

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5897784号
(P5897784)

(45) 発行日 平成28年3月30日 (2016. 3. 30)

(24) 登録日 平成28年3月11日 (2016. 3. 11)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K	38/46	(2006. 01)	A 6 1 K	37/54	ZMD
A 6 1 P	1/00	(2006. 01)	A 6 1 P	1/00	
A 6 1 P	17/00	(2006. 01)	A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	21/00	(2006. 01)	A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	21/02	(2006. 01)	A 6 1 P	21/02	

請求項の数 16 (全 23 頁)

(21) 出願番号	特願2009-517002 (P2009-517002)
(86) (22) 出願日	平成19年6月28日 (2007. 6. 28)
(65) 公表番号	特表2009-541396 (P2009-541396A)
(43) 公表日	平成21年11月26日 (2009. 11. 26)
(86) 国際出願番号	PCT/EP2007/005754
(87) 国際公開番号	W02008/000490
(87) 国際公開日	平成20年1月3日 (2008. 1. 3)
審査請求日	平成22年6月21日 (2010. 6. 21)
審判番号	不服2013-18719 (P2013-18719/J1)
審判請求日	平成25年9月27日 (2013. 9. 27)
(31) 優先権主張番号	60/817, 756
(32) 優先日	平成18年6月29日 (2006. 6. 29)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	507409737
	メルツ・ファルマ・ゲーエムベーハー・ウ ント・コー・カーゲーアーアー ドイツ国 6 0 3 1 8 フランクフルト/ マイン エッケンハイマー・ラントシュト ラーセ 1 0 0
(74) 代理人	100099759
	弁理士 青木 篤
(74) 代理人	100077517
	弁理士 石田 敬
(74) 代理人	100087871
	弁理士 福本 積
(74) 代理人	100087413
	弁理士 古賀 哲次

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ボツリヌス毒素の神経毒成分の高頻度適用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

患者の筋肉若しくは外分泌腺の活動亢進性コリン作動性神経支配を原因とするか又はそれに関連した疾患又は病状を治療するための注射用医薬組成物であって、有効量のボツリヌス菌毒素複合体の血清型 A の神経毒成分を含み且つ前記ボツリヌス菌毒素複合体の他の非毒性タンパク質成分が全く無く、ここで、

(a) 患者はヒトであり、そして

(b) 組成物の投与間隔、すなわち第 1 の治療及び第 2 の治療の間隔、は 2 時間 ~ 8 週間であり、第 2 の治療で投与される量は、第 1 の治療で投与される量よりも低量、高量、又は同量であり得る、前記医薬組成物。

【請求項 2】

第 2 の治療が、第 1 の治療の治療効果を高めるために実施される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

(a) 患者が重篤な運動障害又は重篤な痙性を有する患者であり；そして

(b) 投与される有効量が、成人では 5 0 0 U の神経毒成分を超え、子供では 1 5 U / k g 体重を越える、請求項 1 又は 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

成人では 5 0 0 U を越える量、子供では 1 5 U / k g 体重を越える量が総量であり、

(a) この量の第 1 画分を第 1 の治療期間に注射し；そして

(b) 残りの画分を、第1の治療期間の少なくとも1日後に予定される1回以上のその後の治療期間に注射する、

請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項5】

患者が、ボツリヌス菌毒素で治療されているが治療効果の減少に不満をもち、そして治療後8週間が終了する前に治療を必要とするヒトである、請求項1～4のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項6】

活動亢進性の腺が自律外分泌腺であり、組成物が腺又は腺近傍に注射される、請求項1～5のいずれか1項に記載の医薬組成物。

10

【請求項7】

(a) 腺が、汗腺、涙腺、唾液腺、及び粘液腺から成る群より選択されるか；又は
(b) 腺が、フレイ症候群、ワニの涙症候群、脇の多汗症、手のひらの多汗症、足底多汗症、頭頸部の多汗症、身体が多汗症、鼻漏、又は脳卒中、パーキンソン病、若しくは筋萎縮性側索硬化症を有する患者における関連唾液過多症から成る群より選択される疾患又は病状に関連している、請求項6に記載の医薬組成物。

【請求項8】

疾患又は病状が、筋ジストニアであるか又はそれを包含する、請求項1～7のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項9】

20

ジストニアが、

(a) (1) 眼瞼痙攣、開口型若しくは閉口型の口下顎ジストニア、歯ぎしり、メージュ症候群、舌ジストニア、開眼失行を含めた頭蓋ジストニア、(2) 前屈、後屈、側屈、斜頸を含めた頸部ジストニア、(3) 咽頭ジストニア、(4) 内転筋型又は外転筋型の痙攣性発声障害、痙攣性の呼吸困難を含めた喉頭ジストニア、(5) 書痙、音楽家痙攣、若しくはゴルファー痙攣を含めた動作特異性ジストニアなどの上肢ジストニア、大腿部の内転、大腿部の外転、膝の屈曲、膝の伸展、足首の屈曲、足首の伸展、若しくは内反尖足変形を含めた下肢ジストニア、母指の過伸展、足指の屈曲、若しくは足指の伸展を含めた足のジストニアを含む四肢ジストニア、ピサ症候群若しくはベリーダンサーのジストニアなどの軸性ジストニア、分節性ジストニア、片側性ジストニア若しくは全身性ジストニア、(6) L u b a gにおけるジストニア、(7) 大脳皮質基底核変性症におけるジストニア、(8) 遅発性ジストニア、(9) 脊髄小脳失調症におけるジストニア、(10) パーキンソン病におけるジストニア、(11) ハンチントン病におけるジストニア、(12) ハレルフォルデン・スパッツ病におけるジストニア、(13) ドーパ誘発性ジスキネジア/ドーパ誘発性ジストニア、(14) 遅発性ジスキネジア/遅発性ジストニア、(15) 発作性ジスキネジア/ジストニア(運動誘発性、非運動誘発性、動作誘発性)から成る群より選択されるか；又は

30

(b) 斜頸、側屈、後屈、前屈、肘屈曲、前腕回内、手首屈曲、母指内転、若しくは拳固から成る群より選択される臨床パターンを包含する、請求項8に記載の医薬組成物。

【請求項10】

40

筋肉が、同側板状筋、対側胸鎖乳突筋、同側胸鎖乳突筋、頭板状筋、斜角筋複合体、肩甲挙筋、後椎骨、同側僧帽筋、肩甲挙筋、両側頭板状筋、上部僧帽筋、後椎骨深部、両側胸鎖乳突筋、斜角筋複合体、オトガイ下複合体、腕橈骨筋、上腕二頭筋、方形回内筋、円回内筋、橈側手根屈筋、尺側手根屈筋、長母指屈筋、母指内転筋、短母指屈筋/対立筋、浅指屈筋、深指屈筋から成る群より選択される、請求項8に記載の医薬組成物。

【請求項11】

疾患又は病状が筋肉の痙性であるか又はそれを包含する、請求項1～7のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項12】

痙性が、(1) (a) 多発性硬化症、横断性脊髄炎、デビック症候群に関するものを含

50

めた自己免疫過程、(b)ウイルス感染、(c)細菌感染、(d)寄生虫感染、若しくは(e)真菌感染、に関連した脳炎及び脊髄炎における痙攣状態、(2)遺伝性痙攣性対麻痺、(3)大脳半球梗塞、脳幹梗塞から生ずる脳卒中後症候群、若しくは脊髄梗塞、(4)例えば大脳半球損傷、脳幹損傷、脊髄損傷を含めた中枢神経系外傷、(5)脳内出血、くも膜下出血、硬膜下出血、若しくは髄腔内出血などの中枢神経系の出血、又は(6)新生物、例えば大脳半球腫瘍、脳幹腫瘍、若しくは脊髄腫瘍、又は(7)脳卒中後の痙攣、又は(9)脳性麻痺による痙攣であるか又はそれに関連する、請求項11に記載の医薬組成物。

【請求項13】

筋肉が平滑筋又は横紋筋である、請求項11に記載の医薬組成物。

10

【請求項14】

個体の顔のしわの線若しくは皮膚のしわを軽減させ又は顔面非対照を取り除くための医薬組成物であって、有効量のボツリヌス菌毒素複合体の血清型Aの神経毒成分を含み且つ前記ボツリヌス菌毒素複合体の他の非毒性タンパク質成分が全く無く、ここで、

(a) 個体はヒトであり；

(b) 組成物は、1種以上の顔面筋又は皮膚のしわ若しくは非対称の形成に關与する筋肉へ又はその近傍への皮下又は筋肉内注射に用いられ；そして

(c) 組成物の投与間隔、すなわち第1の治療及び第2の治療の間隔、は2時間～8週間であり、第2の治療で投与される量は、第1の治療で投与される量よりも低量、高量、又は同量であり得る、前記医薬組成物。

20

【請求項15】

組成物の注射部位が、眉間のしわ、水平な額の線、目尻のしわ、鼻口周囲のしわ、顎のceases、波だった顎、及び/又は広顎筋のバンドである、請求項14に記載の医薬組成物。

【請求項16】

注射部位が、皺眉筋、眼輪筋、鼻根筋、前頭筋、眼輪筋眼窩部、鼻筋、上唇：口輪筋、下唇：口角下制筋、オトガイ筋、及び広顎筋から成る群より選択される、請求項14に記載の線の形成に關与する筋肉である、請求項14又は15に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

