

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4199308号

(P4199308)

(45) 発行日 平成20年12月17日(2008.12.17)

(24) 登録日 平成20年10月10日(2008.10.10)

(51) Int.Cl. F I
A 6 1 K 31/198 (2006.01) A 6 1 K 31/198
A 2 3 L 1/305 (2006.01) A 2 3 L 1/305
A 6 1 K 31/70 (2006.01) A 6 1 K 31/70
A 6 1 K 38/00 (2006.01) A 6 1 K 37/02
A 6 1 K 31/706 (2006.01) A 6 1 K 31/706

請求項の数 9 (全 20 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平10-508515	(73) 特許権者	ノバルティス アクチエンゲゼルシャフト
(86) (22) 出願日	平成9年7月29日(1997.7.29)		スイス国、4056 バーゼル、リヒトシ
(65) 公表番号	特表2000-515875(P2000-515875A)		ュトラーセ 35
(43) 公表日	平成12年11月28日(2000.11.28)	(74) 代理人	弁理士 川口 義雄
(86) 国際出願番号	PCT/EP1997/004125		
(87) 国際公開番号	W01998/004256	(74) 代理人	弁理士 小野 誠
(87) 国際公開日	平成10年2月5日(1998.2.5)		
審査請求日	平成16年6月30日(2004.6.30)	(74) 代理人	弁理士 大崎 勝真
(31) 優先権主張番号	08/690,476		
(32) 優先日	平成8年7月30日(1996.7.30)	(74) 代理人	弁理士 坪倉 道明
(33) 優先権主張国	米国(US)	(72) 発明者	シュナイダー, ハイנטツ
			スイス国、ツエー・ハー—1792・コル
			ダスト、ビュイラルト(番地なし)
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アミノ酸組成物およびその免疫抑制における使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

シクロスポリンまたはアスコマイシンによって誘発される腎機能障害の予防および／または治療のための医薬または栄養調合剤の調製におけるグリシンの使用であって、グリシンおよび場合によってL-アルギニンまたはL-オルニチンだけが医薬または栄養調合剤中の遊離アミノ酸である、前記使用。

【請求項2】

前記医薬または栄養調合剤がさらにL-アルギニンもしくは生理的に許容される一酸化窒素合成に関連するL-オルニチンまたはグリセロール、またはそれらの混合物から構成されている成分を含む請求の範囲第1項に記載の使用。

【請求項3】

前記栄養調合剤が食餌補給である、請求の範囲第1項または第2項に記載の使用。

【請求項4】

前記食餌補給が基本的にグリシンおよび炭水化物ソースから構成されている請求の範囲第3項に記載の使用。

【請求項5】

前記食餌補給がさらに蛋白質ソースを含む請求の範囲第4項に記載の使用。

【請求項6】

前記栄養調合剤が完全配合食餌である請求の範囲第1項または第2項に記載の使用。

【請求項7】

前記医薬がさらにシクロスポリンまたはアスコマイシンを含む請求の範囲第1項または第2項に記載の使用。

【請求項8】

治療上有効な量のシクロスポリンまたはアスコマイシンを、前記シクロスポリンまたはアスコマイシンによって誘発される腎機能障害を抑制および／または緩和するために有効な量のグリシンと併用して含み、グリシンおよび場合によってL-アルギニンまたはL-オルニチンだけが医薬または栄養調合剤中の遊離アミノ酸である、医薬または栄養調合剤。

【請求項9】

シクロスポリンまたはアスコマイシンによって誘発される腎機能障害の予防および／または治療のためグリシンを含む医薬または栄養調合剤であって、グリシンおよび場合によってL-アルギニンまたはL-オルニチンだけが医薬または栄養調合剤中の遊離アミノ酸である、前記医薬または栄養調合剤。

10

【発明の詳細な説明】

本発明は、シクロスポリンおよび／またはアスコマイシンの部類に属する物質によって誘発される腎機能障害に対して予防的および／または治療的処置をするため治療的に患者に投与することができる医薬または栄養調合剤の調製におけるグリシンの使用に関する。

シクロスポリンは、構造的に明確で、環状ポリN-メチル化ウンデカペプチドの部類を含み、各々程度の差こそあれ一般的に免疫抑制、抗炎症、抗ウイルスおよび／または抗寄生虫の作用を有している。最初に同定されたシクロスポリンは、菌類代謝中間物であるシクロスポリンA、すなわちCiclosporinであり、その構造は、メルク・インデックス第11版
(1989)、Merck & Co., Inc., Rahway, New Jersey, USAのリスト2759に記載されている。その後同定されたシクロスポリンは、シクロスポリンB、C、D、およびGであり、それらも同メルク・インデックスのリスト2759に列挙されている。多数の合成類似体もまた知られており、代表例がEP296123、EP484281およびGB2222770に開示されている。シクロスポリンAとその構造類似体および誘導体、ならびにそれらの代謝中間物を、本明細書では一般的に「シクロスポリン」と呼ぶ。

20

アスコマイシン類は、これらの中では、FK-506が最も知られているが、一般的免疫抑制物質の他の部類であり、またマクロライド免疫抑制剤とも呼ばれている。FK-506は、ストレプトマイセス・ツクバエンシス9993号によって産生されるマクロライド免疫抑制剤である。FK-506の構造は、上掲メルク・インデックスに品目A5として記載されている。FK-506の基本構造および免疫性を保持している多数の関連化合物も知られている。これらの化合物は、各種の刊行物、例えばEP184162、EP315973、EP323042、EP423714、EP427680、EP465426、EP474126、WO91/13889、WO91/19495、EP484935、EP532088、EP532089、WO93/5059などに記載されている。アスコマイシン、FK-506、およびそれらの構造類似体と誘導体、ならびにそれらの代謝中間物を、本明細書では一括して「アスコマイシン」と呼ぶ。

