

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：97126569

※ 申請日期：97.7.11

※IPC 分類：A61K^{39/395} (2006.01)

C07K^{16/24} (2006.01)

A61P^{19/02} (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

用於肺部投藥TNF α 抑制劑之方法及組合物

METHODS AND COMPOSITIONS FOR PULMONARY
ADMINISTRATION OF A TNF α INHIBITOR

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

百慕達商亞培生物科技公司

ABBOTT BIOTECHNOLOGY LTD.

代表人：(中文/英文)

湯瑪士 C 菲曼

FREYMAN, THOMAS C.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

百慕達群島哈密頓市教堂街2號克里頓屋

CLARENDON HOUSE, 2 CHURCH STREET, HAMILTON HM 11,
BERMUDA

(美國營業所地址：美國伊利諾州亞培公園市亞培公園路100號

100 ABBOTT PARK ROAD, ABBOTT PARK, ILLINOIS 60064-3500,
U.S.A.)

國 籍：(中文/英文)

百慕達 BERMUDA

三、發明人：(共 6 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 路克-丘 里
LI, LUK-CHIU
2. 希義
SHI, YI
3. 正浩 坂上
SAKAGAMI, MASAHIRO
4. 凱瑟琳 尼可森
NICHOLSON, KATHERINE
5. 彼特 R 拜倫
BYRON, PETER R.
6. 湯馬士 L 雷倫
REILAND, THOMAS L.

國 籍：(中文/英文)

- | | |
|------------|--------|
| 1. 美國 | U.S.A. |
| 2. 中華人民共和國 | P.R.C. |
| 3. 日本 | JAPAN |
| 4. 美國 | U.S.A. |
| 5. 美國 | U.S.A. |
| 6. 美國 | U.S.A. |

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項 第一款或 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2007年07月13日；60/959,426

2.

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

此申請案主張2007年7月13日申請之美國臨時申請案第60/959,426號之優先權，其全文係以引用的方式併入本文中。

【先前技術】

由於許多治療性生物製品之較大分子尺寸(例如150 kd抗體)，故治療有效投藥途徑一般限於通常可引起疼痛的(尤其鑒於依靠治療性生物製品之患者通常進行慢性疾病之治療的事實)侵襲性注射。因此，仍需要向患者傳遞治療性生物製品之較少疼痛但有效的方式。

【發明內容】

本發明提供向個體全身傳遞TNF α 抑制劑之改良方法，其中該傳遞方法減輕通常與注射相關之疼痛。本發明亦提供用於向個體肺部局部傳遞TNF α 抑制劑以治療肺部病症之方法。

本發明包括治療患其中TNF α 活性有害之病症的個體之方法，其包含向個體肺部傳遞TNF α 抑制劑，以便治療其中TNF α 有害之病症。本發明亦包括於個體體內達成TNF α 抑制劑之體循環的方法，其包含經由吸入向個體中心及外周肺區投與TNF α 抑制劑，以便達成TNF α 抑制劑之體循環。本發明另外提供於個體體內達成TNF α 抑制劑之體循環的方法，其包含經由吸入向個體外周肺區投與TNF α 抑制劑以便達成TNF α 抑制劑之體循環。

本發明亦包括治療個體肺部病症之方法，其包含向個體

肺部傳遞TNF α 抑制劑，其中肺部投藥包含向個體肺部局部傳遞TNF α 抑制劑。

可將TNF α 抑制劑調配於適用於吸入之組合物中，該組合物包括(例如)可吸入粉末、含推進劑之氣溶膠及不含推進劑之可吸入溶液。在一實施例中，經由乾粉吸入器(DPI)向個體投與可吸入粉末。在一實施例中，經由計量吸入器(MDI)向個體投與含推進劑之氣溶膠。在一實施例中，經由噴霧器向個體投與不含推進劑之可吸入溶液。

在一實施例中，本發明另外包含達成特定藥物動力學參數來肺部傳遞TNF α 抑制劑。舉例而言，在一實施例中，本發明包括對TNF α 抑制劑達成小於或等於約4天之 T_{max} 的方法。在另一實施例中，將TNF α 抑制劑分配至個體之中心肺區以便達成約0.3之P/C比。在另一實施例中，將TNF α 抑制劑分配至個體之外周肺區，以便達成約1.3之P/C比。

在另一實施例中，達成至少約2.3 mg/L之TNF α 抑制劑之最大血清濃度(C_{max})。在一實施例中，達成至少約4.2 mg/L之TNF α 抑制劑之 C_{max} 。在另一實施例中，達成至少約5 mg/L之TNF α 抑制劑之 C_{max} 。在另一實施例中，投與TNF α 抑制劑後達成選自由小於或等於約4天之 T_{max} ，至少約0.99%之絕對生物可用率(F%)及至少約2.3 mg/L之 C_{max} 組成之群的至少一種藥物動力學特徵。在一實施例中，投與TNF α 抑制劑後達成約2天至約4天之 T_{max} 。在一實施例中，投與TNF α 抑制劑後達成約2.3至約5.9 mg/L之 C_{max} 。

本發明亦包括適用於向個體肺部傳遞TNF α 抑制劑之醫

藥組合物。本發明提供包含TNF α 抗體及醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物，其中該醫藥組合物適於為個體吸入且係選自由可吸入粉末或乾粉組合物、含推進劑之氣溶膠及不含推進劑之可吸入溶液或懸浮液組成的群。在一實施例中，醫藥學上可接受之載劑包含乳糖粉末或葡萄糖粉末。

本發明另外提供適於肺部投與TNF α 抑制劑之包含TNF α 抑制劑之裝置或容器。本發明提供用於向個體肺部投與TNF α 抑制劑之乾粉吸入器(DPI)裝置，該DPI裝置包含一儲集器，該儲集器包含含TNF α 抑制劑之可吸入粉末或乾粉組合物；及用於將可吸入粉末或乾粉組合物經由吸入引入個體體內之構件。在一實施例中，DPI裝置為單劑量或多劑量吸入器。在另一實施例中，DPI裝置為預先計量或裝置計量的。

本發明亦提供用於向個體肺部投與TNF α 抑制劑之定劑量吸入器(MDI)裝置，該MDI裝置包含加壓罐，其包含含TNF α 抑制劑及推進劑之氣溶膠；及用於將氣溶膠經由吸入引入個體體內之構件。

本發明另外提供與噴霧器裝置一起用於向個體肺部投與TNF α 抑制劑之容器，該容器包含不含推進劑之可吸入溶液或懸浮液，其包含TNF α 抑制劑。

本發明亦包括經修飾之TNF α 抗體或其抗原結合部分，其具有與表現於肺泡巨噬細胞上之吞噬細胞受體減少之結合。與新生Fc受體(FcRN)具有增多之結合的經修飾TNF α

抗體或其抗原結合部分亦包括於本發明中。在一實施例中，經修飾TNF α 抗體結合至增加將TNF α 抗體自個體肺上皮傳輸至個體血流中之化合物上。在另一實施例中，經修飾TNF α 抗體在Fc域內包含增加TNF α 抗體與FcRn之結合親和力的突變及/或缺失，該等突變包括(例如)在選自由238、256、307、311、312、380及382組成之群的胺基酸位置處之Fc域內的至少一個突變。

在一實施例中，個體為人類。

在一實施例中，個體患有其中TNF α 活性有害之病症，包括(例如)自體免疫病症，脊椎關節病、腸道病症、皮膚病症及肺部病症。

在一實施例中，自體免疫病症為類風濕性關節炎或青少年類風濕性關節炎。

在一實施例中，脊椎關節病為強直性脊椎炎或牛皮癬性關節炎。

在一實施例中，腸道病症為克羅恩氏病(Crohn's disease)。

在一實施例中，皮膚病症為牛皮癬。

在一實施例中，肺部病症為慢性阻塞性肺病或哮喘。

在一實施例中，TNF α 抑制劑為TNF α 抗體或其抗原結合部分或融合蛋白。

在一實施例中，融合蛋白為依那西普(etanercept)。

在一實施例中，TNF α 抗體或其抗原結合部分係選自由英利昔單抗(infliximab)、勾利木單抗(golimumab)及阿達

本單抗(adalimumab)組成之群。

在一實施例中，該TNF α 抗體或其抗原結合部分為選自由人源化抗體、嵌合抗體、人類抗體及多價抗體組成之群的抗體。

在一實施例中，人類TNF α 抗體或其抗原結合部分以藉由表面電漿共振所測定之 1×10^{-8} M或更小之 K_d 及 1×10^{-3} s $^{-1}$ 或更小之 K_{off} 速率常數自人類TNF α 解離，且在標準活體外L929檢定中以 1×10^{-7} M或更小之 IC_{50} 中和人類TNF α 細胞毒性。

在一實施例中，人類TNF α 抗體或其抗原結合部分具有下列特徵：以藉由表面電漿共振所測定的 1×10^{-3} s $^{-1}$ 或更低之 K_{off} 速率常數自人類TNF α 解離；具有輕鏈CDR3域，其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3，或以位置1、4、5、7或8位置處之單一丙胺酸取代或以位置1、3、4、6、7、8及/或9處之一至五個保守胺基酸取代由SEQ ID NO: 3經修飾之胺基酸序列；且具有重鏈CDR3域，其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4或以位置2、3、4、5、6、8、9、10或11處之單一丙胺酸取代或位置2、3、4、5、6、8、9、10、11及/或12處之一至五個保守胺基酸取代而自SEQ ID NO: 4經修飾之胺基酸序列。

在一實施例中，人類TNF α 抗體或其抗原結合部分包含具有CDR3域之輕鏈可變區(LCVR)，該CDR3域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3，或以位置1、4、5、7或8處之單一丙胺酸取代自SEQ ID NO: 3經修飾之胺基酸序列；且包含具

有 CDR3 域之重鏈可變區 (HCVR)，該 CDR3 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 4，或以位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11 處之單一丙胺酸取代自 SEQ ID NO: 4 經修飾之胺基酸序列。

在一實施例中，人類 TNF α 抗體或其抗原結合部分包含輕鏈可變區 (LCVR)，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1；及重鏈可變區 (HCVR)，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 2。

在一實施例中，本發明之方法及組合物包含至少約 40 mg 之 TNF α 抗體或其抗原結合部分。在另一實施例中，本發明之方法及組合物包含約 40-160 mg 之 TNF α 抗體或其抗原結合部分。

【實施方式】

I. 定義

術語 "肺部投藥" 或 "肺部傳遞" 係指藉由吸入經由個體之肺投與 TNF α 抑制劑。

本文中所使用之術語 "吸入" 係指攝取空氣至肺中。在特定實例中，可藉由在吸入時自投與包含 TNF α 抑制劑之調配物或藉由經由呼吸器向 (例如) 呼吸器上之患者投藥來進行攝取。關於調配物所使用之術語 "吸入" 與 "肺部投藥" 同義。

本文中所使用之術語 "中心肺區" 或 "中心氣管" 係指喉遠端之傳導氣管或過渡氣管，其對氣體交換幾乎無或無作用。在人類體內，中心氣管包括氣管、主支氣管、肺葉支氣管、肺段支氣管、小支氣管、細支氣管、末端細支氣管

及呼吸性細支氣管。因此中心氣管占肺中分支之氣管的頭16-19段，其中氣管為零段(0)且肺泡囊為23段(Wiebel (1963) Morphometry of the Human Lung, Berlin:Springer-Verlag, 第1-151頁)。與主要負責空氣與血液之間的氣體交換之外周肺相比，中心氣管負責空氣大體運動。在一實施例中，使TNF α 抑制劑經由淺吸入靶向中心肺區。

本文中所使用之"外周肺區"或"外周氣管"係指中心氣管遠端之肺氣管。

術語" C_{max} "係指試劑投與後於個體體內所觀測到的試劑之最大或峰值血清或血漿濃度。

術語" T_{max} "係指發生 C_{max} 之時間。

術語"生物可用率"或" $F\%$ "係指投與給定劑型後所吸收且進入體循環之劑量分數或百分比。除靜脈內途徑以外可經由任何途徑且較佳經由肺部傳遞來投與該劑量之試劑。

本文中所使用之術語" P/C 比"或" P/C "係指試劑(例如TNF α 抑制劑)於外周肺之沈積與於中心肺區之沈積比較的相對分布量值。

本文中所使用之術語"氣溶膠"係指空氣中之固體及/或液體懸浮液。詳言之，氣溶膠係指顆粒化(particalization)之本發明調配物及其於空氣中之懸浮液。根據本發明，氣溶膠調配物為包含適於氣溶膠化(亦即於空氣中顆粒化且懸浮)以供吸入或肺部投與之補體抑制性蛋白質的調配物。

本文所使用之術語"人類TNF α "(本文中縮寫為hTNF α 或簡稱hTNF)意指以17 kD分泌形式及26 kD膜相關形式存在

之人類細胞激素，其生物活性形式包含非共價結合之17 kD分子之三聚體。hTNF α 之結構另外描述於(例如) Pennica, D.等人(1984) *Nature* 312:724-729；Davis, J.M.,等人(1987) *Biochemistry* 26:1322-1326；及Jones, E.Y.等人(1989) *Nature* 338:225-228中。術語人類TNF α 意欲包括重組人類TNF α (rhTNF α)，其可藉由標準重組表現法製備或可商業上購得(R & D Systems，目錄號210-TA, Minneapolis, MN)。TNF α 亦稱為TNF。

術語"TNF α 抑制劑"包括干擾TNF α 活性之試劑。術語亦包括本文中所述之抗TNF α 人類抗體及抗體部分之每一者，以及描述於美國專利第6,090,382號、第6,258,562號、第6,509,015號及美國專利申請案第09/801185號及第10/302356號中之彼等抗TNF α 人類抗體及抗體部分。在一實施例中，本發明中所使用之TNF α 抑制劑為抗TNF α 抗體或其片段，包括英利昔單抗(Remicade[®]，Johnson及Johnson；在以引用方式併入本文中之美國專利第5,656,272號中所描述)、CDP571(人源化單株抗TNF- α IgG4抗體)、CDP 870(人源化單株抗TNF- α 抗體片段)、抗TNF dAb (Peptech)、CNTO 148(勾利木單抗；Medarex及Centocor，參見WO 02/12502)及阿達木單抗(HUMIRA[®] Abbott Laboratories，人類抗TNF mAb，US 6,090,382中描述為D2E7)。可用於本發明中之額外TNF抗體係描述於各自以引用的方式併入本文中之美國專利第6,593,458號、第6,498,237號、第6,451,983號及第6,448,380號中。在另一

實施例中，TNF α 抑制劑為TNF融合蛋白，例如依那西普(Enbrel[®]，Amgen；描述於以引用的方式併入本文中之WO 91/03553及WO 09/406476中)。在另一實施例中，TNF α 抑制劑為重組TNF結合蛋白(r-TBP-I)(Serono)。

本文中所使用之術語"抗體"意指包含由二硫鍵互連之四條多肽鏈(兩條重鏈(H)及兩條輕鏈(L))的免疫球蛋白分子。各重鏈包含重鏈可變區(本文中縮寫為HCVR或VH)及重鏈恆定區。重鏈恆定區包含3個域(CH1、CH2及CH3)。各輕鏈包含輕鏈可變區(本文中縮寫為LCVR或VL)及輕鏈恆定區。輕鏈恆定區包含一結構域CL。可將VH及VL區進一步再細分為散布有更為保守之區(稱作構架區(FR))的高變區(術語稱為互補判定區(CDR))。各VH及VL包含三個CDR及四個FR，且自胺基端至羧基端按以下順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。本發明抗體更詳細描述於美國專利第6,090,382號、第6,258,562號及第6,509,015號中，該等文獻各自之全文以引用的方式併入本文中。

本文所使用之術語抗體之"抗原結合部分"或"抗原結合片段"(或簡稱"抗體部分")係指保留與抗原(例如hTNF α)特异性結合之能力的抗體之一或多個片段。已展示抗體之抗原結合功能可由全長抗體之片段執行。結合片段包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fabc、Fv、單鏈及單鏈抗體。術語抗體之"抗原結合部分"內所涵蓋的結合片段之實例包括(i) Fab片段，由VL、VH、CL及CH1域組成之單價片段；(ii)

F(ab')₂片段，包含於鉸鏈區以雙硫橋連接之兩個Fab片段的二價片段；(iii)由VH及CH1域組成之Fd片段；(iv)由抗體單臂之VL及VH域組成的Fv片段；(v)dAb片段(Ward等人(1989) *Nature* 341:544-546)，其係由VH或VL域組成；及(vi)經分離之互補判定區(CDR)。此外，儘管Fv片段之兩個結構域VL及VH係由分離基因編碼，但其可使用重組方法藉由能將其製成單蛋白鏈之合成連接子接合，在該單蛋白鏈中VL及VH區成對以形成單價分子(稱作單鏈Fv(scFv)；參見例如Bird等人(1988) *Science* 242:423-426及Huston等人(1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883)。該等單鏈抗體亦意欲涵蓋於術語抗體之"抗原結合部分"內。亦涵蓋單鏈抗體之其他形式，諸如雙功能抗體。雙功能抗體為二價雙特異性抗體，其中VH及VL域係表現於單一多肽鏈上，但使用的連接子過短以致不能在同一鏈上的兩個結構域之間成對，從而迫使該等結構域與另一鏈之互補域成對且創造兩個抗原結合位點(參見例如Holliger等人(1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448；Poljak等人(1994) *Structure* 2:1121-1123)。可用於本發明中之抗體部分更詳細地描述於美國專利第6,090,382號、第6,258,562號、第6,509,015號中，該等文獻各自之全文以引用的方式併入本文中。

此外，抗體或其抗原結合部分可為較大免疫黏附分子之部分，該免疫黏附分子係藉由抗體或抗體部分與一或多個其他蛋白質或肽之共價或非共價締合而形成。該等免疫黏

附分子之實例包括使用抗生蛋白鏈菌素核心區來製造四聚 scFv 分子 (Kipriyanov, S.M., 等人 (1995) *Human Antibodies and Hybridomas* 6:93-101) 及使用半胱胺酸殘基、標誌肽及 C 端聚組胺酸標籤來製造二價及經生物素標記之 scFv 分子 (Kipriyanov, S.M. 等人 (1994) *Mol. Immunol.* 31:1047-1058)。可分別使用諸如全抗體之木瓜蛋白酶或胃蛋白酶消化之習知技術由全抗體製備諸如 Fab 及 F(ab')₂ 片段之抗體部分。此外，如本文所述，可使用標準重組 DNA 技術獲得抗體、抗體部分及免疫黏附分子。

本文中所使用之"保守胺基酸取代"為一個胺基酸殘基經由具有類似側鏈之另一胺基酸殘基取代之胺基酸取代。具有類似側鏈之胺基酸殘基家族已於此項技術中定義，其包括鹼性側鏈(例如離胺酸、精胺酸、組胺酸)、酸性側鏈(例如天冬胺酸、麩胺酸)、不帶電極性側鏈(例如甘胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸)、非極性側鏈(例如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸)、 β -支鏈側鏈(例如蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及芳族側鏈(例如酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸)。

"嵌合抗體"係指重鏈及輕鏈之胺基酸序列各自之一部分與源自特定物種或屬於特定種類之抗體中相應序列同源而該等鏈之其餘區段與來源於另一物種之相應序列同源的抗體。在一實施例中，本發明之特徵為嵌合抗體或抗原結合片段，其中輕鏈與重鏈之可變區模擬源自一種哺乳動物物

種之抗體可變區，而恆定部分與源自另一物種之抗體中的序列同源。在本發明之一較佳實施例中，嵌合抗體係藉由將小鼠抗體之CDR移植於人類抗體之構架區上而製成。

"人源化抗體"係指包含至少一條鏈之抗體，該至少一條鏈包含大體上來自人類抗體鏈(稱為受體免疫球蛋白或抗體)之可變區構架殘基及至少一個大體上來自非人類抗體(例如小鼠)之互補判定區(CDR)。除移植CDR以外，人源化抗體通常經受進一步變更以改良親和力及/或免疫原性。

術語"多價抗體"係指包含一個以上抗原識別位點之抗體。舉例而言，"二價"抗體具有兩個抗原識別位點，而"四價"抗體具有四個抗原識別位點。術語"單特異性"、"雙特異性"、"三特異性"、"四特異性"等等係指存在於多價抗體中之不同抗原識別位點特異性之數目(與抗原識別位點數目相反)。舉例而言，"單特異性"抗體之抗原識別位點均結合同一抗原決定基。"雙特異性"或"雙重特異性"抗體具有至少一個結合第一抗原決定基的抗原識別位點及至少一個結合不同於第一抗原決定基之第二抗原決定基的抗原識別位點。"多價單特異性"抗體具有多個均結合同一抗原決定基之抗原識別位點。"多價雙特異性"抗體具有多個抗原識別位點，其中一些結合第一抗原決定基且一些結合不同於第一抗原決定基之第二抗原決定基。

本文中所使用之術語"人類抗體"意欲包括具有來源於人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區的抗體。本發

明之人類抗體可例如在CDR中且尤其在CDR3中包括未經人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如藉由活體外隨機或位點特異性突變或藉由活體內體細胞突變引入之突變)。然而，本文中所使用之術語"人類抗體"並不意欲包括其中源自另一哺乳動物物種(諸如小鼠)之生殖系的CDR序列已移植至人類構架序列上之抗體。

本文中所使用之術語"重組人類抗體"意欲包括藉由重組方式製備、表現、產生或分離之所有人類抗體，諸如使用轉染至宿主細胞中之重組表現載體表現之抗體(以下進一步描述)，自重組組合人類抗體文庫分離之抗體(以下進一步描述)，自人類免疫球蛋白基因轉殖基因之動物(例如小鼠)分離之抗體(參見例如Taylor等人(1992) *Nucl. Acids Res.* 20:6287)或藉由涉及將人類免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列中之任何其他方式製備、表現、產生或分離之抗體。該等重組人類抗體具有源自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區。然而，在某些實施例中，該等重組人類抗體經受活體外突變(或當使用人類Ig序列轉殖基因動物時，活體內體細胞突變)且因此，該等重組抗體之VH及VL區的胺基酸序列當源自或涉及人類生殖系VH及VL序列時可為非天然存在於活體內人類抗體生殖系譜內之序列。

該等嵌合、人源化、人類及雙重特異性抗體可藉由於此項技術中已知之重組DNA技術產生，例如使用描述於下列文獻中之方法：PCT國際申請案第PCT/US86/02269號；歐

洲專利申請案第184,187號；歐洲專利申請案第171,496號；歐洲專利申請案第173,494號；PCT國際公開案第WO 86/01533號；美國專利第4,816,567號；歐洲專利申請案第125,023號；Better等人(1988) *Science* 240:1041-1043；Liu等人(1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439-3443；Liu等人(1987) *J. Immunol.* 139:3521-3526；Sun等人(1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:214-218；Nishimura等人(1987) *Cancer Res.* 47:999-1005；Wood等人(1985) *Nature* 314:446-449；Shaw等人(1988) *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-1559；Morrison (1985) *Science* 229:1202-1207；Oi等人(1986) *BioTechniques* 4:214；美國專利第5,225,539號；Jones等人(1986) *Nature* 321:552-525；Verhoeyan等人(1988) *Science* 239:1534；及Beidler等人(1988) *J. Immunol.* 141:4053-4060；Queen等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989)；US 5,530,101、US 5,585,089、US 5,693,761、US 5,693,762、Selick等人之WO 90/07861及Winter之US 5,225,539。

本文中所使用之"經分離抗體"意指大體上不含具有不同抗原特異性之其他抗體的抗體(例如特異性結合hTNF α 之經分離抗體大體上不含特異性結合除hTNF α 以外之抗原的抗體)。然而，特異性結合hTNF α 之經分離抗體可對其他抗原(諸如來自其他物種之TNF α 分子)具有交叉反應性。此外，經分離抗體可大體上不含其他細胞物質及/或化學物質。

本文中所使用之"中和抗體"(或"中和hTNF α 活性之抗體")

意指與hTNF α 結合導致抑制hTNF α 之生物活性的抗體。hTNF α 生物活性之此抑制可藉由量測hTNF α 生物活性之一或多個指標來評定，該等指標係諸如hTNF α 誘發之細胞毒性(活體外或活體內)、hTNF α 誘發之細胞活化及hTNF α 與hTNF α 受體結合。hTNF α 生物活性之此等指標可藉由此項技術中已知之若干標準活體外或活體內檢定之一或多者來評定(參見美國專利第6,090,382號)。較佳地，藉由抑制L929細胞之hTNF α 誘發之細胞毒性來評定抗體中和hTNF α 活性之能力。可評定作為hTNF α 誘發之細胞活化之一量度的抗體抑制hTNF α 誘發之ELAM-1於HUVEC上之表現的能力作為hTNF α 活性之額外或替代參數。

本文所使用之術語"表面電漿共振"係指允許藉由(例如)使用BIAcore系統(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden及Piscataway, NJ)偵測生物傳感器基質內蛋白質濃度之改變來分析實時生物特異性相互作用之光學現象。關於進一步描述，參見美國專利6,258,562之實例1及Jönsson等人(1993) *Ann. Biol. Clin.* 51:19；Jönsson等人(1991) *Biotechniques* 11:620-627；Johnson等人(1995) *J. Mol. Recognit.* 8:125；及Johnson等人(1991) *Anal. Biochem.* 198:268。

本文中所使用之術語" K_{off} "意指使抗體自抗體/抗原複合物解離之解離速率常數。

本文中所使用之術語" K_d "意指特定抗體-抗原相互作用之解離常數。

本文中所使用之術語"IC₅₀"意指抑制50%所關注之最大生物終點(例如中和細胞毒性活性)所需之抑制劑濃度。

本文中所使用之術語"劑量"係指投與個體之TNF α 抑制劑之量。

本文中所使用之術語"給藥"係指投與物質(例如抗TNF α 抗體)以達成治療目標(例如治療其中TNF α 活性有害之疾病)。

"給藥方案"描述TNF α 抑制劑之治療時程，例如延長之時段及/或整個處理過程中之治療時程。在一實施例中，給藥方案包含在第0週經由肺部投藥投與第一劑量之TNF α 抑制劑，隨後以雙週給藥方案經由肺部投藥投與第二劑量之TNF α 抑制劑。

本文中所使用之術語"雙週給藥方案"、"雙週給藥"及"雙週投藥"係指向個體投與物質(例如抗TNF α 抗體)以達成治療目標之時程，例如整個治療時程。雙週給藥方案不欲包括每週給藥方案。較佳地，該物質係每9-19天投與；更佳地，每11-17天投與；甚至更佳，每13-15天投與，且最佳，每14天投與。在一實施例中，於治療之第0週於個體中起始雙週給藥方案。在一實施例中，雙週給藥包括於第0週開始每隔一週向個體投與一定劑量之TNF α 抑制劑之給藥方案。在一實施例中，雙週給藥包括每隔一週向個體投與一定劑量之TNF α 抑制劑連續歷時給定時段之給藥方案，該等時段係例如4週、8週、16週、24週、26週、32週、36週、42週、48週、52週、56週等。雙週給藥法亦描

述於以引用的方式併入本文中之US 20030235585中。

術語"多個可變劑量"包括為治療性處理而投與個體之TNF α 抑制劑之不同劑量。"多個可變劑量方案"或"多個可變劑量療法"描述一種治療時程，該治療時程係基於在整個治療過程中在不同時間點投與不同量之TNF α 抑制劑。多個可變給藥方案係描述於PCT申請案第PCT/US05/12007號及US 20060009385中，該等文獻係以引用的方式併入本文中。

如短語"與第二試劑組合之第一試劑"中之術語"組合"包括共同投與第一試劑及第二試劑，例如可將第一試劑及第二試劑溶解於或互混於同一醫藥學上可接受之載劑中；或投與第一試劑隨後投與第二試劑；或投與第二試劑隨後投與第一試劑。因此，本發明包括組合治療性處理之方法及組合醫藥組合物之方法，其中經由肺部投藥傳遞該等試劑中之一或兩者。

如在短語"伴隨治療性處理"中之術語"伴隨"包括在第二試劑存在下投與試劑。伴隨治療性處理法包括共同投與第一、第二、第三或額外試劑之方法。伴隨治療性處理法亦包括在第二或額外試劑存在下投與第一或額外試劑之方法，其中(例如)可預先投與該第二或額外試劑。伴隨治療性處理法可由不同參與者逐步執行。舉例而言，一參與者可向個體投與第一試劑且第二參與者可向個體投與第二試劑，且投藥步驟可同時或幾乎同時或在間隔時間下執行，只要第一試劑(及額外試劑)在第二試劑(及額外試劑)存在

下投與即可。參與者與個體可為相同實體(例如人類)。

本文中所使用之術語"組合療法"係指投與兩種或兩種以上治療物質，例如抗TNF α 抗體及另一藥物。其他藥物可與抗TNF α 抗體伴隨投與，可在投與抗TNF α 抗體之前或之後投與。

本發明上下文中所使用之術語"處理"意謂包括用於治療其中TNF α 活性有害之病症的治療性處理以及預防性或抑制性措施。舉例而言，術語處理可包括在其中TNF α 活性有害之病症發作前或後肺部投與TNF α 抑制劑，藉此預防或消除疾病或病症之徵象。作為另一實例，在出現其中TNF α 活性有害之病症的臨床表現後投與TNF α 抑制劑來對抗與其中TNF α 活性有害之病症相關之症狀及/或併發症及病症構成疾病之"處理"。此外，在發作後及在出現臨床症狀及/或併發症後肺部投與試劑(其中投藥影響疾病或病症之臨床參數且可能改善疾病)構成其中TNF α 活性有害之病症的"處理"。

彼等"需要治療"者包括已患其中TNF α 活性有害之病症的哺乳動物，諸如人類，包括待預防疾病或病症之彼等哺乳動物。

本發明之各種態樣在本文中進一步詳細描述。

II. 肺部投藥之方法及組合物

肺部投與TNF α 抑制劑(例如TNF α 抗體)提供對更傳統藥物傳遞方式(例如皮下及靜脈內)之有利替代。藉由吸入用於治療病症之TNF α 抑制劑，個體能夠避免與針管注射相

關之疼痛，且仍達成產生治療效果之TNF α 抑制劑之體循環。

因此，本發明係關於經由肺部投藥向個體投與TNF α 抑制劑(例如TNF α 抗體)之方法及組合物。本發明亦係關於治療患其中TNF α 活性有害之病症之個體的方法，其包含向個體肺部傳遞TNF α 抑制劑，以便治療其中TNF α 有害之病症。

