

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4351041号  
(P4351041)

(45) 発行日 平成21年10月28日(2009.10.28)

(24) 登録日 平成21年7月31日(2009.7.31)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 38/00	(2006.01) A 61 K 37/02
A 61 K 38/48	(2006.01) A 61 K 37/547
A 61 K 38/43	(2006.01) A 61 K 37/465
A 61 P 17/02	(2006.01) A 61 K 37/553 A 61 P 17/02

請求項の数 21 (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2003-503264 (P2003-503264)	(73) 特許権者	501305257 ザ・ユニバーシティ・オブ・シドニー オーストラリア国・2006・ニュー・サ ウス・ウェールズ・シドニー (番地なし)
(86) (22) 出願日	平成14年6月11日 (2002.6.11)	(74) 代理人	100064908 弁理士 志賀 正武
(65) 公表番号	特表2004-532892 (P2004-532892A)	(74) 代理人	100108578 弁理士 高橋 詔男
(43) 公表日	平成16年10月28日 (2004.10.28)	(74) 代理人	100089037 弁理士 渡邊 隆
(86) 國際出願番号	PCT/AU2002/000751	(74) 代理人	100101465 弁理士 青山 正和
(87) 國際公開番号	W02002/100445	(74) 代理人	100094400 弁理士 鈴木 三義
(87) 國際公開日	平成14年12月19日 (2002.12.19)		
審査請求日	平成17年6月10日 (2005.6.10)		
(31) 優先権主張番号	PR 5637		
(32) 優先日	平成13年6月13日 (2001.6.13)		
(33) 優先権主張国	オーストラリア (AU)		
(31) 優先権主張番号	PS 1433		
(32) 優先日	平成14年4月2日 (2002.4.2)		
(33) 優先権主張国	オーストラリア (AU)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 傷治癒のための処置および組成物

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

被験者における皮膚の傷治癒を促進するための薬剤であり、傷への直接適用によって投与するための薬剤であって、薬学的に許容可能な担体と混合した、

(i) 活性化タンパク質 C (APC) および / または

(ii) タンパク質 C、

を含む有効量の作用剤を含む薬剤。

## 【請求項 2】

APC および / またはタンパク質 C を 200 µg / ml から 800 µg / ml の濃度で提供する、請求項 1 に記載の薬剤。

10

## 【請求項 3】

作用剤が、ヒト APC である、請求項 1 または 2 に記載の薬剤。

## 【請求項 4】

作用剤が、ヒトタンパク質 C である、請求項 1 または 2 に記載の薬剤。

## 【請求項 5】

さらにタンパク質 C の活性化剤を含む、請求項 1、2 および 4 のいずれ一項に記載の薬剤。

## 【請求項 6】

活性化剤が、トロンビン、カリクレイン、および、トロンボモジュリンからなる群から選択される、請求項 5 に記載の薬剤。

20

**【請求項 7】**

皮膚の傷が、皮膚潰瘍またはやけどである、請求項 1 または 2 に記載の薬剤。

**【請求項 8】**

( i ) 活性化タンパク質 C ( A P C ) および / または

( ii ) タンパク質 C 、

を含む有効量の作用剤を組み込んだ送達システムであって、被験者における皮膚の傷へ直接適用し、適用後、皮膚の傷治癒を促進するための送達システム。

**【請求項 9】**

A P C および / またはタンパク質 C を 2 0 0 μ g / m l から 8 0 0 μ g / m l の濃度で提供する、請求項 8 に記載の送達システム。 10

**【請求項 10】**

作用剤が、ヒト A P C である、請求項 8 または 9 に記載の送達システム。

**【請求項 11】**

作用剤が、ヒトタンパク質 C である、請求項 8 または 9 に記載の送達システム。

**【請求項 12】**

さらに、タンパク質 C の活性化剤を含む、請求項 8 、 9 および 11 のいずれか一項に記載の送達システム。

**【請求項 13】**

活性化剤が、トロンビン、カリクレイン、および、トロンボモジュリンからなる群から選択される、請求項 12 に記載の送達システム。 20

**【請求項 14】**

送達システムが、ゲル、スポンジ、ガーゼまたはメッシュである、請求項 8 から 13 のいずれか一項に記載の送達システム。

**【請求項 15】**

( i ) 活性化タンパク質 C ( A P C ) および / または

( ii ) タンパク質 C 、

を含む有効量の作用剤の、被験者における皮膚の傷治癒を促進するための薬剤であり、傷への直接適用によって投与するための薬剤を調製するための使用。

**【請求項 16】**

A P C および / またはタンパク質 C を 2 0 0 μ g / m l から 8 0 0 μ g / m l の濃度で提供する、請求項 15 に記載の使用。 30

**【請求項 17】**

作用剤が、ヒト A P C である、請求項 15 または 16 に記載の使用。

**【請求項 18】**

作用剤が、ヒトタンパク質 C である、請求項 15 または 16 に記載の使用。

**【請求項 19】**

薬剤が、タンパク質 C の活性化剤をさらに含む、請求項 15 、 16 および 18 のいずれか一項に記載の使用。

**【請求項 20】**

活性化剤が、トロンビン、カリクレイン、および、トロンボモジュリンからなる群から選択される、請求項 19 に記載の使用。 40

**【請求項 21】**

皮膚の傷が、皮膚潰瘍またはやけどである、請求項 15 から 20 のいずれか一項に記載の使用。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0 0 0 1】**

本発明は、薬物の分野、より具体的には、傷治癒および傷治癒を増進するための方法および組成物に関する。本発明の具体的な適用において、活性化タンパク質 C ( A P C ) は、緩やかに治癒している傷に、例えば、局所適用によって投与される。 50

**【背景技術】****【0002】**

傷は、構造の正常な連続性を分断する、機械的、化学的、ウィルス性、細菌性、もしくは熱的手段などの物理的手段により生じた生体内もしくは生体外の損傷もしくは傷害である。そのような生体の損傷は、打ち身、皮膚が無傷である傷、切り傷、皮膚が切断器具によって傷つけられている傷、裂傷、および皮膚が鈍いもしくは先の丸い器具によって傷つけられている傷を含む。傷は、事故または外科的処置によって生じるかもしれない。

**【0003】**

傷の治癒は、多くの段階を含む複合過程である。これらは、1) 損傷後、すぐに始まる凝固；2) 2、3分後に始まる炎症；3) 数時間から数日以内に始まる遊走および増殖過程（顆粒化段階）；および4) 続いて十分な強度の皮膚に進展する再構築工程を含む（非特許文献1、非特許文献2、非特許文献3）。

