

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-508937**(P2005-508937A)**

(43) 公表日 平成17年4月7日(2005.4.7)

(51) Int.Cl. ⁷		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/00		A 6 1 K 37/02	4 B 0 2 4
A 6 1 K 31/122		A 6 1 K 31/122	4 C 0 8 1
A 6 1 K 31/131		A 6 1 K 31/131	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/164		A 6 1 K 31/164	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/167		A 6 1 K 31/167	4 C 2 0 6
		審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 28 頁) 最終頁に続く
(21) 出願番号	特願2003-533858 (P2003-533858)	(71) 出願人	399037243
(86) (22) 出願日	平成14年10月7日 (2002. 10. 7)		ザ ジェネラル ホスピタル コーポレー ション
(85) 翻訳文提出日	平成16年4月5日 (2004. 4. 5)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ボ ストン フルート ストリート 5 5
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/031998	(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開番号	W02003/030824		弁理士 清水 初志
(87) 国際公開日	平成15年4月17日 (2003. 4. 17)	(74) 代理人	100108774
(31) 優先権主張番号	60/327, 673		弁理士 橋本 一憲
(32) 優先日	平成13年10月5日 (2001. 10. 5)	(74) 代理人	100128048
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 新見 浩一
		(72) 発明者	ボドルスキー ダニエル ケイ. アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ウ ェルズリー エドモンズ ロード 1 5
		F ターム (参考)	4B024 AA01 BA80 DA06 HA17 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 皮膚病変を治療するための方法および組成物

(57) 【要約】

本発明は、三葉型ペプチドの局所投与による表皮および真皮に対する損傷の治療および予防の方法を特徴とする。三葉型ペプチドは単独で投与するか、または抗菌剤、抗炎症剤もしくは鎮痛薬を含むその他の治療薬と併用して投与することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

治療的有効量の三葉型ペプチドまたは生物学的に活性なその断片を、病変または病変を予防すべき皮膚の領域に投与する工程を含む、哺乳動物の皮膚の病変を治療または予防するための方法。

【請求項 2】

三葉型ペプチドが、鎮痙性ポリペプチド、pS2、または腸三葉型因子（ITF）である、請求項1記載の方法。

【請求項 3】

生物学的に活性な断片が、ITF₁₅₋₇₃、ITF₂₁₋₇₃、ITF₁₋₇₂、ITF₁₅₋₇₂、またはITF₂₁₋₇₂ 10
である、請求項1記載の方法。

【請求項 4】

哺乳動物がヒトである、請求項1記載の方法。

【請求項 5】

ヒトが早産児である、請求項4記載の方法。

【請求項 6】

病変が、外傷性病変、外科的病変、熱傷、または褥瘡性潰瘍である、請求項1記載の方法。

【請求項 7】

病変が、アレルギー性反応、湿疹、接触性皮膚炎、乾癬、または座瘡である、請求項1 20
記載の方法。

【請求項 8】

病変が、細菌感染、ウイルス感染、または真菌感染によって引き起こされる、請求項1
記載の方法。

【請求項 9】

病変がヘルペスウイルスまたはパピローマウイルスによって引き起こされる、請求項8
記載の方法。

【請求項 10】

病変が抗腫瘍療法によって引き起こされる、請求項1記載の方法。

【請求項 11】

哺乳動物に対して第二の治療薬または治療計画を施す工程をさらに含む、請求項1記載 30
の方法。

【請求項 12】

第二の治療薬が紫外線遮断剤である、請求項11記載の方法。

【請求項 13】

第二の治療薬が抗炎症剤である、請求項11記載の方法。

【請求項 14】

第二の治療薬がステロイドである、請求項11記載の方法。

【請求項 15】

ステロイドがコルチコステロイドである、請求項14記載の方法。 40

【請求項 16】

ステロイドが、フルオシノロン、ベタメタゾン、ジフルコルトロン、フルチカゾン、モ
メタゾン、メチルプレドニゾロン、クロベタゾール、グルココルチコイド、トリアムシノ
ロン、ヒドロコルチゾン、フルチカゾン、ブデソニド、プレドニゾン、プレドニゾロン、
メチルプレドニゾロン、デキサメタゾン、およびベクロメタゾンからなる群より選択され
る、請求項14記載の方法。

【請求項 17】

第二の治療薬が、抗細菌剤、抗真菌剤、または抗ウイルス剤である、請求項11記載の方
法。

【請求項 18】

抗細菌剤が、ペニシリン、セファロスポリン、テトラサイクリン、アミノ配糖体、過酸化ベンゾイル、ポビドンヨード、アゼライン酸、レチノイド、クリンダマイシン、またはエリスロマイシンである、請求項17記載の方法。

【請求項19】

抗真菌剤が、安息香酸、ウンデシレン酸アルカノールアミド、シクロピロックスオラミン、ポリエン、イミダゾール、アリルアミン、チオカルバメート、クリンダマイシン、エコナキゾール、フルコナゾール、フルシトシン、グリセオフルビン、ナイスタチン、クロトリマゾール、アンホテリシンB、ケトコナゾール、エニルコナゾール、イトラコナゾール、ブトコナゾール、チオコナゾール、またはミコナゾールである、請求項17記載の方法。

10

【請求項20】

抗ウイルス剤がアシクロビルである、請求項17記載の方法。

【請求項21】

第二の治療薬が鎮痛薬である、請求項11記載の方法。

【請求項22】

鎮痛薬が、リドカイン、ベンゾカイン、またはオピエートである、請求項21記載の方法。

【請求項23】

第二の治療薬が、アントラリン、レチノイド、ビタミンD類似体、メトトレキサート、ベンゾジアゼピン、またはシクロスポリンである、請求項11記載の方法。

20

【請求項24】

三葉型ペプチドおよび第二の治療薬が同一製剤にて投与される、請求項11記載の方法。

【請求項25】

三葉型ペプチドおよび第二の治療薬が異なる製剤にて投与される、請求項11記載の方法。

【請求項26】

三葉型ペプチドおよび第二の治療薬が異なる投与経路により投与される、請求項11記載の方法。

【請求項27】

三葉型ペプチドおよび第二の治療薬が互いに24時間以内に投与される、請求項11記載の方法。

30

【請求項28】

三葉型ペプチドまたは生物学的に活性なその断片、および薬学的に許容される担体を含む、哺乳動物の皮膚への局所投与に適した薬学的組成物。

【請求項29】

三葉型ペプチドまたは生物学的に活性なその断片が、鎮痙性ポリペプチド、pS2、または腸三葉型因子である、請求項28記載の組成物。

【請求項30】

生物学的に活性な断片が、ITF₁₅₋₇₃、ITF₂₁₋₇₃、ITF₁₋₇₂、ITF₁₅₋₇₂、またはITF₂₁₋₇₂である、請求項28記載の組成物。

40

【請求項31】

粘膜接着剤または浸透圧性剤をさらに含む、請求項28記載の組成物。

【請求項32】

第二の治療薬をさらに含む、請求項28記載の組成物。

【請求項33】

第二の治療薬が抗炎症剤または鎮痛薬である、請求項32記載の組成物。

【請求項34】

鎮痛薬が、リドカイン、ベンゾカイン、またはオピエートである、請求項33記載の組成物。

【請求項35】

50

第二の治療薬が、抗細菌剤、抗真菌剤、または抗ウイルス剤である、請求項32記載の組成物。

【請求項36】

抗細菌剤が、ペニシリン、セファロスポリン、テトラサイクリン、アミノ配糖体、過酸化ベンゾイル、アゼライン酸、レチノイド、ポビドンヨード、クリンダマイシン、またはエリスロマイシンである、請求項35記載の組成物。

【請求項37】

抗真菌剤が、安息香酸、ウンデシレン酸アルカノールアミド、シクロピロックスオラミン、ポリエン、イミダゾール、アリルアミン、チオカルバメート、ナイスタチン、クリンダマイシン、エコナキゾール、フルコナゾール、フルシトシン、グリセオフルビン、クロトリマゾール、ケトコナゾール、エニルコナゾール、イトラコナゾール、ブトコナゾール、チオコナゾール、ミコナゾール、またはアンホテリシンBである、請求項35記載の組成物。

10

【請求項38】

抗ウイルス剤がアシクロビルである、請求項35記載の組成物。

【請求項39】

第二の治療薬がステロイドである、請求項32記載の組成物。

【請求項40】

ステロイドがコルチコステロイドである、請求項39記載の組成物。

【請求項41】

ステロイドが、フルオシノロン、ベタメタゾン、ジフルコルトロン、フルチカゾン、モメタゾン、メチルプレドニゾロン、グルココルチコイド、クロベタゾール、トリアムシノロン、ヒドロコルチゾン、フルチカゾン、プレドニゾン、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、デキサメタゾン、ベクロメタゾン、またはブデソニドである、請求項39記載の組成物。

20

【請求項42】

第二の治療薬が、アントラリン、レチノイド、ビタミンD類似体、メトトレキサート、ベンゾジアゼピン、またはシクロスポリンである、請求項32記載の組成物。

【請求項43】

スプレー、軟膏、ペースト、泡状剤、ローション、ゲル、溶液、または懸濁液である、請求項28記載の薬学的組成物。

30

【請求項44】

三葉型ペプチドまたは生物学的に活性なその断片を含む、医療用材料。

【請求項45】

三葉型ペプチドが、鎮痙性ポリペプチド、pS2、または腸三葉型因子である、請求項44記載の医療用材料。

【請求項46】

生物学的に活性な断片が、ITF₁₅₋₇₃、ITF₂₁₋₇₃、ITF₁₋₇₂、ITF₁₅₋₇₂、またはITF₂₁₋₇₂である、請求項44記載の医療用材料。

【請求項47】

局所用ヒドロゲル被覆材、パッチ、閉塞性創傷被覆材、半閉塞性創傷被覆材、組織接着剤、縫合糸、および接着フィルムからなる群より選択される、請求項44記載の医療用材料。

40

【請求項48】

縫合糸が、ガット、絹糸、コラーゲン、グリコール酸ポリマー、およびナイロンからなる群より選択される材料を含む、請求項47記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

50

本発明は、外傷性、感染性、生理学的、または病理学的な原因により生じ得る哺乳動物における皮膚の病変を治療および予防するための方法ならびに組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

皮膚の全層の創傷は様々な原因で生じ得、もっとも一般的なものは、外傷性の病変または外科的病変である。部分的な層の創傷は、一般に、擦過傷、熱傷、圧迫による損傷、またはその他の外傷によって生じる。皮膚上皮の破壊は、皮膚の癌化学療法または放射線療法の結果としても生じ得る。皮膚病変は、局所的または全身性に投与される治療薬に対する過敏反応によっても生じる可能性がある。直接損傷を引き起こすことのできる薬剤に加えて、多くの抗生物質を含む一定の薬剤は皮膚の光線過敏性を誘発して、それによって上皮病変が生じることがある。または、創傷および潰瘍は、血管機能不全、時に血管疾患を特徴とする慢性糖尿病、ならびに圧迫による壊死および褥瘡によっても生じる可能性がある。

【0003】

典型的には、慣例的創傷ケアは、感染の抑制、十分な動脈血供給および静脈排液の確保、ならびに損傷が中等度または重度の場合には機械的方法（例えば、縫合または創傷クリップ）による上皮表面の密着の確保を目的とする。この点において、病原微生物による二次感染を、特に皮膚の防御バリア機能の見地から検討することが重要である。微生物は抵抗性が低下した上皮を体内への侵入口として使用する可能性があるため、これらの条件は、重度の場合、慢性消耗性の局所感染症および敗血症におけるリスク因子である。二次感染は、癌の治療（化学療法または放射線療法）を受けている患者のような免疫無防備状態の患者ではさらに悪化する可能性がある。

【0004】

皮膚バリアの機能回復に加えて、創傷のケアは美容上の転帰および瘢痕組織の減少にも関連する。従って、正常上皮層の速やかな回復は瘢痕形成の量および創傷の二次的合併症、特に感染を抑制する可能性がある。

【発明の開示】

【0005】

発明の概要

本発明は、病変部または病変を予防すべき皮膚の領域に対して治療的有効量の三葉型ペプチドまたは生物学的に活性なその断片の投与による哺乳動物の皮膚の病変の治療および予防を特徴とする。本発明による病変の治療または予防は、治癒を促進し、疼痛を軽減し、病変の発生を遅延または予防し、さらに病変の拡大、二次感染またはその他の合併症を阻害することができる。好ましくは、哺乳動物はヒトである。特に有用な態様において、三葉型ペプチドは、鎮痙性ペプチド（SP）、pS2、腸三葉型ペプチド（ITF）、ITF₁₅₋₇₃、ITF₂₁₋₇₃、ITF₁₋₇₂、ITF₁₅₋₇₂、またはITF₂₁₋₇₂であり、薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物中に存在する。その他の有用な三葉型ペプチドは、SP、pS2、ITF、ITF₁₅₋₇₃、ITF₂₁₋₇₃、ITF₁₅₋₇₂、またはITF₂₁₋₇₂と実質的に同一であるポリペプチドを含む。好ましくは、三葉型ペプチドはITFまたは生物学的に活性なITF断片であり、これは単量体、二量体またはもう一つの別の多量体として投与することができる。

【0006】

本発明の方法および組成物は、湿疹、乾癬、または接触性皮膚炎；褥瘡性潰瘍、ざ瘡、物理的外傷もしくは外科的介入（例えば、局所生検または切開）によって惹起される病変、化学熱傷、温熱性熱傷、もしくは放射線による熱傷に惹起される病変、または抗腫瘍療法（例えば、化学療法または放射線療法）によって惹起される病変のような炎症反応またはアレルギー反応によって惹起される皮膚の病変の治療に特に有用である。さらに、細菌、ウイルス（例えば、ヘルペスウイルスまたはパピローマウイルス）または真菌に関わらず、微生物感染に起因する皮膚の病変も治療の対象である。より具体的には、三葉型ペプチドの投与は、表皮が未熟状態である早産児における病変の治療または上皮の発達およ

