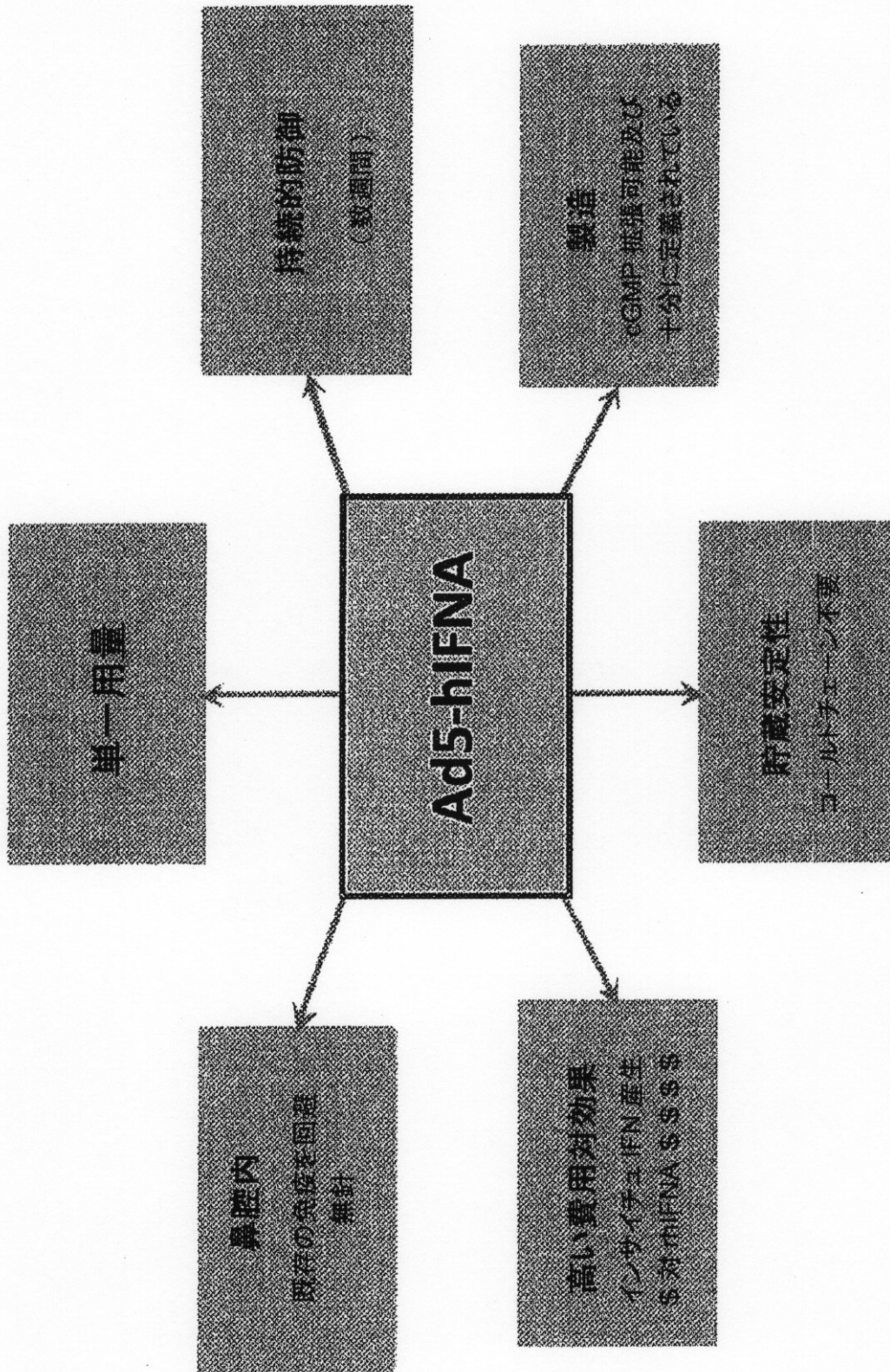
【 図 1 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