10

**【0004】****凝固と炎症**

凝固は、脱顆粒した血小板から様々な成長因子およびサイトカインを遊離することによって、止血を制御し、治癒を始める。炎症段階中では、血小板凝集および凝固により、血漿タンパク質および血液細胞を捕捉し、様々な型の細胞の流入を誘導する基質が形成される。好中球が、到達する最初の細胞であり、混入している細菌を食菌し、フィブリンクロットを消化し、そしてマクロファージを引き寄せ、纖維芽細胞とケラチン生成細胞を活性化するメディエーターを遊離する（非特許文献3）。マクロファージは、病原体を消化し、傷から異物を取り除き、そして、サイトカイン／成長因子（例えば、纖維芽細胞および内皮細胞を刺激するインターロイキン-1（IL-1）、上皮成長因子（EGF）、血管内皮成長因子（VEGF）、形質転換成長因子（TGF-）、および塩基性纖維芽細胞成長因子（bFGF））を分泌する。全体的に、炎症段階は、感染から守り、傷治癒の遊走および増殖段階を促進するのに重要である。

20

**【0005】****顆粒化と細胞外基質の再構築**

これらの段階は、細胞の遊走と増殖を含む。リンパ球とマクロファージが関与するが、主な細胞の種類は、上皮細胞、纖維芽細胞、および内皮細胞である。損傷数時間内に、主にケラチン生成細胞から成る上皮被覆が、遊走を始め、表皮を覆い始める、再上皮化として知られる工程。それらが完全に傷を覆うと、それらは分化して、層を形成し、基底膜と共に新しい表皮を形成する。血管新生（すなわち、新しい血管の形成）が、この段階で生じ、残存するために発達している組織に栄養素を供給する。纖維芽細胞は、傷部位に遊走し、最終的に傷に抗張力を付与するコラーゲンとプロテオグリカンを生成する。再構築段階が進むにつれて、顆粒化組織が、瘢痕組織を形成するコラーゲンとエラスチン纖維の網状組織によって置換される。

30

**【0006】****不十分な傷治癒**

皮膚の傷治癒の低下、および／または、皮膚潰瘍が、抹消動脈閉塞疾患、深部静脈血栓症、糖尿病、床ずれ、および、やけどの患者に生じる（非特許文献4）。徹底的な研究に関わらず、傷治癒の低下に関わる分子機序が、十分に理解されていない。

40

**【0007】**

傷治癒は、局所因子（例えば、成長因子、浮腫、虚血、感染、動脈機能不全、静脈機能不全、または神経障害）、全身性因子（例えば、不十分な灌流および代謝疾患）、および、栄養摂取状態、放射線治療の照射、および喫煙などの他の種々雑多な因子を含む多数の因子に影響を及ぼされている。

**【0008】**

白血球、特に好中球、およびマクロファージは、周囲の組織に存続し、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）類およびセリンプロテアーゼ類を含む広範囲のプロテアーゼ類を分泌する（非特許文献5）。これらの酵素の過度の蓄積は、基質の再構築を妨げる（

50

非特許文献 6 )。プロテアーゼ類を阻害する作用剤は、傷治癒に役立つであろうと考えられる(非特許文献 7 )。いくつかの慢性的な傷の他の特徴は、血管新成の減少または欠如であり、それにより、栄養分が新たに形成された組織に到達するのが妨げられる(非特許文献 8 )。

#### 【 0 0 0 9 】

##### 傷治癒を増進する現在の技術

慢性的な傷は、最初に、乾燥痂皮の創面切除、適切な場合には抗生物質処置、および、通常の外傷用医薬材料等を用いた手当てを含む処置によって管理される(非特許文献 2 )。ヒドロゲル類、親水性コロイド類あるいはアルギナート類などの他の外傷用医薬材料も使用できる。静脈潰瘍は、加圧療法によって処置されるが、動脈あるいは糖尿病性の潰瘍は、外傷用医薬材料の通常の変更を必要とする。床ずれは、損傷部位での圧力の軽減によって治癒が促される。動脈性潰瘍のためのレーザー処置、高圧酸素および電気刺激など、いくつかの別の物理的装置も、傷治癒を促すために使用される(非特許文献 2 、非特許文献 9 、非特許文献 10 )。

10

#### 【 0 0 1 0 】

そのような介入に対して感受性の低い傷に対しては、ダーマグラフト( D e r m a g r a f t )またはアブリグラフト( A p l i g r a f )などの組織工学で作られた皮膚の使用がオプションである。この治療は細菌感染を防止するように行なわれ、これにより傷が通常の修復過程によって治癒することが可能になる(非特許文献 11 、非特許文献 12 )。傷治癒を促進するためのそのような皮膚置換物の使用は、現存する傷における現存する血管供給の利用可能性に依存する。

20

#### 【 0 0 1 1 】

傷治癒のための別のアプローチは、 *in vitro* で細胞増殖を促進すること、および/または、いくつかの動物モデルにおいて傷治癒を促進することが示されている成長因子 / サイトカインの投与を含む。これらは、 I L - 1 、血小板由来増殖因子( P D G F )、 E G F 、 V E G F 、 T G F - 、および b F G F を含む(非特許文献 2 )。プロキュレン( P r o c u r e n )(キューラティブ・テクノロジーズ( C u r a t i v e T e c h n o l o g i e s )、自家血小板遊離物は、顆粒化組織の形成および再上皮化を促進する少なくとも 5 つの成長因子を含む。この自家成長因子の混合物は、潰瘍化した四肢の傷害を有するヒトの被験者において、幾らかの成功をもたらしている(非特許文献 13 )。しかしながら、概して、成長因子 / サイトカインを用いたほとんどの臨床試験の結果は期待外れのものである。例えば、 E G F は静脈鬱帯潰瘍を治癒することができず、そして、 I L - 1 は床ずれを効果的に治療することができなかった(非特許文献 2 )。同様の結果が、 b F G F を用いて報告されている(非特許文献 14 )。有効性の欠如の理由は確かにないが、成長因子 / サイトカインの多元的な効果、治癒にとって何らかの望ましくないもの、と関連しているかもしれない。

30

【非特許文献 1 】 Bello, Y.M. and T.J. Phillips. 2000. Recent advances in wound healing. JAMA 283:716-718.

【非特許文献 2 】 Braddock, M., C.J. Campbell, and D. Zuder. 1999. Current Therapies for wound healing: electrical stimulation, biological therapeutics, and the potential for gene therapy. Int J Dermatol 38:808-817.

40

【非特許文献 3 】 Hunt, T.K., H. Hopf, and Z. Hussain. 2000. Physiology of wound healing. Adv Skin Wound Care 13:6-11.

【非特許文献 4 】 Bello, Y.M. and T.J. Phillips. 2000. Therapeutic dressings. Adv Dermatol 16:253-271.

【非特許文献 5 】 Yager, D.R. and B.C. Nwomeh. 1999. The proteolytic environment of chronic wounds. Wound Repair Regen 7:433-441

【非特許文献 6 】 Trengove, N.J., M.C. Stacey, S. MacAuley, N. Bennett, J. Gibson, F. Burslem, G. Murphy, and G. Schultz. 1999. Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and their inhibitors. Wound Repair Rege

50

n 7:442-452.