び成熟の促進にも有用である。

【0007】

方法および組成物に、第二の治療薬を含めることができる。望ましい第二の治療薬は、抗炎症剤（例えば、ロフェコキシブまたはセレコキシブ）、抗細菌剤（例えば、過酸化ベンゾイル、ポビドンヨード、アゼライン酸、レチノイド、クリンダマイシン、エリスロマイシン、ペニシリン、セファロスポリン、テトラサイクリンおよびアミノ配糖体）、抗真菌剤（例えば、ナイスタチン、アンホテシリンB、安息香酸、ウンデシレン酸アルカノールアミド、シクロピロックスオラミン、ポリエン、イミダゾール、アリルアミン、およびチオカルバメート）、抗ウイルス剤（例えば、アシクロビル）、局所麻酔薬（例えば、リドカインおよびベンゾカイン）、全身性麻酔薬（例えば、オピエート、フェンタニル、およびNSAID）、ステロイド（例えば、トリアムシノロン、グルココルチコイド、ブデソニド、フルオシノロン、ベタメタゾン、ジフルコルトロン、フルチカゾン、モメタゾン、プレドニゾン、メチルプレドニゾロン、ベタメタゾン、デキサメタゾン、トリアムシノロン、およびヒドロコルチゾン）、および紫外線遮断剤を含む。皮膚外傷に伴うショックが重度の場合には、ベンゾジアゼピン類（例えば、ジアゼパム）のような鎮静剤を全身性に投与することもできる。三葉型ペプチドが乾癬の治療のために投与される場合、局所適用剤（例えば、アントラリン、レチノイド、ビタミンD類似体、およびグルココルチコイド）または全身投与剤（例えば、メトトレキサートおよびシクロスポリン）を含めることができる。第二の治療薬は、（三葉型ペプチドの投与前後いずれでも）14日以内、7日以内、1日以内、12時間以内、1時間以内、または三葉型ペプチドと同時に投与することができる。

【0008】

第二の治療薬は、三葉型ペプチドと同一または異なる薬学的組成物中に存在することができる。第二の治療薬が異なる薬学的組成物中に存在する場合は、異なる投与経路を採用することができる。例えば、第二の治療薬は、経口投与、または静脈内注射、筋肉内注射もしくは皮下注射によって投与することができる。このように、第二の治療薬は局所的に投与する必要はない。

【0009】

勿論、薬学的組成物は、二種類、三種類またはより多くの三葉型ペプチドまたは生物学的に活性な断片を含む可能性がある。または、三葉型ペプチドの局所適用を、同一または異なる三葉型ペプチドの経口投与によって増強することができる。

【0010】

本発明の組成物は、治療または真皮もしくは表皮を損傷する状態に先立って予防的に使用することもできる。例えば、表皮の完全性の消失を緩和するために、癌治療に先立って皮膚の領域に組成物を適用することができる。三葉型ペプチドを含む組成物は、太陽光暴露前または外科的介入前に皮膚の領域に適用することもできる。

【0011】

適切な薬学的組成物は、少なくとも1種類の三葉型ペプチドおよび薬学的に許容される担体を含む。本発明の三葉型ペプチド含有組成物を用いた治療は、典型的には自己投与される。しかし、三葉型ペプチド療法は医療専門家またはその他の医療提供者によって投与される可能性がある。例えば、三葉型ペプチドを含有するゲル、クリーム、溶液、懸濁液、軟膏、スプレー、生分解性ポリマー、またはヒドロゲル（非生分解性ポリマー）を、手術またはレーザーによる除去手技直後に悪性病変の除去によって惹起される病変に対して適用することができる。その他の有用な態様において、粘膜接着物質、浸透圧性物質（osmotic agent）、または粘度増強物質がある。または、三葉型ペプチドは、病変に直接適用する濃縮ペースト、懸濁液、クリーム、または軟膏として局所適用用に製剤化することができる。または、三葉型ペプチドは、ペプチドの持続的送達を提供するために、局所用パッチとして製剤化することができる。このパッチは粘着性でも非粘着性でもよく、閉塞性でも非閉塞性でもよい。閉塞パッチは部分的に剥離した上皮を介しての三葉型ペプチドの浸透性を高めることができる。その他の閉塞性賦形剤（例えば、疎水ポリマー）および

透過性促進剤（脂肪酸、アルコール、安息香酸塩、グリコール、またはピロリドン）も三葉型ペプチドの透過性を高めるために使用することができる。さらに、三葉型ペプチドは縫合前または手術手技中の創傷洗浄のために製剤化することもできる。従って、三葉型ペプチドは、生理食塩液またはリンゲル液のような洗浄液中に製剤化することができる。または、三葉型ペプチドは縫合材料（ガット、絹糸、コラーゲン、グリコール酸ポリマー、またはナイロン）または創傷被覆材（ガーゼパッド、閉塞包帯、半閉塞包帯、アルギン酸塩、親水コロイド、および接着フィルム）に含浸させることができる。

【0012】

哺乳動物の三葉型ペプチドは1982年に発見された。哺乳動物三葉型ペプチドの一種であるヒト腸三葉型因子（ITF；TFF3）については徹底した性状分析が行われており、参照として本明細書に組み入れられる米国特許第6,063,755号および第6,221,840号に示されている。他の二種類の既知のヒト三葉型ペプチドは鎮痙性ポリペプチド（SP；TFF2）およびpS2（TFF1）である。文献（例えば、Sandsら、Annu. Rev. Physiol. 58: 253-273, 1996）に詳細に述べられている三葉型ペプチドは胃腸管において発現し、保持されたシステイン残基間のペプチド鎖内ジスルフィド結合によって形成される三ループ構造を持つ。これらのペプチドは腸管を損傷から保護して、消化性潰瘍および炎症性腸疾患のような腸管障害の治療に用いることができる。これらのヒトペプチドのホモログがヒト以外の多くの動物種において見出されている。本明細書では、ヒトおよびヒト以外のこのタンパク質ファミリーの全てのメンバーを、三葉型ペプチドとよぶ。本出願ではヒトITFがもっとも広範囲に記載されている；但し、ヒトITFの活性は各哺乳動物三葉型ペプチドに共通である。

10

20

【0013】

本明細書で用いられる「三葉型ペプチド」は、ヒト鎮痙性ポリペプチド（SP；別名TFF2）、ヒトpS2（別名TFF1）、およびヒト腸三葉型因子（ITF；別名TFF3）のすべての哺乳動物ホモログ、ならびに生物学的に活性なそれらの断片を含む。三葉型ペプチドのホモログは、好ましくはヒト配列と70%のアミノ酸同一性を示し、より好ましくは85%の同一性、もっとも好ましくは95%または実に99%の配列同一性を示す。比較配列の長さは一般的には少なくともアミノ酸残基約10個であり、通常は少なくともアミノ酸残基20個であり、より一般的には少なくともアミノ酸残基30個であり、典型的には少なくともアミノ酸残基45個、好ましくは60個を超えるアミノ酸残基であろう。または、三葉型ペプチドは、それぞれ、配列番号：4、5および6において提供されるヒトITF、pS2もしくはSPのcDNA、またはそれぞれ配列番号：7、8および9において提供されるヒトITF、pS2もしくはSPの遺伝子に対して高いストリンジエンシーを持ってハイブリッド形成するポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドである。

30

【0014】

「断片」という用語は、SP、pS2およびITFの切断型または欠失型であるポリペプチドを含むことを意味する。好ましくは、断片は生物学的に活性であり、ヒトポリペプチド配列の対応領域と70%のアミノ酸同一性を持つ。より好ましくは、断片は対応するヒトポリペプチド配列と85%の同一性を持ち、もっとも好ましくは95%、または実に99%の同一性を持つ。比較配列の長さは一般的には少なくともアミノ酸残基約10個であり、通常は少なくともアミノ酸残基20個であり、より通常的には少なくともアミノ酸残基30個、典型的には少なくともアミノ酸残基45個であり、好ましくは60個を超えるアミノ酸残基であろう。

40

【0015】

好ましい断片は、ヒトITFの25、35、45、50、51、62もしくは71の位置（図1）、またはヒトpS2の31、41、51、56、57、68および82の位置（図2）のシステインに対応する任意の位置に、4個のシステイン残基を持つ。より好ましくは、断片はこれらの位置に5個のシステイン残基を持つ。もっとも好ましくは、6個または実に7個すべてのシステインが存在する。

【0016】

SPの断片とは切断または欠失を含むことを意味し、好ましくは対応するヒトSPポリペプチド配列（図3）に対して70%の配列同一性を持つ。より好ましくは、断片はこのヒトポ

50

リペプチド配列に対して85%の同一性を示し、もっとも好ましくは95%または実に99%の同一性を示す。好ましくは、活性な断片は少なくとも4個のシステイン残基を持ち、これらはヒトSPポリペプチドの6、8、19、29、34、35、46、58、68、78、83、84、95および104の位置に対応する。より好ましくは、断片は6個のシステインを持ち、このシステインはこれらの位置に対応する。さらに好ましくは、断片は8個のシステインを持つ。もっとも好ましくは、断片は10カ所、12カ所、または実に14カ所すべての位置にシステインを持つ。

【0017】

当技術分野において、同定されたシステイン残基の一つの機能はタンパク質に対して特徴的な三ループ（三葉型）構造を付与することであることが認識されている。従って、IT 10 FおよびpS2の好ましい断片は少なくとも1つのループ構造を持ち、より好ましくは断片は二ループ構造を持ち、もっとも好ましくは断片は三ループ構造を持つ。生体のSPポリペプチドが六ループの立体構造を持つことも、同じく十分に認識されている。好ましい断片はこれらのループ構造を少なくとも2つ持ち、より好ましくは四ループ構造が保持されて、もっとも好ましくは五ループ構造または実に全6個のループ構造が存在する。

【0018】

「同時製剤化」とは、2種類またはそれ以上の治療的または生物学的に活性な物質を含む任意の単一の薬学的組成物を意味する。

【0019】

「薬学的調製物」または「薬学的組成物」とは、少なくとも一種類の治療的または生物 20 学的に活性な物質を含み、かつ、患者への投与に適した任意の組成物を意味する。本発明の目的において、皮膚への治療薬の送達に適した薬学的組成物は、水溶液、クリーム、ゲル、懸濁液、スプレー、生分解性ポリマー、ヒドロゲル（非生分解性ゲルポリマー）、パッチ、洗浄液、ペースト、ローション、軟膏、泡状剤、創傷被覆材、および縫合糸を含むが、これに限定されるものではない。これらの製剤はいずれも、当技術分野の容認された周知の方法によって調製することができる。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第19版、(AR Gennaro編), Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995を参照されたい。

【0020】

「局所投与」とは、真皮および／または表皮に到達するために、皮膚の外表面および／ 30 または露出面に治療的有效量の薬学的組成物を適用することを意味する。

【0021】

「治療的有效量」とは、医学的利益を提供し得る十分な量を意味する。本明細書に記載される方法によってヒト患者に三葉型ペプチドを投与する場合、有効量は治療が行われる病変部のサイズによって異なるが、治療的有效量は通常、投与1回当たり三葉型ペプチド 約1～2500mgである。好ましくは、患者は各投与において少なくとも10mg、100mg、500mg、750mg、1000mg、1500mgまたは2000mgの三葉型ペプチドを投与される。広範な温熱性熱傷に惹起される病変のような大規模な病変に対しては、より多くの量が必要とされる可能性がある。投与は、典型的には一日1回～5回行われる。

【0022】

三葉型ペプチド、断片またはホモログに言及する際の「生物学的に活性な」とは、自然 40 状態で生じる関連するファミリーメンバーに共通の活性を示し、その活性が自然状態で生じる三葉型ペプチドのファミリーに共通である任意のポリペプチドを意味する。三葉型ペプチドファミリーに共通の生物学的活性の例は、胃腸管粘膜の回復能である（Taupinら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 97(2): 799-804）。

【0023】

「単離DNA」とは、所与のDNAが由来する生物の天然のゲノム内においてそのDNAに隣接する遺伝子を伴わないDNAを意味する。従って、「単離DNA」の用語は、例えばcDNA、クローニングゲノムDNA、および合成DNAを網羅する。

【0024】

「治療」とは、予防目的および／または治療目的のために薬学的組成物を投与することを意味する。薬学的組成物の有効成分は一次適応症（例えば、上皮病変）または二次的症狀（例えば、併発感染症、疼痛、または炎症）を治療することができる。

【0025】

「熱傷」とは、熱、酸、腐蝕剤、化学物質、電気または放射（例えば、紫外線放射）への曝露に起因して、時に水疱形成を伴う程度の異なる皮膚の崩壊および充血によって特徴付けられ、重度の場合には組織の焼灼を特徴とし、損傷の範囲および程度によって分類される、真皮、表皮またはその下の組織に対する任意の損傷を意味する。熱傷は三段階に分類される。第1度の熱傷は表在性であり、皮膚の最上層（表皮）のみに関する。第1度の熱傷は皮膚の乾燥、発赤を特徴として、典型的には5～6日以内に治癒して永久性の瘢痕は生じない。第2度の熱傷は、表皮および真皮に関する部分的な層の熱傷である。これらの熱傷は水疱形成および浸潤液を生じて、治療が行われない場合、治癒には通常3～4週間またはそれ以上を要する。瘢痕形成が生じることもある。もっとも重度の第3度の熱傷は皮膚の全層、およびその下の組織の一部を破壊する。ショックおよび感染の合併症により、第3度の熱傷は場合によっては致命的となる。

10

【0026】

「創傷被覆材」とは、病変部または損傷部を覆う任意の閉塞性または半閉塞性の被覆物を意味する。皮膚と三葉型ペプチドを接触させることに加えて、好ましい被覆材は病変部の湿潤環境を維持して、過度の滲出物を除去し、断熱特性を持ち、ガス交換を可能とし、微生物を通さず、しかも／または創傷を伴わずに除去することができる。被覆材の選択は、例えば、創傷の種類、創傷の位置、組織片または感染の存在、滲出液の程度、患者の快適さ、および費用効率などの臨床的指標によって影響されるであろう。

20

【0027】

「抗菌剤」とは、細菌もしくは真菌細胞またはウイルスの生育を変化させて、それによって生育を阻止、安定化もしくは阻害し、または微生物を死滅させる任意の化合物を意味する。換言すると、抗菌剤は殺微生物剤または微生物生育阻止剤とすることができる。

