(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4321669号
(P4321669)

(45)発行日　平成21年8月26日(2009.8.26)　(24)登録日　平成21年6月12日(2009.6.12)

(51)Int.Cl.		F I		
A61K 38/00	(2006.01)	A61K	37/02	
A61K 9/08	(2006.01)	A61K	9/08	
A61K 47/30	(2006.01)	A61K	47/30	
A61P 17/02	(2006.01)	A61P	17/02	
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00	111

請求項の数 7　(全 20 頁)

(21)出願番号	特願平8-516267
(86)(22)出願日	平成7年11月14日(1995.11.14)
(65)公表番号	特表2001-503729(P2001-503729A)
(43)公表日	平成13年3月21日(2001.3.21)
(86)国際出願番号	PCT/US1995/014764
(87)国際公開番号	WO1996/014858
(87)国際公開日	平成8年5月23日(1996.5.23)
審査請求日	平成14年11月6日(2002.11.6)
(31)優先権主張番号	08/337,781
(32)優先日	平成6年11月14日(1994.11.14)
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	08/465,775
(32)優先日	平成7年6月6日(1995.6.6)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　396012241
ユニバーシティ　オブ　サザン　カリフォルニア
アメリカ合衆国、カリフォルニア州　９００８９、ロスアンジェルス、ユニバーシティ　パーク　キャンパス　(番地なし)
(74)代理人　100100549
弁理士　川口　嘉之
(74)代理人　100090516
弁理士　松倉　秀実
(74)代理人　100089244
弁理士　遠山　勉

最終頁に続く

(54)【発明の名称】組織修復におけるアンギオテンシン▲II▼フラグメントおよびその類似体の使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

適切な担体または希釈剤と、創傷治癒の促進に有効な量の、Ile^7－アンギオテンシンIII、Val^4－アンギオテンシンIII、Lys^1－アンギオテンシンIII、Ala^2－アンギオテンシンIII、Thr^3－アンギオテンシンIII、Leu^4－アンギオテンシンIII、Ala^6－アンギオテンシンIII、Arg^5－アンギオテンシンIII、Tyr^7－アンギオテンシンIII及び配列番号２からなる群から選択される少なくとも１つのポリペプチドとを含む創傷治癒促進組成物。

【請求項２】

適切な担体または希釈剤と、創傷治癒の促進に有効な量の、配列番号４、配列番号８、配列番号９、配列番号１０および配列番号１１から成る群から選択されるポリペプチドとを含む創傷治癒促進組成物。

【請求項３】

適切な担体または希釈剤と、創傷治癒の促進に有効な量の、配列番号３および配列番号７から成る群から選択される少なくとも１つのポリペプチドとを含む創傷治癒促進組成物。

【請求項４】

基質溶液かミセル溶液の投与形態である請求項１～３のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項５】

前記ポリペプチドが、体重１キログラムあたり少なくとも０．１ナノグラムの割合で投与されるように、適当な担体または希釈剤中に配合された請求項１～３のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項６】
前記担体または希釈剤が、カルボキシメチルセルロース製剤、クリスタロイド製剤、粘弾性物質（viscoelastics）、ポリエチレングリコールおよびポリプロピレングリコールから成る群から選択される、請求項５に記載の組成物。
【請求項７】
前記ポリペプチドが、創傷ドレッシングと併用して投与される、請求項１～３のいずれか１項に記載の組成物。
【発明の詳細な説明】
発明の背景
本発明は、一般に生化学および医学の分野に関する。特に、本発明は、組織の成長または治癒を促進する組成物と方法および物質に関する。
ほ乳類組織の創傷（破傷または裂口）は、創傷面で組織破壊および微小血管系の凝固を引き起こす。こうした組織の修復は、損傷に対して秩序正しく制御された細胞の応答の現れである。すべての軟組織創傷は、サイズとは無関係に、同じように治癒する。組織の成長および修復は生物学的システムであり、細胞増殖と血管形成は酸素勾配（oxygen gradient）の存在下で起こる。連続的な形態学的変化および構造的変化は組織修復中に起こるものであるが、こうした変化は非常に詳細に特徴付けられており、定量されている例もある［Hunt, T.K. et al.,”Coagulation and macrophage stimulation of angiogenesis and wound healing,”The surgiacal wound, pp.1-18, ed. F.Dineen & G.Hildrick-Smith（Lea & Febiger, Philadelphia:1981）］。
細胞形態形成は、３つの異なる区域から構成される。中心の無血管創傷空間は、酸素が欠乏しており、酸血症性であり、炭酸過剰症であり、乳酸塩濃度が高い。創傷空間には局部貧血（虚血）の勾配帯（gradient zone）が隣接しおり、ここでは繊維芽細胞が分裂して増殖する。この先導帯に続くのが活性コラーゲン合成領域であり、成熟繊維芽細胞と多数の新たに形成された毛細管（血管新生）を特徴とする。この新たな血管の成長（血管形成）は創傷組織の治癒に必要である一方、一般に血管形成剤では、予てからの要望である組織修復に対する生合成効果を補うことは不可能である。創傷（重度の熱傷、外科的切開、裂傷やその他の外傷）をさらに迅速に治癒させる必要があるのにも関わらず、今日までに薬理学的物質を用いて創傷治癒を促進すること以外は成功しなかった。
DiZeregaによる米国特許第5,015,629号明細書（この開示内容すべてを引用により本明細書に含める）には、創傷組織にアンギオテンシンII（ATII）を治癒速度の増加に有効な量適用し治癒速度を増加させる方法が記載されている。アンギオテンシンIIを創傷組織に適用することで、創傷治癒速度は十分速くなるので、上皮再形成と組織修復はさらに速くなる。アンギオテンシンIIという用語は、ヒトやその他の種に見られ、Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe［配列番号:1］の配列を有するオクタペプチドを意味する。アンギオテンシンIIは、周知の昇圧剤であり、市販されている。
アンギオテンシンIIは創傷治癒の促進に有益ではあるが、創傷治癒を促進するために有用な他の剤の需要がなお存在する。さらに、アンギオテンシンIIよりも高血圧を誘発する可能性の少ない薬剤を使用することは大いに利益がある。
本発明の目的は、これまでに知られている組成物の欠点を有さない組成物と方法を提供することである。
発明の概要
本発明は創傷の治癒におけるＡIIおよびその類似体の活性フラグメントの使用に関する。これらの化合物は、創傷の治癒を促進するのに有用な組成物の基礎をなし、その組成物は創傷の治癒を促進するに有効な量の少なくとも１つのこのような化合物を含む。好ましくは、組成物は基質溶液（matrical solution）またはミセル溶液の形態である。
【図面の簡単な説明】
本発明は、添付される図面を参照することにより、より良く理解されるものであり、
図1は、ＡIIIを使用した場合の、賦形剤で処置された対照と比較した創傷閉鎖のパーセント増加を示し、

図2は、様々なAIII類似体を使用した場合の、創傷閉鎖についての賦形剤で処置された対照と比較した対照反応に対するパーセントを示し、
図3は、様々なAIII類似体を使用した場合の、創傷閉鎖についての賦形剤で処置された対照と比較した対照反応に対するパーセントを示し、
図4は、様々なAIII類似体を使用した場合の、肉芽組織形成についての対照反応に対するパーセントを示し、
図5は、様々なAIII類似体を使用した場合の、肉芽組織形成についての対照反応に対するパーセントを示し、
図6は、様々なAIIフラグメントを使用した場合の、創傷閉鎖についての賦形剤で処置された対照と比較した対照反応に対するパーセントを示し、
図7は、様々なAIIフラグメントを使用した場合の、創傷閉鎖についての賦形剤で処置された対照と比較した対照反応に対するパーセントを示し、
図8は、様々なAIIフラグメントを使用した場合の、肉芽組織形成についての対照反応に対するパーセントを示し、
図9は、様々なAIIフラグメントを使用した場合の、肉芽組織形成についての対照反応に対するパーセントを示し、
図10は、様々なAIIフラグメントを使用した場合の、肉芽組織形成についての対照反応に対するパーセントを示し、
図11は、様々なAIIフラグメントを使用した場合の、肉芽組織形成についての対照反応に対するパーセントを示し、
図12は、様々なAIII類似体を使用した場合の、肉芽組織形成についての対照反応に対するパーセントを示し、
図13は、様々なAIII類似体を使用した場合の、肉芽組織形成についての対照反応に対するパーセントを示し、そして、
図14は、様々なAIIフラグメントを使用した場合の、創傷閉鎖についての賦形剤で処置された対照と比較した対照反応に対するパーセントを示す。

発明の詳細な説明

本発明によれば、ほ乳類組織の創傷治癒は、有効な量の少なくとも1つのAIIの活性フラグメントまたはその類似体を含む組成物を使用することによって促進される。一般に活性成分は、基質溶液またはミセル溶液の形態で投与され、その濃度が非常に低い場合でさえも、上皮再形成および組織修復を促進するの有効である。

本発明に係る特に重要なAIIの活性フラグメントおよびその類似体は、以下の一般式Iの配列中におけるR^1-R^8基のサブシークエンスに相当する、少なくとも3つ、および好ましくは少なくとも4つの連続したアミノ酸よりなる配列を有することを特徴とする。

