

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7481252号
(P7481252)

(45)発行日 令和6年5月10日(2024.5.10)

(24)登録日 令和6年4月30日(2024.4.30)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	47/60 (2017.01)	A 6 1 K	47/60
A 6 1 K	38/10 (2006.01)	A 6 1 K	38/10
A 6 1 K	38/16 (2006.01)	A 6 1 K	38/16
A 6 1 P	9/14 (2006.01)	A 6 1 P	9/14
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
請求項の数 15 (全38頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2020-503928(P2020-503928)	(73)特許権者	397060175
(86)(22)出願日	平成30年7月26日(2018.7.26)		ヤンセン ファーマシューティカ エヌ.
(65)公表番号	特表2020-528903(P2020-528903 A)		ベー.
(43)公表日	令和2年10月1日(2020.10.1)		ベルギー国 ベー. - 2 3 4 0 ベルセ
(86)国際出願番号	PCT/US2018/043821	(74)代理人	100092783
(87)国際公開番号	WO2019/023418		弁理士 小林 浩
(87)国際公開日	平成31年1月31日(2019.1.31)	(74)代理人	100095360
審査請求日	令和3年7月9日(2021.7.9)		弁理士 片山 英二
(31)優先権主張番号	62/537,049	(74)代理人	100093676
(32)優先日	平成29年7月26日(2017.7.26)		弁理士 小林 純子
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100120134
前置審査			弁理士 大森 規雄
		(74)代理人	100194423
			弁理士 植竹 友紀子
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 標的放射線治療誘発性血管完全性を保護する方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

標的放射線治療に曝露された対象における血管完全性の保護のための、配列番号1のアミノ酸配列を含むトロンボポエチン（TPO）ミメティックを含む組成物であって、
標的放射線が、20～70グレイ（Gy）の線量で投与され、
前記血管完全性の保護は、
（i）前記対象が体重増加率の低減から保護されること、
（ii）前記対象が陰部動脈血管拡張障害から保護されること、
（iii）前記対象が低減された血管収縮を有すること、
（iv）前記対象が低減された血管漏出を有すること、または
（v）前記対象が低減された血管内皮白血球相互作用を有すること、
のいずれかである、組成物。

【請求項2】

標的放射線治療に曝露された対象における血管完全性の保護のための、トロンボポエチン（TPO）ミメティックを含む組成物であって、
前記TPOミメティックが、下記の式（I）

The chemical structure represents a 100 kDa protein complex, consisting of two identical subunits linked by a disulfide bond. Each subunit features a large protein domain with a hydrophobic core, a long flexible loop, and a terminal region containing a hydroxamic acid group. The structure is labeled with 'MPEG' at the N-terminus and 'NH₂' at the C-terminus.

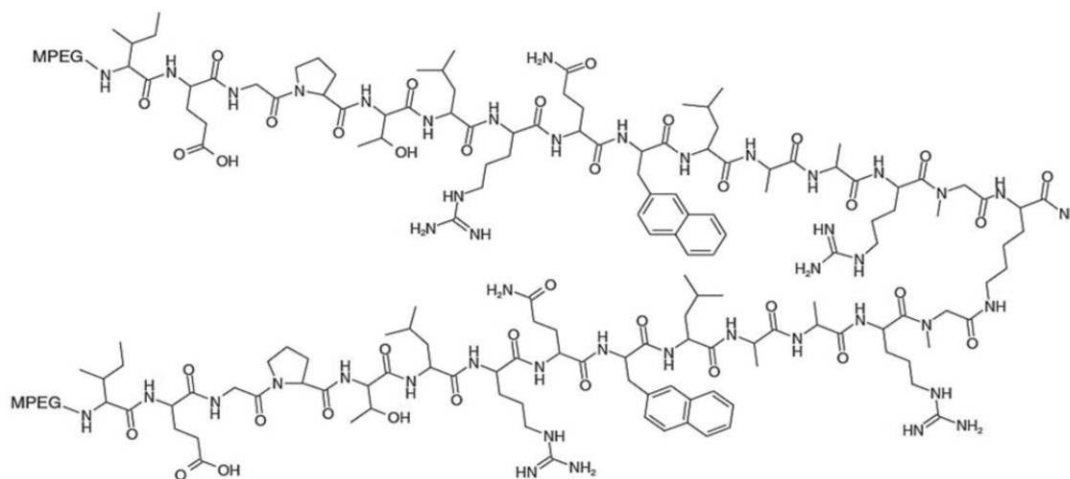
10

20

のいずれかである、組成物。

30

【化 2】



式(I)

【請求項 4】

標的放射線治療に曝露された前記対象が、がんの治療中である、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

前記がんが、前立腺がん、頭頸部がん、肝細胞癌、結腸がん、肺がん、メラノーマ、膵臓がんおよび乳がんからなる群から選択される、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記対象が前記放射線に曝露されてから少なくとも約 10 分～少なくとも約 420 分後に、前記対象に前記 TPO ミメティックを投与する、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

前記対象が放射線に曝露されてから少なくとも約 20 分～少なくとも約 360 分後に、前記対象に前記 TPO ミメティックを投与する、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記対象が放射線に曝露されてから少なくとも約 40 分～少なくとも約 240 分後に、前記対象に前記 TPO ミメティックを投与する、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

前記対象が放射線に曝露されてから少なくとも約 60 分～少なくとも約 180 分後に、前記対象に前記 TPO ミメティックを投与する、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記標的放射線治療および有効量の前記 TPO ミメティックの投与後、前記対象が陰部動脈血管拡張障害から保護される、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 11】

前記標的放射線治療および有効量の前記 TPO ミメティックの投与後、前記対象が低減された血管収縮を有する、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 12】

前記標的放射線治療および有効量の前記 TPO ミメティックの投与後、前記対象が低減された血管漏出を有する、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 13】

前記標的放射線治療および有効量の前記 TPO ミメティックの投与後、前記対象が低減された血管内皮白血球相互作用を有する、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 14】

前記標的放射線治療が外部放射線治療、内部放射線治療、および全身ラジオアイソトープ治療からなる群から選択される、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 15】

標的放射線が、10～70グレイ（Gy）の線量で投与され、

前記 TPO ミメティックが、RWJ-800088、または薬学的に許容されるその塩もしくはエステルである、請求項 2 から 14 のいずれか一項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

電子出願配列表への参照

本出願は、2018年7月24日付作成の約3.7 kb サイズのファイル名「配列表」を有する ASCII 形式の配列表として EFS-Web により電子出願された配列表を含む。EFS-Web により提出された配列表は、明細書の一部であり、参照により本明細書にその全体を組み込む。

【0002】

本発明は、血管完全性を保護する方法、より詳細には、標的放射線治療に曝露された対象における血管完全性を保護する方法に関する。本方法は、対象に有効量のトロンボポエチン（TPO）ミメティックを投与することを含む。

【背景技術】

【0003】

急性放射線症（ARS）は、放射線毒性または放射線障害としても知られる、著しく短期間の、高線量の透過放射線による全身（または体の大部分）への照射がもたらす急性疾患である。急性放射線症は、罹患および死亡をもたらす多相プロセスである（Waselenko et al., Ann. Intern Med. 140 (12):1037-51 (2004)）。照射の即時作用が血管系内にみられ、その後明白な造血作用が続く（Krigsfeld et al., Radiat. Res. 180(3):231-4 (2013)）。照射後24時間以内に、血管内皮細胞は接着分子（例えば L-セレクチン）を発現し、それによって白血球粘着および血管外遊出が促進され、免疫応答をもたらす（Hallahan et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 217(3):784-95 (1995)、Hallahan et al., Radiat. Res 152(1):6-13 (1999)）。これらの初期の血管作用は、基底膜の露出および出血を伴うことがあり、次いで微小血栓の形成をもたらす。微小血栓形成は、形成の程度に応じて血小板および繊維素溶解性因子の枯渇をもたらす。照射による造血幹細胞の減少に起因して、血小板集団を効率的に補充することができないため、血小板減少症が続き、さらなる血管壁厚の減少および播種性血管内凝固への進行をもたらす。したがって、血管内皮の保護は放射線誘発性損傷および死亡率を軽減し得る（Rotolo et al., J. Clin. Invest. 122(5):1786-90 (2012)）。

【0004】

放射線曝露後に周辺正常組織に傷害をもたらす病理発生は複雑である。電離放射線は、直接の細胞毒性（活性酸素種の過剰な産生）、炎症、および先天性免疫応答を介して、実質細胞死および血管細胞死のいずれの細胞死ももたらす（Kim et al., Radiat. Oncol. J. 32(3):103-15 (2014)）。一部の变化は急性的に発現し（すなわち炎症、血管内皮損傷、微小出血）、一方、他の变化は放射線曝露から数週間から数カ月後に現れる（すなわち慢性炎症、神経機能障害、傷痕および線維症）。線維芽細胞増殖は、放射線治療（RT）損傷後期の重要な構成要素である（Brush et al., Semin. Radiat. Oncol. 17(2):121-30 (2007)）。

【0005】

放射線で誘発された罹患および死亡の多重な面が血小板の減少に由来すると仮定して、数名の研究者はそれぞれ、トロンボポエチン（TPO）ベースの治療が急性放射線症を予防するために有効であるかどうかを評価している。（Mouthon et al., Can. J. Physiol. Pharmacol. 80(7):717-21 (2002)、Neelis et al., Blood 90(7):2565-73 (1997)）

10

20

30

40

50

。生存促進のための可能性を有するメカニズムは、骨髄保護および血小板刺激の作用、ならびに血管内皮に対する直接的保護および／または修復作用を含む。トロンボポエチン（TPO）は、肝臓で合成され、分泌される成長因子である。TPOは、巨核球上のc-mpl（血小板熟成を刺激するため）および存在する血小板（ネガティブフィードバックを提供する）に結合することによって、血小板レベルを制御する（Mitchell and Bussell, *Semin. Hematol.* 52(1):46-52 (2015)）。TPOはまた、血管内皮細胞上に位置するc-mpl受容体と結合することによって、血管系に直接作用する（Langer et al., *J. Mol. Cell Cardiol.* 47(2):315-25 (2009)）。ドキソルビシン媒介性心血管損傷（Chan et al., *Eur. J. Heart Fail.* 13(4):366-76 (2011)）、心血管虚血再灌流障害（Baker et al., *Cardiovasc. Res.* 77(1):44-53 (2008)）、および脳卒中（Zhou et al., *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 31(3):924-33 (2011)）の動物モデルにおけるトロンボポエチンの直接血管保護作用を実証する研究が、それぞれある。しかしながら、組換えヒトTPOは、慢性血小板減少症に至り得る交差反応抗体を内因性TPOに誘導するため、ヒトにおいては実行可能な治療ではない（Li et al., *Blood* 98(12):3241-8 (2001)）。

【0006】

例えば高線量定位体放射線治療（SBRT）または定位放射線手術（SRS）などの標的放射線によって、相当な血管損傷が誘発され得る（Park et al., *Radiation Research: March 2012, Vol. 177, No. 3, pp. 311-327*）。放射線誘発性血管損傷は、高線量標的放射線に対するヒト腫瘍の応答において重要な役割を果たす可能性、例えば腫瘍内の微小環境への損傷が腫瘍細胞の間接死をもたらし得ることを示唆する。同上。しかしながら、標的放射線で処置した多くの患者で、その処置の結果、副作用が起きる。例えば、頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）で根治的な標的放射線治療の処置を受けた患者の90%に、皮膚炎、口内乾燥（唾液産生消失）、および口腔粘膜（口腔咽頭および／または食道粘膜の炎症および潰瘍）を含む副作用が起きる（Birrer et al., *Radiation Research*, 188(1):94-104 (2017)）。血管損傷が標的放射線後に役割を果たすと仮定されている別の例は、前立腺がんの処置のための前立腺の標的照射の後の勃起不全の文脈においてである（Gaither et al., *The Journal of Sexual Medicine*, 2017, 14(9):1071-8およびNolan et al., *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2015, 91(4):796-806）。標的放射線治療により誘発された血管の変化に対するTPOまたはTPOミメティックの作用は報告されていない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

放射線治療後に正常な組織の保護を提供する方法および組成物への重大で満たされていない必要性が存在する。

【課題を解決するための手段】

【0008】

驚くべきことに本発明において、標的放射線治療後にトロンボポエチン（TPO）ミメティックが正常組織において血管系を保護し、かつ血管完全性を保存することを発見した。したがって、本明細書において、標的放射線治療に曝露された対象における血管完全性を保護する方法を提供する。該方法は、標的放射線治療に曝露された対象に、有効量のトロンボポエチン（TPO）ミメティックを投与することを含み、好ましくはTPOミメティックは配列番号1のアミノ酸配列を含み、より好ましくは、TPOミメティックはRWJ-800088またはロミブロスチムである。本出願の実施形態によると、TPOミメティックは、対象が標的放射線治療に曝露されてから少なくとも約10分～少なくとも420分後に投与され、より好ましくは、TPOミメティックは、以下の構造式（I）

【0009】

10

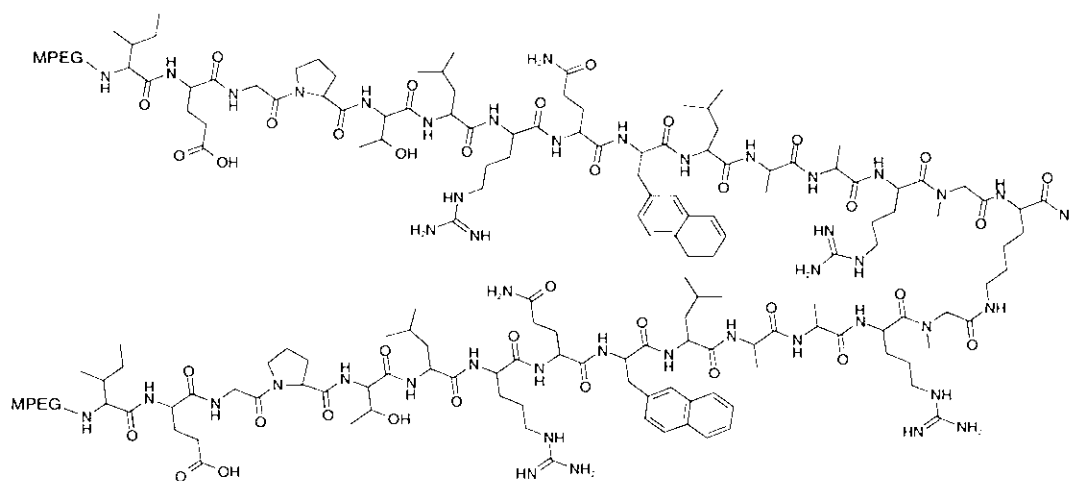
20

30

40

50

【化 1】



式(I)

【式中、M E P Gはメトキシポリエチレングリコールまたはメトキシポリ（エチレングリコール）を表す】を有するT P O m、または薬学的に許容されるその塩もしくはエステルであり、

対象への有効量のT P Oミメティックの投与は対象の血管完全性を保護する。

【0010】

ある特定の実施形態において、標的放射線治療に曝露された対象は、がんの処置中である。例えば、がんは、前立腺がん、頭頸部がん、肝細胞癌、結腸がん、肺がん、メラノーマ、および乳がんからなる群から選択され得る。

【0011】

ある特定の実施形態において、T P Oミメティックは、対象が標的放射線治療に曝露されてから少なくとも約20分～少なくとも約360分、少なくとも約40分～少なくとも約240分、少なくとも約60分～少なくとも約180分後、またはその間の任意の間隔時間で対象に投与される。