【0028】

「抗腫瘍療法」とは、癌を治療するために用いられる任意の治療計画を意味する。典型的な抗腫瘍療法には、化学療法および放射線療法が含まれる。

【0029】

「紫外線遮断剤」とは、紫外線放射を遮断するために用いられる任意の治療計画を意味する。典型的な紫外線放射遮断剤は、日光曝露前に塗布されるべきクリームまたはペーストとして製剤化される。

30

【0030】

「実質的に同一」とは、ポリペプチドまたは核酸が参照のアミノ酸または核酸配列に対して少なくとも75%の同一性を示し、好ましくは85%、より好ましくは90%、もっとも好ましくは95%または99%の同一性を示すことを意味する。ポリペプチドの場合は、比較配列の長さは一般的には少なくともアミノ酸20個であり、好ましくは少なくともアミノ酸30個、より好ましくは少なくとも40個のアミノ酸、もっとも好ましくは50個のアミノ酸であろう。核酸の場合は、比較配列の長さは一般的に少なくともヌクレオチド60個であり、好ましくは少なくともヌクレオチド90個、より好ましくは少なくとも120個のヌクレオチドであろう。

40

【0031】

「高いストリンジェンシー条件」とは、高温および低イオン強度を特徴として、0.5M NaHP04、pH 7.2、7% SDS、1mM EDTA、および1% BSA（分画V）を含む温度65℃の緩衝液、または48%ホルムアミド、4.8×SSC、0.2M Tris-Cl、pH 7.6、1×Denhardt液、10%硫酸デキストラン、および0.1% SDSを含む温度42℃の緩衝液中において、少なくともヌクレオチド40個の長さのDNAプローブを用いて得られるハイブリダイゼーションと同様のハイブリダイゼーションを可能とする任意の条件群を意味する。PCR、ノーザン、サザンまたはインサイチュアハイブリダイゼーション、DNAシーケンシングなどの場合のような高ストリ

50

ンジェンシーハイブリダイゼーションのためのその他の条件は、分子生物学に関する技術分野の当業者に周知である。例えば、本明細書に参照として組み入れられるF. Ausubelら、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, NY, 1998を参照されたい。本発明のその他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかとなるであろう。

【0032】

詳細な説明

本発明は、真皮および表皮に対する様々な病変の治療に有用な方法および組成物を提供する。病変は、例えば頭皮、鼠径部および泌尿生殖器領域、顔面、体幹部、腕、手、足、足底、または足指の間を含むヒトの皮膚の任意の部位に生じる可能性がある。本発明に従って治療することのできる真皮および表皮の病変は、物理的外傷（例えば、切り傷、擦過傷、および外科的介入）、化学熱傷および温熱性熱傷（例えば、日焼け）、血管の抵抗性低下（例えば、糖尿病に起因する）、感染または炎症過程（例えば、湿疹、乾癬、接触性皮膚炎、ヘルペス病変、および座瘡）、微生物感染（例えば、ウイルス、細菌および真菌感染）、または抗腫瘍療法（例えば、放射線療法）によって引き起こされ得る。熱傷患者、特に熱傷によって生じた皮膚損傷が重度で、体の大部分に及んでいる患者の場合、熱および水分の双方が蒸散するために、表皮の損失が急激に悪化する可能性がある。この問題を改善するためにヒドロゲルのような機械的な系が用いられているが、このような患者の回復には十分なバリアの速やかな修復が必須である。

10

【0033】

早産児は表皮が未成熟状態であり角質層が相対的に欠けているため、このような乳児も皮膚バリア機能の不全を呈する。重症度は在胎齢に大きく依存するが、皮膚バリアの抵抗性低下は最終的には重大な合併症を引き起こし得る。この点において、皮膚の水分透過性の増大は顕著な熱損失に至り、さらには例えばアレルゲン、微生物およびトキシンを含む外来物質の温床ともなる。概して、これらの病変は三葉型ペプチドを単独または別の種類の治療薬と併用して局所適用することによって治療される。

20

【0034】

薬学的製剤：軟膏、ペースト、クリーム、ゲル、洗浄液、および組織接着剤

外傷または炎症に起因する病変のような皮膚の上皮の病変は、軟膏、ペーストまたはゲルとして送達される三葉型ペプチド療法が可能である。これらの種類の調製物の粘稠性は、創傷部位への直接的な塗布を可能とする。選択的に、創傷部位は、三葉型ペプチド含有組成物の保持、病変の保護、および／または滲出液の吸収のために被覆材で被覆することができる。後述の通り、これらの調製物は外傷性外科的手技（例えば、皮膚の生検および切開）後の上皮完全性の回復に特に有用である。このような粘稠性の製剤は局所的なバリア効果も示し、これによって、刺激および疼痛を緩和することが可能である。さらに、三葉型ペプチドは外科的目的のために使用される任意の既知の洗浄液（例えば、0.9%生理食塩液またはリンゲル液）中に加えることもできる。

30

【0035】

粘膜接着性剤

上述の任意の薬学的組成物に粘膜接着性賦形剤を加えることができる。粘膜接着性製剤は病変領域をコーティングし、その結果、三葉型ペプチドが病変部に保持され、保護が提供されて、刺激が阻害され、炎症組織または損傷組織の治癒が促進される。これらの薬学的調製物中での使用に適した粘膜接着性製剤は、当技術分野において周知である（例えば、米国特許第5,458,879号）。特に有用な粘膜接着剤は、例えば、ポリ（エチレンオキシド）、ポリ（エチレングリコール）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（ビニルピロリジン）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（ヒドロキシエチルメタクリレート）、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、キトサン、およびそれらの混合物のような水溶性ポリマーを約0.05~20%含むヒドロゲルである。これらのポリマー製剤は、カルボキシメチルセルロースナトリウム（0.5~5.0%）のような分散剤を含むこともできる。

40

50

【0036】

液体組成物のための別の好ましい粘膜接着性賦形剤は組成物を流動性液体として投与可能とするものであるが、組成物を皮膚上でゲル化させて、これによって治療薬を病変部に長時間にわたって保持させるように作用する生物接着作用を提供する。陰イオン性多糖類であるペクチンおよびゲランは、適切な組成物中に製剤化される場合、粘液中に陽イオンが存在するために、皮膚上でゲル化する材料の例である。ペクチンまたはゲランを含む液体組成物は、典型的には水または水性緩衝系中0.01~20% w/vのペクチンまたはゲランからなる。

【0037】

粘膜接着性ならびに真皮および表皮における治療薬の長時間の保持を促進する別の有用な組成物は、シリカまたは二酸化チタンのような2~50%のコロイド粒子を含むコロイド分散剤である。このような製剤は粘稠性の低い流動性液体として形成されるが、粒子は糖タンパク質、特にムチンと相互に作用して、液体を粘稠なゲルとし、有効な粘膜接着性を提供する（例えば、米国特許第5,993,846号および第6,319,513号）。 10

【0038】

生物接着剤および生分解性ポリマーは、代替の創傷閉鎖法として、または薬物送達溶媒として有用である。生物接着剤は、皮膚が特に脆い高齢者での創傷閉鎖において、縫合に対する特に有用な代替法である。任意の周知の生物接着剤またはポリマーが、本発明の三葉型ペプチドとの使用に適している（例えば、米国特許第5,990,194号、第6,159,498号、および第6,284,235号）。三葉型ペプチドは、別の任意の治療薬をこれらの製剤に組み込むために適した任意の方法によって接着剤またはポリマーに組み込まれる。個々の方法は、製剤の化学的組成および製造工程に依存するであろう。 20

【0039】

医療用材料

縫合材料、無菌創傷被覆材（閉塞性および半閉塞性、例えば、ガーゼパッド）、局所パッチ、接着フィルム、および組織接着剤は本発明の三葉型ペプチドを含浸させて、真皮および表皮の治療を促進するために切開部位に使用することができる。任意の縫合材料、創傷被覆材、局所パッチ、接着フィルム、および組織接着剤はITFを含有する生分解性ポリマーおよびアルギン酸塩も含むことができる。

【0040】

これらの製剤は、このような製剤の調製のための既知の慣例的な方法に従って作成することができる。例えば、モノフィラメントから作られる縫合糸は押出成形前にポリマー溶液に三葉型ペプチドを加えることによって含浸させることができる。三葉型ペプチドを含む溶液を用いて浸漬／乾燥のサイクルを繰り返すことによって、縫合材料に含浸させることができる。サイクル数は浸漬液中の三葉型ペプチドの濃度および縫合糸に含められるべき最終的なペプチドの量に依存する。三葉型ペプチドは表面の輪郭線に保持されるため、浸漬は編み込み状の縫合材料において特に有効な含浸方法である。 30

【0041】

三葉型ペプチドを含浸させた創傷および熱傷用の無菌の被覆物およびガーゼは、標準的な方法によっても準備することができる。典型的には、三葉型ペプチドは粘稠なゲル（例えば、ヒドロゲル）中に存在して、創傷に接着しない透過性繊維によって皮膚病変から分離される。 40

【0042】

治療物質

三葉型ペプチド

治療用三葉型ペプチドは、典型的には哺乳動物三葉型ペプチドまたはその断片である。好ましくはヒトの三葉型ペプチドまたはその断片を使用する；しかし、ラット、マウスおよびヒト以外の霊長類を含む他の生物種に由来する三葉型ペプチドも使用することができる。典型的には、三葉型ペプチドは腸三葉型因子（ITF）であるが、鎮痙性ポリペプチド（SP）、またはpS2も有用である。 50

【0043】

三葉型ペプチドまたは断片は投与一回当たり1~5000mgの用量を投与し、好ましくは投与一回当たり5~2500mg、より好ましくは投与一回当たり10~1500mgを投与し、治療対象である病変の性質および状態、治療の予想される頻度および期間、ならびに三葉型ペプチドを送達するために使用される薬学的組成物の種類に依存する。三葉型ペプチドは典型的には一日当たり1~5回投与する。

【0044】

腸三葉型因子 (ITF) の治療用断片

特定のITF断片は生物学的活性を保持し、ITFが用いられる任意の方法または組成物において代用することができる。ITFを含み、これらのITF断片により代用される可能性のある方法および組成物は、例えば、米国特許第6,063,755号および第6,221,840号、ならびに2002年4月24日提出の米国特許出願第10/131,363号、2001年9月6日提出の第60/317,657号、2002年10月5日提出の第60/327,673号、2001年11月28日提出の第60/333,836号、および2002年3月26日提出の第60/367,574号（本明細書に参照として組み入れられている）に記載されている。

10

【0045】

生物学的活性を保持している特に有用なITF断片は、配列番号：1のアミノ酸残基15~73 (ITF₁₅₋₇₃) および配列番号：1のアミノ酸残基21~73 (ITF₂₁₋₇₃) に対応するポリペプチドを含む。別の有用なITF断片は、C-末端のフェニルアラニン残基（即ち、ITF₁₋₇₂、ITF₁₅₋₇₂、およびITF₂₁₋₇₂）の開裂により形成される。

20

【0046】

本発明の生物学的に活性なITF断片は、任意の適切な方法を用いて産生することができる。例えば、所望のITF断片をコードするcDNAは、組換えタンパク質の産生に関する技術分野において既知の任意の方法で使用することができる。例示的な方法を本明細書に提供する。ITF断片、特にITF₂₁₋₇₃は、発酵培養がpH約5.0にて維持される場合、全長ITF（例えば、配列番号：4）またはITF₁₅₋₇₃のような長いITF類をコードしているcDNAを用いて形質転換したPichia酵母発現系（例えば、米国特許第4,882,279号および第5,122,465号を参照されたい）にて産生することができる。

【0047】

抗炎症剤

任意の適切な抗炎症剤を三葉型ペプチドと共に製剤化して、本発明の方法を用いて利用することができる。適切な抗炎症剤は、非ステロイド系抗炎症剤（例えば、イブプロフェンおよびタクロリムス）、ロフェコキシブ（Vioxx（登録商標））およびセレコキシブ（Celebrex（登録商標））のようなシクロオキシゲナーゼ-2特異的阻害剤を含むが、これに限定されるものではない。投与後に有効であることが知られている抗炎症性濃度を使用することができる。例えば、イブプロフェンは病変に対して一日当たり25~800mgを送達するのに十分な濃度で組成物に存在することができる。

30

【0048】

抗菌剤

多くの既知の抗菌剤の内、任意の抗菌剤をこれらの薬剤に対して一般的に用いられる濃度で本発明の組成物中に使用することができる。抗菌剤は、抗細菌剤、抗真菌剤および抗ウイルス剤を含む。

40

【0049】

皮膚に対して使用される、もっとも広く用いられている抗細菌剤は、過酸化ベンゾイル、ポビドンヨード、アゼライン酸、レチノイド、クリンダマイシン、およびエリスロマイシンであるが、抗細菌剤（抗生物質）のその他の例には、ペニシリン類（例えば、ペニシリンG、アンピシリン、メチシリン、オキサシリン、およびアモキシシリン）、セファロsporin類（例えば、セファドロキシル、セフォラニド、セフォタキシム、およびセフトリアキソン）、テトラサイクリン類（例えば、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、およびテトラサイクリン）、アミノ配糖体類（例えば、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイ

50

シン、ネオマイシン、ストレプトマイシン、およびトブラマイシン)、マクロライド類(例えば、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、およびエリスロマイシン)、フルオロキノロン類(例えば、シプロフロキサシン、ロメフロキサシン、およびノルフロキサシン)、ならびにクロラムフェニコール、クリンダマイシン、シクロセリン、イソニアジド、リファンピンおよびバンコマイシンを含むその他の抗生物質が含まれる。

【0050】

抗ウイルス剤は、ウイルスの複製を破壊または抑制することのできる物質である。抗ウイルス剤の例には、1,-D-リボフラノシル-1,2,4-トリアゾール-3カルボキサミド、9->2-ヒドロキシ-エトキシメチルグアニン、アダマンタナミン、5-ヨード-2'-デオキシウリジン、トリフルオロチミジン、インターフェロン、アデニンアラビノシド、プロテアーゼ阻害剤、チミジンキナーゼ阻害剤、糖または糖タンパク質合成阻害剤、構造タンパク質合成阻害剤、付着および吸着阻害剤、ならびにアシクロビル、ペンシクロビル、バラシクロビル、およびガンシクロビルのようなヌクレオシド類似体が含まれる。