R^1-R^2-R^3-R^4-R^5-R^6-R^7-R^8

（上記式中、R^1およびR^2はともに以下の式の基を形成し、

X-R^A-R^B-、

上記式中、XはHまたは1から3のペプチド基であり、R^AとR^Bの間のペプチド結合はアミノペプチダーゼA切断を受け得るものであり、

R^3は、Val、Ala、Leu、Ile、Gly、Pro、Aib、AcpcおよびTyrから成る群から選択され、

R^4は、Tyr、Thr、SerおよびazaTyrから成る群から選択され、

R^5は、Ile、Ala、Leu、ValおよびGlyから成る群から選択され、

R^6は、HisまたはArgで、

R^7は、ProまたはAlaで、そして

R^8は、Phe、Phr（Br）、Ileおよび、Tyrから成る群から選択され、R^4を末端Tyr残基として含む配列を除外する。）

好ましい実施例の1つのクラスにおいて、R^AはAsp、Glu、Asn、Acpc（1-アミノシクロペンタンカルボン酸）、Ala、Me^2Gly、Pro、Bet、Glu（NH_2）、Gly、Asp（NH_2）およびSucから適切に選択される。R^BはArg、Lys、Ala、Orn、Ser（Ac）、Sar、D-ArgおよびD-lysから適切に選択される。特に好ましいR^AとR^Bの組み合わせは、Asp-Arg、Asp-Lys、Glu-Argお

よびGlu-Lysである。
このクラスの特に好ましい実施例は以下を含む。ＡIIIまたはＡII（2-8）でArg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe［配列番号:2］、ＡII（3-8）またはdesl-ＡIIIまたはＡIVとして知られているものでVal-Tyr-Ile-His-Pro-Phe［配列番号:3］、ＡII（1-7）でAsp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro［配列番号:4］、ＡII（2-7）でArg-Val-Tyr-Ile-His-Pro［配列番号:5］、ＡII（3-7）でVal-Tyr-Ile-His-Pro［配列番号:6］、ＡII（5-8）でIle-His-Pro-Phe［配列番号:7］、ＡII（1-6）でAsp-Arg-Val-Tyr-Ile-His［配列番号:8］、ＡII（1-5）でAsp-Arg-Val-Tyr-Ile［配列番号:9］、ＡII（1-4）でAsp-Arg-Val-Tyr［配列番号:10］、ＡII（1-3）でAsp-Arg-Val［配列番号:11］。ＡII（6-8）でHis-Pro-Phe［配列番号:12］とＡII（4-8）でTyr-Ile-His-Pro-Phe［配列番号:13］もまたテストされたが、効果がないことが判明した。
本発明に係る特に重要な別のクラスの化合物は、以下の一般式IIで示される化合物である。
R^2-R^3-R^4-R^5-R^6-R^7-R^8
（式中、R^2は、H、Arg、Lys、Ala、Orn、Ser（Ac）、Sar、D-ArgおよびD-Lysから成る群から選択され、
R^3は、Val、Ala、Leu、Ile、Gly、Pro、Aib、AcpcおよびTyrから成る群から選択され、
R^4は、Tyr、Thr、SerおよびazaTyrから成る群から選択され、
R^5は、Ile、Ala、Leu、ValおよびGlyから成る群から選択され、
R^6は、HisまたはArgで、
R^7は、ProまたはAlaで、そして
R^8は、Ile、Phe、Phe（Br）およびTyrから成る群から選択される。
特に好ましい一般式IIの化合物のサブクラスは下記の式を有する。
R^2-R^3-Tyr-R^5-His-Pro-Phe［配列番号:14］
（式中、R^2、R^3およびR^5は既に定義した通りである。）
特に好ましいものは、式Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe［配列番号:2］のアンギオテンシンIIIである。フラグメントＡII（4-8）は、繰り返されたテストにおいて有効性が認められなかったが、これはＮ末端にチロシンが露出しているためであると考えられる。
上述の式では、アミノ酸残基に対する標準の3文字の略語を使用している。反対に指示がない場合には、L-型のアミノ酸を意味する。その他の残基は以下のように略した。

Me^2Gly	N,N-ジメチルグリシル
Bet	1-カルボキシ-N,N,N-トリメチルメタナミンハイドロオキサイド分子内塩（ベタイン）
Suc	スクシニル
Phe(Br)	p-ブロモ-L-フェニルアラニル
azaTyr	アザ-α'-ホモ-L-チロシル
Acpc	1-アミノシクロペンタンカルボン酸
Aib	2-アミノイソ酪酸
Sar	N-メチルグリシル（サルコシン）

ATIIIとその類似体はγターンかβターンのいずれかをとることが示唆されている［Regoli, D. et al. （1974）”Pharmacology of Angiotensin,”Pharmacological Reviews 26: 29］。一般に、位置R^3、R^5およびR^7の中性側鎖は、受容体の結合および／または固有活性に主に寄与する位置R^4、R^6およびR^8の活性基間の適切な距離を保つことに関与し得ると思われる。位置R^3、R^5およびR^8における疎水性側鎖は、ペプチド全体のコンホメーションに重要な役割を果たし、および／または、仮説的疎水性ポケットの形成に寄与することもある。

位置R^2のアミノ酸の適切な側鎖は、ターゲット受容体に対する本化合物の親和性に寄与し、および／または、ペプチドのコンホメーションに重要な役割を果たすと思われる。このため、ArgとLysがR^2として特に好ましい。

本発明の目的のため、R3はR^5（γターンモデルの場合）かR^6（βターンモデルの場合）との線状または非線状の水素結合の形成に関与し得ると思われる。R^3は、逆平行β構造の第1のターンにも関与するとも思われる（この構造は可能性のある構造として提案されている）。一般式Ｉの他の位置とは対照的に、β分枝とγ分枝はこの位置で同様に有効であると思われる。さらに、単一の水素結合で、比較的安定したコンホメーションを十分に維持することができると考えられる。従って、R^3をVal、Ala、Leu、Ile、Gly、Pro、Aib、Acpc、Tyrから適切に選択することができる。

R^4に関しては、コンホメーションの分析から、この位置の側鎖が（R^3およびR^5の位置と同様に）受容体の占有および刺激に不可欠と思われる疎水性クラスターの一因となることが示されている。このため、R^4はTyr、Thr、Ser、azaTyrから選択することが好ましい。この位置では、Tyrが特に好ましく、その理由は、水素をフェノール性水酸基から受け取ることができる受容体の部位と水素結合をし得るからである［Regoli et al. （1974）、上述］。

R^5の位置では、脂肪族または脂環式のβ鎖を有するアミノ酸が特に望ましい。従って、Glyが位置R^5に適切ではあるが、この位置のアミノ酸はIle、Ala、Leu、Valから選択することが好ましい。
本発明に係る特に重要な類似体では、R^6はHisまたはArgである。ヒスチジンのイミダーゾール環のユニークな性質（生理的pHでのイオン化、プロトン供与体またはプロトン受容体として作用できること、芳香族的性質）は、R^6として特有の効用に寄与すると思われる。例えば、コンホメーションモデルは、Hisが水素結合形成に関与し得る（βモデルの場合）か、R^7の配向に影響することによって逆平行構造の第2ターンに関与し得ることを示す。同様に、現在ではR^8を最も望ましく配向させるためには、R^7がProであると考えられている。R^8の位置では、疎水環と陰イオンカルボキシル末端の両方が、目的の類似体を受容体に結合する際に特に有用であると思われるため、Tyrと特にPheが本発明の目的に好ましい。
アンギオテンシンIIは、これまでに知られている最も強力な血管収縮剤の1つで、分岐して毛細血管を形成する微小な動脈、すなわち細動脈の収縮を引き起こす。アンギオテンシンの生物学的産生は、レニンが血漿基質アンギオテシノーゲンに作用することにより開始される。このようにして形成された物質は、アンギオテンシンＩと呼ばれるデカペプチドで、これは、アンギオテンシンＩからＣ末端His-Leu残基を排除する転換酵素アンギオテンシナーゼにより、アンギオテンシンIIに変換される。
レニン-アンギオテンシン系による血管作用性産物であるアンギオテンシンII（ＡII）は、生長因子の放出、有糸分裂誘発、走化性、および培養細胞の細胞外マトリックスの放出を増大することが研究で証明されているが、これらのことは損傷の修復に関与するものである［Dzau V.E. et al. （1989）Molecular mechanism of angiotensin in the regulation of vascular and cardiac growth. J Mol Cell Cardiol 21（Supple III）: S7; Berk, BC et al. （1989）Angiotensin II stimulated protein synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. Hypertension 13:305-14; Kawahara, Y, et al. （1988）Angiotensin II induces expression on the c-fos gene through protein kinase C activation and calcium ion mobilization in cultured vascular smooth muscle cells. BBRC 150:52-9, Naftilan, AJ et al. （1989）Induction of platelet-derived growth factor A-chain and c-myc gene expressions by angiotensin II in cultured rat vascular smooth muscle cells. J Clin Invest 83: 1419-24; Taubman, MB et al. （1989）Angiotensin II induces c-fos mRNA in aortic smooth muscle. Role of Ca^{2+} mobilization and protein kinase C activation. J Biol Chem 264:526-530; Nakahara, K et al. （1992）Identification of three types of PDGF-A chain gene transcripts in rabbit vascular smooth muscle and their regulated expression during development and by angiotensin II. BBRC 184: 811-8; Stouffer GA and GK Owens. （1992）Angiotensin II induced mitogenesis of spontaneously hypertensive rat derived cultured smooth muscle cells is dependent on autocrine production of transforming growth factor-βB. Circ Res 70:820; Wolf, G et al. （1992）Angiotensin II stimulates the proliferation and biosynthesis of type Ｉ collagen in cultured murine mesangial cells. Am J Pathol 140:95-107; Bell, L and JA Madri（1990）Influence of the angiotensin system on endothelial and smooth muscle cell migration. Am J Pathol 137:7-12］。さらに、ＡIIは、ウサギ角膜およびニワトリ漿尿膜モデルにおいて血管新生性があることがわかっている（Fernandez, LA et al. （1985）Neovascularzation produced by angiotensin II. J Lab Clin Med 105:141;LeNoble, FAC et al. （1991）Angiotensin II stimulates angiogenesis in tbe chorio-allantonic membrane of the chick embryo. Eur J Pharmacol 195:305-6］。このように、ＡIIは、血管新生、生長因子の放出、再上皮形成、細胞外マトリックスの産生を増大させることにより、創傷の修復を促進することができる。損なわれた組織への血流および栄養を増大することにより、ＡIIは創傷修復の速度を増大することができる。ＡIIはまた、損傷部位における生長因子の産生により創傷修復の速度を増大することができる。生長因子を外から添加することにより、さまざまな

