

(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2020-525459

(P2020-525459A)

(43) 公表日 令和2年8月27日(2020.8.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/00	4 B 0 6 3
<b>C 1 2 Q 1/686 (2018.01)</b>	C 1 2 Q 1/686	Z 4 C 0 7 6
<b>A 6 1 P 31/18 (2006.01)</b>	A 6 1 P 31/18	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00	1 0 7
<b>A 6 1 K 38/16 (2006.01)</b>	A 6 1 K 38/16	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 57 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2019-571632 (P2019-571632)	(71) 出願人 508029653 アンスティテュ・パストゥール フランス・F-75724・パリ・セデッ クス・15・リュ・デュ・ドクトゥール・ ルー・25-28
(86) (22) 出願日 平成30年6月25日 (2018.6.25)	(74) 代理人 100108453 弁理士 村山 靖彦
(85) 翻訳文提出日 令和2年2月21日 (2020.2.21)	(74) 代理人 100110364 弁理士 実広 信哉
(86) 国際出願番号 PCT/EP2018/066998	(74) 代理人 100133400 弁理士 阿部 達彦
(87) 国際公開番号 W02019/002228	(72) 発明者 ミカエラ・ミュラーートラットウィン フランス・75011・パリ・リュ・ムッ フル・4
(87) 国際公開日 平成31年1月3日 (2019.1.3)	最終頁に続く
(31) 優先権主張番号 62/524,996	
(32) 優先日 平成29年6月26日 (2017.6.26)	
(33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)	
(31) 優先権主張番号 62/566,907	
(32) 優先日 平成29年10月2日 (2017.10.2)	
(33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)	

(54) 【発明の名称】 HIVリザーバーを排除し、ウイルス負荷を低減する処置

(57) 【要約】

本発明は特にHIV感染の処置における使用のための、HLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞等のHLA-E拘束性リンパ球を誘起し、HIVに感染したヒトにおけるHIVウイルス負荷を低減する、グラチラマー酢酸塩並びにグラチラマー酢酸塩関連活性物質及び製品等の化合物の組成物、方法、及び使用に関する。SIVに慢性感染したマカクをグラチラマー酢酸塩で処置した。動物のうち1匹は既にAIDSの段階に進行していた。18mgのグラチラマー酢酸塩を週3回、2週間だけ注射した。驚くべきことに、処置に応答してウイルス負荷に対する強い影響が観察された。グラチラマー酢酸塩処置の間にウイルス血症は1ログ減少した。更に驚くべきことは、1匹の動物においてこの減少は処置を中止した後も持続し、ほとんど2ログの減少に達したという事実である。cARTを中止するとウイルス負荷が数日以内にリバウンドするので、これはcARTと比較して大きな成果である。この減少はHLA-E拘束性CD8 T細胞の活性化と関連したが、他の古典的CD8+ T細胞とは関連しなかった。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

HIV感染の処置における使用のための、ヒト対象においてHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞の活性化を誘起する化合物。

## 【請求項 2】

HLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞が、NKG2A/Cを発現している、請求項1に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 3】

HLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞が、CD107aを発現している、請求項1又は請求項2に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 4】

HIV感染ヒト対象の処置における使用のためのグラチラマー酢酸塩(GA)である、請求項1から3のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 5】

cARTを受けているHIV感染患者における、請求項1から4のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 6】

cARTを開始したことがないHIV感染患者における、請求項1から4のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 7】

GAが、式:(Glu,Ala,Lys,Tyr)<sub>x</sub>.X.CH<sub>3</sub>COOHの、L-アラニン、L-リジン、及びL-チロシン、酢酸(塩)を含むL-グルタミン酸のポリマーである、請求項4に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 8】

COPAXONE(登録商標)、GLATOPIA(登録商標)、若しくはBRABIO(登録商標)、又はそれらのジェネリック形態若しくは製品である、請求項4に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 9】

GAが、皮下注射用の製品の形態である、請求項4に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 10】

HIVに急性感染しているHIV感染患者における、請求項1から9のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 11】

HIVに慢性感染しているHIV感染患者における、請求項1から9のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 12】

過去にcARTを受けており、cARTを中断又は継続しているHIV感染患者における、請求項1から9のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 13】

GAが、少なくとも2回/日、2回/週、1回/日、1回/週、3回/週、又は2日ごとに1回投与される、請求項4から9のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 14】

少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、又は160mgのGAが投与される、請求項4から9のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 15】

HIV阻害剤と併用される、請求項1から14のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 16】

少なくとも2つ又は3つのHIV阻害剤と併用される、請求項1から14のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

## 【請求項 17】

10

20

30

40

50

cARTと併用される、請求項1から14のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

【請求項18】

cARTが、コンビビル、カレトラ、トリジビル、エブジコム、キベキサ、トルバダ、アトリプラ、コンプレラ、エビプレラ、ストリビルド、トリウムク、エボタズ、プレズコピクス、ツトレビス、ゲンボヤ、又はデスコビを含む、請求項17に記載の使用のための化合物。

【請求項19】

cARTが、以下の化合物：

ラミブジン、ジドブジン、ロピナビル、リトナビル、アパカビル、テノフォビルジソプロキシルフマレート、エムトリシタピン、エファビレンズ、リルピビリン、エルビテグラビル、コビシスタート、ドルテグラビル、アタザナビル、コビシスタート、ダルナビル、及びラルテグラビル

のいずれかの少なくとも2つ又は3つを含む、請求項17に記載の使用のための化合物。

【請求項20】

HIV阻害剤が、Rev阻害剤を含む、請求項17に記載の使用のための化合物。

【請求項21】

多発性硬化症と診断されたことがないHIV感染患者における、請求項1から20のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

【請求項22】

HIV脳症と診断されたことがないHIV感染患者における、請求項1から20のいずれか一項に記載の使用のための化合物。

【請求項23】

前記化合物が、

- 好適な量のグラチラマー酢酸塩関連原薬又は製品を非ヒト哺乳動物に投与する工程

- 前記哺乳動物におけるHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞の活性化レベルをベースラインレベルと比較して決定する工程

を含むプロセスによって特徴付けられる、グラチラマー酢酸塩関連原薬又は製品であり、

- 前記哺乳動物における、HLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞の活性化の増大、例えばNKG2A/C及び/又はCD107aを発現するHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞の数の増大が、前記GA関連原薬又は製品を、ヒトにおけるHIV感染を処置するための製品であるとして特徴付ける、請求項1に記載の使用のための化合物。

【請求項24】

HIV感染者におけるNKG2A/C及び/又はCD107aを発現するHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞を増加させる化合物の効果測定する方法であって、

NKG2A/C及び/又はCD107aを発現するHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞を増加させる化合物の少なくとも1つの用量をHIV感染者に投与する工程、並びに

HIV感染者におけるHIV感染のレベルを測定する工程

を含む方法。

【請求項25】

HIV感染者におけるHIV感染を測定する方法であって、

a)NKG2A/C及び/又はCD107aを発現するHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞を増加させる化合物で処置されたHIV感染患者からの生物学的試料を準備する工程、

b)HIV感染患者におけるHIV感染のレベルを測定する工程

を含む方法。

【請求項26】

HIV感染者に対するグラチラマー酢酸塩の効果測定する方法であって、

グラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量をHIV感染者に投与する工程、及び

HIV感染者におけるHIV感染のレベルを測定する工程

を含む方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 27】

HIV感染者におけるHIV感染を測定する方法であって、

- a) グラチラマー酢酸塩で処置されたHIV感染患者からの生物学的試料を準備する工程、  
b) HIV感染患者におけるHIV感染のレベルを測定する工程  
を含む方法。

## 【請求項 28】

HIV感染者におけるHIV感染のレベルを測定する工程が、HIV感染者における血漿HIV RNAのレベルを測定する工程を含む、請求項24から27のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 29】

HIV感染者における血漿HIV RNAのレベルを測定する工程が、逆転写及び増幅反応によって行なわれる、請求項28に記載の方法。

10

## 【請求項 30】

HIV感染者におけるHIV感染のレベルが、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、又は10回測定される、請求項24から29のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 31】

HIV感染者におけるHIV感染のレベルが、化合物による処置の前に得た測定と比較される、請求項29に記載の方法。

## 【請求項 32】

HIV感染者が、多発性硬化症と診断されたことがない、請求項24から31のいずれか一項に記載の方法。

20

## 【請求項 33】

HIV感染者が、HIV-1関連認知機能障害と診断されたことがない、請求項24から32のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 34】

HIV感染者が、HIVに急性感染している、請求項24から33のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 35】

HIV感染者が、HIVに慢性感染している、請求項24から33のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 36】

HIV感染者が、cARTを受けている、請求項24から35のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 37】

HIV感染者が、cARTを開始したことがない、請求項24から35のいずれか一項に記載の方法。

30

## 【請求項 38】

HIV-1感染患者が、過去にcARTを受けており、cARTを中断又は継続している、請求項24から35のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 39】

少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10～20、20～50、又は50～100回の投与が行なわれる、請求項24から38のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 40】

投与が、少なくとも2回/日、2回/週、1回/日、1回/週、3回/週、又は2日ごとに1回行なわれる、請求項39に記載の方法。

40

## 【請求項 41】

少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、又は160mgの化合物が投与される、請求項24から40のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 42】

少なくとも20mg/日の化合物が投与される、請求項41に記載の方法。

## 【請求項 43】

少なくとも40mgの化合物が、少なくとも3回/週投与される、請求項24から41のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 44】

50

有効量のグラチラマー酢酸塩(GA)又はGA関連原薬若しくは製品を含む医薬組成物をHIV感染者に投与する工程を含む、ヒトにおけるHIV感染を処置する方法であって、グラチラマー酢酸塩の投与が、HIV感染者における血漿HIV RNAのレベルを低減させる、方法。

【請求項45】

HIV感染者の処置における使用のための、有効量のGA又はGA関連原薬若しくは製品を含む医薬組成物。

【請求項46】

ヒト患者におけるHIV感染の処置におけるGA又はGA関連原薬若しくは製品を含む医薬組成物の使用。

10

【請求項47】

GA又はGA関連原薬若しくは製品の投与が、HIV感染患者の血漿HIV RNAのレベルを少なくとも10分の1に低減させる、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

【請求項48】

GA又はGA関連原薬若しくは製品の投与が、HIV感染患者の血漿HIV RNAのレベルを少なくとも100分の1に低減させる、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

【請求項49】

低減が、GA又はGA関連原薬若しくは製品の投与後、4~52週で評価される、請求項44に記載の方法。

20

【請求項50】

低減が、GA又はGA関連原薬若しくは製品の投与後、複数回評価される、請求項44に記載の方法。

【請求項51】

医薬組成物が、少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、又は160mgのGA又はGA関連原薬若しくは製品を含む、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

【請求項52】

HIV感染者が、多発性硬化症と診断されたことがない、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

30

【請求項53】

HIV感染者が、HIV-1関連認知機能障害と診断されたことがない、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

【請求項54】

HIV感染者が、HIVに急性感染している、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

【請求項55】

HIV感染者が、HIVに慢性感染している、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

40

【請求項56】

HIV感染者が、cARTを受けている、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

【請求項57】

HIV感染者が、cARTを開始したことがない、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

【請求項58】

HIV感染者が、過去にcARTを受けており、cARTを中断又は継続している、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

【請求項59】

50

少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10～20、20～50、又は50～100回の投与が行なわれる、請求項44から58のいずれか一項に記載の方法。

【請求項60】

GA又はGA関連原薬若しくは製品の投与が、少なくとも2回/日、2回/週、1回/日、1回/週、3回/週、又は2日ごとに1回行なわれる、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

【請求項61】

少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、又は160mg/日のGA又はGA関連原薬若しくは製品が投与される、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

10

【請求項62】

少なくとも20mg/日のGA又はGA関連原薬若しくは製品が投与される、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

【請求項63】

少なくとも40mgのGA又はGA関連原薬若しくは製品が、少なくとも3回/週投与される、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。

【請求項64】

HIV感染者の処置における使用のための、有効量のグラチラマー酢酸塩(GA)又はGA関連原薬若しくは製品及びHIV阻害剤を含む医薬組成物。

【請求項65】

HIV感染患者への同時の、個別の、連続的な投与のための、有効量のグラチラマー酢酸塩(GA)又はGA関連原薬若しくは製品及びHIV阻害剤を含む部品のキット。

20

【請求項66】

少なくとも2つ又は3つのHIV阻害剤を含む、請求項64に記載の医薬組成物又は請求項65に記載の部品のキット。

【請求項67】

cARTを含む、請求項64に記載の医薬組成物又は請求項65に記載の部品のキット。

【請求項68】

cARTが、コンビル、カレトラ、トリジビル、エブジコム、キベキサ、トルバダ、アトリプラ、コンプレラ、エビプレラ、ストリビルド、トリウム、エボタズ、プレズコピクス、ツトレビス、ゲンボヤ、又はデスコビを含む、請求項64に記載の医薬組成物又は請求項65に記載の部品のキット。

30

【請求項69】

cARTが、以下の化合物：

ラミブジン、ジドブジン、ロピナビル、リトナビル、アバカビル、テノフォビルジソプロキシルフマレート、エムトリシタピン、エファビレンズ、リルピピリン、エルビテグラビル、コピシスタート、ドルテグラビル、アタザナビル、コピシスタート、ダルナビル、及びラルテグラビル

のいずれかの少なくとも2つ又は3つを含む、請求項64に記載の医薬組成物又は請求項65に記載の部品のキット。

40

【請求項70】

HIV阻害剤が、Rev阻害剤を含む、請求項64に記載の医薬組成物又は請求項65に記載の部品のキット。

【請求項71】

HIV阻害剤が、8-クロロ-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)キノリン-2-アミン(ABX464)及び8-クロロ-N-グルクロニド-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)キノリン-2-アミン(ABX464-N-グルクロニド)を含む、請求項64に記載の医薬組成物又は請求項65に記載の部品のキット。

【請求項72】

HIV阻害剤が、8-クロロ-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)キノリン-2-アミン(AB

50

X464)及び8-クロロ-N-グルクロニド-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)キノリン-2-アミン(ABX464-N-グルクロニド)、並びに以下の化合物:

ラミブジン、ジドブジン、ロピナビル、リトナビル、アバカビル、テノフォビルジソプロキシルフマレート、エムトリシタピン、エファビレンズ、リルピビル、エルビテグラビル、コビススタート、ドルテグラビル、アタザナビル、コビススタート、ダルナビル、及びラルテグラビル

のいずれかの少なくとも2つ又は3つを含むcARTを含む、請求項64に記載の医薬組成物又は請求項65に記載の部品のキット。

【請求項73】

HIV-1感染患者が、Rev阻害剤による処置を受けている、請求項44に記載の方法、請求項45に記載の医薬組成物、又は請求項46に記載の使用。 10

【請求項74】

HIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する方法であって、

- a) グラチラマー酢酸塩の用量をHIV感染患者に投与する工程、
- b) 患者から血液試料を採取する工程、
- c) 血液試料からRNAを調製する工程、
- d) RNAからcDNAを調製する工程、
- e) DNA又はそのRNAコピーを作成することによってcDNAを増幅し、増幅試料を生成させる工程、及び

f) 増幅試料中のHIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する工程を含む方法。 20

【請求項75】

少なくとも2回繰り返される、請求項74に記載の方法。

【請求項76】

ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によってHIV cDNAのDNAコピーを作成する工程を含む、請求項74又は請求項75に記載の方法。

【請求項77】

PCRが、リアルタイムRT-PCRである、請求項76に記載の方法。

【請求項78】

T7ポリメラーゼを用いてHIV cDNAのRNAコピーを作成する工程を含む、請求項74から77のいずれか一項に記載の方法。 30

【請求項79】

蛍光標識を有する増幅試料中のHIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する工程を含む、請求項74から78のいずれか一項に記載の方法。

【請求項80】

HIV感染患者が、グラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量を投与される前又はその後の1か月以内に抗HIV阻害剤で処置されている、請求項74から79のいずれか一項に記載の方法。

【請求項81】

血液試料中の細胞を除去して血漿試料を生成し、血漿試料からRNAを調製する、請求項74から80のいずれか一項に記載の方法。 40

【請求項82】

血漿試料が、RNAを調製する前に超遠心分離に供される、請求項74から81のいずれか一項に記載の方法。

【請求項83】

cDNAが、HIV-1特異的プライマー及び逆転写酵素を用いて調製される、請求項74から82のいずれか一項に記載の方法。

【請求項84】

HIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する方法であって、

- a) グラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量で処置されたHIV感染患者からの血液試料を 50

準備する工程、

b)血液試料からRNAを調製する工程、

c)RNAからcDNAを調製する工程、

d)DNA又はそのRNAコピーを作成することによってcDNAを増幅して増幅試料を生成させる工程、及び

e)増幅試料中のHIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する工程を含む方法。

【請求項 8 5】

少なくとも2回繰り返される、請求項84に記載の方法。

【請求項 8 6】

ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によってHIV cDNAのDNAコピーを作成する工程を含む、請求項84又は85に記載の方法。

【請求項 8 7】

PCRが、リアルタイムRT-PCRである、請求項86に記載の方法。

【請求項 8 8】

T7ポリメラーゼを用いてHIV cDNAのRNAコピーを作成する工程を含む、請求項84から87のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 9】

蛍光標識を有する増幅試料中のHIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する工程を含む、請求項84から88のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 0】

HIV感染患者が、グラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量で処置される前又はその後の1か月以内に抗HIV阻害剤で処置されている、請求項84から89のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 1】

血液試料中の細胞を除去して血漿試料を生成し、血漿試料からRNAを調製する、請求項84から90のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 2】

血漿試料が、RNAを調製する前に超遠心分離に供される、請求項91に記載の方法。

【請求項 9 3】

cDNAが、HIV-1特異的プライマー及び逆転写酵素を用いて調製される、請求項84から92のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は特にHIV感染の処置における使用のための、HLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞等のHLA-E拘束性リンパ球を誘起し、HIVに感染したヒトにおけるHIVウイルス負荷を低減する、グラチラマー酢酸塩及びグラチラマー酢酸塩関連活性物質並びに製品等の化合物の組成物、方法、及び使用に関する。

【背景技術】

【0002】

HIV感染を処置するための抗レトロウイルス併用治療(cART)の実施は驚くべき成功であり、数百万人の生命を救ってきた。しかし、HIVはやはり主要な公衆衛生問題であり、今日でも世界的に再生産年齢(15~49歳)の女性の死亡の主原因であり、世界中の青年の死因の2番目である。新規感染の数は十分に減少しておらず、ワクチンが緊急に必要である。更に、HIVの治癒は今でも欠けている。HIV保因者では、cART処置は体内からウイルスを排除していない。その代わりに、ウイルスは存続し、いわゆる「ウイルスリザーバー」の形で隠れている。cARTが中断されればすぐに、ウイルスはウイルスリザーバーからリバウンドし、cART処置の開始前と同じ高いウイルス血症レベルに急速に達する。細胞内及び解剖学的なリザーバーにおけるHIVのこの存続のために、HIV感染個体はその生涯にわたって処置

10

20

30

40

50



を維持する必要がある(Calinら、2016; Daveyら、1999; Lorenzo-Redondoら、2016)。生涯にわたる処置は高い経済的コストを意味する。今のところ、世界中で全患者の半分のみがcARTを受けている。この処置の長期有効性も、服薬遵守率が悪いことに起因する薬物抵抗性の問題によって妨げられている。生涯にわたる処置を行なうことにおける操作上及び流通上の課題はまさに手ごわいものである。抵抗株と闘う第二陣及び第三陣の薬物は存在するものの、これらは発展途上国ではあまりに高価であることが多い。患者の臨床管理のためのウイルス負荷のアッセイ及びウイルス抵抗性の検出は、実施されないことが最も多い(Chunら、2015; Tronoら、2010)。最後に、しかし大事なことであるが、HIV感染は多くの場所で汚辱及び差別と関連している。十分に早期に診断されなければ、cARTは完全な免疫機能を復活させることができない。更に、ほとんどのcART処置を受けた個体において、HIVに誘起された持続する慢性炎症は、非AIDS死亡及び合併症のより高いリスクを誘起する。

10

#### 【0003】

このため、HIV研究者はHIVの治癒の観点からいくつかの新規な治療戦略を調査することを開始した。多くの試み(TLR-7、潜伏感染再活性化剤(latency reversal agent)、CMVワクチン接種、bNab、抗-a4b7)が、現在試験中である。しかし、HIVの治癒のための治療への道は極めて長い。HIVの持続制御又は更に排除に到達するには、多くの障害を克服しなければならない。特に、HIVは変異して適応免疫応答を逃れる顕著な能力を有している。更に、HIV感染は免疫学的機能不全を誘起し、そのため宿主はウイルスの複製を制御することができない。更に、ウイルスの遺伝材料が細胞ゲノムに統合され、そのためウイルスは不可視となって宿主の免疫応答を回避することができる。このように、HIVは宿主の全生涯にわたって体内で存続することができる。

20

#### 【0004】

それにも関わらず、チモシー・ブラウンの例はHIVの治癒が実現可能であり得るとの希望をもたらした。チモシー・ブラウンは、CCR5 32の変異のためにCD4<sup>+</sup> T細胞がHIV感染に抵抗性があるドナーからの二重幹細胞移植を受けた、HIV感染がん患者である(Allersら、2011; Hutterら、2009)。10年前の移植以来、チモシー・ブラウンは検出可能なウイルスなしに生存しており、今のところHIVの治癒の最も近い、唯一の例である。しかし、拡張可能で安全な治療によって大規模な患者集団でHIVの根絶を達成することは、現在のところほど遠いように思われる。

30

#### 【0005】

最近になって、HIVの寛解の例が記載されている(Saez-Cirionら、2014)。がんとの類似で、HIVの寛解はウイルスが根絶されてはいないものの、患者は健康であり、それ自身でウイルスを制御することができ、薬物をもはや必要としないことを意味する。HIVの寛解は機能的治癒とも称される。これらの数少ない寛解状態にあるHIV感染個体は、既に感染の急性期の中に早くcART処置を開始しており、これはかなり稀な例である。これらの患者のうち14名はcARTを中断した後、ウイルスの複製を自発的に制御していた。これらの患者は、治療を中断した時に小さなウイルスリザーバーを有していた(Saez-Cirionら、2013)。しかし、患者はHIVに対して特に強い古典的B又はT細胞の応答を示さず、したがって寛解に導くウイルス制御の機構は不明である。

40

#### 【0006】

HIVは、リザーバーがアフリカの非ヒト霊長類に存在するサル免疫不全ウイルス(SIV)に由来している。際立ったことに、アフリカミドリザル(AGM)等のSIVの天然の宿主はAIDSに抵抗性がある(Chahroudiら、2012)。これは、野生では感染せず、SIVに感染するとAIDSを発症するアジアザル(マカク)と対照的である(Garcia-Tellezら、2016; Ploquinら、2016)。HIV感染個体と同様に、マカクにおけるSIVmacは、リンパ組織、特に二次リンパ器官及び腸粘膜において高いレベルで複製する。これらの組織におけるHIV及びSIVmacウイルスの重要な標的細胞は、セントラルメモリーCD4 T細胞(T<sub>CM</sub>)並びにトランジショナルメモリーCD4 T細胞(T<sub>TM</sub>)である(Chomont、2009; Descoursら、2012)。しかし最近になって、リンパ組織の濾胞に局在している濾胞性ヘルパーCD4 T細胞(T<sub>FH</sub>)がHIV及びSIVの主要なリザ