10

【0051】

抗真菌剤は、例えば、安息香酸、ウンデシレン酸アルカノールアミド、シクロピロックスオラミン、ポリエン類、イミダゾール類、アリルアミン、チカルバメート類、アンホテリシンB、ブチルパラベン、クリンダマイシン、エコナキソール、フルコナゾール、フルシトシン、グリセオフルビン、ナイスタチン、およびケトコナゾールのような、殺真菌剤および真菌増殖抑制剤を含む。

【0052】

局所投与後に有効であることが知られている抗菌剤濃度が使用可能である。例えば、テトラサイクリンは、局所適用後に病変に対して一日当たり100~1000mgを提供することができる。

20

【0053】

鎮痛薬および麻酔薬

一般的に使用されている任意の局所鎮痛薬を、本発明の組成物中に用いることができる。鎮痛薬は、リドカインに関して皮膚病変に対して0.5~5%の濃度を提供するような量で存在する(例えば、液剤の投与一回当たり20~40ml中に5~50mg/ml)。別の有用な麻酔薬の例には、プロカイン、リドカイン、テトラカイン、ジブカイン、ベンゾカイン、p-ブチルアミノ安息香酸2-(ジエチルアミノ)エチルエステル塩酸、メピバカイン、ピペロカイン、およびジクロニンが含まれる。

30

【0054】

その他の鎮痛薬は、例えばモルフィン、コデイン、ヒドロコドン、およびオキシコドンのようなオピオイドを含めて、全身性に投与することができる。これらの任意の鎮痛薬は、アセトアミノフェン、アスピリンおよびイブプロフェンのように、鎮痛作用または抗炎症作用を持つ他の化合物と共に同時製剤化することもできる。

【0055】

ステロイド

ステロイドは皮膚の病変を治療するために使用することができ、本発明の組成物中に用いられるために製剤化することができる。典型的には、用いられる局所ステロイド剤は、フルオシノロン、トリアムシノロン、ベタメタゾン、ジフルコルトロン、フルチカゾン、ヒドロコルチゾン、モメタゾン、メチルプレドニゾロン、およびクロベタゾールを含むが、これらに限定されるものではない。皮膚刺激性の極端な症例では、プレドニゾン、プレドニゾロン、メイチルプレドニゾロン、ベタメタゾン、デキサメタゾン、トリアムシノロン、およびヒドロコルチゾンのような全身性のステロイド剤も投与することができる。

40

【0056】

投与

三葉型ペプチド成分を含めて、本発明の局所用組成物中に用いられるすべての治療薬は、これらの薬剤について現時点で既知であり用いられている用量範囲で使用する事ができる。以下は本発明の組成物の有効成分に関する用量範囲の実証例である。患者の臨床状

50

態、投与の目的（治療または予防）、および薬剤が投与される損傷の予想される持続期間または重症度に応じて、三葉型ペプチドまたは他の薬剤の異なる濃度を用いることができる。用量選択におけるさらなる検討事項には、疾患の原因、患者の年齢（小児、成人、高齢者）、全般的な健康状態、および併存疾患が含まれる。

【0057】

三葉型ペプチドの産生

三葉型ペプチドおよび断片は、組換えタンパク質の発現に関する技術分野において既知の任意の方法により産生することができる。三葉型ペプチド（例えば、ヒト腸三葉型因子（図4および図7）、ヒトpS2（図5および図8）、およびヒト鎮痙性ポリペプチド（図6および図9）、またはそれらの断片をコードする核酸は発現のための様々な細胞型または細胞

10

【0058】

三葉型ペプチドの遺伝子配列をプラスミドまたは他のベクターに導入した後、生細胞の形質転換に使用する、真核生物および原核生物の三葉型ペプチド発現系を作出することが可能である。三葉型ペプチドのcDNAが発現プラスミドの正しい位置に挿入されたオープンリーディングフレーム全体を含むコンストラクトを、タンパク質の発現に使用することができる。原核生物および真核生物の発現系により、三葉型ペプチドがタグ分子に共有結合する三葉型ペプチド融合タンパク質の発現および回収を可能にし、これにより同定および／または精製が促進される。酵素的または化学的開裂部位を、精製後にタグを除去できるように三葉型ペプチドとタグ分子の間に設計操作することができる。

20

【0059】

典型的発現ベクターは、プラスミド保有細胞において、挿入された三葉型ペプチドの核酸に対応するmRNAの大量合成を指示するプロモーターを含む。それらはさらに宿主生物内でそれらの自立的複製を可能とする真核生物または原核生物の複製起点配列、ベクター含有細胞をそうでなければ毒性である薬物の存在下において選択することを可能にする遺伝的特徴をコードする配列、および合成されたmRNAの翻訳効率を高める配列も含みうる。安定な長期的ベクターは、例えばウイルスの調節エレメント（例えば、エプスタイン・バーウイルスゲノム由来のOriP配列）を用いることによって自由複製体として維持することが可能である。ベクターをゲノムDNAに組み込んだ株化細胞を作出することも可能であり、

30

【0060】

大腸菌（*Escherichia coli*）のような細菌内での外来性配列の発現には、細菌性の発現ベクターに三葉型ペプチドの核酸配列を挿入することが必要である。このようなプラスミドベクターは、細菌内でのプラスミドの増殖およびプラスミドに挿入されたDNAの発現に必要な複数のエレメントを含む。プラスミドを保有する細菌のみの増殖は、プラスミド保有細菌の生育をそうでなければ毒性である薬物の存在下において可能とする選択マーカーコード配列をプラスミドに導入することによって達成される。プラスミドには、クローン化された遺伝子からのmRNAの大量産生が可能な転写プロモーターも含まれる。このようなプロモーターは、誘導されて転写を開始する誘導性プロモーターであってよい（しかし、必ずしもあるとは限らない）。好ましくは、プラスミドはベクター内の適正な位置に遺伝子を容易に挿入するためのポリリンカーも含む。哺乳動物細胞も三葉型ペプチドの発現のために使用することができる。安定性または一過性の株化細胞クローンは、可溶型（切断型およびタグ型）の三葉型ペプチドを産生するための三葉型ペプチド発現ベクターを用いて作出することができる。適切な株化細胞には、例えば、COS、HEK293T、CHOまたはNIH株化細胞が含まれる。

40

【0061】

適切な発現ベクターが構築されると、それらは、限定的ではないがリン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラントランスフェクション、電気穿孔法、微量注入法、プロトプラスト融合、またはリポソーム法のような形質転換手法によって適切な宿主

50

細胞に導入される。本発明のベクターを用いてトランスフェクトされる宿主細胞は、E. coliまたはその他の細菌、酵母、真菌、昆虫細胞（例えば、SF9昆虫細胞における発現のためのバキュロウイルスベクターを用いる）、またはマウス、ヒトもしくはその他の動物に由来する細胞を含むことができる（但し、これらに限定されるものではない）。クローン化DNAによりコードされる三葉型ペプチド、融合物またはポリペプチド断片のインビトロでの発現も利用することができる。分子生物学に関する技術分野における当業者は、組換え型三葉型ペプチドおよびその断片を産生するために実に様々な発現系および精製系が用いられる可能性があることを理解するであろう。これらの系のいくつかについては、例えば、Ausubelら（Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, NY 2000、本明細書に参照として組み入れられる）に示されている。

10

【0062】

トランスジェニック植物、植物細胞および藻類も、本発明の方法および組成物において使用するための組換え三葉型ペプチドの作成に特に有用である。例えば、三葉型ペプチドを発現しているトランスジェニックタバコまたは培養トランスジェニックタバコ細胞は、当技術分野において既知の手法を用いて作出することができる（例えば、米国特許第5,202,422号および第6,140,075号を参照）。トランスジェニック藻類発現系も、組換え三葉型ペプチドの産生に使用することができる（例えば、Chenら、Curr. Genet. 39:365-370,2001を参照）。

【0063】

組換えタンパク質は一旦発現すると、アフィニティークロマトグラフィーのようなタンパク質精製手法を用いて細胞溶解物から単離することができる。単離されると、組換えタンパク質は、必要があれば、例えば高速液体クロマトグラフィー（HPLC；例えば、Fisher, Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology, Work and Burdon, Eds., Elsevier, 1980を参照）によってさらに精製することが可能である。

20

【0064】

本発明のポリペプチド、特に三葉型ペプチド断片は、例えば、メリフィールド固相合成、液相合成法、または両者の併用法（例えば、Solid Phase Peptide Synthesis、第2版、1984, The Pierce Chemical Co., Rockford, ILに記載された方法を参照）を用いる化学的合成によって産生することも可能である。選択的に、ペプチド断片は続いて標準ペプチド結合法により縮合される。

30

【0065】

以下の実施例は本発明の原理および三葉型ペプチド療法を適応させる条件について例証することを意図する。以下の実施例は、限定することを意図するものではない。

【0066】

実施例1：外科的介入後のITF療法

外科的切開の治癒を促進して瘢痕形成を抑制するために、手術患者は種々の様式を用いてITF含有調製剤を投与される。手術直前に、ITF含有ゲルを切開予定部位の皮膚に適用する。外科的手技後、切開創を25mg/ml ITFを含む無菌生理食塩液または別の1種類の洗浄液で洗浄する。ITFを含浸させた縫合用絹糸を用いて切開創を閉鎖して、切開部位に5mg/ml ITFを含むペーストまたはゲル調製剤を適用する。ITF含有ペーストまたはゲルは、被覆材の各交換時に繰り返し適用する。好ましくは、ペーストまたはゲルは少なくとも3日間、より好ましくは5日間、もっとも好ましくは7日間、もしくは実に10日間、または切開創が完全に治癒するまで繰り返し適用する。縫合糸は抜糸するか生体に吸収される。

40

【0067】

実施例2：熱傷の治療

熱傷創管理の最終目的は、創傷の閉鎖および治癒である。この点において、瘢痕形成は第2度および第3度熱傷の一般的な結果である。瘢痕は線維芽細胞の増殖および遊走能が上皮細胞のそれを上回る場合に形成されることを考慮すると、上皮の回復を促進する治療は瘢痕形成を抑制するであろう。さらに、抗菌剤の局所または全身投与は熱傷創の細菌数を劇的に減少させて、熱傷創感染の発生を抑制し得ることが知られている。

50

【0068】

広く使用されている3種類の局所用抗菌剤、つまりスルファジアジン銀クリーム、酢酸マフェニドクリームおよび硝酸銀は、熱傷創を治療するために単独または併用してITFと混合することができる。従って、熱傷患者は1%スルファジアジン銀、酢酸マフェニドクリームおよび／または硝酸銀を含有するペーストまたはゲルを局所鎮痛薬と共に10mg/ml ITFと併用して治療する。局所投与は、治療期間中12時間毎に反復適用する。ITF含有軟膏の局所適用に加えて、熱傷部位をITF含浸包帯で被覆してもよい。

【0069】

通常は、鎮痛薬および抗生物質療法は、十分な毛細管発達および上皮化が生じるとすぐに中止される。瘢痕形成を最小限に抑えるためには、上皮化が完了するまでITF療法を継続する。侵襲性の創傷感染の場合は、抗生物質による全身的治療とITF療法による局所的治療を行うことができる。

10

【0070】

実施例3：ヘルペス病変の治療

任意の単純疱疹ウイルス（HSV）によって惹起される病変を患っている患者は、ITFを含む併用療法または単独療法で治療することができる。ヘルペス病変は典型的には顔面または生殖器に発生して、抗ウイルス剤を用いて治療される。HSV IおよびHSV IIはいずれも開放性病変との直接接触により、または感染体との二次的接触を介して伝染する。従って、表皮の治癒を促進する物質は、病変によって生じる美容上の損傷を修復するばかりでなく、ウイルス伝染の尤度も低下させるであろう。

20

【0071】

現在、ヘルペス病変は経口的に投与される標準的な抗ウイルス療法によって治療される。本発明によると、ITFは局所調製剤（例えば、ペーストまたはゲル）中5mg/mlの濃度で同時に投与される。または、局所適用のために、抗ウイルス剤にITFを加えて同時製剤化する。重度病変の治療では、ITFの量を25mg/mlまたはそれ以上に増量することが可能であり、二次症状を緩和する医薬品とさらに併用することが可能である。例えば、コルチコステロイドは、掻痒症を緩和するために局所調製剤に含めることができる。典型的には、医薬品は、発生が沈静化して病変が寛解するまで12時間毎に病変に適用する。病変は、代替となるより簡便な薬剤送達手段として、抗ウイルス剤およびITFを含浸させた包帯またはガーゼで被覆することができる。

30

【0072】

実施例4：手皮膚炎の治療

手皮膚炎の治療では、一般に刺激の回避、二次感染の治療、および炎症の抑制が重要である。手の病変は、急性の炎症病変を乾燥および壊死組織切除するために、また腫脹を減少させるために、三葉型ペプチドを含浸させた冷却被覆材で治療することができる。病変に対して、5mg/ml ITFを加えて製剤化された中力価ないし高力価の局所用グルココルチコイド（例えば、4%w/vヒドロコルチゾン）の適用も行われるべきである。局所用ステロイド含有三葉型ペプチドは被覆材の各交換時または必要な頻度で繰り返し適用することができる。罹患患者の手は、被覆材、グルココルチコイドおよびITFを適所に保持するために手袋で保護すべきである。必要があれば、全身性のステロイドも投与することができる。二次感染を抑制するために三葉型ペプチドを含む局所用抗生物質製剤による治療することも推奨される。

