

(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2021-527128

(P2021-527128A)

(43) 公表日 令和3年10月11日(2021.10.11)

| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|---------------------------------|----------------|-------------|
| A 6 1 K 31/122 (2006.01) | A 6 1 K 31/122 | 4 C 0 7 6 |
| A 6 1 K 31/05 (2006.01) | A 6 1 K 31/05 | 4 C 0 8 4 |
| A 6 1 P 3/10 (2006.01) | A 6 1 P 3/10 | 4 C 2 0 6 |
| A 6 1 P 13/12 (2006.01) | A 6 1 P 13/12 | |
| A 6 1 K 9/20 (2006.01) | A 6 1 K 9/20 | |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 37 頁) 最終頁に続く

| | | | |
|--------------------|------------------------------|----------|---|
| (21) 出願番号 | 特願2021-518056 (P2021-518056) | (71) 出願人 | 520481105 エピゾン・ファーマ・インコーポレイテッド |
| (86) (22) 出願日 | 令和1年6月7日 (2019.6.7) | | |
| (85) 翻訳文提出日 | 令和3年2月2日 (2021.2.2) | | |
| (86) 国際出願番号 | PCT/US2019/036138 | | Epizon Pharma, Inc. |
| (87) 国際公開番号 | WO2019/237053 | | アメリカ合衆国10022ニューヨーク州 ニューヨーク、パーク・アベニュー445番 |
| (87) 国際公開日 | 令和1年12月12日 (2019.12.12) | | |
| (31) 優先権主張番号 | 62/682,796 | (74) 代理人 | 100145403 弁理士 山尾 憲人 |
| (32) 優先日 | 平成30年6月8日 (2018.6.8) | (74) 代理人 | 100156144 弁理士 落合 康 |
| (33) 優先権主張国・地域又は機関 | 米国 (US) | (72) 発明者 | ジェイムズ・エイ・タムリン アメリカ合衆国30046ジョージア州ロ ーレンスビル、ハリケーン・ショールズ・ ロード595番、スウィート100 最終頁に続く |

(54) 【発明の名称】 組織石灰化を予防または治療するための方法および組成物

(57) 【要約】

本発明は、組織石灰化を予防するまたは治療することを必要とする対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）ための方法および組成物を提供するものであり、より具体的には、本発明は、糖尿病、慢性腎疾患、末期腎不全の対象体、または血液透析および/または抗凝固療法を受けている対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）ためのメナキノ-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) の使用方法に関する。本発明は、慢性閉塞性肺障害 (COPD) の1つ以上の症状を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）ために、メナキノ-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) の使用を含む、COPDの1つ以上の症状を減少させるための方法および組成物をさらに提供する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることを必要とする前糖尿病の対象体または糖尿病、慢性腎疾患もしくはその組合せの対象体において、組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる方法であって、該方法が、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なメナキノン-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与し、これにより組織石灰化を予防する、進行を遅らせるおよび/または停止させることを含み、MK7および/またはMKH2-7が、医薬組成物で投与される、方法。

【請求項 2】

対象体が、糖尿病を有する、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

対象体が、II型糖尿病を有する、請求項2に記載の方法。

【請求項 4】

対象体が、前糖尿病と診断されている、請求項1に記載の方法。

【請求項 5】

対象体が、慢性腎疾患を有する、請求項1~4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

対象体が、ステージ4または5の慢性腎疾患/末期腎疾患を有する、請求項1~4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

対象体が、血液透析を受けている、請求項1~6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

対象体が、非ワルファリンベースの抗凝固療法を受けている、請求項1~7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

抗凝固療法が、経口抗凝固療法である、請求項8に記載の方法。

【請求項 10】

抗凝固療法が、第Xa因子活性(例えば、アピキサバン、リバーロキサバン、ベトリキサバン、エドキサバン、オタミキサバン、レタキサバン、エリパキサバンまたはフォンダパリヌクス)または第IIa因子活性(例えば、ダビガトランまたはアルガトロバン)の阻害薬を含む、請求項9に記載の方法。

【請求項 11】

組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることを必要とする血液透析を受けている対象体において、組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる方法であって、該方法が、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なメナキノン-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与し、これにより組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることを含み、MK7および/またはMKH2-7が、医薬組成物で投与される、方法。

【請求項 12】

対象体が、糖尿病を有する、請求項11に記載の方法。

【請求項 13】

糖尿病が、II型糖尿病である、請求項12に記載の方法。

【請求項 14】

対象体が、前糖尿病と診断されている、請求項11に記載の方法。

【請求項 15】

対象体が、慢性腎疾患を有する、請求項11~14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

対象体が、ステージ4またはステージ5の慢性腎疾患/末期腎疾患を有する、請求項15に

10

20

30

40

50

記載の方法。

【請求項 17】

対象体が、非ワルファリンベースの抗凝固療法を受けている、請求項11～16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

抗凝固療法が、経口抗凝固療法である、請求項17に記載の方法。

【請求項 19】

抗凝固療法が、第Xa因子活性（例えば、アピキサバン、リバーロキサバン、ベトリキサバン、エドキサバンまたはフォンダパリヌクス）または第IIa因子活性（例えば、ダビガトランまたはアルガトロバン）の阻害薬を含む、請求項17に記載の方法。

10

【請求項 20】

組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるまたは反転させることを必要とするステージ5の慢性腎疾患を有し、経口非ワルファリンベースの抗凝固療法を受けている対象体において、組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるまたは反転させる方法であって、該方法が、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なメナキノ-7（MK-7）および/またはメナキノール-7（MKH2-7）を対象体に投与し、これにより対象体における組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることを含み、MK7および/またはMKH2-7が、医薬組成物で投与される、方法。

【請求項 21】

対象体が、糖尿病である、請求項20に記載の方法。

20

【請求項 22】

対象体が、前糖尿病と診断されている、請求項20に記載の方法。

【請求項 23】

対象体が、血液透析を受けている、請求項21または22に記載の方法。

【請求項 24】

抗凝固療法が、第Xa因子活性（例えば、アピキサバン、リバーロキサバン、ベトリキサバン、エドキサバンまたはフォンダパリヌクス）または第IIa因子活性（例えば、ダビガトランまたはアルガトロバン）の阻害薬を含む、請求項21～23のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 25】

MK-7および/またはMKH2-7の対象体への投与が、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の対象体の血清T50値と比較して、対象体の血清T50値を（例えば少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上）増加させる、請求項1～24のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 26】

MK-7および/またはMKH2-7の投与が、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の比または量と比較して、(a)対象体の血漿中におけるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比を増加させるか、または(b)対象体の血漿中における非カルボキシル化ビタミンK依存性タンパク質の量を減少させる、請求項1～25のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 27】

ビタミンK依存性タンパク質が、マトリックスGlaタンパク質、成長停止特異的遺伝子6（Gas-6）タンパク質、PIVKA-IIタンパク質、オステオカルシン、活性化プロテインCまたは活性化プロテインSより選択される、請求項26に記載の方法。

【請求項 28】

MK-7および/またはMKH2-7の対象体への投与が、MK-7および/またはMKH2-7の投与前のオステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿レベルと比較して、オステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿レベルを増加させる、請求項1～27のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 29】

MK-7および/またはMKH2-7の対象体への投与が、MK-7および/またはMKH2-7の投与前のDダイマーまたは高感度C反応性タンパク質（hs-CRP）の血漿レベルと比較して、Dダイマーまたは高感度C反応性タンパク質（hs-CRP）の血漿レベルを減少させる、請求項1～28のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

対象体が皮膚病変を有する場合、MK-7および/またはMKH2-7の投与が、皮膚および/または血管の病変サイズを減少させる、請求項1～29のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 31】

MK-7および/またはMKH2-7の投与が、病変の総表面積を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%減少させる、請求項30に記載の方法。

【請求項 32】

組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることを必要とする対象体において、組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる方法であって、該方法が、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なメナキノ-7（MK-7）および/またはメナキノール-7（MKH2-7）を対象体に投与することを含み、MK7および/またはMKH2-7が、下記：

(i) MK-7および/またはMKH2-7の投与前の対象体の血清T50値と比較して、対象体の血清T50値を（例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上）増加させる、

(ii) MK-7および/またはMKH2-7の投与前の比と比較して、対象体の血漿中におけるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比を（例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上）増加させる、

(iii) MK-7および/またはMKH2-7の投与前のオステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿濃度と比較して、オステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿レベルを（例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上）増加させる、または

(iv) MK-7および/またはMKH2-7の投与前のDダイマーまたは高感度C反応性タンパク質（hs-CRP）の血漿濃度と比較して、Dダイマーまたは高感度C反応性タンパク質（hs-CRP）の血漿レベルを（例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%）減少させる

の少なくとも1つを引き起こし、これにより対象体における組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させるように、医薬組成物で投与される、方法。

【請求項 33】

対象体が、糖尿病を有する、請求項32に記載の方法。

【請求項 34】

対象体が、前糖尿病と診断されている、請求項32に記載の方法。

【請求項 35】

対象体が、慢性腎疾患を有する、請求項32または33に記載の方法。

【請求項 36】

対象体が、血液透析を受けている、請求項32～35のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 37】

対象体が、非ワルファリンベースの抗凝固療法を受けている、請求項32～36のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

- 【請求項 38】
抗凝固療法が、経口抗凝固療法である、請求項37に記載の方法。
- 【請求項 39】
抗凝固療法が、第Xa因子活性（例えば、アピキサバン、リバーロキサバン、ベトリキサバン、エドキサバンまたはフォンダパリヌクス）または第IIa因子活性（例えば、ダビガトランまたはアルガトロパン）の阻害薬を含む、請求項38に記載の方法。
- 【請求項 40】
ビタミンK依存性タンパク質が、マトリックスGlaタンパク質、成長停止特異的遺伝子6（Gas-6）タンパク質、PIVKA-IIタンパク質、オステオカルシン、活性化プロテインCまたは活性化プロテインSより選択される、請求項33～39のいずれか一項に記載の方法。 10
- 【請求項 41】
1日当たり約2 mg～約100 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含む、請求項1～40のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 42】
1日当たり約5 mg～約100 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含む、請求項1～41のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 43】
1日当たり約10 mg～約100 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含む、請求項1～42のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 44】 20
1日当たり10、25、50、75、100 mgまたはそれ以上のMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含む、請求項1～43のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 45】
MK-7および/またはMKH2-7が、少なくとも2週間対象体に投与される、請求項1～44のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 46】
MK-7および/またはMKH2-7が、少なくとも6週間対象体に投与される、請求項1～45のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 47】
対象体が、血液透析を受けている場合、MK-7および/またはMKH2-7が、血液透析の期間を含む一定期間対象体に投与される、請求項1～46のいずれか一項に記載の方法。 30
- 【請求項 48】
MK-7および/またはMKH2-7が、経口投与される、請求項1～47のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 49】
MK-7および/またはMKH2-7が、錠剤、カプレット剤またはカプレット剤内に配置される、請求項1～48のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 50】
対象体が、ワルファリンベースの抗凝固療法に以前曝露されていた、請求項1～49のいずれか一項に記載の方法。 40
- 【請求項 51】
対象体が、スタチンを受けている、請求項1～50のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 52】
スタチンが、シンバスタチン、ロバスタチン、アトルバスタチン、プラバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチンおよびフルバスタチンより選択される、請求項51に記載の方法。
- 【請求項 53】
組織石灰化が、血管石灰化である、請求項1～52のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 54】 50
組織石灰化が、皮膚石灰化である、請求項1～53のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 5】

組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることを必要とする対象体において、組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる方法であって、該方法が、

(a)1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なメナキノ-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) ; および

(b)スタチン

を対象体に投与することを含む、方法。

【請求項 5 6】

スタチンが、シンバスタチン、ロバスタチン、アトルバスタチン、プラバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチンおよびフルバスタチンより選択される、請求項55に記載の方法。

10

【請求項 5 7】

MK-7および/またはMKH2-7が、スタチンと同一の剤形中において投与される、請求項55または56に記載の方法。

【請求項 5 8】

MK-7および/またはMKH2-7が、スタチンと別個の剤形中において投与される、請求項55または56に記載の方法。

【請求項 5 9】

大動脈コンプライアンスを改善することを必要とする対象体において、大動脈コンプライアンスを改善する方法であって、該方法が、1日当たり有効量の実質的に純粋なメナキノ-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与することを含む、方法。

20

【請求項 6 0】

末梢血管障害を停止させるおよび/または反転させることを必要とする対象体において、末梢血管障害を停止させるおよび/または反転させる方法であって、対象体が、ESRDまたはCKDを有し、該方法が、1日当たり有効量の実質的に純粋なメナキノ-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与することを含む、方法。

【請求項 6 1】

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の1つ以上の症状を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることを必要とする対象体において、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の1つ以上の症状を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる方法であって、該方法が、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なメナキノ-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与し、これによりCOPDの1つ以上の症状を予防する、または進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることを含み、MK7および/またはMKH2-7が、医薬組成物で投与される、方法。

30

【請求項 6 2】

1つ以上の症状が、呼吸困難、咳、粘液産生、喘鳴およびエラスチン分解からなる群より選択される、請求項61に記載の方法。

【請求項 6 3】

1日当たり約2 mg ~ 約100 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含む、請求項59~62のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 6 4】

1日当たり約5 mg ~ 約100 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含む、請求項59~63のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 5】

1日当たり約10 mg ~ 約100 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含む、請求項59~64のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 6】