【0012】

ある特定の実施形態において、対象は、有効量のT P Oミメティックの1用量を投与される。

【0013】

ある特定の実施形態において、静脈内、筋肉内、皮内、または皮下注射によって有効量のT P Oミメティックが、対象に投与される。より好ましい実施形態においては、T P Oミメティックは、皮下注射により投与される。

【0014】

別の総括的な態様において、本出願は、それを必要とする対象における血管完全性の保存用のキットに関する。キットは、有効量のT P Oミメティックおよび薬学的に許容される担体を含む医薬用組成物、ならびに少なくともさらに1種の追加の治療剤または血管完全性を保存するためのデバイスを含む。場合により、キットはT P Oミメティックを対象に投与するためのツールをさらに含む。好ましくは、キットは配列番号1のアミノ酸配列を有するT P Oミメティック、より好ましくはRWJ-800088またはロミプロスチムのT P Oミメティックを含む。

【0015】

上記の発明の概要および下記の本出願の好ましい実施形態の詳細な説明は、添付の図面と合わせて読むとよりよく理解されるであろう。しかしながら、本出願は、図面に示される正確な実施形態に限定されるものではないと理解されるべきである。図1～10に使用される場合、「T P O m」は、RWJ-800088を意味する。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】前立腺への20 Gyの標的放射線処置(RT)後の処置によるラットの平均体重を示すグラフである。図1Aは、処置に関わらず、照射後、すべてのラットにおいて体重が増加し続けることを示すグラフを示す。図1Bは、体重増加率(平均g/週/ラット)が群間で有意に異なることを示すグラフを示し、TPOm/shamと生理食塩水/RTラットとの間でのみ、有意なペアワイズ差があった。*は、 $p < 0.01$ を示す。N = 8 ~ 9 ラット/群。

【図2】TPOmが前立腺RT後の陰部動脈血管拡張障害からラットを保護したことを示すグラフである。RT9週間後、超音波心臓検査を使用して、陰部動脈を可視化させ、静脈内ヒドララジン0.4 mg/kg 注入前(Pre)および注入後(Post)に直径を測定した。*は、前と後の動脈の直径間の有意な差($p < 0.05$)を示す(対応のあるt-検定)。N = 5 ~ 8 ラット/群。

【図3-1】TPOmが照射野の外側の血管系を保護することを示す図である。図3Aは、RT9週間後のCD31について染色された血管内皮細胞の免疫蛍光画像を示す。陰茎組織を切除し、冷凍切片にし、血管内皮細胞をCD31免疫蛍光法で可視化させて、免疫蛍光画像を作成した。

【図3-2】TPOmが照射野の外側の血管系を保護することを示す図である。図3Bは、陰茎動脈の断面積を示すグラフを示す。図3Cは、CD31密度(CD31発現/動脈周囲長)の定量をピクセル/周囲長のミクロンとして示すグラフを示す。N = 4 ~ 6 /群。

【図4】ラットにおいて前立腺RT(20 Gy)誘発性勃起不全(ED)が、RTの10分後に投与した単一用量のTPOmによって予防されなかったことを示すグラフである。RT(20 Gy)の9週間後に海綿体神経刺激後の海綿体内圧(ICP)をテストし、平均動脈圧(MAP)に正規化した。神経を4 V、6 V、または8 Vで刺激し、各ラットからの最良の反応を分析に使用した。アスタリスク*は、放射線の有意な作用を示す($P = 0.004$ 、2元配置ANOVA)。N = 6 ~ 7 ラット/群。

【図5-1】RT+TPOm治療群のマウスを使用して実証した、時間放射能曲線(TAC)の抽出のためのスキームを示す図である。図5Aは、研究における早い時点でのデキストランの発現を示す血管系の周囲で選択された矩形関心領域(ROI)の画像を示す。

【図5-2】RT+TPOm治療群のマウスを使用して実証した、時間放射能曲線(TAC)の抽出のためのスキームを示す図である。図5Bは、図5AのROI内の強度80パーセンタイル上で閾値処理を行うことによって特定した血管系の小領域の画像を示す。図5Cは、研究の最終時点で現れた図5Aと同一の領域の画像を示す。図5Aと比較して、強化された血管外発現に注目されたい。

【図5-3】RT+TPOm治療群のマウスを使用して実証した、時間放射能曲線(TAC)の抽出のためのスキームを示す図である。図5Dは、10秒間隔の150時点で測定された図5Bにおいて、視野全体またはTAC全体と血管TACもしくはROIの両方のTACを示すグラフを示す。各観察は、その時点で関連する領域におけるすべてのピクセルの平均発現値である。ROIの各タイプには3本の線があり、連続した組織の3切片を表す。血管TAC(赤色の)は、すべての時点でTAC全体(黒色の)に比べて高いピクセル強度を有することに注目されたい。

【図6】図5において示された研究の抽出された時間放射能曲線(TAC)に基づき、Patlak分析を使用して透過率のスライス状の推定を実証するグラフである。点は、等式(1.5)にある通り $y(t)$ に対する数量 $x(t)$ の観察されたPatlak区画を示す。直線は、データに適合する最小の正方形を示す。適合させた直線の等式が与えられている。透過率は、適合する直線の係数から推定される。スライス全体にわたって推定された係数の変動性が低いことに注目されたい。

【図7】処置前、照射後3日目および7日目のデキストラン透過率を示すグラフであり、生理食塩水およびTPOm(300 ug/kg)は照射6時間後に投与した。

【図8】生理食塩水/RT群の個々の動物に、RT後3日目と7日目の透過率の間に相関

10

20

30

40

50

性がなかったことを示すグラフである。数字の各ポイントは所与の動物のすべてのスライスの平均推定透過値である。

【図 9-1】アクリジンオレンジ生体内顕微鏡を使用して評価した、白血球／内皮細胞の相互作用を示す図である。図 9 A は、1 秒間に 3 つの、縁に沿って進む白血球を示す代表的な連続した画像を示す。血管内皮に沿ってローリングする白血球は、周囲の血流に比べ低速になっていることから容易に区別することができた。

【図 9-2】アクリジンオレンジ生体内顕微鏡を使用して評価した、白血球／内皮細胞の相互作用を示す図である。図 9 B は、各マウスに対して L／E 相互作用に対してプロットしたせん断速度を示すグラフであり、勾配を算出した。図 9 C は、R T がせん断速度と L／E 相互作用との間の関係を有意に変え、一方、T P O m はより高いせん断速度で L／E 相互作用を予防したことを示すグラフである。

10

【図 10】アクリジンオレンジ分析から血管の特徴を示すグラフである。1 匹のマウスにつき最大 4 本の血管を選び、血流速度および血管直径をそれぞれについて決定した。せん断速度は、等式 $((\text{速度}) \times (8)) / \text{直径}$ を使用して算出した。各マーカーは、1 匹のマウスあたりの平均値を表し、エラーバーは、平均 $\pm$ S E M を表す。処置群間で有意な差はなかった。

【発明を実施するための形態】

【0017】

本開示は、少なくとも部分的に、標的放射線治療に曝露された対象における血管完全性を保護するための治療薬としてのトロンボポエチン (T P O) ミメティックの同定に基づく。T P O ミメティックを製剤化し、標的放射線治療に曝露された対象に投与することにより、血管系、特に対象の健康な組織の血管系への放射線の悪影響から保護することができる。

20

【0018】

様々な刊行物、論文、および特許が、背景技術においておよび明細書を通して引用または記載されており、これらの参考文献をそれぞれ参照によりその全体を本明細書中に組み込む。本明細書に含まれている文書、行為、材料、デバイス、物品などの考察は、本発明の文脈を提供する目的のためのものである。そのような考察は、開示されるまたは請求される任意の発明に関しても、これらのいずれかまたはすべてのものが、先行技術の一部を形成することを認めるものではない。

30

【0019】

別段定義されない限り、本明細書に使用されるすべての技術的および科学的用語は、本発明が関わる分野における当業者として一般に理解されるものと同一の意味を有する。そうでない場合は、本明細書で使用されるある特定の用語は、明細書の中で記載される意味を有する。

【0020】

本明細書および添付の請求項において使用される、単数形の「1つの (a)」、「1つの (an)」、および「その (the)」は、文脈により別段の指示が明確でない限り、複数を含むことに注目されなければならない。

【0021】

40

別段記載されない限り、任意の数値、例えば本明細書に記載の濃度または濃度範囲は、すべての例において「約」という語によって修正されるものとして理解されるべきである。したがって数値は、典型的には記載された数値の $\pm 10\%$ を含む。例えば、 $1 \text{ mg} / \text{mL}$ の濃度は、 $0.9 \text{ mg} / \text{mL} \sim 1.1 \text{ mg} / \text{mL}$ を含む。同様に、 $1\% \sim 10\% (w/v)$ の濃度範囲は、 $0.9\% (w/v) \sim 11\% (w/v)$ を含む。文脈により別段の指示が明確でない限り、本明細書で使用されるように、数値の範囲の使用は、すべてのあり得る部分範囲、その範囲内のすべての個々の数値を特に含み、そのような範囲内の整数および数値の端数を含む。

【0022】

別段提示されない限り、一連の要素に先行する用語「少なくとも」は、連続する各要素

50

に関する理解されるべきである。当業者は、ルーティンの実験のみを使用して、本明細書に記載の本発明の特定の実施形態の多くの等価物を認識するか、または確かめることができるであろう。そのような等価物を本発明により包含すると意図される。

【0023】

本明細書で使用される、用語「含む (comprises)」、「含んでいる (comprising)」、「含む (includes)」、「含んでいる (including)」、「有する (has)」、「有している (having)」、「含有する (contains)」もしくは「含有している (containing)」または任意の他のそれらの変形形態は、記載された整数または整数群の含有を意味するが、他のいずれの整数も整数群も排除しないことを意味し、非排他的であるか非限定的であることが意図されることを理解されるであろう。例えば、要素のリストを含む、組成物、混合物、プロセス、方法、物品、または器具は、その要素にのみ必ずしも限定されるものではなく、明示的に記載されていない、またはそのような組成物、混合物、プロセス、方法、物品または器具に内在的でもない、他の要素も含むことができる。さらに、逆のことが特に記載されない限り、「または」は、包括的な「または」および排他的な「または」に関する。例えば、状態AまたはBとは、以下のいずれか1つによって満たされる。Aは当てはまり（または存在し）かつBは当てはまらない（または存在しない）、Aは当てはまらず（または存在せず）かつBは当てはまる（または存在する）、ならびにAおよびBの両方が当てはまる（存在する）。

【0024】

本明細書で使用される、記載された複数要素の間の接続用語「および／または」は、個々のおよび組み合わせた選択肢の両者を包含するものとして理解される。例えば、2つの要素を「および／または」で接続する場合、第1の選択肢は、第1の要素を適用し、第2の要素を適用しないことに関する。第2の選択肢は、第2の要素を適用し、第1の要素を適用しないことに関する。第3の選択肢は、第1と第2の要素をともに適用することに関する。これらの選択肢のいずれか1つは、この意味に該当し、したがって本明細書で使用される用語「および／または」の要件を満たすと理解される。選択のうちの1つより多くを同時適用することはまた、この意味に該当し、したがって「および／または」の用語の要件を満たすと理解される。

【0025】

本明細書で使用される、用語「からなる (consists of)」または変形形態、例えば「からなる (consist of)」もしくは「からなっている (consisting of)」は、本明細書および特許請求の範囲を通して使用されるように任意の記載された整数または整数群の包含を示すが、特定の方法、構造、または組成物に付加的な整数も整数群も加えることはできない。

【0026】

本明細書で使用される、用語「本質的にからなる (consists essentially of)」または変形形態、例えば「本質的にからなる (consist essentially of)」もしくは「本質的にからなっている (consisting essentially of)」は、本明細書および特許請求の範囲を通して使用されるように、任意の記載された整数または整数群の包含ならびに特定の方法、構造および組成物の基礎的または新規の特性を実質的に変更しない、任意の記載された整数または整数群の選択的包含を示す。M.P.E.P. § 2111.03.を参照されたい。

【0027】

本明細書で使用される「対象」は、本発明の実施形態による方法でワクチンを受けるであろうまたは既に受けている、任意の動物、好ましくは哺乳動物、最も好ましくはヒトを意味する。本明細書で使用される用語「哺乳動物」は、任意の哺乳動物を包含する。哺乳動物の例は、限定されるものではないが、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ネコ、イヌ、マウス、ラット、ウサギ、モルモット、サル、ヒト、など、より好ましくはヒトを含む。

【0028】

語「右」、「左」、「下方」「上方」は参照される図面における方向を示す。

【0029】

本明細書で使用される用語「併用」は、対象に2種以上の治療を施す文脈において、1種より多くの治療の使用に関する。用語「併用」の使用は、対象に治療投与する順序を制限しない。例えば、第1の治療（例えば本明細書に記載の組成物）を、第2の治療を対象に対して投与する前（例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、16時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週、2週、3週、4週、5週、6週、8週、または12週前）に、それと同時に、またはその後（例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、16時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週、2週、3週、4週、5週、6週、8週、または12週後に）に投与してよい。

10

【0030】

好ましい発明の成分の寸法または特徴に関する場合に、本明細書で使用される用語、「約」、「およそ」、「総じて（generally）」、「実質的に（substantially）」および同様の用語は、当業者には理解されるであろうが、記載された寸法／特徴が厳密な境界でもパラメータでもなく、機能的に同じまたは相似である、わずかな変形形態を除外しないことを理解されるべきである。最小限、数値的なパラメータを含む参照は、当分野においては許容される数学的および工業的原理を使用して（例えば、丸目誤差、測定誤差または他の系統公差、製作公差など）最下位数は全く変更をしない変形形態は含むであろう。

20

【0031】

本明細書で使用される用語「血管完全性の保護」は、RT後の対象における血管系の機能および構造の少なくとも1つを保存しかつ維持することに関する。血管系の主要な機能は、対象の体内で血液およびリンパ液を運搬し、酸素および栄養分を送達し、組織の廃棄物を取り除くことである。用語「血管完全性の保護」は、体内での血液およびリンパ液の循環が標的放射線治療に曝露後、著しく影響されず変化もしないように、血管系の機能を保存または維持することに関し得る。用語「血管完全性の保護」はまた、1つまたは複数の他の血管系の機能を保存するまたは維持すること、例えばRT後に陰部動脈血管拡張から対象を保護すること、またはRT後の血管収縮を低減することに関する。血管系は、血液およびリンパ液をそれぞれ体中に循環させる、血管（例えば、動脈、静脈、および毛細血管）およびリンパ管からなる。構造的に、血管は外側の内皮層および3つの組織の層、外膜、中膜および内膜で構成される。さらに用語「血管完全性の保護」は、血管系の構造が、放射線治療後に著しく変更されず、影響もされないように、例えばRT後に実質的な血管漏出がない、または血管内皮白血球相互作用の実質的な増加がないように、血管系の構造を保存または維持することに関することができる。

30

【0032】

標的放射線治療

本明細書で使用される用語「RT」、「TRT」または「標的放射線治療」は、好ましくは体の特定の臓器または部分に標的化されたまたは限局化された電離放射線を使用する治療に関する。これは、一般にがんの処置の一部として使用される。標的放射線治療（TRT）はまた、放射線処置、放射線治療、照射、またはX線治療と称されることもある。標的放射線治療には3つ主要な区分がある：外部放射線治療（EBRTまたはXRT）、内部放射線治療、および全身ラジオアイソトープ治療。時には、同一またはわずかに高い線量を送達するために放射線を数回の処置で行うことができるが、これは分割放射線治療と称される。

