(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7704364号
(P7704364)

(45)発行日　令和7年7月8日(2025.7.8)

(24)登録日　令和7年6月30日(2025.6.30)

(51)国際特許分類

		FI	
Ａ６１Ｋ	*31/404 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/404
Ａ６１Ｐ	*25/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/00

請求項の数　3　（全25頁）

(21)出願番号　特願2022-544314(P2022-544314)
(86)(22)出願日　令和2年12月21日(2020.12.21)
(65)公表番号　特表2023-511379(P2023-511379A)
(43)公表日　令和5年3月17日(2023.3.17)
(86)国際出願番号　PCT/IB2020/062306
(87)国際公開番号　WO2021/148868
(87)国際公開日　令和3年7月29日(2021.7.29)
審査請求日　令和5年11月24日(2023.11.24)
(31)優先権主張番号　116069
(32)優先日　令和2年1月22日(2020.1.22)
(33)優先権主張国・地域又は機関
ポルトガル(PT)

(73)特許権者　509302467
テクノファージ， インベスティガサン エ デセンボルビメント エム ビオテクノロジア，エスエー
ポルトガル国 リスボア １６４９－０２８ エディフィシオ エガス モニス アヴェニダ プロフェッソール エガス モニス

(73)特許権者　511115734
インスティテュート デ メディシナ モレキュラー ジョアオ ロボ アントゥネス
Ｉｎｓｔｉｔｕｔｏ ｄｅ Ｍｅｄｉｃｉｎａ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｊｏａｏ Ｌｏｂｏ Ａｎｔｕｎｅｓ
ポルトガル共和国１６４９－０２８リスボン、アベニーダ・プロフェソール・エ

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　脊髄損傷の治療及び移動運動機能の改善のためのエレトリプタン臭化水素酸塩

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

脊髄損傷後の移動運動機能の改善における使用のための、エレトリプタン臭化水素酸塩の医薬組成物。

【請求項２】

脊髄損傷が急性期又は亜急性期である、請求項１に記載の使用のためのエレトリプタン臭化水素酸塩の医薬組成物。

【請求項３】

エレトリプタン臭化水素酸塩が、損傷後１時間目から投与される、請求項１又は２に記載の使用のためのエレトリプタン臭化水素酸塩の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、脊髄損傷の治療及び移動運動機能（locomotive function）の改善におけるエレトリプタン臭化水素酸塩の使用に関する。

【背景技術】

【０００２】

運動、感覚及び自律神経機能不全につながる脊髄損傷（ＳＣＩ，spinal cord injury）は、世界中で数百万の人々に影響を及ぼす神経外傷を引き起こしており、臨床使用のための有効な脊髄修復戦略を編み出すことが至急となりつつある（Kjell, J. & Olson, L. Rat

models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies. Dis Model Mech 9, 1125-1137, doi:10.1242/dmm.025833 (2016))。ＳＣＩの病態生理は、損傷の一次及び二次機構に分けられる。一次損傷は、軸索、血管及び細胞膜の変質を誘導する脊髄組織の機械的破壊により発生し、即時の神経組織喪失及び脱髄につながる（Boutonnet, M., Laemmel, E., Vicaut, E., Duranteau, J. & Soubeyrand, M. Combinatorial therapy with two pro-coagulants and one osmotic agent reduces the extent of the lesion in the acute phase of spinal cord injury in the rat. Intensive Care Med Exp 5, 51, doi:10.1186/s40635-017-0164-z (2017)、Donovan, J. & Kirshblum, S. Clinical Trials in Traumatic Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 654-668, doi:10.1007/s13311-018-0632-5 (2018)、Duncan, G. J. et al. Locomotor recovery following contusive spinal cord injury does not require oligodendrocyte remyelination. Nat Commun 9, 3066, doi:10.1038/s41467-018-05473-1 (2018))。最初の外傷が起こった後、いくつかの機構、すなわち、炎症細胞の浸潤、炎症性サイトカインの放出、並びに興奮毒性及び虚血につながる興奮性神経伝達物質の不均衡な放出につながる、血液脊髄関門（ＢＳＣＢ，blood spinal cord barrier）破壊により、二次損傷が発生する（Boutonnet, M., Laemmel, E., Vicaut, E., Duranteau, J. & Soubeyrand, M. Combinatorial therapy with two pro-coagulants and one osmotic agent reduces the extent of the lesion in the acute phase of spinal cord injury in the rat. Intensive Care Med Exp 5, 51, doi:10.1186/s40635-017-0164-z (2017)、Donovan, J. & Kirshblum, S. Clinical Trials in Traumatic Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 654-668, doi:10.1007/s13311-018-0632-5 (2018)、Zhou, X., He, X. & Ren, Y. Function of microglia and macrophages in secondary damage after spinal cord injury. Neural Regen Res 9, 1787-1795, doi:10.4103/1673-5374.143423 (2014)、Yilmaz, T. & Kaptanoglu, E. Current and future medical therapeutic strategies for the functional repair of spinal cord injury. World J Orthop 6, 42-55, doi:10.5312/wjo.v6.i1.42 (2015))。したがって、二次損傷は多因子性であり、反応性グリオーシス、浮腫、グリア／軸索瘢痕、及び中心空洞化を引き起こし得る炎症の存在を特徴とする（Zhou, X., He, X. & Ren, Y. Function of microglia and macrophages in secondary damage after spinal cord injury. Neural Regen Res 9, 1787-1795, doi:10.4103/1673-5374.143423 (2014)、Yilmaz, T. & Kaptanoglu, E. Current and future medical therapeutic strategies for the functional repair of spinal cord injury. World J Orthop 6, 42-55, doi:10.5312/wjo.v6.i1.42 (2015)、Picoli, C. C. et al. Pericytes Act as Key Players in Spinal Cord Injury. Am J Pathol 189, 1327-1337, doi:10.1016/j.ajpath.2019.03.008 (2019))。

【０００３】

成熟したＳＣＩ病変は、３つの主な組織区画を呈する：非神経組織を有する病変コア／線維性瘢痕、病変コアを包囲するアストロサイト瘢痕、及び機能性であるが反応性である残された神経組織を有する包囲領域（O'Shea, T. M., Burda, J. E. & Sofroniew, M. V. Cell biology of spinal cord injury and repair. J Clin Invest 127, 3259-3270, doi:10.1172/JCI90608 (2017))。実際に、ＳＣＩ瘢痕は、修復応答（細胞損傷の伝播を防止するのに必須）及び経時的に変化し病変に対する空間的位置により規定される有害応答（再成長及び組織修復を制限する）につながる（Gaudet, A. D. & Fonken, L. K. Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 554-577, doi:10.1007/s13311-018-0630-7 (2018)、Hausmann, O. N. Post-traumatic inflammation following spinal cord injury. Spinal Cord 41, 369-378, doi:10.1038/sj.sc.3101483 (2003)、Bradbury, E. J. & Burnside, E. R. Moving beyond the glial scar for spinal cord repair. Nat Commun 10, 3879, doi:10.1038/s41467-019-11707-7 (2019)、Orr, M. B. & Gensel, J. C. Spinal Cord Injury Scarring and Inflammation: Therapies Targeting Glial and Inflamma

tory Responses. Neurotherapeutics 15, 541-553, doi:10.1007/s13311-018-0631-6 (2018))。事実、損傷後に反応性アストロサイトは、病変の拡大を制限するグリア瘢痕を形成するだけでなく、軸索再生を制限及び阻害しつつ、炎症を病変中心に限局する（Gaudet, A. D. & Fonken, L. K. Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 554-577, doi:10.1007/s13311-018-0630-7 (2018)、Cregg, J. M. et al. Functional regeneration beyond the glial scar. Exp Neurol 253, 197-207, doi:10.1016/j.expneurol.2013.12.024 (2014))。さらに、ミクログリア／マクロファージにより、表現型可塑性が可能となるだけでなく、病変損傷を悪化させる炎症促進性応答の延長及び悪化（すなわち二次損傷）を引き起こす細胞毒性因子も産生される（Gaudet, A. D. & Fonken, L. K. Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 554-577, doi:10.1007/s13311-018-0630-7 (2018)、Zhang, B. et al. Reducing age-dependent monocyte-derived macrophage activation contributes to the therapeutic efficacy of NADPH oxidase inhibition in spinal cord injury. Brain Behav Immun 76, 139-150, doi:10.1016/j.bbi.2018.11.013 (2019))。それに加えて、オリゴデンドロサイト及びオリゴデンドロサイト前駆細胞（ＯＰＣ，oligodendrocyte precursor cell）が、アポトーシス又はネクローシスにより死滅し得るだけでなく、分化及び再髄鞘化も達成し得る（Gaudet, A. D. & Fonken, L. K. Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 554-577, doi:10.1007/s13311-018-0630-7 (2018)、Keirstead, H. S. et al. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury. J Neurosci 25, 4694-4705, doi:10.1523/JNEUROSCI.0311-05.2005 (2005)、McTigue, D. M. & Tripathi, R. B. The life, death, and replacement of oligodendrocytes in the adult CNS. J Neurochem 107, 1-19, doi:10.1111/j.1471-4159.2008.05570.x (2008))。ゆえに、複数の異なる細胞型、細胞内及び細胞外微小環境の間の複雑な相互作用を考慮すると、これらの細胞型又は応答のうちの１つを完全に排除しても、ＳＣＩ修復にとって有効ではない（Gaudet, A. D. & Fonken, L. K. Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 554-577, doi:10.1007/s13311-018-0630-7 (2018)、Bellver-Landete, V. et al. Microglia are an essential component of the neuroprotective scar that forms after spinal cord injury. Nat Commun 10, 518, doi:10.1038/s41467-019-08446-0 (2019)、Anderson, M. A. et al. Astrocyte scar formation aids central nervous system axon regeneration. Nature 532, 195-200, doi:10.1038/nature17623 (2016))。ＳＣＩ瘢痕の有益な特性を維持し、その修復応答を改善しつつ負の面を標的とするため、組合せ治療の時間依存性戦略が必要とされる（Gaudet, A. D. & Fonken, L. K. Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 554-577, doi:10.1007/s13311-018-0630-7 (2018)、Bradbury, E. J. & Burnside, E. R. Moving beyond the glial scar for spinal cord repair. Nat Commun 10, 3879, doi:10.1038/s41467-019-11707-7 (2019)、Courtine, G. & Sofroniew, M. V. Spinal cord repair: advances in biology and technology. Nat Med 25, 898-908, doi:10.1038/s41591-019-0475-6 (2019))。

【０００４】

治療選択肢は、標準的ケアであれ実験的なものであれ、重症の患者に良好な神経的及び機能的回復をもたらすことにおいて限定的な成功を収めている。Ghosh and Pearse （2015）は、グルタミン、ＮＡ、ＤＡ及び５－ＨＴパスウェイが移動運動の開始及び調節に関与すること、並びに実験的研究により、中枢パターン発生器を介する動作のリズム及び協調の調節における５－ＨＴの寄与の証拠がもたらされることを示唆している。非選択的５－ＨＴ受容体アゴニストキパジンを用いての実験により、選択的５－ＨＴ２アンタゴニストＳＢ２０４７４１及びＳＢ２４２０８４存在下での移動運動様動作の誘導が示される

。Ghosh and Pearseは、脊髄損傷の治療及び移動運動機能の向上において、５－ＨＴ２アンタゴニストなしで単独で使用されるエレトリプタン、５－ＨＴ　１Ｂ／１Ｄ受容体アゴニストについては開示していない。