【非特許文献 7】Kahari, V.M. and U. Saarialhokere. 1997. Matrix metalloproteinases in skin. *Experimental Dermatology* 6:199-213.

【非特許文献 8】Singer, A.J. and R.A. Clark. 1999. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 341:738-746.

【非特許文献 9】McDaniel, D.H., K. Ash, J. Lord, J. Newman, and M. Zukowski. 1998. Accelerates laser resurfacing wound healing using a triad of topical antioxidants. *Dermatol Surg* 24: 661-664.

【非特許文献 10】Stone, A. 1998. Hyperbaric oxygen treatment for wounds. *Plast Reconstr Surg* 101:1738-1739.

10

【非特許文献 11】Brem, H., J. Balleux, T. Bloom, M.D. Kerstein, and L. Hollier. 2000. Healing of diabetic foot ulcers and pressure ulcers with human skin equivalent: a new paradigm in wound healing. *Arch Surg* 135:627-634.

【非特許文献 12】Falanga, V. and M. Sabolinski. 1999. A bilayered living skin construct(APLIGRAF) accelerates complete closure of hard-to-heal venous ulcers. *Wound Repair Regen* 7:201-207.

【非特許文献 13】Gillam, A.J. and C.C. Da Camara. 1993. Treatment of wounds with procuren. *Ann Pharmacother* 27:1201-1203.

【非特許文献 14】Mazue, G., F.Bertolero, C. Jacob, P. Sarmientos, and R. Roncucci. 1991. Preclinical and clinical studies with recombinant human basic fibroblast growth factor. *Ann N Y Acad Sci* 638:329-340.

20

【非特許文献 15】Esmon, C.T., W. Ding, K. Yasuhiko, J.M. Gu, G. Ferrell, L.M. Regen, D.J. Stearns-Kurosawa, S. Kurosawa, T. Mather, Z. Laszik, and N.L. Esmon. 1997. The protein C pathway: new insights. *Thromb Haem* 78:70-74.

【非特許文献 16】Boffa, M.C. and M. Karmochkine. 1998. Thrombomodulin: an overview and potential implications in vascular disorders. *Lupus* 7:Suppl, 2-5.

【非特許文献 17】Esmon, C.T., J.M.Gu, J. Xu, D. Qu, D.J. Stearns-Kurosawa, and S. Kurosawa. 1999. Regulation and functions of the protein C anticoagulant pathway. *Haematologica* 84:363-368.

【非特許文献 18】Baker, W.F. and B. and. 1999. Treatment of hereditary and acquired thrombophilic disorders. *Semin.Thromb.Hemostasis*. 25:387-405.

30

【非特許文献 19】Morales, D.E., K.A. McGowen, D.S. Grant, S. Maheshwari, D. Bhartiya, M.C. Cid, H.K. Kleinman, and H.W. Schnaper. 1995. Estrogen promotes angiogenic activity in human umbilical vein endothelial cells in vitro and in a murine model. *Circulation* 91:755-763.

【非特許文献 20】Nguyen, M., J. Arkell, and C.J. Jackson. 2000. Activated protein C directly activates human endothelial gelatinase A. *J Biol Chem* 275:9095-9098.

【非特許文献 21】Murphy, G. 1995. Matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Acta Orthop Scand Suppl* 266:55-60.

40

【非特許文献 22】Fang, J., Y. Shing, D. Wiederschain, L. Yan, C. Butterfield, G. Jackson, J. Harper, G. Tamvakopoulos, and M.A. Moses. 2000. Matrix metalloproteinase-2 is required for the switch to the angiogenic phenotype in tumor model. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:3884-3889.

【非特許文献 23】Kondo, K., H. Kinoshita, H. Ishikura, T. Miyoshi, T. Hirose, Y. Matsumori, and Y. Monden. 2001. Activation of matrix metalloproteinase-2 is correlated with invasiveness in thymic epithelial tumors. *J Surg Oncol* 76: 169-175.

【非特許文献 24】Kozaci, L.D., D.J. Buttle, and A.P. Hollander. 1997. Degradation of Type II collagen, but not proteoglycan, correlates with matrix metalloproteinase-

50

einase activity in cartilage explant cultures. *Arthr Rheum* 40:164-174.

【非特許文献 25】Cheung, P.Y., G. Sawicki, M. Wozniak, W. Wang, M.W. Radomski, and R. Schulz. 2000. Matrix metalloproteinase-2 contributes to ischemia-reperfusion injury in the heart. *Circulation* 101:1833-1839.

【非特許文献 26】Fernandez-Patron, C., M.W. Radomski, and S.T. Davidge. 1999. Vascular matrix metalloproteinase-2 cleaves big endothelin-1 yielding a novel vasoconstrictor. *Circ Res* 85:906-911.

【非特許文献 27】Sawicki, G., E. Salas, J. Murat, H. Misztalane, and M.W. Radomski. 1997. Release of gelatinase A during platelet activation mediates aggregation. *Nature* 386:616-619.

10

【非特許文献 28】Kirshenbaum, K., Zuckermann, R.N., and Dill, K.A. 1999. Designing polymers that mimic biomolecules. *Curr Opin Struct Biol* 9:530-535.

【非特許文献 29】Sidhu, S.S., Lowman, H.B., Cunningham, B.C., and Wells, J.A. 2000 Phage display for selection of novel binding peptides. *Methods Enzymol* 328:33-363.

【非特許文献 30】Cunningham, B.C., and Wells, J.A. 1997 Minimized proteins. *Curr Opin Struct Biol* 7:457-462.

【非特許文献 31】Drolet, D.W., Jenison, R.D., Smith, D.E., Pratt, D., and Hickey, B.J. 1999 A high throughput platform for systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX). *Comb Chem High Throughput Screen* 2:271-278.

20

【非特許文献 32】Bissantz, C., Folkers, G., and Rognan, D. 2000 Protein-based virtual screening of chemical databases. 1 Evaluation of different docking/scoring combinations. *J Med Chem* 43:4759-4767.

【非特許文献 33】Houghten, R.A, Wilson, D.B., and Pinilla, C. 2000 Drug Discovery and vaccine development using mixture-based synthetic combinatorial libraries. *Drug Discovery Today* 5:276-285.

【非特許文献 34】Ribatti, D., A. Gualandris, M. Bastaki, A. Vacca, M. Iurlaro, L. Roncali, and M. Presta. 1997. New model for the study of angiogenesis and antiangiogenesis in the chick embryo chorioallantoic membrane: the gelatin sponge/chorioallantoic membrane assay. *J Vasc Res* 34:455-463.

