

(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2021-527107

(P2021-527107A)

(43) 公表日 令和3年10月11日 (2021. 10. 11)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 15/06 (2006.01)	A 6 1 P 15/06	4 C 0 8 6
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 16 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2020-569836 (P2020-569836)	(71) 出願人	506424209
(86) (22) 出願日	令和1年6月13日 (2019. 6. 13)		ユニベルシテ ドゥ ボルドー
(85) 翻訳文提出日	令和3年2月12日 (2021. 2. 12)		フランス国, 3 3 0 0 0 ボルドー, プラ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2019/065617		ス ペブルラン 3 5
(87) 国際公開番号	W02019/238893	(71) 出願人	504007888
(87) 国際公開日	令和1年12月19日 (2019. 12. 19)		センター ナショナル デ ラ レシエル
(31) 優先権主張番号	18305729. 8		シェ サイエントフィーク
(32) 優先日	平成30年6月14日 (2018. 6. 14)		フランス国 パリ リュ ミシエル アン
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)		ジェ 3
		(71) 出願人	516324917
			サントル・オスピタリエ・ユニベルシテール・ドゥ・ボルドー
			フランス国, 3 3 4 0 4 ・タランス、リュ・デュベルナ、1 2
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 インターロイキン-1 の阻害薬を使用した胎盤性慢性組織球性絨毛間腔炎の治療

(57) 【要約】

本発明は、最終的には、CHIを治療するために従来に処方されている少なくとも1つの分子および／またはインターロイキン-18 (IL-18) と併用した、慢性組織球性絨毛間腔炎 (CHI) またはその随伴症状の予防または治療のためのインターロイキン-1 (IL-1)、特に、IL-1 α および／またはIL-1 β の阻害薬の使用に関する。前記インターロイキン-1 (IL-1)、特にIL-1 α および／またはIL-1 β の阻害薬を、CHIに罹患している疑いがある対象におけるインビトロでのCHI診断のため、またはそれを必要としている対象のCHIに対する治療有効性のモニタリングのために使用してもよい。

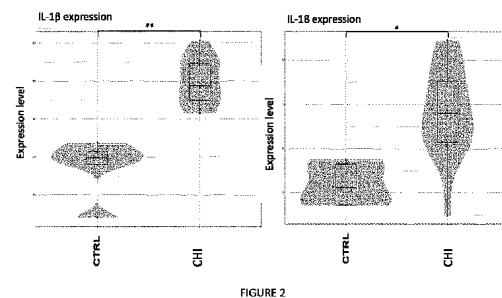


FIGURE 2

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

C H I または少なくとも 1 つの随伴症状の予防または治療における使用のための I L - 1 α および／または I L - 1 β の阻害薬であって、前記症状は少なくとも部分的に C H I が原因である、阻害薬。

【請求項 2】

前記阻害薬は、抗 I L - 1 抗体である、請求項 1 に記載の前記使用のための I L - 1 α および／または I L - 1 β の阻害薬。

【請求項 3】

前記抗 I L - 1 抗体は、抗 I L - 1 β 抗体である、請求項 2 に記載の前記使用のための I L - 1 α および／または I L - 1 β の阻害薬。

10

【請求項 4】

前記抗 I L - 1 β 抗体は、カナキヌマブである、請求項 3 に記載の前記使用のための I L - 1 α および／または I L - 1 β の阻害薬。

【請求項 5】

前記阻害薬は、I L - 1 受容体の拮抗薬である、請求項 1 に記載の前記使用のための I L - 1 α および／または I L - 1 β の阻害薬。

【請求項 6】

前記 I L - 1 受容体の拮抗薬は、アナキンラである、請求項 5 に記載の前記使用のための I L - 1 α および／または I L - 1 β の阻害薬。

20

【請求項 7】

前記随伴症状は、早期流産、子宮内胎児発育遅延、および子宮内胎児死亡からなる群から選択される、請求項 1 に記載の前記使用のための I L - 1 α および／または I L - 1 β の阻害薬。

【請求項 8】

C H I または少なくとも 1 つの随伴症状の予防または治療における使用のための I L - 1 α および／または I L - 1 β の阻害薬、ならびに少なくとも 1 つの薬剤的に許容可能な賦形剤、媒体、担体もしくは支持体を含む医薬組成物であって、前記症状は少なくとも部分的に C H I が原因である、医薬組成物。

【請求項 9】

前記 I L - 1 α および／または I L - 1 β の阻害薬は、カナキヌマブまたはアナキンラである、請求項 4 に記載の前記使用のための医薬組成物。

30

【請求項 10】

前記 I L - 1 α および／または I L - 1 β の阻害薬が、アスピリン、低分子量ヘパリン、ヒドロキシクロロキン、副腎皮質ステロイド、免疫抑制剤としてのアザチオプリン、多価免疫グロブリンおよび抗 T N F 化合物からなる群から選択される分子と組み合わせて、同時にまたは順次投与される、請求項 8 または 9 に記載の前記使用のための医薬組成物。

【請求項 11】

前記 I L - 1 α および／または I L - 1 β の阻害薬が、インターロイキン - 1 8 (I L - 1 8) の阻害薬と組み合わせて、同時にまたは順次投与される、請求項 8 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の前記使用のための医薬組成物。

40

【請求項 12】

前記 I L - 1 8 の阻害薬は、抗 I L - 1 8 抗体である、請求項 11 に記載の前記使用のための医薬組成物。

【請求項 13】

対象における C H I のインビトロ診断方法であって、

a) 対象のサンプルにおける、I L - 1 α および／または I L - 1 β、好ましくは I L - 1 β の発現レベル E 1 を測定するステップと；

b) 前記発現レベル E 1 と、健常者のサンプルにおける I L - 1 α および／または I L - 1 β、好ましくは I L - 1 β の参照発現レベル E 2 とを比較するステップであって、I

50

IL-1 α および／またはIL-1 β 、好ましくはIL-1 β についてE2値より大きいE1値は、対象がCHIに罹患していることを示す、ステップと、を含む、方法。

【請求項14】

対象のCHIに対する治療有効性のインビトロでのモニタリング方法であって、

a') いずれものCHI治療を受ける前、CHIに罹患している対象のサンプルにおけるIL-1 α および／またはIL-1 β 、好ましくはIL-1 β の発現レベルE1'を測定するステップと；

b') CHI治療開始後、CHIに罹患している対象のサンプルにおけるIL-1 α および／またはIL-1 β 、好ましくはIL-1 β の発現レベルE2'を測定するステップと；

c') 発現レベルE1'およびE2'を比較するステップであって、E1'値より小さいE2'値は有効な治療であることを示す、比較するステップと、を含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、慢性組織球性絨毛間腔炎（CHI）または随伴症状の予防または治療、ならびに診断または治療モニタリングのためのインターロイキン-1（IL-1）、特に、IL-1 α および／またはIL-1 β の阻害薬の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

妊娠の病態の中でも、慢性組織球性絨毛間腔炎（CHI）は、重度の産科合併症をもたらし得る母胎胎児間交換における変化の原因である希な胎盤病態である（非特許文献1）。非特許文献2により初めて記載されたように、CHIは、絨毛間腔（intervillous chamber）における単核球細胞浸潤（約80%マクロファージ、および20%リンパ球）およびフィブリノイド物質沈着を微視的な特徴とする。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0003】

【非特許文献1】Doss et al., Hum. Pathol., 26(11): 1245-1251, 1995

【非特許文献2】Labarrere et Mullen (1987)

【非特許文献3】Marchaudon et al., Placenta, 32(2): 140-145, 2011

【非特許文献4】Boyd et al., Hum. Pathol., 31(11): 1389-1396, 2000

【非特許文献5】Mekinian et al., Autoimmunity, 48(1): 40-45, 2015

【非特許文献6】Rota et al., J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod., 35(7): 711-719, 2006

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

不十分な診断では、この産科病態（再発性早期流産、重度および早期子宮内胎児発育遅延、子宮内胎児死亡）は、高い率で（試験によれば約18～67%）再発する（非特許文献3、非特許文献4及び非特許文献5）。胎盤の解剖病理学分析の事後にCHIの診断を行う。今日まで、治療管理に対するコンセンサスはない。血管性胎盤（vasculo-placental）または免疫学的病態（例えば、アスピリン、副腎皮質ステロイド、低分子量ヘパリン、ヒドロキシクロロキン、免疫抑制剤、多価免疫グロブリン、その他...）は、病態生理学の知識不足のせいで不十分に体系化されており、これらの有効性の評価は、単独または組合せで、試験の検出力不足および無作為化不足のせいで、文献中不透明なままである。

【0005】

したがって、特に、慢性組織球性絨毛間腔炎（CH I）または随伴症状の予防または治療において有効な新規治療プロトコールに対するニーズがある。

【課題を解決するための手段】

【0006】

最初に、本発明者らは、トランスクリプトームの免疫分析を行い、慢性組織球性絨毛間腔炎（CH I）病態生理学に関係する重要な免疫細胞および経路を特定した。著しい特異性を用いて部分的分解されたmRNA（50bp以下）を検出する利点を有するNanostring（登録商標）技術に従ってこの分析を行った。事実、CH Iは珍しいので、利用可能な研究材料は、RNA抽出が他のより従来の技術（RTqPCR、その他...）によるトランスクリプトーム分析のためのRNA品質に満足させない、病院において何年もの間に収集されたパラフィン包埋胎盤組織だけである。これを行うため、本発明者らは、CH I胎盤のパラフィン処理サンプルを、健康な胎盤のパラフィン処理サンプル（コントロール）と比較し、病的胎盤においてインフラマソーム活性化経路のアクター（NLRP3、NOD2、NLR C5、ASC）ならびにこれが産生するサイトカイン（IL-1βおよびIL-18）の著しい過剰発現を実証することができた。

10

【0007】

これらのトランスクリプトーム分析に基づいて、本発明者らは、免疫組織化学によって、健康な胎盤（コントロール）と比較したCH I胎盤におけるIL-1（特にIL-1β）タンパク質レベルの過剰発現を確認した。

【0008】

20

これらの病態生理学的データから、本発明者らは、少なくとも部分的にCH Iが原因の症状である早期流産、子宮内胎児発育遅延、または子宮内胎児死亡などのCH Iまたは随伴症状の予防または治療におけるIL-1（特に、IL-1αおよび／またはIL-1β）の阻害有効性を実証した。

【0009】

IL-1阻害薬を、例えば、アスピリン、低分子量ヘパリン、ヒドロキシクロロキン、副腎皮質ステロイド、免疫抑制剤としてアザチオプリン、多価免疫グロブリンおよび抗TNFからなる群から選択される、CH Iの予防または治療のために従来処方される少なくとも1つの分子、および／またはインターロイキン-18（IL-18）の阻害薬と併用して使用してよい。

30

【0010】

本発明では、用語「IL-1阻害薬」は、IL-1α（IL-1アルファ）および／またはIL-1β（IL-1ベータ）の生物活性を通常低減または中和する化合物を表す。この阻害薬は、好ましくは、IL-1αおよび／またはIL-1βの直接阻害薬である。これは、阻害薬は、IL-1もしくはその受容体の生物活性を通常直接的に低減または中和する、換言すれば、生物活性を低減または中和されたIL-1は、IL-1受容体以外の中間化合物の作用の結果ではないことを意味する。

【0011】

対象のIL-1阻害薬の例は、IL-1αおよび／またはIL-1βおよび／またはIL-1受容体に対する抗体、IL-1αおよび／またはIL-1βおよび／またはIL-1受容体に対するアプタマーもしくはSpiegelmer、IL-1αおよび／またはIL-1βおよび／またはIL-1受容体に対する阻害核酸配列、IL-1受容体拮抗薬、ならびにIL-1αおよび／またはIL-1βおよび／またはIL-1受容体に対する小分子である。

40

【0012】

本発明の特定の実施形態によれば、IL-1阻害薬は、IL-1αを特異的に阻害し、IL-1ベータを特異的に阻害し、IL-1受容体を特異的に阻害し、またはIL-1αおよびIL-1βの両方を特異的に阻害する。

【0013】

したがって、本発明は、CH Iまたは早期流産、子宮内胎児発育遅延、もしくは子宮内

50

胎児死亡などの少なくとも1つの随伴症状の予防または治療において使用するためのIL-1 α および／またはIL-1 β 阻害薬であって、前記症状は少なくとも部分的にCHIが原因である、使用するためのIL-1 α および／またはIL-1 β 阻害薬に関する。

【0014】

さらに、本発明は、CHIまたは早期流産、子宮内胎児発育遅延、もしくは子宮内胎児死亡などの少なくとも1つの随伴症状の予防または治療において使用するためのIL-1 α および／またはIL-1 β 阻害薬を含む医薬組成物であって、前記症状は少なくとも部分的にCHIが原因である、医薬組成物に関する。本発明による使用のための医薬組成物は、IL-1阻害薬に加えて、少なくとも1つの薬剤的に許容可能な賦形剤、媒体、担体または支持体を更に含む。用語「薬剤的に許容可能な」は、連邦政府もしくは州政府の規制当局によって承認されている、または米国薬局方、もしくは欧州薬局方もしくは動物、より特にヒトにおいて使用するための他の一般的に承認された薬局方に記載されていることを意味する。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】健康な胎盤（コントロール、CTRL）対CHI胎盤（絨毛間腔炎、CHI）のインフラマソーム経路（CASP1、PYCARD、NOD2、NLRP3）に関連するタンパク質の差次的発現レベルのバイオリン図を示す（*：p<0.05；**：p<0.01）。

【図2】健康な胎盤（コントロール、CTRL）対CHI胎盤（絨毛間腔炎）のIL-1 β およびIL-18 mRNAの差次的発現レベルのバイオリン図を示す（*：p<0.05；**：p<0.01）。

【図3】（A）健康な胎盤（コントロール、CTRL）のサンプルと比較したCHI胎盤（絨毛間腔炎、CHI）の組織切片におけるIL-1 β タンパク質の免疫組織化学標識、（B）健康な胎盤（コントロール、CTRL）のサンプルと比較したCHI胎盤（絨毛間腔炎、CHI）の組織切片におけるIL-1 β クラスター数を示す。

【発明を実施するための形態】

【0016】

本発明により使用するための通常のIL-1阻害薬、または本発明により使用するもののかかる阻害薬を含む本明細書に記載されている組成物を、静脈内もしくは動脈内注射などの血流（全身注入）中に注入することによって、皮下もしくは皮膚投与によって、筋肉内投与によって、経口（per os）もしくは直腸投与によって、および／または鼻腔投与によって、対象に投与してよい。好ましい実施形態では、組成物を、皮下投与用に製剤する。

【0017】

本発明により使用するための、または本発明により使用するための医薬組成物に含まれているIL-1 α および／またはIL-1 β の阻害薬は、好ましくは、カナキヌマブ（Ilaris（登録商標）、インターロイキン-1 β において標的とされるIgG1/ κ アイソタイプのヒトモノクローナル抗体）およびアナキンラ（Kineret（登録商標）、インターロイキン-1受容体拮抗薬）からなる群から選択される。

【0018】

本発明の特定の実施形態によれば、前記本発明により使用するための医薬組成物は、好ましくは、アスピリン、低分子量ヘパリン、ヒドロキシクロロキン、副腎皮質ステロイド、免疫抑制剤としてアザチオプリン、多価免疫グロブリンおよび抗TNF化合物からなる群から選択される、CHIを治療するために従来に処方されている少なくとも1つの分子を更に含む。存在する場合、前記分子を、IL-1 α および／またはIL-1 β の阻害薬と一緒に、同時にまたは順次投与する。

【0019】

本発明の特定の実施形態によれば、前記本発明により使用するための医薬組成物は、少なくとも1つのインターロイキン18（IL-18）阻害薬を更に含む。IL-18阻害

10

20

30

40

50

薬の例としては、タデキニグアルファとして知られている組換えヒト IL-18 結合タンパク質を挙げることができる。本発明の特定の実施形態によれば、前記 IL-18 阻害薬は、抗 IL-18 抗体である。存在する場合、前記 IL-18 阻害薬を、IL-1 α および／または IL-1 β の阻害薬と一緒に、同時にまたは順次投与する。

【0020】

本発明の特定の実施形態によれば、前記 IL-1 α および／または IL-1 β の阻害薬は、抗 IL-1 抗体、好ましくは抗 IL-1 β 抗体である。例えば、抗 IL-1 β モノクローナル抗体カナキヌマブ (I l a r i s (登録商標)) を、IL-1 α および／または IL-1 β の阻害薬として、早期流産、子宮内胎児発育遅延、もしくは子宮内胎児死亡などの CHI または随伴症状の予防または治療において使用することができる。

10

【0021】

本発明の特定の実施形態によれば、前記 IL-1 α および／または IL-1 β の阻害薬は、IL-1 受容体の拮抗薬である。例えば、IL-1 α および IL-1 β の両方を阻害することができるバイオ医薬品アナキンラ (K i n e r e t (登録商標)) を、IL-1 α および／または IL-1 β の阻害薬として、早期流産、子宮内胎児発育遅延、もしくは子宮内胎児死亡などの CHI または随伴症状の予防または治療において使用することができる。

【0022】

本発明の特定の実施形態によれば、前記 IL-1 α および／または IL-1 β の阻害薬を、前記化合物を従来の投与量で、例えば、100mg/日の用法用量で、特に皮下に100mg/日の用法用量で、好ましくは1日単回投与で使用する。投与量は、投与経路および／または必要により存在する追加の生物活性化合物に応じて変わり得る。

20

【0023】

本発明の更なる目的は：

a) 対象のサンプルにおける、IL-1 α および／または IL-1 β 、好ましくは IL-1 β の発現レベル E1 を測定するステップと；

b) 前記発現レベル E1 と、健常者のサンプルにおける IL-1 α および／または IL-1 β 、好ましくは IL-1 β の参照発現レベル E2 とを比較するステップであって、IL-1 α および／または IL-1 β 、好ましくは IL-1 β について E2 値より大きい E1 値は、対象が CHI に罹患していることを示す、ステップと、

30

を含む、対象における CHI のインビトロ診断方法である。

【0024】

本発明によれば、CHI に罹患しているらしいと疑われる対象のサンプルにおける CHI のインビトロ診断方法のステップ a) を、当技術分野において公知のいずれかの適切な技術によって行い、IL-1 α および／または IL-1 β 、好ましくは IL-1 β の発現レベルを測定してよい。ステップ a) を、IL-1、好ましくは IL-1 α および／もしくは IL-1 β タンパク質の発現、または IL-1 α および／もしくは IL-1 β 、好ましくは IL-1 β 、mRNA のレベルを測定することによって行ってよい。IL-1 α および／または IL-1 β タンパク質、好ましくは IL-1 β の発現レベルを使用する場合、サンプルは、好ましくは血液サンプルまたは胎盤サンプル、特に血液サンプルである。IL-1 α および／または IL-1 β mRNA、好ましくは IL-1 β mRNA の発現レベルを使用する場合、サンプルは、好ましくは胎盤サンプルである。比較目的のため、診断しようとする対象からのサンプルおよび健常者からのサンプルは、本来類似しているので、これらの発現レベルは直接的に比較可能である。例えば、ステップ a) を、ELISA、qPCR またはナノストリング分析によって行ってよい。

40

【0025】

本発明では、健常者のサンプルにおける参照発現レベル [...] は、CHI 状態またはその随伴症状を示していないおよび／または示していなかった参照対象または参照対象群を表す。本発明では、用語「参照対象群」は、信頼ある参照値を規定することを可能とする群を表す。例えば、上記定義の通り少なくとも2参照対象、少なくとも40参照対象

50

、または少なくとも40～200参照対象の群であってよい。参照対象または参照対照群は、好ましくは、例えば、同様な年齢、体重、性別、体重、および／またはタバコ／アルコール／薬物乱用を含む群において選択される、CHIに関して診断しようとする対象として類似の生理特性を有する。

【0026】

本発明の更なる目的は、対象におけるCHIの治療有効性のインビトロモニタリング方法であって、

a') いずれものCHI治療を受ける前、CHIに罹患している対象のサンプルにおけるIL-1 α および／またはIL-1 β 、好ましくはIL-1 β の発現レベルE1'を測定するステップと；

b') CHI治療開始後、CHIに罹患している対象のサンプルにおけるIL-1 α および／またはIL-1 β 、好ましくはIL-1 β の発現レベルE2'を測定するステップと；

c') 発現レベルE1'およびE2'を比較するステップであって、E1'値より小さいE2'値は有効な治療であることを示す、ステップと、を含む、方法である。

【0027】

本発明によれば、CHIに罹患している対象のサンプルにおけるCHIの治療有効性のインビトロモニタリング方法のステップa')およびb')を、当技術分野において公知のいずれかの適切な技術によって行い、IL-1 α および／またはIL-1 β 、好ましくはIL-1 β の発現レベルを測定してよい。ステップa')を、IL-1、好ましくはIL-1 α および／もしくはIL-1 β タンパク質の発現、またはIL-1 α および／もしくはIL-1 β 、好ましくはIL-1 β 、mRNAのレベルを測定することによって行ってよい。IL-1 α および／またはIL-1 β タンパク質、好ましくはIL-1 β の発現レベルを使用する場合、サンプルは、好ましくは血液サンプルまたは胎盤サンプル、特に血液サンプルである。IL-1 α および／またはIL-1 β mRNA、好ましくはIL-1 β mRNAの発現レベルを使用する場合、サンプルは、好ましくは胎盤サンプルである。比較目的のため、種々の時間においてCHIに罹患している対象から得られたサンプルは、本来類似しているので、これらの発現レベルは直接的に比較可能である。例えば、ステップa')およびb')を、ELISA、qPCRまたはナノストリング分析によって行

【0028】

本発明では、用語「治療」は、医学的処置、例えば、分子（例えば、有機合成により得られた分子、生体起源の分子、例えば、タンパク質、生物、例えば、哺乳類、微生物、植物由来分子および／または生物によって合成された分子、例えば、タンパク質、核酸分子）の摂取を含む逆症療法を表す。用語「治療」は、治療される対象の自然経過を変えようとする治療介入を表す。治療の望ましい効果としては、症状の減弱または軽減、CHIまたは本明細書に開示されている随伴症状のいずれもの直接的もしくは間接的病理的帰結の減少、CHIまたは本明細書に開示されている随伴症状の進行速度の低下、およびCHIまたは本明細書に開示されている随伴症状の状態の寛解または緩和が挙げられるが、これらに限定されない。

【0029】

本発明では、用語「予防」は、予防（予防的）目的のために行われる処置を表す。予防の望ましい効果としては、CHIまたは本明細書に開示されている随伴症状の発生または再発の予防が挙げられるが、これらに限定されない。

【0030】

本発明では、CHIの治療は、当業者に公知のいずれもの治療であり得る。本発明によれば、これは、例えば、IL-1 α および／またはIL-1 β の阻害薬を使用する治療であってよい。これは、例えば、好ましくは、アスピリン、低分子量ヘパリン、ヒドロキシクロロキン、副腎皮質ステロイド、免疫抑制剤としてアザチオプリン、多価免疫グロブリン

ンおよび抗TNF化合物からなる群から選択される、CHIを治療するために従来に処方されている1つの分子を使用する更なる治療であり得る。これは、例えば、IL-18の阻害薬を使用する更なる治療であり得る。

【実施例】

【0031】

実施例1：健康な胎盤と比較したCHI胎盤のインフラマソーム活性化経路のmRNAの差次的発現変動

【0032】

本発明との関連で、CHI胎盤（絨毛間腔炎）グレードIIまたはIIIの18パラフィン処理サンプルおよび健康な胎盤（コントロール）の6パラフィン処理サンプルからのRNAを、Qiagen RNeasy FFPEキットを用いて抽出した。各患者について、2つの20μm胎盤組織切片を使用した。脱パラフィン処理ステップ後、プロテイナーゼKを用いて消化した。上澄み液を、DNアーゼIで処理した。次いで、全RNAを、RNeasy MinEluteカラムにより処理し、30μlのRNアーゼを含まない水で溶出した。

【0033】

24患者サンプルのトランスクリプトーム分析を、PanCancer Immune Profiling Patternを使用することによって製造者ナノストリングプロトコールに従って行った。サンプルを、nCounter XT Gene Expression Assaysを用いて分析し、各サンプルについてmRNA数を得た。

【0034】

nSolver Advanced解析ソフトウェアを用いて、統計解析を行った。4つの異なるプラグインを使用してデータ解析した：プラグインOverview、プラグインNormalization、プラグインGene set analysisおよびプラグインCell type profiling。

【0035】

得られた結果を下表1に示す。

【0036】

【表1】

rRNAm	差次的発現	倍率変化	p. 補正值
NOD2 (NLRC2)	あり	6.21	0.00705
NLRC5	あり	4.54	0.0218
NLRP3	あり	3.14	0.0422
PYCARD (ASC)	あり	5.68	0.0088

【0037】

その結果、健康な胎盤と比較して、病的胎盤において、インフラマソーム活性化経路の因子の有意な過剰発現がみられた：PYCARD（倍率変化=5.58； $p<0.01$ ）、NLRP3（倍率変化=3.14； $p<0.05$ ）、NLRC5（倍率変化=4.54； $p<0.05$ ）、et NOD2（倍率変化=6.21； $p<0.01$ ）。

【0038】

PYCARD、NOD2およびNLRP3 mRNAの有意な過剰発現を、図1にバイオリン図で示した。

【0039】

実施例2：健康な胎盤と比較したCHI胎盤のIL-1 β およびIL-18 mRNAの発現レベル

【0040】

本発明との関連で、CHI胎盤（絨毛間腔炎）グレードIIまたはIIIの18パラフィン処理サンプルおよび健康な胎盤（コントロール）の6パラフィン処理サンプルからのRNAを、Qiagen RNeasy FFPEキットを用いて抽出した。各患者について、2つの20 μ m胎盤組織切片を使用した。脱パラフィン処理ステップ後、プロテイナーゼKを用いて消化した。上澄み液を、DNアーゼIで処理した。次いで、全RNAを、RNeasy MinEluteカラムにより処理し、30 μ lのRNアーゼを含まない水で溶出した。

10

【0041】

24患者サンプルのトランスクリプトーム分析を、PanCancer Immune Profiling Patternを使用することによって製造者ナノストリングプロトコールに従って行った。サンプルを、nCounter XT Gene Expression Assaysを用いて分析し、各サンプルについてmRNA数を得た。

【0042】

nSolver Advanced解析ソフトウェアを用いて、統計解析を行った。4つの異なるプラグインを使用してデータ解析した：プラグインOverview、プラグインNormalization、プラグインGene set analysisおよびプラグインCell type profiling。

20

【0043】

得られた結果を下表2に示す。

【0044】

【表2】

rRNAm	差次的発現	倍率変化	p. 補正值
IL-1 β	あり	5.66	0.00498
IL-18	あり	3.96	0.0343

30

【0045】

その結果、病的胎盤におけるインフラマソームアクターによって産生されたサイトカインの有意な過剰発現がみられた：IL-1 β （倍率変化=5.66； $p<0.01$ ）およびIL-18（倍率変化=3.96； $p<0.05$ ）。

【0046】

IL-1 β およびIL-18 mRNAの有意な過剰発現を、図2にバイオリン図で示した。

40

【0047】

実施例3：健康な胎盤と比較したCHI胎盤のIL-1 β タンパク質の過剰発現レベル

【0048】

本発明との関連で、IL-1 β タンパク質発現レベルを、免疫組織化学によって分析した。

【0049】

全サンプルを、10%緩衝ホルマリンに固定した。全サンプルに対して、抗IL-1 β 抗体（Cell Signaling（登録商標）、クローン3A6、希釈1/100）を用いて免疫組織化学染色を行った。

50

【0050】

ホルマリン固定およびパラフィン包埋組織を切断（3 μm厚）し、スライド上に取り付けた。検体を、6分間脱パラフィン処理した（O T T I X）。希釈水で洗浄後、スライドを、アンマスキング液と共に20分間95～100℃でインキュベートした。T B S ツイーン（0.1%）中で洗浄後、内在性ペルオキシダーゼ活性を、室温において10分間、3% H₂O₂によって遮断した。室温において20分間加湿されたチャンバー内のスライドの切片上に、ブロッキングバッファーを添加した。次いで、100 μlの希釈された一次抗体をスライド上の切片に添加し、4℃において加湿されたチャンバー内で一夜インキュベートした。洗浄後、100 μlの適切に希釈された二次抗体を切片に添加し、室温において30分間加湿されたチャンバー内でスライドをインキュベートした。洗浄後、100 μlのD A B基質溶液を適用した。ヘマトキシリンでスライドを対比染色し、マウントした。免疫組織化学的に染色されたスライドを診断の知見なしでレビューした。アグリゲートの数を、各サンプルについて、50倍の高倍率視野で評価した。

10

【0051】

I m m P r e s s 製造者プロトコールに従って標識化を行った。

【0052】

使用した抗体を、表3に記載する。

【0053】

【表3】

標的	提供者	参照	希釈	二次抗体
IL-1β	Cell signaling	3A6	1/100	マウス
マウス二次抗体	VectorLab	ImmPRESS HRP 試薬キット MP-7402	-	-

20

30

【0054】

胎盤分析専門の解剖病理学者によって、標識化を盲検で分析した。

【0055】

標識化結果を図3Aに示す。その結果、I L - 1 βタンパク質は、合胞体性結節およびフィブリノイド物質沈着物中に局在していることが示された。

【0056】

定量分析は、I L - 1 βタンパク質は、健康な胎盤（分析された50倍の高倍率視野について計数された81 I L - 1 βクラスター）と比較して、C H I胎盤において過剰発現される（分析された50倍の高倍率視野について計数された180 I L - 1 βクラスター）ことを、図3Bに示した。

40

【0057】

実施例4：慢性組織球性絨毛間腔炎の再発予防におけるバイオ医薬品K I N E R E T（登録商標）（アナキンラ）の利益の評価

【0058】

これは、再発C H Iに関するフェーズI / IIパイロット臨床試験である。これは希な疾病であるが、再発性C H I患者は、治療の行き詰まりのせいで相談所に送られることがしばしばであり、新規治療ストラテジーを求めている。

【0059】

50

妊娠中のアナキンラに対するデータは限定的であるが、超治療投与量における受胎能、胚・胎児、周産期または出生後発育（ラットおよびウサギ）に関して、アナキンラの影響がないことが報告されている。この報告は、妊娠中にアナキンラを中断することができない病態（スチル病、クリオピリン関連周期性症候群）のため、妊娠中にヒトにおけるこの分子の許容度に関して心強く感じさせるデータを提供する。

【0060】

したがって、この試験の主目的は、アナキンラは再発性CH Iの予防のための有望な治療であり得ることを実証することだけでなく、第二の目的は、産科学の結果、妊娠中および産後12ヶ月の分子の臨床生物許容度、ならびに胎盤解剖病理学に対する治療の影響に関する妊娠中におけるアナキンラの効果を評価することでもある。

10

【0061】

被検コホートは、再発性CH Iの病歴を有する15患者を含む：産科合併症（自然流産、後期胎児喪失、子宮内胎児発育遅延、子宮内胎児死亡、子癇前症）をもたらすCH Iの少なくとも2つの確認された発症例。非特許文献6の分類に従った過去の妊娠の胎盤の組織学的検査中にCH Iを診断する。なお、少数の患者、インフォームドコンセントを得ることができない患者、妊娠中の免疫抑制剤治療患者、免疫欠損患者およびアナキンラに対する過敏症と分かっている患者は、試験から除外した。この患者参加期間は、24ヶ月継続した。

【0062】

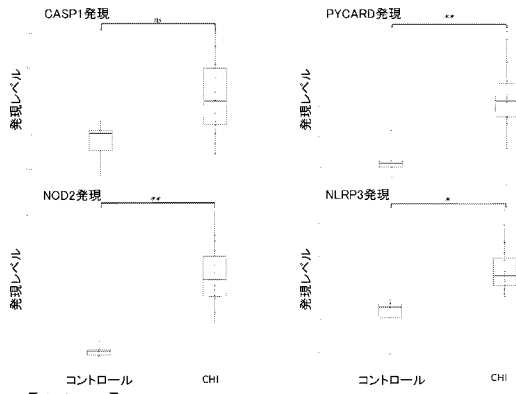
アナキンラ群に無作為に割り付けられた患者は、妊娠開始から（妊娠8週以内）および無月経34週以下、毎日1回皮下に100mg／日の投与量でアナキンラを受けた。この参加期間は、実際に21ヶ月継続した（妊娠中および産後12ヶ月経過観察）。

20

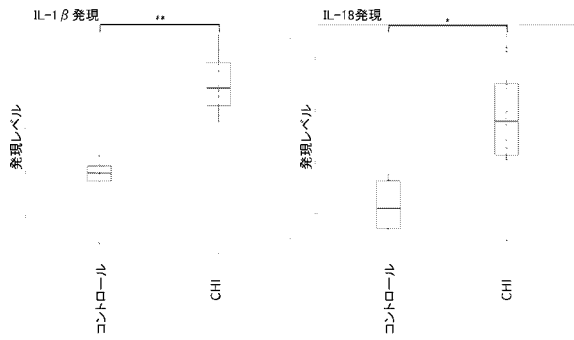
【0063】

CH Iを再発する危険性が高いこれらの患者の出生率（60%を超え得る比率）に基づく主要な判断基準、ならびに産科合併症（自然流産、血管性胎盤機能不全（vasculoplacental insufficiency）、子宮内胎児死亡、未熟児）、妊娠中および産後の母性感染合併症、胎児奇形、生後1年の小児感染合併症、ならびに胎盤の組織学的検査ならびに存在する場合CH Iグレード評価に基づいた第二判断基準に従って、妊娠結果を評価した。