発明の分野

本発明は、ボツリヌス菌毒素複合体の神経毒成分を含有する組成物を投与することにより疾患及び障害を治療するための方法に関するものであり、前記組成物は、前記ボツリヌス菌毒素複合体の他のタンパク質成分が全く無く、短い間隔で及び/又は高用量で投与される。

【0002】

より詳細には、本発明は、患者の筋肉若しくは外分泌腺の活動亢進性コリン作動性神経支配を原因とするか又はそれに関連した疾患又は病状を治療するための方法に関するものであり、前記方法は、有効量のボツリヌス菌毒素複合体の神経毒成分を含み且つ前記ボツリヌス菌毒素複合体の他のタンパク質成分が全く無い組成物を投与することを含み、ここで、(a)患者はヒトであり、(b)組成物は注射で投与され、そして(c)組成物は、第1の治療及び第2の治療を構成する3ヶ月未満の間隔で投与され、第2の治療で投与される量は、第1の治療で投与される量よりも低量、高量、又は同量であり得る。また、本発明は、患者の筋肉の病理学的活性を原因とするか又はそれに関連した疾患又は病状を治療するための方法に関するものであり、前記方法は、有効量のボツリヌス菌毒素複合体の神経毒成分を含み且つ前記ボツリヌス菌毒素複合体の他のタンパク質成分が全く無い組成物を投与することを含み、ここで、(a)患者は重篤な運動障害又は重篤な痙攣を有するヒトであり；(b)組成物は注射で投与され；そして(c)投与される有効量は、成人では500Uの神経毒成分を越え、子供では15U/kg体重を越える。最後に、本発明は

40

50

、顔のしわの線若しくは皮膚のしわを軽減させ又は顔面非対称を取り除くための方法にも関するものであり、前記方法は、有効量のボツリヌス菌毒素複合体の神経毒成分を含み且つ前記ボツリヌス菌毒素複合体の他のタンパク質成分が全く無い組成物を個体へ投与することを含み、ここで、(a) 個体はヒトであり；(b) 組成物は、皮下又は筋肉内注射によって1種以上の顔面筋又は皮膚のしわ若しくは非対称の形成に關与する筋肉に又はその近傍に投与され；そして(c) 組成物は、第1の治療及び第2の治療を構成する3ヶ月未満の間隔で投与され、第2の治療で投与される量は、第1の治療で投与される量よりも低量、高量、又は同量であり得る。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

ボツリヌス毒素はボツリヌス菌によって産生される。7種の抗原的に異なる血清型のボツリヌス毒素、即ちボツリヌス毒素A、B、C、D、E、F、及びGが存在する。ボツリヌス毒素は、溶解させたクロストリジウム培養物から放出させると、通常他の細菌タンパク質と会合しており、いっしょになって毒素複合体を形成している。この複合体の神経毒サブユニットは、本明細書においてボツリヌス毒素複合体の「神経毒成分」と称する。「ボツリヌス毒素」という用語は、他のクロストリジウムタンパク質が全く無い神経毒成分を表すが、「ボツリヌス毒素複合体」のことも表す：これは、本明細書において、神経毒成分の2つの状態を区別することが必要ないか又は望まれない場合に用いられる。この複合体は、通常、「複合体形成タンパク質」又は「細菌タンパク質」と称する追加のいわゆる「非毒性」タンパク質を含有する。神経毒成分と細菌タンパク質との複合体は、「ボツリヌス菌毒素複合体」又は「ボツリヌス毒素複合体」と称する。この複合体の分子量は、約300,000～約900,000Daで多様であり得る。複合体形成タンパク質は、例えば種々のヘマグルチニンである。この毒素複合体のタンパク質は、それ自体毒性ではないが、神経毒成分に安定性を提供し、ボツリヌス中毒において経口毒性に關与する。毒素複合体とは異なり、単離され精製された形態の神経毒成分、即ち、複合体形成クロストリジウムタンパク質が全く無い成分は、酸に不安定であり、胃腸管の侵食環境に耐性ではない。

【0004】

ボツリヌス毒素複合体の神経毒成分は、血清型Aの場合、分子量およそ150kDaの1本鎖ポリペプチドとして初めに形成される。他の血清型では、神経毒成分は、細菌供給源に応じて約145～約170kDaで多様であることが觀察されている。血清型Aの場合、例えばポリペプチドのタンパク質分解プロセッシングにより、重鎖及び軽鎖から成る、ジスルフィド結合によって連結された2本鎖ポリペプチドの形態で活性化ポリペプチドを生ずる。ヒトでは、重鎖は、前シナプスコリン作動性神経終末への結合及び毒素の細胞内への内在化を介在する。軽鎖は、毒性効果に關与すると考えられており、亜鉛エンドペプチダーゼとして作用し、膜融合に關与する特定タンパク質を切断する（スネア複合体）（例えばMontecucco C.、Shiavo G.、Rosetto O.：破傷風及びボツリヌス神経毒素の作用機序。Arch Toxicol. 1996；18（増刊号）：342-354を参照されたい）。細胞内で膜融合プロセスを破壊することによって、ボツリヌス毒素は、シナプス間隙へのアセチルコリン放出を妨げる。神経筋接合部におけるボツリヌス毒素の全体的効果は、神経筋伝達を遮断することであり、実際には筋肉を麻痺させることである。ボツリヌス毒素は、他の末梢コリン作動性シナプスにおいても活性を有し、唾液分泌や発汗の低下を引き起こす。

【0005】

それぞれの血清型のボツリヌス毒素は、前シナプス神経終末上の血清型特異的受容体部位に結合する。コリン作動性ニューロンに対するボツリヌス毒素の特異性は、これら神経終末上の受容体部位に対する重鎖の高親和性に基づいている（参考文献：Katsikas S.、Gremmlöh G.、Pich E.M.：神経終末タンパク質；学習のための融合。Transneuro Science 1994；17：368-3

10

20

30

40

50

79)。

【0006】

その毒性効果にもかかわらず、ボツリヌス毒素複合体は治療薬として非常に多くの疾患に使用されている。A血清型ボツリヌス毒素は、米国において1989年に、斜視、眼瞼痙攣、及び他の障害を治療するためのヒトへの使用が承認された。それは、ボツリヌス毒素Aタンパク質複合体として、例えばボトックスの商品名で(アラガン社)又はディスポートの商品名で(イプセン社)市販されている。治療適用のため、複合体は治療すべき筋肉に直接注射される。生理的pHでは、毒素はタンパク質複合体から放出されて、所望の薬理効果を生ずる。ボツリヌス毒素の効果はほんの一時的なものであり、これが、治療効果を維持するためにボツリヌス毒素の反復投与が必要とされ得る理由である。多くの症例で、ボツリヌス毒素タンパク質複合体の反復投与後に、ボツリヌス毒素耐性が観察されている。患者は、神経毒成分に対するものであってその活性をブロックする中和抗体の関連レベルに達していた(Goschel H、Wohlfarth K、Frevert J、Dengler R、Bi-galke H、(1997)Exp Neurol. 1997、Sep; 147(1): 96-102)。その結果、(例えばボトックス又はディスポートを使用する)ボツリヌス毒素複合体を用いる療法は、それらの患者ではもはや有効ではない。ボトックス又はディスポートのようなボツリヌス毒素医薬のその後の適用は効果的ではない。ボツリヌス毒素タンパク質複合体を用いた治療を一時停止すれば抗体力価は低下し得る。しかしながら、治療を停止する必要がある期間は長期にわたり得る(例えばDressler D、Bigalke H(2002)ボツリヌス毒素療法停止後のボツリヌス毒素抗体力価。Mov Disord 17: 170-173を参照されたい)。

【0007】

当初は、ボツリヌス毒素複合体への耐性はまれであると考えられていた。その後の報告で、頸部ジストニアを治療された患者におけるボツリヌス毒素療法の抗体誘導性の療法失敗がおよそ5%の頻度であることが示唆された(参考文献: Kessler KR、Skutta M、Benecke R、A型ボツリヌス毒素による頸部ジストニアの長期治療: 効能、安全性、及び抗体頻度。ドイツジストニア研究グループ。J Neurol. 1999、Apr; 246(4): 265-74)。この観察は、単一場所における患者の遡及評価に基づいたものである。しかしながら、近年、より高頻度の発生率が報告されており、治療対象のおよそ20%が影響を受けたことを示唆している(参考文献: The Muscular Nerve、May 2004、p. 630)。一般に、抗体誘導性の療法失敗の危険性は、投与されたボツリヌス毒素の単回用量と強く相関すると考えられている。

【0008】

複合体に含有されるタンパク質は、免疫応答を強化し得ると考えられている。ボツリヌス毒素療法の抗体誘導性の完全な失敗に関する他の危険因子は、注射間隔、即ちその後の注射シリーズ間の間隔である。したがって、ボツリヌス毒素を3ヶ月毎に1回だけ投与し、抗体形成の危険性を低下させることが一般的慣例である。ボツリヌス投与の効果がより早く消滅する患者は、経口医薬で治療することができる。しかしながら、それら経口医薬の有効性は限られたものである。