40

【図面の簡単な説明】

【0073】

【図1】 ヒト腸三葉型因子のアミノ酸配列（ITF；アクセッション番号BAA95531）。

【図2】 ヒトpS2タンパク質のアミノ酸配列（アクセッション番号NP_003216）。

【図3】 ヒト鎮痙性ポリペプチドのアミノ酸配列（SP；アクセッション番号1909187A）。

【図4】 ヒト腸三葉型因子をコードするcDNA配列。

【図5】 ヒトpS2タンパク質をコードするcDNA配列。

【図6】 ヒト鎮痙性ポリペプチドをコードするcDNA配列。

50

【図 7】 ヒト腸三葉型因子をコードする遺伝子のヌクレオチド配列（遺伝子座10280533:52117-55412）。

【図 8】 ヒト pS2タンパク質をコードする遺伝子のヌクレオチド配列（遺伝子座10280533:16511-21132）。

【図 9】 ヒト鎮痙性ポリペプチドをコードする遺伝子のヌクレオチド配列（遺伝子座10280533:957-5208）。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> The General Hospital Corporation

<120> METHODS AND COMPOSITIONS FOR TREATING
DERMAL LESIONS

<130> 50206/004WO2

<150> US 60/327,673

<151> 2001-10-05

<160> 9

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 73

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 1

Met	Leu	Gly	Leu	Val	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Ser	Ser	Ser	Ala	Glu	Glu
1				5					10					15	
Tyr	Val	Gly	Leu	Ser	Ala	Asn	Gln	Cys	Ala	Val	Pro	Ala	Lys	Asp	Arg
			20					25					30		
Val	Asp	Cys	Gly	Tyr	Pro	His	Val	Thr	Pro	Lys	Glu	Cys	Asn	Asn	Arg
		35					40					45			
Gly	Cys	Cys	Phe	Asp	Ser	Arg	Ile	Pro	Gly	Val	Pro	Trp	Cys	Phe	Lys
	50					55					60				
Pro	Leu	Gln	Glu	Ala	Glu	Cys	Thr	Phe							
65						70									

<210> 2

<211> 84

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 2

Met	Ala	Thr	Met	Glu	Asn	Lys	Val	Ile	Cys	Ala	Leu	Val	Leu	Val	Ser
1				5					10					15	
Met	Leu	Ala	Leu	Gly	Thr	Leu	Ala	Glu	Ala	Gln	Thr	Glu	Thr	Cys	Thr
			20					25					30		
Val	Ala	Pro	Arg	Glu	Arg	Gln	Asn	Cys	Gly	Phe	Pro	Gly	Val	Thr	Pro
		35					40					45			
Ser	Gln	Cys	Ala	Asn	Lys	Gly	Cys	Cys	Phe	Asp	Asp	Thr	Val	Arg	Gly
	50					55				60					
Val	Pro	Trp	Cys	Phe	Tyr	Pro	Asn	Thr	Ile	Asp	Val	Pro	Pro	Glu	Glu
65					70				75					80	
Glu	Cys	Glu	Phe												

<210> 3

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 3

Glu Lys Pro Ser Pro Cys Gln Cys Ser Arg Leu Ser Pro His Asn Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Cys Gly Phe Pro Gly Ile Thr Ser Asp Gln Cys Phe Asp Asn
 20 25 30
 Gly Cys Cys Phe Asp Ser Ser Val Thr Gly Val Pro Trp Cys Phe His
 35 40 45
 Pro Leu Pro Lys Gln Glu Ser Asp Gln Cys Val Met Glu Val Ser Asp
 50 55 60
 Arg Arg Asn Cys Gly Tyr Pro Gly Ile Ser Pro Glu Glu Cys Ala Ser
 65 70 75 80
 Arg Lys Cys Cys Phe Ser Asn Phe Ile Phe Glu Val Pro Trp Cys Phe
 85 90 95
 Phe Pro Asn Ser Val Glu Asp Cys His Tyr
 100 105

10

<210> 4

<211> 222

<212> DNA

<213> Homo sapien

<400> 4

atgctggggc tggctcctggc cttgctgtcc tccagctctg ctgaggagta cgtgggcctg 60
 totgcaaacc agtgtgccgt gccagccaag gacagggtgg actgcccgtc ccccatgtc 120
 accccaagg agtgcaacaa ccggggctgc tgctttgact ccaggatccc tggagtgcct 180
 tgggtgtttca agccctgcga ggaagcagaa tgcaccttct ga 222

<210> 5

<211> 255

<212> DNA

<213> Homo sapien

<400> 5

atggccacca tggagaacaa ggtgatctgc gccctggctc tgggtgtccat gctggccctc 60
 ggcaccctgg ccgaggccca gacagagacg tgtacagtgg ccccccgtga aagacagaat 120
 tgtgggtttc ctggtgtcac gccctcccag tgtgcaaata agggctgctg ttccgacgac 180
 accgttcctg gggctcccctg gtgcttctat cctaatacca tcgacgtccc tccagaagag 240
 gagtgtgaat tttag 255

<210> 6

<211> 390

<212> DNA

<213> Homo sapien

<400> 6

atgggacggc gagaagccca gctcctggca gcgctcctcg tcctggggct atgtgccctg 60
 gcggggagtg agaaaccctc cccctgccag tgctccaggc tgagcccca taacaggacg 120
 aactgcggct tccctgggaat caccagtgac cagtgttttg acaatggatg ctgtttcgac 180
 tccagtgtca ctggggctcc ctggtgtttc caccctctcc caaagcaaga gtccgatcag 240
 tgcgtcatgg aggtctcaga ccgaagaaac tgtggctacc cgggcatcag ccccgaggaa 300
 tgcgctctc ggaagtgtcgt cttctccaac ttcattcttg aagtgcctg gtgcttcttc 360
 ccgaagtctg tggaagactg ccattactaa 390

<210> 7

<211> 3280

30

<212> DNA
<213> Homo sapien

<400> 7

```

atgctggggc tggctcctggc cttgctgtcc tccagctctg ctgaggagta cgtgggcctg 60
tgtgagtact gccctgactg ccccggtggc aggggtggcg tgaagggaag ggatccagga 120
taagggggga ttctgcattc atttaataat ggccacctgt cacatataca ctttttccctg 180
cgctagccct ttgaagtggg tctttattgt ccccatttca cagacaagga aaccgaggct 240
cagagaaagt taacaactta tccaaggcag ccctgcccag tctgtgttga aatcagggtt 300
tgagcctgag cccatccctt atgaccccat agccatcttt gctggagatt totaaattac 360
aatataggtc tttatgcatt gttccacatt tacaaagaaa aaggaaagat gcaggagaaa 420
aaccctgact tcagaacact gtcaataccg gcaggcacaa ggttcattta gccattgcat 480
agcaaccctg ccattggggtg tggctgctcc attaacccaa gtttgaagga atgaggcat 540
ggctttttatc tgggtgtctt ctgagcaggg tcaaaggcag tggttccga acttgccagc 600
cattagaatc acctggagag ctttaaaaat cctaattgctt ggggcacacc agttacatca 660
gggcatctcc aggcagatc caggcctcag ctgttttgtt ttgagatagc cttgctttgt 720
cactcactgc tgggtgtcag tggcacaatc tcagctcact gcaacctccg cctcctgggt 780
tcaagcaatt cttgtgcctc ggcttcaagt agctgggatt acaggcatgc accaccatgc 840
ccagctaatt ttttggatth ttagtagaga tggagtttct ctatgttggc caagctgggtc 900
tcaaactcct ggctcaagt gatcctcctg ccttggcctc ccaaagtgtt ggaattacag 960
gtgtaagcca ccatgtcccag ccaacgtcag tcatttttaa agctctgcag ctgattccag 1020
tgtgagcgaa gtttggatgc caggaggata agcaattacg gactgggagc aagagaaggg 1080
aatgtaagac actgacgtg attgccattt tccaaaggaa atactcagtt cgttaatgaa 1140
acgcagttaa cttctgtctc acatacacag atagaggctt gctgaaaca tgaaaatatt 1200
ggggactgaa ggtgtgtccc ggaagggtgg acatgctcaa caattcagga aggggagatg 1260
cagaaaaaag tgaaggcag gcagcatgcg ttgcaatgat ctctatggcg tgtgctctc 1320
ctgtcacggt tttcatttaa aacaaagggg caaggttttg ttggtcaaac aatgaagggt 1380
aactttgttt ctgggttcaa gggaccccag attcccagg ggttctctgc agctggaagg 1440
taccaggtc cgtatgtgac ttcccagaaa ggtgataaga gcgtgccaa gagaagaca 1500
cttaggcaaa tggccagagt ccccgagctg agcatttaac agactgcctc tctttaaata 1560
ttcacaggga aagtgcattc tcctaagggc gagggtttca gcagtgggtg aactcggcgg 1620
ggtggggcgg agcgggagga tgcaaacctt gcaagtgaa gcaaacacac caccgcagc 1680
cagcaagggc tctggcagct gacagggtt tgtctgggac agctgcaaac cagtgtgccg 1740
tgccagccaa ggacagggtg gactgcggct acccccatgt caccoccaa gagtgcacaa 1800
accggggctg ctgctttgac tccaggatcc ctggagtgc ttggtgttcc aagccctgc 1860
aggaagcagg taaggcccca gtgcatctgt ggtctgggcc cagcccata aggcaggggg 1920
tctcaggggc tccctgtcct tctgggctg gagatggagg cacaaggacc ccagggaagg 1980
acacacacac acctgttcca aggcctcaga gcagaggctt cacacttagg gcagccatgg 2040
ccaggggctg tccctctctg tcccttttat gtaaaacata aaagcaattg tttcaaaaag 2100
gtgttcaaaa tgatggcatc gcatagaggg aactgattta gtaactatc ttgagagaag 2160
tggaaacgca taggtgtgga aagccgggac gacttttggg ctgtttttgc aaatcggcc 2220
cccagagctc tgtcatttgt ggcacccctt acacagacgg caggcggtcc cagccctaga 2280
cgtcaggcct cgggtgccaca cccacctctc cccacacaag ggtcatctcc 2340
tctccctctc tctgcccgtg tggagggca gtgcagggca accacccctg gggttccctc 2400
cccagggcgg gagagcctgc gtgctgtgcg ggtaacagat gccctgcac acgggtttgc 2460
caccctggct ccaccaggct tagctgcccc acatcgtggg tggggcgatt ggctataagc 2520
catctgccat gtccaagtgc cagctcagcc cccacgaagg ccgcacctgc gtgaggtacc 2580
ttcctggaac cagcatccag aggggcctct cttgcccttt gtccataggt gaaatgcggg 2640
aggetagatc ctgctggccc cggctccctg atcaatgatg ggcctctgcc cagggcctcc 2700
cttcaccctc ccagcaagt ccagggtagg ggtgggggtg ggggtccaga gaaggccagg 2760
agagagaggg gtctggctac tgtccactgc cgttctgtt ccttcagctc cactggaact 2820
acactctcct ctgagtgcga gccatggccc tgccaaggcc catctcgtt gttatctgcc 2880
tgatccctgg gtccactat cttgcttagc aaccaggtt gggaaatttg gctattcccc 2940
catgtgggtg ggactcaaca ctcccgggtg actctgggga ggaggcagca ctaggtgctg 3000
gccttggagc ctgcccagac cttgggaagc tgggcagcgt ggggtggagag agactgctca 3060
cacaagcctt tgcctgtttt gcagaatgca cctctgagg cactccagc tgccccggc 3120
cgggggatgc gaggtcggga gcacccctgc cgggtgtga ttgctgccag gcactgttca 3180
tctcagcttt tctgtccctt tgctcccggc aagcgttct gctgaaagtt catatctgga 3240