50

ーバーを構成していることが示されてきた(Banga、2016;Buranapraditkunら、2017;Fukazawaら、2015;Miles及びConnick、2016a;Miles及びConnick、2016b;Moukambiら、2017)。

【 0 0 0 7 】

AIDSに対する保護に関与している因子を同定するために、AGMにおけるSIV感染が研究されてきた(Garcia-Tellezら、2016)。特筆すべきことに、AGMにおいてリンパ節及び脾臓は極めて低いレベルのSIVを呈示する(Brenchleyら、2012; Gueyeら、2004)。T<sub>CM</sub>のSIVagm感染は稀であり、T<sub>FH</sub>は一般に天然の宿主では全く感染しない(Brenchleyら、2012;Cartwrightら、2014;Paiardiniら、2011;Ploquinら、2016)。

【 0 0 0 8 】

T<sub>FH</sub>細胞は、全てのMHCクラスIb分子の中で最も多型性が低いHLA-Eを高いレベルで発現することが知られている。生理学的な条件下で、HLA-Eは、HLA-B等の古典的HLAクラスIa分子に由来するシグナルペプチドに特異的に結合する。細胞表面におけるHLA-Eの発現は、そのような分子内ペプチドの結合によって促進される。HLA-Eは、ナチュラルキラー(NK)細胞及びCD8 T細胞の小さなサブセットの表面に発現したCD94/NKG2A受容体と相互作用する(Arlettazら、2004)。更に、これらのCD8 T細胞はHLA-Eによって提示された外来のペプチドを特異的に認識し、そのT細胞受容体(TCR)によって活性化されて、T細胞の活性化、増殖、及び適応免疫系におけるメモリーの形成をもたらすことができる(Joostenら、2016)。HLA-Eによるシグナルペプチドの提示によって、細胞は殺滅から保護される(Leeら、1998)。細胞のストレス及び感染等のいくつかの状況においては、HLA-EはHSP60由来のペプチド及び病原体由来の配列等の他の自己ペプチドと結合することができ、先天及び適応免疫応答による攻撃に対するこれらの細胞の感受性をより高める(Michaelssonら、2002; Anrakuら、2012)。

【 0 0 0 9 】

HLA-E拘束性CD8 T細胞はマウスにおいてよく研究されてきた。この場合には分子Qa-1がHLA-Eと等価である。細胞はエフェクター細胞マーカー、リンパ節ホーミング受容体、及びNKG2A、CD45RA、CCR7等のNK細胞マーカー、並びに低いレベルのCXCR5及びICOSLを発現する(Heら、2016; Joostenら、2016; Kimら、2011; Lu及びCantor、2008; Milesら、2016b)。それらはCD122も発現し、IL-15依存性である。それらは自己耐性の維持及び自己免疫疾患の防止に重要な役割を果たしている(Kimら、2010; Longら、2017)。ヒトでは、HLA-E拘束性CD8 T細胞によるHLA-E/HSP60ペプチドの認識の特異的欠損が1型糖尿病における自己/非自己の識別の障害と関連付けられ、それらが自己反応性T細胞の抑制に重要な役割を果たしていることが確かめられた(Jiangら、2010)。これに関して、1型糖尿病の患者ではHSP60のレベルの増大が隠れている(Devarajら、2009;Shamaei-Tousiら、2006)。

【 0 0 1 0 】

マウスにおけるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス感染の間に、HLA-E拘束性CD8 T細胞は存続するウイルスをT<sub>FH</sub>及びB細胞から除去できることが示されている(Heら、2016; Leongら、2016)。

【 0 0 1 1 】

HIV感染はHLA-Eの発現の促進を誘起し、NK細胞の細胞傷害性への感受性を低減させる(Nattermannら、2005)。いくつかの場合には、NK細胞による標的細胞の溶解を逃れる能力は、HLA-E拘束性CD8 T細胞への感受性を増大させるリスクの可能性を上回るかもしれない(Gongら、2012; Hansenら、2016; Joostenら、2016)。HLA-E拘束性CD8 T細胞は、HIV感染患者の扁桃腺並びにSIV感染マカクのリンパ節及び脾臓において記載されており、「濾胞性制御性CD8 T細胞」(CD8 T<sub>FR</sub>)と呼ばれている(Milesら、2016b)。それらの割合は、感染によって増加し、T<sub>FH</sub>及び胚芽中心B細胞応答の強力な障害をもたらす。SIV/HIV感染の間、HLA-E拘束性CD8 T細胞の刺激は実際には不十分である。しかし、これらの細胞が他の研究で記載されたHLA-E拘束性CD8 T細胞と同じものか、又は新規でまだ記載されていない細胞のサブセットなのかは明らかでない。本発明者らは、(i)HLA拘束性T細胞及びNK細胞を更に特性解析し、(ii)それらがHIVの非ヒト霊長類モデルにおいて薬物によって実験的に誘起され得るか否かを研究し、(iii)治療を中断している間及びその後のウイルス負荷の制

御に対するこの薬物の影響を解析した。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

【特許文献1】米国特許出願第12/731130号

【特許文献2】国際特許出願第PCT/US11/026645号

【特許文献3】米国特許第4,683,202号

【特許文献4】米国特許第4,683,195号

【特許文献5】米国特許第4,800,159号

【特許文献6】米国特許第4,965,188号

【特許文献7】米国特許第5,333,675号

【特許文献8】US20150202247A1

【特許文献9】US20160193276A1

【特許文献10】US20170080044A1

【特許文献11】US20100036092A1

【特許文献12】US20110066112A1

【特許文献13】US20120015891A1

【特許文献14】US20150328277A1

【特許文献15】EP0975351A1

【特許文献16】米国特許第4,328,245号

【特許文献17】米国特許第4,409,239号

【特許文献18】米国特許第4,410,545号

【特許文献19】米国特許第Re28,819号

【特許文献20】米国特許第4,358,603号

【特許文献21】米国特許第3,710,795号

【特許文献22】米国特許第4,044,126号

【特許文献23】米国特許第4,414,209号

【特許文献24】米国特許第4,364,923号

【特許文献25】米国特許第6,267,983号

【特許文献26】米国特許第6,261,595号

【特許文献27】米国特許第6,256,533号

【特許文献28】米国特許第6,167,301号

【特許文献29】米国特許第6,024,975号

【特許文献30】米国特許第6,010,715号

【特許文献31】米国特許第5,985,317号

【特許文献32】米国特許第5,983,134号

【特許文献33】米国特許第5,948,433号

【特許文献34】米国特許第5,860,957号

【特許文献35】米国特許第9,145,367号

【特許文献36】米国特許第9,061,999号

【非特許文献】

【0013】

【非特許文献1】Jacquelin B<sup>5</sup>、J Clin Invest、2009

【非特許文献2】PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification (H. A. Erlich編、Freeman Press、NY、N.Y.、1992)

【非特許文献3】PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Linis<sup>5</sup>編、Academic Press、San Diego、Calif.、1990)

【非特許文献4】Mattila<sup>5</sup>、Nucleic Acids Res. 19、4967 (1991)

【非特許文献5】Eckert<sup>5</sup>、PCR Methods and Applications 1、17 (1991)

【非特許文献6】PCR (McPherson<sup>5</sup>編、IRL Press、Oxford)

10

20

30

40

50

【非特許文献7】Andriantsoanirinaら、Journal of Microbiological Methods、78: 165頁(2009)

【非特許文献8】Asiello、Baeumner、Lab Chip、11(8)、1420～1430、2011

【非特許文献9】Vaccine、10巻、14号、1992、991～999頁

【非特許文献10】JAMA Neurol.、2015、72(12)、1433～1441頁(doi:10.1001/jamaneuro.l.2015.2154)

【非特許文献11】Andersonら、J. of Neurological Sciences、369、24～34頁、2015

【非特許文献12】Remington's Pharmaceutical Sciences、Mack Publishing Company、Easton, Pa.、第15版、1975

【非特許文献13】Camposら、Retrovirology (2015) 12:30

10

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0014】

本発明は、HIV感染者におけるHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞等のHLA-E拘束性リンパ球の活性化を増大させるグラチラマー酢酸塩等の化合物の組成物、方法、及び使用を包含する。

【0015】

1つの実施形態では、本発明は、HIV感染者に対するHLA-E拘束性細胞活性を増大させ、特にHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞を増加させる化合物の効果を測定する方法であって、HLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞を増加させる化合物の少なくとも1つの用量をヒトに投与する工程、及びHIV感染者におけるHIV感染のレベルを測定する工程を含む方法を包含する。

20

【0016】

1つの実施形態では、本発明は、HIV感染者に対するグラチラマー酢酸塩の効果を測定する方法であって、グラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量をHIV感染者に投与する工程、及びHIV感染者におけるHIV感染のレベルを測定する工程を含む方法を包含する。

【0017】

種々の実施形態では、HIV感染者におけるHIV感染のレベルを測定する工程は、HIV感染者における血漿HIV RNAのレベルを測定する工程を含む。種々の実施形態では、HIV感染者における血漿HIV RNAのレベルを測定する工程は、逆転写及び増幅反応によって行なわれる。種々の実施形態では、ヒトにおけるHIV感染のレベルは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、又は10回測定される。種々の実施形態では、ヒトにおけるHIV感染のレベルは、その化合物による処置の前に得た測定と比較される。

30

【0018】

種々の実施形態では、HIV感染者は多発性硬化症と診断されたことがない。種々の実施形態では、HIV感染者はHIV-1関連認知機能障害と診断されたことがない。種々の実施形態では、HIV-1感染患者はHIVに急性感染している。種々の実施形態では、HIV-1感染患者はHIVに慢性感染している。種々の実施形態では、HIV-1感染患者はcARTを受けている。種々の実施形態では、HIV-1感染患者はcARTを開始したことがない。種々の実施形態では、HIV-1感染患者は過去にcARTを受けており、cARTを中断又は継続している。

40

【0019】

種々の実施形態では、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10～20、20～50、又は50～100回の投与が行なわれる。種々の実施形態では、投与は少なくとも2回/日、2回/週、1回/日、1回/週、3回/週、又は2日ごとに1回行なわれる。種々の実施形態では、少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、又は160mgの化合物が投与される。種々の実施形態では、少なくとも20mg/日の化合物が投与される。種々の実施形態では、少なくとも40mgの化合物が少なくとも3回/週投与される。

【0020】

本発明は、有効量のグラチラマー酢酸塩を含む医薬組成物をHIV感染者に投与する工程を含む、ヒトにおけるHIV感染を処置する方法であって、グラチラマー酢酸塩の投与が、H

50

IV感染者における血漿HIV RNAのレベルを低減させる、方法を包含する。本発明はHIV感染者の処置における使用のための、有効量のグラチラマー酢酸塩を含む医薬組成物を更に包含する。本発明はヒト患者におけるHIV感染の処置におけるグラチラマー酢酸塩を含む医薬組成物の使用を更に包含する。

【0021】

種々の実施形態では、グラチラマー酢酸塩の投与は、HIV感染患者において血漿HIV RNAのレベルを少なくとも10分の1に低減させる。種々の実施形態では、グラチラマー酢酸塩の投与は、HIV感染患者において血漿HIV RNAのレベルを少なくとも100分の1に低減させる。種々の実施形態では、低減はグラチラマー酢酸塩の投与後、4~52週で評価される。種々の実施形態では、低減はグラチラマー酢酸塩の投与後、複数回評価される。

10

【0022】

種々の実施形態では、医薬組成物は少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、又は160mgのグラチラマー酢酸塩を含む。

【0023】

種々の実施形態では、HIV感染者は多発性硬化症と診断されたことがない。種々の実施形態では、HIV感染者はHIV-1関連認知機能障害と診断されたことがない。種々の実施形態では、HIV-1感染患者はHIVに急性感染している。種々の実施形態では、HIV感染患者はHIVに慢性感染している。種々の実施形態では、HIV感染患者はcARTを受けている。種々の実施形態では、HIV感染患者はcARTを開始したことがない。種々の実施形態では、HIV感染患者は過去にcARTを受けており、cARTを中断又は継続している。本明細書に関しては、HIV感染はHIV-1又はHIV-2感染を意味する。

20

【0024】

種々の実施形態では、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10~20、20~50、又は50~100回の投与が行なわれる。種々の実施形態では、投与は少なくとも2回/日、2回/週、1回/日、1回/週、3回/週、又は2日ごとに1回行なわれる。種々の実施形態では、少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、又は160mgが投与される。種々の実施形態では、少なくとも20mg/日が投与される。種々の実施形態では、少なくとも40mgが少なくとも3回/週投与される。

【0025】

本発明はHIV感染者の処置における使用のための、有効量のグラチラマー酢酸塩及びHIV阻害剤を含む医薬組成物を更に包含する。本発明はHIV感染患者への同時の、個別の、連続的な投与のための、有効量のグラチラマー酢酸塩及びHIV阻害剤を含む部品のキットも包含する。

30

【0026】

種々の実施形態では、医薬組成物又は部品のキットは少なくとも2つ又は3つのHIV阻害剤を含む。種々の実施形態では、医薬組成物又は部品のキットはcARTを含む。種々の実施形態では、医薬組成物又は部品のキットはRev阻害剤を含む。

【0027】

種々の実施形態では、cARTはコンビル、カレトラ、トリジビル、エブジコム、キベキサ、トルバダ、アトリブラ、コンプレラ、エビプレラ、ストリビルド、トリウムメク、エボタズ、プレズコピクス、ツトレビス、ゲンボヤ、又はデスクビを含む。

40

【0028】

種々の実施形態では、cARTは以下の化合物:ラミブジン、ジドブジン、ロピナビル、リトナビル、アバカビル、テノフォビルジソプロキシルマレート、エムトリシタピン、エファビレンズ、リルピピリン、エルビテグラビル、コビシスタート、ドルテグラビル、アタザナビル、コビシスタート、ダルナビル、及びラルテグラビルのいずれかの少なくとも2つ又は3つを含む。

【0029】

種々の実施形態では、HIV阻害剤は8-クロロ-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)キノリン-2-アミン(ABX464)及び8-クロロ-N-グルクロニド-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フ

50

ェニル)キノリン-2-アミン (ABX464-N-グルクロニド)を含む。

【0030】

更に別の実施形態では、本発明はHIV感染個体を処置するためのパッケージに関し、前記パッケージはグラチラマー酢酸塩を含む第1の製品及び上で定義した少なくとも1つ、2つ、又は3つのHIV阻害剤を含む第2の製品を含む。

【0031】

更に別の実施形態では、本発明はHIV感染個体を処置するためのパッケージに関し、前記パッケージはグラチラマー酢酸塩を含む第1の製品並びに8-クロロ-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)キノリン-2-アミン (ABX464)及び8-クロロ-N-グルクロニド-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)キノリン-2-アミン (ABX464-N-グルクロニド)等のHIVrev阻害剤を含む第2の製品を含む。

10

【0032】

更に別の実施形態では、本発明はHIV感染個体を処置するためのパッケージに関し、前記パッケージはグラチラマー酢酸塩を含む第1の製品、8-クロロ-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)キノリン-2-アミン (ABX464)及び8-クロロ-N-グルクロニド-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)キノリン-2-アミン (ABX464-N-グルクロニド)等のHIVrev阻害剤を含む第2の製品、並びに以下の化合物:ラミブジン、ジドブジン、ロピナビル、リトナビル、アバカビル、テノフォビルジソプロキシルフマレート、エムトリシタピン、エファビレンズ、リルピビル、エルビテグラビル、コピシスタート、ドルテグラビル、アタザナビル、コピシスタート、ダルナビル、及びラルテグラビルのいずれかの少なくとも2つ又は3つを含む第3の製品を含む。

20

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図1A】1匹の健常なAGM及びマカクにおけるHLA-E拘束性CD8 T細胞のフローサイトメトリーフェノタイピングの例である。AGM及びMACの免疫細胞のフローサイトメトリーフェノタイピングは、以前記載されたように行なった(Jacquelinら、2009; Huotら、2017)。HLE-A拘束性CD8 T細胞は、CD45+CD20-CD3+CD8+NKG2A/C+細胞として定義した。ヒトのHLA-Eは非ヒト霊長類のMHC-Eと等価である。

【図1B】健常なAGM及びマカクにおける循環MHC-E拘束性CD8 T細胞のレベルである。

【図1C】SIVに慢性感染したAGM及びマカクにおける循環MHC-E拘束性CD8 T細胞のレベルである。データは中央値及び四分位範囲として表される。\*\*\*\*Mann-Whitney検定、 $p < 0.0001$ 。

30

【図2A】6匹のAGM及び6匹のマカクの血液におけるSIV感染中のリンパ球様細胞(CD45+)の中のMHC-E拘束性CD8 T細胞の割合のフローサイトメトリーによるフォローアップである。データは中央値及び四分位範囲として表される。

【図2B】6匹のAGM及び6匹のマカクのリンパ節におけるSIV感染中のリンパ球様細胞(CD45+)の中のMHC-E拘束性CD8 T細胞の割合のフローサイトメトリーによるフォローアップである。データは中央値及び四分位範囲として表される。

【図2C】6匹のAGM及び6匹の直腸生検におけるSIV感染中のリンパ球様細胞(CD45+)の中のMHC-E拘束性CD8 T細胞の割合のフローサイトメトリーによるフォローアップである。データは中央値及び四分位範囲として表される。

40

【図3】AGMにおけるMHC-E拘束性CD8 T細胞の分子プロファイリングである。4匹の動物からの3つの異なったCD8 T細胞の集団についてRNAseq解析を行なった。太字の分子は、その発現がMHC-E拘束性CD8 T細胞において特異的に増大した遺伝子の例を示し、下方制御された遺伝子は、LAMTOR1以外は示していない。示した他の分子は、対応するシグナル伝達経路に属している。

【図4】6匹のAGM及び6匹のマカクの血液中のSIV感染中の活性化された(% CD69+(A))、細胞溶解性及び機能性(%パーフォリン+(B)、CD107aレベル(C))MHC-E拘束性CD8 T細胞のフローサイトメトリーによるフォローアップである。データは中央値及び四分位範囲として表される。

50

【図5】AGM及びマカクの組織中のMHC-E陽性CD4 T細胞である。 $T_{FH}$ は極めて高いレベルのMHC-Eを発現している。pLN=末梢リンパ節、mLN=腸間膜(腸)リンパ節。

【図6A】6匹のAGM及び6匹のマカクの血液からのCD4+細胞におけるHSP60のマイクロアレイ遺伝子発現プロファイルである。 $\log_2Q$ (倍率変化)の平均値及び標準偏差を表される(Jacquelin Bら、J Clin Invest、2009のデータ)。

【図6B】6匹のAGM及び6匹のマカクの末梢リンパ節(B)からのCD4+細胞におけるHSP60のマイクロアレイ遺伝子発現プロファイルである。 $\log_2Q$ (倍率変化)の平均値及び標準偏差を表される(Jacquelin Bら、J Clin Invest、2009のデータ)。

【図7A】GA処置を受けた2匹のSIV感染マカクの血液中のCD4 T細胞のカウントを示す図である。それぞれのグラフにおいて、それぞれの動物は異なった色で表し、動物ごとの色は全てのグラフを通して同じである。太線は2匹の動物からの中央値を表し、灰色の区域はGA処置の期間を示す。

10

【図7B】GA処置を受けた2匹のSIV感染マカクの血液中の古典的CD8 T細胞のカウントを示す図である。それぞれのグラフにおいて、それぞれの動物は異なった色で表し、動物ごとの色は全てのグラフを通して同じである。太線は2匹の動物からの中央値を表し、灰色の区域はGA処置の期間を示す。

【図7C】GA処置を受けた2匹のSIV感染マカクの血液中のMHC-E拘束性CD8 T細胞のカウントを示す図である。それぞれのグラフにおいて、それぞれの動物は異なった色で表し、動物ごとの色は全てのグラフを通して同じである。太線は2匹の動物からの中央値を表し、灰色の区域はGA処置の期間を示す。

20

【図7D】その表面にMHC-Eを発現するCD4 T細胞の割合のフォローアップを示す図である。それぞれのグラフにおいて、それぞれの動物は異なった色で表し、動物ごとの色は全てのグラフを通して同じである。太線は2匹の動物からの中央値を表し、灰色の区域はGA処置の期間を示す。

【図8A】GA処置を受けた2匹のSIV感染マカクの血液中の全メモリーCD4 T細胞のフォローアップである。それぞれのグラフにおいて、それぞれの動物は異なった色で表し、動物ごとの色は全てのグラフを通して同じである。太線は2匹の動物からの中央値を表し、灰色の区域はGA処置の期間を示す。

【図8B】GA処置を受けた2匹のSIV感染マカクの血液中の $T_{CM}$ のフォローアップである。それぞれのグラフにおいて、それぞれの動物は異なった色で表し、動物ごとの色は全てのグラフを通して同じである。太線は2匹の動物からの中央値を表し、灰色の区域はGA処置の期間を示す。

30

【図8C】GA処置を受けた2匹のSIV感染マカクの血液中の $T_{TM}$ のフォローアップである。それぞれのグラフにおいて、それぞれの動物は異なった色で表し、動物ごとの色は全てのグラフを通して同じである。太線は2匹の動物からの中央値を表し、灰色の区域はGA処置の期間を示す。

【図9A】SIVmac251に感染させ、GAで処置した2匹のマカクにおけるリアルタイムPCRによって、血漿中ウイルスRNAコピー数を測定したことを示す図である。ウイルス負荷は以前に記載したように定量した(Jacquelinら、2009;Huotら、2017)。灰色の区域はGA処置の期間を示す。

40

【図9B】SIVmac251に感染させ、GAで処置した2匹のマカクにおけるリアルタイムPCRによって、血漿中ウイルスRNAコピー数を測定したことを示す図である。ウイルス負荷は以前に記載したように定量した(Jacquelinら、2009;Huotら、2017)。血漿中ウイルス負荷と、古典的CD8 T細胞との相関を評価した。Spearman係数( $r$ )及び $p$ 値を示す。

【図9C】SIVmac251に感染させ、GAで処置した2匹のマカクにおけるリアルタイムPCRによって、血漿中ウイルスRNAコピー数を測定したことを示す図である。ウイルス負荷は以前に記載したように定量した(Jacquelinら、2009;Huotら、2017)。血漿中ウイルス負荷と、HLA-E拘束性CD8 T細胞との相関を評価した。Spearman係数( $r$ )及び $p$ 値を示す。

【図10A】GA処置の前及び後にMHC-Eを発現するCD32a<sup>high</sup>CD4 T細胞の頻度を示す図である。CD32aは最近、HIVに潜伏感染している細胞の最良のマーカーであると記載されてい

50

る(Descoursら、2017)。フローサイトメトリーのドットプロット。AGM及びマカクからのCD32a<sup>high</sup> HLA-E<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T細胞を青で示す。MAC=マカク。

【図10B】GA処置の前及び後にMHC-Eを発現するCD32a<sup>high</sup>CD4 T細胞の頻度を示す図である。CD32aは最近、HIVに潜伏感染している細胞の最良のマーカであると記載されている(Descoursら、2017)。10匹のAGM、10匹のマカク、及びGAで処置した2匹のマカクの脾臓で評価したCD32a<sup>high</sup> HLA-E<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T細胞。Tx=GA処置。MAC=マカク。

【図11A】GAで処置され、未だ「AIDS段階」にない、SIVに慢性感染しているマカクの組織における安楽死のときの、メモリーCD4 T細胞の割合(灰色)と比較したMHC-E拘束性CD8 T細胞の割合(黒色)である。

