

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7357948号
(P7357948)

(45)発行日 令和5年10月10日(2023.10.10)

(24)登録日 令和5年9月29日(2023.9.29)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 38/17 (2006.01)

A 6 1 K 38/17

A 6 1 P 13/12 (2006.01)

A 6 1 P 13/12

Z N A

C 0 7 K 14/775 (2006.01)

C 0 7 K 14/775

請求項の数 4 (全25頁)

(21)出願番号	特願2021-501309(P2021-501309)	(73)特許権者	515354830
(86)(22)出願日	令和1年7月12日(2019.7.12)		ユニヴァーシティ オブ マイアミ
(65)公表番号	特表2021-531271(P2021-531271 A)		University of Miami
(43)公表日	令和3年11月18日(2021.11.18)		アメリカ合衆国 フロリダ州 3 3 1 3 6
(86)国際出願番号	PCT/US2019/041730		マイアミ エヌダブリュー セヴンス ア
(87)国際公開番号	WO2020/014690	(74)代理人	ヴェニュー 1 9 5 1 スイート 1 1 0
(87)国際公開日	令和2年1月16日(2020.1.16)		100080791
審査請求日	令和4年4月15日(2022.4.15)	(74)代理人	弁理士 高島 一
(31)優先権主張番号	62/697,556	(74)代理人	100136629
(32)優先日	平成30年7月13日(2018.7.13)	(74)代理人	弁理士 鎌田 光宜
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100125070
		(74)代理人	弁理士 土井 京子
		(74)代理人	100121212
		(74)代理人	弁理士 田村 弥栄子
		(74)代理人	100174296

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 腎臓障害を治療するための方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒトアポリポタンパク質Mを含む、C o l 4 a 3、C o l 4 a 4およびC o l 4 a 5から選ばれる1以上の遺伝子に変異を有している対象の腎臓疾患の治療または予防剤。

【請求項 2】

ヒトアポリポタンパク質Mを含む、アルポート症候群に罹患している対象の腎臓疾患の治療または予防剤。

【請求項 3】

アルブミン尿症またはタンパク尿症に罹患している対象の腎臓疾患の治療用である、請求項 1 に記載の剤。

【請求項 4】

腎臓疾患の予防用である、請求項 1 に記載の剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、アルポート症候群に罹患している対象の慢性腎臓病および腎臓疾患を治療するための材料、および方法に関する。

【0002】

関連出願、および電子的に提出された資料の参照による組み込みへの相互参照

本出願は、2018年7月13日に提出された米国仮特許出願第62／697，556

号の利益を主張し、その全内容は参照により本明細書に完全に組み込まれる。

【0003】

本開示の一部である配列表は、明細書と同時にテキストファイルとして提出される。配列表を含むテキストファイルの名称は、「53188__SeqListing.txt」である。配列表は2019年7月2日に作成され、サイズは4,142バイトである。配列表の主題は、参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0004】

アルポート症候群は、3つのIV型コラーゲン遺伝子である、COL4A3、COL4A4、およびCOL4A5の変異によって引き起こされる遺伝性疾患である。この病気は、進行性腎不全、高血圧、タンパク尿、心血管疾患のリスクの大幅な増加、聴覚と視力の喪失を特徴としている。アルポート症候群の現在の治療法は、症状の緩和を目的としており、アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害薬またはアンジオテンシン受容体拮抗薬（ARB）が含まれる。このような治療は、腎臓機能の喪失を遅らせるか、または血圧を管理するだけであり、疾患の他の影響を治療または予防するものではない。

【0005】

アルポート症候群および他のCOL4関連疾患に関連する腎機能障害の治療オプション、ならびに一般的な慢性腎臓病の治療オプションの必要性が残っている。

【発明の概要】

【0006】

一態様において、本明細書に記載されているのは、対象の慢性腎臓病を治療または予防する方法である。本方法は、対象の慢性腎臓病を治療するのに有効な量でヒトアポリポタンパク質M（rhAPOM）を対象に投与することを含む。

【0007】

別の態様において、本明細書に記載されているのは、アルポート症候群に罹患している対象の腎疾患を治療または予防する方法である。本方法は、対象の腎疾患を治療するのに有効な量で組換えヒトアポリポタンパク質Mを対象に投与することを含む。

【0008】

さらに別の態様において、本明細書に記載されるのは、慢性腎臓病またはアルポート症候群に関連する腎疾患の治療または予防において使用するためのヒトアポリポタンパク質Mであり、ヒトアポリポタンパク質Mは、慢性腎臓病もしくは腎疾患を治療または予防するのに有効な量および投与計画で投与される。

【0009】

本明細書で別段の定義がない限り、本願に関連して使用される科学のおよび技術的用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するものとする。さらに、文脈上別段の必要がない限り、単数形には複数形が含まれ、複数形には単数形が含まれるものとする。用語「含むこと（comprising）」、「有する」、「含むこと（including）」および「含有する」は、別途注記のない限り、開放型用語として解釈されるべきである。本発明の態様が特徴を「含むこと」として記載される場合、実施形態も特徴「からなる」または「から本質的になる」と企図される。特に要求されない限り、本明細書中に提供される任意のおよびあらゆる例、または例示的な言葉（例えば「など」）の使用は、本開示をより上手く説明することを意図したものにはすぎず、本開示の範囲に限定をもたらすものではない。本明細書における言語は、本開示の実施に不可欠な任意の非請求要素を示すと解釈されるべきではない。動作例を除いて、または他に示されない場合、本明細書で使用される成分または反応条件の量を表すすべての数字は、「約」という用語は関連する分野の当業者によって解釈されるため、「約」という用語によってすべての場合に修飾されると理解されるべきである。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1A-1C】図1A～図1C：COL4a3ノックアウトマウスの糸球体におけるA

10

20

30

40

50

BCA1、ABCG1、およびAPOMの発現低下。野生型コントロール(WT)と比較した場合、Col4a3ノックアウトマウス(KO)から分離された糸球体におけるABCA1(A)、ABCG1(B)、およびAPOM(C)の発現低下を示す定量的リアルタイムPCRによるmRNA発現の棒グラフ解析。*** $p < 0.01$ 、**** $p < 0.001$ 。

【図2A-2H】図2A~図2H：組換えヒトAPOM(rh-APOM)によるCol4a3ノックアウトマウスの処置は、APOM、S1P、およびトリグリセリドの正常な血清レベル、ならびに腎皮質および血清中のS1P含有量を回復させる。(A)APOM発現の有意な低下を示す腎皮質におけるAPOM発現レベルの棒グラフ解析。T検定、* $p < 0.05$ (B、C)Col4a3ノックアウトマウスは、APOMの血清レベル(B)および尿(C)レベルの有意な増加を示すが、rh-APOMによるCol4a3ノックアウトマウスの処置はAPOMの正常な血清および尿レベルを回復させる。T検定(血清)、* $p < 0.05$ 、F検定尿：*** $p < 0.0001$ 。(D)rh-APOMによるCol4a3ノックアウトマウスの処置は、血清トリグリセリド含有量の生理学的血清レベルを回復させる。T検定、* $p < 0.05$ 。(E、F)rh-APOMによるCol4a3ノックアウトマウスの処置がS1Pの生理学的レベルを回復させることを示す腎皮質におけるS1P発現(E)およびS1P血清含有量(F)の棒グラフ解析。* $p < 0.05$ 。(G)尿APOMレベルがアルブミン/クレアチニン比と正の相関関係にあることを示す相関分析、 $R^2 = 0.8$ 、 $p < 0.01$ 。(H)腎臓APOMレベルが血清クレアチニンレベルと負の相関関係にあることを示す相関分析。 $R^2 = 0.8$ 、 $p < 0.05$ 。

【図3A-3F】図3A~図3F：組換えヒトAPOM(rh-APOM)によるCol4a3ノックアウトマウスの処置は腎不全から保護する。(A)Col4a3ノックアウトマウスのrh-APOM処置は、未処置のCol4a3ノックアウトマウスと比較して、アルブミン/クレアチニン比の有意な減少をもたらす。** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ 。(B)血清クレアチニンレベルは、コントロールと比較してCol4a3ノックアウトマウスで有意に増加する。rh-APOM処置は、Col4a3ノックアウトマウスの血清クレアチニンレベルを大幅に減少させる。** $p < 0.01$ 。(C)血清(血中尿素窒素)BUNレベルは、コントロールと比較してCol4a3ノックアウトマウスで有意に増加するが、rh-APOM処置は、Col4a3ノックアウトマウスの血清BUNレベルの増加を防ぐ。** $p < 0.01$ 。(D)Col4a3ノックアウトマウスでは、コントロールと比較して体重が大幅に減少する。rh-APOM処置は、Col4a3ノックアウトマウスの体重減少を防ぐ** $p < 0.01$ 。(E)rh-APOMによるCol4a3ノックアウトマウスの処置は、WT、WT+rhAPOM、および未処置のCol4a3ノックアウトマウスで観察される糸球体硬化症、尿細管萎縮、および拡張の発症から保護する。過ヨウ素酸-シッフ染色(PAS)染色された凍結腎臓切片の代表的な画像を示す。(F)Col4a3 KOマウスがWTマウスと比較して有意に増加したメサングウム拡大スコアを示し、rhAPOMによるCol4a3 KOマウスの処置がメサングウム拡大スコアを有意に減少させることを示す、メサングウム拡大スコアの棒グラフ解析。T検定、*** $p < 0.0001$ 。

【図4】ヒトAPOMアミノ酸配列。

【図5】ヒトAPOM核酸配列。

【図6A-6N】図6A~図6N：APOMは、ヒト有足細胞およびヒト腎臓生検で発現され、Col4a3 KOマウスにおけるAPOM欠損は、S1P蓄積およびCシグナル伝達の活性化に関連している。(A)APOMがヒト有足細胞およびヒト腎臓生検で発現されることを示すAPOM発現のPCR分析。P1、P2-ヒト有足細胞株；H-HepG2細胞(ポジティブコントロール)；K1、K2-ヒト腎臓生検サンプル。(B)WTマウスと比較してCol4a3 KOマウスにおけるAPOMタンパク質発現の低下を示すウエスタンブロット分析。(C)WTマウスと比較した場合、Col4a3 KOマウスにおけるSPHK1の発現の有意な増加を示す定量的リアルタイムPCR分析。*** $p < 0.001$ 、t検定。(D)WTマウスと比較した場合、Col4a3 KOの腎皮質

におけるS1Pレベルの有意な増加を示すELISA。 $p < 0.05$ 、t検定。(E~I) WTマウスと比較した場合、Col4a3 KOマウスの腎皮質におけるS1PR1 (E)、S1PR2 (F)、S1PR3 (G)、S1PR4 (H)、およびS1PR5 (I) の発現の有意な増加を示す腎皮質から単離されたmRNAの定量的リアルタイムPCR分析。 $*p < 0.05$ 、 $**p < 0.01$ t検定。(J~N) WTマウスと比較した場合に、Col4a3 KOマウスの糸球体におけるS1PR4 (M) の発現が有意に増加するが、S1PR1 (J)、S1PR2 (K)、S1PR3 (L)、およびS1PR5 (N) の発現は変化しないことを示す、糸球体から単離されたmRNAの定量的リアルタイムPCR分析。 $*p < 0.05$ 、t検定。