40

【0033】

外照射療法（EBRT）は、体の外から腫瘍内部に高エネルギー線を直接向ける機械を使用する。EBRTの例は、限定されるものではないが、定位的放射線治療、画像誘導放射線治療（IGRT）、強度変調放射線治療（IMRT）、ヘリカルトモセラピー、陽子線照射治療、および術中放射線治療（IORT）を含む。

50

【0034】

内部放射線は、小線源治療とも称され、この治療では放射性インプラントを体内の腫瘍内または近傍に挿入する。外部放射線処置で可能であるより高い線量をより小さな領域に与えることができる。通常、インプラントと称される小さなホルダーに密封された放射線源を使用する。インプラントの様々な型は、ペレット、シード、リボン、ワイヤー、ニードル、カプセル、バルーン、またはチューブと称されることがある。内部放射線のこのような1例は、肝動脈化学塞栓治療（TACE）である。

【0035】

全身ラジオアイソトープ治療（SRT）は、非密封放射線源治療とも称される。標的放射性薬をSRTで使用し、ある特定の型のがん、例えば甲状腺、骨、および前立腺の全身の処置を行う。これらの薬物は、典型的には標的となる実体、例えばモノクローナル抗体または細胞特異的リガンドと結合し、経口による投与または静脈に注入することができる。次いで薬物は、所望される標的に到達するまで体内を進み、そこで比較的高い濃度で蓄積するであろう。

10

【0036】

一実施形態において、本発明は、頭頸部がんを処置するための標的放射線治療に関する。頭頸部がんの典型的な一連の放射線は、毎日の処置で3～5週間続く。しかしながら、長期間にわたり1日1回線量放射線を投与しても、急速に成長するがんを十分に制御することができない。したがって、ある特定の成長の早い頭頸部のがん、例えば鼻咽頭がんには、放射線の送達を加速させて、1日2回以上の処置を行うことができる（多分割照射法）。一部の実施形態において、頭頸部がんを有する対象を、1日1回投与されるより低い線量からなる標準治療と比較して、1日2回投与するより高い線量の放射線治療で処置を行う。

20

【0037】

EBRTおよび／または小線源治療は、一般に頭頸部がんの放射線処置に使用される。例えば、着脱可能式インプラントは、外部放射線治療後の腔内のブーストとして行われる、口腔、舌、咽頭、および鼻咽頭のがんの処置に使用されてよい。がんの領域にインプラントが置かれ、適当な用量を投与したら取り外す。着脱可能なインプラントの中で最も一般的に使用される放射性物質は、イリジウム192である。一部の実施形態において、例えば放射性線源の恒久留置は、例えば、再発上咽頭悪性腫瘍の処置において、口腔および咽頭の接近可能な原発部再発の緩和のためにまたは頸部のリンパ節転移のために、必要とされる場合がある。ヨウ素125およびパラジウム103は、恒久インプラントに使用される放射性物質であってよい。

30

【0038】

頭頸部がんのための標的放射線の副作用は、例えば、粘膜炎、口腔のもしくは咽頭の粘膜の炎症、または口内乾燥（口腔乾燥症）を含む。頭頸部がんの放射線治療に頻繁に見られる別の合併症は、甲状腺機能低下と称される、異常に低いレベルの甲状腺ホルモンである。

【0039】

別の実施形態において、本発明は、前立腺がんを処置するための標的放射線治療に関する。EBRTおよび高線量率（HDR）小線源治療は、前立腺がんの処置のための主要な2つのタイプの放射線治療である。前立腺がんの標的放射線の副作用は、例えば頻尿、排尿困難、排尿時痛、血尿、尿漏れ、排便痛、直腸出血、性機能障害、例えば勃起不全を含む。

40

【0040】

TPOミメティック

本明細書で使用される、「TPOm」、「TPOミメティック」または「トロンボポエチンミメティック」は、トロンボポエチン受容体と結合し、活性化させることのできるペプチドを含む化合物を意味する。好ましくは、本発明に有用なTPOミメティックにおいて、トロンボポエチン受容体と結合し、活性化させることのできるペプチドは、トロンボ

50

ポエチン（TPO）と著しい相同性を有さない。TPOに対する相同性を欠くことにより、TPO抗体の産生の可能性が低減する。TPOミメティックにおいて有用な、そのようなペプチドの例は、限定されないが、米国特許出願公開第2003/0158116号明細書、米国特許出願公開第2005/0137133号明細書、米国特許出願公開第2006/0040866号明細書、米国特許出願公開第2006/0210542号明細書、米国特許出願公開第2007/0148091号明細書、米国特許出願公開第2008/0119384号明細書、米国特許第5,869,451号明細書、米国特許第7,091,311号明細書、米国特許第7,615,533号明細書、米国特許第8,227,422号明細書、国際公開第2007/021572号パンフレット、国際公開第2007/094781号パンフレット、および国際公開2009/148954号パンフレットに記載されるものが挙げられ、その全体の内容を参照により本明細書に組み込む。より好ましくは、本発明に有用なTPOミメティックにおいて、トロンボポエチン受容体と結合し、活性化させることのできるペプチドは、ペプチドの1種または複数の特性を向上させる部分と共有結合する。非限定的な例として、部分は親水性ポリマーであってよく、限定されないが、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリプロピレングリコール、ポリ乳酸およびポリグリコール酸を含む。部分はまた、ポリペプチド、例えばFc領域またはアルブミンであってよい。

【0041】

好ましい実施形態において、本発明に有用なTPOミメティックは、アミノ酸配列IEGPTLRQXaaLAARYaa（配列番号1）を有するペプチドを含み、式中、Xaaはトリプトファン（W）、またはβ-（2-ナフチル）アラニン（本明細書において「2-Nal」と称される）であり、Yaaはアラニン（A）またはサルコシン（本明細書においては「Sar」と称される）。配列番号1のペプチドがPEGと共有結合しているか、またはFc領域に融合されることが好ましい。

【0042】

一部の実施形態において、本発明に有用なTPOミメティックは、PEG、好ましくは約5,000～約30,000ダルトンの平均分子量を有するPEGと共有結合した配列番号1のペプチドを含む。好ましくは、PEGは、モノメトキシポリエチレングリコール（MePEG-OH）、コハク酸モノメトキシポリエチレングリコール（MePEG-S）、コハク酸スクシンイミジルモノメトキシポリエチレングリコール（MePEG-S-NHS）、モノメトキシポリエチレングリコール-アミン（MePEG-NH₂）、トレシル酸モノメトキシポリエチレングリコール（MePEG-TRES）、およびモノメトキシポリエチレングリコール-イミダゾリル-カルボニル（MePEG-IM）からなる群から選択される。ペプチドのPEG化は、効果を消失させずに化合物除去の低減をもたらす。例えば、参照によりその全体を本明細書に組み込む、米国特許第7,576,056号明細書を参照されたい。

【0043】

好ましい一実施形態において、本発明に有用なTPOミメティックは、RWJ-800088またはその誘導体である。本明細書で使用される「RWJ-800088」は、下記：

【0044】

【化2】

IEGPTLRQ(2-Nal)LAAR(Sar)

K(NH₂)

IEGPTLRQ(2-Nal)LAAR(Sar)

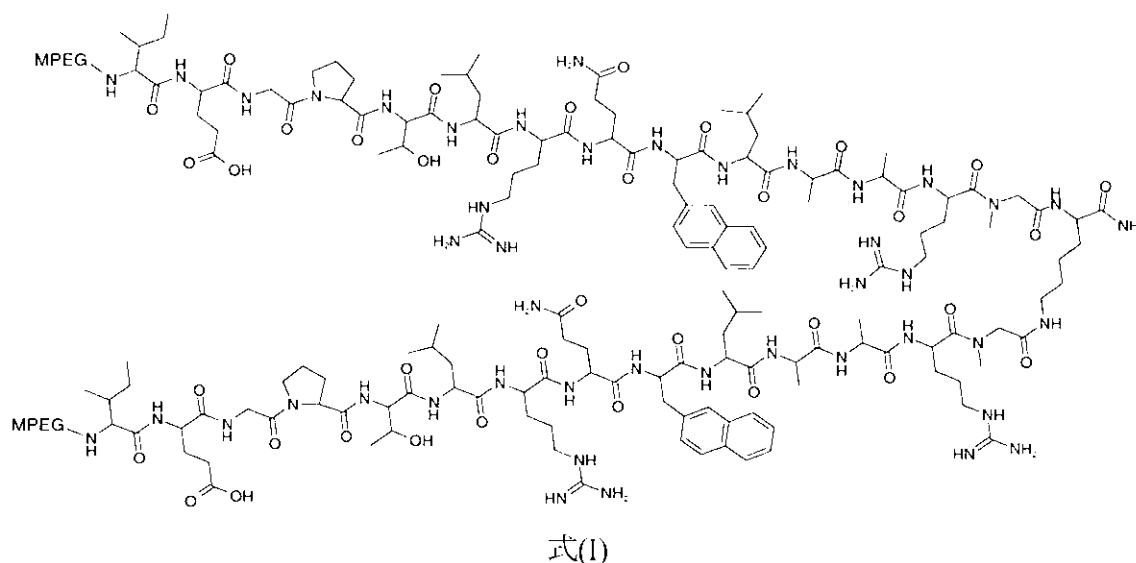
のようにリジンアミド残基によって結合した2つの同一の14量体を有し、各N-末端イソロイシンと共有結合したメトキシポリ(エチレングリコール)(MPEG)を有する29量体ペプチド、または薬学的に許容されるその塩もしくはエステルを意味する。14量体は配列番号1と同一であり、式中、Xaaは2-Nalであり、YaaはSarであり、したがって、RWJ-800088は、リジンアミド残基によって結合した2つの配列番号2(IEGPTLRQ(2-Nal)LAAR(Sar))の14アミノ酸ペプチド鎖で構成され、各N-末端イソロイシンは、メトキシポリエチレングリコール(MPEG)鎖と結合している。したがって、RWJ-800088は、(MPEG-Ile-Glu-Gly-Pro-Thr-Leu-Arg-Gln-(2-Nal)-Leu-Ala-Ala-Arg-(Sar))₂-Lys-NH₂の簡略分子構造を有し(式中、(2-Nal)はβ-(2-ナフチル)アラニンであり、(Sar)はサルコシンであり、MPEGはメトキシポリ(エチレングリコール)ある)、または薬学的に許容されるその塩もしくはエステルである。好ましくは、MPEGは、およそ20,000ダルトン分子量を有するか、またはメトキシポリエチレングリコール20000を表す。

【0045】

一実施形態において、RWJ-800088は、式(I)

【0046】

【化3】



の分子構造、または薬学的に許容されるその塩もしくはエステルを有する。

【0047】

好ましい一実施形態において、RWJ-800088におけるMPEGは、メトキシポリエチレングリコール20000であり、RWJ-800088は、以下の全化学名を有する：メトキシポリエチレングリコール20000-プロピオニル-L-イソロイシル-L-グルタミル-グリシル-L-プロリル-L-トレオニル-L-ロイシル-L-アルギニル-L-グルタミル-L-2-ナフチルアラニル-L-ロイシル-L-アラニル-L-アラニル-L-アルギニル-サルコシル-Ne-(メトキシポリエチレングリコール20000-プロピオニル-L-イソロイシル-L-グルタミル-グリシル-L-プロリル-L-トレオニル-L-ロイシル-L-アルギニル-L-グルタミル-L-2-ナフチルアラニル-L-ロイシル-L-アラニル-L-アラニル-L-アルギニル-サルコシル)-リジンアミド、または薬学的に許容されるその塩もしくはエステル。PEG以外のペプチドの分子量は、3,295ダルトンであり、2つの20,000ダルトンMPEG鎖は、およそ43,295ダルトンである。

【0048】

一部の実施形態において、本発明に有用な T P O ミメティックは、F c 領域に融合した配列番号 1 のペプチドを含む。ペプチドを F c ドメインに融合すると、*in vivo* でペプチドを安定化させる。参照によりその全体を本明細書に組み込む、米国特許第 6, 660, 843 号明細書を参照されたい。

【0049】

別の好ましい実施形態において、本発明に有用な T P O ミメティックは、ロミプロスチムである。本明細書で使用される「ロミプロスチム」は、配列番号 1 のペプチドの N 末端イソロイシンと結合した F c ドメインを有する融合タンパク質に関し、ここで、X a a は、W であり、Y a a は A である。詳細には、ロミプロスチムは以下のアミノ酸配列を有する。

【0050】

【化 4】

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGIEGPTLRQWLAARAGG
GGGGGGIEGPTLRQWLAARA (配列番号 4)

それは、I E G P T L R Q W L A A R A (配列番号 3) のアミノ酸配列ドメインと結合するトロンボポエチン受容体を有する。

【0051】

用法用量

T P O ミメティックは、例えば、薬学的担体または希釈剤と共に医薬組成物の有効成分として投与することができる。T P O ミメティックは、経口、肺、非経口（筋肉内、腹腔内、静脈内（I V）または皮下注射）、吸入（微粉末製剤を介して）、経皮、鼻腔、膣、直腸、または舌下の投与経路で投与することができ、それぞれの投与経路に適切な剤形に製剤化することができる。例えば、国際公開第 1 9 9 3 / 2 5 2 2 1 号 (Bernstein et al.) および国際公開第 1 9 9 4 / 1 7 7 8 4 号 (Pitt et al.) を参照されたい。これに関連する内容を参照により本明細書に組み込む。

【0052】

経口投与用の固体剤形は、カプセル剤、錠剤、丸剤、散剤、および粒剤を含む。このような固体剤形において、活性ペプチド化合物が、少なくとも 1 種の薬学的に許容される担体、例えばスクロース、ラクトース、又はスターチと混合される。このような剤形はまた、通常の慣行として、不活性希釈剤以外の追加の物質、例えば滑沢剤、例えばステアリン酸マグネシウム含んでよい。カプセル剤、錠剤、および丸剤の場合、剤形はまた、緩衝剤を含んでよい。錠剤および丸剤は、追加的に腸溶コーティングを有して、調製することができる。

【0053】

経口投与用の液状剤形は、当分野で一般的に使用される不活性希釈剤、例えば水を含むエリキシル剤を含む、薬学的に許容されるエマルジョン剤、液剤、懸濁液、シロップ剤を含む。このような不活性希釈剤に加え、組成物はまたアジュバント、例えば湿潤剤、乳化および懸濁剤、ならびに甘味剤、香味剤、および芳香剤を含んでよい。

【0054】

非経口投与用の調製物は、滅菌水性または非水性溶液、懸濁液、またはエマルジョンを含む。非水性溶剤またはビヒクルの例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、例えばオリーブオイルおよびコーンオイル、ゼラチン、ならびに注射可能な

有機エステル、例えばオレイン酸エチルである。このような剤形はまた、アジュバント、例えば保存剤、湿潤剤、乳化剤、および分散剤を含有する。これらは、例えば、バクテリアを保持するフィルターを介した濾過、組成物に滅菌剤を組み込むことによって、組成物を照射することによって、または組成物を加熱することによって殺菌することができる。これらはまた、使用直前に滅菌水、または一部の他の滅菌注射可能な媒体を使用して、製造することができる。

