

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6806685号  
(P6806685)

(45) 発行日 令和3年1月6日(2021.1.6)

(24) 登録日 令和2年12月8日(2020.12.8)

(51) Int.Cl.	F I	
A 6 1 K 38/10 (2006.01)	A 6 1 K 38/10	Z N A
A 6 1 K 38/08 (2019.01)	A 6 1 K 38/08	
A 6 1 P 39/00 (2006.01)	A 6 1 P 39/00	
A 6 1 P 1/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 O 5
請求項の数 22 (全 93 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-534526 (P2017-534526)	(73) 特許権者	504006087
(86) (22) 出願日	平成27年9月16日 (2015.9.16)		バイオインセプト、エルエルシー
(65) 公表番号	特表2017-529396 (P2017-529396A)		アメリカ合衆国、08003-3157
(43) 公表日	平成29年10月5日 (2017.10.5)		ニュージャージー州、チェリー ヒル、ラ
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/050532		ーク レーン 1697
(87) 国際公開番号	W02016/044493	(74) 代理人	100091096
(87) 国際公開日	平成28年3月24日 (2016.3.24)		弁理士 平木 祐輔
審査請求日	平成30年9月18日 (2018.9.18)	(74) 代理人	100118773
(31) 優先権主張番号	62/051,077		弁理士 藤田 節
(32) 優先日	平成26年9月16日 (2014.9.16)	(74) 代理人	100122389
(33) 優先権主張国・地域又は機関			弁理士 新井 栄一
	米国 (US)	(74) 代理人	100111741
(31) 優先権主張番号	62/113,298		弁理士 田中 夏夫
(32) 優先日	平成27年2月6日 (2015.2.6)	(74) 代理人	100169971
(33) 優先権主張国・地域又は機関			弁理士 菊田 尚子
	米国 (US)		最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 急性放射線症候群を治療するための組成物及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被ばく後の、それを必要とする対象における急性放射線症候群を治療及び／または予防するための、治療有効量の P I F ペプチドまたはその薬学的に許容される塩を含む組成物であって、

前記対象が、骨髄移植を受けず、

前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、もしくは配列番号 29 と少なくとも約 90% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むかもしくはそれからなるペプチド、またはその薬学的に許容される塩を含む、組成物。

【請求項 2】

前記治療有効量が、約 0.10 ミリグラム / キログラム / 日 ~ 約 10.00 ミリグラム / キログラム / 日である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記 P I F ペプチドが、被ばく後約 24 時間以内に投与される、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

前記 P I F ペプチドが、約 2 ～ 約 1 4 日間の期間にわたって、断続的または持続的に投与される、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

前記 P I F ペプチドが断続的に投与され、投与レジメンが、少なくとも約 1 2 週間にわたる約 1 日 1 回または約 2 日毎に 1 回の投与を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

前記 P I F ペプチドが、静脈内、筋肉内、または皮下投与される、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

前記 P I F ペプチドが、間欠注入または持続注入で投与される、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 8】

前記急性放射線症候群が、致死線量または亜致死線量の被ばくによって引き起こされる、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 9】

前記急性放射線症候群が、約 1 0 0 r a d ～ 約 6 0 0 0 r a d の放射線量に対する曝露によって引き起こされる、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 0】

前記急性放射線症候群が、任意の臓器、組織、または細胞に対する損傷を含む、急性被ばくの遅発効果を含む、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 1】

前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、配列番号 2 8、もしくは配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含むかもしくはそれからなるペプチド、またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項 1 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 2】

前記 P I F ペプチドが、被ばく後 2 4 時間以内に投与される、請求項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 3】

被ばく後の急性放射線症候群を有する前記対象における、結腸形態又は結腸陰窩細胞形態を回復させるための、及び／または結腸傷害を逆行させるための、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 4】

それを必要とする対象における急性放射線症候群に伴う胃腸（G I）管の傷害を治療するための、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 5】

それを必要とする対象における急性放射線症候群に伴う胃腸（G I）管の傷害を治療するための、治療有効量の P I F ペプチドまたはその薬学的に許容される塩を含む組成物であって、

前記対象が、骨髄移植を受けず、

前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、配列番号 2 8、もしくは配列番号 2 9 と少なくとも約 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むかもしくはそれからなるペプチド、またはその薬学的に許容さ

10

20

30

40

50

れる塩を含む、組成物。

【請求項 16】

前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、もしくは配列番号 29 のアミノ酸配列を含むもしくはそれからなるペプチド、またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項 15 に記載の組成物。

【請求項 17】

放射線で処置された対象における結腸構造を回復させるための、治療有効量の P I F ペプチドまたはその薬学的に許容される塩を含む組成物であって、  
前記対象が、骨髄移植を受けず、

前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、もしくは配列番号 29 と少なくとも約 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むかもしくはそれからなるペプチド、またはその薬学的に許容される塩を含む、組成物。

【請求項 18】

前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、もしくは配列番号 29 のアミノ酸配列を含むもしくはそれからなるペプチド、またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

放射線で処置された対象における結腸陰窩細胞形態を回復させるための、治療有効量の P I F ペプチドまたはその薬学的に許容される塩を含む組成物であって、  
前記対象が、骨髄移植を受けず、

前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、もしくは配列番号 29 と少なくとも約 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むかもしくはそれからなるペプチド、またはその薬学的に許容される塩を含む、組成物。

【請求項 20】

前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、もしくは配列番号 29 のアミノ酸配列を含むもしくはそれからなるペプチド、またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 21】

放射線で処置された対象における結腸傷害を逆行させるための、治療有効量の P I F ペプチドまたはその薬学的に許容される塩を含む組成物であって、

前記対象が、骨髄移植を受けず、

前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、もしくは配列番号 29 と少なくとも約 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むかもしくはそれからなるペプチド、またはその薬学的に許容される塩を含む、組成物。

#### 【請求項 22】

前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、もしくは配列番号 29 のアミノ酸配列を含むもしくはそれからなるペプチド、またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項 21 に記載の組成物。

#### 【発明の詳細な説明】

#### 【技術分野】

#### 【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、「Methods for Treating Acute Radiation Syndrome」と題される、2014年9月16日に提出された米国仮出願第62/051,077号、「PIF Binding as a Marker for Immune Dysregulation」と題される、2015年2月6日に提出された米国仮出願第62/113,298号、及び「Compositions and Methods for the Treatment of Neurodamage」と題される、2015年8月28日に提出された米国仮出願第62/211,660号の優先権及び利益を主張する。各出願の内容は、それらそれぞれの全体が、参照により本明細書に組み込まれる。

#### 【発明の概要】

#### 【0002】

ある実施形態において、対象が被ばくした後に、それを必要とする対象における急性放射線症候群を治療する方法は、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 から選択される移植前因子 (PIF) ペプチド、その模倣物、及びそれらの組み合わせを治療有効量投与することを含み得る。

#### 【0003】

ある実施形態において、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 から選択される P I F ペプチド、その模倣物、及びそれらの組み合わせを治療有効量含む薬学的組成物が、急性放射線症候群の治療のために使用され得る。

#### 【0004】

ある実施形態において、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、

10

20

30

40

50

配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、配列番号 2 8、配列番号 2 9 から選択される P I F ペプチド、その模倣物、及びそれらの組み合わせを治療有効量含む薬学的組成物が、急性放射線症候群を治療するための薬物の製造のために使用され得る。

【 0 0 0 5 】

ある実施形態において、被ばく後の急性放射線症候群を治療する方法は、それを必要とする対象に 1 つまたは複数の骨髄細胞を移植することを含み得、この骨髄細胞は、移植前に、治療有効量の P I F ペプチドに前曝露され、この P I F ペプチドは、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 1 0、配列番号 1 1、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、配列番号 2 8、配列番号 2 9、その模倣物、及びそれらの組み合わせから選択される。

10

【 0 0 0 6 】

ある実施形態において、心臓障害または心不全を治療及び / または予防する方法は、それを必要とする対象に 1 つまたは複数の心臓細胞を移植することを含み得、この心臓細胞は、移植前に、治療有効量の P I F ペプチドに前曝露され、この P I F ペプチドは、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 1 0、配列番号 1 1、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、配列番号 2 8、配列番号 2 9、その模倣物、及びそれらの組み合わせのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせから選択される。

20

【 0 0 0 7 】

ある実施形態において、副腎細胞障害を治療及び / または予防する方法は、それを必要とする対象に 1 つまたは複数の副腎細胞を移植することを含み得、この副腎細胞は、移植前に、治療有効量の P I F ペプチドに前曝露され、この P I F ペプチドは、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 1 0、配列番号 1 1、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、配列番号 2 8、配列番号 2 9、その模倣物、及びそれらの組み合わせのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせから選択される。

30

【 0 0 0 8 】

ある実施形態において、血液障害を治療及び / または予防する方法は、それを必要とする対象に 1 つまたは複数の造血細胞を移植することを含み得、この造血細胞は、移植前に、治療有効量の P I F ペプチドに前曝露され、この P I F ペプチドは、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 1 0、配列番号 1 1、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、配列番号 2 8、配列番号 2 9、その模倣物、及びそれらの組み合わせのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせから選択される。

40

【 0 0 0 9 】

ある実施形態において、移植を必要とする対象に臓器、組織、または細胞を移植する前に、その生存度を増加させる方法は、この臓器、組織、または細胞を、移植前に、治療有効量の P I F ペプチドで処理することを含み得、この P I F ペプチドは、配列番号 1、配

50

列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、その模倣物、及びそれらの組み合わせのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせから選択される。

【0010】

ある実施形態において、対象へのドナー臓器、組織、または細胞の移植片の受け入れの可能性を増加させる方法は、この臓器、組織、または細胞を対象に移植する前に、この臓器、組織、または細胞を、少なくとも 1 つの P I F ペプチド、またはその変異体、またはその薬学的に許容される塩を含む 1 つ以上の組成物に曝露することを含み得、この P I F ペプチドは、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、その模倣物、及びそれらの組み合わせのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせから選択される。

【0011】

ある実施形態において、生着される組織の拒絶の可能性を低減する方法は、この組織を対象に移植する前に、生着される組織を、少なくとも 1 つの P I F ペプチド、またはその変異体、またはその薬学的に許容される塩を治療有効量含む 1 つ以上の薬学的組成物に曝露することを含み得、この P I F ペプチドは、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、その模倣物、及びそれらの組み合わせのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせから選択される。

【0012】

対象における造血細胞の生産を増加させる方法は、少なくとも 1 つの P I F ペプチド、またはその変異体、またはその薬学的に許容される塩を治療有効量含む 1 つ以上の薬学的組成物を投与することを含み得、この P I F ペプチドは、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、その模倣物、及びそれらの組み合わせのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせから選択される。

【0013】

移植された臓器、組織、または細胞の生着が成功する可能性を増加させる方法は、それを必要とする対象に臓器、組織、または細胞を移植することを含み得、この臓器、組織、または細胞は、移植前に、P I F ペプチドに前曝露され、この P I F ペプチドは、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、その模倣物、及びそれらの組み合わせのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせから選択される。

【0014】

成人型または若年型のⅠ型またはⅠⅠ型糖尿病を治療及び／または予防する方法は、それを必要とする対象に１つまたは複数の膵島細胞を移植することを含み得、この島細胞は、移植前に、治療有効量のＰＩＦペプチドに前曝露され、このＰＩＦペプチドは、配列番号１、配列番号２、配列番号３、配列番号４、配列番号５、配列番号６、配列番号７、配列番号８、配列番号９、配列番号１０、配列番号１１、配列番号１２、配列番号１３、配列番号１４、配列番号１５、配列番号１６、配列番号１７、配列番号１８、配列番号１９、配列番号２０、配列番号２１、配列番号２２、配列番号２３、配列番号２４、配列番号２５、配列番号２６、配列番号２７、配列番号２８、配列番号２９、その模倣物、及びそれらの組み合わせのうちの１つまたはそれらの組み合わせから選択される。

【００１５】

10

上記実施形態のいずれにおいても、対象は、骨髄移植（ＢＭＴ）を受けても受けなくてもよい。上記実施形態のいずれにおいても、急性放射線症候群は、致死線量または亜致死線量の被ばくによって引き起こされ得る。上記実施形態のいずれにおいても、急性放射線症候群は、約１００ｒａｄ～約６０００ｒａｄの放射線量に対する曝露によって引き起こされ得る。上記実施形態のいずれにおいても、急性放射線症候群は、任意の臓器、組織、または細胞に対する損傷を含む、急性被ばくの遅発効果を含んでも含まなくてもよい。

【００１６】

ある実施形態において、移植片受容者の、ドナー組織の受け入れの可能性を増加させる方法は、組織を受容者に移植する前に、ＰＩＦペプチドまたはその変異体を含む１つ以上の組成物に、ドナー組織を曝露することを含み得る。

20

【００１７】

ある実施形態において、生着される組織の拒絶の可能性を低減する方法は、組織を移植する前に、この組織を、ＰＩＦペプチドまたはその変異体を治療有効量含む１つ以上の薬学的組成物に曝露することを含み得る。

【００１８】

ある実施形態において、造血細胞の数が欠乏している対象における造血細胞の生産を増加させる方法は、ＰＩＦペプチドまたはその変異体を治療有効量含む１つ以上の薬学的組成物を投与することを含み得る。一部の実施形態において、造血細胞は、赤血球であり得る。一部の実施形態において、造血細胞は、血小板であり得る。

【００１９】

30

一部の実施形態において、少なくとも１つのＰＩＦペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を対象に投与するステップは、少なくとも１つのＰＩＦ分子、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を治療有効用量投与することを含む。

【００２０】

一部の実施形態において、少なくとも１つのＰＩＦペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を対象に投与するステップは、ＰＩＦペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を、約０．００１ｍｇ／ｋｇ～約２００ｍｇ／ｋｇの治療有効用量投与することを含む。

【００２１】

一部の実施形態において、少なくとも１つのＰＩＦペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を対象に投与するステップは、ＰＩＦペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を、約０．５ｍｇ／ｋｇ～約５ｍｇ／ｋｇの治療有効用量投与することを含む。

40

【００２２】

一部の実施形態において、ＰＩＦペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩は、化学標的部分（chemical targeting moiety）及び／または放射性部分（radioactive moiety）を含む。

【００２３】

一部の実施形態において、カテニンの核転座の少なくとも１つの阻害剤またはその薬学的に許容される塩は、以下の同位体のうちの少なくとも１つまたはそれらの組み合わせ

50

を含む少なくとも1つの放射性部分を含む： $^2\text{H}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{16}\text{O}$ 、 $^{17}\text{O}$ 、 $^{31}\text{P}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、及び $^{36}\text{Cl}$ 。

【0024】

一部の実施形態において、本方法は、少なくとも1つの鎮痛剤及び/または1つの抗炎症性化合物を投与することを更に含む。

【0025】

一部の実施形態において、本方法は、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を治療有効用量投与する前に、それを投与した後に、あるいはその投与と同時に、少なくとも1つの鎮痛剤及び/または1つの抗炎症性化鉍物を投与することを更に含む。

【0026】

一部の実施形態において、治療有効用量は、約1.0mg/kg～約5.5mg/kgであり、ここでkgは対象のキログラムであり、mgは治療有効用量のミリグラムである。

【0027】

一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号1、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号2、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号3、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号4、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号5、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号6、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号7、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号8、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号9、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号10、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号11、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号12、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号13、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号14、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号15、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号16、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び/またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、配列番号17、その模倣

10

20

30

40

50



倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 18、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 19、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 20、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 21、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 21、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 22、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 23、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 24、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 25、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 26、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 27、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 28、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、配列番号 29、その模倣物、もしくはその薬学的に許容される塩、及び／またはそれらの組み合わせを含む。

10

20

#### 【0028】

本開示はまた、それを必要とする対象における急性放射線症候群を治療または予防する方法に関し、本方法は、移植前因子 (P I F) ペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む、少なくとも 1 つの薬学的組成物を対象に投与することを含む。

#### 【0029】

一部の実施形態において、この薬学的に許容される担体は、無菌であり、かつ発熱物質を含まない水である。

30

#### 【0030】

一部の実施形態において、P I F ペプチド、またはその類似体、またはその薬学的に許容される塩のうちの 1 つまたはそれらの組み合わせの治療有効用量は、約 0.2 mg / kg であり、ここで kg は対象のキログラムであり、mg は治療有効用量のミリグラムである。一部の実施形態において、P I F ペプチド、またはその類似体、またはその薬学的に許容される塩のうちの 1 つまたはそれらの組み合わせの治療有効用量は、約 0.3 mg / kg であり、ここで kg は対象のキログラムであり、mg は治療有効用量のミリグラムである。一部の実施形態において、P I F ペプチド、またはその類似体、またはその薬学的に許容される塩のうちの 1 つまたはそれらの組み合わせの治療有効用量は、約 0.4 mg / kg であり、ここで kg は対象のキログラムであり、mg は治療有効用量のミリグラムである。一部の実施形態において、P I F ペプチド、またはその類似体、またはその薬学的に許容される塩のうちの 1 つまたはそれらの組み合わせの治療有効用量は、約 0.5 mg / kg であり、ここで kg は対象のキログラムであり、mg は治療有効用量のミリグラムである。一部の実施形態において、P I F ペプチド、またはその類似体、またはその薬学的に許容される塩のうちの 1 つまたはそれらの組み合わせの治療有効用量は、約 0.6 mg / kg であり、ここで kg は対象のキログラムであり、mg は治療有効用量のミリグラムである。一部の実施形態において、P I F ペプチド、またはその類似体、またはその薬学的に許容される塩のうちの 1 つまたはそれらの組み合わせの治療有効用量は、約 0.

40

50

40

50

I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 3 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 4 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 5 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 6 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 7 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 8 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 9 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 10 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 11 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 12 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 13 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、約 14 日間、断続的または持続的に投与され得る。一部の実施形態において、P I F ペプチド、その模倣物、またはそれらの組み合わせは、断続的に投与され得、投与レジメンは、少なくとも約 12 週間にわたる約 1 日 1 回または約 2 日毎に 1 回の投与を含む。

10

20

**【 0 0 3 2 】**

本開示はまた、( i ) 治療有効用量の、P I F ペプチド、もしくはその類似体、もしくはその薬学的に許容される塩のうちの 1 つ、またはそれらの組み合わせと、( i i ) 薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物に関する。

**【 0 0 3 3 】**

一部の実施形態において、この薬学的に許容される担体は、無菌であり、かつ発熱物質を含まない水または乳酸リンゲル液である。

**【 0 0 3 4 】**

一部の実施形態において、本組成物は更に、1 つまたは複数の活性薬剤を治療有効用量含む。

30

**【 0 0 3 5 】**

一部の実施形態において、この 1 つまたは複数の活性薬剤は、抗炎症化合物、アドレナリン受容体作動薬、抗不整脈化合物、鎮痛性化合物、及び美的化合物 ( a e s t h e t i c c o m p o u n d ) から選ばれる化合物のうちの 1 つ、またはそれらの組み合わせである。

**【 0 0 3 6 】**

一部の実施形態において、本組成物は更に、1 つまたは複数の幹細胞を含む。

**【 0 0 3 7 】**

一部の実施形態において、この幹細胞は、自己幹細胞である。

40

**【 0 0 3 8 】**

一部の実施形態において、本薬学的組成物は、非経口注射、皮下注射、静脈内注射、筋肉内注射、腹腔内注射を介して、経皮的に、経口的に、口腔に、眼球の経路で、腔内に、吸入によって、蓄積注射によって、または留置剤によって投与される。

**【 0 0 3 9 】**

一部の実施形態において、本組成物は更に、抗炎症化合物、- アドレナリン受容体作動薬、抗不整脈化合物、鎮痛性化合物、及び麻醉性化合物から選ばれる活性薬剤のうちの 1 つ、またはそれらの組み合わせを含む。

**【図面の簡単な説明】****【 0 0 4 0 】**

50

【図 1 A】P I F が、致死線量の被ばくから保護することを示す。図 1 A：P I F で 1 日 2 回、8 G y 放射線被ばく後 2 時間から開始して 1 4 日間にわたって治療されたマウス (C 5 7 B L / 6、 $n = 36$ ) は、100%の生存率を有していた。対照マウス ( $n = 14$ ) は、放射線 (P B S、ビヒクル) を受けたが、治療は受けず、A R S を発達させて 2 3 日目までに死亡した。図 1 B：雌マウス ( $n = 18$ 、雄の場合と同様の結果) を、P I F で 1 日 2 回 (低用量：0.75 mg / kg、高用量：1.25 mg / kg)、8 G y 放射線被ばく後 2 時間から開始して 1 4 日間にわたって治療した。重要なことに、P I F 治療群は、正常な血液学的指標を呈し、造血及び免疫機能に対する P I F の保護効果が示された。免疫保護は、リンパ球及び好中球の数の維持によって証明された。加えて、ヘマトクリットレベル及び血小板数の両方が、P I F 治療群において保存された。P I F が、致死線量の被ばくから保護することを示す。図 1 C、1 D、及び 1 E：対照、低用量、及び高用量 P I F 治療の効果を、それぞれ、0 ~ 1 9 日目の免疫表現型、R B C、及び血小板に関して示す。関連する図面の省略形：W B C = 白血球、N E = 好中球、L Y = リンパ球、M O = 単球、E O = 好酸球、B A = 好塩基球、R B C = 赤血球、H B = ヘモグロビン、H C T = ヘマトクリット、M C V = 平均血球体積、M C H = 平均血球ヘモグロビン、M C H C = 平均血球ヘモグロビン濃度、P L T = 血小板、M P V = 平均血小板体積。

10

【図 1 B】図 1 A の続きである。

【図 1 C - 1】図 1 A の続きである。

【図 1 C - 2】図 1 A の続きである。

【図 1 C - 3】図 1 A の続きである。

20

【図 1 C - 4】図 1 A の続きである。

【図 1 D - 1】図 1 A の続きである。

【図 1 D - 2】図 1 A の続きである。

【図 1 D - 3】図 1 A の続きである。

【図 1 D - 4】図 1 A の続きである。

【図 1 E - 1】図 1 A の続きである。

【図 1 E - 2】図 1 A の続きである。

【図 1 E - 3】図 1 A の続きである。

【図 1 E - 4】図 1 A の続きである。

【図 2 A】照射後の生存曲線を示す。マウスは、様々な線量の全身照射を受けた。生存率を、照射後 30 日間にわたって監視した。6 ~ 7 G y において、全てのマウスは 30 日目に生存していた。図 2 B は、P I F が、亜致死線量の照射に続いて血小板数を改善することを示す。6 G y ~ 8 G y 照射線量への被ばくに続いて、P I F での 2 4 時間持続治療を 2 週間にわたって開始し、続いて 1 週間の後治療を行った。P I F 治療の効果を、P B S 対照と比較した。血小板数を決定し、6 G y、7 G y、及び 8 G y 照射に関して示す。

30

【図 2 B】図 2 A の続きである。

【図 3 A】P I F が、亜致死線量の照射後に血液学的回復を増強することを示す。マウスに 6 G y 線量を照射し、1 mg / kg / 日の P I F または P B S のいずれかを、照射後 2 4 時間から開始して 2 週間にわたって持続的に投与した。この実験のプロトコルを図 3 A に記載する。照射されたマウスの W B C 再構成のフォローアップを図 3 B に示す。照射後 2 週間及び 4 週間の W B C 数を図 3 C に示す。照射後 4 週間のリンパ球及び顆粒球のパーセンテージを図 3 D に示す。結果は、2 ~ 3 つの独立した実験を表す。\*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.01$ 。

40

【図 3 B】図 3 A の続きである。

【図 3 C】図 3 A の続きである。

【図 3 D】図 3 A の続きである。

【図 4 A】P I F が、亜致死線量の照射後に炎症を低減し、B 7 H 1 の発現を増強することを示す。マウスに 6 G y 線量または 7 G y 線量のいずれかで照射した。0.75 mg / kg の P I F または P B S のいずれかを、照射後 2 4 時間から開始して 1 日 2 回、3 日間にわたって皮下的に投与した。この実験のプロトコルを図 4 A に記載する。実験マウスの

50

血清中のIL-1及びIL-2のレベルを、6 Gy群及び7 Gy群に関してFlow Cytomix Multiplexキットにより測定した。結果を、図4 B及び4 Cにそれぞれ示す。結腸内のiNOS及びB7H1 mRNA発現に関するqPCR解析を行った。結果を、図4 D及び4 Eにそれぞれ示す。結果は、2つの独立した実験を表す。 $*P < 0.05$ 、 $**P < 0.01$ 。

【図4 B】図4 Aの続きである。

【図4 C】図4 Aの続きである。

【図4 D】図4 Aの続きである。

【図4 E】図4 Aの続きである。

【図5 A】実験のスケッチを示す。

10

【図5 B】図5 Bは、亜致死線量6 Gy照射及び遺伝子発現（マクロ）後24時間及び48時間で開始されるsPIFの効果を比較して、結腸陰窩組織像においてsPIFの効果を試験したことを示す。

【図5 C】図5 Cは、PBS及び正常マウスと比較して、sPIFの効果の統計図表を示す。図5 Cは、PBSと比較して、2つの時点の陰窩深度におけるsPIFの効果が、正常な結腸内で見られるものへと著しく回復されたことを示す。

【図5 D】図5 Dの統計解析は、PIFが結腸傷害を逆行させ、正常なマウスとの差異がないことを明示する。

【図5 E】5 Eは、qPCR B7H1の発現が、正常及びPBSと比較して、増加したB7H1により、PBS保護に対して同様に増加したことを示す。結果は、2つの独立した実験を表す。 $*P < 0.05$ 、 $**P < 0.01$ 。

20

【図6 A】PIFが、致死線量照射及び半同種BMT後に造血を改善することを示す。マウスに10 Gy線量を照射し、続いて半同種BMTを行った。1 mg/kg/日のPIFまたはPBSのいずれかを、照射後24時間から開始して2週間にわたって持続的に投与した。この実験のプロトコルを図6 Aに記載する。照射及び移植後3週間の各群のWBC数を図6 Bに示す。照射後3週間のリンパ球及び顆粒球のパーセンテージを図6 Cに示す。正常、PBS治療、及びPIF治療マウスにおけるBMの細胞充実性レベルに関する大腿骨の組織学的検査を、図6 D、6 E、及び6 Fにそれぞれ示す。12匹のマウスから1つの代表的な写真。0.75 mm<sup>2</sup>断片の大腿骨髓内の脂肪細胞の数を図6 Gに示す。結果は、2つの独立した実験を要約する（図6 D）。 $*P < 0.05$ 、 $****P < 0.0001$ 。

30

【図6 B】図6 Aの続きである。

【図6 C】図6 Aの続きである。

【図6 D】図6 Aの続きである。

【図6 E】図6 Aの続きである。

【図6 F】図6 Aの続きである。

【図6 G】図6 Aの続きである。

【図7 A】PIFで前治療されたBMが、致死線量の照射及び異種BMT後に血液学的回復を増強することを示す。ドナーBM細胞を、PIFで移植前に2時間にわたってインキュベートした。マウスに10 Gy線量を照射し、続いてPIFで前治療されたBMの移植片を異種BMT移植した。このマウスに追加の治療を付与しなかった。この実験のプロトコルを図7 Aに記載する。照射及び移植後3週間（図7 B）及び4週間（図7 C）のWBC及びリンパ球数を示す。結果は、3つの独立した実験を表す。 $*P < 0.05$ 。図3 Dは、大腿骨を示す。図3 E、3 F、及び3 Gは、PIFが、間葉系幹細胞（MSC）の調節機能を増強することを示す。抗CD3抗体で活性化されたCFSE染色マウス脾細胞を、以前にPIFで（2時間）インキュベートしたMSCまたは対照と共に、4日間にわたって（50：1の比で）培養した。細胞増殖を、フローサイトメトリーを使用して解析した。図3 Gのグラフは、対照（MSCを含まない活性化脾細胞）と比較して、増殖細胞の%、3つの実験の要約を示す。H PIFは、PBSと比較して、移植後の重量回復を促進する（ $*P < 0.05$ ）。

40

50

【図 7 B】図 7 A の続きである。

【図 7 C】図 7 A の続きである。

【図 7 D】図 7 A の続きである。

【図 7 E】図 7 A の続きである。

【図 7 F】図 7 A の続きである。

【図 7 G】図 7 A の続きである。

【図 8 A】P I F が、M 1 マクロファージ分化を、M 2 様表現型にシフトさせることを示す。腹腔マクロファージを、M 1 分化の場合は G M - C S F ( 1 0 n g / m L ) 及び L P S ( 1 0 n g / m L ) と共に、または M 2 分化の場合は、M - C S F ( 1 0 n g / m L ) 及び I L - 4 ( 1 0 n g / m L ) と共に、20 時間にわたって P I F の存在下または不在 10  
下のいずれかで培養した。分化した細胞の i N O S ( 図 8 A )、C O X - 2 ( 図 8 B )、及びアルギナーゼ ( 図 8 C ) m R N A 発現の q P C R 解析を行った。F A C S 解析による F 4 8 0 ( 図 8 D ) 及び C D 1 1 b ( 図 8 E ) の M 1 マクロファージ g M F I の % を示す。結果は、5 ~ 6 つの独立した実験を表す。\* P < 0 . 0 5、\*\* P < 0 . 0 1、\*\*\* P < 0 . 0 0 1。

【図 8 B】図 8 A の続きである。

【図 8 C】図 8 A の続きである。

【図 8 D】図 8 A の続きである。

【図 8 E】図 8 A の続きである。

【図 9 A】C D 1 6 / 3 2 ( 図 2 A ) 及び C D 2 0 6 ( 図 2 B ) の F A C S 解析を示す。 20  
腹腔マクロファージを、M 1 分化の場合は G M - C S F ( 1 0 n g / m L ) 及び L P S ( 1 0 n g / m L ) と共に、または M 2 分化の場合は、M - C S F ( 1 0 n g / m L ) 及び I L - 4 ( 1 0 n g / m L ) と共に、20 時間にわたって培養した。実線は M 1 を表し、破線は M 2 マクロファージを表す。4 つの独立した実験から 1 つの代表的な図面。

【図 9 B】図 9 A の続きである。

【図 1 0】包括的結腸ゲノムのヒートマップ及びクラスター解析を示す。濃い灰色は、治療または条件の組と比較して、発現の相対減少を表す。薄い灰色は、その条件の治療と比較して、発現の増加を表す。縦列 1 は、被ばく + s P I F の存在下での遺伝子の発現と、被ばく単独での治療の存在下での遺伝子の発現とを比較する、遺伝子発現のヒートマップを示す。縦列 2 は、負の対照 ( P B S ) 動物からの遺伝子発現と、被ばくで治療された動物からの遺伝子発現との相対量の比較解析を示す。縦列 3 は、未治療のマウスと比較して、被ばくと共に s P I F によって引き起こされた相対遺伝子発現変化を示す。いくつかの経路が影響を受けた。遺伝子は、s P I F によって最も影響を受け、遺伝子は、ミトコンドリア機能と関連付けられ遺伝子は、ストレスに対する応答と関連付けられ、遺伝子は、タンパク質 - R N A 相互作用と関連付けられた。 30

【図 1 1】P I F の結合パートナーである、I D E の P I F 突然変異体の分化シフトアッセイ解析に関するデータを示す。P I F 突然変異体 1 及び 3 は、インスリン分解酵素 ( I D E ) に結合する。

【図 1 2】P I F の結合パートナーである、K v 1 . 3 の P I F 突然変異体の分化シフトアッセイ解析に関するデータを示す。下パネルは、10 マイクロモル濃度の P I F 突然変異体 ( 左側 ) 対 20  $\mu$  モル濃度の P I F ( 右側 ) における T m の変化を示す。 40

【図 1 3】ラットにおける長期的な致死線量 50 G y 被ばくに対する効果を試験するために、P I F の注入を使用する実験プロトコルを示す。いつどのように臓器移植が評価されるかを説明するプロトコル及び投薬レジメンのフローチャートを示す。

【図 1 4】ラットにおける 19 週間の研究までの体重に対する、致死線量の被ばくに続く P I F 治療の効果を示す。P I F は、P B S と対比して、実験の最後にラット重量を増加させる ( \* < 0 . 0 5 )。ナイーブマウスの一元配置 A N O V A ( 分散分析 ) プロットを示し、マウスに X 線を照射し、P I F で治療した。n = 9 ~ 12 マウス。ホルム・シダック事後検定を、< 0 . 0 5 の信頼区間で行った。照射された P I F 治療動物は、照射されただけの動物よりも体重において高得点を得た。 50

【図15】22週間にわたって測定された期間で対照と比較して、PIF治療動物のカプラン・マイヤー曲線を示す。致死線量の被ばくが続くPIF治療ラットの生存曲線を示す。対照との差異は認められなかった。対照、開始：n = 12、終了：n = 12 X線、開始：n = 12、終了：n = 10 PIF、開始：n = 10、終了：n = 9

【図16】マウスの左室壁厚さ及び直径を示す。超音波検査を受けて、心機能の画像を示す。

【図17】超音波検査結果：体重に対して正規化された左室を形態学的に示す。これらの結果は、PIFが、5ヶ月目に左室肥大を改善することを示す。BW：体重、AWTs：前壁厚さ - 収縮期、AWTd：前壁厚さ - 拡張期、PWTs：後壁厚さ - 収縮期、PWTD：後壁厚さ - 拡張期、SWTs：隔壁厚さ - 収縮期、SWTd：隔壁厚さ - 拡張期。二元反復測定ANOVAは全て多重対比較。ホルム・シダック事後検定；対対照、 $p < 0.05$ 、#対X線、 $p < 0.05$ 群と時間因子との間の有意な相互作用（ $n = 9 \sim 12$ ）。致死線量の被ばくが続く心指標のPIF効果を示す。PIFは、PBS壁厚さと比較して、収縮機能及び拡張機能の両方を改善する。

【図18】5ヶ月目の臓器重量及び長さ - 体重、心臓重量、脛骨長を示す。順位に基づく一元ANOVA、全て対。ホルム・シダック事後検定。\*対対照、 $p < 0.05$ 、#対X線、 $p < 0.05$ 、 $n = 9 \sim 12$ 。致死線量の被ばくが続くラット重量指標に対するPIF効果を示し、PBSと対比してラットの重量を増加させることを明示する。

【図19】5ヶ月目の臓器重量 - 胸膜液、肺、腎臓、肝臓、及び胸腺重量を示す。順位に基づく一元ANOVA、全て対。ホルム・シダック事後検定、\*対対照、 $p < 0.05$ 、#対X線、 $p < 0.05$ 、 $n = 9 \sim 12$ 。致死線量の被ばくが続くラット臓器重量に対するPIF効果を示す。PIFは、腎臓成長を促進する。

【図20】未治療の細胞と比較して、副腎細胞培養物に対するPIFの効果を示す。PIFで治療されたBAC細胞は、PIFに前被ばくされたとき、培養中の増加した生存度を有し、ウシ副腎細胞（一次）生存度、アポトーシス、及び増殖に対するPIF効果を示す。

【図21】ウシ副腎細胞（一次）コルチゾール分布に対するPIF効果を示す。BAC副腎細胞に対するPIFの効果は、基礎コルチゾール分泌と関連する。コルチゾールレベルは、PIFが培養中に細胞に被ばくされると増加する。

【図22】培養中のINS-1（ラット島インスリン生成細胞）に対するPIFの効果を示す。細胞生存度は、未治療のままのINS-1細胞と比較して、培養中に増加する。0.01、0.1、及び1.0マイクログラム/mLの培養培地におけるPIFの線量を治療に使用した。PIFは、インスリノーマ細胞生存度、ならびに生存度を促進することを示す。

【発明を実施するための形態】

【0041】

急性放射線症候群（ARS）は、放射線病としても知られるが、身体全体または身体の一部に対する高線量の照射の後に生じる。被ばくは、骨髄の完全崩壊、胃腸（GI）管の粘膜障壁及び陰窩への損傷、皮膚火傷、ならびに中枢神経系傷害を引き起こし得、不可逆的な神経学的及び心血管損傷、最終的には死につながる。被ばくは、造血細胞等の急速ターンオーバー細胞に特に有害であり、リンパ球は、枯渇する最初の下位系統である。個々の臓器損傷を監視することができるが、ARSに関するより好適な見解は、全身炎症反応によって引き起こされる多臓器不全症候群の概念である。多くの報告が、炎症誘発性サイトカインの放射線により誘発された生成が、血液及び末梢リンパ系組織における放射線療法関連傷害に寄与することを示している。