【０００５】

エレトリプタンは、片頭痛の治療のための、及び片頭痛再発の防止のための５－ＨＴ１Ｂ／１Ｄ受容体アゴニストとして、国際公開第９２／０６９７３号パンフレット（Pfizer社）において最初に開示されたトリプタン薬物である。国際公開第９２／０６９７３号パンフレットは、脊髄損傷及び移動運動機能の改善におけるエレトリプタンの使用については開示していない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００６】

【文献】国際公開第９２／０６９７３号パンフレット

【非特許文献】

【０００７】

【文献】Kjell, J. & Olson, L. Rat models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies. Dis Model Mech 9, 1125-1137, doi:10.1242/dmm.025833 (2016)

【文献】Boutonnet, M., Laemmel, E., Vicaut, E., Duranteau, J. & Soubeyrand, M. Combinatorial therapy with two pro-coagulants and one osmotic agent reduces the extent of the lesion in the acute phase of spinal cord injury in the rat. Intensive Care Med Exp 5, 51, doi:10.1186/s40635-017-0164-z (2017)

【文献】Donovan, J. & Kirshblum, S. Clinical Trials in Traumatic Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 654-668, doi:10.1007/s13311-018-0632-5 (2018)

【文献】Duncan, G. J. et al. Locomotor recovery following contusive spinal cord injury does not require oligodendrocyte remyelination. Nat Commun 9, 3066, doi:10.1038/s41467-018-05473-1 (2018)

【文献】Zhou, X., He, X. & Ren, Y. Function of microglia and macrophages in secondary damage after spinal cord injury. Neural Regen Res 9, 1787-1795, doi:10.4103/1673-5374.143423 (2014)

【文献】Yilmaz, T. & Kaptanoglu, E. Current and future medical therapeutic strategies for the functional repair of spinal cord injury. World J Orthop 6, 42-55, doi:10.5312/wjo.v6.i1.42 (2015)

【文献】Picoli, C. C. et al. Pericytes Act as Key Players in Spinal Cord Injury. Am J Pathol 189, 1327-1337, doi:10.1016/j.ajpath.2019.03.008 (2019)

【文献】O'Shea, T. M., Burda, J. E. & Sofroniew, M. V. Cell biology of spinal cord injury and repair. J Clin Invest 127, 3259-3270, doi:10.1172/JCI90608 (2017)

【文献】Gaudet, A. D. & Fonken, L. K. Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 554-577, doi:10.1007/s13311-018-0630-7 (2018)

【文献】Hausmann, O. N. Post-traumatic inflammation following spinal cord injury. Spinal Cord 41, 369-378, doi:10.1038/sj.sc.3101483 (2003)

【文献】Bradbury, E. J. & Burnside, E. R. Moving beyond the glial scar for spinal cord repair. Nat Commun 10, 3879, doi:10.1038/s41467-019-11707-7 (2019)

【文献】Orr, M. B. & Gensel, J. C. Spinal Cord Injury Scarring and Inflammation: Therapies Targeting Glial and Inflammatory Responses. Neurotherapeutics 15, 541-553, doi:10.1007/s13311-018-0631-6 (2018)

【文献】Cregg, J. M. et al. Functional regeneration beyond the glial scar. Exp Neurol 253, 197-207, doi:10.1016/j.expneurol.2013.12.024 (2014)

【文献】Zhang, B. et al. Reducing age-dependent monocyte-derived macrophage activation contributes to the therapeutic efficacy of NADPH oxidase inhibition in spinal cord injury. Brain Behav Immun 76, 139-150, doi:10.1016/j.bbi.2018.11.013 (2019)
【文献】Keirstead, H. S. et al. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury. J Neurosci 25, 4694-4705, doi:10.1523/JNEUROSCI.0311-05.2005 (2005)
【文献】McTigue, D. M. & Tripathi, R. B. The life, death, and replacement of oligodendrocytes in the adult CNS. J Neurochem 107, 1-19, doi:10.1111/j.1471-4159.2008.05570.x (2008)
【文献】Bellver-Landete, V. et al. Microglia are an essential component of the neuroprotective scar that forms after spinal cord injury. Nat Commun 10, 518, doi:10.1038/s41467-019-08446-0 (2019)
【文献】Anderson, M. A. et al. Astrocyte scar formation aids central nervous system axon regeneration. Nature 532, 195-200, doi:10.1038/nature17623 (2016)
【文献】Courtine, G. & Sofroniew, M. V. Spinal cord repair: advances in biology and technology. Nat Med 25, 898-908, doi:10.1038/s41591-019-0475-6 (2019)
【文献】Ghosh and Pearse (2015)

【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００８】
一態様において、本開示は、脊髄損傷の治療及び移動運動機能の改善におけるエレトリプタン臭化水素酸塩の使用に関する。
【０００９】
実施形態１．本特許出願は、脊髄損傷の治療における使用のための、エレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物について開示する。
【００１０】
実施形態２．脊髄損傷後の移動運動機能の改善における使用のための、エレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物。
【００１１】
実施形態３．脊髄損傷が急性又は亜急性期である、実施形態１による使用のためのエレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物。
【００１２】
実施形態４．脊髄損傷に関連する炎症の調節における使用のための、エレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物。
【００１３】
実施形態５．脊髄組織における血管漏出の保護における使用のための、エレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物。
【００１７】
実施形態６．それを必要とする対象における脊髄損傷を治療する方法であって、前記対象に、治療有効量のエレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物を投与するステップを含む、方法。
【００１９】
実施形態７．対象が温血脊椎動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトである、実施形態６による方法。
【図面の簡単な説明】
【００２０】

本出願のより容易な理解のため、実施の好ましい形態を表すが、本明細書で開示される技術を制限することは意図されない図が添付書類に付される。
【図１】エレトリプタンＨｂｒによる移動運動機能障害の救済を示す図である。媒体処理済みの負傷させた幼生と比較した、ＦＤＡ承認済みの化学化合物ライブラリーから選ばれたエレトリプタンＨｂｒで処理された横断ゼブラフィッシュ幼生における、移動した総距離（Ａ）及び回転角度（Ｂ）から描写される移動運動能力（ｎ＝幼生１６匹）。平均値±ｓ．ｅ．ｍ．が提示される。＊ｐ０．０５未満、＊＊＊ｐ０．００１未満、Welch補正を伴うStudent　ｔ検定。
【図２】ＳＣＩげっ歯類モデルにおける１５日間のエレトリプタンＨｂｒ処理の有効性についての実験デザインを図示し、Ｔ９挫傷型損傷の際の、１５日間の処理によるＳＣＩマウスの移動運動回復を示す図である。
【図３】図２の実験デザインに従っての、以下のものを示す図である。（Ｂ）１～４２ｄｐｉの、媒体処理マウスと比較されたエレトリプタンＨｂｒ処理マウスのＢＭＳスコア。ＳＣＩ＋媒体ではｎ＝９、ＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒではｎ＝１４（２１ｄｐｉ後のＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒではｎ＝１３）（Ｂ’）１～４２ｄｐｉの、媒体処理マウスと比較されたエレトリプタンＨｂｒ処理マウスのＢＭＳサブスコア。平均値±ｓ．ｅ．ｍ．が提示される。＊ｐ０．０５未満、二元配置反復測定ＡＮＯＶＡとそれに続くBonferroni事後補正。（Ｃ）ＢＭＳ試験中に観察された、けいれん、転倒及び側弯症イベントなどの移動運動能力機能障害を有する、さらに軽度の体幹安定性を取り戻す能力を有する、媒体処理マウス及びエレトリプタンＨｂｒ処理マウスでの動物のパーセント（％）（４２ｄｐｉ）。ＳＣＩ＋媒体ではｎ＝９、ＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒではｎ＝１３（Ｄ）スコアが手動での膀胱圧搾中に収集された尿の量に帰する、膀胱機能の判定。平均値±ｓ．ｅ．ｍ．が提示される。＊ｐ０．０５未満、二元配置反復測定ＡＮＯＶＡとそれに続くBonferroni事後補正。ＳＣＩ＋媒体ではｎ＝９、ＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒではｎ＝１４（２１ｄｐｉ後のＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒではｎ＝１３）（Ｅ）アセトン蒸発冷却により引き起こされた侵害防御応答の累積反応時間（Ｅ’）冷感過敏症のエピソード数。（Ｅ～Ｅ’）１４ｄｐｉで、ＳＣＩ＋媒体ではｎ＝８、ＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒではｎ＝１１、４２ｄｐｉで、ＳＣＩ＋媒体ではｎ＝９、ＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒではｎ＝１３。
【図４】実験群間の衝撃力及び変位を図示するグラフである。（Ａ）ＳＣＩ中に脊髄に与えられた衝撃力（ｋｄｙｎｅ）（ｎｓ－有意でない、Welch補正を伴うｔ　student検定）。（Ｂ）ＳＣＩ中に脊髄と接触した後のインパクターチップの変位（μｍ）（ｎｓ－有意でない、Welch補正を伴うｔ　student検定）。媒体処理マウスではｎ＝９、エレトリプタンＨｂｒ処理マウスではｎ＝１４。
【図５】損傷を受けて４２日目の、媒体処理マウス及びエレトリプタンＨｂｒ処理マウスにおける白質残存を示す図である。（Ａ）FluoroMyelinグリーンで染色された、エレトリプタンＨｂｒ処理マウスと比較した媒体処理マウスの代表的な脊髄切片。（Ｂ）媒体処理マウス及びエレトリプタンＨｂｒ処理マウスにおける、中心から１１００μｍ吻側及び尾側の総断面積に対する白質面積。二元配置ＡＮＯＶＡとそれに続くBonferroni事後補正。ＳＣＩ＋媒体ではｎ＝８、ＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒではｎ＝１２。
【図６】４２ｄｐｉの線維性瘢痕の判定を示す図である。（Ａ～Ｃ’’）それぞれ、シャム、媒体処理マウス及びエレトリプタンＨｂｒ処理マウスにおける、病変中心並びに中心に対して１０００μｍ吻側及び尾側の、ＧＦＡＰ$^{+}$アストロサイト（緑）（Ａ’～Ｃ’）、ＰＤＧＦＲβ^{+}周皮細胞／線維芽細胞（赤紫）（Ａ’’～Ｃ’’）及び混合チャネル（Ａ～Ｃ）を示す、脊髄切片の免疫蛍光法での代表的な画像。白の矢印は、中心に対して１０００μｍ吻側及び尾側の、脊髄背側におけるＰＤＧＦＲβ発現を示す。（Ｄ～Ｆ）媒体処理マウス（ｎ＝８）及びエレトリプタンＨｂｒ処理マウス（ｎ＝１２）における、総断面積に対する線維性病変コア面積のパーセント（Ｄ）、線維性病変長さ（Ｅ）及びＰＤＧＦＲβ発現の増加が視認可能な病変組織の範囲（長さでの）（Ｆ）についてのグラフ表示。＊ｐ０．０５未満、Welch補正を伴うStudent　ｔ検定。スケールバー：１５０μｍ。