【図7A~7F】図7A~図7F：(A、B) レンチウイルス感染により、APOMノックダウンが安定したヒト有足細胞株が樹立された。定量的リアルタイムPCR (A) およびウエスタンブロット分析 (B) が実施され、スクランブル感染 (SC) 有足細胞と比較してsiAPOMでのAPOM mRNAおよびタンパク質発現の75%ノックダウンが示された。 $n = 1$ 。(C) SC有足細胞と比較した場合、siAPOM有足細胞におけるRhoA発現の低下を示すウエスタンブロット分析。(D) 定量的リアルタイムPCRによって確立されたSC有足細胞と比較して、siAPOMにおけるABCC1発現が有意に減少したことを示す棒グラフ解析。トリプリケート、 $n = 1$ 。(E) 異なるインテグリンサブユニットの発現は、定量的リアルタイムPCRを使用して決定された。SC有足細胞と比較して、siAPOMでITGB3の発現が増加していることを示す棒グラフ解析。トリプリケート、 $n = 1$ 。(F) S1P+APOMで処置された有足細胞と比較した場合、S1P+アルブミンで処置ではS1P依存的にアポトーシスが増加したことを示す棒グラフ解析。トリプリケート、 $n = 1$ 。

【図8A~8B】図8A~図8B：Col4a3ノックアウト (KO) マウスを組換えヒトAPOM (rh-APOM) で処置すると、確立された腎不全が改善される。(A) Col4a3ノックアウトマウスのrh-APOM処置は、未処置のCol4a3ノックアウトマウスと比較して、アルブミン/クレアチニン比および (B) 血漿クレアチニンレベルの有意な減少をもたらす。 $*p < 0.05$ 、 $***p < 0.001$ 。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本開示は、アルポート症候群に罹患している腎疾患の治療または予防を必要とする対象において腎疾患を治療または予防する方法、および慢性腎臓病の治療を必要とする対象において慢性腎臓病を治療する方法を提供する。本方法は、治療有効量のヒトアポリポタンパク質M (APOM) を対象に投与することを含む。本開示はさらに、アルポート症候群に関連する腎疾患、ならびに慢性腎臓病の治療または予防において使用するためのヒトアポリポタンパク質Mを提供する。

【0012】

「治療すること」および「治療」という用語は、治療される疾患または疾患の症状の改善を指す。したがって、「治療すること」および「治療」には、疾患の1つ以上の症状の完全な除去が含まれるが、これは必須ではない。当業者は、腎障害またはそれに関連する症状の任意の程度の緩和が、ヒト患者などの対象にとって有益であることを理解するであろう。患者の生活の質は、対象の症状の重症度を任意の程度軽減することによって改善される。「予防すること」または「予防」という用語は、障害を阻害すること、疾患の発症を遅らせること、または疾患の1つ以上の症状の出現を遅らせることを指す。「予防」は、発病の100%阻害を必要としないが、これは企図されている。

【0013】

アポリポタンパク質M

アポリポタンパク質M (APOM) は、アポリポタンパク質であり、リポカリンタンパク質ファミリーのメンバーである。リポカリンは、配列相同性の限られた領域および共通の三次構造を共有する。それらは、8本鎖の逆平行対称バレルフォールドを有し、これは、本質的に、リガンド結合部位を収容する円筒形に丸められたベータシートである。リポ

カリンは、免疫応答、フェロモン輸送、生物学的プロスタグランジン合成、レチノイド結合、および癌細胞相互作用など、多くの生物学的プロセスに関連する。APOMは高密度リポタンパク質と関連しており、低密度リポタンパク質およびトリグリセリドに富むリポタンパク質とはそれほど関連していない。APOMは脂質輸送に参与し、スフィンゴシン-1-リン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、レチノール、オールトランスレチノイン酸、および9-シスレチノイン酸に結合することができる。APOMは、例えば、Zhangら., *Acta Histochemica*, 2003; 105 (1) : 67-72、Axlerら., *FEBS Lett.* 2008 Mar 5; 582 (5) : 826-8にさらに記載されている。

【0014】

ヒトAPOMのアミノ酸配列は配列番号1として提供される。様々な態様において、ヒトAPOMは、配列番号1と少なくとも90%同一（例えば、少なくとも95%、少なくとも99%、または100%同一）のアミノ酸配列を含む。あるいは、APOMは、配列番号2の核酸配列によってコードされる。様々な態様において、全長APOMタンパク質は必要とされない。任意選択で、APOMは、タンパク質の半減期または別の薬物動態特性を改善する部分に融合される。例えば、一実施形態において、APOMは、IgG1抗体などの抗体のFc領域と融合される。実際、好ましい実施形態において、ヒトAPOMは、IgG1のFc領域に融合された配列番号1のアミノ酸配列のMet-1からAsn-188を含む。

【0015】

組換えAPOMは、当技術分野で知られている方法を使用して生成することができる。

【0016】

腎疾患

一態様において、本開示は、アルポート症候群に罹患している腎疾患の治療または予防を必要としている対象において、腎疾患を治療または予防する方法を提供する。したがって、特定の実施形態において、対象は、ヒト組換えアポリポタンパク質Mの投与前にアルポート症候群を有すると診断されている。アルポート症候群の診断は、対象の家族歴、臨床的特徴（タンパク尿、アルブミン尿、血尿、GFR障害、難聴および／または眼の変化を含むがこれらに限定されない）、および組織生検の結果を含むがこれらに限定されないパラメータの評価を通じて達成され得る。腎臓生検は、IV型コラーゲンアルファ-3、アルファ-4、およびアルファ-5鎖の有無について検査することができる。さらに、糸球体の構造変化は、腎臓生検材料の電子顕微鏡検査によって検出することができる。皮膚生検は、IV型コラーゲンアルファ-5鎖の存在について検査することができ、これは通常、皮膚に存在し、X連鎖型のアルポート症候群の男性対象にはほとんど常に存在しない。アルポート症候群の診断には、Col4a3、Col4a4、またはCol4a5遺伝子の1つ以上の変異のスクリーニングが含まれてもよい。

【0017】

本明細書で使用される「腎疾患」または「腎臓病」という用語は、腎臓の正常な生理学および機能の変化を意味する。この用語には、腎症；原発性糸球体腎症（巣状分節性糸球体硬化症）、微小変化群、膜性GN、IgA腎症；糸球体腎炎；多発性嚢胞腎；急性および慢性間質性腎炎、メソアメリカ腎症、腎肥大（片方または両方の腎臓の極端な肥大）；ネフローゼ症候群；腎炎症候群、末期腎疾患（ESRD）；急性および慢性腎不全；間質性疾患；腎炎；硬化症、例えば、疾患または傷害による炎症を含む原因に起因する組織および／または血管の硬結または硬化；腎線維症および瘢痕化；腎関連の増殖性障害；および他の一次または二次腎原性の状態が含まれるが、これらに限定されない。

【0018】

本明細書で使用される「慢性腎臓病（CKD）」という用語は、健康に影響を与える、3ヶ月以上存在する腎臓の構造または機能の異常として定義される。CKDは、全米腎臓財団に従って5つのステージを含む分類に分類されている。ステージ1は90以上の正常なeGFR（mL／分／1.73m²）を伴う腎臓損傷であり、ステージ2はGFRの軽

10

20

30

40

50

度の低下を伴う腎臓損傷であり（ $GFR 60 \sim 89 mL / 分 / 1.73 m^2$ ）、ステージ3は GFR の中程度の低下であり（ $GFR 30 \sim 59 mL / 分 / 1.73 m^2$ ）、ステージ4は GFR の深刻な低下であり（ $GFR 15 \sim 29 mL / 分 / 1.73 m^2$ ）、ステージ5は腎不全である（ $GFR < 15 mL / 分 / 1.73 m^2$ または透析）。ステージ3は、 GFR の軽度～中程度の低下であるステージ3A（ $GFR 45 \sim 59$ ）と、 GFR の軽度～重度の低下であるステージ3B（ $GFR 30 \sim 44$ ）に細分化されている。

【0019】

腎疾患または腎臓病はまた、一般的に「腎症」または「腎症（複数）」として定義される。「腎症」または「腎症（複数）」という用語は、腎線維症および／または糸球体疾患（例えば、糸球体硬化症または糸球体腎炎）および／または慢性腎不全を引き起こし、末期腎疾患および／または腎不全を引き起こす可能性がある、腎臓のすべての臨床病理学的変化を包含する。本開示のいくつかの態様は、高血圧性腎症、糖尿病性腎症、および鎮痛薬性腎症、免疫介在性糸球体症（例えば、IgA腎症またはバーガー病、ループス腎炎）、虚血性腎症、HIV関連腎症、膜性腎症、糸球体腎炎、糸球体硬化症、放射性造影剤誘発性腎症、毒性腎症、鎮痛薬誘発性腎毒性、シスプラチン腎症、移植腎症などの他のタイプの腎症、ならびに他の形態の糸球体異常もしくは傷害、あるいは糸球体毛細血管傷害（尿細管線維症）の予防および／または治療に関する。いくつかの実施形態において、「腎症」または「腎症（複数）」という用語は、特に、対象の尿中にタンパク質（すなわち、タンパク尿）が存在するか、および／または腎不全が存在するかのいずれかの障害または疾患を指す。

【0020】

いくつかの実施形態において、対象は、アルブミン尿症またはタンパク尿症に罹患している。アルブミン尿症に関連する例示的な障害には、慢性腎臓病、増殖性糸球体腎炎（例えば、免疫グロブリンA腎症、膜増殖性糸球体腎炎、メサングウム増殖性糸球体腎炎、抗GBM疾患、腎血管炎、ループス腎炎、クリオグロブリン血症関連糸球体腎炎、細菌性心内膜炎、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、感染後糸球体腎炎、またはC型肝炎）、および非増殖性糸球体腎炎（例えば、膜性糸球体腎炎、微小変化群、原発巣状分節性糸球体腎炎（FSGS）、細線維性糸球体腎炎（fibrillary glomerulonephritis）、免疫タクトイド糸球体症、アミロイドーシス、高血圧性腎硬化症、多発性骨髄腫および続発性巣状糸球体腎炎による軽鎖病）が含まれるが、これらに限定されない。

【0021】

本明細書で提供される実施形態のいずれかにおいて、対象は、腎臓機能を評価するために特定の試験を受けることができる。このような検査には、対象の血中尿素窒素の測定、対象の血中のクレアチニンを測定すること、対象の血液中のクレアチニンクリアランスを測定すること、対象のタンパク尿を測定すること、対象のアルブミン：クレアチニン比を測定すること、対象の糸球体濾過率を測定すること、および対象の尿量を測定することが含まれるが、これらに限定されない。様々な態様において、本開示の方法は、本明細書に記載の腎障害に罹患している対象におけるこれらの試験のうちの1つ以上の結果を改善する。