メカニズムにより損傷修復の速度が増大することが示されている。［Grotendorst, GR et al. （1985）Stimulation of granulation tissue formation by platelet-derived growth factor in normal and diabetic rats. J Clin Invest 76:2323-9; Mustoe, TA et al. （1987）Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor-β. Science 237:1333-5; Pierce, GF et al. （1988）In vivo incisional wound healing augmented by platelet-derived growth factor and recombinant c-sis gene homodimeric proteins. J Exp Med 167:974-87; Lynch, SE et al.（1989）Growth factors in wound healing. J Clin Invest 84:640-6; Greenhalgh, DG et al. （1990）PDGF and FGF stimulate wound healing in the genetically diabetic mouse. Am J Pathol 136:1235-46］。最近の研究で、ＡＩＩは、損傷後の頚動脈および大動脈における新血管内膜形成を増大することが示されている［Powell, JS et al.（1989）Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury. Science 245:186-8; Powell, JS et al.（1991）The proliferative response to vascular injury is suppressed by converting enzyme inhibition. J Cardiovasc Pharmacol 16（suppl 4）:S42-9; Capron, L et al.（1991）Effect of ramipril, an inhibitor of angiotensin converting enzyme, on the response of rat thoracic aorta to injury with a balloon catheter. J Cardiovasc Pharmacol 18:207-11; Osterriedes, W et al.（1991）Role of angiotensin II injury-induced neointima formation in rats. Hypertension 18:Suppl 1160-64; Daemen, MJAP et al. （1991）Angiotensin II induces smooth muscle cell proliferation in the normal and injured rat arterial wall. Circ Res 68:450-6］。これらの観察の結果、外因性ＡＩＩが内膜過形成（hyperplasia）を引き起こすメカニズムを調べるための研究が実施された。ＡＩＩは、平滑筋細胞、線維芽細胞、および上皮細胞に対して有糸分裂促進物質として作用することが示された［Schelling, P et al. （1979）Effect of angiotensin II and angiotensin II antagonist saralysin on cell growth and renin in 3T3 and SV3T3 cells. J Cell Physiol 98:503-13; Campbell-Boswell, M and AL Robertson. （1981）Effects of angiotensin II and vasopressin on human smooth muscle cells in vitro. Exp Mol Pathol 35:265-76; Emmett, N et al.（1986）Effect of saralasin（angiotensin II antagonist）on 3T3 cell growth and proliferation. J Cell Biol 103:171（Abst）; Paquet, JL et al.（1991）Angiotensin II-induced proliferation of aortic myocytes in spontaneously hypertensive rats. J Hypertens 8:565-72; Dzau et al、上述］。ＡＩＩはまた、血管平滑筋細胞のたんぱく質含有量および大きさを増大した。［Berk et al.（1989）、上述;Geisterfer, AAT et al.（1988）Angiotensin II induces hypertrophy, not hyperplasin, of cultured rat aortic smooth muscle cells. Circ Res 62:749-56］。ＡＩＩが、PDGF、ヘパリン結合EGFおよびトランスファーミング生長因子ベータβ（TGFβ）などのさまざまなタイプの生長因子および生長関連プロトオンコジーンの平滑筋細胞、上皮細胞、および心臓線維芽細胞からの放出を増大することが研究によって示されている。［Kawahara et al.（1988）、上述;Naftilan, AJ（1992）The role of angiotensin II in vascular smooth mulcle cell growth. J Cardiovas Pharmacol 20:S37-40; Naftilan et al.（1989）、上述; Taubman et al.（1989）、上述; Nakahara et al.（1992）、上述;Temizer et al（1992）、上述; Gibbons, GH et al.（1992）Vascular smooth muscle cell hypertrophy vs hyperplasia. Autocrine transforming growth factor-beta I expression determines growth response to angiotensin II. J Clin Invest 90:456-61; Bell, L et al. （1992）Autocrine angiotensin system regulation of bovine aortic endothelial cell migration and plasminogen activator involves modulation of proto-oncogene pp60 c-src expression. J Clin Invest 89:315-20; Stouffer and Owens（1992）、上述］。ＡＩＩによる血管平滑筋細胞の肥大（hypertrophy）は、PDGFにより媒介されていた［Berk, BC and GN Rao.（1993）Angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell hypertrophy: PDGF A-chain medites the increase in size. J Cell Physiol 154:368-80］。このように、ＡＩＩが、創傷組織においてこれらの生長因子の濃度を上昇することにより創

傷修復を促進するように作用することが認識される。さらに、AIIは、コラーゲンの合成を刺激することが示されており、このことは、細胞外基質形成におけるこの因子の役割を示唆するものである［Wolf, G et al.（1991）Intracellular signalling of transcription and secretion of type IV collagen after angiotensin II-induced cellular hypertrophy in cultured proximal tubular cells. Cell Reg. 2:219-27; Wolf et al.（1992）上述a; Zhou, G et al.（1992）Angiotensiin II mediated stimulation of collagen synthesis in cultured cardiac fibroblasts. FASEB J 6:A1914］。創傷修復にはまた、創傷床内への必要なタイプの細胞の走化性が関与する。AIIはまた、インビトロにおける上皮細胞および平滑筋細胞の遊走を引き起こすことが示されている［Bell and Madri（1990）、上述］。

最近の研究ではまた、AII受容体の発現が創傷修復のプロセス中は変化することが示された［Viswanathan, M, and JM Saavedra（1992）Expression of Angiotensin II AT_2 Receptors in the Rat Skin During Experimental Wound Healing. Peptides 13;783-6; Kimura, B et al.（1992）Changes in skin angiotensin II receptors in rat during wound healing. BBRC 187:1083-1090］。これらの変化は、修復部位におけるAIIの局所産生の増大の証拠と同時に、AIIが創傷修復プロセスにおいて重要な役割を果たしている可能性を示唆するものである。AIIおよびAIIIは、幾つかの観点において全く異なる生物学的活性を有することが観察されている。例えば、AIIは誘発された神経ノルエピネフリン放出に対して二相性の作用（始めは減少し、次いで増大）を示す一方、自発性のノルエピネフリン放出を12分後に増大させるのみであるが、AIIIは、誘発によるノルエピネフリン放出も自発性の放出の双方ともに対して二相性の作用を示す［Vatta, MS et al.（1992）Monophasic and biphasic effects of antiotenis II and III on norepinephrine uptake and release in rat adrenal medulla. can. J. Physiol. Pharmacol.70:821］。さらに、AIIとAIIIは、圧受容体心臓反射に対しても異なる作用を及ぼす。AIIが反射の感受性を促進するのに対して、AIIIはこれを減じる［Brattstrom, A.et al.（1992）Neuropeptides within the nucleus tractus solitarii modulate the central cardiovascular control process Progress in Brain Research 91:75］。驚くべきことに、アンギオテンシンIIとアンギオテンシンIIIの間のこれらの生物学的活性の大きな差異にもかかわらず、AIIIおよびその特定の類似体は創傷の治癒を促進するにおいて有効である。

AII（1-7）の活性を測定する目的で多くの研究が行われている。AII（1-7）の作用の多くは、AT2受容体を介しての作用による。しかし、これはいつも一定のものではなく、調査対象の組織によって異なる。

AII（1-7）は、AIIの作用の多くを有さない。AII（1-7）は、調べたモデルや投与経路により、血圧に対する昇圧作用を有さないか、有しても非常に弱い（AII濃度の10000-100000倍で効果を示す）。実際にAII（1-7）は、プロスタノイド合成により媒介されると考えられる血圧低下作用を示す。さらに、AIIに作用とは反対に、AII（1-7）はカテコールアミンの放出およびアルドステロンの放出を引き起こさず、口渇誘発的（dipsogenic）ではない［Webb et al. 1992. Molecular charac terization of angiotensin II type II receptors in rat pheochromocytoma cells. Peptides 13:499-508; Cheng et al. 1994. Comparision of kpresdsor responses to angiotensin I, II and III in pulmonary vascular bed of cats. Am J Physiol 266:H2247-H2255; Moriguchi, A et al. 1994. Differential regulation of central vasopressin in transgenic rats harboring the mouse Ren-2 gene. Am J Physiol 267:R786-R791; Schiavone et al. 1990. Angiotensin-（1-7）:Evidence for novel actions in the brain. J Cardiovascular Pharmacol 16（Suppl 4）:S19-S24; Ferrario et al. 1991. Angiotensin-（1-7）: A new hormone of the angiotensin system. Hypertension 19（suppl III）:III-126-III-133］。