【0042】

イオン化放射線により誘発された傷害の複雑性を考慮すると、有効なARS療法が欠けている。治療のための現在の臨床アプローチは、炎症メディエーターの生成を阻害し、炎症反応の開始を抑制することである。現在の管理としては、輸血、流体及び電解質投与、抗生物質、ならびに抗ウイルス療法が挙げられる。これらの治療は、広汎性免疫抑制を引

10

20

30

40

50

き起こし、患者を日和見感染の危険に置く。血球減少の患者は、顆粒球コロニー刺激因子または顆粒球マクロファージコロニー刺激因子を受けて、低線量被ばくが続いて有効な残留造血前駆細胞から免疫系を再集合させる。不応答者及び続く致死線量の被ばくは、造血幹細胞移植（H S C T）を必要とする。しかしながら、かかる移植は、しばしば免疫抑制薬の過小または過剰使用に起因して、移植片対白血球（G V L）効果の低下に加えて、有害な移植片対宿主病（G V H D）につながる。A R Sは、現在、限られた対策しか有していない。

#### 【 0 0 4 3 】

骨髄移植（B M T）は、血液学的悪性疾患及び遺伝性血球障害、例えば、限定されないが、リンパ腫、リンパ球性白血病、骨髄腫、白血病、貧血症、血友病、地中海貧血症、鎌状赤血球症、多発性硬化症、強皮症、脊髄形成異常症候群、及び骨髄増殖性疾患のための治療として使用され得る。自家（自己）及び同種（ドナー）の2種類の骨髄移植が存在する。

10

#### 【 0 0 4 4 】

骨髄以外の臓器、組織、または細胞の移植を使用して、A R Sによって起こり得る多臓器不全を含む、受容者の様々な生理学的欠陥を治療することもできる。かかる臓器、組織、または細胞としては、皮膚、脳、心臓、肺、腎臓、胃腸管、脾臓、肝臓、膵臓、膵島細胞、副腎、及びそれらの組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

#### 【 0 0 4 5 】

対象が移植を必要とする場合、自家移植、同種移植、半同種移植、または異種移植が使用されてもよい。異種移植の場合において、例えば、移植に使用可能なヒト臓器の現在の大幅な不足に起因して、ブタドナーからの島細胞または他の細胞、臓器、もしくは組織が移植されてもよい。移植のための臓器、組織、または細胞の完全適合は、移植拒絶反応、または骨髄の場合は生着の失敗、または逆に移植片対宿主疾患（G V H D）の発達を予防するための主要な追及事項である。しかしながら、現在の療法は限られ、生着不全及び他の主要な合併症が依然として起こっている。免疫抑制剤の導入は、移植の分野を著しく進歩させ、患者の長期的な回復を可能にするが、患者は、生涯にわたる免疫抑制剤療法を必要とし、これが毒性副作用と関連付けられる。

20

#### 【 0 0 4 6 】

標的臓器もしくは細胞を苦しめる疾患が寛解期にある場合、または治療される病態が標的臓器、組織、もしくは細胞に関与しない場合は、自家移植が可能であり得る。B M Tを含む自家移植において、組織は、移植前に患者から抽出され、「パーズ」して居残る悪性細胞を除去することができる（疾患が標的臓器、組織、または細胞に罹患している場合）。患者が化学療法または放射線を受けた後、幹細胞を患者に移植し戻す。自家移植は、患者が高用量の化学療法及び放射線を受けるのを可能にする。骨髄または末梢血液移植を伴う高用量の化学療法または放射線療法は、例えば、白血病及びリンパ腫に関する治療率を改善した。一旦、患者が化学療法または放射線を受けると、患者は、血球を生成する能力が制限され得る。自家移植は、患者が血球及び血小板の生成を活発に始めるのを可能にする。

30

#### 【 0 0 4 7 】

哺乳類の妊娠は、母体の免疫系が非常に効率的な方法で胎児と相互作用し、それが双方にとって有益であるという独特な生理学的事象である。妊娠は免疫パラドックスであり、移植片対宿主または宿主対移植片効果を示さない。この現象に関与する因子は、広く研究されてはいるものの、まだ完全に解明されたわけではない。新規の胚由来因子である移植前因子（P I F - 1）は、受精後すぐに母体による妊娠の認識をもたらすことで、妊娠の免疫寛容を引き起こし得る。

40

#### 【 0 0 4 8 】

妊娠以外のP I Fの治療的有用性を置き換えるために、天然ペプチド活性を模倣する15アミノ酸（M V R I K P G S A N K P S D D）合成P I F類似体（s P I F）を生成した（及びc G M Pグレードに向上させた）。これは、自己免疫性、移植、及び急性放射線

50



症候群の前臨床モデルにおける s P I F 効果に関する詳細な検査を可能にし、完全な局所及び全身効能を示す。ヒト免疫細胞に対する s P I F の効果を調べ、その局所及び全身作用機序の重要な要素を決定する研究は良好であった。有益な移植片対白血病を保存する一方で、半同種移植片対宿主モデルにおいて予防及び逆行させる s P I F の効能が記録された。F D A 指定された包括的毒性学研究は、短い循環半減期に加えて、超生理的（ヒトの 4 0 0 ~ 4 0 0 0 倍）用量で高い安全性プロファイル（マウス及びイヌ）を明示した（C o v a n c e）。F D A は、免疫奇病に対する大学主催の臨床治験を行うために、s P I F に対して F A S T T R A C K 指定を認めた。合成 P I F - 1（s P I F）は、天然ペプチドの効果を複製し、活性化した末梢血単核細胞（P B M C）増殖及びサイトカイン分泌に対して強力な免疫調節効果を及ぼし、P B M C における新規部位を通じて作用し、既知の免疫抑制薬とは区別される効果を有した。したがって、P I F は、移植片対白血病を有効にする一方で、G V H D の発達を予防することができる。理論に束縛されるものではないが、P I F は、移植された骨髓幹細胞に結合し、それらが迅速に統合されるのを助け、正常な血球及び血小板の生成を開始することができる。

10

#### 【 0 0 4 9 】

移植は、受容者に完全に適合するドナー臓器、組織、または細胞で理想的に行われるが、依然として約 7 0 % の患者が様々な強度の G V H D を発症する。したがって、移植患者は、移植後及び恐らくは残りの人生にわたって免疫抑制療法を受ける。急性 G V H D の他に、慢性 G V H D 及び拒絶反応は、追加の深刻な合併症である。しかしながら、それらの病態は、治療することがより困難であり、急性 G V H D と比較した場合に高い罹患率及び致死率を有する。したがって、P I F の使用は、自家移植、同種移植、半同種移植、または異種移植を可能にすることができ、それにより生着を向上させ、G V H D または長期的な臓器拒絶反応を予防する。

20

#### 【 0 0 5 0 】

臨床的に、移植における主要な問題は、移植された細胞が機能的になるまで長期間にわたって起こる。その間に、患者はしばしば深刻な感染にかかり、死亡する場合がある。P I F は、傷害の起源またはどの臓器が標的であるかに関わらず、炎症の根本に対応する。P I F 投与は、移植に続く生着期間及び生着に関連する炎症を低減することができる。P I F は、良好な移植片生着につながり得る。理論に束縛されるものではないが、妊娠中の P I F の活性と同様に、妊娠以外の P I F は、生着を促進し、新たに組み込まれた臓器、組織、または細胞が機能的になるのを可能にする。更に、P I F の投与は、自家移植を受けたマウスにおいて完全な重量回復を可能にし得、これはナイーブマウスの場合に相当する。

30

#### 【 0 0 5 1 】

s P I F は、マウス同種骨髓移植（B M T）モデルにおいて示されるように、有益な G V L 効果を保存する一方で、有害な G V H D 発達を予防することができる。そのモデルにおいて、短期 s P I F 療法は、減少した炎症促進性肝サイトカイン及びケモカイン遺伝子、ならびに循環する炎症促進性 I L 1 7 a レベルに加えて、皮膚炎、肝炎、及び結腸潰瘍に対する 4 ヶ月効能保護につながる。s P I F はまた、相乗性 B M T を促進することが示された。

40

#### 【 0 0 5 2 】

s P I F は、全体免疫を規制し、活性化された免疫に作用するナイーブ単球 / マクロファージを標的として、混合リンパ球反応（M L R）、優先的 T H 2 サイトカインバイアスにつながる増殖を遮断する一方で、必要な T H 1 応答を保存する。マウスマクロファージにおいて、増加した B 7 H 1（T 細胞上の P D - 1 に結紮される）及び減少した i N O S 遺伝子（N O S 2、一酸化窒素合成酵素）の発現が記された（A z a r e t a l, 2 0 1 3）。s P I F は、タンパク質 - ジ - イソメラーゼ / チオレドキシン（P D I / T）及び熱衝撃タンパク質（H S P）を標的として、酸化ストレスを低減し、タンパク質の誤った折り畳みを予防することにより、前臨床モデルにおいて観察される P I F 保護に対して重要な洞察を提供する。インビトロ及び前臨床モデルの両方における観察は、s P I F

50

が A R S に対する保護において有効であり得ることを支持する。

【 0 0 5 3 】

本組成物及び本方法について記載する前に、本発明が、記載される特定のプロセス、組成物、または方法論に限定されるものではなく、これらは変化し得るものであることを理解されたい。本記載において使用される用語は、特定の見解または実施形態のみを記載するためのものであって、本発明の範囲を制限することを意図するものではなく、本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲によってのみ制限されるものである。別途定義されない限り、本明細書で使用する全ての技術的及び科学的用語は当業者によって一般的に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書に記載される方法及び材料と同様または同等の任意の方法及び材料が、本発明の実施形態の実践または試験において使用され得るが、これより、好ましい方法、デバイス、及び材料について記載する。本明細書において言及される全ての刊行物は、その全体が参照により組み込まれる。本明細書の内容はいずれも、本発明が従来からの発明による開示に先行する権利がないことの承認として解釈されるべきではない。

10

【 0 0 5 4 】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用する場合、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、及び「その(the)」は、文脈が別途明確に規定しない限り、複数への参照を含むものである。したがって、例えば、1つの「ペプチド」への参照は1つ以上のペプチド及びそれらの同等物への参照であることは、当業者にとって既知であり、他もまた同様である。

20

【 0 0 5 5 】

本明細書で使用する場合、「約」という用語は、使用されている数の数値のプラスまたはマイナス10%を意味する。したがって、約50%は40%~60%の範囲にあることを意味する。

【 0 0 5 6 】

治療薬と併せて使用する場合、「投与する」は、標的臓器、組織、もしくは細胞内、またはそれらに治療薬を直接投与すること、あるいは標的とする臓器、組織、または細胞に対して、治療薬がポジティブに影響を与えるように、患者にその治療薬を投与することを意味する。したがって、本明細書で使用する場合、「投与する」という用語は、移植前因子(PIF)と併せて使用する場合、限定されるものではないが、標的臓器、組織、もしくは細胞内、またはそれらにPIFを提供すること；治療薬が標的臓器、組織、または細胞に到達するように、例えば静脈注射によって患者に対して全身的にPIFを提供すること；標的組織に対して、PIFをそのコード配列の形態で提供すること(例えば、いわゆる遺伝子治療技法によって)を含み得る。「投与する」ことは、非経口、経口、もしくは局所投与、または他の既知の技法と組み合わせたような方法によって達成され得る。

30

【 0 0 5 7 】

本明細書で使用する場合、「動物」、「患者」、及び「対象」という用語は、限定されるものではないが、ヒト、ならびに野生動物、飼育動物、及び家畜等の非ヒト脊椎動物を含む。一部の実施形態において、「動物」、「患者」、及び「対象」という用語は、ヒトを指し得る。一部の実施形態において、「動物」、「患者」、及び「対象」という用語は、非ヒト哺乳動物を指し得る。一部の実施形態において、「動物」、「患者」、及び「対象」という用語は、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、または他の家畜化された非ヒト哺乳動物を指し得る。一部の実施形態において、対象は、悪性型のがんを有すると診断された、またはそれを有する疑いがあるヒト患者である。一部の実施形態において、対象は、臓器不全を有すると診断された、またはそれを有する疑いがあるヒト患者である。一部の実施形態において、対象は、肝不全、腎不全、コルチゾールレベルの不均衡と関連付けられる任意の疾患、若年型もしくは成人型糖尿病(I型またはII型)、または心不全を有すると診断された、またはそれを有する疑いがあるヒト患者である。一部の実施形態において、対象は、島細胞移植、腎移植、もしくは副腎細胞移植、血液細胞移植、骨髄移植、または心臓移植を必要とするとして特定された、またはそれを必要とする疑

40

50

いがあるヒト患者である。

【0058】

「免疫調節」とは、本発明の化合物が、免疫系の1つ以上の態様を改変（調節）する能力を指す。免疫系は、感染から、及び外来抗原から、リンパ球、マクロファージ、及びに多重細胞間相互作用によって、及び免疫細胞に対して自己分泌、傍分泌、及び内分泌効果を有する、リンフォカイン及び抗体を含む可溶性因子を精緻化することによって互いに規制する他の抗原提示細胞を伴う細胞性及び体液性機序により、生物を保護するように機能する。

【0059】

「改善する」という用語は、本発明が、提供、適用、または投与を受けた、対象、臓器、組織、または細胞の、外観、形態、特徴、及び/または物理的特性のいずれかを変化させることを伝えるのに使用される。例えば、形態の変化は、以下、ARSの1つ以上の症状の減少；移植された臓器、組織、または細胞の生着の増加；移植された臓器、組織、または細胞の許容の増加；自家移植、同種移植、半同種移植、または異種移植と関連付けられる移植片に対する宿主免疫応答の低減；移植片対白血病の増加；最小移植片対宿主疾患を伴わないか、または伴う、移植片対白血病の増加；免疫抑制剤の必要性の低減または排除；及び化学療法及び放射線療法からの早急な回復のうちのいずれか単独で、または組み合わせで明示され得る。

【0060】

「阻害する」という用語は、症状の発症の予防、症状の緩和、または、疾患、病態、もしくは障害を排除するための本発明の化合物の投与を含む。

【0061】

本明細書で用いる場合、「ペプチド」、「ポリペプチド」、及び「タンパク質」という用語は交換可能に使用され、アミド結合または非アミド等価物により共有結合で連結された2つ以上のアミノ酸を指す。本発明のペプチドは、任意の長さであり得る。例えば、ペプチドは、約2～約100以上の残基を有してもよく、長さが例えば5～12、12～15、15～18、18～25、25～50、50～75、75～100以上等であってもよい。好ましくは、ペプチドは、約2～約18残基である。本発明のペプチドは、1-及びd-異性体、ならびに1-及びd-異性体の組み合わせを含む。ペプチドは、典型的にはタンパク質の翻訳後処理と関連付けられる修飾、例えば、環化（例えば、ジスルフィドまたはアミド結合）、リン酸化、グリコシル化、カルボキシル化、ユビキチン化、ミリスチル化、または脂質化修飾を含んでもよい。

【0062】

「薬学的に許容される」は、担体、希釈剤、または賦形剤が、製剤または組成物の他の成分と適合し、かつそれらの受容者にとって有害であってはならないことを意味する。

【0063】

別途指示されない限り、「骨髄」という用語は、赤色髄及び黄色髄からなり、幹細胞を含有する骨の中空内部において見出される柔軟な組織を意味する。

【0064】

本明細書で使用する場合、「治療薬」は、患者の望ましくない病態または疾患を、治療する、治す、寛解する、予防する、または改善するために活用される薬剤を意味する。一部には、本発明の実施形態は、ARSの1つ以上の症状を減少させること、自家移植、同種移植、半同種移植、もしくは異種移植における移植された臓器、組織、または細胞の許容の増加、及び/または自家移植、同種移植、半同種移植、もしくは異種移植における臓器、組織、または細胞の拒絶反応の減少を対象とする。

【0065】

組成物（例えば、PIFペプチド）の「治療有効量」または「有効量」は、所望の効果を達成するように、すなわち、自家移植、同種移植、半同種移植、もしくは異種移植における臓器、組織、もしくは細胞の許容を改善、増加、もしくは可能にするように、及び/またはARSの1つ以上の症状を減少させるか、またはドナー臓器、組織、もしくは細胞

10

20

30

40

50

が移植される前にそれらの生存度を増加させるように計算された既定量である。本方法によって企図される活性は、必要に応じて、医学治療的及び／または予防的治療の両方を含む。治療的及び／または予防的効果を得るために本発明に従って投与される化合物の具体的な投与量は、無論、例えば、投与される化合物、投与経路、及び治療される病態を含む症例を取り巻く特定の状況によって決定される。本化合物は広い投与量範囲にわたって有効であり、例えば、一日当たりの投与量は、通常、 $0.001 \sim 10 \text{ mg/kg}$ の範囲内に収まり、より通常は $0.01 \sim 1 \text{ mg/kg}$ の範囲内である。一部の実施形態において、PIF、またはPIF類似体もしくはペプチドの治療有効用量は、約 $0.1 \text{ mg/kg}$ 、 $0.2 \text{ mg/kg}$ 、 $0.3 \text{ mg/kg}$ 、 $0.4 \text{ mg/kg}$ 、 $0.5 \text{ mg/kg}$ 、 $0.6 \text{ mg/kg}$ 、 $0.7 \text{ mg/kg}$ 、 $0.8 \text{ mg/kg}$ 、 $0.9 \text{ mg/kg}$ 、及び $1 \text{ mg/kg}$ である。しかしながら、投与される有効量は、治療される病態、投与される化合物の選択、及び選択された投与経路を含む、関連する状況に照らして医師によって決定されること、したがって、上記投与量の範囲は本発明の範囲をいかなる形であれ制限することを意図するものではないことが理解されるであろう。本発明の実施形態の化合物の治療有効量は、典型的には、生理学的に許容できる賦形剤組成物で投与される場合に、有効な全身濃度または組織における局所濃度を達成するのに十分であるような量である。

10

#### 【0066】

本明細書で使用する場合、「治療する」、「治療される」、または「治療」という用語は、治療的処置及び予防的または予防手段の両方を指すものであり、ここにおける目的は、望ましくない生理学的病態、障害、または疾患を、予防もしくは減速させる（減少させる）、または有益もしくは望ましい臨床結果を得ることである。本発明の目的において、有益または望ましい臨床結果としては、限定されるものではないが、症状の緩和；病態、障害、または疾患の程度の縮減；病態、障害、または疾患の状態の安定化（すなわち、悪化させないこと）；病態、障害、もしくは疾患の発症における遅延、またはそれらの進行の減速；病態（condition）、障害、または病態（disease state）の寛解；及び病態、障害、または疾患の、検出可能であるかもしくは検出不可能であるかに関わらない鎮静（部分または全体）、または強化もしくは改善が挙げられる。治療は、過剰なレベルの副作用を伴わずに臨床的に有意な応答を誘発することを含む。治療はまた、治療を受けなかった場合に予想される生存と比較して、生存を延長させることを含む。

20

30

#### 【0067】

一般的に言えば、「組織」という用語は、特定の機能の実行において一体化される、同様に特殊化された細胞の任意の集合を指す。

#### 【0068】

本出願は、化合物を説明する。いかなる特定の理論にも束縛されないが、本明細書に記載される化合物は、PIFの1つまたは複数の受容体を介して、PIF介在シグナル伝達の差動薬として作用する。したがって、これらの化合物は、限定されないが、急性放射線症候群の治療、及び急性放射線被ばくの遅発効果において重要な治療利益を提供するシグナル伝達経路を調節する。本開示の化合物は、非溶媒和形態ならびに溶媒和形態（水和形態を含む）で存在し得る。本開示の化合物はまた、酸付加塩及び／または塩基付加塩を含むが、これらに限定さない薬学的に許容される塩の両方を形成することができる。更に、本開示の化合物は、非晶質形態（非結晶形態）を含む様々な固体状態で、及びクラスレート、プロドラッグ、多形体、生物加水分解性エステル、ラセミ混合物、非ラセミ混合物の形態で、または光学的に純粋なエナンチオマー及びジアステレオマーを含むが、これらに限定されない精製された立体異性体として存在し得る。一般に、これらの形態の全ては、上述される通り、化合物の遊離塩基または遊離酸形態の代替形態として使用することができる。本開示の範囲内に包含されることが意図される。

40

#### 【0069】

「多形体」は、化合物の固体結晶形態を指す。同じ化合物の異なる多形体は、異なる物理的、化学的、及び／または分光学的特性を呈し得る。異なる物理的特性としては、安定

50

性（例えば、熱または光に対する）、圧縮性及び密度（製剤化及び製品製造において重要）、ならびに溶解率（バイオアベイラビリティに影響を及ぼし得る）が挙げられるが、これらに限定されない。多形体の異なる物理的特性は、それらの処理に影響を及ぼし得る。一部の実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に開示される組成物のうちのいずれかの少なくとも1つの多形体を含む。

#### 【0070】

上記の通り、本開示の化合物は、特に薬学的に許容される塩、エステル、アミド、またはプロドラッグとして投与され得る。「塩」という用語は、本開示の化合物の無機塩及び有機塩を指す。これらの塩は、化合物の最終単離及び精製中に原位置で、または遊離塩基もしくは遊離酸形態の精製された化合物を、好適な有機もしくは無機塩基もしくは酸と別個に反応させ、それにより形成された塩を単離することによって調製され得る。代表的な塩としては、臭化水素酸塩、塩酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、硝酸塩、酢酸塩、オキサール酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩、ラウリン酸塩、ホウ酸塩、安息香酸塩、乳酸塩、リン酸塩、トシル酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、ナフチル酸塩、メシル酸塩、グルコヘプトン酸塩、ラクトビオン酸塩、及びラウリルスルホン酸塩等が挙げられる。これらの塩は、例えば、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ及びアルカリ土類金属に基づく陽イオン、ならびにアンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミン等を含むが、これらに限定されない非毒性アンモニウム、四級アンモニウム、及びアミン陽イオンを含んでもよい。例えば、S. M. Berge, et al., *Pharmaceutical Salts*, *J Pharm Sci*, 66: 1-19 (1977)を参照されたい。「塩」という用語は、無機及び/または有機酸で形成された酸性塩、ならびに無機及び/または有機塩基で形成された塩基塩を指す。これらの酸及び塩基の例は、当業者に周知である。かかる酸付加塩は、通常は薬学的に許容されるが、薬学的に許容されない酸の塩でも、当該化合物の調製及び精製においては実用的であり得る。塩としては、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、クエン酸、酒石酸、乳酸、ピルビン酸、酢酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、メタンスルホン酸、及びベンゼンスルホン酸から形成されたものが挙げられる。

#### 【0071】

一部の実施形態において、PIFまたはPIF類似体またはPIF突然変異体のいずれかを含む組成物の塩は、遊離塩基またはその塩、エナンチオマー、もしくはラセミ化合物を、適切な酸の1つ以上の相当物と反応させることによって形成されてもよい。一部の実施形態において、本開示の薬学的に許容される塩は、少なくとも1つの塩基性基または少なくとも1つの塩基性ラジカルを有する類似体を指す。一部の実施形態において、本開示の薬学的に許容される塩は、酸付加塩を形成する、遊離アミノ基、遊離グアニジノ基、ピラジニルラジカル、またはピリジルラジカルを含む。一部の実施形態において、本開示の薬学的に許容される塩は、（例えば）塩酸、硫酸、もしくはリン酸等の無機酸を有するか、または好適な有機カルボン酸もしくはスルホン酸、例えば、トリフルオロ酢酸、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、ヒドロキシマレイン酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、もしくはオキサール酸等の脂肪族モノもしくはジカルボン酸、またはアルギニンもしくはリジン等のアミノ酸、安息香酸、2-フェノキシ-安息香酸、2-アセトキシ安息香酸、サリチル酸、4-アミノサリチル酸等の芳香族カルボン酸、マンデル酸もしくは桂皮酸等の芳香族-脂肪族カルボン酸、ニコチン酸もしくはイソニコチン酸等のヘテロ芳香族カルボン酸、メタン、エタン、もしくは2-ヒドロキシエタンスルホン酸等の脂肪族スルホン酸、または芳香族スルホン酸、例えば、ベンゼン-、p-トルエン、もしくはナフタレン-2-スルホン酸を有する、対象化合物の酸付加塩である類似体を指す。いくつかの塩基性基が存在する場合、モノまたはポリ酸付加塩が形成され得る。この反応は、塩が不溶性である溶媒もしくは培地中で、または塩が可溶性である溶媒、例えば、水、ジオキサン、エタノール、テトラヒドロフラン、もしくはジエチルエー

10

20

30

40

50

テル、または溶媒の混合物中で実行されてもよく、これは真空下または冷凍乾燥によって除去されてもよい。この反応は、メタセシスプロセスでもあり得るか、またはイオン交換樹脂上で実行されてもよい。一部の実施形態において、塩は、患者によって生理的に耐えられるものであり得る。本開示による塩は、それらの無水形態で、または水和結晶形態で見出され得る（すなわち、1つ以上の水分子と複合されるか、もしくは結晶化される）。

#### 【0072】

本開示の化合物の薬学的に許容されるエステル为例としては、 $C_1 \sim C_8$ アルキルエステルが挙げられる。許容されるエステルとしては、 $C_5 \sim C_7$ シクロアルキルエステル、ならびにベンジル等のアリールアルキルエステルも挙げられる。 $C_1 \sim C_4$ アルキルエステルが一般に使用される。本開示の化合物のエステルは、当該技術分野において周知の方法に従って調製され得る。本開示の化合物の薬学的に許容されるアミドの例としては、アンモニア、一級 $C_1 \sim C_8$ アルキルアミン、及び二級 $C_1 \sim C_8$ ジアルキルアミンが挙げられる。二級アンモニウムの場合、アミンは、少なくとも1つの窒素原子を含有する5員または6員ヘテロシクロアルキル基の形態であってもよい。アンモニア、 $C_1 \sim C_3$ 一級アルキルアミン、及び $C_1 \sim C_2$ ジアルキル二級アミン由来のアミドが一般に使用される。本開示の化合物のアミドは、当業者に周知の方法に従って調製され得る。

#### 【0073】

本明細書で使用する場合、「保存的」アミノ酸置換は、下の表A、B、またはCに記載されるように定義され得る。本開示のPIF化合物は、保存的置換（核酸またはアミノ酸配列のいずれかから）は、本開示のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの修飾によって導入された。アミノ酸は、物理的特性ならびにタンパク質二次及び三次質構造への寄与に従って分類され得る。保存的置換は、当該技術分野において、1つのアミノ酸の、類似した特性を有する別のアミノ酸への置換として認識される。一部の実施形態において、保存的置換は、当該技術分野において、1つの核酸の、類似する特性を有するか、またはコードされる場合は類似する結合親和性を有する別の核酸への置換として認識される。例示の保存的置換を表1に記載する。

#### 【表1】

表1—保存的置換I

側鎖特性	アミノ酸
脂肪族	
非極性	G A P I L V F
極性—非電荷	C S T M N Q
極性—電荷	D E K R
芳香族	H F W Y
その他	N Q D E

#### 【0074】

代替として、保存的アミノ酸は、表2に記載される通り、Lehninger (Biochemistry, Second Edition; Worth Publishers, Inc., N.Y., N.Y. (1975), pp. 71-77)に記載される通りに分類することができる。

## 【表 2】

表 2 — 保存的置換 I I

側鎖特性	アミノ酸	
非極性 (疎水性)		
脂肪族 :	A L I V P	
芳香族 :	F W Y	
硫黄含有 :	M	
境界 :	G Y	10
非電荷—極性		
ヒドロキシル :	S T Y	
アミド :	N Q	
スルフヒドリル :	C	
境界 :	G Y	
正電荷 (塩基性) :	K R H	
負電荷 (酸性) :	D E	

## 【 0 0 7 5 】

20

代替として、例示の保存的置換を表 3 に記載する。

## 【表 3】

表 3 — 保存的置換 I I I

元の残基	例示の置換	
A l a (A)	V a l L e u I l e M e t	
A r g (R)	L y s H i s	
A s n (N)	G l n	
A s p (D)	G l u	30
C y s (C)	S e r T h r	
G l n (Q)	A s n	
G l u (E)	A s p	
G l y (G)	A l a V a l L e u P r o	
H i s (H)	L y s A r g	
I l e (I)	L e u V a l M e t A l a P h e	
L e u (L)	I l e V a l M e t A l a P h e	
L y s (K)	A r g H i s	40
M e t (M)	L e u I l e V a l A l a	
P h e (F)	T r p T y r I l e	
P r o (P)	G l y A l a V a l L e u I l e	
S e r (S)	T h r	
T h r (T)	S e r	
T r p (W)	T y r P h e I l e	
T y r (Y)	T r p P h e T h r S e r	
V a l (V)	I l e L e u M e t A l a	50

## 【 0 0 7 6 】

本明細書で用いる場合、「ペプチド」、「ポリペプチド」、及び「タンパク質」という用語は交換可能に使用され、アミド結合または非アミド等価物により共有結合で連結された2つ以上のアミノ酸を指す。本開示のペプチドは、任意の長さであり得る。例えば、ペプチドは、約2～約100以上の残基を有してもよく、長さが例えば5～12、12～15、15～18、18～25、25～50、50～75、75～100以上等であってもよい。好ましくは、ペプチドは、長さが約2～約18残基である。本開示のペプチドはまた、L-及びD-異性体、ならびにL-及びD-異性体の組み合わせを含む。ペプチドは、典型的にはタンパク質の翻訳後処理と関連付けられる修飾、例えば、環化（例えば、ジスルフィドまたはアミド結合）、リン酸化、グリコシル化、カルボキシル化、ユビキチン化、ミリスチル化、または脂質化修飾を含んでもよい。一部の実施形態において、本開示の組成物または薬学的組成物は、表1に示されるPIF配列のうちの任意の1つまたはそれらの組み合わせと約70%、約75%、約79%、約80%、約85%、約86%、約87%、約90%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%以上の相同性を共有する、表1に示される任意のPIF配列の類似体に関する。一部の実施形態において、PIFまたはPIFペプチドは、配列番号1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29から選択されるアミノ酸配列、または任意のかかるアミノ酸配列に対して約70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%相同である、その機能的断片を指し得る。一部の実施形態において、PIFは、配列番号20に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%相同である配列を含む、それから本質的になる、またはそれからなるアミノ酸配列を指し得る。一部の実施形態において、PIFは、配列番号21に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%相同である配列を含む、それから本質的になる、またはそれからなるアミノ酸配列を指し得る。一部の実施形態において、PIFは、配列番号22に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%相同である配列を含む、それから本質的になる、またはそれからなるアミノ酸配列を指し得る。一部の実施形態において、PIFは、配列番号23に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%相同である配列を含む、それから本質的になる、またはそれからなるアミノ酸配列を指し得る。一部の実施形態において、PIFは、配列番号24に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%相同である配列を含む、それから本質的になる、またはそれからなるアミノ酸配列を指し得る。一部の実施形態において、PIFは、配列番号25に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%相同である配列を含む、それから本質的になる、またはそれからなるアミノ酸配列を指し得る。一部の実施形態において、PIFは、配列番号26に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%相同である配列を含む、それから本質的になる、またはそれからなるアミノ酸配列を指し得る。一部の実施形態において、PIFは、配列番号27に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%相同である配列を含む、それから本質的になる、またはそれからなるアミノ酸配列を指し得る。一部の実施形態において、PIFは、配列番号28に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、86%、8

10

20

30

40

50



7%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%相同である配列を含む、それから本質的になる、またはそれからなるアミノ酸配列を指し得る。一部の実施形態において、PIFは、配列番号29に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%相同である配列を含む、それから本質的になる、またはそれからなるアミノ酸配列を指し得る。一部の実施形態において、PIF変異体は、XVZIKPGSANKPSD、XVZIKPGSANKPS XVZIKPGSANKP XVZIKPGSANK XVZIKPGSAN、XVZIKPGSA、XVZIKPGS、XVZIKPG、XVZIKP、XVZIK、XVZI、XVZから選択される配列を含み、式中、Xは非天然アミノ酸または天然型アミノ酸である。一部の実施形態において、PIF変異体は、XVZIKPGSANKPSD、XVZIKPGSANKPS XVZIKPGSANKP XVZIKPGSANK XVZIKPGSAN、XVZIKPGSA、XVZIKPGS、XVZIKPG、XVZIKP、XVZIK、XVZI、XVZから選択される配列を含み、式中、Zがアルギニンである場合Xはメチオニンではなく、Xがメチオニンである場合Zはアルギニンではない点を除いて、Xは非天然アミノ酸または天然型アミノ酸である。一部の実施形態において、PIF類似体または変異体は、合成である、すなわち合成的に作製される。

#### 【0077】

本明細書に開示されるペプチドは、アミノ酸の構造的類似体及び機能的類似体を有する化合物、例えば、合成もしくは非天然アミノ酸（ノルロイシン等）、またはアミノ酸類似体、または非天然側鎖を有するペプチド模倣物を更に含むが、この模倣物が本開示の化合物と1つ以上の機能または活性を共有することを条件とする。したがって、本開示の化合物は、「模倣物」及び「ペプチド模倣物」形態を含む。本明細書で使用する場合、「非天然側鎖」は、アミノ酸のポリペプチド鎖の骨格を構成しない、  
-炭素原子、  
-炭素原子、または  
-炭素原子に共有結合で結合する原子の修飾鎖または合成鎖である。ペプチド類似体は、ノルバリン、tert-ブチルグリシン、フェニルグリシン、He、7-アザトリプトファン、4-フルオロフェニルアラニン、N-メチル-メチオニン、N-メチル-バリン、N-メチル-アラニン、サルコシン、N-メチル-tert-ブチルグリシン、N-メチル-ロイシン、N-メチル-フェニルグリシン、N-メチル-イソロイシン、N-メチル-トリプトファン、N-メチル-7-アザトリプトファン、N-メチル-フェニルアラニン、N-メチル-4-フルオロフェニルアラニン、N-メチル-トレオニン、N-メチル-チロシン、N-メチル-バリン、N-メチル-リジン、ホモシステイン、及びTyrから選ばれる非天然アミノ酸のうちの1つまたはそれらの組み合わせを含み得、Xaa2は、不在であるか、またはAla、D-Ala、N-メチル-アラニン、Glu、N-メチル-グルタメート、D-Glu、Gly、サルコシン、ノルロイシン、Lys、D-Lys、Asn、D-Asn、D-Glu、Arg、D-Arg、Phe、D-Phe、N-メチル-フェニルアラニン、Gln、D-Gln、Asp、D-Asp、Ser、D-Ser、N-メチル-セリン、Thr、D-Thr、N-メチル-トレオニン、D-Pro D-Leu、N-メチル-ロイシン、D-Ile、N-メチル-イソロイシン、D-Val、N-メチル-バリン、tert-ブチルグリシン、D-tert-ブチルグリシン、N-メチル-tert-ブチルグリシン、Trp、D-Trp、N-メチル-トリプトファン、D-Tyr、N-メチル-チロシン、1-アミノシクロプロパンカルボン酸、1-アミノシクロブタンカルボン酸、1-アミノシクロペンタンカルボン酸、1-アミノシクロヘキサンカルボン酸、4-アミノテトラヒドロ-2H-ピラン-4-カルボン酸、アミノイソ酪酸、(5)-2-アミノ-3-(1H-テトラゾール-5-イル)プロパン酸、Glu、Gly、N-メチル-グルタメート、2-アミノペンタン酸、2-アミノヘキサン酸、2-アミノヘプタン酸、2-アミノオクタン酸、2-アミノノナン酸、2-アミノデカン酸、2-アミノウンデカン酸、2-アミノドデカン酸、オクチルグリシン、トラネキサム酸、アミノ吉草酸、及び2-(2-アミノエトキシ)酢酸からなる群から選択される。アラニンの天然側鎖またはR基はメチル基である。一部の実施形態に

において、本組成物の非天然側鎖は、水素原子のうちの1つ以上が重水素原子によって置き換えられているメチル基である。非天然側鎖については、当該技術分野において以下の刊行物：WO/2013/172954、WO2013123267、WO/2014/071241、WO/2014/138429、WO/2013/050615、WO/2013/050616、WO/2012/166559、米国出願第20150094457号、Ma, Z., 及び Hartman, M. C. (2012). *In Vitro Selection of Unnatural Cyclic Peptide Libraries via mRNA Display*. In J. A. Douthwaite & R. H. Jackson (Eds.), *Ribosome Display and Related Technologies: Methods and Protocols* (pp. 367 - 390). Springer New York. で開示されており、これら全ては、その全体が参照により組み込まれる。