【0022】

本明細書で提供される実施形態のいずれかにおいて、尿または血液中に存在するタンパク質を使用して、腎臓機能を評価することができる。腎臓機能のそのような試験には、対象の尿中の、アルブミン／クレアチニン尿比、総タンパク質／クレアチニン尿比、時間を測った採尿中のアルブミンまたは総タンパク質、N-アセチル-β-D-グルコサミニダーゼ（NAG）タンパク質を測定すること、対象の尿中の好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン（NGAL）タンパク質を測定すること、対象の尿中の腎臓傷害分子-1（KIM-1）タンパク質を測定すること、対象の尿中のインターロイキン-18（IL-18）タンパク質を測定すること、対象の尿中の結合組織成長因子（CTGF）レベルを測定すること、対象の尿中の単球走化性タンパク質1（MCP1）レベルを測定すること、対象の

尿中のコラーゲンⅣ（C o l Ⅳ）フラグメントを測定すること、対象の尿中のコラーゲンⅢ（C o l Ⅲ）フラグメントレベルを測定すること、対象の血液中のシスタチンCタンパク質を測定すること、対象の血液中のβ-微量タンパク質（B T P）を測定すること、および対象の血液中の2-ミクログロブリン（B 2 M）を測定することが含まれるが、これらに限定されない。本明細書で提供される実施形態のいずれかにおいて、有足細胞傷害のマーカーは、尿にて測定することができる。このようなタンパク質には、ネフリンおよびポドシンが含まれる。タンパク質は、例えば、酵素結合免疫吸着測定法（E L I S A）、または市販のキットを使用するラジオイムノアッセイ（R I A）によって定量することができる。

【0023】

投与のタイミングおよび投与量

いくつかの実施形態において、ヒトアポリポタンパク質Mの1回以上の投与は、例えば、約1週間～約18ヶ月（例えば、約1ヶ月～約12ヶ月、約1ヶ月～約9ヶ月、または約1ヶ月～約6ヶ月、または約1ヶ月～約3ヶ月）の治療期間にわたって行われる。いくつかの実施形態において、対象は、本明細書に記載のヒトアポリポタンパク質Mの1回以上の用量を、例えば、約1ヶ月～約12ヶ月（52週）（例えば、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月、約7ヶ月、約8ヶ月、約9ヶ月、約10ヶ月、または約11ヶ月）の治療期間にわたって投与される。

【0024】

さらに、特定のヒト対象のために選択された治療計画に応じて、ヒトアポリポタンパク質Mを複数回投与するか、または時間内において投与量を分けることが有利である可能性がある。いくつかの実施形態において、ヒトアポリポタンパク質Mは、1年（12ヶ月、52週間）以内（例えば、9ヶ月以内、6ヶ月以内、または3ヶ月以内）の期間にわたって定期的に投与される。これに関して、ヒトアポリポタンパク質Mは、任意選択で、約3日、または約7日、または約2週間、または約3週間、または約4週間、または約5週間、または約6週間、または約7週間、または約8週間、または約9週間、または約10週間、または約11週間、または約12週間、または約13週間、または約14週間、または約15週間、または約16週間、または約17週間、または約18週間、または約19週間、または約20週間、または約21週間、または約22週間、または約23週間、または約6ヶ月、または約12ヶ月ごとに1回投与される。

【0025】

いくつかの実施形態において、ヒトアポリポタンパク質Mの用量は、体重1キログラムあたり約1～約500ミリグラム（例えば、約1～約400ミリグラム、または約3～約300ミリグラム）（mg/kg）のヒトアポリポタンパク質Mを含む。例えば、ヒトアポリポタンパク質Mの用量は、少なくとも約1mg/kg、約2mg/kg、約3mg/kg、約4mg/kg、約5mg/kg、約6mg/kg、約7mg/kg、約8mg/kg、約9mg/kg、約10mg/kg、約20mg/kg、約25mg/kg、約26mg/kg、約27mg/kg、約28mg/kg、約29mg/kg、約30mg/kg、約31mg/kg、約32mg/kg、約33mg/kg、約34mg/kg、約35mg/kg、約36mg/kg、約37mg/kg、約38mg/kg、約39mg/kg、約40mg/kg、約41mg/kg、約42mg/kg、約43mg/kg、約44mg/kg、約45mg/kg、約46mg/kg、約47mg/kg、約48mg/kg、または約49mg/kg、または約50mg/kg、約55mg/kg、約60mg/kg、約65mg/kg、約70mg/kg、約75mg/kg、約80mg/kg、約85mg/kg、約90mg/kg、約95mg/kg、約100mg/kg、約125mg/kg、約150mg/kg、約175mg/kg、約200mg/kg、約225mg/kg、約250mg/kg、約275mg/kg、約300mg/kg、約325mg/kg、約350mg/kg、約375mg/kg、約400mg/kg、約450mg/kg、または約500mg/kgのヒトアポリポタンパク質Mを含んでよい。これらの終点のいずれかおよびすべての間の範囲、例えば、約1mg/kg～約10

10

20

30

40

50

0 mg/kg、約 3 mg/kg～約 300 mg/kg、約 3 mg/kg～約 100 mg/kg、約 5 mg/kg～約 50 mg/kg、約 3 mg/kg～約 75 mg/kg、約 1 mg/kg～約 50 mg/kg、約 100 mg/kg～300 mg/kg、約 50 mg/kg～約 200 mg/kg、または約 200 mg/kg～約 300 mg/kg も検討される。
【0026】

医薬組成物

いくつかの実施形態において、ヒトアポリポタンパク質 M は、薬学的に有効な希釈剤、担体、可溶化剤、乳化剤、防腐剤、および／またはアジュバントと共に組成物として製剤化される。医薬組成物には、液体、冷凍、および凍結乾燥組成物が含まれるが、これらに限定されない。

【0027】

好ましくは、製剤材料は、使用される投薬量および濃度でレシピエントに対して無毒である。特定の実施形態において、治療有効量のヒトアポリポタンパク質 M を含む医薬組成物が提供される。

【0028】

いくつかの実施形態において、医薬組成物は、例えば、組成物の、pH、浸透圧、粘度、透明度、色、等張性、臭い、無菌性、安定性、溶解もしくは放出の速度、吸着もしくは浸透を改変、維持または保存するための製剤材料を含む。そのような実施形態において、好適な製剤材料としては、アミノ酸（グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、プロリン、もしくはリシンなど）；抗菌剤；酸化防止剤（例えば、アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウム、もしくは亜硫酸水素ナトリウムなど）；緩衝剤（ホウ酸塩、炭酸水素塩、トリス-HCl、クエン酸塩、リン酸塩、もしくは他の有機酸など）；増量剤（マンニトールもしくはグリシンなど）；キレート剤（エチレンジアミン四酢酸（EDTA）など）；錯化剤（カフェイン、ポリビニルピロリドン、β-シクロデキストリン、もしくはヒドロキシプロピルβ-シクロデキストリンなど）；充填剤；単糖；二糖；および他の炭水化物（グルコース、マンノース、もしくはデキストリンなど）；タンパク質（血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリンなど）；着色剤、香味剤、および希釈剤；乳化剤；親水性ポリマー（ポリビニルピロリドンなど）；低分子量ポリペプチド；塩形成対イオン（ナトリウムなど）；防腐剤（塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサル、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸、もしくは過酸化水素など）；溶媒（グリセリン、プロピレングリコール、もしくはポリエチレングリコールなど）；糖アルコール（マンニトールもしくはソルビトールなど）；懸濁剤；界面活性剤または湿潤剤（プルロニック、PEG、ソルビタンエステル、ポリソルベート、例えば、ポリソルベート 20、ポリソルベートなど、トリトン、トロメタミン、レシチン、コレステロール、チロキサパルなど）；安定性向上剤（ショ糖もしくはソルビトールなど）；張度増強剤（アルカリ金属ハロゲン化物、好ましくは、塩化ナトリウムもしくは塩化カリウム、マンニトール、ソルビトールなど）；送達ビヒクル；希釈剤；賦形剤、および／または薬学的アジュバントが挙げられるが、これらに限定されない。REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES、第 18 版（A. R. Genrmo 編）、1990、Mack Publishing Company を参照されたい。

【0029】

併用療法

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の方法は、腎症などの腎障害、または関連する障害もしくは合併症を予防または治療するための別の薬剤を投与することを含む。このような既知の化合物の例には、ACE 阻害薬（例えば、カプトプリル（カボテン（登録商標））、エナラプリル（イノバース（登録商標））、フォシノプリル（スタリル（登録商標））、リシノプリル（ゼストリル（登録商標））、ペリンドプリル（カバーシル（登録商標））、キナプリル（アキュプロ（登録商標））、トランダナロプリル（ゴブテン（登録商標））、ロテンシン、モエキシプリル、ラミプリル）；RAS 遮断薬；アンジオ

10

20

30

40

50

テンシン受容体遮断薬（ARB）（例えば、オルメサルタン、イルベサルタン、ロサルタン、バルサルタン、カンデサルタン、エプロサルタン、テルミサルタンなど）；プロテインキナーゼC（PKC）阻害剤（例えば、ルボキシスタウリン）；AGE依存性経路の阻害剤（例えば、アミノグアニジン、ALT-946、ピリドキサミン（ピロドリン）、OPB-9295、アラゲプリウム）；抗炎症剤（例えば、クリクロオキシゲナーゼ（cyclooxygenase）-2阻害剤、ミコフェノール酸モフェチル、ミゾリビン、ペントキシフィリン）、GAG（例えば、スロデキシド（米国特許第5,496,807号））；ピリドキサミン（米国特許第7,030,146号）；エンドセリン拮抗薬（例えば、SP301）、COX-2阻害薬、PPAR- γ 拮抗薬、およびアミホスチン（シスプラチン腎症に使用）、カプトプリル（糖尿病性腎症に使用）、シクロホスファミド（特発性膜性腎症に使用）、チオ硫酸ナトリウム（シスプラチン腎症に使用）、トラニラストなど（Williams and Tuttle（2005）, Advances in Chronic Kidney Disease, 12（2）：212-222、Giunti et al.（2006）, Minerva Medica, 97：241-62）のような他の化合物が含まれるが、これらに限定されない。