ある報告によれば、AII（1-7）の血圧上昇作用は弱く、AIIと同等の反応を得るにはその約10000倍を要する［Benter et al. 1993. Cardiovascular actions of angiotensin（1-7）. Peptides 14:679-684］。このシステムでは、AII（1-7）は、用量依存性の持続性の血圧低下作用を示した。AII（3-7）は、血圧上昇作用は、AII（1-7）よりも小さか

ったが、血圧低下作用は示さなかった。ＡII（1-7）、ＡII（2-7）およびＡII（3-7）については、ドーパミンシステムおよび記憶に作用する（精神活性作用を有することを示唆するものであるが）可能性があることも判明した。
数種類のシステムにおいては、ＡII（1-7）の作用は、ＡIIとは全く異なるものである。ＡIIは、AT1受容体を介して、ラットの糸球体間質細胞におけるコリン産生を促進する。ＡII（1-7）およびＡII（1-6）は、このパラメーターについては非常に弱い作用しか示さない［Pfeilschifter et al. 1992. Angiotensin II stimulation of phospholipase D in rat renal mesangial cells is mediated by the AT1 receptor subtype. Eur J Pharmacol 225:57-62］。
ブタの動脈上皮細胞においては、ＡＩおよびＡII（1-7）は、プロスタグランジンE2およびI2の放出を促進するが、ＡIIにはこの作用がない［Jaiswal et al. 1992. Stimulation of endothelial cell prostaglandin production by antiotensin peptides. Characterization of receptor. Hypertension 19（Suppl II）:11-49-II-55］。ＡIIは、他の種類の細胞および無傷の血管においてプロスタグランジンの放出を促進することができるが、ヒトまたはブタの上皮細胞では促進しない。この上皮細胞に対する作用は、AT1とAT2とは異なる受容体を介するものであった。
ラットの糸球体試料では、ＡIIは、AT1受容体を介して、ヒスタミン、セロトニンおよび副甲状腺ホルモンに反応してのcAMPの形成を阻害した［Edwards, RM and EJ Stack. 1993. Angiotensin II inhibits glomerular adnylate cyclase via the angiotensin II receptor subtype 1（AT1）. J Pharmacol Exper Ther 266:506-510］。ＡII（1-7）にはこの作用はなかった。
ブタ血管平滑筋細胞およびヒト星状神経膠細胞において、ＡIIおよびＡII（1-7）は、プロスタグランジンの放出を増大させる。アンギオテンシンIIのみが細胞内Ca2+の放出を増大させる［Jaiswal et al. 1993. Differential regulation by angiotensin peptides in porcine aortic smooth muscle cells: subtypes of angiotensin receptors involved. J Pharmacol and Exp Therapeutic 265:664-673; Jaiswal et al. 1991. Subtype 2 angiotensin receptors mediate prostaglandin synthesis in human astrocytes. Hypertension 17:1115-1120］。
ＡII（1-7）は、おそらく酸化窒素を介して、ブタ冠動脈環を拡張させる［Porsti et al. 1994. Release of nitric oxide by angiotensin-（1-7）from porcine coronary endothelium: implications for a novel angiotensin receptor. Br J Pharmacol 111:652-654］。この作用は、ＡII、ＡIII、またはＡII（3-8）では観察されなかった。この作用は、AT1またはAT2受容体の拮抗剤により低下しなかった。
ＡIIは、ラット単離結節状神経節の分極防止を引き起こす。ＡII（1-7）はこれを引き起こさない［Widdop et al. Electrophysiological responses of angiotensin peptides on tne rat isolated nodose ganglion. Clin and Exper Hyper-Theory and Practice A14:597-613］。実際に、ＡII（1-7）は、脳機能のに対する新規の作用を有する可能性がある［Schiavone et al 1990. Angiotensin-（1-7）: Evidence for novel actions in the brain. J Cardiovascular Pharmacol 16（suppl 4）:S19-S24］。
バソプレッシンの放出や基部細管細胞（proximal tubule cells）におけるホスホリパーゼA2活性の調整のように、ＡII（1-7）とＡIIが分担しあっている活性もある［Andreatta-Van Leyen, S et al. 1993. Modulation of phospholipase A2 activity and sodium transport by angiotensin-（1-7）. Kidney International 44:932-6; Moriguchi, A et al. 1994. Differential regulation of central vasopressin in transgenic rats harboring the mouse Ren-2 gene. Am J Physiol 267:R786-R791; Ferratio et al. 1991. Angiotensin-（1-7）: A new hormone of the angiotensin system. Hypertension 19（suupl III）:III-126-III133］。しかし、これらの作用は、創傷修復には関与しないと考えられる。
ＡIIの他のフラグメントの作用は、これまでにあまり研究されていない。室傍核中の大半のニューロンは、Ang（1-7）、ＡIIおよびＡIIIにより興奮状態となるが、ＡII（1-7）で

はこの作用はこれより弱い。多くのニューロンでは、ＡII（2-7）は作用を与えない［Ambuhl et al. 1992. Effects of angiotensin analogues and angiotensin receptor antagonists on paraventricular neurones. Regulatory Peptides 38:111-120］。側脳室中に投与したＡIIは、運動性、常同運動、条件回避反応の学習を増大した。ＡII（1-6）とＡII（2-6）は、これらの精神作用性の効果を有さなかった［Holy, Z et al. 1993. Psychotropic effects of angiotensin II N-terminal fragments: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His and Arg-Val-Tyr-Ile-His in rats. Polish J Pharmacol 45:31-41］。

ＡII（4-8）、ＡII（5-8）およびＡII（1-4）は、ラットにおいて前間脳（anterior diencephalon）に注射した場合、水摂取量に対する影響はほんのわずかであり、ＡII（1-7）は全く作用しなかった［Fitzsimmons, JT. 1971. The effect on drinking of peptide precursors and of shorter chain peptide fragments of angiotensin II injected into the rat’s diencephalon. J Physiol 214:295f-303］。ラットにおいて、ＡIIフラグメント［ＡII（4-8）およびＡII（5-8）］を脳室内注入（intracerebroventricular infusion）するとき、ＡIIの血圧を上昇するだけの量の1000倍の濃度で投与した場合でさえ、血圧に対する作用はごくわずかであった［Wright et al. 1989. Structure-function analysis of brain angiotensin control ofnpressor action in rats. Am J Physiol 257:R1551-R1557］。これらの研究のいずれもにおいて、フラグメントは、脳に直接注射された。これは高度に人為的なもので、全身性の代謝は考慮されていない。

本発明の方法により、本発明に係る活性なフラグメントまたはその類似体は、組織の治癒速度を高めるに十分な量で創傷組織に適用される。これらの化合物は、インビボにおいてナノモルのレベルで治療速度を大きく促進することができる。どの活性薬についても、任意の剤形についての至適濃度を経験則から容易に決定することができる。一般に、本発明にしたがって、使用に適当な活性薬の量は、体重1キログラムあたり約0.0001マイクログラムから約10ミリグラムの範囲にある。

本発明に係る化合物は、種々の溶液に含めて適用することができる。本発明に係る用途に適切な溶液は、無菌であり、十分な量のペプチドを溶解し、創傷組織に対して無害である。これに関し、本発明の化合物は非常に安定であるが、強酸と強塩基によって加水分解される。本発明に係る化合物は、有機溶媒とpH5-8の水溶液に溶ける。

活性剤を組織に一定期間かけて流入（influx）させる種々の適用手段を用いることができる。例えば、水溶液をガーゼ包帯か絆創膏に染み込ませて創傷組織に適用することができるだろうし、こうした溶液を時限潅流（timed perfusion）ができるように調製することもできよう（このときは、リポソーム、軟膏、ミセルなどを使用する）。こうした調製物を本発明に係る化合物を用いて生産するための方法は、当業者らには明らかである。使用される活性剤の具体的な濃度は臨界的ではなく、この理由は化合物が数ナノモルしかない場合でさえも組織修復効果が認められるからである。

好ましくは、基質溶液かミセル溶液を少なくとも30μg/mlの濃度で存在する活性剤と一緒に使用する。記載した実施例で有利に用いた具体的な基質溶液は、Hydronという商標を付けてニュージャージー州ニューブランズウィックのHydro Med Sciencesが販売している半固体ポリエチレングリコールポリマーである。別の好ましい溶液は、Plutonics F108という商標名でドイツのLudwigshafenのBASFによって販売されているミセル溶液である。室温条件下では、この溶液は液体であるが、温かい組織に適用すると、この溶液はゲル状になり、活性成分を創傷組織に数日間かけて浸透させることができる。他の好ましい剤形には、カルボキシメチルセルロース製剤（本実施例にて使用されるように）、クリスタロイド製剤（塩類液、乳酸加リンガー溶液、燐酸緩衝生理食塩水など）、粘弾物質（viscoelastics）、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールや創傷ドレッシング（包帯など）を含む。