10

#### 【0078】

「模倣物」、「ペプチド模倣物 (peptide mimetic)」、及び「ペプチド模倣物 (peptidomimetic)」という用語は、本明細書では交換可能に使用され、概して、選択された天然ペプチドまたはタンパク質機能ドメイン (例えば、結合モチーフまたは活性部位) の、三次構造の結合構造または活性を模倣するペプチド、部分ペプチド、または非ペプチド分子を指す。これらのペプチド模倣物は、組換えによって、または化学的に修飾されたペプチド、及び小分子薬剤模倣物等の非ペプチド剤を含み、これについては下で更に記載する。「類似体」という用語は、少なくとも1つの - アミノ酸及び少なくとも1つの非天然アミノ酸を含む任意のポリペプチドを指し、ポリペプチドは、天然に存在する全長PIFタンパク質と構造的に類似し、類似体がベースとする天然に存在する全長タンパク質の生化学的活性または生物学的活性を共有する。一部の実施形態において、本組成物、薬学的組成物、及びキットは、表4に示されるPIF配列のうちの任意の1つまたはそれらの組み合わせと、約70%、約75%、約79%、約80%、約85%、約86%、約87%、約90%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%以上の相同性を共有するペプチドまたはペプチド模倣物を含み、1つまたは複数のアミノ酸残基が、非天然アミノ酸残基または非天然側鎖を有するアミノ酸残基である。一部の実施形態において、2つのシステイン残基の間にループが形成される、ペプチドまたはペプチド模倣物が提供される。一部の実施形態において、ペプチド模倣物は、天然ペプチドとの多くの類似点、例えば、既知の20タンパク質新生アミノ酸の中で見出されないアミノ酸側鎖、分子の末端または内部部分の間の環化を生じさせるために使用される非ペプチド系リンカー、メチル基 (N-メチル化) または他のアルキル基によるアミド結合ヒドロゲン部分の置換、化学基または化学治療もしくは酵素治療に耐性のある結合でのペプチド結合の置換、N末端及びC末端修飾、及び非ペプチド性伸長との接合 (例えば、ポリエチレングリコール、脂質、炭水化物、ヌクレオシド、ヌクレオチド、ヌクレオシド塩基、様々な小分子、またはリン酸塩もしくは硫酸塩基) を有し得る。本明細書で使用する場合、「環化ペプチド模倣物」または「環化ポリペプチド模倣物」という用語は、その構造の一部として、ループ、架橋部分、及び/または内部結合等の1つ以上の環状特徴を有するペプチド模倣物を指す。本明細書で使用する場合、「架橋部分」という用語は、アミノ酸上の1つの原子または原子の組み合わせを、アミノ酸残基の外側の任意の他の原子に化学的に結合する化学部分を指す。例えば、アミノ酸三次構造の場合、架橋部分は、1つのアミノ酸側鎖を別の連続または非連続アミノ酸側鎖と化学的に結合する化学部分であり得る。

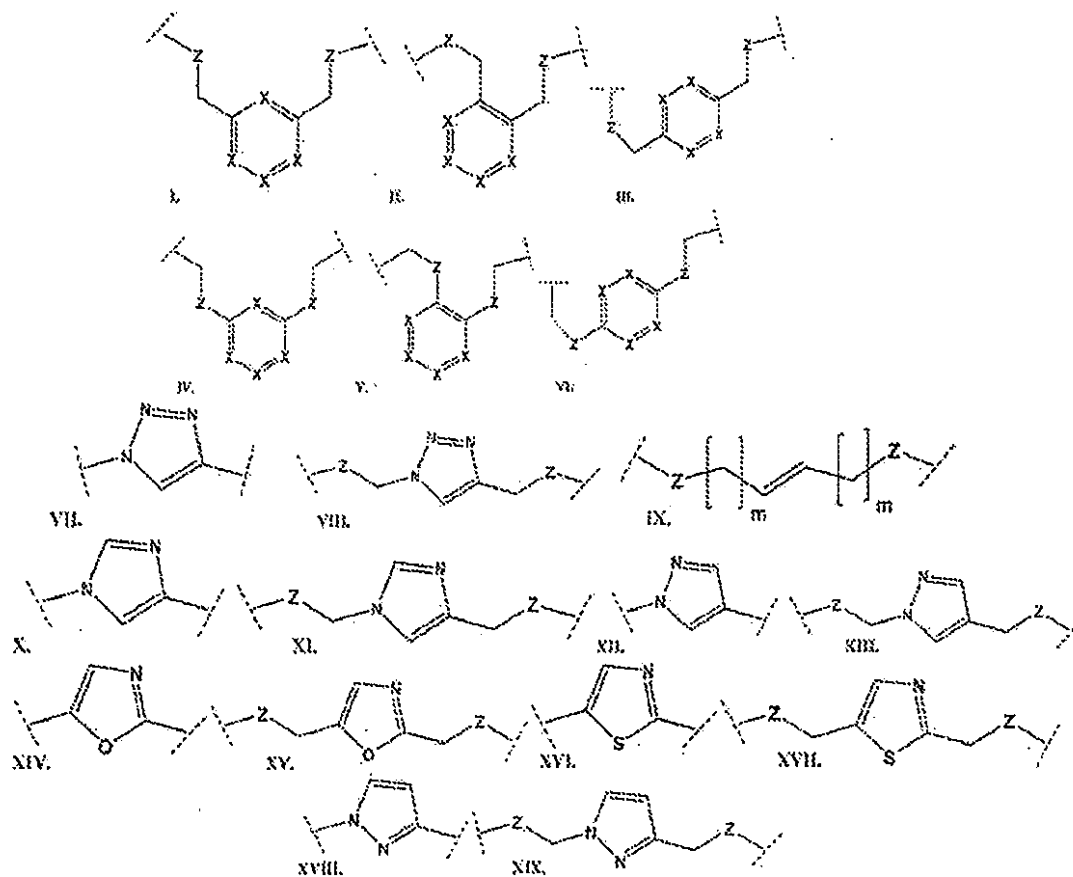
20

30

40

#### 【0079】

一部の実施形態において、ループが、以下からなる群から選択される架橋部分を含む、ペプチドまたはペプチド模倣物が提供される。



## 【 0 0 8 0 】

式中、各Xは、独立して、環が2つより多くのNを含有しないように、NまたはCHであり、各Zは、独立して、結合、NR、O、S、CH<sub>2</sub>、C(O)NR、NRC(O)、S(O)νNR、NRS(O)νであり、各mは、独立して、0、1、2、及び3から選択され、各visは、独立して、1及び2から選択され、各Rは、独立して、H及びC<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>から選択され、各架橋部分は、独立して選択されたC<sub>0</sub>~C<sub>6</sub>スペーサーによってペプチドに接続される。

## 【 0 0 8 1 】

一部の実施形態において、本開示のPIFペプチドは、20個の遺伝的にコードされたアミノ酸（即ちDアミノ酸）の、1つ以上の天然型側鎖を、他の側鎖、例えばアルキル、低級アルキル、環状4-、5-、6-から7員環アルキル、アミド、低級アルキルアミド、ジ（低級アルキル）アミド、低級アルコキシ、ヒドロキシ、カルボキシ、及びそれらの低級エステル誘導体等の基、ならびに4-、5-、6-から7員複素環で置換することにより修飾されて、ペプチド模倣物を生成する。例えば、プロリン類似体は、プロリン残基の環の大きさを、5員から4、6、または7員に変えることで形成され得る。環状基は、飽和であっても不飽和であってもよく、不飽和である場合は、芳香族であっても非芳香族であってもよい。複素環基は、1つ以上の窒素、酸素、及び/または硫黄ヘテロ原子を含有してもよい。かかる基の例としては、フラザニル、フリル、イミダゾリジニル、イミダゾリル、イミダゾリニル、イソチアゾリル、イソオキサゾリル、モルホリニル（例えばモルホリノ）、オキサゾリル、ピペラジニル（例えば、1-ピペラジニル）、ピペリジル（例えば、1-ピペリジル、ピペリジノ）、ピラニル、ピラジニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリル、ピリダジニル、ピリジル、ピリミジニル、ピロリジニル（例えば、1-ピロリジニル）、ピロリニル、ピロリル、チアジアゾリル、チアゾリル、チエニル、チオモルホリニル（例えばチオモルホリノ）、及びトリアゾリルが挙げられる。これらの複素環基は、置換されていても非置換であってもよい。基が置換される場合、その置換基は、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、酸素、置換または非置換のフェニルであり得る

。ペプチド模倣物はまた、リン酸化、スルホン化、ビオチン化、または他の部分の付加または除去によって化学的に修飾されたアミノ酸残基を有してもよい。

#### 【0082】

更なる実施形態において、式  $R_1 - R_2 - R_3 - R_4 - R_5 - R_6 - R_7 - R_8 - R_9 - R_{10} - R_{11} - R_{12} - R_{13} - R_{14} - R_{15}$  の化合物が提供され、式中、 $R_1$  は、Met または Met の模倣物であり、 $R_2$  は、Val または Val の模倣物であり、 $R_3$  は、Arg もしくは Arg の模倣物、または任意のアミノ酸であり、 $R_4$  は、Ile または Ile の模倣物であり、 $R_5$  は、Lys または Lys の模倣物であり、 $R_6$  は、Pro または Pro の模倣物であり、 $R_7$  は、Gly または Gly の模倣物であり、 $R_8$  は、Ser または Ser の模倣物であり、 $R_9$  は、Ala または Ala の模倣物であり、 $R_{10}$  は、Asn または Asn の模倣物であり、 $R_{11}$  は、Lys または Lys の模倣物であり、 $R_{12}$  は、Pro または Pro の模倣物であり、 $R_{13}$  は、Ser または Ser の模倣物であり、 $R_{14}$  は、Asp または Asp の模倣物であり、 $R_{15}$  は、Asp または Asp の模倣物である。更なる実施形態において、式  $R_1 - R_2 - R_3 - R_4 - R_5 - R_6 - R_7 - R_8 - R_9 - R_{10}$  を含む化合物が提供され、式中、 $R_1$  は、Ser または Ser の模倣物であり、 $R_2$  は、Gln または Gln の模倣物であり、 $R_3$  は、Ala または Ala の模倣物であり、 $R_4$  は、Val または Val の模倣物であり、 $R_5$  は、Gln または Gln の模倣物であり、 $R_6$  は、Glu または Glu の模倣物であり、 $R_7$  は、His または His の模倣物であり、 $R_8$  は、Ala または Ala の模倣物であり、 $R_9$  は、Ser の模倣物であり、 $R_{10}$  は、Thr または Thr の模倣物である。式  $R_1 - R_2 - R_3 - R_4 - R_5 - R_6 - R_7 - R_8 - R_9 - R_{10} - R_{11} - R_{12} - R_{13} - R_{14} - R_{15} - R_{16} - R_{17} - R_{18}$  を含む化合物が提供され、式中、 $R_1$  は、Ser または Ser の模倣物であり、 $R_2$  は、Gly または Gly の模倣物であり、 $R_3$  は、Ile または Ile の模倣物であり、 $R_4$  は、Val または Val の模倣物であり、 $R_5$  は、Ile または Ile の模倣物であり、 $R_6$  は、Tyr または Tyr の模倣物であり、 $R_7$  は、Gln または Gln の模倣物であり、 $R_8$  は、Tyr または Tyr の模倣物であり、 $R_9$  は、Met または Met の模倣物であり、 $R_{10}$  は、Asp または Asp の模倣物であり、 $R_{11}$  は、Asp または Asp の模倣物であり、 $R_{12}$  は、Arg または Arg の模倣物であり、 $R_{13}$  は、Tyr または Tyr の模倣物であり、 $R_{14}$  は、Val または Val の模倣物であり、 $R_{15}$  は、Gly または Gly の模倣物であり、 $R_{16}$  は、Ser または Ser の模倣物であり、 $R_{17}$  は、Asp または Asp の模倣物であり、 $R_{18}$  は、Leu または Leu の模倣物であり、また式  $R_1 - R_2 - R_3 - R_4 - R_5 - R_6 - R_7 - R_8 - R_9$  を含む化合物が提供され、式中、 $R_1$  は、Val または Val の模倣物であり、 $R_2$  は、Ile または Ile の模倣物であり、 $R_3$  は、Ile または Ile の模倣物であり、 $R_4$  は、Ile または Ile の模倣物であり、 $R_5$  は、Ala または Ala の模倣物であり、 $R_6$  は、Gln または Gln の模倣物であり、 $R_7$  は、Tyr または Tyr の模倣物であり、 $R_8$  は、Met または Met の模倣物であり、 $R_9$  は、Asp または Asp の模倣物である。一部の実施形態において、 $R_3$  は、Arg または Arg の模倣物ではない。

#### 【0083】

対応する天然ペプチドと同じまたは類似の所望の生物学的活性を有するが、溶解性、安定性、及び/または加水分解またはタンパク質分解に対する感受性に関して、当該ペプチドよりも有利な活性を有するペプチド模倣物を構築するのに、様々な技術が利用可能である、(例えば、Morgan & Gainor, Ann. Rep. Med. Chem., 24, 243 - 252, 1989 を参照されたい)。ある特定のペプチド模倣化合物は、本開示のペプチドのアミノ酸配列に基づいている。多くの場合、ペプチド模倣化合物は、選択されたペプチドの三次元構造に基づいた、三次元構造(すなわち、「ペプチドモチーフ」)を有する合成化合物である。ペプチドモチーフは、ペプチド模倣化合物に所望の生物学的活性、すなわち、PIF 受容体への結合を提供し、当該模倣化合物の結合活性は、実質的に低下せず、多くの場合、模倣物がモデルとした天然ペプチドの活性と同一あるいはそれより大きい。ペプチド模倣化合物は、それらの治療への応用を高める更なる特性を有し得、これらの特性としては、例えば向上した細胞透過性、より良好な親和性及び/

または結合活性、ならびに延長された生物学的半減期などがある。

【0084】

ペプチド模倣のデザイン戦略は当該技術分野において容易に入手可能である（例えば、Ripka & Rich, Curr. Op. Chern. Bioi. 2, 441-452, 1998、Hruby et al, Curr. Op. Chem. Bioi. 1, 114-119, 1997、Hruby & Baise, Curr. Med. Chern. 9, 945-970, 2000を参照されたい）。ペプチド模倣物の一つのクラスは、部分的または完全に非ペプチドであるが、原子対原子でペプチド主鎖を模倣し、同様に天然アミノ酸残基の側鎖基の機能を模倣する側鎖基を含む、主鎖である。いくつかのタイプの化学結合、例えば、エステル、チオエステル、チオアミド、レトロアミド、還元したカルボニル、ジメチレン、及びケトメチレン結合は、プロテアーゼ耐性ペプチド模倣物の構築におけるペプチド結合にとって概して有用な代替物であることが当該技術分野において既知である。ペプチド模倣物の別のクラスは、別のペプチドまたはタンパク質に結合するが、必ずしも天然ペプチドの構造的模倣物ではない、非ペプチド小分子を含む。更に別のクラスのペプチド模倣物が、コンビナトリアルケミストリー、及び大規模な化合物ライブラリーの生成から生じている。これらは、天然ペプチドとは構造的に無関係であるものの、非ペプチド足場上に配置されて、元のペプチドの「地形学的 (topographical)」模倣体として機能する、必要な官能基を保有する新規のテンプレートを概して有する (Ripka & Rich, 1998、上記)。

【0085】

nPIF（配列番号1）と呼ばれる、特定された第1の天然PIF化合物は、15アミノ酸ペプチドである。このペプチドの合成版、sPIF（配列番号13）は、天然ペプチド、nPIF（配列番号1）に類似した活性を示した。このペプチドは、マラリア寄生虫であるスポロゾイト周囲タンパク質の小領域に相同である。第2のPIFペプチド（配列番号7）は、13アミノ酸を含み、受容体相互作用因子（SMRT）として特定される、甲状腺及びレチノイン酸転写共抑制因子と呼ばれる巨大タンパク質の短部分と相同性を共有し、この合成版は、sPIF-2（配列番号14）である。大3の別個のペプチド、nPIF-3（配列番号10）は、18アミノ酸からなり、逆転写の小部分に一致し、このペプチドの合成版は、sPIF-3（配列番号15）である。nPIF-4（配列番号12）は、逆転写酵素の小部分と相同性を共有する。

【0086】

天然及び合成両方のPIFペプチドのリストが、下の表4に提供される。様々なPIFペプチド及びスクランブルしたPIFペプチドに対する抗体も提供されている。

【表 4】

表 4. P I F ペプチド

(配列番号)	ペプチド	アミノ酸配列
配列番号 1 単離天然型、スポロゾイト周囲タンパク質（マ ラリア）の領域と一致	n P I F - 1 <sub>15</sub>	M V R I K P G S A N K P S D D
配列番号 2 単離天然型、スポロゾイト周囲タンパク質（マ ラリア）の領域と一致	n P I F - 1 <sub>(15-改 変)</sub>	M V R I K Y G S Y N N K P S D
配列番号 3 単離天然型、スポロゾイト周囲タンパク質（マ ラリア）の領域と一致	n P I F - 1 <sub>(13)</sub>	M V R I K P G S A N K P S
配列番号 4 単離天然型、スポロゾイト周囲タンパク質（マ ラリア）の領域と一致	n P I F - 1 <sub>(9)</sub>	M V R I K P G S A
配列番号 5 合成、スポロゾイト周囲タンパク質マラリアの 領域由来のスクランブルしたアミノ酸配列	s c r P I F - 1 <sub>1 5</sub>	G R V D P S N K S M P K D I A
配列番号 6 単離天然型、ヒトレチノイド及び甲状腺ホルモ ン受容体 - S M R T の領域と一致	n P I F - 2 <sub>(10)</sub>	S Q A V Q E H A S T
配列番号 7 単離天然型、ヒトレチノイド及び甲状腺ホルモ ン受容体 (S M R T) の領域と一致	n P I F - 2 <sub>(13)</sub>	S Q A V Q E H A S T N M G
配列番号 8 合成、ヒトレチノイド及び甲状腺ホルモン受容 体 S M R T の領域由来のスクランブルしたア ミノ酸配列	s c r P I F - 2 <sub>(1 3)</sub>	E V A Q H S Q A S T M N G
配列番号 9	s c r P I F - 2 <sub>(1 4)</sub>	G Q A S S A Q M N S T G V H
配列番号 10 単離天然型、R e v T r a n s の領域と一致	n P I F - 3 <sub>(18)</sub>	S G I V T Y Q Y M D D R Y V G S D L
配列番号 11 合成、スポロゾイト周囲タンパク質の領域由来 のスクランブルしたアミノ酸配列	n e g P I F - 1 <sub>(1 5)</sub> に対する負の対照	G M R E L Q R S A N K

10

20

30

40

マラリア		
配列番号 12 単離天然型、Rev Trans の領域と一致	n P I F - 4 <sub>(9)</sub>	V I I I A Q Y M D
天然単離 n P I F - 1 <sub>15</sub> の抗体	A b P I F - 1 <sub>(15)</sub>	
(配列番号 13) 合成、スポロゾイト周囲タンパク質マラリアの 領域由来のアミノ酸配列	s P I F - 1 <sub>(15)</sub>	M V R I K P G S A N K P S D D
(配列番号 14) 合成、ヒトレチノイド及び甲状腺ホルモン受容 体 S M R T 由来のアミノ酸配列	s P I F - 2 <sub>(13)</sub>	S Q A V Q E H A S T N M G
(配列番号 15) 合成、スポロゾイト周囲タンパク質マラリアの 領域由来のアミノ酸配列	s P I F - 3 <sub>(18)</sub>	S G I V I Y Q Y M D D R Y V G S D L
(配列番号 16) 合成、スポロゾイト周囲タンパク質マラリアの 領域由来のアミノ酸配列	s P I F - 1 <sub>(9)</sub>	M V R I K P G S A
天然単離 n P I F - 2 <sub>(13)</sub> の抗体	A b P I F - 2 <sub>(13)</sub>	
天然単離 n P I F - 3 <sub>(18)</sub> の抗体	A b P I F - 3 <sub>(18)</sub>	
(配列番号 17) 合成	s P I F - 4 <sub>(9)</sub>	V I I I A Q Y M D
配列番号 18 合成	s P T F - 1 <sub>(5)</sub>	M V R I K
配列番号 19 合成	S P I F - 1 <sub>(4)</sub>	P G S A
配列番号 20	P I F (-3)	M V X I K P G S A N K P S D D
配列番号 21	P I F (-1)	X V R I K P G S A N K P S D D
配列番号 22	P I F (-1, -3)	X V X I K P G S A N K P S D D
配列番号 23	P I F (-6)	M V R I K X G S A N K P S D D
配列番号 24	P I F (-4)	M V R X K P G S A N K P S D D
配列番号 25	P I F (-2)	M X R I K P G S A N K P S D D

10

20

30

40

配列番号 26	mut1	MVR I K E G S A N K P S D D
配列番号 27	mut3	MVR G K P G S A N K P S D D
配列番号 28	mut4	M E R I K P G S A N K P S D D
配列番号 29	mut5	A V R I K P G S A N K P S D D
n=天然、s=合成、scr=スクランブルした、同一AA、( )=AAの数、Ab=抗体、X=アルギニンを除く任意のアミノ酸		

10

## 【0087】

本開示の一部の実施形態において、PIFペプチドが提供される。かかるPIFペプチドは、急性放射線症候群（ARS）、急性放射線被ばくの遅発効果、またはそれに関連する病態に有用であり得る。

## 【0088】

別の実施形態において、PIFペプチドを含む薬学的組成物が提供される。一部の実施形態において、薬学的組成物は、治療有効量のPIFペプチドまたはその薬学的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、薬学的組成物は、表4の配列識別子のうちのいずれか1つ以上を含むペプチドを含まない。一部の実施形態において、薬学的組成物は、配列番号1を含むか、またはそれからなるペプチドを含まない。

20

## 【0089】

別の実施形態において、急性放射線症候群、急性放射線被ばくの遅発効果、またはそれに関連する病態を治療する方法が提供される。好ましい実施形態において、この方法は、有効量のPIFペプチドを、それを必要とする対象に投与することを含む。

## 【0090】

更なる実施形態において、有効量のPIFペプチドを、1つ以上の免疫療法、抗がん薬、利尿薬、または降圧薬もしくは化合物と併せて、それを必要とする対象に投与することを含む、ARSを治療するための方法が提供される。かかる組み合わせは、いずれかの成分単独の治療の効果を増強し得るか、またはより少ない副作用をもたらし得る、及び/またはより低い用量のいずれかの成分をもたらし得る。

30

## 【0091】

PIF-1の作用は、TCR、カルシウムチャネル、またはPKC経路、大部分の免疫抑制剤が作用する機序、及び様々な自己免疫疾患に関連するCD4+/CD25+細胞（Treg）から独立しているように思われる。一方で、PIF-1の作用は、NFAT-1抑制に関与し得る。

## 【0092】

最後に、新規の胚由来ペプチド、PIFは、短期間治療に続いて、低用量で寛容原性状態を創出し、いくつかの別個の深刻な自己免疫モデルにおいて長期的な保護につながる。この効果は、明らかな毒性なしに発揮される。

40

## 【0093】

指定された適応症の治療的処置のために、PIFペプチドがそのように投与され得るか、または非経口、経皮、直腸、鼻腔、局所静脈投与、または好ましくは経口投与のための単位投薬形態で薬学的組成物に化合及び製剤化され得る。かかる薬学的組成物は、当該技術分野において周知の様式で調製され、薬学的担体と共に、少なくとも1種の活性PIFペプチドを含む。本明細書全体にわたって使用するとき、「活性化合物」という用語は、化学式の化合物またはそれらの薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1つの化合物を指す。

50



## 【 0 0 9 4 】

かかる組成物において、活性化合物は、「活性成分」として知られている。組成物を作製することにおいて、活性成分は、通常は担体と混合されるか、または担体によって希釈されるか、またはカプセル、小袋、紙、もしくは他の容器の形態であり得る担体内に封入される。担体が希釈剤として機能する場合、活性成分のためのビヒクル、賦形剤、または媒質として作用する固体、半固体、または液体材料であってもよい。したがって、組成物は、錠剤、ピル、粉末、トローチ、小袋、カセット、乳液、エマルジョン、溶液、シロップ、懸濁液、軟質及び硬質ゼラチンカプセル、滅菌注入溶液、及び滅菌パッケージ化粉末の形態であり得る。

## 【 0 0 9 5 】

「薬学的調製物」及び「薬学的組成物」という用語は、哺乳動物、例えば、ヒトへの投与に適した調製物を含む。本開示の化合物が医薬品として哺乳動物、例えば、ヒトに投与される場合、それらは、そのまま、または例えば、約 0 . 1 ~ 約 9 9 . 5 % の活性成分を、薬学的に許容される担体と併せて含有する薬学的組成物として付与され得る。

## 【 0 0 9 6 】

「薬学的に許容される」という表現は、生理的に耐性があり、ヒトに投与された場合、典型的に、アレルギー反応または同様の不都合な反応、例えば急性胃蠕動、眩暈等を生じない分子実体及び組成物を指す。好ましくは、本明細書で使用する場合、「薬学的に許容される」という用語は、連邦もしくは州政府の規制当局によって承認されたか、または動物及びより具体的にはヒトにおける使用のための、米国薬局方もしくは他の一般に認識される薬局方に列挙されることを意味する。一部の実施形態において、PIFペプチド、模倣物、またはその薬学的に許容される塩、及び少なくとも 1 つの薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物。

## 【 0 0 9 7 】

「薬学的に許容される担体」という表現は、当該技術分野において認識され、本開示の化合物を哺乳動物に投与するのに適した薬学的に許容される材料、組成物、またはビヒクルを含む。担体としては、対象薬剤を 1 つの臓器または身体部分から別の臓器または身体部分へと運ぶまたは輸送することに関与する、液体または固体充填剤、希釈剤、賦形剤、溶媒、またはカプセル化材料が挙げられる。各担体は、製剤の他の成分と適合可能であるという意味で、「許容され」なければならない、患者に有害であってはならない。薬学的に許容される担体として機能し得る材料のいくつかの例としては、ラクトース、グルコース、及びスクロース等の糖；トウモロコシデンプン及びジャガイモデンプン等のデンプン；カルボキシメチルセルロース、エチルセルロース、及び酢酸セルロース等のセルロース及びその誘導体；粉末状トラガカント；麦芽；ゼラチン；タルク；ココアバター及び坐薬蠟等の賦形剤；ピーナッツ油、綿実油、ペニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油、及び大豆油等の油；プロピレングリコール等のグリコール；グリセリン、ソルビトール、マンニトール、及びポリエチレングリコール等のポリオール；オレイン酸エチル及びラウリン酸エチル等のエステル；アガー；水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウム等の緩衝剤；アルギニン酸；パイロジェンを含まない水；等張生理食塩水；リンガー溶液；エチルアルコール；リン酸緩衝溶液；ならびに薬学的製剤中で用いられる他の非毒性適合性物質が挙げられる。好適な薬学的担体は、E . W . M a r t i n による R e m i n g t o n s P h a r m a c e u t i c a l S c i e n c e s に記載され、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。一部の実施形態において、この薬学的に許容される担体は、無菌であり、かつ発熱物質を含まない水である。一部の実施形態において、この薬学的に許容される担体はリンゲルラクテートであり、これは乳酸リンゲル液として知られる場合もある。

## 【 0 0 9 8 】

湿潤剤、乳化剤、及び潤沢剤、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム及びステアリン酸マグネシウム、ならびに着色剤、剥離剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤、及び芳香剤、保存剤、及び抗酸化剤もまた、組成物中に存在し得る。

## 【 0 0 9 9 】

薬学的に許容される抗酸化剤の例としては、アスコルビン酸、塩酸システイン、重硫酸ナトリウム、メタ重硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム等の水溶性抗酸化剤；パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、ブチル化ヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、レシチン、没食子酸プロピル、 $\alpha$ -トコフェロール等の油溶性抗酸化剤；及びクエン酸、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）、ソルビトール、酒石酸、リン酸等の金属キレート剤が挙げられる。

## 【 0 1 0 0 】

本開示の製剤は、経口、鼻腔、局所、頬、舌下、直腸、膣、及び／または非経口投与に適したものを含む。これらの製剤は、便宜的に単位投薬形態で提示されてもよく、調剤の分野において周知の任意の方法によって調製され得る。単一投薬形態を生成するために担体材料と組み合わせられ得る活性成分の量は、一般に、治療効果をもたらす化合物の量となる。一般に、１００パーセントのうち、この量は、活性成分の約１パーセント～約９９パーセント、好ましくは約５パーセント～約７０パーセント、最も好ましくは約１０パーセント～約３０パーセントの範囲となる。

10

## 【 0 1 0 1 】

好適な担体、賦形剤、及び希釈剤の一部の例としては、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アカシアガム、アルギニン酸リン酸カルシウム、サリチル酸カルシウム、微結晶セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、トラガカント、ゼラチン、シロップ、メチルセルロース、メチル及びプロピルヒドロキシ安息香酸塩、タルク、ステアリン酸マグネシウム、水、及び鉱物油が挙げられる。製剤は、追加として、潤沢剤、湿潤剤、乳化剤、及び懸濁剤、保存剤、甘味剤、または香味剤を含み得る。組成物は、当該技術分野において周知の手順を用いることによる患者への投与後に、活性成分の迅速、持続、または遅延放出をもたらすように製剤化され得る。

20

## 【 0 1 0 2 】

経口投与の場合、化合物は、担体及び希釈剤と混和され得るか、錠剤に成形され得るか、またはゼラチンカプセルに封入され得る。混合物は、代替として、１０％水性グルコース溶液、等張生理食塩水、滅菌水等の液体に溶解され、静脈内に、または注入によって投与され得る。

30

## 【 0 1 0 3 】

免疫障害の治療のための阻害量の活性化合物の局所送達は、標的部位に、またはその付近に化合物を投与する様々な技法によって行われ得る。局所送達技法の例は、限定することを意図しないが、使用可能な技法の例示である。例としては、局所送達カテーテル、部位特異的担体、留置剤、直接注入、または直接適用、例えば、局所適用が挙げられる。

## 【 0 1 0 4 】

留置剤による局所送達は、罹患した部位に薬剤を収容するマトリックスの外科的配置を説明する。留置されたマトリックスは、拡散、化学反応、または溶媒活性剤によって薬剤を放出する。

## 【 0 1 0 5 】

例えば、いくつかの態様において、本開示は、ＰＩＦペプチド及び薬学的に許容される担体もしくは希釈剤を含む薬学的組成物、または有効量の、ＰＩＦペプチドを含む薬学的組成物を対象とする。

40

## 【 0 1 0 6 】

投与の具体的形態は、徴候に左右される。特定の投与経路及び用量レジメンの選択は、最適な臨床応答を得るために、臨床医に既知の方法に従って、臨床医によって調整または用量決定されるべきである。投与される化合物の量は、治療上有効な量である。投与されるべき投与量は、治療される対象の特徴、例えば、治療される特定の哺乳動物またはヒト、年齢、体重、健康状態、併用治療があればその種類、及び治療の頻度に左右され、当業者により（例えば、臨床医により）容易に決定され得る。

50

## 【0107】

本開示の化合物及び好適な担体を含む医薬製剤は、本開示のポリマーまたはコポリマーを有効量含む、固体剤形（錠剤、カプセル剤、カシェ剤、ペレット、丸剤、粉末、及び顆粒剤を含むが、これらに限定されない）、局所用剤形（溶液、粉末、液体エマルジョン、液体懸濁液、半固体、軟膏、ペースト、クリーム、ゲル、ゼリー、及び発泡体を含むが、これらに限定されない）、ならびに非経口用剤形（溶液、懸濁液、エマルジョン、及び乾燥粉末を含むが、これらに限定されない）であり得る。活性成分は、かかる製剤中に、薬学的に許容される希釈剤、充填剤、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、界面活性剤、疎水性ビヒクル、水溶性ビヒクル、乳化剤、緩衝剤、湿潤剤、保湿剤、可溶化剤、防腐剤等と共に含有され得ることも当該技術分野において既知である。投与のための手段及び方法は当該技術分野において公知であり、当業者は手引きとして様々な薬理学の参考文献を参照し得る。例えば、Modern Pharmaceuticals, Banker & Rhodes, Marcel Dekker, Inc. (1979); 及び Goodman & Gilman's The Pharmaceutical Basis of Therapeutics, 6th Edition, MacMillan Publishing Co., New York (1980)を参考にし得る。

10

## 【0108】

本開示の化合物は、例えば大量瞬時注射または持続注入による、非経口投与用に製剤化されてもよい。本化合物は、所定の期間にわたって、皮下持続注入によって投与されてもよい。注射用製剤は、防腐剤を添加して、単位剤形、例えばアンプルで提示されてもよく、または複数回投与容器で提示されてもよい。本組成物は、懸濁液、溶液、または油性もしくは水性ビヒクル中のエマルジョン等の形態をとることができ、懸濁化剤、安定化剤、及び/または分散剤等の製剤化剤 (formulatory agent) を含有してもよい。

20

## 【0109】

本化合物は、経口投与用に、これらの化合物を当該技術分野において周知の薬学的に許容される担体と組み合わせることにより、容易に製剤化し得る。かかる担体は、本開示の化合物を、治療される患者による経口摂取用に、錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル、液体、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液等として製剤化し得る。経口用の医薬調製物は、固体の賦形剤を添加して、任意に、得られた混合物を粉碎し、必要に応じて、適切な補助剤を添加後、顆粒の混合物を処理して、錠剤または糖衣錠の芯剤を得ることで得られる。好適な賦形剤としては、充填剤、例えばラクトース、スクロース、マンニトール、及びソルビトールを含むがこれらに限定されない糖類；トウモロコシ澱粉、小麦澱粉、米澱粉、馬鈴薯澱粉、ゼラチン、トラガカントゴム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、及びポリビニルピロリドン (PVP) を含むがこれらに限定されないセルロース調製物等が挙げられるが、これらに限定されない。所望される場合、例えば架橋ポリビニルピロリドン、寒天、またはアルギン酸またはアルギン酸ナトリウム等のその塩等の崩壊剤が添加され得るが、これらに限定されない。

30

## 【0110】

糖衣錠芯剤は、好適なコーティングを提供され得る。この目的のために、濃縮糖溶液を使用することができ、これは任意に、アラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボポールゲル、ポリエチレングリコール、及び/または二酸化チタン、ラッカー溶液、ならびに好適な有機溶媒または溶媒混合物を含有し得る。染料または顔料を、識別用または活性化合物の用量の異なる組み合わせを特徴付けるために、錠剤または糖衣錠コーティングに添加してもよい。

40

## 【0111】

経口で利用できる医薬調製物としては、ゼラチン製のプッシュ-フィットカプセル、ならびにゼラチン及びグリセロールまたはソルビトール等の可塑剤で構成される軟質秤量カプセル剤 (soft, scaled capsule) が挙げられるが、これらに限定さ

50

れない。プッシュ・フィットカプセルは、活性成分を、例えばラクトース等の充填剤、例えば澱粉等の結合剤、及び／または例えばタルクもしくはステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤、ならびに任意に安定化剤と混和させて含有し得る。軟質カプセルでは、活性化合物は、脂肪油、流動パラフィン、または液体ポリエチレングリコール等の好適な液体中に溶解または懸濁させ得る。加えて、安定化剤を添加してもよい。経口投与のための全ての製剤は、かかる投与にとって好適な投与量であるべきである。

【0112】

口腔投与用には、本組成物は、従来型の様式で製剤化された、例えば錠剤またはロゼンジの形態を取り得る。

【0113】

吸入による投与用には、本開示に従って使用するための化合物は、加圧パックまたは噴霧器からエアロゾルスプレーのプレゼンテーション（実射）形態で、好適な噴射剤、例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、または他の好適な気体を使用することで、簡便に送達される。加圧エアロゾルの場合、投与量単位は、計量された量を送達するためのバルブを提供することで決定することができる。吸入器（*inhaler*）または注入器（*insufflator*）で使用する、例えば、ゼラチンのカプセル及びカートリッジは、本化合物とラクトースまたは澱粉等の好適な粉末基剤との粉末混合物を含有するよう製剤化し得る。

【0114】

本開示の化合物はまた、例えば、ココアバターまたは他のグリセリド等の従来型の坐剤基剤を含有する、坐剤または停留浣腸剤等の直腸用組成物に製剤化されてもよい。

【0115】

先述の製剤に加えて、本開示の化合物はまた、持続性（デポー）調製物として製剤化することもできる。かかる長時間作用性製剤は、移植（例えば、皮下または筋肉内）または筋肉内注射によって投与し得る。

【0116】

デポー注射は約1～約6箇月またはそれ以上の間隔で投与し得る。したがって、例えば、本化合物は、好適なポリマー性または疎水性材料（例えば許容される油中のエマルジョンとして）またはイオン交換樹脂と共に、あるいは難溶性誘導体、例えば難溶性塩として製剤化され得る。