【0055】

TPOミメティックの投与は、典型的には、筋肉内、皮下、または静脈内である。しかしながら、他の投与モード、例えば皮内、経皮または鼻腔内の投与も同様に考えられる。TPOミメティックの筋肉内投与は、TPOミメティック組成物の懸濁液を注射する針を使用して達成することができる。代替としては、組成物を投与するために針を使わない注射デバイスの使用（例えばBiojector（商標）を使用して）、またはTPOミメティック組成物の凍結乾燥粉末の使用がある。

10

【0056】

静脈内、皮内または皮下注射、または苦痛の部位への注射のために、TPOミメティック組成物は、発熱物質を含まず、適切なpH、等浸透圧性および安定性を有する、非経口で許容される水性溶液の形態であり得る。適切な溶液を、例えば等張ビヒクル、例えば塩化ナトリウム注射液、リンガー注射液、乳酸加リンガー注射液を使用して調製することは、当業者には十分可能である。必要な場合には、保存剤、安定剤、緩衝剤、酸化防止剤および／または他の添加剤を含むことができる。徐放性製剤を使用することもできる。

20

【0057】

直腸内または腔内投与のための組成物は、好ましくは、活性TPOミメティックに加えて、賦形剤、例えばココアバターまたは坐薬ワックスを含有することができる坐薬である。鼻腔内または舌下投与のための組成物はまた、当業者に周知の標準賦形剤と調製される。

【0058】

投与は、典型的には血管完全性を維持し、かつ対象に投与された標的放射線治療から保護することをめざすであろう。TPOミメティック組成物は、標的放射線処置中またはその後に対象に投与され、かつTPOミメティック組成物は、対象の健康な組織における血管完全性を保護するために十分な量で、好ましくはRTの有効性を低下させずに投与される。

30

【0059】

TPOミメティックを含有する、薬学的に許容される組成物は、対象に投与され、対象の血管系に対する保護作用を起こす。対象の血管系に対する保護作用を生じるのに十分な組成物の量を、組成物の「有効用量」または「有効量」と定義する。TPOミメティック組成物の有効量は、例えば対象の状態（例えば、血管完全性の重症度、標的放射線治療の曝露期間）、対象の身体的特徴（例えば身長、体重など）、ならびにRTの性質（例えば放射線の型および線量、頻度など）に依存する。投与される実際の量ならびに投与の速度および時間経過は、本発明の開示に基づき当業者が決定することができる。

【0060】

処置の処方、例えば投薬量の決定などは、総合診療医もしくは他の医師、または獣医学の文脈における獣医の責任の範囲にあり、典型的には処置されるべき障害、個々の患者の状態、送達部位、投与方法および診療医に公知の他のファクターを考慮に入れる。上記の技術およびプロトコルの例は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A.ed., 1980において見出すことができる。

40

【0061】

ある特定の実施形態において、TPOミメティックは、対象が標的放射線治療に曝露されてから、少なくとも約10分～少なくとも約420分、少なくとも約10分～少なくとも約300分、少なくとも約10分～少なくとも約180分、少なくとも約10分～少なくとも約60分、少なくとも約20分～少なくとも約420分、少なくとも約20分～少なくとも約300分、少なくとも約20分～少なくとも約180分、少なくとも約20分

50

～少なくとも約60分、少なくとも約40分～少なくとも約420分、少なくとも約40分～少なくとも約300分、少なくとも約40分～少なくとも約180分、少なくとも約40分～少なくとも約60分、少なくとも約60分～少なくとも約420分、少なくとも約60分～少なくとも約300分、少なくとも約60分～少なくとも約180分、少なくとも約60分～少なくとも約120分、少なくとも約60分～少なくとも約90分、少なくとも約80分～少なくとも約420分、少なくとも約80分～少なくとも約300分、少なくとも約80分～少なくとも約180分、少なくとも約80分～少なくとも約120分、少なくとも約100分～少なくとも約420分、少なくとも約100分～少なくとも約300分、少なくとも約100分～少なくとも約180分、少なくとも約100分～少なくとも約150分、少なくとも約120分～少なくとも約420分、少なくとも約120分～少なくとも約300分、少なくとも約120分～少なくとも約180分、少なくとも約140分～少なくとも約420分、少なくとも約140分～少なくとも約300分、少なくとも約140分～少なくとも約180分、少なくとも約160分～少なくとも約420分、少なくとも約160分～少なくとも約300分、少なくとも約160分～少なくとも約180分、少なくとも約180分～少なくとも約420分、少なくとも約180分～少なくとも約300分後、またはその間の任意の時間後で投与される。ある特定の実施形態において、TPOミメティックは、対象が標的放射線治療に曝露されてから、少なくとも約10、少なくとも約20、少なくとも約40、少なくとも約60、少なくとも約80、少なくとも約100、少なくとも約分120、少なくとも約140、少なくとも約160、少なくとも約180、少なくとも約200、少なくとも約220、少なくとも約240、少なくとも約260、少なくとも約280、少なくとも約300、少なくとも約320、少なくとも約340分後に対象に投与される。ある特定の実施形態において、TPOミメティックは、対象が標的放射線治療に曝露されてから、少なくとも約8、少なくとも約10、少なくとも約12、少なくとも約14、少なくとも約16、少なくとも約18、少なくとも約20、少なくとも約22、少なくとも約24時間後に投与される。ある特定の実施形態において、TPOミメティックは、対象が標的放射線治療に曝露されてから、約10、約20、約40、約60、約80、約100、約120、約140、約160、約180、約200、約220、約240、約260、約280、約300、約320、約340、約360、約420分以内に投与される。ある特定の実施形態において、TPOミメティックは、対象が標的放射線治療に曝露されてから、約8、約10、約12、約14、約16、約18、約20、約22、約24時間以内に投与される。

【0062】

TPOミメティックの作製およびTPOミメティックを組成物内に任意に配合した後に、組成物を個体に、特に、ヒトまたは他の霊長類に投与してよい。ヒト、または別の哺乳動物、例えばマウス、ラット、ハムスタ、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウマ、ウシ、ロバ、サル、イヌ、またはネコに投与されてよい。非ヒト哺乳動物への送達は治療目的である必要はなく、実験の文脈において、例えばTPOミメティックの投与に起因する、血管完全性を保護するメカニズムの調査において使用することができる。

【0063】

本発明のTPOミメティック組成物は、単独であっても他の処置と併用しても、同時または連続のいずれであっても、処置される状態に応じて投与することができる。

【0064】

TPOミメティック組成物は、必要に応じて、キット、パック、またはディスペンサーで提示することができ、それらは、有効成分を含有する単位投与剤形を1つまたは複数含有することができる。キットは、例えば金属またはプラスチックのフォイル、例えばブリスターパックを含んでよい。投与のための指示をキット、パック、またはディスペンサーに添付してよい。デバイスは、キット内、例えば、容器、送達ビヒクル、または投与デバイスに含むことができる。

【0065】

キットには、血管完全性を保護するための少なくとも1つの追加の治療剤またはデバイ

10

20

30

40

50

スをさらに含んでよい。キットに含まれる追加の治療剤は、公知であるか、またはTPOまたはTPOミメティックと共に投与された場合に有利な特性を示す任意の化合物または治療剤を指す。そのような薬剤の例は、限定されないが、他のTPOミメティック、血管完全性を保護するために使用され得る他の薬剤（例えば放射線プロテクター、例えばEthylol（登録商標）またはアミホスチン）、放射線増感剤（例えばIUDR、BUDR、ミソナダゾール、ニモラゾール、エタニダゾール、フルオソル、RSR-13、およびモテキサフィンガドリニウム（MGd）、ホルモン（例えば頭頸部がんのための甲状腺の）、または黄体ホルモン放出ホルモン（LHRH）アゴニスト（LHRHアナログまたはGnRHアゴニストとも称される）であり得る。LHRHの例は、限定されないが、リュープロレリン（Lupron、Eligard）、ゴセレリン（Zoladex）、トリプトレリン（Trelistar）またはヒストレリン（Vatas）を含む。

10

【0066】

実施形態

本発明はまた、以下の非限定的な実施形態を提供する。

【0067】

実施形態1は、標的放射線治療に曝露された対象における血管完全性を保護する方法であって、対象に有効量のトロンプオエチン（TPO）ミメティックを投与することを含む、方法である。

【0068】

実施形態1（a）は、TPOミメティックが配列番号1のアミノ酸配列を有するペプチドを含む、実施形態1の方法である。

20

【0069】

実施形態1（b）は、ペプチドが配列番号2のアミノ酸配列を有する、実施形態1（a）の方法である。

【0070】

実施形態1（c）は、TPOミメティックがさらにペプチドと共有結合した親水性ポリマーを含む実施形態1（a）または1（b）の方法である。

【0071】

実施形態1（d）は、親水性ポリマーがi）ポリエチレングリコール（PEG）、（ii）ポリプロピレングリコール、iii）ポリ乳酸、またはiv）ポリグリコール酸のいずれか1つである、実施形態1（c）の方法である。

30

【0072】

実施形態1（e）は、親水性ポリマーがPEGである、実施形態1（d）の方法である。

【0073】

実施形態1（f）は、PEGがモノメトキシポリエチレングリコール（MePEG-OH）、コハク酸モノメトキシポリエチレングリコール（MePEG-S）、コハク酸スクシンイミジルモノメトキシポリエチレングリコール（MePEG-S-NHS）、モノメトキシポリエチレングリコール-アミン（MePEG-NH₂）、トレシル酸モノメトキシポリエチレングリコール（MePEG-TRES）、またはモノメトキシポリエチレングリコール-イミダゾリル-カルボニル（MePEG-IM）のいずれか1つである、実施形態1（e）の方法である。

40

【0074】

実施形態1（g）は、PEGがメトキシポリ（エチレングリコール）（MPEG）である、実施形態1（e）の方法である。

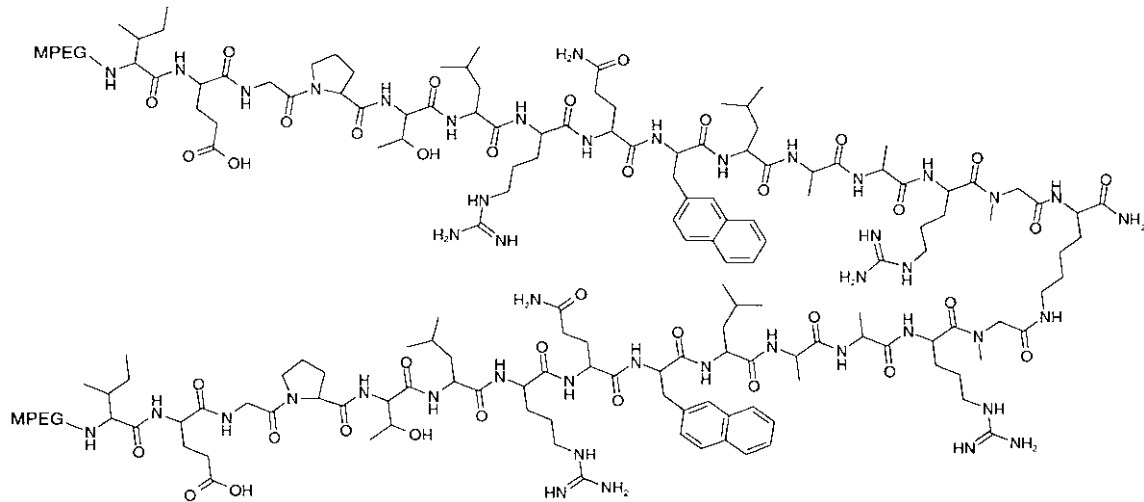
【0075】

実施形態1（h）は、TPOミメティックが、式（I）の分子構造を有するRWJ-800088または薬学的に許容されるその塩もしくはエステルである、実施形態1（g）の方法である。

【0076】

50

【化 5】



10

【0077】

実施形態 1 (i) は、RWJ-800088におけるMPEGがメトキシポリエチレングリコール2000である、実施形態 1 (h) の方法である。

【0078】

実施形態 1 (j) は、ペプチドが配列番号 3 のアミノ酸配列を有する、実施形態 1 (a) の方法である。

20

【0079】

実施形態 1 (k) は、ペプチドがポリペプチドに融合する、実施形態 1 (j) の方法である。

【0080】

実施形態 1 (l) は、ポリペプチドがFcドメインである、実施形態 1 (k) の方法である。

【0081】

実施形態 1 (m) は、TPOミメティックがロミプロスチムである、実施形態 1 (l) の方法である。

30

【0082】

実施形態 1 (n) は、ロミプロスチムが配列番号 4 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 (m) の方法である。

【0083】

実施形態 2 は、標的放射線治療に曝露された対象ががんの処置中である、実施形態 1 ~ 1 (n) のいずれかの方法である。

【0084】

実施形態 2 (a) は、がんが前立腺がん、頭頸部がん、肝細胞癌、結腸がん、肺がん、メラノーマ、膵臓がん、および乳がんからなる群から選択される、実施形態 2 の方法である。

40

【0085】

実施形態 2 (b) は、がんが前立腺がんである、実施形態 2 の方法である。

【0086】

実施形態 2 (c) は、がんが頭頸部がんである、実施形態 2 の方法である。

【0087】

実施形態 3 は、対象が標的放射線治療を投与されてから少なくとも約 10 分~少なくとも約 420 分後に医薬組成物が対象に投与される、実施形態 1 ~ 2 (c) のいずれか 1 つの方法である。

【0088】

50

実施形態 3 a は、対象が標的放射線治療に曝露されてから少なくとも約 20 分～少なくとも約 360 分後に TPO ミメティックが対象に投与される、実施形態 3 の方法である。

【0089】

実施形態 4 は、対象が標的放射線治療に曝露されてから少なくとも約 40 分～少なくとも約 240 分後に TPO ミメティックが対象に投与される、実施形態 3 の方法である。

【0090】

実施形態 5 は、対象が標的放射線治療に曝露されてから少なくとも約 60 分～少なくとも約 180 分後に TPO ミメティックが対象に投与される、実施形態 3 の方法である。

【0091】

実施形態 6 は、対象が標的放射線治療に曝露されてから少なくとも約 10 分後に TPO ミメティックが対象に投与される、実施形態 3 の方法である。

10

【0092】

実施形態 7 は、対象が 1 回用量より多い有効量の TPO ミメティックを投与される、実施形態 1～6 のいずれか 1 つの方法である。

【0093】

実施形態 8 は、標的放射線治療後に陰部動脈血管拡張障害から対象を保護する方法であって、それを必要とする対象に有効量のトロンボポエチン (TPO) ミメティックを投与することを含む、方法である。

【0094】

実施形態 9 は、標的放射線治療後に対象における血管収縮を低減する方法であって、それを必要とする対象に有効量のトロンボポエチン (TPO) ミメティックを投与することを含む、方法である。

20

【0095】

実施形態 10 は、標的放射線治療後に対象における血管漏出を低減する方法であって、それを必要とする対象に有効量のトロンボポエチン (TPO) ミメティックを投与することを含む、方法である。

【0096】

実施形態 11 は、標的放射線治療後に対象における血管内皮白血球の相互作用を低減する方法であって、それを必要とする対象に有効量のトロンボポエチン (TPO) ミメティックを投与することを含む、方法である。