【0009】

ボツリヌス毒素タンパク質複合体の他の悪影響は、標的筋肉へ注射後のその局所又は全身への拡散である。単一線維筋電図(SF-EMG)は、注射部位から離れた筋肉において細かい振動の増加を示している。例えば、Alntyら(Alny R.K、Aminoff M.J、Gelb D.J、Lowenstein D.H.: ボツリヌス神経毒素注射部位から離れたMyomuscular効果。Neurology 1988; 38: 1780-1783)は、頸筋への注射によって治療された患者が、注射部位から離れた筋肉において細かい振動及び線維密度を増加させたことを示している。これらの異常はおよそ3~6ヶ月後に正常に戻る。局注後のボツリヌス毒素の全身への拡散を示す他の証

抛は、心血管系の反射及び血圧における変化の発生である（参考文献：Alny R. K.、Aminoff M. J.、Gelb D. J.、Lowenstein D. H.：ボツリヌス神経毒素注射部位から離れたMyomuscular効果。Neurology 1988；38：1780 - 1783）。

【0010】

ある患者では、ボツリヌス毒素タンパク質複合体の高用量投与は、治療を意図しない筋肉に影響を及ぼし得る。例えば、眼瞼痙攣をボツリヌス毒素タンパク質複合体で治療する場合、拡散は開眼筋に影響を及ぼし、眼瞼下垂症を引き起こし得る。

【0011】

したがって、抗体形成の危険性だけでなく、全身拡散の危険性も、ボツリヌス毒素を比較的低用量で、したがって潜在的にあまり有効でない用量で投与することを必要とする。その結果、医師は、ボトックス又はディスポートを3ヶ月毎に1回以下で投与することを強く助言される。これは、高用量のボツリヌス毒素を必要とする患者に特に適用される。

【発明の概要】

【0012】

以上を考慮すると、本発明の目的は、本明細書に記載の障害を患った患者の治療を提供することであり、治療用ボツリヌス毒素製剤を短縮した間隔で及び/又は比較的高用量を用いることによって投与することを可能にする。治療用ボツリヌス毒素製剤は、特定の標的組織（例えば特定の筋肉又は腺）に適用すべきであるため、隣接組織への拡散が限定されることが重要な要求である。最後であるが重要な要求は、治療用ボツリヌス毒素製剤の抗原性低下である。また、本発明の目的は、柔軟な及び/又は頻繁な間隔で好適な医薬にて痙攣性又はジストニー筋肉に関連した疾患を治療するための方法を提供することである。本発明の他の目的は、頻繁な間隔で薬物を用い、抗体形成の危険性が低下し及び/又は全身への拡散が軽減された美顔処置を提供することである。

【0013】

したがって、本発明は、患者の筋肉若しくは外分泌腺の活動亢進性コリン作動性神経支配を原因とするか又はそれに関連した疾患又は病状を治療するための方法に関するものであり、前記方法は、有効量のボツリヌス菌毒素複合体の神経毒成分を含み且つ前記ボツリヌス菌毒素複合体の他のタンパク質成分が全く無い組成物を投与することを含み、ここで、（a）患者はヒトであり、（b）組成物は注射で投与され、そして（c）組成物は、第1の治療及び第2の治療を構成する3ヶ月未満の間隔で投与され、第2の治療で投与される量は、第1の治療で投与される量よりも低量、高量、又は同量であり得る。

【発明を実施するための形態】

【0014】

ボツリヌス毒素複合体の神経毒成分の投与を包含する本発明の概念は、一般に、筋肉又は外分泌腺の活動亢進性コリン作動性神経支配に関連した病状の治療を可能にすることは注目すべきものであり、ここで、神経毒成分はシナプス間隙へのアセチルコリン分泌をブロックする。したがって、本発明によって提供される治療は、以下の適応症のいずれかに對して行うことができ、その多くはDressler D（2000）（ボツリヌス毒素療法。Thieme Verlag、スタットガート、ニューヨーク）に詳細に記載されている：

ジストニア

頭蓋ジストニア

眼瞼痙攣

口下顎ジストニア

開口型

閉口型

歯ぎしり

メージュ症候群

舌ジストニア

10

20

30

40

50

開眼失行	
頸部ジストニア	
前屈	
後屈	
側屈	
斜頸	
咽頭ジストニア	
喉頭ジストニア	
痙攣性発声障害 / 内転筋型	
痙攣性発声障害 / 外転筋型	10
痙攣性の呼吸困難	
四肢ジストニア	
上肢ジストニア	
動作特異性ジストニア	
書痙	
音楽家痙攣	
ゴルファー痙攣	
下肢ジストニア	
大腿部の内転、大腿部の外転	
膝の屈曲、膝の伸展	20
足首の屈曲、足首の伸展	
内反尖足変形	
足のジストニア	
母指の過伸展 (striatal toe)	
足指の屈曲	
足指の伸展	
軸性ジストニア	
ピサ症候群	
ベリーダンサーのジストニア	
分節性ジストニア	30
片側性ジストニア	
全身性ジストニア	
l u b a g におけるジストニア	
大脳皮質基底核変性症におけるジストニア	
l u b a g におけるジストニア	
遅発性ジストニア	
脊髄小脳失調症におけるジストニア	
パーキンソン病におけるジストニア	
ハンチントン病におけるジストニア	
ハレルフォルデン・スパッツ病におけるジストニア	40
ドーパ誘発性ジスキネジア / ドーパ誘発性ジストニア	
遅発性ジスキネジア / 遅発性ジストニア	
発作性ジスキネジア / ジストニア	
運動誘発性	
非運動誘発性	
動作誘発性	
口蓋ミオクローヌス	
ミオクローヌス	
ミオキミア	
硬直	50

良性筋痙攣	
遺伝性の顎の振戦	
奇異性顎筋活動	
片側咀嚼筋痙攣	
肥大性鰓弓筋疾患	
咬筋肥大	
前脛骨筋肥大	
眼振	
動揺視	
核上性注視麻痺	10
持続性部分てんかん	
痙性斜頸手術計画	
声帯外転筋麻痺	
難治性変異性発声障害 (recalcitrant mutational dysphonia)	
上部食道括約筋機能障害	
声帯肉芽腫	
吃音	
ジル・ド・ラ・トゥレット症候群	
中耳ミオクローヌス	
防御性喉頭閉鎖	20
咽頭切除後言語障害	
防御性 (protective) 眼瞼下垂症	
内反	
オディ括約筋機能障害	
疑似アカラシア (pseudoachalasia)	
非アカラシア食道運動障害	
膣痙	
術後不動	
振戦	
膀胱機能障害	30
排尿筋・括約筋協調不全	
膀胱括約筋痙攣	
片側顔面痙攣	
神経再生によるジスキネジア	
美顔用途	
目尻のしわ	
渋面	
顔面非対称	
オトガイのくぼみ	
全身硬直症候群	40
強縮	
前立腺肥大	
肥満治療	
脳性小児麻痺	
斜視	
混合型	
麻痺性斜視	
共同斜視	
網膜剥離手術後の斜視	
白内障手術後の斜視	50

無水晶体眼における斜視	
筋炎による (myositic) 斜視	
筋傷害による (myopathic) 斜視	
交代性上斜位	
斜視手術に伴うものとしての斜視	
内斜視	
外斜視	
アカラシア	
裂肛	
外分泌腺機能亢進	10
フレイ症候群	
ワニの涙症候群	
多汗症	
脇	
手のひら	
足底	
鼻漏	
関連唾液過多症	
脳卒中において	
パーキンソン病において	20
筋萎縮性側索硬化症において	
痙攣状態	
脳炎及び脊髄炎において	
自己免疫過程	
多発性硬化症	
横断性脊髄炎	
デビック症候群	
ウイルス感染	
細菌感染	
寄生虫感染	30
真菌感染	
遺伝性痙攣性対麻痺において	
脳卒中後の症候群	
大脳半球梗塞	
脳幹梗塞	
脊髄梗塞	
中枢神経系外傷において	
大脳半球損傷	
脳幹損傷	
脊髄損傷	40
中枢神経系出血において	
脳内出血	
くも膜下出血	
硬膜下出血	
髄腔内出血	
新生物において	
大脳半球腫瘍	
脳幹腫瘍	
脊髄腫瘍	
ボツリヌス毒素は、例えば、クロストリジウム属の細菌の培養によって入手可能である	50

。本発明の好ましいクロストリジウム種は、ボツリヌス菌である。しかしながら、神経毒成分は、他の細菌種に由来してもよいことに注目することは重要である。但し、ボツリヌス菌由来神経毒成分の機能相同体であることが条件である。本発明の方法に用いる組成物は、他のボツリヌス菌タンパク質が全く無い神経毒成分を常に含有するであろう。しかしながら、神経毒成分を産生する場合、毒素は、神経毒成分、即ちヒトへの毒性効果に關与するタンパク質及び他の細菌タンパク質を含有する複合体として細菌から単離され得る。その後、神経毒成分は毒素複合体から精製することができる。本明細書において、「毒素複合体」又は「ボツリヌス毒素複合体」又は「ボツリヌス神経毒素複合体」という用語は互換性があり、およそ150kDaの神経毒成分、更に、ヘマグルチニン及び非ヘマグルチニンタンパク質を含めたボツリヌス菌の非毒性タンパク質を含む高分子量複合体を表す(Sakaguchi 1983; Sugiyama 1980)。