【0030】

さらに、本明細書に記載の方法はまた、脂質異常症、高血圧、肥満、神経障害、炎症および／または網膜症を含むがこれらに限定されない、腎障害の合併症に直接的または間接的に関連する別の疾患の治療のための少なくとも1つの他の治療薬の同時投与を含んでよい。そのような追加の治療薬には、コルチコステロイド、免疫抑制薬；抗生物質；降圧薬および利尿薬（チアジド系利尿薬およびACE阻害薬または β アドレナリン作動薬拮抗薬など）；胆汁封鎖樹脂、コレステラミン、コレステポール、ニコチン酸などの脂質低下剤、より具体的には、コレステロールおよびトリグリセリドを低減するために使用される薬物および薬剤（例えば、フィブレート（例えば、ゲムフィブロジル（登録商標））、およびロバスタチン（登録商標）、アトルバスタチン（登録商標）、フルバスタチン（登録商標）、レスコル（登録商標）、リピトール（登録商標）、メバコール（登録商標）、プラバコール（登録商標）、プラバスタチン（登録商標）、シンバスタチン（登録商標）、ゾコール（登録商標）、セリバスタチン（登録商標）などのHMG-CoA阻害剤）；ニコチン酸；およびビタミンDが含まれるが、これらに限定されない。

【0031】

ヒトアポリポタンパク質Mと同時投与できる薬剤の追加の例には、免疫調節剤または免疫抑制剤（腎臓移植を受けた対象（例えば、腎症を発症した場合）によって使用されるものなど）、抗肥満剤、および食欲抑制剤（ゼニカル（商標）（Roche）、メリディア（商標）（Abbott）、アコンプリア（商標）（Sanofi-Aventis）、および交感神経刺激薬フェンテルミンを含むがこれらに限定されない）、高カリウム血症を治療するためにおよび／または高カリウム血症によって引き起こされる心室細動のリスクを低減するために使用される薬剤（例えば、グルコン酸カルシウム、インスリン、重炭酸ナトリウム、サルブタモール（アルブテロール、ベントリン（登録商標））などの β_2 -選択的カテコールアミン）、およびポリスチレンスルホン酸（カルシウム・レゾニウム、ケイキサレート））ならびにパチロマー（バルタッサ（登録商標））を含む。

【0032】

本明細書で使用される場合、「併用療法的治療」または「と併用して」という句における「併用」または「併用して」という用語は、第2の薬剤の存在下で第1の薬剤を投与することを含む。併用療法的治療法は、第1、第2、第3または追加の薬剤が同時投与される方法を含む。併用療法的治療法はまた、第1または追加の薬剤が第2または追加の薬剤の存在下で投与される方法を含み、第2または追加の薬剤は、例えば、以前に投与されていてもよい。併用療法的治療法は、異なる当事者によって段階的に実行され得る。例えば、1人の当事者が第1薬剤を対象に投与し、第2の当事者が対象に第2の薬剤を投与することができ、投与ステップが同時に、またはほぼ同時に、あるいは第1の薬剤（および／または追加の薬剤）が投与後において第2の薬剤（および／または追加の薬剤）の存在下

にある限り、離れた時間に実行されてもよい。当事者と対象は同じ実体（例えば、ヒト）でよい。好ましくは、第1の薬剤は、ヒト組換えアポリポタンパク質M、またはヒト組換えアポリポタンパク質Mを含有する組成物である。第2の薬剤は、本明細書に記載の他の治療薬から選択され得る。

【実施例】

【0033】

この実施例は、アルポート症候群の臨床的に関連するインビボモデルへのAPOMの投与が、腎不全および腎皮質の脂質含有量の異常を防ぐことを示す。

【0034】

材料および方法

ヒト組換えAPOMタンパク質の構築および使用：タンパク質はSino Biological (13495-H02H) から購入した。ヒトAPOMタンパク質 (095445) (Met 1-Asn 188) をコードするDNA配列を、C末端でヒトIgG1のFc領域と融合させた。得られたヒト組換えAPOMタンパク質は、SDS-PAGEで測定される純度が85%を超え、LAL法で測定されるタンパク質1μgあたりのエンドトキシン濃度が1.0 EU未満であることが見出された。

【0035】

製剤：タンパク質を滅菌PBS、pH7.4から凍結乾燥し、通常5%~8%のトレハロース、マンニトール、0.01%のTween 80を保護剤として凍結乾燥前に添加した。各COAのハードコピーには特定の濃度が含まれていた。注射用に、滅菌水をバイアルに加えて、0.25 mg/mlのストック溶液を調製した。

【0036】

ヒトAPOMタンパク質配列：095445 (1-188) : MFHQIWAALL YFYGIILNSI YQCPEHSQLT TLGVDGKEFP EVHLGQWY FI AGAAPTKEEL ATFDPVDNIV FNMAAGSAPM QLHLR ATIRM KDGLCVPRKW IYHLTEGSTD LRTEGRPDMK TELFSSSSCPG GIMLNETGQG YQRFLLYNRS PHPPEKCVEE FKSLTSC LDS KAFLLTTPRNQ EACELSN (配列番号1)。

【0037】

APOMの酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) : マウス-APOM ELISAはLSBio (#LS-F21415) から購入し、血清、尿、溶解物中のAPOMタンパク質濃度を製造者のプロトコルに従って測定した。

【0038】

S1Pアッセイキット : S1PアッセイキットはEchelon (#K-1900) から購入し、血清中のS1P濃度を製造者のプロトコルに従って測定した。

【0039】

定量的リアルタイムPCR : qPCRは、先行技術から知られている標準的なプロトコルに従って、Abca1、Abcg1、およびAPOMのプライマーを使用し、単離されたマウス系球体由来のcDNAに対して実施した。使用したプライマー : Abca1-F : CGTTTCCGGGAAGTGTCCTA / Abca1-R : GCTAGAGATGACAAGGAGGATGGA ; Abcg1-F : AGGTCTCAGCCTTCTAAAGTTCCTC / Abcg1-R : TCTCTCGAAGTGAATGAAATTTATCG ; Apom-F : CCTGGGCGCTGTG GTACTTTA、Apom-R : CCATGTTTCCCTTCCCTTCA (配列番号4~9)。

【0040】

腎疾患予防のためのマウスモデル (例えば、図3) : IV型コラーゲンのα3鎖のエクソン5が削除されたマウス (Col4a3 KO) は、Jackson Laboratory (#002908、129-Col4a3tm1Dec/J) から入手した。Col4a3ヘテロ接合同腹仔を繁殖させてCol4a3 KOマウスを生成した。1グループあたりn=3~4のマウスの3つのグループについて研究した。3つのグループは、1)

10

20

30

40

50

野生型コントロール+ビヒクル、2) Col4a3 KO+ビヒクル、および4) Col4a3 KO+APOMで構成されていた。APOMは、4週齢から毎週腹腔内注射により100 μ gのAPOM、5週目に100 μ g、6週目に75 μ g、7週目に67 μ gを投与した。体重およびアルブミン尿は、4週齢～16週齢まで毎週モニターした。末期腎不全への進行が起こった8週齢でマウスを安楽死させた。

【0041】

腎疾患の治療のためのマウスモデル (図8) : 1グループあたり $n = 3 \sim 4$ の Col4a3 KOマウスの3つのグループについて研究した。3つのグループは、1) 野生型コントロール (WT) +ビヒクル、2) Col4a3 KO+ビヒクル、4) Col4a3 KO+rh-APOMで構成されていた。rhAPOMは、週齢6と1/2から、週に100mgのAPOMを腹腔内注射することによって投与された。体重およびアルブミン尿は、4週齢～8週齢まで毎週モニターした。末期腎不全への進行が起こった8週齢でマウスを安楽死させた。

【0042】

アルブミン/クレアチニン比: すべてのアルブミン尿値は、 μ gアルブミン/mgクレアチニンとして表される。アルブミン/クレアチニンは、アルブミン検出のためのELISA (Bethyl Laboratories)、およびクレアチニン検出のためのJaffe法 (Stanbio) に基づく生化学的アッセイにより、以前に述べた通り測定された。

【0043】

血清学: 安楽死させる直前に、マイアミ大学の比較実験室コア施設におけるBUN測定および脂質パネル分析のために血液サンプルを収集した。血清クレアチニンは、タンデム質量分析 (UAB-UCSD O'Brien Core Center、アラバマ大学) によって測定された。

【0044】

マウス安楽死手術: 8週齢でマウスを左心室からリン酸緩衝生理食塩水で灌流した。右腎臓を摘出し、片方の極を切除してOCTに埋め込み、残りの腎臓をコレステロール含有量の測定および皮質からのmRNA抽出のために使用した。左腎臓の2つの極を切除して4% PFAで固定し、一方の極をパラフィン包埋後組織学的分析に使用し、もう一方の極を電子顕微鏡用に、4%グルタルアルデヒドのPBS溶液で12時間、後固定した。

【0045】

メサングウム拡大の評価: 4 μ m厚の組織切片の過ヨウ素酸シッフ (PAS) 染色を、標準的なプロトコルを使用して実施した。盲検化された2人の独立した研究者により実施された半定量分析 (スケール0~4) により、1切片あたり20個の糸球体についてメサングウム拡大を分析した。

【0046】

統計解析: すべてのインビトロ実験はトリプリケートにて実施され、3個の生物学的複製が実施され、すべてのインビボ実験では、1グループあたり3~10匹のマウスが分析された。統計解析は、Graph Pad Prismソフトウェアを使用して行われた。分散分析 (ANOVA) に続いて、ボンフェローニの事後検定またはスチューデントのt検定を使用して結果を解析した。

【0047】

結果および考察

驚くべきことに、脂質誘発性腎臓傷害がアルポート症候群に関連して観察された。アルポート症候群 (AS) における脂質誘発性腎臓傷害のこの役割は予想外であり、以前は認識されていなかった。Col4a3ノックアウトマウス (アルポート症候群の動物モデル) から単離された糸球体のmRNA (メッセンジャーリボ核酸) レベルを調べると、ABCA1に加えて、ABCG1 (ATP結合カセットサブファミリーGメンバー1) およびアポリポタンパク質M (APOM) の発現は、コントロールと比較してASマウスでも減少したことが見出され、このことは、ASの進行において3つのタンパク質すべてが果た

し得る役割を示唆している。相乗的に機能する2つのATP結合カセットトランスポータータンパク質であるABCA1とABCG1とは対照的に、APOMは主にHDL粒子に存在するタンパク質であり、高密度リポタンパク質（HDL）代謝において重要な役割を果たすと考えられる。

【0048】

図1に示すデータは、Col4a3ノックアウトマウスにおけるABCA1、ABCG1、およびAPOMの発現レベルの低下を示す。動物モデルにおける異常な発現レベルと腎臓傷害との間のこの相関関係は、アルポート症候群の進行におけるABCA1、ABCG1、およびAPOMの役割を示唆する。図2のデータは、臨床的に関連のあるインビボモデルであるCol4a3ノックアウトマウスで観察された腎疾患の進行におけるAPOM発現の低下の役割をさらに裏付ける。Col4a3ノックアウトマウスは、APOM発現レベルの低下（A）、血清中のAPOMタンパク質レベルの低下（B）および尿中のAPOMタンパク質レベルの低下（C）、血清中のトリグリセリドレベルの上昇（D）、および腎皮質および血清中のスフィンゴシン-1-リン酸（S1P）レベルの上昇という複合表現型を示す。さらに、尿および腎臓のAPOM発現は、Col4a3 KO（KO）マウスの腎機能のパラメータと相関することが見出された（図2Gおよび2H）。これらのデータは、APOMが血清中のトリグリセリドレベルならびに腎皮質および血清中のS1Pレベルを調節するために必要であることを示唆する。ヒトAPOMによるCol4a3ノックアウトマウスの処置後に続く血清中のS1Pとトリグリセリドおよび腎皮質のS1Pの正常レベルの回復は、アルポート症候群と臨床的に関連するこの動物モデルに存在する1つ以上の症状を治療するのにも、APOMが十分であることを示している。