1日当たり10、25、50、75または100 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与す

50

ることを含む、請求項59～65のいずれか一項に記載の方法。

【請求項67】

MK-7および/またはMKH2-7が、少なくとも2週間対象体に投与される、請求項59～66のいずれか一項に記載の方法。

【請求項68】

MK-7および/またはMKH2-7が、少なくとも6週間対象体に投与される、請求項59～67のいずれか一項に記載の方法。

【請求項69】

MK-7および/またはMKH2-7が、無期限に対象体に投与される、請求項59～67のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項70】

MK-7および/またはMKH2-7が、経口投与される、請求項59～69のいずれか一項に記載の方法。

【請求項71】

MK-7および/またはMKH2-7が、錠剤、カプレット剤またはカプレット剤内に配置される、請求項59～70のいずれか一項に記載の方法。

【請求項72】

対象体が、スタチンを受けている、請求項59～71のいずれか一項に記載の方法。

【請求項73】

MK-7および/またはMKH2-7の投与が、スタチンのビタミンK枯渇効果を予防するかまたは減少させる、請求項72に記載の方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

本願は、2018年6月8日出願の米国仮出願第62/682,796号に基づく優先権および利益を主張し、該出願は、出典明示によりその全体として本明細書の一部とする。

(発明の分野)

本発明は、一般的に、組織石灰化を予防するまたは治療することを必要とする対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する(例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる)ための方法および組成物を提供するものであり、より具体的には、本発明は、糖尿病、慢性腎疾患(CKD)、末期腎疾患の対象体、または血液透析および/または抗凝固療法および/またはスタチン療法を受けている対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する(例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる)ためのメナキノール-7(MK-7)および/またはメナキノール-7(MKH2-7)の使用に関する。本発明は、また、慢性閉塞性肺障害(COPD)の1つ以上の症状を予防するまたは治療する(例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる)ために、メナキノール-7(MK-7)および/またはメナキノール-7(MKH2-7)の使用を含む、COPDの1つ以上の症状を減少させるための方法および組成物に関する。

30

【背景技術】

40

【0002】

通常の生理学的条件下で、血漿カルシウムおよびリン酸塩は、過飽和レベルに近い濃度で存在し、その結果、結晶性ヒドロキシアパタイトとして軟組織(例えば血管)に沈殿すると予想され得る。このプロセスが健康な対象体では生じないとの知見は、病的石灰化をブロックするための強力な化学的および生物学的手段の存在を示唆した(Price, et al. (2002) "Discovery of a High Molecular Weight Complex of Calcium, Phosphate, Fetuin, and Matrix-Carboxyglutamic Acid Protein in the Serum of Etidronate-treated Rats," JOURNAL BIOL. CHEM. 277 (6): 3926-3934)。

【0003】

例えば糖尿病および慢性腎疾患(CKD)の対象体において石灰化の抑制が妨げられると

50

、軟組織（例えば血管）の病的石灰化が生じ得る。糖尿病は、尿毒により特徴づけられるCKDおよび末期腎疾患（ESRD）をもたらす得ると理解されている。尿毒は、ビタミンKヒドロキノン（KH₂）の酸化を促進し、これにより、他の効果のうちビタミンKの周期的再生を妨げ得る（図1参照）。また、ワルファリンベースの抗凝固療法およびスタチン療法を含む特定の治療は、ビタミンKの異常調節を引き起こし得るかまたは寄与し得る。機能的ビタミンKの喪失は、ミネラル化の重要な調節因子の喪失をもたらす、組織の病的石灰化を引き起こす。動脈石灰化の場合、内皮微小血管血栓症が発生することが観察され、小さな血管閉塞および周囲組織の死をもたらす。

【0004】

ビタミンKは、ビタミンK依存性（VKD）タンパク質の翻訳後修飾に必要な必須の酵素補因子である。多くのVKDタンパク質は、CKDおよびESRD患者に臨床的に関連しており、例えば、中枢凝固因子、例えば第II、第VII、第IXおよび第X因子、および細胞間マトリックスタンパク質、例えばマトリックスGlaタンパク質（MGP）活性化プロテインCおよびオステオカルシンを含む。ビタミンKは、脂溶性ビタミンのグループであり、とりわけ、植物によって作られるビタミンK₁（フィロキノンとしても知られている）と、腸内細菌叢の細菌によって作られるビタミンK₂（メナキノンとしても知られている）が含まれる。ビタミンK₂のイソプレノイド鎖は、4~12個の繰り返しイソプレノイド単位を含むことができることが理解されている。例えば、メナキノン-4（またはMK-4）は4個のイソプレノイド単位を含むのに対し、メナキノン-7（またはMK-7）は7個のイソプレノイド単位を含む。

【0005】

メナキノン-7（MK-7）に関して、通常の条件下では、MK-7は、1つまたは複数のNADPH依存性レダクターゼ酵素（例えばキノキシドレダクターゼ）によりメナキノール-7（MKH₂-7）（ビタミンKヒドロキノンの一形態）に還元される。MK-7の還元型（すなわちMKH₂-7）のみが、ビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化を触媒する酵素のグルタミン酸カルボキシラーゼ（GGCX）の補因子として機能する（図1および2参照）。グルタミン酸残基の酵素的カルボキシル化は、2,3-エポキシド型（MK-7 2,3-エポキシド）へのMKH₂-7の酸化をもたらす。ビタミンKサイクルの最終工程は、ビタミンKエポキシドレダクターゼ複合体サブユニット1（VKORC1、VKORとも称される）によるMK-7へのビタミンMK-7 2,3-エポキシドの酵素的還元を必要とする。いくつかの組織では、パラログVKORC1L1（VKORC1-Like-1）はまた、この触媒反応を行い得る。ワルファリンは、MKH₂-7およびビタミンK₂の活性型の生成と、ビタミンMK-7 2,3-エポキシドからのMK-2の再生の両方をブロックすると考えられており、これは、ワルファリン療法を受けている患者に見られる石灰化の高い発生数を引き起こし得る。

【0006】

これまでの努力にもかかわらず、病的石灰化を予防する、および/または反転させるための新しい臨床的アプローチが必要とされている。特に、糖尿病、CKD、ESRDを有する対象体、および抗凝固および/またはスタチン療法を受けている対象体において、病的石灰化を予防する、および/または反転させるための新しい臨床的アプローチが必要とされている。

【発明の概要】

【0007】

メナキノン-7（MK-7）および/またはメナキノール-7（MKH₂-7）を、対象体、例えば糖尿病および/または慢性腎疾患の対象体において、組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させるために、高用量、例えば1日当たり少なくとも2 mgの用量にて、効果的に用いることができることを発見した。

【0008】

一態様において、本発明は、組織石灰化を予防するまたは治療することを必要とする糖尿病、慢性腎疾患もしくはその組合せの対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）方法であって、該方法が、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なMK-7、MKH₂-7またはその組合せ

10

20

30

40

50

を対象体に投与し、これにより組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）ことを含み、MK-7、MKH2-7またはその組合せが、医薬組成物の形態で投与される、方法を提供する。特定の実施態様において、対象体は、血液透析を受けている。特定の実施態様において、医薬組成物は、MK-7を含む。特定の実施態様において、医薬組成物は、MKH2-7を含む。特定の実施態様において、医薬組成物は、MK-7とMKH2-7の組合せを含む。

【0009】

別の一態様において、本発明は、組織石灰化を予防するまたは治療することを必要とする血液透析を受けている対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）方法であって、該方法が、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なMK-7、MKH2-7またはその組合せを対象体に投与し、これにより組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）ことを含み、MK-7、MKH2-7またはその組合せが、医薬組成物の形態で投与される、方法を提供する。特定の実施態様において、医薬組成物は、MK-7を含む。特定の実施態様において、医薬組成物は、MKH2-7を含む。特定の実施態様において、医薬組成物は、MK-7とMKH2-7の組合せを含む。

10

【0010】

上記態様のいずれかの特定の実施態様において、対象体は、糖尿病、例えばII型糖尿病を有する。特定の実施態様において、対象体は、慢性腎疾患、例えばステージ1、ステージ2、ステージ3、または末期腎疾患（ESRD）、例えばステージ4またはステージ5を有する。特定の実施態様において、対象体は、非ワルファリンベースの抗凝固療法、例えば経口抗凝固療法を受けている。

20

【0011】

別の一態様において、本発明は、組織石灰化を予防するまたは治療することを必要とするステージ5の慢性腎疾患を有し、同時に経口非ワルファリンベースの抗凝固療法を受けている対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）方法を提供する。方法は、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なMK-7、MKH2-7またはその組合せを対象体に投与し、これにより対象体における組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）ことを含み、ここで、MK-7、MKH2-7またはその組合せは、医薬組成物の形態で投与される。特定の実施態様において、医薬組成物は、MK-7を含む。特定の実施態様において、医薬組成物は、MKH2-7を含む。特定の実施態様において、医薬組成物は、MK-7とMKH2-7の組合せを含む。特定の実施態様において、対象体は、糖尿病である。特定の実施態様において、対象体は、血液透析を受けている。

30

【0012】

上記態様のいずれかの特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の対象体への投与は、MK-7および/またはMKH2-7のそれぞれの投与前の対象体の血清T50値と比較して、対象体の血清T50値を（例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上）増加させる。

40

【0013】

上記態様のいずれかの特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7のそれぞれの投与前の比と比較して、対象体の血漿中におけるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比を（例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上）増加させる。上記態様のいずれかの特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7のそれぞれの投与前の量と比較して、対象体の血漿中における非カルボキシル化ビタミンK依存性タンパク質の量を（例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80

50

%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上)減少させる。特定の実施態様において、ビタミンK依存性タンパク質は、マトリックスメカニカルタンパク質(MGP)、成長停止特異的遺伝子6(Gas-6)タンパク質、PIVKA-IIタンパク質、オステオカルシン、活性化プロテインC、活性化プロテインS、第II因子、第VII因子、第IX因子および第X因子より選択される。

【0014】

上記態様のいずれかの特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7のそれぞれの投与前のオステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿濃度と比較して、オステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿レベルを(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上)増加させる。

10

【0015】

上記態様のいずれかの特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7のそれぞれの投与前のDダイマーまたは高感度C反応性タンパク質(hs-CRP)の血漿濃度と比較して、Dダイマーまたは高感度C反応性タンパク質(hs-CRP)の血漿レベルを(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上)減少させる。

20

【0016】

上記態様のいずれかの特定の実施態様において、対象体は、皮膚および/または血管の病変を有し、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、治療レジメンの開始前の病変サイズと比較して、皮膚および/または血管の病変サイズを減少させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、病変の総表面積を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%減少させる。

30

【0017】

さらに別の態様において、本発明は、組織石灰化を予防するまたは治療することを必要とする対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する(例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる)方法であって、該方法が、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なメナキノ-7(MK-7)、メナキノール-7(MKH2-7)またはその組合せを、下記:(i)MK-7および/またはMKH2-7の投与前の対象体の血清T50値と比較して、対象体の血清T50値を(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上)増加させる、または(ii)MK-7および/またはMKH2-7の投与前の比と比較して、対象体の血漿中におけるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比を(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上)増加させる、(iv)MK-7および/またはMKH2-7の投与前のオステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿濃度と比較して、オステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿レベルを(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%、またはそれ以上)増加させる、または(v)MK-7および/またはMKH2-7の投与前のDダイマーまたは高感度C反応性タンパク質(hs-CRP)の血漿濃度と比較して、Dダイマーまたは高感度C反応性タンパク質(hs-CRP)の血漿レベルを(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%)減少させるの、少なくとも1つまたはその組合せを引き起こし、これにより対象体における組織石灰化を予防するまたは治療する(例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる)ように対象体に投与することを含み、ここで、MK-7、MKH2-7またはその組合せは、医薬組成物の形態で投与され

40

50

る、方法を提供する。特定の実施態様において、医薬組成物は、MK-7を含む。特定の実施態様において、医薬組成物は、MKH2-7を含む。特定の実施態様において、医薬組成物は、MK-7とMKH2-7の組合せを含む。ビタミンK依存性タンパク質は、マトリックスメタタンパク質、成長停止特異的遺伝子6 (Gas-6) タンパク質、PIVKA-IIタンパク質、オステオカルシン、活性化プロテインC、活性化プロテインS、第II因子、第VII因子、第IX因子および第X因子より選択され得る。

【0018】

別の一態様において、本発明は、組織石灰化を予防するまたは治療すること必要とする対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）方法であって、該方法が、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なメナキノン-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) およびスタチンを対象体に投与することを含む、方法を提供する。特定の実施態様において、スタチンは、シンバスタチン、ロバスタチン、アトルバスタチン、プラバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチンおよびフルバスタチンより選択される。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7は、スタチンと同一の剤形中において投与される。他の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7は、スタチンと別個の剤形中において投与される。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、スタチンのビタミンK枯渇効果を予防するかまたは減少させる。

10

【0019】

別の一態様において、本発明は、大動脈コンプライアンスを改善することを必要とする対象体において、大動脈コンプライアンスを改善する方法であって、該方法が、1日当たり有効量の実質的に純粋なメナキノン-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与することを含む、方法を提供する。

20

【0020】

別の一態様において、本発明は、末梢血管障害を予防するまたは治療することを必要とする対象体において、末梢血管障害を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）方法であって、対象体が、ESRDまたはCKDを有し、該方法が、1日当たり有効量の実質的に純粋なメナキノン-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与することを含む、方法を提供する。

【0021】

別の一態様において、本発明は、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の1つ以上の症状を予防するまたは治療することを必要とする対象体において、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の1つ以上の症状を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）方法であって、該方法が、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なメナキノン-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与し、これによりCOPDの1つ以上の症状を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるまたは反転させる）ことを含み、MK7および/またはMKH2-7が、医薬組成物で投与される、方法を提供する。特定の実施態様において、1つ以上の症状は、呼吸困難、咳、粘液産生、喘鳴およびエラスチン分解 (elastinolysis) からなる群より選択される。