本發明亦提供特定藥物動力學參數，其致使成功地肺部傳遞TNF α 抑制劑(例如TNF α 抗體)，以便TNF α 抑制劑達到治療所需血清含量。在一實施例中，經由吸入向個體傳遞TNF α 抑制劑(例如TNF α 抗體)，使得達成小於或等於約4天之 T_{max} 。在另一實施例中，吸入TNF α 抑制劑產生至少約2.3 mg/l之TNF α 抑制劑的最大血清濃度(C_{max})。在一實施例中，達成至少約2.3 mg/l、2.4 mg/l、2.5 mg/l、2.6 mg/l、2.7 mg/l、2.8 mg/l、2.9 mg/l、3.0 mg/l、3.1 mg/l、3.2 mg/l、3.3 mg/l、3.4 mg/l、3.5 mg/l、3.6 mg/l、3.7 mg/l、3.8 mg/l、3.9 mg/l、4.0 mg/l、4.1 mg/l、4.2 mg/l、4.3 mg/l、4.4 mg/l、4.5 mg/l、4.6 mg/l、4.7 mg/l、4.8 mg/l、4.9 mg/l及5.0 mg/l、5.1 mg/l、5.2 mg/l、5.3 mg/l、5.4 mg/l、5.5 mg/l、5.6 mg/l、5.7 mg/l、5.8 mg/l、5.9 mg/l及6.0 mg/l之 C_{max} 。於經由肺部方式接收TNF α 抑制劑之個體血清中產生治療含量之TNF α 抑制劑(例如人類TNF α 抗體)的包括於本發明中之其他藥物動力學特徵包括小於或等於約4天之 T_{max} ，約2天至約4天之 T_{max} ，至少約0.99%

之絕對生物可用率(F%)，約2.3至約5.9 mg/L之 C_{max} 及至少約2.3 mg/L之 C_{max} 。

本發明亦包括向個體肺部傳遞TNF α 抑制劑，以便達成TNF α 抑制劑之體循環，其中將TNF α 抑制劑傳遞至中心肺區或傳遞至外周肺區。根據本發明之方法，經由肺部投與TNF α 抑制劑(例如TNF α 抗體)之體循環可經由中心肺區、外周肺區或兩個肺區來達成。因此，在一實施例中，本發明係關於在個體體內達成TNF α 抑制劑之體循環之方法，其包含經由吸入向個體中心肺區投與TNF α 抑制劑，以便達成TNF α 抑制劑之體循環。在另一實施例中，本發明係關於在個體體內達成TNF α 抑制劑之體循環的方法，其包含經由吸入向個體外周肺區投與TNF α 抑制劑，以便達成TNF α 抑制劑之體循環。

在一實施例中，由個體吸入TNF α 抑制劑靶向個體之中心肺區以達成TNF α 抑制劑之體循環。研究表明來自肺氣管之Fc融合蛋白的載劑介導之全身性吸收係可能的(Bitonti等人(2004)*PNAS* 101:9763)。咸信此吸收為經由其特異性結合轉運子(新生恆定區片段(Fc)受體(FcRn))介導，同時於FcRn定位似乎更豐富之支氣管氣管中佔優勢的轉胞吞作用(Bitonti等人(2004))。WO 04/004798(2004)描述傳遞至Fc融合蛋白之中心肺區(包括EPO-Fc)的氣溶膠。本發明描述用於達成TNF α 抑制劑(亦即TNF α 抗體)之成功中心氣管傳遞的方式，從而表明可藉由吸入向個體投與TNF α 抗體。

在一實施例中，個體吸入TNF α 抑制劑靶向個體外周區以達成TNF α 抑制劑之體循環。已展示外周肺區有利於吸收經由吸入傳遞之試劑，因為外周肺區具有最大量之可用於吸收之表面積(參見Yu等人(1997)*Crit Rev Therapeutic Drug Carrier Systems* 14:395)。

P/C比表示作為向外周肺有效投與試劑之量度的滲透指數。在一實施例中，本發明提供達成TNF α 抑制劑之體循環的方法，其中TNF α 抑制劑分布於個體之中心肺區以便達成約0.3之P/C比。在一實施例中，本發明提供達成TNF α 抑制劑之體循環的方法，其中TNF α 抑制劑分布於個體之外周肺區，以便達成約1.3之P/C比。

肺部投藥可藉由熟習此項技術者已知之合適方式實現。肺部投與TNF α 抑制劑需要在吸入期間將生物活性物質自傳遞裝置分配至個體之口腔中。出於本發明之目的，視所使用之傳遞裝置而定，經由吸入氣溶膠或獲自含水或不含水溶液或懸浮液形式或固體或乾粉形式之醫藥組合物的其他合適製劑投與包含TNF α 抑制劑之組合物。該等傳遞裝置於此項技術中係熟知的且包括(但不限於)噴霧器、計量吸入器及乾粉吸入器或使得以含水或不含水溶液或懸浮液或以固體或乾粉形式分配醫藥組合物之任何其他適當傳遞機構。

經由肺部投藥(包括向中心及/或外周肺區直接傳遞)向個體傳遞TNF α 抑制劑(包括TNF α 抗體或其抗原結合部分)之方法包括(但不限於)乾粉吸入器(DPI)、計量吸入器(MDI)

裝置及噴霧器。

乾粉吸入器(DPI)裝置

在一實施例中，經由乾粉吸入器(DPI)將TNF α 抑制劑(包括TNF α 抗體或其抗原結合部分)傳遞至個體。DPI係用以使用個體吸氣將乾粉傳遞至肺來傳遞固體或乾粉形式而非霧狀物之試劑，諸如TNF α 抑制劑。使用DPI來吸進(吸入)TNF α 抑制劑，使得其直接進入個體之肺中。DPI為不含推進劑之裝置，其中將傳遞用之試劑與此項技術中已知之合適載劑摻合。用於DPI裝置中之單位劑量之試劑通常為硬膠囊乾粉發泡片。DPI產生被吸入之可分散及穩定乾粉調配物，包括噴霧乾燥、噴霧冷凍乾燥及微粒化研磨調配物。已使用DPI裝置來傳遞大分子試劑，包括胰島素、干擾素(IFN)及生長激素(GH)。

DPI裝置之實例包括(但不限於)以下：

AIR[®]吸入器(Alkermes)包括傳遞來自膠囊之多孔粉末的小型呼吸活化系統(參見WO 99/66903及WO 00/10541)。多孔顆粒具有1-5 μm 之空氣動力學直徑且係藉由噴霧乾燥製備。已使用AIRTM吸入器來傳遞舒喘寧(albuterol)、腎上腺素、胰島素及hGH。

TurboHaler[®](AstraZeneca)亦為可用於本發明方法中且描述於以引用的方式併入本文中之EP專利0799067中之DPI。此DPI裝置為具有提供高達200劑量之藥物調配物且劑量在幾微克至0.5 mg範圍內之多劑量儲集器的吸氣流驅動之多劑量乾粉吸入器。TurboHalerTM之實例包括Pulmicort[®](亦

為Pulmicort® TurbuHaler®)，其傳遞經指示用於每日一次或兩次哮喘維持治療之布地奈德(budesonide)(一種消炎糖皮質激素)；Oxis®(福莫特羅(formoterol))，其為用於每日一次或兩次哮喘維持療法之長效快速作用 β 2促效劑，及Symbicort®(布地奈德/福莫特羅)，其於單一吸入器中含有皮質類固醇布地奈德及快速及長效支氣管擴張劑福莫特羅。

Eclipse™(Aventis)表示能夠傳遞高達20 mg調配物之呼吸致動可再用膠囊裝置。隨著個體吸入將粉末自膠囊吸入渦旋室中，於其中旋轉球幫助粉末分解(參見US 6230707及WO 9503846)。

可用於本發明之方法及組合物中之另一DPI裝置包括Ultrahaler®(Aventis)，其於裝置中組合精確劑量計量及優良之分散液，於具有數字劑量計數器、獲取劑量指示器及鎖定機構之易於使用之分離型袖珍裝置中提供一月療法。該裝置能夠傳遞高達20 mg調配物。Ultrahaler®係描述於US 5678538及WO 2004026380中。

可用於本發明之方法及組合物中之另一DPI裝置包括Bang Olufsen呼吸致動吸入器，其為使用具有高達六十劑量之發泡條包裝之呼吸致動吸入器。僅在藉由新穎觸發機制之吸入期間使該劑量可用。該裝置裝備有劑量計數器且最可能在使用所有劑量後拋棄(參見EP1522325)。

描述於WO 94/19042(Bespak)中之主動式DPI(如下所述亦可用作MDI)包括一種裝置，其為採用多個碳纖維刷剛毛

狀電極將粉末及氣溶膠分散為細粉/顆粒/霧狀物之手持式獨立單元。患者吸入時，1至10千伏通過電極以分散粉末/氣溶膠。採用包含回應通道中空氣壓力變化而彎曲且藉此產生所感應之表示吸入之信號的壓電膜之呼吸感應器來起始放電。

HandiHaler[®](Boehringer Ingelheim GmbH)為可傳遞膠囊中高達30 mg經調配藥物之單劑量DPI裝置(參見WO 2004024156)。此裝置之實例為Spiriva[®](溴化噻托銨(tiotropium bromide))，其向肺中傳遞18 mcg劑量中之3.6 mcg。

PADD DPI(Britannia Pharmaceuticals)為能夠傳遞高達100 mg調配物之加壓氣溶膠乾粉傳遞裝置。該系統利用以細粉末形式製備之新穎調配物，其包含表面活性磷脂、二軟脂醯基磷脂醯膽鹼(DPPC)及磷脂醯甘油(PG)。PADD裝置提供使用推進劑供能裝置可能之最高有效負載。(參見US 6482391)。

可於本發明之方法及組合物中使用之另一DPI裝置包括Pulvinal[®]吸入器(Chiesi)，其為呼吸致動多劑量(100劑量)乾粉吸入器(參見US 5351683)。將藥物乾粉儲存於透明且經清楚標示來指示何時傳遞第100劑量之儲集器中。使用Pulvinal吸入器來傳遞呼吸道藥物，諸如沙丁胺醇(salbutamol)(Butovent[®] Pulvinal[®])、倍氯米松(beclomethasone)(Clenil[®] Pulvinal[®])以及布地奈德及福莫特羅。

可用於本發明之方法及組合物中之另一DPI裝置包括

NEXT DPI™，其為具有多劑量容量、防潮性及劑量計數之裝置。無論定向(倒置)如何，僅在達到適當呼吸流時，才可在一定劑量下使用裝置(參見 EP 1196146、US 6528096、WO 0178693、WO 0053158)。

亦可將 DirectHaler™ (Direct-Haler A/S)用於本發明之方法及組合物(參見 US 5,797,392)中。此裝置為由聚丙烯製成之單劑量、預計量、預填充、拋棄式 DPI 裝置。裝置為類似桿狀之 72 mm 長的透明單劑量 DPI 裝置且已用以傳遞布地奈德及福莫特羅之調配物。

Accuhaler/Diskus™(GlaxoSmithKline)為固持高達 60 劑量包含於雙箔發泡條中以提供防潮性之拋棄式小型 DPI 裝置(參見 GB 2242134)。已將其用以傳遞丙酸氟替卡松(fluticasone propionate)/ 羥萘甲酸沙美特羅(salmeterol xinafoate)、丙酸氟替卡松、羥萘甲酸沙美特羅及沙丁胺醇。

此外，該等方法可包括 FlowCaps®(Hovione)，其為固持高達 14 個膠囊之基於膠囊之可再填充的可再用被動式乾粉吸入器。FlowCaps®為筆狀的且量測長度為約 11 cm，直徑為 2 cm。吸入器自身為防潮的(參見 US 5673686)。

在一實施例中，用於本發明中之 DPI 裝置為 Clickhaler®(Innovata PLC)，其為大儲集器呼吸致動之多劑量裝置(參見 US 5437270)。其係用以使用多種藥物(包括沙丁胺醇(Asmasal®)，倍氣米松(Asmabec®)及鹽酸丙卡特羅(Meptin®)以及布地奈德及福莫特羅)來治療哮喘及 COPD。

可用於本發明中之包含儲集器之另一 DPI 裝置包括 Duohaler[®](Innovata PLC)，其為固定組合療法多劑量 DPI(參見 WO 0139823)。其具有兩個獨立儲集器，該等儲集器將兩種獨立調配物饋入獨立計量室中，同時自該等計量室將藥物傳遞至患者，此方法克服共同調配之問題。因此，Duohaler[®]理想地適用於傳遞用於哮喘及 COPD 之固定組合療法。

在一實施例中，用於本發明中之 DPI 裝置為 S2 單位劑量 (Innovata PLC)，其為用於傳遞廣泛範圍之高濃度治療劑的可再用或拋棄式單劑量 DPI。其分散機制意謂需要最小患者作用力來確保至患者肺部之極佳藥物傳遞，其為對於全身藥物傳遞而言特別有益的特徵。S2 易於使用且具有被動引擎，故不需要電池或電源(參見 AU 3320101)。

在本發明之方法及組合物中可使用之另一 DPI 裝置包括 Taifun[®] DPI(LAB International)，其為呼吸致動且與流率無關之多劑量(高達 200)DPI 裝置。該裝置係由獨特水分平衡藥物儲集器聯同用於一致給藥之有專利權之容量劑量計量系統組成(參見 US 6132394)。

在一實施例中，用於本發明中之 DPI 裝置為包含攝取部分、混合部分及吹口之 MedTone[®](Mannkind Corp.，參見 WO 0107107)。將吹口藉由旋轉接合連接至混合部分上。攝取室包含具有楔形活塞桿及彈簧之活塞，及一或多個滲透孔來調節穿過裝置之空氣流。混合部分固持含有乾粉藥劑之具有洞之膠囊且此後在攝取部分與吹口成特定角度時

打開及關閉膠囊。混合部分為對穿過混合室之空氣賦予氣旋流之文氏管室(Venturi chamber)。吹口包括壓舌板，及接觸使用者嘴唇以告知使用者DPI位於正確位置之突起。用於治療糖尿病之Technosphere[®]胰島素系統係由乾粉胰島素Technosphere[®]調配物(參見US 2004096403)及MedTone[®]吸入器(粉末經由其被吸入深肺中)組成。待以微粒形式傳遞之藥物粉末調配物具有0.5與10微米之間之尺寸範圍，較佳在二至五微米之範圍內，其係由在大於6.4之pH值下釋放藥物之材料形成。

可用於本發明之方法及組合物中之另一DPI裝置包括Xcelovair™(Meridica/Pfizer)且具有在5-20 mg範圍內之60預定計量的經密封之劑量。該裝置在40°C/75% RH之促進條件下提供防潮性。分散系統使細顆粒部分傳遞最大化以達成高達50%之細顆粒質量。

可用於本發明之方法及組合物中之另一DPI裝置包括MicroDose[®] DPI(Microdose Technologies)，其為使用壓電振動器(超音頻率)來分解鋁發泡包(單劑量或多劑量)中之藥物粉末(小或大分子，純化學物質或高達3 mg藥物之藥物與乳糖的混合物)之小電子DPI裝置(參見US 6026809)。將其用於肺部傳遞胰島素。

在一實施例中，用於本發明中之DPI裝置為Nektar Pulmonary Inhaler[®](Nektar)，其經設計以有效地自包裝中移除粉末，粉碎顆粒且產生適用於深肺傳遞之氣溶膠雲(參見AU 4090599，US 5740794)。其經設計以使經氣溶膠

化顆粒能夠在患者呼吸期間自裝置傳輸至深肺中，降低咽喉與上氣道中之損失。使用壓縮氣體以使粉末氣溶膠化。此DPI裝置係用於Exubera[®]可吸入胰島素(Pfizer, Sanofi-Aventis及Nektar)，以及用以投與妥布拉黴素(tobramycin)、亮丙立德(leuprolide)及單鏈抗體。

本發明中亦包括Nektar Dry Powder Inhaler[®](Nektar)，其為手掌大小且易於使用，且在與Nektar Pulmonary Technology[®]組合使用時提供自標準膠囊之便利給藥及流率無關之肺沈積(參見US 2003094173)。Nektar DPI適用於大分子或小分子，對於較大有效負載(2-50 mg)而言為理想的。此拋棄式裝置經設計以供短期使用。使用此裝置來傳遞用於患囊腫性纖維化之患者體內的絲狀纖維感染(ling infection)之妥布拉黴素吸入粉末及用於治療真菌感染之吸入式兩性黴素B。

本發明中亦包括Oriel[™] DPI，其為利用壓電膜及非線性振動以使粉末調配物氣溶膠化之主動式DPI(參見WO 0168169)。

此外，可將EasyHaler[®](Orion Pharma)用於本發明之方法及組合物中。EasyHaler[®]為用於肺及鼻傳遞之多劑量乾粉吸入器，且儘管防潮性不能用於敏感性藥物，但提供局部肺傳遞之優良效率(參見WO 02102444)。EasyHaler[®]包括Beclomet EasyHaler[®]/Atomide EasyHaler[®](二丙酸倍氯米松)及Buventol EasyHaler[®]/Salbu EasyHaler[®](沙丁胺醇)。

本發明中亦包括Jethaler[®](Pulmotec)，其利用用於無CFC

乾粉吸入之MAG(機械氣溶膠產生)技術。MAG技術係基於機械氣溶膠產生原理，其中吸入劑量係以機械方式由高度壓縮之固體產生。使用JetHaler[®]來傳遞布地奈德(Budesonid-ratiopharm[®])。

可用於本發明之方法及組合物中之另一DPI裝置包括Accu-Breathe[™]單劑量DPI(Respirics)，其為在達成預定呼吸流率時傳遞劑量之單劑量裝置(參見WO 03035137，US 6561186)。此DPI裝置能夠使用新穎雙重膠囊包裝系統來傳遞多個調配物。

本發明中亦包括Acu-Breather[™]多劑量DPI(Respirics)，其使用能夠固持25-50 mg粉末之aclar/PVC防潮發泡濾筒(分別為30劑量及15劑量裝置)且能夠同時固持及傳遞兩種不同藥物調配物(參見US 6561186)。該裝置使用i-Point[™]技術，其使得在達到預定呼吸流率時釋放藥劑。調節流率(工廠設置)可使藥物傳遞靶向向下氣道或上氣道。裝置亦具有累積劑量計數器。

本發明亦包括Twisthaler[®](Schering-Plough)，其為具有較好劑量計數特徵之多劑量裝置且能夠具有14-200次致動(US 5829434)。將調配物包裝於含有乾燥劑之濾筒中。包括此DPI裝置之產品包括Asmanex Twisthaler(糠酸莫美他松(mometasone furoate))。

可用於本發明之方法及組合物中之另一DPI裝置包括SkyeHaler[®] DPI(SkyePharma)，其為於單次使用或可置換濾筒中含有高達300個別劑量之多劑量裝置(參見US

6182655，WO 97/20589)。給藥機構可操作200 mcg至5 mg之個別劑量。該裝置係藉由呼吸供能且不需要在呼吸與致動之間協調。此DPI裝置包括於Foradil Certihaler[®](反丁烯二酸福莫特羅)中。

本發明中亦包括Novolizer[®](Meda AB)，其為具有劑量計數器之可再填充、多劑量、呼吸致動之乾粉吸入器(US 5840279，US 6071498，WO 9700703)。裝置係與含有高達300個單劑量之大塊藥物粉末之再填充濾筒一起使用。Novolizer包括於下列各物中：布地奈德200 µg Novolizer[®]；沙丁胺醇100 µg Novolizer[®]；Fomoterol Novolizer[®]；Budesonide Novolizer[®] 400 µg。

可用於本發明之方法及組合物中之另一DPI裝置包括Blister Inhaler[™](Meda AB)，其為具有劑量計數器之可再填充、多劑量、呼吸致動之乾粉吸入器(US 5881719，WO 9702061)。裝置係與含有高達300個單劑量之大塊藥物粉末的再填充濾筒一起使用。裝置能夠傳遞水分敏感性化合物(例如蛋白質及肽)。

其他DPI裝置包括SpinHaler[®](Aventis and Rhone-Poulenc Rorer；一種利用明膠膠囊來固持用於治療支氣管哮喘的包括色甘酸鈉之微粒化藥物之單劑量吸入器)；單位劑量DPI(Bespak；一種傳遞單一單位劑量之粉末化藥物的裝置，其中該裝置在罐/儲集器中含有粉末化藥物調配物，含有入口閥、膜、柱塞及刺穿尖端，參見US 2003178440)；DiskHaler[®](GlaxoSmithKline；一種用於局部肺傳遞之多劑

量裝置(4-8個劑量)，參見US 5,035,237)；Rotahaler[®](GlaxoSmithKline)，其為利用膠囊之單次使用裝置(參見US 5673686，US 5881721)；LABHaler[®](LAB International；其為用於乾粉藥劑之呼吸致動之拋棄式單劑量吸入裝置，且係由以傳遞區與吹口之間的風管(air-duct)(空氣/粉末混合器)組成的一個組件製成)；AirMax[™](Ivax；多劑量儲集吸入器，其中以在使用者壓下負載彈簧之鉸鈕時被擠壓之少量空氣來計量劑量；參見US 5503144)；Aerolizer[™](Novartis)，(其為藥劑係儲存在膠囊中且係藉由以TEFLON塗覆之鋼針刺穿膠囊壁而釋放之單劑量乾粉吸入器；參見US 6488027，US 3991761)；Rexam DPI(Rexam Pharma；參見US 5651359及EP 0707862；一種經設計與膠囊一起使用之單劑量可再用裝置)；珠粒多劑量吸入器(Valois；WO 0035523、US 6056169、US 2005087188；基於來自Elan/Dura/Quadrant之經許可裝置引擎之多劑量DPI肺部傳遞裝置)；Aspirair[®](Ventura；WO 02/089880；利用低壓空氣來使高達5 mg乾粉調配物氣溶膠化以供自肺全身傳遞應用之單劑量呼吸致動之DPI)；及Gyrohaler[®](Ventura；GB 2407042；含有具有一月劑量之發泡條以供向肺局部傳遞藥物之被動拋棄式DPI)。

適用於根據本文中之方法使用之可購得的乾粉吸入器之其他實例包括Spinhaler[®]粉末吸入器(Fisons)及Ventolin[®] Rotahaler[®](GlaxoSmithKline)。亦參見描述於以引用的方式併入本文中之WO 93/00951、WO 96/09085、WO

96/32152及美國專利第5,458,135號、第5,785,049號及第5,993,783號中之乾粉傳遞裝置。

在一實施例中，本發明提供用於向個體肺部投與TNF α 抑制劑之乾粉吸入器(DPI)裝置，其中該DPI裝置包含一儲集器，該儲集器包含含TNF α 抑制劑之可吸入粉末或乾粉組合物；及用於將可吸入粉末或乾粉組合物經由吸入引入個體體內之構件。本發明亦提供包含TNF α 抑制劑且係經由乾粉吸入器(DPI)向個體投與之可吸入粉末。

用於本發明中之DPI裝置可為單劑量或多劑量吸入器。此外，用於本發明中之DPI裝置亦可為預定計量或裝置計量的。

定量吸入器(MDI)裝置

在一實施例中，將TNF α 抑制劑(包括TNF α 抗體或其抗原結合部分)經由定量吸入器(MDI)裝置傳遞至個體。MDI裝置使用推進劑將可再現經計量藥物劑量傳遞至肺且包含藥物或試劑、推進劑(例如氫氟烷烴(HFA))、界面活性劑(例如磷脂醯膽鹼、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯肌醇、溶血磷脂醯膽鹼、磷脂酸、甘油三酯、單甘油酯、大豆卵磷脂、脂肪酸及烷基多醣苷)及溶劑。MDI裝置通常為包括罐、計量閥及隔片之緻密加壓分配器。藉由MDI裝置投與之劑量一般係以mg計且在約25至100 mL體積範圍內。此外，MDI裝置為有利的，因為其防干擾。

不含CFC之MDI產物之實例包括Albuterol[®] HFA(Ivax)、Atrovent[®]-HFA(Boehringer-Ingelheim)、Proventil[®]-HFA(3M)、

Flovent[®]-HFA(GSK)、Qvar[®](3M)、Ventolin[®] HFA(GSK)、Xopenex[®] HFA(3M/Sepracor)、Salamol Easi-Breathe[®] CFC-Free(Ivax)、Berotec[®](Boehringer-Ingelheim)、Berodual[®](Boehringer-Ingelheim)、Intal[®] Forte(Rhone/Aventis)及Seretide[®] EvoHaler[®](GSK)。

MDI裝置之實例包括(但不限於)以下：

在一實施例中，本發明提供用於向個體肺部投與TNF α 抑制劑之MDI裝置，其中MDI裝置為AutoHaler[®](3M)(參見US 6120752)。用以傳遞治療劑之AutoHaler[®]裝置之實例包括Aerobid[®](氟尼縮松(flunisolide))、Alupent[®](硫酸奧西那林(metaproterenol sulphate))、Atrovent[®]/Atovent[®]-HFA(溴化異丙托銨(ipratropium bromide))、Combivent[®](硫酸舒喘寧(albuterol sulfate)/溴化異丙托銨)、MaxAir[®] AutoHaler[®](乙酸吡布特羅(pirbuterol acetate))、Proventil[®]-HFA(硫酸舒喘寧)、Qvar[®](二丙酸倍氯米松)及Xopenex[®] HFA(鹽酸左旋沙丁胺醇)。

可用於本發明之方法及組合物之另一MDI裝置包括MD Turbo[™](Accentia Bio)，其為與MDI一起使用來改良患者協調性及傳遞之呼吸致動輔助裝置，其可將超過90%之分配定量吸入器轉化為呼吸致動劑量計數吸入器。其特徵包括：協調MDI致動與患者呼吸之i-Point技術(預定吸氣壓活化)；追蹤吸入器中剩餘劑量數之劑量計數機構；由於可接受許多目前許可之MDI產物的多功能性；及易於使用(兩步操作來傳遞劑量)。

在一實施例中，本發明提供用於向個體肺部投與TNF α 抑制劑之MDI裝置，其中該MDI裝置為WatchHaler[®](Activaero GmbH)，其為由機械閥/氣球控制之MDI持續吸入流動裝置。該裝置降低吸入流率以改良對兒童之氣溶膠給藥。其特徵包括由機械閥控制之持續吸入流；由氣球限制吸入體積；高胸腔內沈積可再現劑量；純機械驅動，無電子設備及視覺吸入控制。

亦可將EZ Spacer[®]用於本發明之方法及組合物中。EZ Spacer[®](AirPharma)為經設計以與大部分定量吸入器一起使用之攜帶式藥物傳遞系統。EZ Spacer[®]因透明儲集袋在藥物被吸入時崩解，故具有治療何時完成之視覺信號。其特徵包括：可崩解性：提供患者正確吸入及其接收其藥劑之視覺提示；攜帶式及緻密性：適合置於口袋中；耐用性：經設計使用至少1年；適合所有定量吸入器；可在有遮罩或無遮罩下使用。

在一實施例中，將Asmair[®](Bang and Olufsen Medicom AS)用於本發明中。Asmair[®]為具有累積劑量計數裝置及輔助點火機構之MDI，使得患者易於使用。其特徵亦包括單劑量計數器。

在一實施例中，本發明包括主動式DPI/MPI裝置(Bespak)，其為採用多個碳纖維刷剛毛狀電極來將粉末及氣溶膠分散為細顆粒/霧狀物之裝置(參見WO 9419042)。當患者吸入時，1至10千伏通過電極以分散粉末/氣溶膠。採用包含回應通道中空氣壓力變化且藉此產生所感應之表

示吸入之信號的壓電膜之呼吸感應器來起始放電。與加壓分配容器一起裝配之計量閥，該閥門包含在界定計量室之閥體內可同軸滑動之閥桿；在閥體與閥桿之間密封之內部密封及外部密封；及位於閥體上用於相對加壓分配容器頸部密封之密封墊，其中內部密封、外部密封或密封墊中之至少一者係與閥體之至少一部分共同模製形成。

在一實施例中，本發明提供用於向個體肺部投與TNF α 抑制劑之MDI裝置，其中MDI裝置為用於傳遞於由氫氟烷烴(HFA)組成之推進劑中的於溶液中包含活性成份之經計量氣溶膠的裝置(參見WO 0149350；Chiesi)。

可用於本發明中之MDI裝置之其他實例包括描述於US 6,170,717中之MDI吸入器(GlaxoSmithKline)；EasiBreath[®] MDI(Ivax；WO 0193933、US 5447150)；MDI呼吸協調吸入器及呼吸致動吸入器(Kos；CA 2298448及WO 2004082633；呼吸協調吸入器係由經模製之塑膠構建且經設計以接受標準罐濾筒；及一種用於使用HFA推進劑傳遞諸如胰島素之生物製品的裝置)；Tempo[™](MAP Pharma；US 6095141、US 6026808及US 6367471；利用標準氣溶膠MDI罐及計量閥，嵌入提供氣溶膠流動控制室及同步觸發機構之緻密裝置中之MDI)；Xcelovent[™](Meridica/Pfizer；WO 9852634；一種亦具有劑量計數器特徵之呼吸操作裝置)；及增加劑量之MDI(Nektar WO 2004041340；能夠使用HFA推進劑傳遞2 mg至5 mg經調配藥物之裝置；利用額外壓力源(加壓器)來補償在致動期間降低之蒸氣壓之裝

置，其使得較大劑量有效地氣溶膠化；及描述於 WO 03053501 中之 MDI (Vectura；一種藉由使用具有特定尺寸 (0.30 mm 或更小) 之雷射鑽孔的致動器使 HFA 中藥物溶液調配物之輸出特徵最佳化之裝置；致動器允許使用具有高乙醇含量及高乙醇與活性成份比之溶液調配物且因此允許使用溶液調配物中低溶活性成份且允許使用大體上不含低揮發性組份之溶液調配物)。

因此，本發明亦包括用於向個體肺部投與 TNF α 抑制劑之定量吸入器 (MDI) 裝置，該 MDI 裝置包含加壓罐，該加壓罐包含含 TNF α 抑制劑及推進劑之氣溶膠；及用於將氣溶膠經由吸入引入個體體內之構件。