【0049】

図3に示すデータは、組換えヒトAPOMによる処置による正常なAPOMレベルの回復が、Col4a3ノックアウトマウスの腎臓組織の機能と構造にプラスの影響を与えたことを示している。パネル（A）～（C）は、ヒトAPOMで処置したCol4a3ノックアウトマウスで、アルブミンのクレアチニンに対する比および血中尿素窒素（BUN）レベルに関する腎臓機能が大幅に改善されたことを示している。体重減少は、ヒトAPOMで処置したCol4a3ノックアウトマウスでも予防でき、一般的に健康な代謝状態を示している（パネル（D）を参照）。パネル（E）の染色組織スライスの比較が示すように、ヒトAPOMによる処置は、Col4a3ノックアウトマウスのアルポート症候群における腎臓傷害に関連するいくつかの組織学的異常も予防した。特に、ヒトAPOMで処置されたCol4a3ノックアウトマウスは、未処置の同腹仔と比較して、糸球体硬化症、尿細管萎縮、および拡張とメサンギウム拡大のレベルの低下を示した。これらのデータは、ヒトAPOMによる処置が、Col4a3ノックアウトマウスの腎臓における機能のおよび構造的異常の発症を防ぎ、それによって処置された動物を腎不全から保護できることを示している。

【0050】

図6A～6Nに示すデータは、APOMがヒト有足細胞およびヒト腎臓生検で発現し、Col4a3 KOマウスのAPOM欠損がS1P蓄積およびCシグナル伝達の活性化に関連することを示す。

【0051】

図7に示すデータは、レンチウイルス感染によって確立された安定したAPOMノックダウン（siAPOM）を伴うヒト有足細胞株を示し（図7A～7B）、スクランブルコントロールに対しsiAPOM有足細胞におけるRhoAタンパク質発現（図7C）およびABCC1 mRNA発現（7D）の低下を示している。さらに、siAPOMにおいて、スクランブルコントロールに対しITGB3の発現の増加が検出された（図7E）。細胞内脂質をナイルレッド、およびセルマスキ、およびファロイジンで標識して細胞を可視化した後、OPERAハイコンテンツスクリーニングシステムを使用して、代表的な画像を取得した。脂肪滴の増加は、S1P+アルブミンで処置された有足細胞で用量依存的に検出されたが、S1P+APOMで処置された有足細胞では同様の増加は検出されな

った（データは示していない）。S 1 P + A P O Mで処置した有足細胞と比較した場合、S 1 P + アルブミンで処置した場合には、アポトーシスの増加がS 1 P 依存的に検出された（図 7 F）。

【 0 0 5 2 】

図 8 に示すデータは、週齢 6 と 1 / 2 の C o l 4 a 3 ノックアウト（K O）マウスを組換えヒト A P O M（r h - A P O M）で処置すると、確立された腎不全が改善したことを示している。この場合、マウスは腎疾患（タンパク尿）の臨床的兆候を示しており、r h - A P O Mで処置されている。C o l 4 a 3 ノックアウトマウス（K O）の r h - A P O M処置は、未処置の C o l 4 a 3 ノックアウトマウス（図 8 B）と比較して、アルブミン / クレアチニン比（図 8 A）および血漿クレアチニンレベルの有意な減少をもたらした。

10

【 0 0 5 3 】

本明細書に記載のデータは、アルポート症候群のインビボモデル（C o l 4 a 3 マウス）への A P O Mの投与が、腎不全および腎皮質の脂質含有量の異常を防ぐことを示している。処置された動物はまた、より健康的な体重およびより良好な腎臓機能を有していた。本実施例は、アルポート症候群の根底にあるメカニズムにおける A P O Mの役割を示しており、腎臓疾患の治療または予防における A P O Mの治療的使用の証拠を提供する。

