

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2020-63261
(P2020-63261A)

(43) 公開日 令和2年4月23日(2020.4.23)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 38/19 (2006.01)	A 6 1 K 38/19	4 B 0 6 4
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68 Z N A	4 C 0 7 6
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Y	4 C 0 8 4
A 6 1 K 47/18 (2006.01)	A 6 1 K 47/18	4 C 0 8 5
A 6 1 K 47/22 (2006.01)	A 6 1 K 47/22	4 H 0 4 5

審査請求 有 請求項の数 1 O L 外国語出願 (全 30 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-216623 (P2019-216623)
 (22) 出願日 令和1年11月29日 (2019.11.29)
 (62) 分割の表示 特願2016-534940 (P2016-534940)
 の分割
 原出願日 平成26年11月28日 (2014.11.28)
 (31) 優先権主張番号 10-2013-0148028
 (32) 優先日 平成25年11月29日 (2013.11.29)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 韓国 (KR)

(71) 出願人 504104899
 アレス トレーディング ソシエテ アノ
 ニム
 スイス連邦 CH-1170 オーボンヌ
 ゾーヌ アンデュストリエル ドゥル
 リエッタ
 (74) 代理人 100099759
 弁理士 青木 篤
 (74) 代理人 100077517
 弁理士 石田 敬
 (74) 代理人 100087871
 弁理士 福本 積
 (74) 代理人 100087413
 弁理士 古賀 哲次

最終頁に続く

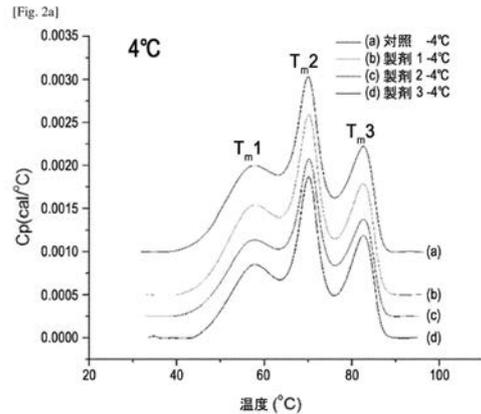
(54) 【発明の名称】 T N F R 及び F c 領域を含む融合タンパク質の液体製剤

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 T N F R - F c 融合タンパク質の活性を安定に維持することができる液体製剤の提供。

【解決手段】 T N F R - F c 融合タンパク質、プロリンとヒスチジンとの混合物、緩衝液及び等張化剤を含む液体製剤であって、該融合タンパク質が T N F R (腫瘍壊死因子受容体) 又はそれらの断片及び免疫グロブリン F c 領域を含む、液体製剤。

【選択図】 図 2 a



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

T N F R - F c 融合タンパク質、1又は数個のアミノ酸、緩衝液及び等張化剤を含む液体製剤であって、該融合タンパク質が T N F R (腫瘍壊死因子受容体)又はそれらの断片及び免疫グロブリン F c 領域を含み、かつ、該 1 又は数個のアミノ酸がプロリン、ヒスチジン及びグルタミン酸から成る群から選択される、液体製剤。

【請求項 2】

前記融合タンパク質がエタネルセプトである、請求項 1 に記載の液体製剤。

【請求項 3】

前記融合タンパク質が配列番号 1 のアミノ酸配列を有する、請求項 1 に記載の液体製剤。 10

【請求項 4】

前記融合タンパク質が、配列番号 1 のアミノ酸配列におけるアミノ酸の置換、欠失又は挿入により調製される変異融合タンパク質、あるいは、エタネルセプトの活性と類似の活性を示すペプチドアナログである、請求項 1 に記載の液体製剤。

【請求項 5】

前記等張化剤が液体製剤に 280 から 350 m O s m の浸透圧を維持させる、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の液体製剤。

【請求項 6】

前記等張化剤が塩化ナトリウム (N a C l) 及びスクロースを含む、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の液体製剤。 20

【請求項 7】

塩化ナトリウムが 1 から 1000 m M の濃度で存在し、かつ、スクロースが総組成の 0 . 01 から 3 重量%の量で存在する、請求項 6 に記載の液体製剤。

【請求項 8】

塩化ナトリウムが 105 m M から 150 m M の濃度で存在し、かつ、スクロースが総組成の 0 . 01 から 1 . 5 重量%の量で存在する、請求項 7 に記載の液体製剤。

【請求項 9】

液体製剤中の前記融合タンパク質の濃度が、20 から 55 m g / m L の範囲内である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の液体製剤。 30

【請求項 10】

前記緩衝液がクエン酸 - リン酸又はリン酸緩衝液である、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の液体製剤。

【請求項 11】

前記緩衝液の濃度が、10 から 35 m M の範囲内である、請求項 10 に記載の液体製剤。

【請求項 12】

液体製剤の p H が 6 . 0 から 6 . 6 の範囲内である、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の液体製剤。

【請求項 13】

前記製剤が、プロリンを 10 m M 未満の濃度で、又は、ヒスチジンを 5 m M 未満の濃度で含む、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の液体製剤。 40

【請求項 14】

前記製剤が、プロリンを 9 m M 未満の濃度で、又は、ヒスチジンを 0 . 1 m M 未満の濃度で含む、請求項 13 に記載の液体製剤。

【請求項 15】

前記製剤がプロリン及びヒスチジンの混合物を含む、請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の液体製剤。

【請求項 16】

プロリンが 1 m M から 9 m M の濃度で存在し、かつ、ヒスチジンが 0 . 1 m M 未満の濃 50

度で存在する、請求項 15 に記載の液体製剤。

【請求項 17】

プロリンが 1 mM から 9 mM の濃度で存在し、かつ、ヒスチジンが 0.01 から 0.09 mM の濃度で存在する、請求項 16 に記載の液体製剤。

【請求項 18】

プロリンが 6 mM の濃度で存在し、かつ、ヒスチジンが 0.09 mM の濃度で存在する、請求項 17 に記載の液体製剤。

【請求項 19】

グルタミン酸を 1 mM から 20 mM の濃度でさらに含む、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の液体製剤。

【請求項 20】

グルタミン酸が 10 から 15 mM の濃度で存在する、請求項 19 に記載の液体製剤。

【請求項 21】

薬学的有効量での TNFR - Fc 融合タンパク質、クエン酸 - リン酸緩衝液、塩化ナトリウム、スクロース、ならびにプロリン及びヒスチジンを含むアミノ酸の混合物を含む液体製剤であって、該 TNFR - Fc 融合タンパク質が p75 s TNFR - Fc 融合タンパク質である、液体製剤。

【請求項 22】

液体製剤が、30 から 55 mg/mL の TNFR - Fc 融合タンパク質、及び 10 から 35 mM のクエン酸 - リン酸緩衝液、105 から 120 mM の NaCl、0.5 から 1.5 % のスクロース、1 から 9 mM のプロリン及び 0.01 から 0.1 mM のヒスチジンを含み、かつ、6.3 の pH を有する、請求項 21 に記載の液体製剤。

【請求項 23】

液体製剤が、50 mg/mL の TNFR - Fc 融合タンパク質、25 mM のクエン酸 - リン酸緩衝液、115 mM の NaCl、1 % のスクロース、6 mM のプロリン、及び 0.09 mM のヒスチジンを含み、かつ、6.3 の pH を有する、請求項 22 に記載の液体製剤。

【請求項 24】

液体製剤が、30 から 55 mg/mL の TNFR - Fc 融合タンパク質、及び 10 から 35 mM のクエン酸 - リン酸緩衝液、120 から 150 mM の NaCl、0.01 から 0.5 % のスクロース、1 から 9 mM のプロリン及び 0.01 から 0.1 mM のヒスチジンを含み、かつ、6.3 の pH を有する、請求項 21 に記載の液体製剤。

【請求項 25】

液体製剤が、50 mg/mL の TNFR - Fc 融合タンパク質、25 mM のクエン酸 - リン酸緩衝液、130 mM の NaCl、0.1 % のスクロース、6 mM のプロリン、及び 0.09 mM のヒスチジンを安定化剤として含み、かつ、6.3 の pH を有する、請求項 24 に記載の液体製剤。

【請求項 26】

液体製剤が、30 から 55 mg/mL の TNFR - Fc 融合タンパク質、10 から 35 mM のクエン酸 - リン酸緩衝液、100 ~ 150 mM の NaCl、0.1 から 1.5 % のスクロース、5 から 15 mM のグルタミン酸塩、1 から 10 mM のプロリン、及び 1 から 10 mM のヒスチジンを含み、かつ、6.3 の pH を有する、グルタミン酸をさらに含む、請求項 21 に記載の液体製剤。

【請求項 27】

液体製剤が、50 mg/mL の TNFR - Fc 融合タンパク質、25 mM のクエン酸 - リン酸緩衝液、100 mM の NaCl、1 % のスクロース、10 mM のグルタミン酸塩、10 mM のプロリン、及び 5 mM のヒスチジンを含み、かつ、6.3 の pH を有する、請求項 26 に記載の液体製剤。

【請求項 28】

請求項 1 から 27 のいずれか一項の TNFR - Fc 融合タンパク質を含む液体製剤を調

10

20

30

40

50

製するための方法であって、以下：

a) TNFR - Fc 融合タンパク質を調製し；そして

b) ステップ a) で調製された TNFR - Fc 融合タンパク質を、プロリン及びヒスチジンからなる群から選択される 1 又は数個のアミノ酸を含む安定化剤、緩衝液、ならびに塩化ナトリウム (NaCl) 及びスクロースを含む等張化剤と混合すること、を含む、方法。

【請求項 29】

ステップ b) での混合が、i) 安定化剤、緩衝液、及び等張化剤を含む溶液を調製すること、ならびに、ii) TNFR - Fc 融合タンパク質がステップ a) で調製される溶液を、ステップ i) の溶液と交換すること、を含む、請求項 28 に記載の方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

