

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6878423号  
(P6878423)

(45) 発行日 令和3年5月26日 (2021.5.26)

(24) 登録日 令和3年5月6日 (2021.5.6)

(51) Int. Cl.

F I

<b>A 6 1 K</b>	<b>38/36</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 K</b>	<b>38/36</b>	<b>ZMD</b>
<b>A 6 1 P</b>	<b>43/00</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 P</b>	<b>43/00</b>	<b>1 1 1</b>
<b>A 6 1 P</b>	<b>7/02</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 P</b>	<b>7/02</b>	
<b>A 6 1 P</b>	<b>27/02</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 P</b>	<b>27/02</b>	
<b>A 6 1 P</b>	<b>29/00</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 P</b>	<b>29/00</b>	

請求項の数 40 (全 38 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-522753 (P2018-522753)  
 (86) (22) 出願日 平成28年11月3日 (2016.11.3)  
 (65) 公表番号 特表2018-533589 (P2018-533589A)  
 (43) 公表日 平成30年11月15日 (2018.11.15)  
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2016/001599  
 (87) 国際公開番号 W02017/077380  
 (87) 国際公開日 平成29年5月11日 (2017.5.11)  
 審査請求日 令和1年10月31日 (2019.10.31)  
 (31) 優先権主張番号 62/250,235  
 (32) 優先日 平成27年11月3日 (2015.11.3)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関  
 米国 (US)

(73) 特許権者 517214127  
 プロメティック・バイオセラピューティクス・インコーポレイテッド  
 ProMetic BioTherapeutics, Inc.  
 アメリカ合衆国20850メリーランド州  
 ロックビル、ピッカード・ドライブ133  
 O番、スウィート201  
 (74) 代理人 100145403  
 弁理士 山尾 憲人  
 (74) 代理人 100106518  
 弁理士 松谷 道子  
 (74) 代理人 100138911  
 弁理士 櫻井 陽子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 プラスミノージェン欠損症のためのプラスミノージェン補充療法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

プラスミノージェンをプラスミノージェン欠損ヒト対象に補給するための、Glu - プラスミノージェンを含む薬品であって、前記プラスミノージェン欠損対象が、正常な血漿中プラスミノージェン活性に対して低減した血漿中プラスミノージェン活性を有し、前記薬品が、前記対象プラスミノージェン活性レベルを、前記正常なプラスミノージェン活性の少なくとも10%、かつ前記正常なプラスミノージェン活性の300%以下までの範囲で、増加させ、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノージェン活性レベルを維持するために、プラスミノージェンの反復有効用量で使用され、前記薬品が、前記プラスミノージェン欠損ヒト対象の体重に対し1.5mg~12mg Glu - プラスミノージェン/kgの用量で、2日毎、3日毎、または週2回、静脈内使用される、前記薬品。

【請求項 2】

前記プラスミノージェン欠損対象が、I型プラスミノージェン欠損症を有する請求項1に記載の薬品。

【請求項 3】

前記プラスミノージェン欠損対象が、II型プラスミノージェン欠損症を有する請求項1に記載の薬品。

【請求項 4】

前記プラスミノージェン欠損対象が、後天性プラスミノージェン欠損症を有する請求項1に記載の薬品。

## 【請求項 5】

前記後天性プラスミノーゲン欠損が、川崎病；新生児または小児の血栓溶解事象；熱傷；重度の熱傷；異所性骨化；新生児の肺硝子膜症；新生児呼吸器疾患症候群；播種性血管内凝固；敗血症；成人の血栓溶解療法；脳卒中；急性肺損傷；成人急性呼吸窮迫症候群；糖尿病；劇症肝不全；バッドキアリ症候群；微小血管症性溶血性貧血；または非定型溶血性尿毒症症候群に関連している、請求項 4 に記載の薬品。

## 【請求項 6】

前記低減した血漿中プラスミノーゲン活性が、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 70 % 以下である、請求項 1 に記載の薬品。

## 【請求項 7】

前記プラスミノーゲン欠損対象が、木質性結膜炎に罹患している、請求項 1 に記載の薬品。

10

## 【請求項 8】

前記薬品が、2 日毎に使用される、請求項 1 に記載の薬品。

## 【請求項 9】

前記薬品が、週 2 回使用される、請求項 1 に記載の薬品。

## 【請求項 10】

前記薬品が、3 日毎に使用される、請求項 1 に記載の薬品。

## 【請求項 11】

前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも 30 % 増加し、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルに維持される、請求項 1 に記載の薬品。

20

## 【請求項 12】

前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも 50 % 増加し、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルに維持される、請求項 1 に記載の薬品。

## 【請求項 13】

前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 200 % 以下まで増加する、請求項 1 に記載の薬品。

## 【請求項 14】

前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 150 % 以下まで増加する、請求項 1 に記載の薬品。

30

## 【請求項 15】

前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 100 % 以下まで増加する、請求項 1 に記載の薬品。

## 【請求項 16】

前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の体重に対し少なくとも  $1.5 \text{ mg Glu - プラスミノーゲン / kg}$  の用量で、2 日毎に使用される、請求項 1 に記載の薬品。

## 【請求項 17】

前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の体重に対し少なくとも  $6 \text{ mg Glu - プラスミノーゲン / kg}$  の用量で、週 2 回使用される、請求項 1 に記載の薬品。

40

## 【請求項 18】

前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の体重に対し約  $2 \text{ mg Glu - プラスミノーゲン / kg}$  の用量で、2 日毎、または 3 日毎に使用される、請求項 1 に記載の薬品。

## 【請求項 19】

前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の体重に対し約  $6 \text{ mg Glu - プラスミノーゲン / kg}$  の用量で、2 日毎、または 3 日毎に使用される、請求項 1 に記載の薬品。

## 【請求項 20】

前記薬品が、i) プラスミノーゲン欠損関連病変を低減させ、処置し、若しくは予防し、ii) 悪化した臨床全体の印象を改善し、または iii) 悪化した生活の質を改善する

50

、請求項 1 ～ 19 のいずれか 1 項に記載の薬品。

【請求項 2 1】

正常な血漿中プラスミノーゲン活性に対して低減した血漿中プラスミノーゲン活性を有するプラスミノーゲン欠損ヒト対象に、プラスミノーゲンを補給するための薬品を調製するための G 1 u - プラスミノーゲンの使用であって、前記薬品が、前記対象プラスミノーゲン活性レベルを、前記正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも 1 0 %、かつ前記正常なプラスミノーゲン活性の 3 0 0 % 以下までの範囲で、増加させ、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルを維持するために、有効用量で用いられ、前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損ヒト対象の体重に対し 1 . 5 m g ~ 1 2 m g G 1 u - プラスミノーゲン / k g の用量で、2 日毎、3 日毎、または週 2 回、静脈内使用される、前記使用。

10

【請求項 2 2】

前記プラスミノーゲン欠損対象が、I 型プラスミノーゲン欠損症を有する、請求項 2 1 に記載の使用。

【請求項 2 3】

前記プラスミノーゲン欠損対象が、II 型プラスミノーゲン欠損症を有する、請求項 2 1 に記載の使用。

【請求項 2 4】

前記プラスミノーゲン欠損対象が、後天性プラスミノーゲン欠損症を有する請求項 2 1 に記載の使用。

20

【請求項 2 5】

前記後天性プラスミノーゲン欠損が、川崎病；新生児または小児の血栓溶解事象；熱傷；重度の熱傷；異所性骨化；新生児の肺硝子膜症；新生児呼吸器疾患症候群；播種性血管内凝固；敗血症；成人の血栓溶解療法；脳卒中；急性肺損傷；成人急性呼吸窮迫症候群；糖尿病；劇症肝不全；バッドキアリ症候群；微小血管症性溶血性貧血；または非定型溶血性尿毒症症候群に関連している、請求項 2 4 に記載の使用。

【請求項 2 6】

前記低減した血漿中プラスミノーゲン活性が、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 7 0 % 以下である、請求項 2 1 に記載の使用。

【請求項 2 7】

前記プラスミノーゲン欠損対象が、木質性結膜炎に罹患している、請求項 2 1 に記載の使用。

30

【請求項 2 8】

前記薬品が、2 日毎の使用用である、請求項 2 1 に記載の使用。

【請求項 2 9】

前記薬品が、週 2 回の使用用である、請求項 2 1 に記載の使用。

【請求項 3 0】

前記薬品が、3 日毎の使用用である、請求項 2 1 に記載の使用。

【請求項 3 1】

前記薬品が、前記対象プラスミノーゲン活性レベルを、前記通常のプラスミノーゲン活性の少なくとも 3 0 % 増加させ、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルを維持するためのものである、請求項 2 1 に記載の使用。

40

【請求項 3 2】

前記薬品が、前記対象プラスミノーゲン活性レベルを、前記通常のプラスミノーゲン活性の少なくとも 5 0 % 増加させ、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルを維持するためのものである、請求項 2 1 に記載の使用。

【請求項 3 3】

前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 2 0 0 % 以下まで 増加する、請求項 2 1 に記載の使用。

【請求項 3 4】

50

前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 150 % 以下まで増加する、請求項 21 に記載の使用。

【請求項 35】

前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 100 % 以下まで増加する、請求項 21 に記載の使用。

【請求項 36】

前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の体重に対し少なくとも 1.5 mg Glu - プラスミノーゲン / kg の用量を 2 日毎に使用するためのものである、請求項 21 に記載の使用。

【請求項 37】

前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の体重に対し少なくとも 6 mg Glu - プラスミノーゲン / kg の用量を週 2 回投与するためのものである、請求項 21 に記載の使用。

【請求項 38】

前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の体重に対し約 2 mg Glu - プラスミノーゲン / kg の用量を、2 日毎、または 3 日毎に投与するためのものである、請求項 21 に記載の使用。

【請求項 39】

前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の体重に対し約 6 mg Glu - プラスミノーゲン / kg の用量を、2 日毎、または 3 日毎に投与するためのものである、請求項 21 の使用。

【請求項 40】

前記薬品が、i) プラスミノーゲン欠損関連病変を低減させ、処置し、若しくは予防し、ii) 悪化した臨床全体の印象を改善し、または iii) 悪化した生活の質を改善する、請求項 21 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、医薬品の分野に関する。本発明の特定の態様は、プラスミノーゲンをプラスミノーゲン欠損対象に供給するための方法及び使用に関する。

【背景技術】

【0002】

プラスミノーゲン (Pg) は、肝臓により合成される天然に存在するタンパク質であり、血液中を循環する。活性化されると、プラスミノーゲンは、線維素溶解系の酵素の構成成分であるプラスミンになり、主酵素は、凝塊の溶解及び溢出した線維素のクリアランスに関与する。

【0003】

ヒトプラスミノーゲンの作用機序：

生理学的に、プラスミノーゲンは、血管内及び血管外線維素溶解の双方に関与する (Castellino 及び Pløe, 2005)。2つの主要なグリコフォームのプラスミノーゲン：(N289にN結合され、かつT346にO結合される) 2つのグリコシル化部分を含有する 1 型プラスミノーゲン、及び (T346にO結合される) 単一のO結合糖のみを含有する 2 型プラスミノーゲンがヒト血漿に存在する。2 型プラスミノーゲンは、細胞表面に優先的にリクルートされるが、1 型プラスミノーゲンは血栓に、より容易にリクルートされる。

【0004】

プラスミノーゲンは、組織型プラスミノーゲンアクチベーター (tPA) またはウロキナーゼ型プラスミノーゲンアクチベーターのいずれかによる Arg561 - Val562 ペプチド結合の切断により、プラスミンへと活性化される。この切断は、リシン結合部位を有する 5 つのクリングルからなる 重鎖及び触媒三残基 His603、Asp646、

10

20

30

40

50

及びSer741を有する 軽鎖をもたらす。活性プラスミンは、血流中の線維素凝塊の溶解に關与する。線維素凝塊に結合する時に、N末端グルタミン酸を有する天然プラスミノゲン (Glu - プラスミノゲン) は、( 図1に示されるように ) 容易に切断され、N末端リシンを有する修飾プラスミノゲン (83 kDa) (Lys - プラスミノゲン) に変換されることが明らかになっている。このLys - プラスミノゲンは、tPAによる活性化のための優れた基質である (Fredenburg 及びNesheim、1992)。

#### 【0005】

当該分野におけるニーズ：

プラスミノゲン欠損症に罹患している対象に対する有効で非侵襲的な処置はない。プラスミノゲン欠損症を処置するための新規方策が必要とされている。プラスミノゲン補給は、非侵襲性であり、残念なことに、これらのプラスミノゲン欠損対象に提供されるプラスミノゲン補給療法はない。従って、プラスミノゲン補給療法を提供することが必要とされている。

10

#### 【0006】

本発明の追加の特徴は、本明細書中の本発明の検討、図面、及び説明の概説から明らかになるであろう。

#### 【発明の概要】

#### 【0007】

本発明は、プラスミノゲン欠損対象におけるプラスミノゲン補給の方法、プラスミノゲン補給のためのプラスミノゲンの使用、プラスミノゲン欠損対象におけるプラスミノゲン補給に使用されるプラスミノゲンの使用、プラスミノゲン欠損対象における血漿中プラスミノゲン活性レベルを増加させるための方法、及び対象プラスミノゲン活性レベルを増加させるための薬品の調製のためのプラスミノゲンの使用に関する。

20

#### 【0008】

本発明は、次の条項に関する。

1. プラスミノゲンをプラスミノゲン欠損対象に補給するための方法であって、前記プラスミノゲン欠損対象が、正常な血漿中プラスミノゲン活性に対して低減した血漿中プラスミノゲン活性を有し、前記方法が、前記対象プラスミノゲン活性レベルを、前記正常なプラスミノゲン活性の少なくとも1%増加させ、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノゲン活性レベルを維持するために、反復有効用量のプラスミノゲンを前記プラスミノゲン欠損対象に投与することを含む、前記方法。

30

#### 【0009】

2. 前記投与されたプラスミノゲンが、Glu - プラスミノゲンである、条項1に記載の方法。

#### 【0010】

3. 前記プラスミノゲン欠損対象が、I型プラスミノゲン欠損症を有する、条項1または2に記載の方法。

#### 【0011】

4. 前記プラスミノゲン欠損対象が、II型プラスミノゲン欠損症を有する、条項1または2に記載の方法。

40

#### 【0012】

5. 前記プラスミノゲン欠損対象が、後天性プラスミノゲン欠損症を有する、条項1または2に記載の方法。

#### 【0013】

6. 前記後天性プラスミノゲン欠損が、川崎病；新生児または小児の血栓溶解事象；熱傷；重度の熱傷；異所性骨化；新生児の肺硝子膜症；新生児呼吸器疾患症候群；播種性血管内凝固；敗血症；成人の血栓溶解療法；脳卒中；急性肺損傷；成人急性呼吸窮迫症候群；糖尿病；劇症肝不全；バッドキアリ症候群；微小血管症性溶血性貧血；または非定型

50

溶血性尿毒症症候群に関連している、条項 5 に記載の方法。

【 0 0 1 4 】

7 . 前記低減した血漿中プラスミノーゲン活性が、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 7 0 % 以下である、条項 1 または 2 に記載の方法。

【 0 0 1 5 】

8 . 前記プラスミノーゲン欠損対象が、木質性結膜炎に罹患している、条項 1 に記載の方法。

【 0 0 1 6 】

9 . 前記 G l u - プラスミノーゲンが、毎日、2 日毎、3 日毎、4 日毎、5 日毎、週 2 回、または毎週投与される、条項 2 に記載の方法。

10

【 0 0 1 7 】

1 0 . 前記 G l u - プラスミノーゲンが、静脈内投与される、条項 2 に記載の方法。

【 0 0 1 8 】

1 1 . 前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも 5 % 増加し、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルに維持される、条項 1 または 2 に記載の方法。

【 0 0 1 9 】

1 2 . 前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも 1 0 % 増加し、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルに維持される、条項 1 または 2 に記載の方法。

20

【 0 0 2 0 】

1 3 . 前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 2 0 0 % だけ増加する、条項 1 または 2 に記載の方法。

【 0 0 2 1 】

1 4 . 前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 1 5 0 % だけ増加する、条項 1 または 2 に記載の方法。

【 0 0 2 2 】

1 5 . 前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約 1 0 0 % だけ増加する、条項 1 または 2 に記載の方法。