30

【0022】

上記態様のいずれかの特定の実施態様において、対象体は、糖尿病、例えばII型糖尿病を有するか、または前糖尿病と診断されている。特定の実施態様において、対象体は、慢性腎疾患、例えばステージ1、ステージ2、ステージ3、または末期腎疾患 (ESRD)、例えばステージ4またはステージ5を有する。特定の実施態様において、対象体は、非ワルファリンベースの抗凝固療法、例えば経口抗凝固療法を受けている。

40

【0023】

特定の実施態様において、非ワルファリンベースの抗凝固療法が用いられる場合、抗凝固療法は、第Xa因子活性（例えば、アピキサバン、リバーロキサバン、ベトリキサバン、エドキサバンまたはフォンダパリヌクス）または第IIa因子活性（例えば、ダビガトランまたはアルガトロバン）の阻害薬を含み得る。特定の実施態様において、対象体は、ワル

50

ファリンベースの抗凝固療法に以前曝露されていた。

【0024】

特定の実施態様において、対象体は、スタチンを受けている。例えば、スタチンは、シンバスタチン、ロバスタチン、アトルバスタチン、プラバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチンおよびフルバスタチンより選択され得る。

【0025】

特定の実施態様において、組織石灰化は、軟組織石灰化である。例えば、組織石灰化は、血管または皮膚の石灰化であり得る。

【0026】

上記態様のいずれかの特定の実施態様において、方法は、1日当たり約2 mg ~ 約1,000 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。他の実施態様において、方法は、1日当たり約5 mg ~ 約1,000 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。

【0027】

上記態様のいずれかの特定の実施態様において、方法は、1日当たり約2 mg ~ 約750 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。他の実施態様において、方法は、1日当たり約5 mg ~ 約750 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。上記態様のいずれかの特定の実施態様において、方法は、1日当たり約2 mg ~ 約500 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。他の実施態様において、方法は、1日当たり約5 mg ~ 約500 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。上記態様のいずれかの特定の実施態様において、方法は、1日当たり約2 mg ~ 約250 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。他の実施態様において、方法は、1日当たり約5 mg ~ 約250 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。上記態様のいずれかの特定の実施態様において、方法は、1日当たり約2 mg ~ 約100 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。他の実施態様において、方法は、1日当たり約5 mg ~ 約100 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。他の実施態様において、方法は、1日当たり約10 mg ~ 約75 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与すること、例えば、1日当たり10、25、50または75 mgのMK-7および / またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。

【0028】

特定の実施態様において、MK-7および / またはMKH2-7は、少なくとも2週間、4週間、6週間、8週間、3か月、6か月、1年または無期限に対象体に投与される。対象体が血液透析を受けている場合、MK-7および / またはMKH2-7は、少なくとも血液透析の期間を含む一定期間対象体に投与され得る。

【0029】

特定の実施態様において、MK-7および / またはMKH2-7は、経口投与される。MK-7および / またはMKH2-7は、錠剤、カプレット剤またはカプセル剤内に配置され得る。

【0030】

上記の説明は、本発明の複数の態様および実施形態を説明している。特許出願は、態様および実施形態のすべての組合せおよび変形を具体的に企図している。本発明のこれらおよび他の態様および特徴は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲に記載されている。

【図面の簡単な説明】

【0031】

本発明の前記および他の目的、特徴および利点は、添付の図面に示されるように好ましい実施形態の以下の説明から明らかになるであろう。同様に、参照される要素は、対応する図面において共通の特徴を特定する。

【0032】

【図1】図1は、ビタミンKサイクルならびに尿毒および血液透析によって誘発されるビタミンKヒドロキノンの酸化の影響を示す概略図である。

【0033】

【図2】図2は、グルタミン酸カルボキシラーゼ（GGCX）によるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化を示す概略図である。

【発明を実施するための形態】

【0034】

本発明は、一部には、メナキノ-7（MK-7）および/またはMK-7の還元型であるメナキノール-7（MKH2-7）を、それを必要とする対象体に投与して、対象体、例えば糖尿病および/または慢性腎疾患の対象体において組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるまたは反転させる）ことができるという発見に基づく。

【0035】

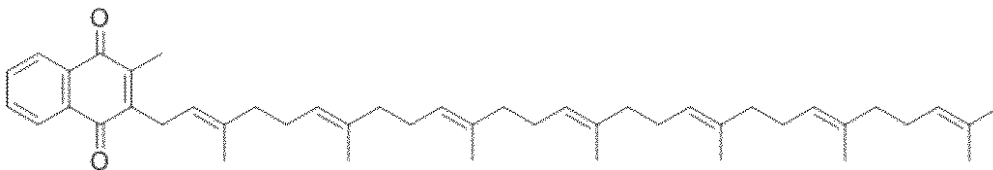
理論に拘束されることを望むものではないが、尿毒症毒素の保持によって誘発される酸化ストレスは、血管内皮の機能的ビタミンK₂を枯渇させ、カルボキシル化MGPおよび活性化プロテインCを含む特定のビタミンK依存性タンパク質を最適以下の濃度にする。これらおよび他のビタミン依存性タンパク質のその後のカルシウム結合能力の低下は、異常な組織石灰化に寄与する。高用量の実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7を用いて、ビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化を増加させ、これにより組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることができ、ここで、MK-7および/またはMKH2-7は、医薬組成物の形態で投与される。必要な量のMK-7および/またはMKH2-7が1日当たり投与される限り、MK-7および/またはMKH2-7は、単回投与単位（例えば1個のカプセル剤）または複数回投与単位（例えば複数個のカプセル剤）で投与され得る。特定の実施態様において、医薬組成物は、MK-7を含む。特定の実施態様において、医薬組成物は、MKH2-7を含む。特定の実施態様において、医薬組成物は、MK-7およびMKH2-7の組合せを含む。

【0036】

1. メナキノ-7（MK-7）および/またはメナキノール（MKH2-7）

本発明の組成物は、ビタミンK₂の一形態であるメナキノ-7（MK-7）を含む。MK-7のIUPAC名は、2-[(2E,6E,10E,14E,18E,22E)-3,7,11,15,19,23,27-ヘプタメチルオクタコサ-2,6,10,14,18,22,26-ヘプタエニル]-3-メチルナフタレン-1,4-ジオンであり、MK-7の化学構造を式Iに示す。

【化1】

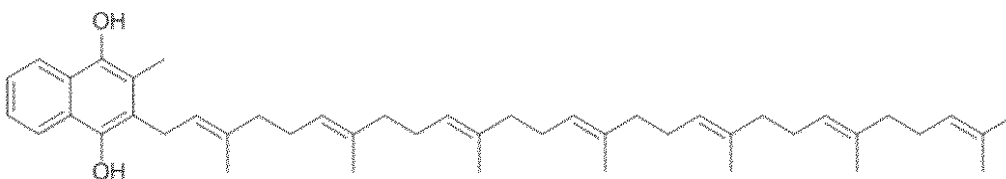


(式I)

【0037】

また、本明細書の方法に従って使用することが企図されているのは、MK-7の還元型であるメナキノール-7（MKH2-7）である。MKH2-7のIUPAC名は、2-[(2E,6E,10E,14E,18E,22E)-3,7,11,15,19,23,27-ヘプタメチルオクタコサ-2,6,10,14,18,22,26-ヘプタエニル]-3-メチルナフタレン-1,4-ジオールであり、MKH2-7の化学構造を式IIに示す。

【化2】



(式II)

【0038】

理論に拘束されることを望むものではないが、ビタミンKの補足的MK-7および/またはM

10

20

30

40

50

KH2-7形態は、尿毒および/または透析により引き起こされるビタミンK中間体の非特異的酸化に対する保護を増加させると考えられる。

【0039】

MK-7の長い脂肪族鎖は、ヒトにより合成されないが、細菌により結腸で合成される。また、MK-7の食事供給源としては、納豆菌（パチルス・サブティリスで発酵させた大豆）、チーズ、ザワークラウト、バターミルク、豚肉、ウナギ、プレイス、そば粉パンなどの細菌発酵食品が挙げられる。さらに、MK-7は、栄養補助食品（例えば、Rejuvenation Therapeutics（登録商標）；Bio-Tech™ Pharmacal MK-7 Vitamin K2、Fayetteville AR；NOW（登録商標）Foods MK-7 Vitamin K-2のビタミンK2 MK-7）として利用できる。

【0040】

しかしながら、本発明は、医薬組成物の形態で投与される実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7を用いる。

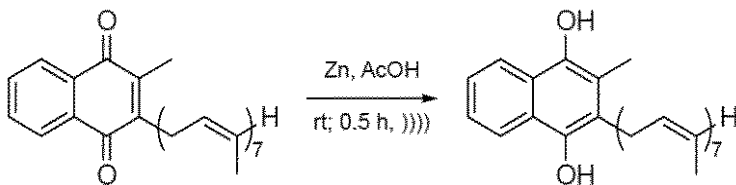
【0041】

例えば、Baj et al. (2016) "Convergent Synthesis of Menaquinone-7 (MK-7)," *ORG. PROCESS RES. DEV.* 20:1026-1033、国際公開第2010/034999号および国際公開第2010/035000号（米国特許出願第2011/0207967号としても公開されている）に記載のように、MK-7もまた合成的に製造できる。

【0042】

MKH2-7は、当該技術分野で知られている従来の還元反応を用いてMK-7を還元することにより、例えばMarchand et al. (1991) "Mild and Highly Selective Ultrasound-promoted Zinc/Acetic Acid Reduction of C=C Bonds in α,β -Unsaturated γ -Dicarbonyl Compounds," *SYNTHESIS* 1991(3):198-200に記載の亜鉛および酢酸での還元により、MK-7から合成され得る。

【化3】



【0043】

この方法において、MK-7（例えば1 g、1.54 mmol）を氷酢酸（15 mL）に溶解させ、粉末亜鉛（例えば0.8 g、12.3 mmol）を加える。得られた混合物を0.5時間超音波処理するか、または反応が完了するまで還流し得る。得られた混合物をろ過し、残渣をジクロロメタンで洗浄する。合わせたる液を真空で濃縮して、純粋な還元生成物を得る。手順をアルゴン下で実施する。還元型でMKH2-7を安定化するために、例えばカプセルまたはソフトゲル内で、1つ以上の抗酸化剤、例えばビタミンC、ビタミンCエステル（例えばパルミチン酸アスコルビル）、および/またはビタミンEと混合することが役立つ。あるいは、例えば一方または両方のヒドロキシル基を様々な基（例えばアセテート）でエステル化して、対象体内で代謝されてMKH2-7を生成する安定なプロドラッグを生成する、MKH2-7のプロドラッグを作ってもよい。

【0044】

II. 剤形および投与

特定の実施態様において、本発明に従って有用な組成物は、実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7を含むか、それらから本質的になるか、またはそれらからなる。実質的に純粋は、少なくとも95重量%、少なくとも96重量%、少なくとも97重量%、少なくとも98重量%、少なくとも99重量%または少なくとも99.5重量%のMK-7および/またはMKH2-7を含む活性成分の組成を指す。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7は、剤形中で投与される唯一のビタミンである。

【0045】

本明細書で用いる語句「有効量」および「治療上有効量」は、1つ以上の有益なまたは

10

20

30

40

50

所望の影響を及ぼすのに十分な化合物（例えば、MK-7および/またはMKH2-7）の量を指す。有効量は、1回以上の投与（administration）、適用または投与（dosage）で投与され得て、特定の製剤または投与経路に限定されることは意図されない。

【0046】

別の一実施態様において、本発明は、有効量のMK-7および/またはMKH2-7、例えば約2 mg ~ 約1,000 mg、約2 mg ~ 約750 mg、約2 mg ~ 約500 mg、約2 mg ~ 約250 mg、約2 mg ~ 約200 mg、約2 mg ~ 約150 mg、約2 mg ~ 約100 mg、約2 mg ~ 約50 mg、約2 mg ~ 約25 mg、約5 mg ~ 約1,000 mg、約5 mg ~ 約750 mg、約5 mg ~ 約500 mg、約5 mg ~ 約250 mg、約5 mg ~ 約200 mg、約5 mg ~ 約150 mg、約5 mg ~ 約100 mg、約5 mg ~ 約50 mg、約5 mg ~ 約25 mg、約10 mg ~ 約1,000 mg、約10 mg ~ 約750 mg、約10 mg ~ 約500 mg、約10 mg ~ 約250 mg、約10 mg ~ 約200 mg、約10 mg ~ 約150 mg、約10 mg ~ 約100 mg、約10 mg ~ 約50 mg、約10 mg ~ 約25 mg、約15 mg ~ 約1,000 mg、約15 mg ~ 約750 mg、約15 mg ~ 約500 mg、約15 mg ~ 約250 mg、約15 mg ~ 約200 mg、約15 mg ~ 約150 mg、約15 mg ~ 約100 mg、約15 mg ~ 約50 mg、約15 mg ~ 約25 mg、約25 mg ~ 約1,000 mg、約25 mg ~ 約750 mg、約25 mg ~ 約500 mg、約25 mg ~ 約250 mg、約25 mg ~ 約200 mg、約25 mg ~ 約150 mg、約25 mg ~ 約100 mg、約25 mg ~ 約50 mg、約50 mg ~ 約1,000 mg、約50 mg ~ 約750 mg、約10 mg ~ 約500 mg、約50 mg ~ 約250 mg、約50 mg ~ 約200 mg、約50 mg ~ 約150 mg、約50 mg ~ 約100 mg、約75 mg ~ 約1,000 mg、約75 mg ~ 約750 mg、約75 mg ~ 約500 mg、約75 mg ~ 約250 mg、約75 mg ~ 約200 mg、約75 mg ~ 約150 mg、約75 mg ~ 約100 mg、約100 mg ~ 約1,000 mg、約100 mg ~ 約750 mg、約100 mg ~ 約500 mg、約100 mg ~ 約250 mg、約100 mg ~ 約200 mgまたは約100 mg ~ 約150 mgを含む剤形、例えば経口剤形を提供する。特定の実施態様において、2 mg、5 mg、10 mg、25 mg、75 mgまたは100 mgの実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7は、適切な剤形、例えば錠剤、カプレット剤またはカプセル剤（例えば液剤またはゲルカプセル剤）で対象体に投与される。