10

【0015】

本発明は、筋肉又は外分泌腺の活動亢進性コリン作動性神経支配に關連した疾患を有することを特徴とする患者の治療を想定するものである。本明細書において「患者」という用語は、ボツリヌス毒素に曝されたことのない患者だけでなく、ボツリヌス毒素に曝されている患者も表す。後者の患者は、ボツリヌス毒素複合体又はその成分に対する抗体を発生させているかもしれない。そのような抗体は中和抗体であり得る。患者の抗体力価が7mUを越えないこと、特に中和抗体の力価が7mUを越えないことが好ましい。「～を越えない抗体力価」という用語は、7mU未満、例えば1mU～6mU、又は0.01mU～1mUを意味する。

20

【0016】

本明細書において「活動亢進性コリン作動性神経支配」という用語は、異常に高量のアセチルコリンをシナプス間隙へ放出することを特徴とするシナプスに關するものである。「異常に高い」とは、例えばその放出を、同種であるが活動亢進性状態にないシナプスにおける放出と比較することによって、得ることができる基準活性に対して25%以下、50%以下、又はそれ以上の増加に關係するものであり、ここで、筋ジストニアは活動亢進性状態を示し得る。「25%以下」は、例えば約1%～約25%を意味する。必要な測定を実施するための方法は、当該技術分野において公知である。

【0017】

本発明との關連において用いる「約」という用語は、「およそ」又は「大体」を意味する。数値との關連において、この用語は、厳密な数値の定義を付することなくその値の±10%の値又は表示された範囲の値を推定するものと解釈することができる。

30

【0018】

明細書を通して使用される「神経毒成分」という用語は、神経毒活性を有し、血清型Aでは分子量およそ150kDaのボツリヌス毒素複合体のサブユニットに關するものである。「神経毒成分」という用語には、ボツリヌス菌の他の血清型に見られる機能相同体も含まれる。本発明の好ましい態様では、神経毒成分は他のボツリヌス菌タンパク質が全く無く、好ましくは神経毒成分に潜在的に關連するRNAも無い。神経毒成分は、およそ150kDaの1本鎖前駆体タンパク質であるか、又はおよそ50kDaの軽鎖(L_c)及びおよそ100kDaの重鎖(H_c)を含み、1本以上のジスルフィド結合によって連結され得る、タンパク質分解でプロセシングされた神経毒成分であり得る(概説として、例えばSimpson LL、Ann Rev Pharmacol Toxicol. 2004; 44: 167-93を参照されたい)。当該技術分野に熟練した者は、たとえプロセシングされていない前駆体がある種の生物学的機能を發揮できるか又は部分的に活性であり得ると考えられるとしても、完全な生物活性は、タンパク質分解による活性化後のみ達成されるところを認識するであろう。「生物活性」とは、(a)受容体結合、(b)内在化、(c)エンドソーム膜から細胞質への転位、及び/又は(d)シナプス小胞の膜融合に關与するタンパク質の細胞内タンパク質分解による切断を表す。生物活性を評価するためのin vitroアッセイには、Pearce LB、Borodick GE、First ER、MacCallum RD(1994)(ボツリヌス毒素活性の測

40

50

定：致死率アッセイの評価。Toxicol Appl Pharmacol 128 : 69 - 77) 及び Dressler D、Lange M、Bigalke H (2005) (B型ボツリヌス毒素に対する抗体を検出するためのマウス横隔膜アッセイ。Mov Disord 20 : 1617 - 1619) に記載のようなマウスLD₅₀アッセイ及びマウス片側横隔膜アッセイが含まれる。

【0019】

生物活性は、一般にマウス単位(MU)で表される。本明細書において、1MUは、特定マウス集団の50%を腹腔内注射後に死滅させる神経毒成分の量、即ちマウスi.p.LD₅₀である(Schantz & Kauter、1978)。「MU」及び「単位」又は「U」という用語は互換性がある。あるいは、生物活性は、致死量単位(LDU)/n

10

【0020】

「有効量」という用語は、投与後、疾患の症状の部分的又は完全な除去を生ずる神経毒成分の量を意味する。有効量は通常1~2000MUの範囲であるが、5000MU以下の用量も用いることができる。高用量の神経毒成分を患者に投与すべき場合、治療を1回を越える治療期間に分割することが有益であり得る。「1回を越える治療期間」という用語は、例えば2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回の治療期間を意味する。

【0021】

本発明の方法に用いる神経毒成分は、ボツリヌス菌培養物から精製することが好ましい。ボツリヌス菌を培養し、そこから毒素複合体を精製する方法は、先行技術に記載されている(Schantz & Kauter、1978、Microbiological methods、ボツリヌス菌神経毒素の標準アッセイ。J Assoc Off Anal Chem 1978; 61(1): 96 - 99に概説されている)。神経毒成分は、本質的にDas Gupta & Sathya moorthyの方法(Das Gupta B R、Sathya moorthy V、A型ボツリヌス神経毒素の精製及びアミノ酸組成。Toxicon. 1984; 22(3): 415 - 24)に記載のようにしてボツリヌス菌から精製することができる。この目的のために、A型ボツリヌス菌を、例えば、2%プロテオースペプトン、1%酵母エキス、1%グルコース、及び0.05%チオグリコール酸ナトリウムから成る培地の入った20L発酵槽で培養する。72時間増殖後、3N硫酸を加えることによって(最終pH=3.5)毒素を沈殿させる。沈殿させて遠心分離したバイオマスを、0.2Mリン酸ナトリウム緩衝液(pH6.0)で抽出する。硫酸プロタミンで沈殿させることによって核酸を除去後、硫酸アンモニウムを加えることによって毒素を沈殿させる。可溶化し、50mMリン酸ナトリウム(pH6.0)で透析した沈殿物をDEAE-セファデックス(登録商標)カラムに同一pHで結合させ、150mM NaClで溶出させる。この後、50mM Tris/HCl緩衝液(pH7.9)で平衡化したQAE-セファデックス(登録商標)カラムでクロマトグラフィを行う。毒素はNaCl濃度勾配により溶出される。最終工程では、SP-セファデックス(登録商標)(pH7.0)で毒素をクロマトグラフにかける。この場合、結合した毒素はNaCl濃度勾配(0~300mM)によりカラムから溶出される。精製した毒素をSDS-ポリ

20

30

40

【0022】

ボツリヌス神経毒素、特に上記毒素複合体は、以前に、7種の血清学的に異なるA型、B型、C型、D型、E型、F型、及びG型に分類された。近年、A血清型(A1及びA2)並びにC血清型(C1及びC2)の異なる集団が同定されている。ここで、これらの集団を「サブタイプ」と表す。

【0023】

血清型Aの神経毒成分は、ボツリヌス菌毒素複合体の他のタンパク質が全く無い組成物で、ゼオミンという商品名でメルツ製薬から市販されている。

50

あるいは、本発明の方法に用いる神経毒成分は、組換え遺伝子発現によって作製することができる。この目的のために、神経毒成分又はその変異体をコードするオープンリーディングフレームを目的宿主細胞における遺伝子発現に適したベクターへクローニングすることができる。組換え遺伝子発現及びタンパク質精製の方法は当該技術分野に熟練した者に公知である。

【0024】

神経毒成分をコードする組換え核酸分子は、公知の核酸配列に由来しても、組換え技術又は化学合成によって2以上の公知配列から組換えてもよい。キメラ神経毒成分の例は、例えば、神経毒成分の第1の血清型の軽鎖を第2の血清型の重鎖へ融合させることによって作製される分子である。化学合成の例は、神経毒成分全体の化学合成である。

10

【0025】

1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又は20以下のアミノ酸変異を含有する遺伝子組換えされた神経毒成分も含まれる。変異は置換、挿入、又は欠損であり得る。変異は、上記生物活性を全く損なわないことが好ましい。しかしながら、変異体を用いて神経毒成分の生物活性を調節することも想定される。

【0026】

化学修飾したアミノ酸、例えば、グルコシル化、アセチル化又はその他に修飾された、毒素の取り込み又は安定性に有益であり得る1以上のアミノ酸を含有するボツリヌス毒素の神経毒成分も含まれる。特に好ましいのは神経毒成分の脂質化である。修飾残基は、例えば酵素による *in vitro* 反応によって又は適切な化学反応条件を用いることによって神経毒成分へ加えることができる。あるいは、修飾酵素の機能は、宿主細胞内で毒素を発現させることによってトランスに提供することができる。

20

【0027】

上記方法を用いることにより、神経毒成分に対する中和抗体を誘導することなく治療頻度を有意に増加させることができる。これに関連して、本発明以前は、より頻繁なボツリヌス毒素投与は治療される患者の免疫応答を誘導する可能性を高めると考えられていたため、公知の治療計画は3ヶ月未満の間隔でボツリヌス毒素を投与することを厳重に回避していたことに注目すべきである。本明細書に開示の実施例は、ボツリヌス毒素複合体の代わりに神経毒成分を使用することでそのような問題を回避できるという発想を支持している。