【 0 0 2 3 】

1 6 . 前記 G l u - プラスミノーゲンが、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の少なくとも 0 . 5 m g / k g の用量で、毎日投与される、条項 2 に記載の方法。

30

【 0 0 2 4 】

1 7 . 前記 G l u - プラスミノーゲンが、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の少なくとも 1 . 5 m g / k g の用量で、2 日毎に投与される、条項 2 に記載の方法。

【 0 0 2 5 】

1 8 . 前記 G l u - プラスミノーゲンが、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の少なくとも 6 m g / k g の用量で、週 2 回投与される、条項 2 に記載の方法。

【 0 0 2 6 】

1 9 . 前記 G l u - プラスミノーゲンが、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の少なくとも 4 5 m g / k g の用量で、毎週投与される、条項 2 に記載の方法。

40

【 0 0 2 7 】

2 0 . 前記 G l u - プラスミノーゲンが、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の約 2 m g / k g の用量で、毎日、2 日毎、3 日毎、または 4 日毎投与される、条項 2 に記載の方法。

【 0 0 2 8 】

2 1 . 前記 G l u - プラスミノーゲンが、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の約 6 m g / k g の用量で、2 日毎、3 日毎、4 日毎、5 日毎、または毎週投与される、条項 2 に記載の方法。

【 0 0 2 9 】

50

22. 前記投与されたプラスミノーゲンが、i) プラスミノーゲン欠損関連病変を低減させ、処置し、若しくは予防するのに、ii) 悪化した臨床全体の印象を改善するのに、またはiii) 悪化した生活の質を改善するのに有効である、条項1～21のいずれか1項に記載の方法。

【0030】

23. 正常な血漿中プラスミノーゲン活性に対して低減した血漿中プラスミノーゲン活性を有するプラスミノーゲン欠損対象に、プラスミノーゲンを補給するための薬品を調製するためのプラスミノーゲンの使用であって、前記薬品が、前記対象プラスミノーゲン活性レベルを、前記正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも1%増加させ、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルを維持するために、有効用量のプラスミノーゲンを前記プラスミノーゲン欠損対象に投与するためのものである、前記使用。

10

【0031】

24. 前記投与されたプラスミノーゲンが、Glu-プラスミノーゲンである、条項23に記載の使用。

【0032】

25. 前記プラスミノーゲン欠損対象が、I型プラスミノーゲン欠損症を有する、条項23または24に記載の使用。

【0033】

26. 前記プラスミノーゲン欠損対象が、II型プラスミノーゲン欠損症を有する、条項23または24に記載の使用。

20

【0034】

27. 前記プラスミノーゲン欠損対象が、後天性プラスミノーゲン欠損症を有する、条項23または24に記載の使用。

【0035】

28. 前記後天性プラスミノーゲン欠損が、川崎病；新生児または小児の血栓溶解事象；熱傷；重度の熱傷；異所性骨化；新生児の肺硝子膜症；新生児呼吸器疾患症候群；播種性血管内凝固；敗血症；成人の血栓溶解療法；脳卒中；急性肺損傷；成人急性呼吸窮迫症候群；糖尿病；劇症肝不全；バッドキアリ症候群；微小血管症性溶血性貧血；または非定型溶血性尿毒症症候群に関連している、条項27に記載の使用。

30

【0036】

29. 前記低減した血漿中プラスミノーゲン活性が、前記正常なプラスミノーゲン活性の約70%以下である、条項23または24に記載の使用。

【0037】

30. 前記プラスミノーゲン欠損対象が、木質性結膜炎に罹患している、条項23または24に記載の使用。

【0038】

31. 前記薬品が、毎日、2日毎、3日毎、4日毎、5日毎、週2回、または毎週の投与用である、条項23または24の使用。

【0039】

32. 前記薬品が、静脈内投与用である、条項23または24の使用。

40

【0040】

33. 前記薬品が、前記対象プラスミノーゲン活性レベルを、前記通常のプラスミノーゲン活性の少なくとも5%増加させ、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルを維持するためのものである、条項23または24に記載の使用。

【0041】

34. 前記薬品が、前記対象プラスミノーゲン活性レベルを、前記通常のプラスミノーゲン活性の少なくとも10%増加させ、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルを維持するためのものである、条項23または24に記載の使用。

50

## 【 0 0 4 2 】

35．前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約200%だけ増加する、条項23または24に記載の使用。

## 【 0 0 4 3 】

36．前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約150%だけ増加する、条項23または24に記載の使用。

## 【 0 0 4 4 】

37．前記対象プラスミノーゲン活性レベルが、前記正常なプラスミノーゲン活性の約100%だけ増加する、条項23または24に記載の使用。

## 【 0 0 4 5 】

38．前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の少なくとも0.5mg/kgの用量を毎日投与するためのものである、条項24に記載の使用。

## 【 0 0 4 6 】

39．前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の少なくとも1.5mg/kgの用量を2日毎に投与するためのものである、条項24に記載の使用。

## 【 0 0 4 7 】

40．前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の少なくとも6mg/kgの用量を週2回に投与するためのものである、条項24に記載の使用。

## 【 0 0 4 8 】

41．前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の少なくとも45mg/kgの用量を毎週投与するためのものである、条項24に記載の使用。

## 【 0 0 4 9 】

42．前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の約2mg/kgの用量を、毎日、2日毎、3日毎、または4日毎に投与するためのものである、条項24に記載の使用。

## 【 0 0 5 0 】

43．前記薬品が、前記プラスミノーゲン欠損対象の質量の約6mg/kgの用量を、2日毎、3日毎、4日毎、5日毎、または毎週投与するためのものである、条項24の使用。

## 【 0 0 5 1 】

44．前記投与されたプラスミノーゲンが、i) プラスミノーゲン欠損関連病変を低減させ、処置し、若しくは予防するのに、ii) 悪化した臨床全体の印象を改善するのに、またはiii) 悪化した生活の質を改善するのに有効である、条項23～43のいずれか1項に記載の使用。

## 【 0 0 5 2 】

45．正常なプラスミノーゲン活性に対して低減したプラスミノーゲン活性を有するプラスミノーゲン欠損対象を同定するための、かつ前記対象プラスミノーゲン活性レベルを、前記正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも約1%増加させ、かつ補給期間にわたって、前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルを維持するためにプラスミノーゲンを前記対象に補給するための、プラスミノーゲン及び測定された低減したプラスミノーゲン活性の使用。

## 【 0 0 5 3 】

46．正常なプラスミノーゲン活性に対して低減したプラスミノーゲン活性を有するプラスミノーゲン欠損対象のプラスミノーゲン補給に使用されるプラスミノーゲンであって、前記プラスミノーゲン補給が、前記対象プラスミノーゲン活性レベルを、前記正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも約1%増加させ、かつ補給期間にわたって前記増加した対象プラスミノーゲン活性レベルを維持するためのものである、前記プラスミノーゲン。

## 【 0 0 5 4 】

47．正常なプラスミノーゲン活性に対して低減したプラスミノーゲン活性を有するプラスミノーゲン欠損対象において、プラスミノーゲン活性レベルを増加させ、かつ補給期

10

20

30

40

50



間にわたって、増加したプラスミノーゲン活性レベルを維持するための方法であって、前記増加が、前記正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも約1%であり、前記方法が、Glu - プラスミノーゲンを前記プラスミノーゲン欠損対象に、(i)前記対象の質量の約2.0mg/kgの用量で毎日、2日毎、3日毎、または4日毎；(ii)前記対象の質量の約6.0mg/kgの用量で2日毎、3日毎、4日毎、5日毎、または毎週投与することを含む、前記方法。

#### 【0055】

本発明のさらなる態様は、次の説明、請求項、及び本明細書の帰納的結果から、当業者には明らかになるであろう。

#### 【図面の簡単な説明】

10

#### 【0056】

【図1】Glu - プラスミノーゲンのアミノ酸鎖、Lys - プラスミノーゲンへのその変換部位、そのA鎖及びB鎖、ならびにそのクリングル構造の概略図を示す。

【図2】両眼が木質性結膜炎に罹患している4歳の患者の写真を示す(Schuster及びSeregard、2003)。

【図3】黄色がかった偽膜により覆われた結節状拡大を伴う汎発性歯肉増殖症の写真を示す(Silva、2006)。

【図4】本発明による典型的な反復投与の段階及び『プラスミノーゲン活性の増加』を記載するために、本明細書で使用される用語を示すグラフである。

【図5】2mg/kgのGlu - プラスミノーゲンの単回用量を投与されている5人のプラスミノーゲン欠損対象における血漿中プラスミノーゲン活性の薬物動態プロファイル(PK)、その平均値、及び該平均値に基づいてPhoenix(登録商標)WinNonlinアプリケーションにより決定された式により確定された予測PKを示すグラフである。

20

【図6】2mg/kg、6mg/kg、及び12mg/kgの単回投与のための予測PK(該式により決定された)を示すグラフである。

【図7】図7Aは、実施例2に記載の研究における0日目(注入前)の対象2の右眼瞼の写真を示す。図7Bは、実施例2に記載の研究における1日目の対象2の右眼瞼の写真を示す。図7Cは、2mg/kgの単回用量の注入完了の5~15分後、1時間後、6時間後、24時間後、及び48時間後における対象2のベースライン調整プラスミノーゲン活性を示すグラフである。

30

【図8】図8Aは、プラスミノーゲン欠損対象における2mg/kgのGlu - プラスミノーゲンの毎日の投与に対する血漿中プラスミノーゲン活性の予測された薬物動態プロファイル(ベースラインより上)を示すグラフである。図8Bは、プラスミノーゲン欠損対象における0.5mg/kgのGlu - プラスミノーゲンの毎日の投与に対する血漿中プラスミノーゲン活性の予測された薬物動態プロファイル(ベースラインより上)を示すグラフである。

【図9】図9Aは、プラスミノーゲン欠損対象における2mg/kgのGlu - プラスミノーゲンの1日おきの投与に対する血漿中プラスミノーゲン活性の予測された薬物動態プロファイル(ベースラインより上)を示すグラフである。図9Bは、プラスミノーゲン欠損対象における1.5mg/kgのGlu - プラスミノーゲンの1日おきの投与に対する血漿中プラスミノーゲン活性の予測された薬物動態プロファイル(ベースラインより上)を示すグラフである。

40

【図10】図10Aは、プラスミノーゲン欠損対象における2mg/kgのGlu - プラスミノーゲンの週2回の投与に対する血漿中プラスミノーゲン活性の予測された薬物動態プロファイル(ベースラインより上)を示すグラフである。図10Bは、プラスミノーゲン欠損対象における6mg/kgのGlu - プラスミノーゲンの週2回の投与に対する血漿中プラスミノーゲン活性の予測された薬物動態プロファイル(ベースラインより上)を示すグラフである。図10Cは、プラスミノーゲン欠損対象における12mg/kgのGlu - プラスミノーゲンの週2回の投与に対する血漿中プラスミノーゲン活性の

50

予測された薬物動態プロファイル（ベースラインより上）を示すグラフである。

【図 1 1】図 1 1 A は、プラスミノーゲン欠損対象における 12 mg / kg の Glu - プラスミノーゲンの毎週の投与に対する血漿中プラスミノーゲン活性の予測された薬物動態プロファイル（ベースラインより上）を示すグラフである。図 1 1 B は、プラスミノーゲン欠損対象における 45 mg / kg の Glu - プラスミノーゲンの毎週の投与に対する血漿中プラスミノーゲン活性の予測された薬物動態プロファイル（ベースラインより上）を示すグラフである。

【図 1 2】Glu - プラスミノーゲン補給前の、実施例 4 に記載の対象における気道閉塞による左肺の全無気肺を示す胸部 X 線写真である。

【図 1 3】図 1 3 A は、気管の粘性分泌物（A）を示す実施例 4 に記載した対象の気管の気管支鏡写真を示す。図 1 3 B は、気管の閉塞性病変（B）を示す実施例 4 に記載した対象の気管の気管支鏡写真を示す。

【図 1 4】実施例 4 の対象における Glu - プラスミノーゲン補給から最初の 144 時間の間のプラスミノーゲン活性及びプラスミノーゲン投与のタイミングを示す。

【図 1 5】実施例 4 の対象における Glu - プラスミノーゲン補給から最初の 144 時間の間の、D - ダイマーのレベル及びプラスミノーゲン活性を示す。

【図 1 6】6 mg / kg の Glu - プラスミノーゲンの単回用量を投与されている 7 人のプラスミノーゲン欠損対象における血漿中プラスミノーゲン活性の薬物動態プロファイル（PK）、その平均値、及び該平均値の曲線を示すグラフである。

【図 1 7】2 日毎（qod）または 3 日毎（q3d）に静脈内に提供された 6 mg / kg の反復用量からなる、Glu - プラスミノーゲン補給から 12 週間の間に測定されたプラスミノーゲン活性トラフレベル（Glu - プラスミノーゲン投与前に検出された血漿中プラスミノーゲン活性）を示すグラフである。対象 01 - 001 のトラフレベルは、図 17 のグラフで報告される。ベースライン + 10 % は、基準に対して図示される。

【図 1 8】2 日毎（qod）または 3 日毎（q3d）に静脈内に提供された 6 mg / kg の反復用量からなる、Glu - プラスミノーゲン補給から 12 週間の間に測定されたプラスミノーゲン活性トラフレベル（Glu - プラスミノーゲン投与前に検出された血漿中プラスミノーゲン活性）を示すグラフである。対象 01 - 002 のトラフレベルは、図 18 のグラフで報告される。ベースライン + 10 % は、基準に対して図示される。

【図 1 9】2 日毎（qod）または 3 日毎（q3d）に静脈内に提供された 6 mg / kg の反復用量からなる、Glu - プラスミノーゲン補給から 12 週間の間に測定されたプラスミノーゲン活性トラフレベル（Glu - プラスミノーゲン投与前に検出された血漿中プラスミノーゲン活性）を示すグラフである。対象 01 - 006 のトラフレベルは、図 19 のグラフで報告される。ベースライン + 10 % は、基準に対して図示される。

【図 2 0】2 日毎（qod）または 3 日毎（q3d）に静脈内に提供された 6 mg / kg の反復用量からなる、Glu - プラスミノーゲン補給から 12 週間の間に測定されたプラスミノーゲン活性トラフレベル（Glu - プラスミノーゲン投与前に検出された血漿中プラスミノーゲン活性）を示すグラフである。対象 01 - 007 のトラフレベルは、図 20 のグラフで報告される。ベースライン + 10 % は、基準に対して図示される。

【図 2 1】2 日毎（qod）または 3 日毎（q3d）に静脈内に提供された 6 mg / kg の反復用量からなる、Glu - プラスミノーゲン補給から 12 週間の間に測定されたプラスミノーゲン活性トラフレベル（Glu - プラスミノーゲン投与前に検出された血漿中プラスミノーゲン活性）を示すグラフである。対象 01 - 008 のトラフレベルは、図 21 のグラフで報告される。ベースライン + 10 % は、基準に対して図示される。

【図 2 2】2 日毎（qod）または 3 日毎（q3d）に静脈内に提供された 6 mg / kg の反復用量からなる、Glu - プラスミノーゲン補給から 12 週間の間に測定されたプラスミノーゲン活性トラフレベル（Glu - プラスミノーゲン投与前に検出された血漿中プラスミノーゲン活性）を示すグラフである。対象 01 - 009 のトラフレベルは、図 22 のグラフで報告される。ベースライン + 10 % は、基準に対して図示される。

【図 2 3】2 日毎（qod）または 3 日毎（q3d）に静脈内に提供された 6 mg / kg

10

20

30

40

50

の反復用量からなる、G l u - プラスミノーゲン補給から 1 2 週間の間に測定されたプラスミノーゲン活性トラフレベル ( G l u - プラスミノーゲン投与前に検出された血漿中プラスミノーゲン活性 ) を示すグラフである。対象 0 1 - 0 1 0 のトラフレベルは、図 2 3 のグラフで報告される。ベースライン + 1 0 % は、基準に対して図示される。

【図 2 4】グローバルな改善評価の尺度を示す。

【図 2 5】生活の質の評価に対する尺度を示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 5 7 】

本発明は、『プラスミノーゲン補充療法』若しくは『プラスミノーゲン療法』とも呼ぶことができる『プラスミノーゲン補給』、または『プラスミノーゲン欠損症の処置』に関する。プラスミノーゲン欠損症は、先天性プラスミノーゲン欠損症及び後天性プラスミノーゲン欠損症を含む。