30

それらの極めて有用な薬性によって、シクロスポリン（特にシクロスポリンAおよびG）ならびにアスコマイシン（例えばFK-506）は、広範に、例えば、移植拒絶反応の予防、慢性関節リュウマチおよび乾癬などの自己免疫性病の治療、ならびに多薬剤抵抗の治療にも利用されている。シクロスポリンおよびアスコマイシンは、ある種の副作用も有しており、最も有名なものは特に多量服用時の腎機能障害、とりわけ尿毒症である。尿毒症は、腎血流と腎糸球体濾過の減少、それに伴う血清クレアチニン、アルカリホスファターゼおよび尿素の増加、ならびに近位細胞の肥大および壊死とマクロファージ浸潤とを特徴とする。ある研究では、酸素欠乏症が近位尿細管をかなり選択的に損傷することが示されており、血流減少が酸素欠乏症をもたらしかねない。この病理では、細胞内カルシウムがからんでいる証拠が提出されており、カルシウム回路ブロッカーが損傷を最小限にするのに有効である。しかしながら、Ca⁺⁺回路ブロッカーの投与は無害ではあり得ない。したがって、腎臓に対するこの重要な副作用について、有用な治療法が知られていないのが現状である。

40

50

驚くべきことに、グリシンがシクロスポリンまたはアスコマイシンによって誘発される腎機能障害に対する予防的および／または治療的処置に適していることが発見された。

本発明によれば、さらに詳細には、摂取グリシンが慢性シクロスポリンA投与尿毒症の主要副作用の一つを抑制および／または緩和することが発見された。グリシンは、腎糸球体濾過速度の減少を防止する。グリシンは、また血清クレアチニンおよび尿素の増加も防止し、シクロスポリンAによるアルカリホスファターゼの増加を最小限にすることに役立っている。近位尿細管の肥大および壊死ならびにマクロファージ浸潤もすべて摂取グリシンによって防止される。かくして、グリシンがシクロスポリンAによる尿毒症に対して主要な保護作用を有することは、明らかである。

前記の効果に鑑み、グリシンを含む医薬および／または栄養調合剤ならびにグリシンの使用法が存在する。本発明の医薬、栄養調合剤および方法での使用には、グリシンは、遊離アミノ酸の形態（塩ではない形態）で、グリシン前駆物質、特にアラニンまたはセリン（L-アラニンまたはL-セリン）の形態で、同様遊離アミノ酸の形態で、これらアミノ酸の生理的に許容される塩の形態で、または、これらアミノ酸および／または生理的に許容される塩の混合物の形態で、便宜よく使用される。グリシンは、好ましくは、遊離アミノ酸（塩ではない形態）の形態で、または生理的に許容される塩の形態で、あるいは遊離アミノ酸の形態のグリシンと生理的に許容される塩の形態のグリシンの混合物の形態で使用される。グリシンは遊離アミノ酸の形態が最も好ましい。グリシンはまた、本発明によればジペプチドの形態でも使用することができる。

それゆえ、本発明は、シクロスポリンまたはアスコマイシンによって誘発される腎機能障害の予防および／または治療のための医薬または栄養調合剤の調製にグリシンを使用する方法を提供する。

さらに、本発明は、シクロスポリンまたはアスコマイシンによって誘発される腎機能障害に対する予防的および／または治療的処置の方法であって、その処置が、その腎機能障害を抑制および／または緩和するために有効な量のグリシンを含む医薬または栄養調合剤を、シクロスポリンまたはアスコマイシンによる処置をする前、それと同時、またはその後、人間または他の哺乳動物に対して投与することを含む方法を提供する。

さらに、本発明は、シクロスポリンまたはアスコマイシンによって誘発される腎機能障害の予防および／または治療のためのグリシンを含む医薬または栄養調合剤も提供する。

また、本発明は、シクロスポリンまたはアスコマイシンによって誘発される腎機能障害を抑制および／または緩和するため有効な量のグリシンと併用される、治療上有効な量のシクロスポリンまたはアスコマイシンを含む医薬または栄養調合剤も提供する。

グリシンは、腎機能障害性尿毒症の予防的および／または治療的処置に特に有用である。グリシンは、シクロスポリンであるシクロスポリンA (Ciclosporin) および P S C 8 3 3 ([3 ' - デスオキシ - 3 ' - オキソ - M e B m t] ¹ [V a l] ² - Ciclosporin、例えば、E P 2 9 6 1 2 2 に記載されている)、特にシクロスポリンAによって誘発される腎機能障害の治療および／または予防にさらに特に有用である。

グリシンはまた、アスコマイシンである F K - 5 0 6 および A S M (3 3 - エピークロロ - 3 3 - デスオキシ - アスコマイシン、例えば欧州特許 4 2 7 6 8 0 の実施例 6 6 a に記載されている)、特に F K - 5 0 6 によって誘発される腎機能障害の治療および／または予防に特に有用である。

さらに、グリシンは、免疫抑制シクロスポリンまたはアスコマイシンによって誘発される腎機能障害の予防および治療に特に有用である。

その栄養調合剤または医薬は、患者に経腸的にまたは非経腸的に投与することができる。経腸投与経路が好ましい。特に計画された経腸投与経路は、経口投与および／または経管栄養法である。その医薬または処方、水性液の形態で便宜よく投与される。したがって、経腸投与に適する形態の医薬または処方、水性または粉末状であり、その場合、その粉末は、使用前に水に添加される。経管栄養法に使用するには、添加水の量は、とりわけ、患者の輸液要求度および病状に依存する。急性治療には、腸管外投与経路が好ましいことが理解される。

10

20

30

40

50

その医薬または調合剤については、患者に対してグリシンを24時間当たり1～80グラム、好ましくは10～60グラム、特に好ましくは15～30グラム投与するように調合することができる。医薬または調合剤の投与量は、患者に特有な必要度に大きく依存している。グリシンのかかる服用日量が所望効果のある治療のため、ならびに予防／事前処置のために適している。グリシンを含む医薬または調合剤は、患者の血漿中のグリシンの濃度が0.5～2.0ミリモル、好ましくは1.0～2.0ミリモルまで上昇するような量で患者に対して投与することができる。これより高い濃度も予想はされるが、酸の濃度がその処方または医薬の投与結果として増加すれば、相当大きな臨床効果が得られると期待されるので、グリシン濃度は1.2～1.5ミリモルの範囲にある。外傷性異化亢進患者には血漿グリシン、セリン、またはアラニンのレベルを健康個体の血漿グリシンのレベルに相当する約0.2～0.3ミリモルまで上げることが有用になることさえあり得る。

医薬または栄養調合剤は、遊離アミノ酸（蛋白質結合またはペプチド結合アミノ酸ではなく）として、グリシンだけおよび場合によってはL-アルギニンまたはL-オルニチンを含むことが好ましい。

グリシンが医薬の形態で投与される場合には、かかる医薬は、100グラム当たりグリシン0.1～99グラムを含むことになる。

一般的に、状況に応じて完全配合食餌（すなわち、基本的に全必要エネルギー、アミノ酸、ビタミン、ミネラルおよび微量元素を提供する食餌）または食餌補給であり得る栄養調合剤の形態でグリシンを投与すると、良好な効果が得られる。食餌補給は、典型的には、全日量カロリー摂取の5～20%、好ましくは約10%を提供する。その栄養調合剤は、便宜よく水性液形態で摂取される。したがって、栄養調合剤は、炭水化物ソース、脂質脂肪（脂肪ソース）、および／または蛋白質（窒素ソース）、ならびにグリシンを含み得、グリシンが配合食餌中に配合乾燥重量100グラム当たり約0.2～60グラム、好ましくは5～45グラム、とりわけ好ましくは乾燥重量100グラム当たり7.5～30グラム存在していることで特徴がある。好ましくは、その栄養調合剤は、さらに他の栄養的に有利な成分、例えば、ビタミン、ミネラル、微量元素、繊維質（好ましくは、可溶性繊維）を含む。炭水化物の量は、0～85重量%、好ましくは25～75重量%の範囲、脂肪の量は、0～30重量%、蛋白質の量は、0～75重量%、好ましくは15～65重量%の範囲にある。好ましい栄養調合剤は、下記を含む。すなわち、基本的にグリシンおよび炭水化物から構成された食餌補給、基本的にグリシン、炭水化物および蛋白質から構成された食餌補給、および／または基本的にグリシン、炭水化物、蛋白質、脂肪、ビタミン、ミネラル、および微量元素、ならびに場合によって繊維から構成された完全配合食餌である。かかる食餌補給または完全配合食餌は、好ましくは、さらにL-アルギニン、またはL-オルニチンもしくはグリセロールなど生理的に許容され、一酸化窒素合成に関連する他の化合物を含み、L-アルギニンが好ましい。

適当な窒素ソースの例としては、大豆などの栄養的に許容される蛋白質、または乳漿、カゼイン化合物もしくは脱脂粉乳などの牛乳からの蛋白質、および／またはそれらの蛋白加水分解物などがある。適当な炭水化物ソースとしては、すべての糖類、麦芽デキストリン、および澱粉などがある。適当な脂肪ソースの例としては、トリグリセリド、ならびにジ-およびモノグリセリドなどがある。

本発明の医薬または調合剤へ混合するのに適したビタミンの例としては、栄養的に受入れ可能な形態でのビタミンE、ビタミンA、ビタミンD、ビタミンK、葉酸、チアミン、リボフラビン、ビタミンB₁、B₂、B₆、およびB₁₂、ナイアシン、ビオチン、ならびにパントテン酸などがある。

この医薬または調合剤への混合するのに適したミネラル元素および微量元素の例としては、栄養的に許容される形態のナトリウム、カリウム、カルシウム、リン、マグネシウム、マンガン、銅、亜鉛、鉄、セレン、クロム、およびモリブデンなどがある。

とりわけ、この医薬または処方は、栄養的に許容される形態のベータカロチン（ビタミンA）、ビタミンE、ビタミンC、チアミン、ビタミンB₁₂、コリン、セレン、および亜鉛を含むことが好ましい。

本明細書で使用される語「可溶性繊維」とは、最終的に短鎖脂肪酸を生成するように結腸で相当な発酵を受けることができる繊維をさす。適当な可溶性繊維としては、場合によって加水分解されるペクチン、グアーゴム、イナゴ豆ゴム、キサンタンゴムなどがある。成人にとって一日当たり可溶性繊維全量は、便宜よく3～30グラムの範囲である。

グリシンを下記成分の一つまたはそれ以上と併用して使用する方法を示すことができる。

(i) 望ましい場合にはオメガー6 P U F Aと混和物として、オメガー3 ポリ不飽和脂肪酸 (P U F A)。

(i i) L-アルギニンもしくは生理的に許容され一酸化窒素合成に関連する化合物、またはそれらの混合物。

(i i i) 核酸塩基ソース。

その場合には、アルギニンまたは他の生理的に許容されポリアミン合成に関連する化合物、例えばオルニチンと併用してのグリシンを含む医薬または栄養調合剤の使用が好ましい。グリシン、アルギニン、またはオルニチン、およびオメガー3 ポリ不飽和脂肪酸 (P U F A) を含む医薬または栄養調合剤の使用もまた好ましい。

グリシンとの併用に適する核酸塩基ソースは、天然核酸塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド、RNA、DNA、それらの同等物および／またはこれらの化合物の一つもしくはそれ以上を含む混合物を含むか、またはそれらから構成される。

天然核酸塩基としては、プリンであるアデニンおよびグアニン、ならびにピリミジンであるシトシン、チミン、およびウラシルがある。その核酸塩基ソースが遊離核酸塩基の形態の場合には、ウラシルが好ましい。

天然ヌクレオシドとしては、リボヌクレオシドであるアデノシン、グアノシン、ウリジン、およびシチジン、ならびにデオキシリボヌクレオシドであるデオキシアデノシン、デオキシグアノシン、デオキシチミジンおよびデオキシシチジンがある。

天然ヌクレオチドとしては、天然ヌクレオシドのリン酸エステル、例えば、アデニル酸 (A M P)、グアニル酸 (G M P)、ウリジル酸 (U M P)、シチジル酸 (C M P)、デオキシチミジル酸 (d T M P) およびデオキシシチジル酸 (d C M P) 等一リン酸、ならびに天然ヌクレオシドの二リン酸および三リン酸、例えばA D PおよびA T Pがある。

イーストなどの精製核酸塩基ソースが好ましい。しかし、肉などの他のソースも使用することができる。核酸塩基ソースは、RNAであることが好ましい。

したがって、本発明は、有効量の、

(a) グリシン (成分 (a)) を、

(b) 望ましい場合にはオメガー6 P U F Aとの混和してオメガー3 P U F A (成分 (b)) と

(c) L-アルギニンもしくは生理的に許容され一酸化窒素合成に関連する他の化合物、またはそれらの混合物 (成分 (c)) と

(d) 核酸塩基ソース (成分 (d)) とから選択される一つまたはそれ以上の成分と併用して含む、医薬または栄養調合剤を提供する。

服用量は、医薬または栄養調合剤がマクロライド免疫抑制剤によって誘発される尿毒症の予防および／または治療に有効な量でなければならない。

かかる医薬または栄養調合剤の一単位用量は、好ましくは成分 (a) の1.5～80重量部、ならびに (b) ～ (d) から選択される一つまたはそれ以上の成分の下記の量を含む。すなわち、成分 (b) 0.1～20重量部、成分 (c) 3～40重量部、および成分 (d) 0.1～4.0重量部。特に好ましい一単位用量は、成分 (a) 1.5～80重量部、ならびにこれと併用して (b) ～ (d) から選択した一つまたはそれ以上の成分の下記の量を含む。すなわち、成分 (b) 2～5重量部、成分 (c) 7.5～20重量部、および成分 (d) 1.7～2.0重量部。

毎日投与の成分 (a) ～ (d) の量は、成分 (a) については1.5～80グラム、成分 (b) については、0.1～20グラム、好ましくは2～5グラム、成分 (c) については、3～40グラム、好ましくは7.5～20グラム、成分 (d) については、0.1～4.0グラム、好ましくは1.7～2.0グラムに便宜よく相当する。

10

20

30

40

50

成分 (d) に関しては、前記用量は、RNA、DNA、ヌクレオシド、またはヌクレオチドについて示している。核酸塩基については、核酸塩基の一重量単位がRNA、DNA、ヌクレオシド、またはヌクレオチドの2.5～3.0重量単位に相当するとする。

グリシンが前記成分 (b)、(c)、および (d) の一つまたは複数の成分と併用されて医薬または栄養調合剤に使用される場合には、かかる医薬または栄養調合剤は、一単位用量中に便宜よく、

(a) グリシン1.5～80重量部を、

(b) オメガー3ポリ不飽和脂肪酸2～5重量部と

(c) L-アルギニン、L-オルニチンもしくはグリセロール、またはこれらの混合物7.5～20重量部と

(d) RNA1.7～2.0重量部とから成るグループから選択される一つまたはそれ以上の化合物と併用して含む。

好ましい医薬または栄養調合剤は、一単位用量中に、

(a) グリシン1.5～80重量部を、

(c) アルギニン、3～40重量部、好ましくは7.5～20重量部、または生理的に許容されポリアミン合成に関連する他の一つもしくはそれ以上の化合物の相当量、またはアルギニンとかかる化合物との混合物の相当量と併用して含む。

さらに好ましくは、本発明の医薬または栄養調合剤は、成分 (a) を成分 (c) と重量比1対2～4対1、とりわけ好ましくは重量比1対1～2対1で組み合わせて含む。

さらに好ましい医薬または栄養調合剤は、一単位用量中に、

(a) グリシン1.5～80重量部を、

(b) オメガー3PUFA0.1～20重量部、好ましくは2～5重量部、および

(c) アルギニン3～40重量部、好ましくは7.5～20重量部、または生理的に許容されポリアミン合成に関連する他の一つもしくはそれ以上の化合物の相当量、またはアルギニンとかかる化合物の混合物の相当量と併用して含む。

オメガー3PUFAは、調合剤の保管中の過酸化から便宜よく保護する。

オメガー3PUFAを保管中の過酸化から保護する生理的に許容される方法は、当技術分野では知られている。それらとしては、オメガー3PUFAの生理的に許容されるマイクロカプセル封入、および脂肪酸を保護するに十分な量の生理的に許容される抗酸化剤の使用などがある。

生理的に許容されるマイクロカプセル封入への使用に適する典型的な例として、澱粉がある。マイクロカプセル封入は、それ自身周知の方法で行うことができる。マイクロカプセルは、アラビアゴムなどの生理的に許容される被覆剤によって、それ自身周知の方法で被覆することができる。

脂肪酸を過酸化から保護するのに適した抗酸化剤の典型的な例としては、抗酸化性ビタミン、例えばビタミンC、ビタミンE、またはそれらの混合物がある。

添加抗酸化剤の量は、オメガー3PUFAの過酸化を防止するのに十分な量でなければならない。かかる量については、容易に計算できる。一般的に、便宜のため、過酸化防止に使用の抗酸化剤はいずれも、過剰に使用される。オメガー3PUFAと併用して投与される薬剤が存在すると、抗酸化剤の使用量の調整が必要になることは、理解されよう。

オメガー3PUFAは、オメガー3PUFAの生理的供給に適した形態、例えば遊離酸の形態、トリグリセリドの形態、またはオメガー3PUFAの生理的に許容される天然ソースの形態で、使用することができる。かかる天然ソースとしては、アマニ油および魚油、例えばメンハーデン油、鮭油、さば油、まぐろ油、たら肝油およびアンチョビ油がある。前記天然ソース、特に魚油は、相当量のオメガー3脂肪酸を含んでいる。そのオメガー3PUFAがトリグリセリド形態で使用される場合には、前記トリグリセリドは、他の生理的に許容される脂肪酸とのエステルを含んでもよい。好ましいオメガー3PUFAとしては、遊離酸形態、トリグリセリド形態または高EPAおよび／もしくはDHA含量を有する天然ソースの形態での、エイコサペンタエン酸 (EPA) およびドコサヘキサエン酸 (DHA) がある。

10

20

30

40

50

オメガー３ P U F Aを前述の量より大量に投与できること、およびかかる大量が一般的に望ましい効果を阻害せずまたは望ましくない副作用も誘発しないことが、理解されよう。本発明の調合剤における成分（c）としての使用に特に適する化合物としては、Ｌーアルギニン、グリセロール、およびＬーオルニチンがあり、最も好ましくはＬーアルギニンがある。成分（c）は、遊離の形態、生理的に許容される塩の形態、例えばリン酸、クエン酸、酒石酸、フマル酸、アジピン酸、もしくは乳酸との塩の形態、または小ペプチドの形態で、使用することができる。好ましくは遊離の形態のＬーアルギニンを使用する。本明細書で使用する語「小ペプチド」は、２～６個、好ましくは２～４個のアミノ酸を有するペプチドを指す。

既に示した通り、オメガー３ P U F Aは、過酸化から保護されるか否かを問わず、魚油の形態で便宜よく投与される。かかる魚油は、オメガー６ P U F Aも含んでいる。

オメガー６ P U F Aは、免疫反応および手術時の感染抵抗に好効果も及ぼす。したがって、本発明の食餌は、さらにオメガー６ P U F Aも便宜よく含んでいる。

本発明の目的のためには、オメガー６ P U F Aは、遊離酸の形態で、またはオメガー６ P U F Aの生理的供給に適した形態、例えばトリグリセリドの形態が可能である。本発明による使用に特に適するオメガー６ P U F Aの例は、リノール酸およびアラキドン酸があり、リノール酸が最も好ましい。適当なオメガー６ P U F Aソースは、当技術分野では知られている。それらとしては、魚油および植物油がある。高リノール酸含量を有するオメガー６ P U F Aのソースとしては、ベニバナ油、ヒマワリ油、大豆油、綿実油およびトウモロコシ油がある。

オメガー６ P U F Aの１．５～５．０グラムの範囲での投与一日当りの用量は、一般的に好効果を達成するのに十分である。したがって、前記定義の医薬または栄養調合剤の単位用量はさらに、１．５～５重量部のオメガー６ P U F Aを含有しよう。

成分（b）、成分（c）、成分（d）およびオメガー６ P U F Aの他に、さらなる成分を本発明の食餌に添加することができ、グリシンの作用に有利な効果を及ぼすことができる。かかる有利な成分の例は、オメガー９ P U F Aである。かかる脂肪酸混合物の好ましい天然ソースは、魚油である。味および他の理由によって、その魚油は、経口利用形態としては、好ましくはカプセル封入形態で、使用する。

本発明の栄養調合剤を食餌補給に使用しようとする場合には、それによるエルネギー供給量は、患者の食欲を不必要に抑制しないよう、過剰となってはならない。その補給は、１５０～１０００キロカロリー／日、好ましくは２５０～５００キロカロリー／日を供給する量でのエネルギーソースを便宜よく含まなければならない。窒素ソース、炭水化物ソース、および脂質ソースの一日の全カロリーへの寄与は、広範に変化する。補給物として使用のためには、投与は粉末または液状の形態であろう。

その処置期間は、免疫抑制剤による治療期間と一致しよう。

日々の食餌補給物は、一日当たり１～４回の補給物投与に適した用量単位の形態で便宜よく投与されよう。その栄養調合剤がエネルギー源を含む場合には、１０００キロカロリー／日を超えて供給しないことが適切である。エネルギー供給についてのこの限度の他に、マクロライド免疫抑制剤によって誘発される尿毒症を予防および／または治療する栄養調合剤は、前記の通り、配合食餌または食餌補給の形態で、便宜よく供給できまた供給されよう。

薬学的に許容される経口投与のための典型的な調合形態（医薬）は、薬学的に許容される希釈剤、担体、ビタミン、スパイス、色素、および／またはこのような調合剤へ組入れるのに適している当業者には周知の他の補助剤、ならびに場合によってマクロライド免疫抑制剤をさらに含んでいよう。

本発明の食餌および調合剤は、それ自身周知の方法で、例えば成分を混合することによって、得ることができる。

本発明は、以下の実施例によってさらに示されるが、これはいかなる理由によっても本発明の範囲を限定することを意図するものではない。

実施例 1

10

20

30

40

50

動物および食餌

体重約200グラムの雄Sprague-Dawleyラット(Sasco)をグリシン5%およびカゼイン15%(グリシン)、またはカゼイン20%(対照)を含有する合成粉末食餌でシクロスポリンA治療開始に先立ち3日間飼育した。その粉末食餌の成分を表1に示す。全動物は、規定の指針を順守して人道的に取扱った。予備飼育期間後、シクロスポリンA(オリーブ油中に2.5mg/mlとなるよう溶かした25mg/kg)またはビヒクルを経口強制飼養によって約4週間毎日与えた。ラット各6~8匹の4グループ(対照、グリシン、シクロスポリン+対照、シクロスポリン+グリシン)について調べた。動物の体重および食餌消費量を毎日測定した。

表 1

10

対 照 お よ び グ リ シ ン 食 餌 の 組 成

成 分	対 照	グ リ シ ン
カゼイン	20.0	15.0
グリシン	0.0	5.0
ショ糖	50.0	50.0
トウモロコシ油	5.0	5.0
セルロース	5.0	5.0
ミネラル混合物	3.5	3.5
ビタミン混合物	1.0	1.0
D L -メチオニン	0.3	0.3
二酒石酸コリン	0.2	0.2
トウモロコシ澱粉	15.0	15.0

20

30

腎糸球体濾過速度および臨床化学

動物を犠牲にする前48~72時間代謝かごに入れ、24時間尿サンプルを収集し、血液0.5mlを血液クレアチニン測定のためにその尻尾の静脈から採取した。犠牲当日にさらに一回血液1mlを大静脈から採取し、等量のリンゲル乳酸塩溶液でおき替えた。血清尿素(Coulombe, J.J.およびL. Favreau, 1963. A new simple semimicro method for colorimetric determination of urea. Clin. Chem. 9:102~108)およびクレアチニン(Heinagard, D.およびG. Tiderstrom, 1973. Determination of serum creatinine by a direct colorimetric method. Clin. Chim. Acta. 43:305~310)ならびに尿クレアチニンをシグマキットを使用して測定し、他方血清アルカリホスファターゼを酵素法により測定した(血液サンプルは、約4週間のシクロスポリンA処置の後収集した)。腎糸球体濾過速度は、尿/血液中のクレアチニンの比から計算し(Laiken, N.D.およびD. D. Fanestil, 1985. Physiological basis of medical practice中のFiltration and Blood Flow. 編集者J.B. West. Williams & Wilkins, Baltimore/London. 461~471)、尿サンプルは、約4週間のシクロスポリンA処置の後に収集した。

40

組織学

50

動物を犠牲にする当日動物を、ペントバルビトール（50 mg/kg）にて麻酔し、腹部を切開し、大動脈に唇部を腎動脈支近くに位置させて24フランス静脈カニューレを挿入した。その大動脈は、上部で締め付け腎動脈支下部で結紮し、左腎を5 mlの正常食塩水で濯ぎ、リン酸塩緩衝塩水の4%パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定した。腎臓を除去し、厚さ0.5のスライスに切断し、10%ホルマリンに漬けた。ヘマトキシリン-エオジン染色切断を行い、顕微鏡的に分析した。肥大尿細管を低倍率（100倍）で異なる5視野で数え、壊死細胞および浸潤マクロファージを高倍率拡大（400倍）で異なる5箇所の尿細管において数え、平均値±平均標準誤差を計算した。

好中球の定量

血液塗抹標本を犠牲当日、大静脈サンプルから調製し、Wright Giemsa染色剤で染色した。200個の白血球について白血球分画カウントを高倍率（400倍）で行い、百分比を計算した。

10

統計

全統計について、一方向ANOVA及びBonferroniポストホック試験を使用した。p<0.05を研究前に有意表示のため選択した。

結果

臨床化学および腎糸球体濾過速度

シクロスポリンAが血清尿素を増加させることは知られている。事実、尿素は、この研究において70%以上増加した（表2）。グリシンは、この増加を最小にするのに役立っているが、その効果は統計的には重要でない。シクロスポリンAは、アルカリホスファターゼも増加させ（表2）、グリシンは、その増加を防止するのに役立っている。血清クレアチニンは、対照およびグリシン処置グループでは0.4~0.6 mg/dlの範囲にあるが（第1図）、シクロスポリンAによって有意義に倍増した。この増加は、グリシン入り食餌によって完全に防止された。数値は、平均値±平均標準誤差（ANOVAによりP<0.01；各グループでn=5~6）。対照と比較してa, p<0.05；シクロスポリンAグループと比較してb, p<0.05。

20

シクロスポリンAが腎糸球体濾過速度を低下させることも知られている。本研究では、シクロスポリンAグループの数値が対照またはグリシンだけのグループの数値の約30%であった（第2図）。腎糸球体濾過速度のこの減少はまた、食餌中のグリシンによって完全に予防された。全カロリー含量の1%をグリシンとして含む食餌は、この効果を上げるのに既に十分であった（結果は示さず）。数値は、平均値±平均標準誤差（ANOVAによりP<0.01；各グループでn=5~6）。対照と比較してa, p<0.05；シクロスポリンAグループと比較してb, p<0.05。尿量の相当大的な変化も認められた（対照では9.1±1.6 ml/24時間；グリシンでは6.7±0.8；シクロスポリンAでは14.4±2.3；グリシン+シクロスポリンAでは11.8±2.1）。

30

表 2

シクロスポリン A およびグリシン入り食餌の血清尿素およびアルカリホスファターゼのレベルに対する効果

	尿素 (mg/dl)	アルカリホスファ ターゼ (UL)	
対 照	21.8 ± 1.8	46.5 ± 4.4	10
グリシン	20.6 ± 2.4	33.1 ± 5.6	
シクロスポリン A	34.9 ± 3.7 ^a	65.9 ± 12.6	
シクロスポリン A + グリシン	31.2 ± 0.6 ^a	47.7 ± 8.8	

数値は、平均値 ± 平均標準誤差。ANOVA および Student-Newman-Keuls 試験により対照と比較して a, $p < 0.05$ (各グループで $n = 5 \sim 6$)。

20

組織学および白血球

シクロスポリン A が既に報告された通り関連した白血球浸潤とともに近位尿細管肥大および壊死を引き起こすことは明らかである。これらの効果は、グリシン含有食餌によって完全に予防された。平均して、近位細胞肥大および壊死ならびに浸潤マクロファージは、シクロスポリン A によって相当大きく増加した (第 3 図、第 4 図)。肥大近位尿細管 (第 3 図 A 分図) は、スライド当たり低倍率 (拡大 100 倍) の異なる 3 視野で数え、平均値 ± 平均標準誤差を計算した。壊死細胞 (第 3 図 B 分図) は、スライド当たり異なる 5 箇所の尿細管について高倍率 (400 倍) で数えた (ANOVA による平均値 ± 平均標準誤差^{*} = $p < 0.05$)。第 4 図で示すマクロファージは、治療無関知の審査員によってヘマトキシリン・エオジン染色部分において高倍率 (400 倍) で異なる 5 箇所の尿細管周辺を

30

数え、平均値 ± 平均標準誤差を計算した (ANOVA により^{*} = $p < 0.05$)。さらに、シクロスポリン A で処置したラットからの血液塗抹標本中の好中球数は約 3 倍増加した (第 5 図)。血液塗抹標本は、Wright Giemsa 染色剤で染色し、細胞分画カウントを行った (ANOVA により^{*} = $p < 0.05$)。

実施例 2：経腸栄養組成

下記組成中、MM は「ミネラル混合物」、SM は「微量元素混合物」、VM は「ビタミン混合物」を表す。これら 3 種の混合物の組成は、下記の通りである。

M M

成分	g / 1 0 0 g
麦芽デキストリン	3 4 . 4 0
クエン酸 / リン酸カリ	3 4 . 6 0
ニクエン酸マグネシウム	8 . 2 0
塩化カリシウム	8 . 0 0
クエン酸 / 塩化ナトリウム	9 . 0 0
クエン酸	3 . 5 0
酒石酸コリン	2 . 3 0