10

20

【0047】

特定の実施態様において、方法は、1日当たり約2 mg ~ 約100 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。他の実施態様において、方法は、1日当たり約2.5 mg ~ 約100 mg、約3 mg ~ 約100 mg、約4 mg ~ 約100 mgまたは約5 mg ~ 約100 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。特定の実施態様において、方法は、1日当たり約2 mg、2.5 mg、約3 mg、約4 mg、約5 mgまたは約7.5 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。他の実施態様において、方法は、1日当たり約10 mg ~ 約100 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与すること、例えば、1日当たり10、25、50、75または100 mgのMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含み得る。

30

40

【0048】

MK-7および/またはMKH2-7は、単回投与単位（例えば1個のカプセル剤）または複数回（例えば2、3または4回など）投与単位（例えば複数個のカプセル剤）で投与され得ると理解される。本発明による使用のための組成物は、1つ以上の投与単位として製剤化され得る。このような投与単位を、1日1回または1日当たり複数回（例えば、1 ~ 約10回、1 ~ 約8回、1 ~ 約6回、1 ~ 約4回または1 ~ 2回）、または治療反応を誘発するのに必要な回数だけ投与することができる。投与単位は、キット、例えば、1シート当たり約1個 ~ 約20個の投与単位（例えばカプセル剤）の1個以上のプリスターパッケージを含むキットまたは複数個の投与単位（例えばカプセル剤）を含むボトルに包装され得る。

【0049】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7を含む医薬組成物は、水薬（水性もしくは非水性溶液または懸濁液）、錠剤（例えばパッカル、舌下および/または全身吸収を標的とするもの）、ポーラス、散剤、顆粒剤、舌への適用のためのペースト剤および/または局所クリーム剤を含む、固体または液体形態で投与のために製剤化され得る。本明細書で用いる用語「医薬組成物」は、インピボまたはエクスピボでの診断または治療用途に特に適した組成物を作る1つ以上の医薬的に許容される担体（不活性または活性）と

50

の活性剤の組合せを指す。本明細書で用いる用語「医薬的に許容される担体」は、標準的な医薬担体および添加剤、例えばリン酸緩衝生理食塩溶液、水、エマルジョン（例えば、例えば油/水または水/油型エマルジョン）および様々なタイプの湿潤剤のいずれかを指す。組成物はまた、安定化剤および防腐剤を含み得る。担体、安定化剤およびアジュバントの例は、Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publ. Co., Easton, PA (1975)を参照。

【0050】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7組成物は、ヒマシ油、ゴマ油、中鎖トリグリセリド（MCT）油、オリーブ油、ダイズ油またはコーヒー豆油などの油中で製剤化され得る。MK-7および/またはMKH2-7組成物と用いるのに適した添加剤は、抗酸化剤、

10

【0051】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7組成物は、1つ以上の抗酸化剤、例えばDL- α -トコフェロール（ビタミンE）、アスコルビン酸（ビタミンC）またはビタミンCエステル、ドコサヘキサエン酸（DHA）、エイコサペンタエン酸（EPA）、レシチン、クエン酸、ゴマ油、オリーブ油、ダイズ油およびコーヒー豆油より選択される1つ以上の抗酸化剤を含む。

【0052】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7組成物は、Tween（登録商標）20（ポリエチレングリコールソルビタンモノラウレート）、Tween（登録商標）80（ポリエチレングリコールソルビタンモノオレエート）、Kolliphor（登録商標）EL（ポリオキシヒマシ油、Cremophor ELとも称される）、Capmul（登録商標）MCM（カプリル酸およびカプリン酸などの中鎖脂肪酸のモノ-ジグリセリド）、レシチン、LauroglycolTM 90（プロピレングリコールモノラウレート（タイプII））、デオキシコール酸、Phosal（登録商標）50 PG（プロピレングリコール中のレシチン、サンフラワーモノ-ジグリセリド、パルミチン酸アスコルビル）、蜜蝋およびワックスフレークより選択される乳化剤を含む。

20

【0053】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7組成物は、Maisine（登録商標）CC（モノリノール酸グリセリル）、Gelucire（登録商標）44/14（ラウロイルポリオキシヒマシ油-32グリセリド）、Capmul（登録商標）PG-8 NF（カプリル酸のプロピレングリコールモノエステル）、Plurol（登録商標）Oleique（ポリグリセリル-6ジオレエート）、LauroglycolTM 90（プロピレングリコールモノラウレート（タイプII））、Labrasol（登録商標）（カプリロカプロイルポリオキシヒマシ油-8グリセリド）、Captisol（登録商標）（SBE- β -シクロデキストリン）、Labrafil（登録商標）M2125CS（リノレオイルポリオキシヒマシ油-6グリセリド）およびPhosal（登録商標）50 PG（プロピレングリコール中のレシチン、サンフラワーモノ-ジグリセリド、パルミチン酸アスコルビル）より選択されるバイオアベイラビリティ増強剤を含む。

30

【0054】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7組成物は、オレイン酸、Kolliphor（登録商標）EL（ポリオキシヒマシ油、Cremophor ELとも称される）、ビタミンE TPGS（D- α -トコフェロールポリエチレングリコール-1000スクシネート）、Maisine（登録商標）CC（モノリノール酸グリセリル）、Gelucire（登録商標）44/14（ラウロイルポリオキシヒマシ油-32グリセリド）、Miglyol（登録商標）812N（飽和ココナッツとパーム核油由来のカプリル酸とグリセリンのエステル）、Plurol（登録商標）Oleique（ポリグリセリル-6ジオレエート）、LauroglycolTM 90（プロピレングリコールモノラウレート（タイプII））、Labrasol（登録商標）（カプリロカプロイルポリオキシヒマシ油-8グリセリド）、Kolliphor（登録商標）EL（ポリオキシヒマシ油）、Captisol（登録商標）（SBE- β -シクロデキストリン）、EncapsinTM HPB（ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン）、PeceolTM（グリセロール/モノオレイン酸グリセリル（タイプ40））、デオキシコール酸ナトリウム、デオキシコール酸、Labrafil（登録商標）M2125CS（リノレオイルポリオキシヒマシ油-6グ

40

50

リセリド)および中鎖モノ-およびジ-グリセリドより選択される溶解性増強剤または可溶化剤を含む。

【0055】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7組成物は、ミリスチン酸イソプロピル、Capmul(登録商標)PG-8NF(カプリル酸のプロピレングリコールモノエステル)、LauroglycolTM90(プロピレングリコールモノラウレート(タイプII))、ポリエチレングリコール(PEG)およびプロピレングリコールからなる群より選択される溶媒を含む。

【0056】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7組成物は、オレイン酸およびDL-トコフェロールからなる群より選択される安定化剤を含む。

10

【0057】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7組成物は、オレイン酸ナトリウム、Span20(ラウリン酸ソルビタン)、Span(登録商標)80(オレイン酸ソルビタン)、ビタミンETPGS(D-トコフェロールポリエチレングリコール-1000スクシネート)、LauroglycolTM90(プロピレングリコールモノラウレート(タイプII))、Labrasol(登録商標)(カプリロカプロイルポリオキシド-8グリセリド)、ポリエチレングリコール(PEG)およびCaptisol(登録商標)(SBE-シクロデキストリン)からなる群より選択される界面活性剤を含む。

20

【0058】

他の適切な添加剤としては、ラウリン酸、吉草酸、カプロン酸、カプリン酸、カプリル酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、およびアラキジン酸より選択される1つ以上の脂肪酸およびそれらのエステルが挙げられる。

【0059】

特定の実施態様において、本発明の実施に有用な組成物は、経口送達可能である。本明細書における用語「経口送達可能」または「経口投与」は、組成物が飲み込まれるかどうかにかかわらず組成物が対象体の口に置かれる、対象体へ本明細書に記載の組成物を送達するあらゆる形態を含む。したがって、「経口投与」は、バツカルおよび舌下ならびに食道投与を含む。

30

【0060】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7は、少なくとも2週間、例えば、2、3、4、5週間またはそれ以上対象体に投与される。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7は、少なくとも6週間投与される。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7は、少なくとも2か月、少なくとも3か月、少なくとも6か月、少なくとも1年、少なくとも2年、少なくとも3年または無期限に対象体に投与される。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7は、少なくとも、対象がワルファリンまたはワルファリンと同様の作用機序を有する薬物(例えばアセノクマロールおよびフェプロクモン)ではない抗凝固療法、および/またはスタチン療法を受けている限り投与される。対象体が血液透析を受けている場合、MK-7および/またはMKH2-7は、血液透析の期間を含む一定期間対象体に投与され得る。

40

【0061】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7組成物は、スタチン、例えばシンバスタチン、ロバスタチン、アトルバスタチン、プラバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチンおよびフルバスタチンと一緒に投与される。MK-7および/またはMKH2-7組成物は、スタチンとの、本明細書に記載の剤形などの単一剤形に製剤化され得る。他の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7組成物は、スタチンと別個の剤形に製剤化され得る。スタチン、例えばシンバスタチン、ロバスタチン、アトルバスタチン、プラバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチンおよびフルバスタチンの製剤は、当該技術分野で周知である。

【0062】

50

本明細書に記載の用語「対象体」および「患者」は、区別しないで用いられ、本発明の方法および組成物により治療されるべき生物体を指す。このような生物体は、好ましくは哺乳動物（例えば、ヒト、マウス、ラット、モルモット、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ、または非ヒト霊長類、例えばサル、チンパンジー、ヒヒおよびアカゲザル）、より好ましくはヒトである。

【0063】

III. 方法

本開示は、一部には、それを必要とする対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する、例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる方法に関する。特定の実施態様において、方法は、組織石灰化を予防することに関する。特定の実施態様において、方法は、組織石灰化の進行を遅らせることに関する。特定の実施態様において、方法は、組織石灰化を停止させることに関する。特定の実施態様において、方法は、組織石灰化を反転させることに関する。

10

【0064】

特定の実施態様において、本開示は、大動脈コンプライアンスを改善することを必要とする対象体において、大動脈コンプライアンスを改善する方法であって、該方法が、1日当たり有効量の実質的に純粋なメナキノ-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与することを含む、方法に関する。特定の実施態様において、本開示は、末梢血管障害の進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることを必要とする対象体において、末梢血管障害の進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる方法であって、対象体が、ESRDまたはCKDを有し、該方法が、1日当たり有効量の実質的に純粋なメナキノ-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与することを含む方法に関する。

20

【0065】

本明細書で用いる用語「治療すること」は、状態、疾患、障害などの改善またはその症状の改善をもたらす、例えば軽減、減少、進行の遅延、停止、調節、改善または排除などのあらゆる効果を含む。治療することは、障害を治癒、改善または少なくとも部分的に改善することであり得る。特定の実施態様において、治療することは、疾患を治癒することである。用語「障害」は、他に断らない限り、疾患、病態または病気の用語を指し、区別しないで用いられる。

30

【0066】

方法は、本明細書に記載のメナキノ-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) 組成物（例えば、1日当たり少なくとも2 mg、例えば1日当たり10、15、25、50、75 mgまたはそれ以上の実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7）を対象体に投与し、これにより組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）ことを含み得る。組織石灰化は、身体組織におけるカルシウム塩の蓄積を指す。特定の実施態様において、組織石灰化は、軟組織石灰化である。用語「軟組織」は、骨または歯ではないあらゆる組織を含む。特定の実施態様において、組織石灰化は、血管または皮膚の石灰化である。

【0067】

1. 糖尿病、CKD、ESRD、血液透析

特定の実施態様において、本明細書に記載の方法および/または組成物で治療すべき対象体は、糖尿病、例えばIもしくはII型糖尿病を有するか、または前糖尿病と診断されている。糖尿病は、制御されていない血糖および血圧が腎臓の毛細血管に損傷を与えるため、慢性腎疾患（CKD）をしばしばもたらす。CKDは、尿毒（血中の尿素）の発生をしばしばもたらし、これはビタミンKの周期的再生を障害し、組織石灰化を引き起こし得る。したがって、特定の実施態様において、対象体は、CKDを有する。

40

【0068】

慢性腎疾患の患者は、糸球体ろ過率（GFR）に基づいてステージに分類される。ステージ1の患者のGFRは 90 mL/分/1.73 m²、ステージ2は60~89 mL/分/1.73 m²、ステージ3

50

は30～59 mL/分/1.73 m²、ステージ4は15～29 mL/分/1.73 m²、ステージ5は<15 mL/分/1.73 m²である。特定の実施態様において、対象体は、ステージ3、ステージ4またはステージ5のCKDを有する。ステージ4またはステージ5のCKDの患者は、末期腎疾患（ESRD）を有すると見なされる。他のタイプの腎疾患、例えば多嚢胞性腎疾患もまた、ESRDを引き起こし得る。特定の実施態様において、対象体は、ESRDを有する。

【0069】

ESRDの患者は、血液透析を必要とする。しかしながら、血液透析は、しばしば多数の組織タンパク質の酸化をもたらし、CKDおよびESRDの患者の両方が、しばしば正常なコントロールと比較してカルボニルタンパク質の割合が高い（15倍）。カルボニルタンパク質の割合は、血液透析を受けている患者でさらに高くなり得て、これは血液透析が酸化負荷に寄与することを示唆している。