```

10

20

30

gcctgatgtc ttaacgaata aaggccccat gctccacccc

3280

<210> 8
 <211> 4623
 <212> DNA
 <213> Homo sapien

<400> 8
 dcccctgggggt gcagctgagc tagacatggg acggcgagac gccagctcc tggcagcgct 60
 cctcgtccctg gggctatgtg cccctggcggg gactgagaaa cccctgtaagt gaaggagagg 120
 gtcttttttat gtgctttctt tttttctctt aaagaaaaaa aaaaagcaca accataaatt 180
 aactttgagag ggggaatggc tataaaggca tctggcaatg tgtgttgttc acatgggatt 240
 tggcactgct caggaggggtg gctccaagaa gggcctccct cctagggaaa ggctgagtga 300
 cggcaggtgt cagcggggccc cgtgtcgggc caggagggca tccccacaa gggctccttg 360
 agtcccagag cactcacctc tcgctggat cttggccttg ggtccatctg ttcacctcc 420
 tctaggaggg ttttgttttt gtttttttcc gagacaggat ctggctttgc cggccaggca 480
 ggagtgcagt ggtgtgatct tggtcactg caacctctgc ctcccaggct caagtgatcc 540
 tcccacctca gcgcctgag tagctgaaac cacagttgtg gacctcatg ccgggccaat 600
 tttttttttt gtattgtttg tagagatggg gtttcgacat gttgcccagg atggtcttga 660
 actcctgagc tcaagcaatc tgcccgcctc ggttccctaa agtgcctggg ttatagggtat 720
 gagccacccat gcctggcctt tttttttttt tccctttaaa ctaataaac aatttcagca 780
 aagccctatc ggcttctcag gaggaacccg cattgcttaa atatgggcaa gataagactt 840
 tgtgtttctc tatgtggcaa caagacagta gaggcacccc ctagaacctc tgagagaaagg 900
 agcagtgtgg tctggggta cagggtgggg ccgactgagg gtctttccac agcccccctgc 960
 cagtgcctca ggctgacccc ccataacagg acgaactgcg gcttccctgg aatcacccagt 1020
 gaccagtgtt ttgacaatgg atgctgtttc gactccagtg tccactgggtt cccctgggtgt 1080
 ttccaccccc tcccaaagca aggtaatctt ccagggaatc ttccctgggccc agcagctggc 1140
 aaccacaggc ccagcttcac agggggagcc cagagcaggg gccggaggag gccagttgc 1200
 tagtctaggg tttagcctggg tgggttagtc tcgagctagc cccggttggt tagtctgggg 1260
 ctagcccagg ttggttagtc tagagctagc ccaggttggt tagtctgggg ctagcccagg 1320
 ttggttagtc tggggctagc ccaggttggt tagtctaggg ctagtgtagg ctagttagtc 1380
 taaggctagc ccaggttggt tagtttgagc ctagcgcagg ttggttagtc tggggctagt 1440
 agcccaggtt gggttagctg gactagccc aggttggtta gtcctggagct agcccaggtt gggttagctg 1500
 gggttagctg gggctagccc aggttggtta gtcctggagct agcccaggtt gggttagctg 1560
 gggctagtag cccaggttgg tttagtctggg gctagcccag gttggttagt ctaggggctag 1620
 gttagctag gctagcccag gttagtttagt ttggagctag caccaggtta 1680
 tttagtctgg gctagtagcc taggttgggt agtctggagc tagcccaggt tgggttagtct 1740
 agggctagca taggtctggt agtctggggc tagtagccca ggtttgttag tctggagcta 1800
 gccacaggtt gttagcttag ggctagccta ggctgggttag tctagggcta gccacaggtt 1860
 gttaatcgga gctagcccag gttggttagt ctggagctag cccaggttgg tttagtctgag 1920
 gctagtagcc cagggttgggt agtctggggc tagcccaggt ttggttagtct ggagctagcc 1980
 cagggttgggt agtctggagc tagcccaggt ttggttagtct gggactagcc tggactgcta 2040
 gtctagaggt agcctagagg actgctagtc tagaggtagt ctagggctag cccaggttgg 2100
 tttagtctgg gctagcccag gttggttagt cttagaactag cctggactgc tagtctagag 2160
 gttagcccagg ttggttagtc ttggttagtc ctggactggt agtctagagg tagcccaggt 2220
 ttggttaggt gggttagctg ggaactagct ggactgttag tctagaggta gccacaggtt 2280
 gtttagtctgg gactagcctg gactgttagt ctagaggttag ccagatttgg tttagtctggg 2340
 actagctctg actgctagtc tagaggttag ccagggttgg tagcctgggg ccagcctgga 2400
 ctgttagtct agaggttaacc caggctcagc aacagtgaga tgaaaatttc ccaoctaccc 2460
 tgtttctaca ctgttagttc ttccaacaga catgtgtgtg tggagccatc agttttactt 2520
 tagttgagaa aaaaatatat atatatatag taggtctcct ctagtttttg aagtgtgact 2580
 tctgaagaag cttccatggg gaaatgaagg tatttaatat gacagcagta acataagggc 2640
 tgacagccct caaatgttag ggaaggaaat gaagcctctt aggggttctt ggaggtgagt 2700
 tttatgttag tgcacgggat caggacccaa gttgtaacgc cgacgagtgc tcaaagggaag 2760
 gttgtgtgtg tgtcgtgcac ctgtgtgcgt ggaaccaggc acgtcctctg gagaaggagg 2820
 attcatcccc aagattgttg ctgggaggct tgcctggccc cgcagggaaa ccaggcagat 2880
 ggtggattgt tcacgagcgc cactgaatg gcagtgtctt tgggaatcaa taccatgtcc 2940
 aaacgcttcc catcttacca aggtgccac aaaccttttc tcatcttggc ccgggggacc 3000

10

20

30

```

acccatttta ctgagaacac ttagtcccga gaggcaaaat gatttcccca aggcggggga 3060
ctccagagct tctgactgtg accacccccc atggggccca ccttogcgga ggacaggcca 3120
gccaagcgtd gctggggcgg acacttccac agtccccggg ggaggcggtc ccaggggccg 3180
acacttccac agtccccggg ggaggcggtc ccgggggatg ctgccccagg cagcacctca 3240
tgatccacgg aggtcgcaaa tcagcggtgc tctcagagga ggaaggggtg gagctttcca 3300
gggcacagca ggctgactg ggtctcggtg ctgtgcctgt cccatggcag agtcggatca 3360
gtgcgtcatg gaggtctcag accgaagaaa ctgtggctac ccgggcatca gcccggagga 3420
atgcgcctct cgggaagtgt gcttctccaa cttcatcttt gaagtgcctt ggtgcttctt 3480
ccgaagtct gtggaaggta acgtcgctgt gggactctct gtctggttcc cggacacccat 3540
gattcctcct cgtccgtag aggtgggggtg cagggaagggt agctgcctcg cagcctcagt 3600
gccatcgagg ccaggggccc tgccctctat gggattctga aggcatttcc agaattgtct 3660
tggcaaaagc agcgtctttt caataagttt atagcctcca gcattgccc tgctcatct 3720
gtgatggctc tagaaacagc ggctcatccc tgttgcttcc ccagggtgtg caacgttcag 3780
aggcgttgcc tgttttatgt caagcccatc tgcatttggg ggtactagag tgtcttgcc 3840
tgtgctgggt accagagagg gcccaactca agcagacctg gcccttctc ccgtggcttc 3900
ccggttctcc ccacatgac ccgaatgac aaacctcatc cacaacgtcc tgcctcgggc 3960
agtccccggg ggctcccgcc aacgggtcca cttctccac ccgttagtg 4020
atagtgtgtt cctgactcgg agtgtggcga ggtaaaaaaa gaccaagcag atccaggaaa 4080
atggggaaag agtactggc cctgaagga tgccctttct ttctcttttg ttaggatata 4140
aaagcactcc aaagagcgaa atatttcatg ttcaggattt tccgagtgat ttttttatg 4200
tgacctaaag gtccacctag aaaatgttca cttgtctggg gagaatgcgc cccacagagg 4260
aaactctggc ctgggggtgg aagatttggg ccctttacac ccctccccc ggaaaggagc 4320
tccttcttca gtaggaaagt cctgggcaaa gtgatgcacg ccacccccc cttcgcagcc 4380
taggcactcc catttctggg gttcccttac caacctctt gcatttaaac ttctagactg 4440
ccattactaa gagaggtctg ttccagagga tgcactctgg tcacgggtg ttccgaaacc 4500
aaagaagaaa cttgcgctta tcagcttcat acttcatgaa atcctgggtt ttcttaacca 4560
tcttttctc attttcaatg gtttaacata taatttcttt aaataaaacc cttaaaatct 4620
gct 4623

```

```

<210> 9
<211> 4252
<212> DNA
<213> Homo sapien

```

```

<400> 9
atccctgact cggggtgcgc tttggagcag agaggaggca atggccacca tggagaacaa 60
ggtgatctgc gccctgggtc tgggtgtccat gctggccctc ggcacccctg ccaggggcca 120
gacaggtaag gcgtgcttct tctgtctctg tggggccaca gccagctctg gcagcctccg 180
ccaggagcca ctgttttaca tacatatctt tgagcacctg ttttgtgcca ggtgctgttc 240
taggccttta aaagtataac caatttadag gatcgccaaa agcagggtgga gagtaactca 300
gggtggcagg gcccccggag accttcgaga agtgcgacga ggagggggct gcoctcagtc 360
ggggtgtgtt tctgtgttta ggaagactat acaatcctcc caagtgtcat gtttcaaaga 420
ggaagtgttg gcgtggggtc tcagaatagt gctttttagt gttcatgcca acatctccc 480
caggggcaga cctcccaag gcccatccag ataggcccaa atgcccgtcc cagtgatggc 540
cacctgggag accctctccc acaggcccca atgcccgtcc cagtgggtgc caactgggag 600
accctctcct acaggttcct gggctccctt gggatccatg ctctgggagt caaagccacc 660
tctctcatga gtgcgtgggt ggcaacccat attcctgggt gttgtcaagt ggatogggtg 720
ccctgggtcc ttctaggagg tggaggagga ggccattctt gottccttgg gaagtgtttg 780
catctcaact cttttacctg cagaatggat caacggtctg ccctagggtt gtcaggaaat 840
gctgtgtggc agcatctgeg acttgactt tgcagctgt ggggagctga ataaattatt 900
tgccgttatt aggtacagtt tcaagggtgg ggaggagaa agggcttctt acgtttccaa 960
agcaagggtt tcagagagg cctgaagagg gagcgcacag tgggtgctgt cgtgccccca 1020
ctgcctccca gccacctctt gatctctgct gtggggatcc gggcctgagg ggtgggcttg 1080
ggcagcgtag aagagcagcc agcattgggc tgcagtggga agaccccaa gccatggca 1140
gggagcgggg gagctttgga acccgagaga ggaagtggcc tcgggtgtaca gaacgaactg 1200
ggtgggtccc cgtgctggcc acccccaggc ccactctgct gcgccttgc cccacccca 1260
gccccagct ctgcccctg tgctgtggga tcacagaggc cgtggcaaac tcccccccc 1320
accccacaa cctctggct caaggctcag agcgtctttg cgggtcactc aggtccatga 1380

```

10

20

30

tectgttaca	actgaaatct	agaaaaattgt	gattacagtt	tagtgcattc	gtgtgtggaa	1440
accattttcca	tttattttcca	tcattgcgaca	aagacaaaagc	gggtggggcaa	gacagagttc	1500
gccgggaggca	gagcaccggg	gctggaaatc	ttcctccctg	aggaggaaac	ccccccgacc	1560
cccaggatga	tgatcctccc	tcaccacggg	gcctctcttg	acccccacag	tgccccggg	1620
gtggggcgatg	atcaccttca	cgtcgcgatg	gatccagacc	ccaggaggggc	aaggttccca	1680
tggaaagctgc	tgggcagcgg	gagctgaaca	cggatccctc	ccagcaagcc	aggaacactt	1740
tctccaaaga	catctcgagg	cagtccctga	tagcaaaagca	gacaagagaa	cagccctctc	1800
cggcctcccc	tggggcgccc	tcacctgagc	cagtgtggcc	agactgagtt	cctccctccc	1860
tatgccccaa	ggcaggggaca	gggaccggag	ggtgctctgg	gctcctcttt	cacccctgc	1920
tgcaggctgt	caaccaccag	atcctaatag	gttgctttct	gagacctttg	attcccgagg	1980
gctcagagcc	tgaagctctg	gtgttagaac	ctcttgcata	agatcctgcg	gcagccccc	2040
gocagcccca	tctgtccacg	tgtcttctc	ctctagatcc	ctttcctcac	tgccctgctt	2100
caagctgttt	cacagcttgg	accctctgtc	ggctcctcct	agaccacccc	acccggctct	2160
ctcaccttac	ctgcaatggg	tttccacctc	ctgaacacac	ctgggtctct	ggaatggcct	2220
ttgcccattgc	ggctccatct	tcacctgggtg	aacctcctcc	tgcaggggagc	ccccctgctt	2280
tgttcaacct	gcttgtccatt	ggcctctccg	gggagtgccc	taccccccgtg	gttaccctgg	2340
gcaccctggg	acgtaggcct	tgcgttgtct	cgcacatggt	cttgcttttc	tcctccatca	2400
gatcccttaga	ctcttttttt	tttttttttg	agatggagtc	ttgctctgtc	actcaggctg	2460
gagtgcgaatg	gtgcgatctt	ggctcactac	aacctctgcc	tcctgggttc	aagtgattct	2520
cctgctccag	cctcccaagt	agctgggatt	acagacgtgt	gccacaatgc	ccgcctaatt	2580
ttttgtattt	ttagttagaga	tggggcttca	ccattttggg	caggctgggc	ttgaactcct	2640
gacctcaagt	gattccacctc	cttcagcctc	ccaaagtgc	gggattacag	gcattgagct	2700
gggcccagat	atttagactc	ttattaatga	cttctctggt	tttaatttct	gggtctctct	2760
cacctggcac	agtgcctggc	ttttgccatg	ctagctccca	cttctcatgc	acacaaatgg	2820
tgcctcagtaa	atatttatgt	atttagtaaa	atttaataat	cattttgtga	aattaaaaag	2880
tgaataaata	agttacctag	aaagatgcaa	agtcacacaa	cctggggcac	cttgcathtt	2940
ccctgagcgt	aatgtttgca	catcaggatg	tggaggaccac	gtctccctct	catgtcctga	3000
gggttttata	tcgcctccac	tggacagtgt	ctgatgtcat	tggagaagga	agctggatgg	3060
gtgtgtgcct	gataacatca	aggaattcag	ccacacactt	actttgtctc	ttacctgtgc	3120
actttcagag	acgtgtacag	tggccccccg	tgaagacag	aattgtgggt	ttcctggtgt	3180
cacgcccctc	cagtgtgcaa	ataagggtctg	ctgtttcgac	gacacggttc	gtgggggtccc	3240
ctgggtgcttc	tatcctaata	ccatcgacgt	ccctccagaa	ggatgggct	ttttatacga	3300
tgggttctga	agatttagaa	ttagtttagaa	aagtcattta	agactacaga	ggctctgac	3360
agcatcacca	gctatgcctt	tacacagagt	cacggccgcc	agtgggtggg	caatggggta	3420
gcctgagtc	ggctgcattc	aggtccagga	atagaaaggc	agggctaagg	gacttgggaa	3480
gaaaacctgat	ttccccccgg	cttctcttca	catctctaac	caaaagcctg	ggaagagcca	3540
ctgttggttaa	cgctttctag	cttgccctagg	atagaggggg	aaggcatgac	gaaatctgaa	3600
gacatttcat	gtattctttt	tttttttttt	tttttgaaat	ggagtctcgc	tcogttgccc	3660
ctgagctgga	gtgcaatggg	gcgatcttgg	ctcactgcaa	tctctgcctc	ctgagttcaa	3720
cctcagcttc	ctagtagctg	agattacagg	tgtgtgccac	tacgccagc	taaaattttt	3780
ttgtattttt	agtatagacg	gggtttccac	atgttggcca	gacccgtctt	gaactcttga	3840
cctcagggtga	tctgcccgc	tcagcctccc	agagagctgg	gattacagge	gtgagccacc	3900
gtgcccggct	gacagttcat	gttttctaaa	gaatgtgcct	atggatactt	taaagtaaaa	3960
actctgtaat	tgtttaaatg	tgaagaaaa	tgtttatcct	caactaaagca	tctctttctc	4020
cctccccctc	acccctgtag	aggagtgtga	atttttagaca	cttctgcagg	gatctgcctg	4080
catctgacg	cgggtgcctg	cccagcacgg	tgattagtc	cagagctcgg	ctgccacctc	4140
caccggacac	ctcagacacg	cttctgcagc	tgtgcctcgg	ctcacacac	agattgactg	4200
ctctgacttt	gactactcaa	aattggccta	aaaattaaaa	gagatcgata	tt	4252