30

【非特許文献 35】Taniyama Y., Morishita R., Hiraoka K., Aoki M., Nakagami H., Yamasaki K., Matsumoto K., Nakamura T., Kaneda Y., and Ogihara T. 2001 Therapeutic angiogenesis induced by human hepatocyte growth factor gene in rat diabetic hind limb ischemia model: molecular mechanisms of delayed angiogenesis in diabetes. *Circulation* 104:2344-2350.

【非特許文献 36】Maniatis, T.等、*Molecular Cloning: a laboratory manual*、第二版、Cold Spring Harbor Laboratory出版社

#### 【発明の開示】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0012】

40

このように、傷治癒の促進のための新たな作用剤を同定し、開発するための継続的な必要がある。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0013】

活性化タンパク質 C (APC) は、生理的な抗凝血に中心的な役割を果たす約 56 kDa の分子重量を持つセリンプロテアーゼである。不活性前駆物質、タンパク質 C、は、肝臓と内皮細胞によって合成されたビタミン K 依存糖蛋白であり、血漿中に認められる。タンパク質 C の活性化は内皮細胞の表面上で生じ、トロンビンとトロンボモジュリンの間で形成される複合体によって惹起される（非特許文献 15、非特許文献 16）。他の内皮細胞特異的膜タンパク質、内皮細胞タンパク質 C 受容体 (EPCR)、は、この反応を 100

50

0倍以上促進することが示されている(非特許文献17)。内皮APCは、内皮細胞表面上で、共同因子、タンパク質Sに結合し、凝固因子、因子VIIIaおよび因子Vaを不活性化させることによって、抗凝血剤として機能する。抗凝血剤としてのAPCの重要性は、この分子の欠失により血栓症の家族性疾患に至ることが見出されたことに反映されている(非特許文献18)。

#### 【0014】

最近、APCが抗炎症剤として付加的に作用し、プロテアーゼ、ゼラチナーゼAを直接活性化することも報告されている(非特許文献17、非特許文献20)。ゼラチナーゼAは、平滑筋細胞、纖維芽細胞、および内皮細胞を含む多くの異なる細胞種によって分泌される。基底膜に存在するコラーゲンを分解し(非特許文献21)、細胞が基質に浸潤することを許容することによって、ゼラチナーゼAは、生理学的再構築および血管新生に重要な役割を果たす。また、ゼラチナーゼAは、胸腺上皮腫瘍の浸潤を促進すること(非特許文献23)、軟骨基質からコラーゲンを分離することによって関節炎における関節の破壊を促進すること(非特許文献24)、および虚血後再灌流時の心臓の力学的機能傷害に寄与すること(非特許文献25)など、多くの疾患において重要な役割を果たす。該基質を分解する性能に加えて、ゼラチナーゼAは他の基質を標的にすることもできる。例えば、それは、大きなエンドセリン-1を分割して、強力な血管収縮物質を産出し、このことは、ゼラチナーゼAが血管反応の調節因子であることを意味している(非特許文献26)。また、ゼラチナーゼAの遊離は、血小板凝集をもたらすこともできる(非特許文献27)。

10

#### 【0015】

さらに、以後に提供される実施例において示されるように、APCは、in vitroにおいて、創傷後の内皮細胞の再生を促進すること、ニワトリの胚子において再上皮化、纖維芽細胞の浸潤、および血管新生を刺激すること、およびラット創傷モデルにおいて傷治癒を高めることもできる。これらの機能は、前記抗凝固性、抗炎症性、およびゼラチナーゼA活性化機能と共に考慮すると、APC、その機能性断片、およびAPCの前駆体(すなわち、タンパク質C)が、傷の処置、特にゆっくりとした傷治癒に有用であることを、強く示している。

#### 【0016】

このように、第一の局面において、本発明は、被験者における傷治癒を促進するための方法であって、

30

(i) APC、

(ii) APCの機能性断片、

(iii) APC擬似化合物、および

(iv) タンパク質C、

の1つ以上を含む作用剤の有効量を、随意に、薬学的に許容可能な担体と混合して、前記被験者に投与することを含む方法を提供する。

#### 【0017】

第二の局面において、本発明は、被験者における傷治癒を促進するための薬剤であって、薬学的に許容可能な担体と混合した、

40

(i) APC、

(ii) APCの機能性断片、

(iii) APC擬似化合物、および

(iv) タンパク質C、

のうち1つ以上を含むある量の作用剤を含む薬剤を提供する。

#### 【0018】

第三の局面において、本発明は、

(i) APC、

(ii) APCの機能性断片、

(iii) APC擬似化合物、および

50

(iv) タンパク質 C、

の1つ以上を含むある量の作用剤を組み込んだ送達システム（例えば、ゲル、スポンジ、ガーゼ、またはメッシュ）であって、傷への適用に適し、適用後、傷治癒を促進する送達システムを提供する。

【0019】

第四の局面において、本発明は、

(i) APC、

(ii) APC の機能性断片、

(iii) APC 模似化合物、および

(iv) タンパク質 C、

10

の1つ以上を含む作用剤の、被験者における傷治癒を促進するための薬剤を調製するための使用を提供する。

【0020】

第五の局面において、本発明は、

(i) APC、

(ii) APC の機能性断片、

(iii) APC 模似化合物、および

(iv) タンパク質 C、

の1つ以上を含む作用剤の、送達システムを調製するための使用であって、前記送達システムが傷への適用に適し、適用後、傷治癒を促進する使用を提供する。

20

【発明を実施するための最良の形態】

【0021】

本発明において使われる APC および / またはタンパク質 C は、適した供給源（例えば、ヒトまたは他の動物から採取した血液）からの精製によって得る、または、例えば、非特許文献 36 に記載されているような標準的な組換え DNA 技術によって生成することができる。組換え APC またはタンパク質 C は、例えば、各タンパク質の生物学的活性または発現を増強するかもしれない修飾（例えば、アミノ酸置換、欠失、および異種アミノ酸配列の付加）を組み込んでいてもよい。しかしながら、好ましくは、本発明は、ヒト APC および / またはタンパク質 C を使う。また、APC および / またはタンパク質 C は、当該分野においてよく知られ、酵素または非酵素手段を含むことができる方法によって、グリコシル化されていてもよい。

30

【0022】

APC の適した機能性断片は、精製された天然 APC または組換え APC を、トリプシンなどのよく知られたプロテアーゼその他同種類のもので切断することによって、あるいは、より好ましくは、組換え DNA 技術またはペプチド / ポリペプチド合成によって、生成することができる。そのような機能性断片は、候補断片を作製し、例えば、ここに提供された実施例において記載された方法と同様の方法で、ニワトリ胚子の漿尿膜（CAM）における MMP - 2 の活性、傷つけられた内皮单層細胞の修復の促進、および / または、血管新生について、アッセイすることにより、生物学的活性を評価することによって、同定することができる。好ましくは、機能性断片は、5 から 100 アミノ酸長、より好ましくは 10 から 30 アミノ酸長であるであろう。機能性断片は、直鎖状または環状であることができ、それらが由来する天然 APC 配列のアミノ酸配列の修飾（例えば、アミノ酸置換、欠失、および異種アミノ酸配列の付加）を含むことができる。機能性断片は、当該分野においてよく知られ、酵素または非酵素手段を含むことができる方法によって、グリコシル化されていてもよい。