【図７】中心から１０００μｍの媒体－脊髄切片における、脈管構造を伴うＰＤＧＦＲβ＋細胞を示す図である。（Ａ）４２ｄｐｉの、ＰＤＧＦＲβ＋周皮細胞／線維芽細胞（緑）、ＣＤ３１＋内皮細胞（赤紫）及びＤＡＰＩによる混合チャネルを示す、脊髄切片の免疫蛍光法での代表的な画像。（Ｂ’～Ｂ’’’）ＲＯＩ領域Ｂの脊髄切片画像の拡大。（Ｃ’～Ｃ’’’）ＲＯＩ領域Ｃの脊髄切片画像の拡大。白の矢印は、ＣＤ３細胞を伴うＰＤＧＦＲβ＋の存在を示す。スケールバー：１５０μｍ（Ａ）及び１００μｍ（Ｂ’～Ｃ’’’）。
【図８】４２ｄｐｉの炎症応答を示す図である。（Ａ～Ｃ’’）それぞれ、シャム、媒体処理マウス及びエレトリプタンＨｂｒ処理マウスにおける、病変中心、中心に対して４００及び１１００μｍ吻側及び尾側での、Ｆ４／８０＋マクロファージ（緑）（Ａ’～Ｃ’）、Ｐ２Ｙ１２＋ミクログリア（赤紫）（Ａ’’～Ｃ’’）及び混合チャネル（Ａ～Ｃ）を示す、脊髄切片の免疫蛍光法での代表的な画像。中心に対して１１００μｍ吻側及び尾側の脊髄背側において、白の矢印はＦ４／８０発現を示し、白の半フレームはＰ２Ｙ１２発現を示す。（Ｄ）Ｐ２Ｙ１２＋Ｆ４／８０＋活性化ミクログリア細胞の計数。ＳＣＩ＋媒体ではｎ＝８、ＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒではｎ＝１２。統計分析は、一元配置ＡＮＯＶＡとそれに続くBonferroni事後検定を使用して実施した。スケールバー：１５０μｍ。
【発明を実施するための形態】
【００２１】
本発明は、脊髄損傷の治療及び移動運動機能の改善におけるエレトリプタン臭化水素酸塩の使用に関する。
【００２２】
本明細書で使用される場合、脊髄損傷（ＳＣＩ）は、外傷（例えば自動車事故）から、又は疾患若しくは変性（例えばがん）から生じ、脊髄又は神経の機能の一時的若しくは永続的な変化を引き起こす、脊髄又は神経の任意の部分への損傷を指す。症状には、損傷レベル以下の、脊髄が機能する体の部分における移動運動機能、感覚又は自律神経機能の部分的若しくは完全な喪失が含まれ得る。最も重症の脊髄損傷は、腸又は膀胱制御、呼吸、心拍及び血圧を調節する系に影響を及ぼす。脊髄損傷を有する大部分の患者は慢性痛を経験する。
【００２３】
本明細書で使用される場合、「対象」、「ホスト」、及び「患者」という語は、互換可能に使用される。本明細書で使用される場合、対象は、好ましくは非霊長類（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット、マウスなど）又は霊長類（例えば、サル及びヒト）などの哺乳動物、最も好ましくはヒトである。
【００２４】
本明細書で使用される場合、「治療有効量」は、標的疾患又は障害の治療又は管理において、それらを患う対象に投与される際に、少なくとも１つの治療上の有益性をもたらす薬剤の量（例えば、本発明における使用のためのエレトリプタンＨｂｒの量）を指す。さらに、本発明における使用のための薬剤に関しての治療有効量は、疾患又は障害の治療又は管理において少なくとも１つの治療上の有益性をもたらす、単独での、又は他の療法と組み合わせた際の薬剤の量を意味する。
【００２５】
「投与する」は、当業者に公知の各種方法及び送達系のいずれかを使用しての、対象への薬剤の物理的導入を指す。本明細書で開示される化合物についての例示的な投与経路には、例えば注射又は注入による、静脈内、筋肉内、皮下、腹腔内、脊髄又は他の非経口投与経路が含まれる。「非経口投与」という句は、本明細書で使用される場合、通常は注射による、経腸及び局所投与以外の投与様式を意味し、以下に限定されないが、静脈内、筋肉内、髄腔内、病巣内、嚢内、皮内、腹腔内、皮下、嚢下、くも膜下、脊髄内、硬膜外及び胸骨内注射及び注入、さらにインビボでのエレクトロポレーションを含む。一部の実施形態において、化合物は、非経口でない経路を介して、例えば経口的に投与される。他の非経口でない経路には、局所、表皮又は粘膜投与経路、例えば、鼻腔内、舌下又は局所的が含まれる。投与は、例えば、１回で、複数回で、及び／又は１回若しくは２回以上の長

期間をかけて実施されてもよい。

【００２６】

臨床使用のための新たな治療薬の発見を加速させる有用な一戦略は、既存の薬物の新たな用途を見つける方法、すなわちドラッグリパーパシング戦略である（Hall, C. J. et al. Repositioning drugs for inflammatory disease - fishing for new anti-inflammatory agents. Dis Model Mech 7, 1069-1081, doi:10.1242/dmm.016873 (2014)）。事実、最初にある疾患で治療効果を有することが判明した薬物は、別の疾患でも潜在的に効果的である可能性があり、薬物は前臨床及び臨床試験を既に経ているため、この戦略により、開発期間の短縮、コストの低下、リスクの低下及び成功率の向上が可能となる（Hall, C. J. et al. Repositioning drugs for inflammatory disease - fishing for new anti-inflammatory agents. Dis Model Mech 7, 1069-1081, doi:10.1242/dmm.016873 (2014)、Buckley, C. E. et al. Drug reprofiling using zebrafish identifies novel compounds with potential pro-myelination effects. Neuropharmacology 59, 149-159, doi:10.1016/j.neuropharm.2010.04.014 (2010)）。

【００２７】

ゼブラフィッシュは、単純でコスト効率の高い薬物スクリーニング用の、特に多用途の脊椎動物モデルとして台頭しつつある（Hall, C. J. et al. Repositioning drugs for inflammatory disease - fishing for new anti-inflammatory agents. Dis Model Mech 7, 1069-1081, doi:10.1242/dmm.016873 (2014)、Rennekamp, A. J. & Peterson, R. T. 15 years of zebrafish chemical screening. Curr Opin Chem Biol 24, 58-70, doi:10.1016/j.cbpa.2014.10.025 (2015)、Early, J. J. et al. An automated high-resolution in vivo screen in zebrafish to identify chemical regulators of myelination. Elife 7, doi:10.7554/eLife.35136 (2018)、MacRae, C. A. & Peterson, R. T. Zebrafish as tools for drug discovery. Nat Rev Drug Discov 14, 721-731, doi:10.1038/nrd4627 (2015)）。本明細書で開示される結果を達成するため、本発明者らは、ＳＣＩ適応症に対する治療特性を有する新たな分子を特定するために本発明者らの研究室により以前に開発された幼生ゼブラフィッシュ薬物スクリーニングプラットフォームを使用し、運動回復特性を有するエレトリプタンＨｂｒを特定した。エレトリプタンＨｂｒは、片頭痛の急性治療のための、５－ヒドロキシトリプタミン１－受容体サブタイプＢ／Ｄ（５－ＨＴ１$_{B}$／１$_{D}$）及びＦ（５－ＨＴ１$_{F}$）に対して高度に選択的な親和性を有するＦＤＡ承認済みの薬物であり（Capi, M. et al. Eletriptan in the management of acute migraine: an update on the evidence for efficacy, safety, and consistent response. Ther Adv Neurol Disord 9, 414-423, doi:10.1177/1756285616650619 (2016)、Tepper, S. J., Rapoport, A. M. & Sheftell, F. D. Mechanisms of action of the 5-HT1B/1D receptor agonists. Arch Neurol 59, 1084-1088, doi:10.1001/archneur.59.7.1084 (2002)）、本明細書で初めて、この分子の使用について可能性のある新たな治療適応が開示される。リパーパシング戦略が採用され、インビボでの薬物スクリーニングプラットフォームとしてゼブラフィッシュ幼生（再生促進モデル）を利用してエレトリプタンＨｂｒを特定し、次いで我々は、脊髄機能修復を改善するエレトリプタンＨｂｒの能力を示すことにより、マウス挫傷（線維化促進）モデルにおける治療効果の保存を確認する。

【００２８】

方法

倫理についての記述

動物を伴う実験は全て、欧州共同体ガイドライン（ディレクティブ２０１０／６３／ＥＵ）、動物ケアについてのポルトガル法（ＤＬ１１３／２０１３）に従って実施され、Instituto de Medicina Molecular Internal Committee（ＯＲＢＥＡ）及びPortuguese Animal Ethics Committee（ＤＧＡＶ）により承認された。取り組みは全て、使用される動物の数を最少にし、本開示において使用される動物の苦痛を減少させるためになされた。

【００２９】
動物
ゼブラフィッシュＳＣＩモデル：
Ｔｇ（ｍｎｘ１：ＧＦＰ^{ml2}）、ｈｂ９と略記：魚類ケア及び管理プロトコールのための標準ガイドラインに従うことにより、ＧＦＰを一定条件で管理及び飼育した（Westerfield, M. The Zebrafish Book: A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (Brachydanio rerio). (2000)）。ゼブラフィッシュ幼生を、ＳＣＩについての表現型ベーススクリーニングに使用した。
【００３０】
マウスＳＣＩモデル：
成体メスＣ５７ＢＬ／６Ｊマウス（８～１０週齢；Charles River社製）を本研究に使用した。マウスをケージ１つあたり３～４匹収容し、研究の期間中、制限なしの食料及び水とともに１２時間明／暗周期で管理した。
【００３１】
ＳＣＩについての表現型ベーススクリーニング
幼生ゼブラフィッシュ表現型ベーススクリーニングを使用して、Diana et al. 2019（Chapela, D. et al. A zebrafish drug screening platform boosts the discovery of novel therapeutics for spinal cord injury in mammals. Sci Rep 9, 10475, doi: 10.1038/s41598-019-47006-w (2019)）により以前に記載されたように、低分子ライブラリー（PHARMAKON 1600－MicroSource Discovery Systems, Inc.社製、ＵＳＡ）由来の化合物プールをスクリーニングした。簡潔に言えば、ゼブラフィッシュ幼生を、５受精後日数（ｄｐｆ，days-post-fertilization）まで１μＭメチレンブルー含有ＥＭ中で生育させた。５ｄｐｆに、ゼブラフィッシュ幼生脊髄を、肛門の穴のレベルで横断した（Diana et al. 2019 (Chapela, D. et al. A zebrafish drug screening platform boosts the discovery of novel therapeutics for spinal cord injury in mammals. Sci Rep 9, 10475, doi:10.1038/s41598-019-47006-w (2019))）。１ｄｐｉに、ＥＭ＋１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳを含有する６ウェルプレートに幼生をランダムに分配し、培地に添加された化学化合物に２４時間曝露した。２ｄｐｉに、ゼブラフィッシュ幼生用の自動追跡システムであるDanioVision（商標）（Noldus Information Technology社製、オランダ）を使用して、行動評価を実施した。ＥＭ＋１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ含有９６ウェルプレート（１幼生／ウェル）中で幼生を自由に遊泳させ、幼生の遊泳活動を９０分間、１０分間の明暗周期（すなわち３回の明周期及び３回の暗周期）で追跡した。Ethovision X.T. 10ソフトウェア（Noldus社製、ヴァーヘニンゲン、オランダ）を使用して、取得された追跡データを分析し、３回の暗期で得られた遊泳活動のみを分析した（de Esch, C. et al. Locomotor activity assay in zebrafish larvae: influence of age, strain and ethanol. Neurotoxicol Teratol 34, 425-433, doi:10.1016/j.ntt.2012.03.002 (2012)）。
【００３２】
挫傷脊髄損傷及び術後ケア
Infinite Horizon Impactor（PSI社製）を用いて、中等症－重症の挫傷型の損傷を成体Ｃ５７ＢＬ／６メスマウス（１０～１２週）に実施した（Tep, C. et al. Oral administration of a small molecule targeted to block proNGF binding to p75 promotes myelin sparing and functional recovery after spinal cord injury. J Neurosci 33, 397-410, doi:10.1523/JNEUROSCI.0399-12.2013 (2013)）。手術は全て無菌条件下で実施した。簡潔に言えば、ケタミン及びキシラジン（それぞれ１２０ｍｇ／ｋｇ及び１６ｍｇ／ｋｇ、ｉ．ｐ．）による深麻酔下で、マウスに第９胸椎（Ｔ９）レベルでの背側椎弓切除を施した。ステンレス鋼インパクターチップにより第８胸椎（Ｔ８）及び第１０胸椎（Ｔ１０）の外側突起を固定した後、７５ｋｄｙｎｅの、制御された力を規定された衝撃を、曝露された脊髄に与えた（Chapela, D. et al. A zebrafish drug screening platform boosts the discovery of novel therapeutics for spinal cord inju