30

【0028】

本発明の好ましい態様では、第2の治療は第1の治療の治療効果を高めるために実施される。これは、適切なボツリヌス毒素用量の投与をより有効に可能にするであろう。例えば、第1の治療期間では、次善の最適用量の神経毒成分を投与することができる。患者の疾患の症状が十分に応答しない場合、第2の又はその後の治療期間に更に神経毒成分を投与することができる。したがって、本発明の方法に伴って軽減された危険性を鑑みると、患者を有効に治療するために必要な最適用量に近づくために、多くの治療期を用いることができる。

【0029】

本発明にしたがい、第1の治療期間及び第2の治療期間及びその後の治療期間は、先の治療期間の少なくとも1日後に予定することができる。「少なくとも1日後」という用語は、例えば1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、若しくは10日、又は1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、若しくは12週を意味する。しかしながら、第2の治療は、第1の治療のわずか数時間後、例えば2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、又は8時間後に予定されることも本発明の教示によって想定される。

40

【0030】

好ましい態様では、第2の(その後の)治療は、第1の(先の)治療の効能が低下し始める時点で実施される。そのような治療計画を用いることにより、患者の安定した生活の質を達成することができる。

50

【0031】

患者の「安定した生活の質」というパラメータの決定を、本発明にしたがい治療すべき1つの病状、即ち眼瞼痙攣を参照することにより、いわゆる眼瞼痙攣障害指数(BSDI)に基づき、以下に例示的に記載する。眼瞼痙攣障害指数[BSDI]は、BEBを原因とした日常生活の特定動作の機能障害を評価するための自己評価尺度である(Goertelmeyer R、Brinkmann S、Comes G、Delcker A、局所性ジストニアにおける機能的健康を評価するための眼瞼痙攣障害指数(BSDI)、Clin. Neurophysiol. 2002; 113(1): S77-S78)。

【0032】

尺度は各受診時に患者が回答すべきである。これには、「機能障害なし」、「軽度/中等度/重度の機能障害」及び「病気のためもはや可能ではない」の5点記載(即ち各項目あたり0~4点)で評価すべき6項目が含まれる。6項目とは、「車に乗る」、「読書」、「TV鑑賞」、「買い物」、「散歩」、及び「日常行為を行う」である。当てはまらない項目の場合は評価を無視される他の機能的尺度とは異なり、BSDIは、「日常行為を行う」を除く5項目に関し、「該当なし」と回答可能である。

【0033】

欠損項目のないBSDI平均スコアは、該当する回答された項目を全て足し、回答項目数で割ることによって計算する。

しかしながら、そのようなパラメータは、本発明内で治療すべき他の多くの疾患及び病状、例えば頸部ジストニアに関する頸部ジストニア質問表(CCDQ24)(Mueller J、Wissel J、Kemmler G、Bodner T、Poewe W、頸部ジストニア患者の生活の質: CCDQ-24の開発、Mov. Disord. 2000; 15(増刊号3): 761)、及び痙攣性に関するスウェーデン略式36の健康調査質問表(SF-36)によるHRQL(Welmer AK、von Arbin M、Widen Holmqvist L、Sommerfeld DK、痙攣性と脳卒中後18ヶ月の機能及び健康に関連した生活の質との関連性、Cerebrovasc. Dis. 2006; 21(4): 247-253)に利用可能である。

【0034】

患者の再注射治療又は最後の治療ごとに、実際のBSDI観察と基準BSDI値との差BSDIを計算する:

$$BSDI = BSDI_{\text{実際}} - BSDI_{\text{基準}}$$

BSDI_{基準}は、治療すべき患者の初診時から医薬を最初に注射する前のあいだに測定する。BSDI_{実際}は、医薬のそれぞれの(再)注射後、及びその3週間後にそれぞれ測定する。

【0035】

第1の治療時に記録したBSDI値に基づき、各患者は、以下の方法で3階層のうちの1つに割り当てられる:

- ・階層1(中等度の改善): $-1.00 \leq BSDI < -0.65$
- ・階層2(顕著な改善): $-1.35 \leq BSDI < -1.00$
- ・階層3(兆候及び症状の無効): $BSDI < -1.35$

患者は応答者として分類される。即ち、BSDI計算値がいずれも閾値 c を越えない場合、患者は生活の質の安定レベルを実証する。閾値 c 値は、患者が属する階層に依存する。閾値の値は以下の通りである:

- ・階層1: $c = -0.40$
- ・階層2: $c = -0.75$
- ・階層3: $c = -1.10$

応答者は基準BSDI値の低下を示し、したがって、生活の質状態の改善を示す。最小規模の改善は閾値 c によって与えられる。階層2の患者は、階層1の患者よりも初期注射に対して強い応答を示し(より小さいBSDIの差を生ずる)、階層3の患者は、階層2の患者よりも更に強く反応するため、 c 値は、階層数と共に低下する。

【 0 0 3 6 】

最後に、再注射治療日の B S D I レベルと基準 B S D I レベルとのあいだに観察される差を解析し、再注射時（治療効果の減少が予想される日）の生活の質レベルに長期にわたり何らかの改善があるかどうか調査する。

【 0 0 3 7 】

本発明内で用いられるような医薬の、先に特定した（及び請求の範囲に記載した）投与様式は、通常、患者を治療する医師の業務活動に属する。しかしながら、投与様式は、例えば、医薬の包装が、医師及び／又は患者への指示を有する特に適した説明書を含出し、及び／又は包装が、本発明による投与様式を可能にするのに特に適しているという点で医薬の製造の一部でもあり得る。

10

【 0 0 3 8 】

本発明の明細書を通して使用されるように、「治療ごとに注射される総量」という用語は、総用量を表し、1回の治療で患者に適用される神経毒素の合計を意味する。1回の治療には1回以上の注射を含めることができる。例えば、胸鎖乳突筋、頭板状筋、頭半棘筋、及び僧帽筋の治療には、1回、2回、3回、4回、又は5回の注射を含めることができ、一方、肩甲挙筋又はMm斜角筋の治療には1～3回の注射のみ含めることができる。本明細書において先に指摘したように、治療に使用する量は、当該技術分野に公知の多くのパラメータに依存する。そのようなパラメータには、例えば、神経毒成分の血清型、注射すべき標的組織、及び患者特異的な多くの要因が含まれる。1回の治療を2回以上の治療期間に分割し、その期間に上記総量の神経毒成分を投与してもよいことが本発明の教示によって想定される。これは、特に、多量の神経毒成分を投与する場合である。

20

【 0 0 3 9 】

更に、本発明の方法のこの態様に基づいて、神経毒成分の追加投与を必要とする患者をより有効に治療することが今では可能である。これは、例えば、第1の又は先の治療後、更なる筋肉が疾患の症状の一因となることがはっきりしているとき、又は筋肉がなくなっているときの場合であり得る。

【 0 0 4 0 】

本発明の他の好ましい態様では、患者は高用量の神経毒成分を必要とする患者である。本発明の他の好ましい態様では、（a）患者は重篤な運動障害又は重篤な痙性を有する患者であり、そして（b）投与される有効量は、成人では500Uの神経毒成分を越え、子供では15U/kg体重を越える。

30

【 0 0 4 1 】

本発明の態様に基づき、更に多量の神経毒成分で患者を治療することが今では可能である。成人患者では、そのような量は、例えば500Uの神経毒成分を越えてもよい。

本発明を通して使用されるように、500Uを超える量は、例えば500Uより多い量、及び550U以下、600U以下、700U以下、800U以下、900U以下、1000U以下、1100U以下、1200U以下、1300U以下、1400U以下、1500U以下、1600U以下、1700U以下、1800U以下、1900U以下、又は2000U以下の量である。投与される用量は500～900Uの範囲であることが好ましく、より好ましくはおよそ850Uである。子供では、「高量」とは、15U/kgを越える量、及び16U/kg以下、17U/kg以下、18U/kg以下、19U/kg以下、20U/kg以下を意味する。

40

【 0 0 4 2 】

本発明のより好ましい態様では、成人では500Uを越える量、子供では15U/kg体重を超える量が総量であり、前記量は、（a）この量の第1画分を第1の治療期間に注射し、そして（b）残りの画分を、第1の治療期間の少なくとも1日後に予定される1回以上のその後の治療期間に注射することによって投与される。総有効量の神経毒成分は、同日に投与しても異なる日、即ち異なる治療期間に投与してもよい。好ましくは、高量の神経毒成分を投与すべき場合、投与すべき総量を分割し、2回以上の治療期間に投与することができる。このように、1回の治療期間に投与する場合に別の方法では適合しないよ

50

うな多量を顕著な副作用を観察することなく患者へ投与することができる。

【0043】

本発明の他の好ましい態様では、患者は、ボツリヌス毒素で治療されているが治療効果の減少に不満をもち、そして治療後3ヶ月が終了する前に治療を必要とするヒトである。

治療効果のそのような減少は、患者が自分の障害の重篤度を毎日記録する治療日程表でモニターすることができる（そのような治療日程表は例えばメルツ製薬より配布されている）。