【0117】

経皮投与においては、本開示の化合物は、例えば、プラスターに適用されてもよく、または結果的に当該生物に供給される経皮治療システムによって適用されてもよい。

【0118】

本化合物の医薬組成物はまた、好適な固相またはゲル相担体または賦形剤を含み得る。かかる担体または賦形剤の例としては、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、様々な糖類、澱粉、セルロース誘導体、ゼラチン、及び例えばポリエチレングリコール等のポリマーが挙げられるが、これらに限定されない。

【0119】

経口投与の場合、類似体は、薬学的に許容される非経口ビヒクルと併せて、例えば、溶液、懸濁液、エマルジョン、または凍結乾燥粉末として製剤化され得る。かかるビヒクルの例は、水、生理食塩水、リンガー溶液、デキストロース溶液、及び5%ヒト血清アルブミンである。リポソーム及び非水性ビヒクル、例えば、固定油が使用されてもよい。ビヒクルまたは凍結乾燥粉末は、等張性（例えば、塩化ナトリウム、マンニトール）及び化学安定性（例えば、緩衝剤及び保存剤）を維持する添加剤を含有してもよい。製剤は、一般に使用される技法によって滅菌される。例えば、注入による投与に適した非経口組成物は、1.5重量%の類似体を0.9%塩化ナトリウム溶液に溶解することによって調製される。

【0120】

本開示は、筋内、舌下、静脈内、腹腔内、髄腔内、腔内、尿道内、皮内、頬内、吸入経

10

20

30

40

50

由、噴霧器経由、及び皮下注入経由を含む、投与経路に関する。代替として、薬学的組成物は、様々な手段によって、個体から除去される細胞に導入され得る。かかる手段としては、例えば、微粒子銃、及びリボソームまたは他のナノ粒子デバイスが挙げられる。

【0121】

経口投与のための固体投薬形態としては、カプセル、錠剤、ピル、粉末、及び顆粒が挙げられる。固体投薬形態において、類似体は、一般に、少なくとも1つの不活性な薬学的に許容される担体、例えば、スクロース、ラクトース、デンプン、または他の一般に安全と認められる（GRAS）添加剤と混和される。かかる投薬形態は、通常の実践と同様に、不活性な希釈剤以外の追加の物質、例えば、マグネシウムステート等の潤沢剤を含むこともできる。カプセル、錠剤、及びピルの場合、投薬形態は、緩衝剤を含んでもよい。錠剤及びピルは、追加として、当該技術分野において既知の技法を使用して、腸溶性コーティングと共に、または制御放出形態で調製され得る。

10

【0122】

経口投与のための液体投薬形態は、水等の当該技術分野において一般に使用される不活性な希釈剤を含有するエリキシルを含む、薬学的に許容されるエマルジョン、溶液、懸濁液、及びシロップが挙げられる。これらの組成物は、1つ以上の補助剤、例えば、湿潤剤、乳化剤、懸濁剤、甘味剤、香味剤、または芳香剤を含むこともできる。

【0123】

本発明の別の実施形態において、本発明の組成物を使用して、I型成人または若年性糖尿病、多発性硬化症、クローン病、または自己免疫肝炎に罹患しているか、または罹患しやすい患者を治療する。

20

【0124】

当業者であれば、適切な投薬量の組成物及び薬学的組成物が、治療される個体及び目的に応じて異なり得ることを認識するであろう。例えば、個々の患者の年齢、体重、及び病歴が、治療の治療効果に影響を及ぼし得る。更に、より低い投薬量の組成物は、症状の一時的な停止をもたらすために必要とされ得る一方、より大きな用量は、疾患、障害、または適応症と関連付けられる症状の完全停止をもたらすために必要とされ得る。有能な医師は、これらの因子を考慮し、投薬レジメンを調製して、用量が過剰な実験なしに所望の治療転帰を達成することを保証することができる。臨床医及び/または治療医は、個々の患者の応答と併せて、いつどのように治療を中断、調整、及び/または終了するかが分かるであろう。投薬量はまた、薬学的組成物のために選択される特定の類似体の強度に依存し得る。

30

【0125】

組成物または薬学的組成物の用量は異なり得る。組成物の用量は、1日1回であり得る。一部の実施形態において、1日当たり複数用量が対象に投与されてもよい。一部の実施形態において、総投薬量は、少なくとも2つの適用期間で投与される。一部の実施形態において、この期間は、1時間、1日、1ヶ月、1年、1週間、または2週間の期間であり得る。本発明の追加の実施形態において、総投薬量は、2つ以上の別個の適用期間で、または別個の用量で1時間、1日、1ヶ月、1年、1週間、または2週間の期間にわたって投与される。

40

【0126】

一部の実施形態において、対象は、対象の重量1kg当たり約0.0001mg~約5000mgの日用量範囲で本組成物が提供されるように、本組成物を投与され得る。対象に投与される用量はまた、1日当たりで投与される、PIFペプチドもしくはPIF類似体、またはその薬学的に許容される塩の総量の観点から測定されてもよい。一部の実施形態において、対象は、1日当たり約0.001~約3000ミリグラムの、PIFペプチドもしくはPIF類似体、またはその薬学的に許容される塩を投与される。一部の実施形態において、対象は、1日当たり最大約2000ミリグラムの、PIFペプチドもしくはPIF類似体、またはその薬学的に許容される塩を投与される。一部の実施形態において、対象は、1日当たり最大約1800ミリグラムの、PIFペプチドもしくはPIF類似

50



最大約 50 mg の日用量で投与される。一部の実施形態において、PIF ペプチドもしくは PIF 類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む本組成物は、対象の重量 1 kg 当たり最大約 25 mg の日用量で投与される。

【0128】

一部の実施形態において、PIF ペプチドもしくは PIF 類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む本組成物は、対象の重量 1 kg 当たり最大約 10 mg の日用量で投与される。一部の実施形態において、PIF ペプチドもしくは PIF 類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む本組成物は、対象の重量 1 kg 当たり最大約 5 mg の日用量で投与される。一部の実施形態において、PIF ペプチドもしくは PIF 類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む本組成物は、対象の重量 1 kg 当たり最大約 1 mg の日用量で投与される。一部の実施形態において、PIF ペプチドもしくは PIF 類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む本組成物は、対象の重量 1 kg 当たり最大約 0.1 mg の日用量で投与される。

10

【0129】

一部の実施形態において、PIF 類似体またはその薬学的に許容される塩を含む本組成物は、対象の重量 1 kg 当たり最大約 0.01 mg の日用量で投与される。一部の実施形態において、PIF 類似体またはその薬学的に許容される塩を含む本組成物は、対象の重量 1 kg 当たり最大約 0.001 mg の日用量で投与される。対象に投与される用量はまた、1 日当たりで投与される、PIF ペプチドまたは PIF 類似体の総量の観点から測定されてもよい。

20

【0130】

一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 1 ng ~ 約 500 µg の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 1 ng ~ 約 10 ng の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 10 ng ~ 約 20 ng の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 10 ng ~ 約 100 ng の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 100 ng ~ 約 200 ng の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 200 ng ~ 約 300 ng の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 300 ng ~ 約 400 ng の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 400 ng ~ 約 500 ng の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 500 ng ~ 約 600 ng の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 600 ng ~ 約 700 ng の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 700 ng ~ 約 800 ng の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 800 ng ~ 約 900 ng の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 900 ng ~ 約 1 µg の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 1 µg ~ 約 100 µg の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 100 µg ~ 約 200 µg の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 200 µg ~ 約 300 µg の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 300 µg ~ 約 400 µg の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 400 µg ~ 約 500 µg の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 500 µg ~ 約 600 µg の類似体またはその薬学的塩を投与される。一部の実施形態において、それを必要とする対象は、1 日当たり約 600 µg ~ 約 700 µg の類似体またはその薬学的塩

30

40

50

【 0 1 3 1 】

30

40

50

【 0 1 3 3 】





## 【 0 1 3 5 】

投薬量は、調製される液体製剤の 1 リットル当たりの類似体の質量に関して測定され得る。当業者であれば、治療を必要とする対象の治療と関連付けられる、任意の上述の障害を治療または予防するために所望される生体活性の強度に応じて、用量中の類似体の濃度を増加または減少させることができる。例えば、本発明の一部の実施形態は、5 mL の液体製剤当たり最大 0 . 0 0 0 0 1 グラムの類似体、及び 5 mL の液体製剤当たり最大約 1 0 グラムの類似体を含み得る。

## 【 0 1 3 6 】

一部の実施形態において、請求される発明の薬学的組成物は、P I F ペプチド以外の少なくとも 1 つまたは複数の活性剤、その薬学的に許容される塩の類似体を含む。一部の実施形態において、活性剤は、任意に、プロテアーゼ開裂可能なリンカー ( P r o - P r o またはシツリン - バリン ジ - - アミノ酸リンカー ) によって本明細書に開示される P I F ペプチドまたは P I F 類似体に共有結合される。一部の実施形態において、1 つまたは複数の活性剤は、抗炎症性化合物、 - アドレナリン作動性作動薬、抗不整脈化合物、鎮痛性化合物、及び麻酔性化合物から選択される化合物のうちの 1 つまたは組み合わせである。

## 【表 5】

表 5

抗炎症化合物の例としては以下が挙げられる。

アスピリン	
セレコキシブ	
ジクロフェナク	
ジフルニサル	
エトドラク	10
イブプロフェン	
インドメタシン	
ケトプロフェン	
ケトロラック ナブメトン	
ナプロキセン	
オキサプロジン	
ピロキシカム	
サルサラート	20
スリンダク	
トルメチン	

$\alpha$  アドレナリン受容体作動薬の例としては以下が挙げられる。

メチルアミン	
メチルノルエピネフリン	
ミドドリン	
オキシメタゾリン	30
メタラミノール	
フェニレフリン	
クロニジン（混合された $\alpha$ 2-アドレナリンアゴニスト及びイミダゾリン- I 1 受容体アゴニスト）	
グアンファシン（アドレナリン受容体の $\alpha$ 2 A-サブタイプに対して志向性）	
グアナベンズ（イミダゾリン- I 1 とは異なり、 $\alpha$ 2-アドレナリンに対して最も選択的なアゴニスト）	
グアノキサベンズ（グアナベンズの代謝物質）	40
グアナチジン（末梢 $\alpha$ 2 受容体アゴニスト）	
キシラジン	
チザニジン	
メデトミジン	

メチルドパ  
 ファドルミジン  
 デクスメデトミジン

抗不整脈化合物の例としては以下が挙げられる。

アミオダロン (Cordarone、Pacerone)  
 塩酸ベプリジル (Vascor)  
 ジソピラミド (Norpace) 10  
 ドフェチリド (Tikosyn)  
 ドロネダロン (Multaq)  
 フレカイニド (Tambocor)  
 イブチリド (Corvert)  
 リドカイン (Xylocaine)  
 プロカインアミド (Procan、Procanbid)  
 プロパフェノン (Rythmol)  
 プロプラノロール (Inderal) 20  
 キニジン (多くの商標名)  
 ソタロール (Betapace)  
 トカイニド (Tonocarid)

鎮痛性化合物の例としては以下が挙げられる。

コデイン  
 ヒドロコドン (Zohydro ER)、  
 オキシコドン (OxyContin、Roxicodone)、 30  
 メタドン  
 ヒドロモルホン (Dilaudid、Exalgo)、  
 モルヒネ (Avinza、Kadian、MSIR、MS Contin)、及び  
 フェンタニル (Actiq、Duragesic)

麻酔性化合物の例としては以下が挙げられる。

デデスフルラン  
 イソフルラン 40  
 亜酸化窒素  
 セボフルラン  
 キセノン

#### 【0137】

本開示の化合物は、他の活性成分、例えば、補助剤、または他の適合性薬物もしくは化合物等と組み合わせて投与することもでき、かかる組み合わせは、本明細書に記載される方法の所望の効果を達成することにおいて望ましいか、または有利であるように思われる。PIFペプチドを、移植前に任意の細胞、組織、または臓器に曝露するとき、曝露は、約1～約12時間の間であってもよい。一部の実施形態において、PIFを、移植前に予

備馴化細胞に曝露するステップは、約 2 ～ 約 4 時間である。一部の実施形態において、P I F を、移植前に予備馴化細胞に曝露するステップは、約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または 12 時間以上である。一部の実施形態において、P I F を、移植前に臓器、組織、または細胞に曝露するステップは、移植前の約 1 時間～約 48 時間の間で起こる。一部の実施形態において、P I F を、移植が起こる前に臓器、組織、または細胞に曝露するステップは、移植が起こる前の約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、15、20、25、35、45、または約 50 時間である。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、臓器、組織、または細胞の生存度を増加させ、良好な移植の可能性を増加させ、受容者の許容を低減するのに十分な時間及び条件下において臓器、組織、または細胞に曝露される。一部の実施形態において、臓器、組織、または細胞は、本明細書に開示される薬学的組成物のうちの 1 つまたは組み合わせに、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 以上にわたって、及び / またはほぼ室温で曝露される。一部の実施形態において、臓器、組織、または細胞は、本明細書に開示される薬学的組成物のうちの 1 つまたは組み合わせに、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 以上にわたって、及び / または約 4 で曝露される。一部の実施形態において、臓器、組織、または細胞は、本明細書に開示される薬学的組成物のうちの 1 つまたは組み合わせに、約 4 ～ 約 40 で曝露される。

10

**【0138】**

本明細書で使用する場合、「急性放射線症候群」及び「急性放射線病」という用語は、致死線量または亜致死線量の放射線被ばくに関連付けられる任意の急性または慢性症状を指すように交換可能に使用され得る。

20

**【0139】**

本明細書で使用する場合、「島細胞」という用語は、膵臓の任意のホルモン生成領域からの細胞を指す。

**【0140】**

本明細書で使用する場合、「造血細胞」という用語は、任意の型の血球を生物内で生じ得る任意の細胞を指す。一部の実施形態において、造血細胞は、造血幹細胞である。一部の実施形態において、造血細胞は、血球に分化することができる多能性前駆細胞である。一部の実施形態において、造血細胞は、骨髄細胞である。一部の実施形態において、造血細胞は、誘発された多能性幹細胞、胚細胞、または間葉系細胞から分化された血球である。

30

**【0141】**

本明細書で使用する場合、「副腎細胞」という用語は、副腎の任意のホルモン生成領域からの任意の細胞を指す。

**【0142】**

本明細書で使用する場合、「心細胞」という用語は、心臓または血管の任意の部分からの任意の細胞を指す。一部の実施形態において、造血細胞は、誘発された多能性幹細胞、胚幹細胞、または間葉系幹細胞から分化された心細胞である。

**【0143】**

本明細書で使用する場合、「予備馴化」という用語は、その移植または使用前に臓器、組織、または細胞を治療するプロセスを指す。任意の臓器、組織、または細胞は、1 回以上予備馴化され得る。

40

**【0144】**

本明細書で使用する場合、「副腎細胞障害」という用語は、任意の副腎細胞の任意の機能不全、及び / またはかかる機能不全に関連付けられる症状を指す。一部の実施形態において、副腎細胞障害は、副腎細胞移植を必要とするクッシング病である。一部の実施形態において、この障害は、副腎採用移植を必要とする任意の疾患である。

**【0145】**

本明細書で使用する場合、「血液障害」という用語は、任意の血液もしくは血液成分の任意の機能不全、及び / またはかかる機能不全に関連付けられる症状を指す。一部の実施

50

形態において、血液障害は、白血病等の血液のがんである。一部の実施形態において、対象は、多発性硬化症またはクローン病等の免疫障害を有し得るか、または有することが疑われ、それにより、子通じまたは循環する免疫細胞集団の移植が、この疾患を治療するか、または進行を防ぐ。

【0146】

本明細書で使用する場合、「心障害」という用語は、任意の心臓もしくは心臓成分の任意の機能不全、及び/またはかかる機能不全と関連付けられる症状を指す。一部の実施形態において、心臓障害は、鬱血性心不全である。

【0147】

本発明の実施形態は、急性放射線症候群（ARS）を治療するためのPIFの使用を対象とする。ある特定の実施形態において、ARSを治療する方法は、それを必要とする対象組織、臓器、または細胞にPIFペプチドを投与することを含む。一部の実施形態において、ARSは、意図的な放射線被ばくから、例えば、がんの治療のための放射線療法の場合に生じ得る。一部の実施形態において、PIFは、放射線療法またはその組み合わせの前、後、またはそれと併せて投与されてもよい。一部の実施形態において、ARSは、意図的でない放射線被ばくから生じ得る。一部の実施形態において、放射線被ばくに続くARSを治療する方法は、それを必要とする対象組織、臓器、または細胞にPIFを投与することを含み得る。一部の実施形態において、放射線により誘発された臓器損傷を治療する方法は、それを必要とする対象組織、臓器、または細胞にPIFを投与することを含み得る。一部の実施形態において、臓器損傷は、体内の任意の臓器に対してであり得る。一部の実施形態において、臓器損傷は、体の重要臓器に対してであり得る。一部の実施形態において、臓器損傷は、皮膚、脳、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、胃腸管、または脾臓への損傷であり得る。一部の実施形態において、急性放射線被ばく（DEARE）の遅発効果を治療する方法は、それを必要とする対象組織、臓器、または細胞にPIFを投与することを含み得る。一部の実施形態において、放射線被ばく後のARSの発達を阻害するか、または予防する方法は、それを必要とする対象組織、臓器、または細胞にPIFを投与することを含み得る。一部の実施形態において、ARSを治療する方法は、それを必要とする対象に骨髄を移植することを含み、この骨髄は、移植前にPIFに曝露される。一部の実施形態において、対象は、臓器、組織、または細胞移植を受けない。一部の実施形態において、対象は、骨髄移植を受けない。

【0148】

一部の実施形態は、自家移植、同種移植、半同種移植、または異種移植における骨髄または任意の臓器、組織、もしくは細胞の許容を改善するための免疫調節剤としてのPIFの使用を対象とする。骨髄または任意の他の臓器、組織、または細胞の改善された許容は、移植患者の生存の増強、及び自家移植、同種移植、半同種移植、及び異種移植の幅広い使用を可能にし得る。一部の実施形態は、移植された臓器、組織、または細胞の生着を増加させる方法を対象とし、それを必要とする対象にPIFペプチドを投与することを含む。一部の実施形態は、移植された臓器、組織、または細胞の生着を増加させる方法を対象とし、当該臓器、組織、または細胞を、移植前にPIFペプチドに前曝露することを含む。一部の実施形態において、対象は、ARSを治療するために、臓器、組織、または細胞移植を必要とし得る。

【0149】

一部の実施形態において、放射線被ばくに続いて、がんを有する患者のARSを治療する方法は、PIFを対象に投与することを含む。一部の実施形態において、対象の放射線被ばくは、放射線療法ががんの治療のために使用される場合等、意図的であってもよい。一部の実施形態において、がんを有する対象は、PIFの投与前、投与中、または投与に続いて、骨髄または任意の他の臓器の移植を受けない。

【0150】

一部の実施形態において、放射線被ばく後のケモカイン及びサイトカインの発現の上昇を予防する方法は、それを必要とする対象にPIFを投与することを含む。一部の実施形

10

20

30

40

50

態において、放射線被ばくに続いて免疫細胞機能を改善する方法は、それを必要とする対象に P I F を投与することを含む。一部の実施形態において、P I F は、自己投与されてもよい。一部の実施形態において、放射線被ばくに続いて肝機能を増加させる方法は、それを必要とする対象に P I F を投与することを含む。一部の実施形態において、放射線被ばくに続いて肝酵素レベルを正常化させる方法は、それを必要とする対象に P I F を投与することを含む。一部の実施形態において、放射線の確率的影響を治療または予防する方法は、それを必要とする対象に P I F を投与することを含む。一部の実施形態において、放射線の確率的影響としては、がん、腫瘍、遺伝子損傷、またはそれらの組み合わせが挙げられ得る。

#### 【 0 1 5 1 】

一部の実施形態において、P I F は、予防剤として、付随物として、被ばくの直後に、臓器損傷の後、またはそれらの組み合わせで投与されてもよい。かかる実施形態において、P I F は、前事象情報がない場合から、遅れて到着した情報が入手可能になり得、損傷が起こる場合にまで及ぶ、一連の損傷を網羅する有効な A R S / D E A R E 対策であり得る。一部の実施形態において、P I F は、A R S に存在するもの等の免疫態様に対応するだけでなく、一般にかかる放射線被ばく（臓器損傷）に起因して、更に P I F が、急性放射線被ばく（D E A R E）の頻繁な遅発効果である、移植片対宿主（G V H D）ならびに移植片対白血病（G V L）に対する保護をもたらすことが示された移植後の後の時点で起こる、関連病理学的態様に対応することができる。他の例において、P I F が保存剤として投与され得る偽の情報または非特異的情報の場合、P I F が本来非毒性であると考えられるため、最小の有害反応が予想され得るか、または有害反応は予想されない場合がある。

#### 【 0 1 5 2 】

前述の実施形態において、放射線被ばくは、致死線量の放射線への被ばくを含み得る。前述の実施形態において、放射線被ばくは、非致死線量の放射線への被ばくを含み得る。前述の実施形態において、放射線量は、約 1 0 0 ラッド～約 3 0 0 0 ラッド、約 2 0 0 ラッド～約 3 0 0 0 ラッド、約 5 0 0 ラッド～約 3 0 0 0 ラッド、約 8 0 0 ラッド～約 3 0 0 0 ラッド、約 1 0 0 0 ラッド～約 3 0 0 0 ラッド、約 1 0 0 ラッド～約 1 0 0 0 ラッド、約 2 0 0 ラッド～約 1 0 0 0 ラッド、約 5 0 0 ラッド～約 1 0 0 0 ラッド、約 1 0 0 ラッド～約 5 0 0 0 ラッド、約 1 0 0 ラッド～約 6 0 0 0 ラッド、及び端点を含めて、これらの値のうちのいずれかの間の任意の範囲であり得る。

#### 【 0 1 5 3 】

前述の実施形態において、P I F ペプチドは、放射線被ばく前に、それと同時に、またはそれに続いて投与されてもよい。

#### 【 0 1 5 4 】

一部の実施形態において、P I F ペプチドは、治療有効量で投与されるか、または前曝露される。一部の実施形態において、P I F ペプチドは、対象が移植を受けた後、対象が移植を受ける前、対象が移植を受けている間、またはそれらの組み合わせで投与される。一部の実施形態において、対象は、対象が移植を受ける前、対象が移植を受けている間、またはそれらの組み合わせで、P I F ペプチドの二次投与を含み得る、二次治療を受けてもよい。

#### 【 0 1 5 5 】

前述の実施形態において、P I F ペプチドは、約 0 . 0 1 m g / k g / 日、約 0 . 1 m g / k g / 日、約 0 . 5 m g / k g / 日、0 . 7 5 m g / k g / 日、1 m g / k g / 日、2 m g / k g / 日、4 m g / k g / 日、6 m g / k g / 日、8 m g / k g / 日、1 0 m g / k g / 日、2 0 m g / k g / 日、または端点を含めて、これらの値のうちのいずれかの間の任意の範囲の用量で投与され得る。かかる用量は、単一用量として、または単一日に分割用量として投与されてもよい。

#### 【 0 1 5 6 】

前述の実施形態において、P I F は、1 回、限定された期間にわたって、または維持療

10

20

30

40

50

法として（病態が改善するか、治癒するまで長期間にわたって、または対象の生涯にわたって）投与されてもよい。限定された期間は、1週間、2週間、3週間、4週間、及び最長1年であり得、端点を含めて、かかる値の間の任意の期間を含む。一部の実施形態において、PIFペプチドは、約1日、約3日間、約1週間、約10日間、約2週間、約18日間、約3週間、または端点を含めて、これらの値のうちのいずれかの間の任意の範囲にわたって投与され得る。

【0157】

前述の実施形態において、PIFは、1日1回、1日2回、1日3回、1日4回、またはそれ以上投与されてもよい。

【0158】

前述の実施形態において、PIFペプチドは、放射線被ばく前、放射線被ばくの約6時間以内、放射線被ばくの約12時間以内、放射線被ばくの約18時間以内、放射線被ばくの約24時間以内、放射線被ばくの約30時間以内、放射線被ばくの約36時間以内、放射線被ばくの約42時間以内、放射線被ばくの約48時間以内、または端点を含めて、これらの値のうちのいずれかの間の任意の範囲内で投与され得る。

【0159】

一部の実施形態において、PIFは、上に定義されるPIFペプチドを含む薬学的組成物、及び薬学的に許容される担体もしくは希釈剤、または上に定義される化合物を含む、有効量の薬学的組成物として投与されるか、または提供される。

【0160】

本明細書に開示される方法は、本明細書に開示される化合物、組成物、調製物、及びキットのうちのいずれかと共に使用することができる。

【0161】

一部の実施形態において、本開示は、急性放射線症候群を治療するための方法に関し、それを必要とする対象に、有効量の本明細書に記載される組成物を投与することを含む。

【0162】

一部の実施形態において、本開示は、放射線被ばくが続いて急性放射線症候群を治療するための方法に関し、それを必要とする対象に骨髄を移植することを含み、当該骨髄は、有効量の本明細書に記載される組成物に前曝露される。

【0163】

一部の実施形態において、本開示は、移植された臓器、組織、または細胞を生着を増加させるための方法に関し、それを必要とする対象に臓器、組織、または細胞を移植することを含み、当該臓器、組織、または細胞は、移植前に有効量の本明細書に記載される組成物に前曝露される。

【0164】

一部の実施形態において、本開示は、対象へのドナー臓器、組織、または細胞の移植片の許容の可能性を増加させる方法に関し、臓器、組織、または細胞を対象に移植する前に、当該臓器、組織、または細胞を、本明細書に記載される1つ以上の組成物に曝露することを含む。

【0165】

一部の実施形態において、本開示は、生着された組織の拒絶反応の可能性を低減する方法に関し、組織を対象に移植する前に、本明細書に記載される組成物のうちの1つ以上の組織を曝露することを含む。

【0166】

一部の実施形態において、本開示は、減損数の造血細胞を有する対象における造血細胞の生成を増加させる方法に関し、本明細書に記載される1つ以上の薬学的組成物を投与することを含む。

【0167】

ある実施形態において、組成物は、それを必要とする対象に1日1回投与される。別の実施形態において、組成物は、隔日、3日毎、または1週間に1回投与される。別の実施

10

20

30

40

50



形態において、組成物は、1日2回投与される。更に別の実施形態において、組成物は、1日3回または1日4回投与される。更なる実施形態において、組成物は、少なくとも1日1回、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12週間にわたって投与される。なおも更なる実施形態において、組成物は、少なくとも1日1回、少なくとも4、6、8、10、12、または24ヶ月等の、より長期間にわたって投与される。一部の実施形態において、投与は、1日最低1回、2回、3回、または4回での投薬量10～50mgの組成物を含むが、これに限定されない。一部の実施形態において、組成物は、1週間に1回、隔週1回、または月1回投与される。任意に、投与は、全ての症状が医療関係者によって解決及び排除されるまで継続する。

**【0168】**

10

一部の実施形態において、組成物は、放射線被ばくの1、2、3、5、または7日以内に投与される。他の実施形態において、組成物は、ARSの症状の出現の1、2、3、5、または7日以内に投与される。

**【0169】**

一部の実施形態において、組成物は、更なる治療の必要がないほど病態が改善するまで、少なくとも1日1回投与される。別の実施形態において、組成物は、病態の全ての症状が解決されるまで投与される。更なる実施形態において、組成物は、対象が無症状になった後、少なくとも1、2、3、6、8、10、または12、または24ヶ月にわたって投与される。

**【0170】**

20

本開示の組成物は、急性放射線症候群を治療するため、ならびに移植前に臓器、細胞、または組織を予備馴化するために投与される場合、有効かつ有効である。組成物中に存在する各成分の量は、治療上有効な量、すなわち、投与された場合に病態（例えば、ARS）の有効な治療をもたらす量となる。治療有効量は、対象ならびに傷害の重症度及び性質に応じて異なり、当業者によってルーチンの決定され得る。

**【0171】**

一部の実施形態において、本開示は、米国特許第7,723,289号、同第7,723,290号、同第8,222,211号、同第8,454,967号、同第9,097,725号（各々が参照によりそれら全体が組み込まれる）に記載される適応症のうちのいずれかを治療するか、または予防する方法に関し、本明細書に開示されるPIFペプチド、類似体、またはその薬学的に許容される塩のうちのいずれか1つまたは複数を含む組成物または薬学的組成物を投与することを含む。

30

**【0172】**

一部の方法において、本開示は、幹細胞の分化及び/または増殖を刺激することを必要とする対象において、それを行う方法に関し、本明細書に開示されるPIFペプチド、類似体、またはその薬学的に許容される塩のうちのいずれか1つまたは複数を含む組成物または薬学的組成物を投与することを含む。

**【0173】**

一部の実施形態において、本開示は、米国特許第7,273,708号、同第7,695,977号、同第7,670,852号、同第7,670,851号、同第7,678,582号、同第7,670,850号、同第8,012,700号（各々が参照によりそれら全体が組み込まれる）に開示される方法のうちのいずれかに関し、本明細書に開示されるPIFペプチド、類似体、またはその薬学的に許容される塩のうちのいずれか1つまたは複数を含む組成物または薬学的組成物を投与することを含む。本開示はまた、米国特許第7,789,289号、同第7,723,290号、同第8,222,211号、及び同第8,454,967号を、参照によりそれら全体を組み込む。

40

**【0174】**

一部の実施形態において、本開示は、急性放射線症候群の治療のための、治療有効量または用量の少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物に関する。

50

## 【 0 1 7 5 】

一部の実施形態において、本開示は、移植前の臓器、組織、または細胞の予備馴化のための医薬品の製造における、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、治療有効量または用量の、本明細書に開示される組成物のうちのいずれか1つまたは複数の使用に関する。

## 【 0 1 7 6 】

一部の実施形態において、本開示は、急性放射線症候群の治療のための医薬品の製造における、治療有効量または用量の少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物の使用に関する。

10

## 【 0 1 7 7 】

一部の実施形態において、本開示は、対象が急性放射線症候群を有しているか、または有していると疑われる場合、免疫調節効果を誘発することを必要とする対象において、それを行う方法に関する。

## 【 0 1 7 8 】

一部の実施形態において、本開示は、PIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む、本明細書に開示される組成物のうちの少なくとも1つまたは複数の投与することによって、急性放射線症候群を治療する方法に関する。

## 【 0 1 7 9 】

一部の実施形態において、本開示は、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む、本明細書に開示される組成物のうちの1つまたは複数の投与することによって、急性放射線症候群を治療する方法に関する。

20

## 【 0 1 8 0 】

一部の実施形態において、本開示は、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容担体を含む、薬学的組成物の投与によって、急性放射線症候群を治療する方法に関する。

## 【 0 1 8 1 】

一部の実施形態において、本開示は、急性放射線症候群の治療のための、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物に関する。

30

## 【 0 1 8 2 】

一部の実施形態において、本開示は、急性放射線症候群の治療のための医薬品の製造における、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、本明細書に開示される組成物のうちのいずれか1つまたは複数の使用に関する。

## 【 0 1 8 3 】

一部の実施形態において、本開示は、急性放射線症候群の治療のための医薬品の製造における、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物の使用に関する。

40

## 【 0 1 8 4 】

一部の実施形態において、本開示は、対象が急性放射線症候群を有するか、または有していると疑われる場合、免疫調節効果を誘発することを必要とする対象において、それを行う方法に関する。

## 【 0 1 8 5 】

一部の実施形態において、本開示は、PIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む、本明細書に開示される組成物のうちの少なくとも1つまたは複数の投与することによって、移植片対宿主疾患を治療する方法に関する。

## 【 0 1 8 6 】

50

一部の実施形態において、本開示は、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む、本明細書に開示される組成物のうちの1つまたは複数を投与することによって、移植片対宿主疾患を治療する方法に関する。

【0187】

一部の実施形態において、本開示は、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容担体を含む、薬学的組成物の投与によって、移植片対宿主疾患を治療する方法に関する。

【0188】

一部の実施形態において、本開示は、移植片対宿主疾患の治療のための、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物に関する。

10

【0189】

一部の実施形態において、本開示は、移植片対宿主疾患の治療のための医薬品の製造における、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、本明細書に開示される組成物のうちのいずれか1つまたは複数の使用に関する。

【0190】

一部の実施形態において、本開示は、移植片対宿主疾患の治療のための医薬品の製造における、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物の使用に関する。

20

【0191】

一部の実施形態において、本開示は、対象が移植片対宿主疾患を有するか、または有していると疑われる場合、免疫調節効果を誘発することを必要とする対象において、それを行う方法に関する。

【0192】

一部の実施形態において、本開示は、PIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む、本明細書に開示される組成物のうちの少なくとも1つまたは複数を投与することによって炎症を治療する方法に関する。

30

【0193】

一部の実施形態において、本開示は、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む、本明細書に開示される組成物のうちの1つまたは複数を投与することによって、炎症を治療する方法に関する。

【0194】

一部の実施形態において、本開示は、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容担体を含む、薬学的組成物の投与によって炎症を治療する方法に関する。

【0195】

一部の実施形態において、本開示は、炎症の治療のための、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体もしくは模倣物、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物に関する。

40

【0196】

一部の実施形態において、本開示は、炎症の治療のための医薬品の製造における、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、本明細書に開示される組成物のうちのいずれか1つまたは複数の使用に関する。

【0197】

一部の実施形態において、本開示は、炎症の治療のための医薬品の製造における、治療

50

有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物の使用に関する。

【0198】

一部の実施形態において、本開示は、対象が炎症を有しているか、または有していると疑われる場合、免疫調節効果を誘発することを必要とする対象において、それを行う方法に関する。

【0199】

一部の実施形態において、本開示は、PIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む、本明細書に開示される組成物のうちの少なくとも1つまたは複数を投与することによって自己免疫疾患を治療する方法に関する。

10

【0200】

一部の実施形態において、本開示は、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む、本明細書に開示される組成物のうちの1つまたは複数を投与することによって自己免疫疾患を治療する方法に関する。

【0201】

一部の実施形態において、本開示は、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容担体を含む、薬学的組成物の投与によって自己免疫疾患を治療する方法に関する。

【0202】

一部の実施形態において、本開示は、自己免疫疾患の治療のための、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物に関する。

20

【0203】

一部の実施形態において、本開示は、自己免疫疾患の治療のための医薬品の製造における、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、本明細書に開示される組成物のうちのいずれか1つまたは複数の使用に関する。

【0204】

一部の実施形態において、本開示は、自己免疫疾患の治療のための医薬品の製造における、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物の使用に関する。

30

【0205】

一部の実施形態において、本開示は、対象が自己免疫疾患を有しているか、または有していると疑われる場合、免疫調節効果を誘発することを必要とする対象において、それを行う方法に関する。

【0206】

一部の実施形態において、本開示は、PIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む、本明細書に開示される組成物のうちの少なくとも1つまたは複数を投与することによって炎症障害を治療する方法に関する。

40

【0207】

一部の実施形態において、本開示は、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む、本明細書に開示される組成物のうちの1つまたは複数を投与することによって炎症障害を治療する方法に関する。

【0208】

一部の実施形態において、本開示は、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容担体を含む、薬学的組成物の投与によって炎症障害を治療する方法に関する。

50

## 【0209】

一部の実施形態において、本開示は、炎症障害の治療のための、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物に関する。

## 【0210】

一部の実施形態において、本開示は、炎症障害の治療のための医薬品の製造における、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、本明細書に開示される組成物のうちのいずれか1つまたは複数の使用に関する。

## 【0211】

一部の実施形態において、本開示は、炎症障害の治療のための医薬品の製造における、治療有効量または用量の、少なくとも1つのPIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物の使用に関する。

## 【0212】

一部の実施形態において、本開示は、対象が炎症障害を有しているか、または有していると疑われる場合、免疫調節効果を誘発することを必要とする対象において、それを行う方法に関する。

## 【0213】

一部の実施形態において、本開示は、PIFペプチド、その類似体、またはその薬学的に許容される塩を含む、本明細書に開示される組成物のうちの少なくとも1つまたは複数の投与することによって反復性緊張外傷を治療する方法に関する。