噴霧器/液體吸入器

在一實施例中，使用噴霧器或液體吸入器將 TNF α 抑制劑 (包括 TNF α 抗體或其抗原結合部分) 傳遞至個體。一般而言，噴霧器使用壓縮空氣來傳遞呈濕氣溶膠或霧狀物之藥物以供吸入，且因此需要藥物可溶於水中。噴霧器裝置與 MDI 或 DPI 裝置相比可傳遞相對較大劑量，且特別有效用於傳遞至深肺 (外周肺區)。噴霧器不需要推進劑，該等噴霧器包括噴射噴霧器 (空氣噴射噴霧器及液體噴射噴霧器) 及超音噴霧器。

噴霧器之實例包括 AkitaTM (Activaero GmbH) (參見 US 2001037806, EP 1258264)。AkitaTM 為基於對患者呼吸模式提供完全控制之 Pari's LC Star 之桌面霧化器吸入系統 (Wt: 7.5 kg, B×W×H: 260×170×270)。該裝置可在小於

10 min內以極高傳遞速率傳遞溶液中高達500 mg藥物至肺及肺外周。65%之經噴霧顆粒低於5微米且質量中值空氣動力學直徑(MMAD)在1.8巴下為3.8微米。最小填充體積為2 mL且最大體積為8 mL。吸氣流(200 mL/sec)及噴霧器壓力(0.3-1.8巴)係藉由智慧卡設定。該裝置可基於肺功能測試相對於每一患者進行個別調節。

可用於本發明之方法及組合物中之噴霧器之另一實例包括Aeroneb[®] Go/Pro/Lab噴霧器(AeroGen)。Aeroneb[®]噴霧器係基於OnQ[™]技術，亦即包含含有超過1000個精確形成之楔形洞(由振動元件環繞)之獨特拱形孔板的電子微型泵(直徑為3/8吋且極薄)。Aeroneb[®] Go為供家庭使用之攜帶式單元，而Aeroneb[®] Pro為供醫院及流動診療所使用之可再用且可熱壓裝置，且Aeroneb[®] Lab為用於臨床前氣溶膠研究及吸入研究之裝置。系統特徵包括使氣溶膠液滴尺寸最佳化且按規格定製；在經精確控制之液滴尺寸下的低速氣溶膠傳遞，輔助呼吸系統內之靶向藥物傳遞；給藥靈活性；容納在溶液或懸浮液中或用於一般目的噴霧器之可購得溶液中含有固定體積藥物之習知單劑量安瓿；持續、呼吸致動或可程式化；且適合於絕大多數患者(包括兒童及老年)需要；單患者或多個患者使用。

Aerocurrent[™](AerovertRx corp)亦可用於本發明之方法及組合物中(參見WO 2006006963)。此噴霧器為具有拋棄式、預填充或使用者填充之藥物濾筒的攜帶式振動篩網式噴霧器。

Staccato™(Alexza Pharma)亦可用於本發明之方法及組合物中(參見WO 03095012)。Staccato™技術之關鍵為在無熱降解下使藥物汽化，其係藉由快速加熱藥物薄膜而達成。在小於半秒內，將藥物加熱至足以將固體藥物膜轉化為蒸氣之溫度。吸入器係由三個核心組份組成：加熱基板，塗覆於基板上之藥物薄膜及患者吸入之氣管。吸入器為呼吸致動的，其中傳遞之最大劑量為20-25 mg且MMAD在1-2微米範圍內。

AERx®(Aradigm)亦可用於本發明之方法及組合物中(參見WO 9848873、US 5469750、US 5509404、US 5522385、US 5694919、US 5735263、US 5855564)。AERx®為利用活塞機制將調配物自AERx® Strip排出之手持電池供電裝置。該裝置監控患者吸氣氣流且僅在達成最佳呼吸模式時觸發。該裝置可傳遞劑量之約60%作為噴射量且噴射量之50-70%進入深肺中，個體之間有<25%之變化性。

亦可用於本發明之方法及組合物中之噴霧器裝置之另一實例包括Respimat®(Boehringer)。Respimat®為藉由扭轉裝置基底(其壓縮彈簧且將經計量體積之調配物自藥濾筒轉移至給藥室中)而引發之多劑量儲集器系統。當致動裝置時，釋放彈簧，其迫使微活塞進入給藥室中且經由尤尼布(uniblock)推動溶液；該尤尼布係由具有兩個細出口噴嘴通道之過濾器結構組成。藉由Respimat®產生之MMAD為2 μm且該裝置適用於傳統上用以治療呼吸病症之低劑量藥物。

TNF α 抑制劑亦可使用 Collegium NebulizerTM(Collegium Pharma)來傳遞，Collegium NebulizerTM(Collegium Pharma)為一種包含沈積於膜上之藥物的噴霧器系統。將劑型在以復水溶劑復水後使用 Collegium Nebulizer經口或經鼻吸入投與患者。

亦可用於本發明之方法及組合物中之噴霧器裝置之另一實例包括 Inspiration[®] 626(Respironics)。626為用於家庭護理之基於壓縮器之噴霧器。626傳遞0.5至5微米之粒度。

用於本發明之噴霧器包括 Adaptive Aerosol Delivery[®]技術(Respironics)，其向患者(無論患者之年齡、體型或呼吸模式之變化性)傳遞精確且可再現之吸入藥物劑量。AAD[®]系統將電子設備及感應器併入手柄中以藉由偵測吸氣與呼氣之間的壓力變化來監控患者呼吸模式。感應器確定在第一部分吸氣期間何時脈衝藥劑之氣溶膠傳遞。在整個治療中，感應器監控前三次呼吸且適應患者之吸氣及呼氣模式。由於AAD[®]系統僅在患者經由吹口呼吸時傳遞藥物，故此等裝置允許患者在治療中被打斷而無藥劑浪費。AAD[®]系統噴霧器之實例包括 HaloLite[®] AAD[®]、ProDose[®] AAD[®]及 I-Neb[®] AAD[®]。

HaloLite[®] Adaptive Aerosol Delivery(AAD)[®](Respironics)為藉由攜帶式壓縮機供能之氣動氣溶膠化系統。AAD[®]技術監控患者之呼吸模式(通常每10毫秒)且視所使用之系統而定，釋放氣溶膠化藥物脈衝至吸入之特定部分中或計算在自"靜置氣溶膠雲"吸入期間抽吸之劑量(參見以引用的方

式併入本文中之EP 0910421)。

ProDos AAD[®](Respironics)為藉由"ProDose Disc[™]"系統(Respironics)控制之噴霧系統。ProDos AAD[®]為由攜帶式壓縮器供能之氣動氣溶膠系統，其中待傳遞之劑量係藉由插入系統中，尤其指示系統待傳遞之劑量的含微晶片盤控制。ProDose Disc[®]為含有微晶片之塑膠盤，將該塑膠盤插入ProDose AAD[®]系統中且指示其待傳遞之劑量，劑量數，該等資料可與包括藥物批次編碼及有效期之各種控制資料共同傳達(參見以引用的方式併入本文中之EP 1245244)。

Promixin[®]可經由ProDose AAD[®]傳遞以處理尤其在囊腫性纖維化中之綠膿桿菌(*pseudomonas aeruginosa*)肺感染。提供Promixin[®]作為在使用前復水之用於噴霧之粉末。

I-neb AAD[®]為在無需獨立壓縮機下傳遞精確且可再現藥物劑量至患者呼吸模式中之手持式AAD[®]系統("I-Neb")。I-neb AAD[®]為基於以電子篩網為基礎之氣溶膠化技術(Omron)與控制至患者呼吸模式中之給藥之AAD[®]技術的組合之小型化AAD[®]吸入器。該系統約略為行動電話大小且重量小於8盎司。I-neb AAD[®]已用於傳遞Ventavis[®](伊洛前列素(iloprost))(CoTherix/Schering AG)。

可用於本發明之方法及組合物中之噴霧器之另一實例為Aria[™](Chrysalis)。Aria係基於毛細管氣溶膠生成系統。氣溶膠係藉由經由小電熱毛細管泵送藥物調配物來形成。退出毛細管後，藉由周圍空氣使調配物快速冷卻以產生具

有在 0.5-2.0 μm 範圍內之 MMAD 的氣溶膠。

此外，可使用 TouchSprayTM 噴霧器 (Odem) 來傳遞根據本發明之 TNF 抑制劑。TouchSprayTM 噴霧器為使用帶孔膜之手持裝置，其在接觸儲集器流體後以超音頻率振動以產生氣溶膠雲。振動作用將流體噴射流抽吸穿過膜上洞，使噴射流破裂為藥物雲。藉由洞之形狀/尺寸以及藥物溶液之表面化學及組成來控制液滴尺寸。已報導此裝置傳遞經計量劑量之 83% 至深肺中。TouchSprayTM 噴霧器之細節係描述於以引用的方式併入本文中之美國專利第 6659364 號中。

可用於本發明中之額外噴霧器包括為使用單向閥在患者吸入時使氣溶膠輸出最大化且在患者呼出時使氣溶膠輸出最小化的攜帶式單元之噴霧器 (參見 PARI 噴霧器 (PARI GmbH))。擋板使得具有最佳尺寸之顆粒離開噴霧器。結果為高百分比顆粒在可呼吸範圍中，其產生向肺中改良之藥物傳遞。該等噴霧器可經設計以用於特定患者群體，諸如年齡小於三歲之患者 (PARI BABYTM) 及用於老年患者之噴霧器 (PARI LC PLUS[®] 及 PARI LC STAR[®])。

可用於本發明中之額外噴霧器為 e-FlowTM 噴霧器 (PARI GmbH)，其使用振動膜技術使藥物溶液以及懸浮液或膠狀分散液氣溶膠化 (TouchSprayTM ; ODEM (United Kingdom))。e-Flow[®] 噴霧器能夠處理 0.5 ml 至 5 ml 之流體體積，且可產生具有極高密度活性藥物，精確限定之液滴尺寸且在最短可能之時間量中傳遞高比例可呼吸液滴之氣

溶膠。使用 e-Flow[®] 噴霧器傳遞之藥物包括胺曲南 (aztreonam) 及利多卡因 (lidocaine)。關於 Flow[®] 噴霧器之額外細節係描述於以引用的方式併入本文中之 US 6962151 中。

可用於本發明中之額外噴霧器包括 Microair[®] 電子噴霧器 (Omron) 及 Mystic[™] 噴霧器 (Ventaira)。Microair[®] 噴霧器極小且使用振動篩網技術來有效地傳遞溶液藥劑。Microair 裝置具有 7 mL 容量且產生約 5 微米之藥物顆粒 MMAD 尺寸。關於 Microair[®] 噴霧器之額外細節，參見以引用的方式併入本文中之美國專利公開案第 2004045547 號。Mystic[™] 噴霧器使用強電場使液體破裂成幾乎單分散之帶電顆粒噴霧。Mystic[™] 系統包括遏制 (containment) 單元、劑量計量系統、氣溶膠產生噴嘴及電壓轉換器，其共同提供單劑量或單位劑量傳遞選擇。Mystic[™] 裝置為呼吸致動的且已與 Corus 1030[™] (鹽酸利多卡因)、Resmycin[®] (鹽酸阿黴素 (doxorubicin hydrochloride))、Acuair (丙酸氟替卡松)、具有 ViroPharm 之 NCE 及具有 Pfizer 之 NCE 一起使用。關於 Mystic[™] 噴霧器之額外細節可見於以引用的方式併入本文中之美國專利第 6397838 號中。

因此，在一實施例中，本發明提供與用於向個體肺部投與 TNF α 抑制劑之噴霧器裝置一起使用之容器，該容器包含不含推進劑之可吸入溶液或懸浮液，其包含 TNF α 抑制劑。

可根據經設計以達成治療效果之給藥方案將 TNF α 抑制

劑經由吸入投與個體。在一實施例中，雙週給藥方案可用以使用本文中所述之方法治療其中TNF α 活性有害之病症，且其係進一步描述於美國申請案第10/163657號中。亦可使用多種可變劑量治療法來治療其中TNF α 活性有害之病症，且其係進一步描述於PCT申請案第PCT/US05/012007號中。

醫藥組合物

用於本發明方法中之抗體、抗體部分及其他TNF α 抑制劑可併入適合肺部投與個體的醫藥組合物中。

用於本發明之方法及組合物中之組合物根據吸入模式及治療應用可呈多種形式。在一實施例中，本發明提供包含TNF α 抗體及醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物，其中該醫藥組合物適於為個體吸入。因此，將TNF α 抑制劑調配為適於吸入之醫藥組合物。適於吸入之醫藥組合物之實例包括(但不限於)可吸入粉末或乾粉組合物、含推進劑之氣溶膠及不含推進劑之可吸入溶液或懸浮液。該等醫藥組合物可根據上述裝置投與。舉例而言，可經由乾粉吸入器(DPI)將包含TNF α 抑制劑之可吸入粉末投與個體。在另一實例中，可將包含TNF α 抑制劑之含推進劑之氣溶膠經由定量吸入器(MDI)投與個體。在另一實例中，包含TNF α 抑制劑之不含推進劑之可吸入溶液可經由噴霧器投與個體。其他合適製劑包括(但不限於)霧狀物、蒸氣或噴霧製劑，只要包含蛋白質組成之顆粒係以與關於傳遞裝置(例如乾粉形式之醫藥組合物)描述之尺寸範圍一致的尺寸範圍傳

遞即可。

因此，意欲用於本發明方法中之包含TNF α 抗體或其抗原結合部分之液體醫藥組合物可以液體溶液或懸浮液形式用於傳遞裝置中，或首先使用於此項技術中熟知之凍乾或噴霧乾燥技術加工為乾粉形式。亦可使用於此項技術中已知之其他方法(包括結晶或沈澱)來製備包含諸如TNF α 抗體之TNF α 抑制劑的粉末(參見例如描述於各自以引用的方式併入本文中之US 5,525,519、US 5,599,719、US 5,578,709、US 5,554,730、US 6,090,925、US 5,981,719、US 6,458,387中之乾粉微球體(PROMAXX；Baxter))。

當將液體溶液或懸浮液用於傳遞裝置中時，噴霧器、定量吸入器或其他合適傳遞裝置藉由肺部吸入以單一劑量或多個分劑量傳遞具有以上關於乾粉形式所述之相同粒度範圍之液滴形式的醫藥有效量組合物至個體肺部。

當將液體醫藥組合物在用於本發明傳遞方法前凍乾時，可將凍乾組合物研磨以獲得由上述所需尺寸範圍內之顆粒組成的細粉狀乾粉。當使用噴霧乾燥來獲得乾粉形式之液體醫藥組合物時，該方法係在產生由上述所需尺寸範圍內之顆粒組成的大體上非晶形細粉狀乾粉的條件下進行。類似地，若起始醫藥組合物已為凍乾形式，則可研磨組合物來獲得隨後製備成氣溶膠或其他適於肺部吸入之製劑的乾粉形式。當起始醫藥組合物為其噴霧乾燥形式時，較佳地製備組合物以便其為根據本發明之肺部投與方法以含水或不含水溶液或懸浮液或乾粉形式分配的具有適當粒度之乾

粉形式。關於製備乾粉形式之醫藥組合物之方法，參見例如以引用的方式併入本文中之 WO 96/32149、WO 97/41833、WO 98/29096 及美國專利第 5,976,574 號、第 5,985,248 號及第 6,001,336 號。

接著將所得乾粉形式之組合物置於適當傳遞裝置中以用於隨後製備為經由肺部吸入傳遞至個體之氣溶膠或其他合適製劑。當待製備乾粉形式之醫藥組合物且將其以含水或不含水溶液或懸浮液形式分配時，使用定量吸入器或其他適當傳遞裝置。醫藥有效量之乾粉形式之組合物係以適於肺部吸入之氣溶膠或其他製劑投與。置於傳遞裝置內的乾粉形式之組合物之量足以使得藉由吸入向個體傳遞醫藥有效量之組合物。因此，待置於傳遞裝置中之乾粉形式之量將在乾粉形式之組合物儲存及傳遞期間補償可能的裝置損耗。將乾粉形式置於傳遞裝置內後，將如上所述適當尺寸之顆粒懸浮於氣溶膠推進劑中。接著在吸入時，使加壓不含水懸浮液自傳遞裝置釋放至個體氣管中。傳遞裝置藉由肺部吸入以單劑量或多個分劑量將醫藥有效量之組合物傳遞至個體之肺中。氣溶膠推進劑可為用於此目的之任何習知材料，諸如氯氟碳化物、氫氯氟碳化物、氫氟碳化物或煙，包括三氯氟甲烷、二氯二氟甲烷、二氯四氟甲烷、二氯二氟甲烷、二氯四氟乙醇及 1,1,1,2-四氟乙烷或其組合。可向醫藥組合物中添加界面活性劑來降低含蛋白質之乾粉與傳遞裝置(氣溶膠自其分配)之壁的黏著。用於此預期用途之合適界面活性劑包括(但不限於)脫水山梨糖醇三

油酸酯、大豆卵磷脂及油酸。適用於肺部傳遞呈不含水懸浮液形式的乾粉形式之蛋白質組成之裝置係可購得的。該等裝置之實例包括 Ventolin 定量吸入器 (Glaxo Inc., Research Triangle Park, N.C.) 及 Intal 吸入器 (Fisons, Corp., Bedford, Mass.)。亦參見描述於以引用的方式併入本文中之美國專利第 5,522,378 號、第 5,775,320 號、第 5,934,272 號及第 5,960,792 號中之氣溶膠傳遞裝置。

當以乾粉形式傳遞固體或乾粉形式之醫藥組合物時，較佳地使用乾粉吸入器或其他適當傳遞裝置。將乾粉形式之醫藥組合物較佳藉由以習知方式分散於流動空氣或其他生理上可接受之氣流中而製備為乾粉氣溶膠。以上描述適於本文中之方法的乾粉吸入器之實例。

包含 TNF α 抑制劑之乾粉形式之醫藥組合物可復水至水溶液中以用於隨後使用噴霧器、定量吸入器或其他合適傳遞裝置以水溶液氣溶膠形式傳遞。在噴霧器之情況下，將固持在流體儲集器內之水溶液轉化為含水噴霧，在任何給定時間下僅一小部分含水噴霧離開噴霧器傳遞至個體。將剩餘噴霧汲取回噴霧器內之流體儲集器中，噴霧於流體儲集器中再次氣溶膠化為含水噴霧。重複此過程直至流體儲集器完全分配或直至氣溶膠化噴霧之投與終止。噴霧器之實例係如上所述。

當將包含 TNF α 抑制劑之醫藥組合物加工為固體或乾粉形式以用於隨後以氣溶膠形式傳遞時，可能需要存在載劑材料用作膨化劑或穩定劑。以此方式，本發明揭示用於本

發明方法中之包含TNF α 抑制劑之穩定凍乾或噴霧乾燥之醫藥組合物。此等組合物可另外包含至少一種膨化劑，在乾燥過程中足以使蛋白質穩定之量的至少一種試劑或此兩者。"穩定化"其TNF α 抑制劑意欲在用以獲得固體或乾粉形式組合物之凍乾或噴霧乾燥後，保持其單體或多聚形式以及其品質、純度及效能之其他主要特性。

用作膨化劑之較佳載劑材料包括甘胺酸、甘露糖醇、丙胺酸、纈胺酸或其任何組合，最佳為甘胺酸。視所使用之試劑而定，膨化劑係以在0%至約10%(w/v)之範圍內存在於調配物中。當膨化劑為甘胺酸時，其係以在約0%至約4%，較佳地約0.25%至約3.5%，更佳地約0.5%至3.0%，甚至更佳地約1.0%至約2.5%之範圍內，最佳地約2.0%存在。當膨化劑為甘露糖醇時，其係以在約0%至約5.0%，較佳地約1.0%至約4.5%，更佳地約2.0%至約4.0%之範圍內，最佳地約4.0%存在。當膨化劑為丙胺酸或纈胺酸時，其係以在約0%至約5.0%，較佳地約1.0%至約4.0%，更佳地約1.5%至約3.0%之範圍內，最佳地約2.0%存在。

用作穩定劑之較佳載劑材料包括任何糖或糖醇或任何胺基酸。較佳糖包括蔗糖、海藻糖、棉子糖、水蘇糖、山梨糖醇、葡萄糖、乳糖、右旋糖或其任何組合，較佳為蔗糖。當穩定劑為糖時，其係以在約0%至約9.0%(w/v)，較佳地約0.5%至約5.0%，更佳地約1.0%至約3.0%之範圍內，最佳地約1.0%存在。當穩定劑為胺基酸時，其係以在約0%至約1.0%(w/v)，較佳地約0.3%至約0.7%之範圍內，

最佳地約0.5%存在。

此等穩定化凍乾或噴霧乾燥之組合物可視情況包含保護TNF α 抑制劑免於甲硫胺酸氧化之甲硫胺酸、乙二胺四乙酸(EDTA)或其鹽中之一者(諸如EDTA二鈉)或其他螯合劑。甲硫胺酸係以約0至約10.0 mM，較佳地約1.0至約9.0 mM，更佳地約2.0至約8.0 mM，甚至更佳地約3.0至約7.0 mM，更佳地約4.0至約6.0 mM，最佳地約5.0 mM之濃度存在於穩定化凍乾或噴霧乾燥之醫藥組合物中。EDTA係以約0至約10.0 mM，較佳地約0.2 mM至約8.0 mM，更佳地約0.5 mM至約6.0 mM，甚至更佳地約0.7 mM至約4.0 mM，更佳地約0.8 mM至約3.0 mM，甚至更佳地約0.9 mM至約2.0 mM，最佳地約1.0 mM之濃度存在。

可使用緩衝劑來調配穩定化凍乾或噴霧乾燥之組合物，該緩衝劑在液相時，諸如在調配過程中或乾燥形式組合物復水後使醫藥組合物之pH值維持在可接受之範圍內。較佳地，pH值在約pH 4.0至約pH 8.5，更佳地約pH 4.5至約pH 7.5，甚至更佳地約pH 5.0至約pH 6.5，更佳地約pH 5.6至約pH 6.3，且最佳地約pH 5.7至約pH 6.2之範圍內。合適pH值包括約4.0，約4.5，約5.0，約5.1，約5.2，約5.3，約5.4，約5.5，約5.6，約5.7，約5.8，約5.9，約6.0，約6.1，約6.2，約6.3，約6.4，約6.5，約6.6，約6.7，約6.8，約6.9，約7.0，約7.1，約7.2，約7.3，約7.4，約7.5，高達約8.5。最佳地，pH值為約5.8。

合適緩衝劑包括(但不限於)檸檬酸鹽緩衝劑、磷酸鹽緩

衝劑、琥珀酸鹽緩衝劑，更尤其檸檬酸鈉/檸檬酸。或者，可使用咪唑或組胺酸或將pH值維持在約pH 4.0至約8.5之範圍內的其他鹼/酸。選擇緩衝劑使得其與乾燥過程相容且在加工期間及儲存時不影響蛋白質之品質、純度、效能及穩定性。

可將預期用於本發明方法中之包含TNF α 抑制劑之任何醫藥組合物與以足以增強所吸入的包含TNF α 抑制劑之顆粒的吸收之量的至少一種界面活性劑一起調配以獲得用於根據本文中所述方法之肺部吸入之可吸入組合物。

可使用以本文中所揭示之方式增強包含其TNF α 抑制劑之醫藥組合物吸收的任何界面活性劑來獲得此等可吸收的含蛋白質醫藥組合物。適用於增強所吸入TNF α 抑制劑之吸收的界面活性劑包括(但不限於)：聚氧化乙烯山梨糖醇酯，諸如聚山梨醇酯80(吐溫80(Tween 80))及聚山梨醇酯20(吐溫20)；聚氧化丙烯-聚氧化乙烯酯，諸如泊洛沙姆188(Poloxamer 188)；聚氧化乙烯醇，諸如Brij 35；聚山梨醇酯界面活性劑與磷脂，諸如磷脂醯膽鹼及衍生物(二軟脂醯基、二油醯基、雙十四醯基或混合衍生物，諸如1-軟脂醯基、2-油醯基等)、二肉豆蔻醯基甘油及磷脂甘油系列之其他成員的混合物；溶血磷脂醯膽鹼及其衍生物；聚山梨醇酯與溶血卵磷脂或膽固醇之混合物；聚山梨醇酯界面活性劑與脫水山梨糖醇界面活性之混合物(諸如脫水山梨糖醇單油酸酯、二油酸酯、三油酸酯或此種類之其他物質)；泊洛沙姆界面活性劑；膽汁鹽及其衍生物，諸如膽

酸鈉、脫氧膽酸鈉、甘胺脫氧膽酸鈉、牛磺膽酸鈉等；TNF α 抑制劑與膽汁鹽及磷脂之混合微胞；Brij界面活性劑（諸如Brij 35-PEG923月桂醇等）。待添加之界面活性劑之量在約0.005%至約1.0%(w/v)，較佳地約0.005%至約0.5%，更佳地約0.01%至約0.4%，甚至更佳地約0.03%至約0.3%，最佳地約0.05%至約0.2%之範圍內。

本發明之醫藥組合物可根據所治療之病症包括合適劑量。在一實施例中，本發明之醫藥組合物包含約40 mg劑量之TNF α 抗體或其抗原結合部分。或者，本發明醫藥組合物包含約40-160 mg劑量之TNF α 抗體或其抗原結合部分。在另一實施例中，醫藥組合物包含超過160 mg之劑量。

應注意，劑量值可隨待減輕之病狀類型及嚴重性而變化。應進一步瞭解，對於任何特定個體而言，特定劑量方案應根據個體需要及投與或監督組合物投與之人的專業判斷隨著時間而加以調整，且應瞭解本文所列之劑量範圍僅供例示，而並非意欲限制所主張之組合物的範疇或實施。

治療組合物通常在製造及儲存條件下必須為無菌且穩定的。可將組合物調配為溶液、微乳液、分散液、脂質體或適於高藥物濃度之其他有序結構。無菌可吸入溶液可藉由將所需量之活性化合物（亦即抗體、抗體部分或其他TNF α 抑制劑）併入具有上文列舉成份中之一者或組合的適當溶劑中，繼而視需要過濾滅菌來製備。一般而言，分散液係藉由將活性化合物併入無菌媒劑中來製備，該無菌媒劑含

有鹼性分散介質及來自上文所列舉之彼等成份之其他所需成份。溶液之適當流動性可(例如)藉由使用諸如卵磷脂之塗覆劑來維持，在分散液情形下藉由維持所需粒度來維持及藉由使用界面活性劑來維持。可吸入組合物之延時吸收可藉由使例如單硬脂酸鹽及明膠之延緩吸收劑包括於組合物中而引起。

在一實施例中，將用於本發明方法中之抗體或抗體部分如以引用的方式併入本文中之PCT/IB03/04502及美國申請案第20040033228/號中所述併入醫藥調配物中。此調配物包括50 mg/ml濃度之抗體D2E7(阿達木單抗)。

亦可將補充性活性化合物併入組合物中以供肺部傳遞。在某些實施例中，用於本發明方法中之抗體或抗體部分係與一或多種額外治療劑共同調配及/或共同投與。舉例而言，本發明之抗hTNF α 抗體或抗體部分可與下列物質共同調配及/或共同投與：一或多種結合與TNF α 相關病症相關之其他目標的額外抗體(例如結合其他細胞激素或結合細胞表面分子之抗體)、一或多種細胞激素、可溶性TNF α 受體(參見例如PCT公開案第WO 94/06476號)及/或一或多種抑制hTNF α 產生或活性之化學劑(諸如如PCT公開案第WO 93/19751號中所述之亞環己基衍生物)或其任何組合。此外，本發明之一或多種抗體可與兩種或兩種以上上述治療劑組合使用。該等組合療法可有利地利用以更低劑量投與之治療劑，因此避免與各種單一療法相關之患者可能出現的副作用、併發症或低反應水準。

本發明之醫藥組合物可包括"治療有效量"或"預防有效量"的本發明抗體或抗體部分。"治療有效量"係指在必需劑量下且歷時必需時期有效達成所需治療結果之量。抗體、抗體部分或其他TNF α 抑制劑之治療有效量可隨下列因素而變化：諸如個體之疾病狀態、年齡、性別及體重及抗體、抗體部分、其他TNF α 抑制劑在個體中引出所需反應的能力。治療有效量亦為治療有益作用超過抗體、抗體部分或其他TNF α 抑制劑之任何毒性或不利作用的量。"預防有效量"係指在必需劑量下且歷時必需時期有效達成所需預防結果之量。通常，由於預防劑量在疾病之較早階段之前或在疾病之較早階段時用於個體，因此預防有效量比治療有效量要小。

本發明亦係關於用於肺部投與TNF抑制劑(例如抗體)之包裝藥物組合物或套組。在本發明之一實施例中，套組包含TNF α 抑制劑(諸如抗體)及肺部投與TNF α 抑制劑之說明書，其中TNF α 抑制劑在適於吸入之調配物中。說明書可描述應何時(例如第0週、第2週、第4週等)將不同劑量之TNF α 抑制劑經由吸入投與個體以用於治療。

本發明之另一態樣係關於含有包含TNF α 抑制劑(諸如抗體)及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物及一或多種各自包含額外治療劑及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物的套組。

包裝或套組可另外含有TNF α 抑制劑且可為本文所述之用途或病症治療在包裝內或經由伴隨資訊講解其用途。包

裝藥物或套組另外可包括與使用第二試劑以及第一試劑(如本文中所述)之說明書一同包裝或共同講解之第二試劑(如本文中所述)。

III. TNF抑制劑

用於本發明之方法及組合物中之TNF α 抑制劑包括干擾TNF α 活性之任何試劑。在一較佳實施例中，TNF α 抑制劑可中和TNF α 活性，尤其係與克羅恩氏病、RA、PsA、JRA、AS及牛皮癬及相關併發症及症狀相關之不利TNF α 活性。

在一實施例中，用於本發明中之TNF α 抑制劑為TNF α 抑制劑(本文中亦稱作抗TNF α 抗體)或其抗原結合片段，包括嵌合、人源化及人類抗體。可用於本發明中之TNF α 抗體之實例包括(但不限於)英利昔單抗(Remicade[®]，Johnson and Johnson；描述於以引用的方式併入本文中之美國專利第5,656,272號中)；CDP571(人源化單株抗TNF α IgG4抗體)；CDP 870(人源化單株抗TNF α 抗體片段)；抗TNF dAb(Peptech)；CNTO 148(勾利木單抗；Medarex及Centocor，參見WO 02/12502)；及阿達木單抗(HUMIRA[®] Abbott Laboratories，人類抗TNF mAb，以D2E7描述於US 6,090,382中)。可用於本發明中之額外TNF抗體係描述於各自以引用的方式併入本文中之美國專利第6,593,458號、第6,498,237號、第6,451,983號及第6,448,380號中。