30

【0097】

実施形態 11 (a) は、TPO ミメティックが配列番号 1 のアミノ酸配列を有するペプチドを含む、実施形態 8～11 のいずれか 1 つの方法である。

【0098】

実施形態 11 (b) は、ペプチドが配列番号 2 のアミノ酸配列を有する、実施形態 11 (a) の方法である。

【0099】

実施形態 11 (c) は、TPO ミメティックがペプチドに共有結合する親水性ポリマーをさらに含む、実施形態 11 (a) または 11 (b) の方法である。

【0100】

実施形態 11 (d) は、親水性ポリマーが i) ポリエチレングリコール (PEG)、i i) ポリプロピレングリコール、i i i) ポリ乳酸、または i v) ポリグリコール酸のいずれか 1 つである、実施形態 11 (c) の方法である。

40

【0101】

実施形態 11 (e) は、親水性ポリマーが PEG である、実施形態 11 (d) の方法である。

【0102】

実施形態 11 (f) は、PEG がモノメトキシポリエチレングリコール (MePEG-OH)、コハク酸モノメトキシポリエチレングリコール (MePEG-S)、コハク酸スクシンイミジルモノメトキシポリエチレングリコール (MePEG-S-NHS)、モノ

50

メトキシポリエチレングリコール-アミン (MePEG-NH₂)、トレシル酸モノメトキシポリエチレングリコール (MePEG-TRES)、またはモノメトキシポリエチレングリコール-イミダゾリル-カルボニル (MePEG-IM) のいずれか1つである、実施形態11(e)の方法である。

【0103】

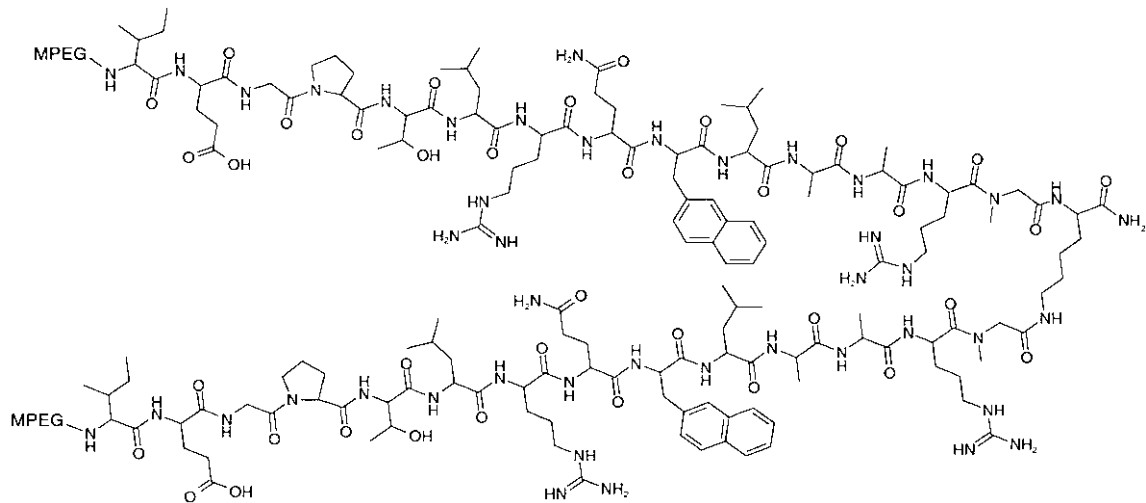
実施形態11(g)は、PEGがメトキシポリ(エチレングリコール) (MPEG) である、実施形態11(e)の方法である。

【0104】

実施形態11(h)は、TPOミメティックが式(I)の分子構造を有するRWJ-800088、または薬学的に許容されるその塩もしくはエステルである、実施形態11(g)の方法である。

【0105】

【化6】



【0106】

実施形態11(i)は、RWJ-800088におけるMPEGがメトキシポリエチレングリコール20000である、実施形態11(h)の方法である。

【0107】

実施形態11(j)は、ペプチドが配列番号3のアミノ酸配列を有する、実施形態11(a)の方法である。

【0108】

実施形態11(k)は、ペプチドがポリペプチドに融合する、実施形態11(j)の方法である。

【0109】

実施形態11(l)は、ポリペプチドがFcドメインである、実施形態11(k)の方法である。

【0110】

実施形態11(m)は、TPOミメティックがロミプロスチムである、実施形態11(l)の方法である。

【0111】

実施形態11(n)は、ロミプロスチムが配列番号4のアミノ酸配列を含む、実施形態11(m)の方法である。

【0112】

実施形態12は、標的放射線治療ががんまたは腫瘍を処置するために対象に投与される、8~11(n)のいずれか1つの実施形態の方法である。

【0113】

10

20

30

40

50

実施形態 13 は、がんが前立腺がん、頭頸部がん、肝細胞癌、結腸がん、肺がん、メラノーマ、膵臓がん、および乳がんからなる群から選択される、実施形態 12 の方法である。

【0114】

実施形態 13 (a) は、がんが前立腺がんである、実施形態 13 の方法である。

【0115】

実施形態 13 (b) は、がんが頭頸部がんである、実施形態 13 の方法である。

【0116】

実施形態 14 は、それを必要とする対象においてがんを処置する方法であって、対象に標的放射線治療および有効量のトロンボポエチン (TPO) ミメティックを投与することを含む、方法である。

【0117】

実施形態 14 (a) は、TPO ミメティックが配列番号 1 のアミノ酸配列を有するペプチドを含む、実施形態 14 の方法である。

【0118】

実施形態 14 (b) は、ペプチドが配列番号 2 のアミノ酸配列を有する実施形態 14 (a) の方法である。

【0119】

実施形態 14 (c) は、さらに TPO ミメティックがペプチドと共有結合した親水性ポリマーを含む、実施形態 14 (a) または 14 (b) の方法である。

【0120】

実施形態 14 (d) は、親水性ポリマーが i) ポリエチレングリコール (PEG)、(ii) ポリプロピレングリコール、iii) ポリ乳酸、または iv) ポリグリコール酸のいずれか 1 つである、実施形態 14 (c) の方法である。

【0121】

実施形態 14 (e) は、親水性ポリマーが PEG である、実施形態 14 (d) の方法である。

【0122】

実施形態 14 (f) は、PEG がモノメトキシポリエチレングリコール (MePEG-OH)、コハク酸モノメトキシポリエチレングリコール (MePEG-S)、コハク酸スクシンイミジルモノメトキシポリエチレングリコール (MePEG-S-NHS)、モノメトキシポリエチレングリコール-アミン (MePEG-NH₂)、トレシル酸モノメトキシポリエチレングリコール (MePEG-TRES)、またはモノメトキシポリエチレングリコール-イミダゾリル-カルボニル (MePEG-IM) のいずれか 1 つである、実施形態 14 (e) の方法である。

【0123】

実施形態 14 (g) は、PEG がメトキシポリ (エチレングリコール) (MPEG) である、実施形態 14 (e) の方法である。

【0124】

実施形態 14 (h) は、TPO ミメティックが式 (I) の分子構造を有する RWJ-800088、または薬学的に許容されるその塩もしくはエステルである、実施形態 14 (g) の方法である。

【0125】

10

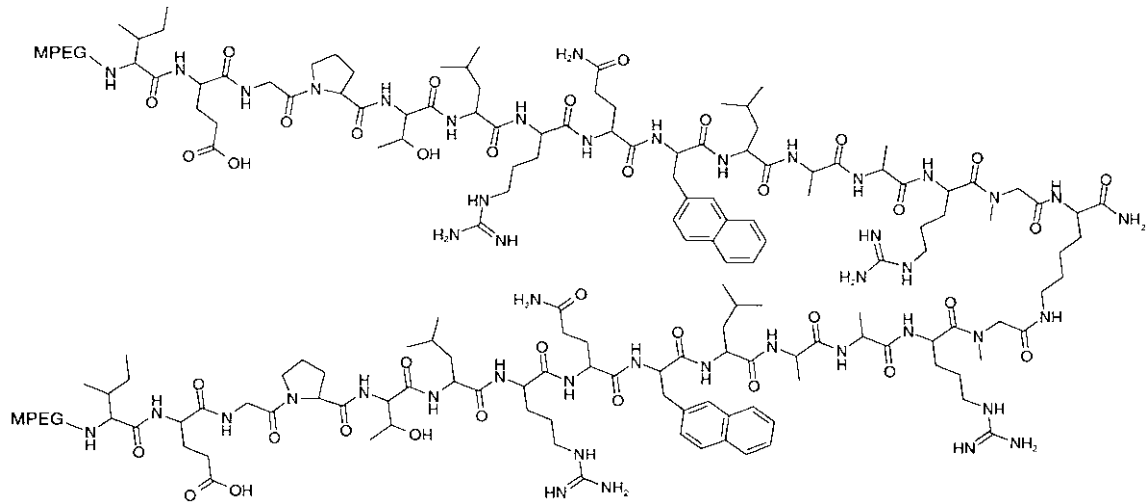
20

30

40

50

【化 7】



10

【 0 1 2 6 】

実施形態 1 4 (i) は、RWJ-800088におけるMPEGがメトキシポリエチレングリコール 20000である、実施形態 1 4 (h) の方法である。

【 0 1 2 7 】

実施形態 1 4 (j) は、ペプチドが配列番号 3 のアミノ酸配列を有する、実施形態 1 4 (a) の方法である。

20

【 0 1 2 8 】

実施形態 1 4 (k) は、ペプチドがポリペプチドに融合する、実施形態 1 4 (j) の方法である。

【 0 1 2 9 】

実施形態 1 4 (l) は、ポリペプチドがFcドメインである、実施形態 1 4 (k) の方法である。

【 0 1 3 0 】

実施形態 1 4 (m) は、TPOミメティックがロミプロスチムである、実施形態 1 4 (l) の方法である。

30

【 0 1 3 1 】

実施形態 1 4 (n) は、ロミプロスチムが配列番号 4 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 4 (m) の方法である。

【 0 1 3 2 】

実施形態 1 5 は、がんが前立腺がん、頭頸部がん、肝細胞癌、結腸がん、肺がん、メラノーマ、膵臓がん、および乳がんからなる群から選択される、実施形態 1 4 ~ 1 4 (n) のいずれか 1 つの方法である。

【 0 1 3 3 】

実施形態 1 5 (a) は、がんが前立腺がんである、実施形態 1 5 の方法である。

40

【 0 1 3 4 】

実施形態 1 5 (b) は、がんが頭頸部がんである、実施形態 1 5 の方法である。

【 0 1 3 5 】

実施形態 1 6 は、対象が標的放射線を投与されてから少なくとも約 10 分~少なくとも約 420 分後にTPOミメティックが投与される、実施形態 1 4 ~ 1 5 (b) のいずれか 1 つの方法である。

【 0 1 3 6 】

実施形態 1 7 は、標的放射線治療および有効量のTPOミメティックの投与後、対象が陰部動脈血管拡張障害から保護される、実施形態 1 4 ~ 1 6 のいずれか 1 つの方法である。

【 0 1 3 7 】

50

実施形態 18 は、標的放射線治療および有効量の TPO ミメティックの投与後、対象が低減した血管収縮を有する、実施形態 14～16 のいずれか 1 つの方法である。

【0138】

実施形態 19 は、標的放射線治療および有効量の TPO ミメティックの投与後、対象が低減した血管漏出を有する、実施形態 14～16 のいずれか 1 つの方法である。

【0139】

実施形態 20 は、標的放射線治療および有効量の TPO ミメティックの投与後、対象が低減した血管内皮白血球相互作用を有する、実施形態 14～16 のいずれか 1 つの方法である。

【0140】

実施形態 21 は、標的放射線治療に曝露された対象における血管完全性を保護するための、有効量のトロンボポエチン (TPO) ミメティックならびにデバイスおよび／または別の薬剤を含む、医薬組成物であって、TPO ミメティックが配列番号 1 のアミノ酸配列を有するペプチドを含む、医薬組成物である。

【0141】

実施形態 22 は、他の薬剤が、他の TPO ミメティック、放射線プロテクター、放射線増感剤、ホルモン、または黄体ホルモン放出ホルモン (LHRH) アゴニスト (LHR A アナログまたは GnRH アゴニストとも称される) からなる群より選択される、実施形態 21 の医薬組成物である。

【0142】

実施形態 22 a は、放射線プロテクターが、Ethylol (登録商標) (アミホスチン) を含む、実施形態 22 の医薬組成物である。

【0143】

実施形態 22 b は、放射線増感剤が IUdR、BUdR、ミソナダゾール、ニモラゾール、エタニダゾール、フルオソル、RSR-13、またはモテキサフィンガドリニウム (MGd) を含む、実施形態 22 または 22 a の医薬組成物である。

【0144】

実施形態 22 c は、ホルモンが頭頸部がんの処置のための甲状腺のホルモンである、実施形態 22～22 b のいずれか 1 つの医薬組成物である。

【0145】

実施形態 22 d は、(LHRH) アゴニストがリュープロレリン (Lupron、Eligard)、ゴスレリン (Zoladex)、トリプトレリン (Treslar) またはヒストレリン (Vantas) を含む、実施形態 22～22 c のいずれか 1 つの医薬組成物である。

【0146】

実施形態 23 は、標的放射線が 10～70 グレイ (Gy) の線量で投与される、実施形態 1～20 のいずれか 1 つの方法である。

【0147】

実施形態 23 (a) は、放射線量が 10 グレイ (Gy) である、実施形態 23 の方法である。

【0148】

実施形態 23 (b) は、放射線量が 20 グレイ (Gy) である、実施形態 23 の方法である。

【0149】

実施形態 23 (c) は、放射線量が 30 グレイ (Gy) である、実施形態 23 の方法である。

【0150】

実施形態 23 (d) は、放射線量が 40 グレイ (Gy) である、実施形態 23 の方法である。

【0151】

10

20

30

40

50

実施形態 23 (e) は、放射線量が 50 グレイ (Gy) である、実施形態 23 の方法である。

【0152】

実施形態 23 (f) は、放射線量が 60 グレイ (Gy) である、実施形態 23 の方法である。

【0153】

実施形態 23 (g) は、放射線量が 70 グレイ (Gy) である、実施形態 23 の方法である。

【0154】

実施形態 23 (h) は、放射線量が 1~10 分割で対象に投与される、実施形態 23~23 (g) のいずれか 1 つの方法である。

10

【0155】

実施形態 23 (i) は、対象が 1 日 1 回、標的放射線治療で処置される、実施形態 23~23 (h) のいずれか 1 つの方法である。

【0156】

実施形態 23 (j) は、対象が 1 日 2 回、標的放射線治療で処置される、実施形態 23~23 (i) のいずれか 1 つの方法である。

【0157】

実施形態 24 は、標的放射線が、外部放射線治療、内部放射線治療、および全身ラジオアイソトープ治療からなる群から選択される、実施形態 1~20 および 23~23 (j) のいずれ 1 つの方法である。

20

【0158】

実施形態 25 は、標的放射線が分割放射線治療である、実施形態 24 の方法である。

【実施例】

【0159】

[実施例 1]

トロンボポエチンミメティックの投与は、勃起不全のラット前立腺照射モデルにおける血管機能を保存する

材料および方法

動物：35 匹の 8 週齢 Sprague Dawley ラット雄をチャールズリバー研究所 (Malvern, PA) から入手し、標準収容条件下で対で収容した。動物は、生理食塩水/シャム、生理食塩水 RT、TPOm/シャム、TPOm/RT の 4 つの群に分けられた。すべての動物実験は、デューク大学医学部施設実験動物委員会によって承認された。