本発明に係る化合物の治癒効果を種々の場合に提供することができる。上述の溶液を潰瘍、病巣、損傷、糖尿性潰瘍、火傷、外傷、うっ血性潰瘍、歯周病、破傷やその他の症状において、表面創傷組織に局所的に適用することができる。また、観血的手術の結果生じたものなどの腹膜創傷組織を本発明に係る組成物で処置し治癒速度を上げることができる。

例えば、内部の毛細管潅流と治癒を促進するため、結腸部やその他の組織の外科的除去後、その外科的部位を閉じる前に、手術面に活性成分を含む溶液を塗布することができる。さらに、限局性治癒速度は、注射その他の方法で活性剤を皮下投与することによって、速めることができる。

本発明は、以下の実施例を参照することでより深く理解できよう。しかし、この実施例はあくまでも説明を行うためのものであり、本文に続く請求の範囲に定義された発明の範囲をいかなる意味においても制限するものと解釈してはならない。

実施例1

生後12週目の雄のSD（Sprague Dawley）ラットをSimonsen Laboratories, Gilroy, CAから得た。手術当日、それらのラットに筋内ケタミン／ロンパム（rompum）麻酔をかけてから手術の準備をした。ラットを剃毛しベタジンで洗浄した。4箇所の2×2cmの全層皮膚創傷を、ラットの背面につくった。皮膚切除後、創傷のサイズの輪郭をスライドガラスに記し、薬剤を10％のヒドロン（Hydron）、1％ポリエチレングリコール（MW 400）および60％のエタノールを含む100μlヒドロン溶液に含めて投与した。試験物質をランダム式に投与し、この際、アンギオテンシンIIIを3μg/創傷と10μg/創傷で評価した。対照は賦形剤（vehicle）のみを用いて処置した。

物質の投与後、ラットに包帯をし、麻酔から回復させた。2、5、6、8、10日目に皮膚創傷面積をメトキシフルラン麻酔下で測定した（メトキシフルランは、Pittman-Moore, Mundelein, IIからMetofaneとして市販されている）。創傷面積は、（1）創傷の形をグラフ紙（1×1mmマス）上にトレースし、（2）その形を切り取り、（3）紙の重さを計り、その重さを2×2cmの大きさに切り取った紙と比較し、（4）マスが何個分あるかを計算することによって求められた。

図1に示すように、試験動物をアンギオテンシンIIIで治療した場合に、対照動物と比較して、3μg投与した場合と10μg投与した場合のいずれにおいても、創傷治癒はかなり促進された。図1は賦形剤で処置した対照に対して創傷閉鎖の伸びをパーセントで示している。

実施例2

生後12週目のメスのSD（Sprague Dawley）ラットをSimonsen Laboratories, Gilroy, CAから入手し、実施例1と同様に手術の準備をした。2箇所の1.5 x 1.5 cmの全層皮膚創傷をラットの背面につくった。皮膚切開後、創傷のサイズの輪郭をスライドガラスに記し、薬剤を10%ヒドロン、1%ポリエチレングリコール（MW 400）および60%エタノールを含む100μlヒドロン溶液に含めて投与した。試験物質は、無作為手法で投与し、全ての物質は、10μg/創傷で評価した。対照は、賦形剤のみの処置をおこなった。物質投与後、ラットに包帯をし、麻酔から回復させた。2-3、5、7-8および9-10日目に、皮膚創傷面積をメトキシフルラン麻酔（MetofaneとしてPittman-Moore, Mundelein,ILから市販されている）下で測定した（類似体については1Aと2-8）。創傷面積は、（1）創傷の形をグラフ紙（1 X 1 mmマス）上にトレースし、（2）その形を切り取り、（3）紙の重さを量り、その重さを1.5 x 1.5 cmの大きさに切り取った紙と比較し、（4）マス何個分あるかを計算することによって求めた。さらに、2-3、5および8日目に、肉芽組織の面積を同様にして求めた（類似体については、1A、1Bおよび2-7）。使用された類似体は、以下の通りである。

類似体1A　Ile^{7}-アンギオテンシンIII
類似体1B　Val^{4}-アンギオテンシンIII
類似体2　Lys^{1}-アンギオテンシンIII
類似体3　Ala^{2}-アンギオテンシンIII
類似体4　Thr^{3}-アンギオテンシンIII
類似体5　Leu^{4}-アンギオテンシンIII
類似体6　Arg^{5}-アンギオテンシンIII
類似体7　Ala^{6}-アンギオテンシンIII
類似体8　Tyr^{7}-アンギオテンシンIII

本書に添付の図2-5に記載されるとおり、被験創傷を一般式Ｉによる類似体1-8で治療した

場合、対照創傷に比較して、創傷の閉鎖がかなり速くなった。図2および3は、創傷閉鎖について、賦形剤で処置した対照と比較した対照反応に対するパーセントを示す。全ての場合において、いずれか1つの類似体の投与により、手術後の創傷の閉鎖が速くなった。図4および5は、肉芽組織形成ついての対照反応に対するパーセントを示すが、ここでも、全ての場合において、いずれか1つの類似体の投与により、賦形剤のみを投与した場合と比べて、肉芽組織の形成が速くなった。このように、明らかに類似体は創傷の治癒を促進する効果を有する。

実施例3

体重175-200グラムのメスのSprague DawleyラットをSimonsen Laboratories, Gilroy, CAから入手した。手術当日、それらのラットにケタミン/ロンパム（rompum）麻酔の筋肉内注射を行ってから、手術の準備をした。ラットを剃毛し、ベタジンで洗浄した。2箇所の1.5 x 1.5 cm全層皮膚創傷をラットの背面につくった。皮膚の切開後、創傷のサイズの輪郭をスライドガラス上に記し、薬剤を10%低粘度カルボキシメチルセルロース（Sigma）100μlに含めて投与した。被験物質は、無作為手法で投与された。全ての物質は、100μg/創傷で評価した。対照は、賦形剤のみで処置した。物質投与後、ラットに包帯をし、麻酔から回復させた。手術後1-4日目に、さらに100μgのペプチド製剤でラットを治療した。2、4、7および9日目に、皮膚創傷面積をメトキシフルラン麻酔（MetofaneとしてPittman-Moore, Mundelein, ILから市販されている）下で測定した。創傷面積は、（1）創傷の形をグラフ紙（1 X 1 mmマス）上にトレースし、（2）その形を切り取り、（3）紙の重さを量り、その重さを1.5 x 1.5 cmの大きさに切り取った紙と比較し、（4）マス何個分あるかを計算することによって求めた。さらに、2、4および7日目に、肉芽組織の面積を同様にして求めた。

図6-11に記載される通り、AII（6-8）およびAII（4-8）を除いた全てのフラグメントで治療した被験動物は、対照動物に比較して、創傷の閉鎖がかなり速くなった。図6および7は、ここで定義される通りの、AIIのフラグメントを使用した場合の、賦形剤で処置した対照と比較した、創傷の閉鎖に対する対照の反応のパーセントを示す。図8-11は、肉芽組織の形成についての対照の反応のパーセントを示す。図8および9は、対照創傷のデータを反映しており、それぞれ図10、11と比較するものである。

上述の説明から、当業者は本発明に係る必須の特徴を容易に、しかも本発明の精神および範囲から逸脱せずに確認し、本発明をさまざまな用途や条件に適用することができる。形態の変更と均等物への置換えは、諸状況から判断したり便宜的に為されたりすることであるので、予測されることであり、本文では特定の用語を用いてはいるが、説明的意味で使うことを意図したものであり、限定を目的とするものではない。

配列表

（１）一般情報

（i）出願人：ロジャース，カスリーン，イー．

ディゼレガ，ジーア，エス．

（ii）発明の名称：

組織修復におけるアンギオテンシンIIフラグメント

およびその類似体の使用

（iii）配列の数：14

（iv）連絡先：

（A）受取人：ロビンズ，バーリナー ＆ カーソン

（B）番地：201 ノース フィグロア ストリート

ナンバー 500

（C）都市名：ロサンゼルス

（D）州名：カリフォルニア

（E）国名：アメリカ合衆国

（F）郵便番号：90012

（v）コンピュータ読取形式：

(A) 媒体型：フロッピーディスク
(B) コンピュータ：ＩＢＭ　ＰＣ互換機
(C) オペレーティングシステム：ＰＣ－ＤＯＳ／ＭＳ－ＤＯＳ
(D) ソフトウェア：Patent In Release #1.0, version#1.25
(vi) 最新の出願データ：
(A) 出願番号：
(B) 出願日：
(C) 分類：
(viii) 弁理士／代理人情報：
(A) 氏名：スピタルス, ジョン　ピー.
(B) 登録番号：29,215
(C) 参照／事件番号：1920-360
(ix) 通信情報：
(A) 電話番号：（213）977-1001
(B) ファックス番号：（213）977-1003
（２）配列番号：1に関する情報
(i) 配列の特性：
(A) 配列の長さ：8アミノ酸
(B) 配列の型：アミノ酸
(D) トポロジー：直鎖型
(ii) 配列の種類：ペプチド
(xi) 配列：配列番号：1

Asp Arg Val Tyr Ile His Pro Phe
1 5

（２）配列番号：2に関する情報
(i) 配列の特性：
(A) 配列の長さ：7アミノ酸
(B) 配列の型：アミノ酸
(D) トポロジー：直鎖型
(ii) 配列の種類：ペプチド
(xi) 配列：配列番号：2