20

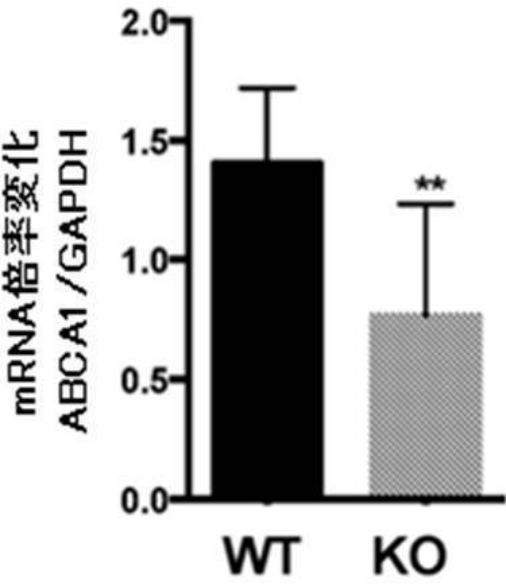
30

40

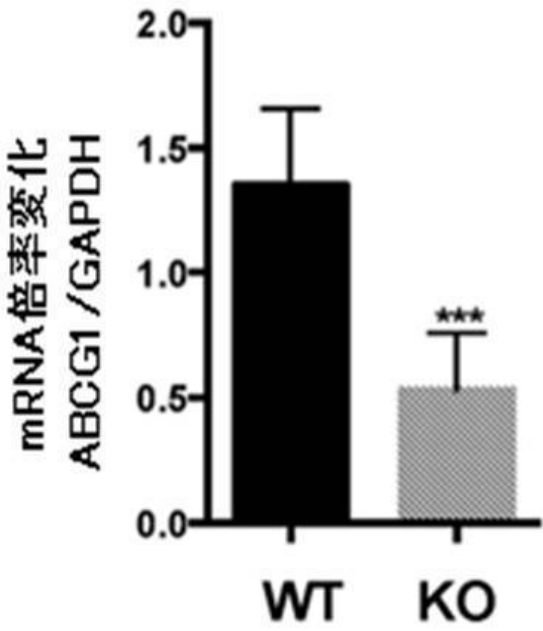
50

【図面】

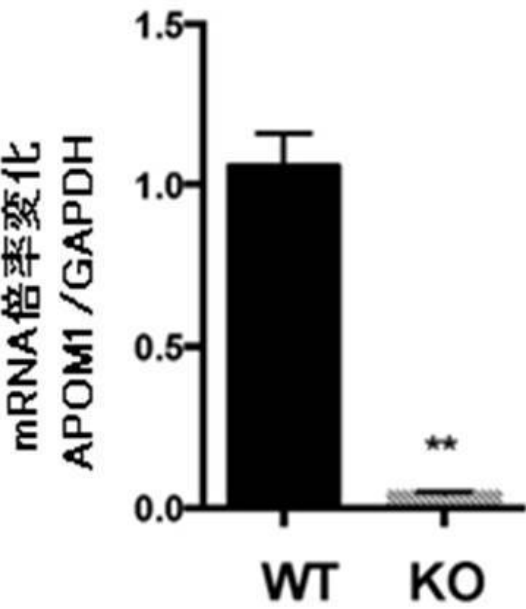
【図 1 A】



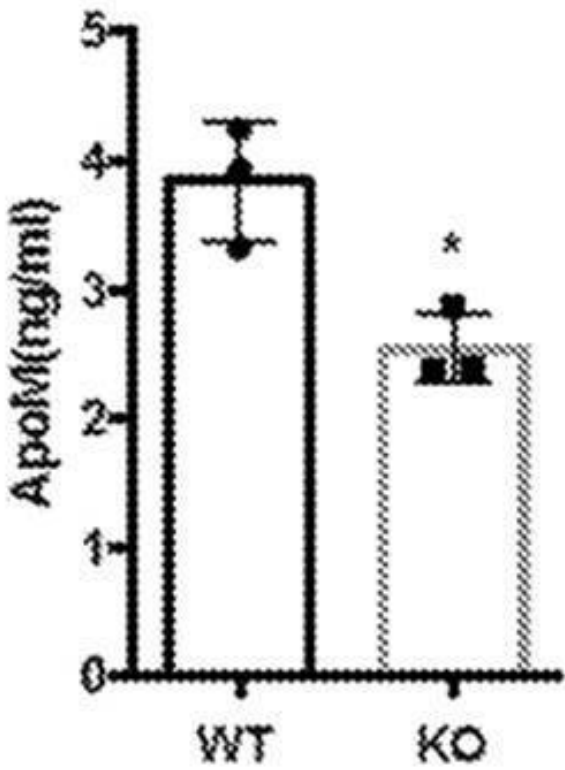
【図 1 B】



【図 1 C】



【図 2 A】



10

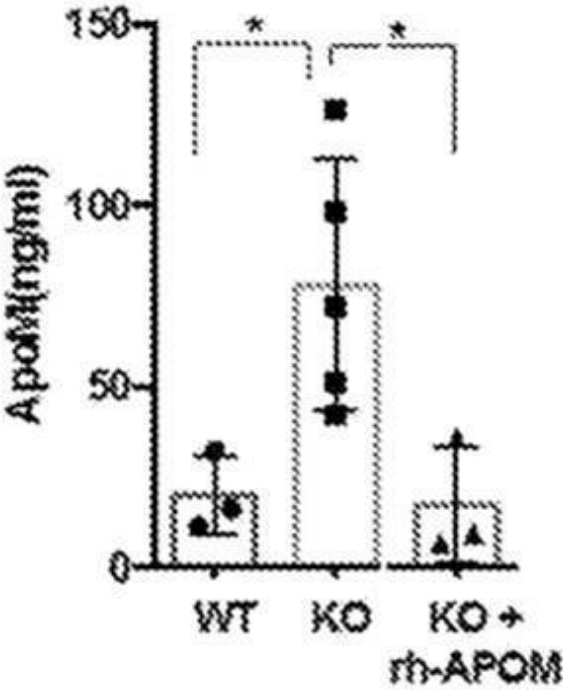
20

30

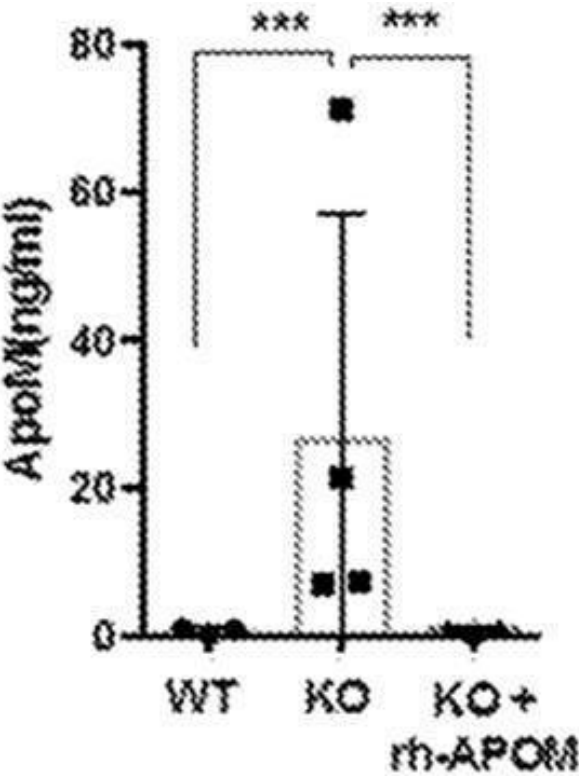
40

50

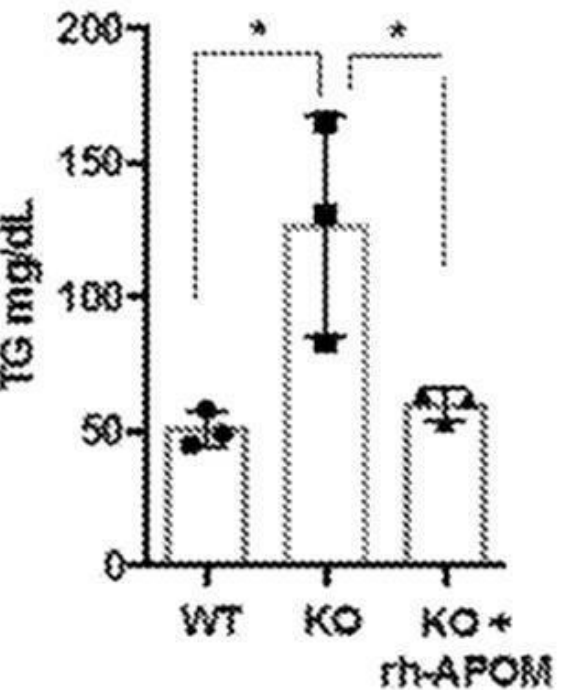
【図 2 B】



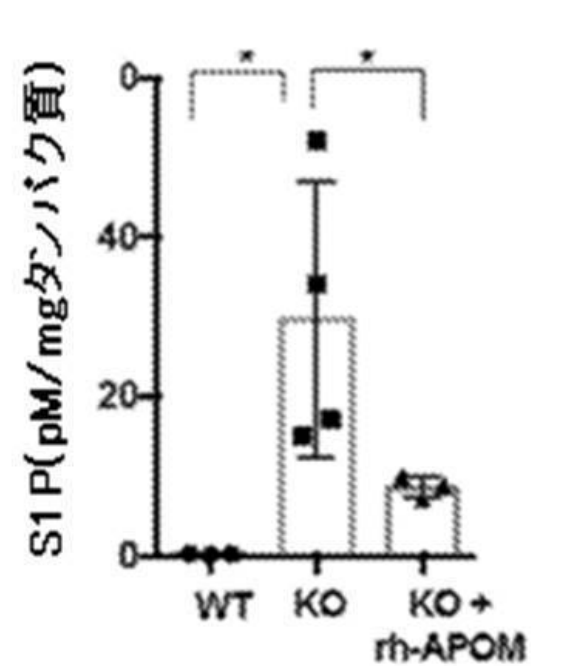
【図 2 C】



【図 2 D】



【図 2 E】



10

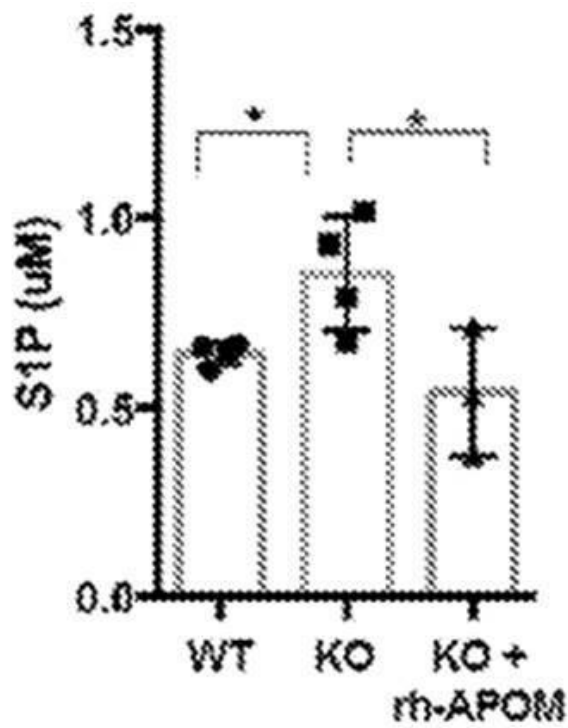
20

30

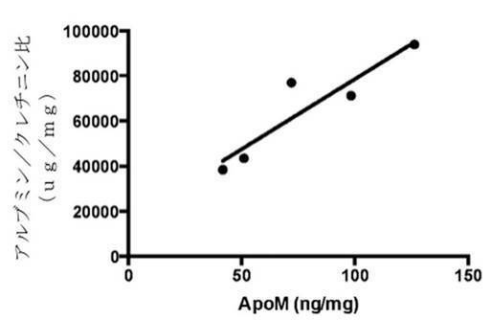
40

50

【図 2 F】



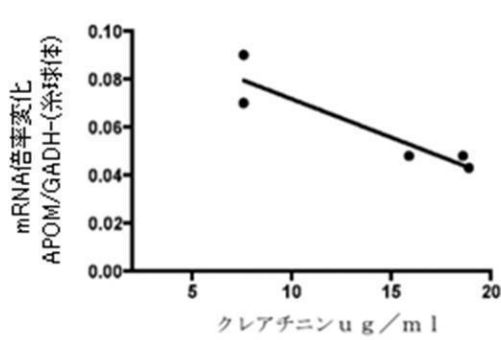
【図 2 G】



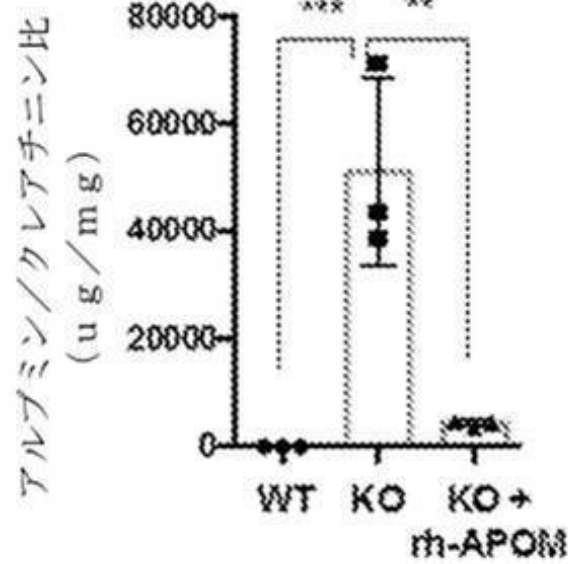
10

20

【図 2 H】



【図 3 A】

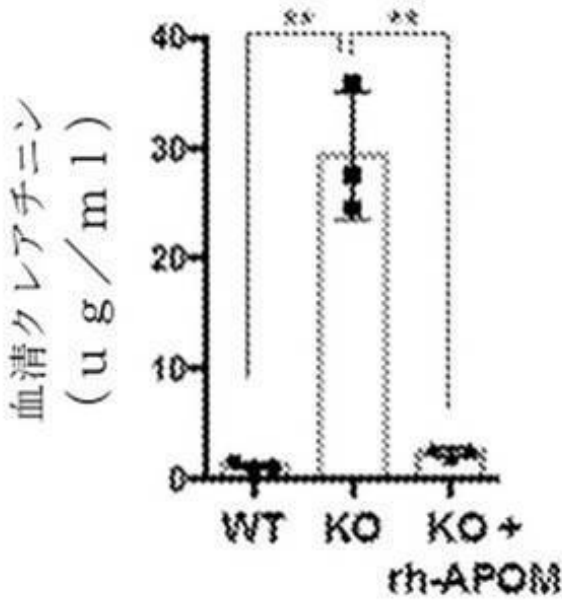


30

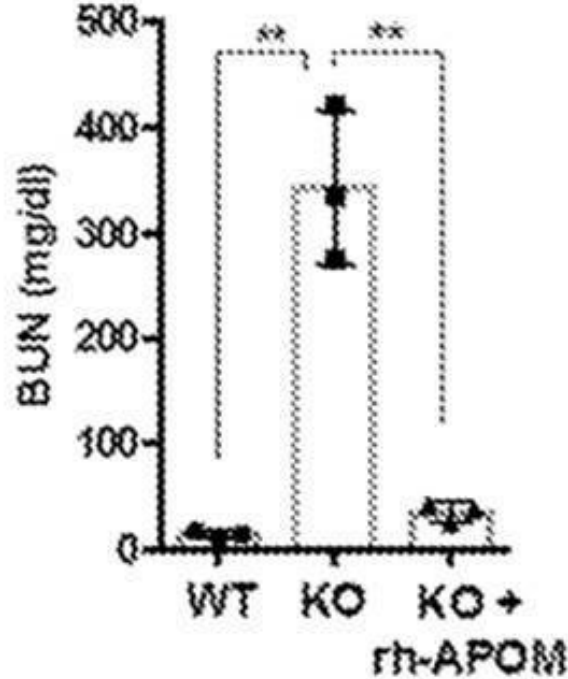
40

50

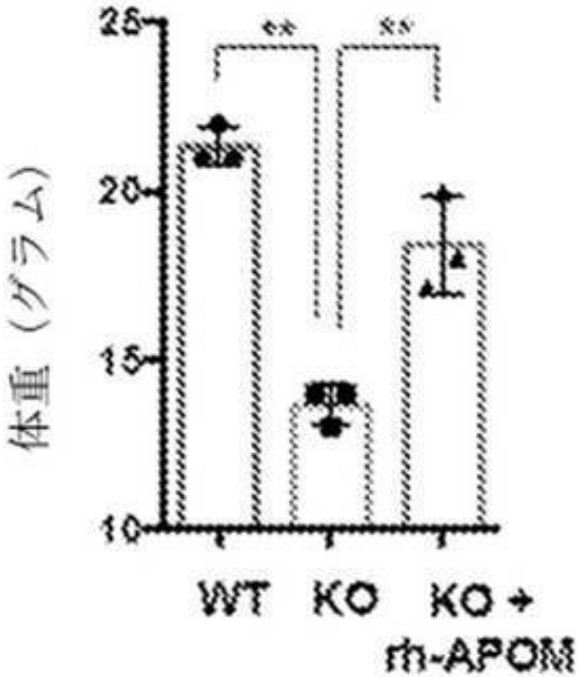
【図 3 B】



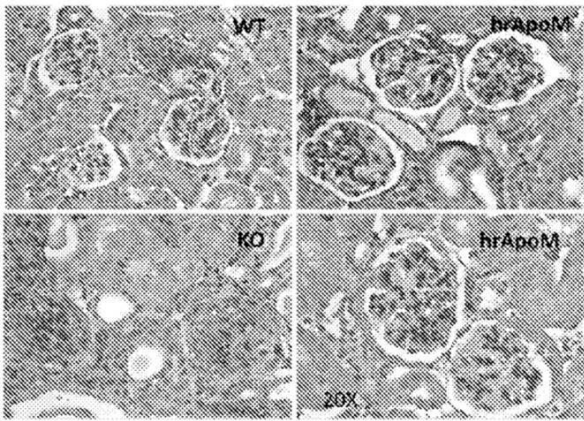
【図 3 C】



【図 3 D】



【図 3 E】



10

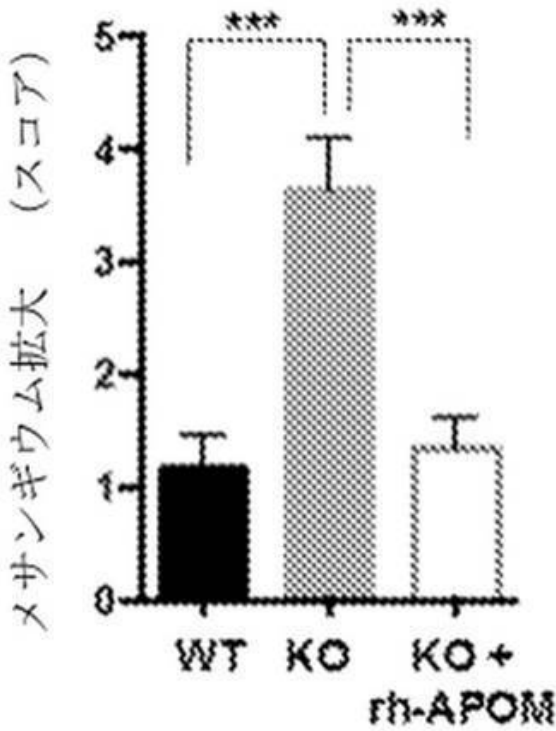
20

30

40

50

【図 3 F】



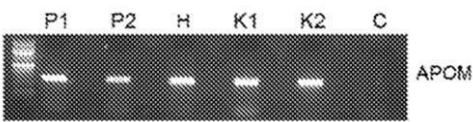