【 配列表 】

2012529440000001.app

## 【 国際調査報告 】

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>		International application No. PCT/CA2010/000844
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC: <b>A61K 48/00</b> (2006.01), <b>A61P 31/00</b> (2006.01), <b>A61P 37/04</b> (2006.01), <b>A61K 38/21</b> (2006.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC: <b>A61K 48/00</b> (2006.01), <b>A61P 31/00</b> (2006.01), <b>A61P 37/04</b> (2006.01), <b>A61K 38/21</b> (2006.01)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used) <b>Databases:</b> EspaceNet, Canadian Patent Database, Epoque, CAPlus, Genome Quest, Scopus and Pubmed. <b>Keywords:</b> interferon, alpha, beta, consensus, vector, virus, viral, polynucleotide, DNA, nucleic acid, composition, formulation, stable, stability, room temperature and		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00/09086 A2 (BRUNO, M. et al.) 24 February 2000 (Whole document)	<b>59, 60, 62, 63, 66, 67, 75 and 77 - 85</b>
Y		<b>61, 64, 65, 68 - 74, 76 and 86 - 95</b>
Y	WO 97/42323 A1 (TAYLOR, M. & BLATT L.M.) 13 November 1997 (Abstract; page 5, first paragraph; page 11, first and last paragraph; and page 15)	<b>61, 64, 65, 68 - 74, 76 and 86 - 95</b>
Y	EP 0422697 A1 (ALTON, N. K. et al.) 17 April 1991 (Examples 9, 10 and 12, and Figure 2)	<b>61, 64, 65, 68 - 74, 76 and 86 - 95</b>
[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.		[X] See patent family annex.
* Special categories of cited documents :	"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	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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	
"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)	"&" document member of the same patent family	
"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		
Date of the actual completion of the international search 6 July 2010 (06-07-2010)	Date of mailing of the international search report 13 August 2010 (13-08-2010)	
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 001-819-953-2476	Authorized officer <b>Jacinth Abraham (819) 934-7598</b>	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CA2010/000844**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 filed or furnished:
  - a. (means)
    - on paper
    - in electronic form
  - b. (time)
    - in the international application as filed
    - together with the international application in electronic form
    - subsequently to this Authority for the purposes of search
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 in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments :

While there is no paper copy of a sequence listing, the last five pages of the description (pages 82 - 87) are labelled as "Appendix" and disclose the sequences submitted in electronic form. Point 2 above pertains to the sequences on pages 82 - 87 of the description.



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/CA2010/000844
--

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of the 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.  Claim Nos. : **1 - 58**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely :  
  
Claims 1 - 53 are directed to a method for treatment of the human or animal body by surgery or therapy which the International Search Authority is not required to search. However, this Authority has carried out a search based on the alleged effects or purposes/uses of the composition defined in claims 1 - 58.
2.  Claim 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.  Claim Nos. :  
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 claim 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 claim 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/CA2010/000844

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 98/17801 A1 (NAGABHUSHAN, T.L. & SAHA, D.P.) 30 April 1998 (Whole document)	59 - 95
Y	CROYLE, M. A. et al. Development Of Novel Formulations That Enhance Adenoviral-Mediated Gene Expression In The Lung <i>In Vitro</i> And <i>In Vivo</i> . MOL. THER. July 2001 Vol. 4, pages 22 - 28 ISSN 1525-0016 (Whole document)	59 - 95
Y	WO 00/09675 A1 (SHIH, S-J. et al.) 24 February 2000 (Whole document)	59 - 95
Y	EP 1078639 A1 (TERADA, M. et al.) 28 February 2001 (Whole document)	59 - 95

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CA2010/000844

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
WO 00/09086 A2	24-02-2000	AT324913T	15-06-2006
		AU5345999A	06-03-2000
		CA2340416A1	24-02-2000
		CA2340416C	02-06-2009
		DE69931166D1	08-06-2006
		DE69931166T2	15-02-2007
		EP1104309A2	06-06-2001
		EP1104309B1	03-05-2006
		EP1104309B8	05-07-2006
		JP2002522468T	23-07-2002
		US6534483B1	18-03-2003
		US2003092652A1	15-05-2003
		WO0009086A3	08-06-2000
		WO 97/42323 A1	13-11-1997
CA2252470A1	13-11-1997		
EP0918861A1	02-06-1999		
US5831062A	03-11-1998		
EP 0422697 A1	17-04-1991	AT70537T	15-01-1992
		AT103636T	15-04-1994
		AT107698T	15-07-1994
		AT115625T	15-12-1994
		BR1100911A	08-08-2000
		CA1200515A1	11-02-1986
		CA1341292C	18-09-2001
		CA1341561C	20-11-2007
		DE3382480D1	30-01-1992
		DE3382742D1	05-05-1994
		DE3382742T2	28-07-1994
		DE3382755D1	28-07-1994
		DE3382755T2	27-10-1994
		DE3382771D1	26-01-1995
		DE3382771T2	27-04-1995
		DE199750431	04-09-2003
		EP0108128A1	15-05-1984
		EP0108128A4	15-09-1986
		EP0108128B1	18-12-1991
		EP0422697B1	30-03-1994
		EP0423845A1	24-04-1991
		EP0423845B1	14-12-1994
		EP0424990A1	02-05-1991
		EP0424990B1	22-06-1994
		HK60097A	16-05-1997
		HK60197A	16-05-1997
		HK217596A	27-12-1996
		IL68581A	15-08-1991
		IL87579D0	31-01-1989
		IL87579A	25-01-1994
		IT8367500D0	06-05-1983
		IT1221076B	21-06-1990
		JP7291998A	07-11-1995
JP2662520B2	15-10-1997		
JP8289795A	05-11-1996		
JP3073440B2	07-08-2000		
JP2000157291A	13-06-2000		
JP3107799B2	13-11-2000		
JP59501097T	28-06-1984		
JP7062036B	05-07-1995		
JP7289260A	07-11-1995		
JP8029105B	27-03-1996		
Continued next page			