ry in mammals. Sci Rep 9, 10475, doi:10.1038/s41598-019-47006-w (2019)、Tep, C. et al. Oral administration of a small molecule targeted to block pro NGF binding to p75 promotes myelin sparing and functional recovery after spinal cord injury. J Neurosci 33, 397-410, doi:10.1523/JNEUROSCI.0399-12.2013 (2013))。次いで、筋肉及び皮膚を、４．０ポリグリコール酸（ＰＧＡ，polyglycolic acid）吸収性縫合糸（Safil、Ｇ１０４８２１３）を用いて閉じた。本研究では、実際の変位値が間隔５００～７００μmの外であった場合、又は衝撃後の実際の力が２ＳＤ７５Ｋｄｙｎｅを超えた場合はマウスを除外した。損傷直後に、マウスの皮下に滅菌生理食塩水０．５ｍｌを注射し、次いで５日間毎日注射した。本実験中、マウスは、自力で排尿するまで毎日２回穏やかな膀胱圧搾を受けた。損傷の際にこのＳＣＩモデルにおいて、１０％の体重減少が概して観察されたため、損傷後１５日目（１５ｄｐｉ［days-post-injury］）までは毎日、次いで研究の期間中毎週、体重をモニタリングし、高カロリーペレット（Supreme Mini-Treats（商標）Ｓ０５４７８及びＳ０５４７２）を栄養補助食品として供給した。

【００３３】

マウスＳＣＩモデルにおける薬物治療

使用されたエレトリプタンＨｂｒ（Sigma-Aldrich社製、ＰＺ００１１）投与量は、ヒト市場用量と同量であり（Nair, A. B. & Jacob, S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. J Basic Clin Pharm 7, 27-31, doi:10.4103/0976-0105.177703 (2016))、治療投与量は全て、二重盲検措置を維持するためコード化システムを使用して等分した。このコードは、全ての行動試験終了時にのみ明らかにされた。マウスを各実験群（ＳＣＩ＋媒体及びＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒ）にランダムに分配した。媒体及びエレトリプタンＨｂｒを、損傷後１時間目（ｈｐｉ，hour after injury）から、次いで損傷後１５日目（１５ｄｐｉ）まで毎日腹腔内注射（ｉ．ｐ．，intraperitoneal injection）により投与した。

【００３４】

Bassoマウススケール（ＢＭＳ，Basso Mouse Scale）評価

ＢＭＳ査定システムによりオープンフィールド移動運動を評価した（Tep, C. et al. Oral administration of a small molecule targeted to block proNGF binding to p75 promotes myelin sparing and functional recovery after spinal cord injury. J Neurosci 33, 397-410, doi:10.1523/JNEUROSCI.0399-12.2013 (2013)、Basso, D. M. et al. Basso Mouse Scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains. J Neurotrauma 23, 635-659, doi:10.1089/neu.2006.23.635 (2006))。使用されたオープンフィールドは、通常の照明を有する静かな試験室内に配置された、直径８５ｃｍ及び高さ３０．５ｃｍを有する円形プラットフォームであった。手術前２週間、毎日５分間マウスを試験プラットフォームに慣らした。以前に記載されたように、ＢＭＳ試験（ＢＭＳスコアリング及びサブスコアリング）を実施した（Chapela, D. et al. A zebrafish drug screening platform boosts the discovery of novel therapeutics for spinal cord injury in mammals. Sci Rep 9, 10475, doi:10.1038/s41598-019-47006-w (2019)、Tep, C. et al. Oral administration of a small molecule targeted to block proNGF binding to p75 promotes myelin sparing and functional recovery after spinal cord injury. J Neurosci 33, 397-410, doi:10.1523/JNEUROSCI.0399-12.2013 (2013))。簡潔に言えば、最大ＢＭＳスコア値であることが予期されるベースライン術前移動運動値を得るため、手術前にマウスを試験した。処理後の機能回復を決定するため、各マウスのＢＭＳスコアを１、３、７、１４ｄｐｉに、次いで実験終了まで毎週判定した。ＢＭＳスコア及びサブスコアの判定は、処理群に対して盲検化され、マウス１匹あたり４分間の後肢移動運動を記録した２名の査定者により常に実施された。査定者間でスコアが異なった場合、得られた最終スコアは両スコアの平均であった。

【００３５】

アセトン蒸発アッセイ

アセトン蒸発アッセイを使用して、損傷の際の冷刺激に対する感受性を測定した（Deuis, J. R., Dvorakova, L. S. & Vetter, I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. Front Mol Neurosci 10, 284, doi:10.3389/fnmol.2017.00284 (2017)）。まず、金網を有するプラットフォームに４分間マウスを慣らし、次いで、１ｍｌシリンジを使用して、アセトン５０μｌ一滴を後足の足底表面に滴下した。試行間の間隔２分で、５回の試行を各後足に実施した。各試行において、タイマーを使用して、６０秒間で後足を動かす又は舐めるのに要した時間を測定し、分析のために記録した（Golden, J. P. et al. RET signaling is required for survival and normal function of nonpeptidergic nociceptors. J Neurosci 30, 3983-3994, doi:10.1523/JNEUROSCI.5930-09.2010 (2010)）。

【００３６】

灌流及び組織処理

行動試験の終了時に、マウスに０．９％ＮａＣｌ、それに続いてｐＨ７．４　０．１Ｍリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ，phosphate-buffered saline）中４％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ，paraformaldehyde）溶液で経心灌流を行った。ＰＢＳで一晩すすいだ後、脊髄を３０％スクロース中で３日間凍結保護処理し、次いで、損傷中心に対して３mm吻側から３mm尾側（合計６mm）のブロックとして、最適切断温度（ＯＣＴ，optimal cutting temperature）化合物（Sakura Finetek社製、ＵＳＡ）中で凍結させた。次いで、各ブロックをクライオスタット上で横断面（１０μm）で切断し、交互の１０セットでスライドに乗せ、－２０℃で必要時まで保管した（Ma, M., Basso, D. M., Walters, P., Stokes, B. T. & Jakeman, L. B. Behavioral and histological outcomes following graded spinal cord contusion injury in the C57Bl/6 mouse. Exp Neurol 169, 239-254, doi:10.1006/exnr.2001.7679 (2001)、Hoschouer, E. L., Finseth, T., Flinn, S., Basso, D. M. & Jakeman, L. B. Sensory stimulation prior to spinal cord injury induces post-injury dysesthesia in mice. J Neurotrauma 27, 777-787, doi:10.1089/neu.2009.1182 (2010)）。

【００３７】

免疫組織化学

切片における免疫組織化学のため、ＰＢＳを使用して凍結切片からＯＣＴを除去した（３０分）。切片を０．５％ＰＢＳ－Triton Ｘ－100で洗浄し、ブロッキング溶液（０．１％Triton Ｘ－100含有ＰＢＳ中５％ヤギ血清）中で室温で２時間ブロッキングした。次いで、脊髄切片を、抗ＧＦＡＰ（１：５００；ThermoFisher Scientific社製、１３－０３００）、抗ＰＤＧＦＲβ（１：２００；Abcam社製、ａｂ３２５７０）、抗ＣＤ３１／ＰＥＣＡＭ－１（１：１００；RD Systems社製、ＡＦ３６２８）、抗Ｆ４／８０（１：５００；Abcam社製、ａｂ６６４０）及び抗Ｐ２Ｙ１２（１：５００；AnaSpec社製ＡＳ－５５０４３Ａ）一次抗体とともに４℃で一晩インキュベートし、０．１％ＰＢＳ－Triton Ｘ－100、ＰＢＳ中で洗浄し、AlexaFluor 568（１：５００；ThermoFisher Scientific社製、Ａ１１０１１又はＡ１１０５７）、AlexaFluor 488（１：５００；ThermoFisher Scientific社製、Ａ１１００６又はＡ１１００８）二次抗体とともに４℃で一晩再インキュベートした。活性化ミクログリア定量化のため、切片をＤＡＰＩにより対比染色した。次いで切片をＰＢＳ中で洗浄し、ＤＡＢＣＯ含有蛍光封入培地に乗せた。

【００３８】

FluoroMyelinグリーン染色及び白質残存分析

脱髄を定量化するため、１００μm離して配置され、ブロック全体に及ぶ１セットの切片を、FluoroMyelin（商標）グリーン（ThermoFisher Scientific社製、Ｆ３４６５１）で１時間染色した。１０ｘ拡大の電動倒立広視野蛍光顕微鏡（Zeiss Cell Observer、Carl Zeiss MicroImaging社製）でＺ－スタック組成を取得した。Fijiソフトウェアを使用して、白質残存の断面積（ＷＭＡ，cross-sectional area of white matter sparing）及び組織切片の総断面積（ＴＣＡ，total cross-sectional area）を測定し、次いで損

傷中心に対して１１００μm吻側から１１００μm尾側の比例する断面積を計算した（ＷＭＡ／ＴＣＡ）。最小ＷＭＡ／ＴＣＡを有する切片として特定された、周縁部に最小面積の蛍光グリーン染色された白質を有する組織切片として、中心を特定した。コード化切片を介して、かつ処理又は結果群を知らない研究者により、病変の分析を実施した（Hoschouer, E. L., Finseth, T., Flinn, S., Basso, D. M. & Jakeman, L. B. Sensory stimulation prior to spinal cord injury induces post-injury dysesthesia in mice. J Neurotrauma 27, 777-787, doi:10.1089/neu.2009.1182 (2010)）。

【００３９】

線維性瘢痕の定量化

１セットの切片を抗ＰＤＧＦＲβ及び抗ＧＦＡＰで染色して、線維性瘢痕領域の境界の輪郭を描いた。２０ｘ拡大の電動倒立広視野蛍光顕微鏡（Zeiss Cell Observer、Carl Zeiss MicroImaging社製）でＺ－スタック組成を取得した。Fijiソフトウェアを使用して、手動で輪郭を描き、ＰＤＧＦＲβ^{+}面積及び総断面積を計算して、その後総断面積に対する線維性瘢痕面積のパーセントを定量化した。線維性病変の吻側及び尾側の範囲を検査により決定した。線維性コア又はＰＤＧＦＲβ^{+}発現増加（それぞれ）を有する組織を含有する切片の数に、各切片間の距離（１００μm）をかけることにより、線維性病変の長さ及びＰＤＧＦＲβ^{+}発現の範囲を計算した。

【００４０】

活性化ミクログリアの定量化

活性化ミクログリアを定量化するため、１セットの脊髄切片を、抗Ｐ２Ｙ１２（ミクログリア特異的マーカー）及び抗Ｆ４／８０（汎マクロファージマーカー）で染色し、ＤＡＰＩで対比染色した。２０ｘ拡大の電動倒立広視野蛍光顕微鏡（Zeiss Cell Observer、Carl Zeiss MicroImaging社製）でＺ－スタック組成を取得した。閾値及びパラメーターを手動で設定した後、Ｆ４／８０$^{+}$及びＰ２Ｙ１２$^{+}$細胞の数を計算する特注のMultichannel Cell counter4TIFFソフトウェアを使用して、細胞数を定量化した。