【図 4】

MFHQIWAALL YFYGHILNSI YQCPEHSQLT TLGVDGKEFP EVHLGQWYFI
AGAAPTKEEL ATFDPPVDNIV FNMAAGSAPM QLHLRATIRM KDGLCVPRKW
IYHLEGSTD LRTEGRPDMK TELFSSSCPG GIMLNETGQG YQRFLLYNRS
PHPEKCVVEE FKSLTSLCLDS KAFLLTPRNQ EACELSNN (配列番号 1)

【図 5】

caacagagca ccagcttccc tctgccttg aagatgttcc accaaatttg ggcagctctg ctctacttct atggtattat
ccttaactcc atctaccagt gccctgagca cagtcaactg acaactctgg gctggatgg gaaggagttc ccagaggtcc
acttgggcca gtggtacttt atcgccggg cagctccac caaggaggag ttggcaactt ttgacctgt ggacaacatt
gtcttcaata tggctgctgg ctctgcccg atgcagctcc acctctgtc taccatccg atgaagatg ggtctgtgt
gccccgaaa tggatctacc acctgactga agggagcaca gatctcagaa ctgaaggccg cctgacatg aagactgagc
tctttccag ctcatgccca ggtggaaatc tgctgaatga gacaggccag ggttaccagc gctttctct ctacaatgc
tcaccacatc ctccgaaaa gtgtgtggag gaattcaagt cctgacttc ctgctggac tccaaagcct tctattgac
tctaggaat caagaggcct gtgagctgtc caataactga cctgtaactt catctaagtc cccagatggg tacaatggga
gctgagttgt tggagggaga agctggagac ttccagctcc agctcccact caagataata aagataattc tcaatctc
aaaaaaaaaaaa