10

【0070】

上記で論じたように、血液透析により生じる酸化負荷は、MK-7へのKH₂の酸化をもたらすと考えられる。血液透析によるKH₂の酸化は、GGCXの補因子として機能する能力をブロックし、ビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体を減少させることができると考えられる。したがって、血液透析の酸化効果は、CKDおよびESRD集団で観察される高い割合の軟組織（例えば血管）石灰化に寄与し得る。したがって、本明細書の特定の実施態様において、対象体は、血液透析を受けている。

【0071】

2. 抗凝固療法

20

ビタミンKは、凝固因子の産生に必要である。しかしながら、特定の抗凝固剤、例えば特定の経口抗凝固剤は、血液凝固を防止するビタミンKアンタゴニストとして機能する。ビタミンK活性が調節されていないときに組織石灰化が生じ得ることを考慮すると、本明細書における方法は、抗凝固療法を受けており、組織石灰化を予防するまたは治療することを必要とする対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）ことに関するものであり、本明細書に記載の組成物を含むメナキノン-7（MK-7）および/またはメナキノール-7（MKH₂-7）を対象体に投与することを含み、これにより組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）。

【0072】

30

例示的な抗凝固療法としては、第Xa因子活性または第IIa因子活性の阻害薬が挙げられる。第Xa因子活性の阻害薬は、経口療法のアピキサバン（例えば、Eliquis（登録商標）、Bristol-Myers Squibb）、リバーロキサバン（例えば、Xarelto（登録商標）、Janssen）、ベトリキサバン（例えば、Bevyxxa（登録商標）、Portola Pharmaceuticals）およびエドキサバン（例えば、Savaysa（登録商標）、Daiichi Sankyo）、および皮下療法のリソナパリヌクス（例えば、Arixtra（登録商標）、GlaxoSmithKline）を含む。第IIa因子（トロンピン）活性の阻害薬は、経口療法のだビガトラン（例えば、Pradaxa（登録商標）、Boehringer Ingelheim）および静脈内療法のアルガトロバン（例えば、Pfizer）を含む。

【0073】

40

特定の実施態様において、対象体は、非ワルファリンベースの抗凝固療法を同時に受けている。非ワルファリンベースの抗凝固療法は、ビタミンKヒドロキノンへのビタミンKの変換および/またはビタミンKへのビタミンK_{2,3}-エポキシドの変換をブロックするように主に作用しない抗凝固剤に基づき得る。例示的な非ワルファリンベースの抗凝固剤は、第Xa因子活性の阻害薬または第IIa因子活性の阻害薬として作用し得る。例示的な非ワルファリンベースの抗凝固剤としては、アピキサバン、リバーロキサバン、ベトリキサバン、エドキサバン、だビガトラン、リソナパリヌクスおよびアルガトロバンが挙げられる。特定の実施態様において、対象体は、ワルファリンベースの抗凝固療法に以前曝露されていた。

【0074】

50

特定の実施態様において、本明細書に記載の方法は、それを必要とする対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）ことに関するものであり、ここで、対象体は、CKDまたはESRDを有し、経口の非ワルファリンベースの抗凝固療法を受けている。方法は、1日当たり少なくとも2 mgの実質的に純粋なメナキノ-7（MK-7）および/またはメナキノール-7（MKH2-7）を対象体に投与し、これにより組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるまたは反転させる）ことを含み得る。対象体はまた、糖尿病、前糖尿病を有してもよく、および/または血液透析を受けていてもよい。

【0075】

3. スタチン療法

冠動脈石灰化は、スタチンの使用時に増加し得ることが観察されている（Saremi et al. (2012) "Progression of Vascular Calcification Is Increased With Statin Use in the Veterans Affairs Diabetes Trial (VADT)," DIABETES CARE 35:2390-2392）。親油性スタチンは、ビタミンK合成に関与する酵素であるUbiAプレニルトランスフェラーゼドメイン含有タンパク質（UBIAD1）の酵素活性を阻害することが示されている（Nakagawa et al. (2010) "Identification of UBIAD1 as a novel human menaquinone-4 biosynthetic enzyme," NATURE 468(7320):117-21）。さらに、インビトロでの実験は、スタチンの存在下でビタミンK合成が障害されることを示していると考えられる（Chen et al. (2017) "Does statins promote vascular calcification in chronic kidney disease?" EUR. J. CLIN. INVEST. 47(2): 137-148）。

【0076】

理論に拘束されることを望むものではないが、HMG coAレダクターゼ阻害薬は、冠血管平滑筋のMK-4産生を直接阻害することが考えられ、これは、スタチンがCKDまたはESRDの患者の心血管死亡率を低下させることが示されていない理由を説明し得る。この観察の1つの考えられる説明は、CKDおよびESRDの患者は、機能的にビタミンKが不足し、内因性血管平滑筋細胞のビタミンK（MK-4）産生をブロックすると、血管内側の石灰化を悪化させるだけであり、それ故に、脂質減少の潜在的な利益を軽減することである。さらに、石灰化の増加に伴う血管コンプライアンスの損失は、心血管の全体死亡率に寄与し得る。

【0077】

したがって、それを必要とする対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）方法であって、対象体がスタチンを受けている方法を提供する。方法は、本明細書に記載のメナキノ-7（MK-7）および/またはメナキノール-7（MKH2-7）組成物を対象体に投与することを含み得る。特定の実施態様において、対象体は、スタチン、例えばシンバスタチン（例えばZocor（登録商標）、Merck & Co., Inc.）、ロバスタチン（例えばMevacor（登録商標）、Merck & Co., Inc.）、アトルバスタチン（例えばLipitor（登録商標）、Pfizer）、プラバスタチン（例えばPravachol（登録商標）、Bristol-Myers Squibb Co.）、ピタバスタチン（例えばLivalo（登録商標）、Kowa Pharmaceuticals America）、ロスバスタチン（例えばCrestor（登録商標）、AstraZeneca）およびフルバスタチン（例えばLescol（登録商標）、Novartis Pharmaceuticals）を受けている。

【0078】

また、それを必要とする対象体において、組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）方法であって、該方法が、本明細書に記載のメナキノ-7（MK-7）および/またはメナキノール-7（MKH2-7）組成物およびスタチン、例えばシンバスタチン、ロバスタチン、アトルバスタチン、プラバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチンおよびフルバスタチンを対象体に投与することを含む、方法を提供する。メナキノ-7（MK-7）および/またはメナキノール-7（MKH2-7）およびスタチンは、別個の剤形として、または同一の剤形中において投与され得る。

【0079】

4. 大動脈コンプライアンスの改善、および末梢血管障害の停止および/または反転

10

20

30

40

50

特定の実施態様において、本開示は、それを必要とする対象体において、末梢血管障害を停止させるおよび/または反転させる方法であって、対象体が、ESRDまたはCKDを有し、該方法が、有効量の実質的に純粋なメナキノン-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与することを含む、方法に関する。特定の実施態様において、本開示は、それを必要とする対象体において、大動脈コンプライアンスを改善する方法であって、該方法が、有効量の実質的に純粋なメナキノン-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) を対象体に投与することを含む、方法に関する。

【0080】

用語「血管障害」は、血管に影響を与えるあらゆる疾患または障害を指す。これには、あらゆる炎症性、代謝性、凝固性、塞栓性または退行性の疾患、障害または状態が含まれ得る。特定の実施態様において、血管障害は、血管石灰化、例えば内側または内膜の石灰化である。

10

【0081】

血管石灰化の臨床的結果の1つは、動脈硬化であり、これは、血管コンプライアンス(例えば血管弾性)、例えば大動脈コンプライアンスを減少させる。したがって、本明細書に記載の方法によれば、有効量の実質的に純粋なメナキノン-7 (MK-7) および/またはメナキノール-7 (MKH2-7) の投与は、大動脈コンプライアンスを改善し得る。大動脈コンプライアンスの減少は、大動脈プレチスモグラフィ(すなわち血管が拡張する能力)を用いて評価し得て、例えば、Inuma et al. (2012) HONG KONG JOURNAL OF NEPHROLOGY 14(2):48-53参照。大動脈コンプライアンスの減少はまた、脈波伝播速度(PWV)を測定することにより評価され得る。PWVは、動脈拍動が循環系を移動する速度であり、動脈硬化の尺度として用いられる。PWVが高いほど動脈硬化が高くなり、それ故に血管コンプライアンスが低くなる。PWVの測定方法は、当該技術分野で公知であり、例えば、Pereira et al. (2015) "Novel Methods for Pulse Wave Velocity Measurement," J. MED. BIOL. ENG. 35:555-565に記載されている。簡単には、PWVは、領域(regional)PWV、例えば頸動脈-大腿動脈PWVまたは局所(local)PWVを測定することで評価し得る。領域PWVの測定方法は、当該技術分野で公知であり、例えば、パルストランスデューサプローブ、TY-360圧カトランスデューサ、心電図(ECG)と同期したドップラーユニット、パルストランスデューサプローブ、フォトプレチスモグラフィ、Complior(登録商標)(圧電圧カトランスデューサ)、SphygmoCor(登録商標)、Arteriograph(登録商標)、PulsePen(登録商標)(眼圧計と統合心電図ユニット)の使用を含む。局所PWVの測定方法は、当該技術分野で公知であり、例えば、磁気共鳴イメージング、超音波および血管造影を含む。

20

30

【0082】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、血管の大動脈コンプライアンスを少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%増加させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、血管の大動脈コンプライアンスを約10%~500%、約50%~200%、約75%~125%増加させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の血管と比較して、血管の大動脈コンプライアンスを少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%増加させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の血管と比較して、血管の大動脈コンプライアンスを約10%~500%、約50%~200%、約75%~125%増加させる。

40

【0083】

冠血管動脈石灰化スコア(CAC)は、胸部動脈の石灰化の程度を推定するために用いられ得る。高いCACスコアは石灰化を示し、治療は、CACスコアの長期的な増加を停止もしくは反転させるか、または増加速度を遅くする目的を有する。

【0084】

5. 慢性閉塞性肺疾患

50

慢性閉塞性肺疾患は、呼吸が困難になる進行性の肺疾患を指す用語である。COPDの2つの主要な形態は、気腫と慢性気管支炎である。COPDの症状は、呼吸困難、咳、粘液産生および喘鳴を含む。また、エラスチン分解（エラスチンのタンパク質分解）は、COPDの重要な特徴である。これは、動脈の柔軟性の喪失に寄与し、血管の内膜の石灰化を促進する。COPD患者の死亡率の強力な予測因子であることもまた示されている（Rabinovich et al., (2016) "Circulating desmosine levels do not predict emphysema progression but are associated with cardiovascular risk and mortality in COPD," ERJ Express doi: 10.1183/13993003.01824-2015）。MGPは、エラスチン分解を促進するマトリックスメタロプロテアーゼの産生を阻害することが示されている。したがって、ビタミンDはエラスチン分解速度の重要な決定要因であり、ビタミンDレベルが低いとMGP活性が低くなり、エラスチン分解から保護するには不十分であるとの仮説が立てられている（Piscaer et al., (2017) "Vitamin D deficiency: the linking pin between COPD and cardiovascular diseases?" RESP. RES. 18:189）。理論に拘束されることを望むものではないが、MK-7および/またはMKH2-7の投与による活性化（カルボキシル化）MGPの産生の増加は、COPDの対象体におけるエラスチン分解の有害な影響を抑制し、これによりCOPDの1つ以上の症状を予防する、または進行を遅らせる、停止させるまたは反転させる。

10

20

30

40

50

【0085】

呼吸困難、咳、粘液産生および喘鳴を含むCOPDの症状の減少は、当該技術分野で公知の任意の手段で測定され得る。経時的に1つ以上のCOP症状の増加速度が遅くなることは、COPDの1つ以上の症状の進行が遅くなることを示すか、あるいは1つ以上の症状が例えば5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%減少することは、COPDの1つ以上の症状が反転することを示す。

【0086】

エラスチン分解は、例えば対象体における血中イソデスモシンレベルを測定することを含む、当該技術分野で公知の任意の方法により測定され得る。経時的にイソデスモシンレベルの増加速度が遅くなることは、COPDの1つ以上の症状の進行が遅くなることを示すか、あるいはイソデスモシンレベルが例えば5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%減少することは、COPDの1つ以上の症状が反転することを示す。

【0087】

IV. 対象体における組織石灰化の予防、進行の遅延、停止および/または反転を決定するのに有用なバイオマーカー

特定の実施態様において、バイオマーカーは、本明細書に記載の方法および/または組成物が、対象体において組織石灰化を予防するまたは治療する（例えば、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させる）のに効果的であるかを決定するために評価され得る。これらは、例えば、以下により詳細に記載する、対象体のT50時間を測定すること、およびカルボキシル化ビタミンK依存性タンパク質対非カルボキシル化タンパク質の比を測定することを含む。

【0088】

1. 一次カルシプロテイン（Calciprotein）粒子（CPP）および血清T50

通常の生理的条件下では、病的石灰化は、一部には、一次カルシプロテイン粒子（CPP）により防止される（Price et al., 上記）。CPPは、2つの石灰化抑制タンパク質であるフェチュインAおよびマトリックスGlaタンパク質と複合体化した循環しているリン酸カルシウム結晶を含む（同上）。マトリックスGlaタンパク質はビタミンK依存性タンパク質であり、CPPの形成は、マトリックスGlaタンパク質のカルボキシル化体に依存する（同上）。前臨床試験は、ピロリン酸、マグネシウムおよびアルブミンなどの体液性防御ラインが圧倒されたとき、カルシプロテイン系が病的石灰化を予防するための代替手段として機能することを示唆している。一次CPPによるリン酸カルシウム結晶の結合は、調整された時間依存性のプロセスで起こる。