【 0 0 5 8 】

本発明は、i) プラスミノーゲンをプラスミノーゲン欠損対象に補給するための方法、または i i) 該対象にプラスミノーゲンを提供するための方法に関し、プラスミノーゲン欠損対象が、正常な血漿中プラスミノーゲン活性に対して低減した血漿中プラスミノーゲン活性を有し、かつ、方法が、対象プラスミノーゲン活性レベルを正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも 1 % 増加させるために、有効用量のプラスミノーゲンを該対象に投与することを含む。好ましい実施形態では、方法は、プラスミノーゲンの投与前に、対象の血漿中プラスミノーゲン活性を決定するステップをさらに含む。別の実施形態では、有効用量のプラスミノーゲンの投与は、対象プラスミノーゲン活性レベルを、正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも 1 % 増加させ、かつ補給期間にわたって、該対象プラスミノーゲン活性レベル及び正常なプラスミノーゲン活性の 1 % を上回る対象プラスミノーゲン活性レベルを維持するためのものである。そのようなものであるから、プラスミノーゲンの反復用量またはプラスミノーゲンの連続投与は、所望の閾値を超える該プラスミノーゲン活性レベルを維持するために投与することができる。プラスミノーゲン欠損対象の血漿中プラスミノーゲン活性レベルを増加させるための薬品を調製するためのプラスミノーゲンの関連する使用もまた、本発明の目的である。

【 0 0 5 9 】

一実施形態では、本発明を必要とする対象は、『プラスミノーゲン欠損対象』である。『プラスミノーゲン欠損対象』は、(『正常なプラスミノーゲン活性』と呼ばれる) 非プラスミノーゲン欠損の正常な対象の血漿中プラスミノーゲン活性のレベルよりも低い血漿中プラスミノーゲン活性を有する対象と定義される。正常な対象のプラスミノーゲン活性の変動性があるので、正常なプラスミノーゲン活性は好ましくは、非プラスミノーゲン欠損の正常な対象または健康な対象から収集された血漿プール中で計算される。該血漿プールは、好ましくは、個体に見出される変動を正規化するために、十分に大量の対象から収集される。好ましくは、該血漿プールは、少なくとも 2 4 0 の人の非プラスミノーゲン欠損の正常な対象、例えば、2 0 及び 8 0 歳の間の年齢をカバーする 1 2 0 人の健康な成人男性及び 1 2 0 人の健康な成人女性から収集される。別の実施形態では、正常なプラスミノーゲン活性は、健康な(例えば、プラスミノーゲン欠損でない)対象の集団において決定された平均または相加平均プラスミノーゲン活性に対応する。プラスミノーゲン活性を測定するいくつかの方法は、当該技術分野で既知である。例えば、プラスミノーゲン活性は一般に、発色または蛍光発生アッセイにより決定される。正常なプラスミノーゲン活性の決定のための対象のプール、及び本発明に従って使用されることが好ましいプラスミノーゲン活性を測定するための方法は、Criteria for specific measurement of plasminogen (enzymatic; procedure) in human plasma, Electronic Journal Of The International Federation Of Clinical Chemistry And Laboratory Medicine, Vol. 12, No. 3, 2000: www.ifccc.org/ifcccfiles/

10

20

30

40

50

docs/plasminogen.pdf に記載される。

【0060】

限定されないが、i) 新生児または未熟児などの急性プラスミノーゲン欠損症、ii) 変異により引き起こされるような慢性プラスミノーゲン欠損患者、iii) 急性新生児呼吸窮迫症候群 (NRDS/HMD)、iv) 急性成人呼吸窮迫症候群 (ARDS)、v) 播種性血管内凝固 (DIC)、及びvi) 木質性結膜炎に罹患している人を含む種々のタイプのプラスミノーゲン欠損対象がある。

【0061】

本発明の一態様によると、対象は、ヒトである。本発明の実施形態では、対象は、成人、新生児、幼児、小児、または青年である。

10

【0062】

『低減したプラスミノーゲン活性』という用語は、プラスミノーゲン欠損対象において測定されたプラスミノーゲン活性を示す。『低減したプラスミノーゲン活性』という用語は、本発明によるプラスミノーゲンの投与前のプラスミノーゲン欠損対象のプラスミノーゲン活性レベルも指す。対象がI型プラスミノーゲン欠損症を有する場合、その血漿中プラスミノーゲンの量は、健康な集団に見出されるレベルよりも低く、得られるプラスミノーゲン活性は、該正常なプラスミノーゲン活性よりも低い。対象がII型プラスミノーゲン欠損症を有する場合、その血漿中プラスミノーゲンの量は、健康な集団に見出されるレベルよりも低くても低くなくてもよいが、そのプラスミノーゲンは、得られるプラスミノーゲン活性が該正常なプラスミノーゲン活性よりも低くなるように変異される。対象が管理の不十分なまたは未管理の真性糖尿病を有する場合、その血漿中プラスミノーゲンの量は、健康な集団で見出されるレベルよりも低くても低くなくてもよいが、そのプラスミノーゲンは、得られるプラスミノーゲン活性が該正常なプラスミノーゲン活性よりも低くなるようにグリコシル化される。それ故、これらの全ての場合では、これら対象のプラスミノーゲン活性レベルは、該正常なプラスミノーゲン活性よりも低い。本発明の一態様では、低減したプラスミノーゲン活性は、正常なプラスミノーゲン活性の70%以下、正常なプラスミノーゲン活性の60%以下、正常なプラスミノーゲン活性の50%以下、正常なプラスミノーゲン活性の40%以下、正常なプラスミノーゲン活性の35%以下、または正常なプラスミノーゲン活性の30%以下である。

20

【0063】

プラスミノーゲンの有効用量は、プラスミノーゲン欠損対象のプラスミノーゲン活性レベルを正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも約1%増加させる用量であることが本発明者らによって決定されている。一実施形態では、該有効用量のプラスミノーゲンは、対象プラスミノーゲン活性レベルを、正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも約1%増加させ、補給期間にわたって、該増加した対象プラスミノーゲン活性レベルを維持する。さらなる実施形態では、有効用量のプラスミノーゲンは、対象プラスミノーゲン活性レベルを正常なプラスミノーゲン活性レベルの少なくとも約5%増加させる。別の実施形態では、有効用量のプラスミノーゲンは、対象プラスミノーゲン活性レベルを、正常なプラスミノーゲン活性レベルの少なくとも約5%増加させ、補給期間にわたって、該増加した対象プラスミノーゲン活性レベルを維持する。さらに別の実施形態では、有効用量のプラスミノーゲンは、対象プラスミノーゲン活性レベルを正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも約10%増加させる。別のさらなる実施形態では、有効用量のプラスミノーゲンは、対象プラスミノーゲン活性レベルを、正常なプラスミノーゲン活性レベルの少なくとも約10%増加させ、補給期間にわたって、該増加した対象プラスミノーゲン活性レベルを維持する。

30

40

【0064】

正常なプラスミノーゲン活性は任意に、100%で表される。従って、正常なプラスミノーゲン活性(100%)の少なくとも約10%の増加は、少なくとも約10%を表す。例えば、低減したプラスミノーゲン活性が40%に決定される場合、次に、プラスミノーゲンの投与後のプラスミノーゲン活性の増加は、少なくとも約50%である。本発明の一

50

実施形態によると、低減したプラスミノーゲン活性は、正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも約 10 %、約 15 %、約 20 %、約 25 %、約 30 %、約 35 %、約 40 %、約 45 %、または約 50 % 増加する。

#### 【0065】

プラスミノーゲン活性レベルが所望のレベルに増加し、かつ補給期間にわたって、該所望のレベルに維持されている一実施形態では、プラスミノーゲンの用量は、血漿濃度を所望のレベルに高め、かつそれを維持するために、複数回用量で投与され得る。投与される各用量では、到達され、続いて、減少する血漿中レベルのピークがある。2つの投与された用量の間に、トラフと呼ばれる、到達される最小の血漿中レベルがある（図4を参照のこと）。従って、ピークは、1用量の投与後の最大活性に対応し；トラフは、2用量の投与の間に達成された最低活性に対応する（図4を参照のこと）。最初は、反復用量を投与する時、プラスミノーゲンは、対象のプラスミノーゲンの固有の半減期、投与されるプラスミノーゲンの量、及びその投与の頻度に依存する特定のリズムまで血漿中に蓄積するであろう。プラスミノーゲン活性の血漿中レベルは、『蓄積期間』（図4を参照のこと）と呼ばれる期間中に増加することになり、これは一般に、対象の血漿中の化合物の半減期の3～5倍まで持続する。その蓄積期間後、プラスミノーゲンの除去及びプラスミノーゲン入力は、平衡になり、プラスミノーゲン活性の血漿中レベルは、増加が停止し、『定常状態』（図4を参照のこと）と呼ばれるプラトーに達する。定常状態の間、トラフレベルは、特定のレベルで安定したままである。これは、本発明による『増加した対象プラスミノーゲン活性レベル』に対応する定常状態でのトラフのレベルである。本発明によると、定常状態でのプラスミノーゲン活性のピークは、増加したプラスミノーゲン活性レベルより高く、定常状態でのプラスミノーゲン活性のトラフは、該増加したプラスミノーゲン活性レベルを規定する。従って、本発明が正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも約1%増加するレベルに対象の血漿中プラスミノーゲン活性を増加及び維持することを検討する時、それは、プラスミノーゲンの反復投与により得られたトラフのレベルを指す。本発明によると、定常状態の間の任意の時に、プラスミノーゲン活性（ピーク及びトラフ）は、正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも約1%、または正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも約5%、正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも約10%であることが理解されるべきである。

#### 【0066】

一実施形態では、定常状態の間のプラスミノーゲン活性のピークレベルは、正常なプラスミノーゲン活性の約8倍（約800%）、正常なプラスミノーゲン活性の約5倍（約500%）、正常なプラスミノーゲン活性の約3倍（約300%）、正常なプラスミノーゲン活性の約2.5倍（約250%）、正常なプラスミノーゲン活性の約2倍（約200%）、正常なプラスミノーゲン活性の約1.75倍（約175%）、正常なプラスミノーゲン活性の約1.5倍（約150%）、正常なプラスミノーゲン活性の約1.25倍（約125%）、または正常なプラスミノーゲン活性の約1倍（約100%）よりも高くないことが望ましい。実施形態では、対象プラスミノーゲン活性レベルは、正常なプラスミノーゲン活性の約200%だけ、正常なプラスミノーゲン活性の約150%だけ、または正常なプラスミノーゲン活性の約100%だけ増加する。この場合、対象プラスミノーゲン活性レベルがほぼ特定の値だけ増加する時、プラスミノーゲン活性のピークレベルが特定値よりも高くないことが意図される。一実施形態では、トラフレベルが最小値よりも高く、かつピークレベルが最大値よりも低いことが望ましく、該最小値は好ましくは、対象の基礎レベル+正常なレベルの1%、5%、または10%に等しく；最大値は、正常なレベルの100%、125%、150%、175%、200%、250%、300%、500%、または800%である。

#### 【0067】

本発明の一態様によると、プラスミノーゲン欠損対象は、I型プラスミノーゲン欠損症、II型プラスミノーゲン欠損症、または後天性プラスミノーゲン欠損症に罹患している可能性がある。I型及びII型プラスミノーゲン欠損症は、先天性プラスミノーゲン欠損

症と呼ばれる。

【0068】

2つのタイプの先天性プラスミノゲン欠損症：

I型プラスミノゲン欠損症及びII型プラスミノゲン欠損症がある。I型プラスミノゲン欠損症としても知られている低プラスミノゲン血症は、免疫反応性レベルの減少及び機能性プラスミノゲンのレベルの減少の双方を特徴とし、かつ主に体全体の粘膜上に繊維状の沈着物が形成されるために重篤な臨床症状に至る稀な常染色体劣性障害である (Schott D. et al., 1998 Therapy with a Purified Plasminogen Concentrate in an Infant with Ligneous Conjunctivitis and Homozygous Plasminogen Deficiency. New Engl. J. Med. (339): 1679)。II型プラスミノゲン欠損症または異常プラスミノゲン血症では、プラスミノゲン抗原レベルは、正常なまたはわずかに低減するが、特異的機能性プラスミノゲン活性は著しく低減する。

【0069】

低プラスミノゲン血症に関連する最も一般的で明確に定義された状態は、木質性結膜炎であり、これは、眼の結膜上の厚い木質（木質性）成長を特徴とする。図2は、両眼が木質性結膜炎に罹患している4歳の患者の写真を示す (Schuster V. and Seregard S. 2003 Ligneous conjunctivitis. Surv. Ophthalmol. 48(4), pp. 369-388)。

【0070】

未処置のままにすると、木質性結膜炎は、失明に至る可能性がある。木質性結膜炎の最も影響を受けた症例は、プラスミノゲン欠損症の乳児及び小児であり、最初の臨床症状の年齢中央値は約10ヶ月である (Schuster V. et al. 2007 Plasminogen deficiency. J. Thromb. Haemost. 5(12), pp. 2315-2322; Bateman J. B. et al. 1986 Ligneous conjunctivitis: an autosomal recessive disorder. J. Pediatr Ophthalmol Strabismus. 23(3), pp. 137-140)。木質性結膜炎は、眼の局所感染または外科的介入により誘発されると考えられている (Schuster V. and Seregard S. 2003 Ligneous conjunctivitis. Surv. Ophthalmol. 48(4), pp. 369-388)。

【0071】

木質性結膜炎に加えて、低プラスミノゲン血症は、耳、副鼻腔、気管気管支樹、泌尿生殖路、及び歯肉にも影響を与える可能性がある多臓器疾患である。図3は、黄色がかった偽膜により覆われた結節状拡大を伴う汎発性歯肉増殖症の写真を示す (Silva G. B. et al. Clinical manifestations due to severe plasminogen deficiency: a case report. 2006 J. Dent. Child (Chic). 73(3), pp. 179-82)。高粘性分泌物を伴う気道内病変は、呼吸不全を引き起こす可能性がある。加えて、水頭症は、明らかに脳室系の線維素沈着に関連する重篤なプラスミノゲン欠損症の小児の約10%で報告されている。水頭症の処置は、シャントの埋め込みを必要とすることがあり、これは、正常な凝塊溶解の欠如による繰り返しの閉塞により複雑になり、死亡に至り得る。プラスミノゲン欠損症に関連する大幅に悪化した皮膚創傷の治癒も報告されている。あまり頻繁に報告されてはいないが、胃腸管、腎臓系、及びDandy-Walker形成異常として知られている小脳虫部の形成異常の病変も報告されている (Schott D. et al., 1998 Therapy with a Purified Plasminogen Concentrate in an Infant with Ligneous Conjunctivitis and Homozygous Plasminogen Deficiency. New Engl. J. Me

10

20

30

40

50

d. (339): 1679)。低プラスミノゲン血症の予後は、病変の程度、長さ、及び部位により変動し、精神的成長の遅延、器官機能の喪失、及び場合により、死亡がもたらされ得る (Mingers A. M. et al. Homozygous type I plasminogen deficiency. 1997 Semin. Thromb. Hemost. 23 (3), pp. 259 - 269; Schuster V. et al. Plasminogen deficiency. 2007 J. Thromb. Haemost. 5 (12), pp. 2315 - 2322; Mehta R. and Shapiro A. D. Plasminogen deficiency. 2008 Haemophilia. 14 (6), pp. 1261 - 1268)。

【0072】

10

低プラスミノゲン血症または異常プラスミノゲン血症の遺伝的基礎：

重篤な低プラスミノゲン血症の診断は、臨床症状の認識ならびにプラスミノゲン活性及び抗原レベルの臨床検査の所見に依存する。診断は、プラスミノゲン遺伝子の分析により確定することができる。

【0073】

プラスミノゲン遺伝子は、約52.5キロベース (kb) のDNAにおよび、18個のイントロンにより隔てられた19個のエクソンから構成されている。2.7 kbのプラスミノゲンcDNAは、791個のアミノ酸からなるタンパク質をコードする。2つのエクソンは、プラスミノゲンの5つのクリングルドメインをコードする。プラスミノゲン遺伝子の変異は、循環血中のプラスミノゲン抗原及び活性が低減するI型プラスミノゲン欠損症 (低プラスミノゲン血症) または循環血中のプラスミノゲン活性が低減するが、プラスミノゲン抗原レベルが正常であるII型プラスミノゲン欠損症 (異常プラスミノゲン血症) のいずれかに至る可能性がある。