技術分野

本発明は、TNFR - Fc 融合タンパク質及び安定化剤を含む液体製剤であって、該融合タンパク質が TNFR (腫瘍壊死因子受容体) 又はそれらの断片及び免疫グロブリン Fc 領域を含み、かつ、該安定化剤が、プロリン及びヒスチジンからなる群から選択される 1 又は数個のアミノ酸、緩衝液、ならびに塩化ナトリウム (NaCl) 及びスクロースを含む等張化剤を含む液体製剤に関し、そして、該液体製剤の調製方法に関する。

【背景技術】

20

【0002】

背景技術

一般に、タンパク質薬剤の化学的及び物理的変性は、好ましくない温度、せん断応力、振動、凍結融解、UV 照射、過度な pH 変化、有機溶媒、微生物汚染などによって容易に起こり得る。化学的変性は、タンパク質を構成するアミノ酸、及びタンパク質を含む溶媒の条件 (塩、pH 及び温度) によって影響を受ける、二量体の解離、酸化、脱アミド化、異性化、及び重合を含む。物理的変性は、タンパク質含有の周囲の環境、例えば溶媒、複雑なタンパク質構造、例えば電荷分布、及び熱安定性によって変化する、タンパク質表面上の疎水性パッチによって影響を受ける、三次構造の喪失、共有結合的 / 非共有結合的な凝集、及び単量体の接着を含む。

30

【0003】

抗体を含むタンパク質の物理的又は化学的変性はその生理活性の喪失を引き起こす。変性は不可逆的な過程であるため、タンパク質は一度変性すると、それらの本来の特性を取り戻すことができず、それらの治療効果の減少をもたらす。単量体の凝集などの現象が免疫反応を引き起こすということも示唆されている。それゆえ、凝集することなく生理学的有効量のタンパク質を含む製剤に関して多くの研究が行われている (Ishikawa et al. , Biol. Pharm. Bull. , 33 (8) : 1413 - 1417, 2010) 。

【0004】

液体製剤中のタンパク質変性を防止するために利用できる多くの方法がある。いくつかのタンパク質薬剤では、安定性の問題は凍結乾燥によって対処される。しかしながら、凍結乾燥工程は凍結及び乾燥に関連するストレス、例えば氷結晶の形成、pH 変化、及び高濃度の溶質を引き起こし、そして、それらのストレスはタンパク質変性を引き起こし得る。加えて、大容量の凍結乾燥機が製造中の凍結乾燥工程に必要とされるので、大規模生産中に高い製造コストが生じる。使用前に滅菌水性媒体で凍結乾燥産物を溶解させることも不便さをもたらす。

40

【0005】

これらの制限を解決するための代替として、タンパク質安定性の向上のために安定化剤が液体製剤に添加される。界面活性剤、血清アルブミン、多糖類、アミノ酸、ポリマー、塩などがタンパク質薬剤に用いられる安定化剤として知られている (Wang , Int .

50

J. Pharm., 185: 129-188, 1999; Wang et al., J. Pharm. Sci., 96(1): 1-26, 2007)。

【0006】

薬剤の安定な製剤を調製するためには、しかしながら、適当な安定化剤は各活性成分の物理化学的特性を考慮して使用されるべきである。安定化剤が組み合わせて使用される場合、それらの間における競争及び副作用が望ましくない影響をもたらし得る。加えて、タンパク質の濃度は安定化に適した範囲内にあるべきであり、特に、高濃度のタンパク質製剤を調製するために、多くの努力及び注意が溶液中のタンパク質を安定化するために必要とされる(Shire et al., J. Pharm. Sci., 93(6): 1390-1402, 2004)。

10

【0007】

一方で、エタネルセプトは、細胞表面のTNF-受容体に結合するTNF-の競合的阻害薬としての機能し、TNF-介在性免疫反応を阻害する、生物学的モジュレーター(modulator)である。エタネルセプトは150kDaの分子量を有する高分子であり、かつ、ジスルフィド結合により連結された2つの融合タンパク質のホモダイマーであって、それぞれの融合タンパク質はヒト免疫グロブリンGサブクラス1のFc部分に結合されたヒト可溶性p75TNF(腫瘍壊死因子)受容体からなる(Goldenberg, Clinical Therapeutics, 21(1): 75-87, 1999; Moreland et al., Ann. Intern. Med., 130(6): 478-486, 1999)。

20

【0008】

これは、2002年にエンブレル(Enbrel)の商品名でアムジェン(Amgen)により市販される。エタネルセプトは、関節リウマチ、乾癬、及び強直性脊椎炎を治療するために使用されるTNF-阻害薬であり、血管炎、アルツハイマー病及びクローン病の治療のための臨床試験中である。

【0009】

TNFR-Fc融合タンパク質、例えばエタネルセプトのための製剤安定化技術は、製造、保存、及び輸送中に起こり得るタンパク質変性を最小限に抑え、かつ、従来のタンパク質製剤の活性と同一であるように長期間それらの活性を維持するための液体製剤を開発することを目的とするが、満足な液体製剤を開発することは困難であった。それゆえ、長期間にわたってTNFR-Fc融合タンパク質(エタネルセプト)の活性を安定に維持することができ、かつ、米国特許第7,648,702号明細書に開示されるアルギニンを含む既知の製剤よりもTNFR-Fc融合タンパク質(エタネルセプト)の安定化に効果的である、新たな液体製剤を開発する緊急の必要性がある。

30

【発明の概要】

【0010】

発明の開示
技術的問題

従って、本発明者らは、エタネルセプトの活性を安定に維持することができる液体製剤を調製するための方法を開発するために多くの努力をした。本発明は、単一アミノ酸又は混合アミノ酸を含む既知の安定化剤に用いられる濃度よりも低い濃度で用いられる場合であっても、プロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸を含む安定化剤が溶液中のエタネルセプトの安定化に顕著な効果を示すということを与え、それによって本発明を完成する。

40

【0011】

問題の解決策

本発明の目的は、TNFR-Fc融合タンパク質及び安定化剤を含む安定な液体製剤であって、該TNFR-Fc融合タンパク質がTNFR(腫瘍壊死因子受容体)又はそれらの断片及び免疫グロブリンFc領域を含む融合タンパク質であり、かつ、該安定化剤がプロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸、緩衝液、ならび

50

に、等張化剤、好ましくは塩化ナトリウム（NaCl）及びスクロースを含む等張化剤を含む、液体製剤を提供することである。

【0012】

本発明の別の目的は、該液体製剤の調製方法を提供することである。

【0013】

本発明の有利な効果

TNFR-Fc融合タンパク質（エタネルセプト）の長期間の保存が可能であり、かつ、特定の保存条件が必要とされないため、本発明に係る液体製剤は優れた保存安定性を与える。該製剤が単純であっても、本発明の液体製剤は優れた保存安定性を示すので、それは他の安定化され又は凍結乾燥された製剤よりも経済的であり、したがって該製剤は、TNFR-Fc融合タンパク質（エタネルセプト）による治療に効果的に使用することができる。

10

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】図1は、p75sTNFR-Fc融合タンパク質（エタネルセプト）についてのアミノ酸配列を示す（配列番号1）。

【図2a】図2は、4（図2a）及び25（図2b）における実施例3に記載される製剤1、2、3、及び対照についての、示差走査熱量測定（DSC）グラフを示す。保存温度に従って6か月時点で、アルギニン及びヒスチジン（製剤1）、又は、プロリン及びヒスチジン（製剤2及び3）のいずれかを含むエタネルセプト製剤の4（2a）及び25（2b）におけるDSCサーモグラム。

20

【図2b】図2は、4（図2a）及び25（図2b）における実施例3に記載される製剤1、2、3、及び対照についての、示差走査熱量測定（DSC）グラフを示す。保存温度に従って6か月時点で、アルギニン及びヒスチジン（製剤1）、又は、プロリン及びヒスチジン（製剤2及び3）のいずれかを含むエタネルセプト製剤の4（2a）及び25（2b）におけるDSCサーモグラム。

【発明を実施するための形態】

【0015】

本発明を実施するための最良の形態

上記目的を達成するための1つの態様では、本発明は、TNFR-Fc融合タンパク質及び安定化剤を含む液体製剤を提供し、該融合タンパク質はTNFR（腫瘍壊死因子受容体）又はそれらの断片及び免疫グロブリンFc領域を含み、かつ、該安定化剤は、プロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸、緩衝液、ならびに、等張化剤、好ましくは塩化ナトリウム（NaCl）及びスクロースを含む等張化剤を含む。

30

【0016】

TNFR又はそれらの断片及び免疫グロブリンFc領域を含む融合タンパク質は、特に配列番号1のアミノ酸配列によって表される、エタネルセプト（組換えp75sTNFR-Fc融合タンパク質）であってもよい。さらに融合タンパク質は、配列番号1のアミノ酸配列におけるアミノ酸の置換、欠失又は挿入により調製される変異融合タンパク質、あるいは、エタネルセプトの活性と類似の活性を示すペプチドアナログであってもよい。本発明の液体製剤は、プロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸、あるいはそれらの薬学的に許容される塩を含み、それによってTNFR-Fc融合タンパク質（エタネルセプト）の副産物形成を低減し、長期間にわたってその活性を安定に維持する、安定化された液体製剤又は安定な液体製剤である。

40

【0017】

本明細書で用いられる、用語「TNFR及び免疫グロブリンFc領域を含む融合タンパク質」は、腫瘍壊死因子受容体（TNFR）又はそれらの断片及び免疫グロブリンFc領域の融合によって調製される組換えタンパク質をいい、特に免疫グロブリンFc領域はIgG1の免疫グロブリンFc領域に由来してもよい。好ましくは、融合タンパク質はエタ

50

ネルセプトであってもよく、そして配列番号1のアミノ酸配列によって表されてもよい。

【0018】

本明細書で用いられる用語「エタネルセプト(組換えp75 s TNFR:Fc融合タンパク質)」は、ジスルフィド結合より連結された2つの融合タンパク質のホモダイマーの形態であって、それぞれの融合タンパク質はヒト免疫グロブリンG(IgG1)サブクラス1のFc部分に結合されたヒト可溶性75キロダルトン(p75)TNF受容体からなるタンパク質をいう。

【0019】

より具体的には、エタネルセプトは、3つのジスルフィド結合により連結された2つの融合タンパク質のホモダイマーの形態であり、それぞれの融合タンパク質は、ヒトIgG1のFc部分と結合されたヒト可溶性p75 TNF受容体の細胞外リガンド結合部分からなる。エタネルセプトのFc成分は、IgG1のCH2ドメイン、CH3ドメイン及びヒンジ領域を含むが、CH1ドメインは含まない。エタネルセプトは約150kDaの分子量を有し得る。このエタネルセプトは現在、商品名エンブレル(ENBREL)(登録商標)として販売され(アムジェン・インク(Amgen Inc.)、サウザンドオークス、カリフォルニア州)、CAS番号185243-69-0を有し得る。

10

【0020】

本発明のTNFR又はそれらの断片及び免疫グロブリンFc領域を含む融合タンパク質、特にエタネルセプトは、細胞発現系における組換えDNA技術によって生産されてもよいが、これに限定されない。

20

【0021】

本発明のエタネルセプトは、細胞表面のTNF-受容体に結合するTNF-の競合的阻害薬として機能し、TNF-介在性免疫反応を阻害する、生物学的モジュレーターであり、そして、関節リウマチ、乾癬、及び強直性脊椎炎を治療するために使用され、そして血管炎、アルツハイマー病及びクローン病の治療のための臨床試験中である。

【0022】

本発明の液体製剤中に、本発明のTNFR又はそれらの断片及び免疫グロブリンFc領域を含む融合タンパク質、特にエタネルセプトは、薬学的有効量で、かつ、1から100mg/mL、好ましくは20から55mg/mL、そしてより好ましくは30から55mg/mLの量で含まれてもよい。

30

【0023】

本明細書で用いられる用語「安定化された液体製剤」又は「安定な液体製剤」は、溶液中での保存中に、治療的活性成分、すなわち本発明の融合タンパク質、特にエタネルセプトの物理的及び化学的な同一性及び完全性を保持する製剤をいう。本発明の融合タンパク質、特にエタネルセプトの安定性の分析測定は、当該技術分野において広く知られているタンパク質安定性アッセイによって行われてもよい。安定性は、所定の時間、所定の温度で測定されてもよい。迅速なアッセイのために、製剤は、より高い又は「上昇した」温度、例えば、2週間から1ヶ月又はより長く、40で保存されてもよく、その経時的な安定性はこの時点で測定される。

【0024】

本明細書で用いられる用語「安定化剤」は、製剤中の生物学的分子及び/又は一般的な医薬賦形剤と相互作用し、その安定性を向上させる、特定の化学化合物又は組成物をいう。安定化剤は一般に、タンパク質凝集を引き起こす、空気/溶液界面誘発性ストレス及び溶液/表面誘発性ストレスからタンパク質を保護する。本発明では、安定化剤は、溶液中での保存中に本発明の融合タンパク質、特にエタネルセプトの副産物の形成を減少させ、長期間にわたってその活性を維持する成分である。好ましくは、安定化剤は、プロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸を含む。

40

【0025】

本発明のアミノ酸は、L-アミノ酸及びD-アミノ酸の両方を含んでもよい。

【0026】

50

本発明の安定化剤として、アミノ酸それ自体、例えばプロリン及びヒスチジンだけでなく、アナログ、溶媒和物、水和物、立体異性体、及びそれらの薬学的に許容される塩も、それらが実質的に同一の効果を示す限りは、本発明の範囲内である。

【0027】

本明細書で用いられる用語「副産物」は、製剤中の治療的活性成分、TNFR-Fc融合タンパク質（エタネルセプト）の比率を低下させ又は減少させる望ましくない産物をいう。典型的な副産物は、脱アミノ化又は加水分解によるTNFR-Fc融合タンパク質（エタネルセプト）の変性に起因する「低分子量産物」、オリゴマー及び凝集体などの「高分子量産物」、あるいはそれらの混合物を含む。

【0028】

本明細書で用いられる用語「高分子量産物」は、変性によってその後凝集される（例えば、脱アミノ化又は加水分解によるポリペプチドの分解によって生じる）TNFR-Fc融合タンパク質（エタネルセプト）断片、あるいはそれらの混合物を含む。典型的には、高分子量産物は、治療的単量体のTNFR-Fc融合タンパク質（エタネルセプト）よりも高い分子量を有する複合体であり、約150kDa超の分子量を有してもよい。

【0029】

本明細書で用いられる用語「低分子量産物」は、例えば、脱アミノ化又は加水分解により生成される治療的ポリペプチド、すなわち、TNFR-Fc融合タンパク質（エタネルセプト）断片を含む。典型的には、低分子量産物は、治療的単量体のTNFR-Fc融合タンパク質（エタネルセプト）よりも低い分子量を有する複合体であって、約150kDa未満の分子量を有してもよい。

【0030】

本発明の液体製剤は、安定化剤としてプロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸を含む。例えばグルタミン酸などの他の付加的なアミノ酸は、製剤を安定化させるために添加されてもよい。好ましくは、液体製剤は、プロリン又はヒスチジンを単独で、あるいは、プロリン及びヒスチジンの両方のアミノ酸を含む。その組み合わせにおいて、プロリン又はヒスチジンの薬学的に許容される塩がさらに含まれてもよく、あるいは、プロリン及びヒスチジン又はそれらの薬学的に許容される塩の修飾された形態が含まれてもよい。好ましくは、液体製剤はプロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物を含む。

【0031】

本発明において、安定化剤中の、プロリン濃度は、1から10mMまで、好ましくは1から9mMまで、より好ましくは3から9mMまで、よりいっそう好ましくは3から6mMまでの範囲内であってもよく、そして、ヒスチジン濃度は、0.01から5mMまで、好ましくは0.01から0.1mMまで、より好ましくは0.03から0.1mMまで、よりいっそう好ましくは0.03から0.09mMまで、よりいっそう好ましくは0.06から0.09mMまでの範囲内であってもよく、又はよりいっそう好ましくは約0.09mMであってもよい。具体的に、安定化剤として含まれるプロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物中では、プロリン濃度は、1から10mMまで、好ましくは1から9mMまで、より好ましくは3から9mMまで、よりいっそう好ましくは3から6mMまでの範囲内であってもよく、そして、ヒスチジン濃度は、0.01から5mMまで、好ましくは0.01から0.1mMまで、より好ましくは0.03から0.1mMまで、よりいっそう好ましくは0.03から0.09mMまで、よりいっそう好ましくは0.06から0.09mMまでの範囲内であってもよく、又はよりいっそう好ましくは約0.09mMであってもよい。付加的なアミノ酸、例えばグルタミン酸の添加は、1から20mMまで、好ましくは5から15mMまで、より好ましくは10から15mMまでの範囲内であってもよい。プロリン及びヒスチジンの混合物と組み合わせられる場合、グルタミン酸の濃度は、1から20mMまで、好ましくは5から15mMまで、より好ましくは10から15mMまでの範囲内であってもよい。

【0032】

10

20

30

40

50

本発明の1つの特定の実施形態では、TNFR - Fc融合タンパク質（エタネルセプト）のための安定化された液体製剤の調製において、液体製剤は、エタネルセプトの安定化された液体製剤としてアルギニンを含む既知の液体製剤（米国特許第7,648,702号明細書）を超える利点を有する液体製剤を開発するために、アミノ酸の組み合わせ及び等張化剤の条件を変化させることによって調製され、それらの安定化効果が調べられた。

【0033】

結果として、プロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸を含む製剤は、高温での保存中にその変性を防止することによって、溶液中のエタネルセプトを安定化させる顕著な効果を示すことが見出された（表1の製剤4及び製剤5、製剤7及び製剤8、表4の製剤2及び製剤3、表7の製剤2から製剤4及び製剤6から製剤7）。特に、プロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物を含む製剤（表1の製剤5及び製剤8、表4の製剤2及び製剤3、表7の製剤2から製剤4及び製剤6から製剤7）は、対照製剤よりも優れた安定化効果を示した。

10

【0034】

すなわち、単一アミノ酸又はアミノ酸の混合物を使用する既知の安定化剤の濃度（10 mM以上）よりも低い濃度（6.1 mM）で使用された場合であっても、プロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸を含む安定化剤が、溶液中のエタネルセプトの安定化に顕著な効果を示すということを、本発明は最初に実証した。

【0035】

本発明に係る液体製剤は、それがプロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸を含む安定化剤を添加することによるTNFR - Fc融合タンパク質（エタネルセプト）の安定性を向上させる機能を損なわない限り、タンパク質薬剤又は抗体医薬の液体製剤に一般に含まれる任意の材料をさらに含んでもよい。

20

【0036】

本明細書で用いられる用語「緩衝液」は、製剤の等張性及び化学的安定性を向上させ、生理学的に好適なpHを維持する働きをする成分という。緩衝剤は液体製剤の急激なpH変化を防ぎ、TNFR - Fc融合タンパク質（エタネルセプト）の安定化のための溶液のpHを維持する。緩衝液の好ましい例は、クエン酸塩、リン酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、シュウ酸塩、乳酸塩、酢酸塩、ヒスチジン、又はトリスなどの水溶液を含むが、これらに限定されない。特定の実施形態では、緩衝剤は水性クエン酸 - リン酸緩衝液である。緩衝剤は、単独又はそれらの2以上の組み合わせのいずれかで使用されてもよい。

30

【0037】

本発明の液体製剤は、約5から7.5のpH又は約5.8から6.8のpHを有してもよい。特に、該製剤は約6.0から6.6のpHを有する。必要であれば、pHは当該技術分野で既知の手法によって調整されてもよい。緩衝液は0.1から100 mM、好ましくは1から50 mM、そしてより好ましくは10から35 mMの濃度で存在してもよい。好ましくは、本発明の水性緩衝液には注射用水が使用される。

【0038】

本明細書で用いられる用語「等張化剤」は、製剤の等張性及びタンパク質レベルを部分的に維持し、そして、製剤中に存在する治療的活性ポリペプチドのレベル、比率、又は割合を部分的に維持する働きをする成分をいう。等張化剤は血漿と同一の浸透圧を維持し、そのため対象の血漿の浸透圧を変化させることなく、対象に静脈内注射することができる。本発明に係る1つの実施形態では、浸透圧は本発明の製剤の静脈内注射に適している。しばしば、等張化剤は増量剤（bulking agent）としても働く。このように、等張化剤はタンパク質に、凍結及びせん断などの種々のストレスを克服させ得る。

40

【0039】

等張化剤は、溶液のTNFR - Fc融合タンパク質（エタネルセプト）が体内に投与される際に、体内の適切な浸透圧を維持するのに役立つ。等張化剤の例は、一般的に使用される塩化ナトリウム、塩化カリウム、ホウ酸、ホウ酸ナトリウム、マンニトール、グリセ

50

リン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、マルトース、スクロース、エリトリトール、アラビトール、キシリトール、ソルビトール、グルコースなどを含んでもよいが、これらに限定されない。これらの等張化剤は、単独又はそれらの2以上の組み合わせのいずれかで使用されてもよい。本発明では、等張化剤は塩化ナトリウム及びスクロースを含む等張化剤であってもよい。本発明の等張化剤は、溶液に250から350 mOsmの浸透圧を維持させ、それは好ましくは1から1000 mMの塩化ナトリウム及び/又は0.01から3%のスクロース、より好ましくは50から250 mMの塩化ナトリウム及び/又は0.01から1.5%のスクロース、そしてよりいっそう好ましくは105から150 mMの塩化ナトリウム及び/又は0.01から1.5%のスクロースを含んでもよい。本発明の製剤に塩化ナトリウム及びスクロースが使用される場合、塩化ナトリウム濃度は1から1000 mMまで、好ましくは50から250 mMまで、より好ましくは100から150 mMまで、よりいっそう好ましくは105から150 mMまで、さらによりいっそう好ましくは115から140 mMまで、よりいっそう好ましくは115から130 mMまでとすることができ、そして、製剤中のスクロースの量は総製剤の0.01から3重量%まで、好ましくは0.01から1.5重量%まで、より好ましくは0.1から1.0重量%までとすることができ、よりいっそう好ましくは製剤中のスクロースの量は0.1重量%、0.5重量%、及び1.0重量%から選択される。

10

20

30

40

50

【0040】

本発明の1つの特定の実施形態では、本発明の液体製剤における等張化剤として塩化ナトリウム及びスクロースが使用され、そして、115 mMの塩化ナトリウム及び1.0%のスクロースを含む製剤(表1の製剤1から製剤5)又は115 mMの塩化ナトリウム及び0.5%のスクロースを含む製剤(表7の製剤1から製剤4)ならびに140 mMの塩化ナトリウム及び0.1%のスクロースを含む製剤(表1の製剤6から製剤8)又は130 mMの塩化ナトリウム及び0.1%のスクロースを含む製剤(表7の製剤5から製剤7)が調製され、そして、それらの安定化効果が対照製剤(100 mMの塩化ナトリウム、1.0%のスクロース)の安定化効果と比較された。

【0041】

結果として、既知のエタネルセプト製剤と比較して、スクロース及び塩化ナトリウムの濃度を変化させることにより調製された等張化剤を使用する本発明の製剤は、等張化剤中の塩化ナトリウム濃度の上昇及びスクロース濃度の低下によって、エタネルセプトの安定性の向上を示すことが見出された。

【0042】

本発明に係る液体製剤は薬学的に許容される賦形剤をさらに含んでもよく、該賦形剤の例は糖及びポリオール、界面活性剤、ポリマーなどを含んでもよい。糖及びポリオールの例は、スクロース、トレハロース、ラクトース、マルトース、ガラクトース、マンニトール、ソルビトール、グリセロールなどを含んでもよく、界面活性剤の例は、非イオン性界面活性剤、例えばポリソルベート20、ポリソルベート80、ポロキサマーなどを含んでもよく、そしてポリマーの例は、デキストラン、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロース、ヒアルロン酸、シクロデキストリンなどを含んでもよい。

【0043】

本発明に係る液体製剤は保存剤をさらに含んでもよい。保存剤とは、抗菌剤として医薬製剤に添加される化学物質をいう。保存剤の例は、塩化ベンザルコニウム、ベンゼトニウム、クロロヘキシジン、フェノール、m-クレゾール、ベンジルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロロブタノール、-クレゾール、-クレゾール、クロロクレゾール、硝酸フェニル水銀、チメロサル、安息香酸などを含んでもよいが、これらに限定されない。これら保存剤は、単独又はそれらの2以上の組み合わせのいずれかで使用されてもよい。

【0044】

本発明の液体製剤は、薬学的有効量でのTNFR-Fc融合タンパク質及び安定化剤を含む安定な液体製剤であって、該TNFR-Fc融合タンパク質(「エタネルセプト」)

が配列番号1のアミノ酸配列によって表され、かつ、該安定化剤がクエン酸-リン酸緩衝液、塩化ナトリウム、スクロース、ならびにプロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物を含む液体製剤であってもよい。特に、本発明の液体製剤は、pH6.3で、30から55mg/mLのTNFR-Fc融合タンパク質、及び10から35mMのクエン酸-リン酸緩衝液、105から125mMのNaCl、0.5から1.5%のスクロース、1から9mMのプロリン及び0.01から0.1mMのヒスチジンを含む液体製剤；又は、pH6.3で、30から55mg/mLのTNFR-Fc融合タンパク質、及び10から35mMのクエン酸-リン酸緩衝液、120から150mMのNaCl、0.01から0.5%のスクロース、1から9mMのプロリン及び0.01から0.1mMのヒスチジンを含む液体製剤であってもよい。

10

【0045】

本発明の特定の実施形態では、以下の液体製剤が提供される。

- pH6.3で、50mg/mLのTNFR-Fc融合タンパク質、25mMのクエン酸-リン酸緩衝液、115mMのNaCl、0.5%のスクロース、6mMのプロリン及び0.09mMのヒスチジンを含む液体製剤（表7の製剤3）。

- pH6.3で、50mg/mLのTNFR-Fc融合タンパク質、25mMのクエン酸-リン酸緩衝液、130mMのNaCl、0.1%のスクロース、6mMのプロリン及び0.09mMのヒスチジンを含む液体製剤（表7の製剤7）。

- pH6.3で、50mg/mLのTNFR-Fc融合タンパク質、25mMのクエン酸-リン酸緩衝液、100mMのNaCl、1.0%のスクロース、10mMのプロリン、5mMのヒスチジン、及び10mMのグルタミン酸を含む液体製剤（表1の製剤10）。

20

【0046】

本発明の製剤は、エタネルセプトが治療的に有効である疾患の治療に使用できる。エタネルセプトはTNF-介在性免疫反応を阻害する生物学的モジュレーターであり、本発明の製剤は、関節リウマチ、乾癬、強直性脊椎炎、血管炎、アルツハイマー病、又はクローン病を治療するために使用することができるが、これらに限定されない。

【0047】

本発明に係る製剤は、経口又は非経口経路すなわち、皮下、筋肉内、腹腔内、胸骨内、経皮、及び静脈内注射によって体内に投与されてもよいが、これらに限定されない。

30

【0048】

別の態様では、本発明は液体製剤の調製方法を提供する。

【0049】

本発明の液体製剤は、エタネルセプトを調製するステップ；そして、上記ステップで調製されるエタネルセプトを、プロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸、緩衝液、ならびに等張化剤、好ましくは塩化ナトリウム（NaCl）及びスクロースを含む等張化剤、を含む安定化剤と混合するステップを含む方法によって調製されてもよい。上述の調製方法における混合ステップは、エタネルセプトが調製される溶液を、安定化剤を含む溶液で交換することを含むことができる。

40

【0050】

さらに別の態様では、本発明はTNF活性が有害である疾患の予防又は治療のための液体製剤を含む医薬組成物を提供する。

【0051】

該液体製剤は、上述と同じである。

【0052】

本明細書で用いられる用語「TNF活性が有害である疾患」は、疾患に罹患している対象にTNFの存在が示されており、あるいは、疾患の病態生理に関与している、又は、疾患の悪化の一因となる因子であるかのいずれかの疑いがある、病気及びその他の疾患を含む。本発明では、TNF活性が有害である疾患の例は、炎症性疾患、例えば敗血症、自己免疫疾患、特に、関節リウマチ、リウマチ性脊椎炎、変形性関節症、痛風性関節炎

50

、アレルギー、多発性硬化症、自己免疫性糖尿病、自己免疫性ブドウ膜炎、ならびにネフローゼ症候群、感染症、同種移植片拒絶及び移植片対宿主病（GVHD）、悪性腫瘍、肺障害、腸障害、心臓障害などを含んでもよいが、これらに限定されない。

【0053】

TNF 活性が有害である疾患は、対象に本発明の組成物を投与することによって予防し又は治療することができる。

【0054】

本明細書で用いられる用語「治療」は、TNF 活性が有害である疾患の症状の改善をもたらす任意の行為、又は、本発明の組成物の投与によるTNF 活性が有害である疾患の有益な変化をいい、そして、用語「予防」は、本組成物の投与によるTNF 活性が有害である疾患の発症の抑制又は遅延をもたらす任意の行為をいう。予防又は治療は、TNF 活性が有害である疾患を有する任意の哺乳動物、例えば、ヒト及び霊長類、並びに家畜、例えばウシ、ブタ、ヒツジ、ウマ、イヌ、ネコなどに、限定されることなく、そして好ましくはヒトに適用することができる。

10

【0055】

本明細書で用いられる用語「投与」とは、ある好適な方法によって患者に所定の量の物質を導入することをいう。組成物の投与経路は、それが所望の組織に達することができる限り一般的な経路のいずれであってもよい。投与経路は、腹腔内、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、経口、局所、鼻腔内、肺内、又は直腸経路であってもよいが、これらに限定されない。しかしながら、ペプチドは経口投与に際して消化されるので、経口投与のための組成物の活性成分は好ましくは、胃での分解から保護するためにコーティングされ又は処方されるべきである。好ましくは、それは注射用製剤により投与されてもよい。加えて組成物は、標的細胞への活性成分の伝達を助ける任意の装置を用いて投与されてもよい。

20

【0056】

さらに、本発明の医薬組成物は、種々の関連因子、例えば治療すべき疾患、投与の経路、患者の年齢、性別及び体重、ならびに疾患の重症度と共に、活性成分の種類に応じて決定される。

【0057】

さらに、本発明の医薬組成物は、薬学的に許容される担体を含んでもよい。本明細書で用いられる用語「薬学的に許容される担体」とは、生物に著しい刺激を引き起こさず、かつ、投与される化合物の生物学的活性及び特性を抑止しない、担体又は希釈剤をいう。経口投与のために、結合剤、潤滑剤、崩壊剤、賦形剤、可溶化剤、分散剤、安定化剤、懸濁化剤、着色剤、香料などが使用されてもよい。注射用投与のために、緩衝剤、保存剤、鎮痛剤、可溶化剤、等張化剤、安定化剤などが組み合わせて使用されてもよい。局所投与のために、基剤、賦形剤、潤滑剤、保存剤などが使用されてもよい。本発明の医薬組成物は、それを上述の薬学的に許容される担体と混合することによって種々の製剤に調製されてもよい。例えば、経口投与のために、医薬組成物は、錠剤、トローチ、カプセル、エリキシル、懸濁液、シロップ、ウエハーなどの形態で調製されてもよい。注射用組成物は、単位投与量アンプル又は多投与量形態（multi dosage form）で処方されてもよい。それは、溶液、懸濁液、錠剤、丸剤、カプセル、徐放製剤などとして調製することもできる。

30

40

【0058】

本発明の液体製剤は治療的有効量のTNFR - Fc融合タンパク質（エタネルセプト）を含む。例えば、エタネルセプト（エンブレル）の治療的有効量は一般に、1週間あたり25から100mgである。

【0059】

さらに別の態様では、本発明は、TNF 活性が有害である疾患を有する対象に液体製剤を含む組成物を投与するステップを含む、TNF 活性が有害である疾患を予防し又は治療するための方法を提供する。

【0060】

50

本発明の液体製剤を含む組成物は、長期間にわたってTNFR - fc融合タンパク質（エタネルセプト）の高い濃度を安定に維持することができるので、長期間の保存が可能であり、かつ、特定の保存条件が必要とされない。それゆえ、それはTNF 活性が有害である疾患を予防し又は治療するために広く使用できる。

【0061】

本発明の第1の実施形態は、TNFR - Fc融合タンパク質、1又は数個のアミノ酸、緩衝液、及び等張化剤を含む液体製剤であって、該融合タンパク質がTNFR（腫瘍壊死因子受容体）又はそれらの断片及び免疫グロブリンFc領域を含み、かつ、該1又は数個のアミノ酸がプロリン及びヒスチジンならびにグルタミン酸からなる群から選択される、液体製剤である。

10

【0062】

第2の実施形態は、該融合タンパク質がエタネルセプトである、第1の実施形態に記載の液体製剤である。

【0063】

第3の実施形態は、該融合タンパク質が配列番号1のアミノ酸配列を有する、第1の実施形態に記載の液体製剤である。

【0064】

第4の実施形態は、該融合タンパク質が、配列番号1のアミノ酸配列におけるアミノ酸の置換、欠失又は挿入により調製される変異融合タンパク質、あるいは、エタネルセプトの活性と類似の活性を示すペプチドアナログである、第1の実施形態に記載の液体製剤である。

20

【0065】

第5の実施形態は、該等張化剤が液体製剤に280から350mOsmの浸透圧を維持させる、第1から第4の実施形態のいずれか1つに記載の液体製剤である。

【0066】

第6の実施形態は、該等張化剤が塩化ナトリウム（NaCl）及びスクロースを含む、第1から第5の実施形態のいずれか1つに記載の液体製剤である。

【0067】

第7の実施形態は、塩化ナトリウムが1から1000mMの濃度で存在し、かつ、スクロースが総組成の0.01から3重量%の量で存在する、第6の実施形態に記載の液体製剤である。

30

【0068】

第8の実施形態は、塩化ナトリウムが105mMから150mMの濃度で存在し、かつ、スクロースが総組成の0.01から1.5重量%の量で存在する、第7の実施形態に記載の液体製剤である。

【0069】

第9の実施形態は、液体製剤中の融合タンパク質の濃度が20から55mg/mLの範囲内である、第1から第8の実施形態のいずれか1つに記載の液体製剤である。

【0070】

第10の実施形態は、該緩衝液がクエン酸 - リン酸又はリン酸緩衝液である、第1から第9の実施形態のいずれか1つに記載の液体製剤である。

40

【0071】

第11の実施形態は、該緩衝液の濃度が10から35mMの範囲内である、第10の実施形態に記載の液体製剤である。

【0072】

第12の実施形態は、液体製剤のpHが6.0から6.6の範囲内である、第1から第11の実施形態のいずれか1つに記載の液体製剤である。

【0073】

第13の実施形態は、該製剤が、プロリンを10mM未満の濃度で、又は、ヒスチジンを5mM未満の濃度で含む、第1から第12の実施形態のいずれか1つに記載の液体製剤

50

である。

【0074】

第14の実施形態は、該製剤が、プロリンを9 mM未満の濃度で、又は、ヒスチジンを0.1 mM未満の濃度で含む、第13の実施形態に記載の液体製剤である。

【0075】

第15の実施形態は、該製剤がプロリン及びヒスチジンの混合物を含む、第1から第14の実施形態のいずれか1つに記載の液体製剤である。

【0076】

第16の実施形態は、プロリンが1 mMから9 mMの濃度で存在し、かつ、ヒスチジンが0.1 mM未満の濃度で存在する、第15の実施形態に記載の液体製剤である。

10

【0077】

第17の実施形態は、プロリンが1 mMから9 mMの濃度で存在し、かつ、ヒスチジンが0.01から0.09 mMの濃度で存在する、第16の実施形態に記載の液体製剤である。

【0078】

第18の実施形態は、プロリンが6 mMの濃度で存在し、かつ、ヒスチジンが0.09 mMの濃度で存在する、第17の実施形態に記載の液体製剤である。

【0079】

第19の実施形態は、グルタミン酸を1 mMから20 mMの濃度でさらに含む、第1から第13の実施形態のいずれか1つに記載の液体製剤である。

20

【0080】

第20の実施形態は、グルタミン酸が10から15 mMの濃度で存在する、第19の実施形態に記載の液体製剤である。

【0081】

第21の実施形態は、薬学的有効量でのTNFR - Fc融合タンパク質、クエン酸 - リン酸緩衝液、塩化ナトリウム、スクロース、ならびにプロリン及びヒスチジンを含むアミノ酸の混合物を含む液体製剤であって、該TNFR - Fc融合タンパク質がp75^sTNFR - Fc融合タンパク質である、液体製剤である。

【0082】

第22の実施形態は、液体製剤が、30から55 mg/mLのTNFR - Fc融合タンパク質、及び10から35 mMのクエン酸 - リン酸緩衝液、105から120 mMのNaCl、0.5から1.5%のスクロース、1から9 mMのプロリン及び0.01から0.1 mMのヒスチジンを含み、かつ、6.3のpHを有する、第21の実施形態に記載の液体製剤である。

30

【0083】

第23の実施形態は、液体製剤が、50 mg/mLのTNFR - Fc融合タンパク質、25 mMのクエン酸 - リン酸緩衝液、115 mMのNaCl、1%のスクロース、6 mMのプロリン、及び0.09 mMのヒスチジンを含み、かつ、6.3のpHを有する、第22の実施形態に記載の液体製剤である。

【0084】

第24の実施形態は、液体製剤が、30から55 mg/mLのTNFR - Fc融合タンパク質、及び10から35 mMのクエン酸 - リン酸緩衝液、120から150 mMのNaCl、0.01から0.5%のスクロース、1から9 mMのプロリン及び0.01から0.1 mMのヒスチジンを含み、かつ、6.3のpHを有する、第21の実施形態に記載の液体製剤である。

40

【0085】

第25の実施形態は、液体製剤が50 mg/mLのTNFR - Fc融合タンパク質、25 mMのクエン酸 - リン酸緩衝液、130 mMのNaCl、0.1%のスクロース、6 mMのプロリン、及び0.09 mMのヒスチジンを安定化剤としてを含み、かつ、6.3のpHを有する、第24の実施形態に記載の液体製剤である。

50

【0086】

第26の実施形態は、液体製剤が30から55mg/mLのTNFR-Fc融合タンパク質、10から35mMのクエン酸-リン酸緩衝液、100~150mMのNaCl、0.1から1.5%のスクロース、5から15mMのグルタミン酸塩、1から10mMのプロリン、及び1から10mMのヒスチジンを含み、かつ、6.3のpHを有する、さらにグルタミン酸を含む、第21の実施形態に記載の液体製剤である。

【0087】

第27の実施形態は、液体製剤が50mg/mLのTNFR-Fc融合タンパク質、25mMのクエン酸-リン酸緩衝液、100mMのNaCl、1%のスクロース、10mMのグルタミン酸塩、10mMのプロリン、及び5mMのヒスチジンを含み、かつ、6.3のpHを有する、第26の実施形態に記載の液体製剤である。

10

【0088】

第28の実施形態は、請求項1から16のいずれか一項のTNFR-Fc融合タンパク質を含む液体製剤を調製するための方法であって、以下：

a) TNFR-Fc融合タンパク質を調製し；そして

b) ステップa)で調製されたTNFR-Fc融合タンパク質を、プロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸を含む安定化剤、緩衝液、ならびに塩化ナトリウム(NaCl)及びスクロースを含む等張化剤と混合すること、を含む、方法である。

【0089】

第29の実施形態は、ステップb)での混合が、i)安定化剤、緩衝液、及び等張化剤を含む溶液を調製すること、ならびに、ii)TNFR-Fc融合タンパク質がステップa)で調製される溶液を、ステップi)の溶液と交換すること、を含む、第28の実施形態に記載の方法である。

20

【実施例】

【0090】

発明の形態

以下、実施例を参照して本発明をより詳細に説明することとする。しかしながら、これらの実施例は例示の目的のためのみであり、本発明はこれらの実施例によって限定されることを意図しない。

30

【0091】

実施例1：エタネルセプト液体製剤の調製

TNFR-Fc融合タンパク質、エタネルセプト(組換えp75sTNFR:Fc融合タンパク質)の液体製剤を安定化するために、アミノ酸又はアミノ酸の混合物を安定化剤として使用し、又は、等張化剤を調節して安定化効果を調べた。すなわち、安定化剤としてプロリン、又はプロリン及びヒスチジンの混合物を使用することによって、あるいは、等張化剤としてNaCl及びスクロースの濃度を調節することによって、液体製剤を調製した。

【0092】

本発明の液体製剤、詳細には、製剤1から製剤10を、アルギニン、グルタミン酸、プロリン及びヒスチジンからなる群から選択される1又は数個のアミノ酸を、25mMのクエン酸-リン酸水性緩衝液へと添加すること、そしてその後、等張化剤としてスクロース及び塩化ナトリウム(NaCl)を添加することにより調製した。その後、各製剤のpHを6.3に調整し、そしてTNFR-fc融合タンパク質(エタネルセプト)の濃度が50mg/mLとなるように製剤を透析に供し、それによって製剤1から製剤10を調製した。さらに、対照液体製剤を、25mMのアルギニン、等張化剤として100mMの塩化ナトリウム及び1.0%のスクロースを25mMのリン酸緩衝液に加え、また50mg/mLのエタネルセプトを加え、そしてその後pHを6.3に調整して、調製した。従って、エタネルセプト濃度が50mg/mLである対照製剤を調製した。

40

【0093】

50

調製された液体製剤の組成は以下のとおりである。

【 0 0 9 4 】

【 表 1 】

【表 1】

液体製剤の組成						
製剤	製剤の組成					
	エタネルセプト 濃度	緩衝液	NaCl 濃度	スロース 濃度	pH	アミノ酸
製剤1	50 mg/ml	25 mM, クイン酸 -リン酸	115 mM	1.0%	6.3	-
製剤2	50 mg/ml	25 mM, クイン酸 -リン酸	115 mM	1.0%	6.3	アルギニン 3 mM
製剤3	50 mg/ml	25 mM, クイン酸 -リン酸	115 mM	1.0%	6.3	アルギニン 3 mM ヒスチジン 0.09 mM
製剤4	50 mg/ml	25 mM, クイン酸 -リン酸	115 mM	1.0%	6.3	プロリン 3 mM
製剤5	50 mg/ml	25 mM, クイン酸 -リン酸	115 mM	1.0%	6.3	プロリン 3 mM ヒスチジン 0.09 mM
製剤6	50 mg/ml	25 mM, クイン酸 -リン酸	140 mM	0.1%	6.3	-
製剤7	50 mg/ml	25 mM, クイン酸 -リン酸	140 mM	0.1%	6.3	プロリン 3 mM
製剤8	50 mg/ml	25 mM, クイン酸 -リン酸	140 mM	0.1%	6.3	プロリン 3 mM ヒスチジン 0.09 mM
製剤9	50 mg/ml	25 mM, クイン酸 -リン酸	100 mM	1.0%	6.3	グルタミン酸 15 mM プロリン 5 mM ヒスチジン 5 mM
製剤10	50 mg/ml	25 mM, クイン酸 -リン酸	100 mM	1.0%	6.3	グルタミン酸 10 mM プロリン 10 mM ヒスチジン 5 mM
対照製剤	50 mg/ml	25 mM, リン酸	100 mM	1.0%	6.3	アルギニン 25 mM

【 0 0 9 5 】

実施例 2 : エタネルセプト液体製剤の安定性試験

10

20

30

40

50

実施例 1 で調製された液体製剤の安定性を調べるために、各製剤を、1、2、4 及び 8 週間、25 及び 40 の条件下で保存し、そしてその後エタネルセプトの残量を、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー (SE-HPLC) 及び疎水性相互作用高速液体クロマトグラフィー (HIC-HPLC) によって測定した。

【0096】

測定結果を以下の表 2 及び 3 に示す。

【0097】

【表 2】

10

[表 2]

経時的なエタネルセプト純度の測定のためのSE-HPLC											
	製剤	25°C					40°C				
		0 wk	1 wk	2 wk	4 wk	8 wk	0 wk	1 wk	2 wk	4 wk	8 wk
エタネルセプト 純度の減少 (%)	1	0.0	-0.3	-0.6	-1.4	-2.3	0.0	-4.1	-7.1	-14.8	-25.4
	2	0.0	-0.2	-0.5	-1.3	-2.1	0.0	-4.0	-6.8	-13.6	-24.2
	3	0.0	-0.2	-0.5	-0.8	-1.6	0.0	-2.5	-5.8	-12.4	-21.2
	4	0.0	-0.3	-0.6	-1.4	-2.4	0.0	-4.1	-7.1	-14.4	-24.8
	5	0.0	-0.2	-0.5	-0.9	-1.9	0.0	-3.5	-5.9	-12.0	-23.4
	6	0.0	-0.2	-0.6	-1.4	-2.3	0.0	-4.1	-6.9	-13.5	-22.4
	7	0.0	-0.2	-0.5	-1.4	-2.0	0.0	-3.8	-6.5	-12.3	-21.0
	8	0.0	-0.1	-0.4	-0.8	-1.6	0.0	-3.3	-5.7	-11.4	-20.3
	9	0.0	-0.1	-0.4	-0.6	-1.5	0.0	-1.7	-4.9	-11.1	-24.0
	10	0.0	-0.1	-0.4	-0.7	-1.3	0.0	-1.9	-5.2	-11.2	-24.6
	対照	0.0	-0.2	-0.5	-1.1	-2.2	0.0	-3.8	-6.6	-13.9	-25.7

20

30

40

【0098】

【表 3】

[表 3]

経時的なイタネルセプト純度の測定のためのHIC-HPLC											
	製剤	25°C					40°C				
		0 wk	1 wk	2 wk	4 wk	8 wk	0 wk	1 wk	2 wk	4 wk	8 wk
イタネルセプト 純度の減少 (%)	1	0.0	-0.2	-0.4	-3.3	-4.3	0.0	-4.8	-7.3	-15.9	-26.5
	2	0.0	-0.2	-0.4	-3.2	-4.2	0.0	-4.7	-7.1	-14.7	-25.6
	3	0.0	-0.4	-0.5	-3.1	-3.9	0.0	-4.6	-6.8	-14.6	-23.8
	4	0.0	-0.2	-0.4	-3.2	-4.3	0.0	-4.8	-7.3	-15.4	-25.8
	5	0.0	-0.3	-0.5	-3.2	-4.0	0.0	-4.6	-6.8	-13.6	-25.7
	6	0.0	-0.2	-0.5	-3.4	-4.4	0.0	-4.7	-7.1	-14.6	-23.4
	7	0.0	-0.1	-0.3	-3.1	-4.3	0.0	-4.7	-6.8	-13.6	-22.5
	8	0.0	-0.2	-0.5	-3.1	-4.1	0.0	-4.7	-6.6	-13.4	-22.5
	9	0.0	-0.2	-0.4	N/A	-3.7	0.0	-4.5	-8.4	-14.6	-28.6
	10	0.0	-0.1	-0.4	-3.1	-3.4	0.0	-4.6	-7.3	-15.2	-29.6
	対照	0.0	-0.1	-0.3	-3.4	-4.7	0.0	-5.0	-8.0	-16.4	-29.5

10

20

30

40

※ N/A :入手不可

【0099】

25 及び 40 °C での SE-HPLC 及び HIC-HPLC の分析結果を示す表 2 及び 3 で確認されるように、プロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物を使用する製剤（製剤 5、製剤 8）は、従来のエタネルセプト製剤の組成物に安定化剤としてアルギニンを単独で使用するにより調製された対照製剤と比較して、エタネルセプト溶液の安定性を向上させる効果を示した。

【0100】

これらの結果は、安定化剤としてプロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物を含むエ

50

タネルセプト液体製剤が、エタネルセプトの変性を防止して、長期間にわたってその活性を維持し、そして、プロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物が安定化剤としてエタネルセプト溶液の安定性向上に効果的であるということを実証した。

【0101】

さらに、従来のエタネルセプト製剤の組成物における等張化剤のスクロース及び塩化ナトリウムの組成を変化させることにより調製された本発明の製剤間で、エタネルセプトの安定性を調べた。より高濃度の塩化ナトリウム及びより低濃度のスクロースを有する本製剤は、対照製剤と比較して、エタネルセプト溶液の安定性を向上させる効果を示した。

【0102】

また、安定化剤としてプロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物を使用する液体製剤（製剤5及び製剤8）は、アミノ酸の安定化剤を含まない液体製剤（製剤1及び製剤6）と比較して、エタネルセプト溶液の安定性を向上させる効果を示した。

【0103】

その結果として、これらの実験結果は、1)等張化剤中のNaCl濃度を上昇させること及びスクロース濃度を低下させること、ならびに2)エタネルセプト液体製剤中の安定化剤としてプロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物を使用することによって、エタネルセプト溶液の安定性が向上され得るということを示した。すなわち、1)又は2)の条件を通じて、エタネルセプトの副産物の形成を効果的に防止することができ、そして、従来のエタネルセプト液体製剤と比較して長期間にわたってエタネルセプトの薬学的有効性を安定に維持するように、その安定性を向上させることができる。

【0104】

実施例3：長期間の保存中のアミノ酸の混合物の組成物を有するエタネルセプト液体製剤の安定性試験

実施例1及び2の実験によってその安定性向上が確認された、プロリン及びヒスチジンならびにそれらの混合物から選択される1又は数個のアミノ酸を含むエタネルセプト液体製剤を、6ヶ月間、長期間の保存条件下で、安定性試験に供した。

【0105】

詳細には、0.09mMのヒスチジン及び3mMのプロリン、又は0.09mMのヒスチジン及び3mMのアルギニンの混合物を含むアミノ酸の混合物を、25mMのクエン酸-リン酸緩衝液に添加し、そして、1.0%又は0.1%のスクロース及び115mM又は130mMの塩化ナトリウムも等張化剤としてそこに添加した。その後、各製剤のpHを6.3に調整し、そしてTNFR-fc融合タンパク質（エタネルセプト）の濃度が50mg/mLとなるように製剤を透析に供し、それによって製剤1から製剤3を調製した。さらに、対照液体製剤を、25mMのアルギニン、等張化剤として100mMの塩化ナトリウム及び1.0%のスクロースを、エタネルセプトも含む25mMのリン酸緩衝液中に加え、そしてその後pHを6.3に調整して、調製した。従って、エタネルセプト濃度が50mg/mLである対照製剤を調製した。

【0106】

調製された液体製剤の組成は以下の表4に同じである。

【0107】

10

20

30

40

【表 4】

[表 4]

長期間の保存のための液体製剤の組成						
製剤	製剤の組成					
	エタネルセプト 濃度	緩衝液	NaCl 濃度	スロース 濃度	pH	アミノ酸
製剤1	50 mg/ml	25 mM, クエン酸 -リン酸	115 mM	1.0%	6.3	アルギニン 3 mM ヒスチジン 0.09 mM
製剤2	50 mg/ml	25 mM, クエン酸 -リン酸	115 mM	1.0%	6.3	プロリン 3 mM ヒスチジン 0.09 mM
製剤3	50 mg/ml	25 mM, クエン酸 -リン酸	130 mM	0.1%	6.3	プロリン 3 mM ヒスチジン 0.09 mM
対照製剤	50 mg/ml	25 mM, リン酸	100 mM	1.0%	6.3	アルギニン 25 mM

10

20

30

【0108】

表4のとおり調製された液体製剤の安定性を調べるために、各製剤を1、3及び6ヶ月間、4℃、25℃及び40℃の条件下（3ヶ月間、40℃の条件下）で保存し、そしてその後エタネルセプトの残量を、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー（SE-HPLC）及び疎水性相互作用高速液体クロマトグラフィー（HIC-HPLC）によって測定した。

40

【0109】

測定結果を以下の表5及び6に示す。

【0110】

【表 5】

[表 5]

向上された安定性を有する混合アミノ酸液体製剤における 経時的なイタネルプト純度の測定のためのSE-HPLC												
	製剤	4°C				25°C				40°C		
		0 M	1 M	3 M	6 M	0 M	1 M	3 M	6 M	0 M	1 M	3 M
イタネルプト 純度の減少 (%)	1	0.0	-0.3	-0.6	-1.4	0.0	-2.1	-5.2	-8.9	0.0	-10.4	-25.2
	2	0.0	-0.4	-0.7	-1.4	0.0	-2.2	-6.1	-9.5	0.0	-10.0	-25.3
	3	0.0	-0.3	-0.6	-1.4	0.0	-2.2	-5.4	-9.3	0.0	-10.2	-27.9
	対照	0.0	-0.4	-0.7	-1.4	0.0	-2.2	-5.6	-9.9	0.0	-12.5	-27.4

10

20

【 0 1 1 1 】

【表 6】

[表 6]

向上された安定性を有する混合アミノ酸液体製剤における 経時的なイタネルセプト純度の測定のためのHIC-HPLC												
	製剤	4°C				25°C				40°C		
		0 M	1 M	3 M	6 M	0 M	1 M	3 M	6 M	0 M	1 M	3 M
イタネルセプト 純度の減少 (%)	1	0.0	-0.2	-0.2	-0.7	0.0	-1.7	-3.8	-8.8	0.0	-9.5	-26.5
	2	0.0	-0.2	-0.3	-0.8	0.0	-1.8	-4.3	-8.7	0.0	-8.9	-25.9
	3	0.0	-0.3	-0.3	-0.7	0.0	-1.7	-4.3	-9.1	0.0	-9.2	-29.9
	対照	0.0	-0.2	-0.2	-0.8	0.0	-1.7	-4.5	-9.9	0.0	-11.8	-28.6

10

20

【0112】

また、表 4 に記載の製剤におけるエタネルセプトの熱安定性を決定し、エタネルセプトのタンパク質がアンフォールドする温度を決定するために、エタネルセプトのサーモグラムを示差走査熱量測定 (DSC) により測定した。図 2 は、4 (図 2 A) 及び 25 (図 2 B) での 6 ヶ月の時点における各製剤の DSC サーモグラムを示す。

30

【0113】

CH2 (Tm2)、CH3 (Tm3) のドメインを含むエタネルセプトのFc成分に由来する2つのドメイン、及び細胞外リガンド結合タンパク質、腫瘍壊死因子受容体 (TNFR; Tm1) の存在を示す、Tm1、Tm2、及びTm3の転移温度を有する3つの熱変性状態は明らかであった (N. A. Kim et al., Int. J. Pharm., 460 (1-2), 108-118, 2014)。

40

【0114】

図 2 に示されるように、25 (図 2 B) でのアルギニン及びヒスチジンの混合物を使用する製剤 1 は、対照製剤ならびにプロリン及びヒスチジンの混合物を使用するその他の製剤と比較して、4 (図 2 A) 及び 25 (図 2 B) での保存の間に、Tm1とTm2のピーク間の谷が消失したことを示した。この結果は、製剤 1 におけるエタネルセプトの、Fc成分のCH2ドメイン及び細胞外リガンド結合ドメイン (TNFR) の低下した安定性を示した。

【0115】

さらに、25 及び 40 でのSE-HPLC及びHIC-HPLCの分析結果を示す表 5 及び 6 で確認されるように、プロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物を使用する製剤 (製剤 2 及び 3) は、従来のエタネルセプト製剤の組成物に安定化剤としてアルギニ

50

ンを単独で使用するにより調製された対照製剤と比較して、エタネルセプト溶液の安定性を向上させる効果を示した。

【0116】

これらの結果は、安定化剤としてプロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物を含むエタネルセプト液体製剤は、エタネルセプトの変性を防止し、長期間にわたってその活性を維持するということを実証した。

【0117】

実施例4：混合アミノ酸の組成比によるエタネルセプト液体製剤の安定性試験

アミノ酸の混合物の組成比によって、実施例1から3において従来のエタネルセプト製剤（アルギニンを単独で含む単一製剤）と比較して、それらの製剤が向上された安定性を有すると確認された、プロリン及びヒスチジンの混合物を含むエタネルセプト液体製剤の安定性を調べるために、アミノ酸の混合物の組成比による安定化効果を調べた。すなわち、種々の濃度で安定化剤としてプロリン及びヒスチジンを混合することにより、そして、等張化剤としてスクロース及び塩化ナトリウムの濃度を調節することにより、液体製剤を調製した。

10

【0118】

詳細には、25 mMのクエン酸 - リン酸緩衝液に、安定化剤として0.09 mMのヒスチジン及び3 mMから9 mMのプロリンのアミノ酸の混合物を添加し、そして、0.5%又は0.1%のスクロース及び115 mM又は130 mMの塩化ナトリウムを等張化剤として添加した。その後、各製剤のpHを6.3に調整し、そしてTNFR - fc融合タンパク質（エタネルセプト）の濃度が50 mg/mLとなるように製剤を透析に供し、それによって製剤1から製剤5を調製した。さらに、対照液体製剤を、25 mMのアルギニン、等張化剤として100 mMの塩化ナトリウム及び1.0%のスクロースを、50 mg/mLのエタネルセプトを含む25 mMのリン酸緩衝液中加入し、そしてその後pHを6.3に調整して、調製した。従って、エタネルセプト濃度が50 mg/mLである対照製剤を調製した。

20

【0119】

調製された液体製剤の組成は以下の表7に同じである。

【0120】

【表 7】

【表 7】

プリン及びヒスチジンのアミノ酸組成比による 液体製剤の組成						
製剤	製剤の組成					
	イタネルセプト 濃度	緩衝液	NaCl 濃度	スロース 濃度	pH	アミノ酸
製剤1	50 mg/ml	25 mM, ケン酸 -リン酸	115 mM	0.5%	6.3	
製剤2	50 mg/ml	25 mM, ケン酸 -リン酸	115 mM	0.5%	6.3	プリン 3 mM ヒスチジン 0.09 mM
製剤3	50 mg/ml	25 mM, ケン酸 -リン酸	115 mM	0.5%	6.3	プリン 6 mM ヒスチジン 0.09 mM
製剤4	50 mg/ml	25 mM, ケン酸 -リン酸	115 mM	0.5%	6.3	プリン 9 mM ヒスチジン 0.09 mM
製剤5	50 mg/ml	25 mM, ケン酸 -リン酸	130 mM	0.1%	6.3	
製剤6	50 mg/ml	25 mM, ケン酸 -リン酸	130 mM	0.1%	6.3	プリン 3 mM ヒスチジン 0.09 mM
製剤7	50 mg/ml	25 mM, ケン酸 -リン酸	130 mM	0.1%	6.3	プリン 6 mM ヒスチジン 0.09 mM
対照製剤	50 mg/ml	25 mM, リン酸	100 mM	1.0%	6.3	アルギニン 25 mM

【 0 1 2 1 】

表 7 のとおり調製された液体製剤の安定性を調べるために、各製剤を 2、4 及び 8 週間、25 及び 40 の条件下で保存し、そしてその後イタネルセプトの残量を、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー (SE-HPLC) 及び疎水性相互作用高速液体クロマトグラフィー (HIC-HPLC) によって測定した。

10

20

30

40

50

【 0 1 2 2 】

測定結果を以下の表 8 及び 9 に示す。

【 0 1 2 3 】

【 表 8 】

【表 8】

プロリン及びヒスチジンのアミノ酸組成比の変更による液体製剤における 経時的なイタネルプト純度の測定のためのSE-HPLC									
イタネルプト 純度の減少 (%)	製剤	25°C				40°C			
		0 wk	2 wk	4 wk	8 wk	0 wk	2 wk	4 wk	8 wk
		1	0.0	-1.3	-2.3	-3.9	0.0	-6.1	-10.9
2	0.0	-1.1	-2.0	-3.4	0.0	-5.3	-10.0	-18.0	
3	0.0	-1.2	-2.0	-3.4	0.0	-5.2	-10.0	-18.0	
4	0.0	-1.3	-2.2	-3.7	0.0	-5.5	-9.9	-18.1	
5	0.0	-1.3	-2.4	-4.0	0.0	-5.5	-10.2	-18.0	
6	0.0	-1.2	-2.1	-3.6	0.0	-5.5	-10.2	-18.0	
7	0.0	-1.2	-2.1	-3.6	0.0	-5.2	-9.7	-17.7	
対照	0.0	-1.3	-2.4	-4.0	0.0	-6.3	-11.4	-19.8	

10

20

30

【 0 1 2 4 】

【表 9】

[表 9]

プロリン及びヒスチジンのアミノ酸組成比の変更による液体製剤における 経時的なイタネルセプト純度の測定のためのHIC-HPLC									
イタネルセプト 純度の減少 (%)	製剤	25°C				40°C			
		0 wk	2 wk	4 wk	8 wk	0 wk	2 wk	4 wk	8 wk
		1	0.0	-0.9	-1.6	-3.0	0.0	-5.7	-10.6
2	0.0	-0.9	-1.5	-3.1	0.0	-5.3	-10.2	-19.0	
3	0.0	-0.8	-1.4	-3.0	0.0	-5.1	-10.0	-17.8	
4	0.0	-1.0	-1.6	-2.8	0.0	-5.1	-9.5	-18.2	
5	0.0	-0.9	-1.6	-2.9	0.0	-5.6	-10.4	-18.7	
6	0.0	-0.8	-1.5	-3.0	0.0	-5.3	-10.1	-18.4	
7	0.0	-0.8	-1.5	-3.1	0.0	-5.4	-9.6	-18.0	
対照	0.0	-1.1	-1.8	-3.1	0.0	-6.4	-11.4	-20.3	

10

20

30

【0125】

25 及び 40 °C での SE-HPLC 及び HIC-HPLC の分析結果を示す表 8 及び 9 で確認されるように、プロリン及びヒスチジンのアミノ酸の混合物を使用する製剤は、従来のエタネルセプト製剤の組成物に安定化剤としてアルギニンを使用することにより調製された対照製剤と比較して、エタネルセプト溶液の安定性を向上させる効果を示した。

【0126】

安定化剤として使用される混合アミノ酸の濃度比率による安定性を向上させる効果を調べたところ、6 mM のプロリン及び 0.09 mM のヒスチジンを混合することにより調製された製剤（製剤 3）は、115 mM の塩化ナトリウム及び 0.5 % のスクロースを使用し、プロリン濃度を 3 mM から 9 mM まで変化させることによって調製された、プロリン及びヒスチジンの混合アミノ酸を含む製剤（製剤 2 から製剤 4）の中で最も向上された安定性を示した。

40

【0127】

これらの結果は、プロリン及びヒスチジンの上記組成比で示された、安定化剤として 6 mM のプロリン及び 0.09 mM のヒスチジンの混合アミノ酸を含むエタネルセプト液体製剤が、エタネルセプトの変性を防止し、長期間にわたってその活性を維持するということを実証した。

【0128】

50

まとめると、本発明は、安定化剤としてプロリン及びヒスチジンの混合アミノ酸を含むエタネルセプト液体製剤が、変性を防止して長期間にわたってその活性を維持し、そして、高濃度の塩化ナトリウム及び低濃度のスクロースからなる等張化剤を使用することによって、エタネルセプト溶液の安定性を向上させることができるということを実証した。

【 0 1 2 9 】

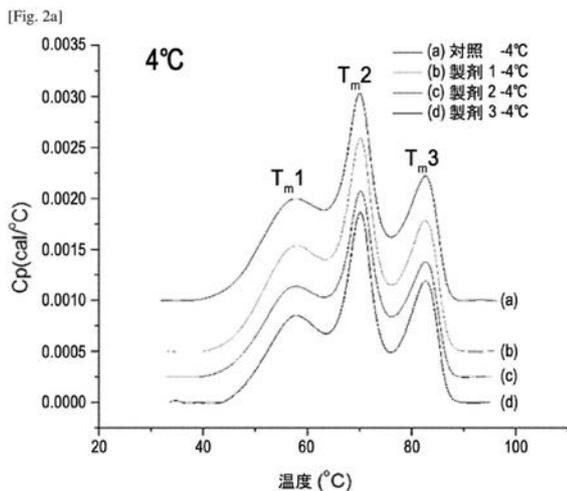
上述の説明に基づいて、本発明はそれらの技術的思想又は本質的特徴を変更することなく、異なる特定の形態で実施されてもよいということが当業者により理解されるであろう。それゆえ、上記実施形態はすべての態様において制限的ではなく例示的であるということが理解されるべきである。本発明の範囲はそれらに先行する説明よりもむしろ添付の特許請求の範囲によって定義され、それゆえ、特許請求の範囲の境界及び範囲、又はそれら境界及び範囲の等価物に入る、すべての変更及び修正はそれによって特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

【 図 1 】

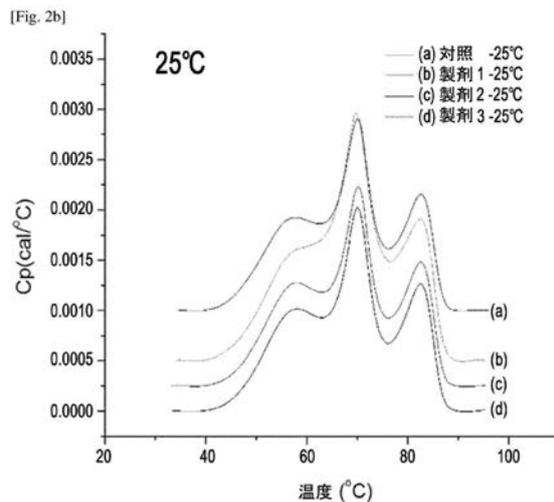
[Fig. 1]

LPAQVAFTPY APEPGSTCRL REYYDQTAQM CCSKSPGQH AKVFCTKTS D TVCDSCEDST	60
YTQLWNVPE CLSCGRCS DQVETQACTR EQNRICTCRP GWYCALSKE GCRLCAPLRK	120
CRPGFVVARP GTETSDVVC PCAPGTFSDT TSSTDICRPH QICNVVAIPG DASMDAVCTS	180
TSPTRSMAPG AVHLQPVS T RSQHTQPTPE PSTAPSTSFL LPMGSPPAE GSTGDEPKSC	240
DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD	300
GVEVHNAKTK PREEQVDSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTIISKAK	360
GQPREPQVYV LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPPLDS	420
DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NWFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPG	

【 図 2 a 】



【 図 2 b 】



【配列表】

2020063261000001.app

【手続補正書】

【提出日】令和1年12月26日(2019.12.26)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

T N F R - F c 融合タンパク質、プロリンとヒスチジンとの混合物、緩衝液及び等張化剤を含む液体製剤であって、該融合タンパク質が T N F R (腫瘍壊死因子受容体)又はそれらの断片及び免疫グロブリン F c 領域を含む、液体製剤。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/26	
A 6 1 K 47/12 (2006.01)	A 6 1 K 47/12	
A 6 1 K 47/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/02	
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/08 (2006.01)	A 6 1 P 25/08	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	A 6 1 K 9/08	
C 1 2 P 21/02 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
	C 0 7 K 19/00	
	C 1 2 P 21/02	C

(74)代理人 100117019

弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(74)代理人 100203828

弁理士 喜多村 久美

(72)発明者 リ チョン テ

大韓民国, テジョン 3 0 5 - 8 0 4 , ユソン - ク, カチョン - 口, 6 3 , 1 0 8 - 6 0 5

(72)発明者 キム イン ヒョク

大韓民国, テジョン 3 0 5 - 8 0 4 , ユソン - ク, カチョン - 口 8 9 ボン - ギル, 1 2 - 2 , 4 0 3

(72)発明者 ユ チェ クン

大韓民国, インチョン 4 0 2 - 0 8 0 , ナム - ク, キョンウォン - デ口, 6 8 9 , 1 1 1 - 9 0 1

(72)発明者 イム チョン イム

大韓民国, テジョン 3 0 2 - 8 6 0 , ソ - ク, ナムソン - 口 9 ボン - ギル, 4 7 - 1 0 セカンド フロア

(72)発明者 チョン ミョン ヒョン

大韓民国, テジョン 3 0 5 - 7 5 2 , ユソン - ク, ソンガン - 口 4 2 ボン - ギル, 6 1 , 2 0 6 - 7 0 3

(72)発明者 アン ヨン ホ

大韓民国, テジョン 3 0 5 - 3 4 0 , ユソン - ク, テドク - デ口, 5 9 6 , 9 0 2

F ターム(参考) 4B064 AG01 CA01 CA19 CC24 DA01

4C076 AA12 AA95 CC01 CC04 CC09 CC18 CC29 CC41 DD23D DD26Z

DD43Z DD51Q DD60Q DD67Q EE41 EE59 FF14 FF61 FF63 FF67

FF68

4C084 AA02 AA03 BA01 BA08 BA22 BA42 CA53 DA53 ZA06 ZA16

ZA89 ZA96 ZB15 ZC02 ZC41

4C085 AA34 AA37 BB42 CC22 DD62 EE01 EE05 EE07 GG01

4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 BA41 DA51 DA75 EA28 FA74

【外国語明細書】

2020063261000001.pdf