30

【0160】

TPOm 合成および処置：既に記載 (Knight et al., Int. J. Toxicol. 30(4):385-404 (2011)) の通り Janssen Pharmaceuticals により TPOm を合成し、凍結乾燥粉末としてドライアイス上でデューク大学に出荷された。TPOm を滅菌生理食塩水中で再構成し、除菌濾過し、アリコートし、-20℃で使用するまで保存した。RT の 10 分後に皮下注射 (3,000 μg/kg) を介して TPOm を単一用量として投与した。この用量は、複数回投与した場合のプラセボと比較して実質的生存恩恵をもたらした、ラットの全身照射研究における有効性に基づいて選択された。

40

【0161】

前立腺照射：既に公開の通り定位画像誘導前立腺単回 RT を行った (Kimura et al., J. Sex Med. 9(6):1535-49 (2012))。要するに、ラットに麻酔を施し、ポリスチレンブロック上に固定化した。GE Discovery RT590 (GE Healthcare, Little Chalfont, UK) を使用して CT スキャンを行い、骨盤全体を撮影した。各ラットのための個々の処置計画を、Eclipse 処置計画システム (Varian Medical Systems, Palo Alto, CA) を使用して作成した。前立腺および直腸の輪郭を囲み、前立腺を 1mm 単位で拡張した後に 1mm 単位

50

で拡張した直腸を除くことによって主要な治療体積を作成した。6 MVのビームエネルギーを使用する、単回の回転原体照射法 (dynamic conformal arc) プランを正規化して、直腸を部分的に回避しながら、単回の第1の治療体積の95%まで20 Gyを送達した。膀胱、陰茎、および精巣の大部分を照射野から除外した。次にプランと同じ麻酔ウィンドウ内で骨様の画像誘導を使用して処置する前に、コーンビームコンピュータ断層撮影を使用してNovalisTx放射線手術リニアック (Brainlab AG、Munich、DEおよびVarian Medical Systems) 上で、ラットを処置した。シャム照射されたラットに麻酔を施し、照射せずにポリスチレンブロック上に固定させた。

【0162】

海綿体内圧力 (ICP) 測定：海綿体内圧力 (ICP) 測定のために、既に公開されているプロトコルに従った (Kimura et al., J. Sex Med. 8(8):2215-26(2011))。要するに、ラットに、ケタミン／キシラジンを使用して麻酔を施した。腹部頸部の皮膚を切開して頸動脈を可視化させ、連続的な平均動脈圧 (MAP) をモニタリングするためにヘパリン処置された生理食塩水を含むポリエチレン (PE) -50チュービングを挿入した。次いで、腹膜を開き、精巣を引き込んだ。後外側の前立腺に沿って海綿体神経を可視化させ、生理食塩水を充填したPE-60チュービングに接続した23Gニードルを陰茎の付け根近くの、同じ側の下腿に挿入した。両方のチュービングを圧力変換器 (World Precision Instruments、Sarasota、FL) に接続した。海綿体神経を単離し、S48刺激装置 (Grass Technologies、West Warwick、RI) に接続した二極型電極を使用して、刺激と刺激との間は1分間停止させながら、4、6または8 Vの刺激を1分間与えた。MAPおよびICPをLabChart7ソフトウェア (ADInstruments、Colorado Springs、CO) を使用して記録し、ベースライン圧力および麻酔の作用におけるラット間の差が最小となるように比で表した。

【0163】

ヒドララジン誘発性血管拡張の超音波検査測定値：ICP測定後、音響ゲルを前立腺領域に塗布し、マウス高周波音響送受波器 (MS5505) を内陰部動脈に適用した。Vevo2100機 (Visual Sonics、Tronto、ON) をBモードで使用して画像を得、2-D超音波心臓検査によって動脈の直径を評価した。すべての動物の超音波で測定された恥骨までの距離と同じ距離を使用して、再現可能な超音波の位置を確認した。次いで、ヒドララジン (Sigma、St. Louis、MO) (0.4 mg/kg) を1分間かけて頸動脈カテーテルを介して注入し、超音波心臓検査を反復した。Vevo2100ソフトウェアの血管パッケージを使用して動脈の直径を測定した。

【0164】

CD31染色および定量：陰茎を液体窒素で急速冷凍し、使用するまで-80℃で保存した。Crytome FSE クライオスタット (ThermoFisher Scientific、Kalamazoo、MI) を使用して凍結切片 (10 μm) を作製した。切片をアセトンに20分間固定し、空気乾燥し、10%ロバ血清 (Sigma) でブロッキングを行った。一次抗体 (マウス抗ラットCD31、クローンTLD-3A12、BD Pharmingen、Franklin Lakes、NJ) および二次抗体 (Alexa Fluor 488-コンジュゲートロバ抗マウスIgG、Jackson ImmunoResearch、West Grove、PA) をそれぞれ1時間適用し、ホルマリン固定の前に切片をHoechst33342 (Sigma) 2.5 μg/mlで5分間対比染色し、Cytoseal60 (ThermoScientific) を使用して密封した。ZEN2ソフトウェアを搭載したZeiss Axio Imager顕微鏡を使用してスライドを画像化した。染色の24時間以内に試料間で同じ露出時間で試料を画像化した。ImageJソフトウェアを使用して、血管周囲長に正規化させたCD31の発現を行った。まず、測定値を公知の長さ (100 ミクロン) のスケールバーにグローバルキャリブレーションを行った。ImageJのコンツールリングツール (contour

10

20

30

40

50

uring tool) を使用し、次いで周囲長 (ミクロン) および面積 (ミクロン²) の測定値を得た。次いで各血管を囲む CD31 の染色部分だけをハイライトし、すべての画像にわたる均一な閾値を使用し染色領域のピクセルカウントを得ることによって CD31 発現を定量した。各血管について血管寸法の差異を考慮して、CD31 発現の横列の数を、次いでその血管の周囲長に正規化した。すべての分析を盲検化して完了した。

【0165】

統計：統計分析を、Prism6 (GraphPad, La Jolla, CA) を使用して完了した。体重増加率および ICP には 2 元配置 ANOVA を使用し、対応のない t 検定を使用して組織学的変化を比較した。Wilcoxon の、対応のある t 検定を使用して、ヒドララジン投与の前後で各ラットの動脈直径を比較した。2 元配置反復測定 ANOVA を使用してラットの体重を評価した。

【0166】

結果

TPOm は、放射線治療 (RT) 後の体重増加率の低減から保護する。

RT 後、すべてのラットが体重を増加し続けており、それは放射線処置の精度および胃腸管組織への曝露を最小限にする能力があることを示している。しかしながら、生理食塩水照射ラットの時間軸に対する体重は、他のすべての処置群 (図 1A) と比較して体重の減量率および規模を示した。体重増加、RT 後の時間および処置様式の有意な ($p = 0.0054$) 相互作用を実証する、2 元配置の反復測定 ANOVA を行った。平均体重増加率の差は、生理食塩水/シャム (27.5 ± 2.8 g/週)、TPOm/シャム (37.7 ± 3.3 g/週)、生理食塩水/RT (21.6 ± 1.6 g/週) および TPOm/RT (28.6 ± 3.9 g/週) 群間で観察された (図 1B)。しかしながら、テューキーの事後検定前の 2 元配置 ANOVA は、TPOm/シャムおよび生理食塩水/シャム群間で、有意な対応のある差 ($p < 0.05$) を特定しただけである。

【0167】

TPOm は RT 後の動脈機能を保存する。

TPOm が血管機能を保存することができたかどうかをアセスメントするために、超音波音響心臓検査を使用して、ヒドララジン投与にตอบสนองした陰部動脈拡張を測定した (図 2)。照射 ($p = 0.86$)、TPOm、($p = 0.47$) または相互作用 ($P = 0.46$) に関して、群にわたって、ベースラインの動脈直径に有意な差はなかった。ヒドララジン注入後、生理食塩水/シャムラットからの動脈直径は、有意に、平均 $28.8\% \pm 14.6\%$ 増加した。TPOm のみで処置されただけの非照射ラットは、直径が $10.4\% \pm 10\%$ の増加を示した。生理食塩水/RT ラット由来の動脈は、ヒドララジン後に拡張することができず、直径はベースラインから $-7.4\% \pm 9.9\%$ の非有意な変化を示し、RT がラット内の動脈機能、例えば陰部動脈拡張に障害をもたらすこと示している。しかしながら、RT 後の TPOm 処置は、動脈機能を保存し、例えばラットを陰部動脈拡張障害から保護し、動脈はヒドララジンにตอบสนองして $24.1\% \pm 7.2\%$ の直径の変化を示し、非照射対照に比べて有意な差はなかった。

【0168】

TPOm は血管収縮から保護する。

RT および TPOm 相互作用の、陰茎動脈上への作用を評価するために、冷凍保存した陰茎を CD31 の発現に関して組織学的に評価を行い、血管系を特定した (図 3A)。生理食塩水または TPOm で処置された非照射ラットの陰茎動脈の周囲長に差はなかった。しかしながら、シャム/生理食塩水対照と比較して、照射は有意に動脈の断面積を減少させた ($p < 0.01$)。陰茎動脈の断面積におけるこの減少は、TPOm/RT ラットには現れなかった (図 3B)、これは RT により誘発された血管収縮からの保護作用を示唆する。CD31 染色 (CD31⁺ピクセル数) を血管内皮の厚さのマーカーとして評価し、この数値を動脈の寸法の違いを考慮するために、動脈周囲長に標準化した。CD31⁺ピクセル/ μm として出現する場合、2 元配置 ANOVA は、RT の有意な作用を示したが、どの処置群間においても CD31 密度にペアワイズ差はなかった (図 3C)。

【0169】

テスト条件下ではTPOmによる血管保護は、9週間後、勃起機能を保存するのに十分ではなかった。

照射誘発性EDのラットモデルが照射線量とEDの出現との間でS字関係を示すことが既に観察されている(Koontz et al.)、「Dose dependence of radiation-induced erectile dysfunction in an animal model」J. Sex. Med.9 (the 17th Annual Fall Scientific Meeting of Sexual Medicine Society of North America, Las Vegas, NV, Nov. 10-13(2011)(2012))。14、20および25 Gyの線量は、それぞれ、50%、80%、および100%のラットにEDをもたらすであろう(データは示さず)。TPOmの軽減作用をテストするために、20 Gyの線量を適用して線量応答曲線のS字部分にそって変化を検出した。TPOmのみで処置されたラットはICP:MAPの増加した変数を示したが、平均は、生理食塩水で処置された非照射ラットと有意な差は認められなかった(図4)。RTで処置されただけの6匹のラットのうち、5匹は、0.6を超えるICP:MAP比を産生することができず、この研究において83%のED透過度を示した。照射後のTPOm処置は、67%の透過度でEDを予防しなかった。2元配置ANOVAは、RTの有意な作用($p=0.0043$)を示し、テューキー事後検定分析は、非照射のシャム対照と、生理食塩水/RTおよびTPOm/RTラットとの両方の群の間に有意な差を特定した。

【0170】

[実施例2]

トロンボポエチンミメティックの、放射線誘発性の血管浸透性および白血球粘着に与える作用を評価するための、新規のマウス耳介静脈モデルの適用。

材料および方法

動物。Flkl-mCherryマウス(Larina et al., Anat. Rec. 292(3):333-41 (2009))をデューク大学飼育コア施設内で繁殖させた。少なくとも8週齢の、雄および雌のマウスを障壁のない施設に移動させ、実験の期間は群で飼育した。Flkl-mCherryマウスの血管内皮細胞は、恒常的にmCherryを発現し、このmCherryによって生体内顕微鏡画像および分析が容易になった。すべての動物実験は、デューク大学医学部施設実験動物委員会によって承認された。

【0171】

耳照射。マウスに80/8 mg/kg ケタミン/キシラジンを腹腔内注射で麻酔を施した。マウスを、左耳介を除いて全身を防護する円筒状の鉛ジグに置き、Orthovoltage X-ray 320照射器(Precision X-ray Inc., North Branford, CT)を使用して203 cGy/分の線量速度で照射した(2mm Alフィルター付き320 kVp/10 mA)。線量測定はすべて実験開始の前にDuke Radiation Physicsにより確認された。

【0172】

TPOm合成および投与。TPOは、既に記述の通り(Knight et al., Int. J. Toxicol. 30(4):385-404(2011)) Janssen Pharmaceuticalsによって合成され、乾燥状態でデューク大学に出荷された。TPOmを滅菌生理食塩水で再構成し、滅菌濾過し、アリコートし、使用するまで-20℃で保存した。注射直前に、アリコートを解凍し希釈した。マウスは、照射の6時間後、皮下に300 μg/kgのTPOmを受けた。

【0173】

生体内顕微鏡。イソフルラン(2%、酸素と混合)によってマウスに麻酔を施し、化学的に耳を脱毛し(Nair(登録商標))、70%エタノールで洗浄した。マウスをZeiss Observer Z1(Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany)倒立顕微鏡の下に加熱したステージ上に置いた。照射された耳を、両面テープを使用してプレキシガラススライドに貼り付けた。Zen Imaging ソフトウェア(Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany)を使用し

て画像を得た。F l k 1 - m C h e r r y マウスの血管内皮細胞は、m C h e r r y を発現し、これを Z e i s s T e x a s R e d フィルター (E x . 5 6 0 / 4 0、E m . 6 3 0 / 7 5) を使用して可視化させた。Z e i s s e G F P / F I T C / A L e x a 4 8 8 フィルター (E x . 4 7 0 / 4 0、E m . 5 2 5 / 5 0) を使用して、アクリジンオレンジおよび F I T C - デキストランを可視化させた。

【0174】

白血球-内皮細胞 (L / E) 相互作用。マウスを顕微鏡上に定位させた後、0.5 mg のアクリジンオレンジ (S i g m a、S t . L o u i s、M O、滅菌生理食塩水に溶解した) を静脈内注射した。アクリジンオレンジは、血中のすべての有核細胞 (すなわち白血球) を標識する。血管系を 60 秒間、200 ミリ秒毎に画像を写した。ローリングする白血球を血管壁に沿って縁に移動する細胞と定義し、明らかに血流から解離していた。1 匹のマウスに 4 本の細静脈をその直径に基づいて特定し、予め選んだ 3 つの各細静脈のポイントをローリングして通過する白血球数を数えた。血管の直径 (D) および自由に流れる白血球速度 (V) も測定しせん断速度を算出するために使用して $(8 \times V) / D$ と定義された。研究者は、処置群を盲検化してすべてのビデオを分析した。

【0175】

血管透過性測定および評価。マウスを顕微鏡上に定位させた後、T y g o n M i c r o b o r e チュービングカテーテル (H a r v a r d A p p a r a t u s) 付きシリンジに装着した 30 G ニードルを尾の静脈に挿入した。F I T C および m C h e r r y の両方のチャンネルの Z - スタック画像を 10 秒毎に得、画像の第 3 のセット画像の後にカテーテルを介して注射した 0.5 mg の F I T C - コンジュゲート 70 k D a デキストランを採取した。25 分間 10 秒毎に画像を入手した。

【0176】

透過性の 1 つのコンパートメントモデルを $C_T(t)$ の等式を使用して仮定した。t 時の血管外組織におけるデキストランの組織濃度 (時間放射能曲線 [T A C] として公知の) は