【００４１】

統計分析

幼生ゼブラフィッシュＳＣＩモデル由来のグラフ表示及びデータ分析は全て、Prism 8ソフトウェア（GraphPad Software, Inc.社製、サンディエゴ、ＣＡ、ＵＳＡ）を使用して実施した。使用された統計的検定は両側検定であった。ゼブラフィッシュＳＣＩ研究での異なる群間の平均値比較は、Welch補正を伴う対応のないStudent　ｔ検定を使用して実施した。マウスＳＣＩモデル由来のデータ分析は、SigmaPlot 14を使用して、二元配置分散分析（ＡＮＯＶＡ，analysis of variance）又は反復測定二元配置分散分析、それに続くBonferroni事後検定を使用して実施した。Ｐ値０．０５未満を有意とみなした。データは全て平均値±平均値の標準誤差（ＳＥＭ，standard error of the mean）として表される。

【００４２】

結果

エレトリプタンＨｂｒは、ゼブラフィッシュ幼生横断脊髄損傷モデルにおける移動運動機能障害を救済する。

脊髄損傷（ＳＣＩ）に対する見込みのある新たな治療薬の発見を加速させるため、我々は、ＦＤＡ承認済みの低分子ライブラリー由来の化学化合物プールのスクリーニングを可能にする表現型アッセイを使用した。この表現型ベーススクリーニングにおいて、我々は、損傷後１日目（ｄｐｉ）に化学化合物（２５μＭ）を盲検的に投与し、我々は、Chapela D. et al. 2019により以前に記載されたように、２４時間後（すなわち２ｄｐｉ）に行動評価を実施した。移動運動機能の指標として選択された、移動した総距離及び／又は回転角度パラメーターの統計上有意な改善があれば、低分子をまず盲検的に選択した。次いで、我々は、規定の除外基準（特許取得済み又はＳＣＩについて報告された治療適応を有する；重大な報告された毒性を有する又は血液脳関門を通過できない場合）により選択を絞り込んだ。とりわけ、エレトリプタンＨｂｒは、この創薬プラットフォームを介して特

定された最も有望な候補のうちの１つであった。エレトリプタンＨｂｒは、ヒト成体における前兆を伴う又は伴わない片頭痛の急性治療のための第２世代トリプタン薬物として知られており、興味深いことに、このゼブラフィッシュ幼生横断脊髄損傷モデルにおいて移動運動機能障害を救済することを示し（図１Ａ、Ａ’）、哺乳動物ＳＣＩモデルで試験される有望なＳＣＩ治療薬候補となった。

【００４３】

エレトリプタンＨｂｒは、Ｔ９挫傷型損傷を有するマウスの運動機能を改善する。

非再生モデルにおけるＳＣＩ適応症に対するエレトリプタンＨｂｒの治療効果を検証するため、ＳＣＩげっ歯類モデルにおけるその有効性を試験することを決定した。したがって、Infinite Horizon（ＩＨ）Impactorを使用してＣ５７ＢＬ／６メスマウスに挫傷型損傷を実施し、Bassoマウススケール（ＢＭＳ）試験（Basso, D. M. et al. Basso Mouse Scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains. J Neurotrauma 23, 635-659, doi:10.1089/neu.2006.23.635 (2006)）を使用して損傷後の動物の移動運動能力を判定した。まず、マウスをオープンフィールドプラットフォームに慣らし、１５日後にマウスを中等症－重症のＴ９挫傷（７５ｋｄｙｎｅ）で負傷させた（図２Ａ）。損傷直後及び生体力学的除外基準の際に、マウスを各実験群（ＳＣＩ＋媒体及びＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒ）にランダムに分配した。治療投与量（媒体又はエレトリプタンＨｂｒ）を、損傷後１時間目（１ｈｐｉ）から、次いで損傷後１５日目（１５ｄｐｉ）まで毎日腹腔内（ｉ．ｐ．）注射により投与した（図２Ａ）。ＳＣＩ＋媒体とＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒ実験群との間で、ＩＨインパクターにより加えられた損傷力又は変位に差はなかった（図４）。損傷の際の移動運動回復の判定のため、ＢＭＳスコア及びサブスコアを４２日間測定した（図３Ｂ～Ｂ’）。エレトリプタンＨｂｒ処理マウス及び媒体処理マウスにおけるＢＭＳスコアの平均は、損傷後１日目（１ｄｐｉ）以降に増大し、それぞれ損傷後２８～３５日目（２８～３５ｄｐｉ）の間及び損傷後２１～２８日目（２１～２８ｄｐｉ）の間に横這い状態に到達した。エレトリプタンＨｂｒ処理マウスにおけるＢＭＳスコアは、媒体処理マウスと比較して、長期にわたって有意ではないが一貫して高かった（図３Ｂ）。注目すべきことに、エレトリプタンＨｂｒ処理マウス１３匹中１匹がＢＭＳスコア６を達成し（すなわちある程度の前後肢協調を伴う頻繁な足底でのステップを示した）、残りの１２匹が損傷後４２日目（４２ｄｐｉ）にＢＭＳスコア５を達成した（すなわち頻繁な又は一貫した足底でのステップを示した）。同じ時点で、媒体処理マウスのＢＭＳスコアは４～５であり、９匹中３匹の動物が時々の足底でのステップを達成するのみだった。さらに、エレトリプタンＨｂｒ処理マウスの８５％が、最初の接地時の両方の後肢の足の平行配置を伴う頻繁な足底でのステップも示し、２３％が持ち上げの際に後肢の足のうちの少なくとも一方の平行配置を呈した。

【００４４】

平均ＢＭＳサブスコアは、損傷後７～４２日目（７～４２ｄｐｉ）で、媒体処理マウスよりもエレトリプタンＨｂｒ処理マウスにおいて一貫して高く、損傷後３５日目（３５ｄｐｉ）（図３Ｂ’）～損傷後４２日目（４２ｄｐｉ）（図３Ｂ’）で有意により高くなった

【００４５】

損傷後４２日目（４２ｄｐｉ）に、９匹中８匹の媒体処理マウスが、傾き、よたつき又は後肢が崩れかかるなどの重症の体幹不安定性を示し、１匹の動物のみが軽度の体幹安定性を獲得した。さらに、エレトリプタンＨｂｒ処理マウスは、けいれん及び転倒などの歩行動作を遮断するイベントの減少を示し、この実験群の動物の４６％が軽度の体幹安定性を獲得した（図３Ｃ）。

【００４６】

さらに我々は、ＳＣＩ後に見られる一般的な影響である（Donovan, J. & Kirshblum, S. Clinical Trials in Traumatic Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 654-668, doi:10.1007/s13311-018-0632-5 (2018)、Dias, D. O. et al. Reducing Pericyte-Derived Scarring Promotes Recovery after Spinal Cord Injury. Cell 173,

153-165.e122, doi:10.1016/j.cell.2018.02.004 (2018))、膀胱機能不全状態も判定した。手動での膀胱圧搾中、我々は０（尿を有しない通常の膀胱、すなわち自力での排尿能力を有する動物）～３（貯留された多量の尿を有する大きな膀胱）のスコアによった。エレトリプタンＨｂｒ処理マウスは、損傷後１日目（１ｄｐｉ）に統計上有意なより少量の貯留された尿（すなわちより小さいスコア）を示したが、この効果はこの時点後に失われ、研究終了時まで実験群間で差はなかった（図３Ｄ）。

【００４７】

冷感異痛は、一般的にＳＣＩに関連する、通常は非侵害性の冷刺激に対する有痛性の応答である過敏症と規定される（Deuis, J. R., Dvorakova, L. S. & Vetter, I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. Front Mol Neurosci 10, 284, doi:10.3389/fnmol.2017.00284 (2017)）。本研究では、蒸発冷却により引き起こされる侵害防御応答のエピソード数及び期間を定量化することによる、損傷後１４日目（１４ｄｐｉ）及び損傷後４２日目（４２ｄｐｉ）でのアセトン蒸発試験を使用して、冷刺激に対する感受性を判定した。エレトリプタンＨｂｒ処理マウスの平均は、媒体処理マウスと比較して、有意でないが一貫した累積反応時間の減少及び冷感過敏症のエピソード数の低下を示した（図３Ｅ、Ｅ’）。

【００４８】

エレトリプタンＨｂｒは、病変の末端範囲付近の脱髄を防止すると思われる

損傷の際の脱髄状態に対するエレトリプタンＨｂｒの効果を分析するため、FluoroMyelin（商標）グリーン蛍光ミエリン染色を使用して、実験群（ＳＣＩ＋エレトリプタンＨｂｒ及びＳＣＩ＋媒体）間での、総断面積に対する残された白質面積を比較した（図５Ａ）。エレトリプタンＨｂｒ処理マウスにおける総断面積に対する残された白質の平均は、病変中心で、さらに病変の中心から７００μｍ吻側及び尾側にわたって、媒体で処理されたマウスよりも有意ではないが一貫してより高かった（図５Ｂ）。

【００４９】

ＰＤＧＦＲ－β発現レベルの増大の範囲が、エレトリプタンＨｂｒ処理により低減される

瘢痕の線維性区画は、線維芽細胞様細胞のコアを作り出すＰＤＧＦＲβ^{+}血管周囲細胞のサブセット、及び細胞外マトリックス分子の高密度の堆積により構成される（Dias, D. O. et al. Reducing Pericyte-Derived Scarring Promotes Recovery after Spinal Cord Injury. Cell 173, 153-165.e122, doi:10.1016/j.cell.2018.02.004 (2018)）。さらに最近、周皮細胞由来の瘢痕を低減させると、マウスにおいて脊髄損傷の際の機能回復が促進されることが示されたため（Dias, D. O. et al. Reducing Pericyte-Derived Scarring Promotes Recovery after Spinal Cord Injury. Cell 173, 153-165.e122, doi:10.1016/j.cell.2018.02.004 (2018)）、線維性瘢痕の面積及び長さを判定することにより、線維性瘢痕状態に対するエレトリプタンＨｂｒの効果を分析することを決定した。

【００５０】

この分析のため、瘢痕のグリア制限境界の輪郭を描くことを可能にするＧＦＡＰ、及び瘢痕の線維性要素を標識するための周皮細胞マーカーＰＤＧＦＲβにより、二重免疫組織化学を実施した（図６Ａ～Ｃ、６Ａ’～Ｃ’、６Ａ’’～Ｃ’’）。この手法により、線維性瘢痕区画の輪郭を描き、病変中心におけるその面積を測定し、ＰＤＧＦＲβ^{+}病変コアの、長さでの範囲、さらにはシャムマウスにおけるＰＤＧＦＲβ^{+}染色のレベルとの比較により、ＰＤＧＦＲβ^{+}免疫染色のレベルの増大の範囲を規定することができた。病変中心において、損傷後４２日目（４２ｄｐｉ）時点で、エレトリプタンＨｂｒ処理マウスと媒体処理マウスとの間で線維性病変コアの面積に統計上有意な差はなかった。媒体及びエレトリプタンＨｂｒ処理群の間でＰＤＧＦＲβ^{+}病変コアの範囲に統計上有意な差はなかったが、媒体処理マウスと比較して、エレトリプタンＨｂｒで処理されたマウスでは、ＰＤＧＦＲβ^{+}免疫染色のレベルの増大の範囲に統計上有意な低減があった（図６Ｄ～Ｆ）。