【0089】

一次CPPが二次CPPへ50%変換されるのに必要な時間(T50)は、過剰なリン酸カルシウム結晶を隔離する血漿の能力を決定するための正確で高感度な手段である。一次形態から二次形態への変換は、より細長い結晶の形成を含む。細長いことは、より濁った溶液をもたらし、これは比濁法により検出され得る。リン酸カルシウムの負荷が高い条件下では、リン酸カルシウムの吸収のための蓄えが減少しているため、50%の変換に達するまでの時間が短縮される。したがって、T50時間が短いことは、リン酸カルシウム結晶を吸収する能力の低下を示唆しており、一方、T50時間が長いことは高い能力と一致する。T50時間が短いことは、しばしば、ワルファリン治療または血液透析また尿毒酸化負荷はと関連しており、一般的に、心筋梗塞、心不全およびすべての原因による死亡のリスクの増加に関連している。

10

【0090】

理論に拘束されることを望むものではないが、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、T50時間を増加させ、対象体の病的石灰化を予防する能力を改善すると考えられる。CKDおよびESRDの対象体が、ビタミンK-依存性であり、一次CPPの形成に不可欠である、カルボキシル化マトリックスGlaタンパク質レベルの低下を示すため、本開示の方法に従ったMK-7および/またはMKH2-7の投与は、病的石灰化のリスクを減少させ、軟組織(例えば血管)石灰化の発症を予防することができる。

【0091】

したがって、本明細書に記載の特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の対象体への投与は、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の対象体の血清T50値と比較して、対象体の血清T50値を(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%)増加させる。対象体の血清T50値の測定方法は、当該技術分野で公知である(例えば、Pasch et al. (2012) "Nanoparticle-based test measures overall propensity for calcification in serum." J. AM. SOC. NEPHROL. 23(10): 1744-52; Dahle et al., (2016) "Serum Calcification Propensity Is a Strong and Independent Determinant of Cardiac and All-Cause Mortality in Kidney Transplant Recipients." AM. J. TRANSPLANT 16(1): 204-12; and Smith et al. (2014) "Serum Calcification Propensity Predicts All-Cause Mortality in Predialysis CKD," J. AM. SOC. NEPHROL. 25(2):339-348参照)。

20

30

【0092】

特定の実施態様において、本開示は、本明細書に記載の障害を有する対象体における血清T50値を増加させる方法であって、該方法が、少なくとも2 mg/日(例えば、1日当たり少なくとも2 mg、例えば1日当たり10、15、25、50または75 mgの実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7)のMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含み、MK-7および/またはMKH2-7の対象体への投与が、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の対象体の血清T50値と比較して、対象体の血清T50値を(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%)増加させる、方法に関する。

40

【0093】

2. ビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化

食事不足にもかかわらず、ESRD患者ではビタミンKレベルが低下しない場合がある。例えば、172名の安定した血液透析患者試験では、患者の6%のみがビタミンKの臨床的に有意な欠乏を示したことが分かった(Holden et al. (2010) "Vitamins K and D Status in Stages 3-5 Chronic Kidney Disease," CLIN. J. AM. SOC. NEPHROL. 5:590-597)。しかしながら、ビタミンK依存性タンパク質であるカルボキシル化オステオカルシンのレベルについて患者を試験したとき、患者の約60%でレベルが低下していた(同上)。他のビタミンK依存性タンパク質、例えばPIVKA-IIについて、同様の結果が示されている(同上、およびPilkey et al. (2007) "Subclinical Vitamin K Deficiency in Hemodialysis P

50

patients," AM. J. KIDNEY DIS. 49:432-439)。これらの結果は、尿毒症患者では、総ビタミンKレベルが正常である一方で、還元型の生成が尿毒の酸化特性によってブロックされるという仮説と一致する(同上)。

【0094】

酸化状態がビタミンKサイクルを壊すことができるという観察は、血液透析中に生じる酸化負荷が、ESRD集団内で観察される軟組織(例えば血管)の石灰化の高い割合にさらに寄与することを示唆している。血液透析の送達は、多数の組織タンパク質の酸化をもたらすことが知られており、CKDおよびESRDの患者の両方が、しばしば正常なコントロールと比較してカルボキシルタンパク質の割合が高い(15倍)。

【0095】

理論に拘束されることを望むものではないが、尿毒および/または血液透析により生じる酸化負荷は、非機能的な天然ビタミンへの機能的ビタミンKヒドロキノン(KH2)の酸化をもたらすと考えられる。KH2の酸化は、GGCXの補因子として機能する能力をブロックし、ビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体を減少させることができる。したがって、MK-7および/またはMKH2-7を糖尿病、CKDおよび/またはESRDを有する対象体および/または血液透析を受けている対象体へ投与することは、これらの対象体における1つ以上のカルボキシル化ビタミンK依存性タンパク質対非カルボキシル化ビタミンK依存性タンパク質の比を増加させ得る、これらの対象体における1つ以上の非カルボキシル化ビタミンK依存性タンパク質の量を減少させ得る。

【0096】

したがって、特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の比と比較して、対象体の血漿中におけるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比を(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%)増加させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、対象体の血漿中におけるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比を約10%~500%またはそれ以上、約30%~約500%、約30%~約200%、約30%~約100%増加させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、対象体の血漿中におけるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比を約50%~約500%、約50%~約200%、約50%~約100%増加させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、対象体の血漿中におけるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比を約70%~約500%、約70%~約200%、約70%~約100%増加させる。

【0097】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の量と比較して、対象体の血漿中における非カルボキシル化ビタミンK依存性タンパク質の量を(例えば、少なくとも5%、10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%)減少させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、対象体の血漿中における非カルボキシル化ビタミンK依存性タンパク質の量を約5%~約100%、約5%~約80%、約5%~約30%、約20%~約100%または約20%~約100%減少させる。

【0098】

特定の実施態様において、本開示は、本明細書に記載の障害を有する対象体の血漿中におけるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比を増加させる方法であって、該方法が、少なくとも2 mg/日(例えば、1日当たり少なくとも2 mg、例えば1日当たり10、15、25、50または75 mgの実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7)のMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含み、MK-7および/またはMKH2-7の対象体への投与が、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の比と比較して、対象体の血漿中におけるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比を(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50

10

20

30

40

50

%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%)増加させる、方法に関する。

【0099】

特定の実施態様において、本開示は、本明細書に記載の障害を有する対象体の血漿中における非カルボキシル化ビタミンK依存性タンパク質の量を減少させる方法であって、該方法が、少なくとも2 mg/日(例えば、1日当たり少なくとも2 mg、例えば1日当たり10、15、25、50または75 mgの実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7)のMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含み、MK-7および/またはMKH2-7の対象体への投与が、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の量と比較して、対象体の血漿中における非カルボキシル化ビタミンK依存性タンパク質の量を(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%)減少させる、方法に関する。

10

【0100】

特定の実施態様において、ビタミンK依存性タンパク質は、マトリックスGlaタンパク質(MGP)、成長停止特異的遺伝子6(Gas-6)タンパク質、PIVKA-IIタンパク質、オステオカルシン、活性化プロテインCまたは活性化プロテインSより選択される。MGP、Gas-6、PIVKA-II、オステオカルシン、活性化プロテインCおよび活性化プロテインSのカルボキシル化形態は、当該技術分野で知られているように、サンドイッチアッセイを用いて測定され得る(例えば、Nigwekar et al. (2017) "Vitamin K-Dependent Carboxylation of Matrix Gla Protein Influences the Risk of Calciphylaxis," J. AM.SOC.NEPHROL. 28:1717-1722 (MGPの検出)参照; Gla型オステオカルシン(GLa-OC)ELISAキット(Takara, Mountain View, CA); STA-StaclotプロテインC(Stago, Asnieres sur Seine, France); およびREAAADSプロテインS抗体(cat. no. K036-001, Diapharma Group, West Chester, OH))。MK-7の投与後の対象体におけるビタミンK依存性タンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比の増加は、GGCXカルボキシル化システムの救助の成功を示す。したがって、効果的なMK-7および/またはMKH2-7の投与は、は、対象体におけるタンパク質のカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比を増加させ得る。

20

【0101】

PIVKA-IIは、カルボキシル化されていない異常な形態のプロトロンビンであり、デスカルボキシプロトロンビン(DCP)としても知られている。したがって、PIVKA-IIのレベルの上昇は、より不良なビタミンKの状態に対応する。ビタミンK状態のバイオマーカーとして、PIVKA-IIは、腎機能や脂質プロファイルに依存しないという利点を有する(Elliott et al. (2014) "Assessment of potential biomarkers of subclinical vitamin K deficiency in patients with end-stage kidney disease," CAN. J. KIDNEY HEALTH DIS. 1:13)。本明細書に記載の方法によれば、対象体におけるPIVKA-IIの測定は、GGCXカルボキシル化システムの救助の成功を示す。PIVKA-II血漿レベルは、当該技術分野で公知の任意の方法により、例えばELISA(Diagnostica Stage, Parsippany, NJ)を用いて、測定され得る(例えば、Dituri et al. (2012) "PIVKA-II plasma levels as markers of subclinical ビタミンK deficiency in term infants," J. MATERNAL-FETAL & NEONATAL MEDICINE 25(9):1660-1663もまた参照)。

30

40

【0102】

MGPは、非ヒト動物における動脈壁およびその他の軟組織の強力な石灰化阻害薬であると考えられており、その活性はビタミンK依存性のグルタミン酸のカルボキシル化に依存する(Schurgers et al. (2007a) "Post-translational modifications regulate matrix Gla protein function: importance for inhibition of vascular smooth muscle cell calcification," J. THROMB. HAEMOST. 5:2503-2511; Westenfeld et al. (2012) "Effect of vitamin K2 supplementation on functional vitamin K deficiency in hemodialysis patients: a randomized trial," AM. J. KIDNEY DIS. 59(2):186-195; Schurgers et al. (2013) "Vitamin K-dependent carboxylation of matrix Gla-protein: a crucial switch to control ectopic mineralization," TRENDS MOL. MED. 2013;19(4):217-26;

50

Marles et al. (2017) "US Pharmacopeial Convention safety evaluation of menaquinone-7, a form of vitamin K," NUTR. REV. 75(7):553-578)。ビタミンK欠乏の結果として形成される非カルボキシル化MGPは、心血管疾患に関連する。最近の研究では、血液透析患者のビタミンK状態が悪いことが示唆されている (Westenfeld et al. (2012)、上記)。循環している不活性形態のMGP (dp-ucMGP) は、CKD患者において徐々に増加すること (Schurgers et al. (2010) "The Circulating Inactive Form of Matrix Gla Protein Is a Surrogate Marker for Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease: A Preliminary Report," CLIN J. AM. SOC. NEPHROL. 5(4):568-75)、およびビタミンK状態を予測し、血液透析を受けている患者における血管石灰化と関連すること (Delanaye et al. (2014) "Dephosphorylated-uncarboxylated Matrix Gla protein concentration is predictive of vitamin K status and is correlated with vascular calcification in a cohort of hemodialysis patients," BMC NEPHROL. 15(1):145) が示されている。したがって、血漿dp-ucMGPは、CKDにおける血管石灰化の代替マーカーとして提案されている (Schurgers et al. (2010)、上記)。また、循環しているデスホスホ-カルボキシル化MGP (dp-cMGP) のレベルがより低いことは、血液透析患者における死亡率の予測因子として提案されている (Schlieper et al. (2011) "Circulating nonphosphorylated carboxylated matrix gla protein predicts survival in ESRD," J. AM. SOC. NEPHROL. 22(2):387-95)。

10

【 0 1 0 3 】

オステオカルシンは、成熟した骨芽細胞によって合成され、骨の形成および骨のミネラル化の調節 (re-mineralization) に関与する非コラーゲン性の骨基質タンパク質である (Elliott et al. 2014、上記; Marles et al. 2017、上記)。カルボキシル化されていないオステオカルシンの割合は、骨におけるビタミンK状態の敏感なマーカーであり、無症状のビタミンK欠乏は、非カルボキシル化オステオカルシンの割合が20%超増加することにより定義される (Elliott et al. 2014、上記)。MK-7を100~200 µg/dの用量で4~12週間補給すると、オステオカルシンのカルボキシル化体対非カルボキシル化体の比が用量依存的に有意に増加することが示されている (Inaba et al. (2015), "Low-Dose Daily Intake of Vitamin K(2) (Menaquinone-7) Improves Osteocalcin γ -Carboxylation: A Double-Blind, Randomized Controlled Trials," J. NUTR. SCI. VITAMINOL 61(6):471-80)。