20

【0074】

I型プラスミノゲン欠損症の最も一般的な臨床症状は、木質性結膜炎である。Mingers、1997は、木質性結膜炎を有する血縁関係のない3人の女兒における、プラスミノゲン抗原及びプラスミノゲン活性レベルの顕著な低減を初めて示した。Schuster Vら (2007) は、木質性結膜炎を有する若い女性において、エクソン7、780位のホモ接合型Gly Ala点変異を同定している。この変異は、Arg216 His交換をもたらす。患者の両親及び姉妹は全て、この変異についてヘテロ接合であり、臨床症状の徴候を示さなかった。木質性結膜炎の2番目の若い女性は、ストップコドン (Trp59 終止) をもたらしたエクソン15、1924位にホモ接合型Gly Ala点変異を有していた。さらに加えて、患者の両親はともに、症状がなく、この変異についてヘテロ接合であった。この2番目の患者の父親もまた、同じコドンの2番目の対立遺伝子に変異を有し、Trp597 Cys (化合物ヘテロ接合性) を生じた。これらの研究は、プラスミノゲン遺伝子の変異により木質性結膜炎が引き起こされ得るという最初の証拠であった。I型プラスミノゲン欠損症を有する木質性結膜炎患者で同定されている他の変異は、3人の患者における終止変異 (Glu460 終止) をもたらすエクソン11、1511位 (Gly Thr) ; 化合物 - ヘテロ接合体、Lys19 Glu / Arg513 His、Lys19 Glu / Arg216 His、及びLys19 Glu / Leu128 Pro ; ならびにさらなる2人の患者におけるイントロンQのLysスプライス部位変異の欠失を含む。Schusterら (2007年) は、2人の患者にLys19 Gluの交換をもたらすヘテロ接合型Ala Gly点変異、及び他の2つの患者に同じホモ接合型変異を見出した。

30

40

【0075】

44家系の50人のプラスミノゲン欠損患者の研究では、40人 (80%) は、木質性結膜炎を有し、17人 (34%) は、木質歯肉炎を有し、7人の患者は、双方を有していた (Tefs K. et al. Molecular and clinical spectrum of type I plasminogen deficiency : A series of 50 patients. 2006 Blood. 108 (

50

9) , pp. 3021 - 3026. )。15人の患者(30%)では、疾患は、上気道及び下気道(耳、副鼻腔、喉頭、気管支、及び肺)に関与し、4人(8%)の患者では、疾患は、女性生殖器に影響を及ぼした。これら50人の患者におけるプラスミノーゲン遺伝子の最も一般的な欠損は、Lys19 Glu変異(17人の患者[34%])であった。これらの患者の基礎プラスミノーゲン活性レベルは、正常なプラスミノーゲン活性レベルの27%~35%で変動する。R216H変異などの他の変異を有する患者では、プラスミノーゲン活性レベルは、正常なプラスミノーゲン活性レベルの2%に低下する。得られるプラスミノーゲン活性レベルは、変異に特異的である。

#### 【0076】

後天性プラスミノーゲン欠損症：

後天性プラスミノーゲン欠損症と呼ばれるプラスミノーゲンの非遺伝的関連レベルの減少が、限定されないが、L-アスパラギナーゼ療法、血栓溶解療法、及び手術後の播種性血管内凝固(DIC)、敗血症、白血病、肺硝子膜症、肝疾患、アルゼンチン出血熱、甲状腺機能亢進症を含むいくつかの状態において示されている。これらの状態のいくつかにおけるプラスミノーゲンの減少は、予後不良の徴候であり得る。後天性プラスミノーゲン欠損症を引き起こし得るいくつかの機序が存在する。プラスミノーゲン消費の増加及びプラスミノーゲン合成の低下は、重篤な肝疾患で観察される欠損の理由であり得る。広範な刺激(広範な組織損傷、ストレス、ショック、特定の薬物など)により誘導される天然のプラスミノーゲンアクチベーターの過剰放出は、場合により、枯渇したプラスミノーゲンレベルをもたらす可能性があった。例えば、白血球エラスターゼによる、プラスミノーゲンの低分子プラスミノーゲンへの分解は、敗血症対象及びアルゼンチン出血熱で観察される機能的プラスミノーゲンの低減の理由であると考えられている。

#### 【0077】

後天性プラスミノーゲン欠損症を表す種々の疾患または状態：例えば、

- a) 川崎病
- b) 新生児/小児(血栓溶解事象)
- c) 熱傷及び重度の熱傷
- d) 異所性骨化(骨化性筋炎)
- e) 新生児の肺硝子膜症/新生児呼吸器疾患症候群(NRDS)
- f) 播種性血管内凝固(DIC)
- g) 敗血症
- h) 成人の血栓溶解療法
- i) 脳卒中
- j) 急性肺損傷(ALI)/成人(急性)呼吸窮迫症候群(ARDS)
- k) 糖尿病(1型、1.5型、2型、及び3型)
- l) 肝疾患(肝臓/劇症肝不全)
- m) バッドキアリ症候群
- n) 微小血管症性溶血性貧血(MAHA)
- o) 非定型溶血性尿毒症症候群がある。

#### 【0078】

川崎病：川崎病は、体全体の血管が炎症を起こす疾患である。最も一般的な症状は、5日以上続き、かつ通常の薬物療法で制御されない発熱、首の大きなリンパ節、生殖器領域での発疹、及び眼の充血、唇、手掌、または足裏を含む。一部の小児では、冠動脈瘤が心臓に形成され得る。冠動脈が関与している場合、進行中の処置または手術が必要とされ得る。処置なしでは、冠動脈の問題が最大25%、死亡が約1%生じる。心臓合併症は、川崎病の最も重要な態様である。それは、米国及び日本で、小児期に獲得された心疾患の主因である。死亡は、冠動脈瘤の血栓(血栓症)形成に続発する心筋梗塞または大きな冠動脈瘤の破裂のいずれかに起因して生じる可能性がある。組織プラスミノーゲンアクチベーター(t-PA/u-PA)を使用した血栓溶解療法は通常、血栓溶解事象に使用される。プラスミノーゲンアクチベーターは、プラスミンを産生するための基質としてプラスミ

10

20

30

40

50



ノーゲンを必要とし、これは、次に、血栓症を引き起こす血栓の線維素溶解プロセスを開始する。川崎病患者は、わずか50%のプラスミノゲン活性レベルを有するにすぎず、従って、川崎病処置の治療的有用性が制限されると報告されている (Saji B. T. et al., Kawasaki Disease: Current Understanding of the Mechanism and Evidence-Based Treatment, 2017 Ed. Springer ISBN 978-4-431-56039-5)。それ故、川崎病患者は、生命/四肢を脅かす血栓溶解事象の迅速な解決を確実にするために、本発明のプラスミノゲン補給療法から恩恵を受けることができた。

【0079】

新生児/小児(血栓溶解事象)：新生児、幼児、及び場合により、小児は、成人と比較した時に、プラスミノゲン活性の40~50%を有する。この低プラスミノゲンレベルは、血栓溶解事象が生じる時、プラスミンの生成を遅らせ、外因性/内因性ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ(u-PA)及び組織プラスミノゲンアクチベーター(t-PA)の血栓溶解作用を低減させる。新生児/幼児/小児、及び場合により、青年の静脈血栓溶解事象(VTE)は、プラスミノゲンを用いる補給療法の恩恵を受け得る。さらに、「血栓溶解が必要な場合は、他の溶解剤の代わりに、組織プラスミノゲンアクチベーター(t-PA)が使用されること(グレード2C)が提案され、治療を開始する前のプラスミノゲン(新鮮凍結血漿)投与(グレード2C)が提案される」というAmerican College of Chest Physiciansから勧告がある (Monagle P. et al. Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9<sup>th</sup> ED: ACCP Guidelines Chest 2012; 141(2)(Suppl): e737S-e801S)。

【0080】

熱傷及び重度の熱傷ならびに異所性骨化(骨化性筋炎)：

異所性骨化(HO)は、骨が通常存在しない軟組織内の骨の存在である。熱傷若しくは重度の熱傷のいずれか、筋骨格外傷、脊髄損傷、または中枢神経系損傷を伴う後天性形態のHOが最も頻繁に見られる。例えば、最近股関節全置換術を受けているか、または脊髄損傷後に対麻痺を有する患者は、HOのリスクがある。

【0081】

異所性骨化(HO)という用語は、通常軟組織にある異常な解剖学的部位での骨形成を表す。HOは、次の3タイプ：進行性骨化性筋炎(進行性化骨性線維異形成)に分類することができる。この障害は、200万人当たり1症例の発生率で、最も稀な遺伝的状態の1つである。伝達は、可変発現を有する常染色体優性である。状態は、(a)HOに至る再発性の痛みを伴う軟組織腫脹、及び(b)足の親指の先天性奇形を特徴とする。外傷性骨化性筋炎。この状態では、痛みを伴う領域は、領域への一撃、筋肉の裂傷、または繰り返す軽度の外傷の後に、筋肉または軟組織に出現する。神経原性異所性骨化。この状態は、異所性骨化という一般的な語句が使用される時に思いつくものである。最近、HOの予防におけるプラスミノゲンの本質的役割は、骨折の研究中に発見され、その研究に、本発明者らは、プラスミノゲンが骨折治癒に必須であるとも結論付けた。HOを予防するのに必要なプラスミン活性の閾値：これらの研究から、本発明者らは、60%を超える循環血中のプラスミノゲンのレベルが、骨格筋損傷後にHO形成を予防するのに必須であると結論付けている。

【0082】

30%を超える体表面積の熱傷を持つ患者は、プラスミノゲンレベルの50%の減少及びHO形成の発生率の増加を経験する (Mignemi N et al. Plasminogen is Essential to Prevent Heterotypic Ossification Following Traumatic Muscle Injury, 2016 The FASEB Journal, 30(1) Su

10

20

30

40

50

plement 83.3)。明らかに、H O患者、特に、熱傷患者は、H O形成を予防するための本発明のプラスミノゲン補給療法から恩恵を受けることができた。

#### 【0083】

新生児ノ新生児呼吸器疾患症候群(NRDS)の肺硝子膜症:

乳児呼吸窮迫症候群(IRDS)または新生児呼吸窮迫症候群(NRDS)のより古い用語及び同義語である肺硝子膜症(HMD)は、新生児の終末細気管支及び肺胞管を覆う平滑で均質な好酸球膜の微視的外観を指す。硝子膜は、壊死性肺胞細胞、血漿漏出液、吸引された扁平上皮細胞、及び相当量の線維素で構成される。感染がNRDSを複雑にする場合、多形核細胞は膜に浸潤し得る。硝子膜は、後にNRDSで死亡した新生児の出生の3~4時間後という早い時期に存在することがあり、それらは通常、12~24時間までに十分に確立される。高い酸素圧及び人工呼吸器の圧力が必要でない場合、硝子膜は通常、36~48時間で組織化し、根底にある肺胞または気管支壁から分離し、それらは、肺胞マクロファージにより最終的にクリアランスされ、それ以外の場合は、この状態は、新生児の死亡をもたらし得る。

#### 【0084】

顕微鏡検査では、硝子膜を含有する小さな気道は、サーファクタント欠損肺の潰れた腺房に取り囲まれている。従って、新生児のRDSは、通常未熟児に影響を与え、かつ主に不十分な量のサーファクタントにより引き起こされる急性肺疾患である。減少したサーファクタントは、無気肺、ガス交換の減少、重篤な低酸素症及び酸血症に至る呼吸中の肺胞における不十分な表面張力をもたらす。

#### 【0085】

早産児のRDSを引き起こす基本的な欠陥は、肺、特に、II型肺細胞の未成熟である。定性的及び定量的に、胎児のサーファクタントは、肺胞の表面張力を低下させ、肺胞を開いたままにすることにおいて、成人のサーファクタントよりも効率が低い。肺は、サーファクタントで十分に被覆されていないので、それは、血漿の肺胞腔への漏出をもたらし、続いて、肺胞管及び呼吸器細気管支の表面に沿った線維素及び壊死細胞(「硝子膜」)の層化を伴う。硝子膜の沈着は順次、肺胞腔から呼吸表面を横切って肺血管系に至る酸素の通過をさらに妨げる。

#### 【0086】

出産予定日に娩出された新生児は、正常な(成人)の約40%のプラスミノゲン活性を有し、かつ体重が2000g未満の未熟児は、同じ対照と比較して、わずか20%のプラスミノゲン活性を有するにすぎないと報告されている。従って、早産児及び満期産児の双方は、生まれつきプラスミノゲンのレベルが低いが、この事実を、肺胞中の線維素の強力な沈着が起こるNRDSの臨床的病理学と組み合わせる時、それは直ちに、これらの患者が、本発明のプラスミノゲン補給療法から恩恵を受けることができたという結論に至る。

#### 【0087】

播種性血管内凝固(DIC):

播種性血管内凝固(DIC)は、広範囲の血管内凝固が、天然の抗凝固機序及び内因性線維素溶解によるバランスが不十分な前駆凝固因子の曝露または産生の結果として起こる臨床病理症候群である。刺激された炎症細胞及び炎症メディエーターの放出に伴う微小循環における内皮細胞の攪乱は、この機序において重要な役割を果たす。DICは、閉塞性微小血栓の組織虚血、血小板及び凝固因子の消費からの出血、及び一部の 경우에는、過剰な線維素溶解反応を引き起こし得る。

#### 【0088】

播種性血管内凝固(DIC)の2つの表現型がある。凝固カスケードの初期ステップとしての組織因子依存性経路の活性化、及び不十分な抗凝固系の存在が同じであるが、DICは、線維素溶解性(出血性)及び抗線維素溶解性(血栓性)表現型に分けることができる。線維素溶解表現型を有するDICでは、DIC及び全身性線維素溶解(線溶現象)が共存することができる。

## 【0089】

線維素溶解表現型を有するDICの処置は、外傷の外科的修復、ショックの改善、ならびに血小板濃縮物、新鮮凍結血漿、及び枯渇凝固因子の迅速で十分な補充を含む。血漿プラスミノゲン活性レベルは、播種性血管内凝固において70%も減少すること（正常の30%の残留活性）が知られている（Rutherford E. J. et al. Hematologic principles in surgery. In: Townsend C. M. et al., editors. Sabiston Textbook of Surgery 17<sup>th</sup> Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2004. pp. 113 - 136; Lackner H. and Javid J. P.）。

10

## 【0090】

敗血症：

敗血症は、感染に対する無調節な宿主応答により引き起こされる生命を脅かす臓器機能不全と定義される。この定義は、感染に対する恒常性のない宿主応答の優位性、簡単な感染を大幅に超過する潜在的な致死性、及び緊急の認識の必要性を強調する。従って、敗血症は、潜在的に生命を脅かす感染合併症であり、感染症と戦うために血流に放出される化学物質が体全体に炎症性応答を引き起こす場合に起こる。この炎症は、複数の臓器系に損傷を与えて、それらが機能しないようにさせることができる変化のカスケードを引き起こすことができる。敗血症は、これらの所見が、低酸素血症、乏尿症、乳酸アシドーシス、肝臓酵素の上昇、及び大脳機能の変化などの臓器機能不全の徴候と関連して起こる場合に、重篤と定義される。重篤な敗血症のほとんど全ての犠牲者は、集中治療室での数日または数週間の処置を必要とする。敗血症が敗血症性ショックに進行する場合、血圧が劇的に低下し、これは、死に至り得る（Mervyn S. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis - 3). 2016 JAMA, 315 (8), pp. 801 - 810）。敗血症及び出血性ショックは死亡率の高いリスクを伴う。止血及び線維素溶解の変化に続発する微小循環の不全は、ショックの発症機序において主要な役割を果たす。特定の場合では、プラスミノゲンは、非生存者では1日目まで有意に低く、プラスミン - 抗プラスミン複合体は、生存者と比較して4日目まで有意に高かった。4及び7日目にわたって、内因性プラスミノゲンの連続的な増加は、生存者で著しく堅調であったことが認められる。能力及び応答性の向上により測定されるような線維素溶解は、場合により微小循環におけるクリアランス機能により、明らかに予測的なものであり、生存に重要な役割を果たす（Helling et al. Clinical Hemorheology and Microcirculation, 2010, 45 (2 - 4), pp. 295 - 300; Seitz R. et al. Reduced fibrinolytic capacity and its restoration by plasminogen substitution in acute renal failure. 1989 Int. J. Tissue React. 11 (1), pp. 39 - 46）。従って、敗血症では、プラスミノゲン活性のレベルが著しく減少し、患者は、臨床結果を改善するためのプラスミノゲンを用いる補給療法から恩恵を受けることができた。