【００５１】

エレトリプタンＨｂｒ処理により、脈管構造を伴う異常な数のＰＤＧＦＲβ^{+}細胞を有

する組織の範囲が低減する
病変範囲の末端において検出されたＰＤＧＦＲβ＋レベルの増大が血管を伴うかどうかを推論するため、我々は周皮細胞マーカーＰＤＧＦＲβ及び内皮細胞マーカーＣＤ３１（ＰＥＣＡＭ－１）を使用して二重免疫組織化学を実施することを決定した（図７）。中心から１０００μｍの切片における、媒体処理マウスで検出されエレトリプタンＨｂｒ処理マウスでは低減されたＰＤＧＦＲβ発現の増大は、ＣＤ３１＋内皮細胞を伴っていた（図７Ａ～Ｃ’’’）。

【００５２】
ミクログリアはエレトリプタンＨｂｒの影響を受ける
ミクログリアがＳＣＩ修復にとって非常に重要であることは公知である。ミクログリアがなければ、脱髄及び病理学的ＭＤＭ浸潤物が増強され、グリア瘢痕形成が破壊され、運動機能障害が悪化する（Brennan , F. H., Hall, J. C. E., Guan, Z. & P.G., P. Microglia limit lesion expansion and promote functional recovery after spinal cord injury in mice. Cold Spring Harbor Laboratory, doi:https://doi.org/10.1101/410258 (2018)）。この状況で、Ｐ２Ｙ１２（ミクログリアマーカー）及びＦ４／８０（汎マクロファージマーカー）による二重免疫組織化学を実施することにより、損傷の際のミクログリア状態に対するエレトリプタンＨｂｒの効果を判定することを決定した。Ｐ２Ｙ１２＋ミクログリアは、シャムマウスでは長い突起を有する分枝状形態を示したが、媒体処理マウスでは、ミクログリアは病変中心においてまばらに検出された、より短い突起を示した（図８Ａ～Ｃ’’）。媒体で処理されたマウスでは、Ｐ２Ｙ1+2ミクログリアは病変中心においてほとんど検出されず、存在する場合、ミクログリアは主に病変周辺部のクラスターにおいて、又はアメーバ様形状を有する残された白質において観察された（図８Ｂ、Ｂ’’；８Ｃ、Ｃ’’）。エレトリプタンＨｂｒ処理マウスも、病変周辺部のアメーバ様形状及びより短い突起を有するクラスターにおいて、又は残された白質においてミクログリアを示したが、一部の切片では、中心付近又は中心において、より長い分枝状突起も観察され、媒体処理マウスでは観察されなかった特徴である（図８Ｂ、Ｂ’’；８Ｃ、Ｃ’’）。中心から１０００μｍの切片において、Ｐ２Ｙ１２＋ミクログリアは灰白質及び白質にわたって存在し、シャム動物と比較して、媒体処理マウス及びエレトリプタンＨｂｒ処理マウスの両方で、灰白質において（主に脊髄背側で）いくつかのより短い突起及びより反応性の高い形状を有する形態を示した（図８Ａ、Ａ’；８Ｂ、Ｂ’’；８Ｃ、Ｃ’’）。Ｐ2+Ｙ１２Ｆ４／８０＋（活性化ミクログリア）細胞の数には統計上有意な差がなかったが、この数は、エレトリプタンＨｂｒ処理マウスの、中心に対して４００μｍ吻側及び尾側において一貫してより高かった（図８Ｄ）。

【００５３】
脊髄損傷（ＳＣＩ）は非常に複雑な性質を有する。複雑な生理的過程を妨害する化合物の可能性を調査するための最良のシステムが、インビボでのそれらの効果を判定することであり、ゼブラフィッシュ幼生がインビボでの表現型薬物スクリーニング用の、特に多用途の脊椎動物モデルとなりつつあることは周知である（Hall, C. J. et al. Repositioning drugs for inflammatory disease - fishing for new anti-inflammatory agents. Dis Model Mech 7, 1069-1081, doi:10.1242/dmm.016873 (2014)、Rennekamp, A. J. & Peterson, R. T. 15 years of zebrafish chemical screening. Curr Opin Chem Biol 24, 58-70, doi:10.1016/j.cbpa.2014.10.025 (2015)）。

【００５４】
我々の研究室で以前に確立されたインビボでの幼生ゼブラフィッシュ表現型ベーススクリーニングを使用して（すなわち再生促進モデルを使用して）（Chapela, D. et al. A zebrafish drug screening platform boosts the discovery of novel therapeutics for spinal cord injury in mammals. Sci Rep 9, 10475, doi:10.1038/s41598-019-47006-w (2019)）、ＦＤＡ承認済みの低分子ライブラリー由来の、ＳＣＩ救済特性を有する有望な化合物が本明細書で初めて特定される。次いで我々は、ＳＣＩのインビボでのマウス挫傷（線維化促進）モデルにおける、この化合物の治療効果の保存を検証及び判定

する。

【００５５】

我々の、以前に検証されたゼブラフィッシュ創薬プラットフォームから、我々は、移動した総距離及び回転角度パラメーターの両方で運動機能障害を救済する、脊髄回復可能性を有する最も有望な候補のうちの１つとして、エレトリプタンＨｂｒを選択した。重要なことには、総距離及び回転角度パラメーターに現れた改善が、エレトリプタンＨｂｒがＳＣＩ幼生の遊泳能力を救済することを示しただけでなく、それぞれ運動方向制御も改善すると思われた。

【００５６】

このゼブラフィッシュ手法によるエレトリプタンＨｂｒの選択の後、この化合物を、急性及び亜急性損傷期の間、損傷後１時間目（１ｈｐｉ［hour upon injury］）から、次いで損傷後１５日目（１５ｄｐｉ）まで毎日、Ｔ９挫傷マウスモデルに毎日投与した。したがって、エレトリプタンＨｂｒが、線維化促進モデルにおける移動運動行動の改善に対する保存された効果を有することが確認されただけでなく、損傷後４２日目（４２ｄｐｉ）の脱髄状態、線維性瘢痕形成及び炎症過程に対するその効果を判定することも可能であった。重要なことには、この時点は、反応性アストログリオーシス及びマクロファージ／ミクログリア誘導性炎症が存在した、げっ歯類における慢性期時間にあたる（Gaudet, A. D. & Fonken, L. K. Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 554-577, doi:10.1007/s13311-018-0630-7 (2018)）。

【００５７】

とりわけ、エレトリプタンＨｂｒは、ＢＭＳ評価において移動運動能力を有意に改善し、マウスの体幹安定性を改善し重症イベント数を低減させることを示した。さらに、エレトリプタンＨｂｒの投与により、有意ではないが一貫して、アセトン蒸発試験における累積反応時間が減少し冷感過敏症のエピソード数が低下して、おそらくこの化合物がＳＣＩ状況における冷感異痛を減少させ得ることが示された。事実、冷感受性を測定するためにいくつかの研究で使用されているにもかかわらず、アセトン蒸発試験はいくつかの制限、すなわち、正確な量のアセトンが確実に毎回一貫して滴下されることが困難であり、冷刺激が変動することを有する（Deuis, J. R., Dvorakova, L. S. & Vetter, I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. Front Mol Neurosci 10, 284, doi:10.3389/fnmol.2017.00284 (2017)、Brenner, D. S., Golden, J. P. & Gereau, R. W. A novel behavioral assay for measuring cold sensation in mice. PLoS One 7, e39765, doi:10.1371/journal.pone.0039765 (2012)）。この方法は実施するのに簡便であるが、応答を促進する最低温度を測定する代わりに、応答の規模を定量化するのみである（Brenner, D. S., Golden, J. P. & Gereau, R. W. A novel behavioral assay for measuring cold sensation in mice. PLoS One 7, e39765, doi:10.1371/journal.pone.0039765 (2012)）。

【００５８】

ヒトでは時々、機能障害の程度は必ずしも組織損傷の程度と相関するわけではない。実際に、挫傷型損傷はしばしば、損傷部に残された組織が存在するにもかかわらず、運動及び感覚の完全な喪失につながる（Oudega, M. Molecular and cellular mechanisms underlying the role of blood vessels in spinal cord injury and repair. Cell Tissue Res 349, 269-288, doi:10.1007/s00441-012-1440-6 (2012)）。処理群間で統計上有意な差はなかったが、エレトリプタンＨｂｒは病変の末端範囲付近での一貫してより高いミエリン維持を促進することを示した。

【００５９】

ＳＣＩ後、軸索再成長を阻害し、同時に、脊髄実質への免疫細胞の浸潤を制限する線維性瘢痕の形成がある（Zhu, Y. et al. Hematogenous macrophage depletion reduces the fibrotic scar and increases axonal growth after spinal cord injury. Neurobiol Dis 74, 114-125, doi:10.1016/j.nbd.2014.10.024 (2015)）。重要なことに

は、周皮細胞由来の瘢痕を適度に阻害すると、創傷治癒が維持され炎症及び反応性アストログリオーシスが低減されるだけでなく、軸索再生が可能となり機能回復が改善される（Dias, D. O. et al. Reducing Pericyte-Derived Scarring Promotes Recovery after Spinal Cord Injury. Cell 173, 153-165.e122, doi:10.1016/j.cell.2018.02.004 (2018)）。

【００６０】

興味深いことに、エレトリプタンＨｂｒは、ＰＤＧＦＲβ^{+}免疫染色レベルの増大の範囲を有意に低減させたが、病変中心におけるＰＤＧＦＲβ^{+}線維性病変コア面積又は範囲は低減させなかったことが本明細書で開示される。

【００６１】

本特許出願において開示されるように、病変範囲の末端において検出されたＰＤＧＦＲβ^{+}レベルの増大は血管を伴い、エレトリプタンＨｂｒが、ＰＤＧＦＲβ^{+}細胞、すなわちＣＤ３１$^{+}$細胞を伴うＰＤＧＦＲβ^{+}の数の増大を有する病変組織の範囲を低減させ、おそらく虚血状態に対する効果を有することが示唆された。

【００６２】

損傷に対する応答において、ミクログリアが活性化され、神経栄養因子の放出及び残屑除去を介して、切断された軸索の再生を可能にする（Brennan, F. H., Hall, J. C. E., Guan, Z. & P.G., P. Microglia limit lesion expansion and promote functional recovery after spinal cord injury in mice. Cold Spring Harbor Laboratory, doi:https://doi.org/10.1101/410258 (2018)）。しかし、炎症性サイトカインの分泌及びフリーラジカルの産生により、神経毒性も促進され得る（Brennan , F. H., Hall, J. C. E., Guan, Z. & P.G., P. Microglia limit lesion expansion and promote functional recovery after spinal cord injury in mice. Cold Spring Harbor Laboratory, doi:https://doi.org/10.1101/410258 (2018)）。

【００６３】

ＳＣＩ修復及び回復に対するミクログリアの非常に重要な役割ゆえに、本発明者らは、炎症過程に対するエレトリプタンＨｂｒの効果を調査することを決定した。興味深いことに、エレトリプタンＨｂｒで処理されたマウスは、より短い突起とともに肥大化を示す、適度に活性化されたミクログリアに特徴的な形態により類似した形態を有するミクログリアを有することを示した（Brennan, F. H., Hall, J. C. E., Guan, Z. & P.G., P. Microglia limit lesion expansion and promote functional recovery after spinal cord injury in mice. Cold Spring Harbor Laboratory, doi:https://doi.org/10.1101/410258 (2018)）。事実、クラスターにおいてアメーバ様形状を有するミクログリアが観察されたが、一部のマウスは脊髄切片において病変中心付近により長い分枝状突起を示した。これは、強力な分子炎症応答に特徴的な（Gaudet, A. D. & Fonken, L. K. Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 554-577, doi:10.1007/s13311-018-0630-7 (2018)）、アメーバ様形態を有する強力に活性化されたミクログリアのみが検出された媒体処理マウスでは観察されなかった。