20

【 0 1 0 4 】

ビタミンK依存性の グルタミン酸タンパク質は、肝臓で合成され、凝固促進因子 (II、VII、IX、およびX) と抗凝固タンパク質 (CおよびS) の両方のバランスによって正常な血液凝固を維持するのに役立つ (Schurgers et al. (2007c) "Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and natto-derived menaquinone-7," BLOOD 109(8):3279-83; Marles et al. 2017、上記)。プロテインCは、補因子プロテインSの存在下で第Vおよび第VIII因子の凝固促進活性を無効にすることにより凝固プロセスを制御する (Marlar et al. (2017) "Assessment of Hereditary Thrombophilia: Performance of Protein C (PC) Testing," METHODS MOL. BIOL. 1646:145-151)。凝固亢進状態、例えばプロテインCおよび/またはプロテインSの欠乏は、カルシフィラキシスの患者で報告されており、カルシフィラキ시스発症の可能性を増加させる因子として提案されている (Wilmer et al. (2002) "Calciphylaxis: Emerging Concepts in Prevention, Diagnosis, and Treatment," SEMIN. DIAL. 15(3):172-86; Nigwekar et al. (2008) "Calciphylaxis from nonuremic causes: a systematic review," CLIN. J. AM. SOC. NEPHROL. 3(4):1139-43)。成人の血液透析患者の機能的ビタミンK欠乏に対するビタミンK2補給の効果を評価する無作為化試験では、溶血中の患者 (N=53) は、健康な対応する年齢の対照 (N=50) と比較して、4.5倍高いdp-ucMGPと8.4倍高い非カルボキシル化オステオカルシンレベルを示した。PIVKA-IIレベルを49名の血液透析患者で評価した。ビタミンK2補給は、循環しているdp-ucMGP、非カルボキシル化オステオカルシンおよびPIVKA-IIレベルの用量および時間依存的な減少を誘発した。dp-ucMGPレベルの低下における応答率は、135 µgおよび360 µgのメナキノ-7を投与されたグループでそれぞれ77%および93%であっ

30

40

50

た (Westenfeld et al. (2012)、上記)。

【 0 1 0 5 】

3. 石灰化の他のバイオマーカーのレベル

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7の投与前のオステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿濃度と比較して、オステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿レベルを(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%)増加させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7の投与前のオステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿濃度と比較して、オステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿レベルを約10~50%、約50~100%、約100~200%または約200~500%増加させる。オステオプロテゲリンおよびフェチュインAは、組織石灰化の阻害薬である。したがって、オステオプロテゲリンおよび/またはフェチュインAのレベルの上昇は、MK-7および/またはMKH2-7の投与が、組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることができることを示している。

10

【 0 1 0 6 】

特定の実施態様において、本開示は、本明細書に記載の障害を有する対象体におけるオステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿レベルを増加させる方法であって、该方法が、少なくとも2 mg/日(例えば、1日当たり少なくとも2 mg、例えば1日当たり10、15、25、50または75 mgの実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7)のMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含み、MK-7および/またはMKH2-7の対象体への投与が、MK-7および/またはMKH2-7の投与前のオステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿濃度と比較して、オステオプロテゲリンまたはフェチュインAの血漿レベルを(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%)増加させる、方法に関する。

20

【 0 1 0 7 】

上記態様のいずれかの特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7の投与前のDダイマーの血漿濃度と比較して、Dダイマーの血漿レベルを(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%)減少させる。上記態様のいずれかの特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7の投与前のDダイマーの血漿濃度と比較して、Dダイマーの血漿レベルを約10~50%、約50~100%または約10~100%減少させる。Dダイマーは、ビタミンD代謝の機能的な状態を示している。プロテインCおよびプロテインSは、トロンビンおよびフィブリンの生成を防止し、機能的ビタミンKの不足は、プロテインCおよびプロテインSの喪失に寄与し、これは、フィブリンの分解およびDダイマーの形成によって微小血栓症を引き起こし得る。したがって、Dダイマーの存在は、無症状の血栓症の指標である。よって、Dダイマーの血漿レベルの低下は、MK-7および/またはMKH2-7の投与が、GGC Xカルボキシル化システムを回復することができ、これは、組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることにつながり得ることを示し得る。

30

40

【 0 1 0 8 】

特定の実施態様において、本開示は、本明細書に記載の障害を有する対象体におけるDダイマーの血漿レベルを減少させるための方法であって、该方法が、少なくとも2 mg/日(例えば、1日当たり少なくとも2 mg、例えば1日当たり10、15、25、50または75 mgの実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7)のMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含み、MK-7および/またはMKH2-7の対象体への投与が、MK-7および/またはMKH2-7の投与前のDダイマーの血漿濃度と比較して、Dダイマーの血漿レベルを(例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%)減少させる、方法に関する。

50

【 0 1 0 9 】

上記態様のいずれかの特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の高感度C反応性タンパク質（hs-CRP）の血漿濃度と比較して、高感度C反応性タンパク質（hs-CRP）の血漿レベルを（例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%）増加させる。上記態様のいずれかの特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の高感度C反応性タンパク質（hs-CRP）の血漿濃度と比較して、高感度C反応性タンパク質（hs-CRP）の血漿レベルを約10~50%、約50~100%または約10~100%増加させる。Hs-CRPは、進行中の炎症のバイオマーカーである。炎症の存在は、軟組織（例えば血管）石灰化を増強する。したがって、hs-CRPの血漿レベルの低下は、MK-7および/またはMKH2-7の投与が、組織石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるおよび/または反転させることができることを示している。

10

【 0 1 1 0 】

特定の実施態様において、本開示は、本明細書に記載の障害を有する対象体における高感度C反応性タンパク質（hs-CRP）の血漿レベルを減少させるための方法であって、該方法が、少なくとも2 mg/日（例えば、1日当たり少なくとも2 mg、例えば1日当たり10、15、25、50または75 mgの実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7）のMK-7および/またはMKH2-7を対象体に投与することを含み、MK-7および/またはMKH2-7の対象体への投与が、MK-7および/またはMKH2-7の投与前の高感度C反応性タンパク質（hs-CRP）の血漿濃度と比較して、高感度C反応性タンパク質（hs-CRP）の血漿レベルを（例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%）減少させる、方法に関する。

20

【 0 1 1 1 】

V. 病変

本明細書に記載の方法および組成物は、組織病変、例えば皮膚病変または血管病変の進行を遅らせるまたは停止させる、またはそれを停止させるおよび/または反転させるのに有用であり得る。

【 0 1 1 2 】

1. 皮膚病変

ビタミンKサイクルの最終工程は、ビタミンKエポキシドレダクターゼ複合体サブユニット1（VKORC1、VKORとも称される）によりMK-7に戻るビタミンK-7 2,3-エポキシドの酵素的還元を必要とする（図1参照）。いくつかの組織では、パラログVKORC1L1（VKORC1-Like-1）はまた、当該反応を行い得る。皮膚は、VKOR-C1の発現が最低であり、ビタミンK依存性血管石灰化が皮膚でより一般的であるという臨床的観察と一致する。VKOR-C1の皮膚発現が低いことは、ビタミンKの生成をブロックするあらゆる状態または処置、例えば血液透析は、皮膚を病的石灰化にかかりやすくすることを示唆している。

30

【 0 1 1 3 】

したがって、本明細書に記載の方法および組成物は、一部には、皮膚病変のサイズを減少させることに関する。特定の実施態様において、対象体は皮膚病変を有し、MK-7および/またはMKH2-7の投与は皮膚病変のサイズを減少させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、皮膚病変の総表面積を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%減少させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、皮膚病変の総体積を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%減少させる（すなわち、皮膚病変を除去する）。

40

【 0 1 1 4 】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、皮膚病変の総表面積または総体積を約30%~約100%、約30%~約90%、約30%~約80%、約30%~約70%また

50

は約30%～約60%減少させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、皮膚病変の総表面積または総体積を約50%～約100%、約50%～約90%、約50%～約80%、約50%～約70%または約50%～約60%減少させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、皮膚病変の総表面積または総体積を約70%～約100%、約70%～約90%、約70%～約80%減少させる。

【0115】

1つ以上の皮膚病変の表面積または体積は、当該技術分野で公知の任意の方法により測定され得る。表面積を測定するとき、総表面積は、複数の病変が存在する場合計算され得る。病変の体積は、デジタル画像から構築される病変の3次元モデルから計算され得る。

【0116】

別の一実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与の有効性は、皮膚生検におけるカルシウムのフォン・コッサ染色により決定される。この十分に確立された染色は、皮膚生検における間質性カルシウム沈着の量を試験し、定量するための検証された手段である。このアプローチにおいて、皮膚生検が行われ、組織はフォン・コッサ方法を用いて染色される。軟組織およびリン酸塩の血管沈着物への結合により、フォン・コッサ染色は、軟組織および血管リン酸カルシウム沈着の速度が、MK-7および/またはMKH2-7の投与で遅くなるかまたは反転するかを決定するのに用いられ得る。リン酸カルシウム沈着物は、カルシフィラキシスの病因の中心であるため、フォン・コッサ染色の減少は、カルシフィラキシス病変をもたらす状態の治癒を示す。フォン・コッサ法を実施するためのキットは、市販されている（例えば、abcam（登録商標）、#ab150687参照）。

【0117】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、皮膚病変を、治療前の病変の総表面積をおよそ95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%または0%減少させる（すなわち、皮膚病変を除去する）。

【0118】

2. 血管病変

本明細書に記載の方法および組成物は、一部には、血管病変に関する。特定の実施態様において、対象体は血管病変を有し、MK-7および/またはMKH2-7の投与は血管病変を減少させる。病変の減少は、血管コンプライアンス（すなわち血管が拡張する能力）を測定する大動脈プレチスモグラフィーを用いて、評価され得る（例えば、Inuma et al. (2012) HONG KONG JOURNAL OF NEPHROLOGY 14(2) : 48-53参照）。

【0119】

病変の減少はまた、脈波伝播速度（PWV）を測定することにより評価され得る。PWVは、動脈拍動が循環系を移動する速度であり、動脈硬化の尺度として用いられる。PWVが高いほど動脈硬化が高くなり、それ故に血管コンプライアンスが低くなる。PWVの測定方法は、当該技術分野で公知であり、例えば、上記Pereira et al. (2015)に記載されている。簡単には、PWVは、領域（regional）PWV、例えば頸動脈-大腿動脈PWVまたは局所（local）PWVを測定することで評価し得る。同上。領域PWVの測定方法は、当該技術分野で公知であり、例えば、パルストランスデューサプローブ、TY-360圧カトランスデューサ、心電図（ECG）と同期したドップラーユニット、パルストランスデューサプローブ、フォトプレチスモグラフィー、Complior（登録商標）（圧電圧カトランスデューサ）、SphygmoCor（登録商標）、Arteriograph（登録商標）、PulsePen（登録商標）（眼圧計と統合心電図ユニット）の使用を含む。同上。局所PWVの測定方法は、当該技術分野で公知であり、例えば、磁気共鳴イメージング、超音波および血管造影を含む。

【0120】

特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、治療前の血管コンプライアンスと比較して、血管の血管コンプライアンスを少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%増加させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-

10

20

30

40

50

7の投与は、血管の血管コンプライアンスを約10～50%、約50～100%、約100～200%または約200～500%増加させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、治療前の血管コンプライアンスと比較して、血管の血管コンプライアンスを少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%増加させる。特定の実施態様において、MK-7および/またはMKH2-7の投与は、治療前の血管コンプライアンスと比較して、血管の血管コンプライアンスを約10～50%、約50～100%、約100～200%または約200～500%増加させる。

【0121】

VI. 医療用途で用いるためのキット

10

本発明の別の一態様は、本明細書に記載の障害または状態の1つ以上を治療するためのキットを提供する。キットは、i)医学的障害を治療するための説明書；およびii)実質的に純粋なMK-7および/またはMKH2-7を含む1つ以上の投与単位を含み得る。

【0122】

本明細書全体を通して、組成物が、特定の成分を有するか、含む(including)か、または含む(comprising)と記載されている場合、またはプロセスおよび方法が、特定のステップを有するか、含む(including)か、または含む(comprising)と記載されている場合、付加的に、記載された成分から本質的になるか、またはそれからなる本発明の組成物が存在すること、および記載されたプロセスステップから本質的になるか、またはそれからなる本発明に従ったプロセスおよび方法が存在することが企図される。

20

【0123】

他に定義されない限り、本明細書で用いられるすべての技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。

【0124】

本明細書全体を通して、組成物およびキットが、特定の成分を有するか、含む(including)か、または含む(comprising)と記載されている場合、またはプロセスおよび方法が、特定のステップを有するか、含む(including)か、または含む(comprising)と記載されている場合、付加的に、記載された成分から本質的になるか、またはそれからなる本発明の組成物およびキットが存在し、記載されたプロセスステップから本質的になるか、またはそれからなる本発明に従ったプロセスおよび方法が存在することが企図される。

30

【0125】

本出願において、要素または成分が、記載された要素または成分のリストに含まれるおよび/またはそれらより選択されるという場合、要素または成分は、記載された要素または成分のリストのいずれか1つであり得るか、あるいは、要素または成分は、記載された要素または成分のリストの2つ以上からなる群より選択され得ると理解されたい。

【0126】

さらに、本明細書に記載の組成物または方法の要素および/または特徴は、本明細書に明示的または暗示的に記載されているかにかかわらず、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、様々な方法で組み合わせられ得ると理解されたい。例えば、特定の化合物に言及する場合、その化合物は、文脈から他に理解されない限り、本発明の組成物および/または本発明の方法の様々な実施形態において用いられ得る。言い換えれば、本出願内では、実施形態は、明確で簡潔な出願が記述および描かれることを可能にする方法で記載および描写されているが、実施形態は、本教示および本発明から離れることなく、様々な組み合わせられてもよく、または分離されてもよいことが意図されており、理解されるであろう。例えば、本明細書に記載および描かれるすべての特徴は、本明細書に記載および描かれる発明のすべての態様に適用可能であり得ることが理解されるであろう。

40

【0127】

本開示で用いられる冠詞「ある(a)」および「ある(an)」は、文脈が不適切でない限り、冠詞の文法的対象の1つまたは複数(すなわち少なくとも1つ)を指す。例として、「要素」は、1つの要素または複数の要素を意味する。

50

【0128】

用語「および/または」は、他に断らない限り、「および」または「または」のいずれかを意味する。

【0129】

「の少なくとも1つ」なる表現は、文脈および使用から他に理解されない限り、表現の後に記載される対象の各々および記載される対象の2つ以上の組合せを含む。3つ以上の記載された対象物に関連する「および/または」なる表現は、文脈から他に理解されない限り、同じ意味を有すると理解されたい。