【0177】

【数 1】

$$\frac{dC_T(t)}{dt} = k_1 C_B(t - \Delta) \quad (0.1)$$

によって与えられる。

【0178】

モデル (0.1) は、t 時の組織濃度における変化は、 $C_B(t - \Delta)$ 、 Δ 遅延で血管系のデキストランの濃度に比例すると仮定される。簡潔にするために、血管外組織から血管コンパートメントに戻るデキストランの可能性を除外した。この設定で、目的の量は k_1 、透過率である。最初の条件 $C_B(0) = 0$ (0 時において組織中にデキストランがない) と仮定すると、微分方程式 (0.1) は、

【0179】

【数 2】

$$C_T(t) = k_1 \int_0^t C_B(s - \Delta) ds \quad (0.2)$$

として解くことができる。

【0180】

等式 (0.2) から k_1 を推定するには、t 時におけるデキストランの血管内および血

管外の両方の濃度、 $C_B(t)$ および $C_T(t)$ を知ることが必要である。信頼できる血管マーカーが不足しているため、画像内の血管内成分および血管外成分を正確に分離することが困難であった。しかしながら、血管系の部分を特定することは可能であった、なぜなら最も早いデキストラングナルは、血管系のみにも現れるからである。ROIをこの領域に描くことによって（そのTPOmは照射野外の血管系を保護する。図3Aは、RTの9週後にCD31のために染色された血管内皮細胞の免疫蛍光の画像を示す。免疫蛍光の画像を作成するために、陰茎組織を切除し、凍結切片を行い、血管内皮細胞をCD31免疫蛍光で可視化させた。図3Bは、陰茎動脈の断面積を実証するグラフを示す。図3Cは、CD31密度（CD31発現／動脈周囲長）の定量をピクセル／周囲長のミクロンとして実証するグラフを示す。N = 4～6群。

10

【0181】

図4は、ラットにおける前立腺RT（20Gy）誘発性勃起不全（ED）を、RTの10分後に投与されたTPOmの単一用量が保護しなかったことを示すグラフを示す。海綿体神経刺激後の海綿体内圧（ICP）をRT（20Gy）の9週間後にテストし、平均動脈圧（MAP）に正規化した。神経は4V、6V、または8Vで刺激され、各ラットからの最良の応答を分析に使用した。アスタリスク*は、放射線の有意な作用を示す（ $P = 0.004$ 、2元配置ANOVA）。N = 6～7ラット／群。

【0182】

図)は、血管TAC $C_B(t)$ を見積もることができた。TACは、血管系の他の部分を通じて均一であると仮定した。追加の血管領域を特定しようとする代わりに、血管および組織の成分の両方で構成される、視野全体の平均活性 $C_F(t)$ を算出した。一般性を失うことなく、この全体の活性は、以下：

20

$$C_F(t) = v_b C_B(t) + (1 - v_b) C_T(t) \quad (0.3)$$

〔式中、 v_b は、血管系を構成する視野における面積の端数（未知の）である〕の通り表すことができる。等式（0.3）における未知の組織TAC $C_T(t)$ は、次いで等式（0.2）を使用して以下：

【0183】

【数3】

$$C_F(t) = v_b C_B(t) + (1 - v_b) k_1 \int_0^t C_B(s - \Delta) ds \quad (0.4)$$

30

の通り置き換えることができる。

【0184】

血管TAC、 $C_B(t)$ が厳密に正である（ > 0 ）と仮定すると、（0.4）の両辺は、それによって割ることができ、変形した等式：

【0185】

【数4】

$$\frac{C_F(t)}{C_B(t)} = v_b + (1 - v_b) k_1 \frac{\int_0^t C_B(s - \Delta) ds}{C_B(t)} \quad (0.5)$$

すなわち $y(t) = v_b + mx(t)$

40

〔式中、

【0186】

【数5】

50

$$y(t) = \frac{C_F(t)}{C_B(t)}, \quad x(t) = \frac{\int_0^t C_B(s - \Delta) ds}{C_B(t)}$$

および $m = (1 - v_b) k_1$ である] を得ることができる。等式 (0.5) は1本の直線の形態であると思われ、直線回帰を使用して適用させることができる。未知の定数 v_b および m を、適用した回帰直線の勾配および切片として推算する。この推算技法は、通常 Patlak グラフ解析として公知であり、動態 PET 研究 (Patlak et al., J. Cereb Blood Flow Metab. 3(1):1-7(1983)) において放射性トレーサーの組織移動速度を評価するために使用される。実際には、(0.5) で記載された直線関係が図6に示される勾配になる前に、均衡状態に到達するのに時間がかかる。このことから、直線関係は、研究の最初の10分を除外して適用された。このために、透過性定数は、

【0187】

【数6】

$$\hat{k}_1 = \hat{m} / (1 - \hat{v}_b)$$

として推算することができた。

【0188】

循環血液細胞分析。マウスを腹腔内注射による $50 \mu\text{L}$ の Euthasol (Virbac、Fort Worth、TX) で安楽死させた。マウスが足先のピンチに無反応となった後、しかし心拍停止する前に、 $500 \mu\text{L}$ の血液をヘパリン処置されたシリンジを介した心臓穿刺により採取し、直後に $20 \mu\text{L}$ のヘパリンでボルテックスを行った。デューク大学獣医学診断研究所によって IDEXX ProCyt Dx Hematology 分析器を使用して、CBC 分析が行われた。

【0189】

結果

血管透過性への TPOM の作用

照射媒介血管内皮細胞死の結果の1つは、低減した血管完全性であり、これは、血管漏出をもたらす (Weintraub et al., Am. Coll. Cardiol. 55(12):1237-9(2010))。70 kDa の FITC-デキストランを静脈内注射後に血管系からのデキストラン遊出を定量することによって、血管完全性を評価した。このサイズのデキストランは、アルブミンサイズに近いことから選択され、したがってその血管外遊出は生理学的に関連する (Dreher et al., J. Natl. Cancer Inst. 98(5):334-44(2006))。撮影を開始して30秒後にデキストランを注射し、バックグラウンドシグナルを確立した。注射後、血管系内に強力な蛍光シグナルが現れ、そのシグナルは血管ネットワーク中に拡がった。漏出は、血管内から発生した FITC シグナルの「拡がり」として観察された。

【0190】

組織から血管系への逆輸送を含むモデルを考慮したが、双方向の輸送を有する標準モデルは、血中 TAC が負の指数関数を有すると仮定され、それは血中 TAC が経時的に短調減少することを示唆する。本明細書中に記載の観察された血中 TAC に基づくと、撮影の後半において一部の個体が増加し次いで減少する、ある数のケースにおいてこの仮定は、不適切である。このことは、標準モデルが一部のデータに関して適合しないであろうことを示唆する。適合するモデルは、より強力である。なぜなら、血中 TAC に関するどんな特定の形態も予め推定することなく、経験的に観察されたデータを使用するからである。

【0191】

TPOM 治療は、漏出低減によって血管完全性保存した。

非照射対照マウスは、強力な血管完全性を示し、シグナルは血管内に留まり、撮影セッション中の25分間で認められるような変化はなかった。RTによって血管完全性が損なわれなかったマウスにおいては、FITCシグナルが、血管マスクを超えて明らかに延びた。透過率を各マウスで算出し、示した。

【0192】

図7。照射は、照射後3日目および7日目で有意に透過率を上昇させた ($p < 0.05$ 、対照と比較(表1))。しかしながら、照射後にTPOmで処置されたマウスからの透過率は、いずれの時点でも非照射対照と、有意に異なっていた。しかしながら、対照群において、一部の動物が上昇した透過性を示したが、一方7日目のTPOm群の動物は示さなかった。3日目と7日目との透過率の間で相関性はなかったことから、障害が動物間で同一時にピークにならない可能性があることを示唆した(図8)。

【0193】

【表1】

表1: 改変デキストラン透過率比較のANOVA結果

条件	作用	標準誤差	t 値	p 値
ベースライン	0.0012	0.0003	3.7025	0.0003
RT D3	0.0013	0.0006	2.0089	0.0483*
RT D7	0.0015	0.0006	2.2727	0.0260*
RT + TPO D3	0.0009	0.0007	1.2689	0.2086
RT + TPO D7	-0.0002	0.0007	-0.2346	0.8152

【0194】

白血球内皮細胞相互作用におけるTPOmの作用。

これまでの研究には、照射された小腸 (Johnson et al., BMC Surgery 4:10 (2004))、皮膚 (Kimura et al., Int.J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 33(3):627-33(1995))、および舌下粘膜 (Birrer et al., "Inhibition of the continuum of radiation-induced normal tissue injury by a redox-active mu porphyrin", Radiation Research, 188(1):94-104(2017)) の終末細静脈において増加したローリング白血球をもたらす照射媒介による炎症応答の定量を行うために生体内顕微鏡を利用している。白血球内皮相互作用を評価するために、照射 (6 Gy) 後24時間の耳の血管系のリアルタイム画像を得た。血管内アクリジンオレンジ注射後、白血球核に標識をして蛍光顕微鏡による可視化が可能になった。ShamおよびRTマウスの両方において、ローリングする白血球が、血管壁に沿ってフリーフローから明白に別の速度で縁に移動する様子が現れた (A)。

【0195】

後毛細管細静脈を分析に使用し、直径 (直径およそ15~60 μm) および収束血流の証拠に基づいて、他の血管と識別された。処置は、選択された血管の中で、平均血流速度、直径、せん断速度のいずれにも有意な作用を与えなかった (図10)。

【0196】

せん断速度は、血管壁と並行な血流力であり、L/E相互作用に直接作用する。より高いせん断速度は、白血球の粘着分子との相互作用を低減させる。このことは、L/E相互作用に対してせん断速度をプロットした場合、高いせん断速度におけるL/E相互作用は減少し、負の勾配となることを意味している。この関係におけるRTの役割を検討するために、せん断速度およびL/E相互作用を、1匹のマウスにつき少なくとも4本の血管に関して判定し、各血管の数値を散布図としてグラフ化した (B)、

【0197】

および、Graph Pad Prismを使用して、個々のマウスについて勾配を算出した。予想通り、L/E相互作用は、せん断速度の増加と共に減少し、 -14.4 ± 5.1 の勾配をもたらした (C)。

【0198】

しかしながら、照射の24時間後、より高いせん断速度において、L/E相互作用が継続するほどの十分な内皮活動が出現し、 5.6 ± 3.6 の平均勾配をもたらした。

【0199】

観察結果が全身の白血球の数が増加したことに起因するという可能性を排除するために、全血球算定を行った(表2)。照射後24時間まで、RTマウスの血小板はわずかに減少したが、有意ではなかった。すべての群で、総白血球数、総好中球、または総リンパ球に有意な差はなく、RT、TPOm、相互作用の作用としても有意差はなかった。したがって、観察されたL/E相互作用の増加は、上昇した血中成分の単なる副産物ではなかった。

【0200】

【表2】

表2: RT24時間後に全血球計算値を得た。N=5/群;データは平均±SEMで示す

	生理食塩水, 0 Gy	TPOm, 0 Gy	生理食塩水, 6 Gy	TPOm, 6 Gy	TPOmの 作用 (p値)	RTの作用 (p値)	相互作用 の作用 (p値)
血小板 (K/ μ L)	582±80	531±68	370±70	548±105	0.4523	0.2543	0.1815
白血球 (K/ μ L)	2.5±0.5	2.55±0.48	3.64±0.7	2.11±0.33	0.2603	0.9926	0.1073
好中球 (K/ μ L)	0.368±0.05	0.68±0.31	0.456±0.09	0.232±0.05	0.7929	0.291	0.1235
リンパ球 (K/ μ L)	1.79±0.44	1.77±0.23	1.52±0.12	1.33±0.24	0.7046	0.2292	0.7779

【0201】

耳を6 Gyで処置してから6時間後に生理食塩水または300 μ g/kgのTPOmを皮下投与されたマウスは、生理食塩水群において -14.4 ± 10.9 の平均勾配を有する、L/E相互作用とせん断速度との間の関係に統計的に有意な作用がある一方、TPOm処置群と非照射対照との間に差はなかった(平均勾配は -8.7 ± 6.4)。これらの知見は、TPOmは、照射後の血管内皮白血球相互作用を低減するため、照射後の血管完全性の維持を促進し得るという仮説を裏付ける。

【0202】

当業者によって、上記の実施形態に、その広範な発明のコンセプトから逸脱することなく、変更がなされるであろうことは認められるであろう。したがって、本発明は、開示された特定の実施形態に限定されることはなく、本明細書に定義される通り、変更形態は本発明の趣旨および範囲内に含むものと意図すると理解される。

1. 標的放射線治療に曝露された対象における血管完全性を保護する方法であって、有効量の配列番号1のアミノ酸配列を含むトロンボポエチン(TPO)ミメティックを対象に投与することを含む、方法。

2. 前記TPOミメティックが、下記の式(I)

10

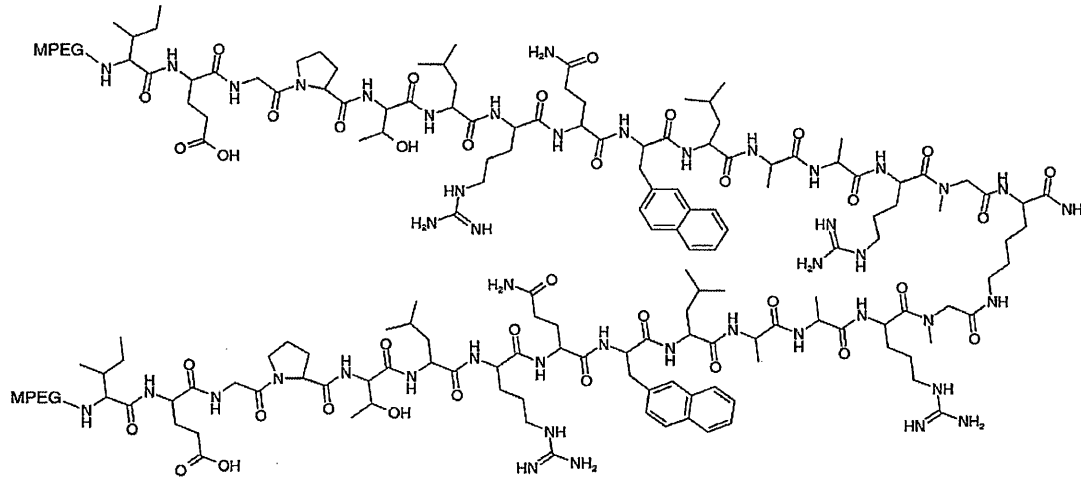
20

30

40

50

【化 8】



式(I)

(式中、MPEGは、メトキシポリエチレングリコール2000を表す)の構造を有するRWJ-800088、または薬学的に許容されるその塩もしくはエステルである、上記1に記載の方法。

3. 前記TPOミメティックが配列番号4を含むロミプロスチムである、上記1に記載の方法。

4. 標的放射線治療に曝露された前記対象が、がんの治療中である、上記1から3のいずれかに記載の方法。

5. 前記がんが、前立腺がん、頭頸部がん、肝細胞癌、結腸がん、肺がん、メラノーマ、膵臓がんおよび乳がんからなる群から選択される、上記4に記載の方法。

6. 前記対象が前記放射線に曝露されてから少なくとも約10分～少なくとも約420分後に、前記対象に前記TPOミメティックを投与する、上記1から5のいずれかに記載の方法。