【００６４】

エレトリプタンＨｂｒは、片頭痛の治療におけるその著しい臨床有効性について公知の、５－ＨＴ１Ｂ、５－ＨＴ１Ｄ及び５－ＨＴ１Ｆ受容体に対して高い親和性を有するセロトニン受容体アゴニストである（Capi, M. et al. Eletriptan in the management of acute migraine: an update on the evidence for efficacy, safety, and consistent response. Ther Adv Neurol Disord 9, 414-423, doi:10.1177/1756285616650619 (2016)）。注目すべきことに、本明細書で初めて、エレトリプタンＨｂｒに対する新たな適応症が開示され、ＳＣＩの２つの異なる（横断再生促進及び挫傷線維化促進）動物モデルにおいてその移動運動回復特性が示される。最後に、他の分子との組合せ療法におけるエレトリプタンＨｂｒ、並びに工学的手法及び特定の時間依存性の介入を伴うエレトリプタンＨｂｒは、ＳＣＩの状況において大きな可能性を有する。

【００６５】
互いに独立に、又は他の特徴の任意の組合せとともにそれぞれ使用可能ないくつかの特徴が以下に記載される。しかし、いずれの個々の特徴も、先に論じられた問題のいずれにも対処しえないか、又は先に論じられた問題のうちの１つにのみ対処可能であり得る。先に論じられた問題のうちのいくつかは、本明細書に記載される特徴のいずれによっても完全には対処できない。見出しは提供されるものの、特定の見出しに関するがその見出しを有するセクションでは見つからない情報が、本明細書の他の箇所で見つかることもある。
【００６６】
実施形態の記載
ここで、本出願の好ましい実施形態が詳細に記載されるが、これらは本出願の範囲を制限することを意図されない。
【００６７】
実施形態１．本特許出願は、脊髄損傷の治療における使用のための、エレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物について開示する。
【００６８】
実施形態２．脊髄損傷後の移動運動機能の改善における使用のための、エレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物。
【００６９】
実施形態３．脊髄損傷が急性期又は亜急性期である、実施形態１による使用のためのエレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物。
【００７０】
実施形態４．脊髄損傷に関連する炎症の調節における使用のための、エレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物。
【００７１】
実施形態５．脊髄組織における血管漏出の保護における使用のための、エレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物。
【００７５】
実施形態６．それを必要とする対象における脊髄損傷を治療する方法であって、前記対象に、治療有効量のエレトリプタン臭化水素酸塩又はその医薬組成物を投与するステップを含む、方法。
【００７７】
実施形態７．対象が温血脊椎動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトである、実施形態６による方法。
【００７８】
エレトリプタンＨｂｒを含む医薬組成物の投与の適切な単位形態には、非制限的な例として、経口的に投与される形態及び非経口経路を介して投与される形態が含まれ、その非制限的な例には、吸入、皮下投与、筋肉内投与、静脈内投与及び皮内投与が含まれる。
【００７９】
一部の実施形態において、経口投与用の医薬組成物は、錠剤、丸剤、散剤、硬ゼラチンカプセル剤、軟ゼラチンカプセル剤、及び／又は顆粒剤の形態であってよい。そのような医薬組成物の一部の実施形態において、開示の化合物及び／又は開示の化合物の薬学的に許容される塩は、１種又は２種以上の不活性な希釈剤と混合され、その非制限的な例には、デンプン、セルロース、スクロース、ラクトース、及びシリカが含まれる。一部の実施形態において、そのような医薬組成物は、（非制限的な例として）、滑沢剤、着色剤、コーティング、又はワニスなどの、希釈剤以外の１種又は２種以上の物質をさらに含んでいてよい。
【００８０】
本明細書において、本発明の実施形態は、実施ごとに異なり得る多くの具体的な詳細に関して記載されている。ゆえに、何が本発明であるか、及び出願者らにより何が本発明であると意図されるかについての単独かつ排他的な指標は、本出願から生じる一連の請求項

であり、それに続く補正を含む、そのような請求項が生じる具体的な形態をとる。そのような請求項に含有される語についての、本明細書で明白に示される定義は、請求項において使用されるそのような語の意味を支配するものとする。したがって、請求項に明白に記載されない制限、要素、特性、特徴、利点又は特質は、いかなる方法によってもそのような請求項の範囲を制限するはずがない。したがって本明細書及び図面は、限定的な意味ではなく例示的なものとみなされるべきである。

（参考文献）

1 Kjell, J. & Olson, L. Rat models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies. Dis Model Mech 9, 1125-1137, doi:10.1242/dmm.025833 (2016).

2 Boutonnet, M., Laemmel, E., Vicaut, E., Duranteau, J. & Soubeyrand, M. Combinatorial therapy with two pro-coagulants and one osmotic agent reduces the extent of the lesion in the acute phase of spinal cord injury in the rat. Intensive Care Med Exp 5, 51, doi:10.1186/s40635-017-0164-z (2017).

3 Donovan, J. & Kirshblum, S. Clinical Trials in Traumatic Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 654-668, doi:10.1007/s13311-018-0632-5 (2018).

4 Duncan, G. J. et al. Locomotor recovery following contusive spinal cord injury does not require oligodendrocyte remyelination. Nat Commun 9, 3066, doi:10.1038/s41467-018-05473-1 (2018).

5 Zhou, X., He, X. & Ren, Y. Function of microglia and macrophages in secondary damage after spinal cord injury. Neural Regen Res 9, 1787-1795, doi:10.4103/1673-5374.143423 (2014).

6 Yilmaz, T. & Kaptanoglu, E. Current and future medical therapeutic strategies for the functional repair of spinal cord injury. World J Orthop 6, 42-55, doi:10.5312/wjo.v6.i1.42 (2015).

7 Picoli, C. C. et al. Pericytes Act as Key Players in Spinal Cord Injury. Am J Pathol 189, 1327-1337, doi:10.1016/j.ajpath.2019.03.008 (2019).

8 O'Shea, T. M., Burda, J. E. & Sofroniew, M. V. Cell biology of spinal cord injury and repair. J Clin Invest 127, 3259-3270, doi:10.1172/JCI90608 (2017).

9 Gaudet, A. D. & Fonken, L. K. Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. Neurotherapeutics 15, 554-577, doi:10.1007/s13311-018-0630-7 (2018).

10 Hausmann, O. N. Post-traumatic inflammation following spinal cord injury. Spinal Cord 41, 369-378, doi:10.1038/sj.sc.3101483 (2003).

11 Bradbury, E. J. & Burnside, E. R. Moving beyond the glial scar for spinal cord repair. Nat Commun 10, 3879, doi:10.1038/s41467-019-11707-7 (2019).

12 Orr, M. B. & Gensel, J. C. Spinal Cord Injury Scarring and Inflammation: Therapies Targeting Glial and Inflammatory Responses. Neurotherapeutics 15, 541-553, doi:10.1007/s13311-018-0631-6 (2018).

13 Cregg, J. M. et al. Functional regeneration beyond the glial scar. Exp Neurol 253, 197-207, doi:10.1016/j.expneurol.2013.12.024 (2014).

14 Zhang, B. et al. Reducing age-dependent monocyte-derived macrophage activation contributes to the therapeutic efficacy of NADPH oxidase inhibition in spinal cord injury. Brain Behav Immun 76, 139-150, doi:10.1016/j.bbi.2018.11.013 (2019).

15 Keirstead, H. S. et al. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury. J Neurosci 25, 4694-4705, doi:10.1523/JNEUROSCI.0311-05.2005 (2005).

16 McTigue, D. M. & Tripathi, R. B. The life, death, and replacement of oligod

endrocytes in the adult CNS. J Neurochem 107, 1-19, doi:10.1111/j.1471-4159.2008.05570.x (2008).
17 Bellver-Landete, V. et al. Microglia are an essential component of the neuroprotective scar that forms after spinal cord injury. Nat Commun 10, 518, doi:10.1038/s41467-019-08446-0 (2019).
18 Anderson, M. A. et al. Astrocyte scar formation aids central nervous system axon regeneration. Nature 532, 195-200, doi:10.1038/nature17623 (2016).
19 Courtine, G. & Sofroniew, M. V. Spinal cord repair: advances in biology and technology. Nat Med 25, 898-908, doi:10.1038/s41591-019-0475-6 (2019).
20 Hall, C. J. et al. Repositioning drugs for inflammatory disease - fishing for new anti-inflammatory agents. Dis Model Mech 7, 1069-1081, doi:10.1242/dmm.016873 (2014).
21 Buckley, C. E. et al. Drug reprofiling using zebrafish identifies novel compounds with potential pro-myelination effects. Neuropharmacology 59, 149-159, doi:10.1016/j.neuropharm.2010.04.014 (2010).
22 Rennekamp, A. J. & Peterson, R. T. 15 years of zebrafish chemical screening. Curr Opin Chem Biol 24, 58-70, doi:10.1016/j.cbpa.2014.10.025 (2015).
23 Early, J. J. et al. An automated high-resolution in vivo screen in zebrafish to identify chemical regulators of myelination. Elife 7, doi:10.7554/eLife.35136 (2018).
24 MacRae, C. A. & Peterson, R. T. Zebrafish as tools for drug discovery. Nat Rev Drug Discov 14, 721-731, doi:10.1038/nrd4627 (2015).
25 Capi, M. et al. Eletriptan in the management of acute migraine: an update on the evidence for efficacy, safety, and consistent response. Ther Adv Neurol Disord 9, 414-423, doi:10.1177/1756285616650619 (2016).
26 Tepper, S. J., Rapoport, A. M. & Sheftell, F. D. Mechanisms of action of the 5-HT1B/1D receptor agonists. Arch Neurol 59, 1084-1088, doi:10.1001/archneur.59.7.1084 (2002).
27 Westerfield, M. The Zebrafish Book: A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (Brachydanio rerio). (2000).
28 Chapela, D. et al. A zebrafish drug screening platform boosts the discovery of novel therapeutics for spinal cord injury in mammals. Sci Rep 9, 10475, doi:10.1038/s41598-019-47006-w (2019).
29 de Esch, C. et al. Locomotor activity assay in zebrafish larvae: influence of age, strain and ethanol. Neurotoxicol Teratol 34, 425-433, doi:10.1016/j.ntt.2012.03.002 (2012).
30 Tep, C. et al. Oral administration of a small molecule targeted to block proNGF binding to p75 promotes myelin sparing and functional recovery after spinal cord injury. J Neurosci 33, 397-410, doi:10.1523/JNEUROSCI.0399-12.2013 (2013).
31 Nair, A. B. & Jacob, S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. J Basic Clin Pharm 7, 27-31, doi:10.4103/0976-0105.177703 (2016).
32 Basso, D. M. et al. Basso Mouse Scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains. J Neurotrauma 23, 635-659, doi:10.1089/neu.2006.23.635 (2006).
33 Deuis, J. R., Dvorakova, L. S. & Vetter, I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. Front Mol Neurosci 10, 284, doi:10.3389/fnmol.2017.00284 (2017).
34 Golden, J. P. et al. RET signaling is required for survival and normal funct

ion of nonpeptidergic nociceptors. J Neurosci 30, 3983-3994, doi:10.1523/JNEUROSCI.5930-09.2010 (2010).
35 Ma, M., Basso, D. M., Walters, P., Stokes, B. T. & Jakeman, L. B. Behavioral and histological outcomes following graded spinal cord contusion injury in the C57Bl/6 mouse. Exp Neurol 169, 239-254, doi:10.1006/exnr.2001.7679 (2001).
36 Hoschouer, E. L., Finseth, T., Flinn, S., Basso, D. M. & Jakeman, L. B. Sensory stimulation prior to spinal cord injury induces post-injury dysesthesia in mice. J Neurotrauma 27, 777-787, doi:10.1089/neu.2009.1182 (2010).
37 Dias, D. O. et al. Reducing Pericyte-Derived Scarring Promotes Recovery after Spinal Cord Injury. Cell 173, 153-165.e122, doi:10.1016/j.cell.2018.02.004 (2018).
38 Brennan , F. H., Hall, J. C. E., Guan, Z. & P.G., P. Microglia limit lesion expansion and promote functional recovery after spinal cord injury in mice. Cold Spring Harbor Laboratory, doi:https://doi.org/10.1101/410258 (2018).
39 Brenner, D. S., Golden, J. P. & Gereau, R. W. A novel behavioral assay for measuring cold sensation in mice. PLoS One 7, e39765, doi:10.1371/journal.pone.0039765 (2012).
40 Oudega, M. Molecular and cellular mechanisms underlying the role of blood vessels in spinal cord injury and repair. Cell Tissue Res 349, 269-288, doi:10.1007/s00441-012-1440-6 (2012).
41 Zhu, Y. et al. Hematogenous macrophage depletion reduces the fibrotic scar and increases axonal growth after spinal cord injury. Neurobiol Dis 74, 114-125, doi:10.1016/j.nbd.2014.10.024 (2015).
42 Khennouf, L. et al. Active role of capillary pericytes during stimulation-induced activity and spreading depolarization. Brain 141, 2032-2046, doi:10.1093/brain/awy143 (2018).
43 Li, Y. et al. Pericytes impair capillary blood flow and motor function after chronic spinal cord injury. Nat Med 23, 733-741, doi:10.1038/nm.4331 (2017).