【図 6 A】



10

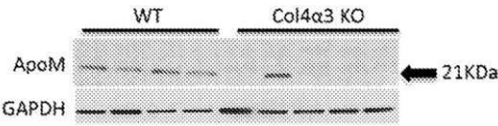
20

30

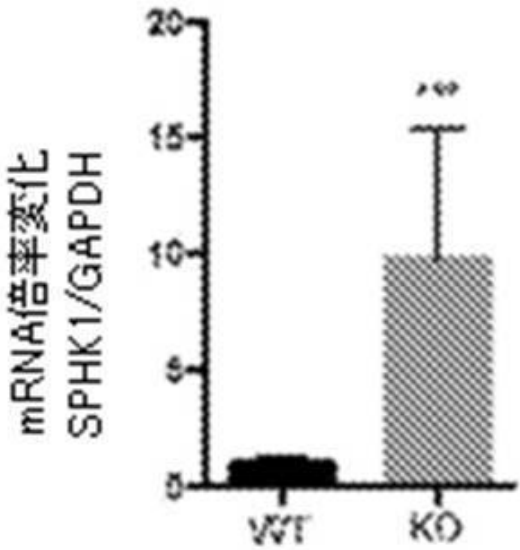
40

50

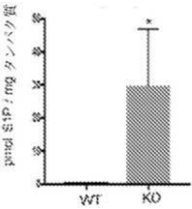
【図 6 B】



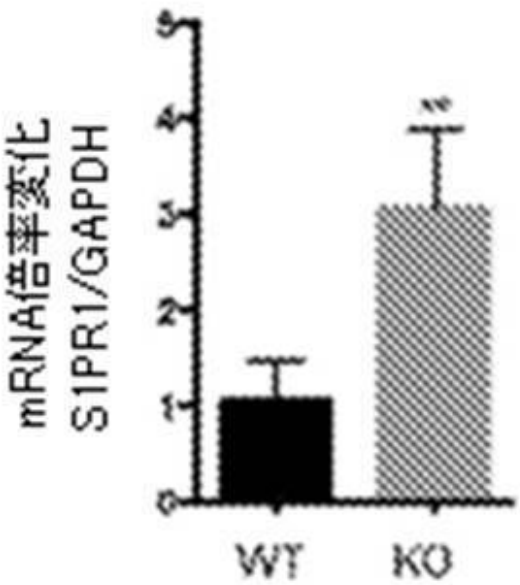
【図 6 C】



【図 6 D】



【図 6 E】



10

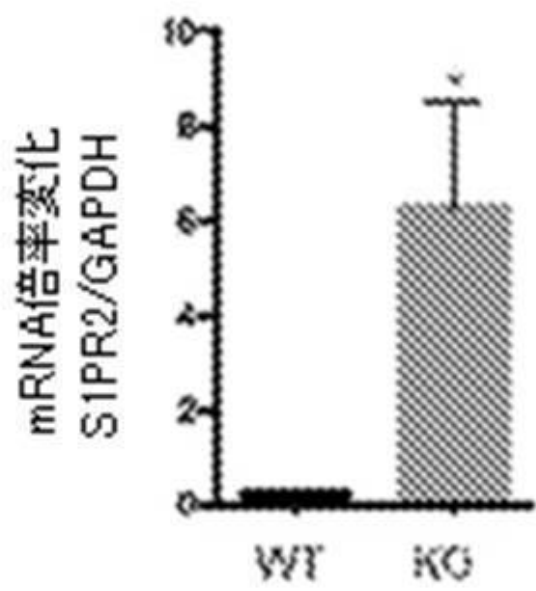
20

30

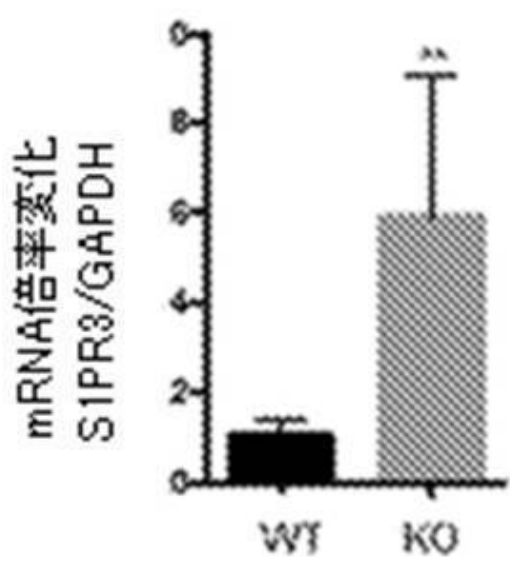
40

50

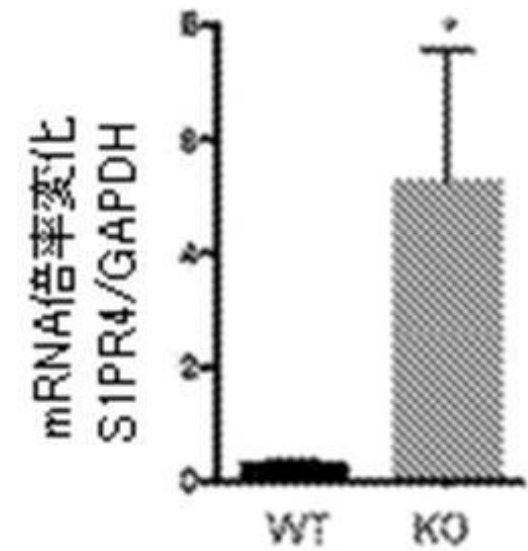
【図 6 F】



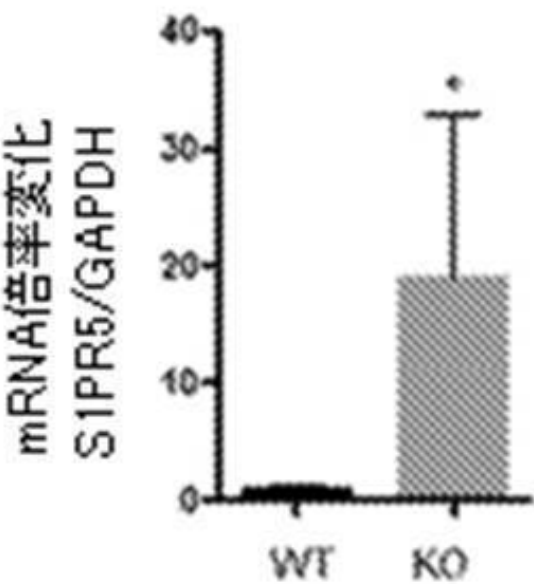
【図 6 G】



【図 6 H】



【図 6 I】



10

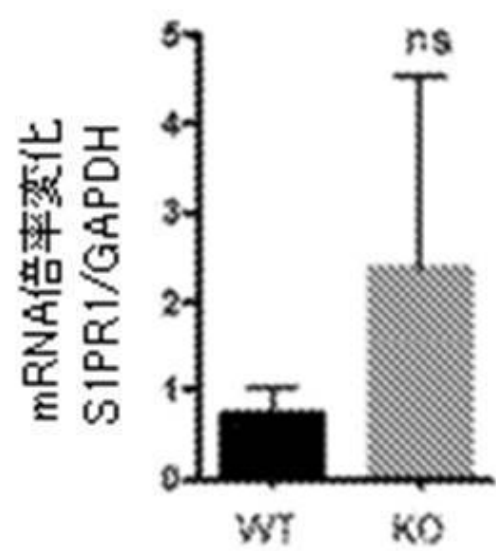
20

30

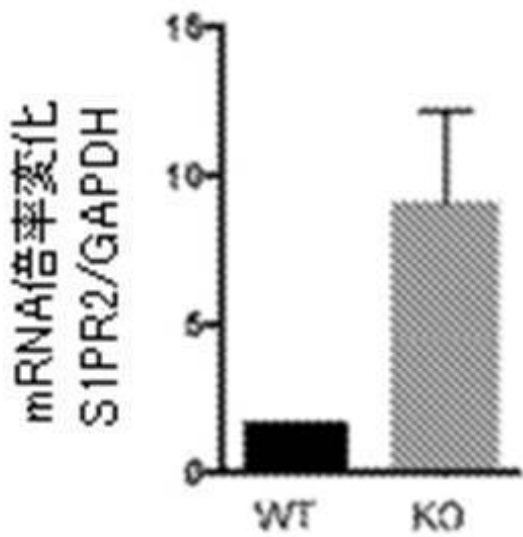
40

50

【図 6 J】



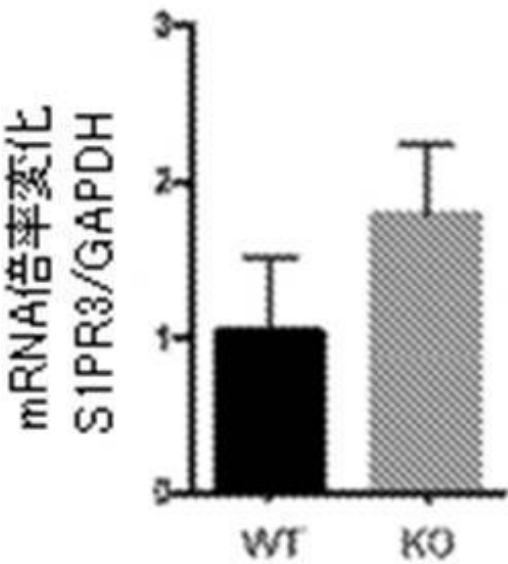
【図 6 K】



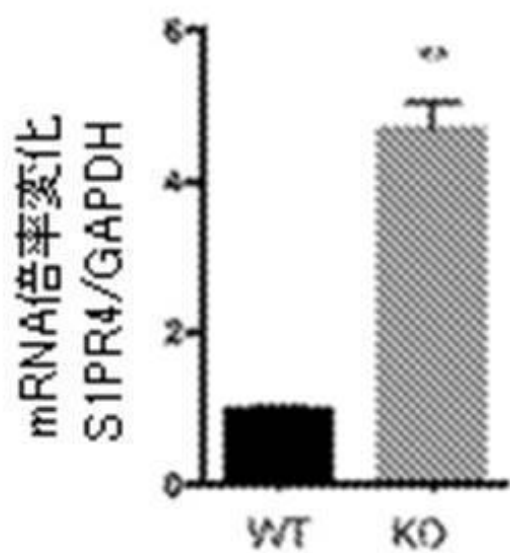
10

20

【図 6 L】



【図 6 M】

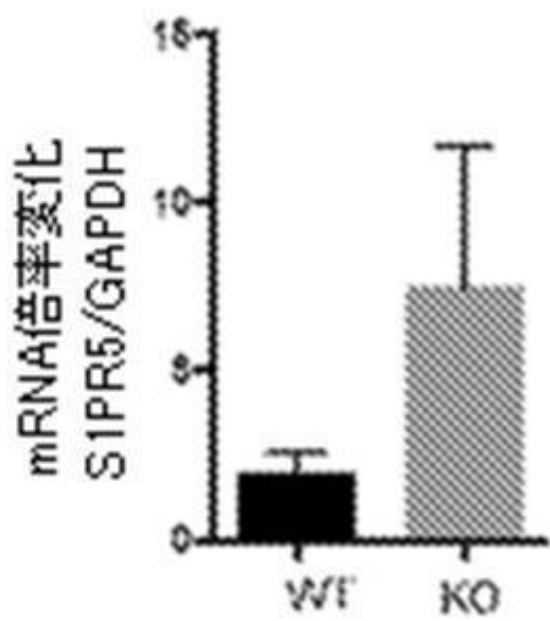


30

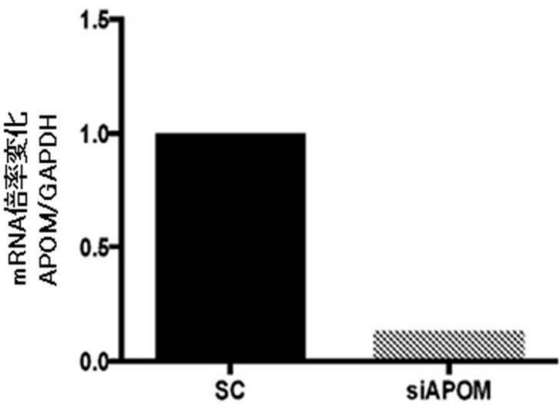
40

50

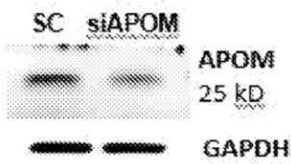
【図 6 N】



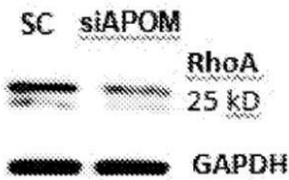
【図 7 A】



【図 7 B】



【図 7 C】



10

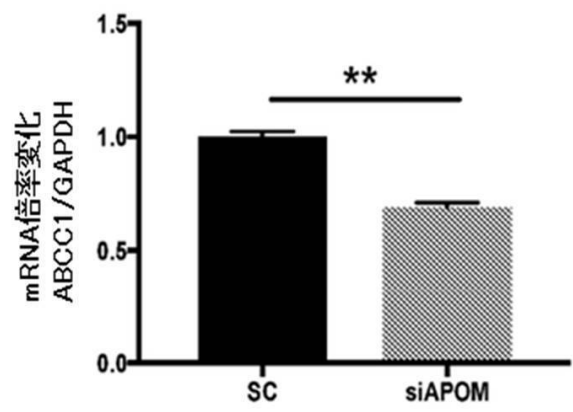
20

30

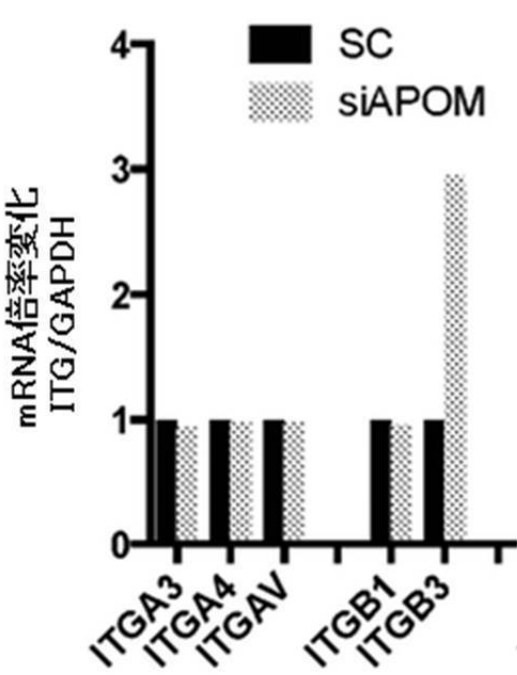
40

50

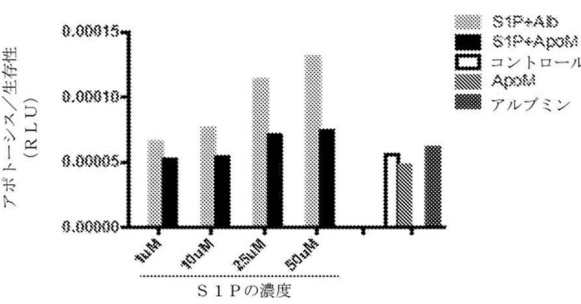
【図 7 D】



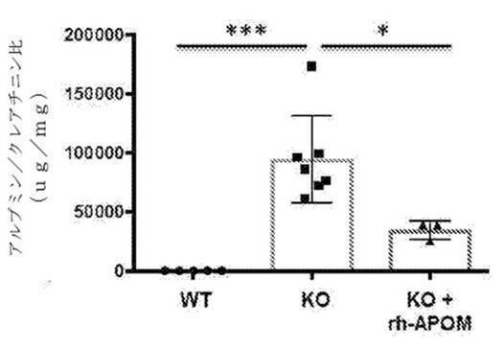
【図 7 E】



【図 7 F】



【図 8 A】



10

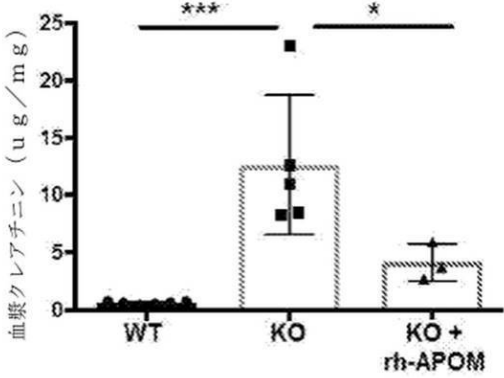
20

30

40

50

【図 8 B】



10

【配列表】

0007357948000001.app

20

30

40

50

フロントページの続き

- 弁理士 當麻 博文
(74)代理人 100137729
弁理士 赤井 厚子
(74)代理人 100151301
弁理士 戸崎 富哉
(72)発明者 フォルノニ、アレッシア
アメリカ合衆国、フロリダ州 33136、マイアミ、ノースウエスト セヴンス アヴェニュー
1951、スイート 100
(72)発明者 マーシャー、サンドラ
アメリカ合衆国、フロリダ州 33136、マイアミ、ノースウエスト セヴンス アヴェニュー
1951 スイート 100
審査官 菊池 美香
(56)参考文献 新潟医学会雑誌, 2001, 第115巻第9号、第452-463頁
Thromb Haemost., Jun 2018, 118(6), pp. 1021-1035
(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
A61K 38/17
A61P 13/12
C07K 14/775
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
CAPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)