可用於本發明之方法及組合物中之TNF α 抑制劑之其他實例包括依那西普(Enbrel[®]，描述於WO 91/03553及WO

09/406476中)，可溶性I型TNF受體，聚乙醇化可溶性I型TNF受體(PEGs TNF-R1)、p55TNFR1gG(來那西普(Lenercept))及重組TNF結合蛋白(r-TBP-I)(Serono)。

在一實施例中，術語"TNF α 抑制劑"排除英利昔單抗。在一實施例中，術語"TNF α 抑制劑"排除阿達木單抗。在另一實施例中，術語"TNF α 抑制劑"排除阿達木單抗及英利昔單抗。

在一實施例中，術語"TNF α 抑制劑"排除依那西普及視情況排除阿達木單抗、英利昔單抗及阿達木單抗與英利昔單抗。

在一實施例中，術語"TNF α 抗體"排除英利昔單抗。在一實施例中，術語"TNF α 抗體"排除阿達木單抗。在另一實施例中，術語"TNF α 抗體"排除阿達木單抗及英利昔單抗。

在一實施例中，本發明展示以高親和力及低解離率與人類TNF α 結合且亦具有高中和能力之經分離人類抗體或其抗原結合部分。較佳地用於本發明中之人類抗體為重組中和性人類抗hTNF α 抗體。本發明之最佳重組中和抗體在本文中係稱作D2E7，亦稱作HUMIRA[®]或阿達木單抗(以SEQ ID NO: 1展示D2E7 VL區之胺基酸序列；以SEQ ID NO: 2展示D2E7 VH之區胺基酸序列)。D2E7(阿達木單抗/HUMIRA[®])之特性已描述於各自以引用的方式併入本文中之Salfeld等人，美國專利第6,090,382號、第6,258,562號及第6,509,015號中。本發明方法亦可使用已經受治療類風濕性關節炎之臨床測試的嵌合及人源化鼠類抗hTNF α 抗體進

行(參見例如 Elliott, M.J. 等人(1994)*Lancet* 344:1125-1127 ; Elliot, M.J. 等人(1994)*Lancet* 344:1105-1110 ; Rankin, E.C. 等人(1995)*Br. J. Rheumatol.* 34:334-342)。

在一實施例中，本發明之方法包括肺部投與D2E7抗體及抗體部分、D2E7相關抗體及抗體部分及具有與D2E7等效性質(諸如以低解離動力學及高中和能力與hTNF α 高親和力結合)之其他人類抗體及抗體部分。在一實施例中，本發明提供使用經分離之人類抗體或其抗原結合部分之治療，該經分離之人類抗體或其抗原結合部分以皆藉由表面電漿共振所測定之 1×10^{-8} M或更小之 K_d 及 1×10^{-3} s $^{-1}$ 或更小 K_{off} 速率常數自人類TNF α 解離，且在標準活體外L929檢定中以 1×10^{-7} M或更低之 IC_{50} 中和人類TNF α 細胞毒性。更佳地，經分離之人類抗體或其抗原結合部分以 5×10^{-4} s $^{-1}$ 或更低之 K_{off} 或甚至更佳以 1×10^{-4} s $^{-1}$ 或更低 K_{off} 自人類TNF α 解離。更佳地，經分離之人類抗體或其抗原結合部分在標準活體外L929檢定中以 1×10^{-8} M或更低之 IC_{50} ，甚至更佳為以 1×10^{-9} M或更低之 IC_{50} 及更佳以 1×10^{-10} M或更低之 IC_{50} 中和人類TNF α 細胞毒性。在一較佳實施例中，抗體為經分離之人類重組抗體或其抗原結合部分。

在此項技術中熟知抗體重鏈及輕鏈CDR3域在抗體對抗原之結合特異性/親和力中起重要作用。因此，在另一態樣中，本發明係關於肺部投與人類抗體，該人類抗體具有與hTNF α 締合之低解離動力學且其具有結構上與D2E7之輕鏈及重鏈CDR3域相同或相關之輕及重鏈CDR3域。D2E7

VL CDR3之位置9可由Ala或Thr佔據，而大體上不影響 K_{off} 。因此，D2E7 VL CDR3之一致基元包含胺基酸序列：Q-R-Y-N-R-A-P-Y-(T/A)(SEQ ID NO:3)。此外，D2E7 VH CDR3之位置12可由Tyr或Asn佔據，而大體上不影響 K_{off} 。因此，D2E7 VH CDR3之一致基元包含胺基酸序列：V-S-Y-L-S-T-A-S-S-L-D-(Y/N)(SEQ ID NO:4)。此外，如美國專利第6,090,382號之實例2中所證明，D2E7重鏈及輕鏈之CDR3域可受單一丙胺酸殘基(在VL CDR3內之位置1、4、5、7或8，或在VH CDR3內之位置2、3、4、5、6、8、9、10或11)取代而大體上不影響 K_{off} 。此外，熟習此項技術者應瞭解，若D2E7 VL及VH CDR3域可經受丙胺酸取代，則在仍保持抗體之低解離速率常數下，CDR3域內其他胺基酸取代，尤其保守胺基酸之取代可為可能的。較佳在D2E7 VL及/或VH CDR3域內形成不超過1至5個保守胺基酸取代。更佳在D2E7 VL及/或VH CDR3域內形成不超過1至3個保守胺基酸取代。此外，保守胺基酸取代不應發生在對與hTNF α 結合關鍵之胺基酸位置上。D2E7 VL CDR3之位置2及5及D2E7 VH CDR3之位置1及7似乎對與hTNF α 之相互作用而言為關鍵的，且因此，保守胺基酸取代較佳不發生在此等位置上(但如上文所述，D2E7 VL CDR3之位置5之丙胺酸取代為可接受的)(參見美國專利第6,090,382號)。

因此，在另一實施例中，抗體或其抗原結合部分較佳含有以下特徵：

a) 以如藉由表面電漿共振所測定之 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或更低之 K_{off} 速率常數自人類 TNF α 解離；

b) 具有輕鏈 CDR3 域，其包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列或藉由在位置 1、4、5、7 或 8 處之單一丙胺酸取代或藉由在位置 1、3、4、6、7、8 及 / 或 9 處之 1 至 5 個保守胺基酸取代自 SEQ ID NO: 3 經修飾之胺基酸序列；

c) 具有重鏈 CDR3 域，其包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列或藉由在位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11 處之單一丙胺酸取代或藉由在位置 2、3、4、5、6、8、9、10、11 及 / 或 12 處之 1 至 5 個保守胺基酸取代自 SEQ ID NO: 4 經修飾之胺基酸序列。

更佳地，抗體或其抗原結合部分以 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 或更低 K_{off} 自人類 TNF α 解離。甚至更佳地，抗體或其抗原結合部分以 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 或更低 K_{off} 自人類 TNF α 解離。

在另一實施例中，抗體或其抗原結合部分較佳含有具有 CDR3 域之輕鏈可變區 (LCVR)，該 CDR3 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 3，或以位置 1、4、5、7 或 8 處之單一丙胺酸取代自 SEQ ID NO: 3 修飾之胺基酸序列；及具有 CDR3 域之重鏈可變區 (HCVR)，該 CDR3 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 4，或以位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11 處之單一丙胺酸取代自 SEQ ID NO: 4 修飾之胺基酸序列。較佳地，LCVR 另外具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 5 之 CDR2 域 (亦即 D2E7 VL CDR2) 且 HCVR 另外具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 6 之 CDR2 域 (亦即 D2E7 VH CDR2)。甚至更佳

地，LCVR另外具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之CDR1域(亦即D2E7 VL CDR1)且HCVR具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之CDR1域(亦即D2E7 VH CDR1)。VL之構架區較佳來自美國專利第6,090,382號之圖1A及1B所示的V κ I人類生殖系家族，更佳來自A20人類生殖系V κ 基因且最佳來自D2E7 VL構架序列。VH構架區較佳來自美國專利第6,090,382號之圖2A及2B中所示的V H 3人類生殖系家族，更佳來自DP-31人類生殖系VH基因且最佳來自D2E7 VH構架序列。

因此，在另一實施例中，抗體或其抗原結合部分較佳含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 1之輕鏈可變區(LCVR)(亦即D2E7 VL)及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 2之重鏈可變區(HCVR)(亦即D2E7 VH)。在某些實施例中，該抗體包含重鏈恆定區，諸如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恆定區。較佳該重鏈恆定區為IgG1重鏈恆定區或IgG4重鏈恆定區。此外，該抗體可包含輕鏈恆定區， κ 輕鏈恆定區或 λ 輕鏈恆定區。較佳地，該抗體包含 κ 輕鏈恆定區。或者，該抗體部分可為例如Fab片段或單鏈Fv片段。

在其他實施例中，本發明包括含有D2E7相關之VL及VH CDR3域的經分離人類抗體或其抗原結合部分之用途。舉例而言，抗體或其抗原結合部分具有輕鏈可變區(LCVR)，該輕鏈可變區(LCVR)具有包含選自由SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO:

13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25及SEQ ID NO: 26組成之群之胺基酸序列的CDR3域；或具有重鏈可變區(HCVR)，該重鏈可變區(HCVR)具有包含選自由SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 34及SEQ ID NO: 35組成之群之胺基酸序列的CDR3域。

用於本發明之方法及組合物中之TNF α 抗體可用於肺部投與。在一些實施例中，TNF α 抗體或其抗原結合片段經化學修飾以提供所需作用。舉例而言，如(例如)以下文獻中所述，可藉由於此項技術中已知之任何聚乙二醇化反應來進行本發明抗體及抗體片段之聚乙二醇化反應：*Focus on Growth Factors* 3:4-10 (1992)；EP 0 154 316及EP 0 401 384(其各自之全文係以引用的方式併入本文中)。較佳地，以反應性聚乙二醇分子(或類似反應性水溶性聚合物)經由醯化反應或烷基化反應進行聚乙二醇化反應。用於本發明之抗體及抗體片段之聚乙二醇化反應的較佳水溶性聚合物為聚乙二醇(PEG)。本文所使用之"聚乙二醇"意謂涵蓋已用於衍生其他蛋白質之任何形式之PEG，諸如單(Cl-C10)烷氧基或芳氧基聚乙二醇。

製備本發明之聚乙二醇化抗體及抗體片段之方法一般包

含以下步驟：(a)在藉以使抗體或抗體片段連接至一或多個 PEG 基團之條件下，使抗體或抗體片段與聚乙二醇(諸如 PEG 之反應性酯或醛衍生物)反應；及(b)獲得反應產物。基於已知參數及所需結果選擇最佳反應條件或醯化反應為普通熟習此項技術者所顯而易見。

聚乙二醇化抗體及抗體片段一般可用於肺部投藥。一般而言，與未聚乙二醇化抗體及抗體片段相比，聚乙二醇化抗體及抗體片段之半衰期增加。聚乙二醇化抗體及抗體片段可單獨使用、一同使用或與其他醫藥組合物組合使用。

在本發明之另一實施例中，TNF α 抗體或其片段可經修改，其中抗體之恆定區經修飾以相對未經修飾之抗體降低至少一種恆定區介導之生物效應子功能。為修飾本發明之抗體以便其展示與Fc受體降低之結合，可使抗體之免疫球蛋白恆定區區段在Fc受體(FcR)相互作用所必需之特定區突變(參見(例如) Canfield, S.M.及 S.L. Morrison (1991) *J. Exp. Med.* 173:1483-1491；及 Lund, J. 等人(1991) *J. of Immunol.* 147:2657-2662)。抗體之FcR結合能力之降低亦可降低依賴FcR相互作用之其他效應子功能，諸如調理作用及噬菌作用及抗原依賴性細胞毒性。舉例而言，用於本發明中以供肺部投與之TNF α 抗體或其抗原結合部分之恆定區可經修飾，以便減少抗體與表現於肺泡巨噬細胞上之噬菌細胞受體結合。

在另一實例中，可與結合FcR而非FcRn之試劑組合投與用於本發明以供肺部投與之TNF α 抗體或其抗原結合部

分。該組合療法藉助於使FcR途徑飽和來增加TNF α 抗體或其抗原結合部分之生物可用率。

在另一實施例中，本發明包括肺部投與與新生Fc受體(FcRn)具有增強之結合的經修飾TNF α 抗體或其抗原結合部分。增加與新生FcRn之結合之修飾可包括將TNF α 抗體與增加TNF α 抗體自個體肺上皮傳輸至個體血流中之化合物結合。額外修飾亦可包括使TNF α 抗體或其抗原結合部分突變，其中TNF α 抗體在Fc域內包含增加TNF α 抗體與FcRn之結合親和力之突變及/或缺失。可經修飾之抗體內的位置之實例包括(但不限於)選自由238、256、307、311、312、380及382組成之群之胺基酸位置處Fc域內的至少一種突變(Shields等人(2001) J Biol Chem 276:6591)。

用於本發明方法中之抗體或抗體部分可經衍生或連接至另一功能分子(例如另一肽或蛋白質)。因此，本發明之抗體及抗體部分意欲包括本文所述之人類抗hTNF α 抗體之經衍生及另外經修飾之形式，包括免疫黏附分子。舉例而言，本發明之抗體或抗體部分可(藉由化學偶合、遺傳融合、非共價締合或其他方式)功能性連接至一或多個其他分子實體，諸如另一抗體(例如雙特異性抗體或雙功能抗體)、可偵測劑、細胞毒性劑、醫藥劑及/或可介導抗體或抗體部分與另一分子(諸如抗生蛋白鏈菌素核心區或聚組胺酸標籤)之締合的蛋白質或肽。

一種類型之衍生化抗體係藉由使兩種或兩種以上(相同類型或不同類型)抗體交聯(例如以產生雙特異性抗體)而產

生。合適交聯劑包括具有兩個由適當間隔基隔開之不同反應性基團之彼等異雙官能性交聯劑(例如間-順丁烯二醯亞胺苯甲醯基-N-羥基琥珀醯亞胺酯);或彼等同質雙官能性交聯劑(例如辛二酸二琥珀醯亞胺酯)。該等連接子可購自Pierce Chemical Company, Rockford, IL。

可用來衍生本發明之抗體或抗體部分之適用可偵測劑包括螢光化合物。例示性螢光可偵測劑包括螢光素、異硫氰酸螢光素、若丹明、5-二甲胺-1-萘磺醯氯、藻紅蛋白及類似物。亦可以諸如鹼性磷酸酶、辣根過氧化酶、葡萄糖氧化酶及其類似物之可偵測酶來衍生抗體。當以可偵測酶衍生抗體時，其係藉由添加額外試劑(酶使用其來產生可偵測反應產物)來偵測。舉例而言，當存在可偵測劑辣根過氧化酶時，添加過氧化氫及二胺基聯苯胺產生可偵測之有色反應產物。亦可以生物素衍生抗體，且經由間接量測抗生物素蛋白或抗生蛋白鏈菌素結合使其得以偵測。

本發明之方法及組合物中所使用之抗體或抗體部分可藉由在宿主細胞中重組表現免疫球蛋白輕鏈及重鏈基因來製備。為重組表現抗體，以攜有編碼抗體免疫球蛋白輕鏈及重鏈之DNA片段之一或多個重組表現載體轉染宿主細胞以便輕鏈及重鏈在宿主細胞中表現且較佳使其分泌至培養宿主細胞之培養基中，自該培養基中可回收該等抗體。使用標準重組DNA方法來獲得抗體重鏈及輕鏈基因，將此等基因併入重組表現載體中且將載體引入宿主細胞中，諸如彼等描述於下列文獻中之方法：Sambrook, Fritsch及

Maniatis(編), *Molecular Cloning; A Laboratory Manual*, 第二版, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), Ausubel, F.M. 等人(編) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates, (1989)及 Boss 等人之美國專利第 4,816,397 號。

為表現阿達木單抗(D2E7)或阿達木單抗(D2E7)相關性抗體, 首先獲得編碼輕鏈及重鏈可變區之DNA片段。可使用聚合酶鏈反應(PCR)藉由擴增及修飾生殖系輕鏈及重鏈可變序列來獲得此等DNA。用於人類重鏈及輕鏈可變區基因之生殖系DNA序列於此項技術中已知(參見例如"Vbase"人類生殖系序列資料庫; 亦參見Kabat, E.A. 等人(1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第五版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH 公開案第 91-3242 號; Tomlinson, I.M. 等人(1992) "The Repertoire of Human Germline V_H Sequences Reveals about Fifty Groups of V_H Segments with Different Hypervariable Loops" *J. Mol. Biol.* 227:776-798; 及 Cox, J.P.L. 等人(1994) "A Directory of Human Germ-line V_H Segments Reveals a Strong Bias in their Usage" *Eur. J. Immunol.* 24:827-836; 其各自之內容係明確地以引用的方式併入本文中)。為獲得編碼D2E7或D2E7相關抗體之重鏈可變區之DNA片段, 藉由標準PCR擴增人類生殖系VH基因之V_H3家族之成員。最佳地, 擴增DP-31 VH生殖系序列。為獲得編碼D2E7或D2E7相關抗體之輕鏈可變區之DNA片段, 藉由

標準 PCR 擴增人類生殖系 VL 基因之 $V_{\kappa I}$ 家族成員。最佳地，擴增 A20 VL 生殖系序列。可基於上述所引用之參考文獻中所揭示之核苷酸序列使用標準方法來設計適用於擴增 DP-31 生殖系 VH 及 A20 生殖系 VL 序列之 PCR 引子。

獲得生殖系 VH 及 VL 片段後，可使此等序列突變以編碼本文中所揭示之 D2E7 或 D2E7 相關之胺基酸序列。首先將由生殖系 VH 及 VL DNA 序列所編碼之胺基酸序列與 D2E7 或 D2E7 相關 VH 及 VL 胺基酸序列比較，以鑑別 D2E7 或 D2E7 相關序列中與生殖系不同的胺基酸殘基。接著，使用遺傳密碼確定應進行哪個核苷酸改變，使生殖系 DNA 序列中之適當核苷酸突變以使經突變之生殖系序列編碼 D2E7 或 D2E7 相關之胺基酸序列。生殖系序列之突變係藉由標準方法進行，該等方法係諸如 PCR 介導之突變(其中將突變之核苷酸併入 PCR 引子中以使 PCR 產物含有突變)或定點突變。

此外，應注意若藉由 PCR 擴增所獲得之"生殖系"序列編碼構架區中與實際生殖系構型不同之胺基酸差異(亦即，例如由於體細胞突變，與實際生殖系序列相比經擴增序列中之差異)，可需要將此等胺基酸差異改變回實際生殖系序列(亦即將構架殘基"回突變"為生殖系構型)。

獲得編碼 D2E7 或 D2E7 相關 VH 及 VL 區段之 DNA 片段(藉由擴增及突變生殖系 VH 及 VL 基因，如上所述)後，此等 DNA 片段可藉由標準重組 DNA 技術進一步操作，以例如將可變區基因轉化為全長抗體鏈基因、轉化為 Fab 片段基因

或轉化為 scFv 基因。在此等操作中，使編碼 VL 或 VH 之 DNA 片段操作性連接至編碼另一蛋白質之另一 DNA 片段，諸如抗體恆定區或可撓性連接子。此上下文中所使用之術語"操作性連接"意欲指示使兩個 DNA 片段接合以便由該兩個 DNA 片段編碼之胺基酸序列保持同框。

可藉由將編碼 VH 之 DNA 操作性連接至另一編碼重鏈恆定區 (CH1、CH2 及 CH3) 之 DNA 分子而將編碼 VH 區之經分離 DNA 轉化為全長重鏈基因。人類重鏈恆定區基因序列於此項技術中已知 (參見例如 Kabat, E.A. 等人 (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第五版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH 公開案第 91-3242 號) 且涵蓋此等區域之 DNA 片段可藉由標準 PCR 擴增來獲得。重鏈恆定區可為 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM 或 IgD 恆定區，但最佳為 IgG1 或 IgG4 恆定區。對於 Fab 片段重鏈基因而言，可將編碼 VH 之 DNA 操作性連接至另一僅編碼重鏈 CH1 恆定區之 DNA 分子。

可藉由將編碼 VL 之 DNA 操作性連接至編碼輕鏈恆定區 (CL) 之另一 DNA 分子而將編碼 VL 區之經分離 DNA 轉化成全長輕鏈基因 (以及 Fab 輕鏈基因)。人類輕鏈恆定區基因之序列在此項技術中為已知的 (參見 (例如) Kabat, E.A. 等人 (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第五版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH 公開案第 91-3242 號) 且涵蓋此等區域之 DNA 片段可藉由標準 PCR 擴增來獲得。輕鏈恆定區可為 κ 或 λ 恆定區，但

最佳為κ恆定區。

為產生 scFv 基因，使編碼 VH 之 DNA 片段及編碼 VL 之 DNA 片段與編碼可撓性連接子(例如編碼胺基酸序列(Gly₄-Ser)₃)之另一片段操作性連接，以使得 VH 序列及 VL 序列可表現為相鄰單鏈蛋白質，其中 VL 與 VH 區藉由可撓性連接子接合(參見例如 Bird 等人(1988) *Science* 242:423-426；Huston 等人(1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883；McCafferty 等人，*Nature* (1990) 348:552-554)。

為表現本發明中所使用之抗體或抗體部分，將如上述所獲得之編碼部分或全長輕鏈及重鏈之 DNA 插入表現載體中，使得基因操作性連接至轉錄及轉譯控制序列。在此上下文中，術語"操作性連接"意謂將抗體基因接合至載體內以便載體內之轉錄及轉譯控制序列起調節抗體基因轉錄及轉譯之預期作用。表現載體及表現控制序列經選擇以與所用表現宿主細胞相容。抗體輕鏈基因及抗體重鏈基因可插入單獨載體中，或更通常兩種基因插入同一表現載體中。該等抗體基因藉由標準方法(例如該抗體基因片段與載體上之互補限制位點的接合，或若不存在限制位點則為鈍端接合)插入表現載體中。在插入 D2E7 或 D2E7 相關輕鏈或重鏈序列之前，表現載體可已經攜有抗體恆定區序列。舉例而言，將 D2E7 或 D2E7 相關之 VH 及 VL 序列轉化為全長抗體基因的一種方法為將其分別插入已編碼重鏈恆定區與輕鏈恆定區的表現載體中，以便 VH 區段操作性連接至載體內之 CH 區段，且使 VL 區段操作性連接至載體內之 CL 區段。

另外或其他，該重組表現載體可編碼促進抗體鏈自宿主細胞分泌之信號肽。可將抗體鏈基因選殖入載體中以便信號肽得以同框連接於抗體鏈基因之胺基端。該信號肽可為免疫球蛋白信號肽或異源信號肽(亦即來自非免疫球蛋白蛋白質的信號肽)。

除抗體鏈基因以外，本發明之重組表現載體攜有控制抗體鏈基因在宿主細胞中表現之調控序列。術語"調控序列"意欲包括控制抗體鏈基因之轉錄或轉譯的啟動子、強化子及其他表現控制元件(例如多聚腺嘌呤信號)。例如在 Goeddel; *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA (1990)中描述該等調控序列。彼等熟習此項技術者應瞭解包括調控序列之選擇的表現載體之設計可視如下因素而定：待轉型之宿主細胞之選擇、所需蛋白質表現量等。哺乳動物宿主細胞表現之較佳調控序列包括指導哺乳動物細胞中高蛋白質表現量之病毒元件，諸如源自巨細胞病毒(CMV)之啟動子及/或強化子(例如CMV啟動子/強化子)、類人猿病毒40(SV40)(諸如SV40啟動子/強化子)、腺病毒(例如，腺病毒主要晚期啟動子(AdMLP))及多瘤病毒。對於病毒調控元件及其序列之進一步描述，參見(例如) Stinski之美國專利第5,168,062號、Bell等人之美國專利第4,510,245號及 Schaffner等人之美國專利第4,968,615號。

除抗體鏈基因及調控序列外，本發明中所使用之重組表現載體可攜有額外序列，諸如在宿主細胞中調控載體複製

之序列(例如複製起點)及可選擇之標誌基因。可選標誌基因有助於選擇其中已引入載體之宿主細胞(例如參見均為Axel等人之美國專利第4,399,216號、第4,634,665號及第5,179,017號)。舉例而言，通常可選標誌基因賦予已引入載體之宿主細胞中對諸如G418、濕黴素(hygromycin)或甲胺喋呤之藥物的抗性。較佳可選標誌基因包括二氫葉酸還原酶(DHFR)基因(在甲胺喋呤選擇/擴增下用於dhfr-宿主細胞)及neo基因(用於G418選擇)。

對於輕鏈及重鏈之表現而言，藉由標準技術將編碼重鏈及輕鏈之表現載體轉染至宿主細胞中。各種形式之術語"轉染"意欲涵蓋將外生DNA引入原核或真核宿主細胞中之多種常用技術，例如電穿孔、磷酸鈣沈澱、DEAE葡聚糖轉染及其類似技術。儘管在原核或真核宿主細胞內表現本發明抗體在理論上為可能的，但抗體最佳表現在真核細胞且最佳為哺乳動物宿主細胞內，因為該等真核細胞且尤其為哺乳動物細胞比原核細胞更有可能組裝且分泌經適當摺疊且具有免疫活性之抗體。已報導抗體基因之原核表現對於產生高產率活性抗體無效(Boss, M.A.及Wood, C. R. (1985) *Immunology Today* 6:12-13)。

表現本發明之重組抗體之較佳哺乳動物宿主細胞包括中國倉鼠卵巢(CHO細胞)(包括在Urlaub及Chasin, (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220中描述之dhfr-CHO細胞，例如R.J. Kaufman及P.A. Sharp (1982) *Mol. Biol.* 159:601-621中所述，其與DHFR可選標記一起使

用)、NS0骨髓瘤細胞、COS細胞及SP2細胞。當將編碼抗體基因之重組表現載體引入哺乳動物宿主細胞中時，抗體係藉由培養宿主細胞歷時足以使抗體在宿主細胞內表現或更佳為使抗體分泌至宿主細胞生長之培養基內的時段而產生。可使用標準蛋白質純化方法自培養基回收抗體。

宿主細胞亦可用於產生完整抗體之部分，諸如Fab片段或scFv分子。應瞭解關於以上程序之變型在本發明之範疇內。舉例而言，以編碼本發明抗體輕鏈或重鏈(而非兩者)的DNA轉染宿主細胞可為合乎需要的。重組DNA技術亦可用於移除編碼對於結合hTNF α 非必需之輕及重鏈中之任一者或二者的DNA中之一些或全部。本發明抗體亦涵蓋由該等截短DNA分子所表現之分子。此外，可藉由以標準化學交聯方法使本發明抗體與第二抗體交聯產生雙功能抗體，其中一條重鏈及一條輕鏈為本發明之抗體且另一條重鏈及輕鏈對除hTNF α 以外之抗原有特異性。

在用於重組表現本發明之抗體或其抗原結合部分的一較佳系統中，藉由磷酸鈣介導之轉染將編碼抗體重鏈與抗體輕鏈之重組表現載體引入dhfr-CHO細胞中。在重組表現載體內，將抗體重鏈與輕鏈基因各自操作性連接至CMV強化子/AdMLP啟動子調控元素以驅動基因之高水平轉錄。重組表現載體亦攜有DHFR基因，其使得使用甲胺喋呤選擇/擴增來選擇已經載體轉染之CHO細胞。培養經選擇之轉化子宿主細胞以使得表現抗體重鏈及輕鏈且自培養基回收完整抗體。使用標準分子生物學技術來製備重組表現載體，

轉染宿主細胞，選擇轉化子，培養宿主細胞且自培養基回收抗體。

鑒於上文，可用於重組表現本發明抗體及抗體部分之核酸、載體及宿主細胞組合物包括核酸及包含該等核酸之載體，包含人類 TNF α 抗體阿達木單抗 (D2E7)。編碼 D2E7 輕鏈可變區之核苷酸序列係以 SEQ ID NO: 36 展示。LCVR 之 CDR1 域涵蓋核苷酸 70-102，CDR2 域涵蓋核苷酸 148-168 且 CDR3 域涵蓋核苷酸 265-291。編碼 D2E7 重鏈可變區之核苷酸序列係以 SEQ ID NO: 37 展示。HCVR 之 CDR1 域涵蓋核苷酸 91-105，CDR2 域涵蓋核苷酸 148-198 且 CDR3 域涵蓋核苷酸 295-330。熟習此項技術者應瞭解，編碼 D2E7 相關抗體或其部分之核苷酸序列 (例如 CDR 域，諸如 CDR3 域) 可源自使用遺傳密碼及標準分子生物學技術編碼 D2E7 LCVR 及 HCVR 之核苷酸序列。

除本文中所揭示之 D2E7 或其抗原結合部分或 D2E7 相關抗體以外，本發明之重組人類抗體可藉由篩檢重組組合抗體文庫，較佳為使用由源自人類淋巴細胞之 mRNA 製備之人類 VL 及 VH cDNA 所製備之 scFv 噬菌體呈現文庫來分離。製備及篩檢該等文庫之方法於此項技術中已知。除可購得之用於產生噬菌體呈現文庫之套組以外 (例如 Pharmacia *Recombinant Phage Antibody System*，目錄號 27-9400-01 及 Stratagene *SurfZAP*TM 噬菌體呈現套組，目錄號 240612)，特別易用於產生及篩檢抗體呈現文庫之方法及試劑之實例可見於以下文獻中：例如，Ladner 等人美國專

利第 5,223,409 號；Kang 等人 PCT 公開案第 WO 92/18619 號；Dower 等人 PCT 公開案第 WO 91/17271 號；Winter 等人 PCT 公開案第 WO 92/20791 號；Markland 等人 PCT 公開案第 WO 92/15679 號；Breitling 等人 PCT 公開案第 WO 93/01288 號；McCafferty 等人 PCT 公開案第 WO 92/01047 號；Garrard 等人 PCT 公開案第 WO 92/09690 號；Fuchs 等人 (1991) *Bio/Technology* 9:1370-1372；Hay 等人 (1992) *Hum Antibod Hybridomas* 3:81-65；Huse 等人 (1989) *Science* 246:1275-1281；McCafferty 等人，*Nature* (1990) 348:552-554；Griffiths 等人 (1993) *EMBO J* 12:725-734；Hawkins 等人 (1992) *J Mol Biol* 226:889-896；Clackson 等人 (1991) *Nature* 352:624-628；Gram 等人 (1992) *PNAS* 89:3576-3580；Garrard 等人 (1991) *Bio/Technology* 9:1373-1377；Hoogenboom 等人 (1991) *Nuc Acid Res* 19:4133-4137；及 Barbas 等人 (1991) *PNAS* 88:7978-7982。