## 【0214】

本発明の一部の実施形態に従って、製剤は、キットの一部として供給されてもよい。一部の実施形態において、キットは、PIFペプチド及び/もしくはPIF類似体、またはその薬学的に許容される塩を含み、当該PIFペプチド及び/もしくはPIF類似体、またはその薬学的に許容される塩は、非天然アミノ酸を含むか、または配列番号20に対して少なくとも70%相同である。別の実施形態において、当該キットは、再水和混合物と共に、類似体の薬学的に許容される塩を含む。別の実施形態において、類似体の薬学的に許容される塩は、1つの容器内にある一方、再水和混合物は、第2の容器内にある。再水和混合物は、乾燥形態で供給されてもよく、水または他の液体溶媒を添加して、投与前に懸濁液または溶液を形成することができる。再水和混合物は、少なくとも1用量の下剤を摂取する対象への組成物の投与前に、本発明の凍結乾燥した不溶性の塩を溶解するように設計された混合物である。別の実施形態において、当該キットは、薬学的に許容される塩を経口で使用可能なピル形態で含む。

## 【0215】

当該キットは、調製及び投与のための指示と共に、2つ以上の容器、パック、または分注器を含み得る。一部の実施形態において、当該キットは、本明細書に記載される1つまたは複数の薬学的組成物を含む、少なくとも1つの容器と、シリンジ等の組成物の送達のための手段を含む、第2の容器と、を含む。一部の実施形態において、当該キットは、溶液中の類似体を含むか、または凍結乾燥もしくは乾燥され、再水和混合物を付随する組成物を含む。一部の実施形態において、類似体及び再水和混合物は、1つ以上の追加の容器内にあり得る。

## 【0216】

当該キット内に含まれるこれらの組成物は、任意の種類の容器内に供給されてもよく、それにより、異なる成分の貯蔵寿命が保存され、容器の材料によって吸収または改変されない。例えば、好適な容器としては、ガラス、有機ポリマー（例えば、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリプロピレン、セラミック、金属、または試薬もしくは食品を保持するために典型的に用いられる他の材料）から成形加工され得る簡素な瓶；アルミニウムまたは合金等のホイルで裏張りされた内部からなり得るエンベロープが挙げられる。他の容

10

20

30

40

50

器としては、試験管、バイアル、フラスコ、及びシリンジが挙げられる。これらの容器は、容易に除去可能な膜によって分離された2つの区画を有してもよく、膜を除去する際に、組成物の成分が混合するのを許す。除去可能な膜は、ガラス、プラスチック、ゴム、または他の不活性材料であってもよい。

【0217】

キットは、指示書と共に供給されてもよい。指示は、紙または他の基材に印刷され得る、及び/またはフロッピーディスク、CD-ROM、DVD-ROM、ジップディスク、ビデオテープ、オーディオテープ、または他の可読メモリ記憶デバイス等の電子可読媒体として供給されてもよい。詳細な指示は、キットと物理的に関連付けられていなくてもよく、代わりに、使用者は、キットの製造者もしくは配給者によって指定されるインターネットのウェブサイトに誘導され得るか、または電子メールとして供給され得る。

10

【0218】

別の実施形態において、投与される薬学的製剤、すなわち、PIFペプチド及び/もしくはPIF類似体、またはその薬学的に許容される塩と、保管中及び使用前に製剤を収容するために任意に密封された容器（例えば、バイアル、瓶、パウチ、エンベロープ、缶、管、噴霧器、エアロゾル缶等）と、本明細書に開示される適応症のうちの1つ以上を治療するために有効な方法で薬物投与を実行する指示書と、を含む、パッケージ化されたキットが提供される。指示は、典型的に、パッケージ挿入物、ラベル上、及び/またはキットの他の構成要素上の文書による指示である。

【0219】

20

製剤の種類及び意図される投与形態に応じて、当該キットは、製剤を投与するためのデバイス（例えば、経皮送達デバイス）を含んでもよい。投与デバイスは、点滴器、綿棒、または噴霧器もしくはエアロゾル缶のノズルもしくは噴出口であってもよい。製剤は、本明細書に記載される任意の好適な製剤であり得る。例えば、製剤は、管内に収容される単位投薬量の活性剤、またはゲルもしくは軟膏を含有する経口投薬形態であってもよい。当該キットは、異なる投薬量の同じ薬剤の複数製剤を含有してもよい。当該キットはまた、異なる活性剤の複数製剤を含有してもよい。

【0220】

本キットはまた、典型的に、個々のキット構成要素、すなわち、薬学的投与形態、投与デバイス（含まれる場合）、及び文書による使用指示書をパッケージ化するための手段を含む。かかるパッケージ化手段は、厚紙または紙の箱、プラスチックまたはホイルパウチ等の形態を取り得る。

30

本発明の様々な態様を以下に示す。

1. 被ばく後の、それを必要とする対象における急性放射線症候群を治療及び/または予防する方法であって、前記対象に対してPIFペプチド、その模倣物、その薬学的に許容される塩、及びそれらの組み合わせを、治療有効量投与することを含む、方法。

2. 前記対象が、骨髄移植を受けない、上記1に記載の方法。

3. 前記治療有効量が、約0.10ミリグラム/キログラム/日～約10.00ミリグラム/キログラム/日である、上記1または2に記載の方法。

4. 前記治療有効量が、約0.75ミリグラム/キログラム/日～約1.50ミリグラム/キログラム/日である、上記1～3のいずれかに記載の方法。

40

5. 前記治療有効量が、約0.75ミリグラム/キログラム/日～約1.00ミリグラム/キログラム/日である、上記1～4のいずれかに記載の方法。

6. 前記PIFペプチドが、被ばく後約24時間以内に投与される、上記1～5のいずれかに記載の方法。

7. 前記PIFペプチドが、約2～約14日間の期間にわたって、断続的または持続的に投与される、上記1～6のいずれかに記載の方法。

8. 前記PIFペプチドが断続的に投与され、投与レジメンが、少なくとも約12週間にわたる約1日1回または約2日毎に1回の投与を含む、上記1～7のいずれかに記載の方法。

50

9．前記 P I F ペプチドが、静脈内、筋肉内、または皮下投与される、上記 1 ～ 8 のいずれかに記載の方法。

10．前記 P I F ペプチドが、間欠注入または持続注入で投与される、上記 1 ～ 9 のいずれかに記載の方法。

11．前記急性放射線症候群が、致死線量または亜致死線量の被ばくによって引き起こされる、上記 1 ～ 10 のいずれかに記載の方法。

12．前記急性放射線症候群が、約 100 rad ～ 約 6000 rad の放射線量に対する曝露によって引き起こされる、上記 1 ～ 11 のいずれかに記載の方法。

13．前記急性放射線症候群が、任意の臓器、組織、または細胞に対する損傷を含む、急性被ばくの遅発効果を含む、上記 1 ～ 12 のいずれかに記載の方法。

10

14．前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 と少なくとも 86 % の配列相同性を有するアミノ酸配列、その模倣物、及びその薬学的に許容される塩のうちの 1 つまたはそれらの組み合わせを含む、上記 1 ～ 13 のいずれかに記載の方法。

15．配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 と少なくとも 86 % の配列相同性を有するアミノ酸配列、その模倣物、及びその薬学的に許容される塩、ならびにそれらの組み合わせを含むか、またはそれらからなる P I F ペプチドを治療有効量含む、急性放射線病または急性放射線症候群の治療のための、薬学的組成物。

20

16．対象が、骨髄移植を受けない、上記 15 に記載の薬学的組成物。

17．前記治療有効量が、約 0.10 ミリグラム / キログラム / 日 ～ 約 10.00 ミリグラム / キログラム / 日である、上記 15 または 16 に記載の薬学的組成物。

18．前記治療有効量が、約 0.75 ミリグラム / キログラム / 日 ～ 約 1.50 ミリグラム / キログラム / 日である、上記 15 ～ 17 のいずれかに記載の薬学的組成物。

30

19．前記治療有効量が、約 0.75 ミリグラム / キログラム / 日 ～ 約 1.00 ミリグラム / キログラム / 日である、上記 15 ～ 18 のいずれかに記載の薬学的組成物。

20．前記 P I F ペプチドが、被ばく後 24 時間以内に投与される、上記 15 ～ 19 のいずれかに記載の薬学的組成物。

21．前記 P I F ペプチドが、約 2 ～ 約 14 日間の期間にわたって、断続的または持続的に投与される、上記 15 ～ 20 のいずれかに記載の薬学的組成物。

22．前記 P I F ペプチドが断続的に投与され、投与レジメンが、少なくとも約 12 週間にわたる約 1 日 1 回または約 2 日毎に 1 回の投与を含む、上記 15 ～ 21 のいずれかに記載の薬学的組成物。

40

23．前記 P I F ペプチドが、静脈内、筋肉内、または皮下投与される、上記 15 ～ 22 のいずれかに記載の薬学的組成物。

24．前記 P I F ペプチドが、間欠注入または持続注入で投与される、上記 15 ～ 23 のいずれかに記載の薬学的組成物。

25．前記急性放射線症候群が、致死線量または亜致死線量の被ばくによって引き起こされる、上記 15 ～ 24 のいずれかに記載の薬学的組成物。

26．前記急性放射線症候群が、約 100 rad ～ 約 6000 rad の放射線量に対する曝露によって引き起こされる、上記 15 ～ 25 のいずれかに記載の薬学的組成物。

27．前記急性放射線症候群が、任意の臓器、組織、または細胞に対する損傷を含む、急性被ばくの遅発効果を含む、上記 15 ～ 26 のいずれかに記載の薬学的組成物。

50

28．配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29と少なくとも86%の配列相同性を有するアミノ酸配列、その模倣物、及びその薬学的に許容される塩、ならびにそれらの組み合わせを含むか、またはそれらからなるPIFペプチドを治療有効量含む薬学的組成物の、急性放射線病または急性放射線症候群を治療するための薬物の製造のための、使用。

29．対象が、骨髄移植を受けないか、または受けていない、上記28に記載の使用。

30．前記治療有効量が、約0.10ミリグラム/キログラム/日～約10.00ミリグラム/キログラム/日である、上記28または29に記載の使用。

31．前記治療有効量が、約0.75ミリグラム/キログラム/日～約1.50ミリグラム/キログラム/日である、上記28～30のいずれかに記載の使用。

32．前記治療有効量が、約0.75ミリグラム/キログラム/日～約1.00ミリグラム/キログラム/日である、上記28～31のいずれかに記載の使用。

33．前記PIFペプチドが、被ばく後24時間以内に投与される、上記28～32のいずれかに記載の使用。

34．前記PIFペプチドが、約2～約14日間の期間にわたって、断続的または持続的に投与される、上記28～33のいずれかに記載の使用。

35．前記PIFペプチドが断続的に投与され、投与レジメンが、少なくとも約12週間にわたる約1日1回または約2日毎に1回の投与を含む、上記34に記載の使用。

36．前記PIFペプチドが、静脈内、筋肉内、または皮下投与される、上記28～35のいずれかに記載の使用。

37．前記PIFペプチドが、間欠注入または持続注入で投与される、上記28～36のいずれかに記載の使用。

38．前記急性放射線症候群が、致死線量または亜致死線量の被ばくによって引き起こされる、上記28～37のいずれかに記載の使用。

39．前記急性放射線症候群が、約100rad～約6000radの放射線量に対する曝露によって引き起こされる、上記28～38のいずれかに記載の使用。

40．前記急性放射線症候群が、任意の臓器、組織、または細胞に対する損傷を含む、急性被ばくの遅発効果を含む、上記28～39のいずれかに記載の使用。

41．被ばく後の急性放射線症候群を治療及び/または予防する方法であって、それを必要とする対象に1つまたは複数の骨髄細胞を移植することを含み、前記1つまたは複数の骨髄細胞が、移植前に、治療有効量のPIFペプチドに前曝露され、前記PIFペプチドが、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29から選択されるアミノ酸配列と少なくとも86%の配列相同性を有するアミノ酸配列、その模倣物、及びその薬学的に許容される塩、ならびにそれらの組み合わせを含むか、またはそれらからなる、方法。

42．前記急性放射線症候群が、致死線量または亜致死線量の被ばくによって引き起こされる、上記41に記載の方法。

43．前記急性放射線症候群が、約100rad～約6000radの放射線量に対する曝露によって引き起こされる、上記41または42に記載の方法。

44．前記急性放射線症候群が、急性被ばくの遅発効果を含む、上記41～43のいずれかに記載の方法。

45．PIFペプチドの前記治療有効量が、約0.10ミリグラム/キログラム/日～約

10

20

30

40

50



10 . 00 ミリグラム / キログラム / 日である、上記 41 ~ 44 のいずれかに記載の方法。

46 . 前記 1 つまたは複数の骨髄細胞が、移植前に、前記骨髄細胞を予備馴化させるのに十分な期間及び条件の下、ある濃度の P I F ペプチドに前曝露される、上記 41 ~ 45 のいずれかに記載の方法。

47 . 前記 1 つまたは複数の骨髄細胞が、移植前に、前記骨髄細胞のコルチゾール分泌を刺激するのに十分な期間及び条件の下、ある濃度の P I F ペプチドに前曝露される、上記 41 ~ 46 のいずれかに記載の方法。

48 . 前記骨髄が、P I F が約 10 nM ~ 約 1000 nM の濃度の、P I F ペプチドのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせに、約 1 時間 ~ 約 4 時間前曝露される、上記 41 ~ 47 のいずれかに記載の方法。

49 . 前記対象が、最大約 8 週間以上、前記骨髄移植後に P I F ペプチドによる追加的な治療を受けない、上記 41 ~ 48 のいずれかに記載の方法。

50 . 成人型または若年型の I 型または I I 型糖尿病を治療及び / または予防する方法であって、それを必要とする対象に 1 つまたは複数の膵島細胞を移植することを含み、前記膵島細胞が、移植前に、治療有効量の P I F ペプチドに前曝露され、前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 と少なくとも 86 % の配列相同性を有するアミノ酸配列、その模倣物、及びその薬学的に許容される塩、ならびにそれらの組み合わせを含むか、またはそれらからなる、方法。

51 . 前記対象が、若年型 I 型糖尿病を有する、上記 50 に記載の方法。

52 . 前記対象が、成人型 I 型糖尿病を有する、上記 50 または 51 に記載の方法。

53 . 前記 1 つまたは複数の膵島細胞が、移植前に、前記膵島細胞を移植のために予備馴化させるのに十分な期間及び条件の下、ある濃度の P I F ペプチドに前曝露される、上記 50 ~ 52 のいずれかに記載の方法。

54 . 前記 1 つまたは複数の膵島細胞が、移植前に、前記膵島細胞のコルチゾール分泌を刺激するのに十分な期間及び条件の下、ある濃度の P I F ペプチドに前曝露される、上記 50 ~ 53 のいずれかに記載の方法。

55 . 前記 1 つまたは複数の膵島細胞が、移植前に、前記膵島細胞のインスリン分泌を刺激するのに十分な期間及び条件の下、ある濃度の P I F ペプチドに前曝露される、上記 50 ~ 53 のいずれかに記載の方法。

56 . 前記 1 つまたは複数の膵島細胞が、約 10 nM ~ 約 1000 nM の濃度の、P I F ペプチドのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせに、約 1 時間 ~ 約 4 時間前曝露される、上記 50 ~ 55 のいずれかに記載の方法。

57 . 前記対象が、最大約 8 週間以上、前記膵島細胞移植後に P I F ペプチドによる追加的な治療を受けない、上記 50 ~ 56 のいずれかに記載の方法。

58 . 移植された臓器、組織、または細胞の生着が成功する可能性を増加させる方法であって、それを必要とする対象に臓器、組織、または細胞を移植することを含み、前記臓器、組織、または細胞が、移植前に、P I F ペプチドに前曝露され、前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 から選ばれるアミノ酸配列と少なくとも 86 % の配列相同性を有するアミノ酸配列、その模倣物、及びその薬学的に許容される塩、ならびにそれらの組み合わせを含むか、またはそれらからなる、方法。

10

20

30

40

50

- 59．前記移植が骨髄移植である、上記58に記載の方法。
- 60．前記移植が脾臓細胞移植である、上記58に記載の方法。
- 61．前記移植が副腎細胞移植である、上記58に記載の方法。
- 62．前記移植が心臓移植である、上記58に記載の方法。
- 63．治療有効量のPIFペプチドが、前記移植と同時にまたは前記移植後に、前記対象に投与され、前記PIFペプチドの前記治療有効用量が、約0.1ミリグラム/キログラム～約10ミリグラム/キログラムである、上記58～62のいずれかに記載の方法。
- 64．前記1つまたは複数の臓器、組織、または細胞が、移植前に、前記臓器、組織、または細胞を移植のために予備馴化させるのに十分な期間及び条件の下、ある濃度のPIFペプチドに前曝露される、上記58～63のいずれかに記載の方法。 10
- 65．前記1つまたは複数の臓器、組織、または細胞が、移植前に、臓器、組織、または細胞からのコルチゾール分泌を刺激するのに十分な期間及び条件の下、ある濃度のPIFペプチドに前曝露される、上記58～64のいずれかに記載の方法。
- 66．前記1つまたは複数の脾臓細胞が、移植前に、前記臓器、組織、または細胞の内因性ホルモン分泌を刺激するのに十分な期間及び条件の下、ある濃度のPIFペプチドに前曝露される、上記58～65のいずれかに記載の方法。
- 67．前記1つまたは複数の脾臓細胞が、約10nM～約1000nMの濃度の、PIFペプチドのうちの1つまたはそれらの組み合わせに、約1時間～約4時間前曝露される、上記58～66のいずれかに記載の方法。
- 68．前記臓器、組織、または細胞が、骨髄細胞、皮膚細胞、副腎からの細胞、脾臓細胞、脾臓細胞、胃腸細胞、脳細胞、心臓細胞、肺細胞、腎細胞、脾臓細胞、及び肝細胞から選ばれる細胞のうちの1つまたはそれらの組み合わせから選択される、上記58～67のいずれかに記載の方法。 20
- 69．前記臓器、組織、または細胞が、骨髄、皮膚、副腎、脾臓、心臓、肺、腎臓、脾臓、及び肝臓から選ばれる臓器のうちの1つまたはそれらの組み合わせから選択される、上記58～67のいずれかに記載の方法。
- 70．移植を必要とする対象に臓器、組織、または細胞を移植する前に、その生存度を増加させる方法であって、前記臓器、組織、または細胞を、移植前に、治療有効量のPIFペプチドで処理することを含み、前記PIFペプチドが、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29から選ばれるアミノ酸配列と少なくとも86%の配列相同性を有するアミノ酸配列、その模倣物、及びその薬学的に許容される塩、ならびにそれらの組み合わせを含むか、またはそれらからなる、方法。 30
- 71．対象へのドナー臓器、組織、または細胞の移植片の受け入れの可能性を増加させる方法であって、前記臓器、組織、または細胞を前記対象に移植する前に、前記臓器、組織、または細胞を、少なくとも1つのPIFペプチド、またはその変異体、またはその薬学的に許容される塩を含む1つ以上の組成物に曝露することを含む、方法。 40
- 72．生着される組織の拒絶の可能性を低減する方法であって、前記組織を対象に移植する前に、前記生着される組織を、少なくとも1つのPIFペプチド、またはその変異体、またはその薬学的に許容される塩を治療有効量含む1つ以上の薬学的組成物に曝露することを含む、方法。
- 73．対象における造血細胞の生産を増加させる方法であって、少なくとも1つのPIFペプチド、またはその変異体、またはその薬学的に許容される塩を治療有効量含む1つ以上の薬学的組成物を投与することを含む、方法。
- 74．前記造血細胞が、赤血球及び血小板からなる群から選択される、上記73に記載の方法。
- 75．血液障害を治療及び/または予防する方法であって、それを必要とする対象に1つ 50

または複数の造血細胞を移植することを含み、前記造血細胞が、移植前に、治療有効量の P I F ペプチドに前曝露され、前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 から選ばれるアミノ酸配列と少なくとも 86% の配列相同性を有するアミノ酸配列、その模倣物、及びその薬学的に許容される塩、ならびにそれらの組み合わせを含むか、またはそれらからなる、方法。

76．前記対象が、血液のがんを有するか、またはそれを有する疑いがある、上記 75 に記載の方法。

10

77．前記対象が、白血病を有するか、またはそれを有する疑いがある、上記 75 または 76 に記載の方法。

78．前記対象が、骨髄細胞及び／または血液細胞の欠乏を有するか、またはそれを有する疑いがある、上記 75 ～ 77 のいずれかに記載の方法。

79．前記対象が、放射線により誘発された、骨髄細胞の欠乏を有するか、またはそれを有する疑いがある、上記 75 ～ 78 のいずれかに記載の方法。

80．前記 1 つまたは複数の造血細胞が、移植前に、前記造血細胞を移植のために予備馴化させるのに十分な期間及び条件の下、ある濃度の P I F ペプチドに前曝露される、上記 75 ～ 79 のいずれかに記載の方法。

20

81．前記 1 つまたは複数の造血細胞が、移植前に、前記造血細胞からのコルチゾール分泌を刺激するのに十分な期間及び条件の下、ある濃度の P I F ペプチドに前曝露される、上記 75 ～ 80 のいずれかに記載の方法。

82．前記 1 つまたは複数の造血細胞が、約 10 nM ～ 約 1000 nM の濃度の、P I F ペプチドのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせに、約 1 時間～約 4 時間前曝露される、上記 75 ～ 81 のいずれかに記載の方法。

83．前記対象が、最大約 8 週間以上、移植後に P I F ペプチドによる追加的な治療を受けない、上記 75 ～ 82 のいずれかに記載の方法。

84．副腎細胞障害を治療及び／または予防する方法であって、それを必要とする対象に 1 つまたは複数の副腎細胞を移植することを含み、前記副腎細胞が、移植前に、治療有効量の P I F ペプチドに前曝露され、前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 から選ばれるアミノ酸配列と少なくとも 86% の配列相同性を有するアミノ酸配列、その模倣物、及びその薬学的に許容される塩、ならびにそれらの組み合わせを含むか、またはそれらからなる、方法。

30

85．前記対象が、先天性副腎過形成症を有するか、またはそれを有する疑いがある、上記 84 に記載の方法。

40

86．前記対象が、機能障害ホルモンの分泌の理由と関連付けられるがんを有するか、またはそれを有する疑いがある、上記 84 に記載の方法。

87．前記対象が、副腎の障害を有するか、またはそれを有する疑いがある、上記 84 に記載の方法。

88．前記対象が、下垂体の障害を有するか、またはそれを有する疑いがある、上記 84 に記載の方法。

89．前記 1 つまたは複数の副腎細胞が、移植前に、前記副腎細胞を移植のために予備馴化させるのに十分な期間及び条件の下、ある濃度の P I F ペプチドに前曝露される、上記 85 ～ 88 のいずれかに記載の方法。

90．前記 1 つまたは複数の副腎細胞が、移植前に、前記副腎細胞からのコルチゾール分

50

泌を刺激するのに十分な期間及び条件の下、ある濃度の P I F ペプチドに前曝露される、上記 85 ~ 89 のいずれかに記載の方法。

91. 前記 1 つまたは複数の副腎細胞が、約 10 nM ~ 約 1000 nM の濃度の、P I F ペプチドのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせに、約 1 時間 ~ 約 4 時間前曝露される、上記 85 ~ 90 のいずれかに記載の方法。

92. 前記対象が、最大約 8 週間以上、移植後に P I F ペプチドによる追加的な治療を受けない、上記 85 ~ 91 のいずれかに記載の方法。

93. 心臓障害または心不全を治療及び / または予防する方法であって、それを必要とする対象に 1 つまたは複数の心臓細胞を移植することを含み、前記心臓細胞が、移植前に、治療有効量の P I F ペプチドに前曝露され、前記 P I F ペプチドが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 から選ばれるアミノ酸配列と少なくとも 86 % の配列相同性を有するアミノ酸配列、その模倣物、及びその薬学的に許容される塩、ならびにそれらの組み合わせを含むか、またはそれらからなる、方法。

94. 前記対象が、鬱血性心不全を有するか、またはそれを有する疑いがある、上記 93 に記載の方法。

95. 前記 1 つまたは複数の心臓細胞が、移植前に、前記心臓細胞を移植のために予備馴化させるのに十分な期間及び条件の下、ある濃度の P I F ペプチドに前曝露される、上記 93 または 94 に記載の方法。

96. 前記 1 つまたは複数の心臓細胞が、移植前に、前記心臓細胞からのコルチゾール分泌を刺激するのに十分な期間及び条件の下、ある濃度の P I F ペプチドに前曝露される、上記 93 ~ 95 のいずれかに記載の方法。

97. 前記 1 つまたは複数の心臓細胞が、約 10 nM ~ 約 1000 nM の濃度の、P I F ペプチドのうちの 1 つまたはそれらの組み合わせに、約 1 時間 ~ 約 4 時間前曝露される、上記 93 ~ 96 のいずれかに記載の方法。

98. 前記対象が、最大約 8 週間以上、移植後に P I F ペプチドによる追加的な治療を受けない、上記 93 ~ 97 のいずれかに記載の方法。

#### 【0221】

使用される方法及び材料を例証する本開示及び実施形態は、以下の非限定例を参照することにより更に理解され得る。

#### 【実施例】

#### 【0222】

材料及び方法：

以下の材料及び方法を使用して、本明細書に記載される実験を行った。

#### 【0223】

A R S マウスモデル：C 5 7 B L / 6 マウス（6 ~ 7 または 8 ~ 9 週齢の雌）及び F 1（C 5 7 B L / 6 × パルプ / c）マウス（10 ~ 11 週齢の雌）を、H a r l a n L a b o r a t o r i e s L t d（I s r a e l）から入手した。この研究は、エルサレムのヘブライ大学の施設内動物愛護委員会によって承認された倫理条件下で行った。マウスは、病原体を含まない条件で保持し、監視した。C 5 7 B L / 6 系統からのマウスは、単一用量の亜致死線量（6 G r y）または致死線量（10 G r y）の全身照射により、線量率（0.3 G r y / 分）で、臨床 6 M E V（L i n e a r V a r i a n C L - 6）（V a r i a n m e d i c a l s y s t e m s , P a l o A l t o , C A , U S A）を使用して全身照射を受けた。

#### 【0224】

s P I F \*：合成 P I F（M V R I K P G S A N K P S D D）は、B i o s y n t h e s i s L e w i s v i l l e , N J U S A から入手した。ペプチドは、H P L C / 質

10

20

30

40

50

量分析 ( s P I F 専有 ) によって記録されるように、 > 9 5 % に精製した。

#### 【 0 2 2 5 】

統計解析：インビボ研究からのデータは、平均 ± S E M として表す。インビトロ研究からのデータは、平均 ± S D として表す。両側スチューデント t 検定またはマン・ホイットニー検定を使用して、対照との単一比較を行った。一元配置反復測定分散分析 A N O V A に続いて、ボンフェローニの多重比較検定を多群設計に使用した。  $P < 0.05$  を統計的に有意であると見なした。データの取り扱い及び統計的処理は、Microsoft Excel 及び Graph Pad Prism ソフトウェアを使用して行った。遺伝子発現は、Ct 法に基づいて決定し、q B A S E + ソフトウェアによって計算した。結果は、各実行に含まれる標準参照試料からの倍率変化として表される。遺伝子発現の解析は、非パラメトリックマン・ホイットニー U 検定を介して計算した。  $P < 0.05$  を有意と見なした。ヒートマップに続いて個々の遺伝子を使用して結腸グローバル遺伝子解析を行った後、  $P < 0.05$  を有意として設定し、群間の差異を決定した。

10

#### 【 0 2 2 6 】

A R S における長期的な亜致死線量 s P I F 実験：造血回復の解析：マウスは、全身照射 ( 6 G r y ) を受けた。24 時間後、P I F または P B S ( 1 m g / k g / 日 ) を、皮下移植された A l z e t 浸透圧ポンプ ( M o d e l 1 0 0 2 、 D u r e c t C o r p . , C A ) を使用して、2 週間にわたって持続的に ( 0 . 2 5 m L / 時 ) C 5 7 B L / 6 マウスに投与した。これに続いて、いかなる追加の治療もなく2 週間の治療後観察を行った。いずれの実験においても抗生物質を投与しなかった。各マウスの造血プロファイルを、犠牲死させるまで毎週調べた。犠牲死時の最長4 週間まで毎週、マウスの尾から出血させて、1 0 0  $\mu$  L の血液を E D T A コーティングした管に収集した。認証された B C - 2 8 0 0 V e t A u t o H e m a t o l o g y 解析器 ( M i n d r a y , M a h w a h , N J U S A ) を使用して、差異を有する C B C を行った。結果を正常マウスと比較した。

20

#### 【 0 2 2 7 】

A R S における短期的な亜致死線量 s P I F 実験：造血発生結腸及び全身性サイトカイン：マウスに照射した ( 6 または 7 G r y ) 。照射後24 時間または48 時間に、0 . 7 5 m g / k g の s P I F を、1 日 2 回、3 日間にわたって皮下的に注入した。実験の最後にマウスを犠牲死させ、組織学的検査、I l l u m i n a グローバルゲノム解析、及び R T - P C R のために結腸組織を除去した。加えて、サイトカイン解析のために血清を除去した。結果を正常マウスと比較した。亜致死線量の長期的 A R S 実験の場合、s P I F ( 1 m g / k g / 日 : A l z e t 浸透圧ポンプ ; モデル 1 0 0 2 、 D u r e c t C o r p . , C A ) または P B S を、14 日間にわたって注入し、続いて治療後14 日間の観察を行った。造血プロファイルを、1 0 0  $\mu$  L の尾血を収集することによって毎週調べた。認証された B C - 2 8 0 0 V e t A u t o H e m a t o l o g y 解析器 ( M i n d r a y , M a h w a h , N J U S A ) を使用して、百分率での C B C を行った。

30

#### 【 0 2 2 8 】

s P I F は、致死線量の照射及び半同種 B M T 後に長期的な造血回復を誘導した：C B C 及び脛骨組織学解析：マウスに致死線量 ( 1 0 G r y ) を照射した。照射後1 日目に、ドナーマウス F 1 ( C 5 7 B L / 6  $\times$  バルブ / c ) からの骨髓 ( B M ) 単核細胞を、大腿骨及び脛骨を P B S ( B i o l o g i c a l I n d u s t r i e s ) で洗い流すことによって収集した。単核細胞は、L y m p h o p r e p 法を使用することによって単離した。合計  $8 \times 10^6$  個の B M 細胞を、照射された受容者マウスの尾静脈に投与した。B M T に続いて、前述される通り、体重減少、皮膚の荒れ、及び生存についてマウスを毎日監視した。犠牲死時の最長4 週間まで週1 回、マウスの尾から出血させて、1 0 0  $\mu$  L の血液を E D T A コーティングした毛細管に収集した。認証された B C - 2 8 0 0 V e t A u t o H e m a t o l o g y 解析器 ( M i n d r a y , M a h w a h , N J U S A ) を使用して、百分率での C B C を行った。結果を正常マウスと比較した。

40

#### 【 0 2 2 9 】

50

s P I F 予備馴化された同種 B M T : P I F で予備馴化された B M が、B M T 後に更なる治療なしに B M T の生着を改善し得るかどうかを決定した。マウスは、全身照射 ( 1 0 G r y ) を受けた。2 4 時間後、B M 細胞を、移植前に 2 時間だけ s P I F に曝露した後、受容者マウスの尾静脈への播種前に細胞を洗い流した。対照として、B M 細胞を移植前に P B S に曝露した。移植後に、マウスは、最長 4 週間にわたっていかなる更なる治療も受けなかった。犠牲死に続いて、総 W B C 数及びリンパ球濃度を行った。結果を P B S と対照とで比較した。

#### 【 0 2 3 0 】

s P I F は、M S C 規制機能をもたらす：抗 C D 3 抗体で活性化された C F S E 染色マウス脾細胞を、4 日間にわたって ( 5 0 : 1 の比で ) 培養し、以前に s P I F で ( 2 時間 ) インキュベートした M S C または対照に曝露した。細胞増殖は、フローサイトメトリーを使用して解析した。対照 ( M S C を含まない活性化された脾細胞 ) と比較して、s P I F で前治療された M S C を比較することによって、細胞増殖 % に関するデータを解析した。

10

#### 【 0 2 3 1 】

s P I F で治療された大腿骨の組織学的解析：マウスに 1 0 G r y を照射し、2 4 時間後に s P I F 治療を開始して、1 4 日間にわたって継続し ( A l z e t ポンプ )、続いて 1 4 日間の後治療を行った。更なる治療なしに s P I F で予備馴化された B M T も同様に研究した。研究の最後に、W B C 及び大腿骨試料を、犠牲死後のマウスから入手し、4 % 中性緩衝ホルマリン中に固定した。試料を脱灰した後、パラフィンに埋め込み、1 0 ミクロン厚の断片に切断して、ヘマトキシリン及びエオシン ( H & E ) で染色した。結果を、P B S 治療マウス及び正常マウスと比較した。

20

#### 【 0 2 3 2 】

s P I F 治療された血清サイトカイン評価：末梢血からの循環サイトカインレベルを、製造者のプロトコルに従って、マウス T h 1 / T h 2 1 0 p l e x F l o w C y t o m i x M u l t i p l e x キット ( e B i o s c i e n c e , S a n D i e g o , C A , U S A ) を使用することにより決定した。

#### 【 0 2 3 3 】

s P I F 治療された結腸組織像及び陰窩深度の決定亜致死線量の照射 ( 6 G r y ) に続いて、s P I F 治療を、照射後 2 4 時間または 4 8 時間から開始して、2 時間または 3 時間継続した。犠牲死に続いて、結腸を採取し、P B S 中で広範囲にわたって洗浄して腸内容物を除去した。十二指腸を、パラフィン埋め込み前に 1 0 % 中性緩衝ホルマリン中に固定した。試料を、ヘマトキシリン及びエオシン ( F i s h e r S c i e n t i f i c , P i t t s b u r g h , P A ) のためにルーチン的に 5 m m 断片に処理し、陰窩深度を決定した。顕著に、陰窩深度は、放射線被ばく後の回復のマーカーとして報告された。この解析の場合、デジタルカメラを備えた B X 5 1 顕微鏡 ( O l y m p u s , T o k y o , J a p a n ) を使用し、1 0 倍対物レンズを使用して画像を取得した。I m a g e J ソフトウェアを以前に報告されたように使用して、これらの画像を解析した。治療後 2 4 時間及び 4 8 時間後の s P I F 治療の効果を、P B S 及び正常マウスと比較した。

30

#### 【 0 2 3 4 】

s P I F 遺伝子解析：R T - q P C R 解析マクロファージ及び結腸組織：s P I F は、マクロファージを標的とし、肝臓内の酸化ストレス遺伝子を低減する G V H D モデルにおいて有効である。したがって、被ばく後 ( 6 G r y ) 2 4 ~ 4 8 時間後の短期的亜致死線量マウスからの結腸試料中の遺伝子発現を、P B S 及び正常マウスと比較して、s P I F への曝露に続いて決定した。これは、2 つの独立した実験群において実行した。加えて、インビトロで 2 4 時間の s P I F への曝露に続いて、マクロファージにおいても多くの遺伝子を決定し、マクロファージの極性を決定した。製造者のプロトコルに従って、R N e a s y ( 登録商標 ) ミニキットカラム ( Q I A G E N , H i l d e n , G e r m a n y ) を使用して、総 R N A を抽出し、1 μ g の総 R N A を使用し、以前に報告された通りに製造者の指示に従って、高容量 c D N A キット ( A p p l i e d B i o s y s t e m s ,

40

50

Gran Island, NY, USA) を使用して cDNA を合成した。B7H1、NOS2、及び Arg-1 の転写レベルの検出は、TaqMan 遺伝子発現アッセイキット (Applied Biosystems) を使用して行った。HPRT-1 を、ハウスキーピング遺伝子転写物として使用し、内因性制御を正常化した。全てのプライマーは、Applied Biosystems から購入した。ABI Prism 7900 配列システム (Applied Biosystems) を使用して、リアルタイム PCR 反応を実行した。StepOne ソフトウェアバージョン 2.2 (Applied Biosystems) によってデータを解析した。Data Assist ソフトウェア v3.01. Benjamini-Hochberg 法を使用して、データセット p 値を調整した。