40

【0023】

適した APC 模似化合物（すなわち、APC の機能をまねた化合物）は、第二および第三の構造の情報が無い状態で、ペプチド配列に基づいてペプチドの模似物を設計するために当該分野においてよく知られた任意の方法を用いて設計されることができる（非特許文献 28）。例えば、ペプチド模似化合物は、限定された領域のペプチドの疎水性を増すた

50

めに、アミノ酸側鎖を修飾する（例えば、ペプチドの芳香族残基における水素をメチル基で置換する）、アミノ酸側鎖を非アミノ酸側鎖に置換する（例えば、ペプチドの芳香族残基を他のアリール基に置換する）、および、アミノ-および/またはカルボキシ-末端を様々な置換基で置換する（例えば、疎水性を増すために、脂肪族基を置換する）ことによつて生成することができる。あるいは、擬似化合物は、ペプチド基幹の修飾（すなわち、例えば、基幹における窒素原子を炭素原子に置換することによって、アミド結合の代わりを導入することによる）を含む、または、N-置換化グリシン残基、1つ以上のD-アミノ酸（L-アミノ酸に代わって）、および/または、1つ以上の-L-アミノ酸（-アミノ酸または-L-アミノ酸に代わって）含む、いわゆるペプトイド類（すなわち、非ペプチド類）であることができる。さらに、擬似化合物の代替物は、ペプチド結合が逆方向であり、基づくペプチド配列においてD-アミノ酸がL-アミノ酸の順序と逆の順序で会合している「レトロインベルソ（retro-inverso）ペプチド類」、および、ステロイド類、糖類、ベンズアゼパイン1,3,4-三置換化ピロリジノン、ピリドン類、およびピリドピラジン類などの他の非ペプチド骨格を含む。適切な擬似化合物は、天然生成物のスクリーニング、ファージ呈示ライブラリーの生成（非特許文献29）、最小化タンパク質（非特許文献30）、SELLEX（アプタマー（aptamer））選択（31）、コンビナトリアルライブラリー、および、集束されたコンビナトリアルライブラリー、仮想スクリーニング/データベース検索（非特許文献32）、及び当該分野でよく知られた理論的ドラッグデザイン技術（非特許文献33）による構造上のモデリング/測定によつて、設計され/同定されることもできる。10  
20

#### 【0024】

本発明は、一般的に傷治癒を促進するのに適しているが、緩やかに治癒する傷、そうでなければ「慢性的な傷」、「治癒が弱められた傷」、または「潰瘍」として知られている傷の促進に適用することに特に適しており、そして、上述された任意の傷のタイプに適用することができる。しかしながら、好ましくは、本発明は、30

(i) 血圧、脈管炎、動脈および静脈の疾患を伴う皮膚潰瘍などの皮膚潰瘍（例えば、糖尿病をわざらっている患者、老齢の患者において、静脈機能不全および脳血管発作を伴い、皮膚上の直接的な圧力または剪断力および摩擦により生じる床ずれ、もしくは局所的な組織傷害の結果生じる）、

(ii) やけど、30

(iii) 口の傷（例えば、歯肉炎によって引き起こされる）、

(iv) 眼の傷（例えば、傷害、手術またはレーザー治療により生じた角膜の傷）、

(v) 皮膚以外の傷（例えば、胃/食道潰瘍、腫瘍、および内傷、または手術（プラスチック手術を含む））、

(vi) 虚血-再灌流傷害（例えば、心筋梗塞の結果生じる）、

(vii) リューマチ性関節炎および変形性関節炎など、骨格筋疾患において生じる骨および軟骨の損傷、および

(viii) ワルファリン関連皮膚壞死

からなる群から選択された傷に適用される。40

#### 【0025】

作用剤は、APC、APCの機能性断片、APC擬似化合物、およびタンパク質Cからなる群の1つ、またはいくつか、もしくは全ての混合物であることができる。

#### 【0026】

好ましくは、作用剤は、傷治癒の過程の凝固/炎症の段階が実質的に終わるように、創傷から十分な期間が経過した後、被験者に投与される。実際には、作用剤の投与は、創傷後、1から48時間以内に、より好ましくは創傷後、1から10時間以内に行なうことがほしい。

#### 【0027】

作用剤は、薬剤処方として、あるいは傷に適用される送達システム（例えば、ゲルフォーム（Gel foam）などのゼラチンスポンジ、細糸ガーゼ、ナイロンメッシュ、ある50

いはバンドエイド( Band - a i d ) (商標)などの粘着性プラスチック細片)に組み込んで、経口あるいは全身経路を介して、あるいは傷への直接適用(例えば局所投与)によって、被験者に投与することができる。

#### 【 0 0 2 8 】

作用剤の有効量は、処置される傷の型、部位および重傷度に依存して変動することが予想できる。最適な結果を得るために、量を適切に調節することは、十分に当業者の技術範囲内であろう。しかしながら、たいてい、作用剤の有効量は、体重1kg当たり0.01から10000μg、より好ましくは体重1kg当たり0.1から1000μg、そして、最も好ましくは体重1kg当たり1から200μgの範囲であることが予想される。

#### 【 0 0 2 9 】

本発明による薬剤は、好ましくは、薬剤1g当たり0.01から1000μgの範囲の量の作用剤を、薬学的に許容可能な担体(例えば、クリームまたはゲル薬剤のためのゼラチンおよび/またはコラーゲン;点滴薬のための生理食塩水、または、リン酸緩衝液など;または、乾燥粉末のためのデンプン、ゼラチン、寒天、糖、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルアルコール、ステアリン酸マグネシウム、およびアルギン酸ナトリウムなど)と混合して、含む。皮膚以外の傷、虚血・再灌流傷害での使用のために、本発明の薬剤は、経口または全身投与用に処方されることができる。

#### 【 0 0 3 0 】

本発明による薬剤および送達システム(すなわち、ゲル、スポンジ、ガーゼおよびメッシュ)は、タンパク質Cの経路に関与する他の分子(例えば、タンパク質S、E P C R、因子V/Va、または因子VIII/VIIIa);クロルヘキシジン、ポビジンヨード、およびシプロフロキサシンなどの抗菌剤;ヘパリンまたは抗トロンビンIIIなどの抗凝固薬;デキサメサゾンなどのステロイド;炎症阻害剤;カルシウムチャネル遮断薬などの心血管薬;上皮成長因子などのサイトカイン/成長因子;ブピバカインなどの局所麻酔剤;タクソールなどの抗がん剤;ポリクローナル、モノクローナルもしくはキメラ抗体、または、細胞増殖を調節する抗体などのそれらの機能性誘導体または断片など、他の活性化合物もしくは物質を1つ以上含むことができる。

#### 【 0 0 3 1 】

さらに、本発明による薬剤および送達システムがタンパク質Cを利用する場合、薬剤および送達システムは、適切な量のタンパク質を活性化するための薬剤(例えば、トロンビン、カリクレインおよび/またはトロンボモジュリン)を含むこともできる。

#### 【 0 0 3 2 】

本明細書を通して、用語「含む(comprise)」、または「含む(comprises)」もしくは「含む(comprising)」などの語尾変化は、記述された要素、整数(integer)、もしくは方法、または要素、整数、もしくは方法の群を包含することを意味するが、他のいかなる要素、整数もしくは方法、または要素、整数もしくは方法の群をも除外することを意味しないと理解されるであろう。

#### 【 0 0 3 3 】

本明細書に含まれている文書、法令、物質、装置、もしくは物品などのいかなる議論も、単に、本発明のための前後関係を供することを目的としたものである。これらの事柄のいくつか、もしくは全てが、従来技術の基礎の部分を形成する、または、本出願の各請求項の優先日前にオーストラリアに存在していたとして本発明に関する分野において一般に広く行き渡った知識であったことを、認めたものとして解されるべきではない。

#### 【 0 0 3 4 】

本発明は、以後、以下の限定されない実施例と添付図面として記載されるであろう。

#### 【 0 0 3 5 】

##### [実施例1]

###### A P Cによる内皮細胞傷害の修復の促進

活性化タンパク質C(A P C)は、以前に記載された(非特許文献19)ように、in vitroアッセイの修飾を用いて、内皮細胞の創傷の修復を促進する性能について、

10

20

30

40

50

試験した。簡単には、新生児の包皮由来の融合性微小血管内皮細胞（F S E）を、5日間、培養培地（50 μg / ml ヘパリン、50 μg / ml 内皮細胞培養補助剤、および5%ヒト血清を加えたバイオリッヂ（B i o r i c h））中、24穴培養プレートで培養した。内皮単層細胞は、ピペットチップで穴の直径を端から端まで一なすることにより、傷つけた。次いで、培地と取り除かれた細胞を吸引し、プレートを、ハンクス（H a n k s）緩衝液で洗った。新鮮な培養培地を、様々な濃度のA P C、または強力な腫瘍促進血管新生因子、ホルボールミリストアセタート（P M A）（10 ng / ml）と共に、プレートに加えて、細胞を37℃で培養した。24時間後、傷の幅を顕微鏡的に視覚化し、A P Cの異なる用量での結果は画像処理を用いて定量化し、用量応答曲線を作製した（図1）。75 nM A P C の存在下で培養した細胞は、24時間以内に、ほとんど完全に傷を閉合し、A P C を用いずに培養した細胞よりも2倍以上の遊走反応を示した。100 nMでは、さらには増強しなかった。A P C（75 μM）は、およそP M Aと同程度の活性を有していた。  
10

#### 【0036】

##### [実施例2]

###### A P Cによる血管新生の促進

ゼラチナーゼAを活性化し、内皮細胞創傷を促進するA P Cの性能に鑑みて、A P Cが血管新生を促進し得るかどうかについて調べた。A P Cを、ゼラチンスポンジ（G e l f o a m）を用いたニワトリ胚子漿尿膜（C A M）アッセイに加えた。スポンジは、およそ2 mm × 2 mmに切断した。リン酸緩衝生理食塩水（P B S）中5 μgのA P C、またはA P C単独をゼラチンスポンジに加え、次いで9日目のC A Mの上に、以前記載したように（非特許文献34）置いた。C A Mは、毎日視察し、14日目に撮影し、組織学的薄切のために固定した。肉眼的には、14日目に、A P Cで処理したゼラチンスポンジは、スパーク・ホイール（s p o k e - w h e e l）パターンでスポンジに向かって内部に急速に成育する血管により取り囲まれた（データ省略）。これに対して、P B Sで処置したゼラチンスポンジは、取り囲む血管が形成されなかった。組織学的切片により、A P Cで処理されたスポンジが、多くの新しい血管に浸潤されている（血管新生）ことが示された（図2）。さらに、A P Cで処理されたスポンジ中に、広範囲にわたる纖維芽細胞の遊走があった。また、顕著な上皮細胞層の増殖があり、ゼラチンスポンジ上で外胚葉が完全に成育していた。スポンジの外縁で、層化と退縮が、この再上皮化に伴った。また、内胚葉も、いくつかの切片で層化し、絨毛形成することが示され、絨毛から落ちた細胞の存在を示した（省略）。A P Cで処理されたスポンジに対して、P B S対照スポンジでは、再上皮化、内皮細胞または纖維化細胞の浸潤のいずれの証拠もほとんどなかった。  
20  
30

#### 【0037】

##### [実施例3]

###### A P Cによる傷治癒の促進

血管内皮細胞の遊走を刺激し、再上皮化、纖維芽細胞の浸潤および血管新生を高めるA P Cの性能に鑑みて、ラットモデルにおいて傷治癒を増進する能力について、A P Cを調べた。スプラーグ・ドーリー（S p r a g u e - D a w l e y）ラットを、麻酔し、8 mmのパンチ生検を用いて、ラットの背中に、その下にある背部側部の骨格筋膜を露出するように、4つの十分に深い傷を切開した。滅菌したガーゼで均一に圧迫することにより、止血した。A P Cは、等張性、滅菌、発熱物質不含生理食塩溶液中に希釈し、各切開は、滅菌、発熱物質不含生理食塩溶液、または20 μgのA P Cを含む生理食塩水50 μlの局所塗布により、処置した。傷は、包帯をせずに開けたままにしておき、ラットは、1かご当たり1匹ずつかごに入れた。傷の閉合は、40時間、4日および7日後に、視覚的に評価した。各時点で、傷を、ニコン・クールピクス（N i k o n C o o l p i x）950を用いて、フレームにおける距離校正目盛りと共に、デジタル方式で撮影した。傷の面積を、画像解析（S c i o n I m a g e）によって算出した。40時間後に、対照と比べて、A P C処理された傷における傷の閉合に、顕著な視覚的向上があった。4日目において、画像解析の結果により、対照と比べて、A P C処理された傷の大きさに有意な減少  
40  
50

が示された(図3)。この違いは、7日目に、維持されていた(図3c、\*\*p<0.01、\*\*\*p<0.001)。

#### 【0038】

##### [実施例4]

###### APCによる傷治癒の促進

ラットモデルにおける傷治癒を増進する能力について、APCをさらに調べた。スプラーグ・ドーリーラットを麻酔し、8mmのパンチ生検を用いて、ラットの背中について、その下にある背部側部の骨格筋膜を露出するように、4つの十分に深い傷を切開した。滅菌したガーゼで均一に圧迫することにより、止血した。APCは、等張性、滅菌、発熱物質不含生理食塩溶液中に希釈し、各切開は、滅菌、発熱物質不含生理食塩溶液、または以下: 0 μg APC(対照、ラット3匹、傷12箇所)、10 μg APC(ラット3匹、傷12箇所)、40 μg APC(ラット4匹、傷16箇所)、70 μg APC(ラット3匹、傷12箇所)、または100 μg APC(ラット3匹、傷12箇所)を含む生理食塩水50 μlの局所塗布により、直ちに処置した。傷は、包帯をせずに開けたままにしておき、ラットは、1かご当たり1匹ずつかごに入れた。傷の大きさは、1、3、5、7、および9日後に、画像解析により測定した。各時点で、傷を、ニコン・クールピクス995を用いて、デジタル方式で撮影した。傷の面積を、画像解析(Scion Image)によって算出した。結果を図4に示す。1日後に、10または40 μg APCで処置した傷の大きさに有意な減少があった。対照と70または100 μg APCで処置したラットとの間には、差異が無かった。傷の大きさにおける有意な減少は、40 μg APCで最も顕著であり、1、3、7、および9日目で見られた(\*\*p<0.01、\*p<0.05、コスタット(Costat)を用いたスチュードントのt検定)。

#### 【0039】

##### [実施例5]

###### APCによる傷治癒の促進

ラットモデルにおける傷治癒を増進する能力について、APCをさらに調べた。スプラーグ・ドーリーラットを、実施例4で記載したように、傷つけた。APCは、等張性、滅菌、発熱物質不含生理食塩溶液中に希釈し、各切開は、滅菌、発熱物質不含生理食塩溶液、または、40 μg APCを含む生理食塩水50 μlの局所塗布により、処置した。48時間後、傷は、40 μg APCの2回目の塗布により処置した。傷は、包帯をせずに開けたままにしておき、ラットは、1かご当たり1匹ずつかごに入れた。傷の閉合は、1、2、3、4、5、7、および9日後に、視覚的に評価した。各時点で、傷を、ニコン・クールピクス995を用いて、デジタル方式で撮影した。傷の面積を、画像解析(Scion Image)によって算出した。結果を図5に示す。対照よりもAPCで処置したラットの治癒が早く(p<0.01)、1日後に、傷の大きさに有意な差異があった。この差異は、2、3、および7日において認められた(\*\*p<0.01、\*p<0.05、コスタット(Costat)を用いたスチュードントのt検定)。

#### 【0040】

##### [実施例6]

###### 糖尿病ラットにおけるAPCによる傷治癒の促進

糖尿病ラットモデルにおける傷治癒を増進する能力について、APCをさらに調べた。糖尿病モデルは、ゆっくりと傷治癒することが十分に記載されているモデルであるため、選択した(非特許文献35)。糖尿病は、スプラーグ・ドーリーラットにおいて、ストレプトゾトシンの腹膜内注射の標準的な方法を用いて、誘発させた。1週間後、ラットの血中グルコース濃度は、20 mMより大きく、糖尿病であることを示していた。糖尿病ラットは、前記実施例4で記載したように、8mmパンチ生検を用いて傷つけて、直ちに、20 μg APC(ラット2匹、傷7箇所)で処置し、または、試験剤で処置しなかった(対照、ラット1匹、傷4箇所)。傷は、包帯をせずに開けたままにしておき、ラットは、1かご当たり1匹ずつかごに入れた。傷の閉合は、1、2、3、4、5、7、および9日後に、視覚的に評価した。各時点で、傷を、ニコン・クールピクス995を用いて、デジタ

ル方式で撮影した。傷の面積を、画像解析（S c i o n I m a g e）によって算出した。結果を図6に示す。対照とA P Cで処置したラットとの間で、傷治癒の速度（回帰直線の傾斜）に有意な差異があり、後者がより早く治癒した（ $p < 0.01$ ）。

#### 【産業上の利用可能性】

##### 【0041】

結果：

内皮細胞の創傷を修復するA P Cの性能は、ラットにおける傷治癒を促進するだけでなく、再上皮化、纖維芽細胞の浸潤および血管新生を促進し、A P Cが有効な傷治癒剤であるであろうことを示す。

##### 【0042】

10

多くの変化、および／または、変更を、広く記載された本発明の精神または範囲から逸れることなく、具体的な実施態様において示されたように、本発明に施すことができることは、当業者にとって認識されるであろう。それゆえ、本実施態様は、全ての点において、例示するものであり、制限するものではないと思料されるべきである。

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【0043】

20

【図1】図1は、「傷つけられた」包皮内皮（F S E）培養単層細胞の修復時におけるA P Cの効果を示す。単層細胞は、ピペットチップでこすり取り、洗浄し、様々な量のA P C、P M Aを含む培地、または無処理の培地で、覆った。細胞は、実施例において記載されたように、傷の閉合について測定する前に、37で24時間培養した。示された結果は、複製された傷の選択された単位面積当たり、傷中に遊走している細胞数（平均±標準偏差）を示す。同様の結果が二つの別々の実験で得られた。

【図2】図2は、ニワトリ胚子の漿尿膜（C A M）におけるA P Cの効果を示す。ニワトリ胚子は、1日目に滅菌されたウェイボート（w e i g h b o a t）中で、分割した。4日目に、ゼラチンスポンジを、リン酸緩衝生理食塩水（P B S）中5 $\mu$ gのA P C、またはP B S単独で処置し、次いで、C A Mの表面に置いた。9日目に、胚子を、ボーイン（B ou i n' s）液体で固定し、C A Mの上面に対して垂直に薄切り、マッソン（M a s s o n' s）染料で染色し、光学顕微鏡で観察した。A P Cで処置されたC A Mは、スponジ上での完全な再上皮化（細い矢印）（A）および多くの新しい血管（太い矢印）および纖維芽細胞の浸潤（斜め矢印）（B）を示している。P B Sで処置されたスponジでは、上皮の再成長はなく（太い矢印）、スponジ中へのごく僅かの細胞の浸潤がある（C、D）。

30

【図3】図3は、ラットの傷治癒モデルにおけるA P Cの効果を示す。スプラーグ・ドーリーラットを、傷つけ、次いで、A）生理食塩水、または、B）20 $\mu$ gのA P Cで処置し、4日後に撮影した。C）生理食塩水または20 $\mu$ gのA P Cでそれぞれ処置した2匹のラット（全部で8箇所の創傷）を用いた結果の概要。示された結果は、40時間、4日および7日後の傷面積の平均値±標準偏差（mm<sup>2</sup>）である。