【図面】

【図１】

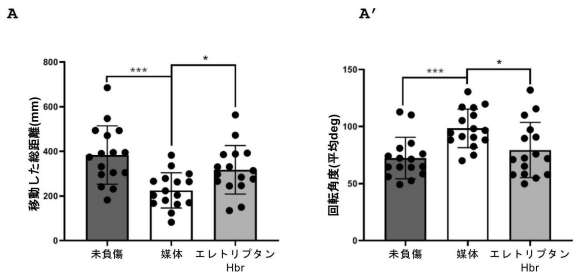


Figure 1

【図２】

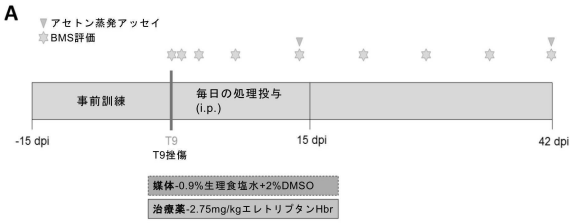


Figure 2

【図３】

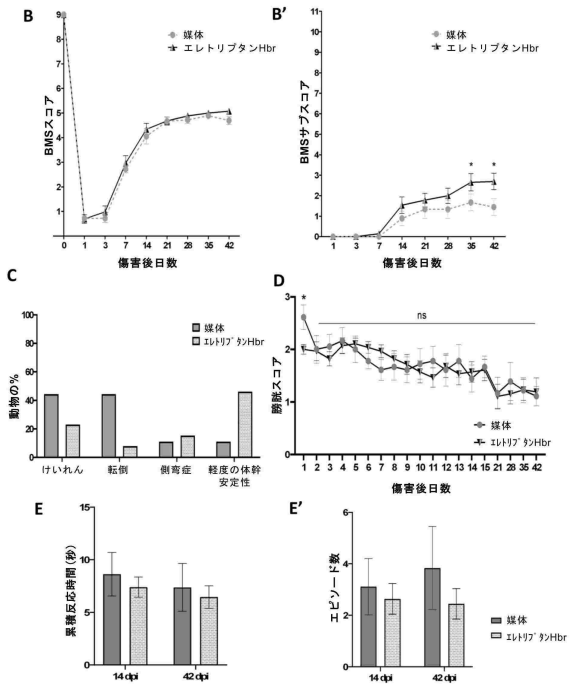


Figure 3

【図４】

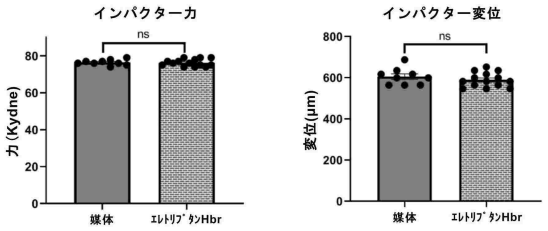


Figure 4

【図５】

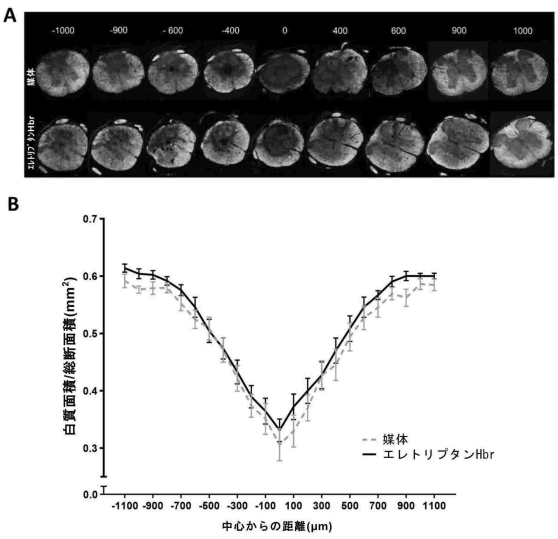


Figure 5

【図６】

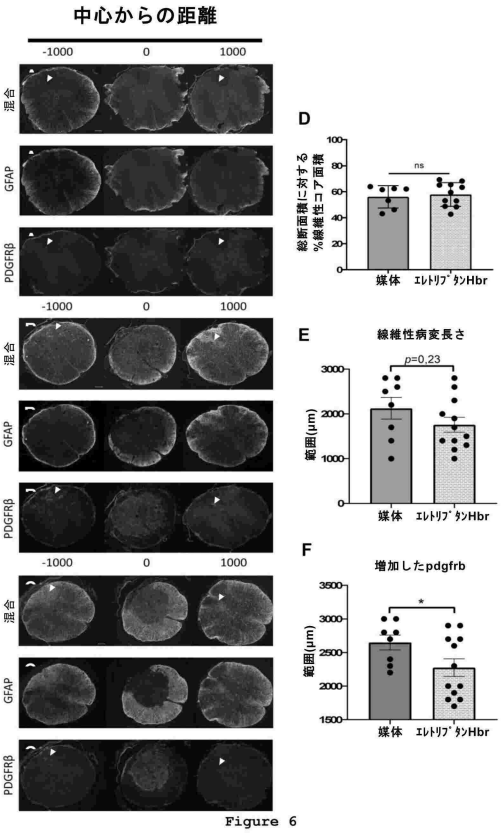


Figure 6

【図７】

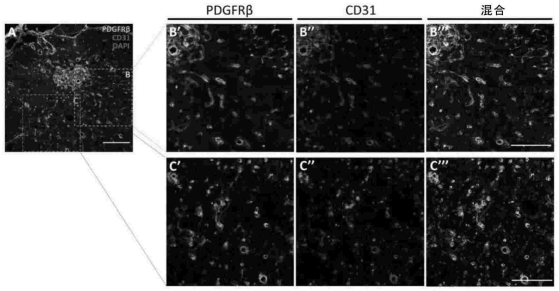
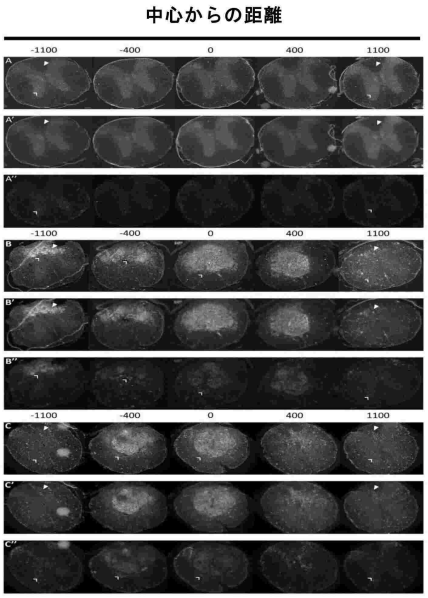


Figure 7

【図８】



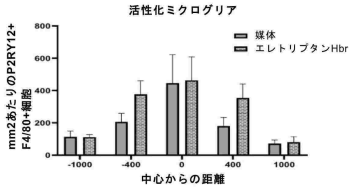


Figure 8

フロントページの続き

ガス・モニス、ウニベルスィダードゥ・デ・リスボア、ファクルダードゥ・デ・メディシナ
Ｆａｃｕｌｄａｄｅ ｄｅ Ｍｅｄｉｃｉｎａ，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｄａｄｅ ｄｅ Ｌｉｓｂｏａ，Ａｖｅｎｉｄａ ｐｒｏｆｅｓｓｏｒ Ｅｇａｓ Ｍｏｎｉｚ，１６４９－０２８ Ｌｉｓｂｏｎ，Ｐｏｒｔｕｇｕｅｓｅ Ｒｅｐｕｂｌｉｃ
(74)代理人　100107984
弁理士　廣田 雅紀
(74)代理人　100182305
弁理士　廣田 鉄平
(74)代理人　100096482
弁理士　東海 裕作
(74)代理人　100131093
弁理士　堀内 真
(74)代理人　100150902
弁理士　山内 正子
(74)代理人　100141391
弁理士　園元 修一
(74)代理人　100221958
弁理士　篠田 真希恵
(74)代理人　100192441
弁理士　渡辺 仁
(72)発明者　シャペラ ドゥアルテ ピレス ディアナ ソフィア
ポルトガル国 リスボア １６４９－０２８ エディフィシオ エガス モニス アヴェニダ プロフェッソール エガス モニス
(72)発明者　ボルケル コルテ－レアル ソフィア マリサ
ポルトガル国 リスボア １６４９－０２８ エディフィシオ エガス モニス アヴェニダ プロフェッソール エガス モニス
(72)発明者　タバレス サウデ マリア レオノール
ポルトガル国 リスボア １６４９－０２８ エディフィシオ エガス モニス アヴェニダ プロフェッソール エガス モニス
(72)発明者　アントゥネス マルティンス イザウラ ヴァネッサ
ポルトガル国 リスボア １６４９－０２８ エディフィシオ エガス モニス アヴェニダ プロフェッソール エガス モニス
(72)発明者　マウリシオ デ ソウザ サラ クリスティーナ
ポルトガル国 リスボア １６４９－０２８ エディフィシオ エガス モニス アヴェニダ プロフェッソール エガス モニス

審査官　工藤 友紀

(56)参考文献
米国特許出願公開第２００８／００６４７２５（ＵＳ，Ａ１）
特表２００８－５１２４３６（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１２／０４８３３０（ＷＯ，Ａ２）
特表２０１４－５０６５８３（ＪＰ，Ａ）
Journal of Neurophysiology，2019年，121:5，1591-1608
Journal of Neurophysiology，2013年，109:6，1485-1493
Journal of Neurophysiology，2016年，116:4，1644-1653
日本薬理学雑誌，2003年，122.1，93-101
伊藤 宏樹 Hiroki ITO，片頭痛治療薬の最近の動向と投与指針 The changing of migraine treatment，医学のあゆみ IGAKU NO AYUMI，第197巻，藤田 勝治 医歯薬出版株式会社
Brain, Behavior, and Immunity，2019年，vol. 76, 1，139 - 150

(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ　３１／４０４

A61P 25/00
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)