10

20

30

【図 1】

1 MGLVLALLS SSSAEYVGL SANQCAVEAK DRVDGYPHF
41 TPKEKNNRGC CFSIRIPGVW WCFXPLOAB CTF

【図 2】

1 MATMENKVLC ALVLVSMIAL GTLARAQTEI CTVAPELRQN
41 CQFPGVTFPSQ CANKGCCFND TVRGVPCFY ENTIDVPPBE
81 KCMF

【図 3】

1 EKPSPCQCSR LSPHNRINCQ PPGITSDQCF DNGCCFDSFV
41 TGVFWCKHPL EKQSSDQCNV KVSQRNCGY PGISPEACG
81 RKCCFSNFIF EVFWCFPFNS VEDCHY

【図 4】

1 atgtcggagg tggctctgga ettgctgtaa kcaagctatg ctgagagagta cgtggggctg
61 tctgcaaacac aatgtgcgct gctgacgaag gaaagagctg actgggctga ccccaagtcg
121 acccccaggg agtgcacaaa ccggggatgc tggcttgatc ccaggatccc tggagtgtct
181 tgggtgtttaa agtcccctga ggaagcagaa tgcacattct ga

【図 5】

1 atgggacaaa tgggaacaaa ggtgatctgc gacctgctc tgggttcaat gctggccctc
61 ggcacacctgc ccagagcccaa gacagagatg tgaacgtgq ccccccctga aagacagact
121 tgtggttttc ctgggtgca cgcctccagc tktgaaata agggctgcgt ttctgacaaa
181 accgttctgt gggctccctg ggtgctatc ctatatacca tgaagtcctc tccagagag
241 gaggctgaat tttag

【図 6】

1 atgggagcgg gagagcccaa gctccctgaa ggtctctgq tctggggctc aktgacccctg
61 gggggggctg agaaacccct cccctgcgac tgcctcaggg tgaagcccca kaacagagag
121 aactgcgctc tctctggaat caccagtgac cagtgctllg acaatggatg ctgcttgcac
181 tcaagtgctaa ctgggtcccc ctgctgtttc cccccctccc caaagcaaga gtgcgatcag
241 tggcctcagc agtctctgga ccagagaaac tggctcaaac cgggcatcac cccagagaaa
301 tggcctcttc gaaagtggag ctctttnac tctctcttg aagtcacctg gctgtctctc
361 ccagagcttg tgaagagtg caattacaaa

【図 8 - 1】

1 ccttgagggtg cagctgagct agacatggga cggcgagagc cccagatctc ggagcagctc
61 ctgcagctcga gcttatctgc ctctgggggg agtgguaaac cctgttaagt aaggagaggg
121 tcttttttag tctctctctt attctctcta aagaataaaa aaagacaaa caataaatta
181 aacttgagagc gggatggctt atcaaggcat ctggcwatgt gtgtgtctca cagtggattt
241 gcaactcctc acagagctgg cctcaagaaa ggcctccctc ctagguaag gctggagcga
301 gggagagtaa agcagccccc gactggggg agtgguaaat tcccccag gctcttga
361 gtcccagagc actcaactct cgcctggatc tggccttgg gctcctctg tcccccct
421 ctgaagaggt tttgtttctg tttttctgc agacagatc tggcttgcg gcccagggc
481 gagtgcagtg gtgagatctt ggtcaactgc aacctctgc tcccaggtc aagtgaactc
541 ccaacccctc cgcctgagt agctgaaac acagtgtgg accatctgc ccggcgaatt
601 ttttttttgg tatctgttg agagatggag tctgcacatg tggcccaaga tgggtctgaa
661 ctctcgagct cagagatct gctgcctgct gctctcaaa gtgcgggat ttagagtgag
721 agcccccagc cctagctgtt tttttttt ccttttaaaa taataaaaa atbtccgaa
781 agccctatgc gcttctcagg aggaacccgc attgctaaa tatgggcaa ataaagcttt
841 ggttttctct atgtggcaac aagacagtag aggcaccccc tagaaactct gagagaagga
901 gacgtgtgtg ctggggctac aggttggggc cagctgaggg tctttccaa gcccccctgc
961 agtgcctcag gctgagcccc caaaacagaa cgaactgcgg ctctccctga atccacagtg
1021 accagtgctt taacaaagaa tgcctgttgc actcaagtag caatgggggc cccagctgtt
1081 tcccccctc ccaaaagaaa ggaatcttc caggaactct tccagagaa gacgtggga
1141 acccagagac cagcttcaa ggcagagccc agagcagggc ccggagagag ccaagtgtct
1201 agtctaggtg tagctgggtg gaggtagctc cagctagccc ccggttggtt agtctggggc
1261 tagccagagct tggtagtct agagtagcag caggttggtt agtctggggc tagccagagc
1321 tggtagtct ggggtagcag caggttggtt agtctagggc tagttagggc tagttagtct
1381 aaggttaggc caggttggtt aggttaggc tagccagagct tagttagtct ggggttagc
1441 gcccaggtg gtagagctg agttagcga ctgttagtag cttagagta gcttagctg
1501 gcttagctgg ccttagcga ggttagtaga cttagagcta gcccagagtg gtttagctgg
1561 gcttagtagc caggttggtt tagctgggg cttagccagg tgggttagt tagccttagt
1621 taggcttagt tagcttagg cttagccagg tcttagtagt tagagtagc acagcttagt
1681 tagctgggg cttagtagta aggttagta tctggagct agcccaggtt ggttagtcta
1741 gggctagcat aggttagta gcttagagct agtagagct gtttagtag cttagagtag
1801 cccaggttg tagtagtag gtagtagtag gcttagtag cttagagtag cccaggttg
1861 ttaatcaggc cttagccagg tttgttagt agtagtagc caggttagt tagcttagg
1921 ccttagagcc aggttagta gcttagggt agcccaggt tagtagctg tagcttagcc
1981 aggttagtta gcttagggt agcccaggtt ggttagtct ggaactagct gacttagct
2041 tctagagcta gcttaggga ctgttagct agagtagct taggtagct caggttagt
2101 tagctgggg cttagccagg tttgttagt tagtagtag cttagagct agcttaggg
2161 taggaggt tagtagtag gtagtagc tagtagtag gtagtagg tagtagtag
2221 ggttaggt tagtagtag gtagtagc tagtagtag gtagtagg tagtagtag
2281 ttagcttagg actagagtg acttagtag tagtagtag ctagtagg tagtagtag
2341 cttagtag tagtagtag acttagtag acttagtag agcttagg tagtagtag
2401 gtttagtag tagtagtag acttagtag acttagtag agagtagg tagtagtag
2461 gtttagtag tagtagtag acttagtag acttagtag agagtagg tagtagtag
2521 acttagtag tagtagtag acttagtag acttagtag agagtagg tagtagtag
2581 cttagtag tagtagtag acttagtag acttagtag agagtagg tagtagtag
2641 gtagtagtag aagttagg tagtagtag agcttagtag ggttagtag gtagtagg

【図 7 - 1】

1 atgtcggggc tggctctgga ctgtgctgct tccagctctg ctgagagagta cgtggggctg
61 tgtgagtagct gctctgagtg actcggtagg aggttaggt tgaaggagag gtagcagga
121 taaggaggga tctgcatctc atttaataat ggcacccgtg caataataca ctttttctg
181 cgtagcctc tgaagtagg cttttattgt cccatttca cagcaagga aacccaggtc
241 cagagaaggt taacaactta tcccaaggcag cctgcgcag tctgtgtga aatcaggggt
301 tgaagcctgag cccatccctc atgaacccat agcatcttt gctggagatt tctaataac
361 aatatagctc tttatgact gttccacatt taacaagaaa aggaagagat gcaaggagaa
421 aacccctgact taagaaact gtcacatctg gtcacacag aggtcatttc gctatgcat
481 agaaacact ccttgaggt tgggttagag cagagtttgc attaaccaa gtttgaagg
541 ggtctttatc tgggtgtctt ctgagcaggg tcaaaaggcag tggttccga aactgcagcc
601 cattagaatc acctgagag atttaaaat cctaatgtt ggggcacacc agttacatca
661 gggcatctcc aggcagagat caggcctcag ctgttttgt ttagatagc cttgcttgt
721 cactcaactg tggagtgcag tggcaaatc tcaactcact gcaactccg cctcctgggt
781 toaagcaatt ctgtgctgc ggtctcaagt agctgggatt acaggtatgc accacatgc
841 cagatcaatt ttttgatt tttgttagag cagagtttgc actgtatgc caactgtc
901 toaaactcct ggcctcaagt gatctctg ccttgctgc ccaagtgtc ggaattacag
961 gtgttaagca ccatgcccag ccaagctcag tcaattttaa agotctcag ctgattccag
1021 tgtgagcga gttgtagc caggagagata agcaattac gactggagc agagaagagg
1081 aatgtaaagc actgcaagt attgcccatt tcaataaggaa atactcagb cgttaagtga
1141 agcagtgaa ctctgctgc acatacagag atagagggtt gctgaacaa tgaataatc
1201 gggagctgaa ggtgtcccgc gagggtggg acatgtctaa caattcaga agggagatg
1261 caaaaataag tgaagagcag ggcagatgct tgcgaatgat ctctatggc tgtgctctc
1321 ctgtcacagg ttctaattaa acaaaagggc caagtttgt tttgtcaaac aatgaagggt
1381 aacttttgtt ctgggttcaa gggacccag attcccaggg ggtctcctgc agctggaagg
1441 taccaggtc cgtatgtgac ttcccagaaa ggtgataaga gctgccaag gagaagagca
1501 cttaggcaaa tgggcagagt ccccgagctg agcatttaa agactgcctc totttaata
1561 ttccagagga aagtgcatt tctaaagggg gagggtttca gactgtgtt aactggcgg
1621 ggtggggcgg agcgaggaga tgcacactgt caaatgtag caaacactc caccgagct
1681 cagcagaggg cctggcagct gacagggtt tgtctggag agctgcaaa cagtgtccg
1741 tgcagaccaa ggaaggggt gactgggct acccccagct caccccaag gactgcaag
1801 accggggctg ctgcttgag tccagagatc ctggagtgct ttggtgttc aagcccctgc
1861 aggaagcagg taaggccca gggcactgt tctgtggggc cagcccata agggcagggg
1921 tccagagga tccatgat tctggagct gagaatggg caaaagagc ccagagagc
1981 acacacacac aactgttcaa aggcctcaga ggaagggctt cacaattg ggaactgag
2041 cagggggcgt tctctctg tccctttat gtaaaacata aagcaatgg tttaaaaa
2101 gtgttcaaaa tgaatgcat gatagaggg aactgttta gtaactatc tttagagaa
2161 tggaaacgca taggtgtgaa agcggggc cgtttttg aaactgttc aaatggccc
2221 cccagagctc tgcattgtg ggaactccct acacagaggg caggggccc cagccctaga
2281 cgtcagggtt ggtgcgaaa ccccaactcc ccaactctgc ccccaagag gctcaatcc
2341 tctcctctc tctgcggg tggaggggag gtcaggggac acactctg ggggtctctc
2401 cccagggggc gtagagctgc gtgtgtgag ggtacagat ggcctgcac accggttgc
2461 caccctggt ccaacaggt tagctgccc acatgtggg tgggggat ggtgataag
2521 catctgccat gtcacagtc cagctcagc cccacgaag ccgcacctgc gtaggtacc
2581 ttcctggaa cagcatcac aggggctct ctgcctctt gctcaggtt gaaatgcgg
2641 aggtgagtc ctgtggccc cggctcctg atcaatgat ggcctctgc cagggctcc

【図 7 - 2】

2701 cttccacctc cccagcaggt cccgggttag ggtgggggt ggggtccaga gaaagcagg
2761 agagagaggg gctgtgclac tgcctcactc cggcttgtt cctcagct cactggaact
2821 aactcctct ctgggtgaga gcatagagcc tgaacagccc catctcgtt gttatctgc
2881 tgaatcctgg tctgtgagac acacagaggt ggaactgtt gttatctgc
2941 catgtggatg cctctcaaaa cctccggg agctgtgaga gaaagggag ctatgtgta
3001 gctctgagc ctgctgagc uttggaagc tgggcagcgrt ggtgtgag agactgtca
3061 caaaagcctt tntctgtt gtaguagca cttcttagg caactcaga tgcctcggc
3121 cggggagtag gaaagtaga gaacatbga cccgtctga tttgtgag gcaatgtca
3181 tctagatct tagctcctc tgcctcagg agcgtctt gctgaagct catatctga
3241 gctgtgtc ttaagata aagctccat gctccagct