7. 前記対象が放射線に曝露されてから少なくとも約20分～少なくとも約360分後に、前記対象に前記TPOミメティックを投与する、上記6に記載の方法。

8. 前記対象が放射線に曝露されてから少なくとも約40分～少なくとも約240分後に、前記対象に前記TPOミメティックを投与する、上記7に記載の方法。

9. 前記対象が放射線に曝露されてから少なくとも約60分～少なくとも約180分後に、前記対象に前記TPOミメティックを投与する、上記8に記載の方法。

10. 前記標的放射線治療および前記有効量の前記TPOミメティックの投与後、前記対象が陰部動脈血管拡張障害から保護される、上記1から9のいずれかに記載の方法。

11. 前記標的放射線治療および前記有効量の前記TPOミメティックの投与後、前記対象が低減された血管収縮を有する、上記1から9のいずれかに記載の方法。

12. 前記標的放射線治療および前記有効量の前記TPOミメティックの投与後、前記対象が低減された血管漏出を有する、上記1から9のいずれかに記載の方法。

13. 前記標的放射線治療および前記有効量の前記TPOミメティックの投与後、前記対象が低減された血管内皮白血球相互作用を有する、上記1から9のいずれかに記載の方法。

14. 前記標的放射線治療が外部放射線治療、内部放射線治療、および全身ラジオアイソトープ治療からなる群から選択される、上記1から13のいずれかに記載の方法。

15. 標的放射線が、10～70グレイ(Gy)の線量で投与される、上記1から14のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1】

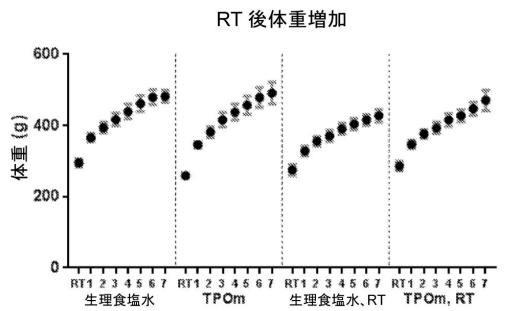


図 1A

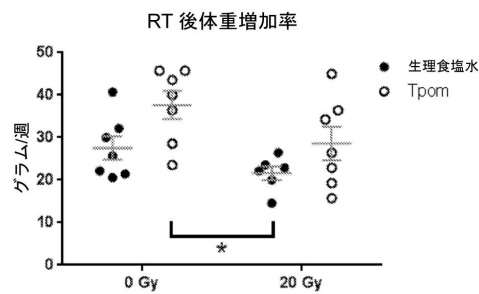


図 1B

【図 2】

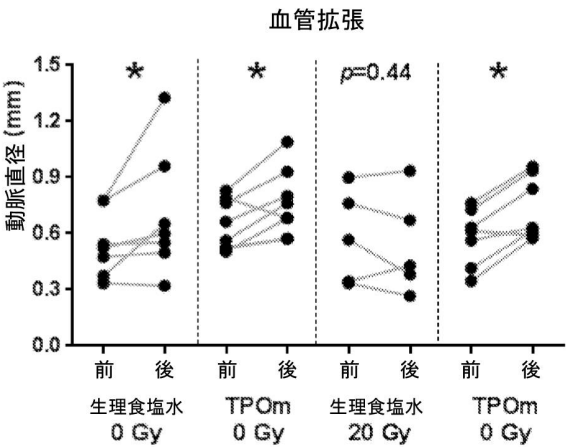


図 2

【図 3 - 1】

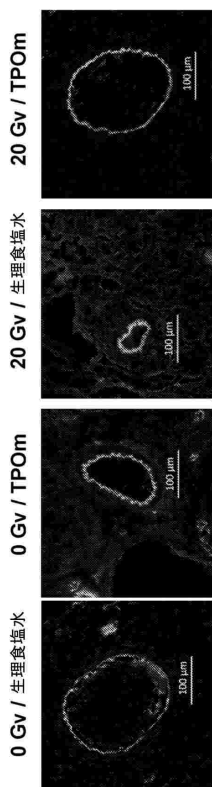


図 3A

【図 3 - 2】

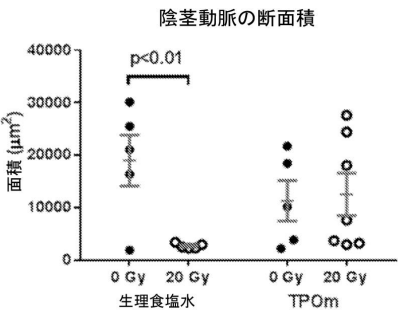


図 3B

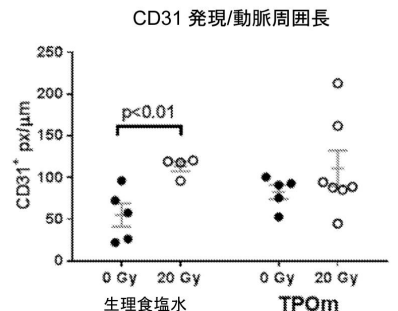


図 3C

【図 4】

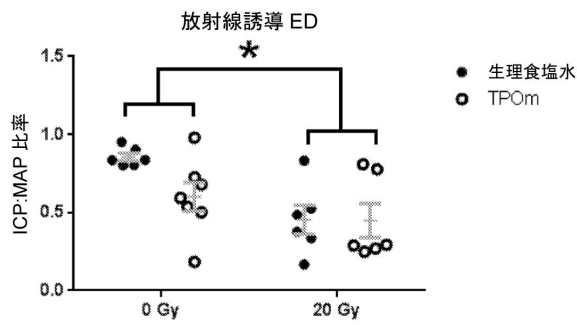


図 4

【図 5 - 1】

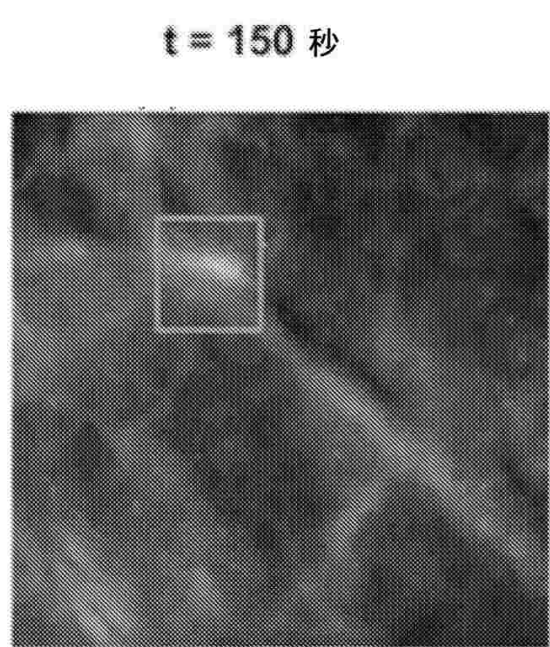


図 5A

【図 5 - 2】

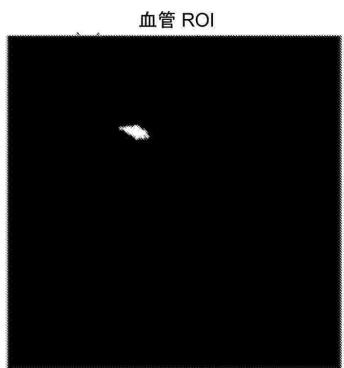


図 5B

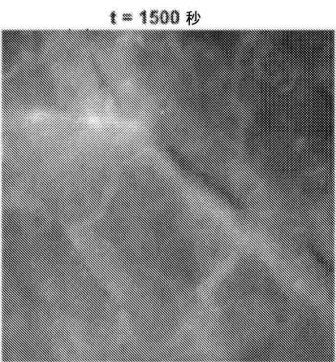


図 5C

【図 5 - 3】

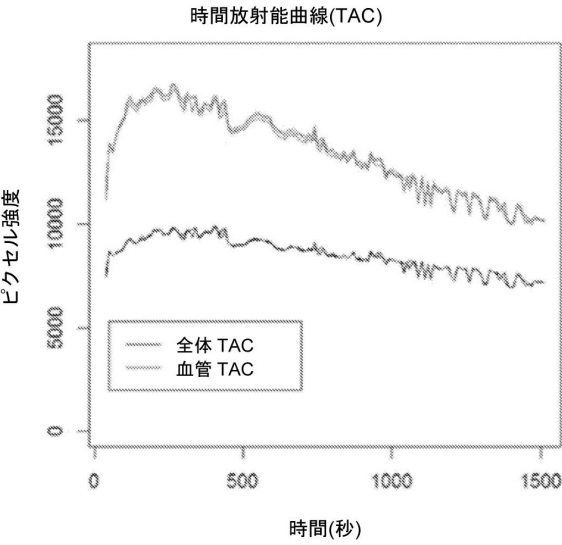


図 5D

10

20

30

40

50

【図 6】

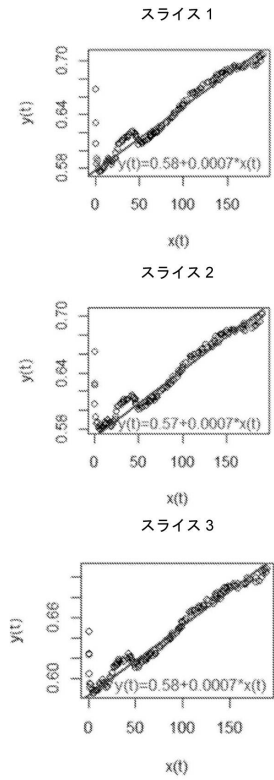


図 6

【図 7】

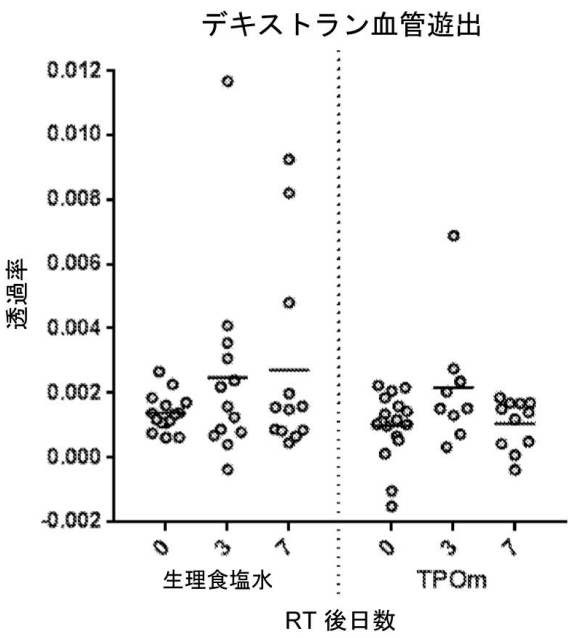


図 7

【図 8】

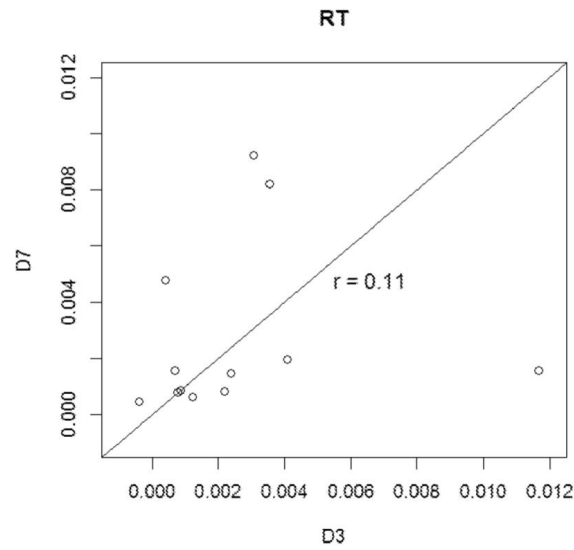


図 8

【図 9 - 1】

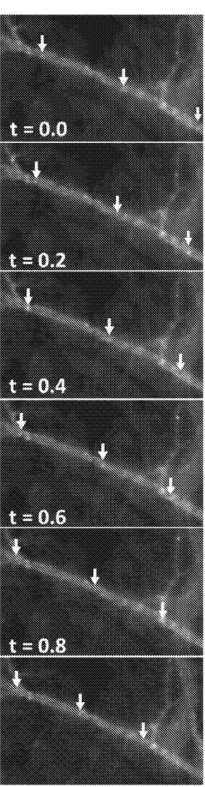


図 9A

10

20

30

40

50

【図 9 - 2】

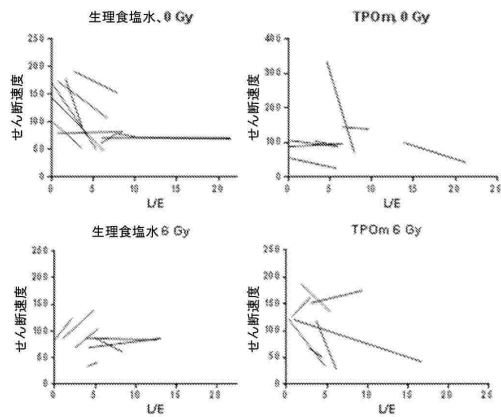


図 9B

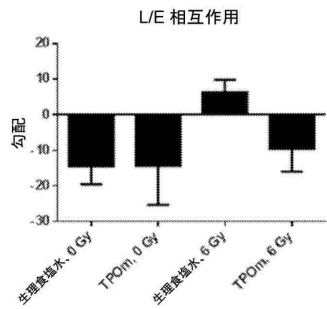


図 9C

【図 10】

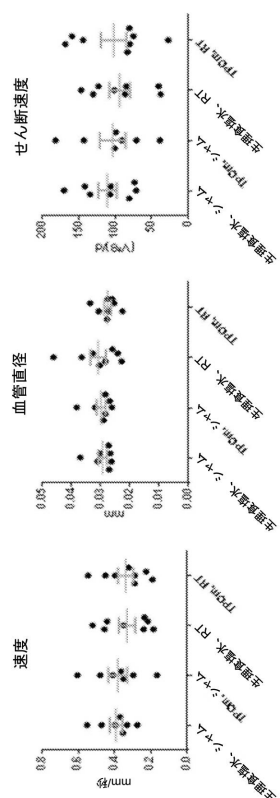


図 10

【配列表】

0007481252000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類

		F I	
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K	9/08
A 6 1 N	5/10 (2006.01)	A 6 1 N	5/10

(72)発明者 エイチエンバウム, ゲリー

アメリカ合衆国 ニュージャージー州 0 8 5 0 2, ベル ミード, ケッチャム ロード 1 1 2

(72)発明者 トネリ, アルフレッド

ベルギー国 ベー. - 2 3 4 0 ベルセ, トルンハウッサーヴェヒ 3 0, ヤンセン ファーマシュー
ーティカ エヌ. ベー. 内

審査官 辰己 雅夫

(56)参考文献

米国特許出願公開第 2 0 0 8 / 0 1 1 9 3 8 4 (U S, A 1)
特表 2 0 0 1 - 5 0 5 8 9 8 (J P, A)
特開 2 0 1 4 - 0 9 7 9 5 8 (J P, A)
特表 2 0 1 2 - 5 1 8 4 0 8 (J P, A)
国際公開第 2 0 0 7 / 0 8 7 4 2 8 (W O, A 2)
特表平 1 0 - 5 0 7 7 7 6 (J P, A)
特表 2 0 0 7 - 5 0 4 1 3 2 (J P, A)
Fang Chen et al., Effect of radiation-induced endothelial cell injury on platelet regeneration
by megakaryocytes, Journal of Radiation Research, 2017年04月11日, Vol.58 No.4, 45
6-463

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2
A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9
A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 8 / 5 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)