【0044】

本発明の更に他の好ましい態様では、活動亢進性の腺は自律外分泌腺であり、組成物は、腺又はその近傍に注射される。

好ましい態様では、自律外分泌腺は、(a)汗腺、涙腺、唾液腺、及び粘液腺から成る群より選択されるか；又は(b)フレイ症候群、ワニの涙症候群、脇の多汗症、手のひらの多汗症、足底多汗症、頭頸部の多汗症、身体が多汗症、鼻漏、又は脳卒中、パーキンソン病、若しくは筋萎縮性側索硬化症を有する患者における関連唾液過多から成る群より選択される疾患又は病状に関連する活動亢進性の腺である。しかしながら、神経毒成分療法の標的組織は、あらゆる活動亢進性外分泌腺をカバーすることに注目すべきである。したがって、本発明は、本明細書に援用される Sobotta, Johannes (Atlas der Anatomie des Menschen, 22. Auflage, Band 1 und 2, Urban & Fischer, 2005) に記載のあらゆる腺に關与する治療に適用できることが想定される。

【0045】

また、本発明は、患者の筋肉の病理学的活性を原因とするか又はそれに関連した疾患又は病状を治療するための方法に関するものであり、前記方法は、有効量のボツリヌス菌毒素複合体の神経毒成分を含み且つ前記ボツリヌス菌毒素複合体の他のタンパク質成分が全く無い組成物を投与することを含み、ここで、(a)患者は重篤な運動障害又は重篤な痙性を有するヒトであり；(b)組成物は注射で投与され；そして(c)投与される有効量は、成人では500Uの神経毒成分を越え、子供では15U/kg体重を越える。

【0046】

本発明の好ましい態様では、成人では500Uを越える量、子供では15U/kg体重を超える量が総量であり、前記量は、(a)この量の第1画分を第1の治療期間に注射し、そして(b)残りの画分を、第1の治療期間の少なくとも1日後に予定される1回以上のその後の治療期間に注射する、ことによって投与される。

【0047】

本発明の他の好ましい態様では、組成物は、第1の治療及び第2の治療を構成する3ヶ月未満の間隔で投与され、第2の治療で投与される量は、第1の治療で投与される量よりも低量、高量、又は同量であり得る。

【0048】

本発明の更に他の好ましい態様では、前記疾患又は病状は筋ジストニアであるか又はそれを包含する。「ジストニア若しくは筋ジストニアであるか又はそれを包含する疾患又は病状」という用語は、ジストニア筋肉を含めた病状を表す。病状は、全身性ジストニア、分節性ジストニア、局所性ジストニア、多巣性ジストニア、及び片側性ジストニアから成る群より選択されることが好ましい。局所性ジストニアは、頭蓋ジストニア、頸部ジストニア、四肢ジストニア、体幹のジストニア、及び痙攣性発声障害から成る群より選択されることが好ましい。頸部ジストニアは、痙攣性斜頸とも称するが、頸部及び肩の筋肉における不随意で不適切な筋肉の活動亢進を特徴とし、異常な頭の動きや位置、攣縮又は震えをもたらす(Fahn S. 一次性ジストニアの評価。: Munsat TL 編『神経学的欠損の定量』ボストン: Butterworths; 1989. p. 241 - 270 (ID 1760137))。頸部及び肩の罹患筋肉への神経毒成分の注射は多くの患者において症状の有意な緩和をもたらす。

【0049】

本発明のより好ましい態様では、ジストニアは、(a)(1)眼瞼痙攣、開口型又は閉口型の口下顎ジストニア、歯ぎしり、メージュ症候群、舌ジストニア、開眼失行を含めた頭蓋ジストニア、(2)前屈、後屈、側屈、斜頸を含めた頸部ジストニア、(3)咽頭ジストニア、(4)内転筋型又は外転筋型の痙攣性発声障害、痙攣性の呼吸困難を含めた喉頭ジストニア、(5)書痙、音楽家痙攣、若しくはゴルファー痙攣を含めた動作特異的ジストニアなどの上肢ジストニア、大腿部の内転、大腿部の外転、膝の屈曲、膝の伸展、足首の屈曲、足首の伸展、若しくは内反尖足変形を含めた下肢ジストニア、母指の過伸展、足指の屈曲、若しくは足指の伸展を含めた足のジストニアを含めた四肢ジストニア、ピサ症候群若しくはベリーダンサーのジストニアなどの軸性ジストニア、分節性ジストニア、片側性ジストニア、又は全身性ジストニア、(6)Lubagにおけるジストニア、(7)

10

【0050】

以下の表は、臨床パターン及び潜在的に関与する筋肉の非限定的リストを提供するものであり、それらの筋肉は本発明の教示によれば好ましい標的筋肉である。

20

【0051】

【表1】

臨床パターン	潜在的標的筋肉
斜頸	頭板状筋、胸鎖乳突筋、僧帽筋
側屈	胸鎖乳突筋、頭板状筋、斜角筋複合体、肩甲挙筋
後屈	頭板状筋、僧帽筋-頸部
前屈	胸鎖乳突筋、斜角筋複合体、オトガイ下複合体、舌骨上筋及び舌骨下筋

30

【0052】

「痙攣性発声障害」は、喉頭の1種以上の筋肉の不随意運動を原因とする発声障害である。痙攣性発声障害を患う患者は、話すことが困難である。痙攣性発声障害は、変声を引き起こし、又は堅い、張りつめた、のどの詰まったような、若しくは努力を要する質の声を引き起こす。本明細書に開示するように、神経毒成分を喉頭の患部筋肉に注射することにより、通常声が改善する。

【0053】

眼瞼痙攣は、眼輪筋の自発的な両側性の間欠性又は持続性の不随意収縮を特徴とする進行性の疾患である(Grandas F、Elston J、Quinn N、Marsden CD、眼瞼痙攣：264人の患者の概説。J Neurol Neurosurg Psychiatry 1988；51(6)：767-772(ID 1759120)；Jankovic J、Orman J、眼瞼痙攣：250人の患者の人口統計学的な臨床調査。Ann Ophthalmol 1984；16(4)：371-376(ID 1761786)；Mauriello JA、Leone T、Dhillon S、Pakeman B、Mostafavi R、Yepez MC、片側顔面痙攣を有する119人の患者の11年にわたる治療選択。Clin Neurol Neurosurg 1996；98(3)：213-216(ID 1777068))。本発明の方法に基づいて眼輪筋に局注すると、ボツリヌス毒素は非常に有効であり、眼瞼

40

50

痙攣の対処療法に良好な耐容性を示す。

【0054】

他の好ましい態様では、A型ボツリヌス毒素による前処置を受け、短期間の効能を示す良性特発性眼瞼痙攣を有する患者を、複合体形成タンパク質の無いボツリヌス神経毒素を用いて、短縮された注射間隔で、即ち3ヶ月未満の間隔でボツリヌス神経毒素を投与することにより治療する。複合体形成タンパク質の無いボツリヌス神経毒素は、高純度A型ボツリヌス神経毒素であることが好ましい。ボツリヌス神経毒素の新たな注射は、患者が治療効果の減少を報告するときに指示する。この治療計画によれば、患者は、先に考察したように安定な生活の質を達成することができ、これは、先に考察したようにして決定することが好ましい。

10

【0055】

本発明のより好ましい態様では、筋肉は、同側板状筋、対側胸鎖乳突筋、同側胸鎖乳突筋、頭板状筋、斜角筋複合体、肩甲挙筋、後椎骨 (postvertebralis)、同側僧帽筋、肩甲挙筋、両側頭板状筋、上部僧帽筋、後椎骨深部 (deep postvertebralis)、両側胸鎖乳突筋、斜角筋複合体、オトガイ下複合体、腕橈骨筋、上腕二頭筋、方形回内筋、円回内筋、橈側手根屈筋、尺側手根屈筋、長母指屈筋、母指内転筋、短母指屈筋/対立筋、浅指屈筋、深指屈筋から成る群より選択される。

【0056】

本発明の好ましい態様では、疾患又は病状は、筋肉の痙性であるか又はそれを包含する。

20

本発明のより好ましい態様では、痙性は、(a)脳卒中後の痙性、脳性麻痺による痙性であるか若しくはそれに関連するものであり；又は(b)(1)(a)多発性硬化症、横断性脊髄炎、デビック症候群に関するものを含めた自己免疫過程、(b)ウイルス感染、(c)細菌感染、(d)寄生虫感染、若しくは(e)真菌感染、に関連した脳炎及び脊髄炎における痙攣状態、(2)遺伝性痙性対麻痺、(3)大脳半球梗塞、脳幹梗塞から生ずる脳卒中後症候群、若しくは脊髄梗塞、(4)例えば大脳半球損傷、脳幹損傷、脊髄損傷を含めた中枢神経系外傷、(5)大脳内出血、くも膜下出血、硬膜下出血、若しくは髄腔内出血などの中枢神経系の出血、若しくは(6)新生物、例えば大脳半球腫瘍、脳幹腫瘍、若しくは脊髄腫瘍であるか若しくはそれに関連したものである。他の治療は、膀胱、膀胱痙攣、失禁、括約筋の痙攣、脳性麻痺又は前立腺肥大を原因とする痙性の治療であり得る。