Arg Val Tyr Ile His Pro Phe
1 5

（２）配列番号：3に関する情報
(i) 配列の特性：
(A) 配列の長さ：6アミノ酸
(B) 配列の型：アミノ酸
(D) トポロジー：直鎖型
(ii) 配列の種類：ペプチド
(xi) 配列：配列番号：3

Val Tyr Ile His Pro Phe
1 5

（２）配列番号：4に関する情報
(i) 配列の特性：
(A) 配列の長さ：7アミノ酸
(B) 配列の型：アミノ酸
(D) トポロジー：直鎖型
(ii) 配列の種類：ペプチド
(xi) 配列：配列番号：4

Asp Arg Val Tyr Ile His Pro
1 5

（２）配列番号：5に関する情報
（i）配列の特性：
（A）配列の長さ：6アミノ酸
（B）配列の型：アミノ酸
（D）トポロジー：直鎖型
（ii）配列の種類：ペプチド
（xi）配列：配列番号：5

Arg Val Tyr Ile His Pro
1 5

（２）配列番号：6に関する情報
（i）配列の特性：
（A）配列の長さ：5アミノ酸
（B）配列の型：アミノ酸
（D）トポロジー：直鎖型
（ii）配列の種類：ペプチド
（xi）配列：配列番号：6

Val Tyr Ile His Pro
1 5

（２）配列番号：7に関する情報
（i）配列の特性：
（A）配列の長さ：4アミノ酸
（B）配列の型：アミノ酸
（D）トポロジー：直鎖型
（ii）配列の種類：ペプチド
（xi）配列：配列番号：7

Ile His Pro Phe
1

（２）配列番号：8に関する情報
（i）配列の特性：
（A）配列の長さ：6アミノ酸
（B）配列の型：アミノ酸
（D）トポロジー：直鎖型
（ii）配列の種類：ペプチド
（xi）配列：配列番号：8

Asp Arg Val Tyr Ile His
1 5

（２）配列番号：9に関する情報
（i）配列の特性：
（A）配列の長さ：5アミノ酸
（B）配列の型：アミノ酸
（D）トポロジー：直鎖型
（ii）配列の種類：ペプチド
（xi）配列：配列番号：9

Asp Arg Val Tyr Ile
1 5

（２）配列番号：10に関する情報
（i）配列の特性：
（A）配列の長さ：4アミノ酸

(B) 配列の型：アミノ酸
(D) トポロジー：直鎖型
(ii) 配列の種類：ペプチド
(xi) 配列：配列番号：10

Asp Arg Val Tyr
1

(2) 配列番号：11に関する情報
(i) 配列の特性：
(A) 配列の長さ：3アミノ酸
(B) 配列の型：アミノ酸
(D) トポロジー：直鎖型
(ii) 配列の種類：ペプチド
(xi) 配列：配列番号：11

Asp Arg Val
1

(2) 配列番号：12に関する情報
(i) 配列の特性：
(A) 配列の長さ：3アミノ酸
(B) 配列の型：アミノ酸
(D) トポロジー：直鎖型
(ii) 配列の種類：ペプチド
(xi) 配列：配列番号：12

His Pro Phe
1

(2) 配列番号：13に関する情報
(i) 配列の特性：
(A) 配列の長さ：5アミノ酸
(B) 配列の型：アミノ酸
(D) トポロジー：直鎖型
(ii) 配列の種類：ペプチド
(xi) 配列：配列番号：13

Tyr Ile His Pro Phe
1 5

(2) 配列番号：14に関する情報
(i) 配列の特性：
(A) 配列の長さ：7アミノ酸
(B) 配列の型：アミノ酸
(D) トポロジー：直鎖型
(ii) 配列の種類：ペプチド
(xi) 配列：配列番号：14