【図4】図4は、ラットの傷治癒モデルにおける異なる用量のA P Cの効果を示す。正常のラットは、8mmのパンチ生検を用いて傷つけ、直ちに、0 $\mu$ g（対照、ラット3匹、傷12箇所）、10 $\mu$ g（ラット3匹、傷12箇所）、40 $\mu$ g（ラット4匹、傷16箇所）、70 $\mu$ g（ラット3匹、傷12箇所）、または100 $\mu$ g（ラット3匹、傷12箇所）のA P Cで処置した。傷の大きさは、1、3、5、7および9日後に画像解析によって測定し、示した結果は1、2、3、4、5、7および9日後の傷面積の平均値±標準偏差（mm<sup>2</sup>）である。

40

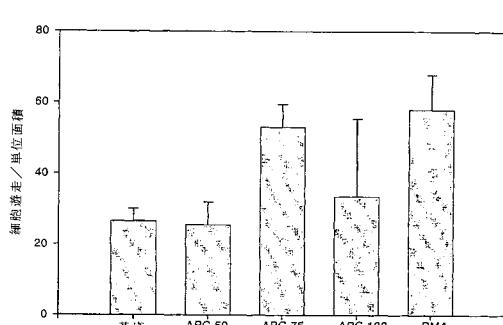
【図5】図5は、ラットの傷治癒モデルにおけるA P Cの効果を示す。正常ラットを、8mmのパンチ生検を用いて傷つけ、処置を行わない（対照、ラット2匹、傷7箇所）、または、2回、A P Cで処置を行った（創傷直後に40 $\mu$ g A P C、次いで1日後に、40 $\mu$ g A P Cの2回目処置）（ラット3匹、傷11箇所）。傷の大きさは、画像解析によって測定し、示した結果は1、2、3、4、5、7および9日後の傷面積の平均値±標準偏差（mm<sup>2</sup>）である。

50

【図6】図6は、糖尿病ラットの傷治癒モデルにおけるA P Cの効果を示す。ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットを、8mmパンチ生検を用いて傷つけ、直ちに、20 $\mu$ g A P Cを用いて（ラット2匹、傷7箇所）、または、試験作用剤を用いずに（対照；ラット1匹、傷4箇所）処置した。傷の閉合を、1、2、3、4、5、7および9日後に視覚的に評価した。対照ラットとA P C処置ラットの間で、傷治癒の速度に有意な差があり（回帰直線の傾斜）、後者の治癒の方が早かった（ $p < 0.01$ ）。

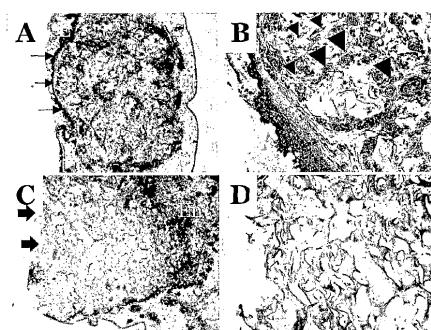
【図1】

Figure 1



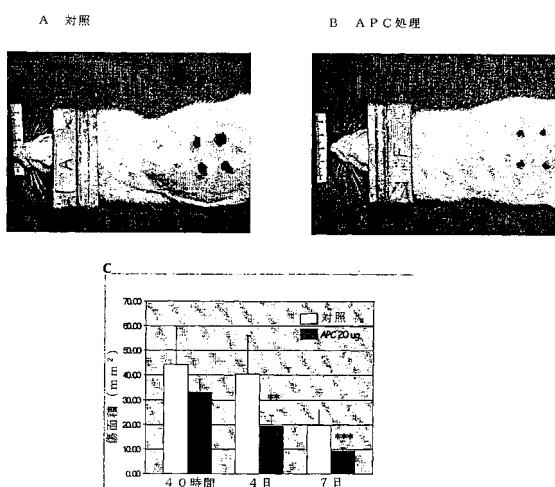
【図2】

Figure 2



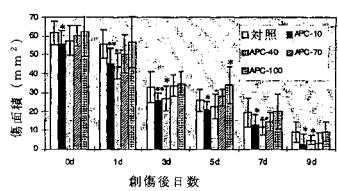
【図3】

Figure 3



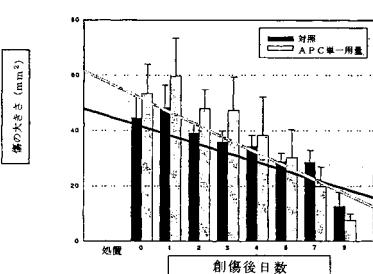
【図4】

Figure 4



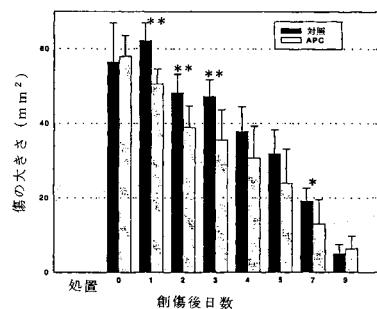
【図6】

Figure 6



【図5】

Figure 5



---

フロントページの続き

(74)代理人 100107836  
弁理士 西 和哉  
(74)代理人 100108453  
弁理士 村山 靖彦  
(74)代理人 100110364  
弁理士 実広 信哉  
(72)発明者 クリストファー・ジョン・ジャクソン  
オーストラリア・ニュー・サウス・ウェールズ・2079・マウント・コラー・スー・プレイス・  
17  
(72)発明者 フィリップ・ニール・サンブルック  
オーストラリア・ニュー・サウス・ウェールズ・2021・センテニアル・パーク・ロバートソン  
・ロード・27

審査官 大矢 由利子

(56)参考文献 特開平05-132427(JP,A)  
特開平08-325161(JP,A)  
国際公開第01/056532(WO,A1)  
国際公開第95/030429(WO,A1)  
岡嶋研二他、臨床血液、1992、Vol.33、No.6、p.767-769  
HIROSE,K. et al, Activated protein C reduces the ischemia/reperfusion-induced spinal cord injury in rats by inhibiting neutrophil activation, Ann Surg, 2000, Vol.232, No.2, p.272-80  
TAOKA,Y. et al, Activated protein C reduces the severity of compression-induced spinal cord injury in rats by inhibiting activation of leukocytes, J Neurosci, 1998, Vol.18, No.4, p.1393-8  
NGUYEN,M. et al, Activated protein C directly activates human endothelial gelatinase A, J Biol Chem, 2000, Vol.275, No.13, p.9095-8  
坪井良治、実験医学、1991、Vol.9、No.2、41-46  
OKADA,A. et al, Expression of matrix metalloproteinases during rat skin wound healing: evidence that membrane type-1 matrix metalloproteinase is a stromal activator of pro-gelatinase A, J Cell Biol, 1997, Vol.137, No.1, p.67-77  
松原正男、臨眼、1997、Vol.51、No.11(増刊号), 215-217

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/00-38/58  
CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)  
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)