【図11B】この同じマカクのMHC-E拘束性CD8 T細胞の割合と、SIVに慢性感染し、処置されていないマカク及びSIVに慢性感染したAGMの割合の、腸管における比較である。

【図12】AGMにおけるMHC-E拘束性CD8 T細胞の表現型である。AGM及びマカクにおいてNK G2A/C CD8 T細胞上に発現したいくつかのタンパク質をここに示す。

【図13A】0日目から11日目の間GAで処置された、3匹の健常なカニクイザルにおけるHLA-E拘束性CD8 T細胞における細胞傷害性マーカ-CD107aのフォローアップである。NK細胞は以前報告されたように定義されている(Jacquelinら、2014; Huotら、2017)。太線は中央値を表し、灰色の区域はGA処置の期間を示す。

【図13B】0日目から11日目の間GAで処置された、3匹の健常なカニクイザルにおけるNK細胞における細胞傷害性マーカ-CD107aのフォローアップである。NK細胞は以前報告されたように定義されている(Jacquelinら、2014; Huotら、2017)。太線は中央値を表し、灰色の区域はGA処置の期間を示す。

【図13C】0日目から11日目の間GAで処置された、2匹のSIVに慢性感染したカニクイザルにおけるHLA-E拘束性CD8 T細胞における細胞傷害性マーカ-CD107aのフォローアップである。NK細胞は以前報告されたように定義されている(Jacquelinら、2014; Huotら、2017)。太線は中央値を表し、灰色の区域はGA処置の期間を示す。

【図13D】0日目から11日目の間GAで処置された、2匹のSIVに慢性感染したカニクイザルにおけるNK細胞における細胞傷害性マーカ-CD107aのフォローアップである。NK細胞は以前報告されたように定義されている(Jacquelinら、2014; Huotら、2017)。太線は中央値を表し、灰色の区域はGA処置の期間を示す。

【発明を実施するための形態】

【0034】

処置を中断した後にウイルス複製の永続的な制御を示す患者の稀な例は、そのようなHIV寛解の状態を誘起する方法が存在していることを示唆している。過去数年の間に、HLA-E拘束性CD8 T細胞がウイルス感染の規制においておそらく重要な役割を果たしていることが明らかになった(Joostenら、2016)。しかしこれらの細胞は十分に特性解析されていない。本発明者らは、CD8 T細胞及び/又はNK細胞等のこれらの抗ウイルスHLA-E拘束性リンパ球をヒトにおいて誘起することができれば、存続するHIV-1をリザーバーとして隠しているT<sub>FH</sub>及び最終的には他のメモリーCD4 T細胞サブセットを標的とすることができる可能性があるという仮説を立てた。

【0035】

HLA-E拘束性CD8 T細胞は、グラチラマー酢酸塩処置(GA、Copaxone)によって治療的に誘起することができる(Sinhaら、2014,2015; Tennakoonら、2006)。GAはミエリン塩基性タンパク質で発見された4つのアミノ酸からなる合成コポリマーである。これは20年を超えて市販されているFDA承認済みの薬物であり、その免疫調節特性により多発性硬化症の長期管理に用いられている(Sinhaら、2015)。この薬物は特筆すべき安全性プロファイルを有している。これはマカクにおいて等価のヒト用量の16倍高い用量でも、52週にわたってよく許容されている(Ramotら、2011a)。興味深いことに、GAは炎症性腸疾患のマウスモデルにおいて有効であることも示されている。この場合には、GAに誘起されたHLA-E拘束性CD8 T細胞が、大腸炎の進行を誘起していた病原性CD4 T細胞を標的としている(Yaoら、2013)。

10

20

30

40

50



## 【0036】

ここで本発明者らは、HIV感染のマカクモデルにおいて、GAによる2週間の処置によって2か月未満で2ログまでのウイルス血症の減少が可能であったことを示す。GAによる結果は僅か2匹の動物を用いたパイロット研究に基づいているが、抗レトロウイルス治療の非存在下で、ヒト又はサルにおける慢性HIV/SIV感染の間の短い期間で与えられた処置によって、治療を中断した場合に続くこのようなウイルス負荷の減少が誘起されるのは初めてのことである。

## 【0037】

本発明者らの結果によってまた、非病原性SIV感染の間にHLA-E拘束性CD8 T細胞が増殖することが初めて明らかになった。そのような細胞はGAによって誘起され、したがってここで観察されたウイルス制御に重要な役割を果たしていると考えられる。HLA-E拘束性CD8 T細胞及びインビボにおけるその関連については殆ど知られていない。本発明者らは、これらを表現型として及び分子として特性解析した。本発明者らはこれらが腸管のマーカーを発現することを示し、これはこれらが腸管においてもウイルスリザーバーを低減させ得ることを示唆している。腸管におけるウイルスの複製を防止することによって、これらの細胞は腸のバリアの維持に参画し、微生物産物のリンケージを防止すると考えられる。通常HIV/SIVによって誘起され、cARTによって低減するが排除されない慢性炎症がこの機構によって弱められるので、これはまた主要な結果である。

10

## 【0038】

CD8 T細胞及びNK細胞のサブ集団の増殖以外の他の又は更なる機構がウイルス制御に関与していることを除外できないものの、データはHIVの動物モデルにおけるウイルス血症の急速かつ予見できない永続的な低減をGAが誘起することを示している。

20

## 【0039】

cARTレジメンの対象となっているためにウイルスの複製を効率的に制御しているHIV感染個体は、組織内におけるウイルスの持続的なレベルをなお呈示している。抗レトロウイルス処置を中断したHIV感染個体の大部分は、数日又は数週以内に強いウイルスのリバウンドを呈示する。興味深いことに、早期にcART処置を開始した数名のHIV感染個体は、処置を中断した後にウイルスの複製を自発的に制御していた。これらはウイルスリザーバーが小さな患者である。通常cART単独では到達しないそのような低いウイルスリザーバーを達成させることを可能にする治療には大きな重要性があると考えられる。

30

## 【0040】

本発明者らの結果により、GAがHIVの動物モデルにおいてウイルスリザーバーを低減させ得ることが示される。MS患者にこの薬物が20年を超えて用いられているという事実を考慮すれば、これはヒトにおいて安全であることが既に証明されており、HIVの寛解のための可能性のある治療的試みのための試験の興味ある候補である。本発明者らは、抗レトロウイルス処置と併用してGAによって患者を処置することがcART単独よりも更にウイルスリザーバーを低減させ、したがってHIVの寛解及び更にHIVの治癒の可能性を増大させることを提案する。そのような治療はHIVに感染した数百万人の人々にとって臨床的利益があり、全世界にわたって大きな社会的及び経済的影響があると考えられる。

## 【0041】

ウイルスリザーバーの大きさは、cARTの間に持続する炎症の残存レベルに強く関連している(Massanellaら、2016)。ウイルスリザーバーを低減させることによって慢性炎症のレベルを低減させること、したがってcART処置患者における非AIDSの死亡及び罹患のリスクを低減させることが可能になると考えられる。

40

## 【0042】

処置を早期に開始すれば、HLA-E拘束性CD8 T細胞の誘起プロファイルは天然の宿主で得られるプロファイルと同様であろうと考えられる。これにより、ウイルスリザーバーの早期の制御がもたらされ、炎症が更に低減されるであろう。したがって、cARTと併用した感染早期におけるGAの投与により、HIV感染を更により有効に除去することができ、更に良いHIVの寛解を達成することができる。

50

## 【0043】

MS患者におけるGA処置は一般に多くの年数にわたって行なわれる。10年を超えてGAで処置された患者の前向き長期フォローアップで収集された情報は、この免疫調節処置の長期の有効性及び適切な安全性の明確な証拠を提供している(Brochetら、2008)。ここで本発明者らは極めて短い期間(2週)のみでマカクを処置した。ウイルス及びそれに関連する炎症の制御に対する有益な影響により、長期の処置は顕著に強力であり、HIVの寛解を達成する成功率を増加させることができる。

## 【0044】

本発明は、HLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞等のHLA-E拘束性リンパ球を増加させる化合物、好ましくはグラチラマー酢酸塩の、HIV感染患者における使用のための種々の組成物、方法、及び使用に関する。

10

## 【0045】

本明細書で用いる場合、用語「増大させる(増加させる)」、「誘起する」、「活性化する」、「活性化を誘起する」、「活性化を増大させる」は相互交換可能に用いられて、HLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞等のHLA-E拘束性リンパ球に関して細胞数及び/又は細胞活性の増大を示す。細胞活性の増大は、本出願の実施例に示すように、エフェクター細胞の増加を含み得る。HLA-E拘束性リンパ球の増加は、本出願で開示するもの等の標準的なアッセイによってアッセイされる。増加は、血液、リンパ節、又はその他等のリンパ球を含む種々の試料でアッセイしてよい。

## 【0046】

スクリーニング法

本発明は、ヒト免疫不全ウイルス感染者におけるHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞を増加させる化合物の効果を決定するための種々のスクリーニング法を包含する。

20

## 【0047】

1つの実施形態では、本方法は化合物の少なくとも1つの用量をヒトに投与する工程、及びヒトにおけるHIV感染のレベルを測定する工程を含む。1つの実施形態では、本方法は化合物の少なくとも1つの用量をヒトに投与する工程、及びヒトにおける血漿HIV RNAのレベルを測定する工程を含む。1つの実施形態では、本方法は化合物の少なくとも1つの用量をヒトに投与する工程、及びヒトにおけるHIV感染リザーバー細胞のレベルを測定する工程を含む。

30

## 【0048】

1つの実施形態では、本方法はグラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量をヒトに投与する工程、及びヒトにおけるHIV感染のレベルを測定する工程を含む。1つの実施形態では、本方法はグラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量をヒトに投与する工程、及びヒトにおける血漿HIV RNAのレベルを測定する工程を含む。1つの実施形態では、本方法はグラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量をヒトに投与する工程、及びヒトにおけるHIV感染リザーバー細胞のレベルを測定する工程を含む。

## 【0049】

本発明は、HIV感染者におけるNKG2A/C及び/又はCD107aを発現するHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞を増加させる化合物で処置されたHIV感染患者からの生物学的試料を準備する工程を含むHIV感染者におけるHIV感染を測定する方法であって、NKG2A/C及び/又はCD107aを発現するHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞を増加させる化合物の少なくとも1つの用量をヒトに投与する工程、並びにHIV感染者におけるHIV感染のレベルを測定する工程を含む方法を包含する。本発明はまた、HIV感染者におけるHIV感染を測定する方法であって、

40

a)NKG2A/C及び/又はCD107aを発現するHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞を増加させる化合物で処置されたHIV感染患者からの生物学的試料を準備する工程、  
b)HIV感染患者におけるHIV感染のレベルを測定する工程を含む方法に関する。

50

## 【0050】

本発明は、グラチラマー酢酸塩或いはCopaxone(登録商標)、GLATOPA(登録商標)、若しくはBRABIO(登録商標)、又はそのジェネリック形態若しくは製品等のGA関連活性物質若しくは製品で処置されたHIV感染患者からの生物学的試料を準備する工程及びHIV感染患者におけるHIV感染のレベルを測定する工程を含む、HIV感染者におけるHIV感染を測定する方法を更に包含する。

## 【0051】

かくして、本発明はHIV特異的核酸、特にHIV-1特異的核酸の存在又は非存在を検出する方法であって、グラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量で処置されたHIV感染患者からの生物学的試料からRNAを調製する工程及び生物学的試料中のHIV特異的核酸、特にHIV-1特異的核酸の存在又は非存在を検出する工程を含む方法を包含する。

10

## 【0052】

測定によって、化合物を受けていない別の感染個体又は好ましくは化合物による処置の前の同じ感染個体からの以前の測定との比較を得ることができる。好ましくは、ヒトにおけるHIV感染のレベルの測定は、少なくとも2回行なわれる。いくつかの実施形態では、測定は3、4、5、6、7、8、9、又は10回行なわれる。このようにして、測定によってその感染個体において経時的に、最も好ましくは化合物による処置を受ける前に得られた測定との比較をすることができる。

## 【0053】

HIV感染のレベルは、当業者に公知の様々な手法によって評価することができる。たとえば、ヒトにおけるHIV感染のレベルは、ヒトにおける血漿HIV RNAのレベルを測定することによって決定できる。HIV感染のレベルは、ヒトにおけるウイルスRNA、ウイルスDNA、ウイルスタンパク質、又は感染性ウイルスのレベルを当技術分野で周知の手法によって決定することによって測定できる。測定は血液、血清、血漿、唾液試料等の細胞、RNA、DNA、若しくはタンパク質、又は他の生物学的試料を用いて実施することができる。

20

## 【0054】

1つの実施形態では、本発明は、COPAXONE(登録商標)、GLATOPA(登録商標)、若しくはBRABIO(登録商標)、又はそれらのジェネリック形態若しくは製品等の、NKG2A/C及び/又はCD107aを発現するHLA-E拘束性リンパ球を増加させる化合物で(好ましくは患者からの試料の採取に先立つ1、2、3、6、又は12か月以内に)処置されたHIV感染患者からの生物学的試料を準備する工程を含む方法を包含する。好ましい実施形態では、患者はcART及び本明細書に記載した特定の阻害剤のそれぞれ等の抗HIV阻害剤でも処置されている。生物学的試料は、好ましくはPBMC(又は他の細胞試料)等の血液試料、血漿、又は血清試料である。試料からRNA、DNA、又はタンパク質を調製することができ、HIV特異的ウイルス、DNA、RNA、又はタンパク質のレベルはPCR又は他の増幅反応等の当技術分野で周知の手法によって決定することができる。

30

## 【0055】

種々の実施形態では、いくつかの実施形態では、生物学的試料は血液試料、血清試料、血漿試料、又は枯渇した血漿試料、精液試料、痰試料、浸出液等の体液試料を含む。いくつかの実施形態では、試料は採血によって得られる。いくつかの実施形態では、試料は指先採血/穿刺又は踵の穿刺によって得られる。いくつかの実施形態では、生物学的試料は口腔液試料を含む。いくつかの実施形態では、生物学的試料は唾液試料である。いくつかの実施形態では、生物学的試料は脳脊髄液又は組織生検を含む。いくつかの実施形態では、生物学的試料は対象から単離した細胞(たとえばリンパ節生検、免疫細胞、頬又は歯茎から単離した細胞)を含む。いくつかの実施形態では、生物学的試料は対象から直接ではなく、インビトロで増殖し及び/又は処理された細胞に由来し、又はそれを含む。いくつかの実施形態では、生物学的試料は水性体液、硝子体液、胆汁、乳汁、内リンパ、外リンパ、胃液、粘液、腹膜液、胸膜液、皮脂、精液、汗、涙液、膺分泌液、吐瀉物、又は尿を含む。好ましい実施形態では、生物学的試料は血漿試料又は濃縮されたウイルス試料である。

40

50

## 【0056】

1つの実施形態では、生物学的試料は全血、血漿、又は血清試料等の血液試料である。生物学的試料はHIV-1又はHIV-2に感染した患者からのものでよく、患者は慢性感染又は急性感染していてもよい。血液試料は、たとえば生物学的試料を遠心分離又は濾過することによって「無細胞」(たとえば細胞上清)生物学的試料に、及び/又は「細胞ペレット」生物学的試料に、更に分離することができる。

## 【0057】

1つの実施形態では、HIVビリオンは、たとえば沈殿を促進する物質(たとえばポリブレン)とともに、又はそれなしに、超遠心分離によって「無細胞」生物学的試料から、更に分離及び/又は濃縮される。1つの実施形態では、たとえば界面活性剤又は変性剤を用いて「無細胞」生物学的試料及び/又はビリオン生物学的試料を溶解し、ビリオンからウイルスRNA及び/又はタンパク質を放出させることができる。

10

## 【0058】

1つの実施形態では、生物学的試料(たとえば細胞、血漿、血清、ビリオン等)からウイルスタンパク質が一緒に又は個別に抽出され及び/又は精製される。1つの実施形態では、生物学的試料(たとえば細胞、血漿、血清、ビリオン等)からウイルスRNAが抽出され及び/又は精製される。1つの実施形態では、生物学的試料(たとえば細胞、血漿、血清、ビリオン等)からウイルスDNAが抽出され及び/又は精製される。

## 【0059】

1つの実施形態では、抽出され及び/又は精製されたウイルスタンパク質は、当技術分野で容易に入手可能な抗HIV-1及び/又は抗HIV-2ポリクローナル及びモノクローナル抗体等の特異抗体との結合等によって検出される。抗体は酵素、放射、又は蛍光標識等によって直接的又は間接的に標識することができる。そのようなアッセイにはELISA、ウェスタンブロット、マルチプレックス、SIMOA、及び同様のアッセイが含まれる。

20

## 【0060】

種々の実施形態では、抽出され及び/又は精製されたウイルスタンパク質は、ウイルスタンパク質(たとえばp24タンパク質)に特異的に結合する1つ又は複数の分子を含むビーズと混合し、試料中に存在するウイルスタンパク質(たとえばp24タンパク質)の尺度としてビーズに結合したウイルスタンパク質(たとえばp24タンパク質)の存在を検出し、及び/又はこれを定量することによって検出される。本発明の方法のいくつかは、生物学的試料の中に存在するかもしれないウイルス(たとえばp24)含有免疫複合体を解離させるために生物学的試料を酸性溶液と混合する工程、得られた混合物を免疫複合体解離(ICD)の期間の後に中和する工程、中和された得られた混合物をp24と特異的に結合する1つ又は複数の分子を含むビーズと接触させる工程、並びに試料中に存在するウイルス(たとえばp24)タンパク質の尺度としてビーズに結合したウイルス(たとえばp24)タンパク質の存在を検出し、及び/又はこれを定量する工程を含む。酸性溶液と生物学的試料との混合(即ち生物学的試料の酸性化)は、1.0~5.9、2.0~5.0、2.2~4.0、2.5~3.0のpHを有する混合物を生じさせることを意図する。「得られた混合物を中和する」工程は、得られた混合物のpHをpH 6.0又は6.5へ、中性pHへ、6.5~7.0のpHへ、7.0~7.5のpHへ、7.5~8.0のpHへ、8.0~8.5のpHへ、8.5~9.0のpHへ、9.0~11.0のpHへ、又は11.0~14.0のpHへ増大させるために、塩基性pHの溶液(即ち、「中和溶液」)を得られた混合物に添加することを含む。

30

40

## 【0061】

いくつかの実施形態では、ビーズは磁性である。いくつかの実施形態では、ビーズは磁性でない。いくつかの実施形態では、ビーズは常磁性である。いくつかの実施形態では、ビーズの平均直径は約0.1マイクロメートル~約100マイクロメートル、約0.1~約10マイクロメートル、約0.1~約1マイクロメートル、約1~10である。好ましい実施形態では、ビーズの平均直径は約1マイクロメートル~約3マイクロメートルである。

## 【0062】

いくつかの実施形態では、ビーズは球状の形状を有する。いくつかの実施形態では、ビーズは円盤である。いくつかの実施形態では、ビーズはリングである。いくつかの実施形

50

態では、ビーズは立方体状の形状を有する。いくつかの実施形態では、ビーズは組み合わせた形状を有する。

【0063】

いくつかの実施形態では、ビーズはプラスチック若しくは合成ポリマー(たとえばポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリアミド、ポリウレタン、フェノールポリマー、又はニトロセルロース等)、天然由来ポリマー(ラテックスゴム、多糖類、ポリペプチド等)、複合材料、セラミックス、シリカ若しくはシリカ系材料、炭素、金属若しくは金属化合物(たとえば金、銀、銅、アルミニウム、銅等を含む)、無機ガラス、シリカ、又はそれらの組合せから選択される材料から作られる。

【0064】

いくつかの実施形態では、ビーズは部分的に(たとえば1%、5%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、又はその間の任意の値又は範囲)、別の材料でコートされ、又はそれと複合している。いくつかの実施形態では、ビーズは完全に又はほぼ完全に、別の材料でコートされ、又はそれと複合している。いくつかの実施形態では、ビーズはp24結合分子でコートされ、又はそれと複合している。いくつかの実施形態では、コーティング又は複合化は直接行なわれる。いくつかの実施形態では、コーティング又は複合化は間接的である(たとえばビーズとp24結合分子との間に別の中間分子が存在する)。いくつかの実施形態では、ビーズは1種類のp24結合分子でコートされ、又はそれと複合している。いくつかの実施形態では、ビーズの上に1種より多くのp24結合分子が存在する。

【0065】

いくつかの実施形態では、ビーズはビーズ1個あたり約250,000個又はそれより少ないp24結合部位を有する。いくつかの実施形態では、ビーズはビーズ1個あたり50,000~300,000個の結合部位を有する。いくつかの実施形態では、ビーズはビーズ1個あたり5,000~50,000個のp24結合部位を有する。いくつかの実施形態では、p24結合を含むビーズは、たとえばそれぞれが参照により本明細書に組み込まれる、2010年3月24日出願のDuffyらによる「Ultra-Sensitive Detection of Molecules or Particles using Beads or Other Capture Objects」と題する米国特許出願第12/731130号、及び2011年3月1日出願のDuffyらによる「Ultra-Sensitive Detection of Molecules or Particles using Beads or Other Capture Objects」と題する国際特許出願第PCT/US11/026645号に記載された手段によって調製することができる。

【0066】

1つの実施形態では、抽出され及び/又は精製されたウイルスDNAが検出される。ウイルスDNAは宿主ゲノムに統合されてもよく、統合されなくてもよい。好ましくは、ウイルスDNAは本明細書に記載したような増幅方法によって検出される。

【0067】

1つの実施形態では、抽出され及び/又は精製されたウイルスRNAが検出される。ウイルスRNAは細胞内又は細胞外であってもよく、たとえば「無細胞」上清若しくは濃縮ピリオンに由来してもよい。好ましくは、RNAはヒト血漿試料又は濃縮ウイルス試料からの抽出及び/又は精製されたウイルスRNAである。

【0068】

種々の実施形態では、ヒトにおけるHIV RNAのeレベル(たとえば血漿中)は、逆転写及び増幅反応によって測定することができる。たとえば、HIVのRNAの逆転写はHIVに特異的な「リバースプライマー」を用いて実施することができる。「リバースプライマー」は、その5'-3'配向に基づいて一本鎖RNAに結合して、RNAの相補的DNA(cDNA)コピーの生成を開始させるように働くことができるプライマーである。逆転写は周知の日常的方法を用いて達成することができる。逆転写のための反応混合物は反応のための試薬、たとえばリバースプライマー、dNTP類(dATP、dCTP、dGTP、及びdTTP)、緩衝剤、及び逆転写酵素を含む。例示的な反応条件は実施例で説明する。

【0069】

逆転写によって生成したHIVのcDNAコピーの増幅は、HIVに特異的な「フォワードプライ

10

20

30

40

50

マー」を用いて実施することができる。「フォワードプライマー」は、その5'-3'配向に基づいて、逆転写によって生成したRNAの一本鎖アンチセンスcDNAコピーに結合して、RNAの二本鎖DNAコピーの生成を開始させるように働くことができるプライマーである。増幅は周知の日常的方法を用いて達成することができる。増幅のための試薬混合物は反応のための試薬、たとえばフォワードプライマー、リバースプライマー、dNTP類、緩衝剤、及びDNAポリメラーゼを含む。

【0070】

1つの実施形態では、本発明の方法は逆転写及び増幅反応のための試薬を含む単一のRT-PCR試薬混合物を用いて実施される。好ましくは、逆転写反応のために用いるリバースプライマーは増幅反応にも用いられる。

10

【0071】

好ましくは、逆転写及び増幅反応はプラスチック又はガラスの容器において、最も好ましくは同じ容器において実施される。

【0072】

当技術分野で公知の増幅方法には、RCA、MDA、NASBA、TMA、SDA、LCR、b-DNA、PCR(RT-PCRを含む全ての形態)、RAM、LAMP、ICAN、SPIA、QB-レプリカーゼ、又はインベーターが含まれる。好ましい増幅方法はポリメラーゼ連鎖反応(PCR)増幅である。たとえばPCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification (H. A. Erlich編、Freeman Press、NY、N.Y.、1992);PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Inisら編、Academic Press、San Diego、Calif.、1990);Mattilaら、Nucleic Acids Res. 19、4967(1991);Eckertら、PCR Methods and Applications 1、17(1991);PCR(McPhersonら編、IRL Press、Oxford);並びに米国特許第4,683,202号、第4,683,195号、第4,800,159号、第4,965,188号、及び第5,333,675号を参照されたい。より好ましいPCR法はリアルタイムPCR、PCR-HRM(高分解能DNA融解)(Andriantsoanirinaら、Journal of Microbiological Methods、78: 165頁(2009)を参照されたい)及び蛍光マイクロスフィア(Luminex(登録商標)マイクロスフィア)に基づくリガーゼ検出反応に連結されたPCRである。

20

【0073】

増幅手法には、特に等温法及びPCRに基づく手法が含まれる。等温手法には、核酸配列に基づく増幅(NASBA)、ループ介在等温増幅(LAMP)、ヘリカーゼ依存増幅(HDA)、ローリングサークル増幅(RCA)、及びストランド移動増幅(SDA)、指数増幅反応(EXPAR)、核酸の等温キメラプライマー開始増幅(ICAN類)、RNA技術のシグナル介在増幅(SMART)、及びその他の方法が含まれる(たとえばAsiello、Baeumner、Lab Chip、11(8)、1420~1430、2011を参照されたい)。

30

【0074】

好ましくは、PCR手法によってDNA、cDNA、又はRNAの出発量が定量的に測定される。本発明によるPCRに基づく手法の例には、これらに限定されないが、定量的PCR(Q-PCR)、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)、定量的逆転写酵素PCR(QRT-PCR)、又はデジタルPCR等の手法が含まれる。これらの手法は周知であり、当業者には容易に利用可能な技術である。

【0075】

好ましくは、本方法はたとえば実施例に記載したような1ステップのリアルタイムRT-PCRアッセイである。最も好ましくは、本方法はたとえば実施例に記載したような、最近記載されたアフリカE及びF遺伝子群を検出することができるTAQMANプローブ技術に基づく、競合的RNA内部対照(IC)を含む1ステップのリアルタイムRT-PCRアッセイである

40

【0076】

好ましくは、増幅された生成物を検出するためにプローブが用いられる。プローブは蛍光、放射、又は酵素ラベルで標識することができる。増幅された生成物は、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)プローブ、TAQMANプローブ、分子ビーコン、スコーピオンプローブ、蛍光標識(又は他の標識)プライマー、ライトアッププローブ又は色素系化学、目的の配列を検出するために増幅された生成物に結合する改変塩基を含むDNA、PNA、LNA、若しくはRNA

50

等の特定の検出化学によって検出することができる。

【0077】

増幅された生成物の検出はリアルタイム(増幅プロセスの間)又はエンドポイント(増幅プロセスの後)であってよい。本発明では、増幅が生じた同じ容器における増幅生成物の検出が可能である。

【0078】

好ましくは、増幅反応を監視するためにDNA内部対照が用いられる。

【0079】

好ましくは、逆転写及び増幅反応を監視するためにRNA内部対照が用いられる。

【0080】

いくつかの実施形態では、試料中のHIVウイルスは濃縮される。ウイルス試料を溶解してウイルスRNAを放出させることができる。

【0081】

T細胞、リンパ節、腸管、又はPBMC試料等の細胞試料を溶解して、ウイルスRNA、DNA、又はタンパク質を放出させることができる。

【0082】

いくつかの実施形態では、化合物(たとえばグラチラマー酢酸塩)は、1~200mg、5~160mg、10~80mg、又は20~40mgの少なくとも1回の投与で投与される。好ましくは、投与は少なくとも1~5、5~10、10~20、20~40、40~60、60~80、80~100、100~120、120~140、又は140~160mgである。好ましくは、投与は少なくとも1、5、10、20、40、60、80、100、120、140、又は160mgの化合物である。最も好ましくは、投与は少なくとも1、5、10、20、40、60、80、100、120、140、又は160mgのグラチラマー酢酸塩である。具体的に列挙してはいないが、全ての値並びに上記及び下記の範囲内にある部分範囲は、明確に書き出されているかのように具体的に含まれている。

【0083】

化合物の投与は、当技術分野で公知の多くの方法、最も好ましくは皮下、舌下、経粘膜、又は経口によってよい。その全てが参照により全体として組み込まれるUS20150202247A1、US20160193276A1、US20170080044A1、US20100036092A1、US20110066112A1、US20120015891A1、及びUS20150328277A1を参照されたい。

【0084】

いくつかの実施形態では、多回投与が行なわれる。種々の実施形態では、少なくとも1~100、好ましくは1、2、3、4、5、6、7、8、9、10~20、20~50、又は50~100回の投与が行なわれる。種々の実施形態では、投与は少なくとも2回/日、2回/週、1回/日、1回/週、3回/週、又は2日ごとに1回である。

【0085】

種々の実施形態では、少なくとも1、2、3、4、5、6、7日、1、2、3、4、5、6週、又は1、2、3、4、5、6か月等の間に、少なくとも1、2、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、160mg/日が投与される。

【0086】

種々の実施形態では、少なくとも2、3、4、5、6、7日、1、2、3、4、5、6週、又は1、2、3、4、5、6か月等の間に、2日ごとに又は3回/週、少なくとも1、2、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、160mgが投与される。

【0087】

1つの実施形態では、本方法は、COPAXONE(登録商標)、GLATOPA(登録商標)、若しくはBRABIO(登録商標)等のグラチラマー酢酸塩、又はそれらのジェネリック形態若しくは製品の用量をヒトに投与する工程、生物学的試料(たとえば血液)をヒトから採取する工程、生物学的試料からタンパク質、RNA、又はDNAを調製する工程、及びヒトにおけるHIV特異的タンパク質、RNA、又はDNAのレベルを測定する工程を含む。更なる実施形態では、本方法は、第2の生物学的試料(たとえば血液)をヒトから(好ましくは第1の試料の1、2、3、又は4か月前又は後に)採取する工程、生物学的試料からタンパク質、RNA、又はDNAを調製する

10

20

30

40

50

工程、及びヒトにおけるHIV特異的タンパク質、RNA、又はDNAのレベルを測定する工程を含む。1つの実施形態では、本方法は、COPAXONE(登録商標)、GLATOPIA(登録商標)、若しくはBRABIO(登録商標)等のグラチラマー酢酸塩、又はそれらのジェネリック形態若しくは製品の少なくとも1つの用量で処置され、任意選択でcART等の抗HIV阻害剤及び/又は本明細書に記載した特定の阻害剤のそれぞれでも処置されたHIV感染患者からの生物学的試料(たとえば血液)を準備する工程、生物学的試料からタンパク質、RNA、又はDNAを調製する工程、並びにヒトにおけるHIV特異的タンパク質、RNA、又はDNAのレベルを測定する工程を含む。更なる実施形態では、本方法は(好ましくは第1の試料の1、2、3、又は4か月前又は後に採取された)第2の生物学的試料(たとえば血液)をヒトから準備する工程、生物学的試料からタンパク質、RNA、又はDNAを調製する工程、並びにヒトにおけるHIV特異的タンパク質、RNA、又はDNAのレベルを測定する工程を含む。

10

【0088】

したがって、以下の方法が本発明に包含される。

【0089】

HIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する方法であって、

- a) グラチラマー酢酸塩の用量をHIV感染患者に投与する工程、
- b) 患者から血液試料を採取する工程、
- c) 血液試料からRNAを調製する工程、
- d) RNAからcDNAを調製する工程、
- e) DNA又はそのRNAコピーを作成することによってcDNAを増幅し、増幅試料を生成させる工程、及び
- f) 増幅試料中のHIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する工程を含む方法。

20

【0090】

HIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する方法であって、

- a) グラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量で処置されたHIV感染患者からの血液試料を準備する工程、
- b) 血液試料からRNAを調製する工程、
- c) RNAからcDNAを調製する工程、
- d) DNA又はそのRNAコピーを作成することによってcDNAを増幅して増幅試料を生成させる工程、及び
- e) 増幅試料中のHIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する工程を含む方法。

30

【0091】

上記の方法のうちのいくつかの好ましい実施形態では、HIVはHIV-1である。

【0092】

本方法が少なくとも2、3、4、5、6、7回又はそれ以上繰り返される、これらの方法のいずれか。したがって、本発明は以下の方法を包含する。

【0093】

HIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する方法であって、

- a) グラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量で処置されたHIV感染患者からの血液試料を準備する工程、
- b) 血液試料からRNAを調製する工程、
- c) RNAからcDNAを調製する工程、
- d) DNA又はそのRNAコピーを作成することによってcDNAを増幅して増幅試料を生成させる工程、
- e) 増幅試料中のHIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する工程、
- f) 患者から第2の血液試料を準備する工程、
- g) 工程f)における血液試料からRNAを調製する工程、
- h) 工程g)におけるRNAからcDNAを調製する工程、

40

50



i) DNA又はそのRNAコピーを作成することによって工程h)のcDNAを増幅する工程、及び  
j) 工程i)の増幅試料中のHIV特異的核酸の存在又は非存在を検出する工程  
を含む方法。

【0094】

上記の方法のうちのいくつかの好ましい実施形態では、HIVはHIV-1である。

【0095】

ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって、好ましくはリアルタイムRT-PCRによってHIV-1 cDNAのDNAコピーを作成する工程を含む、これらの方法のいずれか。

【0096】

T7ポリメラーゼを用いてHIV-1 cDNAのRNAコピーを作成する工程を含む、これらの方法のいずれか。

10

【0097】

蛍光標識を有する増幅試料中のHIV-1特異的核酸の存在又は非存在を検出する工程を含む、これらの方法のいずれか。

【0098】

HIV-1感染患者がcART等の抗HIV阻害剤、及び本明細書に記載した特異的阻害剤のそれぞれで処置されている、これらの方法のいずれか。種々の実施形態では、HIV-1感染患者はグラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量を投与される前又はその後の1、2、3、4、5、若しくは6日、1、2、若しくは3週、又は1、2、3、4、6、若しくは12か月以内に、抗HIV阻害剤を投与されている。

20

【0099】

患者が多発性硬化症と診断されたことがない、これらの方法のいずれか。

【0100】

患者がHIV-1関連認知機能障害と診断されたことがない、これらの方法のいずれか。

【0101】

好ましい実施形態では、血液試料中の細胞を除去して血漿試料を生成し、血漿試料からRNAを調製する。1つの実施形態では、血漿試料はRNAを調製する前に超遠心分離に供される。1つの実施形態では、cDNAはオリゴdT又はHIV-1特異的プライマー及び逆転写酵素を用いて調製される。1つの実施形態では、cDNAはポリメラーゼ連鎖反応を用いて増幅される。1つの実施形態では、HIV-1特異的核酸は(好ましくは蛍光)標識プローブ又はプライマーを用いて検出される。

30

【0102】

1つの実施形態では、COBAS(登録商標)HIV-1テスト、COBAS(登録商標)AMPLISCREEN HIV-1テスト、COBAS(登録商標)AMPLIPREP/COBAS(登録商標)TAQMAN(登録商標)HIV-1テスト、AMPLICOR HIV-1 MONITORテスト、COBAS(登録商標)TaqScreen MPXテスト、又は同様のテストが用いられる。1つの実施形態では、二重標識蛍光プローブの使用によって、増幅プロセスの間に放出される蛍光レポーター色素の放射強度を監視することによるPCR生成物の集積のリアルタイム検出が可能である。

【0103】

1つの実施形態では、NUCLISENS(登録商標)HIV-1 QTテスト又は同様のテストが用いられる。それぞれのRNA標的配列の複数のコピーが、二本鎖T7-RNAポリメラーゼプロモーターを含む中間DNA分子を用いて、T7-RNAポリメラーゼによって合成される。DNA中間体は、RNAテンプレートへのプライマーの結合、RNA-DNA二重鎖を形成する逆転写酵素によるプライマーの延長、RNase Hによる二重鎖のRNA鎖の分解、残存するDNA鎖への第2のプライマーの結合、及び最後に転写に必要な二本鎖T7-RNAポリメラーゼプロモーターを形成する第2のプライマーの延長を含むプロセスによって生成する。

40

【0104】

1つの実施形態では、ABBOTT REALTIME HIV-1 ASSAY又は同様のテストが用いられる。

【0105】

1つの実施形態では、VERSANT HIV-1 RNA 3.0 Assay(bDNA)又は同様のテストが用いられ

50

る。

【0106】

1つの実施形態では、APTIMA(登録商標)HIV-1 RNA定量アッセイ、APTIMA(登録商標)HIV-1定量アッセイ、PROCLEIX(登録商標)HIV-1/HCV ASSAY、PROCLEIX ULTRIO ASSAY、又は同様のテストが用いられる。血漿はウイルスエンベロープを可溶化し、タンパク質を変性させ、ウイルスゲノムRNAを放出させるために、界面活性剤で処理される。試料調製の間、RNAは標的捕捉を用いて血漿検体から単離される。試験検体の中にHIV-1標的が存在する場合には、HIV-1の高度保存領域と相同のオリゴヌクレオチド(「捕捉オリゴヌクレオチド」)が、HIV-1標的にハイブリダイズする。次いでハイブリダイズした標的は磁性マイクロ粒子に捕捉され、これが磁場の中で血漿から分離される。無関係な血漿成分を反応管から除去するために洗浄工程が利用される。標的の増幅は、2つの酵素、MMLV逆転写酵素及びT7 RNAポリメラーゼを利用するTMAによって起こる。逆転写酵素は標的RNA配列のDNAコピー(T7 RNAポリメラーゼのためのプロモーター配列を含む)を生成させるために用いられる。T7 RNAポリメラーゼはDNAコピーテンプレートからRNAアンプリコンの複数のコピーを産生させる。

10

【0107】

したがって、本発明はグラチラマー酢酸塩の少なくとも1つの用量で処置されたHIV-1感染患者からの生物学的試料を準備する工程及びCOBAS(登録商標)HIV-1テスト、COBAS(登録商標)AMPLISCREEN HIV-1テスト、COBAS(登録商標)AMPLIPREP/COBAS(登録商標)TAQMAN(登録商標)HIV-1テスト、AMPLICOR HIV-1 MONITORテスト、COBAS(登録商標)TaqScreen MPXテスト、NUCLISENS(登録商標)HIV-1 QTテスト、VERSANT HIV-1 RNA 3.0アッセイ(bDNA)、ABBOTT REALTIME HIV-1 ASSAY、APTIMA(登録商標)HIV-1 RNA 定量アッセイ、APTIMA(登録商標)HIV-1定量アッセイ、PROCLEIX ULTRIO ASSAY、PROCLEIX(登録商標)HIV-1/HCV ASSAY、又は同様のテストを用いて生物学的試料中のHIV-1特異的核酸の存在又は非存在を検出する工程を含む、HIV-1特異的核酸の存在又は非存在を検出する方法を包含する。

20

【0108】

これらのHIV-1 NATテストキットのそれぞれのマニュアルのコピーはFDAからFda.gov(/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/LicensedProductsBLAs/BloodDonorScreening/InfectiousDisease/ucm126582.htm)で入手可能であり、参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0109】

処置方法及び使用

本発明は、グラチラマー酢酸塩及びGA関連活性物質並びに製品を用いる処置の方法、並びにヒト患者におけるHIV感染の処置におけるグラチラマー酢酸塩及びGA関連活性物質を含む組成物並びに製品の使用を包含する。

【0110】

本発明は、HIV感染を処置する使用のためのヒト対象においてHLA-E拘束性CD8細胞及び/又はNK細胞の活性化を誘起する化合物を包含する。より具体的には、本発明はヒト患者におけるHIV感染の処置における、NKG2A/C及び/又はCD107aを発現するHLA-E拘束性CD8細胞及び/又はNK細胞の活性化を誘起する化合物に関する。より具体的には、GAは、NKG2A、NKG2C、KIR受容体、たとえばKIR2DL4、KIR3DL2、KIR3D、KIR3DL7、並びにCD161及びNKG7から選択される少なくとも2つのバイオマーカー等の図3に示すNK細胞マーカーを隠しているHLA-E拘束性CD8細胞を誘起する。GAによって誘起されたNK細胞は、図12に示すマーカーのようなNK細胞マーカーを有している。

40

【0111】

化合物はHIV感染ヒト対象の処置における使用のためのグラチラマー酢酸塩(GA)であってよく、cARTを受けている患者又はcARTを開始したことがないHIV患者に投与してよい。

【0112】

1つの実施形態では、GAはCAS-147245-92-9として記載されているGAのような、式:(Glu, Ala, Lys, Tyr)x.X.CH3COOHの、L-アラニン、L-リジン、及びL-チロシン、酢酸(塩)を含むL

50

-グルタミン酸のポリマーである。たとえば、GAはL-グルタミン酸、L-アラニン、L-チロシン、及びL-リジンをそれぞれ0.141、0.427、0.095、及び0.338の平均モル分率で含む合成ポリペプチドの酢酸塩からなる。好ましくは、GAはCOPAXONE(登録商標)、GLATOPA(登録商標)、若しくはBRADIO(登録商標)、又はそれらのジェネリック形態若しくは製品である。

#### 【0113】

GAは実験動物のアレルギー性脳脊髄炎における免疫調節特性のために最初にコポリマー-1として知られており(Selaら、1996- Vaccine、10巻、14号、1992、991~999頁)、これは後に、寛解した多発性硬化症の悪化に罹患した患者を処置するための臨床試験及び市販許可に繋がった。今日でもなお、GAの作用機序は完全には解明されていないが、適応及び先天免疫機構に対して効果を有していると仮定されている。更に、Synthon BVのジェネリックグラチラマー酢酸塩等のGAのジェネリック版の等価性が研究によって示されている - Equivalence of Generic Glatiramer Acetate in Multiple Sclerosis A Randomized Clinical Trial(参照により本明細書に組み込まれるJAMA Neurol.、2015、72(12)、1433~1441.doi:10.1001/jamaneurol.2015.2154)。この等価性及びGA等価生成物又は関連する物質若しくは製品を調製する方法は、参照により本明細書に組み込まれるAndersonら、J. of Neurological Sciences、369、24~34頁、2015に記載されている。

10

#### 【0114】

グラチラマー酢酸塩の平均分子量は4,700~11,000ダルトンである。化学的にはグラチラマー酢酸塩はL-アラニン、L-リジン、及びL-チロシン、酢酸(塩)を含むL-グルタミン酸ポリマーと示される。その構造式は(Glu, Ala, Lys, Tyr)<sub>x</sub>.xCH<sub>3</sub>COOHである。

20

#### 【0115】

1つの特定の実施形態では、GAは4つの天然に存在するアミノ酸、L-グルタミン酸、L-アラニン、L-チロシン、及びL-リジンをそれぞれ0.141、0.427、0.095、及び0.338の平均モル分率で含む合成ポリペプチドの酢酸塩からなる、EP0975351A1に記載されたCOPAXONE(登録商標)(Teva)である。これはポリ[L-Glu<sup>13</sup>"<sup>15</sup>、L-Ala<sup>39</sup>"<sup>46</sup>、L-Tyr<sup>8-6</sup>"<sup>10</sup>、L-Lys<sup>30-37</sup>].nCH<sub>3</sub>COOH。コポリマー-1とも称される。

#### 【0116】

1つの特定の実施形態では、GAはGLATOPA(登録商標)- www.glatopa.com (Sandoz社) - (Demonstration of equivalence of a generic glatiramer acetate (Glatopa(商標) https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.10.007) - Andersonら、J. of Neurological Sciences、369、24~34頁、2015)である。

30

#### 【0117】

1つの特定の実施形態では、GAは現在BRADIO(登録商標)(Mylan社)という名称で市販されているSynthon BVのジェネリックグラチラマー酢酸塩、又は任意の他の生物等価ジェネリックGAである。

#### 【0118】

本発明に関して、GA及びGA関連活性物質又は製品はHIVを処置することを意図されている。GA関連活性物質又は製品は、HLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞におけるNKG2A/C及び/又はCD107aの発現の測定等の実施例で説明する方法のいずれかによって測定してGAと同様の生物学的活性を示す限り、コポリマーの最終組成においてたとえば(Glu, Ala, Lys, Tyr)<sub>x</sub>の異なった配置を有するコポリマーのアミノ酸の相対的比率における平均kDaの改変を有することを意味する。したがって、本発明は、COPAXONE(登録商標)若しくはGLATOPA(登録商標)、又はその別のジェネリック形態として市販されている製品、並びに/又は更にNKG2A/C陽性及び/若しくはCD107a陽性、並びに本明細書で説明したHIV感染の他のバイオマーカーに陽性のHLA-E拘束性CD8 T及び/又はNK細胞等のHLA-E拘束性リンパ球の増殖を誘起する特性を有するGA関連物質若しくは製品の使用を包含する。

40

#### 【0119】

本発明は、NKG2A/C+及び/又はCD107a+であるHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞を誘導し、それにより、ベースラインレベルと比較したCD4 Tリンパ球のレベル、ベースラ

50

インレベルと比較した血漿中HIV RNA負荷のレベル、ベースラインレベルと比較した血漿中HIV DNAのレベル等においてランドマークを達成する、本発明者らによって発見された同様の特性を保持する限り、GAの異なった形態、化学的に区別されるGAを包含する。

【0120】

したがって、本発明は、化合物が、

- 好適な量のグラチラマー酢酸塩関連原薬又は薬物製品を非ヒト哺乳動物に投与する工程、

- 前記哺乳動物におけるHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞の活性化レベルをベースラインレベルと比較して決定する工程

を含むプロセスによって特徴付けられる、グラチラマー酢酸塩関連原薬又は製品であり、

- 前記哺乳動物における、HLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞の活性化の増大、例えばNKG2A/Cを発現し及び/又はCD107aを発現するHLA-E拘束性CD8 T及びNK細胞の数の増大が、前記GA関連原薬又は製品を、ヒトにおけるHIV感染を処置するための製品であるとして特徴付ける、上述の使用のための化合物を対象とする。

【0121】

種々の実施形態では、本発明は実施例に記載したプロセスによって特徴付けられる、グラチラマー酢酸塩関連原薬又は薬物製品である上述の使用のための化合物を対象とする。

【0122】

GA又はGA関連製品は、皮下注射用の製品の形態、たとえば20mg又は40mgのGAを含むGA溶液、活性成分、及び40mgのマンニトールの1mLのプレフィルドシリンジ(PFS)であってよい皮下注射用の製品であってよい。そのようなPFSは、5.5~7.0の範囲のpHを有する水性医薬溶液を含んでよい。或いは、GA又はGA関連製品は、約20mg~約1000mgのグラチラマー酢酸塩又は本明細書で定義するGA関連活性物質を含むナノ又はミクロ粒子の形態である。GA又はGA関連製品は、それを必要とする対象の医学的に許容できる場所における皮下又は筋肉内埋植に適した持続放出デポ形態での長期作用非経口医薬組成物の形態であってもよい。GA又はGA関連製品は、ポリ(D,L,乳酸)(PLA)、ポリグリコリド類(PGA)、ポリ(ラクチド-co-グリコリド)(PLGA)、ポリカプロラクトン、ポリヒドロキシブチレート、ポリオルトエステル類、ポリアルカン無水物類、ゼラチン、コラーゲン、酸化セルロース、及びポリホスファゼンからなる群から選択される生体分解性又は非生体分解性ポリマーも含んでもよい。

【0123】

1つの実施形態では、本発明はHIVに急性又は慢性感染している患者における使用のための上述の化合物を対象とする。これらの患者は過去にcARTを受けていてもよく、cARTを中断又は継続していてもよい。

【0124】

上述の化合物の投与は、少なくとも2回/日、2回/週、1回/日、1回/週、3回/週、又は2日ごとに1回行なってよい。

【0125】

上述の化合物の投与は、少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、又は160mgの用量で行なってよい。

【0126】

他の1つの実施形態では、上述の化合物はHIV阻害剤と併用して、たとえば少なくとも2つ又は3つのHIV阻害剤と併用して、たとえばcARTと併用して投与してよい。

【0127】

好ましくは、cARTはコンビビル、カレトラ、トリジビル、エブジコム、キベキサ、トルバダ、アトリプラ、コンプレラ、エビプレラ、ストリビルド、トリウムク、エボタズ、プレズコピクス、ツトレビス、ゲンボヤ、又はデスコビであってよい。

【0128】

より好ましくは、cARTは以下の化合物:ラミブジン、ジドブジン、ロピナビル、リトナビル、アバカビル、テノフォビルジソプロキシシルフマレート、エムトリシタピン、エファ

10

20

30

40

50

ビレンズ、リルピピリン、エルピテグラビル、コビススタート、ドルテグラビル、アタザナビル、コビススタート、ダルナビル、及びラルテグラビルのいずれかの少なくとも2つ又は3つを含む。いくつかの実施形態では、HIV阻害剤はRev阻害剤を含む。

【0129】

1つの実施形態では、本発明は多発性硬化症と診断されたことがない患者における使用のための上述の化合物を対象とする。

【0130】

1つの実施形態では、本発明はHIV脳症と診断されたことがない患者における使用のための上述の化合物を対象とする。

【0131】

1つの実施形態では、本方法は有効量のグラチラマー酢酸塩をHIV感染者に投与する工程を含む。有効量とは、HIV感染患者における血漿HIV RNAのレベルを少なくとも2分の1に低減させるグラチラマー酢酸塩の量である。いくつかの実施形態では、グラチラマー酢酸塩の投与は、HIV感染患者における血漿HIV RNAのレベルを少なくとも2分の1、4分の1、10分の1、30分の1、50分の1、又は100分の1に低減させる。

【0132】

いくつかの実施形態では、グラチラマー酢酸塩の投与は、患者のウイルス負荷を少なくとも2分の1、4分の1、10分の1、30分の1、50分の1、又は100分の1に低減させる。いくつかの実施形態では、グラチラマー酢酸塩の投与は、感染したリザーバー細胞の数を少なくとも2分の1、4分の1、10分の1、30分の1、50分の1、又は100分の1に低減させる。いくつかの実施形態では、グラチラマー酢酸塩の投与は、活性ウイルス複製を少なくとも2分の1、4分の1、10分の1、30分の1、50分の1、又は100分の1に低減させる。

【0133】

上記の低減は当技術分野における日常的な手法、たとえば患者の血漿試料を用いる標準的なPCR増幅法によって、グラチラマー酢酸塩を投与する前及び後の患者におけるレベルを比較すること等によって決定することができる。

【0134】

低減は投与後の種々の時間、たとえばグラチラマー酢酸塩の投与の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、16、20、40、又は52週後に評価することができる。

【0135】

いくつかの実施形態では、化合物(たとえばグラチラマー酢酸塩)は1~200mg、5~160mg、10~80mg、又は20~40mgの少なくとも1回の投与で投与される。好ましくは、投与は少なくとも1~5、5~10、10~20、20~40、40~60、60~80、80~100、100~120、120~140、又は140~160mgである。好ましくは、投与は少なくとも1、5、10、20、40、60、80、100、120、140、又は160mgの化合物である。最も好ましくは、投与は少なくとも1、5、10、20、40、60、80、100、120、140、又は160mgのグラチラマー酢酸塩である。具体的に列挙してはいないが、全ての値及び上記及び下記の範囲内にある部分範囲は、明確に書き出されているかのように具体的に含まれている。

【0136】

化合物の投与は、当技術分野で公知の多くの方法、最も好ましくは皮下、舌下、経粘膜、又は経口によってよい。その全てが参照により全体として組み込まれるUS20150202247A1、US20160193276A1、US20170080044A1、US20100036092A1、US20110066112A1、US20120015891A1、及びUS20150328277A1を参照されたい。

【0137】

いくつかの実施形態では、多回投与が行なわれる。種々の実施形態では、少なくとも1~100、好ましくは1、2、3、4、5、6、7、8、9、10~20、20~50、又は50~100回の投与が行なわれる。種々の実施形態では、投与は少なくとも2回/日、2回/週、1回/日、1回/週、3回/週、又は2日ごとに1回である。

【0138】

種々の実施形態では、少なくとも1、2、3、4、5、6、7日、1、2、3、4、5、6週、又は1

10

20

30

40

50

、2、3、4、5、6か月等の間に、少なくとも1、2、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、160mg/日が投与される。

【0139】

種々の実施形態では、少なくとも2、3、4、5、6、7日、1、2、3、4、5、6週、又は1、2、3、4、5、6か月等の間に、2日ごとに又は3回/週、少なくとも1、2、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、100、120、160mgが投与される。

【0140】

HIV感染患者

本発明の方法、使用、及び組成物はHIV感染患者において用いることができる。1つの実施形態では、患者はヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)に感染している。1つの実施形態では、患者はヒト免疫不全ウイルス2型(HIV-2)に感染している。

10

【0141】

1つの実施形態では、HIV-1感染患者はHIVに急性感染している。1つの実施形態では、HIV-1感染患者はHIVに慢性感染している。

【0142】

1つの実施形態では、HIV-1感染患者はcARTを受けている。1つの実施形態では、HIV-1感染患者はcARTを開始したことがない。種々の実施形態では、HIV-1感染患者は過去にcARTを受けており、cARTを中断又は継続している。

【0143】

いくつかの実施形態では、患者は多発性硬化症と診断されたことがない。

20

【0144】

いくつかの実施形態では、患者はHIV-1関連認知機能障害と診断されたことがない。

【0145】

医薬組成物

本発明はヒト免疫不全ウイルス感染患者におけるCD8 T細胞及び/又はNK細胞等のHLA-E拘束性リンパ球を増加させる医薬組成物を包含する。好ましい医薬組成物は、HIV阻害量のグラチラマー酢酸塩を含む。組成物は特に、好ましくは少なくとも1つ、2つ、3つ、又は4つのHIV阻害剤と組み合わせた、最も好ましくはcARTと組み合わせた、好ましくはNKG2A/Cを発現し及び/又はC107aを発現するHLA-E拘束性CD8 T細胞及び/又はNK細胞を増加させることによる、好ましくはヒトにおけるHIV感染の処置のためのものである。本発明は、HIV感染の処置のための医薬の製造におけるこれらの組成物の使用、及びHIV感染の処置におけるこれらの組成物の使用を更に包含する。

30

【0146】

好ましい医薬組成物には、その全てが参照により全体として組み込まれるUS20150202247A1、US20160193276A1、US20170080044A1、US20100036092A1、US20110066112A1、US20120015891A1、及びUS20150328277A1で説明された組成物が含まれる。

【0147】

種々の実施形態では、化合物は1~200mg、5~160mg、10~80mg、又は20~40mgのグラチラマー酢酸塩を含む。好ましくは、化合物は少なくとも1~5、5~10、10~20、20~40、40~60、60~80、80~100、100~120、120~140、又は140~160mgのグラチラマー酢酸塩を含む。好ましくは、化合物は少なくとも1、5、10、20、40、60、80、100、120、140、又は160mgのグラチラマー酢酸塩を含む。具体的に列挙してはいないが、全ての値及び上記範囲内にある部分範囲は、明確に書き出されているかのように具体的に含まれている。

40

【0148】

グラチラマー酢酸塩は、一般的な技術分野においてHIV感染の処置に価値があることが知られているHIV阻害剤、特にcARTとともに治療目的で有利に投与してもよい。特に好ましい組合せは、以下に列挙したHIV阻害剤の少なくとも1つ、2つ、3つ、又は4つを含む。最も好ましくは、組合せは以下に列挙した併用抗レトロウイルス治療の少なくとも1つを含む。

【0149】

50

医薬組成物を形成するために、有効濃度又は有効量のグラチラマー酢酸塩を、全身、局所、又は局部投与のための好適な医薬担体又はビヒクルと混合してよい。グラチラマー酢酸塩は、HIV感染を処置するのに有効な量で含まれる。組成物中の活性薬剤の濃度は、活性薬剤の吸収、不活化、排泄速度、処方計画、投与量、特定の製剤、並びに当業者に公知の他の因子に依存することになる。

【0150】

組成物は、例として限定なく経口、非経口、経直腸、局所、及び局部を含む好適な経路によって投与することが意図されている。経口投与のために、カプセル及び錠剤を用いることができる。組成物は液状、半液状、又は固体形態(solid form)であり、それぞれの投与経路に適した方法で製剤化される。

10

【0151】

非経口、皮内、皮下、又は局所適用のために用いられる溶液又は懸濁液は、任意の組合せで以下の成分、無菌希釈剤、たとえば例として限定なく注射用水、生理食塩液、固定オイル、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶媒、抗微生物剤、たとえばベンジルアルコール及びメチルパラベン、抗酸化剤、たとえばアスコルビン酸及び亜硫酸水素ナトリウム、キレート化剤、たとえばエチレンジアミン四酢酸(EDTA)、緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩、及びリン酸塩、並びに浸透圧調整剤、たとえば塩化ナトリウム及びデキストロースのいずれかを含んでよい。非経口調製物はアンプル、使い捨てシリンジ、又はガラス、プラスチック、若しくは他の好適な材料から作られた単回若しくは多回用量のバイアルの中に封入されてよい。

20

【0152】

薬剤が不十分な溶解性を示す場合には、薬剤を可溶化する方法を用いてよい。そのような方法は当業者に公知であり、これらに限定されないが、共溶媒、たとえばジメチルスルホキシド(DMSO)の使用、界面活性剤、たとえばTWEEN(登録商標)の使用、又は水性重炭酸ナトリウムへの溶解を含む。有効な医薬組成物の製剤化においては、薬学的に許容される薬剤の誘導体を用いてもよい。

【0153】

薬剤の混合又は添加に際しては、得られた混合物は溶液、懸濁液、エマルジョン等であってよい。得られた混合物の形態は、意図した投与モード及び選択した担体又はビヒクルへの薬剤の溶解性を含むいくつかの因子に依存する。有効濃度は、少なくとも1つの疾患状態の1つ又は複数の症状を処置するのに十分である。

30

【0154】

医薬組成物は、錠剤、カプセル、ピル、粉末、顆粒、無菌非経口溶液又は懸濁液、及び経口溶液又は懸濁液、及び油水エマルジョン等の、好適な量の薬剤又はその薬学的に許容される誘導体を含む単位剤形でのヒト及び動物への投与のために提供される。薬学的治療活性薬剤及びその誘導体は、典型的には単位剤形又は複数剤形で製剤化され投与される。本明細書で用いる単位用量形態は、ヒト及び動物の対象に好適で当技術分野で公知のように個別に包装された物理的に別個の単位を指す。それぞれの単位用量は、必要な薬学的担体、ビヒクル、又は希釈剤と共に所望の治療効果を生じるのに十分な所定量の治療活性薬剤を含む。単位用量形態の例には、アンプル及びシリンジ、並びに個別に包装された錠剤又はカプセルが含まれる。単位用量形態はその画分又は複数で投与してよい。複数用量形態は、分割された単位用量形態で投与される単一の容器に包装された複数の同一の単位剤形である。複数用量形態の例には、バイアル、錠剤若しくはカプセルのボトル、又はバイント若しくはガロンのボトルが含まれる。したがって、複数用量形態は、包装中で分割されていない複数の単位用量である。

40

【0155】

組成物は、活性薬剤とともに、たとえば限定なく希釈剤、たとえばラクトース、スクロース、リン酸二カルシウム、若しくはカルボキシメチルセルロース、滑剤、たとえばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、及びタルク、並びにバインダー、たとえばデンプン、天然ゴム、たとえばアカシアガム、ゼラチン、グルコース、モラス、ポリ

50

ビニルピロリドン、セルロース及びその誘導体、ポビドン、クロスポビドン、並びに当業者に公知の他のそのようなバインダーを含んでよい。液体の薬学的に投与可能な組成物は、たとえば上で定義した活性薬剤と、たとえば例として限定なく水、生理食塩液、水性デキストロース、グリセロール、グリコール、エタノール等の担体中の任意選択の薬学的アジュバントとを溶解し、分散し、又はそれ以外の方法で混合して、それにより溶液又は懸濁液を形成することによって調製することができる。所望であれば、投与すべき医薬組成物は少量の非毒性の補助的な物質、たとえば湿潤剤、乳化剤、又は可溶化剤、pH緩衝剤、及び同様のもの、たとえば例として限定なく酢酸塩、クエン酸ナトリウム、シクロデキストリン誘導体、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミン酢酸ナトリウム、トリエタノールアミンオレエート、並びに他のそのような薬剤を含んでもよい。そのような剤形を調製する実際の方法は当業者に公知であり、又は明白である。たとえばRemington's Pharmaceutical Sciences、Mack Publishing Company、Easton、Pa.、第15版、1975を参照されたい。投与すべき組成物又は製剤は、いかなる場合にも、処置される対象の症状を緩和するのに十分な量で活性薬剤の量を含むことになる。

10

20

30

40

50

**【0156】**

0.005%~100%の活性薬剤を含み、残部が非毒性担体からなる剤形又は組成物が調製され得る。経口投与のためには、通常採用される賦形剤、たとえば限定なく医薬グレードのマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、タルカム、セルロース誘導体、クロスカルメロースナトリウム、グルコース、スクロース、炭酸マグネシウム、又はサッカリンナトリウムのいずれかを組み込むことによって、薬学的に許容される非毒性組成物が形成される。そのような組成物には、溶液、懸濁液、錠剤、カプセル、粉末、及び持続放出製剤、たとえばこれらに限定されないがインプラント及びマイクロカプセル化送達システム、並びに生体分解性、生体親和性ポリマー、たとえばコラーゲン、エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、ポリオルトエステル類、ポリ乳酸、及びその他が含まれる。これらの組成物を調製する方法は当業者に公知である。意図した組成物は0.001%~100%、たとえば0.1~85%、又はたとえば75~95%の活性薬剤を含んでよい。活性薬剤又は薬学的に許容される誘導体は、薬剤を体内からの急速な排出から保護する担体、たとえば持続放出製剤又はコーティングとともに調製してよい。組成物は、特性の所望の組合せを得るために他の活性薬剤を含んでよい。

**【0157】**

経口医薬剤形には、例として限定なく固体、ゲル、及び液体が含まれる。固体剤形には、錠剤、カプセル、顆粒、及びバルク粉末が含まれる。経口錠剤には、圧縮された噛み砕けるトローチ及び腸溶性コーティング、糖コーティング、又はフィルムコーティングされてもよい錠剤が含まれる。カプセルは硬又は軟ゼラチンカプセルであってよく、一方、顆粒及び粉末は当業者に公知の他の成分と組み合わせた非発泡性又は発泡性の形態で提供してよい。

**【0158】**

いくつかの実施形態では、製剤は固体剤形、たとえばカプセル又は錠剤である。錠剤、ピル、カプセル、トローチ等は以下の成分、又は同様の性質を有する薬剤、即ちバインダー、希釈剤、崩壊剤、滑剤、流動促進剤、甘味剤、及び香味剤のいずれかを含んでよい。

**【0159】**

バインダーの例には、例として限定なく、微結晶セルロース、トラガントガム、グルコース溶液、アラビアゴム粘液、ゼラチン溶液、スクロース、及びデンプンペーストが含まれる。滑剤には、例として限定なく、タルク、デンプン、ステアリン酸マグネシウム又はステアリン酸カルシウム、リコポディウム、及びステアリン酸が含まれる。希釈剤には、例として限定なく、ラクトース、スクロース、デンプン、カオリン、塩、マニトール、及びリン酸二カルシウムが含まれる。流動促進剤には、例として限定なく、コロイド状二酸化ケイ素が含まれる。崩壊剤には、例として限定なく、クロスカルメロースナトリウム、デンプングリコール酸ナトリウム、アルギン酸、コーンスターチ、馬鈴薯デンプン、ペントナイト、メチルセルロース、寒天、及びカルボキシメチルセルロースが含まれる。着



色剤には、例として限定なく、承認された認定済み水溶性F1)及びC色素のいずれか、その混合物、並びにアルミナ水和物の上に懸濁された水不溶性ID及びC色素が含まれる。甘味剤には、例として限定なく、スクロース、ラクトース、マンニトール、及び人工甘味剤、たとえばサッカリン、並びに任意の数の噴霧乾燥香味料が含まれる。香味剤には、例として限定なく、果実等の植物から抽出された天然香味料並びにこれらに限定されないがペパーミント及びサリチル酸メチル等の快感を生じる薬剤の合成ブレンドが含まれる。湿潤剤には、例として限定なく、プロピレングリコールモノステアレート、ソルビタンモノオレエート、ジエチレングリコールモノラウレート、及びポリオキシエチレンラウリルエーテルが含まれる。腸溶(Emetic)コーティングには、例として限定なく、脂肪酸、脂肪、ワックス、シェラック、アンモニア化シェラック、及びセルロースアセテートフタレートが含まれる。フィルムコーティングには、例として限定なく、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリエチレングリコール4000、及びセルロースアセテートフタレートが含まれる。

10

## 【0160】

経口投与が望ましい場合には、薬剤はこれを胃の酸性環境から保護する組成物の中で提供してよい。たとえば、組成物は胃の中でその一体性を維持し、腸で活性薬剤を放出する腸溶性コーティングの中で製剤化することができる。組成物は制酸剤又は他のそのような成分と組み合わせて製剤化してもよい。

## 【0161】

単位剤形がカプセルである場合には、これは上記の種類 material に加えて脂肪油等の液体担体を含んでよい。更に、単位剤形は投与単位の物理的形態を改変する種々の他の材料、たとえば砂糖及び他の腸溶性剤のコーティングを含んでよい。薬剤はエリキシル、懸濁液、シロップ、ウェーファー、スプリングル、チューイングガム等の成分として投与することもできる。シロップは活性薬剤に加えて甘味剤としてスクロース、及びある種の保存剤、色素及び着色料、並びに香味料を含んでよい。

20

## 【0162】

活性材料は所望の作用を損なわない他の活性材料と、又は所望の作用を補助する材料、たとえば制酸剤、H<sub>2</sub>ブロッカー、及び利尿剤と混合することもできる。

## 【0163】

錠剤に含まれる薬学的に許容される担体は、バインダー、滑剤、希釈剤、崩壊剤、着色剤、香味剤、及び湿潤剤である。腸溶性コート錠剤は、腸溶性コーティングであるので、胃酸の作用に抗し、中性又はアルカリ性の腸で溶解又は崩壊する。糖衣錠は、薬学的に許容される物質の様々な層が適用された圧縮錠剤である。フィルムコート錠剤は、ポリマー又は他の好適なコーティングでコートされた圧縮錠剤である。多重圧縮錠剤は、既述の薬学的に許容される物質を利用して1回より多くの圧縮サイクルによって作られた圧縮錠剤である。上記の剤形では、着色剤も用いてよい。香味剤及び甘味剤は、圧縮錠剤、糖衣錠、多重圧縮錠剤、及び噛み砕ける錠剤で用いられる。香味剤及び甘味剤は、噛み砕ける錠剤及びトローチの形成に有用である。

30

## 【0164】

液体経口剤形には、水溶液、エマルジョン、懸濁液、非発泡性顆粒から再構成した溶液及び/又は懸濁液、並びに発泡性顆粒から再構成した発泡性調製物が含まれる。水溶液には、たとえばエリキシル及びシロップが含まれる。エマルジョンは水中油又は油中水である。

40

## 【0165】

エリキシルは澄明で甘味が付けられた水アルコール性の調製物である。エリキシルにおいて用いられる薬学的に許容される担体には、溶媒が含まれる。シロップは糖、たとえばスクロースの濃縮水溶液であり、保存剤を含んでもよい。エマルジョンは、1つの液体が別の液体の中全体に小球の形態で分散している2相系である。エマルジョンにおいて用いられる薬学的に許容される担体は、非水液体、乳化剤、及び保存剤である。懸濁液には薬学的に許容される懸濁化剤及び保存剤が用いられる。液体経口剤形に再構成され、非発泡性

50

顆粒で用いられる薬学的に許容される物質には、希釈剤、甘味剤、及び湿潤剤が含まれる。液体経口剤形に再構成され、発泡性顆粒で用いられる薬学的に許容される物質には、有機酸及び二酸化炭素源が含まれる。上記の剤形のいずれにおいても、着色剤及び香味剤を用いてよい。

**【0166】**

溶媒には、例として限定なく、グリセリン、ソルビトール、エチルアルコール、及びシロップが含まれる。保存剤の例には、限定なくグリセリン、メチル及びプロピルパラベン、安息香酸、安息香酸ナトリウム、及びアルコールが含まれる。エマルジョンにおいて利用される非水性液体には、例として限定なく、鉱油及び綿実油が含まれる。乳化剤には、例として限定なく、ゼラチン、アカシア、トラガント、ベントナイト、及び界面活性剤、たとえばポリオキシエチレンソルビタンモノオレエートが含まれる。懸濁化剤には、例として限定なく、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ペクチン、トラガント、ビーガム及びアカシアが含まれる。希釈剤には、例として限定なく、ラクトース及びスクロースが含まれる。甘味剤には、例として限定なく、スクロース、シロップ、グリセリン、及び人工甘味剤、たとえばサッカリンが含まれる。湿潤剤には、例として限定なく、プロピレングリコールモノステアレート、ソルビタンモノオレエート、ジエチレングリコールモノラウレート、及びポリオキシエチレンラウリルエーテルが含まれる。有機酸には、例として限定なく、クエン酸及び酒石酸が含まれる。二酸化炭素源には、例として限定なく、重炭酸ナトリウム及び炭酸ナトリウムが含まれる。着色剤には、例として限定なく、承認された認定済み水溶性FD及びC色素のいずれか、並びにその混合物が含まれる。香味剤には、例として限定なく、果実等の植物から抽出された天然香味料及び快味感を生じる薬剤の合成ブレンドが含まれる。

10

20

**【0167】**

固体剤形では、たとえばプロピレンカーボネート、植物油、又はトリグリセリド中の溶液又は懸濁液が、ゼラチンカプセル中にカプセル化される。そのような溶液、並びにその調製物及びカプセル化は、米国特許第4,328,245号、第4,409,239号、及び第4,410,545号に開示されている。液体剤形では、たとえばポリエチレングリコール中の溶液を、投与のために容易に計量できるように、十分な量の薬学的に許容される液体担体、たとえば水で希釈してよい。

**【0168】**

或いは、液体又は半固体経口製剤は、活性薬剤又は塩を植物油、グリコール、トリグリセリド、プロピレングリコールエステル類(たとえばプロピレンカーボネート)及び他のそのような担体に溶解又は分散し、これらの溶液又は懸濁液を硬又は軟ゼラチンカプセルシエルの中にカプセル化することによって調製できる。他の有用な製剤には、米国特許第Re 28,819号及び第4,358,603号で説明されたものが含まれる。簡単には、そのような製剤には、これらに限定されないが、本明細書で提供した薬剤、ジアルキル化モノ-又はポリ-アルキレングリコール、たとえばこれらに限定されないが1,2-ジメトキシメタン、ジグリム、トリグリム、テトラグリム、ポリエチレングリコール-350-ジメチルエーテル、ポリエチレングリコール-550-ジメチルエーテル、ポリエチレングリコール-750-ジメチルエーテル(ここで350、550、及び750はポリエチレングリコールのおよその平均分子量を指す)、並びに1つ又は複数の抗酸化剤、たとえばブチル化ヒドロキシトルエン(BHT)、ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA)、没食子酸プロピル、ビタミンE、ヒドロキノン、ヒドロキシクマリン類、エタノールアミン、レシチン、セファリン、アスコルビン酸、リンゴ酸、ソルビトール、リン酸、チオジプロピオン酸及びそのエステル、並びにジチオカルバメート類を含む製剤が含まれる。

30

40

**【0169】**

他の製剤には、これに限定されないが薬学的に許容されるアセタールを含む水性アルコール溶液が含まれる。これらの製剤に用いられるアルコールは、これらに限定されないがプロピレングリコール及びエタノールを含む、1つ又は複数のヒドロキシル基を有する任意の薬学的に許容される水混和性溶媒である。アセタールには、これらに限定されないが

50

低級アルキルアルデヒドのジ(低級アルキル)アセタール、たとえばアセトアルデヒドジエチルアセタールが含まれる。

【0170】

錠剤及びカプセル製剤は、活性成分の溶解を改変又は維持するために当業者に知られているようにコーティングしてよい。したがって、例として限定なく、これらは従来の腸消化性コーティング、たとえばフェニルサリシレート、ワックス、及びセルロースアセテートフタレートでコーティングしてよい。

【0171】

皮下、筋肉内、又は静脈内の注射によって一般に特徴付けられる非経口投与も本明細書において意図される。注射剤は従来の形態で、液体溶液若しくは懸濁液、注射の前の液体中の溶液若しくは懸濁液に適した固体形態、又はエマルジョンとして調製することができる。好適な賦形剤には、例として限定なく、水、生理食塩液、デキストロース、グリセロール、又はエタノールが含まれる。更に所望であれば、投与される医薬組成物は、少量の非毒性補助物質、たとえば湿潤剤若しくは乳化剤、pH緩衝剤、安定剤、溶解促進剤、及び他のそのような薬剤、たとえば酢酸ナトリウム、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミンオレエート、及びシクロデキストリン類を含んでもよい。

10

【0172】

一定レベルの投与量を維持するための徐放又は持続放出系(たとえば米国特許第3,710,795号を参照されたい)の埋植も、本明細書で意図される。簡単には、グラチラマー酢酸塩は、体液に不溶な外部ポリマー膜、たとえばポリエチレン、ポリプロピレン、エチレン/プロピレンコポリマー、エチレン/エチルアクリレートコポリマー、エチレン/酢酸ビニルコポリマー、シリコーンゴム、ポリジメチルシロキサン、ネオプレンゴム、塩素化ポリエチレン、ポリ塩化ビニル、塩化ビニルと酢酸ビニルのコポリマー、塩化ビニリデン、エチレン及びプロピレン、イオノマー、ポリエチレンテレフタレート、ブチルゴム、エピクロロヒドリンゴム、エチレン/ビニルアルコールコポリマー、エチレン/酢酸ビニル/ビニルアルコールターポリマー、及びエチレン/ビニルオキシエタノールコポリマーによって取り囲まれた固体内部マトリックス、たとえばポリメチルメタクリレート、ポリブチルメタクリレート、可塑化又は非可塑化ポリ塩化ビニル、可塑化ナイロン、可塑化ポリエチレンテレフタレート、天然ゴム、ポリイソプレン、ポリイソブチレン、ポリブタジエン、ポリエチレン、エチレン-酢酸ビニルコポリマー、シリコーンゴム、ポリジメチルシロキサン、シリコーンカーボネートコポリマー、アクリル酸及びメタクリル酸のエステルのヒドロゲル等の親水性ポリマー、コラーゲン、架橋ポリビニルアルコール及び架橋部分加水分解ポリ酢酸ビニルの中に分散することができる。薬剤は、放出速度制御工程において外部ポリマー膜を通して拡散する。そのような非経口組成物中に含まれる活性薬剤の割合は、その特定の性質、並びに薬剤の活性及び対象の必要性に大きく依存する。

20

30

【0173】

非経口投与には、静脈内、皮下、及び筋肉内投与が含まれる。非経口投与のための調製物には、即時注射可能な無菌溶液、無菌乾燥可溶性製品、たとえば使用直前に溶媒と組み合わせる準備ができた凍結乾燥粉末、たとえば皮下錠剤、即時注射可能な無菌懸濁液、使用直前にビヒクルと組み合わせる準備ができた無菌乾燥不溶性製品、並びに無菌エマルジョンが含まれる。溶液は水性又は非水性でよい。

40

【0174】

静脈内投与の場合には、好適な担体には、生理食塩液又はリン酸塩緩衝生理食塩液(PBS)、並びに増粘剤及び可溶化剤、たとえばグルコース、ポリエチレングリコール、及びポリプロピレングリコール、並びにそれらの混合物を含む溶液が含まれる。

【0175】

非経口調製物中で用いられる薬学的に許容される担体には、水性ビヒクル、非水性ビヒクル、抗微生物剤、等張剤、緩衝剤、抗酸化剤、局部麻酔剤、懸濁化剤及び分散剤、乳化剤、隔離剤又はキレート化剤、並びに他の薬学的に許容される物質が含まれる。

【0176】

50

水性ビヒクルには、例として限定なく、塩化ナトリウム注射剤、リンゲル注射剤、等張デキストロース注射剤、無菌水注射剤、デキストロースラクテートリンゲル注射剤が含まれる。非水性経口ビヒクルには、例として限定なく、植物由来の固定油、綿実油、トウモロコシ油、ゴマ油、及びピーナツ油が含まれる。多回用量容器に包装された非経口調製物には、フェノール若しくはクレゾール、水銀製剤、ベンジルアルコール、クロロブタノール、メチル及びプロピルp-ヒドロキシ安息香酸エステル類、チメロサル、塩化ベンザルコニウム、並びに塩化ベンゼトニウムを含む静菌性又は静真菌性の濃度の抗微生物剤を添加しなければならない。等張剤には、例として限定なく、塩化ナトリウム及びデキストロースが含まれる。緩衝剤にはリン酸塩及びクエン酸塩が含まれる。抗酸化剤には重硫酸ナトリウムが含まれる。局部麻酔剤にはプロカイン塩酸塩が含まれる。懸濁化剤及び分散剤にはカルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、及びポリビニルピロリドンが含まれる。乳化剤にはポリソーベート80(TWEEN(登録商標)80)が含まれる。金属イオンの隔離剤又はキレート化剤にはEDTAが含まれる。医薬担体には、例として限定なく、水混和性ビヒクルのためにエチルアルコール、ポリエチレングリコール、及びプロピレングリコール、並びにpH調整のために水酸化ナトリウム、塩酸、クエン酸、又は乳酸も含まれる。

10

**【0177】**

医薬活性薬剤の濃度は、注射剤が所望の薬理学的効果を生じるための有効量を提供するように調整される。正確な用量は当技術分野で知られているように患者又は動物の年齢、体重、及び状態による。

20

**【0178】**

単位用量の非経口調製物はアンプル、バイアル、又は針付きのシリンジに包装される。非経口投与のための調製物は、当技術分野で知られ、実践されているように無菌であるべきである。

**【0179】**

実例として、活性薬剤を含む無菌水性溶液の静脈内又は動脈内注入は、有効な投与モードである。別の実施形態は、所望の薬理学的効果を生じるように必要に応じて注射される活性薬剤を含む無菌の水性又は油性溶液又は懸濁液である。

**【0180】**

注射液は局部及び全身の投与のために設計される。典型的には、治療有効投与量は、少なくとも約0.1%w/w～約90%w/w又はそれ超の濃度を含み、たとえば処置される組織に対して1%w/w超の活性薬剤を含むように製剤化される。活性薬剤は一度に投与してよく、又は時間間隔を置いて投与されるようにいくつかの小さな用量に分割してもよい。正確な投与量及び処置の期間は処置される組織に依存し、公知の試験プロトコルを用いて実験的に、又はインビボ若しくはインビトロの試験データから外挿によって決定され得ることが理解される。濃度及び投与量の値は処置される個体の年齢によっても変化することに留意すべきである。いずれの特定の対象に対しても、特定の投与レジメンは個別のニーズ及び製剤を投与する者又は投与を監督する者の専門的判断に従って経時的に調整すべきであり、本明細書で説明した濃度範囲は単なる例示であり、特許請求する製剤の範囲又は実施を限定する意図はないことを更に理解されたい。

30

40

**【0181】**

薬剤は、たとえばより可溶性の活性製品を生産するために、又はプロドラッグ若しくは他の薬学的に許容される誘導体を生産するために、微小化された、若しくは他の好適な形態で懸濁してよく、又は誘導体化してよい。得られる混合物の形態はいくつかの因子、たとえば意図した投与モード及び選択した担体又はビヒクルへの薬剤の溶解性に依存する。有効濃度は状態の症状を改善するのに十分であり、実験的に決定され得る。

**【0182】**

凍結乾燥粉末は溶液、エマルジョン、及び他の混合物としての投与のために再構成され、又は固体若しくはゲルとして製剤化することができる。

**【0183】**

50

無菌の凍結乾燥粉末は、本明細書で提供した薬剤、又はその薬学的に許容される誘導体を、好適な溶媒に溶解することによって調製される。溶媒は、粉末又は粉末から調製された再構成溶液の安定性又は他の薬理的成分を改善する賦形剤を含んでよい。用いられ得る賦形剤には、これらに限定されないがデキストロース、ソルビタール、フルクトース、コーンシロップ、キシリトール、グリセリン、グルコース、スクロース、又は他の好適な薬剤が含まれる。溶媒は、緩衝剤、たとえばクエン酸塩、リン酸ナトリウム若しくはリン酸カリウム、又は当業者に公知の他のそのような典型的にはほぼ中性pHの緩衝剤を含んでもよい。引き続き溶液の無菌濾過及びそれに続く当業者に公知の標準条件下での凍結乾燥によって、所望の製剤が得られる。一般には、得られる溶液は凍結乾燥のためにバイアルに分注される。それぞれのバイアルは、例として限定なく、単一投与量(10~1000mg、たとえば100~500mg)又は多回投与量の薬剤を含むことになる。凍結乾燥粉末は適切な条件、たとえば約4~室温で保存することができる。

10

**【0184】**

この凍結乾燥粉末の注射用水による再構成によって、非経口投与における使用のための製剤が提供される。再構成には、無菌水又は他の好適な担体1mLあたり約1~50mg、たとえば約5~35mg、たとえば約9~30mgの凍結乾燥粉末が添加される。正確な量は選択した薬剤による。そのような量は実験的に決定することができる。

**【0185】**

局所用混合物は、局部及び全身投与について記載したように調製される。得られる混合物は溶液、懸濁液、エマルジョン等であってよく、クリーム、ゲル、軟膏、エマルジョン、溶液、エリキシル、ローション、懸濁液、チンキ剤、ペースト、泡剤、エアロゾル、洗浄液、スプレー、座薬、バンデージ、皮膚パッチ、又は局所投与に適した任意の他の製剤として製剤化される。

20

**【0186】**

薬剤又はその薬学的に許容される誘導体は、たとえば吸入による局所適用のためのエアロゾルとして製剤化してよい(たとえば炎症性疾患、特に喘息の処置に有用なステロイドの送達のためのエアロゾルを記載した米国特許第4,044,126号、第4,414,209号、及び第4,364,923号を参照されたい)。気道への投与のためのこれらの製剤は、ネブライザーのためのエアロゾル若しくは溶液の形態、又は単独若しくはラクトース等の不活性な担体と組み合わせた吹き込み用の微粉末とすることができる。そのような場合には、製剤の粒子は例として限定なく、約50ミクロン未満、たとえば約10ミクロン未満の直径を有することになる。

30

**【0187】**

薬剤は局部又は局所適用のため、たとえば皮膚及び粘膜、たとえば眼への局所適用のため、ゲル、クリーム、及びローションの形態で、並びに眼への適用のため、又は嚢内若しくは髄腔内への適用のために製剤化してよい。局所投与は経皮送達及び眼若しくは粘膜への適用、又は吸入治療を意図する。活性薬剤単独又は他の薬学的に許容される賦形剤と組み合わせた経鼻溶液も投与することができる。

**【0188】**

これらの溶液、特に眼科用途を意図した溶液は、例として限定なく、適切な塩を含んでpH約5~7の、約0.01%~約10%の等張溶液として製剤化してよい。

40

**【0189】**

他の投与経路、たとえば経皮パッチ及び直腸投与も、本明細書で意図されている。

**【0190】**

イオン泳動及び電気泳動デバイスを含む経皮パッチは当業者に周知である。たとえばそのようなパッチは米国特許第6,267,983号、第6,261,595号、第6,256,533号、第6,167,301号、第6,024,975号、第6,010,715号、第5,985,317号、第5,983,134号、第5,948,433号、及び第5,860,957号に開示されている。

**【0191】**

直腸投与のための医薬投与量は全身性効果のための直腸用座薬、カプセル、及び錠剤で

50

ある。本明細書で用いる直腸用座薬は、体温で融解又は軟化して1つ又は複数の薬理的又は治療的に活性な成分を放出する、直腸への挿入のための固体を意味する。直腸用座薬に利用される薬学的に許容される物質は、ベース又はビヒクル及び融点を上昇させる薬剤である。ベースの例には、ココアバター(テオプロマ油)、グリセリン-ゼラチン、カルボワックス(ポリオキシエチレングリコール)、並びに脂肪酸のモノ-、ジ-、及びトリ-グリセリドの適切な混合物が含まれる。種々のベースの組合せを用いてよい。座薬の融点を上昇させる薬剤には、スペルマセティ及びワックスが含まれる。直腸用座薬は、圧縮法又はモールドイングによって調製してよい。直腸用座薬の典型的な質量は、例として限定なく、約2~3gmである。

#### 【0192】

直腸投与のための錠剤及びカプセルは、経口投与のための製剤と同じ薬学的に許容される物質を用いて同じ方法によって製造される。

#### 【0193】

##### 部品のキット

本発明は、HIV感染患者への同時、個別、連続的投与のための部品のキットを含む。キットは、本発明の医薬組成物のいずれかとHIV阻害剤とを含み得る。

#### 【0194】

部品のキットは、少なくとも1~200mg、5~160mg、10~80mg、又は20~40mgのグラチラマー酢酸塩を含み得る。好ましくは、部品のキットは、少なくとも1~5、5~10、10~20、20~40、40~60、60~80、80~100、100~120、120~140、又は140~160mgのグラチラマー酢酸塩を含む。好ましくは、部品のキットは、少なくとも1、5、10、20、40、60、80、100、120、140、又は160mgのグラチラマー酢酸塩を含む。具体的に列挙してはいないが、全ての値及び上記範囲内にある部分範囲は、明確に書き出されているかのように具体的に含まれている。

#### 【0195】

好ましくは、部品のキットは、以下に列挙したHIV阻害剤の少なくとも1つ、2つ、3つ、又は4つを含む。最も好ましくは、部品のキットは、以下に列挙した併用抗レトロウイルス治療の少なくとも1つを含む。

#### 【0196】

##### HIV阻害剤

侵入阻害剤(又は融合阻害剤)は、いくつかの標的のうち1つをブロックすることによって、宿主細胞へのHIV-1の結合、融合、及び侵入を妨害する(Wikipedia)。マラビロクはヒトヘルパーT細胞の上に存在する共受容体であるCCR5を標的とすることによって働く。エンフビルチドは注射しなければならないペプチド薬であり、HIVのgp41のN末端ヘプタッドリピートと相互作用して不活性なヘテロ6ヘリックスバンドルを形成することによって作用し、それにより宿主細胞の感染を防止する。

#### 【0197】

ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤(NRTI)及びヌクレオチド逆転写酵素阻害剤(NtRTI)は、逆転写を阻害するヌクレオシド及びヌクレオチドのアナログである。NRTIの例には、ジドブジン、アバカビル、ラミブジン、エムトリシタビン、及びテノフォビルが含まれる。

#### 【0198】

非ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤(NNRTI)は、酵素のアロステリック部位に結合することによって、逆転写酵素を阻害する。第1世代のNNRTIにはネビラピン及びエファビレンズが含まれる。第2世代のNNRTIにはエトラピリン及びリルピピリンが含まれる。

#### 【0199】

インテグラーゼ阻害剤(インテグラーゼ核ストランドトランスファー阻害剤又はINSTIとしても知られている)は、ウイルス酵素のインテグラーゼを阻害する。インテグラーゼ阻害剤にはラルテグラビル、エルビテグラビル、及びドルテグラビルが含まれる。

#### 【0200】

プロテアーゼ阻害剤は宿主の膜からの出芽に際して成熟ビリオンを産生するために必要

10

20

30

40

50

なウイルスのプロテアーゼ酵素をブロックする。HIVプロテアーゼ阻害剤の例は、ロピナビル、インジナビル、ネルフィナビル、アムプレナビル、リトナビル、ダルナビル、及びアタザナビルである。

【0201】

成熟阻害剤はgagに結合することにより同様の効果を有し、ベビリマト及びビベコンを含む。

【0202】

併用抗レトロウイルス治療(cART)は、少なくとも2つ、好ましくは3つ以上の異なったクラスの抗レトロウイルス治療の混合である。本明細書で特定した抗レトロウイルス治療の全ての異なった組合せが、具体的に意図されている。cARTの例には、

コンビビル:ラミブジン+ジドブジン

カレトラ:ロピナビル+リトナビル

トリジビル:アバカビル+ラミブジン+ジドブジン

エブジコム(米国)/キベキサ(欧州及びロシア):アバカビル+ラミブジン

トルバダ:テノフォビルジソプロキシルフマレート+エムトリシタピン

アトリプラ:エムトリシタピン+テノフォビルジソプロキシルフマレート+エファビレンズ

コンプレラ(米国)/エビプレラ(欧州及びロシア):エムトリシタピン+リルビピリン+テノフォビルジソプロキシルフマレート

ストリビルド:エルビテグラビル+コビシスタート+エムトリシタピン+テノフォビルジソプロキシルフマレート

トリウムク:アバカビル+ドルテグラビル+ラミブジン

エボタズ:アタザナビル+コビシスタート

プレスコピクス:ダルナビル+コビシスタート

ゾトレビス:ラミブジン+ラルテグラビル

ゲンボヤ:エルビテグラビル+コビシスタート+エムトリシタピン+テノフォビルアラフェナミドフマレート

デスコビ:エムトリシタピン+テノフォビルアラフェナミドフマレート

が含まれる。

【0203】

Rev阻害剤は、HIVの複製に必要なウイルスRNAの生物学的発生を妨害する。Rev阻害剤は、ウイルスの3つの構造タンパク質をコードするmRNAの5'末端においてキャップ結合複合体に結合することによって機能し得る。HIV RNAのスプライシングを促進することによって、これらの阻害剤はゲノムRNAのレベルを低減させ、HIVの複製を阻害することができる。

【0204】

好ましい化合物は、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第9,145,367号及び第9,061,999号に見出すことができる。特に好ましい化合物は、参照により本明細書に組み込まれるCamposら、Retrovirology (2015年) 12:30に説明されている10-クロロ-2,6-ジメチル-2H-ピリド[3',4':4,5]ピロロ[2,3-g]イソキノリン(IDC16)、8-クロロ-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)キノリン-2-アミン(ABX464)及び8-クロロ-N-グルクロニド-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)キノリン-2-アミン(ABX464-N-グルクロニド)化合物である。

【0205】

特に好ましい化合物は式:

【0206】

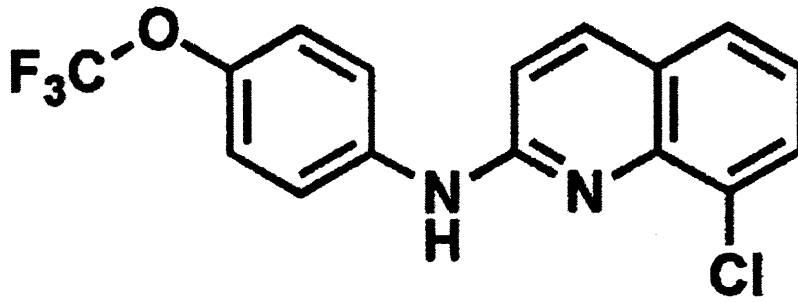
10

20

30

40

## 【化1】



10

## 【0207】

を有する。

## 【0208】

上記の組成物、方法、及び使用の種々の実施形態では、化合物は、NK細胞マーカー、ホーミング受容体、サイトカイン受容体、並びに/又は実施例及び図面で開示したエフェクター表現型マーカーの1つ又は複数を発現するHLA-E拘束性CD8 T細胞の活性化及び/又は増加を誘起し得る。

20

## 【実施例】

## 【0209】

HLA-E拘束性CD8 T細胞は非病原性SIV感染において増加する

AGMにおけるAIDSに対する保護に關与している因子を探索するため、AGMにおける非病原性SIV感染の間の免疫応答を、マカクにおける病原性感染における免疫応答と比較した。全部で12匹の動物を追跡した。本発明者らは、AGMではSIV感染に反応してHLA-E拘束性CD8 T細胞が増殖することを発見した(図1及び図2)。AGMとは対照的に、SIVに慢性感染したマカクでは非常に低いレベルのこれらの細胞が観察され、一方、両方の種の健全な動物では同様のレベルが見出された(図1)。

30

## 【0210】

HLA-E拘束性CD8 T細胞の表現型マーカー及び分子マーカー

多色フローサイトメトリーによって、12匹の動物からのこれらの細胞の表現型を特徴解析した。これにより、これらのHLA-E拘束性CD8 T細胞はエフェクター表現型であることが明らかになった。更に、これらはいくつの特徴、即ちNK細胞様マーカー(たとえばNKG2A及びNkp80)、ホーミング受容体(たとえばCXCR3、CD161、CCR7、CD62L、CXCR5)、サイトカイン受容体(IL-15Ra)の発現を示した(図12)。したがって、リンパ節ホーミングマーカーに加えて、これらは腸細胞に典型的なマーカー(CD161)も発現した。AGMと比較すると、SIV感染マカクからのHLA-E拘束性CD8 TはCXCR5を発現しない又は非常に低いレベルのCXCR5を発現した(図示せず)。CXCR5はB及びTリンパ球をリンパ様組織のB細胞濾胞に方向付けるので(Crotty、2014;Cysterら、2000)、この結果はAGMのHLA-E拘束性CD8 T細胞が主要なウイルスリザーバーの部位に移動することができることを示しており、極めて重要である(Brenchleyら、2012; Lindqvistら、2012; Petrovasら、2012)。