30

【0057】

「脳卒中後の痙性」という用語は、脳卒中事象後に発生する痙性に関する。脳卒中は長期身体障害の主要原因であり、19%(2)~38%の患者に痙性を生ずる(Watkins CL、Leathley MJ、Gregson JM、Moore AP、Smith TL、Sharma AK、脳卒中後痙性の罹患率。Clin Rehabil 2002;16(5):515-522(ID 1915001))。痙性は、腱反射亢進を伴った緊張性伸張反射(筋緊張)の速度依存性の増大を特徴とする運動障害として定義され、上位運動ニューロン症候群の1つの構成要素として、伸張反射の過度の興奮から生ずる(4)。体重負荷を可能にし得る腰や膝の伸筋痙性の場合のように、ある患者では痙性は有益であり得、患部四肢が添え木のように作用する(5)。しかしながら、大多数の患者では、痙性は、着衣や握りしめた拳の手のひらの洗浄のような日常生活の活動困難を引き起こす(6)。本発明の教示に従い、対応する筋肉群の痙性に関連した変形の一般的臨床パターンを神経毒成分で治療する。

40

【0058】

「膀胱(urinary bladder)」という用語は、必ずではないが多くは、失禁や排尿悪化をもたらす脊髄損傷又は多発性硬化症又は外傷から生ずる膀胱障害に関するものである。神経毒素投与の標的筋肉は、他に記載されているように横紋筋性尿道括約筋であることが好ましい(Schurch B、神経泌尿器学におけるボツリヌス毒素の役割。Drugs Today 2004;40(3):205-212(ID 3097145);S

50

church B、De Seze M、Denys P、Chartier-Kastler E、Haab F、Everaert Kら、A型ボツリヌス毒素は神経性尿失禁の安全で有効な治療である：6ヶ月間の単回治療の無作為化プラセボ対照試験の結果。J Urol 2005；174(1)：196-200(ID 3528462))。【0059】

「失禁」という用語は尿失禁を意味し、膀胱からの尿の流れを制御できない。失禁には様々な種類及び程度があり、それらは本発明の教示の範囲内である：溢流性尿失禁は、排尿後の膀胱に残尿がある病状である；その結果、膀胱はほとんど常に一杯のままであり、膀胱から不随意の尿漏を生ずる；ストレス性尿失禁は、咳き込んだときや重い物を持つために力んだときのように膀胱への圧力が増加したときの不随意排尿である；完全失禁は、膀胱頸部及び尿道の括約筋に対する自発運動の制御不能であり、保持能を完全に失う。尿失禁治療では、本明細書に記載の組成物を、例えば三角部を除いた排尿筋へ膀胱鏡的に注射することができる(Schurich B、神経泌尿器学におけるボツリヌス毒素の役割。Drugs Today 2004；40(3)：205-212(ID 3097145)；Schurich B、De Seze M、Denys P、Chartier-Kastler E、Haab F、Everaert Kら、A型ボツリヌス毒素は神経性尿失禁の安全で有効な治療である：6ヶ月間の単回治療の無作為化プラセボ対照試験の結果。J Urol 2005；174(1)：196-200(ID 3528462))。

【0060】

「前立腺肥大」という用語は、前立腺の正常成分の大きさや数が増大する前立腺の拡大を表す。それらの単なるかさが前立腺の中央を通る尿道を圧迫し、膀胱から尿道を通して外部へという尿の流れを妨げ得る。これは、尿の貯留及び頻尿の生理的欲求をもたらし得る。前立腺肥大が重篤である場合、完全閉塞が起こり得る。本明細書に記載の組成物を前立腺に注射後、症状、前立腺の血清マーカー、前立腺体積、排尿後の残尿量、及びピーク尿流速の有意な減少が観察される。同様の結果が他に記載されている(Maria G、Brisinda G、Civello IM、Bentivoglio AR、Sganga G、Albanese A、良性前立腺肥大による排尿障害のボツリヌス毒素による緩和：無作為化プラセボ対照試験の結果。Urology 2003；62(2)：259-265(ID 2562820))。

【0061】

「脳性麻痺」は、不全麻痺を引き起こす広範な錐体路機能障害、ジストニア、硬直、痙性、及び痙攣を引き起こす錐体外路機能障害、失行症の構成要素及び協調不全について記載する。脳性麻痺(Koman LA、Mooney JF、Smith BP、Goodman A、Mullaney T、ボツリヌスA毒素による脳性麻痺の痙性管理：予備的無作為化二重盲検試験の報告。J Pediatr Orthop 1994；14(3)：299-303(ID 1767458)；Pidcock FS、脳性麻痺治療における治療用ボツリヌス毒素の新たな役割。J Pediatr 2004；145(2増刊号)：S33-S35(ID 2994781))は、脳出血、窒息、未熟児出産、及び他の周産期合併症後に発症し得る。それは、非協調運動、不全麻痺、及び様々な形態の筋肉活動亢進を引き起こす生涯にわたる病状である。脳性麻痺患者は、本明細書に開示の方法にしたがって治療する場合、活動亢進性筋肉の機能改善を体験する。

【0062】

本発明のより好ましい態様では、痙攣筋肉は平滑筋又は横紋筋である。筋活動亢進性の障害の治療における神経毒成分の標的組織は、原則として、Sobotta, Johannes: Atlas der Anatomie des Menschen. 22. Auflage. Band 1 und 2. Urban & Fischer、2005に記載のようなヒトの身体の全ての横紋筋及び平滑筋であり得る。この参考文献に記載の筋肉は、本明細書に援用される。本発明の方法は、これらの筋肉のいずれかを標的とすることができる。

【 0 0 6 3 】

また、本発明は、顔のしわの線若しくは皮膚のしわを軽減させる方法、又は顔面非対称を取り除く方法に関するものであり、前記方法は、有効量のボツリヌス菌毒素複合体の神経毒成分を含み且つ前記ボツリヌス菌毒素複合体の他のタンパク質成分が全く無い組成物を個体へ投与することを含み、ここで、(a) 個体はヒトであり；(b) 組成物は、皮下又は筋肉内注射によって1種以上の顔面筋又は皮膚のしわ若しくは非対称の形成に關与する筋肉に又はその近傍に投与され；そして(c) 組成物は、第1の治療及び第2の治療を構成する3ヶ月未満の間隔で投与され、第2の治療で投与される量は、第1の治療で投与される量よりも低量、高量、又は同量であり得る。

【 0 0 6 4 】

本発明のこの方法は、顔面筋又は患者の皮膚のしわ又は顔面非対称の処置を可能にする。典型的には、より少量の神経毒成分をそのような美顔法に用いる。そのような量は、1～5、5～10、10～20、又は20～50単位の範囲であることが好ましい。そのような総量は処置と同日に投与しても後日に投与してもよい。例えば、第1の治療期間に用量の第1画分を投与することができる。この第1画分は、次善の画分、即ちしわや皮膚の線を完全に除去しない画分であることが好ましい。1回以上の治療期間に、総用量の残りの画分を投与することができる。

【 0 0 6 5 】

本発明の好ましい態様では、組成物は、眉間のしわ、水平な額の線、目尻のしわ、口周囲のしわ、顎のceases、波だった顎、及び/又は広頸筋のバンドへ注射される。

本発明の他の好ましい態様では、筋肉は、以下の筋肉：頭板状筋、胸鎖乳突筋、斜角筋複合体、肩甲挙筋、半棘筋、頭最長筋、頸最長筋、多裂筋、下頭斜筋、上頭斜筋、大後頭直筋、小後頭直筋、僧帽筋/水平部、僧帽筋/頸部、舌骨上筋、舌骨下筋、二腹筋、内側翼突筋、外側翼突筋、咬筋、側頭筋、眼輪筋、鼻筋、鼻根筋、皺眉筋、口角下制筋、下唇下制筋、前頭筋、上唇挙筋、上唇鼻翼挙筋、口輪筋、笑筋、小頬骨筋、大頬骨筋、三角筋、上腕三頭筋、腕橈骨筋、上腕二頭筋、方形回内筋、円回内筋、橈側手根屈筋、尺側手根屈筋、長母指屈筋、対立筋、骨間筋、虫様筋、母指内転筋、短母指屈筋、浅指屈筋、深指屈筋、内転筋群、大腿四頭筋、ハムストリング筋、下腿三頭筋、後脛骨筋、長母趾屈筋、前脛骨筋、長母趾伸筋、長趾伸筋、短母趾屈筋、短趾屈筋、傍脊椎筋から成る群より選択される。

【 0 0 6 6 】

本明細書において先に言及した神経毒成分は、組成物又は医薬組成物の一部であり得る。この医薬組成物は、医薬的に活性な追加成分を含有することができる。「医薬組成物」は、医薬又は診断薬として用いるための活性成分を含有するか又はそれで構成される剤形である。そのような医薬組成物は、ヒト患者への診断用又は治療用投与（即ち筋肉内注射又は皮下注射による）に好適であり得る。医薬組成物は凍結乾燥若しくは真空乾燥され、再構成され、又は溶液であることができる。再構成時、再構成溶液は、滅菌生理食塩水（0.9% NaCl）を添加することによって調製されることが好ましい。

【 0 0 6 7 】

そのような組成物は、pH緩衝液、賦形剤、希釈剤、抗凍結剤、及び/又は安定剤などの追加成分を含むことができる。

「pH緩衝液」は、組成物や溶液などのpH値を一定値又は一定pH範囲に調整可能な化学物質を表す。

【 0 0 6 8 】

「安定化すること」、「安定化する」、又は「安定化」とは、再構成されたか又は水溶液の医薬組成物中の活性成分、即ち神経毒成分が、生物学的に活性な神経毒成分が医薬組成物中に導入される前に有していた毒性の約20%以上、30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、90%以上、及び約100%以下を有することを意味する。製剤の活性は、本明細書のいずれかに記載のようにして測定することができる。