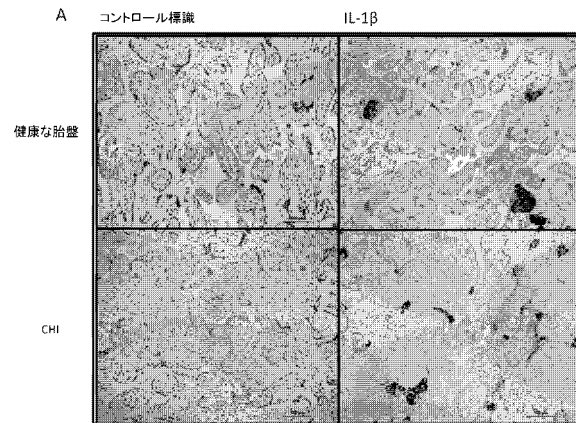
【図 1】



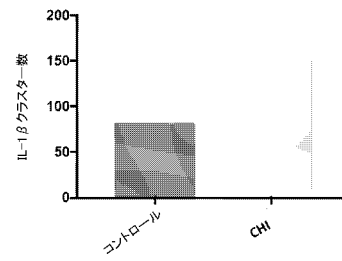
【図 2】



【図 3】



B



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/065617

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K16/24 A61P15/00 A61P15/06
ADD. A61K38/17 C07K14/545

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61K A61P

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	NOBUAKI OZAWA ET AL: "Chronic histiocytic intervillitis in three consecutive pregnancies in a single patient: Differing clinical results and pathology according to treatment used : Recurrent chronic intervillitis", JOURNAL OF OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY RESEARCH, vol. 43, no. 9, 1 September 2017 (2017-09-01), pages 1504-1508, XP055521803, JP ISSN: 1341-8076, DOI: 10.1111/jog.13404 abstract ----- -/--	1-12,14

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

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 August 2019

Date of mailing of the international search report

06/09/2019

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Malamoussi, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2019/065617

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	A. MUEHLENBACHS ET AL: "Genome-Wide Expression Analysis of Placental Malaria Reveals Features of Lymphoid Neogenesis during Chronic Infection", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 179, no. 1, 1 July 2007 (2007-07-01), pages 557-565, XP055521837, US ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.179.1.557 abstract page 557, right-hand column, paragraph 1 page 562, right-hand column, paragraph 2; table V	13,14
X	----- Lukas Freitag ET AL: "Expression analysis of leukocytes attracting cytokines in chronic histiocytic intervillitis of the placenta", International journal of clinical and experimental pathology, 1 January 2013 (2013-01-01), pages 1103-1111, XP055521840, United States Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3657363/pdf/ijcep0006-1103.pdf [retrieved on 2018-11-07] abstract page 1106; table 2 page 1109, left-hand column, paragraph 1	14
A	----- P Greally ET AL: "Interleukin-1 alpha, soluble interleukin-2 receptor, and IgG concentrations in cystic fibrosis treated with prednisolone", Archives of disease in childhood, 1 July 1994 (1994-07-01), pages 35-39, XP055521844, England DOI: 10.1136/adc.71.1.35 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1029909/pdf/archdisch00567-0042.pdf [retrieved on 2018-11-07] abstract ----- -/--	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2019/065617

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	M LIGUMSKY ET AL: "Role of interleukin 1 in inflammatory bowel disease--enhanced production during active disease.", GUT, vol. 31, no. 6, 1 June 1990 (1990-06-01), pages 686-689, XP055521846, UK ISSN: 0017-5749, DOI: 10.1136/gut.31.6.686 abstract	1-14
A	----- D CARNOVALE ET AL: "Aspirin dose dependently inhibits the interleukin-1[beta]-stimulated increase in inducible nitric oxide synthase, nitric oxide, and prostaglandin E2 production in rat ovarian dispersates cultured in vitro", FERTILITY AND STERILITY., vol. 75, no. 4, 1 April 2001 (2001-04-01), pages 778-784, XP055521849, USA ISSN: 0015-0282, DOI: 10.1016/S0015-0282(00)01784-2 abstract -----	1-14

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	
A 6 1 K 38/20 (2006.01)	A 6 1 K 38/20	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 K 31/56 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 31/727 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
A 6 1 K 31/616 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 31/4706 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	Y
A 6 1 K 31/52 (2006.01)	A 6 1 K 31/56	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 31/727	
	A 6 1 K 31/616	
	A 6 1 K 31/4706	
	A 6 1 K 31/52	
	G 0 1 N 33/53	P

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

(74)代理人 110002860

特許業務法人秀和特許事務所

(72)発明者 ブランコ, パトリック

フランス 3 3 4 9 0 ヴェルドゥレ ラ ラム

(72)発明者 ラザロ, エスティバリズ

フランス 3 3 7 0 0 メリニャック リュ アンドレ マジノ 5 3

(72)発明者 ソーベストレ, ファニー

フランス 3 3 6 0 0 ペサック アベニュー ド ノエス 2 3

(72)発明者 マットウイツィ, オーレリアン

フランス 3 3 0 0 0 ボルドー リュ ギヨーム ルブラン 5 2

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA03 AA17 AA19 AA20 BA44 CA18 DA59 MA02 NA05

NA14 ZA811 ZA812 ZB111 ZB112 ZC421 ZC422 ZC751

4C085 AA13 AA14 AA33 BB31 BB36 CC22 CC23 EE01 EE03 GG02

GG03 GG04 GG08

4C086 AA01 AA02 BC28 CB07 DA08 DA17 EA27 MA02 MA03 MA04

MA05 NA05 ZA81 ZB11 ZC42 ZC75