40

## 【0211】

細胞は他のHLA-E拘束性CD8 T細胞といくつかの特徴を共有していた(Joostenら、2016)が、それらが同じか否かは明確でない。これらの細胞をより深く特徴解析するため、全ゲノムトランスクリプトーム解析を行ない、4匹の動物でのRNAseqによって、他のより古典的なCD8 T細胞と比較してこれらの細胞中で発現した全範囲の遺伝子を決定した(図3)。ゲノムデータの統計的解析には、高度に厳しい基準を適用した。RNAseq解析により、AGMで増殖したHLA-E拘束性CD8 T細胞は、まさに多くのNK細胞マーカー(KIR2DL4、KIR3DL4、KIR3DL7、NKG2A/C、NKG7等)、並びに更なるホーミング受容体、たとえばCXCR6、及びサイト

50



カイン受容体、たとえばIL12R、IL23Rを発現していることが明らかになった。注目すべきことに、これらはグランザイムA及びB並びにパーフォリン等の細胞溶解性顆粒も発現しており、したがって定常的に殺滅の用意があると思われる。実際に、分子プロファイルはこれらの細胞が特定の代謝状態にあることを示しており(LAMTOR1、CD73)、ここでは細胞はそのエフェクター機能のためにエネルギーにあまり依存していないであろう。

#### 【0212】

非病原性SIV感染の間、組織中で早期にHLA-E拘束性CD8 T細胞が誘起される

病原性及び非病原性SIV感染におけるHLA-E拘束性CD8 T細胞の役割及び相対的寄与に対処するために、AGM及びマカクの血液、リンパ節、及び直腸生検における極めて緊密な動力学においてこれらの細胞を追跡した。AGMの血液では、感染初期の急性期の間のこれらの細胞の過渡的な枯渇及びそれに続くウイルスの設定点(感染後35日)でピークに達する増加が観察された(図2A)。増加は腸で更により顕著であり、ここでは感染後9日目でリンパ球様細胞の10%までを示し(図2C)、血液中で早期に観察された枯渇はこれらの細胞の再局在化によるとの仮説が導かれた。マカクでは、SIV感染の全過程の間に血液及び組織中で極めて低いレベルのHLA-E拘束性CD8 T細胞が検出された(図2C)。

10

#### 【0213】

HLA-E拘束性CD8 T細胞は、非病原性感染においてより高頻度でCD69を発現した(図4A)。これらはインビボにおける細胞溶解性分子(CD107a、パーフォリン)の存在によって測定されるエフェクター表現型を示し(図4B及び図4C)、インサイチュにおける強い細胞溶解活性の可能性を更に支持していた。

20

#### 【0214】

HIV/SIVの優先的標的細胞は、HIVの動物モデルにおいて最高レベルのHLA-Eを発現する

HIV及びSIVの標的細胞、即ちCD4 T細胞におけるHLA-Eの発現を定量した。ヒトについて報告されたものと同様に、HLA-Eはサルの $T_{FH}$ 細胞において強く発現した(図5)。注目すべきこととして、レベルは評価した他のいずれのCD4 T細胞におけるよりも高く、 $T_{CM}$ におけるよりも高かった。これは、MHC-E拘束性CD8 T及びNK細胞によって特に $T_{FH}$ 細胞が認識され、殺滅される可能性があり得ることを示している。

#### 【0215】

HSP60遺伝子の発現はマカクCD4細胞中でのみ持続する

HIV感染はインビトロにおけるウイルスペプチドのHLA-Eへの結合によってHLA-Eの発現の増大を誘起する一方、インビボではHLA-Eは感染によってストレスを受けている可能性があるHIVの標的細胞中のストレスタンパク質HSP60に結合することも可能である(Anrakuら、2012; Wallinら、2002)。HIV感染細胞は実際にHSP60を産生することが示されている(Bartzら、1994)。本発明者らは以前にマイクロアレイ技術によってAGM及びマカクの血液及びリンパ節のCD4細胞におけるHSP60遺伝子の発現を測定した(Jacquelinら、2009)。HSP60はAGMとマカクの両方においてSIV感染に応答して直ちに上方調節されるが、AGMではレベルが低い(図6)。AGMでは感染後6~14日目でHSP60遺伝子の発現は徐々に弱くなり、ベースラインレベルに戻ったが、マカクではこれは持続したままであった。血液及びリンパ節で同様のプロファイルが観察された。したがって、病原性感染における感染細胞は非病原性感染におけるよりも高い頻度でHLA-Eを介して他のペプチドの代わりにHSP60を提示し、病原性及び非病原性感染の間にHLA-E拘束性CD8 T及びNK細胞によって異なって認識されるであろう。更に、HLA-E拘束性CD8 T及びNK細胞は病原性感染においては低いレベルでのみ存在する。

30

40

#### 【0216】

SIV慢性感染マカクのGA処置は血液中のHLA-E拘束性CD8 T細胞及びCD4 T細胞の過渡的増加を誘起する

本発明者らは、HIV/SIVの病原性感染においてHLA-E拘束性リンパ球を誘起することができるか、またこれがウイルスリザーバーの制御に影響を与えるかを検討することを目的とした。パイロット研究において、2匹のSIVmac慢性感染マカクを短期間、GAで処置した。サルにおける薬物の薬物動態学的及び薬力学的研究のデータ(Ramotら、2011b; TEITELBAUM

50

ら、2004)に基づいて、SIVに2年間感染していた2匹のマカクに、18mgのGAを週3回、2週間にわたって注射した。これら2匹のマカクは進行した感染段階にあった(<200 CD4 T細胞/m<sup>3</sup>) (図7A)。これら2匹の動物から2か月にわたりGA処置の間及びその後2~7日ごとに試料を採取し、組織を検査するためにこれらを屠殺した。

【0217】

GAの投与により、HLA-E拘束性CD8 T細胞数が増加する(図7C)一方、古典的CD8 T細胞集団については大きな効果は観察されなかった(図7B)。

【0218】

GAの注射によって、処置の間、CD4 T細胞の増加も導かれる(図7A)。処置を中断した後、3週間まで、メモリーCD4 T細胞サブセットの変調が観察された。T<sub>CM</sub>は過渡的に増加した一方、T<sub>TM</sub>は持続的に減少した(図8)。

【0219】

CD4 T細胞上のHLA-Eの発現を検討した。1匹の動物ではHLA-Eは処置の前に既に極めて高く、高いままであった(図7D)。疾患が最も進行した動物は処置の前にHLA-Eを発現しておらず、GA処置によってCD4 T細胞の表面上でHLA-Eレベルを増加させることができ、この動物ではレベルは処置を中断した後でも増加し続けた。

【0220】

GA処置により、経時的に持続するウイルス負荷の減少が誘起される

GA処置の最も著しい影響は、ウイルス負荷に対するものである(図9)。処置の間、血液中のウイルス負荷の1ログの減少が観察された。更により顕著なことに、1匹の動物ではこの減少は処置を中止した後も持続し、ほとんど2ログの減少に達した。cARTを中止するとウイルス負荷が急速にリバウンドする(Harriganら、1999)ので、これはcARTと比較して大きな成果である。

【0221】

更に、この減少は、古典的CD8 T細胞と正に相関し、HLA-E拘束性CD8 T細胞と逆相関したことから(図9)、GA処置下でウイルスの制御において役割を果たしている細胞はHLA-E拘束性CD8 T細胞であって他の細胞傷害性CD8 T細胞ではないという仮説を支持している。

【0222】

本発明者らは、最近記載されたマーカー(Descoursら、2017)を用いて、潜在的感染細胞のプールも定量した。その結果は、大部分の潜在感染細胞(CD32a<sup>high</sup>CD4 T)はHLA-Eを発現し(マカクで80%)、GA処置はHLA-Eを発現するCD32a<sup>high</sup>CD4 T細胞を標的としていることを示し、本発明者らの仮説と一致して処置はHLA-E発現細胞の枯渇を優先的に誘起したことを示唆している(図10)。

【0223】

GA処置後の組織におけるメモリーCD4 T細胞の減少

安楽死の際の組織の研究により、HLA-E拘束性CD8 T細胞の最大の割合を有する部位は脾臓及び小腸(回腸及び空腸)であることが示された(図11)。興味深いことに、これらはHIV標的細胞(メモリーCD4 T細胞)の特に低い割合を示す同じ部位であった。この結果は、HLA-E拘束性CD8 T細胞が組織中の感染細胞を標的とすることができるという考えを助けるものである。更に、GAで処置された動物において、腸内のHLA-E拘束性CD8 T細胞のレベルは、AGMにおけるレベルと同程度か、又はこれより更に高いレベルに達していた(図11)。したがって、小腸におけるリザーバー細胞の制御はAIDSに対する保護に向けての最初のステップであろう。腸管組織は体内のHIV感染細胞の83~95%を隠しており、その部分のいくつか、たとえば回腸はcARTを行なっている患者において複製が進行している部位であると思われる(Wong及びYuki、2016)ので、腸管におけるウイルスの制御はまさに病原性への鍵となる。

【0224】

GA処置の後のHLA-E拘束性CD8 T細胞及びNK細胞の細胞傷害活性の増大

CD107aの頻度によって示されるように、処置の間及びその後50日まで、GAはHLA-E拘束性CD8 T細胞の細胞傷害活性だけでなく、HLA-E拘束性(NKG2A/C+)NK細胞の細胞傷害活性の

10

20

30

40

50

増大も誘起する(図13)。更に、GAで処置したマカクにおける約25日目のHLA-E拘束性CD8 T細胞及びNK細胞の細胞傷害活性の急速な増大(CD107aの60%対20%、図13C及び図13D)は、図9Aに示す約+25日目に始まるSIVウイルス負荷の急速な低下と相関している。  
(参考文献)

Allers, K.; Hutter, G.; Hofmann, J.; Loddenkemper, C.; Rieger, K.; Thiel, E.; Schneider, T. (2011). "Evidence for the cure of HIV infection by CCR5 32/ 32 stem cell transplantation". *Blood*. **117** (10): 2791–2799. 10

Anraku, I., Rajasuriar, R., Dobbin, C., Brown, R., Lewin, S.R., and Suhrbier, A. (2012). Circulating Heat Shock Protein 60 Levels Are Elevated in HIV Patients and Are Reduced by Anti-Retroviral Therapy. *PLOS ONE* **7**, e45291.

Arlettaz, L., Villard, J., de Rham, C., Degermann, S., Chapuis, B., Huard, B., and Roosnek, E. (2004). Activating CD94:NKG2C and inhibitory CD94:NKG2A receptors are expressed by distinct subsets of committed CD8+ TCR  $\alpha\beta$  lymphocytes. *Eur. J. Immunol.* **34**, 3456–3464. 20

Banga, R., Procopio, F.A., Noto, A., Pollakis, G., Cavassini, M., Ohmiti, K., Corpataux, J.-M., de Leval, L., Pantaleo, G., and Perreau, M. (2016). PD-1+ and follicular helper T cells are responsible for persistent HIV-1 transcription in treated aviremic individuals. *Nat Med* **22**, 754–761.

Bartz, S.R., Pauza, C.D., Ivanyi, J., Jindal, S., Welch, W.J., and Malkovsky, M. (1994). An Hsp60 related protein is associated with purified HIV and SIV. *J. Med. Primatol.* **23**, 151–154. 30

Brenchley, J.M., Vinton, C., Tabb, B., Hao, X.P., Connick, E., Paiardini, M., Lifson, J.D., Silvestri, G., and Estes, J.D. (2012). Differential infection patterns of CD4+ T cells and lymphoid tissue viral burden distinguish progressive and nonprogressive lentiviral infections. *Blood* **120**, 4172–4181.

Brochet B. Long term effects of glatiramer acetate in multiple sclerosis. *Rev Neurol (Paris)*. 2008 Nov;164(11):917-26. doi: 10.1016/j.neurol.2008.02.045.

Buranapraditkun, S., Pissani, F., Teigler, J.E., Schultz, B.T., Alter, G., Marovich, M., Robb, M.L., Eller, M.A., Martin, J., Deeks, S., et al. (2017). Preservation of peripheral T follicular helper cell function in HIV controllers. *J. Virol*. 2017. pii: JVI.00497-17. doi: 10.1128/JVI.00497-17.

Calin, R., Hamimi, C., Lambert-Niclot, S., Carcelain, G., Bellet, J., Assoumou, L., Tubiana, R., Calvez, V., Dudoit, Y., Costagliola, D., et al. (2016). Treatment interruption in chronically HIV-infected patients with an ultralow HIV reservoir. *AIDS* 30.

Cartwright, E.K., McGary, C.S., Cervasi, B., Micci, L., Lawson, B., Elliott, S.T.C., Collman, R.G., Bosinger, S.E., Paiardini, M., Vanderford, T.H., et al. (2014). Divergent CD4<sup>+</sup> T Memory Stem Cell Dynamics in Pathogenic and Nonpathogenic Simian Immunodeficiency Virus Infections. *J. Immunol*. 192, 4666.

Chahroudi, A., Bosinger, S.E., Vanderford, T.H., Paiardini, M., and Silvestri, G. (2012). Natural SIV hosts: showing AIDS the door. *Science* 335, 1188–1193.

Chomont, N., El-Far, M., Ancuta, P., Trautmann, L., Procopio, F.A., Yassine-Diab, B., Boucher, G., Boulassel, M.-R., Ghattas, G., Brenchley, J.M., et al. (2009). HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation. *Nat Med* 15, 893–900.

Chun, T.-W., Moir, S., and Fauci, A.S. (2015). HIV reservoirs as obstacles and opportunities for an HIV cure. *Nat Immunol* 16, 584–589.

Crotty, S. (2014). T Follicular Helper Cell Differentiation, Function, and Roles in Disease. *Immunity* 41, 529–542.

Davey, R.T., Bhat, N., Yoder, C., Chun, T.-W., Metcalf, J.A., Dewar, R., Natarajan, V., Lempicki, R.A., Adelsberger, J.W., Miller, K.D., et al. (1999). HIV-1 and T cell dynamics after interruption of highly active antiretroviral therapy (HAART) in patients with a history of sustained viral suppression. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96, 15109–15114.

Descours, B., Avettand-Fenoel, V., Blanc, C., Samri, A., Melard, A., Supervie, V., Theodorou, I., Carcelain, G., Rouzioux, C., and Autran, B. (2012). Immune responses driven by protective human leukocyte antigen alleles from long-term nonprogressors are associated with low HIV reservoir in central memory CD4 T cells. *Clin Infect Dis* 54,

10

20

30

40

1495–1503.

Descours B, Petitjean G, López-Zaragoza JL, Bruel T, Raffel R, Psomas C, Reynes J, Lacabaratz C, Levy Y, Schwartz O, Lelievre JD, Benkirane M. CD32A is a marker of a CD4 T-cell HIV reservoir harbouring replication-competent proviruses. *Nature*. 2017 Mar 23;543(7646):564-567. doi: 10.1038/nature21710. Epub 2017 Mar 15.

Devaraj, S., Dasu, M.R., Park, S.H., and Jialal, I. (2009). Increased levels of ligands of Toll-like receptors 2 and 4 in type 1 diabetes. *Diabetologia* 52, 1665–1668. 10

Fukazawa, Y., Lum, R., Okoye, A.A., Park, H., Matsuda, K., Bae, J.Y., Hagen, S.I., Shoemaker, R., Deleage, C., Lucero, C., et al. (2015). B cell follicle sanctuary permits persistent productive simian immunodeficiency virus infection in elite controllers. *Nat Med* 21, 132–139.

Garcia-Tellez, T., Huot, N., Ploquin, M.J., Rascle, P., Jacquelin, B., and Müller-Trutwin, M. (2016). Non-human primates in HIV research: Achievements, limits and alternatives. *Infect. Genet. Evol.* 46, 324–332. 20

Gong, F., Song, S., Lv, G., Pan, Y., Zhang, D., and Jiang, H. (2012). Human leukocyte antigen E in human cytomegalovirus infection: friend or foe? *Acta Biochim. Biophys. Sin.* 44, 551–554.

Gueye, A., Diop, O.M., Ploquin, M.J.Y., Kornfeld, C., Faye, A., Cumont, M.-C., Hurtrel, B., Barré-Sinoussi, F., and Müller-Trutwin, M.C. (2004). Viral load in tissues during the early and chronic phase of non-pathogenic SIVagm infection. *J. Med. Primatol.* 33, 83–97. 30

Hansen, S.G., Wu, H.L., Burwitz, B.J., Hughes, C.M., Hammond, K.B., Ventura, A.B., Reed, J.S., Gilbride, R.M., Ainslie, E., Morrow, D.W., et al. (2016). Broadly targeted CD8<sup>+</sup> T cell responses restricted by major histocompatibility complex E. *Science* 351, 714.

He, R., Hou, S., Liu, C., Zhang, A., Bai, Q., Han, M., Yang, Y., Wei, G., Shen, T., Yang, X., et al. (2016). Follicular CXCR5-expressing CD8(+) T cells curtail chronic viral infection. *NATURE* 537, 412+. 40

Huot N, Jacquelin B, Garcia-Tellez T, Rascle P, Ploquin M, Madec Y, Reeves RK, Derreudre-Bosquet N & Müller-Trutwin M. NK cells migrate into and control SIV replication in lymph node follicles in African green monkeys. *Nat Med*. 2017 Nov;23(11):1277-1286.

Hutter, G., Nowak, D., Mossner, M., Ganepola, S., Mussig, A., Allers, K., Schneider, T., Hofmann, J., Kucherer, C., Blau, O., et al. 2009 Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med* **360**, 692-698.

Jacquelin, B., Mayau, V., Targat, B., Liovat, A.S., Kunkel, D., Petitjean, G., Dillies, M.A., Roques, P., Butor, C., Silvestri, G., et al. (2009). Nonpathogenic SIV infection of African green monkeys induces a strong but rapidly controlled type I IFN response. *J Clin Invest* *119*, 3544–3555. 10

Jacquelin B., G. Petitjean, D. Kunkel, A-S. Liovat, S.P. Jochems, K.A. Rogers, M.J. Ploquin, F. Barré-Sinoussi, N. Dereuddre-Bosquet, P. Lebon, R. Le Grand, F. Villinger & M. Müller-Trutwin. Innate Immune Responses and Rapid Control of Inflammation in African Green Monkeys Treated or not with Interferon-Alpha during Primary SIVagm Infection. *PLoS Pathog.* 2014 Jul 3;10(7):e10042412014.

Jason G. Cyster, K. Mark Ansel, Karin Reif, Eric H. Ekland, Paul L. Hyman, H. Lucy Tang, Sanjiv A. Luther, and Vu N. Ngo (2000). Follicular stromal cells and lymphocyte homing to follicles. *Immunol. Rev.* *176*, 181–193. 20

Jiang, H., Canfield, S.M., Gallagher, M.P., Jiang, H.H., Jiang, Y., Zheng, Z., and Chess, L. (2010). HLA-E–restricted regulatory CD8+ T cells are involved in development and control of human autoimmune type 1 diabetes. *J. Clin. Invest.* *120*, 3641–3650.

Joosten, S.A., Sullivan, L.C., and Ottenhoff, T.H.M. (2016). Characteristics of HLA-E Restricted T-Cell Responses and Their Role in Infectious Diseases. *J. Immunol. Res.* 30

Kim, H.-J., Verbinnen, B., Tang, X., Lu, L., and Cantor, H. (2010). Inhibition of follicular T-helper cells by CD8(+) regulatory T cells is essential for self tolerance. *NATURE* *467*, 328–U107.

Kim, H.-J., Wang, X., Radfar, S., Sproule, T.J., Roopenian, D.C., and Cantor, H. (2011). CD8+ T regulatory cells express the Ly49 Class I MHC receptor and are defective in autoimmune prone B6-Yaa mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *108*, 2010–2015.

Lee, N., Goodlett, D.R., Ishitani, A., Marquardt, H., and Geraghty, D.E. (1998). HLA-E Surface Expression Depends on Binding of TAP-Dependent Peptides Derived from Certain HLA Class I Signal Sequences. *J. Immunol.* *160*, 4951. 40

Leong, Y.A., Chen, Y., Ong, H.S., Wu, D., Man, K., Deleage, C., Minnich, M.,

Meckiff, B.J., Wei, Y., Hou, Z., et al. (2016). CXCR5(+) follicular cytotoxic T cells control viral infection in B cell follicles. *Nat. Immunol.* *17*, 1187+.

Lindqvist, M., van Lunzen, J., Soghoian, D.Z., Kuhl, B.D., Ranasinghe, S., Kranias, G., Flanders, M.D., Cutler, S., Yudanin, N., Muller, M.I., et al. (2012). Expansion of HIV-specific T follicular helper cells in chronic HIV infection. *J Clin Invest* *122*, 3271–3280.

Long, X., Cheng, Q., Liang, H., Zhao, J., Wang, J., Wang, W., Tomlinson, S., Chen, L., Atkinson, C., Zhang, B., et al. (2017). Memory CD4(+) T cells are suppressed by CD8(+) regulatory T cells in vitro and in vivo. *Am. J. Transl. Res.* *9*, 63–78. 10

Lorenzo-Redondo, R., Fryer, H.R., Bedford, T., Kim, E.-Y., Archer, J., Pond, S.L.K., Chung, Y.-S., Penugonda, S., Chipman, J., Fletcher, C.V., et al. (2016). Persistent HIV-1 replication maintains the tissue reservoir during therapy. *Nature* *530*, 51–56.

Lu, L., and Cantor, H. (2008). Generation and Regulation of CD8+ Regulatory T Cells. *Cell Mol Immunol* *5*, 401–406. 20

Massanella, M., Fromentin, R., and Chomont, N. (2016). Residual inflammation and viral reservoirs: Alliance against an HIV cure. *Curr Opin HIV AIDS* *11*, 234–241.

Michaëlsson, J., Teixeira de Matos, C., Achour, A., Lanier, L.L., Kärre, K., and Söderström, K. (2002). A Signal Peptide Derived from hsp60 Binds HLA-E and Interferes with CD94/NKG2A Recognition. *J. Exp. Med.* *196*, 1403.

Miles, B., and Connick, E. (2016a). TFH in HIV Latency and as Sources of Replication-Competent Virus. *Spec. Issue Microb. Endur.* *24*, 338–344. 30

Miles, B., Miller, S.M., Folkvord, J.M., Levy, D.N., Rakasz, E.G., Skinner, P.J., and Connick, E. (2016b). Follicular Regulatory CD8 T Cells Impair the Germinal Center Response in SIV and Ex Vivo HIV Infection. *PLOS Pathog.* *12*, e1005924.

Moukambi, F., Rodrigues, V., Fortier, Y., Rabazanahary, H., Borde, C., Krust, B., Andreani, G., Silvestre, R., Petrovas, C., Laforge, M., et al. (2017). CD4 T Follicular Helper Cells and HIV Infection: Friends or Enemies? *Front. Immunol.* *8*, 135.

Nattermann, J., Nischalke, H., Hofmeister, V., Kupfer, B., Ahlenstiel, G., Feldmann, G., Rockstroh, J., Weiss, E., Sauerbruch, T., and Spengler, U. (2005). HIV-1 infection leads to increased HLA-E expression resulting in impaired function of natural killer cells. *Antivir. Ther.* *10*, 95–107. 40

Paiardini, M., Cervasi, B., Reyes-Aviles, E., Micci, L., Ortiz, A.M., Chahroudi, A., Vinton, C., Gordon, S.N., Bosinger, S.E., Francella, N., et al. (2011). Low levels of SIV infection in sooty mangabey central memory CD(4)(+) T cells are associated with limited CCR5 expression. *Nat. Med.* *17*, 830–836.

Petrovas, C., Yamamoto, T., Gerner, M.Y., Boswell, K.L., Wloka, K., Smith, E.C., Ambrozak, D.R., Sandler, N.G., Timmer, K.J., Sun, X., et al. (2012). CD4 T follicular helper cell dynamics during SIV infection. *J Clin Invest* *122*, 3281–3294. 10

Ploquin, M.J., Silvestri, G., and Müller-Trutwin, M. (2016). Immune activation in HIV infection: what can the natural hosts of simian immunodeficiency virus teach us? *Curr. Opin. HIV AIDS* *11*.

Ramot, Y., Rosenstock, M., Klinger, E., Bursztyn, D., Nyska, A., and Shinar, D.M. (2011a). Comparative Long-Term Preclinical Safety Evaluation of Two Glatiramide Compounds (Glatiramer Acetate, Copaxone®, and TV-5010, Protiramer) in Rats and Monkeys. *Toxicol. Pathol.* *40*, 40–54. 20

Saez-Cirion, A., Bacchus, C., Hocqueloux, L., Avettand-Fenoel, V., Girault, I., Lecuroux, C., Potard, V., Versmisse, P., Melard, A., Prazuck, T., et al. (2013). Post-treatment HIV-1 controllers with a long-term virological remission after the interruption of early initiated antiretroviral therapy ANRS VISCONTI Study. *PLoS Pathog* *9*, e1003211.

Saez-Cirion, A., Jacquelin, B., Barre-Sinoussi, F., and Muller-Trutwin, M. (2014). Immune responses during spontaneous control of HIV and AIDS: what is the hope for a cure? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* *369*, 20130436. 30

Shamaei-Tousi, A., Stephens, J.W., Bin, R., Cooper, J.A., Steptoe, A., Coates, A.R.M., Henderson, B., and Humphries, S.E. (2006). Association between plasma levels of heat shock protein 60 and cardiovascular disease in patients with diabetes mellitus. *Eur. Heart J.* *27*, 1565–1570.

Sinha, S., Itani, F.R., and Karandikar, N.J. (2014). Immune regulation of multiple sclerosis by CD8+ T cells. *Immunol. Res.* *59*, 254–265. 40

Sinha, S., Boyden, A.W., Itani, F.R., Crawford, M.P., and Karandikar, N.J. (2015). CD8+ T-Cells as Immune Regulators of Multiple Sclerosis. *Front. Immunol.* *6*, 619.

TEITELBAUM, D., AHARONI, R., KLINGER, E., KREITMAN, R., RAYMOND, E., MALLEY, A., SHOFTI, R., SELA, M., and ARNON, R. (2004). Oral



Glatiramer Acetate in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis: Clinical and Immunological Studies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1029, 239–249.

Tennakoon, D.K., Mehta, R.S., Ortega, S.B., Bhoj, V., Racke, M.K., and Karandikar, N.J. (2006). Therapeutic Induction of Regulatory, Cytotoxic CD8<sup>+</sup> T Cells in Multiple Sclerosis. *J. Immunol.* 176, 7119.

Trono, D., Van Lint, C., Rouzioux, C., Verdin, E., Barré-Sinoussi, F., Chun, T.-W., and Chomont, N. (2010). HIV Persistence and the Prospect of Long-Term Drug-Free Remissions for HIV-Infected Individuals. *Science* 329, 174.

10

Wallin, R.P., Lundqvist, A., Moré, S.H., von Bonin, A., Kiessling, R., and Ljunggren, H.-G. (2002). Heat-shock proteins as activators of the innate immune system. *Trends Immunol.* 23, 130–135.

Wong, J.K., and Yukl, S.A. (2016). Tissue reservoirs of HIV. *Curr Opin HIV AIDS* 11, 362–370.

20

Yao, Y., Han, W., Liang, J., Ji, J., Wang, J., Cantor, H., and Lu, L. (2013). Glatiramer acetate ameliorates inflammatory bowel disease in mice through the induction of Qa-1-restricted CD8<sup>+</sup>regulatory cells. *Eur. J. Immunol.* 43, 125–136.

30

40

【 図 1 A 】

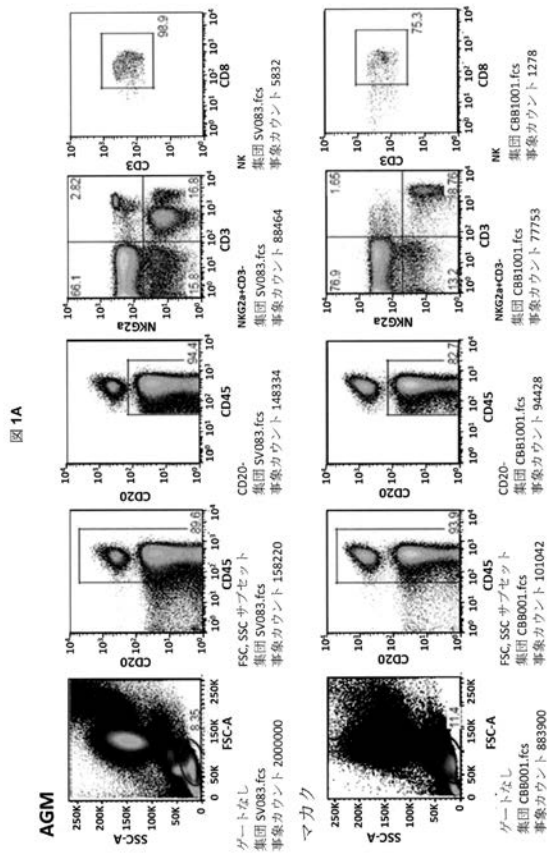
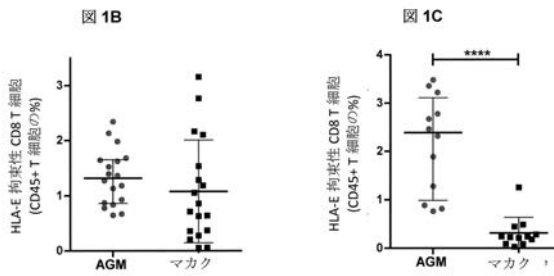
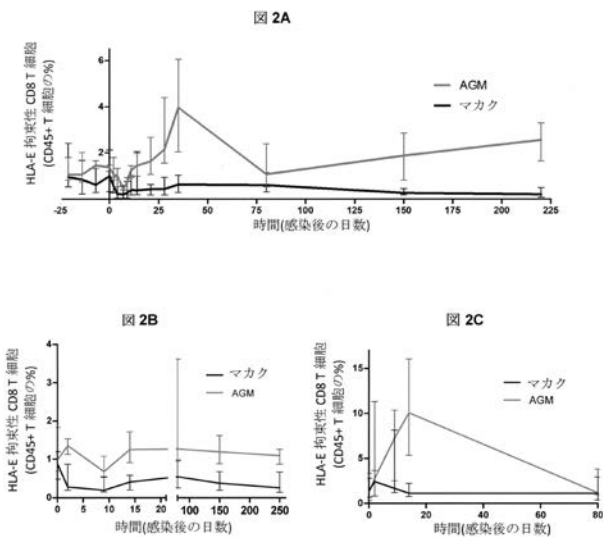


図 1A

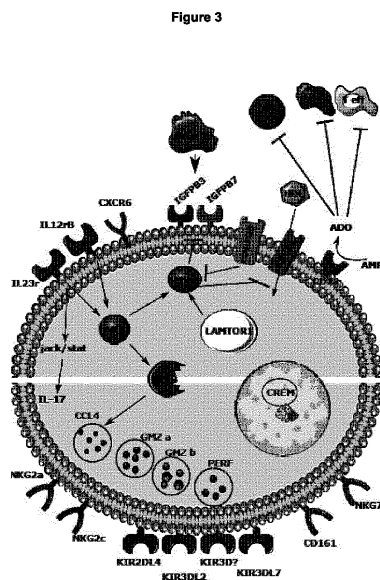
【 図 1 B C 】



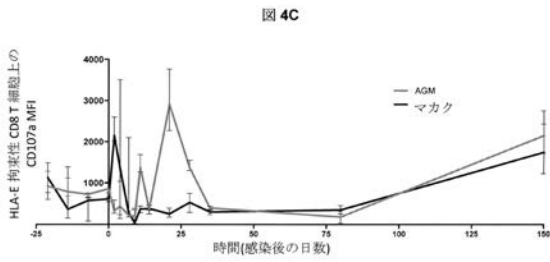
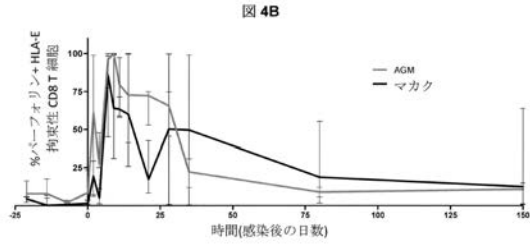
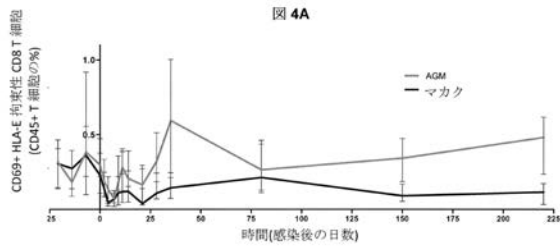
【 図 2 】



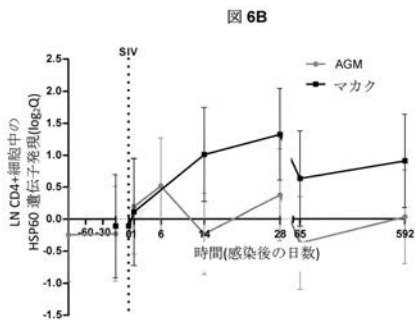
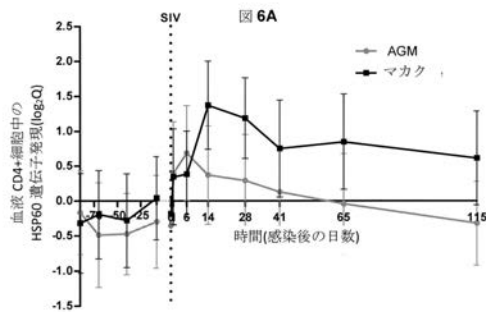
【 図 3 】



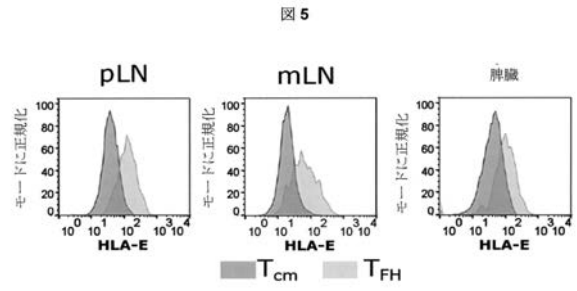
【 図 4 】



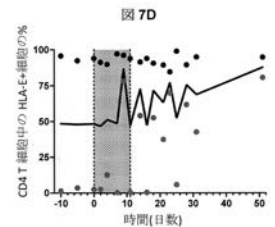
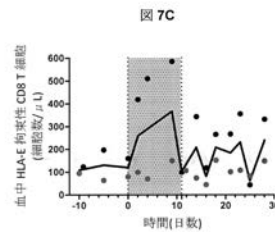
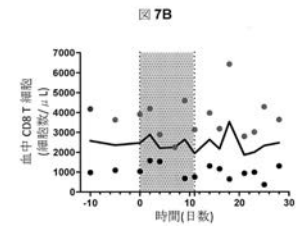
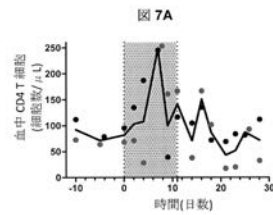
【 図 6 】



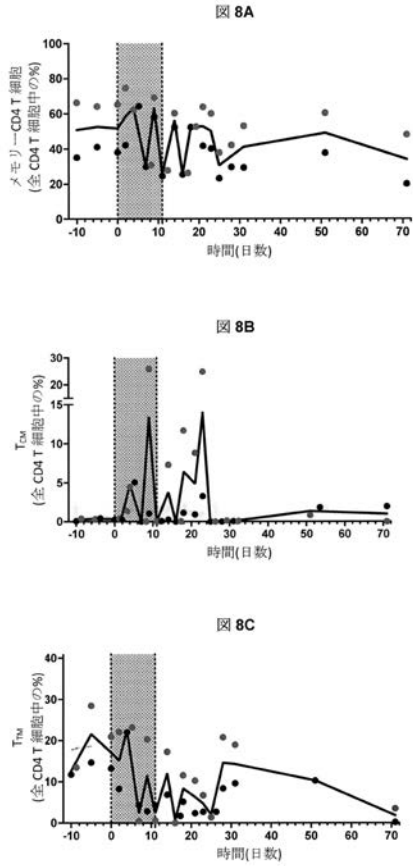
【 図 5 】



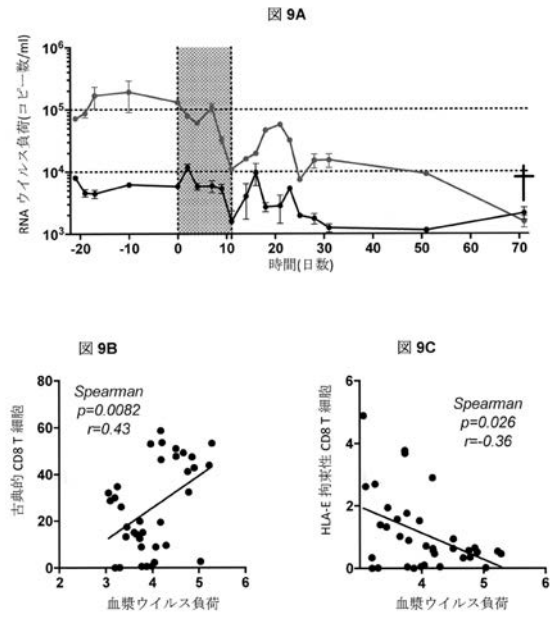
【 図 7 】



【 図 8 】

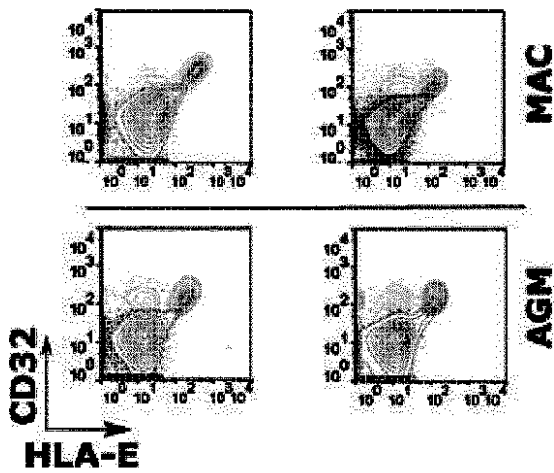


【 図 9 】



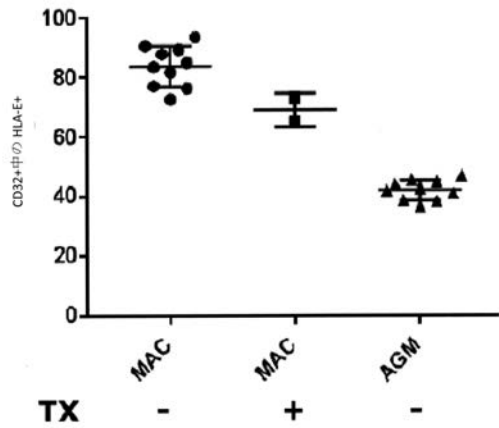
【 図 10 A 】

Figure 10A



【 図 10 B 】

図 10B



【 図 1 1 1 】

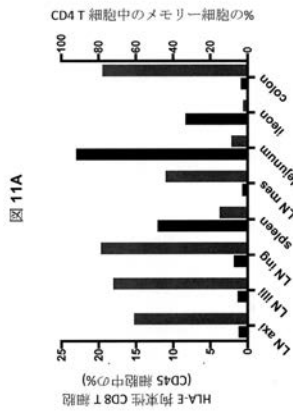


図 11A

【 図 1 2 】

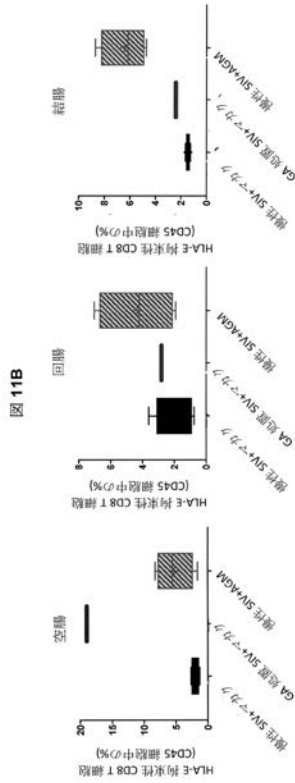


図 11B

図 12

T細胞		NK		ホーミング		その他	
CD45	+	CD45RA	+	CCR7	+	CD161	+
CD3	+	CD28	+	CD62L	低	CXCR5	+
CD20	+	CD8	+	CD21	低	CXCR3	高
CD8	+	CD95	+	CCR7	+	CXCR3	低
CD4	+	CD4	+	NK30	+	CXCR1	低
CD8	+	CD8	+	NK80	+	CD62L	低
CD20	+	CD95	+	NK30	+	CCR7	+
CD3	+	CD4	+	NK80	+	NK30	+
CD45	+	CD8	+	NK30	+	NK62A	+
		CD95	+	NK62A	+	CD45RA	+
		CD8	+	CD45RA	+	CD28	+
		CD20	+	CD28	+	CD95	+
		CD3	+	CD95	+	CD4	+
		CD4	+	CD4	+	CD8	+
		CD8	+	CD8	+	CD4	+
		CD95	+	CD8	+	CD95	+
		CD4	+	CD95	+	CD4	+
		CD8	+	CD4	+	CD8	+
		CD20	+	CD8	+	CD20	+
		CD3	+	CD20	+	CD3	+
		CD45	+	CD3	+	CD45	+

【 図 1 3 】

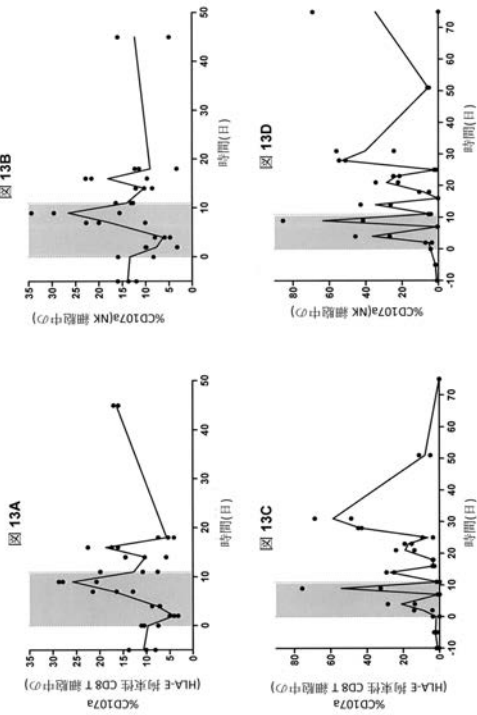


図 13A

図 13B

図 13C

図 13D

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2018/066998
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61K38/02 G01N33/50 A61P31/18 ADD.		
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) A61K G01N 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, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GORANTLA SANTHI ET AL: "Modulation of innate immunity by copolymer-1 leads to neuroprotection in murine HIV-1 encephalitis", GLIA, vol. 56, no. 2, January 2008 (2008-01), pages 223-232, XP055506917, ISSN: 0894-1491 Abstract, "HIVE mice", "Results"; pages 4, 5-7	1-93
Y	----- WO 2008/103471 A2 (UNIV COLUMBIA [US]; JIANG HONG [US]; CHESH LEONARD [US]) 28 August 2008 (2008-08-28) page 75, paragraph 1; claims ----- -/--	1-93
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> 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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
14 September 2018		26/09/2018
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  Langer, Astrid

1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2018/066998

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LETENDRE SCOTT ET AL: "Neurologic complications of HIV disease and their treatments.", TOPICS IN HIV MEDICINE : A PUBLICATION OF THE INTERNATIONAL AIDS SOCIETY, USA, vol. 14, no. 1, March 2006 (2006-03), pages 21-26, XP055507177, ISSN: 1542-8826 Abstract; page 24, column 2 -----	1-93
Y	WO 2016/196471 A1 (COOPER HUMAN SYSTEMS LLC [US]) 8 December 2016 (2016-12-08) claims -----	1-93
Y	BOURINBAIAR A S ET AL: "Therapeutic AIDS vaccines", CURRENT PHARMACEUTICAL DESIGN, vol. 12, no. 16, 2006, pages 2017-2030, XP055507187, ISSN: 1381-6128 Abstract; page 2024, column 3, paragraph 4 - page 2025, column 1, paragraph 2 -----	1-93
Y	JOOSTEN SIMONE A ET AL: "Characteristics of HLA-E Restricted T-Cell Responses and Their Role in Infectious Diseases", JOURNAL OFR IMMUNOLOGY RESEARCH, 2016, XP055507181, cited in the application the whole document -----	1-93
Y	DEEPANI K TENNAKON ET AL: "Therapeutic Induction of Regulatory, Cytotoxic CD8 + T Cells in Multiple Sclerosis", THE JOURNAL OF IMMUNO, THE AMERICAN ASSOCIATION OF IMMUNOLOGISTS, US, vol. 176, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 7119-7129, XP007917222, ISSN: 0022-1767 [retrieved on 2011-02-16] cited in the application the whole document -----	1-93

1

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2018/066998

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008103471 A2	28-08-2008	CA 2678493 A1	28-08-2008
		CN 101663047 A	03-03-2010
		CN 104189885 A	10-12-2014
		EP 2124988 A2	02-12-2009
		EP 2769731 A1	27-08-2014
		HK 1203349 A1	20-11-2015
		JP 2010519256 A	03-06-2010
		US 2010267622 A1	21-10-2010
		US 2013209498 A1	15-08-2013
		US 2017058034 A1	02-03-2017
		WO 2008103471 A2	28-08-2008
-----			
WO 2016196471 A1	08-12-2016	NONE	
-----			



## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
<b>A 6 1 K 9/08 (2006.01)</b>	A 6 1 K 9/08	
<b>A 6 1 K 45/06 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00 1 2 1	
	A 6 1 K 45/06	

(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

(72) 発明者 ニコラ・ウォット

フランス・9 5 1 7 0・ドゥイユ・ラ・パール・リュ・ジョルジュ・デサイイ・3 2

(72) 発明者 ベアトリス・ジャクリン

フランス・7 5 0 1 2・パリ・リュ・ドゥ・シャレントン・2 2 9

Fターム(参考) 4B063 QA01 QQ03 QQ58 QR08 QR62 QS25 QX02

4C076 AA11 BB16 CC35

4C084 AA01 AA02 AA17 AA20 BA44 MA17 MA22 MA23 MA35 MA37

MA41 MA43 MA52 MA66 NA05 NA14 ZB222 ZB331 ZB332 ZC551

ZC552 ZC751