20

30

40

## 【0091】

成人における血栓溶解療法：

成人では、高用量のストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、または組織プラスミノゲンアクチベーターを用いる血栓溶解療法の前または間に、プラスミノゲンがそれらのアクチベーターの基質であるので、血栓溶解剤の有効性を終結させ得るプラスミノゲンの枯渇がある。このような状態としては、脳卒中が挙げられるが、これらに限定されない。それ故、血栓溶解剤の使用は常に、特に、長期の血栓溶解処置中の、プラスミノゲン - プラスミン系の構成成分の詳細な監視を含むべきである。これらの臨床症例では、患者は、本発明のプラスミノゲン補給療法から恩恵を受けることがあり、それは、凝塊溶解時間の

50

減少及び必要とされるプラスミノージェンアクチベーターの量の潜在的減少をもたらし得る。

#### 【0092】

急性肺損傷（ALI）／成人（急性）呼吸窮迫症候群（ARDS）：

急性肺疾患（ALI）は、浮腫の存在に合致する胸部X線写真における両側の肺浸潤を伴い、ならびに左心房高血圧及び18 mmHg以下の肺動脈楔入圧の臨床的証拠を伴わない急性肺疾患として定義される。さらに、動脈血酸素対吸入酸素（ $PaO_2 / FiO_2$ ）の画分の比率は、呼吸終末陽圧（PEEP）のレベルにかかわらず、300 mmHg以下でなければならない。ALIの最も重篤な形態である成人急性呼吸窮迫症候群（ARDS）、それが200 mmHg以下の動脈血酸素対吸入酸素の画分の比により定義される。ARDSという用語は多くの場合、ALIと互換的に使用されるが、厳密な基準により、ARDSは、最も重篤な形態の疾患のために取っておくべきである。ARDS及びARDSの病態生理学は異なるが、肺胞中の線維素の存在は一般的な組織学的所見であり、従って、線維素溶解系は、何らかの悪化をしており、ARDSとは異なり、ARDSにおける経路は、今日に至るまで完全に解明されていないことが認められる。

10

#### 【0093】

急性呼吸窮迫症候群（ARDS）は、死亡率が高い。気管支肺胞洗浄液（BALF）プロテオームを精査するために行われた研究から、ARDSの生存者を非生存者と識別するタンパク質を同定する。初期のARDSでは、オントロジーにマッピングされた生存者により豊富なタンパク質は、傷害及びストレスに対する調整された代償応答を示す。これらは、凝固及び線維素溶解；免疫システム活性化；ならびに陽イオン及び鉄恒常性を含む。生存者を非生存者と区別する初期のタンパク質は、ARDSの生存を予測するための候補バイオマーカーであると結論付けられ、プラスミノージェンの評価が報告された（Bhargava M. and Becker T. L. Proteomic Profiles in Acute Respiratory Distress Syndrome Differentiates Survivors from Non-Survivors, PLoS ONE 9(10): e109713. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0109713>）。この研究では、ARDS生存患者は、非生存ARDS対応物と比較してプラスミノージェンレベルを約2倍にしている。恒常系は、ARDSにおいてこのような重要な役割を果たし、本発明のプラスミノージェン補給療法は、プラスミノージェンのレベルを上昇させ、かつ生存の可能性を増加させることにより、ARDS／ALI患者に有益である可能性があった。

20

30

#### 【0094】

糖尿病（1型、1.5型、2型、及び3型）：

糖尿病患者は、非糖尿病集団と比較して、心筋梗塞後の短期及び長期の予後不良を伴うアテローム血栓性事象のリスクが高い。冠動脈における閉塞性血小板に富む線維素凝塊の形成は、心筋梗塞をもたらすアテローム血栓性プロセスにおける最終ステップを表す。糖尿病は、低線維素溶解状態に関連し、この集団における心臓血管リスクの増加に対する1つの機序を表している。多くの要因は、線維素網状組織の構造の変化、抗線維素溶解性タンパク質の取り込みの増加、及び線維素溶解プロセスの阻害を含む、糖尿病における線維素凝塊溶解の悪化に関連している。糖尿病はまた、プラスミノージェンインヒビター及び補体C3の凝塊への取り込みの増加に関連し、双方のタンパク質は、抗線維素溶解活性を示す。さらに、プラスミノージェンアクチベーターインヒビター1の血漿濃度は、糖尿病及びインスリン耐性状態で上昇し、これは、プラスミンの生成を制限することにより線維素溶解プロセスを損なう。これらの変化は全て、凝塊溶解の阻害を促進し、糖尿病を有する個体の虚血性心臓血管疾患の発症及び重症度に潜在的に寄与する。

40

#### 【0095】

末梢動脈疾患（PAD）は、下肢のアテローム硬化性閉塞性疾患を特徴とする状態である。PADは、下肢切断の主要なリスク因子であるが、症候性心臓血管及び脳血管疾患の高い可能性も伴う。一般の人々のPADに関して多くのことが知られているが、糖尿病の

50

人々のPADの評価及び管理は、不明確で、若干の特別な問題を提起する。

【0096】

末梢動脈疾患（PAD）は、糖尿病患者でより一般的であり、糖尿病性足部潰瘍患者の約半数は、共存するPADを有する。鼠径靱帯のレベル未満のアテローム硬化性動脈閉塞疾患は、下肢への血流の低減をもたらす。糖尿病における末梢動脈疾患は、主に鼠径下の血管系の状態であり、特徴、処置、及び転帰において糖尿病のない患者のものとは異なる。足潰瘍患者のPADを同定することは、その存在が足潰瘍の治癒の遅れ（または欠如）、下肢切断、後続の心臓血管事象及び早すぎる死亡などのより悪い結果に関連するため重要である。糖尿病患者のPADの診断は、重度の組織喪失がある時でさえ、跛行または安静時疼痛などの典型的な症状が頻繁にないので、困難である。動脈石灰化、足の感染、浮腫、及び末梢神経障害は、多くの場合それぞれ、糖尿病足潰瘍を呈するが、PADの診断試験の性能に悪影響を与え得る（[http://www.iwgdf.org/files/2015/website\\_pad.pdf](http://www.iwgdf.org/files/2015/website_pad.pdf)）。

10

【0097】

糖尿病患者のプラスミノゲン活性が調査されており、糖尿病が障害血漿線維素網状組織の溶解の悪化に関連していたことが判明した。これは、血糖症を改善する際に部分的に正常化されている。糖尿病におけるプラスミノゲンの糖化は、プラスミンの生成を減少させ、かつタンパク質特異的活性を低減させることにより、線維素溶解に直接影響を及ぼすと結論付けられた（Ramzi A. and Gamlen T. Diabetes is associated with posttranslational modifications in plasminogen resulting in reduced plasmin generation and enzyme-specific activity. 2013 Blood (122) pp. 134-142）。本発明の補給プラスミノゲン療法は、それらの糖尿病患者の低線維素溶解状態を吸収するために使用され、全体的な臨床予後の改善をもたらすことができた。

20

【0098】

肝疾患（肝不全／劇症肝不全）及びバッドキアリ症候群：

血液凝固及び線維素溶解の異常は、劇症肝不全の主要な部分である。報告された研究では、線維素溶解系は、この状態を有する42人の患者において判定された（Pernambuco J. R. et al. Activation of the fibrinolytic system in patients with fulminant liver failure. 1993 Hepatology 18(6), pp. 1350-1356）。血漿プラスミノゲン活性の容認レベルは、低かった（正常の9.1%）。正常なレベルの組織プラスミノゲンアクチベーター活性が見出されたが、迅速インヒビターであるプラスミノゲンアクチベーターインヒビター1のレベルは、対照のものと比較して著しく増加し、これらの患者における線維素溶解の阻害へのシフトを示した。トロンビン-アンチトロンビン複合体のレベルの増加との相関する架橋線維素のフラグメントであるD-ダイマーの高い血漿中レベルも見出された。劇症肝不全において線維素溶解系の全体的な異常があると結論付けられたが、阻害活性が十分な量で存在するように見えるので、これにより、線維素溶解による出血の発生率が制限される。

30

40

【0099】

バッドキアリ症候群は、肝臓を排液させる肝静脈の閉塞に起因する肝疾患状態である。それは、腹痛、腹水、及び肝臓肥大の標準的な三徴を提示する。肝静脈内の血栓の形成は、バッドキアリ症候群をもたらす可能性がある。症候群は、劇症、急性、慢性、または無症状である可能性がある。

【0100】

血栓症は、発作性夜間血色素尿症患者の死亡の主要な危険因子であり、以前の症例報告は、発作性夜間血色素尿症患者の静脈血栓症（例えば；肝臓）は、血栓溶解の影響を受けやすいことを示している。

【0101】

50

バッドキアリ症候群の処置のために選択された患者では、低プラスミノーゲンレベルが t P A で刺激された線維素溶解活性を制限すると考えられる場合、t P A を静脈内注入及び新鮮凍結血漿 ( F F P ) として投与した ( Araten D . J . et al . 2012 Thrombolytic therapy is effective in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Haematologica 97 ( 3 ) , pp . 344 - 352 ) 。プラスミノーゲン活性レベルを厳重に監視することが推奨される。F F P は、特定の制限を有し、これらのうちの1つは、F F P 中の制限された量のプラスミノーゲン / m l 及び処置に不必要で有害さえあり得る他のいくつかのタンパク質の導入である。従って、バッドキアリ及び肝臓疾患患者は、本発明のプラスミノーゲン補給療法から恩恵を受けることができた。

10

#### 【 0 1 0 2 】

微小血管症性溶血性貧血 ( M A A H ) : 非定型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) :

非定型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) は、微小血管症性溶血性貧血、血小板減少症、及び急性腎不全をもたらす、細胞表面レベルでの補体の代替経路の制御されていない活性化により引き起こされる血栓性微小血管症である。影響を受けた患者のおよそ半数では、補体のレギュレーターにおける病変の機能喪失多様体または補体のエフェクターにおける機能獲得多様体が同定されて、a H U S における補体を明確に示す。しかし、この疾患へのさらなる遺伝的寄与の存在を裏付けている一連の強い証拠がある。新規 a H U S 関連遺伝子は、標的とされたゲノム富化及び大規模並列配列決定を使用して、散発性 a H U S を有する 36 人の患者における補体及び凝固経路の包括的なスクリーニングを完了させることにより同定されるように試みられる。凝固経路中のいくつかの遺伝子も、a H U S の病因において重要なものとして同定された。プラスミノーゲンは、特に、3つの既知のプラスミノーゲン欠損 1 型変異及び予測された病原性多様体を含む、他の任意の凝固遺伝子よりも多くの病原性多様体を保有していた。Bu F . ら ( Bu et al . Comprehensive genetic analysis of complement and coagulation genes in atypical hemolytic uremic syndrome . 2014 J . Am . Soc . Nephrol . ; 25 ( 1 ) , pp . 55 - 64 ) は、薬理学的可能性の中で、a H U S の発症のトリガーによるステージ 1 または開始剤が、研究で同定された種々の多様体に起因する低レベルのプラスミノーゲンであり得ることを想定している。従って、本発明のプラスミノーゲン補給療法は、この患者集団に有益であることができた。

20

30

#### 【 0 1 0 3 】

プラスミノーゲン補給療法 :

I 型プラスミノーゲン欠損症、II 型プラスミノーゲン欠損症、及び後天性プラスミノーゲン欠損症のいずれか 1 つを含むプラスミノーゲン欠損症に罹患している対象は、本発明の補給レジメンを利用することができる。対象が I 型プラスミノーゲン欠損を有する本発明の一実施形態によると、プラスミノーゲン欠損対象の低減したプラスミノーゲン活性は、正常なプラスミノーゲン活性の約 70 % 以下、約 60 % 以下、約 50 % 以下、約 40 % 以下、約 35 % 以下、または約 30 % 以下であってよい。一部の対象は、非常に低いレベルの血漿中プラスミノーゲン活性レベルを有し、これは、正常なプラスミノーゲン活性の 5 % 未満とすることができる。これらの症例では、状況は、生命を脅かすものになる可能性があり、プラスミノーゲン補給の必要性は、切迫している可能性がある。これらの症例では、高レベルのピークは許容される可能性があり、かつ / またはできるだけ迅速に血漿中のプラスミノーゲンを所望のレベルまで蓄積するように、高頻度の投与による補給を設計することができる。対象が II 型プラスミノーゲン欠損を有する本発明の別の実施形態によると、プラスミノーゲン欠損対象の低減したプラスミノーゲン活性は、正常なプラスミノーゲン活性の約 70 % 以下、約 60 % 以下、約 50 % 以下、約 40 % 以下、約 35 % 以下、または約 30 % 以下とすることができる。

40

#### 【 0 1 0 4 】

本発明の一実施形態によると、プラスミノーゲン欠損対象は、木質性結膜炎に罹患して

50

いる。木質性結膜炎は、眼、口、副鼻腔、皮膚、気管気管支樹、胃腸管、樹状気管支肺 (bronchopulmonary tree)、及び泌尿生殖路を含む粘膜表面上の木質性 (木質) 偽膜の形成に至る細胞外線維素溶解の顕著な悪化を特徴とする。プラスミノゲン欠損症は、中咽頭、呼吸器官、泌尿生殖器官、及び皮膚 (若年性膠様稗粒腫) にも影響を及ぼす可能性がある。粘膜表面上の木質性 (木質) 偽膜は、本明細書では、病変または『プラスミノゲン欠損関連病変』とも呼ばれる。プラスミノゲン欠損症は、先天性閉塞性水頭症とも関連する。

#### 【0105】

本発明の一態様では、増加したプラスミノゲン活性は、プラスミノゲン、より詳細には、Glu - プラスミノゲンの反復有効用量の投与により維持される。該反復用量は、1日2回以上、毎日、2日毎、3日毎、週2回、4日毎、5日毎、または毎週投与される。迅速に所望のレベルに到達し、次に、投与頻度を所望の割合に低減するために、蓄積期間中に、高頻度の投与を選択することは、望ましいことがある。別の実施形態では、投与頻度は、一部の臨床的利益が達成される場合に、一定期間後に減少させてもよい。あるいは、別の実施形態では、投与頻度は、一部の臨床的利益が達成されない場合に、一定期間後に増加させてもよい。別の実施形態では、投与の頻度は、補給期間全体、すなわち、蓄積期間及び定常状態の間、同じままであってよい。

#### 【0106】

本発明の一実施形態では、プラスミノゲンは、次の投与経路：静脈内、腹腔内、皮下、経鼻、経肺、または経直腸のうちの1つにより投与され、皮下投与は、持続放出送達、連続送達、または複数回送達に適している。一実施形態では、プラスミノゲンは、静脈内投与される。別の実施形態では、皮下投与は、持続放出製剤を含有するインプラントまたは連続注射若しくは複数回注射用のポンプを用いて実施される。さらなる実施形態では、プラスミノゲンは、プラスミノゲン活性レベルの所望の増加が達成及び維持されるように、皮下にかつ連続する仕方で投与される。例えば、連続的な皮下注入は、本発明による所望のプラスミノゲン活性レベルを増加させ、かつ維持するために、使用することができる。

#### 【0107】

一実施形態によると、プラスミノゲンは、好ましくは、プラスミノゲン欠損対象の質量の少なくとも約0.5 mg/kg、少なくとも約1 mg/kg、少なくとも約1.5 mg/kg、または少なくとも約2 mg/kgの用量で毎日投与される。別の実施形態によると、プラスミノゲンは、好ましくは、プラスミノゲン欠損対象の質量の少なくとも約1.5 mg/kg、少なくとも約2 mg/kg、少なくとも約2.5 mg/kg、少なくとも約3 mg/kg、少なくとも約4 mg/kg、少なくとも約5 mg/kg、または少なくとも約6 mg/kgの用量で1日おきに投与される。さらなる実施形態によると、プラスミノゲンは、好ましくは、プラスミノゲン欠損対象の質量の少なくとも約2 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg、5 mg/kg、6 mg/kg、7 mg/kg、8 mg/kg、9 mg/kg、または10 mg/kgの用量で、週2回、2日毎、3日毎、4日毎、5日毎、または毎週投与される。さらに別の実施形態によると、プラスミノゲンは、好ましくは、プラスミノゲン欠損対象の質量の少なくとも約45 mg/kgの用量で毎週投与される。別のさらなる実施形態によると、プラスミノゲンは、約1.5 mg/kg ~ 約12 mg/kgの用量で、かつ1日1回 ~ 週1回の頻度で投与される。