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CA2010/000844

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
		LU90391A9	29-06-1999
		LV10973A	20-12-1995
		LV10973B	20-10-1996
		NL99001311	01-07-1999
		NL99001312	01-09-1999
		USRE39821E1	04-09-2007
		US4695623A	22-09-1987
		US4897471A	30-01-1990
		US5541293A	30-07-1996
		US5661009A	26-08-1997
		US6936694B1	30-08-2005
		US6936695B1	30-08-2005
		WO8304053A1	24-11-1983
WO 98/17801 A1	30-04-1998	AU4808097A	15-05-1998
		BR9712362A	31-08-1999
		CA2269100A1	30-04-1998
		CZ9901316A3	14-07-1999
		DE932679T1	09-03-2000
		EP0932679A1	04-08-1999
		EP1591528A2	02-11-2005
		EP1591528A3	16-11-2005
		ES2136583T1	01-12-1999
		HU9904218A2	28-12-2000
		ID24500A	20-07-2000
		IL129387D0	17-02-2000
		JP2001502540T	27-02-2001
		JP2008301832A	18-12-2008
		KR20000049243A	25-07-2000
		NO991839D0	16-04-1999
		NO991839A	15-06-1999
		NZ335134A	25-05-2001
		PL332856A1	25-10-1999
		SK50699A3	16-06-2000
		TR9901190T2	21-07-1999
		ZA9709295A	20-04-1998
WO 00/09675 A1	24-02-2000	AU748523B2	06-06-2002
		AU5485899A	06-03-2000
		CA2340682A1	24-02-2000
		EP1108896A1	27-06-2001
		EP1108896A4	02-11-2005
		JP2003528029T	24-09-2003
		MXPA01001727A	27-11-2001
		WC0009675A9	03-08-2000
EP 1078639 A1	28-02-2001	AU755126B2	05-12-2002
		AU3848899A	13-12-1999
		CA2329129A1	02-12-1999
		CA2329129C	24-02-2009
		CN1310632A	29-08-2001
		CN1173744C	03-11-2004
		EP1078639A4	06-10-2004
		EP1623723A2	08-02-2006
		EP1623723A3	10-05-2006
		JP4424850B2	03-03-2010
		NZ508785A	31-10-2003
		US7052875B1	30-05-2006
		WC9961063A1	02-12-1999

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 31/04	(2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 31/10	(2006.01)	A 6 1 P 31/10	
A 6 1 P 31/22	(2006.01)	A 6 1 P 31/22	
A 6 1 P 31/14	(2006.01)	A 6 1 P 31/14	
A 6 1 P 31/16	(2006.01)	A 6 1 P 31/16	
A 6 1 P 31/18	(2006.01)	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 31/12	(2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 31/20	(2006.01)	A 6 1 P 31/20	
A 6 1 P 33/02	(2006.01)	A 6 1 P 33/02	
A 6 1 P 33/06	(2006.01)	A 6 1 P 33/06	
A 6 1 K 45/00	(2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 39/12	(2006.01)	A 6 1 K 39/12	
A 6 1 K 9/06	(2006.01)	A 6 1 K 9/06	
A 6 1 K 9/08	(2006.01)	A 6 1 K 9/08	
A 6 1 K 9/12	(2006.01)	A 6 1 K 9/12	
A 6 1 K 9/14	(2006.01)	A 6 1 K 9/14	
C 1 2 N 15/09	(2006.01)	C 1 2 N 15/00	Z N A A

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

(72)発明者 ジェフリー、ディー・ターナー  
カナダ国オンタリオ州、トロント、プロアー、ストリート、2、スイート、2602

(72)発明者 ジェーン、イー・エニス  
カナダ国オンタリオ州、トロント、プロアー、ストリート、2、スイート、2602

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA22 CA01 DA02 EA10 FA11 GA11 HA17 HA20  
4C076 AA09 AA12 AA24 AA26 AA30 BB25 BB27 CC06 CC50 DD23  
DD38 DD51 DD63 DD67 DD69 EE38 EE42 FF36 GG06  
4C084 AA02 AA03 AA13 AA19 DA21 DA22 MA02 MA13 MA16 MA17  
MA28 MA44 NA10 NA13 NA14 ZB072 ZB082 ZB092 ZB262 ZB321  
ZB322 ZB331 ZB332 ZB351 ZB352 ZB371 ZB372 ZB382  
4C085 AA03 BA51  
4C087 AA01 BC83 CA12 NA13 ZB07 ZB26 ZB32