在一較佳實施例中，為分離與 hTNF α 具有高親和力及低解離速率常數之人類抗體，首先使用描述於 Hoogenboom 等人 PCT 公開案第 WO 93/06213 號中之抗原決定基壓印法，使用與 hTNF α 具有高親和力及低解離速率常數之鼠類抗 hTNF α 抗體 (例如 MAK 195，其融合瘤具有寄存編號 ECACC 87 050801) 來選擇具有類似與 hTNF α 之結合活性之人類重鏈及輕鏈序列。用於此方法中之抗體文庫較佳為如以下文獻中所述製備且篩檢之 scFv 文庫：McCafferty 等人，PCT 公開案第 WO 92/01047 號；McCafferty 等人，

Nature (1990) 348:552-554 ; 及 Griffiths 等人 , (1993) *EMBO J* 12:725-734 。 scFv 抗體文庫較佳使用重組人類 TNF α 作為抗原來篩檢 。

選擇最初之人類 VL 及 VH 區段後 , 即實施 " 混合及匹配 " 實驗 , 其中對於 hTNF α 結合篩檢不同對之最初所選之 VL 及 VH 區段以選擇較佳 VL/VH 對組合 。 此外 , 為進一步改良對 hTNF α 結合之親和力及 / 或降低解離速率常數 , 可以類似於自然免疫反應中負責抗體之親和力成熟的活體內體細胞突變法之方法使該 (等) 較佳 VL/VH 對之 VL 及 VH 區段較佳在 VH 及 / 或 VL 之 CDR3 區內隨機突變 。 此活體外親和力成熟可藉由使用分別與 VH CDR3 或 VL CDR3 互補之 PCR 引子擴增 VH 區及 VL 區來完成 , 該等引子已在某些位置 " 摻 " 有四個核苷酸鹼基的任意混合物以便所得 PCR 產物編碼隨機突變已引入 VH 及 / 或 VL CDR3 區的 VH 及 VL 區段 。 為與 hTNF α 結合可再篩檢此等隨機突變之 VH 及 VL 區段且可選擇對於 hTNF α 結合展示高親和力及低解離速率之序列 。

自重組免疫球蛋白呈現文庫中篩檢且分離本發明之抗 hTNF α 抗體後 , 可自呈現包裝 (例如來自噬菌體基因組) 中回收編碼所選抗體之核酸且藉由標準重組 DNA 技術將其次選殖至其他表現載體中 。 若需要 , 則可進一步操作核酸以產生本發明之其他抗體形式 (例如連接於編碼諸如額外恆定區之額外免疫球蛋白域的核酸) 。 為表現藉由篩檢組合文庫所分離之重組人類抗體 , 如上文中所進一步詳述 , 將編碼抗體之 DNA 選殖入重組表現載體中且引入哺乳動物宿

主細胞中。

分離與hTNF α 具有高親和力及低解離速率常數之人類中和抗體之方法係描述於各自以引用的方式併入本文中之美國專利第6,090,382號、第6,258,562號及第6,509,015號中。

IV. 以本發明治療之病症

本文中所使用之術語"其中TNF α 活性有害之病症"意欲包括患該病症之個體體內存在TNF α 已展示為或懷疑為造成該病症之病理生理的原因，或為促使該病症惡化之因素的疾病或其他病症。因此，其中TNF α 活性有害之病症為預期抑制TNF α 活性減輕病症之症狀及/或進程之病症。該等病症可表現為(例如)患該病症之個體之生物流體中TNF α 濃度增加(例如個體血清、血漿、滑液等中TNF α 濃度增加)，其可(例如)使用如上文所述之抗TNF α 抗體來偵測。存在許多其中TNF α 活性有害之病症之實例，包括(但不限於)自體免疫病症(例如類風濕性關節炎(RA)或青少年類風濕性關節炎(JRA))、脊椎關節病(例如強直性脊椎炎(AS))或牛皮癬性關節炎(PsA)、腸道病症(例如克羅恩氏病)、皮膚病症(例如牛皮癬)及肺部病症(例如COPD或哮喘)。

以下描述關於TNF病症之額外細節。

A. 自體免疫疾病

在一實施例中，本發明包括治療自體免疫疾病。可使用TNF α 抗體(諸如阿達木單抗)來治療自體免疫疾病。該等自體免疫病狀之實例包括類風濕性關節炎、類風濕性脊椎

炎、骨關節炎及痛風關節炎、過敏症、多發性硬化症、自體免疫性糖尿病、自體免疫性葡萄膜炎及腎病症候群。自體免疫病狀之其他實例包括多系統自體免疫疾病及自體免疫性聽覺喪失。自體免疫疾病之其他實例係描述於以引用的方式併入本文中之美國申請案第10/622932號中。

類風濕性關節炎

TNF α 在類風濕性關節炎中與活化組織炎症及引起關節受損有關(參見例如Moeller, A.等人(1990) *Cytokine* 2:162-169; Moeller等人之美國專利第5,231,024號; Moeller, A.之歐洲專利公開案第260 610 B1號; Tracey及Cerami同上文; Arend, W.P.及Dayer, J-M. (1995) *Arth. Rheum.* 38:151-160; Fava, R.A.等人(1993) *Clin. Exp. Immunol.* 94:261-266)。

青少年類風濕性關節炎

腫瘤壞死因子與青少年關節炎(包括青少年類風濕性關節炎)之病理生理有關聯(Grom等人(1996) *Arthritis Rheum.* 39:1703; Mangge等人(1995) *Arthritis Rheum.* 8:211)。在一實施例中,使用本發明之TNF α 抗體來治療青少年類風濕性關節炎。本文中所使用之術語"青少年類風濕性關節炎"或"JRA"係指16歲前發生之可引起關節或結締組織損傷之慢性發炎性疾病。JRA亦稱為青少年慢性多發性關節炎及斯蒂爾氏病(Still's disease)。JRA引起16歲或更小之兒童之關節炎症及強直歷時超過6週。炎症引起關節發紅、腫脹、發熱及疼痛。任何關節均可受影響且炎症可限制受影

響關節之活動性。一種類型之JRA亦可影響內臟。

通常根據所涉及之關節數量、症狀及血液測試所見存在或不存在特定抗體將JRA分為三種類型。此等分類有助於醫師確定疾病如何進展及內臟或皮膚是否受影響。JRA之分類包括以下：

a. 少關節型JRA，其中患者具有四個或更少之受影響關節。少關節型為最常見形式之JRA，且通常影響諸如膝關節之大關節。

b. 多關節型HRA，其中五個或五個以上關節受影響。最常涉及諸如手及足中之彼等關節的小關節，但該疾病亦可影響大關節。

c. 全身性JRA以關節腫脹、發熱、輕度皮膚皮疹(light skin rash)為特徵，且亦可影響諸如心臟、肝臟、脾臟及淋巴結之內臟。全身性JRA亦稱為斯蒂爾氏病(Still's disease)。此等兒童中之一小部分在許多關節中產生關節炎且可患有持續至成年之嚴重關節炎。

B. 脊椎關節病

在一實施例中，本發明包括治療脊椎關節病。本文中所使用之術語"脊椎關節病"係用以指示若干影響脊椎關節之疾病中之任一者，其中該等疾病共有一般臨床、放射學及組織學特徵。許多脊椎關節病共有遺傳特徵，亦即其與HLA-B27等位基因相關。在一實施例中，術語脊椎關節病係用以指示除強直性脊椎炎外，若干影響脊椎關節之疾病中之任一者，其中該等疾病共有一般臨床、放射學及組織

學特徵。脊椎關節病之實例包括強直性脊椎炎、牛皮癬性關節炎/脊椎炎、腸病性關節炎(enteropathic arthritis)、反應性關節炎或萊特爾氏症候群(Reiter's syndrome)及未分化之脊椎關節病。用於研究脊椎關節病之動物模型實例包括 *ank/ank* 轉殖基因小鼠，HLA-B27 轉殖基因大鼠(參見 Taurog 等人(1998) *The Spondylarthritides*. Oxford:Oxford University Press)。

處於患脊椎關節病之危險中之個體實例包括患有關節炎之人類。脊椎關節病可與包括類風濕性關節炎之關節炎形式有關。在本發明之一實施例中，經由肺部投與 TNF α 抑制劑使用 TNF α 抑制劑來治療患脊椎關節病之個體。可以 TNF α 抑制劑治療之脊椎關節病之實例係如下所述：

強直性脊椎炎(AS)

在一實施例中，本發明包括使用 TNF α 抑制劑(例如 TNF α 抗體或其抗原結合部分)來治療強直性脊椎炎。腫瘤壞死因子與強直性脊椎炎之病理生理學有關聯(參見 Verjans 等人(1991) *Arthritis Rheum.* 34:486；Verjans 等人(1994) *Clin Exp Immunol.* 97:45；Kaijtz 等人(1999) *Hum Immunol.* 60:140)。強直性脊椎炎(AS)為涉及一或多個椎骨炎症之發炎病症。AS 為影響主軸骨骼及/或外周關節(包括脊柱椎骨之間的關節及骶髭關節及脊柱與骨盆之間的關節)之慢性發炎性疾病。AS 最終可引起受影響之椎骨融合或生長在一起。脊椎關節病(包括 AS)可與牛皮癬性關節炎(PsA)及/或發炎性腸病(IBD)(包括潰瘍性結腸炎及克羅恩氏病)有關

聯。

AS之早期表現可由放射線照相檢驗(包括CT掃描及MRI掃描)確定。AS之早期表現通常包括如由軟骨下骨之皮質邊緣模糊、繼而侵蝕及硬化為跡象之骶髂關節炎及骶髂關節變化。亦表明疲勞為AS之共同症狀(Duffy等人(2002) *ACR 66th Annual Scientific Meeting Abstract*)。

牛皮癬性關節炎

在一實施例中，本發明包括使用TNF α 抑制劑(例如TNF α 抗體或其抗原結合部分)來治療牛皮癬性關節炎。腫瘤壞死因子與牛皮癬性關節炎(PsA)之病理生理有關聯(Partsch等人(1998) *Ann Rheum Dis.* 57:691；Ritchlin等人(1998) *J Rheumatol.* 25:1544)。如本文中所提及，牛皮癬性TNF α 在類風濕性關節炎中與活化組織炎症及引起關節受損有關聯(參見例如，Moeller, A.等人(1990) *Cytokine* 2:162-169；Moeller等人之美國專利第5,231,024號；Moeller, A.之歐洲專利公開案第260 610 B1號；Tracey及Cerami同上文；Arend, W.P.及Dayer, J-M. (1995) *Arth. Rheum.* 38:151-160；Fava, R.A.等人(1993) *Clin. Exp. Immunol.* 94:261-266)。TNF α 亦在糖尿病中與促進胰島細胞死亡及介導胰島素抵抗有關聯(參見例如Tracey及Cerami，同上文；PCT公開案第WO 94/08609號)。TNF α 亦與在多發性硬化症中介導對寡樹突神經膠質細胞之細胞毒性及誘發炎症斑塊有關聯(參見例如Tracey及Cerami，同上文)。使嵌合及人源化鼠類抗hTNF α 抗體經受治療類風濕性關節炎之臨床測試(參

見例如 Elliott, M.J. 等人 (1994) *Lancet* 344:1125-1127 ; Elliot, M.J. 等人 (1994) *Lancet* 344:1105-1110 ; Rankin, E.C. 等人 (1995) *Br. J. Rheumatol.* 34:334-342)。

牛皮癬性關節炎係指與牛皮癬相關之慢性發炎性關節炎，牛皮癬為一種引起身體上紅色斑點之常見慢性皮膚病狀。20個患牛皮癬的個體中約有1個將產生關節炎以及皮膚病狀，且在約75%之情況下，牛皮癬先於關節炎。PsA 自身以輕度至重度關節炎範圍內之各種方式展現，其中關節炎通常影響手指及脊柱。當脊骨受影響時，症狀與如上所述之強直性脊椎炎之彼等症狀類似。TNF α 抗體或其抗原結合片段可用於治療PsA。

PsA有時與關節炎性磨損有關。關節炎性磨損係指特徵為過度骨骼侵蝕導致損壞關節之大體侵蝕性畸形的病症。

PsA之特徵性放射線照相特徵包括關節侵蝕、關節間隙狹窄、骨增生(包括關節周圍骨膜炎及軸骨膜炎)、骨質溶解(包括"帶帽鉛筆"畸形及肢端骨質溶解)、關節強直、骨刺形成及脊椎炎(Wassenberg 等人 (2001) *Z Rheumatol* 60:156)。不同於類風濕性關節炎(RA)，涉及於PsA中之關節通常為不對稱的且可為少關節型；骨質疏鬆症為非典型的。儘管早期PsA中之侵蝕性改變如RA中一般在邊緣，但其由於鄰近侵蝕之骨膜骨骼形成而隨疾病進程變得不規則及不明確。在嚴重情況下，侵蝕性變化可進行至產生帶帽鉛筆畸形或大體骨質溶解(Gold 等人 (1988) *Radiol Clin North Am* 26:1195 ; Resnick 等人 (1977)) *J Can Assoc*

Radiol 28:187)。不對稱侵蝕在手之腕骨關節及掌指(MCP)關節、近端指節間(PIP)關節及遠端指節間(DIP)關節中藉由放射線照相可見，但DIP關節通常首先受影響。在指骨叢及在腱及韌帶與骨骼之連接部位處發現異常。存在DIP侵蝕性改變可提供支持PsA診斷之敏感性及特異性放射線照相觀測結果。又，手傾向於比足更加頻繁地被涉及，比率幾乎為2:1。

脊椎關節病之其他實例係描述於以引用的方式併入本文中之美國申請案第10/622932號中。

C. 皮膚及指甲病症

在一實施例中，本發明包括治療皮膚及指甲病症。本文中所使用之術語"其中TNF α 活性有害之皮膚及指甲病症"意欲包括患該病症之個體體內存在TNF α 已經展示為或懷疑為造成病症之病理生理的原因或為促使病症(例如牛皮癬)惡化之因素的皮膚及/或指甲病症及其他病症。因此，其中TNF α 活性有害之皮膚及指甲病症為預期抑制TNF α 活性減輕病症症狀及/或進程之病症。抗體、抗體部分及其他TNF α 抑制劑用於治療特定皮膚及指甲病症之用途於以下進一步論述。在某些實施例中，如下所述向個體投與與另一種治療劑組合之本發明之抗體、抗體部分或其他TNF α 抑制劑。在一實施例中，向個體投與與另一種治療牛皮癬之治療劑組合之TNF α 抗體。

牛皮癬

腫瘤壞死因子與牛皮癬之病理生理有關聯(Takematsu等

人(1989) *Arch Dermatol Res.* 281:398 ; Victor and Gottlieb (2002) *J Drugs Dermatol.* 1(3):264)。將牛皮癬描述為皮膚炎症(刺激及發紅)，其特徵為經常伴隨有皮膚發紅、發癢及厚乾銀色鱗屑。詳言之，形成涉及表皮增殖、皮膚發炎性反應及諸如淋巴因子及炎性因子之調控分子表現中之初級及二級改變的病變。牛皮癬性皮膚之形態學特徵為表皮細胞更換增加、表皮變厚、異常角質化、炎性細胞滲透入表皮，及多形核白細胞及淋巴細胞滲透入表皮層導致基底細胞週期增加。牛皮癬通常涉及指甲，其經常展示為凹陷、指甲分離、變厚及變色。牛皮癬通常與以下其他發炎病症有關聯，例如關節炎(包括類風濕性關節炎)、發炎性腸病(IBD)及克羅恩氏病。

牛皮癬之跡象最常見於軀幹、肘、膝、頭皮、皮褶或手指甲上，但其可影響皮膚之任意或所有部分。通常，新皮膚細胞自底層向上移至表面需要約一個月。在牛皮癬中，此過程僅需要幾天，從而導致死皮細胞積累及厚鱗屑形成。牛皮癬症狀包括：覆蓋有銀色鱗屑之乾或紅皮膚斑點；伴隨有紅色邊界之可裂開及變癢且通常混雜在肘、膝、軀幹、頭皮及手上之皮膚凸斑；包括膿皰、皮膚裂開及皮膚發紅之皮膚病變；可與例如牛皮癬性關節炎之關節炎相關之關節疼痛。

牛皮癬之治療通常包括局部皮質類固醇、維生素D類似物及局部或口服類視色素或其組合。在一實施例中，本發明之TNF α 抑制劑係與此等常見治療中之一者組合或在此

等常見治療存在下投與。亦可與用於治療牛皮癬之TNF α 抑制劑組合之額外治療劑係於以下更詳細描述。

牛皮癬之診斷通常基於皮膚外觀。此外可需要皮膚活組織檢查、或刮下及培養皮膚斑塊以排除其他皮膚病症。若存在關節疼痛且持續，則可使用x射線來檢查牛皮癬性關節炎。

在本發明之一實施例中，使用TNF α 抑制劑來治療牛皮癬，包括慢性斑塊牛皮癬，點狀牛皮癬、反向牛皮癬、膿皰型牛皮癬、尋常天疱瘡、紅皮症型牛皮癬、與發炎性腸病(IBD)相關之牛皮癬及與類風濕性關節炎相關之牛皮癬(RA)。包括於本發明之治療方法中之特定類型之牛皮癬包括慢性斑狀牛皮癬、點狀牛皮癬、反向牛皮癬及膿皰型牛皮癬。牛皮癬及其他類型之皮膚及指甲病症之其他實例係描述於以引用的方式併入本文中之美國申請案第10/622932號中。

D. 肺部病症

在一實施例中，本發明提供治療個體之肺部病症之方法，其包含向個體肺部傳遞TNF α 抑制劑，其中肺部投與包含向個體肺部局部傳遞TNF α 抑制劑。可根據本發明之局部傳遞法治療之肺部病症之實例包括(但不限於)COPD及哮喘。因此術語"局部"在本文中係關於肺使用。

TNF α 與多種肺部病症(包括諸如特發性間質性肺病及慢性阻塞性氣管病症之肺部病症)之病理生理有關聯(參見例如Piquet PF等人(1989) *J Exp Med.* 170:655-63; Whyte

M等人(2000) *Am J Respir Crit Care Med.* 162:755-8 ; Anticevich SZ等人(1995) *Eur J Pharmacol.* 284:221-5)。本發明提供患該肺部病症之個體體內TNF α 活性之方法，該方法包含向個體投與抗體、抗體部分或其他TNF α 抑制劑，使得患特發性間質性肺病或慢性阻塞性氣管病症之個體體內TNF α 活性受抑制。其中TNF α 活性有害之特發性間質性肺病及慢性阻塞性氣管病症之實例係於以下進一步論述。

1. 特發性間質性肺病

在一實施例中，使用本發明之TNF α 抗體來治療患特發性間質性肺病之個體。特發性間質性肺病以三種方式影響肺：首先，以某種已知或未知方式損傷肺組織；其次，肺中肺泡壁發炎；及最後，間質組織(或肺泡之間組織)中開始形成疤痕(或纖維化)且肺變得僵硬。特發性間質性肺病之實例係如下所述。

a. 特發性肺纖維化(IPF)

腫瘤壞死因子與特發性肺纖維化(IPF)之病理生理有關聯(參見Piquet PF等人(1989) *J Exp Med.* 170:655-63 ; Whyte M等人(2000) *Am J Respir Crit Care Med* 162:755-8 ; Corbett EL等人(2002) *Am J Respir Crit Care Med.* 165:690-3)。舉例而言，已發現IPF患者於巨噬細胞及II型上皮細胞中具有TNF之增加表現量(Piquet等人(1993) *Am J Pathol* 143:651 ; Nash等人(1993) *Histopathology* 22:343 ; Zhang等人(1993) *J Immunol* 150:4188)。特定遺傳多態性亦與增

加之TNF表現相關，且涉及在IPF及矽肺病中起作用(Whyte等人，同上文；Corbett EL等人，同上文)。

術語"特發性肺部纖維化"或"IPF"係指以炎症及最終深肺組織疤痕形成從而引起氣促為特徵之一組病症。在IPF中，肺泡及其支撐結構(間質組織)疤痕形成最終導致功能性肺泡單元之損耗且減少氧自空氣轉移至血液。IPF亦稱為彌漫性實質性肺病；肺泡炎；隱性纖維化肺泡炎(CFA)；特發性肺部肺炎(IPP)及普通型間質性肺炎(UIP)。IPF通常與UIP("IPF/UIP")同義使用，因為UIP為IPF病理診斷中所見之最常見細胞模式。

患IPF之患者通常具有某些症狀，包括乾咳、胸痛及/或氣促。用於治療IPF之常用藥物為強的松(prednisone)及環磷醯胺(cytoxan)，但僅一部分患者在持續使用此等藥物下得以改善(American Thoracic Society (2000) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 161:646)。投與氧及移植肺為其他治療選擇。在一實施例中，向個體投與與用於治療特發性肺部纖維化之另一種治療劑(例如氧)組合之本發明TNF α 抗體。

2. 慢性阻塞性氣管病症

在一實施例中，使用本發明TNF α 抗體來治療患慢性阻塞性氣管病症之個體。在此等疾病中，氣管阻塞可為慢性及持續性的或陣發性及復發性的。氣管阻塞通常係由用力呼氣肺活量測定法測定，該測定法為相對於時間記錄在最大呼氣期間之排氣體積。在不具有阻塞氣管之個體體內，完全用力呼氣通常需3至4秒之間。在患慢性阻塞性氣管病

症之患者(其中氣管阻塞)體內，其通常需要耗費高達15至20秒且可為屏氣時間所限制。第一秒呼氣中正常用力呼氣體積(FEV_1)易於量測且基於年齡、性別及身高精確地預測。 FEV_1 與用力肺活量(forced vital capacity)之比(FEV_1/FVC)通常超過0.75。在用力呼氣及隨後用力吸氣期間相對體積記錄空氣流量(流量-體積環)亦主要適用於區分氣管上部狹窄與下部狹窄。慢性阻塞性氣管病症之實例係於以下描述。

a. 哮喘：

腫瘤壞死因子與哮喘之病理生理有關聯(Anticevich SZ 等人(1995) *Eur J Pharmacol.* 284:221-5；Thomas PS 等人 1995. *Am J Respir Crit Care Med.* 152:76-80；Thomas PS, Heywood G. (2002) *Thorax.* 57:774-8)。舉例而言，已發現急性哮喘發作與肺部嗜中性白血球增多及BAL TNF含量升高相關 (Ordonez CL. 等人(2000) *Am J Respir Crit Care Med* 161:1185)。已發現哮喘症狀之嚴重性與室內粉塵內毒素含量相關。在大鼠體內，抗TNF抗體降低內毒性誘導之氣管變化(Kips 等人(1992) *Am Rev Respir Dis* 145:332)。

本文中所使用之術語"哮喘"係指氣管炎症引起進出肺部之氣流受限制之病症。哮喘亦稱為支氣管哮喘、運動誘發之哮喘-支氣管及反應性氣管病(RAD)。在一些情況下，哮喘與過敏症相關及/或為家族性的。哮喘包括以支氣管直徑或口徑在短時段內大範圍波動，導致肺功能改變為特徵之病狀。所致增加之氣流阻力在受影響之個體體內產生症

狀，包括氣喘(呼吸困難)、胸部縮窄或"緊縮"及喘鳴。

患哮喘之患者係根據NIH準則表徵，描述為輕度間歇性、輕度持續性、中度持續性及嚴重持續性(參見NAEPP Expert Panel Report Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma-Update on Selected Topics 2002. JACI 2002; 110: S141-S209 ; Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma. NIH公開案97-4051, 1997年7月)。通常以吸入皮質類固醇來治療診斷患中度持續性哮喘之患者。通常以高劑量吸入皮質類固醇及口服皮質類固醇來治療診斷患重度持續性哮喘之患者。

b. 慢性阻塞性肺病(COPD)

腫瘤壞死因子與慢性阻塞性肺病之病理生理有關聯(Keatings VM. (2000) *Chest*. 118:971-5 ; Sakao S等人(2001) *Am J Respir Crit Care Med*. 163:420-22 ; Sakao S等人(2002) *Chest*. 122:416-20)。術語"慢性阻塞性肺病"或"COPD"在本文中可互換使用且係指以伴有可變程度之氣囊擴大及肺組織受損之氣流受限為特徵之一組肺病。術語COPD包括慢性支氣管炎(伴有杯狀細胞黏膜下腺增生之黏液分泌過多)、慢性阻塞性支氣管炎或肺氣腫(氣管實質受損)或此等病狀之組合。肺氣腫及慢性支氣管炎為最常見形式之慢性阻塞性肺病。將COPD定義為不可逆氣流阻塞。

在COPD中，慢性炎症引起小氣管固定狹窄及肺實質及肺泡壁受損(肺氣腫)。其係以增加數量之肺泡巨噬細胞、

嗜中性白血球及細胞毒性T淋巴細胞及釋放多種炎性介體(脂質、趨化激素、細胞激素、生長因子)為特徵。此炎症引起伴隨小氣管狹窄及肺實質受損之纖維化。亦存在高水平之氧化應激，其可使此炎症擴大。

V. 額外治療劑

TNF α 抑制劑(諸如但不限於抗體或其抗原結合部分)可與已知對患其中TNF α 活性有害之病症(包括但不限於RA、AS、PsA、JRA、牛皮癬及哮喘)之個體之急性治療有效的額外治療劑組合經由肺部傳遞投與。

TNF α 抗體或其抗原結合部分可單獨或組合使用來治療該等疾病。應瞭解，抗體可單獨或與額外試劑(例如治療劑)組合使用，該額外試劑係由熟習此項技術者為其所欲目的選擇。舉例而言，額外試劑可為技術許可適用以治療以本發明抗體治療之疾病或病狀之治療劑。額外試劑亦可為賦予治療組合物有利屬性之試劑，例如影響組合物黏度之試劑。

應進一步瞭解，包括於本發明內之組合為彼等適用於其預期目的之組合。以下所列試劑為說明性目的且不意欲為限制性的。為本發明之部分的組合可為本發明之抗體及至少一種選自以下清單之額外試劑。若組合使得所形成之組合物可執行其預期功能，則組合亦可包括一種以上額外試劑，例如兩種或三種額外試劑。

本文中所述之結合蛋白可與額外治療劑(諸如改善疾病之抗類風濕性藥物(DMARD)或非類固醇抗炎藥(NSAID)或

類固醇或其任何組合)組合使用。DMARD之較佳實例為羥氯喹、來氟米特(leflunomide)、甲胺喋呤、非經腸金、口服金及柳氮磺胺吡啶。亦稱作NSAIDS之非類固醇抗炎藥之較佳實例包括如布洛芬(ibuprofen)之藥物。其他較佳組合為包括去氫皮質醇(prednisolone)之皮質類固醇；可藉由在與本發明之抗TNF α 抗體組合治療患者時逐漸減少所需類固醇劑量來降低或甚至消除眾所熟知之類固醇使用副作用。可與本發明之抗體或抗體部分組合之類風濕性關節炎治療劑之非限制性實例包括以下：細胞激素抑制性抗炎藥(CSAID)；其他人類細胞激素或生長因子(例如TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、IL-21、IL-23、干擾素、EMAP-II、GM-CSF、FGF及PDGF)之抗體或拮抗劑。本發明之抗體或其抗原結合部分可與細胞表面分子(諸如CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80 (B7.1)、CD86 (B7.2)、CD90、CTLA)或其配位體(包括CD154(gp39或CD40L))之抗體組合。

治療劑之較佳組合可在自體免疫及隨後炎症級聯之不同點干擾；較佳實例包括TNF拮抗劑，諸如可溶性p55或p75TNF受體，其衍生物(p75TNFR1gG(EnbrelTM)或p55TNFR1gG(來那西普)；嵌合、人源化或人類TNF抗體或其片段，包括英利昔單抗(Remicade[®]，Johnson及Johnson；描述於以引用的方式併入本文中之美國專利第5,656,272號)；CDP571(人源化單株抗TNF α IgG4抗體)；CDP 870(人源化

單株抗 TNF α 抗體片段)；抗 TNF dAb(Peptech)；CNTO 148(勾利木單抗；Medarex及Centocor，參見WO 02/12502)及阿達木單抗(Humira[®] Abbott Laboratories，人類抗 TNF mAb，於US 6,090,382中描述為D2E7)。可用於本發明中之額外TNF抗體係描述於各自以引用的方式併入本文中之美國專利第6,593,458號、第6,498,237號、第6,451,983號及第6,448,380號中。包括TNF α 轉化酶(TACE)抑制劑；IL-1抑制劑(介白素-1轉化酶抑制劑，IL-1RA等)之其他組合可因相同原因而有效。其他較佳組合包括介白素11。另一較佳組合為自體免疫反應之其他關鍵作用者，其可與TNF α 功能並行起作用、依賴於TNF α 功能起作用或與TNF α 功能起一致作用；尤其較佳為包括IL-18抗體或可溶性IL-18受體或IL-18結合蛋白之IL-18拮抗劑。已展示TNF α 與IL-18具有重疊但不同功能，且對兩者之拮抗劑組合可最有效。另一較佳組合為非空乏抗CD4抑制劑。其他較佳組合包括協同刺激路徑CD80 (B7.1)或CD86 (B7.2)之拮抗劑，包括抗體、可溶性受體或拮抗配位體。

本發明之抗體或其抗原結合部分亦可與以下試劑組合：諸如甲胺喋呤、6-MP、硫唑嘌呤柳氮磺吡啶、美色拉秦(mesalazine)、奧色拉秦氯喹(olsalazine chloroquinine)/羥氯喹、青黴胺、硫代蘋果酸鹽(aurothiomalate)(肌肉內及口服)、硫唑嘌呤(azathioprine)、秋水仙素(cochicine)、皮質類固醇(口服、吸入及局部注射)、 β 2腎上腺素受體促效劑(沙丁胺醇、特布他林(terbutaline)、沙美特羅)、黃嘌呤