【図 8 - 2】

2701 ttatgttagt gacgggagc aggaaccaa ttgaacgc gacagtgct caaaggaggg
2761 ttatgttagt gctgtgac tgtgtgag gactcagct cgtgtctg agagagagga
2821 ttatcctcaa agattgttgc tggagaggt gctggccc cagagaaa cagcagatg
2881 gtgagttgt cagcagccc cactgaggg cagtgctgt ggaactcat acatgtcca
2941 aagcgttcc attctaaaca ggtgccaaa accctttct catctggcc cggggagga
3001 cccatttaa tgagaacac gactccag aggaataatt atttccaaa gggggggag
3061 tccagagctt ctgactgga caaccacca tggggccccc ctctcgag gacagcga
3121 ccaagctgc ctggggcga caattcaaa gtcccgggg gggggcgtc caggggcca
3181 caattcaaa gctcccgg gagggtgc cggggatgc tgcacaga agactcat
3241 gatccagga ggtgcaaat agcgtgct ctacagagc gaaaggtgc agtttccag
3301 ggcacagag gctgactgg gctcgggtc tgtgctgct ccatgagga gtcgagtag
3361 tggctcatg aggtctaga cgaagaaaac tgtgctacc agggatcac cccagagaa
3421 tgcctctc ggaagtgt ctcttcaac ttcatcttg aagtgcctt gctgtcttc
3481 cgaagcttg tgaagtaga cgtcgtgtg gactctctg tctgtgtcc ggaacaaat
3541 attcctctc gctccatga ggtgggtg agagagga gctgtgag agcttagt
3601 ccatcagggc cagggcccct gctcctatg gactctgaa ggaactcaa gactgtct
3661 ggaacagaa cgttctttc aataagtta tagctctcag cactgccc gctcactg
3721 tgaatgctt agaaacagag gctcatcct gttgcctccc caggtgtgc aaggttaga
3781 gggcttgc tttttattgc aagccatct gacttagg gactaggt gcttgcact
3841 gctcgggta cagagaggg ccaactcaa gcaagcttg cccctcttc cgtgggttc
3901 cgtctccc ccaatgag ccaatgag caactcaac caagctct gctcaggga
3961 gtcocggag ggtcccgc ggaaggtga accgttccc tcttccccc gcttagta
4021 tagtgtgtc ctgactgga gttggtcga gtaaaaaa accaagaga tcaagaaaa
4081 tgggggaaa gctactgccc cttgaagat gctctttct tctctttg taggatata
4141 aagcactcca aagagcgaat tatttctgt taagatttt ccagtgatt ttttttagt
4201 gactaaagg tccactaga aagtgtcac tttcttggg agactcggc ccaagagga
4261 aactctgc tgggtggga agtttgtt cttttaac cctccggc gaagagagct
4321 cttctctc tagtagctc ctgggaaa tagtagcag caccocagg tgcagact
4381 aggcactccc atttctggg tctcctaac caactctt caattaaat cttagactc
4441 catcataag agaggtggt tccagagat gcaactgct cccgggtgt tccagaaa
4501 aagaagaaa tctgcctat cagctcata cttcatgaa tctgggttt totaacct
4561 atttctcaa ttttcaatg ttaaacatat aatttctta aactaaaccc taaactctg
4621 ct

【図 9 - 1】

```

1  atccctgaat cgggctggcc ttgtgacagc agagaggagca atgggcacca tggagaacaa
61  ggtgatctgc gcctgggtcc tgggtgcaat gctgggacctc ggcaacctgg ccagagcccca
121  gacaggtaag gctgtccttc tgggtgcaat gctgggacctc ggcaacctgg ccagagcccca
181  ccaggagcca ctgttttaca taactatitt tggagacctg ttgtgtgcca ggtgtgtgtc
241  taagacctba aaagtatare caatttcagg gttcgggaaa agcagtgaga ggttaaccca
301  ggtgtgacag gcccccagay acuttcagga agtgcagaga ggaaggaggtt gcttcaagtc
361  ggggctgttt tctgtgttta ggaagatatt acaattctcc caagtgtcat gtttcaaaaga
421  ggaagtggtg ggttgagggtc tcaagatagt gcttttgaat gtttcaacca acatctcccc
481  caggggcaga cctctcaag gccatccag ataggcccaa atgcgggtcc caagtgtggtc
541  cactcggag accctctccc acaggtccga atgcgggtcc caagtgtggtc caactggag
601  acctctccct acaggtctcc cggctccctc ggaatccatg ctctgggagt caagaccacc
661  ctctctatga gtgcgtggtt ggcacacctt attcctcgtt gttgtcaagt ggaatgtgtg
721  cctcaggtcc ctctctatga tggagtgaga ggcacacctt gcttctcgtt ggaatgtgtg
781  cctctcaact ccttctatga cagaatgagt caacgggtct cctcaggtct ggaaggaat
841  gctgtgtggt agcatctggt acttgccttt tgcagctgt gggagctga ataatctatt
901  tgcctttatt aggtacagtt tcaaggtggt ggcagggaga aggaatctct agcttccaa
961  agcaagggtt tccagaggg ccttgaggg ccttgaggg tgggtggtc cgtgccccca
1021  ctgcctccca gctacctctt gattctggt gtgggttacc ggaactgagg ggtgggtgtg
1081  ggcagctgag aagagcagcc agcatgtggt tgcagtgaga agaaccccaa gccacaggga
1141  gggagcgggg gactgttga acctcagga ggaagtggtc gctgtgtana gaacgaactg
1201  ggtgggtccc cgtgtgtggt accccagga ggaatgtggt ggcacttgc cccaccccaa
1261  gcccccagct ctgcctctly tgcgtgtgga tcaagaggg cgtgagaaa tccccccccc
1321  accccacaca cctctggtt taaggtccag aggtctctg cgtgacccc agtccatga
1381  tctgtttaca actgaatct agaatgtgt gattacagtt taagtcatte ggtgtgaaa
1441  accatttcca ttattttcca tcatgtgaga aaggaacagg ggtgtgaaa gaacagatnn
1501  gccggagcca gacagcggg gctgtggtc tctctccgt agaggaac cccccagaa
1561  cccagagatg tgaatctccc tccacaggg gctctctgt accccacag tgcctcgggg
1621  gtggagatg atcaccttca cgtcggatg gactcagacc ccaggagggc aggttccca
1681  tggagagctg tgggcaggg gactgtgaga ggaatcttc ccagagaggt agaacactt
1741  tctccaaaga cctctgaggt cagtcctga tgcacaaaga gacagagaa cagccctct
1801  cggctccccc tgggggccc tcaactgag aagtgtggt agactgagt cctccctcc
1861  tatgccccaa ggcagggaga ggaacggag ggtgctctg gctctcttt ccccccctg
1921  tgcagagctg caaccacag atccaatag gttgctttt gagaacttt attcccgga
1981  gctcagagct tgaagctct gttgttgaac ctcttgata agactctgg ccagccccc
2041  gccagcccca tctgtccag tgttctctc ctctagatc attctctac tgcctgtct
2101  caagctgtt gacgtgtg aduolctg ggtctctct agaacccccc accagctct
2161  ctcaacttuc ctgcaatgg ttcccactc ctgaacacac ctgggtctct ggaatggct
2221  tgcacatgc ggtctcatct taactgtgtt aactcctcc tgcagggag cccctcgtt
2281  tqtccactt gctgtcatt ggtctctgt gggagtgcct rancocgtg gttacctgg
2341  gacccctgg acatggctt tgcgtgtgt cgcacatgt cttgctttt tctccatca
2401  gactcctaga ctctttttt ttctttttt agatggagc ttgctgtg aactcagctg
2461  ggtgcaaga gtgcagctt gctcctac aactctgct tctggtgtc agtgatct
2521  cctgctcag cctccaggt agctggatc acagagctt gccacatgc cgcctaatc
2581  tttgtattt ttagtagaga tgggcttca cactctggt caggctgtc tgaactctc
2641  gactcaagt gattcactc ctccagctc ccaagctgt ggaattacg gcatgagct
2701  gggccagat alttagact ttatcaatg ctctctggt ttaacttct ggtctctct

```

【図 9 - 2】

```

2761  cactcggac agtgcctggtc ttgtgcaat ctatgctcca attctatgc acacaaatgg
2821  tgcctagtaa atatttattg attgagtaaa atttaataat atttctgga naattaaaaa
2881  tgaataaata agttacatag aaagtgcaa agtgcacaaa cctggggaa ctcgacttt
2941  ccttgcgggt natgttgc caatagagt tggagacac gctctctct caagtctga
3001  ggttttata tccgctcac tggacagtgt ctgaltcat tggagaaga agctgagtg
3061  ggtgtgcat gataacatca aggaattcag cccacaaatt aatttctt ttaactgtg
3121  acttccagag aagtgtacag tggccctcag tgaagacag aatttctt ttaactgtg
3181  cagccctcc cagtgtgaa atagggtgt ctgttctgac gaacctgtc gttgggtccc
3241  ctggtgtctc tatcttaata ccatcagagt cccctcagaa ggtatggtt ttctataaga
3301  tgggttctga agattcaga ttagtagaa agtcaatga agctcagaa ggtctggtc
3361  agtatccca gctatgctt taacagagt caaggccgc agtgggtgt caatgggtc
3421  gctgagtaac ggtgtcatc agtccagga atagaaaggc agggctaag gacttggaa
3481  gaaacctgat tccccctg ctctcttca cactctaac caaagctgt ggaagacca
3541  ctgttgttaa cgtttctag ctgctcagg atagagggg agggcatgc gaactctga
3601  gacatttcat gattctttt ttctttttt ttcttgaat ggaatctgtc tgcgtgccc
3661  ctgagctgga gtgcaatggt ggaatctgt ctactgaaa tctctgctc ctgagctcaa
3721  actcagctc ctatgagtg agttacagg tgtgtgcaa tccgcccagc taatttttt
3781  ttctattttt agtatagag ggttttacc agtgggcca gacagctct gaactctga
3841  cctcagctga tctgcccgc tccgctccc agagagctg gattacagg gtgacccc
3901  gtcgcccgt gacgttcat gtttctaaa gaatgtgct atgtatact taagtaaaa
3961  actctgtaat tgtttaatg tgaagaaaa tcttctact cactaaaga tctctcttc
4021  cctccccct acccctgag aggaatgga attttagca ctctcggg gactcgtct
4081  cactcaggt cgtgcccgc cccagagg tgaatagtc cagagctgc ctgtcactc
4141  caccggacac ctgagacag ctctgagc tgtgctgg ctacacac agattgactg
4201  ctctgactt gactactca aatggcta naattaaaaa ggaatgata tt

```

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/31998
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61K 38/00; G01N 33/53; C07F 5/00, 14/00 US CL : 435/7.1; 514/2, 424/78, 06; 530/300, 350 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 435/7.1; 514/2, 424/78, 06; 530/300, 350 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6,228,840 B1 (PODOLSKY) 24 April 2001 (20.04.2001), see entire document.	1-48
A,P	US 4,426,404 B1 (PODOLSKY) 30 July 2002 (30.07.2002), see entire document.	1-48
A,E	US 2002/0187487 A1 (GOLDENRING et al.) 12 December 2002 (12.12.2002), see entire document.	1-48
A	US 6,063,755 A (PODOLSKY) 16 May 2000 (16.05.2000), see entire document.	1-48
A,P	US 2002/0052483 A1 (PODOLSKY) 02 May 2002 (02.05.2002), see entire document.	1-48
A	FR 2 769 502 (LINTNER) 16 April 1999 (16.04.1999), see entire document.	1-48
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 19 March 2003 (19.03.2003)		Date of mailing of the international search report 28 MAR 2003
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer Tyler Yvonne Telephone No. 703-308-0196

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/31998

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:

WEST 9US PATENTSW FULL TEXT, US PRE-GRANT PUBLICATIONS, JPO, EPO, DERWENT WORLD PATENTS, IBM TECHNICAL DISCLOSURE BULLETINS, MEDLINE, JAPIUO, SCISEARCH, WPIDS, CAPLUS, EMBASE, A GENSEQ, US PATENT ISSUED PATENTS, US PBLISHED APPLICATIONS DATABASE, PIR 73, SWISSPROT 40, SPTREBL 21
search terms: trefoil, spasmolytic sp2, itflesion, dermal, dermis, cut, scar, burn, therapeutic, bacteria, steroid, bacterial, dressing, medical, therapeutic, drug

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/192	A 6 1 K 31/192	4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/194	A 6 1 K 31/194	
A 6 1 K 31/245	A 6 1 K 31/245	
A 6 1 K 31/27	A 6 1 K 31/27	
A 6 1 K 31/327	A 6 1 K 31/327	
A 6 1 K 31/343	A 6 1 K 31/343	
A 6 1 K 31/4164	A 6 1 K 31/4164	
A 6 1 K 31/4174	A 6 1 K 31/4174	
A 6 1 K 31/4178	A 6 1 K 31/4178	
A 6 1 K 31/4196	A 6 1 K 31/4196	
A 6 1 K 31/43	A 6 1 K 31/43	
A 6 1 K 31/496	A 6 1 K 31/496	
A 6 1 K 31/505	A 6 1 K 31/505	
A 6 1 K 31/519	A 6 1 K 31/519	
A 6 1 K 31/522	A 6 1 K 31/522	
A 6 1 K 31/545	A 6 1 K 31/545	
A 6 1 K 31/5513	A 6 1 K 31/5513	
A 6 1 K 31/56	A 6 1 K 31/56	
A 6 1 K 31/57	A 6 1 K 31/57	
A 6 1 K 31/573	A 6 1 K 31/573	
A 6 1 K 31/58	A 6 1 K 31/58	
A 6 1 K 31/59	A 6 1 K 31/59	
A 6 1 K 31/65	A 6 1 K 31/65	
A 6 1 K 31/70	A 6 1 K 31/70	
A 6 1 K 31/7048	A 6 1 K 31/7048	
A 6 1 K 31/7056	A 6 1 K 31/7056	
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 L 27/00	A 6 1 L 27/00	V
A 6 1 L 31/00	A 6 1 L 31/00	P
A 6 1 P 17/00	A 6 1 L 31/00	T
A 6 1 P 17/02	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 31/10	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 31/10	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 35/00	
// C 0 7 K 14/47	A 6 1 P 37/02	
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	C S P A
	C 0 7 K 14/47	Z N A

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW, ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES, FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,N O,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

Fターム(参考) 4C081 AA02 AA12 AA14 AC02 AC04 BA01 BB07 BB08 BC02 CA172
CA232 CD111 CD112 CD122 DA02 DA12
4C084 AA02 AA03 AA19 BA01 BA08 BA20 BA21 BA22 BA23 CA18
MA02 MA13 MA17 MA23 MA28 MA63 NA05 NA14 ZA892 ZB132
ZB262 ZB322 ZB332 ZB352
4C086 AA01 AA02 BA05 BC38 BC42 BC50 BC56 BC60 CB07 CB09
CC04 CC14 DA08 DA10 DA11 DA12 DA29 EA02 EA15 GA02
GA04 GA06 GA07 GA12 MA02 MA04 MA13 MA17 MA23 MA28
MA63 NA05 NA14 ZA89 ZB13 ZB26 ZB32 ZB33 ZB35
4C206 AA01 AA02 CB25 DA17 DA36 DB31 FA01 FA36 GA03 GA18
GA25 GA31 JA71 MA02 MA04 MA22 MA33 MA37 MA43 MA48
MA83 NA05 NA14 ZA89 ZB13 ZB26 ZB32 ZB33 ZB35
4H045 AA10 AA30 BA10 CA40 EA20 FA74