Xaa Xaa Tyr Xaa His Pro Phe
1 5

【図１】

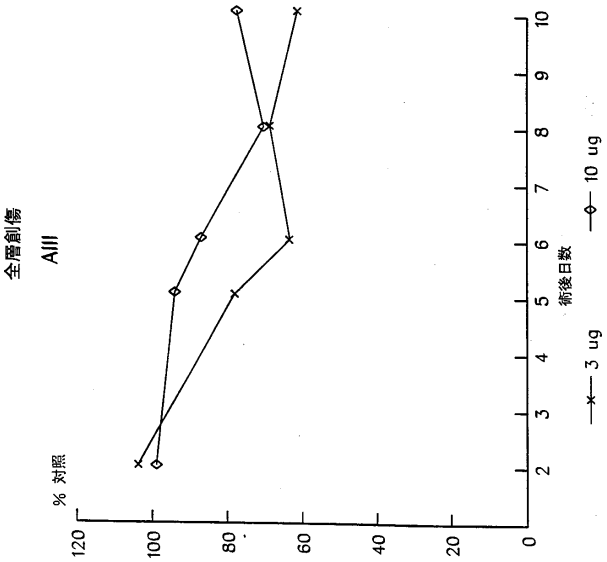


FIG. 1

【図２】

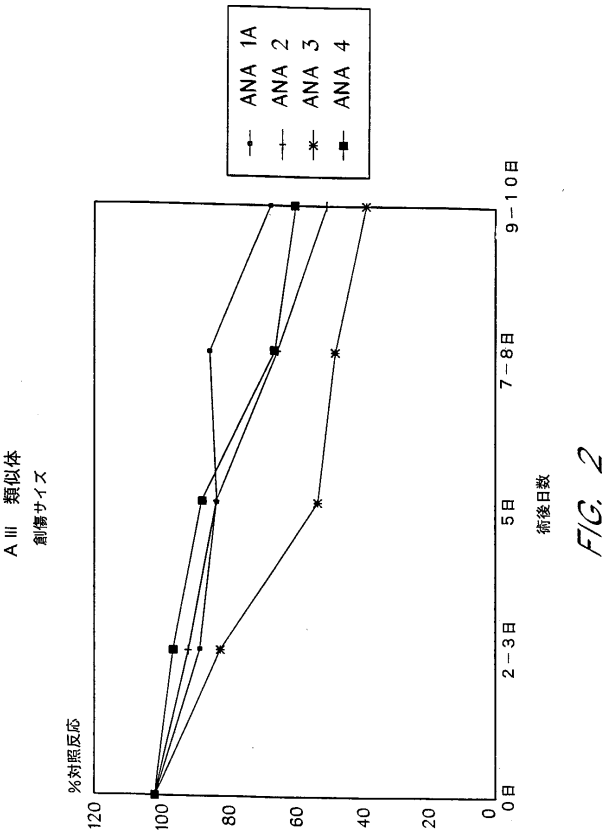


FIG. 2

【図３】

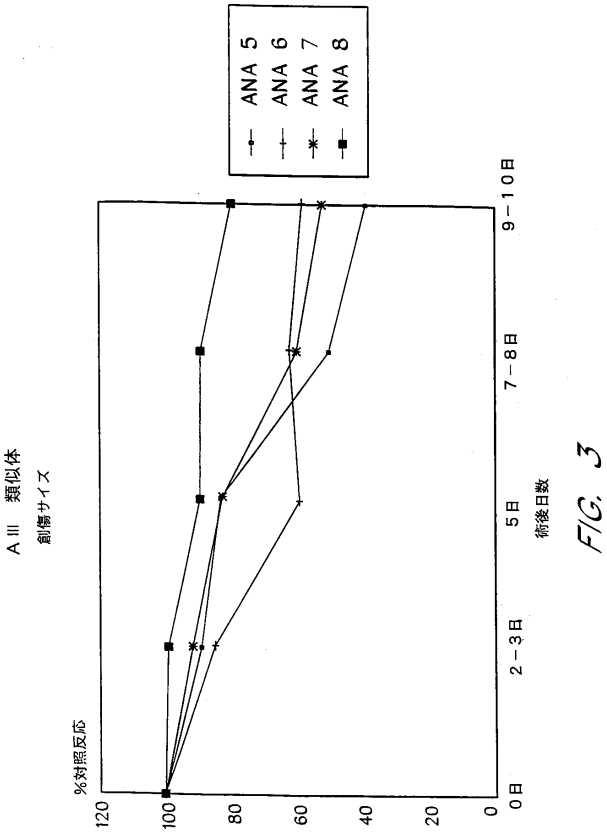


FIG. 3

【図４】

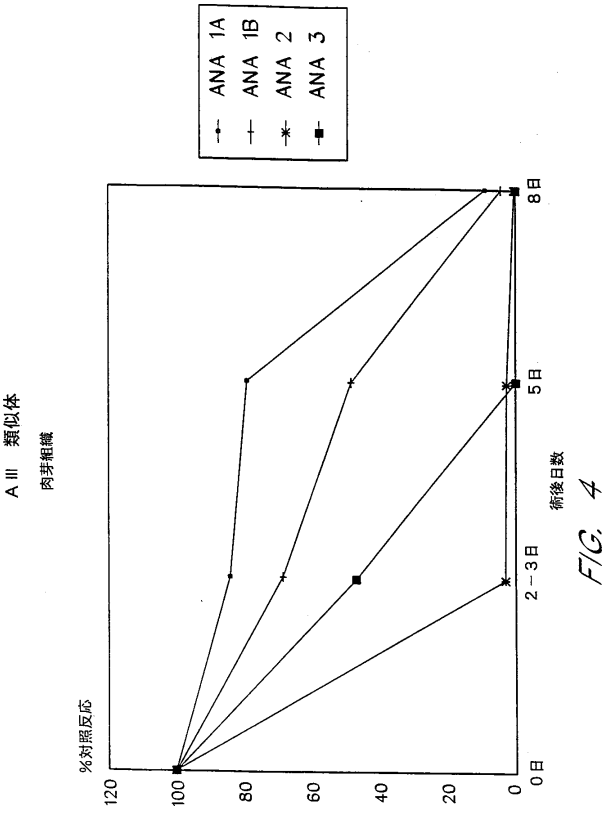


FIG. 4

【図５】

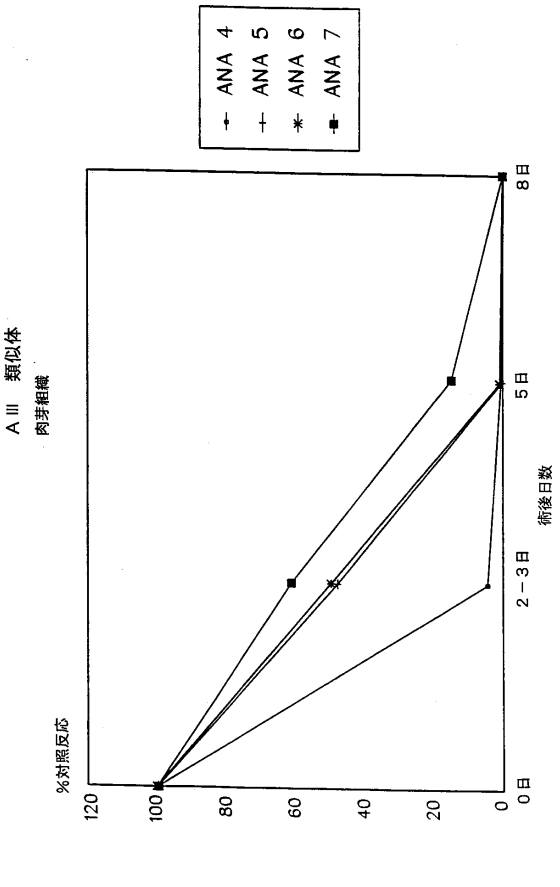


FIG. 5

【図６】

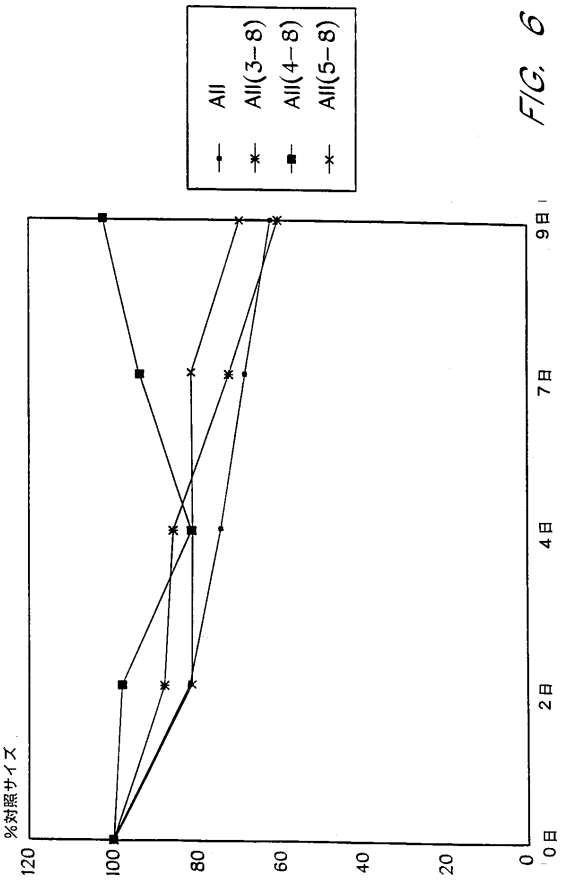


FIG. 6

【図７】

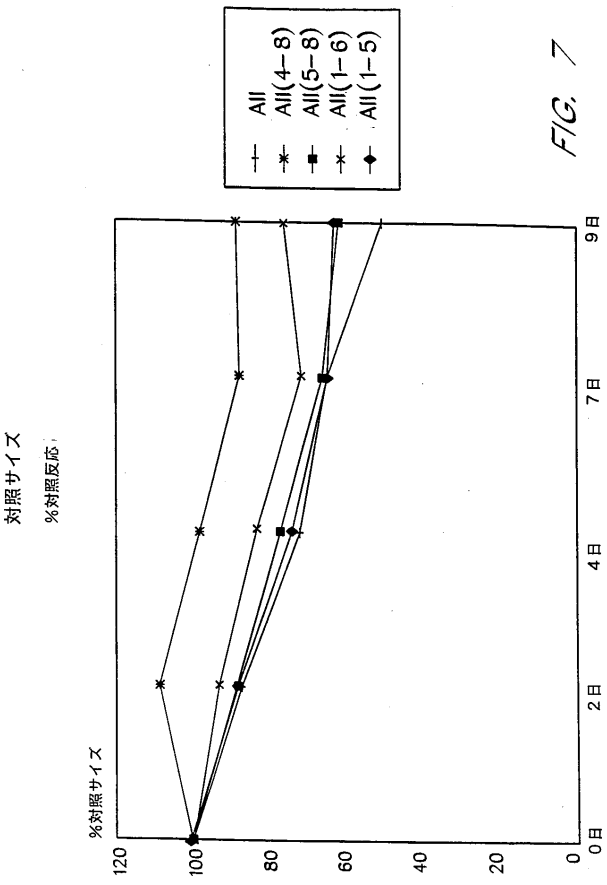


FIG. 7

【図８】

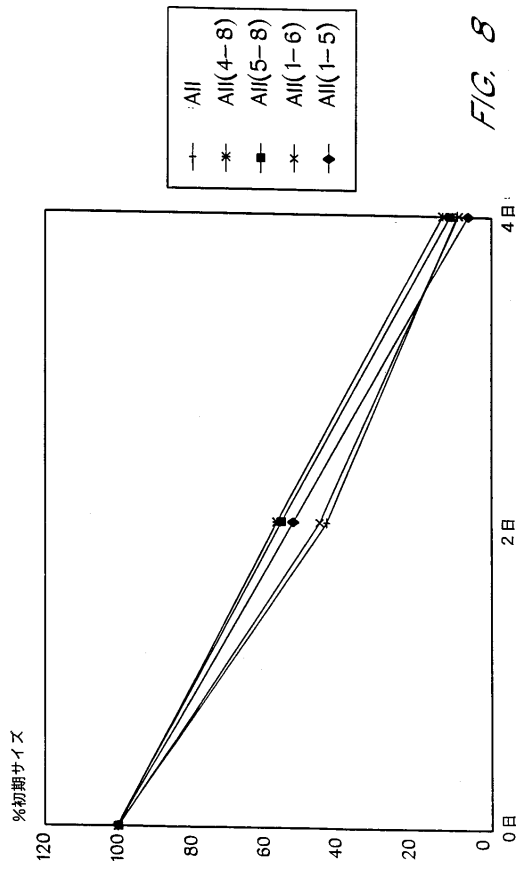


FIG. 8

【図９】

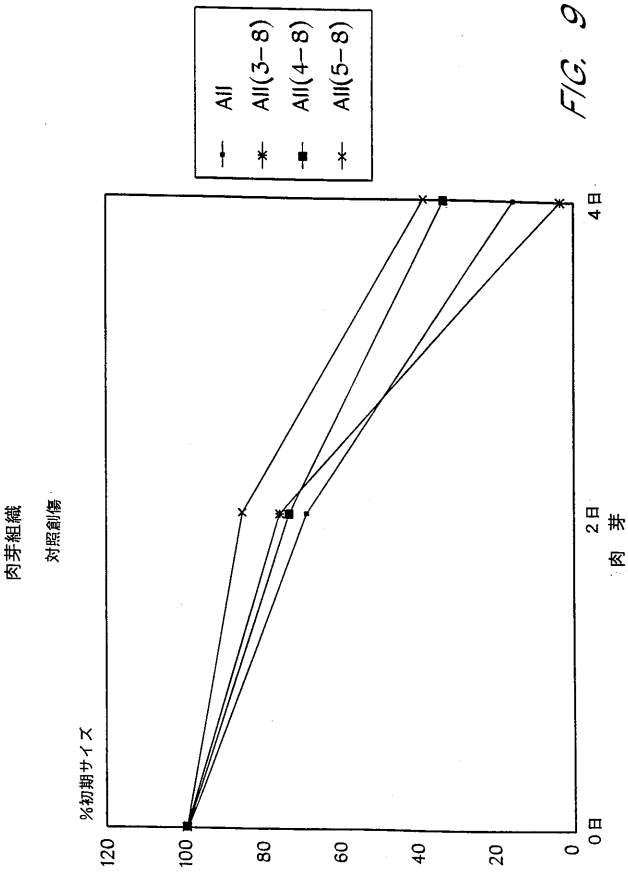


FIG. 9

【図１０】

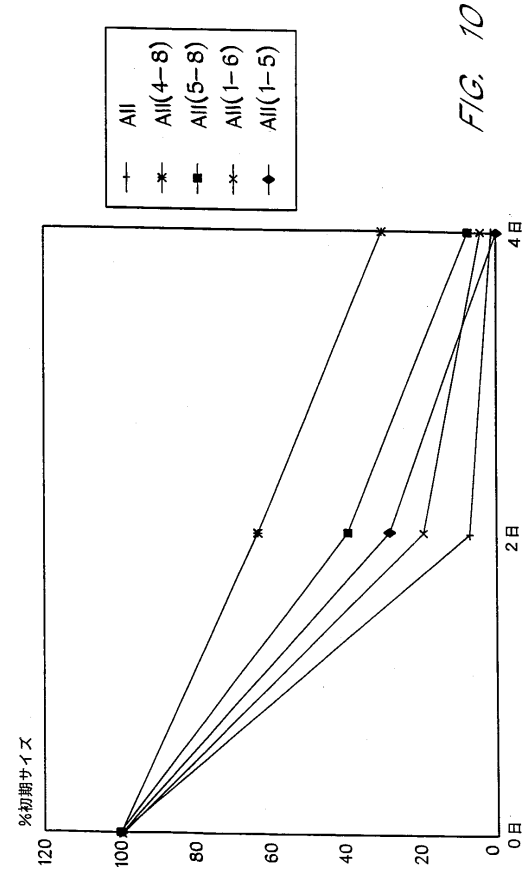


FIG. 10

【図１１】

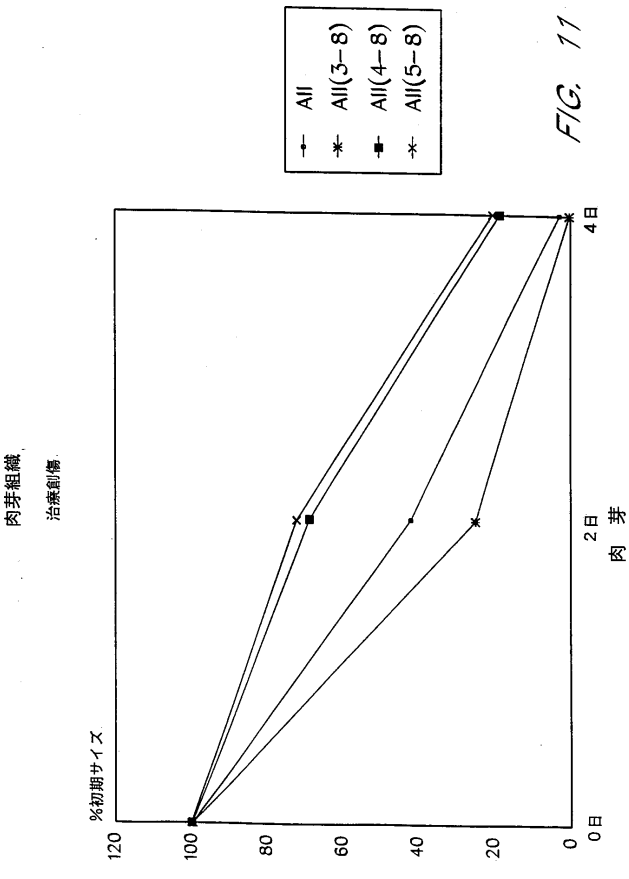


FIG. 11

【図１２】

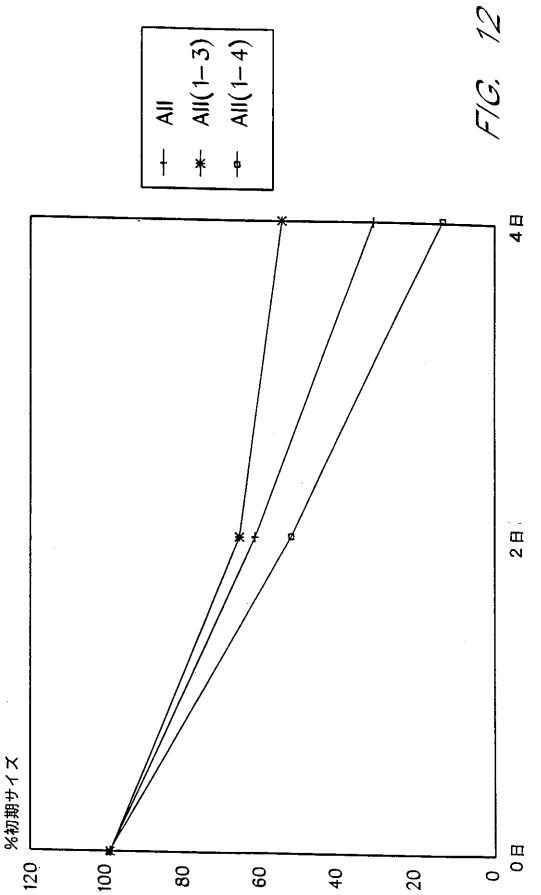


FIG. 12

【図１３】

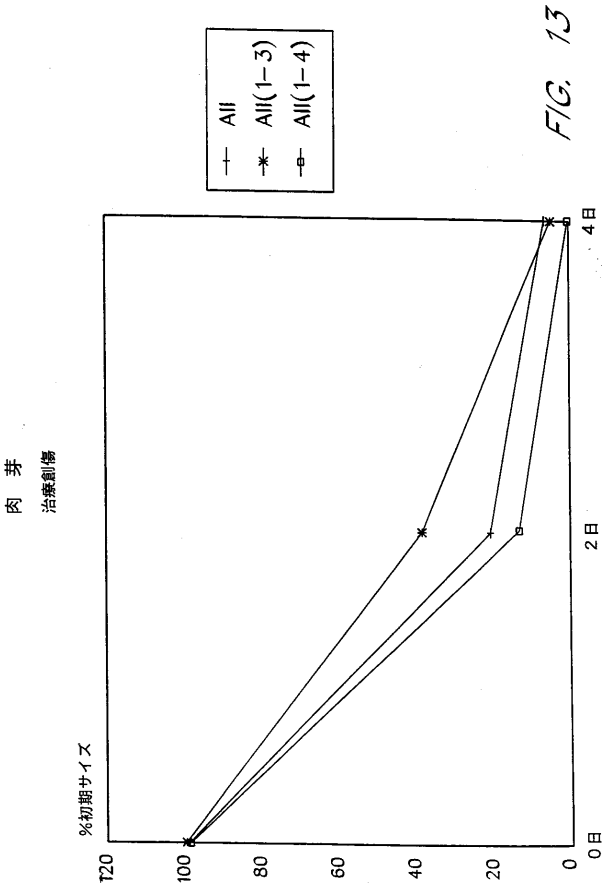


FIG. 13

【図１４】

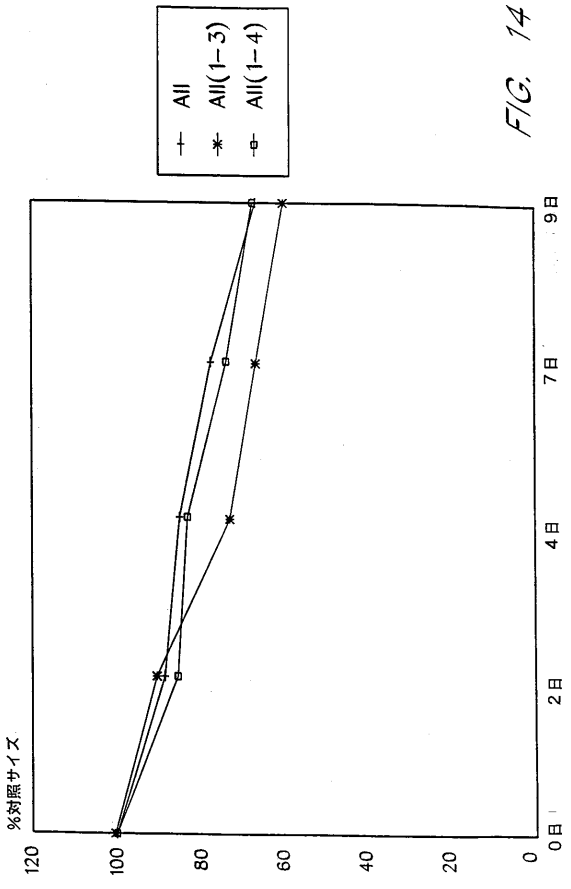