10

#### 【0235】

sPIF 保護的シグナル伝達経路：結腸 Illumina 遺伝子アレイ：sPIF の保護的シグナル伝達経路の説明をまとめるために、グローバル遺伝子アレイを行った。垂致死線量の放射線 (6 Gy) に続いて、24 時間目に、1 日 2 回の sPIF 注入を 72 時間にわたって投与した。放射線に続く sPIF の効果を、PBS 治療された対照と比較した。照射していない正常なマウスは、追加の対照として機能した。犠牲死に続いて、30 mg の結腸組織 (N = 4 ~ 5 治療群) を切除し、Fastprep 120 組織ホモジナイザー (4.0 m / 秒で 30 s) 内の細胞溶解緩衝液 (Qiagen, Hombrechtikon, Switzerland) 中で均質化した。総 RNA を、PureLink RNA ミニキット (Ambion, カタログ番号 12183018A) を使用して細胞から抽出した。総 RNA (250 ng) を、製造者の指示に従って、TotalPrep RNA 増幅キット (AMIL 1791, Ambion) を使用して、cRNA 中に増幅させた。増幅後、1.5 µg の cRNA を、ハイブリダイゼーション対照と混合し、それを MouseRef-8 アレイ (BD-202-0202, Illumina, USA) にハイブリダイズした。このアレイを、ロッキングプラットフォームを有するハイブリダイゼーションオープン内で 58 °C で 16 時間にわたってハイブリダイズした。次いで、アレイチップを、ストレプトアビジン-Cy3 で染色する前に、一連の洗浄を受けた。染色後、最終洗浄及び乾燥を受けた。Illumina HiScan 走査装置を使用して、このアレイを走査した。

20

#### 【0236】

sPIF により誘発されたマクロファージシフト極性化：細胞単離及びインビトロマクロファージ分化：sPIF が、炎症促進性から調節性表現型へのマクロファージ極性化のシフトを誘発する能力を決定するために、以下の実験を実行した。腹腔マクロファージは、1 mL の 3 % Brewer チオグリコレート媒質 (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) を腹腔内的に注入することによって C57BL/6 マウスから採取した。4 日後に、マウスを犠牲死させ、5 mL PBS で洗浄することにより、腹腔から腹腔細胞を収集した。細胞 (1.4 × 10<sup>6</sup> 細胞 / mL) を、6 ウェルプレート (Corning Costar, Corning, NY USA) の上に分注し、5 % CO<sub>2</sub> 中、37 °C で 75 分間インキュベートした。非粘着性細胞を破棄し、10 % ウシ胎仔血清 (Biological Industries, Kibutz, Beit Haemek, Israel) を含有する RPMI-1640 (Gibco, Grand Island, NY, USA) を添加した。M1 炎症促進性分化研究の場合、10 ng / mL (GM-CSF) 及び 10 ng / mL のリボ多糖 (LPS) (Peprotech, Rocky Hill, NJ, USA) を、培養培地に添加した後、5 % CO<sub>2</sub> 中、37 °C で 20 時間インキュベートした。代替として、M2 調節性分化の場合、10 ng / mL の XXXX (M-CSF) 及び 10 ng / mL の IL-4 (Peprotech) を培地に添加した。sPIF を、分化因子と一緒に培地に添加した。

30

40

#### 【0237】

フローサイトメトリー分化マクロファージ解析：20 時間の培養後の M1 から M2 への分化に対する sPIF の効果を決定するために、(IL4 及び GMSCF) による分化マ

50

クロファージを、トリプシン - EDTA 溶液 (Biological Industries, Israel) を使用することによって採取した。細胞を、4 で染色した。細胞内染色の場合、細胞を 1% パラホルムアルデヒド (Electron Microscopy Sciences Hatfield, PA USA) 中に固定し、次いでサポニン化 (番号 SIGMA - Aldrich, St. Louis, MO USA) によって透過処理した。以下の抗体、抗マウス CD11b APC (Southern Biotech, Birmingham, AL, USA)、抗マウス F4/80 Pacific Blue (BioLegend, San Diego, CA, USA)、抗マウス CD206 FITC (AbD Serotec, Raleigh, NC, USA)、抗マウス CD16/32 PE、及び抗マウス CD23 eFluor 660 (eBioscience) を使用した。MACSQuant (登録商標) 解析装置 (Miltenyi Biotec, San Diego, CA, USA) を使用して、フローサイトメトリーを行った。

#### 【0238】

##### 実施例 1 :

致死線量放射線からの P I F の保護が明示された (図 1 A)。マウス (C57BL/6、 $n = 36$ ) を、低用量 P I F ( $0.75 \text{ mg/kg}$ ) または高用量 P I F ( $1.25 \text{ mg/kg}$ ) 2 回/日で、致死線量 8 Gy の照射後 2 時間から開始して 14 日間治療した。かかる被ばくは、治療を停止した後 2 週間で 100% の生存率につながった。それとは反対に、放射線及び (P B S、ビヒクル) を受けたが、P I F 治療を受けていない対照マウス ( $n =$  雄 14、雌 7) は、A R S を発症し、23 日目までに死亡した (生存率 0%)。図 1 B は、グローバル W B C 数が、12 日目には既に非常に低いグローバル W B C 数であった対照群と比較して、両方の P I F 治療群において、9 日目と比較して 0 日目に保存されたことを示す。図 1 C は、P I F  $0.75 \text{ mg/kg}$  2 回/日 (低用量、高用量:  $0.75 \text{ mg/kg}$ ) で、8 Gy 放射線被ばく後 2 時間から開始して 14 日間治療された雌マウス ( $n = 9$ 、雄と同様の結果) からのデータを示す。上パネルは、0 ~ 19 日目に測定された免疫表現型を示す。第 2 のパネルは、合計の % として表された同じ免疫プロファイルを示す。第 3 のパネルは、詳細な赤血球指標 (血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、及び R B C 体積) を示す。下パネルは、血小板数及び体積を有する。図 1 D 及び 1 E は、P I F 治療群において、29 日目、すなわち P I F 投与を停止した後 2 週間まで測定した場合、免疫表現型、R B C、及び血小板数が保存されたことを示す。

#### 【0239】

##### 実施例 2 :

C57BL/6 マウスの生存に対する照射の s P I F 効果 : 用量設定実験 : 本研究に使用される C57BL/6 マウスは、比較的放射線耐性のある株である。第 1 に、様々な線量 (6 ~ 10 Gy) の全身照射に被ばくされたマウスにおける生存曲線を評価することによって、当実験に必要な放射線強度を決定した (図 2)。6 Gy への被ばく後は、全てのマウス ( $n = 10$ ) が 30 日目に生存していたが、10 Gy への被ばく後は、全てのマウス ( $n = 10$ ) が 30 日以内に死亡した。B は、P I F が 7 Gy の被ばくに続いて血小板数を改善することを示した。したがって、6 Gy は、血液学的プロファイル、サイトカイン発現、及び遺伝子発現に対する s P I F の効果を決定するために、亜致死線量として定義され、10 Gy は、B M 移植研究の場合の致死線量として定義された。加えて、P I F は、A R S 設定において最初に試験されたため、s P I F を単独療法として使用することによって、及び放射線後の感染予防において重要な役割を有する抗生物質の伝統的使用なしに、以下の研究を実行した。そのようなものとして、s P I F 作用に関連した特定の機序は、明確に分析することができた。

#### 【0240】

##### 実施例 3 :

s P I F は、治療後長期間にわたって亜致死線量の照射後に血液学的回復を促進する : 亜致死線量の照射の結果として、遅い回復と関連付けられる長期的な造血抑制である。s

10

20

30

40

50



P I F が W B C プロファイルを回復する能力を決定した (図 3 A)。6 G r y 照射後 2 4 時間の早期 s P I F 投与 (1 m g / k g / 日で 2 週間) は、急速な回復につながり、P B S 対照と比較して、総循環 W B C の再構成を著しく改善した (図 3 B)。これは、W B C が、P B S 治療群における 2 5 0 細胞 /  $\mu$  L と比較して、s P I F 治療群において 6 0 0 細胞 /  $\mu$  L の平均値に到達した場合、照射後 2 週間目に既に明らかであった。かかる 6 0 0 W B C /  $\mu$  L のレベルは、これらのマウスが、この時点で既にそれほど免疫低下状態でないことを示す。特に s P I F の保護的効果は、2 週間の治療を過ぎて拡大し、犠牲死の時点で治療後 2 週間の照射後 4 週間でも著しい差異が観察された (図 3 C)。更に、投与後 2 週間で、s P I F は、リンパ球数を増加させたが、循環顆粒球のパーセンテージを、正常な未治療群 (対照) において観察されるレベル近くまで低減した (図 3 D)。それとは反対に、模擬 P B S 治療群において、s P I F 治療群と比較して、リンパ球数はより低く、顆粒球数は著しく増加した。好中球数の低減、すなわち、適合性免疫応答において見出されるリンパ球の増加と関連付けられる炎症応答は、正常なマウスにおいて見られるものに対して、有益な回復された免疫プロファイルを反映する。リンパ球集合が、被ばくが続いて長期的に影響を受け、高い易感染性につながるため、これは特に関連している。これらの結果は、亜致死線量の被ばく後に全身免疫細胞プロファイルを回復することにおける長期的な s P I F の有効性を明示する。

#### 【 0 2 4 1 】

##### 実施例 4 :

短期的な s P I F は、亜致死線量の照射後に全身炎症促進性サイトカインレベルを低減する：全身炎症応答は、電離放射線に素早く追従する。したがって、6 G y または 7 G r y 照射後 2 4 時間で開始し、3 日間だけ投与される s P I F の効果を調べた。(図 4 A) s P I F は、P B S と比較して、主要な炎症促進性サイトカイン I L - 2 及び I L 1 循環レベルの著しい低減につながった。(図 4 B 及び 4 C)。加えて、正常マウスにおけるレベルと比較した場合、両方のサイトカインレベルの差異は認められなかった。他のサイトカインに対する効果は有意でなかった。これらの結果は、被ばく後早期の全身炎症環境における s P I F により誘発された低減が、A R S 発達からの保護において重要な役割を果たすことを示唆する。

#### 【 0 2 4 2 】

##### 実施例 5 :

s P I F 局所及び全身保護：亜致死線量被ばく後の結腸陰窩回復を促進する：A R S は、G I 炎症及び損傷を素早くもたらし、s P I F は、長期的な致死線量照射後の過酷なマウス G V H D モデルにおいて G I 路潰瘍及び肝炎症を改善する。上記の実験は、s P I F が、全身炎症媒介物質を低減することにおいて保護的であり、長期的な回復につながることをインビボ及びインビトロの両方で実証した。しかしながら、P I F の効果も局所的であるかどうか、高い細胞ターンオーバーを有する結腸という臓器を標的とするかどうか、及びどれが A R S によってしばしば影響を受けるかは知られていない。被ばく後 2 4 時間または 4 8 時間における亜致死線量の被ばく (6 G r y) 後 2 日間または 3 日間の短期的な s P I F 注入は、図 5 A に示されるように、結腸炎症から保護する。使用されたモデルは、s P I F が、結腸炎症を著しく低減し、結腸陰窩形態を回復したことを示す (図 5 B 及び 5 C)。注目すべきことに、保護効果は、照射後 4 8 時間においてのみ、s P I F 治療が開始された場合にも観察された。D は、P I F 陰窩回復が正常なマウスの場合と同様であることを示す。E . P I F は、i N O S 酸化ストレス遺伝子を低減する一方で、結腸において B 7 H 1 保護遺伝子を促進する (R T P C R)。この効果は、P I F 治療が治療後 4 8 時間で開始された場合に認められた。これは、s P I F が統合された全身 (造血、サイトカイン) 及び局所保護の両方を発揮するという見解を支持する。

#### 【 0 2 4 3 】

##### 実施例 6 :

s P I F は、酸化ストレスを低減し、ミトコンドリア機能、免疫応答を調節することによって結腸回復を促進する。上記データは、s P I F が、結腸構造を回復する放射線の損

10

20

30

40

50

傷効果を低減する一方で、全身炎症促進性免疫応答を低減して長期的な造血を可能にする、二重の局所及び全身効果を有することを示した。したがって、NOS2及びB7H1に対するRT-PCR(図5D及び5E)効果及びグローバルゲノム解析(図10)の両方を使用して、主に2つの挿入項目である局所保護及び結腸機能を調べることに焦点を当てた。sPIF治療は(亜致死線量と比較して)、いくつかの経路の著しい変調をもたらした(図10)。興味深いことに、これらの遺伝子は、主に3つの群に分類され、それらは、免疫調節及びアポトーシスシグナル伝達、細胞内エネルギー移行、及び効果的な代謝機能に必要とされるタンパク質-RNA相互作用に関与し得る。最初の2つは、防御効果に関連し、後者は修復機序に関連する。

#### 【0244】

下の表5は、グローバル結腸ゲノムのクラスター解析を詳述する。この解析は、sPIF対PBS及び正常マウスを比較した。いくつかの経路が影響を受けた。上の表4は、特定された個々の経路及びそれらの順位を示す。主要な経路のミトコンドリア機能、ストレスへの応答、及びタンパク質-RNA相互作用のクラスター解析を行った。(「Fluor」=蛍光測定)。遺伝子名は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Illumina MouseRef-8アレイ指示冊子(BD-202-0202, Illumina, USA)において識別された遺伝子に対応する。簡潔に言うと、亜致死線量の放射線(6Gry)に続いて、24時間目に、1日2回のsPIF注入を72時間にわたって投与した。放射線に続くsPIFの効果を、PBS治療された対照と比較した。照射していない正常なマウスは、追加の対照として機能した。犠牲死に続いて、30mgの結腸組織(PIF及びPBSの場合、N=7、正常マウスの場合、N=3)を切除し、Fastprep 120組織ホモジナイザー(4.0m/秒で30s)内の細胞溶解緩衝液(Qiagen, Hombrechtikon, Switzerland)中で均質化した。総RNAを、PureLink RNAミニキット(Ambion, カタログ番号12183018A)を使用して細胞から抽出した。総RNA(250ng)を、製造者の指示に従って、TotalPrep RNA増幅キット(AMIL 1791, Ambion)を使用して、cRNA中に増幅させた。増幅後、1.5µgのcRNAを、ハイブリダイゼーション対照と混合し、それをMouseRef-8アレイ(BD-202-0202, Illumina, USA)にハイブリダイズした。このアレイを、ロッキングプラットフォームを有するハイブリダイゼーションオープン内で58℃で16時間にわたってハイブリダイズした。次いで、アレイチップを、ストレプトアビジン-Cy3で染色する前に、一連の洗浄を受けた。染色後、最終洗浄及び乾燥を受けた。Illumina HiScan走査装置を使用して、このアレイを走査した。

#### 【0245】

10

20

30

【表 6】

表 5

遺伝子名	原F1 u o r. 値	発現の増加 の比率	P I Fの不在と比較した発現レベルの正規化された増加		遺伝子名	原F1 u o r. 値	発現の減少 の比率	P I Fの不在と比較した発現レベルの正規化された減少
Ctd	11537	0.858	1.57E-001	9.67E-001	Fabp6	16204	-3.060	3.83E-002
Olfm4	380924	0.799	1.00E-001	9.67E-001	LOC100046120	NA	-1.054	3.58E-002
Lyz1	17110	0.733	3.20E-001	9.67E-001	Tmem117	320709	-0.788	2.03E-001
Scd1	20249	0.730	1.21E-001	9.67E-001	Serpinalb	20701	-0.721	1.35E-001
Rnase1	19752	0.715	8.96E-002	9.67E-001	Prss7	19146	-0.681	2.68E-001
Adhl	11522	0.714	3.37E-001	9.67E-001	Fam151a	230579	-0.627	1.58E-001
Reg1	19692	0.679	6.32E-001	9.75E-001	Pcsk9	100102	-0.610	5.22E-002
Cyp3a11	13112	0.654	2.30E-001	9.67E-001	Cd2	12632	-0.587	3.51E-001
Casp6	12368	0.647	1.20E-001	9.67E-001	Mfge8	17304	-0.579	4.13E-002
Cel5	20304	0.647	8.73E-004	9.67E-001	Ccl21a	18829	-0.576	1.35E-001
Acaa2	52538	0.618	1.39E-001	9.67E-001	Sle5a6	330064	-0.557	7.03E-002
Rps3	27050	0.610	2.19E-002	9.67E-001	Xpnpep2	170745	-0.555	1.17E-001
Khk	16548	0.600	4.04E-002	9.67E-001	Ddah1	69219	-0.554	2.67E-001
Mbl2	17195	0.595	2.21E-002	9.67E-001	Cxcl13	55985	-0.535	4.91E-002
Atp5f1	11950	0.586	1.52E-001	9.67E-001	Mfge8	17304	-0.506	9.26E-002
Scye1	13722	0.574	1.82E-002	9.67E-001	Gm766	330440	-0.502	3.75E-001
Sep15	93684	0.551	1.79E-001	9.67E-001	Serpinalb	20701	-0.497	1.07E-001
Ppp1ca	19045	0.549	2.28E-001	9.67E-001	Osta	106407	-0.491	5.77E-002

10

20

Cox7a2l	20463	0.539	5.23E-002	9.67E-001	Panx1	55991	-0.490	4.65E-003
Clca6	99663	0.527	1.26E-002	9.67E-001	Zmiz1	328365	-0.488	2.21E-002
Apoa4	11808	0.523	1.50E-001	9.67E-001	Aim1	11630	-0.480	1.18E-002
Calm2	12314	0.518	4.17E-002	9.67E-001	Serpina1d	20703	-0.460	6.93E-002
Cyp2c65	72303	0.516	1.44E-001	9.67E-001	Apafl	11783	-0.459	1.51E-002
Ilspa1a	193740	0.510	1.21E-001	9.67E-001	Parp14	547253	-0.442	6.88E-002
Suc1g1	56451	0.509	2.09E-001	9.67E-001	Nanfad1l	381204	-0.438	3.97E-001
Gsta2	14858	0.507	2.97E-001	9.67E-001	Ccnd1	12443	-0.451	1.52E-001
Adipoq	11450	0.506	9.44E-002	9.67E-001	Iap	NA	-0.428	1.37E-001
Cyp3a25	56388	0.502	1.69E-001	9.67E-001	BC040758	268663	-0.412	1.02E-001
H2afz	51788	0.487	1.40E-001	9.67E-001	Uba1	22201	-0.412	5.03E-002
Arg2	11847	0.483	1.73E-001	9.67E-001	Anpep	16790	-0.406	6.74E-002
Tubb2b	73710	0.480	7.79E-003	9.67E-001	LOC100040592	NA	-0.406	4.13E-002
Il3f3a	15078	0.480	1.36E-001	9.67E-001	Coro1c	23790	-0.406	3.80E-002
Npm1	18148	0.477	8.07E-002	9.67E-001	Pyy	217212	-0.405	4.02E-001
Rpl7a	27176	0.473	1.62E-001	9.67E-001	Cd74	16149	-0.404	2.90E-001
Hspa8	15481	0.472	3.60E-001	9.67E-001	Dag1	13138	-0.403	1.49E-002
Rnaset2	68195	0.472	1.13E-001	9.67E-001	Mep1a	17287	-0.403	3.37E-002
EG433923	433923	0.467	1.63E-001	9.67E-001	LOC100041504	1E+08	-0.403	1.20E-001
Acta2	11475	0.463	1.38E-001	9.67E-001	Gsta5	14464	-0.403	1.01E-002
Cyp2b10	13088	0.462	3.82E-001	9.67E-001	Igsf3	78908	-0.399	8.49E-002
Cldn4	12740	0.461	8.16E-003	9.67E-001	Sqle	20775	-0.397	2.23E-001
Cyb5	109672	0.451	1.47E-002	9.67E-001	Myadm	50918	-0.390	5.39E-002
Cml4	68396	0.450	5.36E-002	9.67E-001	Stnt3	20848	-0.385	6.65E-002
Tsc22d1	21807	0.436	8.28E-002	9.67E-001	Sec16a	227648	-0.385	3.59E-002
Pnliprp2	18947	0.435	1.92E-001	9.67E-001	Nr1h4	20186	-0.383	1.21E-001
Igsn	14661	0.434	7.15E-002	9.67E-001	Lamb3	16780	-0.382	1.68E-002
Cyp2b23	243881	0.430	7.79E-002	9.67E-001	Elf3	13710	-0.381	7.89E-002

10

20

30

Ndufe2	68197	0.430	1.11E-001	9.67E-001	Mif2	30060	-0.381	4.70E-002
Immp2l	93757	0.428	1.12E-001	9.67E-001	Npe1l1	237636	-0.379	1.81E-001
Sphk1	20698	0.427	4.24E-002	9.67E-001	Brd4	57261	-0.376	1.08E-001
Ppa2	74776	0.425	1.94E-003	9.67E-001	Iqgap2	544963	-0.375	2.07E-002
Sumo2	170930	0.425	1.64E-001	9.67E-001	Dgka	13139	-0.373	4.27E-002
Rnu6	19862	0.419	1.74E-001	9.67E-001	Dync1h1	13424	-0.371	1.47E-001
Dnajc19	67713	0.418	1.13E-001	9.67E-001	Nucb1	18220	-0.371	1.47E-002
Mrfp53	68499	0.415	1.31E-001	9.67E-001	Reep3	28193	-0.371	4.81E-002
Tmem33	67878	0.413	2.35E-001	9.67E-001	Hsd17b4	15488	-0.370	1.46E-002
Dnasc1	13419	0.409	5.11E-002	9.67E-001	Pnl	18854	-0.368	8.76E-003
Npm3-ps1	108176	0.407	3.07E-002	9.67E-001	Irf1	16362	-0.364	3.73E-002
Cbr1	12408	0.405	1.88E-001	9.67E-001	Ogdh	18293	-0.363	1.78E-001
Ifi27	76933	0.404	4.78E-002	9.67E-001	Gdpd1	66569	-0.361	2.61E-001
Gsto1	14873	0.404	6.86E-002	9.67E-001	Midn	59090	-0.360	1.40E-001
Alg5	66248	0.401	8.97E-002	9.67E-001	Xlr4a	434794	-0.359	3.30E-002
Tac1	21333	0.401	3.26E-002	9.67E-001	Psap	19156	-0.358	6.97E-002
Thap4	67026	0.400	7.65E-003	9.67E-001	Dag1	13138	-0.354	7.77E-003
Sdebp	53378	0.398	2.16E-001	9.67E-001	Hgs	15239	-0.354	8.72E-002
Ilist1hc	50708	0.396	1.58E-003	9.67E-001	H2-Fbl	14969	-0.353	2.47E-001
Lgals6	16857	0.393	4.66E-002	9.67E-001	Slc44a4	70129	-0.351	1.50E-001
Rps2	16898	0.392	1.35E-001	9.67E-001	Gp1bb	14724	-0.350	2.10E-001
Fbp1	14121	0.390	6.83E-002	9.67E-001	Rrbp1	81910	-0.350	6.50E-002
Rpl23	65019	0.384	3.29E-002	9.67E-001	Ttyh3	78339	-0.350	6.93E-002
Gsta3	14859	0.384	7.46E-002	9.67E-001	Ahnak	66395	-0.350	1.59E-001
Mbnl2	105559	0.383	2.89E-003	9.67E-001	Bcl3	12051	-0.345	1.32E-002
Nmc2	18103	0.377	4.00E-002	9.67E-001	H2-DMa	14998	-0.344	2.82E-001
EG434858	434858	0.376	2.46E-001	9.67E-001	Ceacam20	71601	-0.344	1.70E-001
Ecf2	13629	0.375	3.22E-001	9.67E-001	Mfsd7c	217721	-0.342	2.23E-001

10

20

30

Iifit1	15254	0.374	1.38E-001	9.67E-001	Sema4b	20352	-0.342	9.11E-002
Chpt1	212862	0.373	1.01E-001	9.67E-001	Preb	50907	-0.341	8.95E-003
Naca	17938	0.372	1.95E-001	9.67E-001	Smap2	69780	-0.340	2.16E-002
Hist1h2bf	319180	0.370	1.09E-001	9.67E-001	Sema4a	20351	-0.339	6.92E-002
Gpx4	625249	0.370	9.91E-002	9.67E-001	Cyp2s1	74134	-0.339	1.28E-001
Bat5	193742	0.369	1.96E-002	9.67E-001	Kcnk6	52150	-0.338	1.65E-001
Gsdmdc1	69146	0.368	1.51E-001	9.67E-001	Plec1	18810	-0.338	2.68E-001
Hist1h2bh	319182	0.367	1.22E-001	9.67E-001	Mall	228576	-0.336	1.64E-001
Hmrpa2b1	53379	0.366	3.04E-001	9.67E-001	Abcd3	19299	-0.335	3.94E-002
Cyp2d26	76279	0.362	2.72E-001	9.67E-001	Gapvd1	66691	-0.335	2.01E-002
Pigp	56176	0.362	1.54E-001	9.67E-001	Ghfl	107338	-0.333	8.55E-002
Ilpgd	15446	0.360	6.36E-002	9.67E-001	Ext1	14042	-0.333	1.30E-002
Ndufs3	68349	0.359	7.02E-002	9.67E-001	Ggi1	14598	-0.332	1.70E-002
Lyp1a1	18777	0.359	3.18E-001	9.67E-001	Gpi1	76282	-0.332	8.65E-002
Slc2a2	20526	0.358	1.44E-001	9.67E-001	Tcf7l2	21416	-0.332	6.88E-002
Ada	11486	0.357	7.39E-002	9.67E-001	Tmc5	74424	-0.330	5.09E-002
Ndufa12	66414	0.356	1.09E-001	9.67E-001	Lmtk2	231876	-0.329	3.25E-002
Gm1123	382097	0.356	3.79E-001	9.67E-001	Actn1	11459	-0.328	8.55E-002
Fos	14281	0.356	1.46E-002	9.67E-001	Slc35c1	228368	-0.327	7.77E-002
Sumo1	22218	0.356	2.03E-001	9.67E-001	Ece1	230857	-0.325	9.16E-002
Tbrg1	21376	0.355	2.44E-001	9.67E-001	Igf2	16002	-0.324	4.88E-001
Plekhf1	72287	0.354	1.79E-001	9.67E-001	Camk2b	12323	-0.321	4.02E-002
Rps7	20115	0.354	2.98E-001	9.67E-001	112-DMb1	14999	-0.321	2.94E-001
Tbca	21371	0.353	3.99E-002	9.67E-001	Zfp710	209225	-0.320	4.33E-003
Ufsp2	192169	0.352	2.35E-001	9.67E-001	Neu1	18010	-0.320	2.52E-001
Prdx5	54683	0.350	4.48E-003	9.67E-001	Ostb	330962	-0.319	2.55E-001
Ndufa6	67130	0.348	5.79E-002	9.67E-001	Purb	19291	-0.317	1.13E-001
Mtch2	56428	0.348	3.69E-001	9.67E-001	Gns	75612	-0.317	6.64E-002

10

20

30

Arndc4	66412	0.347	3.73E-002	9.67E-001	Rnasen	14000	-0.314	1.23E-002
Eif5	217869	0.346	1.89E-001	9.67E-001	B230339M05Rik	228850	-0.313	4.26E-002
Eif3s4	53356	0.346	1.51E-001	9.67E-001	Slc9a1	20544	-0.312	2.61E-002
Fam109a	231717	0.345	1.75E-003	9.67E-001	Tns1	217169	-0.312	4.28E-002
Arl6ip5	65106	0.345	6.55E-002	9.67E-001	Nos2	18126	-0.310	2.50E-001
Apoc2		0.344	2.07E-001	9.67E-001	Camta2	216874	-0.309	2.55E-001
Tspan3	56434	0.343	2.79E-001	9.67E-001	Gpx2	14776	-0.307	6.23E-002
Ccl9	20308	0.342	1.71E-001	9.67E-001	Gna13	14674	-0.307	3.80E-002
Psmc7	26444	0.342	1.65E-001	9.67E-001	Vcp	269523	-0.306	1.81E-001
Use1	67023	0.342	1.15E-001	9.67E-001	Hipk2	15258	-0.305	1.39E-001
Sdhb	67680	0.341	1.38E-001	9.67E-001	Xpnp1	170750	-0.305	1.34E-001
Cd59a	12509	0.341	2.97E-002	9.67E-001	Aft1	17355	-0.305	8.78E-002
Ak2	11637	0.340	2.08E-001	9.67E-001	Adcy8	11514	-0.303	1.99E-001
Tmem85	68032	0.340	6.90E-002	9.67E-001	LOC100048299		-0.302	9.56E-002
C1qbp	12261	0.340	1.77E-001	9.67E-001	Abe1	224742	-0.302	8.60E-002
Prdx4	53381	0.338	1.84E-001	9.67E-001	Agpat4	68262	-0.299	2.01E-001
Hebp1	15199	0.337	3.33E-004	9.67E-001	Ctdsp2	52468	-0.297	7.91E-002
Apls1	11769	0.336	5.98E-002	9.67E-001	C4b	12268	-0.296	1.06E-001
Nudt19	110959	0.335	2.44E-002	9.67E-001	Lrrc1	214345	-0.296	1.74E-002
Rdh7	54150	0.335	4.26E-001	9.67E-001	NA	-0.294	6.10E-002	9.67E-001
Adk	11534	0.333	1.24E-001	9.67E-001	Chst8	68947	-0.294	2.30E-001
Rpl13a	22121	0.333	1.18E-001	9.67E-001	Copz1	56447	-0.294	9.89E-002
Ppp2r5c	26931	0.332	1.67E-001	9.67E-001	Clec2d	93694	-0.293	2.88E-001
Mbnl1	56758	0.331	3.47E-002	9.67E-001	Dfna5h	54722	-0.293	4.73E-001
Rheb	19744	0.331	7.93E-002	9.67E-001	Kif1b	16561	-0.293	6.76E-002
Mrip19	78523	0.330	2.14E-001	9.67E-001	Sec63	140740	-0.293	2.57E-002
Eif5a	276770	0.330	3.72E-001	9.67E-001	Fntb	110606	-0.293	1.53E-001
Sar1b	66397	0.329	2.56E-001	9.67E-001	Capg	12332	-0.293	1.04E-001

10

20

30

Rdh7	54150	0.326	4.55E-001	9.67E-001	Sidc2	214597	-0.293	2.15E-001
Indo	15930	0.325	1.40E-001	9.67E-001	Mboat1	218121	-0.292	2.99E-001
Oas1g	23960	0.323	2.57E-001	9.67E-001	Al427809	381524	-0.292	1.20E-001
Gdel	56209	0.323	1.81E-001	9.67E-001	Peyt1a	13026	-0.291	1.69E-002
Atp5c1	11949	0.320	8.74E-002	9.67E-001	Atp6ap1	54411	-0.290	3.13E-002
Idi3g	15929	0.320	3.15E-001	9.67E-001	Al451617	209387	-0.289	6.12E-002
Atp5f1	27425	0.320	1.10E-001	9.67E-001	Atp6v0a1	11975	-0.288	2.29E-001
H2-Q2	15013	0.319	1.28E-001	9.67E-001	Slco2a1	24059	-0.288	1.22E-001
Scpp1	20363	0.319	1.47E-001	9.67E-001	Batf2	74481	-0.288	1.75E-002
Dcn	13179	0.317	1.86E-001	9.67E-001	Dusp6	67603	-0.287	2.50E-001
Slc28a2	269346	0.316	6.25E-002	9.67E-001	LOC100044566	NA	-0.286	7.52E-002
Npm3	18150	0.315	6.24E-003	9.67E-001	Papss2	23972	-0.285	3.48E-001
Timm8b	30057	0.315	1.54E-001	9.67E-001	Gpd2	14571	-0.285	9.42E-002
Slf0a1	20193	0.314	1.53E-001	9.67E-001	Mapk6	50772	-0.285	8.07E-002
Ddit4	74747	0.313	1.42E-001	9.67E-001	Entpd5	12499	-0.284	2.76E-002
Tmem49	75909	0.313	3.81E-001	9.67E-001	Sbf1	77980	-0.282	1.63E-002
Ntan1	18203	0.312	6.37E-002	9.67E-001	Dlst	78920	-0.282	1.09E-001
Cfr	12630	0.312	1.27E-001	9.67E-001	Laspl	16796	-0.281	1.02E-001
Mocs2	17434	0.312	1.11E-001	9.67E-001	Krt20	66809	-0.281	3.82E-002
Gsta1	14857	0.311	4.90E-001	9.67E-001	Ncor1	20185	-0.281	1.62E-001
Rnase4	58809	0.310	1.90E-001	9.67E-001	Serpina3n	20716	-0.279	1.40E-001
Tmem77	67171	0.310	2.32E-001	9.67E-001	Gjb3	14620	-0.278	1.23E-001
Usp18	24110	0.309	2.43E-001	9.67E-001	Srr	27364	-0.278	2.91E-002
Atp6v0c	11974	0.308	1.71E-001	9.67E-001	Vdr	22337	-0.277	1.62E-001
Rplp0	11837	0.308	1.58E-002	9.67E-001	Sppl3	74585	-0.276	2.20E-001
Vps29	56433	0.307	1.59E-001	9.67E-001	Sgk1	20393	-0.276	2.69E-001
Rdh14	105014	0.306	1.27E-001	9.67E-001	Rnf185	193670	-0.276	1.08E-001
Mcp1b	17288	0.304	3.36E-001	9.67E-001	Rfx1	19724	-0.275	7.80E-002

10

20

30

Mrps33	14548	0.303	2.22E-001	9.67E-001	Epb4.111	13821	-0.275	9.00E-002
Nipsnap3a	66536	0.303	1.30E-001	9.67E-001	Cpxm1	56264	-0.274	9.20E-002
Dnajc15	66148	0.302	2.42E-001	9.67E-001	Sgk2	27219	-0.274	1.51E-001
Hint3	66847	0.301	1.51E-001	9.67E-001	Specc11	74392	-0.274	1.51E-001
Eif3g	53356	0.300	2.20E-001	9.67E-001	Tmem50a	71817	-0.274	6.52E-004
Rps27a	78294	0.300	3.28E-001	9.67E-001	Utx	22289	-0.273	1.87E-001
Akr1c12	622402	0.300	4.27E-001	9.67E-001	Fam102a	98952	-0.272	1.79E-001
Spes1	69019	0.299	2.37E-001	9.67E-001	Kctd5	69259	-0.272	6.67E-002
Hmgn2	15331	0.299	1.29E-001	9.67E-001	Rtn3	20168	-0.272	1.00E-002
Ccl11	20292	0.299	2.69E-001	9.67E-001	Grit	330914	-0.271	2.24E-001
Tyma	22171	0.298	2.79E-001	9.67E-001	Csnk1d	104318	-0.270	2.78E-002
Bpnt1	23827	0.297	8.58E-002	9.67E-001	Pit1	14254	-0.270	1.16E-001

40

【 0 2 4 6 】

実施例 7 :

s P I F は、結腸炎症を予防し、一酸化窒素 ( N O S 2 ) を下方調節し、H S P 及び B

50



7 H 1 発現を上方調節して代謝機能を可能にする：結腸組織像（図 5 B）は、s P I F が、結腸陰窩を回復することによって、炎症から保護することを示した。s P I F は、肝臓及びマクロファージの両方における酸化ストレス及び e N O S（N O S 2）経路を通じた一酸化窒素（N O）の形成から保護することにおいて重要な役割を果たす。s P I F は、結腸においても同様に、N O S 2 遺伝子発現を下方調節した（図 5 E）。N O S I P 遺伝子を促進することによって、N O S 1 及び N O S 3 がこれらの酵素の活性を減衰するアクチン細胞骨格に転座されると、N O 生成は減少した。増加した P T S（6 - ピルボイルテトラヒドロプテリン合成酵素）、D D A H 1、及び S P R、ならびに減少した W A S L（ウィスコット・アルドリッチ症候群）遺伝子は、N O S 2 活性を更に制限する。加えて、N D O F A 1 2 及び 6 調節性ミトコンドリア膜呼吸系 N A D H 脱水素酵素の非触媒サブユニット発現も同様に減少した。低減された酸化ストレスに加えて、s P I F はまた、s P I F によって標的されることも知られている H S P a 1 a 及び H S P A 8 遺伝子を増加させることによって、タンパク質の誤った折り畳みを予防し、インビボでも調節される。B 7 H 1 発現によって示される局所結腸に固有の免疫系は、全身免疫性及び B 7 H 1 から独立し、結腸炎症からの主要な保護因子として報告された。注目すべきことに、s P I F は、対照と比較して B 7 H 1 遺伝子発現を促進した（図 5 E）。B 7 H 1 の増加は、模擬物においてより高く、強力な保護応答を示す。著しい保護は、s P I F 療法が放射線後わずか 4 8 時間で開始された場合にも認められた。最高の発現遺伝子は、C F D であり、結腸損傷の結果である感染から保護する補体 D 因子である。これは、追加の抗アポトーシス効果を有する O L F M 4 の効果によって結合される。局所代謝を優先するために、S C D 1 及び C Y P 3 A 1 1 及び A T P 5 f i の上方調節は、かかる重要なタスクに必要なエネルギーを提供する。上方調節される主な遺伝子の中で、脂肪酸及び選択的アミノ酸代謝に関与するのは A C A A 2 であり、特に果糖代謝に関与するのは K H K であった。溶質輸送に関与する S l c 5 a 6 発現も上方調節された。このデータは、s P I F により誘発された結腸保護が、遺伝子発現を促進する増強された代謝と関連付けられることを示す。