(茶鹼(theophylline)、胺茶鹼(aminophylline))、色甘酸鹽(cromoglycate)、奈多羅米(nedocromil)、酮替酚(ketotifen)、異丙托銨及氧托銨(oxitropium)、環孢素(cyclosporin)、FK506、雷帕黴素(rapamycin)、黴酚酸嗎啉乙酯、來氟米特(leflunomide)、NSAID(例如布洛芬)、皮質類固醇(諸如去氫皮質醇)、磷酸二酯酶抑制劑、腺苷促效劑(adenosine agonist)、抗血栓劑、補體抑制劑、腎上腺素劑、藉由前發炎性細胞激素(諸如TNF α 或IL-1)干擾信號轉導之試劑(例如IRAK、NIK、IKK、p38或MAP激酶抑制劑)、IL-1 β 轉化酶抑制劑、TNF α 轉化酶(TACE)抑制劑、T細胞信號轉導抑制劑(諸如激酶抑制劑)、金屬蛋白酶抑制劑、柳氮磺胺吡啶、硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤、血管緊張素轉化酶抑制劑、可溶性細胞激素受體及其衍生物(例如可溶性p55或p75 TNF受體及衍生物p75TNFR1gG(EnbrelTM及p55TNFR1gG(來那西普))、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R)、抗炎細胞激素(例如IL-4、IL-10、IL-11、IL-13及TGF β)、賽利克西(celecoxib)、葉酸(folic acid)、硫酸羥氯喹、羅非昔布(rofecoxib)、依那西普、英利昔單抗、萘普生(naproxen)、伐地考昔(valdecoxib)、柳氮磺胺吡啶、甲潑尼龍(methylprednisolone)、美儂西康(meloxicam)、乙酸甲潑尼龍、硫代蘋果酸金鈉、阿司匹靈(aspirin)、曲安奈德(triamcinolone acetonide)、萘磺酸丙氧芬(propoxyphene napsylate)/apap、葉酸、萘丁美酮(nabumetone)、雙氯芬酸(diclofenac)、吡羅昔康

(piroxicam)、依託度酸(etodolac)、雙氯芬酸鈉(diclofenac sodium)、奧沙普嗪(oxaprozin)、鹽酸羥考酮(oxycodone hcl)、酒石酸氫可待因酮(hydrocodone bitartrate)/apap、雙氯芬酸鈉(diclofenac sodium)/米索前列醇(misoprostol)、芬太尼(fentanyl)、人類重組阿那白滯素(anakinra)、鹽酸曲馬多(tramadol HCl)、雙水楊酯(salsalate)、舒林酸(sulindac)、氰鈷胺素(cyanocobalamin)/fa/吡哆醇(pyridoxine)、乙醯胺苯酚(acetaminophen)、阿倫膦酸鈉(alendronate sodium)、去氫皮質醇、硫酸嗎啡(morphine sulfate)、鹽酸利多卡因、吲哚美辛(indomethacin)、硫酸葡糖胺(glucosamine sulf)/軟骨素(chondroitin)、鹽酸阿米替林(amitriptyline HCl)、磺胺嘧啶、鹽酸羥考酮/乙醯胺苯酚、鹽酸奧洛他定(olopatadine HCl)、米索前列醇、萘普生鈉(naproxen sodium)、奧美拉唑(omeprazole)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、利妥昔單抗(rituximab)、IL-1 TRAP、MRA、CTLA4-IG、IL-18 BP、抗IL-18、抗IL15、BIRB-796、SCIO-469、VX-702、AMG-548、VX-740、羅氟司特(Roflumilast)、IC-485、CDC-801及美索潘(Mesopram)及對抗介白素-6(IL-6)受體之Actemra™(妥西利珠單抗(tocilizumab))人源化MAb。較佳組合包括甲胺喋呤或來氟米特且在中度或重度類風濕性關節炎之情況下，包括環孢素。

可與TNF α 抗體或其抗原結合部分組合用以治療類風濕性關節炎之非限制性額外試劑包括(但不限於)以下：非類

固醇抗炎藥 (NSAID) ; 細胞激素抑制性抗炎藥 (CSAID) ;
CDP-571/BAY-10-3356(人源化抗TNF α 抗體 ; Celltech/Bayer) ;
cA2/英利昔單抗(嵌合抗TNF α 抗體 ; Centocor) ; 75 kDTNFR-
IgG/依那西普 (75 kD TNF受體-IgG融合蛋白 ; Immunex ;
參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1994)第37卷 , S295 ; *J.*
Invest. Med. (1996)第44卷 , 235A) ; 55 kDTNF-IgG(55 kD
TNF受體-IgG融合蛋白 ; Hoffmann-LaRoche) ; IDEC-
CE9.1/SB 210396(非空乏性靈長類抗CD4抗體 ;
IDEC/SmithKline ; 參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1995)
第38卷 , S185) ; DAB 486-IL-2及/或DAB 389-IL-2(IL-2融
合蛋白 ; Seragen ; 參見例如 *Arthritis & Rheumatism*(1993)
第36卷 , 1223) ; 抗Tac(人源化抗IL-2R α ; Protein Design
Labs/Roche) ; IL-4(抗炎細胞激素 ; DNAX/Schering) ; IL-
10(SCH 52000 ; 重組IL-10、抗炎細胞激素 ; DNAX/Schering) ;
IL-4 ; IL-10及/或IL-4促效劑(例如促效劑抗體) ; IL-
1RA(IL-1受體拮抗劑 ; Synergen/Amgen) ; 阿那白滯素/
Kineret[®](Amgen) ; TNF-bp/s-TNF(可溶性TNF結合蛋白 ;
參見例如 *Arthritis & Rheumatism*(1996)第39卷 , 第9號(增
刊) , S284 ; *Amer. J. Physiol. - Heart and Circulatory*
Physiology (1995)第268卷 , 第37-42頁) ; R973401(磷酸二
酯酶IV型抑制劑 , 參見例如 *Arthritis & Rheumatism*(1996)
第39卷 , 第9號(增刊) , S282) ; MK-966(COX-2抑制劑 ; 參見
例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)第39卷 , 第9號(增刊) ,
S81) ; 伊洛前列素(參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)

第 39 卷，第 9 號(增刊)，S82)；甲胺喋呤；沙力度胺 (thalidomide)(參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)第 39 卷，第 9 號(增刊)，S282)及沙力度胺相關藥物(例如塞利井 (Celgen))；來氟米特(抗炎及細胞激素抑制劑；參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)第 39 卷，第 9 號(增刊)，S131；*Inflammation Research* (1996)第 45 卷，第 103-107 頁)；胺甲環酸(纖維溶酶原活化抑制劑；參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)第 39 卷，第 9 號(增刊)，S284)；T-614 (細胞激素抑制劑，參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)第 39 卷，第 9 號(增刊)，S282)；前列腺素 E1(參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)第 39 卷，第 9 號(增刊)，S282)；替尼達普 (Tenidap)(非類固醇抗炎藥；參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)第 39 卷，第 9 號(增刊)，S280)；萘普生(非類固醇抗炎藥；參見例如 *Neuro Report* (1996)第 7 卷，第 1209-1213 頁)；美儂西康(非類固醇抗炎藥)；布洛芬(非類固醇抗炎藥)；吡羅昔康(非類固醇抗炎藥)；雙氯芬酸(非類固醇抗炎藥)；吲哚美辛(非類固醇抗炎藥)；柳氮磺胺吡啶(參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)第 39 卷，第 9 號(增刊)，S281)；硫唑嘌呤(參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)第 39 卷，第 9 號(增刊)，S281)；ICE 抑制劑(酶介白素-1 β 轉化酶抑制劑)；zap-70 及/或 lck 抑制劑(酪胺酸激酶 zap-70 或 lck 抑制劑)；VEGF 抑制劑及/或 VEGF-R 抑制劑(血管內皮細胞生長因子或血管內皮細胞生長因子受體抑制劑；血管生成抑制劑)；皮質類固醇抗炎藥(例如

SB203580)；TNF轉化酶抑制劑；抗IL-12抗體；抗IL-18抗體；介白素-11(參見例如 *Arthritis & Rheumatism*(1996)第39卷，第9號(增刊)，S296)；介白素-13(參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)第39卷，第9號(增刊)，S308)；介白素-17抑制劑(參見例如 *Arthritis & Rheumatism* (1996)第39卷，第9號(增刊)，S120)；金；青黴胺；氯喹；苯丁酸氮芥(chlorambucil)；羥氯喹；環孢素；環磷醯胺；總淋巴輻射；抗胸腺細胞球蛋白；抗CD4抗體；CD5毒素；口服肽及膠原蛋白；氯苯紮利二鈉(lobenzarit disodium)；細胞激素調控劑(CRA) HP228及HP466(Houghten Pharmaceuticals, Inc.)；ICAM-1反義硫代磷酸酯寡聚脫氧核苷酸(ISIS 2302；Isis Pharmaceuticals, Inc.)；可溶性補體受體1(TP10；T Cell Sciences, Inc.)；強的松；奧古蛋白(orgotein)；多硫化葡糖胺聚糖(glycosaminoglycan polysulphate)；米諾環素；抗IL2R抗體；海洋脂質及植物脂質(魚及植物種子脂肪酸；參見例如 DeLuca等人(1995) *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 21:759-777)；金諾芬(auranofin)；苯基丁氮酮(phenylbutazone)；甲氯芬那酸(meclofenamic acid)；氟芬那酸(flufenamic acid)；靜脈內免疫球蛋白；齊留通(zileuton)；阿紮立平(azaribine)；黴酚酸(RS-61443)；他克莫司(tacrolimus)(FK-506)；西羅莫司(sirolimus)(雷帕黴素)；胺普立糖(amiprilose)(泰拉非煙(therafectin))；克拉屈濱(cladribine)(2-氯脫氧腺苷)；甲胺喋呤；抗病毒藥及免疫調節劑。

在一實施例中，與以下試劑中之一者組合投與TNF α 抗體或其抗原結合部分來治療類風濕性關節炎：KDR小分子抑制劑(ABT-123)、Tie-2小分子抑制劑；甲胺喋呤；強的松；賽利克西；葉酸；硫酸羥氣喹；羅非昔布；依那西普；英利昔單抗；來氟米特；萘普生；伐地考昔；柳氮磺胺吡啶；甲潑尼龍；布洛芬；美儂西康；乙酸甲潑尼龍；硫代蘋果酸金鈉；阿司匹靈；硫唑嘌呤；曲安奈德；萘磺酸丙氧芬/apap；葉酸；萘丁美酮；雙氯芬酸；吡羅昔康；依託度酸(etodolac)；雙氯芬酸鈉；奧沙普嗪；鹽酸羥考酮；重酒石酸氫可酮/apap；雙氯芬酸鈉/米索前列醇；芬太尼；人類重組阿那白滯素；鹽酸曲馬多；雙水楊酯；舒林酸；氰鈷胺素/fa/吡哆醇；乙醯胺苯酚；阿侖麟酸鈉；去氫皮質醇；硫酸嗎啡；鹽酸利多卡因；吲哚美辛；硫酸葡糖胺/軟骨素；環孢素；鹽酸阿米替林；磺胺嘧啶；鹽酸羥考酮/乙醯胺苯酚；鹽酸奧洛他定；米索前列醇；萘普生鈉；奧美拉唑；黴酚酸嗎啉乙酯(mycophenolate mofetil)；環磷醯胺；利妥昔單抗；IL-1 TRAP；MRA；CTLA4-IG；IL-18 BP；ABT-874；ABT-325(抗IL 18)；抗IL 15；BIRB-796；SCIO-469；VX-702；AMG-548；VX-740；羅氟司特；IC-485；CDC-801；及美索潘。在另一實施例中，與治療類風濕性關節炎之上述試劑中之一者組合投與TNF α 抗體或其抗原結合部分來治療TNF α 相關病症。

可與本發明抗體或抗體部分組合之發炎性腸病之治療劑的非限制性實例包括以下：布地奈德；表皮生長因子；皮

質類固醇；環孢素、柳氮磺胺吡啶；胺基水楊酸酯；6-巰基嘌呤；硫唑嘌呤；甲硝噻唑(metronidazole)；脂肪加氧酶抑制劑；美沙拉嗪(mesalamine)；奧色拉秦；巴柳氮(balsalazide)；抗氧化劑；凝血脂素抑制劑(thromboxane inhibitors)；IL-1受體拮抗劑；抗IL-1 β 單株抗體；抗IL-6單株抗體；生長因子；彈性蛋白酶抑制劑；吡啶基-咪唑化合物；其他人類細胞激素或生長因子(例如TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、EMAP-II、GM-CSF、FGF及PDGF)之抗體或拮抗劑。本發明之抗體或其抗原結合部分可與細胞表面分子(諸如CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD90)或其配位體之抗體組合。本發明之抗體或其抗原結合部分亦可與以下試劑組合：諸如甲胺喋呤、環孢素、FK506、雷帕黴素、黴酚酸嗎啉乙酯、來氟米特、NSAID(例如布洛芬)、皮質類固醇(諸如去氫皮質醇)、磷酸二酯酶抑制劑、腺苷促效劑、抗血栓劑、補體抑制劑、腎上腺素劑、藉由前發炎性細胞激素(諸如TNF α 或IL-1)干擾信號轉導之試劑(例如IRAK、NIK、IKK、p38或MAP激酶抑制劑)、IL-1 β 轉化酶抑制劑、TNF α 轉化酶抑制劑、T細胞信號轉導抑制劑(諸如激酶抑制劑)、金屬蛋白酶抑制劑、柳氮磺胺吡啶、硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤、血管緊張素轉化酶抑制劑、可溶性細胞激素受體及其衍生物(例如可溶性p55或p75 TNF受體、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R)及抗炎細胞激素(例如IL-4、IL-

10、IL-11、IL-13及TGF β)。

可與抗體或抗原結合部分組合之用於克羅恩氏病之治療劑之較佳實例包括以下：TNF拮抗劑，例如抗TNF抗體；D2E7(PCT公開案第WO 97/29131號；HUMIRA)；CA2(REMICADE)；CDP 571；TNFR-Ig構築體(p75TNFR IgG(ENBREL)及p55TNFR IgG(LENERCEPT))抑制劑及PDE4抑制劑。本發明之抗體或其抗原結合部分可與皮質類固醇(例如布地奈德及地塞米松(dexamethasone))組合。亦可將本發明之抗體或其抗原結合部分與以下之試劑組合，諸如柳氮磺胺吡啶、5-氨基水楊酸及奧色拉秦及干擾前發炎性細胞激素(諸如IL-1)合成或作用之試劑，例如IL-1 β 轉化酶抑制劑及IL-1ra。本發明之抗體或其抗原結合部分亦可與T細胞信號轉導抑制劑(例如酪胺酸激酶抑制劑6-巰基嘌呤)一起使用。本發明之抗體或其抗原結合部分可與IL-11組合。本發明之抗體或其抗原結合部分可與下列試劑組合：美沙拉嗪、強的松、硫唑嘌呤、巰基嘌呤、英利昔單抗、甲潑尼龍琥珀酸鈉、地芬諾酯(diphenoxylate)/硫酸阿托品(atrop sulfate)、鹽酸洛哌丁胺(loperamide hydrochloride)、甲胺喋呤、奧美拉唑、葉酸、環丙沙星(ciprofloxacin)/右旋糖-水、重酒石酸氫可酮/apap、鹽酸四環素、醋酸氟輕鬆(flucinonide)、甲硝噻唑、硫柳汞(thimerosal)/硼酸、消膽胺(cholestyramine)/蔗糖、鹽酸環丙沙星、硫酸莨菪鹼、鹽酸哌替啶(meperidine hydrochloride)、鹽酸咪達唑倫(midazolam hydrochloride)、鹽酸羥考酮/乙醯胺苯酚、

鹽酸普敏太定(promethazine hydrochloride)、磷酸鈉、磺胺甲噁唑(sulfamethoxazole)/甲氧苄胺嘧啶(trimethoprim)、賽利克西、聚卡波非(polycarbophil)、茶磺酸丙氧芬、氫化可的松(hydrocortisone)、多種維生素(multivitamin)、巴柳氮二鈉、磷酸可待因/apap、鹽酸考來維侖(colesevelam HCl)、氟鈷胺素、葉酸、左氧氟沙星(levofloxacin)、甲潑尼龍、那他珠單抗(natalizumab)及干擾素- γ 。

可與本發明之抗體或抗體部分組合用於多發性硬化症之治療劑之非限制性實例包括以下：皮質類固醇；去氫皮質醇；甲潑尼龍；硫唑嘌呤；環磷醯胺；環孢素；甲胺喋呤；4-氨基吡啶；替紫尼定(tizanidine)；干擾素- β 1a (AVONEX；Biogen)；干擾素- β 1b(BETASERON；Chiron/Berlex)；干擾素 α -n3)(Interferon Sciences/Fujimoto)；interferon- α (Alfa Wassermann/J&J)；干擾素 β 1A-IF(Serono/Inhale Therapeutics)；聚乙二醇化干擾素 α 2b(Enzon/Schering-Plough)；共聚物 1(Cop-1；COPAXONE；Teva Pharmaceutical Industries, Inc.)；高壓氧；靜脈內免疫球蛋白；克拉曲濱(clabribine)；其他人類細胞激素或生長因子及其受體(例如TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-23、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-II、GM-CSF、FGF及PDGF)之抗體或拮抗劑。本發明之抗體或其抗原結合部分可與細胞表面分子(諸如CD2、CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80、CD86、CD90)或其配位體之抗體組合。本

發明之抗體或其抗原結合部分亦可與諸如以下之試劑組合：甲胺喋呤、環孢素、FK506、雷帕黴素、黴酚酸嗎啉乙酯、來氟米特、NSAID(例如布洛芬)、皮質類固醇(諸如去氫皮質醇)、磷酸二酯酶抑制劑、腺苷促效劑、抗血栓藥、補體抑制劑、腎上腺素劑、藉由諸如TNF α 或IL-1之前發炎性細胞激素干擾信號轉導之試劑(例如IRAK、NIK、IKK、p38或MAP激酶抑制劑)、IL-1 β 轉化酶抑制劑、TACE抑制劑、T細胞信號轉導抑制劑(諸如激酶抑制劑)、金屬蛋白酶抑制劑、柳氮磺胺吡啶、硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤、血管緊張素轉化酶抑制劑、可溶性細胞激素受體及其衍生物(例如可溶性p55或p75 TNF受體、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R)及抗炎細胞激素(例如IL-4、IL-10、IL-13及TGF β)。

可與抗體或其抗原結合部分組合用於多發性硬化症之治療劑之較佳實例包括干擾素 β (例如IFN β 1a及IFN β 1b)；克帕松(copaxone)、皮質類固醇、卡斯蛋白酶抑制劑(caspase inhibitor)(例如卡斯蛋白酶-1抑制劑)、IL-1抑制劑、TNF抑制劑及CD40配位體及CD80之抗體。

用於本發明之抗體或其抗原結合部分亦可與下列試劑組合，諸如阿倫單抗(alemtuzumab)、屈大麻酚(dronabinol)、尤利美(Unimed)、達利珠單抗(daclizumab)、米托蒽醌(mitoxantrone)、鹽酸紮利羅登(xaliproden hydrochloride)、胺吡啶(fampridine)、醋酸格拉替美(glatiramer acetate)、那他珠單抗、西納吡哆(sinnabidol)、 α -免疫激素NNSO3、

ABR-215062、AnergiX.MS、趨化因子受體拮抗劑、BBR-2778、卡拉胍素(calagualine)、CPI-1189、LEM(脂質體囊封米托蔥醌)、THC.CBD(大麻鹼促效劑)MBP-8298、美索潘(PDE4抑制劑)、MNA-715、抗IL-6受體抗體、荼羅瓦西(neurovax)、吡非尼酮阿羅曲普1258(pirfenidone allotrap 1258)(RDP-1258)、sTNF-R1、他倫帕奈(talampanel)、特立氟胺(teriflunomide)、TGF- β 2、替利莫肽(tiplimotide)、VLA-4拮抗劑(例如TR-14035、VLA4 Ultrahaler、Antegran-ELAN/Biogen)、干擾素 γ 拮抗劑、IL-4促效劑。

可與抗體或抗體部分組合用於心絞痛之治療劑之非限制性實例包括以下：阿司匹靈、硝酸甘油、單硝酸異山梨酯、琥珀酸美托洛爾(metoprolol succinate)、阿替洛爾(atenolol)、酒石酸美托洛爾、苜磺酸胺氯地平、鹽酸地爾硫卓(diltiazem hydrochloride)、硝酸異山梨酯(isosorbide dinitrate)、克羅匹多硫酸氫鹽(clopidogrel bisulfate)、硝苯吡啶(nifedipine)、阿托伐他汀鈣(atorvastatin calcium)、氯化鉀、呋喃苯胺酸、辛伐他汀(simvastatin)、鹽酸維拉帕米(verapamil HCl)、地高辛(digoxin)、鹽酸普萘洛爾(propranolol hydrochloride)、卡維地洛(carvedilol)、賴諾普利(lisinopril)、螺內酯(spironolactone)、氫氯噻嗪(hydrochlorothiazide)、順丁烯二酸依那普利(enalapril maleate)、納多洛爾(nadolol)、雷米普利(ramipril)、依諾肝素鈉(enoxaparin sodium)、肝素鈉(heparin sodium)、巹沙坦(valsartan)、鹽酸索他洛爾(sotalol hydrochloride)、非

諾貝特(fenofibrate)、依澤替米貝(ezetimibe)、布美他尼(bumetanide)、氯沙坦鉀(losartan potassium)、賴諾普利/氫氯噻嗪、非洛地平(felodipine)、卡托普利(captopril)、反丁烯二酸比索洛爾(bisoprolol fumarate)。

在本發明之方法及組合物中可與抗體或抗體部分組合用於強直性脊椎炎之治療劑之非限制性實例包括以下：布洛芬、雙氯芬酸及米索前列醇、萘普生、美儂西康、吲哚美辛、雙氯芬酸、賽利克西、羅非昔布、柳氮磺胺吡啶、甲胺喋呤、硫唑嘌呤、米諾環素(minocyclin)、強的松、依那西普、英利昔單抗。

可與本發明方法及組合物中之抗體或抗體部分組合用於哮喘之治療劑的非限制性實例包括以下：舒喘甯、沙美特羅/氟替卡松、孟魯司特鈉(montelukast sodium)、丙酸氟替卡松、布地奈德、強的松、羥萘甲酸沙美特羅、左旋沙丁胺醇HCl、硫酸舒喘寧/異丙托銨、去氫皮質醇磷酸鈉、曲安奈德、二丙酸倍氯米松、溴化異丙托銨、阿奇黴素(azithromycin)、乙酸吡布特羅、去氫皮質醇、無水茶鹼、甲潑尼龍琥珀酸鈉、克拉黴素(clarithromycin)、紮魯司特(zafirlukast)、反丁烯二酸福莫特羅、流感病毒疫苗、甲潑尼龍、三水合阿莫西林(amoxicillin trihydrate)、氟尼縮松(flunisolide)、過敏症注射液、色甘酸鈉、鹽酸非索非那定(fexofenadine hydrochloride)、氟尼縮松/薄荷腦、阿莫西林/棒酸酯(clavulanate)、左氧氟沙星、吸入器輔助裝置、愈創甘油醚(guaifenesin)、地塞米松磷酸鈉、鹽酸莫

西沙星(moxifloxacin HCl)、鹽酸多西環素(doxycycline hyclate)、愈創甘油醚/d-美沙芬(d-methorphan)、對麻黃鹼/cod/氯芬那敏(chlorphenir)、加替沙星(gatifloxacin)、鹽酸西替利嗪、糠酸莫美他松、羥萘甲酸沙美特羅、苯佐那酯(benzonatate)、頭孢胺苄(cephalexin)、pe/氫可酮/氯芬那敏、鹽酸西替利嗪/假麻黃素(pseudoephed)、苯腎上腺素/cod/異丙嗪、可待因/異丙嗪、頭孢丙烯(cefprozil)、地塞米松、愈創甘油醚/假麻黃素、氯芬尼拉明(chlorpheniramine)/氫可酮、奈多羅米鈉、硫酸特布他林、腎上腺素(epinephrine)、甲潑尼龍、硫酸奧西那林。

可與本發明方法及組合物中之抗體或抗體部分組合用於COPD之治療劑的非限制性實例包括以下：硫酸舒喘寧/異丙托銨、溴化異丙托銨、沙美特羅/氟替卡松、舒喘寧、羥萘甲酸沙美特羅、丙酸氟替卡松、強的松、無水茶鹼、甲潑尼龍琥珀酸鈉、孟魯司特鈉、布地奈德、反丁烯二酸福莫特羅、曲安奈德、左氧氟沙星、愈創甘油醚、阿奇黴素、二丙酸倍氯米松、鹽酸左旋沙丁胺醇、氟尼縮松、頭孢曲松鈉(ceftriaxone sodium)、三水合阿莫西林、加替沙星、紫魯司特、阿莫西林/棒酸酯、氟尼縮松/薄荷腦、氯芬尼拉明/氫可酮、硫酸奧西那林、甲潑尼龍、糠酸莫美他松、對麻黃鹼/cod/氯芬那敏、乙酸吡布特羅、對麻黃鹼/洛拉他定、硫酸特布他林、溴化噻托銨、(R,R)-福莫特羅、TgAAT、西洛司特(Cilomilast)、羅氟司特。

可與本發明之方法及組合物中之抗體或抗體部分組合用

於HCV之治療劑的非限制性實例包括以下：干擾素 α -2a、干擾素 α -2b、干擾素 α con1、干擾素 α -n1、聚乙二醇化干擾素 α -2a、聚乙二醇化干擾素 α -2b、病毒唑、聚乙二醇干擾素 α -2b+病毒唑、熊脫氧膽酸(Ursodeoxycholic Acid)、甘草酸、胸腺法新(Thymalfasin)、麥仙胺(maxamine)、VX-497及用以經由介入以下標靶來治療HCV之任何化合物：HCV聚合酶、HCV蛋白酶、HCV解螺旋酶、HCV IRES(內部核糖體入口位點)。

可與本發明之方法及組合物中之抗體或抗體部分組合用於特發性肺纖維化之治療劑的非限制性實例包括以下：強的松、硫唑嘌呤、舒喘甯、秋水仙鹼、硫酸舒喘甯、地高辛、 γ 干擾素、甲潑尼龍琥珀酸鈉、勞拉西洋(lorazepam)、呋喃苯胺酸(furosemide)、賴諾普利、硝酸甘油、螺內酯、環磷醯胺、溴化異丙托銨、放線菌素D(actinomycin d)、阿替普酶(alteplase)、丙酸氟替卡松、左氧氟沙星、硫酸奧西那林、硫酸嗎啡、鹽酸羥考酮、氯化鉀、曲安奈德、無水他克莫司、鈣、干擾素 α 、甲胺喋呤、徽酚酸嗎啉乙酯、干擾素 γ -1 β 。

可與用於本發明方法及組合物中之抗體或抗體部分組合用於心肌梗塞之治療劑的非限制性實例包括以下：阿司匹靈、硝酸甘油、酒石酸美托洛爾、依諾肝素鈉、肝素鈉、克羅匹多硫酸氫鹽、卡維地洛、阿替洛爾、硫酸嗎啡、琥珀酸美托洛爾、華法林鈉(warfarin sodium)、賴諾普利、單硝酸異山梨酯、地高辛、呋喃苯胺酸、辛伐他汀、雷米

普利、替奈普酶(tenecteplase)、順丁烯二酸依那普利、托西邁(torsemide)、瑞替普酶(retavase)、氯沙坦鉀、鹽酸喹那普利(quinapril HCl)/mag carb、布美他尼、阿替普酶、依那普利拉(enalaprilat)、鹽酸乙胺碘呔酮(amiodarone hydrochloride)、m-水合鹽酸替羅非班(tirofiban HCl m-hydrate)、鹽酸地爾硫卓、卡托普利、厄貝沙坦、顯沙坦、鹽酸普萘洛爾、福辛普利鈉(fosinopril sodium)、鹽酸利多卡因(lidocaine hydrochloride)、埃替菲巴肽(eptifibatide)、頭孢唑林鈉(cefazolin sodium)、硫酸阿托品、胺基己酸、螺內酯、干擾素、鹽酸索他洛爾、氯化鉀、多庫酯鈉(docusate sodium)、鹽酸多巴酚丁胺(dobutamine hcl)、阿普唑侖(alprazolam)、普伐他汀鈉(pravastatin sodium)、阿托伐他汀鈣(atorvastatin calcium)、鹽酸咪達唑侖、鹽酸哌替啶、硝酸異山梨酯(isosorbide dinitrate)、腎上腺素、鹽酸多巴胺、比伐盧定(bivalirudin)、羅素他汀(rosuvastatin)、依澤替米貝(ezetimibe)/辛伐他汀(simvastatin)、阿伐麥布(avasimibe)、卡立泊來德(cariporide)。

可與用於本發明方法及組合物中之抗體或抗體部分組合用於牛皮癬之治療劑的非限制性實例包括以下：KDR之小分子抑制劑(ABT-123)、Tie-2之小分子抑制劑、鈣泊三醇、丙酸氯氟美松(clobetasol propionate)、曲安奈德、丙酸鹵貝他索(halobetasol propionate)、他紮羅汀(tazarotene)、甲胺喋呤、醋酸氟輕鬆、強化二丙酸倍他米

松 (betamethasone diprop augmented)、氟輕鬆、阿曲汀 (acitretin)、植物性洗髮精 (tar shampoo)、戊酸倍他米松、糠酸莫美他松、酮康唑 (ketoconazole)、普莫卡因 (pramoxine)/ 氟輕鬆、戊酸氫化可的松、氟氫縮松 (flurandrenolide)、脈、倍他米松、丙酸氟氟美松 / 潤膚劑、丙酸氟替卡松、阿奇黴素、氫化可的松、增濕配方 (moisturizing formula)、葉酸、地奈德、吡美莫司 (pimecrolimus)、煤焦油 (coal tar)、二乙酸二氟拉松 (diflorasone diacetate)、葉酸依那西普、乳酸、甲氧沙林 (methoxsalen)、hc/ 鹼式沒食子酸鉍 (bismuth subgal)/ znox/resor、乙酸甲潑尼龍、強的松、防曬劑、哈西奈德 (halcinonide)、水楊酸、蒽三酚 (anthralin)、特戊酸氟可托龍 (clocortolone pivalate)、煤提取物、煤焦油 / 水楊酸、煤焦油 / 水楊酸 / 硫、去羥米松 (desoximetasone)、二氮雜環庚烷 (diazepam)、潤膚劑、醋酸氟輕鬆 / 潤膚劑、礦物油 / 蓖麻油 / na lact、礦物油 / 花生油、石油 / 十四烷酸異丙酯、補骨脂素 (psoralen)、水楊酸、皂類 / 三溴沙侖 (tribromsalan)、硫柳汞 / 硼酸、賽利克西、英利昔單抗、環孢素、阿法賽特 (alefacept)、依法珠單抗 (efalizumab)、他克莫司、吡美莫司、PUVA、UVB、柳氮磺胺吡啶。