FIG. 14

フロントページの続き

(72)発明者　ロジャース，カスリーン
アメリカ合衆国，９００８９　カリフォルニア，ロサンゼルス，ユニバーシティ　パーク　キャンパス，ユニバーシティ　オブ　サザーン　カリフォルニア（番地なし）
(72)発明者　ディゼレガ，ジーア，ストッダー
アメリカ合衆国，９００８９　カリフォルニア，ロサンゼルス，ユニバーシティ　パーク　キャンパス　ユニバーシティ　オブ　サザーン　カリフォルニア（番地なし）

審査官　上條　のぶよ

(56)参考文献　米国特許第０５０１５６２９（ＵＳ，Ａ）
Experientia，１９７５年，Vol.31，No.3，p.346-8
Can. J. Physiol. Pharmacol.，１９７４年，Vol.52，No.1，p.39-49
American Physiological Society，１９８９年，257(6，Pt.2)，R1551-R1557
Regulatory Peptides，１９９３年，Vol.44，No.2，p.225-232
American Journal of Physiology ，１９８１年，Vol.241，No.3，R124-R129
Journal of Biological Chemistry，１９７９年，Vol.254，No.12，p.5120-5127
Journal of Biological Chemistry，１９７６年，Vol.251，No.23，p.7423-7430

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K 38/00 - 58
A61K 9/00 - 72
A61L 15/03
C07K 7/14
CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)