#### 【0108】

本発明は、プラスミノゲン、より詳細には、ヒトGlu - プラスミノゲンの使用に関し、これは、正常な非プラスミノゲン欠損対象において約2.2日の半減期を有することが知られている。Glu - プラスミノゲン組成物は、好ましくは、約70%を超える、約80%を超える、約90%を超える、または約95%を超える純度である高度に精製されたGlu - プラスミノゲンを含む。プラスミノゲンは、組換えにより産生し、または血漿からの精製により調製することができる。本明細書に記載の研究で使用されるプラスミノゲンは、PCT国際公開特許WO2006/120423に記載の方法によ

10

20

30

40

50

り調製された。

【0109】

本発明の一実施形態では、プラスミノーゲンは、放射性標識されていない。本発明の一実施形態では、プラスミノーゲンは、さらなるタンパク質を含まないかまたは実質的に含まない医薬組成物に含まれる。本発明の一実施形態では、プラスミノーゲンは、アルブミンを含まないかまたは実質的に含まない医薬組成物に含まれる。本発明の一実施形態では、プラスミノーゲンは、アプロチニンを含まないかまたは実質的に含まない医薬組成物に含まれる。本発明の一実施形態では、プラスミノーゲンは、トリプシンインヒビターを実質的に含まない医薬組成物に含まれる。本発明の一実施形態では、プラスミノーゲンは、セリンプロテアーゼインヒビターを含まないかまたは実質的に含まない医薬組成物に含まれる。本発明の一実施形態では、プラスミノーゲンは、プラスミンを含まないかまたは実質的に含まない医薬組成物に含まれる。本発明の一実施形態では、プラスミノーゲンは、サーファクタントを含まないかまたは実質的に含まない、例えば、0.01 mM未満のサーファクタントの濃度の医薬組成物に含まれる。

10

【0110】

本発明の一実施形態では、プラスミノーゲンは、約70%以上、約80%以上、約85%以上、約90%以上、約95%以上、及び約98%以上の純度を有する医薬組成物に含まれる。本発明の別の実施形態では、プラスミノーゲンは、プラスミノーゲン以外のタンパク質の総量が、約30%未満、約20%未満、約15%未満、約10%未満、約5%未満、または約2%未満である医薬組成物に含まれる。

20

【0111】

本発明によると、『補給期間』は、変動し得る。一実施形態では、補給期間は、少なくとも48、72、96、120、または144時間である。別の実施形態では、補給期間は、生存期間である。さらなる実施形態では、補給期間は、所望の臨床的利点が得られた時に停止する。任意に、さらなる臨床的利点が必要になると、別の補給期間が開始される。本発明によると、『補給期間』は、施術者により変動し、確立され得る。

【0112】

本開示では、プラスミノーゲン活性は、測定されたままで報告されるか、またはベースラインで調整された仕方で報告されるかのいずれかである。ベースライン調整されたプラスミノーゲン活性は、測定されたプラスミノーゲン活性からプラスミノーゲン補給が開始される前のプラスミノーゲン活性の値を引いた値である。プラスミノーゲン補給が開始する前のプラスミノーゲン活性は、0日目のまたは最初のプラスミノーゲン投与前のプラスミノーゲン活性である基礎プラスミノーゲン活性と呼ぶことができる。従って、ベースライン調整されたプラスミノーゲン活性は、Glu - プラスミノーゲン投与に起因するプラスミノーゲン活性の増加のみを示す。

30

【0113】

一部の実施形態では、プラスミノーゲン量は、ELISA、比濁法、または放射免疫拡散法でプラスミノーゲン抗原を測定することにより計算される。

【0114】

本発明のプラスミノーゲン補給により生じるプラスミノーゲン活性の有効性は、上記のような臨床観察結果により示すことができ、D - ダイマーのレベルによっても示すことができる。D - ダイマーは、線維素を分解するプラスミノーゲンの活性に起因する線維素分解フラグメントである。増加したD - 二量体レベルは、i) 病変の存在及びii) 投与されたプラスミノーゲンの線維素溶解有効性を表す。

40

【0115】

一実施形態では、上記方法は、該対象がプラスミノーゲン欠損であるかどうか判定するために対象由来の試料のプラスミノーゲン活性を測定すること、及び、対象がプラスミノーゲン欠損である場合、プラスミノーゲン補給の方法を実施すること、または該対象の本明細書に記載のプラスミノーゲン欠損症を処置することを含む。

【実施例】

50



## 【0116】

次の実施例は、本発明の実施をさらに説明するが、それらを限定することを意図するものではない。

## 【0117】

実施例1：Glu - プラスミノージェン製剤

Glu - プラスミノージェンは、FDA/EMAが認可したUS plasma collection centersから供給されたプールされたヒト血漿から高度（95%を超える純度）に精製される。プラスミノージェンモノマーは、95%より多く存在する。Glu - プラスミノージェンを、以前にPCT国際公開特許WO2006/120423号に記載されているように調製した。

10

## 【0118】

ヒトプラスミノージェンは、1バイアル当たり約75ミリグラムの凍結乾燥プラスミノージェンからなる。注入前に、バイアル中の凍結乾燥粉末を、静脈内注射のために12.5mLの水で再構成する。最終組成物は、許容されるタンパク質安定性、イオン強度、及びpHを提供するために、クエン酸ナトリウム、塩化ナトリウム、グリシン、及びスクロースを含有する。

## 【0119】

実施例2a：Pg欠損ヒト対象におけるGlu - プラスミノージェンの単回用量（2mg/kg）及びPK

本明細書に記載の研究は、I型プラスミノージェン欠損ヒト患者におけるヒトGlu - プラスミノージェンの最初の研究である。この試験は、低プラスミノージェン血症と診断された患者における第1相無作為化非盲検単回投与試験である。3人のヒト成人及び2人の青年は、静脈内（IV）注入により2mg/kgのGlu - プラスミノージェンの単回用量を投与されている。注入時間は、10分であった。

20

## 【0120】

プラスミノージェンPKプロファイルを描くために、プラスミノージェン活性及び抗原レベルを測定した。これらの血液試料を次の時点：スクリーニング（受診1回目、-19日目）；投与直前のベースライン（受診2回目、0日目）；注入の完了の5～15分後、1時間後、6時間後（1日目）、24時間後（受診3回目、2日目）、48時間後（受診4回目、3日目）、72時間後（受診5回目、4日目）、96時間後（受診6回目、5日目）、120時間後（受診7回目、6日目）、168時間後（受診8回目、8日目）、及び216時間後（受診9回目、10日目）で試験した。対象は、有害事象の収集、免疫原性試験、日常の安全性試験及び手順、及び最終的なウイルス安全性試験のために、受診11回目（31日目、経過観察の安全確認の受診）での投与の30日後に再来している。有害事象は報告されていない。

30

## 【0121】

全対象のプラスミノージェン抗原レベル及びプラスミノージェン活性レベルは、スクリーニング（-19日目）及び注入前（0日目）に測定され、表1で報告される。注入前に測定されたプラスミノージェン活性レベルを使用して、薬物動態プロファイルのベースラインを決定する。プラスミノージェン活性を、健康な対象のプールされた血漿からのプラスミノージェン活性レベルに対する活性の百分率として計算した。Cell Sciences（登録商標）のHuman Plasminogen Total Antigen Assay ELISA Kitキットを使用して、プラスミノージェン抗原をELISAアッセイで測定した。同じ対象で-19日目及び0日目で観察されたプラスミノージェン活性の変動性により明らかのように、一部の対象が比較的安定したままである対象内の内因性プラスミノージェン活性レベルの変動があり得ることを認めることができる（表1）。

40

【表 1】

表1:	プラスミノーゲン抗原レベル (mg/dL)		プラスミノーゲン活性レベル (%)	
	スクリーニン グ	ベースライン	スクリーニン グ	ベースライン
対象1	2	3	35	31
対象2	3	5	37	36
対象3	4	5	33	36
対象4	4	8	39	38
対象5	9	15	29	32

10

## 【 0 1 2 2 】

プラスミノーゲン注入の後、ベースライン調整プラスミノーゲン活性レベルを得るために、ベースライン値を差し引くことにより、各対象のプラスミノーゲン活性レベルをそれら自体のベースライン値（0日目）で調整した。48時間の間の各対象（細線）についての該ベースライン調整プラスミノーゲン活性レベルを、各時間点の平均値（白抜きの円）及びPharsight CorporationのアプリケーションPhoenix（登録商標）WinNonlin（バージョン6.4）で計算した予測薬物動態曲線と共に図5に示す。アプリケーションPhoenix（登録商標）WinNonlinは、試験対象及び実験パラメータの平均値を使用して、化合物のPKを予測するための1つ以上の式及び関連曲線を生成する。平均値と完全に対応するPKモデルを選択し、図5に示した（太線）。観察された平均値により、2mg/kgのGlu-プラスミノーゲンの投与が、48時間の間、正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも10%（ベースラインに対して）増加した平均プラスミノーゲン活性レベルをもたらすことが確認される。

20

## 【 0 1 2 3 】

実施例2b：Pg欠損ヒト対象におけるGlu-プラスミノーゲンの単回用量（2mg/kg）及び有効性

30

実施例2aに記載の第1相試験のうち、対象2は、右目の眼瞼に木質性結膜炎を有していた。0日目（注入前）及び1日目の病変の写真を、それぞれ、図7A及び7Bに示す。木質性結膜炎により引き起こされるこぶは、プラスミノーゲン注入の24時間後に吸収されていることが認められた。木質性結膜炎回帰の1症例は統計学的に有意ではないが、それにもかかわらず、この観察結果は、有望であり、現在のGlu-プラスミノーゲン補充療法の臨床効果の証拠を提供する。

## 【 0 1 2 4 】

プラスミノーゲン投与の5～15分後から2日目までの、対象2のベースライン調整プラスミノーゲン活性レベルは、図7Cで報告する。2mg/kgの静脈内投与は、少なくとも2日間、プラスミノーゲン活性を、その初期レベルより上に上昇させることに成功していることを認めることができる。図5に基づいて、1日当たりまたは2日毎に、プラスミノーゲン欠損対象の質量の約2mg/kgの用量を投与することは、対象プラスミノーゲン活性レベルを、正常なプラスミノーゲン活性の約10%増加させるのに十分であると結論付けることができ、それ故、それを、正常なプラスミノーゲン活性の5%または1%増加させることも十分であろう。

40

## 【 0 1 2 5 】

実施例3：実施例2の単回投与の結果に基づく反復投与のモデル化

アプリケーションPhoenix（登録商標）WinNonlin（実施例2aを参照のこと）で決定された式に基づいて、任意の用量のプラスミノーゲン欠損対象におけるGlu-プラスミノーゲンの排泄の曲線（またはPKプロファイル）を予測することが可能

50

である。96時間にわたる2、6、及び12mg/kgの単回用量の投与に対する予測曲線を図6で報告する。

#### 【0126】

この式に基づいて、異なる投与頻度：毎日、2日毎、週2回、及び週1回での反復用量について、予測が実施されている。この式を使用して、用量及び頻度の種々の組み合わせが評価されている。図8A及び8Bは、それぞれ、2mg/kg及び0.5mg/kgの用量を毎日投与する場合のベースライン調整プラスミノゲン活性を表す。図9A及び9Bは、それぞれ、2mg/kg及び1.5mg/kgの用量を1日おきに投与する場合のベースライン調整プラスミノゲン活性を表す。図10A、10B、及び10Cは、2mg/kg、6mg/kg、及び12mg/kgの用量を週2回投与する場合のベースライン調整プラスミノゲン活性を表す。図11A及び11Bは、それぞれ、12mg/kg及び45mg/kgの用量を毎週投与する場合のベースライン調整プラスミノゲン活性を表す。これらの投与頻度及び用量のそれぞれに対して、定常状態の間のトラフ及びピークのレベルに対応するプラスミノゲン活性のレベルを表2で報告する。

#### 【表2】

表2

頻度 用量	毎日		1日おき		週2回		毎週	
	ピーク	トラフ	ピーク	トラフ	ピーク	トラフ	ピーク	トラフ
0.5mg/kg	19	10	-	-	-	-	-	-
1.5mg/kg	-	-	39	10	-	-	-	-
2mg/kg	78	40	52	14	41	3	-	-
6mg/kg	-	-	-	-	123	10	115	1.4
12mg/kg	-	-	-	-	247	20	229	2.8
45mg/kg	-	-	-	-	-	-	859	10

#### 【0127】

これらの予測では、プラスミノゲン活性のレベル（定常状態でのトラフレベル）をベースラインを超える正常なプラスミノゲン活性の少なくとも1%または少なくとも10%上昇させるのに必要な最小用量を決定することが可能であった。ベースラインは、処置前の対象自身のプラスミノゲン活性を表す。表2は、正常なプラスミノゲン活性の少なくとも1%の増加及び正常なプラスミノゲン活性の少なくとも10%の増加をもたらす用量及び頻度の組み合わせを決定するために有用である。トラフプラスミノゲン活性レベルを正常なプラスミノゲン活性の最低限、少なくとも10%上昇させるのに必要な最小用量は、毎日の投与で約0.5mg/kg、1日おきの投与で約1.5mg/kg、1日おきの投与で約2.0mg/kg、週2回の投与で約6mg/kg、及び毎週の投与で約45mg/kgであることが判明している。トラフプラスミノゲン活性レベルを正常なプラスミノゲン活性の最低限、少なくとも1%上昇させるのに必要な最小用量は、週2回の投与で約2mg/kg、及び毎週の投与で約12mg/kgであることが判明している。明らかに、他の用量及び頻度の組み合わせを、この式により評価することができるが、表2で報告されている組み合わせにより、プラスミノゲン活性レベルを最低限、少なくとも1%、5%、または10%上昇させる組み合わせの範囲がよく理解される。

#### 【0128】

表2は、用量及び頻度の各組み合わせから生じる対象の血漿（定常状態でのピークレベ

ル)に達することができる最大プラスミノゲン活性レベルに関する情報も提供する。反復投与の目標は、所望のレベルを超える(初期レベルを1%、5%、または10%超える)プラスミノゲン活性の維持を可能にする用量及び頻度の最良の組み合わせを見つけ、望ましくない高いピーク値に達することを回避し、かつ対象の服薬遵守に都合のよい投与頻度を得ることである。本症例では、副作用が、試験されている用量及び頻度の組み合わせで観察されていないので、臨床試験において、望ましくない高いピークレベルにまだ達していない。

#### 【0129】

実施例4：Pg欠損ヒト新生児におけるGlu-プラスミノゲンの反復用量

トルコ系男性は、典型的な木質性結膜炎を呈した後に、4週齢で、先天性低プラスミノゲン血症と診断された。血清プラスミノゲン活性レベルは、2%にはるか及ばず、診断は、PLGにおける新規ホモ接合スプライス部位変異(1587+1G>A)を示す遺伝子検査により確定された。