【0130】

文法的同等物を含む、「含む (include)」、「含む (includes)」、「含む (including)」、「有する (have)」、「有する (has)」、「有する (having)」、「含有する (contain)」、「含有する (contains)」または「含有する (containing)」なる用語の使用は、他に明確に断らないかまたは文脈から他に理解されない限り、一般的に、オープンエンドで非限定的である、例えば更なる付加的な記載されていない要素またはステップを除外しないとして理解されたい。

10

【0131】

用語「約」の使用が定量値の前にある場合、本発明は、特に明確に断らない限り、特定の定量値自体も含む。本明細書で用いられる用語「約」は、他に断らないかまたは推論がない限り、名目上の値の $\pm 10\%$ を指す。

【0132】

例えばポリマーの、絶対値ではなく、分子量が示される場合、分子量は、他に断らないかまたは文脈から他に理解されない限り、分子量は、平均分子量であると理解されたい。

20

【0133】

一般的な事項として、パーセンテージと特定する組成物は、他に明記されない限り、重量によるものである。また、変数に定義が伴わない場合は、変数の前の定義がコントロールする。

【0134】

本発明が操作可能なままである限り、ステップの順序または特定の動作を実施する順序は、重要ではないことが理解されたい。また、2つ以上のステップまたは動作が同時に実施され得る。

30

【0135】

本明細書の任意のおよびすべての例、または本明細書の例示的用語、例えば「など」または「含む」の使用は、単に本発明をより良く例示することを意図しており、請求されない限り、本発明の範囲に制限を与えるものではない。本明細書のいかなる文言も、本発明の実施に不可欠であるとして請求されていない要素を示すものと解釈されるべきではない。

【実施例】

【0136】

本開示は、以下の実施例によってさらに説明され、これらは、本開示の範囲または精神を本明細書に記載の特定の手順に限定するものとして解釈されるべきではない。実施例は、特定の実施態様を説明するために提供されており、それによって本開示の範囲を制限することは意図されていないと理解されたい。

40

【0137】

実施例1 - 末期腎疾患 (ESRD) の対象体においてMK-7および/またはMKH2-7を投与して、組織石灰化を反転させるかまたは進行を遅らせる

この実施例は、ESRDを有するおよび/または安定した血液透析を受けている対象体へのMK-7および/またはMKH2-7の投与を記載する。MK-7および/またはMKH2-7の投与は、組織石灰化の進行の遅延、停止または反転を示す、大動脈コンプライアンス (プレチスモグラフィによる)、血管石灰化および特定のバイオマーカーレベルの変化をもたらすと考えられる。

50

【0138】

安定した血液透析を受けているESRDの対象体に、MK-7および/またはMKH2-7を、10 mg、25 mgまたは50 mgにて、1日1回、少なくとも2週間、4週間、6週間、8週間、3か月、6か月、1年または無期限に経口投与する。剤形は、10 mgまたは25 mgのソフトゲルカプセル剤である。2個の25 mgカプセル剤を、50 mg投与コホートに1日1回投与する。

【0139】

冠血管動脈石灰化スコア（CAC）を用いて、胸部動脈の石灰化の程度を推定する。高いCACスコアは石灰化を示し、治療は、CACスコアの長期的な増加を停止もしくは反転させるか、または増加速度を遅くする目的を有する。また、大動脈プレチスモグラフィーを用いて、石灰化が増加すると減少する動脈コンプライアンスを測定する。さらに、脈波伝播速度（PWV）を測定して、動脈コンプライアンスを評価する。前記の測定は、血管石灰化を予防する、進行を遅らせる、停止させるまたは反転させることが意図される治療の有用性を推定するのに有用である。これらの測定は、MK-7および/またはMKH2-7で治療する前後に用いられ、治療価値を評価する。

10

【0140】

また、いくつかのバイオマーカーを評価して、3つの用量レベルにおけるMK-7および/またはMKH2-7の有効性を決定する。例示的なバイオマーカーには、PIVKA-II；非カルボキシル化および総マトリックスGlaタンパク質（MGP）；非カルボキシル化、カルボキシル化および総オステオカルシタンタンパク質；非カルボキシル化、カルボキシル化および総プロテインC、オステオプロテゲリン、フェチュインAおよびhs-CRPが含まれる。最も便利には、血液透析のために患者来院中に、血液試料を採取して、バイオマーカーを測定する。

20

【0141】

MK-7および/またはMKH2-7の投与が、(i)組織石灰化の進行の遅延、停止または反転を示す、PIVKA-II、オステオプロテゲリンまたはフェチュインAの増加、(ii)組織石灰化の進行の遅延、停止または反転を示す、非カルボキシル化MGP、非カルボキシル化オステオカルシンおよび/または非カルボキシル化プロテインCの減少、および/または(iii)組織石灰化の進行の遅延、停止または反転および/または炎症の減少を示す、hs-CRPの減少をもたらす得ると考えられる。

【0142】

10 mg、25 mgまたは50 mgのMK-7および/またはMKH2-7を毎日投与した後に、PIVKA-II、低カルボキシル化マトリックスGlaタンパク質（MGP）、非カルボキシル化オステオカルシタンタンパク質、非カルボキシル化プロテインC、オステオプロテゲリン、フェチュインAおよびhs-CRPの少なくとも1つが、組織石灰化の進行の遅延、停止または反転を示すと考えられる。

30

【0143】

実施例2 - 血液透析を受けている安定した末期腎疾患（ESRD）を有する対象体におけるMK-7および/またはMKH2-7の投与

この実施例は、血液透析を受けており、組織石灰化を発症するリスクがあるESRDの対象体へのMK-7の投与を記載する。MK-7の投与は、組織石灰化の発症の防止、または組織石灰化の発症の停止または遅延を示す特定のバイオマーカーレベルの変化をもたらす得る。

40

【0144】

安定したESRDを有するが、カルシフィラキシスを有しない多くの対象体が、試験に登録され、対象体に1日当たりMK-7の10 mgカプセル剤を14日間経口投与する。非カルボキシル化マトリックスGlaタンパク質（MGP）、非カルボキシル化オステオカルシン、オステオプロテゲリン、フェチュインAおよびhs-CRPを含む特定のバイオマーカーのレベルを、1日目および15日目（治療の最後）に評価し、1日目と15日目の間の変化を計算した。1日目と15日目の間に、非カルボキシル化MGPの平均減少は、-21.9%であり、非カルボキシル化オステオカルシンの平均減少は、-55.5%であった。また、対象体は、予想外にも、オステオプロテゲリンおよびフェチュインAの平均増加ならびにhs-CRPの減少を示した。オステオプロテゲリン、フェチュインAおよびhs-CRPは、ビタミンK依存性タンパク質ではなく、こ

50

【 国際調査報告 】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No. PCT/US2019/036138 |
|--|--|---|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 31/122 (2006.01) A61K 31/05 (2006.01) A61P 3/14 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01) A61P 13/12 (2006.01) A61P 11/00 (2006.01) | | |
| 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) | | |
| 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) PATENW (EPOQUE); CAPLUS, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS (STN); Keywords: menaquinone-7, menaquinone-K7, MK-7, 2124-57-4, menaquinol-7, MKH2-7, ACIL9LDY, 39776-47-1, vitamin K2, vitamin K2-7, calcification, chronic obstructive pulmonary, COPD, diabetes, hyperglycemia, kidney, renal, hemodialysis, aortic compliance, peripheral vasculopathy, CKD, ESRD, and like terms Patentscope, AUSPAT, NOSE, INTESS databases: Inventor and Applicant name searches - Epizon, Gustafson, Tumlin, Darke, Rudey | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| | Documents are listed in the continuation of Box C | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex | | |
| * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family | | |
| Date of the actual completion of the international search 14 August 2019 | | Date of mailing of the international search report 14 August 2019 |
| Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA Email address: pct@ipaustralia.gov.au | | Authorised officer Michael Grieve AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. +61262832267 |

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No. |
|---|--|--|
| C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | PCT/US2019/036138 |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | WO 2016/131993 A2 (VITAK B.V.) 25 August 2016 page 3 line 27 to page 4 line 11; page 4 line 26 to page 5 lines 1 to 14; page 8 lines 1 to 17; page 10 lines 2 to 5; page 12 line 14 to page 14 line 28; page 16 lines 1 to 12; page 16 lines 17 to 25; page 17 lines 4 to 22; page 18 lines 5 to 10; page 20 line 33 to page 23 line 11 | 1 to 60 and 63 to 73 |
| X Y | SCHEIBER, D. et al. "High-Dose Menaquinone-7 Supplementation Reduces Cardiovascular Calcification in a Murine Model of Extrasosseous Calcification" Nutrients (2015) Vol.7, pages 6991 to 7011 Abstract; Introduction; Materials and Methods; Results; Discussion, Conclusions Abstract; Introduction; Materials and Methods; Results; Discussion, Conclusions | 1 to 60 and 63 to 73 1 to 60 and 63 to 73 |
| X Y | WO 2008/006607 A2 (NATTOPHARMA ASA) 17 January 2008 page 8 line 32 to page 9 line 21, page 12 line 31 to page 13 line 19; Claims 19 to 20 page 8 line 32 to page 9 line 21, page 12 line 31 to page 13 line 19; Claims 19 to 20 | 1 to 58, 60 and 63 to 73 1 to 60 and 63 to 73 |
| X | WO 2014/191466 A2 (NATTOPHARMA ASA) 04 December 2014 Claims 1, 4, 13; page 1 lines 12 to 27; page 2 lines 16 to 26; page 6 lines 9 to 12; page 17 line 33 to page 18 line 29 | 1 to 60 and 63 to 73 |
| X Y | VTK, A.B. "Vitamin K2 and arterial calcification" Agro Food Industry Hi-Tech (2008) Vol.19 No.6, pages 9 to 13 whole document whole document | 1 to 60 and 63 to 73 1 to 60 and 63 to 73 |
| Y | GHEDUZZI, D. et al. "Matrix Gla protein is involved in elastic fiber calcification in the dermis of pseudoxanthoma elasticum patients" Laboratory Investigation (2007) Vol.87, pages 998 to 1008 whole document | 1 to 60 and 63 to 73 |
| X | WO 2012/059942 A2 (VIRIDUS BIOPHARMA PVT. LTD) 10 May 2012 page 6 lines 9 to 12 | 61 to 73 |
| Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2019) | | |

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No. | |
|---|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| Information on patent family members | | PCT/US2019/036138 | |
| This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. | | | |
| Patent Document/s Cited in Search Report | | Patent Family Member/s | |
| Publication Number | Publication Date | Publication Number | Publication Date |
| WO 2016/131993 A2 | 25 August 2016 | WO 2016131993 A2 | 25 Aug 2016 |
| | | EP 3258924 A2 | 27 Dec 2017 |
| | | US 2018199610 A1 | 19 Jul 2018 |
| WO 2008/006607 A2 | 17 January 2008 | WO 2008006607 A2 | 17 Jan 2008 |
| | | AU 2007271900 A1 | 17 Jan 2008 |
| | | AU 2007271900 B2 | 23 May 2013 |
| | | CA 2657748 A1 | 17 Jan 2008 |
| | | CN 101534807 A | 16 Sep 2009 |
| | | EP 2046312 A2 | 15 Apr 2009 |
| | | JP 2009544590 A | 17 Dec 2009 |
| | | JP 5827784 B2 | 02 Dec 2015 |
| | | JP 2014031378 A | 20 Feb 2014 |
| | | NO 343923 B1 | 08 Jul 2019 |
| | | NZ 574882 A | 31 Aug 2012 |
| | | US 2010048704 A1 | 25 Feb 2010 |
| WO 2014/191466 A2 | 04 December 2014 | None | |
| WO 2012/059942 A2 | 10 May 2012 | WO 2012059942 A2 | 10 May 2012 |
| | | AU 2011324792 A1 | 30 May 2013 |
| | | BR 112013009724 A2 | 19 Jul 2016 |
| | | CA 2815781 A1 | 10 May 2012 |
| | | EP 2635267 A2 | 11 Sep 2013 |
| | | EP 2635267 B1 | 12 Jun 2019 |
| | | US 2013237610 A1 | 12 Sep 2013 |
| | | ZA 201303132 B | 31 Aug 2016 |
| End of Annex | | | |
| Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001. Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2019) | | | |

フロントページの続き

| (51) Int.Cl. | | | F I | | | テーマコード (参考) |
|--------------|-------|-----------|---------|-------|--|-------------|
| A 6 1 P | 9/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 9/00 | | |
| A 6 1 P | 17/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 17/00 | | |
| A 6 1 P | 11/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 11/00 | | |
| A 6 1 K | 45/00 | (2006.01) | A 6 1 K | 45/00 | | |

(81) 指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72) 発明者 ポール・エル・ダーク
アメリカ合衆国 0 2 0 4 3 マサチューセッツ州ヒンガム、アンドリュース・アイル・ロード 7 番

(72) 発明者 ジョン・エム・ルディ
アメリカ合衆国 1 0 0 2 2 ニューヨーク州ニューヨーク、パーク・アベニュー 4 4 5 番、スイート 9 0 8

F ターム (参考) 4C076 AA36 BB01 CC17 CC21
4C084 AA19 MA02 MA52 NA06 ZA361 ZA362 ZA591 ZA592 ZA811 ZA812
ZA891 ZA892 ZC351 ZC352
4C206 AA01 CA19 CB27 MA01 MA04 MA55 MA72 NA06 NA14 ZA36
ZA59 ZA81 ZA89 ZC35