【 0 2 4 7 】

実施例 8：

s P I F は、致死線量の照射に続いて半同種 B M T 後に造血回復を増強する：高レベル（致死線量）の放射線に被ばくした患者の場合、造血幹細胞移植がルーチンの考慮される。ドナーは、急な通知で入手可能でなければならぬため、ハプロタイプ一致の同種移植が唯一のオプションであり得る。したがって、致死線量の全身照射に続いて、親から子への移植に類似する半同種 B M T 後の造血回復に対する s P I F の効果を評価することが決定される。移植片対宿主反応が生成される臨床状況を模倣するために、F 1（C 5 7 B L / 6 x バルブ / c）マウスを、1 0 G r y の全身照射に被ばくさせた後、翌日に C 5 7 B L / 6 B M 細胞を静脈内投与した。（図 6 A）s P I F（1 m g / k g / 日）または P B S を、A l z e t 浸透圧ポンプを使用し、照射後 2 4 時間から開始して 2 週間にわたって持続的に投与した（0 . 2 5 m L / 時）。臨床病態及び造血回復を、照射後 4 週間まで追跡した。この実験は、更に、s P I F が W B C の低減を予防するかどうか、及び / または B M 再集合回復造血においても有効であるかどうかを明示することを目的とする。B M T に続く照射後 3 週間で、s P I F は、P B S 治療群と比較して、末梢血中の総 W B C の回復を著しく増加させた（図 6 B）。加えて、s P I F 治療は、P B S 治療対照マウスと比較して、リンパ球 / 顆粒球比を改善した（図 6 C）。この W B C 比は、亜致死線量の照射に続いて見出されたものと同様であった。血液学的回復に対する s P I F の効果を更に評価するために、大腿骨の組織学的検査も行った。骨髓細胞充実性における有意差は、照射後 4 週間、及び B M T では治療後 2 週間で観察された。正常、P B S、及び P I F 治療されたマウス的大腿骨からの骨髓の組織学的画像を、図 6 D、6 E、及び 6 F にそれぞれ提示する。s P I F 治療群の大腿骨 B M 切片における脂肪細胞数は、P B S 対照マウスと比較して著しく低く（図 6 G）、s P I F 治療群における B M 細胞の回復の改善を示す。注目すべきことに、s P I F 治療群における脂肪細胞の数は、正常マウスにおいて観察されるものと同様であった。かかる観察は、致死線量の照射後に、P I F と結合された B M

T が、循環ならびに骨髓貯留部の両方を急速に回復するのに助けることができることを示す。

#### 【0248】

実施例 9：

s P I F 前治療された同種骨髓の移植は、長期的な致死線量の照射後に血液学的再構成を増強する：s P I F は免疫応答を調節する。したがって、s P I F が移植された骨髓細胞に対して、それらの生着を改善する直接的な影響を有するかどうかを調べた。あるいは、s P I F は、B M T 生着を促進することによって、その免疫調節特性を受容者において発揮することによってのみ血液学的再構成につながる。かかる重要な問題に対処するために、ドナー B M 細胞（同種）を、s P I F で 2 時間、培養物中でプレインキュベートし、次いで細胞を、移植前に洗い流した。受容者は、致死線量で（10 G r y）照射され、24 時間後に予備馴化された B M 移植片を移植された。追加の治療は投与されなかった。（図 7 A）

#### 【0249】

B M は、s P I F で移植前に 2 時間だけインキュベートしたが、s P I F 治療細胞を受ける実験群は、移植後 3 週間及び 4 週間で総 W B C 数、特にリンパ球数の増強された再構成を示した（図 7 B 及び 7 C）。この効果が、改善された骨髓細胞によって発揮されたかどうかを更に調べた（図 7 D、E、F）。データは、s P I F が、大腿骨中の脂肪細胞の存在を低減させることによって B M の回復をもたらしたことを示した。B M T に続いて s P I F ベースの予備馴化がインビボで有効であったため、この保護に關与した可能性のある機序を更に調べた。B M 抗原性に対する s P I F 前治療の効果を調べた。M S C で 2 時間プレインキュベートされた s P I F を、培養物中の、抗 C D 3 抗体によって活性化された C F S E 標識された脾細胞に添加し、増殖に対する効果を評価した。（図 7 G）フローサイトメトリーデータは、かかる予備馴化が、増殖細胞の数を低減することにおいて著しい効果を有することを記録した。図 7 F は、M S C の P I F 予備馴化が、B 細胞及び T 細胞へのそれらの分化につながることを示す。図 7 H は、移植後 5 日目に調べたときに、P I F が体重喪失を予防することを示す。

#### 【0250】

これは、B M 細胞に対する s P I F の短期的被ばくが、移植後に更なる治療を長期的に必要なとすることなく、有効な生着をもたらすのに十分であることを明示した。これは、培養物中の s P I F の短期的な直接効果が、インビボでの長期的な生着促進効果に換算され得ることを示唆する。

#### 【0251】

実施例 10：

s P I F は、マクロファージ分化を改変する：A R S における免疫応答の重要性及び単球に対する s P I F の免疫調節効果を考慮して、インビトロでのマクロファージに対する s P I F の効果を試験した。P I F がマクロファージ内で B 7 H 1 を上方調節し、T 細胞増殖に対する免疫調節効果を反映することを以前に示されていた。この上方調節は、活性化された T 細胞との共培養に続く s P I F プライムマクロファージが低減された増殖をもたらしたため、更に確認された。現在の実験は、亜致死線量及び致死線量の両方の A R S モデルにおける s P I F の保護効果が、マクロファージ極性のシフトに起因し、それにより電離放射線に続く炎症応答を低減するかどうかを調べることを目的とした。マクロファージは、免疫応答の重要な媒介物質であり、炎症性（M 1）及び調節性（M 2）マクロファージに分化し得る。したがって、C 5 7 B L / 6 マウスから腹腔マクロファージを入手し、それらを s P I F の存在下で M 1 または M 2 表現型に分化させた（図 8 及び 9）。予想通りに、s P I F は、M 1 分化マクロファージにおいて、i N O S（N O S 2）及び C O X - 2 遺伝子の発現（それぞれ図 8 A 及び 8 B）を著しく減少させ、M 2 調節性マクロファージのマーカーであるアルギナーゼ - 1 の発現を増強した（図 8 C）。追加として、F A C S 解析は、M 2 マクロファージ表現型に類似させるように、マクロファージ細胞表面 C D 1 1 b 及び F 4 / 8 0 発現の下方調節を確認した（図 8 D 及び 8 E）。図 9 は、P

I F が C D 1 6 / 3 2 及び C D 2 0 6 の発現をシフトすることを示し、M 2 へのシフトを更に証明する。集約的に、これらの結果は、s P I F が、M 1 / M 2 マクロファージを標的とすることによって、照射されたマウスにおいて免疫応答を調節し得ることを示唆する。

#### 【 0 2 5 2 】

P I F は、致死線量で照射された心臓に対して保護する。1 / 1 放射線により誘発された心疾患 ( R I H D ) は、放射線療法中の懸念である。関与する病理機序は、内皮損傷に起因する冠状動脈の進行性アテローム性動脈硬化であり、小血管及び心筋細胞の喪失に起因する心筋の拡散損傷は、線維症に置き換えられる。マウスモデルにおいて、マクロ血管介在性及び拡散放射線心臓損傷に関する、心機能研究 ( 心エコー ) との平行研究、生存体重、皮膚治癒の時間依存的評価を評価した。新生ラット 1 0 ~ 1 2 / 群を、心臓を特異的に標的とする 5 0 G y の致死線量の放射線に被ばくさせた。後次に、s P I F の持続送達を、A l z e t ポンプを使用して移植した。ポンプは、P I F を 2 週間にわたって 1 m g / k g / 日 で放出した。(プロトコルのスケッチを図 1 3 に記載する)。照射されたラットよりも s P I F 治療された動物の照射及び手術の部位において、より速い毛髪の成長が認められた。2 週間の長い P I F 治療後の P I F 治療された動物において、A l z e t ポンプの移植の数日後に、創傷がより早く治癒した。P I F 治療された動物の毎日の活動はより高く、照射群の他の動物よりもはるかに活発であった。

#### 【 0 2 5 3 】

実施例 11 :

P I F コアペプチド配列の調査 : P I F w t のインシリコドッキングは、K C N A B 1 ( v 1 . 3 ) 四量体の鎖 A が、3 つの他の鎖よりも P I F 標的となる可能性が高いことを明らかにする。ドッキングされた P I F w t のインシリコ突然変異誘発 : v 1 . 3 インターフェースもまた、M \* R I K P \* N の重要性を明らかにするが ( M 1 、I 4 、K 5 、P 6 、及び N 1 0 における突然変異が、最強のインターフェース攪乱物質である)、四量体ドメイン間で類似性を示さない。a . P I F の F l e x P e p D o c k サーバードッキングは、P I F が、鎖 A に結合する場合により安定していることを示唆した。b . 突然変異時に P I F 配列のどのアミノ酸が、より高いエネルギー P I F - K v 1 . 3 P : A ~ D 複合体を生じ、したがってより安定性の低い構造をもたらすかを予測するために、B e a t M u s i c サーバを、インシリコ突然変異誘発に使用した。したがって、2 つの推定突然変異体、突然変異体 - 1 : P 6 E 6 、及び突然変異体 - 3 : I 4 G 4 を想定した。c . 表は、考慮される突然変異体を表し、それらのうちの 2 つは、リガンド - 受容体攪乱物質のオプシオンとしてのそれらの推定の使用可能性に基づいて合成された。突然変異体 1 ( P 6 E 6 ) は、v 1 . 3 の鎖 D により特異的であり、その形態はまた、高エネルギーの結合及びインターフェーススコアを有していた。突然変異体 3 ( I 4 G 4 ) は、v 1 . 3 の鎖 A との結合を攪乱することが予測される。いくつかの P I F 標的を使用するインシリコ突然変異誘発に関する更なる詳細を有する例もまた、R I K P がコア配列であることを示唆する。これらの突然変異体の検証を、P I F - I D E の別の標的に関して図 1 1 に示す ( 分化シフトアッセイに関するデータを示す)。突然変異体の検証は、図 1 2 にも示され、これは v 1 . 3 に関する分化シフトアッセイデータを示す。

#### 【 0 2 5 4 】

柔軟なインシリコドッキング ( アルゴリズム # 2 : C A B S ドック - これは、モデルではなく P I F 配列のみが提供される分子モデリングアプローチであり、その分子ダイナミクス及び柔軟性のシミュレーションを使用して、ペプチドが結合する場所を探す ) モデルを、柔軟なインシリコドッキング ( アルゴリズム # 1 : F l e x P e p D o c k ) と、F l e x P e p D o c k からの P I F w t を、C A B S ドックにおいて得られる F L A G - G G - P I F - H A モデル上に投影することによって比較した。注目すべきことに、両方のアルゴリズム ( 性質上極めてはっきりした ) は、v 1 . 3 において、両方の型のモデルのインターフェースにおいて共有されるコンセンサス配列 R I K P と同じ「ポケット

」に結合するが、反対方向であると予測する。このデータは、二重タグ付けされた P I F が、大部分の場合において、P I F w t 標的に結合することができると示唆する。I D E 結合及び v 1 . 3 に結合された P I F w t 対 P I F m u t - 1 / 3 を研究した。

【 0 2 5 5 】

実施例 1 2 .

図 1 4 は、2 週間の持続的注入及び後次の週 2 回の注入に続いて、s P I F が、研究の 1 9 週後の対照と比較して、ラットの体重を改善することを示した。この効果は、ビヒクル治療されたラットに対して有意であった。成長曲線は、非照射ラットと同様であった。

【 0 2 5 6 】

図 1 5 は、致死線量の照射後、研究の最後まで s P I F 生存率が保存されることを示し、P B S 治療されたラットの場合よりもわずかに低い。

10

【 0 2 5 7 】

図 1 6 は、s P I F が致死線量の照射に続いて作用し得ることの心指標を説明する。

【 0 2 5 8 】

図 1 7 は、s P I F が、多くの心指標に作用する致死線量の放射線から保護することを示す。A W T - 収縮時及び拡張時の両方の前壁厚。加えて、拡張中の P W T 厚さを低減する (  $P < 0 . 0 5$  ) 。

【 0 2 5 9 】

図 1 8 は、s P I F が、P B S 治療された対照と比較してラットの体重を著しく改善したことを示す。

20

【 0 2 6 0 】

図 1 9 は、s P I F が、P B S 対照と比較して腎臓重量を増加させることを示す。  $P < 0 . 0 5$

【 0 2 6 1 】

P I F 注入は、異所性心移植片拒絶反応から保護する。マウスバルブノ c は、受容者 ( 5 7 B 1 / 6 ) の腹腔に心同種移植片を移植され、血管を腹部大動脈に付着させる。移植に続いて、s P I F の 1 日 2 回の注入を行い、聴診器を使用して心拍を判定することにより、移植された心臓の活動を判定する。s P I F の効果を、P B S 治療された対照と比較した。データは、s P I F が、拒絶反応を著しく遅延させたことを示した。  $9 + / - 0 . 5 2$  S E 対  $7 + / - 0$  (  $N = 1 8$  s P I F 及び  $N = 5$  対照 )、  $P < 0 . 0 0 2$  ( D F 1 7 ) 。

30

【 0 2 6 2 】

P I F は、主要な副腎細胞生存度及びコルチゾール分泌を促進する：バイオ人工副腎の基礎。2 1 - ヒドロキシラーゼの欠乏に起因する先天性副腎過形成 ( C A H ) は、ヒトにおける最も一般的な遺伝的内分泌障害であり、晩年に神経内分泌の混乱、男性化、及び代謝疾患の臨床症状と共に提示する。患者は、低血圧危機、低血糖症、面皰、及び不妊症を罹患する場合がある。

【 0 2 6 3 】

グルココルチコイド置換による現在の治療オプションは、症状を部分的に反転させるにすぎず、過剰なグルココルチコイド治療の不快な副作用を呈し得る。異なる治療アルゴリズムにも関わらず、C A H の管理は、依然として主な治療課題であり、両側性副腎摘出等の激烈な治療手段を必要とする ( M e r k e r , 1 9 9 9 ) 。副腎細胞移植は、そのような患者に対する実行可能な治療代替案である。しかしながら、この戦略は、ヒトドナー臓器の持続的欠失及び慢性免疫抑制の必要性によって著しく制限される。

40

【 0 2 6 4 】

それらの問題を解決するための方法のうちの 1 つは、異種細胞の移植であり得る。異種移植における顕著な進歩は、アルギン酸中でマイクロカプセル化された異種細胞の適用に基づく。この方法は、細胞療法のための有望なプラットフォームを提供する ( D o l g i n , 2 0 1 4 ) 。細胞マイクロカプセル化は、免疫抑制剤 ( N e u f e l d , 2 0 1 3 ) なしに宿主免疫系による攻撃から移植された細胞を保護すること、及び免疫付与から

50

受容体を保護することを目的とする。移植が、外科的手術によるのではなく、単純な注入手順によって達成され得ることは今後の利点である。一次ウシ副腎細胞への P I F 曝露は、有効な副腎移植を可能にするために適したソースであり得る。

#### 【 0 2 6 5 】

4 つのウシ副腎から単離された一次ウシ副腎皮質細胞 ( B A C ) に関する実験。生存度、アポトーシス、及び増殖アッセイの場合、B A C を 9 6 ウェルプレートに播種した ( 1 ウェル当たり  $1 \times 10^4$  細胞、6 重複 )。コルチゾール生成アッセイの場合、細胞を 2 4 ウェルプレートに播種した ( 1 ウェル当たり  $5 \times 10^4$  細胞、3 重複 )。P I F を生理食塩水に溶解し、 $0.1 \mu\text{g} / \text{mL}$  濃度で使用した。ある細胞群は、細胞単離の直後に P I F 含有媒質を受けた ( P I F d 0 )。別の細胞群は、細胞単離後 2 4 時間に P I F 含有媒質を受けた ( P I F d 1 )。対照細胞は、P I F を受けなかった。治療の開始後 3 日目に、X T T 細胞増殖アッセイ ( R o c h e ) を使用して生存度を評価した。治療の開始後 3 日目に、B r d U 細胞増殖アッセイ ( M i l l i p o r e ) を使用して増殖を測定した。治療の開始後 3 日目にカスパーゼ - G l o 3 / 7 アッセイ ( P r o m e g a ) を使用し、カスパーゼ 3 / 7 活性の決定によってアポトーシスをアッセイした。刺激されたコルチゾールの場合、 $3 \text{ ng} / \text{mL}$  の A C T H ( S y n a c t h e n ) を使用した。上澄み中のコルチゾールを、E I A ( I B L ) によって測定する。図 2 0 のデータは、培養中の P I F が、細胞生存度を高める一方で、アポトーシスを低減することを示す。図 2 1 のデータは、P I F が、これらの細胞によってコルチゾール分泌を著しく促進することを示し、効果は、培養物への添加の 1 日後に最も顕著であった。この指示的データは、副腎細胞の予備馴化が、宿主への移植前に重要であり得ることを示し、したがって、バイオ人工副腎を開発する可能性を開く。

#### 【 0 2 6 6 】

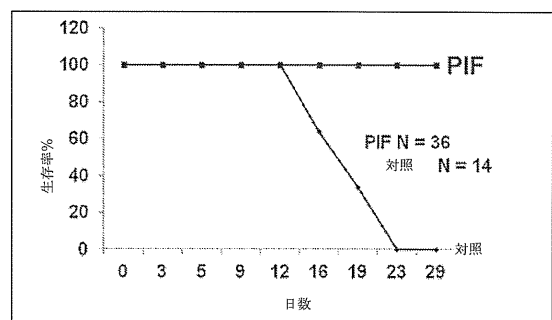
P I F を使用するラットインスリノーマ細胞に対する実験 - 島移植の基礎 P I F は、インビトロ及びインビボの両方でグローバル免疫応答を調節する [ 1 5 ~ 1 7 ]。P I F は、養子移入及び自然発症する疾患の両方において、N O D マウスにおける糖尿病の発達を長期的に予防する。平行試験された P I F s c r は、効果がない。保存された島構造及びインスリン発現は、増加した膵 P D I / チオレドキシン及び H S P タンパク質レベルと関連付けられる。これは、T H 1 及び T H 2 サイトカインレベルの両方の変化によって反映された全身免疫調節と結合される。最近示されたように ( B a r n e a P L o S O n e 2 0 1 4 )、P I F は、共有された結合部位を通じて P D I / T 及び H S P を直接標的とする。したがって、移植保護に重要な酸化ストレス及びタンパク質の誤った折り畳みに対して観察される保護は、機構的に真実味がある。生存可能な島細胞を I 型糖尿病の患者に移植する能力を有することは、現在まで、かかるアプローチが、ドナー細胞の入手可能性、ならびに移植後に持続的免疫抑制の必要性があり、生着したにも関わらず、移植された細胞がこれらの患者に長期的に適切なインスリンを提供することができないことの両方によって制限されるため、主要な進歩である。

#### 【 0 2 6 7 】

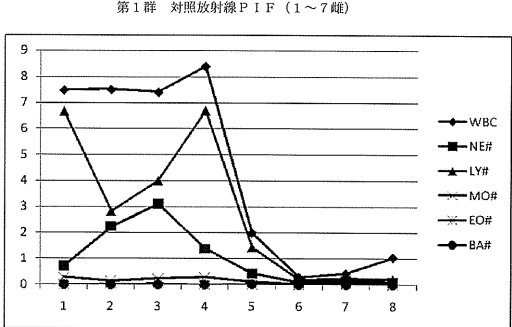
P I F 投与 I n s - 1 細胞の経路 2 4 を実験に使用した。生存度、アポトーシス、及び増殖アッセイの場合、細胞を 9 6 ウェルプレートに播種した ( 1 ウェル当たり  $1 \times 10^4$  細胞、6 重複 )。P I F は、3 つの濃度、 $0.01 \mu\text{g} / \text{mL}$ 、 $0.1 \mu\text{g} / \text{mL}$ 、及び  $1 \mu\text{g} / \text{mL}$  で使用した。基質を含有する媒質を毎日変えた。生存度は、X T T 細胞増殖アッセイ ( R o c h e ) を使用して評価した。増殖は、B r d U 細胞増殖アッセイ ( R o c h e ) を使用して測定した。アポトーシスは、カスパーゼ - G l o 3 / 7 アッセイ ( P r o m e g a ) を使用して、カスパーゼ 3 / 7 活性の決定によってアッセイした。結果は、試験されたモデルにおいて起こるプロセスの評価に関する回帰解析によって解析した。細胞に対する P I F の効果の評価のために、関連試料に対してウィルコクソン符号順位検定、ならびにスピアマン順位相関及びスチューデント t 検定を使用した。図 2 2 は、P I F が、4 8 時間でのインスリノーマ細胞の生存度、及び  $0.1 \mu\text{g} / \text{mL}$  の低濃度での増殖を促進することを示す。アポトーシスの増加は、培養条件下で頻繁に発生する不良品質

の細胞の排除を示す。

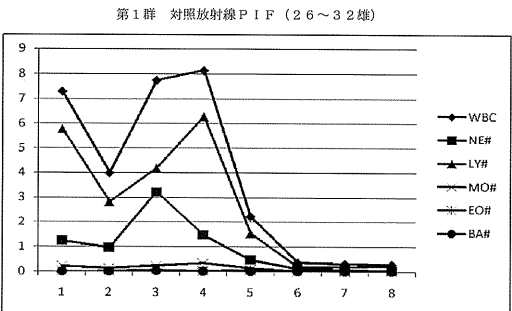
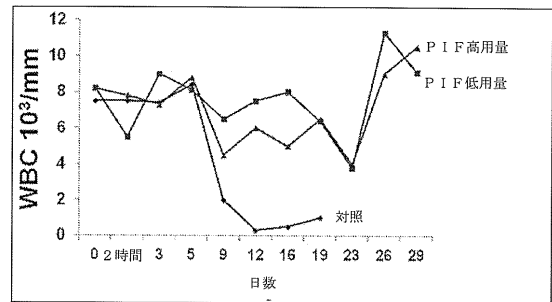
【図 1 A】



【図 1 C - 1】

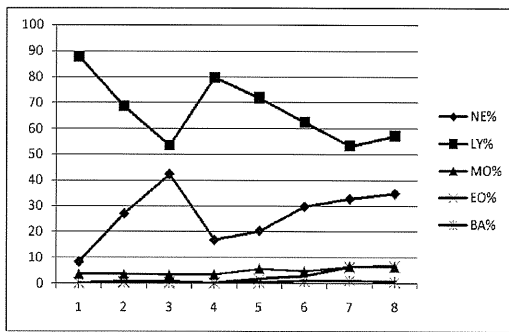


【図 1 B】

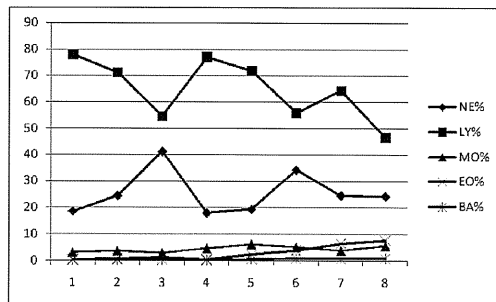


【図 1 C - 2】

第1群 対照放射線PIF (1~7雌)

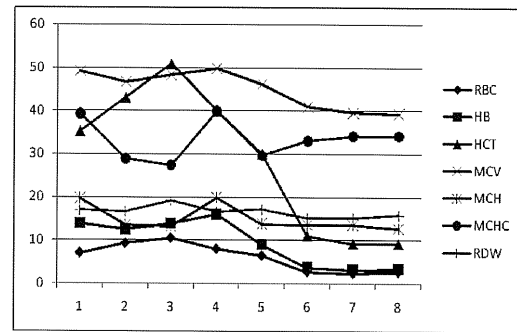


第1群 対照放射線PIF (26~32雄)

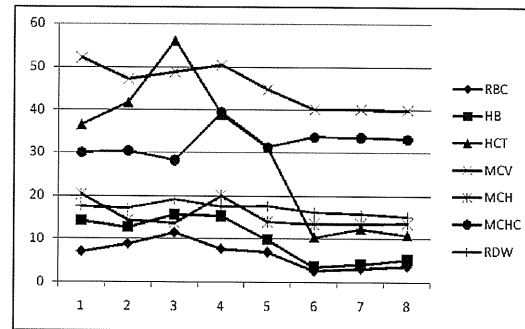


【図 1 C - 3】

第1群 対照放射線PIF (1~7雌)

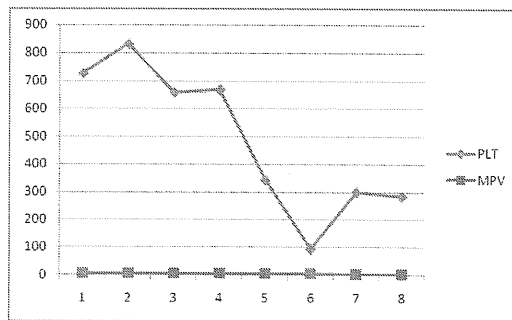


第1群 対照放射線PIF (26~32雄)

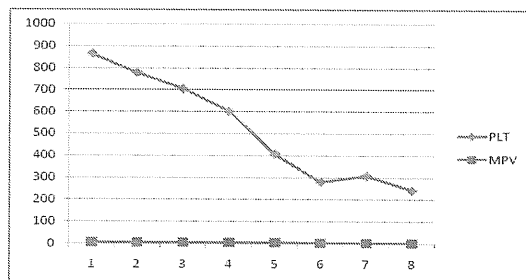


【図 1 C - 4】

第1群 対照放射線PIF (1~7雌)

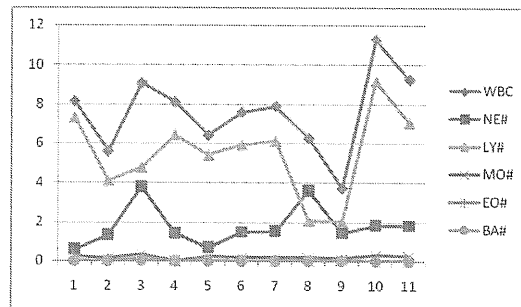


第1群 対照放射線PIF (26~32雄)

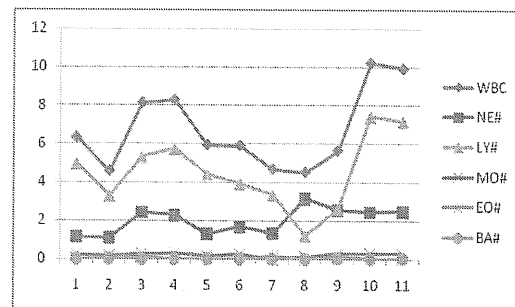


【図 1 D - 1】

第2群 低線量放射線PIF (雌8~16)

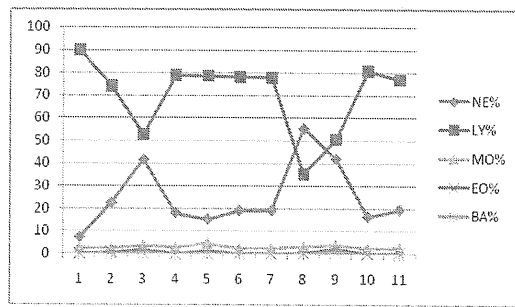


第2群 低線量放射線PIF (雌33~41)

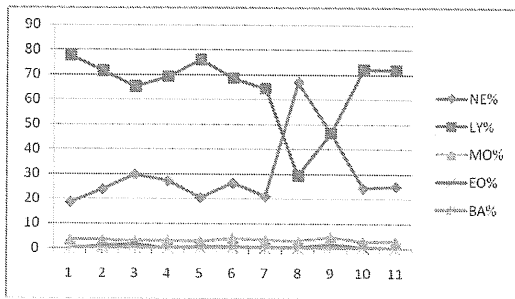


【図 1 D - 2】

第2群 低線量放射線PIF (雌8~16)

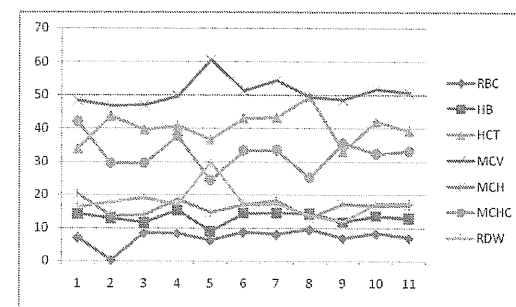


第2群 低線量放射線PIF (雌8~16)

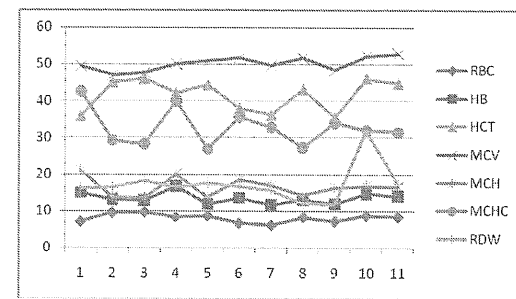


【図 1 D - 3】

第2群 低線量放射線PIF (雌8~16)

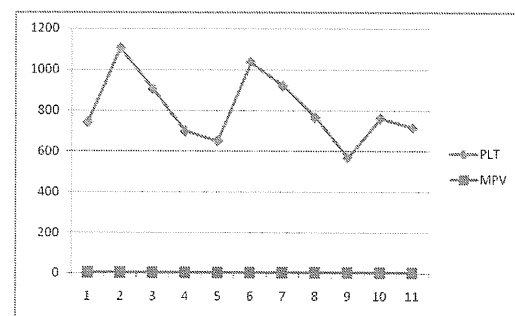


第2群 低線量放射線PIF (雌8~16)

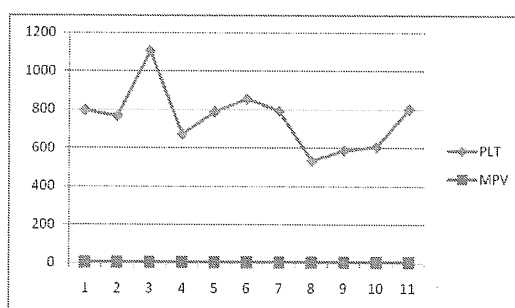


【図 1 D - 4】

第2群 低線量放射線PIF (雌8~16)

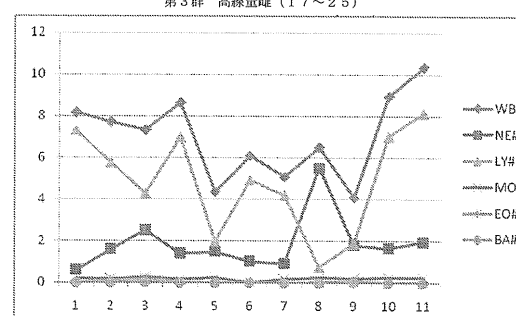


第2群 低線量放射線PIF (雌8~16)

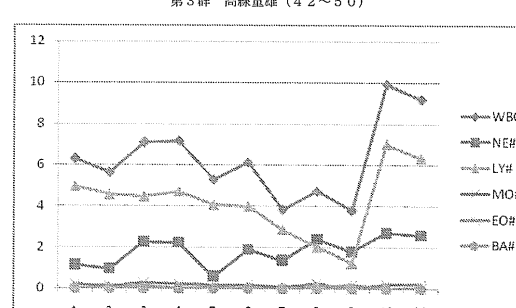


【図 1 E - 1】

第3群 高線量雌 (17~25)



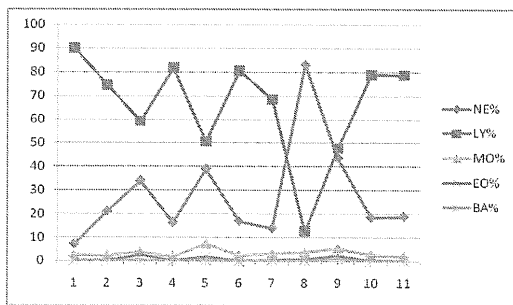
第3群 高線量雄 (42~50)



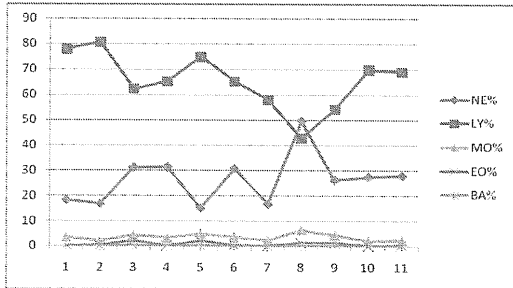


【図 1 E - 2】

第3群 高線量雌 (17~25)

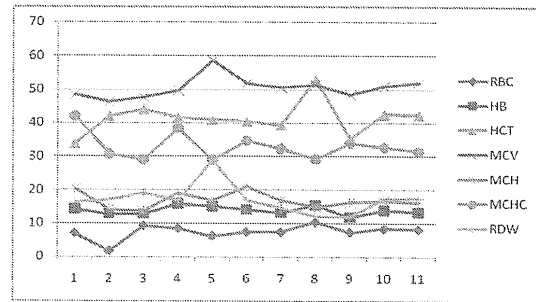


第3群 高線量雌 (42~50)

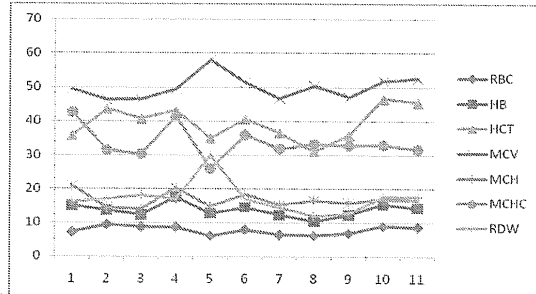


【図 1 E - 3】

第3群 高線量雌 (17~25)

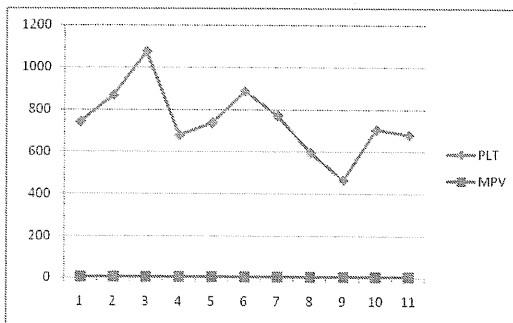


第3群 高線量雌 (42~50)

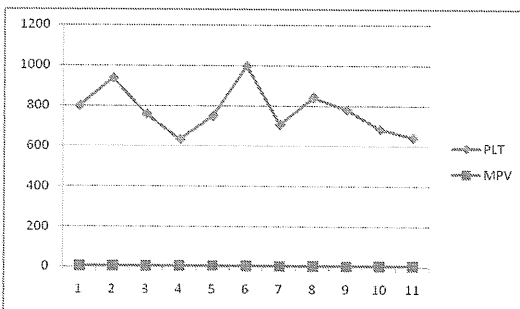


【図 1 E - 4】

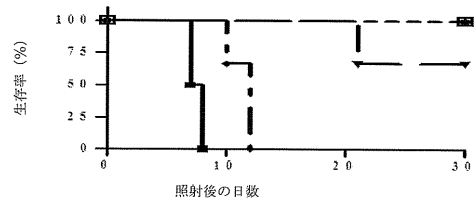
第3群 高線量雌 (17~25)



第3群 高線量雌 (42~50)