可與用於本發明方法及組合物中之抗體或抗體部分組合用於牛皮癬性關節炎之治療劑的非限制性實例包括以下：甲胺喋呤、依那西普、羅非昔布、賽利克西、葉酸、柳氮磺胺吡啶、萘普生、來氟米特、乙酸甲潑尼龍、吡美莫司

辛、硫酸羥氯喹、強的松、舒林酸(sulindac)、強化二丙酸倍他米松、英利昔單抗、甲胺喋呤、葉酸酯、曲安奈德、雙氯芬酸、二甲亞砷、吡羅昔康、雙氯芬酸鈉、酮基布洛芬、美儂西康、甲潑尼龍、萘丁美酮、托美丁鈉(tolmetin sodium)、鈣泊三醇、環孢素、雙氯芬酸鈉/米索前列醇、醋酸氟輕鬆、硫酸葡糖胺、硫代蘋果酸金鈉、重酒石酸氫可酮/apap、布洛芬、利塞膦酸鈉(risedronate sodium)、磺胺嘧啶、硫烏喋呤、伐地考昔、阿法賽特、依法珠單抗。

可與用於本發明方法及組合物之抗體或抗體部分組合用於再狹窄之治療劑的非限制性實例包括以下：西羅莫司、紫杉醇(paclitaxel)、依維莫司(everolimus)、他克莫司、ABT-578、乙醯胺苯酚。

可與用於本發明方法及組合物中之抗體或抗體部分組合用於坐骨神經痛之治療劑的非限制性實例包括以下：重酒石酸氫可酮/apap、羅非昔布、鹽酸環苯紫林(cyclobenzaprine HCl)、甲潑尼龍、萘普生、布洛芬、鹽酸羥考酮/乙醯胺苯酚、賽利克西、伐地考昔、乙酸甲潑尼龍、強的松、磷酸可待因/apap、鹽酸曲馬多/乙醯胺苯酚、美他沙酮(metaxalone)、美儂西康、美索巴莫(methocarbamol)、鹽酸利多卡因、雙氯芬酸鈉、加巴噴丁(gabapentin)、地塞米松、肌安寧(carisoprodol)、酮咯酸胺丁三醇(ketorolac tromethamine)、吲哚美辛、乙醯胺苯酚、二氫雜環庚烷、萘丁美酮、鹽酸羥考酮、鹽酸替紫尼定、雙氯芬酸鈉/米索前列醇、萘磺酸丙氧芬/apap、

asa/oxycod/羥考酮ter、布洛芬/重酒石酸氫可酮、鹽酸曲馬多、依託度酸、鹽酸丙氧芬、鹽酸阿米替林、肌安寧/磷酸可待因/asa、硫酸嗎啡、多種維生素、萘普生鈉、檸檬酸奧芬那君 (orphenadrine citrate)、替馬西洋 (temazepam)。

可與用於方法及組合物中之抗體或抗原結合部分組合用於SLE(狼瘡)之治療劑的較佳實例包括以下：NSAID，例如雙氯芬酸、萘普生、布洛芬、吡羅昔康、吲哚美辛；COX2抑制劑，例如賽利克西、羅非昔布、伐地考昔；抗瘧疾劑，例如羥氯喹；類固醇，例如強的松、去氫皮質醇、布地奈德、地塞米松；細胞毒素，例如硫唑嘌呤、環磷醯胺、徽酚酸嗎啉乙酯、甲胺喋呤；PDE4抑制劑或嘌呤合成抑制劑，例如驍悉(Cellcept)。本發明之抗體或其抗原結合部分亦可與下列試劑組合：諸如柳氮磺胺吡啶、5-氨基水楊酸、奧色拉秦，硫唑嘌呤及干擾諸如IL-1之前發炎性細胞激素合成、產生或作用之試劑，例如卡斯蛋白酶抑制劑，如IL-1 β 轉化酶抑制劑及IL-1ra。本發明之抗體或其抗原結合部分亦可與T細胞信號轉導抑制劑(例如酪胺酸激酶抑制劑)；或靶向T細胞活化分子之分子(例如CTLA-4-IgG)或抗B7家族抗體、抗PD-1家族抗體一起使用。本發明之抗體或其抗原結合部分可與IL-11或抗細胞激素抗體(例如芳妥珠單抗(fonotolizumab)(抗IFN γ 抗體))或抗受體之受體抗體(例如抗IL-6受體抗體)及B細胞表面分子抗體組合。本發明之抗體或其抗原結合部分亦可與下列各物一起使

用：LJP 394(阿貝莫司(abetimus))；使B細胞空乏或失活之試劑，例如利妥昔單抗(抗CD20抗體)、裏福斯特B(lymphostat-B)(抗Blys抗體)；TNF拮抗劑，例如抗TNF抗體、D2E7(PCT公開案第WO 97/29131號；HUMIRA)、CA2(雷米卡德(REMICADE))、CDP 571、TNFR-Ig構築體(p75TNFR1gG(恩博(ENBREL))及p55TNFR1gG(來那西普(LENERCEPT))。

可將單獨或組合形式之上述治療劑中之任一者與TNF α 抗體或其抗原結合部分組合向個體投與，其係經由肺部投藥來投與。額外試劑亦可經由熟習此項技術者已知之任何方式來投與，包括(但不限於)腹膜內(包括靜脈內或皮下)、口服及肺部。

本發明藉由以下不應認作為限制性之實例進一步說明。此申請案全文中所引用之所有參考文獻、專利及公開之專利申請案的內容均以引用的方式併入本文中。

實例1：經由肺部傳遞之TNF α 抑制劑之全身傳遞

阿達木單抗(HUMIRA[®])於獼猴體內之吸入藥物動力學

以下研究使用獼猴來描述阿達木單抗經由吸入達成治療所需全身含量之可行性。研究之一主要目標為確定經由肺部方式投與之阿達木單抗之藥物動力學。其包括以兩種不同吸入模式以10 mg/kg向經麻醉的氣管插管及通氣之猴肺投與阿達木單抗噴霧氣溶膠，隨後血清檢定表徵阿達木單抗之吸入藥物動力學。此外，使用以相同方式投與之經螢光團標記之不可吸收葡聚糖(FD-150S)的標記氣溶膠來測

定經由各吸入模式之肺區分布，隨後進行其自不同肺區之直接回收。

概述

研究使用非人類靈長類動物獼猴，且在分別靶向中心氣管及外周氣管之兩種不同吸入(淺及深)模式後測定血清阿達木單抗濃度分布及藥物動力學。該靶向係藉由適當選擇通氣下吸氣策略以及氣管插管深度及噴霧氣溶膠尺寸來實現。目標肺沈積劑量為10 mg/kg阿達木單抗且量測其血清濃度歷時16天。藉由以相同方式投與之經螢光素異硫氰酸鹽(FITC)標記之葡聚糖(FD-150S)的標記氣溶膠來測定各吸入模式後肺區分布，隨後直接量測各解剖區中之肺沈積。

阿達木單抗之噴霧作用表現為穩定的，不引起可評估的降解。所有動物耐受氣溶膠，無局部或全身不適、併發症或異常的跡象。在所有動物體內，阿達木單抗在吸入後明顯達成體循環，在2-4天之 T_{max} 中產生2.31-5.91 mg/l之 C_{max} ，隨後產生 13.3 ± 6.7 天之平均全身半衰期($T_{1/2}$)。在動力學上，阿達木單抗之肺吸收並非速率確定的；終末半衰期反映自體循環之消除。然而，注意分布可能由於抗人類反應在10-12天展現抗體含量之急劇下降。藥物動力學分析在此等吸入後產生0.99-4.18%之絕對生物可用率(F%)值。然而，儘管成功靶向中心(C)及外周(P)肺區(分別以0.31及1.35之P/C比表示)，但吸入模式之間的F%值差異並不顯著。因此，上支氣管傳遞大概藉助於FcRn介導之機制產生與深肺傳遞差不多的阿達木單抗之肺吸收係可能的。

總之，阿達木單抗血清濃度與皮下注射相比以2-4天之相對較快 T_{max} 於人類體內達到治療所需含量(亦即5 mg/l)。

I. 材料及方法：

一般而言，將動物在麻醉下，於Bird Mark 7A呼吸器迴路中經口氣管插管且通氣。將HUMIRA[®](50 mg/ml阿達木單抗)於迴路中藉由串聯式Aeronebs噴霧為4.6及2.1 μ m溶液氣溶膠且分別以淺及深呼吸策略以10 mg/kg之目標肺沈積劑量向肺投與。接著，藉由有效ELISA測定阿達木單抗之血清濃度歷時16天來表徵與靜脈內注射概況相比之吸入藥物動力學。此兩種吸入模式之肺區分布係以經FITC標記之葡聚糖(FD150)的標記氣溶膠，藉由直接量測其於中心肺區及外周肺區中之肺沈積而獨立地測定。

I.A 材料

於研究中使用阿達木單抗(D2E7；Humira[®]；50 mg/ml)及參考標準物。各小瓶含有於0.8 mL緩衝溶液中之40 mg阿達木單抗且在無稀釋下直接使用。注意，如下所述組合2-4個小瓶來製備用於霧化器之給藥溶液以對各猴實現10 mg/kg之肺沈積劑量。藉由分別聯合在280 nm下之UV偵測及特異性及敏感性ELISA之離子交換HPLC(IE-HPLC)有效方法來測定非生物及生物樣本中之抗體。

經螢光素異硫氰酸酯(FITC)標記之葡聚糖(FD-150S；加權平均=150 kD)係購自Sigma-Aldrich(St. Louis, MO)且在用於此研究中之2種不同吸入模式後用作不可吸收標記來測定肺區分布。其給藥溶液係於5 mM無菌磷酸鹽緩衝生

理食鹽水(PBS, pH 7.4)中以 20 mg/mL 製備, 且分析採用有效凝膠滲透層析法(GPC)聯同螢光偵測(激勵及發射波長分別為 490 nm 及 520 nm)。該方法關於 < 5% 之精確度及準確度及 7-600 ng/ml 之線性響應範圍對非生物及生物樣本完全有效。具有最高分析級之用以製備緩衝溶液(諸如 PBS 及 IE-HPLC 移動相)之化學劑係購自 Fisher Scientific (Pittsburgh, PA)。

I.B 動物

在研究中使用總共七隻雄性獼猴(接收時體重為 2.6-3.0 kg)。將各猴個別圈養於嚴密控制溫度、濕度及暗-光循環期之房間中。根據由獸醫及獸醫技術人員進行之經許可日常增肥計劃小心地供養猴且使其適應環境。訓練動物使其前臂或腿伸至籠系統外部, 以便在藥物動力學研究中可在有意識條件下採血。無食物或水限制。

在七隻猴中, 將一隻動物用於數種預備試驗, 其中測試用於此研究中之兩種不同吸入模式, 亦即淺及深吸入(分別為 INH-S 及 INH-D)且使其最佳化。同時, 分別在吸入或靜脈內注射及使用 FD-150S 之肺區分布測定後的阿達木單抗藥物動力學二相研究期間, 將其餘六隻動物分為三組及兩組。各相中之該組分配係描述於表 1 中。

表 1：6 隻猴的實驗組分配

動物	藥物動力學		肺區分布	
	途徑	藥物	途徑	藥物
1	INH-S	阿達木單抗	INH-S	FD-150S
2	INH-S	阿達木單抗	INH-S	FD-150S
3	INH-D	阿達木單抗	INH-D	FD-150S
4	INH-D	阿達木單抗	INH-D	FD-150S
5	IV	阿達木單抗	INH-S	FD-150S
6	IV	阿達木單抗	INH-D	FD-150S

INH-S，淺吸入；INH-D，深吸入；IV，靜脈內注射；FD-150S，經螢光素異硫氰酸鹽(FITC)標記之葡聚糖(MW：150 kDa)

目標劑量：對於阿達木單抗而言為10 mg/kg且對於FD-150S而言為2.5 mg/kg

I.C 猴體內之阿達木單抗藥物動力學：吸入藥物動力學

使用 0.1 mg/kg 硫酸阿托品 (0.4 mg/ml；American Regent)，10.0 mg/kg 鹽酸氯胺酮 (Ketaject[®]；100 mg/ml；Phoenix Pharmaceuticals) 及 1.0 mg/kg 甲苯噻嗪 (Xylaject[®]；20 mg/ml；Phoenix Pharmaceuticals) 之肌肉內注射組合使動物 (體重為 3.0-3.8 kg；對於 INH-S 及 INH-d 而言，n=2，表 1) 麻醉以將阿達木單抗經由吸入傳遞至肺中。在穩定麻醉下，將各動物以袖口式氣管內 (ET) 插管 (3.0 mm I.D. 及 4.2 mm O.D.；Hudson Respiratory Care) 經口氣管插管且以氣動式 Bird Mark 7A 呼吸器 (VIASYS Healthcare) 通氣。在整個程序中，約每 10 分鐘監控其生命體征，例如心率、血壓、體溫及氧飽和 % (SpO₂) 以及對眼瞼刺激之眨眼反應來確保充分麻醉及不存在異常。與 Mark 7A 呼吸器迴路串聯使用兩種類型產生不同尺寸阿達木單抗氣溶膠之

Aeroneb Lab微型泵噴霧器(Aerogen, Galway, Ireland)。因此，藉由採用如表2所示之氣管插管深度、呼吸器設定及氣溶膠尺寸之以下不同選擇，可靶向淺及深肺區分布，同時維持10 mg/kg之相當肺劑量。

因為初步研究預測在此系統中有30-40%負載於噴霧器中之阿達木單抗待沈積於肺中，故將1.5-2.8 ml之50 mg/ml阿達木單抗溶液(相當於75-140 mg)填充於噴霧器中且使其在展示於表2中之各呼吸器設置下氣溶膠化，使得可實現10 mg/kg之目標肺沈積劑量。在噴霧期間，使用拋棄式串聯過濾器(Sterivent[®]; Tyce Healthcare)在呼吸器迴路出口處收集未沈積之排出之阿達木單抗氣溶膠。當噴霧在6-10分鐘後在噴霧杯乾燥時終止時，再持續通氣5分鐘；在動物自麻醉中清醒時(通常為誘發麻醉後1小時)將ET管移除。

表2：靶向淺及深肺區分布之實驗設置

	所靶向之肺區分布	
	淺(INH-S)	深(INH-D)
插管深度	12 cm	13.5 cm
呼吸器設置		
壓力：	13-15 cm H ₂ O	32 cm H ₂ O
呼吸週期：	每分鐘27-30次呼吸	每分鐘20次呼吸
屏氣：	0.3 sec	3 sec
氣溶膠尺寸 ¹	4.6 μm	2.1 μm

¹關於在連續氣流下氣溶膠化至呼吸器迴路中且以15 l/min之真空流率收集於Next Generation Pharmaceutical Impactor中之阿達木單抗所測定的質量中值空氣動力學直徑(MMAD)。

完成投藥後，將噴霧器、呼吸器迴路及呼氣過濾器中所剩餘之阿達木單抗以100 ml PBS回收且藉由IE-HPLC法測

定。因此，各實驗中阿達木單抗之"實際"肺沈積劑量係經由自噴霧器中負載質量(50 mg/ml乘以1.5-2.8 ml負載體積)減去剩餘之阿達木單抗來估算。吸入後，在0.5、1、2、3、6、12及24小時，隨後2、4、6、8、10、12、14及16天之不同時間間隔抽取靜脈血樣本(1.2 ml)。注意，此次採血係自麻醉恢復後(通常吸入後1小時)有意識的動物進行。血清樣本係經由在攝氏24度下在2800 g下離心10分鐘而獲得，且在為藉由ELISA測定阿達木單抗之分析前將其儲存在攝氏-70度下。將血清檢定設定為關於組分配盲向的。在各研究期間及之後，每日小心地監控動物之與插管或阿達木單抗暴露有關之呼吸併發症的任何病症。其包括觀測黏膜顏色、呼吸、行為及食慾的正常性及/或不存在咳嗽或呼吸困難。

I.D 猴體內之阿達木單抗藥物動力學：靜脈內藥物動力學

以與上述吸入藥物動力學研究相同之方式將動物(體重為4.1及3.6 kg，對於IV而言n = 2；表1)麻醉且經口氣管插管。觀測到在正常生命體征下之充分麻醉後，在3分鐘內，經由側隱靜脈分別靜脈內注射0.82及0.72 ml之50 mg/ml阿達木單抗溶液，實現10 mg/kg之劑量。注射後，以0.5、1、2、4、6、12及24小時，隨後2、4、6、8、10、12、14及16天之不同時間間隔抽取靜脈血樣本(1.2 ml)，且在分析前將其血清儲存在攝氏-70度下。所使用之取樣及儲存程序與上述彼等相同。每日類似地進行動物監控以確保不存在異常。

I.E 資料分析

展示於圖2及3中之血清阿達木單抗分布之每一者表示每一個別動物，使得能夠計算以下藥物動力學參數：藉由資料觀測獲得之最大血清濃度 (C_{max}) 及達到 C_{mas} 之時間 (T_{max})，藉由4與8天之間之分布之天然對數線性回歸獲得之終末相速率常數 (λ) 及半衰期 ($T_{1/2} = 0.693/\lambda$)，藉由梯形法獲得之8天之血清濃度與時間之曲線下面積 ($AUC_{0-8天}$)，及彼等由 $AUC_{0-8天}$ 加外推之AUC獲得之無限時間的血清濃度與時間之曲線下面積 ($AUC_{0-\infty}$)，來自劑量/ $AUC_{0-\infty}$ 之總身體全身清除率 (CL)，及由CL乘以平均滯留時間 (MRT) 獲得之穩態分布表觀容積 (V_{ss})，後者 (MRT) 係由自血清阿達木單抗分布之矩分析來計算。

應注意，如下所論述由於阿達木單抗之極長全身半衰期 (14天) 及10天後其血清濃度之意外下降 (圖2及3)，故在此等參數估算之一些中存在折衷。因此，分別使用劑量正常化 $AUC_{0-8天}$ 及 $AUC_{0-\infty}$ ，以兩種方式來計算吸入後阿達木單抗之絕對生物可用率 (F%) (表示為 $F\%_{0-8天}$ 及 $F\%_{0-\infty}$)。

I.F. 吸入後猴體內之肺區分布

在約30天之充分清除期後進行實驗以使可能之相互作用及/或併發症最小化。以與上述吸入藥物動力學研究相同之方式 (包括兩種不同 (淺及深) 吸入模式 (表2)) 對動物 (體重 3.2-4.3 kg；對於 INH-S 及 INH-D 而言 $n = 3$ ；表1) 麻醉、經口氣管插管及通氣。觀測到在正常生命體征下之充分麻醉後，在呼吸器迴路中使負載於噴霧器中之 2.0 ml 20 mg/ml

FD-150S溶液(PBS；pH 7.4)氣溶膠化直至乾燥歷時6-8分鐘且藉此在描述於表2中之淺及深吸氣策略下以2.5 mg/kg之目標劑量向動物投與。在呼吸器迴路出口處藉由過濾器收集未沈積之排出之FD-150S。完成投藥時，以250 ml PBS回收噴霧器、呼吸器迴路及呼氣過濾器中剩餘之FD-150S，且接著將其藉由有效螢光-GPC來測定。因此，在各實驗中FD-150S之"實際"肺沈積劑量係經由自填充於噴霧杯中之初始負載FD-150S(40 mg；20 mg/ml乘以2.0 ml)減去剩餘之FD-150S來估算。

投藥後即刻，將仍處於氯胺酮/齊拉辛(zylazine)/阿托品麻醉下之各動物藉由靜脈注射0.5 ml/kg劑量之Euthasol[®](390 mg/ml戊巴比妥鈉(pentobarbital sodium)及50 mg/ml苯妥英鈉，Virbac AH)施以無痛致死術。打開其胸腔且接著以手術全體移除肺葉、氣管及支氣管；將其在分析前在攝氏-70度下冷凍。如圖1所述，藉由氣管、支氣管及各肺葉內部及外部(亦即中心及外周)區之區域組織解剖開始測定肺區分布；將各肺葉在重量上一分為二，稱為中心區及外周區。將各解剖組織在10體積PBS中以生物均化器(Biospec Products)均質化且在攝氏10度下，在2,800 g下離心15分鐘。適當稀釋後，將上清液以0.2 µm注射過濾器(15 mm；再生纖維素；Corning)過濾且藉由有效螢光GPC分析FD-150S。將由7個肺葉之各內部及外部區回收之FD-150S(圖1)組合以分別產生中心及外周肺葉沈積。接著，由外周肺沈積質量除以自中心肺、氣管及支氣管回收之

FD-150S總和來計算各吸入模式之外周比中心(P/C)分布比。

II. 結果

對於藉由用於氣溶膠尺寸表徵之 Next Generation Pharmaceutical Impactor噴霧至呼吸器迴路中的阿達木單抗之收集驗證了抗體穩定性，其不引起可評估的降解，此係藉由其IE-HPLC層析譜與參數標準之彼等層析譜相比不變來證明。無論何種治療，所有動物均良好耐受氣溶膠，不展現局部或全身副作用之徵兆。在麻醉期中為投藥監控之所有生命體征穩定在麻醉下之正常範圍內，例如心率为90-125 bpm，血壓為115-180 mmHg，體溫為攝氏36.0-37.6度且SpO₂為83-99%。在整個期間無不適、併發症及異常徵兆。在肺區分布研究中，在移除時肉眼檢驗各動物肺，以不存在水腫或黏膜變色推斷為正常外觀。

一般而言，所有動物均耐受阿達木單抗氣溶膠，而無局部或全身不適、併發症或異常之徵兆。阿達木單抗之肺沈積劑量為10.3-14.0 mg/kg，在2-4天之T_{max}下產生2.3-5.9 mg/l之C_{max}，隨後為13.3 ± 6.7天之平均全身半衰期。其肺吸收在動力學上並非速率確定的，展示與靜脈內注射後之終末半衰期一致的終末半衰期。然而，可能由於抗人類反應，在吸入及注射後10-12天抗體含量血清分布展示急劇下降。因此，在吸入後以血清資料進行藥物動力學分析歷時10天，產生1.0-4.2%之絕對生物可用率(F%)。顯然，儘管其成功地靶向中心(C)及外周(P)肺區，但兩種吸入模式

之間的任何藥物動力學參數之差異不顯著，分別以0.31及1.35之FD150 P/C比表示。

II.A 猴體內之阿達木單抗藥物動力學

將2種不同吸入模式後之血清阿達木單抗濃度與時間曲線及所得藥物動力學參數分別展示於圖2及表3中。所估算之肺沈積劑量在10.3-14.0 mg/kg之範圍內(表3)，其成功地與10 mg/kg之目標劑量一致。在所有動物體內，抗體明顯達成體循環，同時2.31-5.91 mg/l(3.88 ± 1.57 mg/l；表3)範圍內之 C_{max} 保持略微低於人類體內所需抗體含量，亦即5 mg/l(關於阿達木單抗藥品說明書之指定資訊)，或與其相當。顯然，無論何種吸入模式，均較晚發現 T_{max} ，其在2-4天中出現，其暗示相當緩慢地自肺吸收阿達木單抗。相對而言，在猴體內關於吸入之紅血球生成素(Epo)之Fc融合蛋白及促卵泡激素(FSH)之類似研究報導更短之 ≤ 2 天之 T_{max} (Bitonti等人(2004)；Low等人(2005)*Hum. Reprod* 20:1805-1813)。

有趣地是，該等概況在10-12天始終展現血清濃度之急劇下降，在吸入12天後產生可以忽略的低於定量限值之抗體含量(圖3)。該下降可為猴體內對阿達木單抗產生之可能抗人類免疫反應的結果。實際上，如圖3所示，在接收靜脈內注射之動物體內類似觀測明顯持續。因此，儘管概況外推法中可能存在折衷，但隨後藥物動力學分析(諸如 λ 、 $T_{1/2}$ 、AUC及F%測定)僅採用8天獲得之血清資料。雖然如此，但由4-8天資料可見，四隻猴之平均 $T_{1/2}$ 為 13.3 ± 6.7 天

(6.8-20.4天；表3)；該值與人類體內之值(14天)相當(Humira指示資訊；藥品說明書)。

以10 mg/kg靜脈內注射後之阿達木單抗之血清濃度曲線係展示於圖3中，產生表4中所列表顯示之藥物動力學參數。儘管該等概況在10天中似乎為雙相的，但其後觀測到類似意外抗體含量下降。然而，在8天中由血清資料所獲得之 $T_{1/2}$ 為14.7及10.8天(表4)，該等值不顯著不同於彼等見於吸入概況中之值(表3)。因此，自肺吸收阿達木單抗可能在動力學上並非速率限制的，且相反地，其自體循環之消除在動力學上為最緩慢的。顯然，展示於圖3中之靜脈內概況在18.9及19.4 ml/kg之小 V_{ss} 下產生0.12及0.13 ml/hr/kg之低CL，已報導人類體內之對應值為0.17 ml/hr/kg及67-68 ml/kg(Humira指示資訊；藥品說明書)。

由於血清阿達木單抗濃度在10天後出乎意料地下降至可忽略準(參見圖2及3)，進一步分析該等概況之選擇限於使用8天中之資料而不考慮8天後之作用或包涵動力學外推法來產生無限時間中之8天後資料。因此，基於此等2個選擇所測定之AUC及F%值係展示於表3及4中。注意吸入之F%計算亦考慮各動物體內之劑量標準化，假定猴體內之阿達木單抗線性藥物動力學。因此，無論進行何種資料處理，估算F%在0.99至4.18%之範圍內(表3)。

II.B 淺及深肺區分布之效應

將用於此研究中之兩種不同吸入模式後之肺區分布及FD-150S展示於表5及圖4中。6隻猴體內之肺沈積劑量在

2.18-3.82 mg/kg(2.90 ± 0.72 mg/kg, 表5)之範圍中, 其與2.5 mg/kg之目標劑量合理一致。此外, 分析產生在肺沈積劑量下 $\geq 90\%$ ($93.7\pm 3.3\%$; 表5)之回收, 暗示吾人之肺沈積劑量估算法有效且所得肺區分布資料可能表示阿達木單抗之實際分配。因此, 如表5及圖4所示, 淺吸氣策略及深吸氣策略以及插管深度及氣溶膠尺寸(表2)之操作實際上分別引起主要($\sim 60\%$)中心及外周肺區分布。

表6關於由表5所示之資料計算之肺區分布的P/C比總結在各淺及深吸入後阿達木單抗之平均生物可用率(F%)。儘管分別以0.31及1.35之P/C比成功中心及外周肺傳遞, 但吸入模式之間的此等F%值中之差異無顯著區別不令人信服; 在兩種情況下, 在各組中兩隻動物之平均F%在1.7-2.6%之範圍內。因此, 上支氣管傳遞可能由於FcRn介導之機制產生與深肺傳遞差不多的阿達木單抗之肺吸收係可能的。

表3：在4隻猴體內，以10 mg/kg之標準劑量以2種模式吸入後，由8小時之血清阿達木單抗濃度與時間曲線產生之藥物動力學參數。將概況展示於圖2中。

動物	代碼	吸入	LDD [mg/kg]	C _{max} [mg/l]	T _{max} [天]	T _{1/2} [天]	AUC _{0-8hr} [mg/l-天]	AUC _{0-∞} [mg/l-天]	F% _{0-8hr} [%]	F% _{0-∞} [%]
#1	AB05-M3	淺吸入	14.0	5.91	4	20.4	41.69	193.25	2.41	4.18
#2	AB05-M5	淺吸入	12.3	3.06	4	6.8	19.96	40.03	1.31	0.99
#3	AB05-M4	深吸入	10.3	2.31	2	17.7	16.48	61.85	1.30	1.83
#4	AB05-M6	深吸入	11.6	4.24	4	8.4	30.57	65.71	2.13	1.77
平均數			12.1	3.88	3.5	13.3			1.78	2.19
±SD			±1.5	±1.57	±1.0	±6.7			±0.57	±1.38

LDD，肺沈積劑量；C_{max}，所觀測到之最大血清濃度；T_{max}，所觀測到之達到C_{max}的時間；T_{1/2}，全身性半衰期；AUC_{0-8hr}，8小時中血清濃度與時間曲線下面積(AUC)；AUC_{0-∞}，無限時間中之AUC；F%_{0-8hr}，由AUC_{0-8hr}計算之絕對生物可用率；F%_{0-∞}，由AUC_{0-∞}計算之絕對生物可用率

表 4：在 2 隻猴體內，以 10 mg/kg 之劑量靜脈內注射後，由 8 小時之血清阿達木單抗濃度對時間曲線產生之藥物動力學參數。將概況展示於圖 3 中。

動物	代碼	劑量 [mg/kg]	T _{1/2} [天]	CL [ml/hr/kg]	V _{ss} [ml/kg]	AUC _{0-8hr} [mg/l-天]	AUC _{0-∞} [mg/l-天]
#5	AB05-M1	10.0	14.7	0.12	18.9	1151.89	3430.86
#6	AB05-M2	10.0	10.8	0.13	19.4	1324.76	3169.40
平均		10.0	12.8	0.13	19.2	1238.33	3300.13

T_{1/2}，全身性半衰期；CL，全身性總身體之清除率；V_{ss}，在穩態下顯著體積分布；AUC_{0-8hr}，8 小時中，血清濃度對時間曲線下面積(AUC)；AUC_{0-∞}，無限時間中之 AUC。