【 0 0 6 9 】

「抗凍結剤」は、生物学的に活性な神経毒成分が医薬組成物中で凍結乾燥される前に有していた毒性の約 20% 以上、30% 以上、40% 以上、50% 以上、60% 以上、70% 以上、80% 以上、90% 以上、及び約 100% 以下を有する再構成されたか又は水溶液の医薬組成物中の活性成分、即ち神経毒成分をもたらず賦形剤を表す。製剤の活性は、本明細書のいずれかに記載のようにして測定することができる。

【 0 0 7 0 】

そのような安定剤の例はゼラチン又はアルブミンであり、ヒト由来又は組換え供給源から得たものであることが好ましい。安定剤は、化学的手段によって又は組換え遺伝学によって修飾することができる。本発明の好ましい態様では、アルコール、例えばイノシトール、マンニトールを抗凍結剤として使用し、凍結乾燥中にタンパク質を安定化することが想定される。

10

【 0 0 7 1 】

本発明のより好ましい態様では、安定剤は、ヒアルロン酸又はポリビニルピロリドン又はポリエチレングリコール又はそれら 2 種以上の混合物を含む非タンパク質性安定剤であり得る。そのような組成物は、顕著な安定性を有するより安全な組成物であると考えられる。

【 0 0 7 2 】

本発明のより好ましい態様では、医薬組成物は、神経毒成分と、ヒアルロン酸又はポリビニルピロリドン又はポリエチレングリコールとを含むことができ、そのような組成物は場合により好適な pH 緩衝液によって、特に酢酸ナトリウム緩衝液及び / 又は抗凍結剤ポリアルコールによって pH が安定化される。

20

【 0 0 7 3 】

医薬組成物が神経毒成分の他に、アルブミン、ヒアルロン酸、ポリビニルピロリドン、及び / 又はポリエチレングリコール安定剤などの追加成分を含むか否かを問わず、医薬組成物は、約 +8 ~ 約 -20 の温度で保存する場合、その効力を 6 ヶ月間、1 年間、2 年間、3 年間、及び / 又は 4 年間実質的に変化させないまま保持する。更に、表示した医薬組成物の再構成時の効力又は回収率は約 20% ~ 約 100% であり得る。

【 0 0 7 4 】

本発明の範囲内の医薬組成物は、神経毒成分と 1 種以上の追加成分とを含めることができる。好ましくは、本明細書に開示の医薬組成物の再構成時又は注射時の pH は約 4 ~ 7.5 であり、より好ましくは約 pH 6.8 ~ pH 7.6 であり、最も好ましくは pH 7.4 ~ pH 7.6 である。一般に、本発明の医薬組成物は、神経毒成分を約 6 pg ~ 30 ng の量で含む。好ましくは、神経毒成分の生物活性は、マウス LD₅₀ アッセイで測定して 50 ~ 250 LD₅₀ 単位 / ng 神経毒成分である。より好ましくは、神経毒成分の生物活性は約 150 LD₅₀ である。

30

【 0 0 7 5 】

本発明の医薬組成物は、神経毒素及びヒアルロン酸を含むことができる。ヒアルロン酸は神経毒素を安定化する。本明細書に開示の医薬組成物の再構成時又は注射時の pH は約 4 ~ 7.5 であることができる。本発明の医薬組成物中のヒアルロン酸は、200 U / ml ボツリヌス毒素溶液中で、本発明の神経毒成分と、0.1 ~ 10 mg、特に 1 mg ヒアルロン酸 / ml の量で組み合わせることが好ましい。対象溶液は、1 ~ 100 mM、特に 10 mM の酢酸ナトリウム緩衝液も含有することがより好ましい。

40

【 0 0 7 6 】

他の好ましい態様では、組成物はポリアルコールを抗凍結剤として含有することができる。使用し得るポリアルコールの例には、例えばイノシトール、マンニトール、及び他の非還元アルコールが含まれる。

【 0 0 7 7 】

特に、タンパク質性安定剤を含まない本発明の医薬組成物のそれらの態様は、時に抗凍結剤として使用されるトレハロース又はマルトトリオース又は関連する糖質又はポリヒド

50

ロキシ化合物を含有しないことが好ましい。

【0078】

本発明の医薬組成物中のポリビニルピロリドン、200 U/ml ボツリヌス毒素溶液中で、本発明の神経毒成分と、10 ~ 500 mg、特に100 mg ポリビニルピロリドン/ml の量で組み合わせることが好ましい。対象溶液は、1 ~ 100 mM、特に10 mM の酢酸ナトリウム緩衝液も含有することがより好ましい。

【0079】

本発明の医薬組成物中のポリエチレングリコールは、200 U/ml ボツリヌス毒素溶液中で、本発明の神経毒成分と、10 ~ 500 mg、特に100 mg ポリエチレングリコール/ml の量で組み合わせることが好ましい。対象溶液は、1 ~ 100 mM、特に10 mM の酢酸ナトリウム緩衝液も含有することがより好ましい。

10

【0080】

このように、本発明は、より好ましい態様において、ヒアルロン酸安定剤又はポリビニルピロリドン安定剤又はポリエチレングリコール安定剤を含有する医薬組成物に処方された神経毒成分を包含する。更に、医薬組成物は、酢酸ナトリウム緩衝液系及び/又はアルコール性抗凍結剤を含有してもよい。

【0081】

以下の実施例は、説明のためのみに提供するものであり、限定することを意図するものではない。

【実施例1】

20

【0082】

頸部ジストニア治療のためのボツリヌス毒素療法。

45歳男性の頸部ジストニア患者をボツリヌス毒素療法について評価する。全ての適切な試験後、注射計画を構築し、それに応じて複合体形成タンパク質の無いボツリヌス毒素を総用量300 MUにて適用する。2週間後の再評価において、総体的な症状は改善されているが、標的筋肉を追加し、最初に注射した標的筋肉におけるボツリヌス毒素用量を増やす必要性がある。2週間後、更に患者を再評価したところ、治療結果は最適である。

【0083】

副作用は生じていない。今までのところ、その後7回の注射シリーズにおいて、治療結果は抗体誘導性の療法の失敗を示すことなく維持されている。

30

【実施例2】

【0084】

眼瞼痙攣治療のためのボツリヌス毒素療法。短期間の作用。

61歳女性の眼瞼痙攣患者を、本発明の神経毒成分を含有し、複合体形成タンパク質の無い医薬で総用量48 MUにて治療し、優れた結果を得る。神経毒成分を注射して4週間後、効果が減弱し始める。更に2週間後、治療効果はほとんど完全に終了した。初期注射シリーズから7週間後に再注射を実施する。神経毒成分を用いた療法を初期用量で繰り返し、同一の効果を得る。神経毒成分を用いた療法をその後6回の注射シリーズで継続し、優れた療法結果を得、抗体誘導性の療法の失敗は示していない。

【実施例3】

40

【0085】

全身痙攣性治療のためのボツリヌス毒素療法。高用量適用。

35歳男性の全身痙攣性を有する低酸素性脳障害患者。複合体形成タンパク質の無い本発明の神経毒成分の総用量750 MUを、250 MUの3つのアリコートにて1日間隔で投与する。適用後2週間で病状は実質的に改善している。部分的にも領域的にも全身にも副作用を検出することはできない。その後7回の注射シリーズにおいて、療法効果は副作用を発生させることなく安定である。抗体誘導性の療法の失敗は示していない。

【実施例4】

【0086】

ボツリヌス毒素の美顔用途。注射計画を構築する上での困難性及び短期間の作用。

50

筋肉のしわや前頭の水平な線を示す40歳の女性客を、複合体形成タンパク質の無い20MUのボツリヌス毒素（即ち本発明の神経毒成分）で処置した。2週間後、総体的な症状の改善が見られるが、20MUのボツリヌス毒素を更に注射することが必要である。2週間後、結果は患者にとって十分に満足のいくものである。4週間後、好ましい効果が減弱し始めるため、ボツリヌス毒素を総用量40MUにて再注射することが必要になる。今までのところ、この客はその後4回の注射シリーズをそれぞれ総用量40MUにて受けている。抗体誘導性の療法の失敗は示していない。

フロントページの続き

(74)代理人 100117019

弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(74)代理人 100141977

弁理士 中島 勝

(72)発明者 マルクス, マティアス

ドイツ国 6 8 1 9 9 マンハイム, イム・ロー 5 2

(72)発明者 グラーフェ, スザンヌ

ドイツ国 6 0 5 9 9 フランクフルト・アム・マイン, バルドゥインシュトラッセ 3 ツェー

(72)発明者 ベネッケ, ライナー

ドイツ国 1 8 1 8 4 ノイ・トゥーレンドルフ, アム・シュトルヒェンホーフ 5

(72)発明者 ドレスラー, デイルク

ドイツ国 2 0 1 4 4 ハンブルク, ブラームスアレー 2 1

合議体

審判長 田村 明照

審判官 新留 素子

審判官 大久保 元浩

(56)参考文献 国際公開第2004/016763(WO, A1)

米国特許出願公開第2004/0126397(US, A1)

特表2002-524527(JP, A)

特表2003-505343(JP, A)

特開2014-015476(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 7 / 0 2