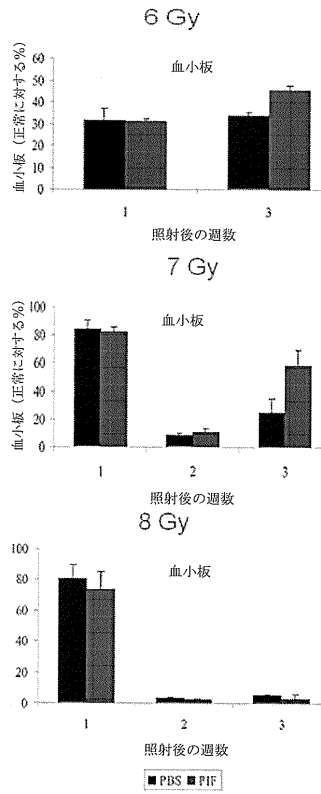


【図 2 A】

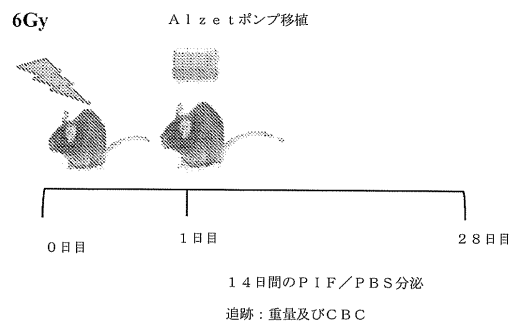


—●— 6 Gy  
 —□— 7 Gy  
 —△— 8 Gy  
 —○— 9 Gy  
 —■— 10 Gy

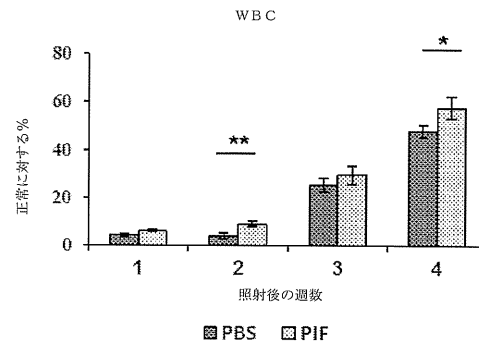
【図 2 B】



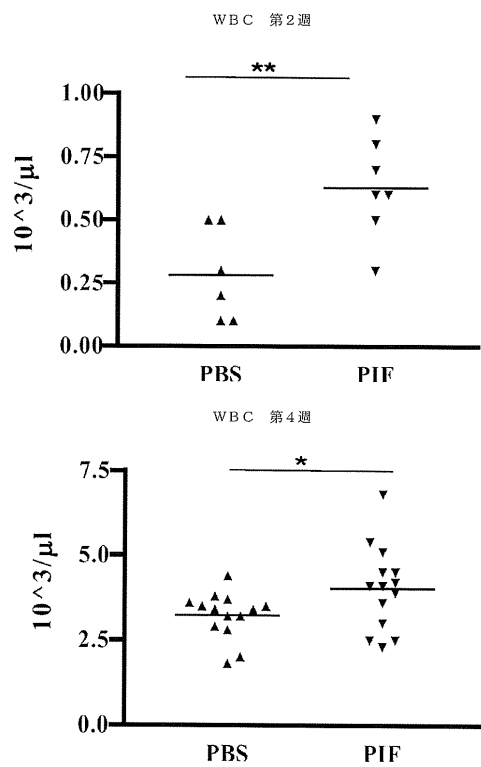
【図 3 A】



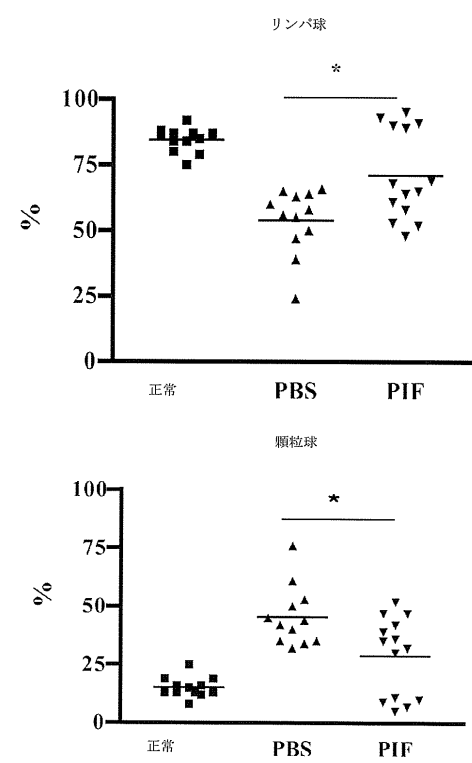
【図 3 B】



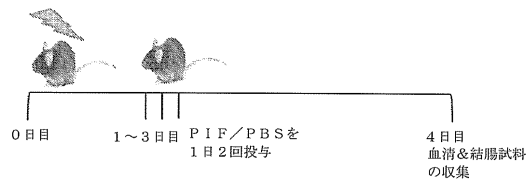
【図 3 C】



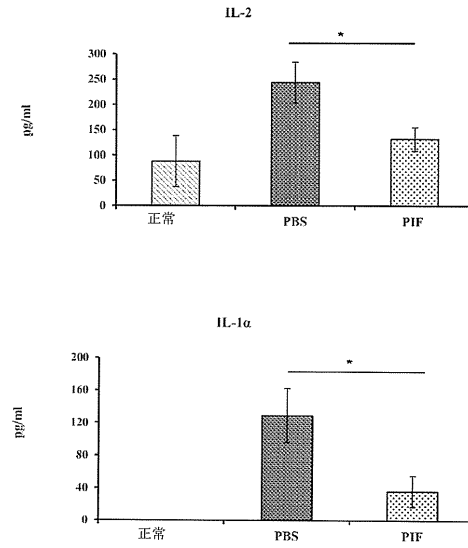
【図 3 D】



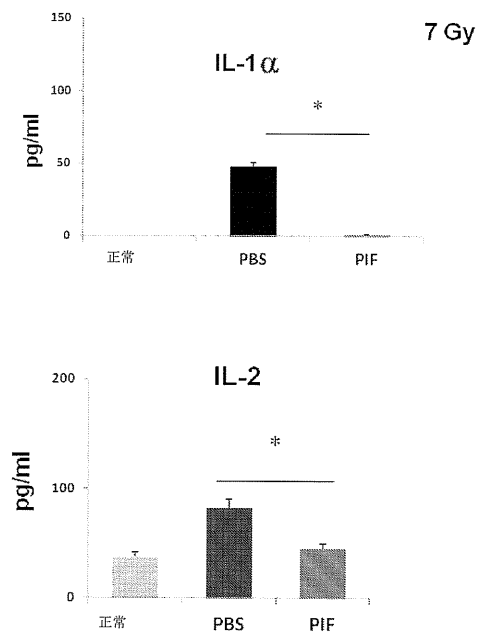
【図 4 A】



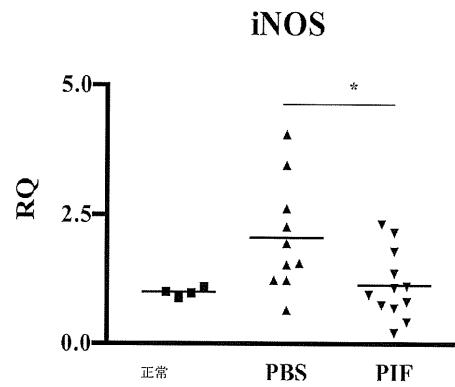
【図 4 B】



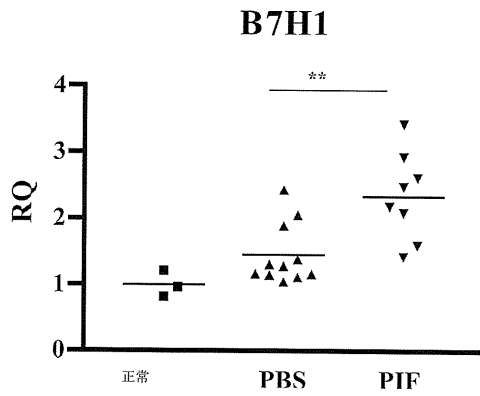
【図 4 C】



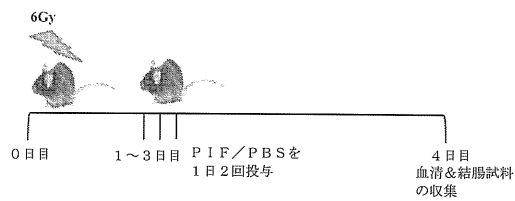
【図 4 D】



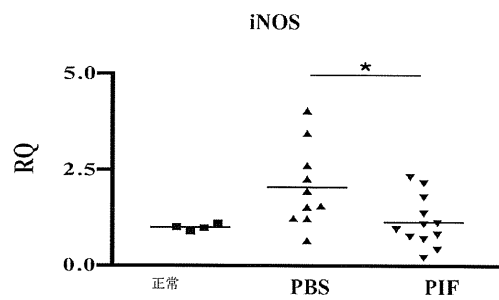
【図 4 E】



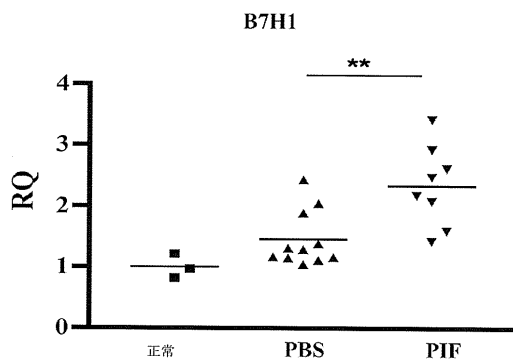
【図 5 A】



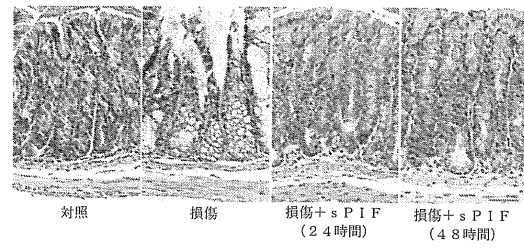
【図 5 D】



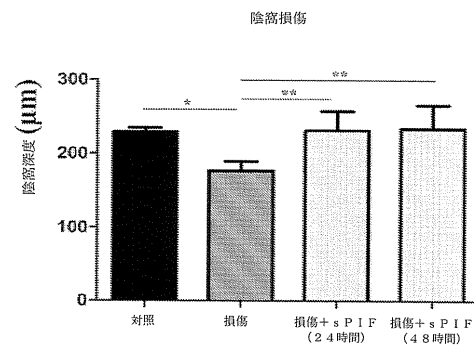
【図 5 E】



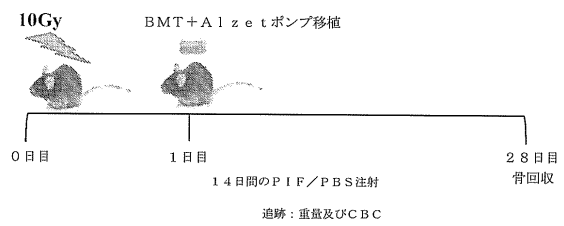
【図 5 B】



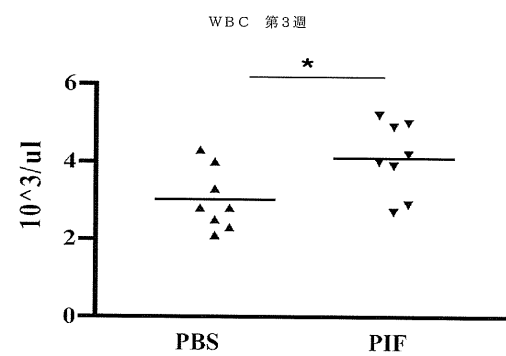
【図 5 C】



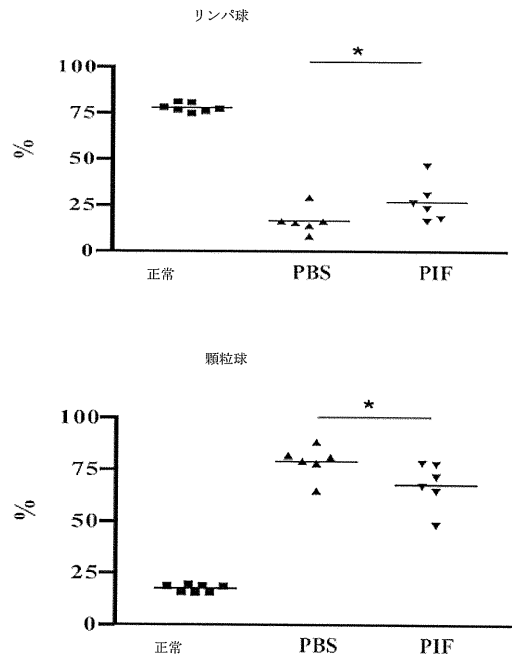
【図 6 A】



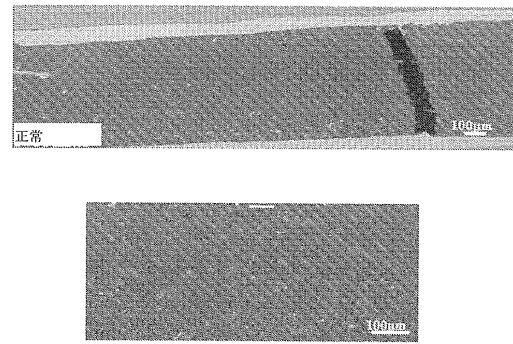
【図 6 B】



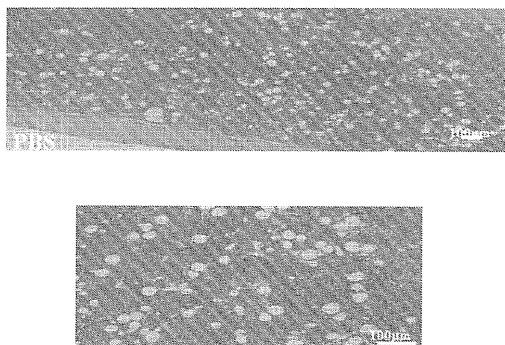
【図 6 C】



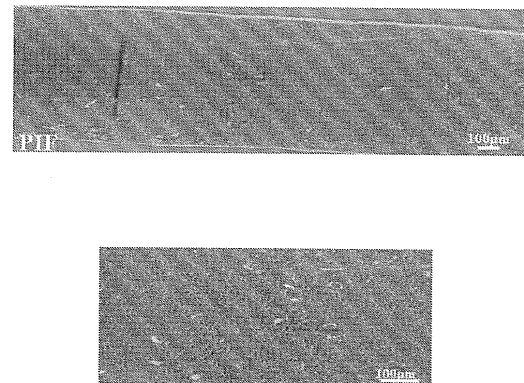
【図 6 D】



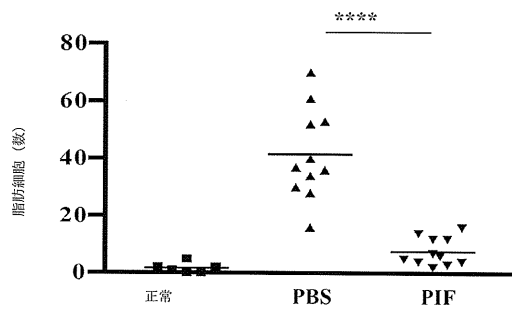
【図 6 E】



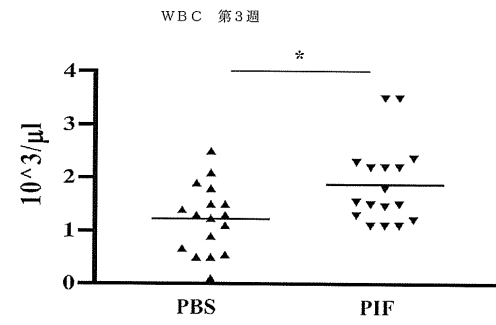
【図 6 F】



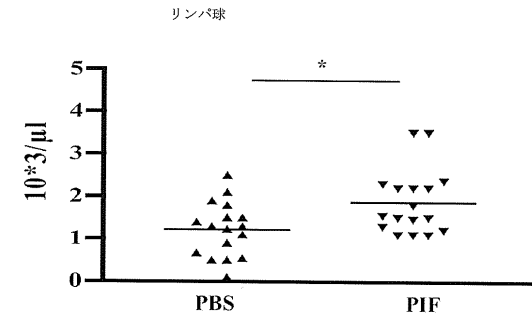
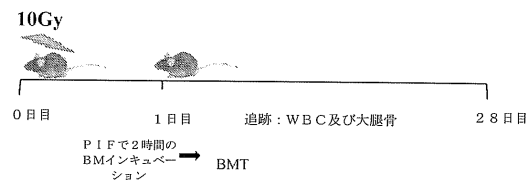
【図 6 G】



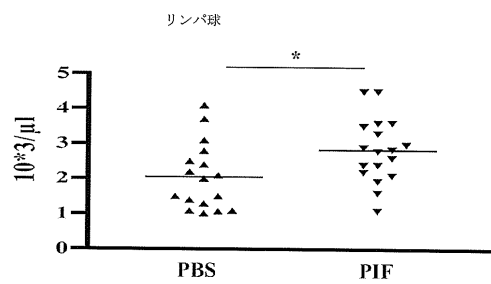
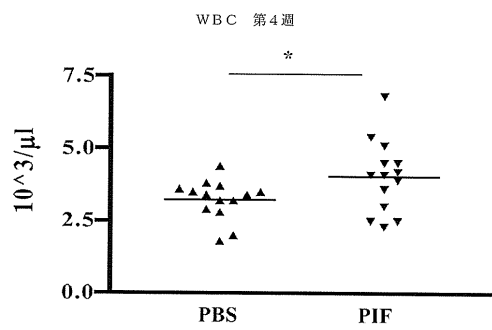
【図 7 B】



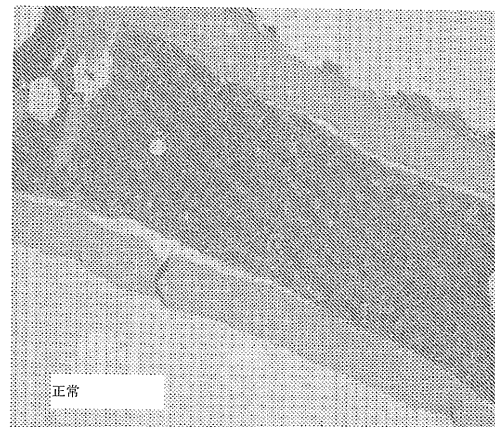
【図 7 A】



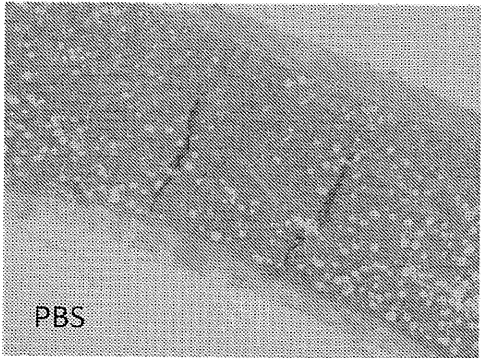
【図 7 C】



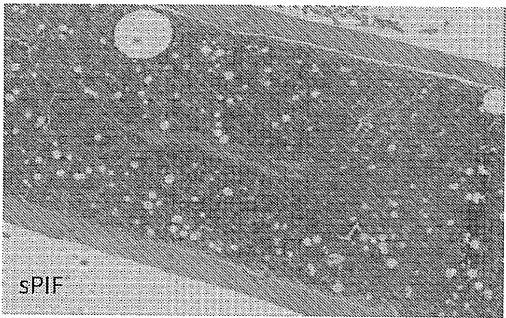
【図 7 D】



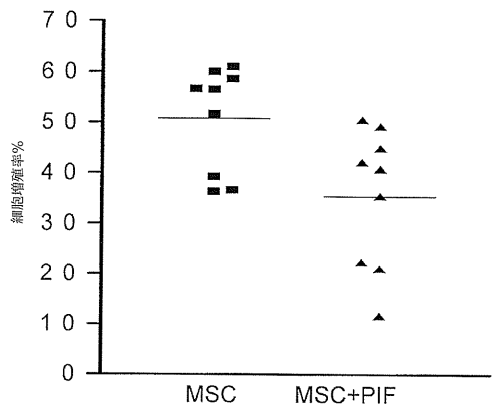
【図 7 E】



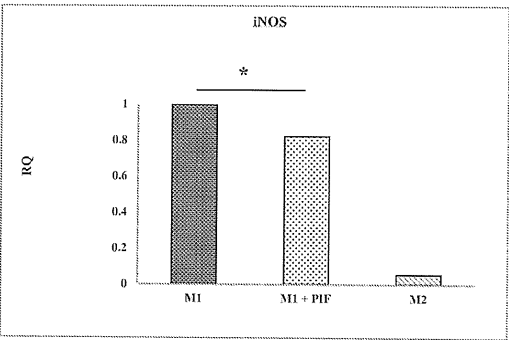
【図 7 F】



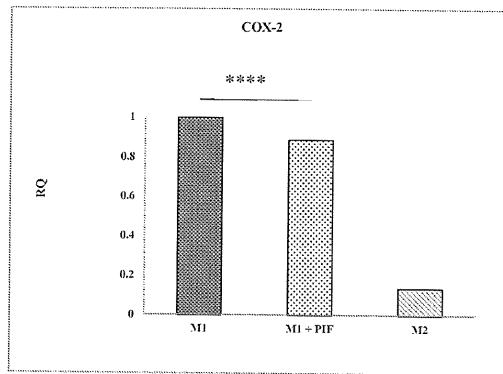
【図 7 G】



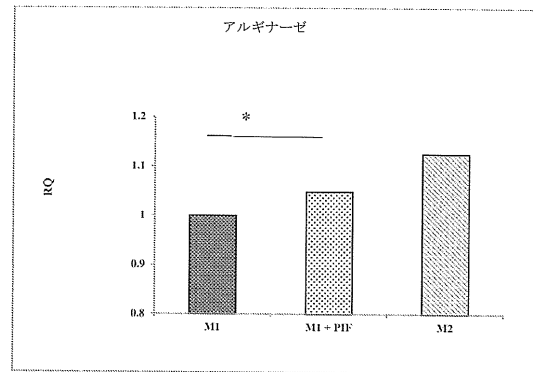
【図 8 A】



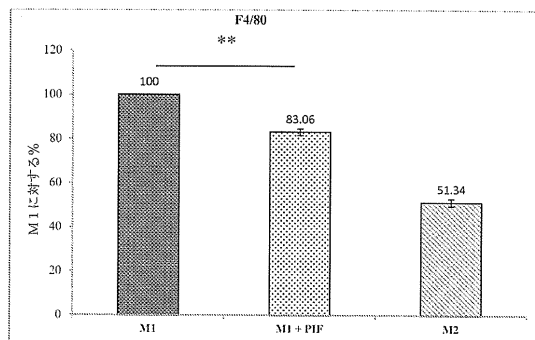
【図 8 B】



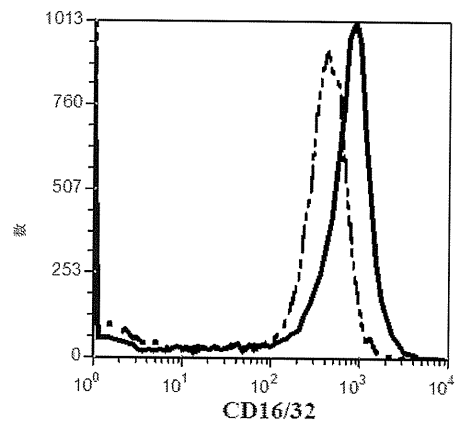
【図 8 C】



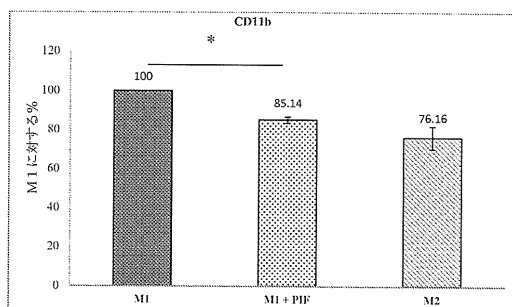
【図 8 D】



【図 9 A】

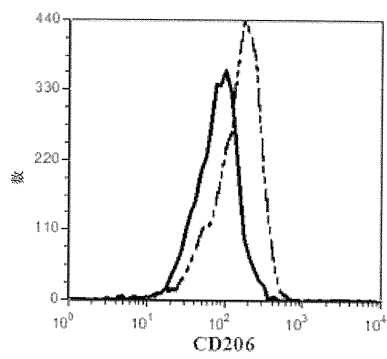


【図 8 E】

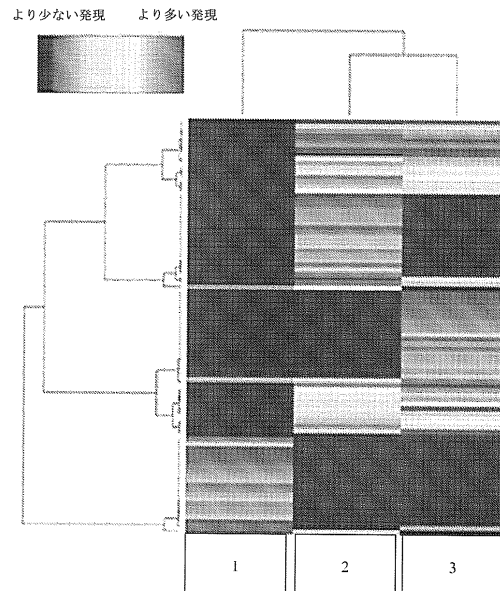




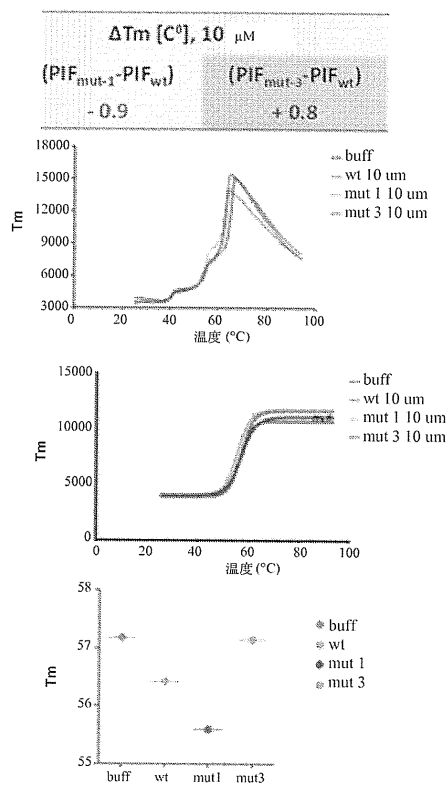
【図 9 B】



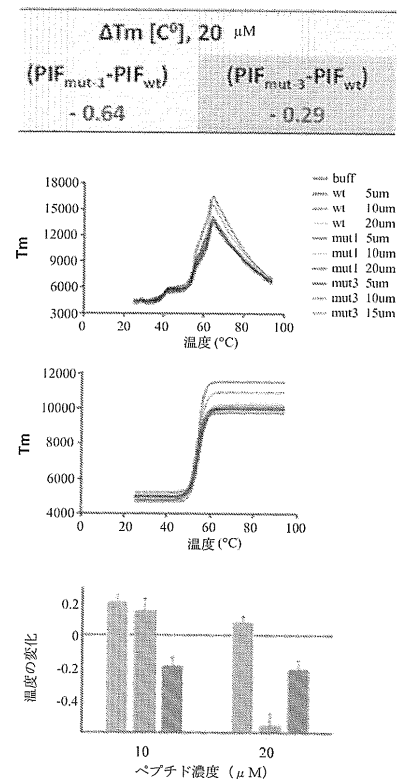
【図 10】



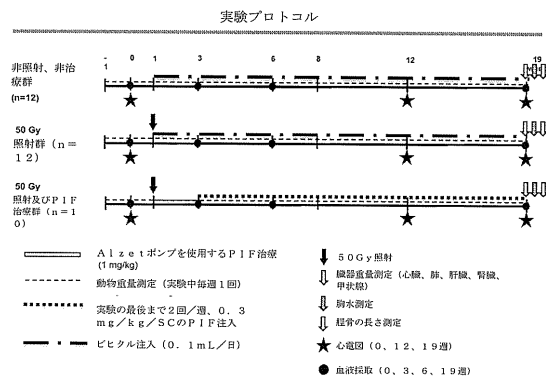
【図 11】



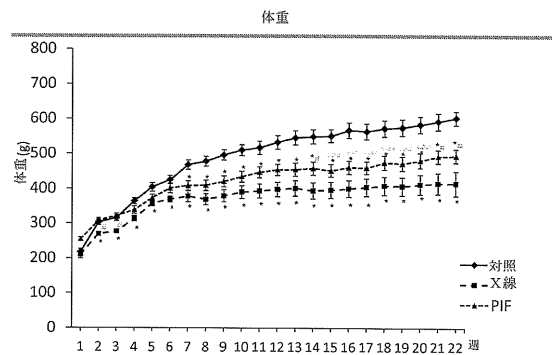
【図 12】



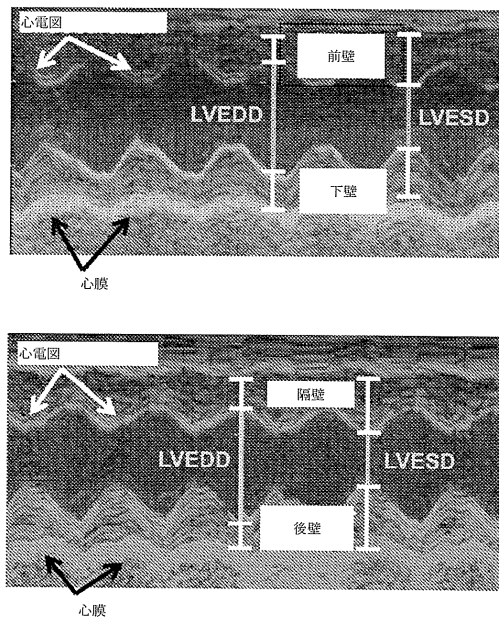
【 図 1 3 】



【 図 1 4 】



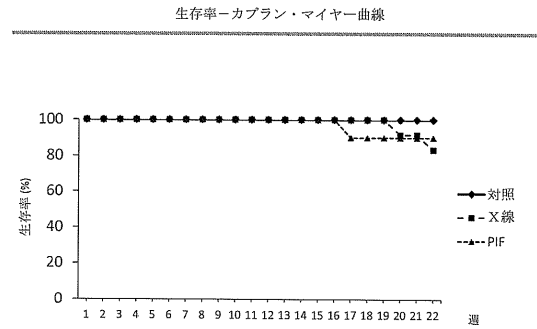
【 図 1 6 】



**LVEDD:** 左室拡張末期直径

**LVESD:**左室收縮末期直徑

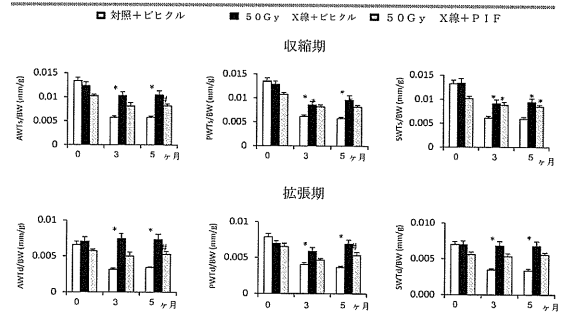
【 図 1 5 】



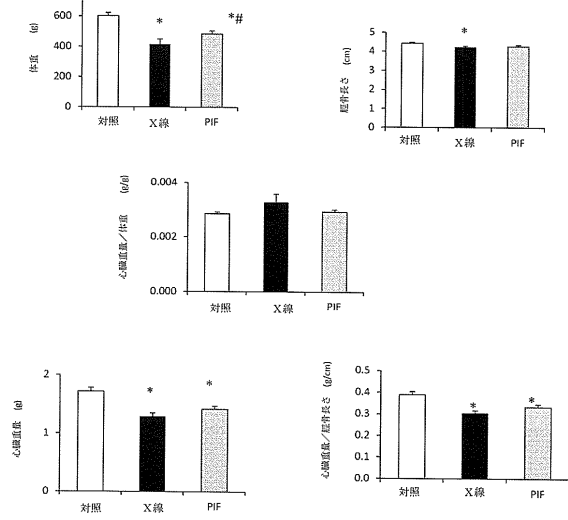
【圖 17】

心電図：体重に対して正規化された左室形態像を示す。

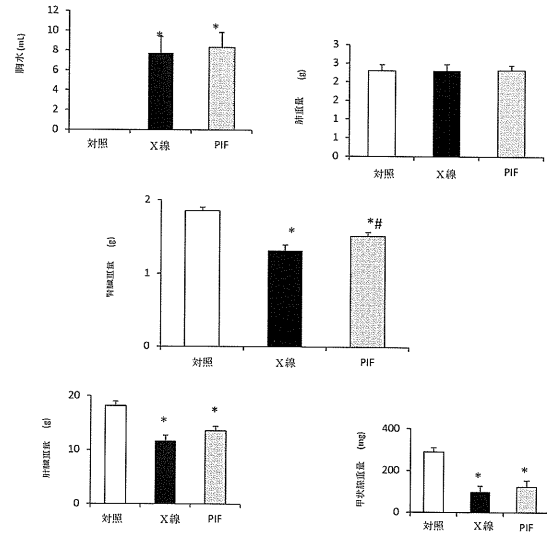
PIFは、5ヶ月目に左室肥大を改善する。



【図 18】

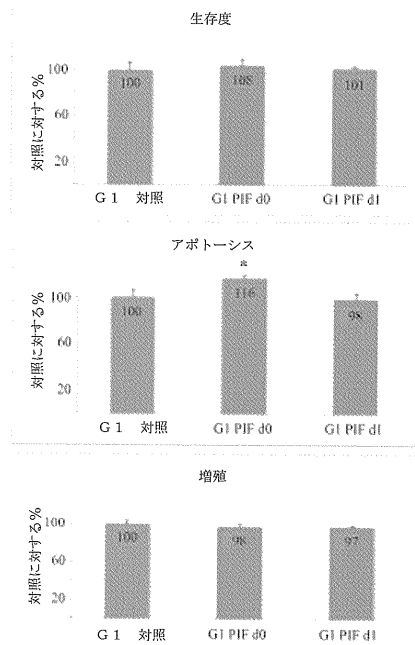


【図 19】



【図 20】

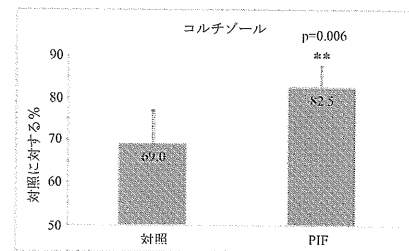
細胞単離後0日目及び1日目のBACに対する  
PIFの効果 (腺1)



全てのデータは、対照からのパーセントとして、及び6ウェルからの平均±SDとして提示する。\*p ≤ 0.05 実験群対対照

【図 21】

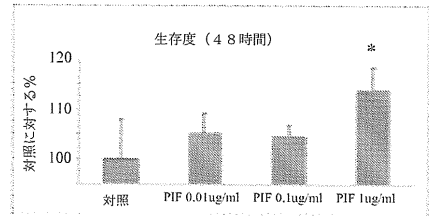
BAC基礎コルチゾール生成に対するPIFの効果



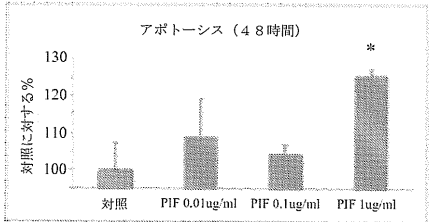
治療の開始後24時間BACを、PIFで7日間治療した。上遊みを毎日収集し、コルチゾールレベルに関して試験した。PIF治療群と対照群との間の著しい差は、治療の開始後わずか24時間で観察された。全てのデータは、6ウェルからの平均±SDとして提示した。統計：t検定。

【図 2 2】

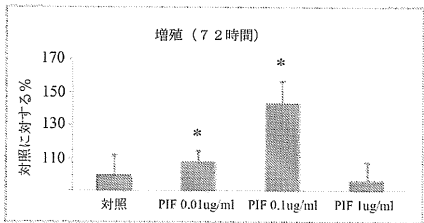
ステップ I I I N S -細胞系に対する P I F の効果  
# -生存度及びアポトーシスに関する P I F の用量依存的効果が認められた。



# P I F 用量のスピアマン順位相関 0.01・1～0.66、 $p < 0.05$ )



P I F 用量のスピアマン順位相関 0.01・1～0.59、 $p < 0.05$ )



【配列表】

0006806685000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
A 6 1 P 43/00 1 0 1  
A 6 1 P 43/00 1 0 7

(31)優先権主張番号 62/211,660

(32)優先日 平成27年8月28日(2015.8.28)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

(72)発明者 バルネア, エイタン アール.  
アメリカ合衆国 0 8 0 0 3 ニュージャージー州, チェリー ヒル, ラーク レーン 1 6 9 7

審査官 柴原 直司

(56)参考文献 特表2014-508164(JP, A)  
Conference Papers in Medicine, (2013), 2013, Article ID:718031  
Endocrine, (2011), 40, [1], p.41-54

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 8 / 5 8  
A 6 1 K 4 1 / 0 0 - 4 5 / 0 8  
A 6 1 K 4 8 / 0 0  
A 6 1 K 5 0 / 0 0 - 5 1 / 1 2  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )  
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )