

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年11月28日(28.11.2024)



(10) 国際公開番号

WO 2024/242111 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 45/00 (2006.01) A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/195 (2006.01) A61P 25/04 (2006.01)
A61K 31/277 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2024/018707

(22) 国際出願日: 2024年5月21日(21.05.2024)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2023-083875 2023年5月22日(22.05.2023) JP

(71) 出願人: 国立大学法人大阪大学 (OSAKA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 Osaka (JP).

(72) 発明者: 糸数 隆秀 (ITOKAZU, Takahide); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 山下 俊英 (YAMASHITA, Toshihide); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 西岡 詩歩 (NISHIOKA, Shiho); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 澁谷 直 (SHIBUYA, Nao); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 弁理士法人三枝国際特許事務所 (SAEGUSA & PARTNERS); 〒5410045 大阪府大阪市中央区道修町1-7-1 北浜コニシビル Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATING NEUROPATHIC PAIN

(54) 発明の名称: 神経障害性疼痛治療用医薬組成物

(57) Abstract: Disclosed is a pharmaceutical composition for treating and/or preventing central neuropathic pain, the pharmaceutical composition containing at least one component selected from the group consisting of a JAK/STAT inhibitor, a CCL2 inhibitor, and an MMP2 inhibitor. Also disclosed is a pharmaceutical composition for treating and/or preventing neuropathic pain, the pharmaceutical composition containing at least one component selected from the group consisting of a JAK/STAT inhibitor, a CCL2 inhibitor, and an MMP2 inhibitor and being to be administered at intervals of 6 days or more.

(57) 要約: 開示されているのは、JAK/STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤からなる群から選択される少なくとも1種を含む、中枢性神経障害性疼痛の治療及び/又は予防用医薬組成物、並びに投与間隔が6日以上である、JAK/STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤からなる群から選択される少なくとも1種を含む、神経障害性疼痛の治療及び/又は予防用医薬組成物である。

WO 2024/242111 A1

明 細 書

発明の名称：神経障害性疼痛治療用医薬組成物

技術分野

[0001] 本発明は、神経障害性疼痛（特に中枢性神経障害性疼痛）の治療及び／又は予防用医薬組成物等に関する。

背景技術

[0002] 脳卒中は、日本の死因第4位に位置し、要介護状態になる要因の第1位としても知られている。また、医療費の高騰という社会的な側面からも、脳卒中に対する適切な治療を行い、予後を改善させることは重要な社会的課題と言える。脳卒中を一度発症すると、障害部位に応じて麻痺、疼痛障害、記憶障害、感染症、うつ、不安、痙攣などのさまざまな後遺症を発症することが多く（非特許文献1）、脳卒中罹患者においてQOL（Quality of Life）を低下させる重大な問題となっている。神経障害性疼痛の1つである脳卒中後疼痛（Central post-stroke pain；CPSP）は、感覚受容器に入力された外界情報が知覚神経を介して脊髓、視床を経由し、大脳皮質の頭頂葉に存在する体性感覚野に投射される経路である体性感覚経路が脳出血又は脳梗塞により損傷を受けることで引き起こされる。特に視床の損傷が脳卒中後疼痛を引き起こすことが多く、視床出血後に生じる慢性疼痛は難治性であり臨床上大きな問題となっている。発症率は、脳卒中患者の約8～11%を占めると言われている（非特許文献2）。現在、脳卒中後疼痛に対する根本的な治療法は確立されておらず、非ステロイド性抗炎症薬などの一般的な鎮痛薬の効果は極めて限定的であり、症状緩和のために抗うつ薬及び抗てんかん薬が試されているのが実情である（非特許文献3）。脳卒中後疼痛持続の背景病態は未だ十分に解明されておらず、分子メカニズムの解明とそれに基づく画期的な疼痛治療法の開発が待たれている。

[0003] AG490は、ベンジリデンマロニトリルの合成誘導体で、STAT3の

リン酸化を阻害する J A K 2 (J a n u s k i n a s e 2、S T A T 3 の上流遺伝子) リン酸化阻害剤である(非特許文献4)。S T A T 3は、サイトカイン結合後、サイトカイン受容体複合体に結合した J A K 2によって活性化される。S T A T 3のチロシン残基へのリン酸化は、S T A Tのホモ又はヘテロ二量化、細胞質から核への移動、特定の D N A エレメント (S T A T ー認識部位) への結合につながり、標的遺伝子発現を制御している(非特許文献5及び6)。A G 4 9 0の投与は、慢性的な痒み病態における痒みの改善(非特許文献7)、虚血後脳梗塞病態における神経細胞死、神経機能障害の減少(非特許文献8)をもたらすことが報告されている。しかしながら、脳卒中後疼痛病態下における A G 4 9 0の治療効果を示した研究報告はこれまでに無い。

[0004] A Z D 1 4 8 0は、J A K 1及びJ A K 2のA T P競合阻害剤であり、S T A T、特にS T A T 3の下流活性化を抑制することにより、癌モデルにおいて有益な効果を発揮する(非特許文献9及び10)。また、A Z D 1 4 8 0の投与は、自己免疫性脳脊髄炎の病態において、中枢神経組織におけるS T A T活性化の低下、病原性T h 1及びT h 1 7細胞応答の低下、樹状細胞及びマクロファージの機能変化、中枢神経組織への免疫細胞の浸潤能の低下などの効果をもたらすことが報告されている(非特許文献11)。しかしながら、脳卒中後疼痛病態下におけるA Z D 1 4 8 0の治療効果を示した研究報告はこれまでに無い。

[0005] S t a t t i cはS T A T 3阻害剤であり、S T A T 3の活性化、二量体化、核内移行を選択的に阻害し、S T A T 3依存性の癌細胞株においてアポトーシスを誘導する(非特許文献12)。S t a t t i cの投与は、アルツハイマー病及びうつ病、一過性中大脳動脈閉塞病態下において効果を示すことは報告されている。しかしながら、脳卒中後疼痛病態下におけるS t a t t i cの治療効果を示した研究報告はこれまでに無い。

[0006] B P ー 1 ー 1 0 2はS T A T 3阻害剤であり、S T A T 3が保有するS H 2ドメインの3つのサブポケットに結合することで、S T A T 3の活性化、

リン酸化、二量体化を阻害する（非特許文献13）。BP-1-102の投与は、虚血性脳卒中及び神経膠芽腫、頭蓋内動脈瘤病態下において効果を示すことが報告されている。しかしながら、脳卒中後疼痛病態下におけるBP-1-102の治療効果を示した研究報告はこれまでに無い。

先行技術文献

非特許文献

[0007] 非特許文献1: Watanabe, T., Tanaka, M., Watanabe, K., et al. Research and development of the free radical scavenger edaravone as a neuroprotectant. Yakugaku Zasshi; 124: 99-111 (2004).

非特許文献2: Bowsher D. Stroke and central poststroke pain in an elderly population. J Pain; 2(5):258-61 (2001).

非特許文献3: Kumar et al. Central poststroke pain: A review of pathophysiology and treatment. Anesth. Analg; 108: 1645-1657 (2009).

非特許文献4: Satriotomo I, Bowen KK, Vemuganti R. JAK2 and STAT3 activation contributes to neuronal damage following transient focal cerebral ischemia. J Neurochem 98(5):1353-1368 (2006).

非特許文献5: Brooks-Kayal AR, Raol YH, Russek SJ. Alteration of epileptogenesis genes. Neurotherapeutics 6(2):312-318 (2009).

非特許文献6: Imada K, Leonard WJ. The Jak-STAT pathway. Mol Immunol 37(1-2):1-11 (2000).

非特許文献7: Shiratori-Hayashi et al. STAT3-dependent reactive astrogliosis in the spinal dorsal horn underlies chronic itch. Nat Med 21(8):927-31 (2015).

非特許文献8: Pang et al. Apolipoprotein E Exerts a Whole-Brain Protective Property by Promoting M1 Microglia Quiescence After Experimental Subarachnoid Hemorrhage in Mice. Translational Stroke Research 9:654-668 (2018).

非特許文献9: Hedvat et al. The JAK2 inhibitor AZD1480 potently blocks

Stat3 signaling and oncogenesis in solid tumors. Cancer Cell 16: 487-497 (2009).

非特許文献10: McFarland et al. Therapeutic potential of AZD1480 for the treatment of human glioblastoma. Mol. Cancer Ther. 10: 2384-2393 (2011).

非特許文献11: Liu et al. Therapeutic Efficacy of Suppressing the JAK/STAT Pathway in Multiple Models of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. The Journal of Immunology. 192 (1) 59-72 (2014).

非特許文献12: Schust et al. Stattic: A Small-Molecule Inhibitor of STAT3 Activation and Dimerization. Chemistry & Biology. 1123-1124 (2006).

非特許文献13: Zhang et al. Orally bioavailable small-molecule inhibitor of transcription factor Stat3 regresses human breast and lung cancer xenografts. PNAS. Proc Natl Acad Sci. 109:9623-8 (2012).

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明は、神経障害性疼痛の治療及び／又は予防用医薬組成物を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、上記目的を達成すべく鋭意研究を重ねた結果、脳卒中後疼痛モデルマウスに、JAK／STAT阻害剤である、AG490、AZD1480、Stattic、BP-1-102を投与することにより、疼痛を改善することができ、更に疼痛の発生を予防することもできるという知見をえた。既存の薬剤は何れも対処療法的なものであり、いわゆる疾患修飾薬とは言えないものであり、効果も一時的であった。これに対して、本発明では、長期的な治療効果をもたらしており、JAK／STAT阻害剤は疼痛病態を修飾することで長期的な治療効果をもたらすことを示している。さらに、CCL2のノックアウト、及びMMP2阻害剤の投与によっても、JAK／

S T A T 阻害剤と同様に、脳卒中後疼痛モデルマウスにおいて疼痛を改善できることを確認した。

[0010] 本発明は、これら知見に基づき、更に検討を重ねて完成されたものであり、次の医薬組成物を提供するものである。

[0011] 項 1. J A K / S T A T 阻害剤、C C L 2 阻害剤、及びMMP 2 阻害剤からなる群から選択される少なくとも 1 種を含む、中枢性神経障害性疼痛の治療及び／又は予防用医薬組成物。

項 2. J A K / S T A T 阻害剤を含む、項 1 に記載の医薬組成物。

項 3. 前記中枢性神経障害性疼痛が、脳の障害が原因で生じる疼痛である、項 1 に記載の医薬組成物。

項 4. 前記中枢性神経障害性疼痛が、脳卒中後疼痛である、項 1 に記載の医薬組成物。

項 5. 前記中枢性神経障害性疼痛が、視床痛である、項 1 に記載の医薬組成物。

項 6. 前記S T A T がS T A T 3 である、項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

項 7. J A K / S T A T 阻害剤が、S T A T 3 のS H 2 ドメイン阻害剤、J A K 阻害剤、S T A T 3 のD N A 結合ドメイン阻害剤、J A K 又はS T A T 3 遺伝子に対してR N A i 効果を有する二本鎖R N A、及びJ A K 又はS T A T 3 遺伝子に対するアンチセンス核酸からなる群から選択される少なくとも 1 種である、項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

項 8. J A K / S T A T 阻害剤が、S T A T 3 のS H 2 ドメイン阻害剤及びJ A K 阻害剤からなる群から選択される少なくとも 1 種である、項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

項 9. 投与間隔が 6 日以上である、J A K / S T A T 阻害剤、C C L 2 阻害剤、及びMMP 2 阻害剤からなる群から選択される少なくとも 1 種を含む、神経障害性疼痛の治療及び／又は予防用医薬組成物。

項 1 0. J A K / S T A T 阻害剤を含む、項 9 に記載の医薬組成物。

項 1 1. 中枢性神経障害性疼痛を治療及び／又は予防する方法であって、JAK／STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤からなる群から選択される少なくとも1種を、該治療及び／又は予防を必要とする哺乳動物に投与する工程を含む、方法。

項 1 2. 神経障害性疼痛を治療及び／又は予防する方法であって、JAK／STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤からなる群から選択される少なくとも1種を、該治療及び／又は予防を必要とする哺乳動物に6日以上投与の間隔で投与する工程を含む、方法。

項 1 3. 中枢性神経障害性疼痛の治療及び／又は予防用医薬組成物の製造における、JAK／STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤からなる群から選択される少なくとも1種の使用。

項 1 4. 神経障害性疼痛の治療及び／又は予防用医薬組成物の製造における、JAK／STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤からなる群から選択される少なくとも1種の使用であって、該医薬組成物の投与間隔が6日以上である、使用。

発明の効果

[0012] 本発明の医薬組成物は、神経障害性疼痛（特に中枢性神経障害性疼痛）を治療及び予防することが可能である。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるAG490、AZD1480投与がもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。図中の凡例は以下の通りである。TH：視床出血，vehicle：薬剤群に対するコントロール群としての、溶媒投与群。値は平均±標準誤差である。各群n=7、*p<0.0001（何れもTH／vehicle群に対して。2-way ANOVA，Sidak検定）。

[図2]脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるStat1cがもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。図中の凡例は以下の通りである。TH：視床出血，vehicle：薬剤群に対するコントロール群とし

での溶媒投与群。値は平均±標準誤差である。各群 $n = 6$ 、 $* p < 0.0001$ (2-way ANOVA, Sidak 検定)。

[図3]脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるBP-1-102がもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。図中の凡例は以下の通りである。TH：視床出血，vehicle：薬剤群に対するコントロール群としての溶媒投与群。値は平均±標準誤差である。コントロール群 (TH/vehicle 群) $n = 6$ 、BP-1-102 投与群 $n = 8$ 、 $* < 0.0001$ (2-way ANOVA, Sidak 検定)。

[図4]脳卒中後疼痛モデルマウス超慢性期におけるBP-1-102がもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。図中の凡例は以下の通りである。TH：視床出血。値は平均±標準誤差である。BP-1-102 投与群 $n = 4$ 。下のグラフは、出血後74～81日目の平均値を投与前の値とし、出血後98～105日目の平均値を投与後の値とした。 $*** p < 0.0001$ (Paired t test)

[図5]視床出血発症初期におけるAG490の投与がもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。図中の凡例は以下の通りである。TH：視床出血。 $n = 6$ 、値は平均±標準誤差である。

[図6]脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期における既存JAK阻害剤（バリシチニブ）がもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。図中の凡例は以下の通りである。TH：視床出血。値は平均±標準誤差である。バリシチニブ投与群 $n = 4$ 。

[図7]脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるアストロサイト活性化阻害剤（フルオロクエン酸）の脳皮質S1領域への直接投与がもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。図中の凡例は以下の通りである。TH：視床出血，vehicle：薬剤群に対するコントロール群としての溶媒投与群。値は平均±標準誤差である。コントロール群 (TH/vehicle 群) $n = 4$ 、フルオロクエン酸投与群 $n = 5$ 。 $* p < 0.05$ 、 $**** p < 0.0001$ (2-way ANOVA, Sidak 検定)

[図8]脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるSTAT3阻害剤(BP-1-102)の脳皮質S1領域への直接投与がもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。図中の凡例は以下の通りである。TH:視床出血, vehicle:薬剤群に対するコントロール群としての溶媒投与群。値は平均±標準誤差である。コントロール群(TH/vehicle群) $n=5$ 、BP-1-102投与群 $n=6$ 。* $p<0.01$ 、*** $p<0.001$ 、**** $p<0.0001$ (2-way ANOVA, Sidak検定)

[図9]脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるアストロサイト特異的CCL2ノックアウトがもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。図中の凡例は以下の通りである。コントロール群: Aldh1l1-CreERT2-/-: CCL2 flox/flox群。値は平均±標準誤差である。各群 $n=7$ 。* $p<0.05$ 、** $p<0.01$ 、*** $p<0.001$ 、**** $p<0.0001$ (2-way ANOVA, Sidak検定)

[図10]脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるMMP2選択的阻害剤ARP100の脳室内への投与がもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。図中の凡例は以下の通りである。TH:視床出血, vehicle:薬剤群に対するコントロール群としての溶媒投与群。値は平均±標準誤差である。各群 $n=5$ 。* $p<0.05$ 、** $p<0.01$ (Mixed-effects model, Sidak検定)

[図11]脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるアストロサイト特異的なSTAT3ノックアウトがもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。値は平均±標準誤差である。Aldh1l1-CreERT2-/-: STAT3 flox/flox群(コントロール群) $n=1$ 、Aldh1l1-CreERT2+/+: STAT3 flox/flox群 $n=7$ 。

[図12]脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期における視床出血側の脳皮質S1

領域でアストロサイト特異的なSTAT3ノックアウトがもたらす疼痛への影響を調べた結果を示すグラフである。値は平均±標準誤差である。AAV5-GFAP-GFP-Cre (male) n=3、AAV5-GFAP-GFP (male) n=2、AAV5-GFAP-GFP-Cre (female) n=3、AAV5-GFAP-GFP (female) n=3。

発明を実施するための形態

- [0014] 以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。
- [0015] 本発明において「核酸」とはRNA又はDNAを意味する。本発明において「遺伝子」とは、特に言及しない限り、2本鎖DNA、1本鎖DNA（センス鎖又はアンチセンス鎖）、及びそれらの断片が含まれる。また、本発明において「遺伝子」とは、特に言及しない限り、調節領域、コード領域、エクソン、及びイントロンを区別することなく示すものとする。
- [0016] 本明細書において、「JAK」、「STAT」、「CCL2」、「MMP2」と記載する場合は、タンパク質又は遺伝子を意味するものとし、タンパク質として解釈することが適切な場合はタンパク質を、遺伝子として解釈することが適切な場合は遺伝子を意味するものとする。
- [0017] 本発明において、「核酸」、「ヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」は同義であって、これらはDNA及びRNAの両方を含み、2本鎖であっても1本鎖であってもよい。
- [0018] 本発明の医薬組成物は、JAK/STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤からなる群から選択される少なくとも1種（好ましくはJAK/STAT阻害剤）を含み、中枢性神経障害性疼痛の治療及び／又は予防用であることを特徴とする。
- [0019] 別の実施態様において、本発明の医薬組成物は、神経障害性疼痛の治療及び／又は予防用であって、JAK/STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤からなる群から選択される少なくとも1種（好ましくはJAK/STAT阻害剤）を含み、投与間隔が6日以上であることを特徴とする。
- 。

[0020] 神経障害性疼痛とは、体性感覚系（痛みを伝える神経）の損傷及び疾患の直接的な結果として引き起こされる疼痛と定義される。そして、神経障害性疼痛は、中枢性神経障害性疼痛と末梢性神経障害性疼痛に分類される。

[0021] 中枢性神経障害性疼痛とは、中枢神経病変が原因で生じる痛みで、体深部の耐えがたい疼痛を指す。中枢性神経障害性疼痛としては、脳及び脊髄（特に脳）が責任病巣となり、脳及び脊髄（特に脳）の障害（損傷）が原因で生じる疼痛である。責任病巣は、特に視床であることが望ましい。中枢性神経障害性疼痛としては、例えば、脳卒中後疼痛、外傷性脊髄損傷後疼痛、多発性硬化症による痛み、脊柱管狭窄による圧迫性脊髄症、パーキンソン病に伴う痛み、H I V 脊髄症、虚血後脊髄症、放射線照射後脊髄症／放射線照射後脳症、脊髄空洞症／延髄空洞症などが挙げられる。中でも、脳卒中後疼痛が望ましく、視床痛が特に望ましい。脳卒中後疼痛及び視床痛の中でも、出血による疼痛がより望ましい。

[0022] 本発明において「J A K／S T A T 阻害剤」とは、J A K／S T A T シグナル伝達経路を阻害できる化合物全般を意味し、そのような化合物としては、例えば、J A K 及び／又は S T A T の発現を阻害又は抑制する化合物、J A K 及び／又は S T A T の機能若しくは活性を阻害又は低下させる化合物などが挙げられる。「J A K／S T A T 阻害剤」は、S J A K 及び S T A T の一方を阻害する化合物であってもよいし、又は J A K 及び S T A T の両方を阻害する化合物であってもよい。また、「J A K／S T A T 阻害剤」としては、中枢神経移行性が高く、末梢神経への作用が少ない化合物が望ましい。

[0023] J A K としては、J A K 1、J A K 2、J A K 3、及び T y k 2 の4種類が知られている。また、S T A T (s i g n a l t r a n s d u c e r a n d a c t i v a t o r o f t r a n s c r i p t i o n) としては、S T A T 1、S T A T 2、S T A T 3、S T A T 4、S T A T 5、S T A T 6 が知られており、好ましくは S T A T 3 である。

[0024] J A K／S T A T 阻害剤としては、例えば、J A K／S T A T シグナル伝達経路阻害作用を有する、低分子化合物、中分子化合物、抗体、抗体断片、

核酸などが挙げられる。S J A K / S T A T 阻害剤は、1 種単独で又は2 種以上を組み合わせ使用することができる。

[0025] J A K / S T A T 阻害剤の例としては、S T A T 3 の S H 2 ドメイン阻害剤、J A K 阻害剤（例えば、S T A T 3 のリン酸化阻害剤）、S T A T 3 の D N A 結合ドメイン阻害剤、J A K 又は S T A T 3 遺伝子に対して R N A i 効果を有する二本鎖 R N A、J A K 又は S T A T 3 遺伝子に対するアンチセンス核酸などが挙げられ、好ましくは S T A T 3 の S H 2 ドメイン阻害剤及び J A K 阻害剤である。

[0026] S T A T 3 の S H 2 ドメイン阻害剤は、S H 2 ドメインを阻害し、S T A T 3 のホモ又はヘテロ二量体の形成を阻害する機能を有するものである。S T A T 3 の S H 2 ドメイン阻害剤としては、例えば、S t a t t i c、B P - 1 - 1 0 2、S T A - 2 1、C 1 8 8 - 9、S 3 1 - 2 0 1、Y H O - 1 7 0 1、S T X - 0 1 1 9、L L L 1 2 B、L L 1 などが挙げられる。J A K 阻害剤は、J A K を阻害する機能を有するものである（例えば、S T A T 3 の J A K によるリン酸化を阻害する機能を有するものである）。J A K 阻害剤としては、J A K 1、J A K 2、J A K 3、及び T y k 2 のいずれを阻害するものであってもよく、例えば、A Z D 1 4 8 0、A G 4 9 0、ルキシソリチニブ（R u x o l i t i n i b）、トファシチニブ（t o f a c i t i n i b）、バリシチニブ（b a r i c i t i n i b）、ペフィシチニブ（p e f i c i t i n i b）、ウパダシチニブ（u p a d a c i t i n i b）、フィルゴチニブ（f i l g o t i n i b）、デルゴシチニブ（d e l g o c i t i n i b）、アブロシチニブ（a b r o c i t i n i b）などが挙げられる。S T A T 3 の D N A 結合ドメイン阻害剤は、核内に移行した S T A T 3 が D N A に結合するのを阻害する機能を有するものである。S T A T 3 の D N A 結合ドメイン阻害剤としては、例えば、C P A - 1、C P A - 7、i n S 3 - 5 4 A 1 8 などが挙げられる。

[0027] J A K / S T A T 阻害剤としては、J A K / S T A T シグナル伝達経路阻害作用を有する抗体又は抗体断片を使用することができる。J A K、S T A

T及びその他のシグナル伝達経路に関与するタンパク質に対して抗原結合活性を有する抗体の抗体断片としては、例えば、F_d、F_v、F_{ab}、F(a b')、F(a b)₂、F(a b')₂、単鎖F_v(s c F_v)、ダイアボディ、トリアボディ(t r i a b o d y)、テトラボディ(t e t r a b o d y)、ミニボディなどが挙げられる。抗体としては、マウス、ラット、ウシ、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、モルモット等の動物由来のものが挙げられる。抗体のアイソタイプは特に制限されず、アイソタイプとしては、例えば、I g G(I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4)、I g A、I g D、I g E及びI g Mが挙げられる。また、抗体は、モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体のいずれであってもよく、好ましくはモノクローナル抗体であり、また、抗体は、ヒト化抗体、キメラ抗体、多重特異性抗体(例えば、二重特異性抗体)などであってもよい。抗体は、公知の方法により製造することが可能であり、例えば、抗体をコードする核酸を含有する発現ベクターを構築し、当該核酸を導入した形質転換体を培養すること、抗体を産生するハイブリドーマを培養することなどにより生産することができる。

[0028] J A K／S T A Tシグナル伝達経路阻害作用を有する核酸としては、例えば、J A K及び／又はS T A T遺伝子(その転写産物も含む)に対してR N A i効果を有する二本鎖R N A(例えば、s i R N A(s m a l l i n t e r f e r i n g R N A)、s h R N A(s m a l l h a i r p i n R N A)、d s R N A(d o u b l e - s t r a n d e d R N A))、J A K及び／又はS T A T遺伝子(その転写産物も含む)に対するアンチセンス核酸などが挙げられる。また、このようなs i R N A、s h R N A、d s R N A、アンチセンス核酸としては、これらを発現する発現ベクターを使用することもできる。

[0029] s i R N Aとは、標的遺伝子のm R N Aのヌクレオチド配列又はその部分配列(標的ヌクレオチド配列)と相補的な配列を有するR N Aとその相補鎖とからなる2本鎖オリゴR N Aである。また、ヘアピンループ部分を介して、標的ヌクレオチド配列に相補的な配列(第1の配列)と、その相補配列(

第2の配列)とが連結された一本鎖RNAであって、ヘアピンループ型の構造をとることにより、第1の配列が第2の配列と2重鎖構造を形成するRNA (shRNA)、及び第1の配列と第2の配列の2重鎖構造の両末端をループ構造で閉環状にしたダンベル型の核酸も siRNAに含まれる。

[0030] siRNAは、センス鎖及びアンチセンス鎖の一方又は双方の5'末端又は3'末端にオーバーハングを有していてもよい。オーバーハングとは、センス鎖及び／又はアンチセンス鎖の末端における1～数个(例えば、1、2、3個)の塩基の付加により形成されるものである。siRNAの塩基長は、RNA干渉を誘導できる限り特に制限されず、例えば、片側鎖として10～50塩基、15～30塩基、又は21～27塩基である。

[0031] siRNAは、JAK及び／又はSTATをコードするmRNAを標的とするsiRNAであって、当該mRNAの塩基配列の情報を基に設計することが可能であり、RNA干渉を誘導できる限り配列は特に限定されない。siRNAは、公知の手法を用いて、化学的に合成すること、又は遺伝子組換え技術を用いて産生することができる。

[0032] dsRNAは、RNAi効果を有するものであり、通常、JAK又はSTATのmRNAにおける連続する任意のRNA領域と同一の配列からなるセンスRNA、及び該センスRNAに相補的な配列からなるアンチセンスRNAからなるdsRNAである。上記「連続する任意のRNA領域」の長さは、通常20～30塩基であり、好ましくは21～23塩基である。

[0033] アンチセンス核酸の配列は、標的遺伝子又はその一部と相補的な配列であることが望ましいが、遺伝子の発現を有効に抑制できる限り、完全に相補的である必要はなく、標的遺伝子の転写産物に対して、好ましくは90%以上の相補性、より好ましくは95%以上の相補性を有していればよい。アンチセンス核酸を用いて標的遺伝子の発現を効果的に抑制するため、アンチセンス核酸の長さは15塩基以上が好ましい。さらに、非特異的な影響を回避するため標的遺伝子の異なる配列に相補的な複数のアンチセンス核酸を用いるのが好ましい。アンチセンス核酸としては、標的遺伝子の翻訳領域だけでな

く非翻訳領域の配列のアンチセンス配列を含む核酸も、本発明におけるアンチセンス核酸に含まれる。

[0034] その他、公知のJAK/STAT阻害剤としては、CP690550 (CAS 540737-29-9)、Cpd188 (CAS 823828-18-8)、5,15-DPP (CAS 22112-89-6)、WP1066 (CAS 857064-38-1)、Ethyl-1-(4-cyano-2,3,5,6-tetrafluorophenyl)-6,7,8-trifluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate (CAS 1041438-68-9)、4-(N-(4-Cyclohexylbenzyl)-2-(2,3,4,5,6-pentafluoro-N-methylphenylsulfonamido)acetamido)-2-Hydroxybenzoic acid、5-Hydroxy-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracene-1-sulfonamide、N-(5-(Furan-2-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-2-phenylquinoline-4-carboxamide、17-Hydroxy-jolkinolide B、N-(1',2'-Dihydroxy-1,2'-binaphthalen-4'-yl)-4-methoxybenzenesulfonamide (F1113-0789)、arylsulphonamidyl thiophene amideなどが知られている。

[0035] 本発明において「CCL2阻害剤」とは、CCL2 (C-C motif chemokine ligand 2) を阻害できる化合物全般を意味し、そのような化合物としては、例えば、CCL2の発現を阻害又は抑制する化合物、CCL2の機能若しくは活性を阻害又は低下させる化合物などが挙げられる。また、「CCL2阻害剤」としては、中枢神経移行性が高く、末梢神経への作用が少ない化合物が望ましい。CCL2はCCケモカインファミリーに属するサイトカインであり、MCP-1 (monocyte c

hemoattractant protein-1) などとも称される。

[0036] CCL2阻害剤としては、例えば、CCL2阻害作用を有する、低分子化合物、中分子化合物、抗体、抗体断片、核酸などが挙げられる。CCL2阻害剤は、1種単独で又は2種以上を組み合わせ使用することができる。

[0037] CCL2阻害剤の例としては、ビンダリット、プロパゲルマニウム、CCL2のドミナントネガティブ変異体、CCL2に対する抗体又は抗体断片、CCL2遺伝子に対してRNAi効果を有する二本鎖RNA、CCL2遺伝子に対するアンチセンス核酸などが挙げられる。抗体又は抗体断片、二本鎖RNA、アンチセンス核酸については、上述のこれらに関する説明が適用される。

[0038] 本発明において「MMP2阻害剤」とは、MMP2 (matrix metalloproteinase-2) を阻害できる化合物全般を意味し、そのような化合物としては、例えば、MMP2の発現を阻害又は抑制する化合物、MMP2の機能若しくは活性を阻害又は低下させる化合物などが挙げられる。また、「MMP2阻害剤」としては、中枢神経移行性が高く、末梢神経への作用が少ない化合物が望ましい。MMP2はMMPファミリーに属し、細胞外マトリックスを基質として分解する酵素であり、72kDa type IV collagenase などとも称される。

[0039] MMP2阻害剤としては、例えば、MMP2阻害作用を有する、低分子化合物、中分子化合物、抗体、抗体断片、核酸などが挙げられる。MMP2阻害剤は、1種単独で又は2種以上を組み合わせ使用することができる。

[0040] MMP2阻害剤の例としては、ARP100、ARP101、SB-3CT、Ilomastat (GM6001)、Batimstat (BB-94)、Marimstat (BB-2516)、Solasodine、MMP2-IN-3、BPHA、MMP-2 Inhibitor I, II, III, IV、MMP2のドミナントネガティブ変異体、MMP2に対する抗体又は抗体断片、MMP2遺伝子に対してRNAi効果を有する二本鎖RNA、MMP2遺伝子に対するアンチセンス核酸などが挙げられる。抗体

又は抗体断片、二本鎖RNA、アンチセンス核酸については、上述のこれらに関する説明が適用される。

[0041] JAK/STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤としては、今後新たに開発されるJAK/STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤も本発明において使用することが可能である。

[0042] JAK/STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤は、フリーの状態又は塩の状態で使用することができる。塩としては、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、アルミニウム塩等の無機塩基との塩；メチルアミン、エチルアミン、エタノールアミン等の有機塩基との塩；リジン、アルギニン、オルニチン等の塩基性アミノ酸との塩及びアンモニウム塩が挙げられる。当該塩は、酸付加塩であってもよく、かかる塩としては、例えば、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸等の鉱酸；ギ酸、酢酸、プロピオン酸、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸等の有機酸；アスパラギン酸、グルタミン酸等の酸性アミノ酸等との酸付加塩が挙げられる。また、JAK/STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤にはその水和物、溶媒和物、結晶多形なども含まれる。

[0043] 本発明の医薬組成物におけるJAK/STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤の含量は、例えば、医薬組成物全量中0.001～100質量%であり得る。当該範囲の上限又は下限は、例えば、0.01質量%、0.1質量%、1質量%、5質量%、10質量%、20質量%、30質量%、40質量%、50質量%、60質量%、70質量%、80質量%、90質量%、95質量%、99質量%、99.9質量%である。

[0044] 本発明の医薬組成物には、JAK/STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤以外にも、必要に応じて、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、懸濁化剤、増粘剤、抗酸化剤、吸収促進剤、pH調節剤、保存剤、防腐剤、安定化剤、界面活性剤、甘味剤、矯味剤、香料等の薬学的に許

容される成分を適宜配合することができる。

- [0045] 賦形剤としては、例えば、乳糖、白糖、精製白糖、D-マンニトール、D-ソルビトール、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、デキストリン、結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、軽質無水ケイ酸、タルク、カオリン等が挙げられる。
- [0046] 結合剤としては、例えば、 α 化デンプン、ゼラチン、アラビアゴム、メチルセルロース、エチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、結晶セルロース、白糖、精製白糖、プルラン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン等が挙げられる。
- [0047] 崩壊剤としては、例えば、乳糖、白糖、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、アルギン酸、クロスポビドン等が挙げられる。
- [0048] 滑沢剤としては、例えば、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、タルク、ポリエチレングリコール等が挙げられる。
- [0049] 着色剤としては、例えば、三二酸化鉄、黄色三二酸化鉄、褐色酸化鉄、黒酸化鉄、酸化チタン等が挙げられる。
- [0050] 懸濁化剤としては、例えば、ポリソルベート、ポリエチレングリコール、グリセリン等が挙げられる。
- [0051] 医薬組成物の製剤形態としては、例えば、タブレット（素錠、糖衣錠、発泡錠、フィルムコート錠、チュアブル錠、トロリーチ剤などを含む）、カプセル剤、丸剤、粉末剤（散剤）、顆粒剤、細粒剤、液剤、懸濁液、乳濁液、ペースト、シロップ、注射剤（使用時に、蒸留水又はアミノ酸輸液、電解質輸液等の輸液に配合して液剤として調製する場合を含む）などの形態が挙げられる。これらの製剤は、常法に従って製造することができる。
- [0052] 本発明の医薬組成物の投与方法は特に限定されず、局所的であってもよく

、全身的であってもよい。投与経路としては、例えば、動脈内投与、静脈内投与、皮下投与、腹腔内投与、筋肉内投与、経直腸投与、髄腔内投与、経口投与などにより行うことができる。

[0053] 本発明の医薬組成物は、ヒトを含む哺乳動物に対して投与される。

[0054] 本発明の医薬組成物の投与量は、患者の体重、年齢、性別、症状などの種々の条件に応じて適宜決定することができる。

[0055] 本発明の医薬組成物の投薬期間は、特に制限されず、患者の状態を観察しながら好ましい期間を選択することができる。本発明の医薬組成物の休薬期間についても、特に制限はされず、患者の状態を観察しながら好ましい期間を選択することができる。

[0056] 本発明の医薬組成物の投与間隔は、特に制限されず、例えば、連日投与、隔日投与、6日以上、7日以上、8日以上、9日以上、10日以上、11日以上、12日以上、13日以上、14日以上、15日以上、16日以上、17日以上、18日以上、19日以上、20日以上、30日以上、40日以上、50日以上などが挙げられる。また、複数回投与せずに1回のみの投与としてもよい。後述する実施例で示すように、末梢性神経障害性疼痛に関する文献 (Brain, 134(4):1127-1139 (2011)) では、JAK/SAT阻害剤の投与終了後、速やかに（少なくとも3日後には）効果は消失していることが記載されている一方で、本発明の医薬組成物では投与後少なくとも2週間以上効果が持続することが実施例で示されている。このことから、同じJAK/SAT阻害剤であっても、中枢性神経障害性疼痛と末梢性神経障害性疼痛とでは、作用メカニズムが異なることが推測される。

[0057] 後述する実施例で示すように、脳卒中後疼痛モデルマウスに、JAK/SAT阻害剤である、AG490、AZD1480、Stattic、BP-1-102、バリシチニブを投与することにより、疼痛を改善することができ、更に疼痛の発生を予防することが示されていることから、JAK/SAT阻害剤は中枢性神経障害性疼痛に有効である。さらに、脳卒中後疼痛モデルマウスにおいて、CCL2をノックアウトすること、MMP2阻害剤

である、ARP100を投与することにより、疼痛を改善することができるとが示されていることから、CCL2阻害剤及びMMP2阻害剤も中枢性神経障害性疼痛に有効である。

[0058] 既存の薬剤は何れも対処療法的なものであり、いわゆる疾患修飾薬とは言えないものであり、効果も一時的であった。これに対して、本発明では、長期的な治療効果をもたらしており、JAK/STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤は疼痛病態を修飾することで長期的な治療効果をもたらすことを示している。既存の薬剤は、末梢性及び中枢性神経障害性疼痛の両方に使用されるが、これは対処療法的なものであるからである。本発明の医薬組成物は、中枢性神経障害性疼痛の分子病態そのものの緩和を狙ったもので、既存の薬剤と治療戦略が明確に異なるものである。

[0059] 上記のように、本発明の医薬組成物は、神経障害性疼痛（特に中枢性神経障害性疼痛）の治療及び予防に有用である。

[0060] なお、本明細書において「含む」とは、「本質的にからなる」と、「からなる」をも包含する（The term “comprising” includes “consisting essentially of” and “consisting of.”）。

[0061] また、上述した本発明の各実施形態について説明した各種特性（性質、構造、機能等）は、本発明に包含される主題を特定するにあたり、どのように組み合わせられてもよい。すなわち、本発明には、本明細書に記載される組み合わせ可能な各特性のあらゆる組み合わせからなる主題が全て包含される。

実施例

[0062] 以下、実施例により本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0063] 1-1 実験方法

（1）脳卒中後疼痛モデルの作製

脳卒中後疼痛モデルとして、脳内コラゲナーゼ注入モデルを用いた。塩化

メドミジン (0.3 mg/kg ; オリオンファーマ社), ミダゾラム (4 mg/kg ; アステラス製薬株式会社) 及びブトルファノール (5 mg/kg ; Meiji Seikaファルマ株式会社製 *Vetorphale*) の混合麻酔下で、視床出血群の定位座標に PBS に溶解した $0.025 \text{ U collagenase type IV}$ (MilliporeSigma, C5138) を注射することにより視床出血を誘導した。先行研究 (Hanada et al. Development and pharmacological verification of a new mouse model of central post-stroke pain. *Neurosci Res.* 78:72-80 (2014)) に基づき、特注のカニューレを次のような座標で挿入した: ブレグマまで後方に 1.1 mm 、正中線から外側に 1.5 mm 、皮質表面から腹側に 3.5 mm 。合計 25 nL のコラゲナーゼをチューブを通して視床の後腹側核に放出し、カニューレを $25 \mu\text{L}$ ガスタイトシリンジ (Hamilton社、80200) に接続し、注入ポンプ (株式会社エイコム、ESP-32) を用いて 5 nL/分 の一定速度で注入した。

[0064] (2) 痛み関連行動の計測

機械性刺激に対する応答を測定するために *von Frey test* を行った。金網の上にプラスチックケースを置き、疼痛モデルマウスをケールの中に入れて落ち着くまで $10 \sim 30$ 分間慣らした。各マウスの両側後肢に $0.02 \sim 2 \text{ g}$ のモノフィラメント (Semmes-Weinstein *von Frey Anesthesiometer*; 室町機械株式会社) を用いた機械刺激を与え、アップダウン法 (Chaplan et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods.* 53(1):55-63 (1994)) により 50% 引き抜き閾値を決定した。

[0065] (3) 慢性期における AG490 の投与実験

C57BL/6J (日本クレア株式会社) $10 \sim 13$ 週齢のマウスに視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。視床出血誘発前、出血から $1, 4, 7, 11, 14, 18, 21$ 日後に *von Frey test* を行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の

実験に使用した。AG490 (Tyrrhostin B42, Zinc 02557947; セレックバイオテック株式会社) を 5% Dimethyl sulfoxide (SIGMA-ALDRICH 社; D8418-100ML)、40% Polyethylene Glycol 300 (富士フイルム和光純薬株式会社; 164-09055)、5% Tween (商標) 80 (東京化成工業株式会社; T546)、50% dH₂O で 3 mg/mL の濃度になるように溶解した。AG490 投与前にマウスの体重を測定し、10 μ g/g の AG490 をマウスの腹腔内に投与した。投与後 24、48 時間目、4 日目、7 日目、11 日目、14 日目に von Frey test を行い、逃避閾値の変化について調べた。

[0066] (4) 発症初期における AG490 投与実験

C57BL/6J (日本クレア株式会社) 10 週齢のマウスに視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。視床出血誘発前、1、4、7、11、14 日後に von Frey test により痛みの閾値を測定した。AG490 の腹腔内への投与は、視床出血誘発直後、4、7、11 日後、von Frey test 実施後に行った。

[0067] (5) 慢性期における AZD1480 の投与実験

C57BL/6J (日本クレア株式会社) 9~10 週齢のマウスに視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。視床出血誘発前、出血から 1、4、7、11、14、21 日後に von Frey test を行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の実験に使用した。AZD1480 (S2162; セレックバイオテック株式会社) を 5% Dimethyl sulfoxide (SIGMA-ALDRICH 社; D8418-100ML)、40% Polyethylene Glycol 300 (富士フイルム和光純薬株式会社; 164-09055)、5% Tween (商標) 80 (東京化成工業株式会社; T546)、50% dH₂O で 5 mg/mL の濃度になるように溶解した。AZD1480 投与前にマウスの体重を測定し、30 μ g/g の AZD1480 をマウスの腹腔内

に投与した。投与後24、48時間目、4日目、7日目、11日目、14日目にvon Frey testを行い、逃避閾値の変化について調べた。

[0068] (6) 慢性期におけるStatticの投与実験

C57BL/6J (日本クレア株式会社) 9~10週齢のマウスに視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。視床出血誘発前、出血から1、4、7、11、14、21日後にvon Frey testを行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の実験に使用した。Stattic (S7024; セレックバイオテック株式会社) を5%Dimethyl sulfoxide (SIGMA-ALDRICH社; D8418-100ML)、40%Polyethylene Glycol 300 (富士フイルム和光純薬株式会社; 164-09055)、5%Tween (商標) 80 (東京化成工業株式会社; T546)、50%dH₂Oで5mg/mLの濃度になるように溶解した。Stattic投与前にマウスの体重を測定し、25μg/gのStatticをマウスの腹腔内に投与した。投与後24、48時間目、4日目、7日目、14日目にvon Frey testを行い、逃避閾値の変化について調べた。

[0069] (7) 慢性期におけるBP-1-102の投与実験

C57BL/6J (日本クレア株式会社) 10週齢のマウスに視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。視床出血誘発前、出血から1、4、7、11、14、18、21日後にvon Frey testを行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の実験に使用した。BP-1-102 (S7769; セレックバイオテック株式会社) を5%Dimethyl sulfoxide (SIGMA-ALDRICH社; D8418-100ML)、40%Polyethylene Glycol 300 (富士フイルム和光純薬株式会社; 164-09055)、5%Tween (商標) 80 (東京化成工業株式会社; T546)、50%dH₂Oで5mg/mLの濃度になるように溶解した。BP-1-102投与前にマウスの体重を測定し、25μg/gのBP-1-102をマウス

の腹腔内に投与した。投与後24、48時間目、以後70日目まで、図3に記載の時点でvon Frey testを行い、逃避閾値の変化について調べた。

[0070] (8) 超慢性期におけるBP-1-102投与実験

C57BL/6J（日本クレア株式会社）10週齢のマウスに視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。視床出血誘発前、出血から1、4、7、11、14、18、21、25、28、32、35、39、42、46、49、53、56、60、63、67、70、74、77、81、84、88、91日後にvon Frey testを行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の実験に使用した。BP-1-102（S7769；セレックバイオテック株式会社）を5%Dimethyl sulfoxide（SIGMA-ALDRICH社；D8418-100ML）、40%Polyethylene Glycol 300（富士フイルム和光純薬株式会社；164-09055）、5%Tween（商標）80（東京化成工業株式会社；T546）、50%dH₂Oで5mg/mLの濃度になるように溶解した。BP-1-102投与前にマウスの体重を測定し、25μg/gのBP-1-102をマウスの腹腔内に投与した。投与後24、48時間目にvon Frey testを行い、投与後70日間、逃避閾値の変化について調べた。

[0071] (9) 慢性期におけるバリシチニブ（Baricitinib）投与実験

C57BL/6J（日本クレア株式会社）9週齢のマウスに視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。視床出血誘発前、出血から1、4、7、11、14、18、21、25、28、29日後にvon Frey testを行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の実験に使用した。バリシチニブ（S2851；セレックバイオテック株式会社）を5%Dimethyl sulfoxide（SIGMA-ALDRICH社；D8418-100ML）、40%Polyethylene Glycol 300（富士フイルム和光純薬株式会社；164

−0.9055)、5% Tween (商標) 80 (東京化成工業株式会社 ; T546)、50% dH₂O で 0.8 mg/mL の濃度になるように溶解した。バリシチニブ投与直前にマウスの体重を測定し、2 μg/g のバリシチニブをマウスの腹腔内に投与した。投与後 24、48 時間目に von Frey test を行い、投与後 111 日間、逃避閾値の変化について調べた。また、薬効の減弱が認められた投与後 32 日目に再度バリシチニブの投与を行った。バリシチニブ投与直前にマウスの体重を測定し、0.2 μg/g のバリシチニブを 5 日間連続でマウスの腹腔内に投与した。

[0072] (10) 慢性期における大脳皮質 S1 領域への Fluorocitrate 投与実験

C57BL/6J (日本クレア株式会社) 9 週齢のマウスに視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。視床出血誘発前、出血から 1、7、21 日後に von Frey test を行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の実験に使用した。DL-フルオロクエン酸 バリウム塩 (SIGMA-ALDRICH 社 ; F9634) を 0.1 mM の塩酸 (富士フイルム和光純薬株式会社 ; 080-01066)、0.1 mM の硫酸ナトリウム (富士フイルム和光純薬株式会社 ; 197-03345)、0.1 mM のリン酸水素二ナトリウム (富士フイルム和光純薬株式会社 ; 197-02865)、及び生理食塩液 (株式会社大塚製薬工場 ; 1326) により 1 nM になるように溶解した。塩化メデトミジン (0.3 mg/kg ; オリオンファーマ社)、ミダゾラム (4 mg/kg ; アステラス製薬株式会社) 及びブトルファノール (5 mg/kg ; Meiji Seika ファルマ株式会社製 Vetorphale) の混合麻酔下で、マウスを WPI Mouse Stereotaxic Instruments (World Precision Instruments ; 505314) に固定した。NANOLITER 2020 INJECTOR (World Precision Instruments ; NANOLITER 2020) に Nanoliter Glass Capillary

(World Precision Instruments; 504949) を接続させ、次のような座標で挿入した：ブレグマまで後方に0.35 mm、正中線から外側に1.5 mm、皮質表面から腹側に0.5 mm。また、50 nL/分の一定速度で合計1 μ Lを注入した。投与後24、48時間目にvon Frey testを行い、投与後42日間、逃避閾値の変化について調べた。

- [0073] (11) 慢性期における大脳皮質S1領域へのBP-1-102投与実験
- C57BL/6J (日本クレア株式会社) 10週齢のマウスに視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。視床出血誘発前、出血から1、4、7、11、14、18、21日後にvon Frey testを行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の実験に使用した。BP-1-102 (セレックバイオテック株式会社; S7769) を5%Dimethyl sulfoxide (SIGMA-ALDRICH社; D8418-100ML)、40%Polyethylene Glycol 300 (富士フイルム和光純薬株式会社; 164-09055)、5%Tween (商標) 80 (東京化成工業株式会社; T546)、50% dH_2O で5 mg/mLの濃度になるように溶解した。塩化メデトミジン (0.3 mg/kg; オリオンファーマ社)、ミダゾラム (4 mg/kg; アステラス製薬株式会社) 及びブトルファノール (5 mg/kg; Meiji Seikaファルマ株式会社製Vetorphale) の混合麻酔下で、マウスをWPI Mouse Stereotaxic Instruments (World Precision Instruments; 505314) に固定した。NANOLITER 2020 INJECTOR (World Precision Instruments; NANOLITER 2020) にNanoliter Glass Capillary (World Precision Instruments; 504949) を接続させ、次のような座標で挿入した：ブレグマまで後方に0.35 mm、正中線から外側に1.5 mm、皮質表面から腹側に0.5 mm

。また、50 nL／分の一定速度で合計1 μ Lを注入した。投与後24、48時間目にvon Frey testを行い、投与後21日間、逃避閾値の変化について調べた。

[0074] (12) 慢性期におけるアストロサイト特異的なCCL2ノックアウト実験

アストロサイト特異的に組換えタンパク質Creが発現し、タモキシフェンの投与によりCreが細胞核内へと移行するマウスAldh1l1-CreERT2 (B6N, FVB-Tg (Aldh1l1-CreERT2) 1 Khakh/J) と、細胞核内にCreが存在することでCCL2がノックアウトされるCCL2 floxマウス (B6, Cg-Ccl2tm1.1 Pame/J; The Jackson Laboratory; 016849) を交配した。その結果得られたAldh1l1-CreERT2+/-::CCL2 flox/floxに対して9～13週齢の時点で視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。コントロール群としてはAldh1l1-CreERT2-/-::CCL2 flox/floxを用いた。コントロール群ではタモキシフェンの投与を行ってもCCL2のノックアウトは生じないと考えられる。視床出血誘発前、出血から7、14、21日後にvon Frey testを行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の実験に使用した。タモキシフェン (SIGMA-ALDRICH社; T5648) をコーン油 (SIGMA-ALDRICH社; C8297) により5 mg/mLの濃度になるように溶解した。タモキシフェン投与直前にマウスの体重を測定し、75 μ g/gのタモキシフェンをマウスの腹腔内に5日間投与した。投与開始より7日目より von Frey testを行い、投与後39日間、逃避閾値の変化について調べた。

[0075] (13) 慢性期における脳室内へのマトリックスメタロプロテアーゼ2 (MMP2) 選択的阻害剤ARP100投与実験

C57BL/6J (日本クレア株式会社) 11週齢のマウスに視床出血を

誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。視床出血誘発前、出血から1、4、7、11、14、18、21日後にvon Frey testを行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の実験に使用した。ARP100 (S9909; セレックバイオテック株式会社) を5% Dimethyl sulfoxide (SIGMA-ALDRICH 社; D8418-100ML)、40% Polyethylene Glycol 300 (富士フイルム和光純薬株式会社; 164-09055)、5% Tween (商標) 80 (東京化成工業株式会社; T546)、50% dH₂Oで7.2 mg/mLの濃度になるように溶解した。塩化メデトミジン (0.3 mg/kg; オリオンファーマ社)、ミダゾラム (4 mg/kg; アステラス製薬株式会社) 及びブトルファノール (5 mg/kg; Meiji Seikaファルマ株式会社製Vetorphale) の混合麻酔下で、マウスをWPI Mouse Stereotaxic Instruments (World Precision Instruments; 505314) に固定した。NANOLITER 2020 INJECTOR (World Precision Instruments; NANOLITER 2020) にNanoliter Glass Capillary (World Precision Instruments; 504949) を接続させ、次のような座標で挿入した: ブレグマまで後方に0.75 mm、正中線から外側に1.0 mm、皮質表面から腹側に1.5 mm。また、50 nL/分の一定速度で合計1 μ Lを注入した。投与後3、24時間目にvon Frey testを行い、投与後4週間、逃避閾値の変化について調べた。

[0076] (14) 慢性期におけるアストロサイト特異的なSTAT3のコンディショナルノックアウト実験

アストロサイト特異的に組換えタンパク質Creが発現し、タモキシフェンの投与によりCreが細胞核内へと移行するマウスAldh1l1-CreERT2 (B6N, FVB-Tg (Aldh1l1-CreERT2) 1

K h a k h / J) と、C r e が存在することでS T A T 3 がノックアウトされるS T A T 3 f l o x マウス (B 6 . 1 2 9 S 1 - S T A T 3 t m 1 X y f u / J) を交配した。その結果得られた2つの遺伝子変異を併せ持つマウスであるA l d h 1 l 1 - C r e E R T 2 + / - : : S T A T 3 f l o x / f l o x に対して9～11週齢の時点で視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。コントロール群としては二つの遺伝子変異のうち一方のみを持つマウスであるA l d h 1 l 1 - C r e E R T 2 - / - : : S T A T 3 f l o x / f l o x を用いた。コントロール群ではタモキシフェンの投与を行ってもS T A T 3 のノックアウトは生じないと考えられる。視床出血誘発前、出血から7、14、21日後にv o n F r e y t e s t を行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の実験に使用した。タモキシフェン (S I G M A - A L D R I C H 社 ; T 5 6 4 8) をコーン油 (S I G M A - A L D R I C H 社 ; C 8 2 9 7) により5 m g / m L の濃度になるように溶解した。タモキシフェン投与直前にマウスの体重を測定し、75 μ g / g のタモキシフェンをマウスの腹腔内に5日間投与した。投与開始より7日目よりv o n F r e y t e s t を行い、投与後28日間、逃避閾値の変化について調べた。

[0077] (15) 慢性期における大脳皮質S1領域のアストロサイト特異的なS T A T 3 のノックアウト実験

C r e が存在することでS T A T 3 がノックアウトされるS T A T 3 f l o x マウス (B 6 . 1 2 9 S 1 - S T A T 3 t m 1 X y f u / J) に対して9～10週齢の時点で視床出血を誘発し、脳卒中後疼痛マウスを作製した。視床出血誘発前、出血から1、4、7、11、14日後にv o n F r e y t e s t を行い、視床出血により疼痛が誘発されていることが確認できた個体を以後の実験に使用した。塩化メデトミジン (0 . 3 m g / k g ; オリオンファーマ社) 、ミダゾラム (4 m g / k g ; アステラス製薬株式会社) 及びブトルファノール (5 m g / k g ; M e i j i S e i k a ファルマ株式会社製 V e t o r p h a l e) の混合麻酔下で、マウスをW P I M o

use Stereotaxic Instruments (World Precision Instruments; 505314) に固定した。NANOLITER 2020 INJECTOR (World Precision Instruments; NANOLITER 2020) にNanoliter Glass Capillary (World Precision Instruments; 504949) を接続させ、次のような座標で大脳皮質S1領域にAAV5-GFAP-GFP-Cre (4.1×10^{12} virus molecules/n) を投与した：ブレグマまで後方に0.50mm、正中線から外側に1.5mm、皮質表面から腹側に0.7、0.4mm。また、50nL/分の一定速度で合計250 μ Lを注入した。投与後、14日間、逃避閾値の変化について調べた。また、コントロールとしてAAV5-GFAP-GFP (4.1×10^{12} virus molecules/n) を投与した。

[0078] 1-2 実験結果

(1) 脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるAG490、AZD1480投与がもたらす疼痛への影響

von Frey testにより、脳卒中後疼痛病態下でのAG490、AZD1480投与による逃避閾値を測定したものを図1に示した。図1のコントロール群 (TH/vehicle群) のグラフから明らかなように、視床出血後1週間後には逃避閾値の顕著な低下が見られ、疼痛が発症していることを示している。この症状はその後の観察期間を通して持続し、改善はみられない。一方で、疼痛出現後2週間経過した慢性期 (出血後21日目) にJAK/STAT阻害剤であるAG490、AZD1480を投与した群では、48時間以内に逃避閾値の顕著な上昇が認められ、疼痛が改善されたと考えられた。本効果は観察期間を通して持続していた。この結果から、脳卒中後疼痛の慢性期において、JAK/STATが疼痛に関与していることが明らかになった。

[0079] (2) 脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるStattic投与がも

たらず疼痛への影響

von Frey testにより、脳卒中後疼痛病態下でのStat t i c投与による逃避閾値を測定したものを図2に示した。グラフから明らかなように、視床出血後1週間後には疼痛が発症していることを示している。この症状はコントロール群では実験終了時点まで持続してみられた。一方、Stat t i cを投与した群ではAG490、AZD1480投与時と同様に、48時間以内に逃避閾値の顕著な上昇が認められ、疼痛が改善されたと考えられた。

[0080] (3) 脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるBP-1-102投与がもたらす疼痛への影響

von Frey testにより、脳卒中後疼痛病態下でのBP-1-102投与による逃避閾値を測定したものを図3に示した。グラフから明らかなように、視床出血後1週間で逃避閾値の顕著な低下が見られ、これは疼痛を発症していることを示している。この症状は、視床出血後3週間まで持続し、コントロール群では実験終了時点まで改善傾向が見られなかった。一方で、疼痛発症後2週間が経過した慢性期（出血後21日目）にSTAT3阻害剤であるBP-1-102を投与した群では、48時間以内に逃避閾値の顕著な上昇が認められ、疼痛が改善したと考えられた。また、本効果は長期の観察期間を通して持続していた。さらに、超慢性期におけるBP-1-102投与による逃避閾値を測定したものを図4に示した。超慢性期（出血後91日目）にBP-1-102を投与した群でも顕著な疼痛改善傾向が認められ、この効果が投与後84日間の観察期間中持続していた。

[0081] (4) 視床出血発症初期におけるAG490の投与がもたらす疼痛への影響

視床出血誘導後当日から3～4日に1回の頻度でAG490を腹腔内投与した結果を図5に示した。視床出血後14日間にわたり逃避閾値を観察したが閾値の低下は認めず、AG490の投与によって疼痛の発症が予防されることが明らかになった。

[0082] (5) 脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるバリシチニブ投与がもたらす疼痛への影響

von Frey testにより、脳卒中後疼痛病態下でのバリシチニブ投与による逃避閾値を測定したものを図6に示した。グラフから明らかなように、視床出血後1週間で逃避閾値の顕著な低下が見られ、これは疼痛を発症していることを示している。疼痛発症後2週間が経過した慢性期（出血後29日目）に既存のJAK阻害剤であるバリシチニブを投与した群では、48時間以内に逃避閾値の顕著な上昇が認められ、疼痛が改善したと考えられた。しかし、 $2\mu\text{g/g}$ のバリシチニブの単回投与で認められた疼痛の改善は一時的なものであり、徐々に疼痛が再発した。そこで、 $0.2\mu\text{g/g}$ のバリシチニブを5日間連続投与したところ、再度逃避閾値の顕著な上昇が認められ、疼痛が改善したと考えられた。また、連続投与による効果は、長期の観察期間を通して持続していた。

[0083] (6) 脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期における大脳皮質S1領域へのフルオロクエン酸投与がもたらす疼痛への影響

von Frey testにより、脳卒中後疼痛病態下でのフルオロクエン酸投与による逃避閾値を測定したものを図7に示した。グラフから明らかなように、視床出血後1週間で逃避閾値の低下が見られ、これは疼痛を発症していることを示している。この症状は、フルオロクエン酸投与前まで持続してみられた。視床出血後21日目に大脳皮質S1領域へのフルオロクエン酸の直接投与（TH/Fluorocitrate）を行ったところ、48時間以内に逃避閾値の顕著な上昇が見られ、疼痛が改善されたと考えられた。投与後4日目を境にその効果は減弱し、3週間後には疼痛が再発していた。

[0084] (7) 脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期における大脳皮質S1領域へのBP-1-102投与がもたらす疼痛への影響

von Frey testにより、脳卒中後疼痛病態下で大脳皮質S1領域へのBP-1-102投与による逃避閾値を測定したものを図8に示し

た。グラフから明らかなように、視床出血後 1 週間で逃避閾値の顕著な低下が見られ、これは疼痛を発症していることを示している。この症状は、視床出血後 3 週間まで持続していた。慢性期（出血後 21 日目）に大脳皮質 S1 領域へ S T A T 3 阻害剤である B P - 1 - 1 0 2 を投与した群では、投与後 48 時間以内に逃避閾値の顕著な上昇が認められ、疼痛抑制効果があると考えられた。

[0085] （8）脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるアストロサイト特異的な C C L 2 コンディショナルノックアウトがもたらす疼痛への影響

v o n F r e y t e s t により、脳卒中後疼痛病態下でのアストロサイト特異的な C C L 2 ノックアウトによる逃避閾値を測定したものを図 9 に示した。グラフから明らかなように、視床出血後 1 週間で逃避閾値の顕著な低下が見られ、これは疼痛を発症していることを示している。この症状は、視床出血後 3 週間まで持続し、改善傾向が見られなかった。視床出血 21 日後から 5 日間のタモキシフェン投与を行いアストロサイト特異的な C C L 2 ノックアウトを行ったところ、投与開始後 7 日目より逃避閾値の上昇が見られた。また、この効果は観察期間を通して持続していた。

[0086] （9）脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期における脳室内へのマトリックスメタロプロテアーゼ 2（M M P 2）選択的阻害剤 A R P 1 0 0 投与がもたらす疼痛への影響

v o n F r e y t e s t により、脳卒中後疼痛病態下での脳室内への M M P 2 選択的阻害剤投与による逃避閾値を測定したものを図 10 に示した。グラフから明らかなように、視床出血後 1 週間で逃避閾値の顕著な低下が見られ、これは疼痛を発症していることを示している。脳卒中後疼痛発症後慢性期に、脳室内への A R P 1 0 0 の投与（T H / A R P 1 0 0）を実施したところ、48 時間以内に逃避閾値の顕著な上昇が見られ、疼痛が改善されたと考えられた。その効果は投与後 3 日目をピークとし、投与後から 10 日目には疼痛を再発したことから、A R P 1 0 0 の効果は一過性であると考えられた。

[0087] (10) 脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期におけるアストロサイト特異的なSTAT3のコンディショナルノックアウトがもたらす疼痛への影響

von Frey testにより、脳卒中後疼痛病態下でのアストロサイト特異的なSTAT3ノックアウトによる逃避閾値を測定したものを図11に示した。グラフから明らかなように、視床出血後1週間で逃避閾値の顕著な低下が見られ、これは疼痛を発症していることを示している。この症状は、視床出血後3週間まで持続し、改善傾向が見られなかった。視床出血21日後から5日間のタモキシフェン投与を行いアストロサイト特異的なSTAT3のノックアウトを行ったところ、投与開始後7日目より逃避閾値の上昇が見られた。また、この効果は観察期間を通して持続していた。

[0088] (11) 脳卒中後疼痛モデルマウス慢性期における大脳皮質S1領域のアストロサイト特異的なSTAT3のノックアウト実験

von Frey testにより、脳卒中後疼痛病態下での大脳皮質S1領域のアストロサイト特異的なSTAT3ノックアウトによる逃避閾値を測定したものを図12に示した。グラフから明らかなように、視床出血後1週間で逃避閾値の顕著な低下が見られ、これは疼痛を発症していることを示している。この症状は、視床出血後2週間まで持続し、改善傾向が見られなかった。視床出血14日後に大脳皮質S1領域へのAAVの投与(AAV5-GFAP-GFP-Cre)を実施したところ、4日後に逃避閾値の顕著な上昇が見られ、疼痛が改善されたと考えられた。この効果は観察期間を通して持続していた。

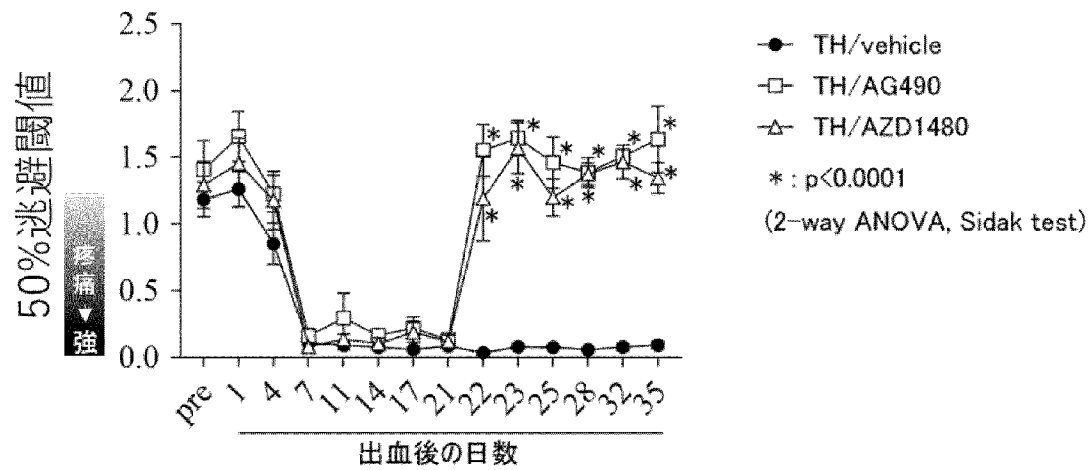
[0089] 前述したAG490が、末梢性神経障害性疼痛の抑制作用を有することの研究報告がある(Neural Regen Res. 13(8):1471-1476 (2018); Brain. 134(4):1127-1139 (2011))。しかしながら、一般論として、神経病態において、末梢神経系と中枢神経系ではその分子病態が全く異なることが常識となっており、末梢神経の分子生物学的知見を中枢神経系に持ち込むこと、またその逆は通常想定しない。したがって、末梢性神経障害性疼痛と中枢性神経障害性疼痛とは、疼痛成立の分子病態(機序)が全く異なることが想定される。

[0090] 末梢性神経障害性疼痛に関する上記文献 (Brain, 134(4):1127-1139 (2011)) では、同薬を末梢神経性障害疼痛動物モデルに投与した結果が報告されているが、投与終了後、速やかに（少なくとも3日後には）効果は消失していることが記載されている。一方で、上記の実験結果では投与後少なくとも2週間以上効果が持続しており、薬効が大きく異なっている。一般的に、神経系の障害研究において、末梢神経系と中枢神経系では神経再生能及び障害に対する応答の分子メカニズムが大きく異なることから、治療法開発にあたっては全く別個のものとして検証していくことが一般的であるが、今回得られた知見も、末梢性神経障害性疼痛と中枢性神経障害性疼痛との間で、同一薬剤でも作用メカニズムが異なることを示唆している。

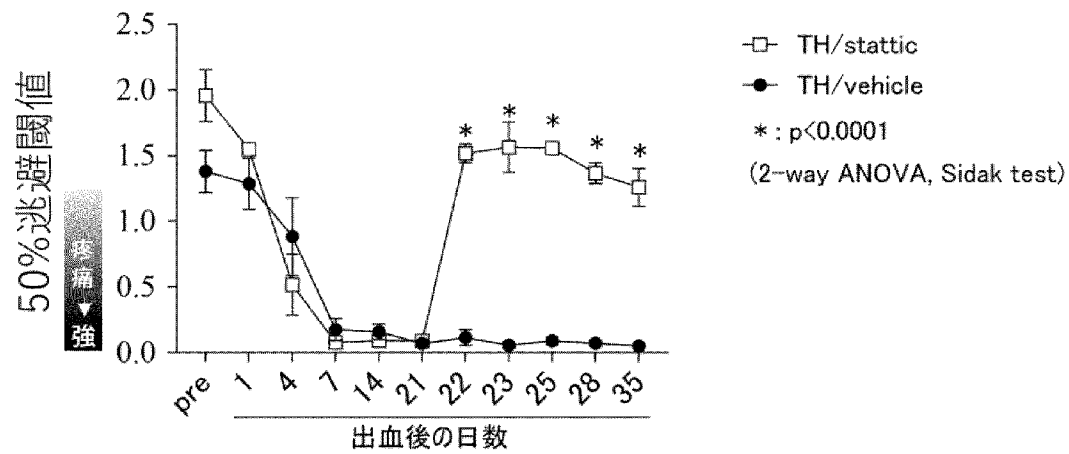
請求の範囲

- [請求項1] JAK／STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤からなる群から選択される少なくとも1種を含む、中枢性神経障害性疼痛の治療及び／又は予防用医薬組成物。
- [請求項2] JAK／STAT阻害剤を含む、請求項1に記載の医薬組成物。
- [請求項3] 前記中枢性神経障害性疼痛が、脳の障害が原因で生じる疼痛である、請求項1に記載の医薬組成物。
- [請求項4] 前記中枢性神経障害性疼痛が、脳卒中後疼痛である、請求項1に記載の医薬組成物。
- [請求項5] 前記中枢性神経障害性疼痛が、視床痛である、請求項1に記載の医薬組成物。
- [請求項6] 前記STATがSTAT3である、請求項1～5のいずれか一項に記載の医薬組成物。
- [請求項7] JAK／STAT阻害剤が、STAT3のSH2ドメイン阻害剤、JAK阻害剤、STAT3のDNA結合ドメイン阻害剤、JAK又はSTAT3遺伝子に対してRNAi効果を有する二本鎖RNA、及びJAK又はSTAT3遺伝子に対するアンチセンス核酸からなる群から選択される少なくとも1種である、請求項1～5のいずれか一項に記載の医薬組成物。
- [請求項8] JAK／STAT阻害剤が、STAT3のSH2ドメイン阻害剤及びJAK阻害剤からなる群から選択される少なくとも1種である、請求項1～5のいずれか一項に記載の医薬組成物。
- [請求項9] 投与間隔が6日以上である、JAK／STAT阻害剤、CCL2阻害剤、及びMMP2阻害剤からなる群から選択される少なくとも1種を含む、神経障害性疼痛の治療及び／又は予防用医薬組成物。
- [請求項10] JAK／STAT阻害剤を含む、請求項9に記載の医薬組成物。

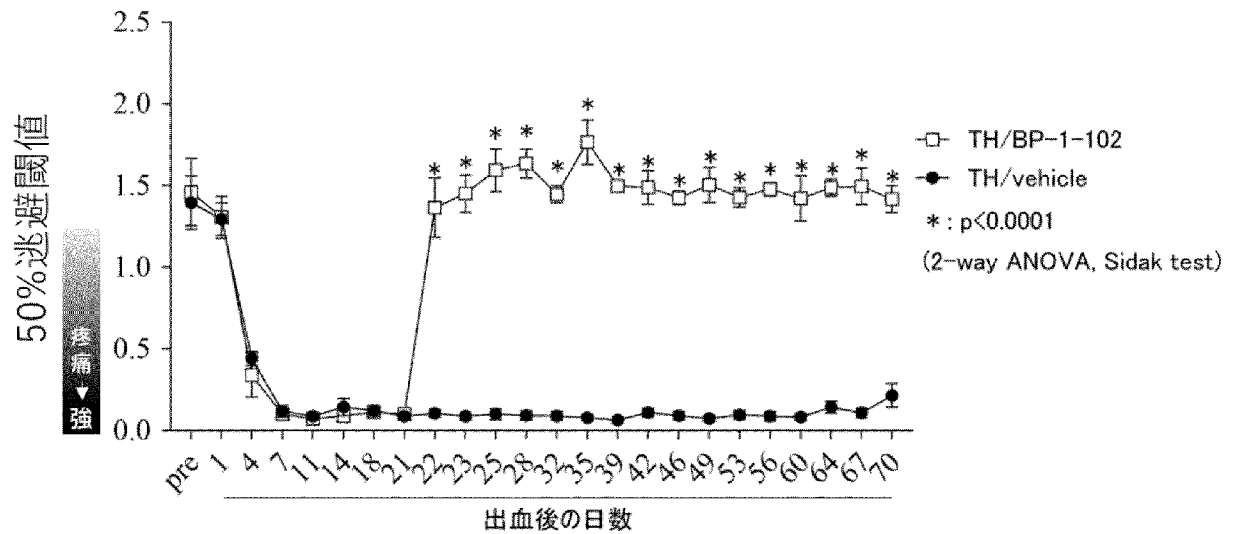
[図1]



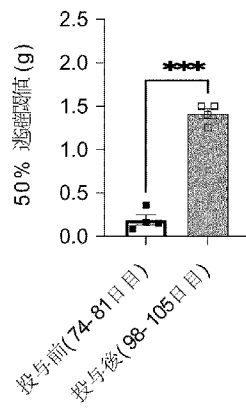
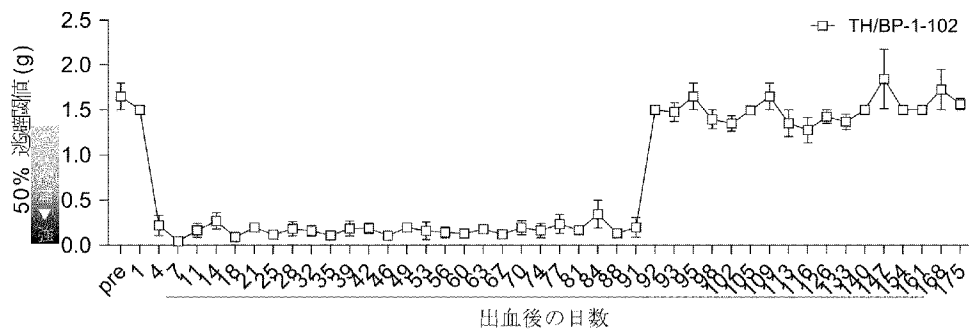
[図2]



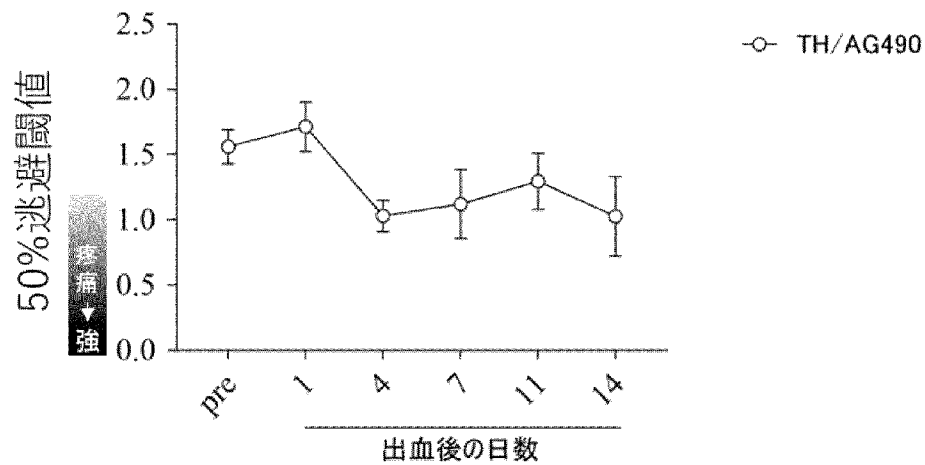
[図3]



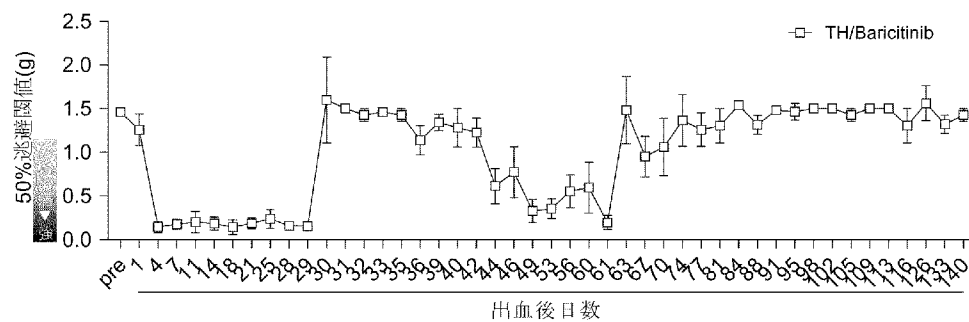
[図4]



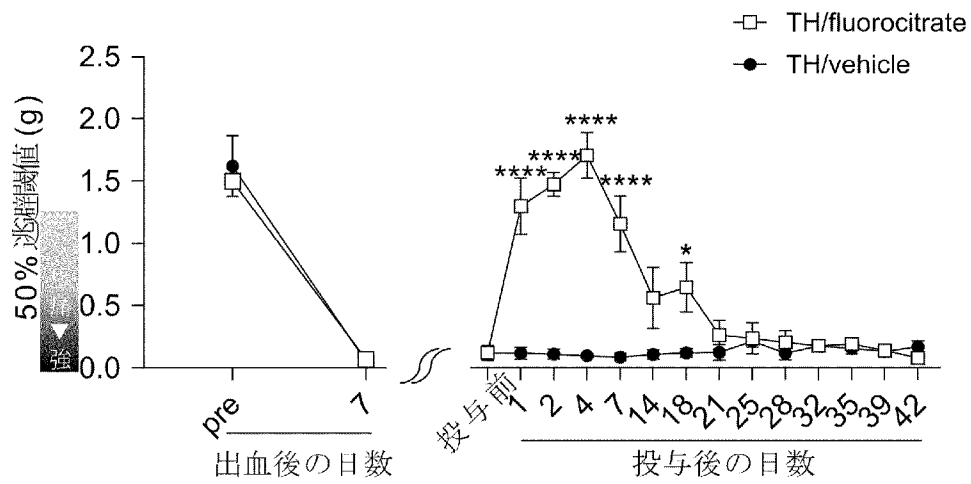
[図5]



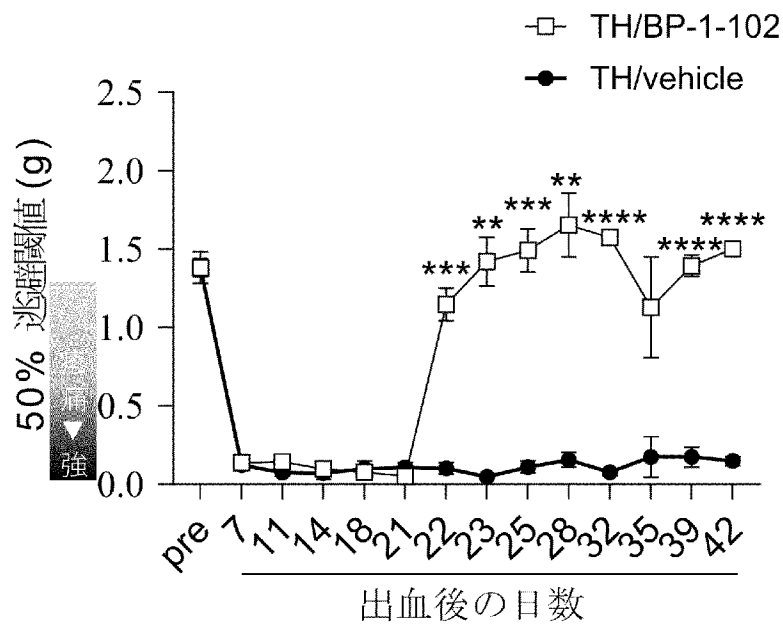
[図6]



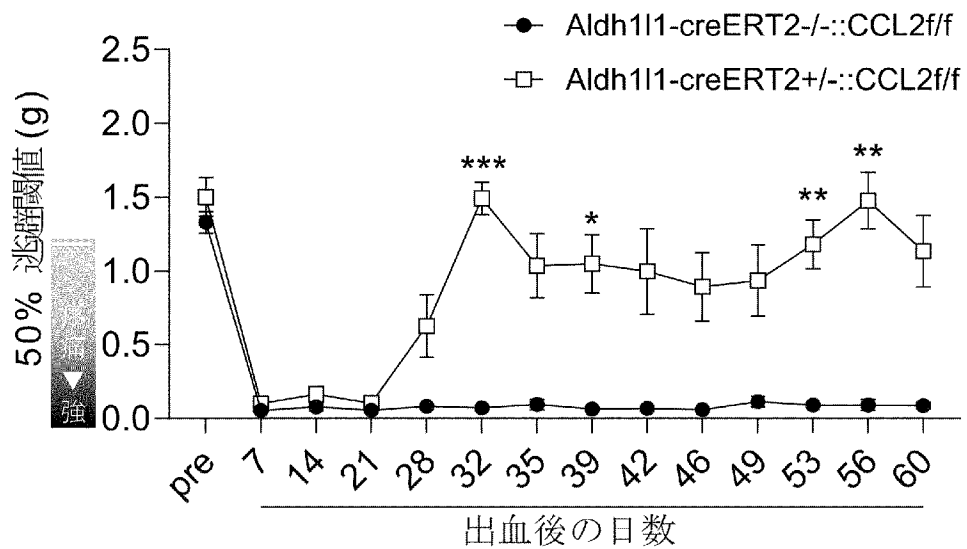
[図7]



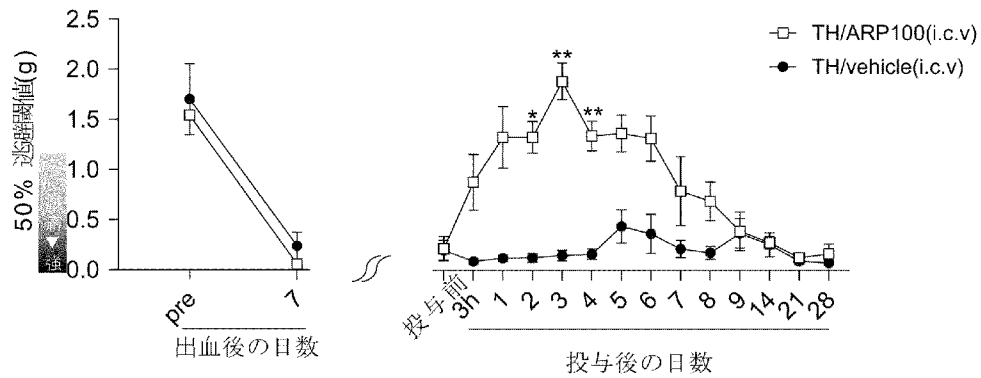
[図8]



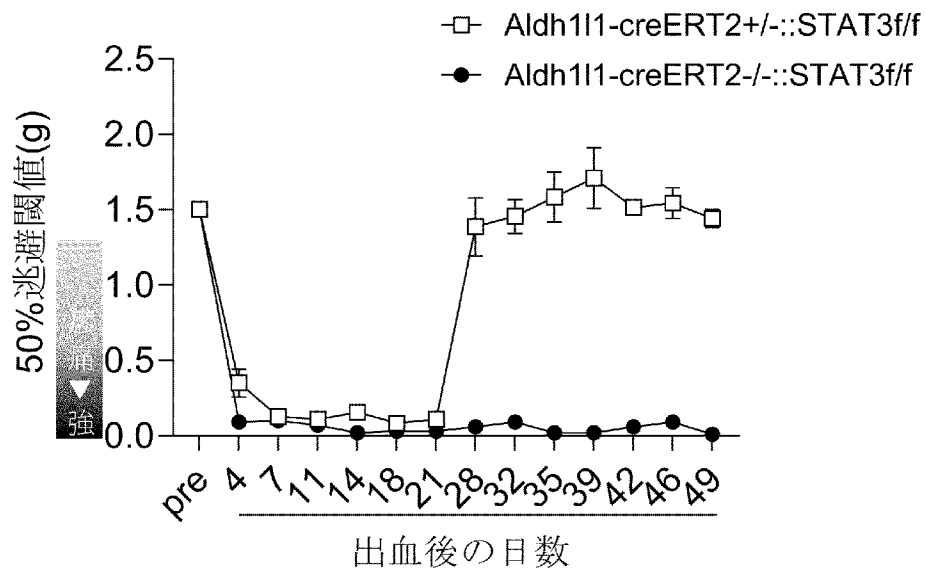
[図9]



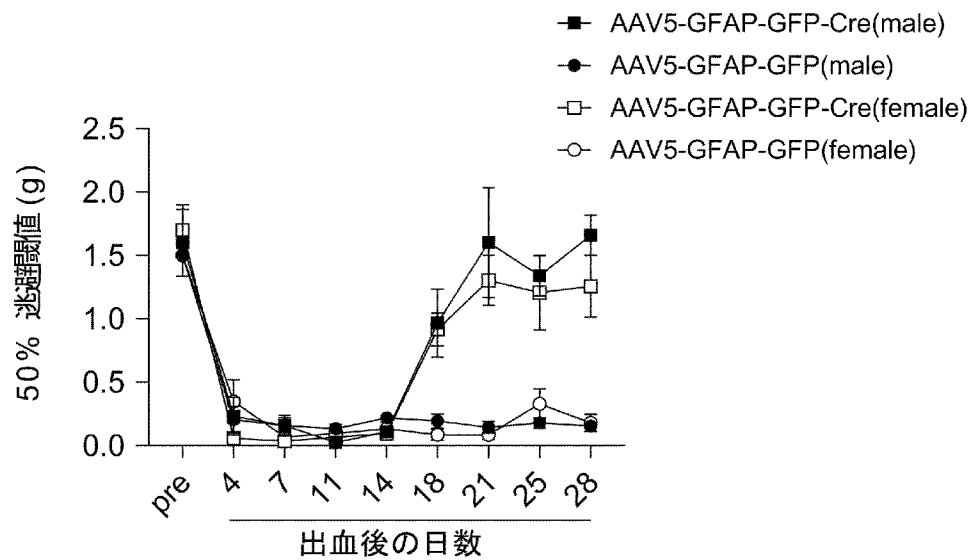
[図10]



[図11]



[図12]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/018707

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 45/00(2006.01)i; **A61K 31/195**(2006.01)i; **A61K 31/277**(2006.01)i; **A61K 31/506**(2006.01)i; **A61P 25/04**(2006.01)i
FI: A61K45/00; A61P25/04; A61K31/277; A61K31/195; A61K31/506

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K45/00; A61K31/195; A61K31/277; A61K31/506; A61P25/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HAN, J. et al. Resveratrol suppresses neuroinflammation to alleviate mechanical allodynia by inhibiting Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway in a rat model of spinal cord injury. Front Mol Neurosci. 16 January 2023, vol. 16, no. 1116679, pp. 1-10	1-2, 6-10
Y	abstract, Materials and methods, fig. 1	3-5
X	YUAN, Q. et al. Anti-inflammatory mechanism of low dose methotrexate and its application in spinal cord injury. Chinese Pharmacological Bulletin. 2017, vol. 33, no. 3, pp. 312-316	1-2, 6-10
Y	abstract	3-5
X	YANG, F. et al. Spinal MCP-1 Contributes to Central Post-stroke Pain by Inducing Central Sensitization in Rats. Molecular Neurobiology. 05 January 2023, vol. 60, pp. 2086-2098	1, 3-5, 9-10
	abstract, fig. 5-6	



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
“D” document cited by the applicant in the international application
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 July 2024

Date of mailing of the international search report

13 August 2024

Name and mailing address of the ISA/JP

**Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan**

Authorized officer

Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MIRANPURI, G. S. et al. Folic Acid Modulates Matrix Metalloproteinase-2 Expression, Alleviates Neuropathic Pain, and Improves Functional Recovery in Spinal Cord-Injured Rats. Ann Neurosci. 2017, vol. 24, pp. 74-81	1, 9-10
Y	abstract, Introduction	3-5
Y	小川節郎, 神経障害性疼痛の診断と治療, 日臨麻会誌, 2011, vol. 31, no. 7, pp. 903-909, (OGAWA, Setsuro. Diagnosis and Treatment of Neuropathic Pain. THE JOURNAL OF JAPAN SOCIETY FOR CLINICAL ANESTHESIA.)	3-5
	in particular, the section on nerve fibers	
Y	DWORKIN, R. H. et al. Advances in Neuropathic Pain. Arch Neurol. 2003, vol. 60, pp. 1524-1534	3-5
	table 1	
Y	COSTIGAN, M. et al. Neuropathic Pain: A Maladaptive Response of the Nervous System to Damage. Annu Rev Neurosci. 2009, vol. 32, pp. 1-32	3-5
	in particular, section "Neuropathic pain"	

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

This international application has two or more inventions.

In claim 1, the inventive specifying matter is expressed by alternatives particulars as options, and claim 1 has the common technical feature of a “pharmaceutical composition for the treatment and/or prevention of central neuropathic allodynia.” However, the technical feature does not make a contribution over the prior art in light of the disclosures of documents 1-4 and thus cannot be said to be a special technical feature.

Accordingly, claims 1-10 are classified as a portion comprising “JAK/STAT inhibitors” (invention 1), a portion comprising “CCL2 inhibitors” (invention 2), and a portion comprising “MMP2 inhibitors” (invention 3).

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

A61K 45/00(2006.01)i; A61K 31/195(2006.01)i; A61K 31/277(2006.01)i; A61K 31/506(2006.01)i;
A61P 25/04(2006.01)i
FI: A61K45/00; A61P25/04; A61K31/277; A61K31/195; A61K31/506

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

A61K45/00; A61K31/195; A61K31/277; A61K31/506; A61P25/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
日本国公開実用新案公報 1971-2024年
日本国実用新案登録公報 1996-2024年
日本国登録実用新案公報 1994-2024年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	HAN, J. et al., Resveratrol suppresses neuroinflammation to alleviate mechanical allodynia by inhibiting Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway in a rat model of spinal cord injury, Front Mol Neurosci, 2023.01.16, Vol.16, No.1116679, pp.1-10 Abstract, Materials and methods, Figure 1	1-2, 6-10
Y		3-5
X	YUAN, Q et al., Anti-inflammatory mechanism of low dose methotrexate and its application in spinal cord injury, Chinese Pharmacological Bulletin, 2017, Vol.33, No.3, pp.312-316 Abstract	1-2, 6-10
Y		3-5
X	YANG, F. et al., Spinal MCP-1 Contributes to Central Post-stroke Pain by Inducing Central Sensitization in Rats, Molecular Neurobiology, 2023.01.05, Vol.60, pp.2086-2098 Abstract, Fig.5-6	1, 3-5, 9-10

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 30.07.2024

国際調査報告の発送日 13.08.2024

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員（特許庁審査官）

林 康子 4U 1195

電話番号 03-3581-1101 内線 3439

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	MIRANPURI, G.S., et al., Folic Acid Modulates Matrix Metalloproteinase-2 Expression, Alleviates Neuropathic Pain, and Improves Functional Recovery in Spinal Cord-Injured Rats, Ann Neurosci, 2017, Vol.24, pp.74-81 Abstract, Introduction	1, 9-10
Y		3-5
Y	小川節郎, 神経障害性疼痛の診断と治療, 日臨麻会誌, 2011, Vol.31, No.7, pp.903-909 特に、神経繊維についての項	3-5
Y	DWORKIN, R.H. et al., Advances in Neuropathic Pain, Arch Neurol, 2003, Vol.60, pp.1524-1534 Table 1	3-5
Y	COSTIGAN, M. et al., Neuropathic Pain: A Maladaptive Response of the Nervous System to Damage, Annu Rev Neurosci, 2009, Vol.32, pp.1-32 特に、Neuropathic painの項	3-5

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第 1 ページの 3 の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

この国際出願に二以上の発明がある。

請求項 1 は、発明特定事項が選択肢で表現されており、それらは、「中枢性神経障害性疼痛の治療及び／又は予防用医薬組成物」という共通の技術的特徴を有しているが、当該技術的特徴は、文献 1－4 の開示内容に照らして、先行技術に対する貢献をもたらすものではないため、特別な技術的特徴であるとはいえない。

したがって、請求項 1－10 のうち「JAK／STAT 阻害剤」を含む部分（発明 1 ）、「CCL2 阻害剤」を含む部分（発明 2 ）、「MMP2 阻害剤」を含む部分（発明 3）に区分する。

1. ☐

出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。

2. ☒

追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

3. ☐

出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。

4. ☐

出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

☐

追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。

☐

追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。

☐

追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。