10

V M

成分	g / 1 0 0 g
麦芽デキストリン	4 3 . 4 4
アスコルビン酸ナトリウム	3 5 . 0 0
ビタミンE - 酢酸塩 5 0 %	1 6 . 0 0
ナイアシンアミド	1 . 5 5
ビタミンA - 酢酸塩	1 . 2 0
D - パントテン酸カルシウム	0 . 9 8
ビタミンK ₁ 1 %	0 . 7 1
ビタミンB ₁₂ 0 . 1 %	0 . 3 0
ビタミンD ₃	0 . 2 8
ビタミンB ₆	0 . 2 0
ビタミンB ₁	0 . 1 7
ビタミンB ₂	0 . 1 5
葉酸	0 . 0 2
ビオチン	0 . 0 1

20

30

40

S M

成分	g / 1 0 0 g	
麦芽デキストリン	4 7 . 7 9	
モリブデンイースト	1 8 . 0 0	
クロミウムイースト	9 . 2 0	
硫酸亜鉛	7 . 0 0	10
セレンウムイースト	7 . 0 0	
硫酸第一鉄 (I I)	6 . 9 2	
グルコン酸銅 (I I)	2 . 2 4	
硫酸マンガン (I I)	1 . 1 2	
フッ化ナトリウム	0 . 7 0	
ヨウ度カリ	0 . 0 3	
グリシンを含む組成 I		20

成分	g / 1 0 0 g	
水	7 7 . 4 0	
麦芽デキストリン	1 2 . 2 8	
カゼイン酸ナトリウム / カルシウム	4 . 6 0	
グリシン	3 . 0 0	
脂質 :		30
バーム油	2 . 3 3	
ヒマワリ油	0 . 2 6	
乳化剤 N a t h i n E	0 . 1 3	
	1 0 0 . 0 0	

グリシンを含む組成 I I

成分	g / 1 0 0 g	
水	7 7 . 4 0	
麦芽デキストリン	1 0 . 1 0	
カゼイン酸ナトリウム／カルシウム	4 . 6 0	
グリシン	3 . 0 0	10
M M	2 . 0 0	
S M	0 . 0 5	
V M	0 . 1 0	
ベータカロチン	0 . 0 3	
脂質：		
バーム油	2 . 3 3	
ヒマワリ油	0 . 2 6	20
乳化剤 N a t h i n E	0 . 1 3	

グリシンおよびアルギニンを含む組成

成分	g / 1 0 0 g	
水	7 7 . 4 0	
麦芽デキストリン	8 . 9 3	
カゼイン酸ナトリウム／カルシウム	4 . 6 0	
グリシン	3 . 0 0	30
アルギニン	1 . 1 7	
M M	2 . 0 0	
S M	0 . 0 5	
V M	0 . 1 0	
ベータカロチン	0 . 0 3	
脂質：		
バーム油	2 . 3 6	
ヒマワリ油	0 . 2 3	40
乳化剤 N a t h i n E	0 . 1 3	
	1 0 0 . 0 0	

グリシンおよび魚油（オメガー3脂肪酸）を含む組成

成分	g / 100 g	
水	77.40	
麦芽デキストリン	10.10	
カゼイン酸ナトリウム／カルシウム	4.60	
グリシン	3.00	
MM	2.00	10
SM	0.05	
VM	0.10	
ベータカロチン	0.03	
脂質：		
パーム油	1.32	
ヒマワリ油	0.23	
乳化剤 N a t h i n E	0.13	20
魚油 E P A X 3000TG	1.04	
	100.0	

グリシンおよびRNAを含む組成

成分	g / 100 g	
水	77.40	
麦芽デキストリン	9.96	30
カゼイン酸ナトリウム／カルシウム	4.60	
グリシン	3.00	
イースト抽出RNA	0.14	
MM	2.00	
SM	0.05	
VM	0.10	40
ベータカロチン	0.03	
パーム油	2.33	
ヒマワリ油	0.26	
乳化剤 N a t h i n E	0.13	
	100.00	

グリシン、アルギニン、および魚油（オメガ-3 脂肪酸）を含む組成成分

成分	g / 100 g	
水	77.40	
麦芽デキストリン	8.93	
カゼイン酸ナトリウム／カルシウム	4.60	
グリシン	3.00	
アルギニン	1.17	
MM	2.00	10
SM	0.05	
VM	0.10	
ベータカロチン	0.03	
脂質：		
バーム油	1.32	
ヒマワリ油	0.23	
乳化剤 N a t h i n E	0.13	
魚油 E P A X 3000TG	1.04	20
	100.00	

グリシン、アルギニン、およびRNAを含む組成成分

成分	g / 100 g	
水	77.40	
麦芽デキストリン	8.79	
カゼイン酸ナトリウム／カルシウム	4.60	
グリシン	3.00	30
アルギニン	1.17	
イースト抽出RNA	0.14	
MM	2.00	
SM	0.05	
VM	0.10	
ベータカロチン	0.03	
脂質：		
バーム油	2.33	40
ヒマワリ油	0.26	
乳化剤 N a t h i n E	0.13	
	100.00	

グリシン、RNA、および魚油（オメガ3-脂肪酸）を含む組成

成分	g / 100 g	
水	77.40	
麦芽デキストリン	9.96	
カゼイン酸ナトリウム／カルシウム	4.60	
グリシン	3.00	
イースト抽出RNA	0.14	10
MM	2.00	
SM	0.05	
VM	0.10	
ベータカロチン	0.03	
脂質：		
バーム油	1.32	
ヒマワリ油	0.23	20
乳化剤Nathin E	0.13	
魚油EPA X 3000TG	1.04	
	100.00	

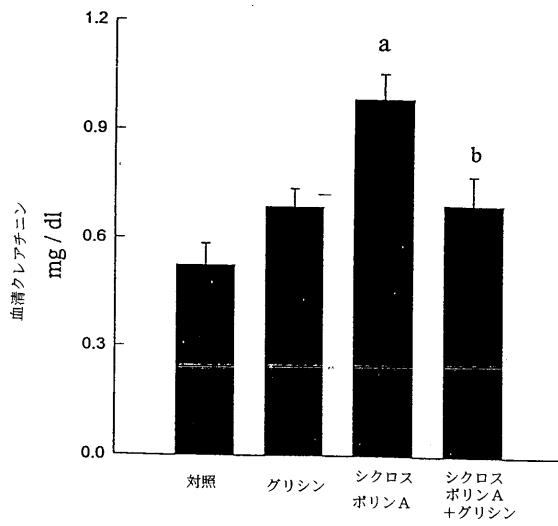
グリシン、アルギニン、RNA、および魚油（オメガ3脂肪酸）を含む組成

成分	g / 100 g	
水	77.40	
麦芽デキストリン	8.79	
カゼイン酸ナトリウム／カルシウム	4.60	
グリシン	3.00	10
アルギニン	1.17	
イースト抽出RNA	0.14	
MM	2.00	
SM	0.05	
VM	0.10	
ベータカロチン	0.03	20
脂質：		
パーム油	1.32	
ヒマワリ油	0.23	
乳化剤Nathin E	0.13	
魚油EPA X 3000TG	1.04	
	100.00	30

既に記述した通り、魚油は、オメガ3 PUFAの天然ソースであるが、他方ヒマワリ油は、オメガ6 PUFAの天然ソースである。

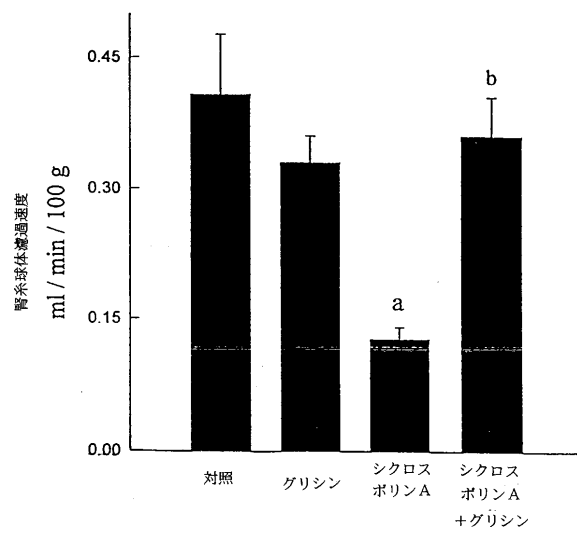
【図 1】

Fig. 1



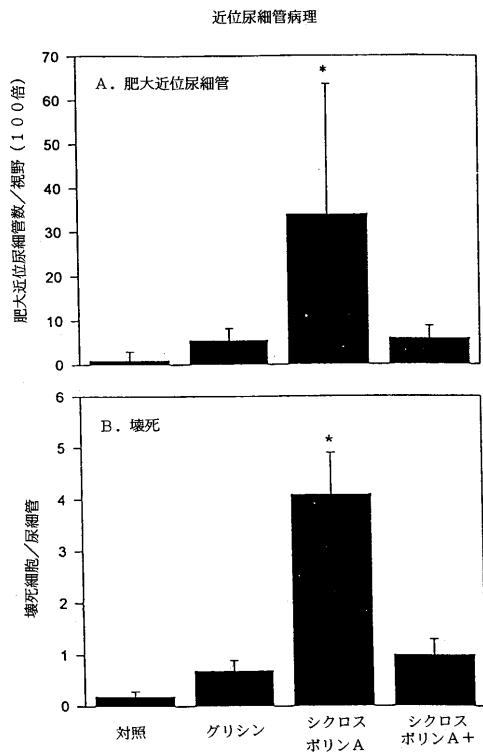
【図 2】

Fig. 2



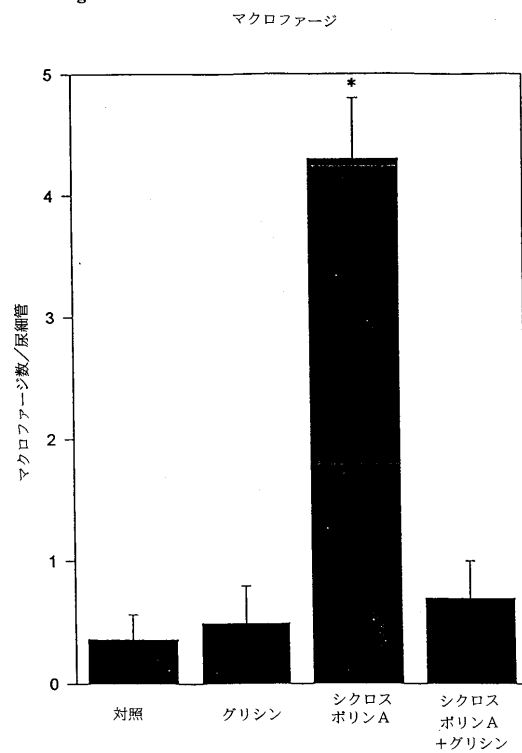
【図 3】

Fig. 3



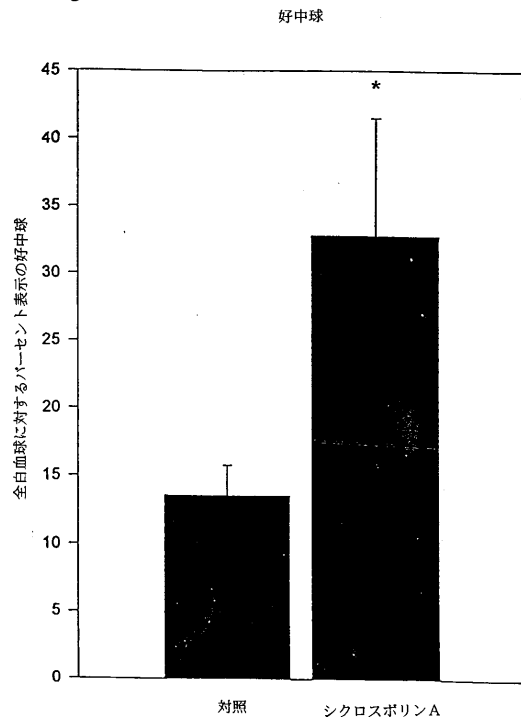
【図 4】

Fig. 4



【図 5】

Fig. 5



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 13/12 (2006.01) A 6 1 P 13/12

審査官 安居 拓哉

(56)参考文献 特表平03-502805 (JP, A)
国際公開第95/029675 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/198
A61P 13/12
BIOSIS(STN)
CAplus(STN)
EMBASE(STN)
MEDLINE(STN)
REGISTRY(STN)