表 5：在 6 隻猴體內，以 2.5 mg/kg 之標準劑量以 2 種模式吸入後之 FD-150S 的肺區分布。

動物	吸入	LDD [mg/kg]	回收% [%]	分布%		
				TB	C	P
#1,2,5	淺吸入	2.26 ± 0.10	95.3 ± 4.1	15.72 ± 4.68	61.44 ± 9.68	22.83 ± 7.78
#3,4,6	深吸入	3.54 ± 0.25	92.2 ± 2.0	2.97 ± 1.34	39.72 ± 4.07	57.31 ± 3.17

LDD，肺沈積劑量；TB，氣管支氣管；C，中心肺葉；P，外周肺葉；

回收% = [自全肺回收之總 FD-150S] / [肺沈積劑量] × 100

分布% = [自各肺區域性部分回收之 FD-150S] / [自全肺回收之總 FD-150S] × 100

為強調與 Epo-Fc 融合蛋白之先前發現相關之問題 (Bitonti 等人 2004)，在猴體內於淺吸入及深吸入後，由阿達木單抗 (圖 2) 及 Epo-Fc (Bitonti 等人 (2004)) 之血清濃度概況計算劑量標準化 AUC_{0-∞} (AUC_{0-∞} 除以肺沈積劑量)。將其概述於表 7 中。顯然，可能由於 FcRn 介導之機制，故淺吸入後此等 Fc 分子之劑量標準化 AUC_{0-∞} 類似 (分別為 8.3 對 6.3 kg 天 / l；表 7)，暗示其幾乎相當之吸收動力學。因此，儘

管肺膜一般展現藥物吸收之有利特徵，但此等Fc分子之肺吸收動力學差異相反存在於展現Epo-Fc之相當微小之吸收的來自外周肺區之彼等差異中。顯而易見，此推斷假定阿達木單抗與Epo-Fc之間的全身沈積動力學平行，其為藉助於類似全身半衰期(分別為14及16天)很可能出現之情況(Bitonti等人(2004)；Humira藥品說明書)。

表6：阿達木單抗在淺吸入及深吸入後，關於其在猴體內之肺區分布之P/C比的平均絕對生物可用率(F%)

吸入	P/C比	F% _{0-8hr}	F% _{0-∞}
淺吸入	0.31	1.86	2.59
深吸入	1.35	1.72	1.80

P/C比，外周對中心肺分布比；F%_{0-8hr}及F%_{0-∞}，分別由AUC_{0-8hr}及AUC_{0-∞}計算之絕對生物可用率值

表7：在猴體內，在淺吸入及深吸入後，由阿達木單抗(圖2)及Epo-Fc[2]之血清濃度曲線計算之劑量標準化AUC_{0-∞}。

分子	MW [kDa]	LDD [mg/kg]	劑量標準化AUC _{0-∞}	
			淺吸入	深吸入
阿達木單抗	148	10.0	8.3	5.8
Epo-Fc	112	0.3	6.3	2.3

劑量標準化AUC_{0-∞} = [AUC_{0-∞}]/[肺沈積劑量] (kg天/1)

III. 結論

儘管具有1.0-4.2%之較低F%，但10 mg/kg下之阿達木單抗吸入以2-4天之相對較快T_{max}達到其治療所需血清含量，亦即4 mg/l。因此，上支氣管傳遞似乎可能藉助於FcRn介導之機制產生與深肺傳遞差不多的阿達木單抗肺吸收。猴

體內之以上研究表明，當在人類體內阿達木單抗之肺傳遞在2-4天之相對較快 T_{max} 下實現全身抗體含量(2.31-5.91 mg/l；表1)，等於皮下方案中所需之彼等含量時，其絕對生物可用率(F%)較低地保持於0.99-4.18%。其似乎與最近觀測結果(包括彼等描述於本文中者)一致，其暗示自肺之FcRn介導之胞轉吸收為高親和力且低容量系統，且藉此其於大鼠體內之速率保持 ≤ 100 ng/hr(Kim等人(2004) *Am J Physiol* 287:L616；Sakagami等人(2006) *Pharm Res* 23:270及Sakagami等人(2006) *Respiratory Drug Delivery X*, 1:57)。此外，在氣管中，展示肺泡巨噬細胞吞噬IgG及Fc分子(可能包括阿達木單抗)，進一步降低供肺吸收之積存且藉此引起低F%(Lonbry等人(2004) *Am J Physiol* 286:L1002)。新證據提示TNF α 為有前景的用於哮喘之治療目標，且已展示其抑制改善患者之氣管高反應性及肺功能(Russo等人(2005) *Clin Sci (Lond)* 109:135；Howarth等人(2005) *Thorax* 60:1012；Berry等人(2005) *Proc Am Throacic Soc* 2:A569)。在此情況下，單獨之阿達木單抗對於在較低全身性含量下使局部作用之長持續時間最大化而言可為有利的。

簡言之，向獼猴肺投與阿達木單抗且在靶向中心氣管及外周氣管之2種不同吸入模式後表徵其血清藥物動力學。在所有動物體內，阿達木單抗經由吸入明顯達到體循環，在2-4天中產生2.31-5.91 mg/l之 C_{max} ，隨後產生 13.3 ± 6.7 天之平均全身 $T_{1/2}$ 。在動力學上，阿達木單抗之肺吸收並

非速率確定；終半衰期反映自體循環之消除。然而，注意概況可能由於抗人類反應在10-12天展現抗體含量之急劇下降。藥物動力學分析在此等吸入後產生0.99-4.18%之絕對生物可用率(F%)值。阿達木單抗成功地靶向中心(C)及外周(P)肺區，分別以0.31及1.35之P/C比表示。吸入模式之間F%值中之差異並不顯著。因此，上支氣管傳遞可能由於FcRn介導之機制產生與深肺傳遞差不多的阿達木單抗肺吸收係可能的。雖然如此，藉助於10 mg/kg之肺沈積劑量，血清濃度在與皮下注射相比2-4天之相對較快 T_{max} 下於人類體內達到治療所需含量，亦即5 mg/l。

實例2：肺部傳遞之TNF α 抑制劑之穩定性

經氣溶膠化阿達木單抗之L929抗原中和生物檢定 (HUMIRA[®])

以下研究描述使用L929抗原中和生物檢定之經由噴霧用於吸入傳遞之阿達木單抗的穩定性。進行研究來確保阿達木單抗之生物活性不經由噴霧而受損。

在通氣迴路內與噴霧2.5 ml阿達木單抗溶液(HUMIRA[®]; 50 mg/ml)之Bird Mark 7A呼吸器串聯使用產生2.1 μ m氣溶膠之Aeroneb Lab噴霧器。此配置與用於實例1中之配置相同，但其係在無動物下進行。在以呼吸器控制之淺及深吸氣策略下(表2)，使用50 mM磷酸鹽緩衝生理食鹽水(pH 7.4)藉由氣泡收集器來回收所噴霧之氣溶膠且在生物檢定前將樣本儲存在-70°C下。

將L929，一種鼠類纖維肉瘤細胞株(#ATCC CCI 1 NCTC

純系 929) 用作抗原中和檢定 (Aggarwal, B.B. 等人 (1985) J. Biol. Chem. 260, 2345-2354)。將細胞培養於 RPMI 及 10% 胎牛血清中。將各個量之經稀釋阿達木單抗對照物 (亦即未經噴霧) 或經噴霧之阿達木單抗樣本與 500 pg/ml 抗原、人類腫瘤壞死因子 α (hTNF α) 混合且在 37°C 下於 96 孔培養盤中培育 30 分鐘。隨後，將 50,000 個細胞連同作為代謝抑制劑之 1 μ g/ml 放線菌素 D 一起添加至各孔中。在 37°C 下培育 18 小時後，將細胞藉由添加 50 μ l 20% SDS 溶胞且在 37°C 下培育隔夜。將各溶胞樣本在 570 及 630 nm 之雙重波長下，使用 96 孔盤讀取器之光學密度 (OD) 量測。使用非線性回歸曲線擬合程式 GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA)，由 OD 值與阿達木單抗濃度之 S 形關係測定中和抗體之 IC₅₀ 值。在細胞溶胞前，藉由 MTT (3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑鎗溴化物) 法確保細胞生存力時，0.07 至 0.15 範圍內之低 OD 值指示細胞死亡。

如在許多此類型之生物檢定中，在檢定之技術限制內考慮小於 2 倍之 IC₅₀ 值之差異，藉此推斷測試樣本之生物活性不受損。表 8 展示由各阿達木單抗測試樣本獲得之所產生之 IC₅₀ 值。無論淺或深吸氣策略 (分別為 INH-S 及 INH-D)，展示以 Aeroneb Lab 噴霧器氣溶膠化之阿達木單抗生物活性改變不超過 2 倍。其表明經由噴霧用於吸入傳遞之阿達木單抗之穩定性。

表 8：由 L929 抗原中和生物檢定產生之經受噴霧作用之阿達木單抗的 IC₅₀ 值

對照	淺吸氣(INH-S)	深吸氣(INH-D)
16.60	14.98	11.82
13.76	13.47	7.60
16.33		

以引用的方式併入

可能在本申請案全文中引用之所有引用參考文獻(包括參考文獻書目、專利、專利申請案及網站)內容之全文，如其中所引用之參考文獻係為任何目的明確地以引用的方式併入本文中。除非另有所指，否則本發明實踐將採用於此項技術中眾所熟知之免疫學、分子生物學及細胞生物學之習知技術。

等效物

熟習此項技術者將認識到或能夠僅僅使用常規實驗來確定許多本文中所述之本發明之特定實施例的等效物。該等效物意欲包涵於下列申請專利範圍中。此申請案全文中所引用之所有參考文獻、專利及公開之專利申請案的內容均以引用的方式併入本文中。

【圖式簡單說明】

本發明之上述及其他目標、特徵及優勢以及本發明自身將自以下較佳實施例之描述(當與隨附圖式一起閱讀時)而得以更詳盡地理解，其中：

圖 1 展示 2 個不同(淺及深)吸入模式後，進入氣管支氣管(TB)及中心(C)及外周(P)肺葉區之猴肺區域組織解剖以測

定肺區分布。

圖2圖解地描述在4隻猴體內，以標稱10 mg/kg肺沈積劑量之兩種吸入模式後，血清阿達木單抗濃度隨時間之曲線。各曲線表示經指定以經由淺(封閉符號)及深(開放符號)吸氣動作接收阿達木單抗氣溶膠至肺中之各個動物。

圖3圖解地描述在2隻猴體內，以10 mg/kg劑量靜脈內注射後，血清阿達木單抗濃度隨時間之曲線。各曲線表示各個別動物。

圖4展示(a)淺吸氣及(b)深吸氣動作以及在猴體內操作插管深度及2.5 mg/kg標稱劑量之氣溶膠尺寸後，FD-150S之肺區分布。資料表示來自3隻動物之氣管支氣管(TB)、中心(C)及外周(P)肺區中之平均沈積%。

五、中文發明摘要：

本發明描述一種向患其中TNF α 有害之病症的個體之肺部傳遞TNF α 抑制劑以便治療該病症之方法。本發明亦包括在個體體內達成TNF α 抑制劑之體循環的方法，其包含經由吸入向該個體之中心肺區或外周肺區投與該TNF α 抑制劑，以便達成該TNF α 抑制劑之體循環。

六、英文發明摘要：

The invention describes methods of pulmonary delivery of a TNF α inhibitor to a subject having a disorder in which TNF α is detrimental, such that the disorder is treated. Also included is a method of achieving systemic circulation of a TNF α inhibitor in a subject comprising administering the TNF α inhibitor to the central lung region or the peripheral lung region of the subject via inhalation, such that systemic circulation of the TNF α inhibitor is achieved.

十、申請專利範圍：

1. 一種TNF α 抑制劑之用途，其係用於製造供治療患其中TNF α 活性有害之病症之個體用的肺部傳遞藥劑。
2. 一種TNF α 抑制劑之用途，其係用於製造於個體體內達成TNF α 抑制劑之體循環的藥劑，其中經由吸入向該個體之中心及外周肺區投與該等藥劑。
3. 一種TNF α 抑制劑之用途，其係用於製造用於在個體體內達成TNF α 抑制劑之體循環的藥劑，其中經由吸入向該個體之外周肺區投與該藥劑。
4. 如請求項1-3中任一項之用途，其中該藥劑係調配於適於吸入之組合物中。
5. 如請求項4之用途，其中該組合物係選自由可吸入粉末、含推進劑之氣溶劑及不含推進劑之可吸入溶液組成之群。
6. 如請求項5之用途，其中經由乾粉吸入器(DPI)向該個體投與該可吸入粉末。
7. 如請求項5之用途，其中經由定量吸入器(MDI)向該個體投與該含有推進劑之氣溶膠。
8. 如請求項5之用途，其中經由霧化器向該個體投與該不含推進劑之可吸入溶液。
9. 如請求項1-3中任一項之用途，其另外包含對該TNF α 抑制劑達成小於或等於約4天之 T_{max} 。
10. 如請求項1-3中任一項之用途，其中該TNF α 抑制劑分布於該個體之中心肺區，以便達成約0.3之P/C比。

11. 如請求項1-3中任一項之用途，其中該TNF α 抑制劑分布於該個體之外周肺區以便達成約1.3之P/C比。
12. 如請求項1-3中任一項之用途，其中達成至少約2.3 mg/L之該TNF α 抑制劑之最大血清濃度(C_{max})。
13. 如請求項1-3中任一項之用途，其中達成至少約4.2 mg/L之該TNF α 抑制劑之 C_{max} 。
14. 如請求項1-3中任一項之用途，其中達成至少約5 mg/L之該TNF α 抑制劑之 C_{max} 。
15. 如請求項1-3中任一項之用途，其中在投與該TNF α 抑制劑後達成選自由小於或等於約4天之 T_{max} ，至少約0.99%之絕對生物可用率(F%)，及至少約2.3 mg/L之 C_{max} 組成之群的至少一種藥物代謝動力學特徵。
16. 如請求項15之用途，其中在投與該TNF α 抑制劑後達成約2至約4天之 T_{max} 。
17. 如請求項15之用途，其中在投與該TNF α 抑制劑後，達成約2.3至約5.9 mg/L之 C_{max} 。
18. 如請求項1-3中任一項之用途，其中該個體為人類。
19. 如請求項2之用途，其中該個體患其中TNF α 活性有害之病症。
20. 如請求項1或19之用途，其中該TNF α 活性有害之病症係選自由自體免疫病症、脊椎關節病、腸道病、皮膚病及肺部病症組成之群。
21. 如請求項20之用途，其中該自體免疫病症為類風濕性關節炎或青少年類風濕性關節炎。

22. 如請求項20之用途，其中該脊椎關節病為強直性脊椎炎或牛皮癬性關節炎。
23. 如請求項20之用途，其中該腸道病症為克羅恩氏病(Crohn's disease)。
24. 如請求項20之用途，其中皮膚病症為牛皮癬。
25. 如請求項20之用途，其中肺部病症為慢性阻塞性肺病或哮喘。
26. 如請求項1-3中任一項之用途，其中該TNF α 抑制劑為TNF α 抗體或其抗原結合部分或融合蛋白。
27. 如請求項26之用途，其中該融合蛋白為依那西普(etanercept)。
28. 如請求項26之用途，其中該TNF α 抗體或其抗原結合部分係選自由英利昔單抗(infliximab)、勾利木單抗(golimumab)及阿達木單抗(adalimumab)組成之群。
29. 如請求項26之用途，其中該TNF α 抗體或其抗原結合部分為選自由人源化抗體、嵌合抗體、人類抗體及多價抗體組成之群的抗體。
30. 如請求項29之用途，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分以皆藉由表面電漿共振所測定之 1×10^{-8} M或更小之 K_d 及 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或更小之 K_{off} 速率常數自人類TNF α 解離，且在標準活體外L929檢定中以 1×10^{-7} M或更小之 IC_{50} 中和人類TNF α 細胞毒性。
31. 如請求項29之用途，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分具有下列特徵：

a) 以如藉由表面電漿共振所測定之 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或更小之 K_{off} 速率常數自人類TNF α 解離；

b) 具有輕鏈CDR3域，其包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列，或藉由在位置1、4、5、7或8處之單一丙胺酸取代或在位置1、3、4、6、7、8及/或9處之一至五個保守胺基酸取代自SEQ ID NO: 3經修飾之胺基酸序列；

c) 具有重鏈CDR3域，其包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列，或藉由在位置2、3、4、5、6、8、9、10或11處之單一丙胺酸取代或在位置2、3、4、5、6、8、9、10、11及/或12處之一至五個保守胺基酸取代自SEQ ID NO: 4經修飾之胺基酸序列。

32. 如請求項29之用途，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分包含具有包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列或藉由在位置1、4、5、7或8處之單一丙胺酸取代自SEQ ID NO: 3經修飾之胺基酸序列之CDR3域的輕鏈可變區(LCVR)且包含具有包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列或藉由在位置2、3、4、5、6、8、9、10或11處單一丙胺酸取代自SEQ ID NO: 4經修飾之胺基酸序列之CDR3域的重鏈可變區(HCVR)。

33. 如請求項29之用途，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分包含含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的輕鏈可變區(LCVR)及含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列的重鏈可變區(HCVR)。

34. 一種用於治療個體之肺部病症的用途，其包含向該個體

肺部傳遞TNF α 抑制劑，其中該肺部投藥包含向該個體之肺部局部傳遞該TNF α 抑制劑。

35. 如請求項34之用途，其中該肺部病症為哮喘或慢性阻塞性肺部疾病(COPD)。

36. 如請求項34或35之用途，其中該TNF α 抑制劑為TNF α 抗體或其抗原結合部分或融合蛋白。

37. 如請求項36之用途，其中該融合蛋白為依那西普。

38. 如請求項37之用途，其中該TNF α 抗體或其抗原結合部分係選自由英利昔單抗、勾利木單抗及阿達木單抗組成之群。

39. 如請求項36之用途，其中該TNF α 抗體或其抗原結合部分為選自由人源化抗體、嵌合抗體、人類抗體及多價抗體組成之群的抗體。

40. 如請求項39之用途，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分以皆藉由表面電漿共振所測定之 1×10^{-8} M或更小之 K_d 及 1×10^{-3} s $^{-1}$ 或更小之 K_{off} 速率常數自人類TNF α 解離，且在標準活體外L929檢定中以 1×10^{-7} M或更小之 IC_{50} 中和人類TNF α 細胞毒性。

41. 如請求項39之用途，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分具有下列特徵：

a) 以如藉由表面電漿共振所測定之 1×10^{-3} s $^{-1}$ 或更低之 K_{off} 速率常數自人類TNF α 解離；

b) 具有輕鏈CDR3域，其包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列，或藉由在位置1、4、5、7或8處之單一丙胺酸取

代或在位置1、3、4、6、7、8及/或9處之一至五個保守胺基酸取代自SEQ ID NO: 3經修飾之胺基酸序列；

c) 具有重鏈CDR3域，其包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列，或藉由在位置2、3、4、5、6、8、9、10或11處之單一丙胺酸取代或在位置2、3、4、5、6、8、9、10、11及/或12處之一至五個保守胺基酸取代自SEQ ID NO: 4經修飾之胺基酸序列。

42. 如請求項39之用途，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分包含具有包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列或藉由在位置1、4、5、7或8處之單一丙胺酸取代自SEQ ID NO: 3經修飾之胺基酸序列之CDR3域的輕鏈可變區(LCVR)且包含具有包含SEQ ID NO: 4之或藉由在位置2、3、4、5、6、8、9、10或11處單一丙胺酸取代自SEQ ID NO: 4經修飾之胺基酸序列之CDR3域的重鏈可變區(HCVR)。

43. 如請求項39之用途，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分包含含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的輕鏈可變區(LCVR)及含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列的重鏈可變區(HCVR)。

44. 一種醫藥組合物，其包含TNF α 抗體及醫藥學上可接受之載劑，其中該醫藥組合物適於由個體吸入且係選自由可吸入粉末或乾粉組合物、含推進劑之氣溶膠及不含推進劑之可吸入溶液或懸浮液組成之群。

45. 如請求項44之醫藥組合物，其中該醫藥學上可接受之載劑包含乳糖粉末或葡萄糖粉末。

46. 如請求項44或45之醫藥組合物，其中該TNF α 抗體或其抗原結合部分為選自由人源化抗體、嵌合抗體、人類抗體及多價抗體組成之群的抗體。
47. 如請求項44或45之醫藥組合物，其中該TNF α 抗體或其抗原結合部分係選自由英利昔單抗、勾利木單抗及阿達木單抗組成之群。
48. 如請求項46之醫藥組合物，其中該人類抗TNF α 抗體或其抗原結合部分以皆藉由表面電漿共振所測定之 1×10^{-8} M或更小之 K_d 及 1×10^{-3} s $^{-1}$ 或更小之 K_{off} 速率常數自人類TNF α 解離，且在標準活體外L929檢定中以 1×10^{-7} M或更小之 IC_{50} 中和人類TNF α 細胞毒性。
49. 如請求項46之醫藥組合物，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分具有下列特徵：
- a) 以如藉由表面電漿共振所測定之 1×10^{-3} s $^{-1}$ 或更低之 K_{off} 速率常數自人類TNF α 解離；
 - b) 具有輕鏈CDR3域，其包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列，或藉由在位置1、4、5、7或8處之單一丙胺酸取代或在位置1、3、4、6、7、8及/或9處之一至五個保守胺基酸取代自SEQ ID NO: 3經修飾之胺基酸序列；
 - c) 具有重鏈CDR3域，其包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列，或藉由在位置2、3、4、5、6、8、9、10或11處之單一丙胺酸取代或在位置2、3、4、5、6、8、9、10、11及/或12處之一至五個保守胺基酸取代自SEQ ID NO: 4經修飾之胺基酸序列。

50. 如請求項46之醫藥組合物，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分包含具有包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列或藉由在位置1、4、5、7或8處之單一丙胺酸取代自SEQ ID NO: 3經修飾之胺基酸序列之CDR3域的輕鏈可變區(LCVR)且包含具有包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列或藉由在位置2、3、4、5、6、8、9、10或11處單一丙胺酸取代自SEQ ID NO: 4經修飾之胺基酸序列之CDR3域的重鏈可變區(HCVR)。

51. 如請求項46之醫藥組合物，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分包含含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的輕鏈可變區(LCVR)及含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列的重鏈可變區(HCVR)。

52. 如請求項48-51中任一項之醫藥組合物，其包含至少約40 mg之該TNF α 抗體或其抗原結合部分。

53. 如請求項48-51中任一項之醫藥組合物，其包含約40-160 mg之該TNF α 抗體或其抗原結合部分。

54. 一種用於向個體肺部投與TNF α 抑制劑之乾粉吸入器(DPI)裝置，該DPI裝置包含：

一儲集器，其包含含該TNF α 抑制劑之可吸入粉末或乾粉組合物，及

一用於將該可吸入粉末或乾粉組合物經由吸入引入該個體體內之構件。

55. 如請求項54之DPI裝置，其中該DPI裝置為單劑量或多劑量吸入器。

56. 如請求項 54 之 DPI 裝置，其中該 DPI 裝置為預定計量或裝置計量的。
57. 一種用於向個體肺部投與 TNF α 抑制劑之定量吸入器 (MDI) 裝置，該 MDI 裝置包含：
- 一包含氣溶膠之加壓罐，該氣溶膠包含該 TNF α 抑制劑及推進劑，及
 - 一用於將該氣溶膠經由吸入引入該個體體內之構件。
58. 一種與一噴霧器裝置一起用於向個體肺部投與 TNF α 抑制劑之容器，該容器包含含該 TNF α 抑制劑之不含推進劑之可吸入溶液或懸浮液。
59. 如請求項 54-58 中任一項之裝置或容器，其中該 TNF α 抑制劑為 TNF α 抗體或其抗原結合部分或融合蛋白。
60. 如請求項 59 之裝置或容器，其中該融合蛋白為依那西普。
61. 如請求項 59 之裝置或容器，其中該 TNF α 抗體或其抗原結合部分為選自由人源化抗體、嵌合抗體、人類抗體及多價抗體組成之群的抗體。
62. 如請求項 61 之裝置或容器，其中該 TNF α 抗體或其抗原結合部分係選自由英利昔單抗、勾利木單抗及阿達木單抗組成之群。
63. 如請求項 61 之裝置或容器，其中該人類 TNF α 抗體或其抗原結合部分以皆藉由表面電漿共振所測定之 1×10^{-8} M 或更小之 K_d 及 1×10^{-3} s $^{-1}$ 或更小之 K_{off} 速率常數自人類 TNF α 解離，且在標準活體外 L929 檢定中以 1×10^{-7} M 或更小之

IC₅₀中和人類TNF α 細胞毒性。

64. 如請求項61之裝置或容器，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分具有下列特徵：

a) 以如藉由表面電漿共振所測定之 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或更低之K_{off}速率常數自人類TNF α 解離；

b) 具有輕鏈CDR3域，其包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列，或藉由在位置1、4、5、7或8處之單一丙胺酸取代或在位置1、3、4、6、7、8及/或9處之一至五個保守胺基酸取代自SEQ ID NO: 3經修飾之胺基酸序列；

c) 具有重鏈CDR3域，其包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列，或藉由在位置2、3、4、5、6、8、9、10或11處之單一丙胺酸取代或在位置2、3、4、5、6、8、9、10、11及/或12處之一至五個保守胺基酸取代自SEQ ID NO: 4經修飾之胺基酸序列。

65. 如請求項61之裝置或容器，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分包含具有包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列或藉由在位置1、4、5、7或8處之單一丙胺酸取代自SEQ ID NO: 3經修飾之胺基酸序列之CDR3域的輕鏈可變區(LCVR)且包含具有包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列或藉由在位置2、3、4、5、6、8、9、10或11處單一丙胺酸取代自SEQ ID NO: 4經修飾之胺基酸序列之CDR3域的重鏈可變區(HCVR)。

66. 如請求項61之裝置或容器，其中該人類TNF α 抗體或其抗原結合部分包含含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的輕鏈可

變區 (LCVR) 及含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的重鏈可變區 (HCVR)。

67. 如請求項 62-66 中任一項之裝置或容器，其包含至少約 40 mg 之該 TNF α 抗體或其抗原結合部分。
68. 如請求項 62-66 中任一項之裝置或容器，其包含約 40-160 mg 之該 TNF α 抗體或其抗原結合部分。

十一、圖式：

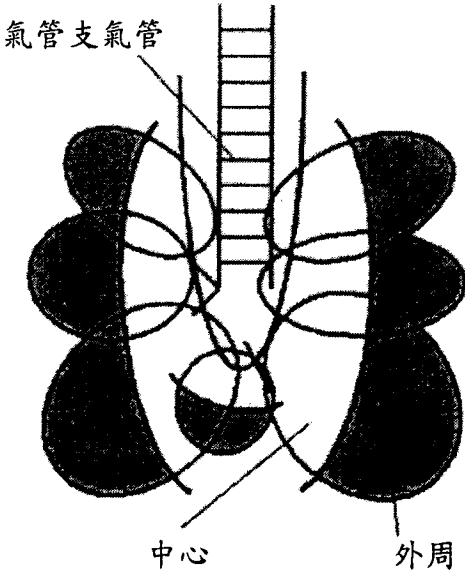


圖1

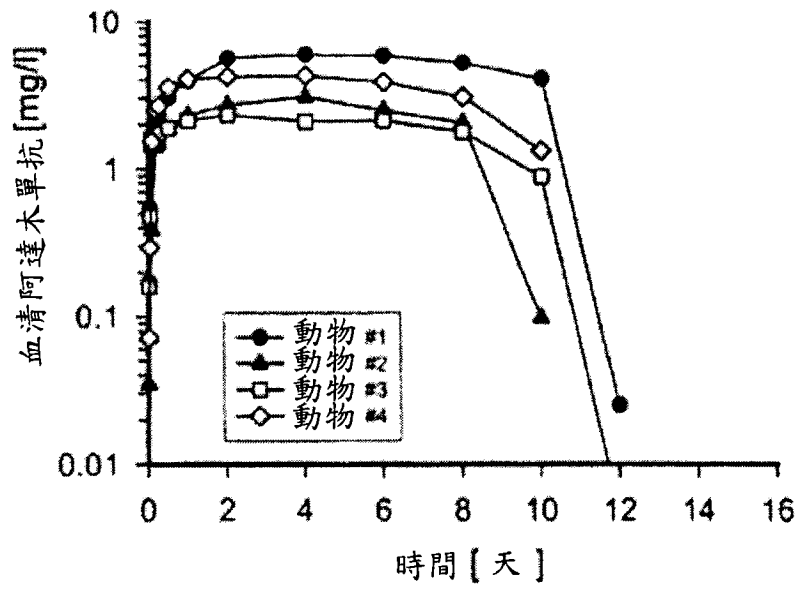


圖2

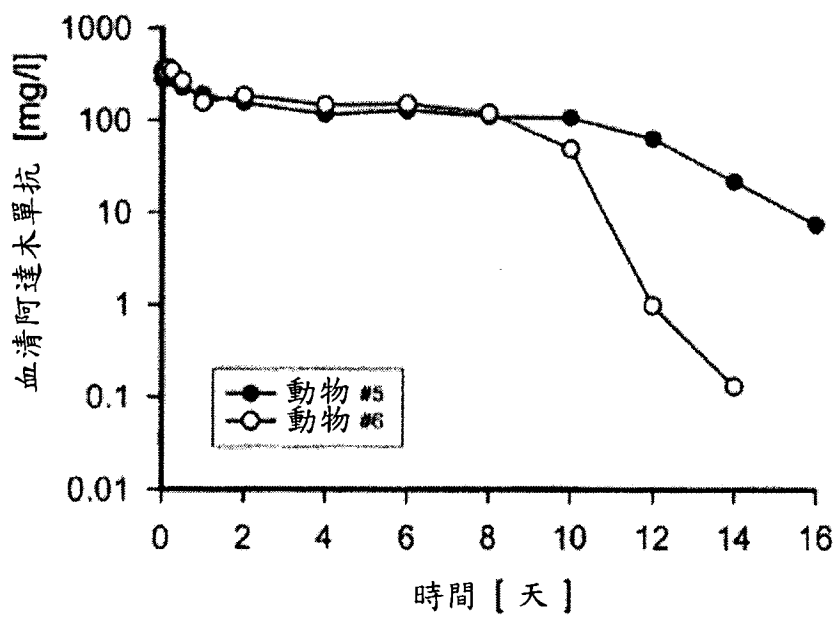


圖3

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (4) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)