#### 【0130】

2ヶ月齢で、対象は、5日間の換気補助及び1ヶ月間の入院が必要である重篤な呼吸器合胞体ウイルス(RSV)感染を患った。この時から、対象は、再発性呼吸器障害を有していた。4ヶ月齢から、対象を新鮮凍結血漿(FFP)20mL/kg/週で処置した。18ヶ月齢で、対象は、左主気管支及び右主気管支の双方において外方増殖性病変を有することが判明した。対象は、非侵襲的酸素吹送法にตอบสนองするチアノーゼを伴う急性重症呼吸困難の1つのインシデントを有していた。続いて、対象は、FFPが覆った気管支病変のレーザー除去を伴う気管支鏡検査を繰り返した。20ヶ月齢で、気管支鏡検査の準備中に、対象は、急性チアノーゼ及び収縮不全を含む心停止のエピソードを有しており、30分後に蘇生された。胸部X線写真は、左肺及び右下葉の無気肺を示した(図12を参照のこと)。対象は、ICUに入れられ、換気補助及び循環補助の双方を必要とした。気管支鏡検査は、粘性分泌物(図13Aを参照のこと)及び気管内の閉塞性病変(図13Bを参照のこと)を示している。大量の粘性肺分泌物を吸引した。心停止事象の6日後に、対象に、4mg/kgのGlu-プラスミノゲンの第1の用量、6mg/kgの第2の用量、及び6.5mg/kgの後続の用量を投与した。各用量は、48時間毎に投与される。最初の144時間の間の、%で表したプラスミノゲン活性測定値を図14に示す。Glu-プラスミノゲンの初回投与前の対象のベースラインプラスミノゲン活性は、21%であったことを認めることができ、これはおそらく以前のFFP療法によるものである。Glu-プラスミノゲン補給後、膜の漸進的溶解及び一部点状出血を伴う外方増殖性病変が認められ、酸素要求量の減少と関連していた。木質眼病変の改善も観察された。Glu-プラスミノゲン処置の4日後、対象から抜管したが、排気のために36時間後に再挿管を必要とした。Glu-プラスミノゲンの最初の用量を投与された1週間後、対象から再度抜管し、次に、対象は、正常に呼吸することができた。プラスミノゲン補充は、1日おきに6.5mg/kgのレジメンで継続されている。膜の漸進的溶解があり、Glu-プラスミノゲン処置の6週間後に見られた病変が大幅に低減した。この重篤な影響を受けた患者におけるGlu-プラスミノゲン補給は、非常に有効であった。プラスミノゲン欠損状態により引き起こされる全ての症状は、消失したか、または有意に低減したかのいずれかである。有意な副作用は、観察されなかった。対象におけるGlu-プラスミノゲン補給の有効性は、観察された臨床的利点により示されている。

#### 【0131】

補給されたGlu-プラスミノゲンが線維素を効率的に分解しており、それ故、プラスミノゲン欠損関連状態を積極的に処置していたことを示すために、D-ダイマーにおける含有量が測定されている。図15は、D-ダイマーのプロファイル及び該対象におけるプラスミノゲン補給から最初の144時間の間のプラスミノゲン活性レベルのプロファイルを重ね合わせる。図15は、D-ダイマーのピークがプラスミノゲン活性のピークと共に強まることを示す。これにより、補給されたGlu-プラスミノゲンが対象中で活性であったことが確認される。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 3 2 】

実施例 5 : P g 欠損ヒト対象における G l u - プラスミノージェンの単回用量 ( 6 m g / k g ) 及び P K

実施例 2 a に記載の第 1 相試験は、14 歳から 38 歳の範囲に及ぶ 7 人のヒト対象を含有するコホート番号 2 における G l u - プラスミノージェンの 6 m g / k g の単回用量の静脈内投与に伴い追跡されている。それらのプラスミノージェン活性ベースラインを表 3 で報告する。

【表 3】

表3		
コホート	対象ID	プラスミノージェン活性 (%)
2	01-001-2	30
	01-002-2	52
	01-003-2 (小児)	32
	01-005-2 (小児)	37
	01-006-2	33
	01-007-2	19
	01-008-2	4

10

20

## 【 0 1 3 3 】

120 時間の間の各対象 ( 細線 ) のベースライン調整プラスミノージェン活性レベルを、各時点での平均値 ( 白抜き円 ) 及び得られる平均曲線 ( 太線 ) と共に図 16 に示す。観察された平均値により、6 m g / k g の G l u - プラスミノージェンの投与が、96 時間の間、正常なプラスミノージェン活性の少なくとも 10 % ( ベースラインに対して ) 増加した平均プラスミノージェン活性レベルをもたらすことが確認される。平均値から得られた曲線は、アプリケーション P h o e n i x ( 登録商標 ) W i n N o n l i n で決定された数式により確立された数式のパターンに従い ( 実施例 2 a ) 、これにより、該式がプラスミノージェン欠損ヒトにおける G l u - プラスミノージェンの P K プロファイルを適切に表すことが確認される。

30

## 【 0 1 3 4 】

個々の終末半減期は、決定されており、それは、コホート 1 では 14 . 5 時間 ~ 53 . 3 時間 ( 2 m g / k g ) 、及びコホート 2 では 17 . 2 時間 ~ 50 . 0 時間 ( 6 m g / k g ) の範囲に及ぶ。大きな対象間変動が観察されたが、非線形動態の徴候はなかった。全ての対象に対し、データは示されていない。平均終末半減期は、2 m g / k g 用量 ( 35 . 6 ± 17 . 6 時間 ) から 6 m g / k g 用量 ( 35 . 7 ± 12 . 3 時間 ) まで比較的一定であることが判明している。

## 【 0 1 3 5 】

実施例 6 : P g 欠損ヒト対象における G l u - プラスミノージェンの反復用量 ( 6 m g / k g ) 及び P K

40

重要な第 2 相 / 第 3 相試験では、6 m g / k g の G l u - プラスミノージェンの用量を、i ) 2 日毎若しくは 1 日おき ( q o d ) または i i ) 3 日毎 ( q 3 d ) のいずれかの頻度で、9 人のプラスミノージェン欠損ヒト対象のコホートにおいて反復投与した。それらのプラスミノージェン活性ベースラインを表 4 で報告する。

【表 4】

表 4

患者	頻度	ベースライン値(%)
01-001	q3d	29
01-002	qod	43
01-006	q3d	28
01-007	q3d	22
01-008	qod	<5
01-009	q3d	42
01-010	q3d	28
01-011	q3d	34
01-012	q3d	38

10

## 【 0 1 3 6 】

毎週または2週毎に、プラスミノーゲン活性を、後続の用量の投与前に監視した。用量注入の前の該プラスミノーゲン活性は、対象における血漿中プラスミノーゲン活性プロファイルのトラフレベルを表す。対象01-001、01-002、01-006、01-007、01-008、01-009、及び01-010のトラフレベルは、それぞれ、図17、18、19、20、21、22、及び23で示された分離されたグラフで報告される。点線は、それぞれの対象のベースライン値及び正常なプラスミノーゲン活性の10%を表す。これは、得られる増加を正常なプラスミノーゲン活性の10%の増加と容易に比較するために、各グラフに示されている。

20

## 【 0 1 3 7 】

全ての対象では、トラフレベルを、Glu-プラスミノーゲン補給から最初の1週間後(2週目と同一視される)に、正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも10%上昇させた。対象01-001は、2週目ではなく、3週目に監視され始めている。

30

## 【 0 1 3 8 】

全対象(対象01-001を除く)では、トラフレベルは、監視されたGlu-プラスミノーゲン補給の全期間にわたって正常なプラスミノーゲン活性の10%を超えて維持した。対象01-001では、トラフレベルは、10週目に30%まで低下し、これは、自体のベースライン値より1%上を表し、次の監視された週(12週目)に戻った。8週目及び10週目の間に、この対象の処置が中止されており、これは、おそらく、プラスミノーゲン活性レベルが低下して、補給が再開された後に戻った理由である。それ故、3日毎(q3d)の6mg/kgのGlu-プラスミノーゲン補給は、プラスミノーゲン活性を、補給期間にわたって正常なプラスミノーゲン活性に少なくとも1%、より詳細には、補給期間にわたって正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも10%首尾よく上昇させて、維持している。

40

## 【 0 1 3 9 】

さらに、2日毎(qod)の6mg/kgのGlu-プラスミノーゲン補給はまた、プラスミノーゲン活性を、補給期間にわたって正常なプラスミノーゲン活性に少なくとも1%、より詳細には、補給期間にわたって正常なプラスミノーゲン活性の少なくとも10%首尾よく上昇させて、維持している。

## 【 0 1 4 0 】

本明細書に記載されているように、蓄積期間は一般に、対象の血漿中の化合物の半減期の3~5倍まで持続する。第1相試験のプラスミノーゲン欠損対象では、Glu-プラスミノーゲンの半減期は、約35.7時間または1.5日であると決定されている(実施例

50

5を参照のこと)。従って、決定された半減期に基づいて、蓄積期間は、107時間(4.5日)～179時間(7.4日)かかるであろう。定常状態は、補給期間の開始の約1週間後に開始することが、図17、18、19、20、21、22、及び23で観察することができる。これは、プラスミノーゲン欠損対象におけるGlu-プラスミノーゲンの半減期と共に強まり、これは、本明細書で決定されている。さらに加えて、図4で説明されたような理論とはわずかに異なる観察されたトラフレベル曲線をもたらす多くの要因のために、時々、個々の対象におけるプラスミノーゲンの消費の変動性がある。平均値により、観察結果が理論に近づけられる(示さず)。

#### 【0141】

実施例7：Pg欠損ヒト対象におけるGlu-プラスミノーゲンの反復用量量(6mg/kg)及び有効性

本発明のGlu-プラスミノーゲン補給の1つの目標は、少なくとも1つのプラスミノーゲン欠損関連症状を低減及び/または処置するのに有効なGlu-プラスミノーゲン補給を提供することである。第2相の対象を、0日目、4週目、8週目、及び/または12週目の、それらの目に見える病変(表5)、全体的改善(表6)、及び生活の質(表6)について監視した。

#### 【表5】

表5

対象	受診	目に見える病変	病変の全数	病変の場所	測定可能
01-001	0日目	はい	2	左眼	10×2mm
		はい	2	右眼	10×2mm
	4週目	いいえ	0	---	---
01-002	0日目	はい	1	左眼	15×5mm
	4週目	いいえ	0	---	---
01-006	0日目	はい	1	上歯肉	いいえ
	4週目	いいえ	0	---	---
	8週目	いいえ	0	---	---
01-007	0日目	いいえ	---	---	---
	4週目	いいえ	---	---	---
01-008	0日目	はい	7	左眼	いいえ
		はい	7	下歯肉	いいえ
		はい	7	右眼	いいえ
		はい	7	上歯肉	いいえ
	4週目	いいえ	0	---	---
	8週目	いいえ	0	---	---
	12週目	いいえ	0	---	---
01-009	-4日目	いいえ	---	---	---
	4週目	いいえ	---	---	---
01-010	-4日目	はい	2	右眼、下瞼	10×5mm
		はい	2	右眼、上瞼	15×5mm
	4週目	はい	2	右眼、下瞼	1×1mm
		はい	2	右眼、上瞼	5×2mm

#### 【0142】

目に見える病変の監視から、一部の病変が、例えば、対象01-010において低減しており、または例えば、対象01-001、01-002、01-006、及び01-008において4週目に完全に除去されており、または対象01-009では生じていないと認めることができ、これらは、0日目に目に見える病変がなかった。それ故、本発明のGlu-プラスミノーゲン補給は、プラスミノーゲン欠損対象において、病変を低減させ、病変を処置し、または病変を予防する。

【表 6】

対象	受診	CGI-I スコア	生活の質度
01-001	0 日目 4 週目	0-評価なし 1-非常に改善	10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動 10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動
01-002	0 日目 4 週目	0-評価なし 1-非常に改善	10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動 10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動
01-006	0 日目 4 週目 8 週目	0-評価なし 1-非常に改善 1-非常に改善	7-毎回数時間、仕事をする/1日に少なくとも5時間活動的である 9-毎日8時間仕事をする/家族生活に参加する 9-毎日8時間仕事をする/家族生活に参加する
01-007	0 日目 4 週目	0-評価なし 4-変化なし	10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動 10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動
01-008	0 日目 4 週目 8 週目 12 週目	4-変化なし 1-非常に改善 1-非常に改善 1-非常に改善	7-毎回数時間仕事をする/1日に少なくとも5時間活動的である 9-毎日8時間仕事をする/家族生活に参加する 10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動 10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動
01-009	-4 日目 4 週目	0-評価なし 2-大幅に改善	10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動 10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動
01-010	-4 日目 4 週目	0-評価なし 1-非常に改善	10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動 10-毎日仕事をする/通常の毎日の活動

表 6

【 0 1 4 3 】

図 2 4 に詳述されている質問及び回答を使用して、全体的な改善を評価した。

【 0 1 4 4 】

表 6 では、ほとんどの対象が、4 週目で臨床全般印象の大きな改善を経験していることを認めることができ、これは、依然として、監視期間の全期間にわたって改善されている。より詳細には、CGI スコアは、変化していない対象 0 1 - 0 0 7 を除いて、『非常に改善』または『大幅に改善』のいずれかであった。それ故、プラスミノージェンの補給は、

10

20

30

40

50



悪化した臨床全般印象を改善するのに成功している。

【0145】

あらゆる患者の生活の質の評価に一般に使用される、American Chronic Pain Associationにより開発された尺度を使用することにより、生活の質を評価した。生活の質度は、図25に詳述されている。

【0146】

表6では、まだ毎日仕事に行っていないか、または通常の毎日の活動を有していた人々（スコア10）の生活の質は、4週目に改善しており、かつそれらのうちの1人の場合、生活の質は、8週目に改善を続けていることを認めることができる。0日目のスコアが10である対象の場合、対象は、監視期間中、良好な生活の質を維持している。それ故、Glu-プラスミノーゲン補給が悪化した生活の質または10未満の生活の質スコアを有する対象の生活の質を改善することを結論付けることができる。

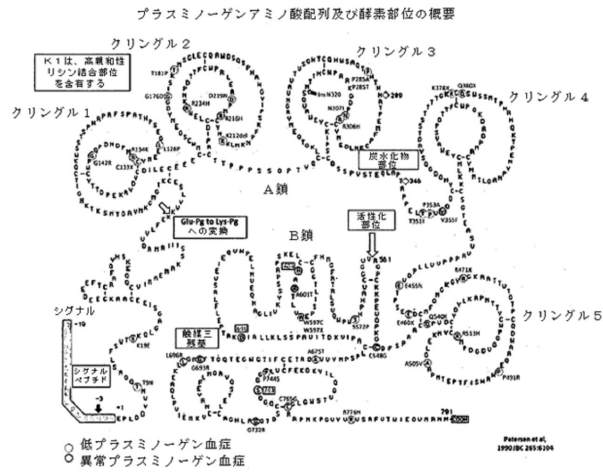
10

【0147】

見出しは、参照のために、かつ特定のセクションの場所を見つけるのを支援するために、本明細書に含まれる。これらの見出しは、本明細書に記載の概念の範囲を限定するものではなく、これらの概念は、明細書全体を通して、他のセクションに適用可能であり得る。従って、本発明は、本明細書に示されている実施形態に限定するものではないが、本明細書に開示の原理及び新規な特徴と一致する最も広い範囲が許されるべきである。単数形「a」、「an」、及び「the」は、文脈に別途明示のない限り、対応する複数指示物を含む。別途表記のない限り、本明細書及び特許請求の範囲で使用される成分の量、反応条件、濃度、特性などを表す全ての数字は、全ての場合で「約」という用語により修飾されるものとして理解されるべきである。控えめに言っても、各数値パラメータは少なくとも、報告された有効数字の数に照らして、かつ通常の丸め手法を適用することにより解釈されるべきである。従って、反対の指示がない限り、本明細書及び添付の特許請求の範囲に記載の数値パラメータは、得ようとする特性に応じて変動し得る近似値である。広範囲の実施形態を示す数値範囲及びパラメータが近似値であるにも関わらず、具体的な実施例に示される数値は可能な限り正確に報告される。しかし、任意の数値は本質的に、実験、試験測定、統計分析などの変動に起因する特定の誤差を含有する。

20

【図 1】



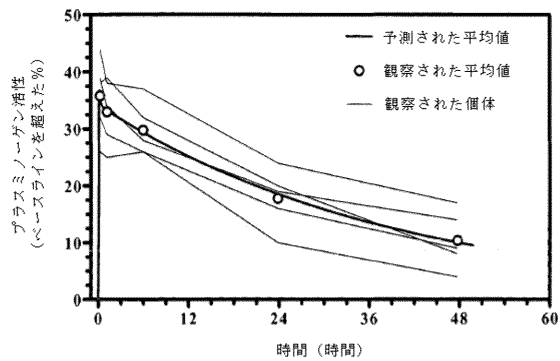
【図 2】

両眼の木質性結膜炎の例



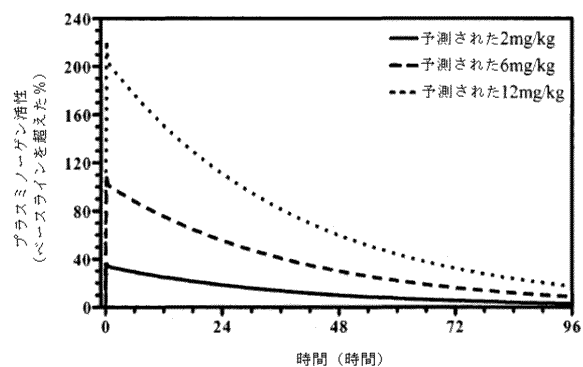
【図 5】

5人の患者における2 mg/kgのGlu-プラスミノゲンの単回投与及び薬物動態学的な数式の決定



【図 6】

2、6、及び12 mg/kgに対する予測された薬物動態学プロファイル



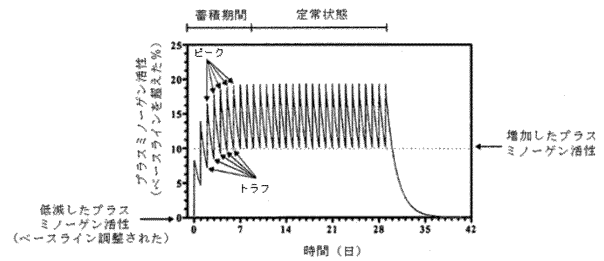
【図 3】

偽膜により覆われた結節状拡大伴う汎発性骨肉増殖症の例



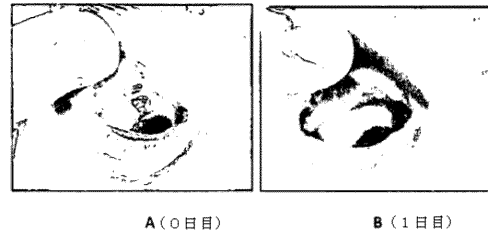
【図 4】

反復投与との関係で本明細書に使用された用語を示す概要

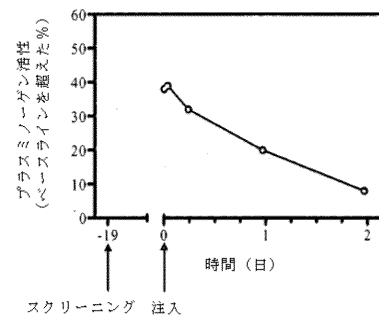


【図 7】

事前(0日目)及び2 mg/kgのGlu-プラスミノゲンの単回用量を投与された1日後(1日目)の対象2の右眼瞼の写真

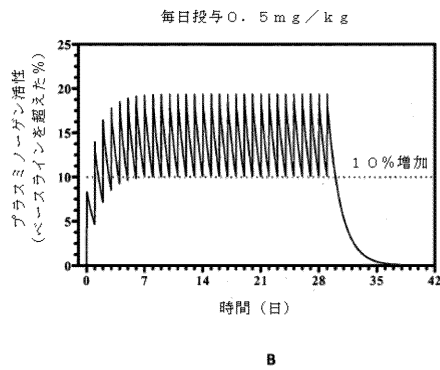
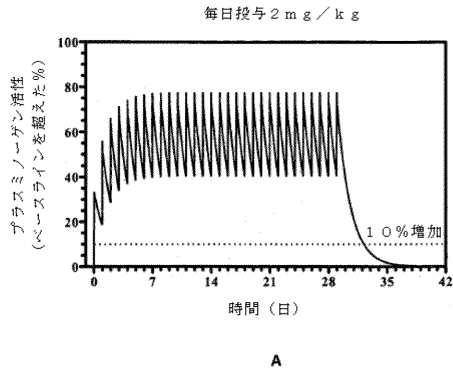


2 mg/kgのGlu-プラスミノゲンの単回用量を投与された後の対象2の血漿中プラスミノゲン活性

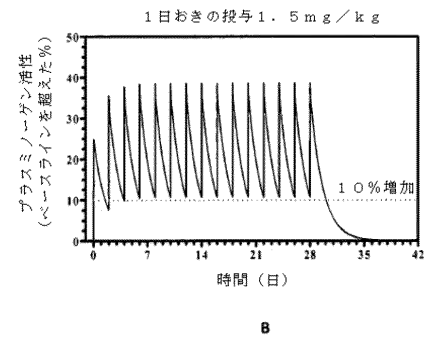
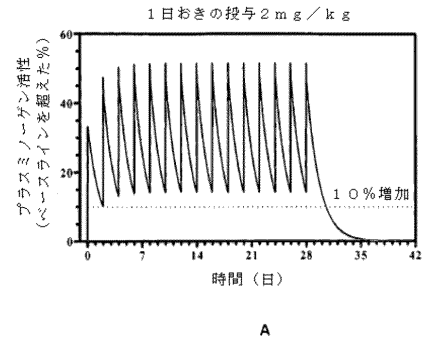


C

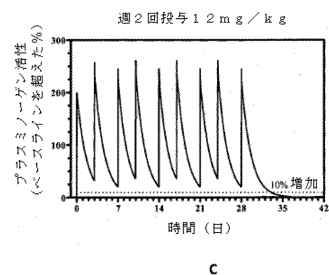
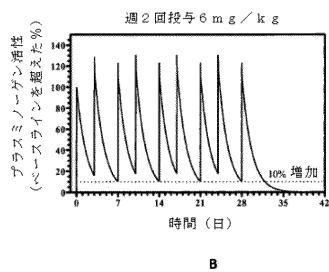
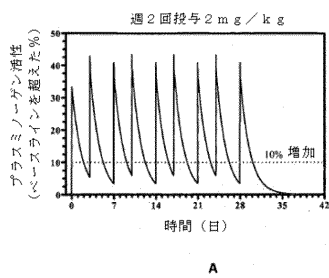
【図 8】



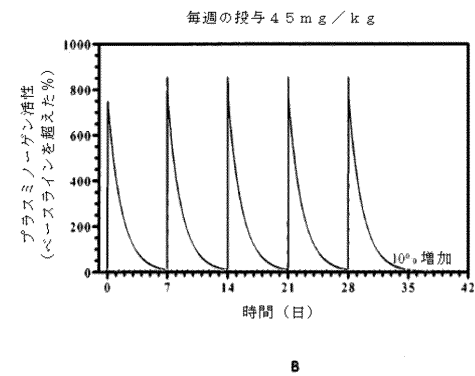
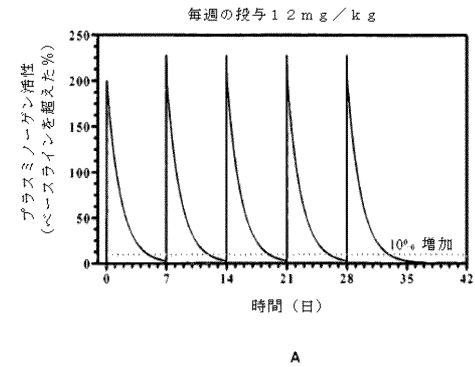
【図 9】



【図 10】



【図 11】



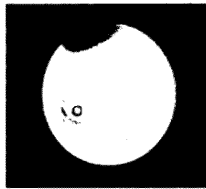
【図 12】

G1u-プラスミノゲン補充を受ける前の実施例4の対象の  
気道閉塞に起因する左肺の無気肺全体を示す胸部X線写真



【図 13】

粘性分泌物（図 13 A）及び気管の閉塞性病変（図 13 B）  
を示す実施例4の気管対象の気管支鏡写真



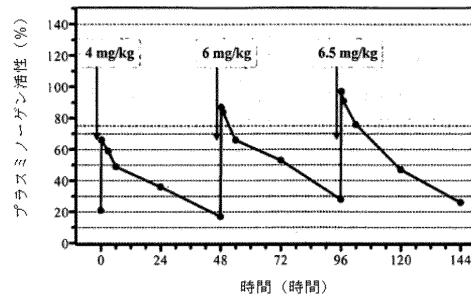
A



B

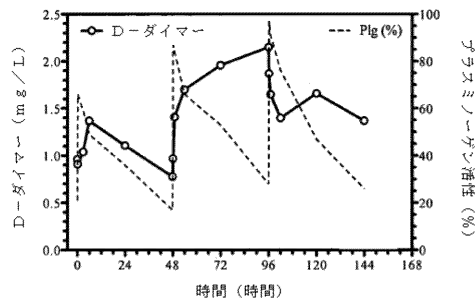
【図 14】

実施例4の対象における最初の144時間の間に投与された  
G1u-プラスミノゲン用量及び観察されたPK



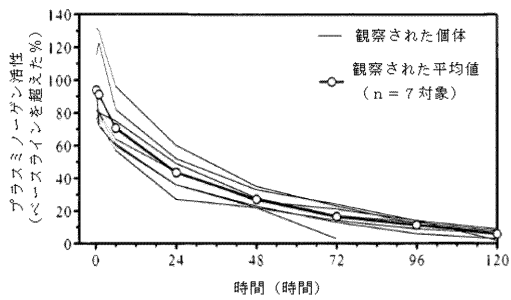
【図 15】

実施例4の対象におけるG1u-プラスミノゲン補充から  
最初の144時間の間のD-ダイマーレベル  
（実線）及びプラスミノゲン活性（点線）



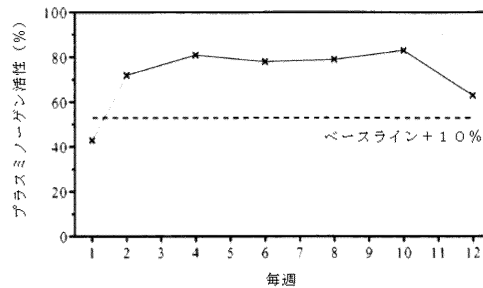
【図 16】

7人の患者における6mg/kgのG1u-プラスミノゲンの単回投与



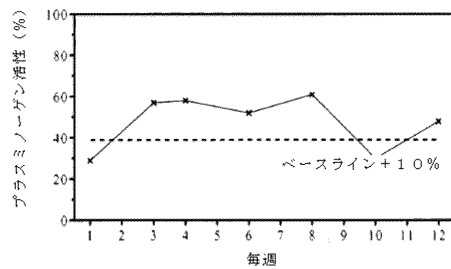
【図 18】

対象01-002のトラフレベル  
(6mg/kg、qod)



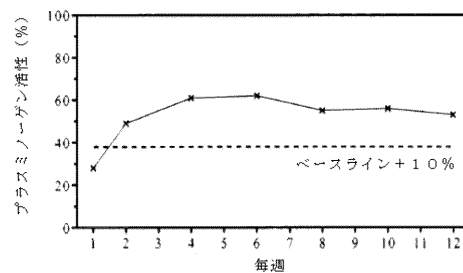
【図 17】

対象01-001のトラフレベル  
(6mg/kg、q3d)



【図 19】

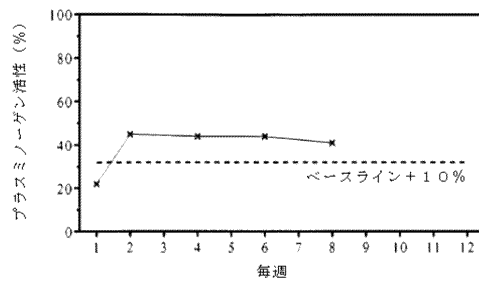
対象01-006のトラフレベル  
(6mg/kg、q3d)



【図 20】

対象01-007のトラフレベル

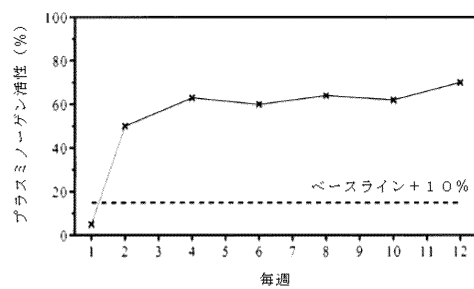
(6 mg/kg, q3d)



【図 21】

対象01-008のトラフレベル

(6 mg/kg, qod)



【図 24】

臨床全総改善度—全総改善度 (CGI-I)

自らの臨床判断で、完全に薬物処置によるか否かに関係ない合計改善率  
ベースラインでの状態と比較して、どれくらい変化したか？

☐ 0 = 評価なし

☐ 1 = 非常に改善

☐ 2 = 大幅に改善

☐ 3 = 最小限に改善

☐ 4 = 変化なし

☐ 5 = 最小限の悪化

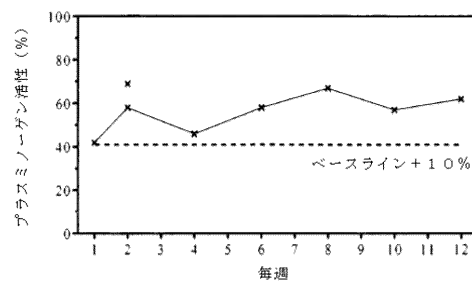
☐ 6 = 大幅に悪化

☐ 7 = 非常に悪化

【図 22】

対象01-009のトラフレベル

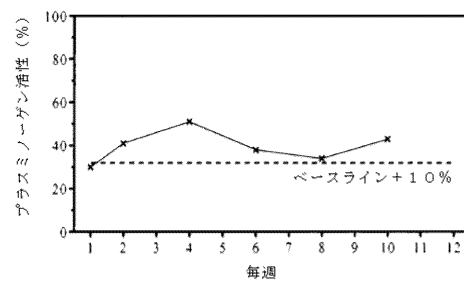
(6 mg/kg, q3d)




【図 23】

対象01-010のトラフレベル

(6 mg/kg, q3d)



【図 25】



*American Chronic Pain Association*

生活の質尺度  
機能の測定  
疼痛の人々の場合

機能なし	0	一日中寝たきり 人生について絶望及び 無力を感じる
	1	少なくとも半日は寝ている 外界と接触がない
	2	起床するが、着替えない 一日中自宅にいる
	3	朝に着替える 自宅での最小限の活動 電話、メールで友人に連絡する
	4	日常の家事責任をなんとかやり とげる屋外活動なし仕事／ボラン ティア活動をする事ができない
	5	家中の簡単な雑用をする 週2日の家庭外の最小限の活動
	6	限られた時間、仕事／ボランティ ア活動をする 週末に、 限られた社会的活動に参加する
	7	毎日数時間、仕事／ボランティア活動 をする1日に少なくとも5時間、活動的 であることができる週末に簡単な活動を する計画を立てることができる
	8	毎日少なくとも6時間、仕事／ボラ ンティア活動をする1週間の間に1回の 夜間の社会活動の計画を立てる活力 がある週末に活動的である
	9	毎日8時間、仕事をする／ボランティア 活動をする／活動的である家庭生活に参 加する限られた屋外の社会活動
通常の生活の質	10	毎日仕事／ボランティア活動に行く 毎日通常の日常生活がある 仕事以外の社会生活がある 家庭生活に積極的に参加する

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		
A 6 1 P	9/14	(2006.01)	A 6 1 P	9/14	
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P	19/08	(2006.01)	A 6 1 P	19/08	
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	7/06	(2006.01)	A 6 1 P	7/06	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04	
C 1 2 Q	1/37	(2006.01)	C 1 2 Q	1/37	
C 1 2 N	9/68	(2006.01)	C 1 2 N	9/68	Z N A

(74)代理人 100165892

弁理士 坂田 啓司

(72)発明者 マルタン・ロピタイユ

カナダ、ジェイ 5 ケイ・1 ダブリュー 2、ケベック、サン - コロンバン、ソニア・ストリート 1 8 4 番

(72)発明者 カレン・チボドー

カナダ、ジェイ 7 エイ・4 ティ 2、ケベック、ロズメール、デ・ヴィニョール・ストリート 7 0 0 番

(72)発明者 ピエール・ローラン

カナダ、エイチ 3 アール・2 ワイ 6、ケベック、ヴィル・モン - ロイヤル、サンセット・ロード 2 2 5 0 番

(72)発明者 ステイシー・プラム

アメリカ合衆国 2 2 2 0 5 バージニア州アーリントン、ノース・イレブンス・ストリート 6 1 0 7 番

審査官 榎本 佳予子

(56)参考文献 特表 2 0 1 0 - 5 0 2 6 0 0 ( J P , A )

米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 4 7 8 7 9 ( U S , A 1 )

American Journal of Ophthalmology , 2 0 0 2 年 , Vol.133 , No.4 , p.451-455

動脈硬化 , 1 9 9 6 年 , Vol.23 , No.10 , p.587-593

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 8 / 5 8

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0

C 1 2 Q 1 / 3 7

C 1 2 N 9 / 6 8

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )