(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3623502号
(P3623502)
(45)発行日　平成17年2月23日(2005.2.23)　(24)登録日　平成16年12月3日(2004.12.3)

(51)Int.Cl.[7]	F I
A61K 38/27	A61K 37/36 ZNA
A61K 31/337	A61K 31/337
A61K 31/475	A61K 31/475
A61K 31/52	A61K 31/52
A61K 33/24	A61K 33/24

請求項の数 9　(全 20 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号	特願平6-501548
(86)(22)出願日	平成5年6月1日(1993.6.1)
(65)公表番号	特表平7-507799
(43)公表日	平成7年8月31日(1995.8.31)
(86)国際出願番号	PCT/US1993/005203
(87)国際公開番号	WO1993/025219
(87)国際公開日	平成5年12月23日(1993.12.23)
審査請求日	平成12年5月12日(2000.5.12)
(31)優先権主張番号	899,070
(32)優先日	平成4年6月12日(1992.6.12)
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	051,191
(32)優先日	平成5年4月16日(1993.4.16)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者
セファァロン，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１９３８０、ウエスト・チェスター、ブランデーワイン・パークウェイ１４５番
(73)特許権者
アルバート・アインシュタイン・カレッジ・オブ・メディスン・オブ・イェシーバ・ユニバーシティ
アメリカ合衆国ニューヨーク州１０４６１、ブロンクス、モーリス・パーク・アベニュー１３００番
(74)代理人
弁理士　青山　葆

最終頁に続く

(54)【発明の名称】末梢神経障害の予防および治療

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
哺乳動物における異常なインスリンのレベルによっては引き起こされない末梢神経障害を軽減するための医薬組成物であって、インスリン様成長因子－Ｉ（IGF－Ｉ）またはインスリン様成長因子－III（IGF－III）からなる医薬組成物。
【請求項２】
静脈投与または皮下投与に適合した請求項１記載の医薬組成物。
【請求項３】
神経障害が全身疾患に関連したものであるか、あるいはポリオ後の症候群、遺伝性神経障害またはシャルコーーマリーーツース病（Charcot－Marie－Tooth disease）であるか、あるいは化学療法剤、アルコール、金属、産業上の毒、薬剤、ビタミン、食品汚染物質または医薬品汚染物質からなる群より選択される毒性薬剤により引き起こされるものである請求項１または２記載の医薬組成物。
【請求項４】
神経障害が、ビンクリスチン、シスプラチン、タクソールまたはジデオキシイノシンから選択される化学療法剤に関連したものである請求項３記載の医薬組成物。
【請求項５】
化学療法剤が、混合調合剤の形態で同時に使用されるものである請求項１ないし４のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項６】

IGF－ＩまたはIGF－III、および化学療法剤が重量比で1:400ないし75:1である請求項５記載の医薬組成物。

【請求項７】

化学療法剤がビンクリスチンである請求項６記載の医薬組成物。

【請求項８】

重量比が1:40ないし8:1である請求項７記載の医薬組成物。

【請求項９】

インスリン様成長因子がIGF－Ｉである請求項１ないし８のいずれか１項に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

発明の背景

本発明は、末梢神経障害の予防または治療にインスリン様成長因子－Ｉを使用することに関する。

インスリン様成長因子－Ｉ（IGF－I;ソマトメジンＣ）は、インスリンおよびインスリン様成長因子II（IGF－II）ならびにIII（IGF－III）を包含する構造的および機能的に関連したペプチド族の一員である。これらの蛋白性因子すべてが、神経発達および維持において役割を果している（レシオーピント，イー（Recio－Pinto,E）ら,1988年，ニューロケミストリー・インターナショナル第12巻:397－414頁）。さらに、坐骨神経離断後の再生の間、IGF－ＩおよびIGF－IIのレベルが実質的に上昇するという証拠がある（ハンソン，エイチ・エイ（Hansson,H.A.）ら,1986年，アクタ・フィジオロジカ・スカンジナビカ（Acta Physiol.Scand.）第126巻:609－614頁）。これらの蛋白性因子は、培養された感覚および交感神経の生存を促進することが示されており（イシイ，ディー・エヌ（Ishii,D.N.）ら,1987年，インスリン（Insulin）中，アイジーエフズ・アンド・ゼア・リセプターズ・イン・ザ・セントラル・ナーバス・システム（IGFs and Their Receptors in the Central Nervous Sytem），ライザダ，エム・ケイ（Raizada,M.K.）ら編，ニューヨークのプレナム・プレス（Plenum Press）,315～348頁）、IGF－Ｉの場合には、中枢性神経の生存促進することが示されている（アイゼンマン，ワイ（Aizenmam,Y.）ら,1987年，ブレイン・リサーチ（Brain Res.）第406巻:32～42頁）。最終的に、インビボおよびインビトロ両方における研究により、IGF－ＩおよびIGF－IIは、運動神経の生存および軸索発達を促進することが示された（カロニ，ピー（Caroni,P.）ら,1990年，ジャーナル・オブ・セル・バイオロジー（J.Cell Biol.）第110巻:1307～1317頁）。

一般的に、末梢神経障害は、末梢神経に影響する疾患といわれ、末梢神経、最も頻繁には、運動、感覚、感覚運動、または自律神経機能不全のうちの１つあるいは組合せとして明らかである。末梢神経障害により示される種々の形態は、同等に広範囲の原因によりそれぞれ独自に生じうる。例えば、末梢神経障害は遺伝的に起こり得るし、全身的疾患からも生じうるし、あるいはまた毒性薬剤によっても誘導されうる。神経毒を引き起こすいくつかの毒性薬剤は、治療薬、抗新生物薬、食品または医薬の汚染物、および環境ならびに産業汚染物である。

特に、感覚および／または運動神経障害を引き起こすことが知られている化学療法剤には、ビンクリスチン（vincristine）（血液癌および肉腫の治療に使用する抗新生物薬）が包含される。その神経毒性は用量依存性で、腸の運動の減少および特に手足の遠位の筋肉における抹消神経障害、体位性高血圧、ならびに膀胱アトニーを示す。同様の問題が、タクソール（taxol）およびシスプラチン（cisplatin）について報告されているが（モラン，ジェー・イー（Mollan,J.E.）,1990年，ニュー・イングランド・ジャーナル・オブ・メディシン（New Eng Jour Med.）第322巻:126～127頁）、一方では、シスプラチン関連神経毒性は、神経成長因子（NGF）により軽減されうる（アプフェル，エス・シー（Apfel,S.C.）ら，アナルス・オブ・ニュロロジー（Annals of Neurology）第31巻:76～80頁）。該神経毒性は、時々、該神経毒薬剤を除去した後は可逆性であるが、回復の進行は非常に遅くなりうる（レガ，エス（Legha,S.）,1986年，メディカル・トキソコロジー（Medical Toxocology）第１巻:421～427頁；オールセン（Olesen）ら,1991年、ドラッグ・セイフ

ティー（Drug Safety）第６巻:302～314頁）。
レフスム（Refsum's）病、クラッベ（Krabbe's）病、異染ロイコジストロフィー、ファブリ（Fabry's）病、デジェリンーソッタス（Dejerine－Sottas）症候群等をはじめとする多くの遺伝的末梢神経障害がある。すべての遺伝的神経障害のうち、最も一般的なのはシャルコーーマリーーツース（Charcot－Marie－Tooth）病である。
シャルコーーマリーーツース（CMT）病（腓骨筋萎縮症、または遺伝性感覚および運動神経障害（HMSN）としても知られる）は、最もありふれた遺伝的な神経学的疾患である。該疾患は、まず、末梢神経の分節性脱髄および軸索ならびに前方の角細胞の関連変性による腓骨筋の弱体化および萎縮により特徴づけられる。常染色体の優勢な遺伝は普通であり、フリードライヒ（Friedreich's）運動失調のごとき関連した変性CNS疾患は一般的である。
２つの主要な形態のCMT疾患がある。Ｉ型（70％）は、その初期の病態生理学としての脱髄を有すると考えられているが、遠位の臨床的関連は、II型としての主要軸索変性を示唆する。II型（30％）は、主として、脱髄を伴わない軸索変性であり、Ｉ型ほど重症であることはありえない。神経伝達の減損は、しばしば生誕時に存在するが、発症年齢または進行の程度を予測することはできない。ごく希に、劣性的に関連したIII型およびIV型がある。

発明の概要

本発明は、哺乳動物における異常なインスリンレベルによっては引き起こされない末梢神経障害の軽減方法を提供する。本発明は、神経障害軽減量のインスリン様成長因子－Ｉ（IGF－Ｉ）またはインスリン様成長因子－III（IGF－III）を哺乳動物に投与することを包含する。
種々の好ましい具体的において、哺乳動物は、例えば化学療法剤での新生物治療の結果のごとき神経障害が進行しているヒトまたは農業用あるいは家畜用哺乳動物である。当業者により有効と思われる方法でIGF－ＩまたはIGF－IIIを投与することができる。好ましい投与方法は静脈投与および皮下注射である。
本明細書に用いる「末梢神経障害」とは、末梢神経系の分節に影響する障害をいう。本発明は、インスリン族の成長因子であるIGF－ＩまたはIGF－IIIを用いて、インスリンの異常なレベルにより明確にまたは直接的に引き起こされるものではない神経障害を軽減することを包含し、遠位感覚および運動神経障害、または胃腸消化管の運動減少あるいは膀胱アトニーのごとき自律神経障害も包含するがこれらに限定しない。IGF－ＩまたはIGF－IIIで効果的に治療されうる好ましい神経障害としては、例えば、ポリオ後の症候群（post－polio syndrome）、例えばシャルコーーマリーーツース病のごとき遺伝性神経障害、および毒性薬剤、例えば化学治療法剤、好ましくはビンクリスチンにより引き起こされる神経障害が挙げられる。
IGF－ＩまたはIGF－IIIを用いて毒性薬剤により誘発された神経障害を治療する場合、当該毒性薬剤に暴露する前、暴露と同時、または暴露後、あるいは化学療法剤投与前、投与中または投与後に投与することができる。好ましくは、IGF－Ｉおよび化学療法剤を、それぞれ有効な間隔をおいて、化学療法期間に重複して投与する。神経毒性薬剤の暴露後、または化学療法後、哺乳動物にIGF－ＩまたはIGF－IIIを投与して当該神経毒性薬剤または化学療法剤により破壊された神経機能の少なくとも一部を回復させてもよい。化学療法剤は、神経毒性を引き起こすいかなる化学療法剤であってもよく、好ましくはビンクリスチン、タクソール、ジデオキシイノシン（dideoxyinosine）またはシスプラチンである。
好ましい実施例において、ビンクリスチンに対するIGF－ＩまたはIGF－III（デスー（１－３）IGF－Ｉ）の重量比は、1:400ないし75:1の間、好ましくは1:40ないし8:1の間である。
IGF－Ｉおよび化学療法剤を同時投与する場合、本発明は、実質的に純粋なIGF－Ｉおよび化学療法剤を1:400ないし75:1の間の重量比で含有する組成物を提供する。化学療法剤は、好ましくはビンクリスチン、シスプラチン、ジデオキシイノシン、またはタクソールである。本明細書に用いる「実質的に純粋」なる語は、IGF－ＩまたはIGF－IIIが、他の組

成物成分と混合する前に、当該標品中の存在する蛋白の少なくとも50%を占めることをいう。好ましい具体例において、少なくとも75%、より好ましくは少なくとも90%、そして最も好ましくは少なくとも99%（重量%）の蛋白が、IGF－ⅠまたはIGF－III標品中に存在するものとする。最も好ましくは、本発明組成物中に使用するIGF－ⅠまたはIGF－IIIは、アミノ末端のアミノ酸配列分析により純粋であると判断される。

「毒性薬剤」または神経毒性薬剤は、その化学的作用により、神経系構成要素の活性に損傷を与えるか、または減損させるか、あるいは阻害する物質をいう。神経障害を引き起こす神経毒性薬剤のリストは多く、ビンクリスチン、ビンブラスチン、シスプラチン、タクソール、またはジデオキシイノシンのごときジデオキシ－化合物、アルコール、金属、職業上あるいは環境に暴露される産業上の毒物、食品または医薬品汚染物、あるいはビタミンまたは治療薬の過剰投与（例えばペニシランもしくはクロラムフェニコールのごとき抗生物質の過剰投与、またはビタミンＡ、ＤあるいはB6の大量投与）が挙げられる。神経毒性のある副作用を有する化合物の広いが完全でないリストを表５に示す。このリストは神経毒性化合物の例を挙げるが、本発明範囲を例示あるいは限定するものではない。他の毒性薬剤も神経障害を引き起こすことがあり、当業者に知られた方法により特徴づけられる。「毒性薬剤への暴露」とは、毒性薬剤が本発明哺乳動物に利用されるかまたは接触しうるようにすることを意味する。毒性薬剤への暴露は、直接投与により（例えば食物接種または医薬（例えば化学療法剤）の投与により、あるいは環境（例えば大気または水系）に暴露されることによる偶発的汚染により）引き起こされる。

IGF－ⅠまたはIGF－IIIなる語は、本発明の生物学的活性、すなわち毒性薬剤により誘発された神経障害を軽減する活性を示すそのフラグメントまたはアナログをも包含する。IGF－ⅠまたはIGF－IIIフラグメントまたはアナログが本発明の生物学的活性を有するか否かを調べる方法を後記する。一般的には、適切なアナログおよびフラグメントは、天然のIGF－ⅠまたはIGF－IIIとの間に少なくとも65%の相同性を有する。IGF－ⅠまたはIGF－IIIのフラグメントポリペプチドは、それぞれIGF－ⅠまたはIHG－III分子のサブセット（subset）であり、もとの分子より少ないアミノ酸残基を有する。本明細書で用いられるように、通常は、IGF－ⅠまたはIGF－IIIのフラグメントは、通常は少なくとも約５個の隣接したアミノ酸であり、さらに少なくとも長さにおいて約30～40個のアミノ酸であってよく、好ましい長さにおいて約50～65個のアミノ酸である。好ましい配列は６～25残基からなる。フラグメントのアミノ酸の一部を保存的置換または欠失により置換して生成ペプチドの化学的あるいは生物学的安定性を改善してもよい。好ましくは、35%以下、より好ましくは20%以下のアミノ酸残基を置換または欠失させる。好ましいIGF－Ⅰ配列に関する以下の実施例は本発明の範囲内である:1）ルイス（Lewis）らにより共同譲受された特許出願USSN　07/869,913に記載されたIGF－Ⅰ（55～70）（配列番号:1）；および２）Ｎ末端における13個のアミノ酸伸長および３番目のArgをGluに置換したヒト・IGF－ⅠからなるIGF－Ⅰロング（Long）R^3IGF－Ⅰ（フランシス，ジー・エル（Francis,G.L.）ら,1992年，アート・トゥ・サイエンス・イン・ティッシュ・カルチャー（Art to Sci.in Tissue Culture），ハイクローン・ラボラトリーズ，インク（HyClone Laboratories,Inc.）第11巻:3～７頁；グロペップ・ピーティーワイ・リミティッド（GROPEP PTY.LTD.）のPCT出願公開WO89/05822;米国特許第5,164,370号;PCT/AU90/00210）。本明細書に掲載したペプチドフラグメントは例示のためだけであって、本発明において有用なIGF－Ⅰペプチドフラグメントの範囲を限定するものではない。

本明細書で用いる「相同性」は、ポリペプチド分子間の配列の類似性をいう。２個の比較される配列双方のある位置が同じアミノ酸モノマーサブユニットで占められる場合、例えば２個のそれぞれのポリペプチド分子におけるある位置がリジンで占められる場合には、該２個の分子はその位置において相同である。２個の配列間の相同性は、当該２個の配列により共有される合致または相同性な位置の数の関数である。例えば、２個の配列における10個の位置のうち６個が合致または相同性である場合には、当該２個のの配列は60%の相同性がある。例えば、アミノ酸配列LTVSFRおよびLPVSATは互いに50%の相同性を有する。

IGF－ＩまたはIGF－IIIのアナログは、保存的アミノ酸配列の相違によりあるいは配列に影響しない修飾により、もしくはその両方により天然のIGF－ＩまたはIGF－IIIと異なっていてもよい。修飾としては、例えばアセチル化、カルボキシシル化、グリコシル化またはリン酸化のごときポリペプチドの化学的誘導体化；結合蛋白親和性を変化させるが受容体親和性および／または当該ポリペプチドの生物学的活性を実質的に変化させないアミノ酸の置換または欠失；あるいはポリペプチドの活性を上昇させる化学的改変が挙げられる。
インビボにおける末梢神経障害の形態および原因が本質的に異なっているにもかかわらず、また、これらの神経障害が、インスリン欠乏、あるいは欠乏でない場合はインスリンの異常なレベルには直接的または明確に関連していないにもかかわらず、出願人らは、IGF－Ｉが、哺乳動物におけるかかる神経障害を予防または治療するための有効な手段でありうると仮定した。このことを説明するために、出願人らは、神経毒性のある副作用を有する薬剤（すなわち抗癌剤ビンクリスチン）を与えられている動物へのIGF－Ｉの投与により関連神経毒性が減じられることを示した。この知見は神経毒性のある副作用を軽減するのみならず、抗癌剤としてのビンクリスチンの有用性を実質的に高めるものでもある。以前はビンクリスチンは、それに伴う神経毒性により有用性が限られていたが、そうではなくて有効な化学療法剤である。この知見もまた同様に、神経毒性の問題により限定されていた他の化合物の有用性を増加させうるものであった。IGF－ＩまたはIGF－IIIの同時投与は、これらの随伴する末梢神経障害の発生を減少させうる。
本発明の他の特徴および利点は、以下の好ましい具体例の記載および請求の範囲から明らかである。

<u>詳細な説明</u>

まず図面の説明を行う。

<u>図面</u>

図１は、ビンクリスチン処置後の運動機能に対するrhIGF－Ｉの効果を示す棒グラフである。
図２は、ビンクリスチン処置後のすね骨神経機能に対するrhIGF－Ｉの効果を示す棒グラフである。
図３は、ビンクリスチン処置後の尾部神経機能に対するrhIGF－Ｉの効果を示す棒グラフである。
図４は、テイルーフリック（tail－flick）の無活動時間に対するタクソールおよびrhIGF－Ｉの効果を示す棒グラフである。
図５は、ホットプレート（hot plate）の無活動時間に対するタクソールおよびrhIGF－Ｉの効果を示す棒グラフである。

<u>発明の詳細な説明</u>

毒性薬剤に暴露することによる神経の機能喪失および／または死滅の危険性がある場合に、IGF－Ｉ関連蛋白およびペプチドのみならずIGF－Ｉが神経の機能化および／または生存を促進しうることを出願人らは偶然に見いだした。この考えを特別に試験するために、出願人らは、動物モデルにおいて、抗癌剤ビンクリスチンの投与により生じる神経毒性をIGF－Ｉ投与により予防できるか否かを調べた。臨床的には、感覚および自律神経失調のみならず、際立った運動機能不全を伴う多発性神経障害の発生によりビンクリスチンの有用性が制限されていた（レガ，エス・エス（Legha,S.S.），上記）。今日にいたるまで、ビンクリスチン用量を制限すること以外には、この神経障害を予防する効果的な手段はない。出願人らは、IGF－Ｉ投与により、このビンクリスチンの、身体を衰弱させ用量を限定する副作用を予防することができることを示した。
この考えに対する２番目の試験において、出願人らは、動物モデルにおいて、抗癌剤タクソールの投与により生じる神経毒性をIGF－Ｉ投与により予防できるか否かを調べた。

<u>実験の実施例：ビンクリスチン</u>

<u>方法</u>

薬剤投与

硫酸ビンクリスチン（ミズーリ州セントルイス（St.Louis）のシグマ・ケミカル（Sigma

Chemical）社製）を2mg/kgの用量で、１週間に２回、６週間連続して腹腔内投与した。1mlの通常のセイライン中0.16mgの濃度で処方した。

実験用の組換え型IGF－Ｉ（rhIGF－Ｉ）はペンシルバニア州ウエスト・チェスター（West Chester）のセファロン・インコーポレイテッド（Cephalon Inc.）から提供された。これはRDシステムズ・インコーポレイテッド（RD Systems Inc.）（ミネソタ州ミネアポリス）、U.B.I.（ニューヨーク州のレイク・プラシッド（Lake Placid）、およびカビ・ファルマシア・AS（Kabi Pharmacia AS）（スウェーデンのストックホルム）からも市販されている。高投与群には、rhIGF－Ｉを1mg/mlの濃度で、低投与群には0.3mg/mlの濃度で、pH6.0の酢酸緩衝液中に処方した。高投与群（グループ４および６）には1.0mg/kgのIGF－Ｉを１週間に３回、６週間連続して皮下注射した。低投与群（グループ３および５）には、0.3mg/kgのIGF－Ｉを１週間に３回、同一期間連続して皮下注射した。IGF－Ｉを投与されない群には体重あたり同一体積の酢酸緩衝液担体を、IGF－Ｉ投与動物と同一スケジュールにより皮下注射した。

動物

初めから体重15～20グラムのオスのCD1マウスをこの研究のために選択した。マウスをランダムに分け、以下の各処置群につき12匹とした：

グループ1:対照，担体のみ注射

グループ2:ビンクリスチンおよびIGF－Ｉ担体

グループ3:ビンクリスチンおよび低用量のIGF－Ｉ

グループ4:ビンクリスチンおよび高用量のIGF－Ｉ

グループ5:低用量のIGF－Ｉのみ

グループ6:高用量のIGF－Ｉのみ

行動試験

傾斜試験:6週間の処置後、マウスをブラインド方式で試験した。この試験のためにマウスを１匹ずつスタイロフォーム（styrofoam）板上に乗せ、ついで、これを垂直位置まで持ち上げた。動物が落ちずに板上につかまっていることができる時間を測定した。30秒で試験を収量した。３回の試験のうちの最長時間を記録した。

電気生理学的試験

行動試験の後、マウスを電気生理学的試験に供した。記録する前に各マウスをハロタン（halothane）で麻酔した。コンパウンドの振幅（compound amplitudes）および遠位の無活動時間を尾部神経において測定した。尾を固定し、白金－イリジウム針表面電極を下方神経の遠位の分節に沿って設置した。活性記録用電極を、刺激用カソードから一定間隔（40mm）をおいて設置した。尾部神経の近位の分節と重なる位置にあるアノード－カソード対を通して一定電圧の単純パルス刺激を与えた。電極を設置したすね骨神経から腓腹筋の遠位の付着部分に向けて順方向に運動の記録を行った。電極間隔10mmとして腓腹神経から順方向に感覚の記録を行った。それぞれの記録について、５ないし10回の刺激を平均し、繰り返し行った。最初の分極の発生から無活動時間を決定し、0.1秒まで測定した。ベースラインからピークまでを振幅とし、0.1μＶまで測定した。各マウスの直腸温度をモニターし、0.5℃以内に維持した。

統計

すべての場合において変数分析（ANOVA）を用いてデータを分析した。

<u>結果</u>

行動試験

臨床的に、ビンクリスチンは、最も際立った初期徴候として遠位の運動衰弱を伴って混合型の感覚および運動神経障害を引き起こした。それゆえ、出願人らは、単純な行動試験を用いて各群の動物の運動の強さを確認した。傾斜試験のデータを表１および図１にまとめた。ビンクリスチンのみで処置した群の動物は、最長時間のほぼ半分しかつかまっていられなかった。試験した他の群はすべて約30秒間にわたりつかまっていることができた。ビンクリスチンのみで処置した群は、ANOVAによりｐ＜0.0001で他の群と相違していた。

電気生理学的試験

すね骨筋から運動の伝達を測定し、結果を表２および図２にまとめた。ビンクリスチンのみで処置した群は、対照群と比較して長い無活動時間および有意に減少した活動能力の振幅を有していた（ANOVAによりｐ＜0.02）。IGF－Ｉと同時処置された群は対照群との間に有意差がなかった。

尾部神経からのコンパウンドの記録（compound recording）を行い、結果を表３および図３にまとめた。ここでもビンクリスチンのみで処置した群は、有意に長い無活動時間および減少した振幅を有していた（それぞれｐ＜0.001およびｐ＜0.05）。それぞれの場合、ＩGF－Ｉ投与は、完全でないとしても部分的にこれらの値を改善した。

腓腹神経から感覚の記録を行い、その値を表４にまとめた。この純粋に感覚機能についての測定により決定されたように、いずれの群においても統計上の有意差は見られなかった。

得られたデータは、ビンクリスチンとのIGF－Ｉ同時投与によりこの動物モデルにおいて見られるビンクリスチン神経障害の明らかな症状を予防できることを示すものである。出願人らは、行動および電気生理学的測定の両方を用いて神経障害の存在を示した。ビンクリスチン神経障害に関するこの動物モデルは、運動機能不全が際立って明らかであるヒトの臨床的症状によく対応していると思われる。ビンクリスチン投与が末梢神経の機能を減損する場合はいつでも、IGF－Ｉ投与により有意に改善された。

実験の実施例：タクソール

rhIGF－Ｉが、タクソール投与により引き起こされた感覚神経障害の進行を予防しうるか否かを評価するために、オスのCD－１マウスにタクソール担体中のタクソール（21.6mg/kg）を６日間にわたり毎日腹腔内投与した。タクソール担体は、12％発色団EL（ミズーリ州セントルイスのシグマ社製）、76％リン酸緩衝化セイライン、12％エタノールからなる。rhIGF－Ｉ担体（100mM酢酸、50mM　NaCl、１％ヒト・血清アルブミン）またはrhIGF－Ｉ（1mg/kg）を、タクソール注射開始１日前から10日間にわたり皮下注射した。rhIGF－Ｉ担体またはrhIGF－Ｉ投与最終日に、ホットプレート（55℃）およびテイルーフリックの無活動時間を測定することにより、有害な刺激に対するマウスの感覚および応答能力を評価した（ダムール（D'Amour）ら，ジャーナル・オブ・ファーマコロジー・アンド・イクスペリメンタル・セラピューティクス（J.Pharmacol.Exp.Ther.）第72巻:74～79頁,1941年；エディ（Eddy）ら，ジャーナル・オブ・ファーマコロジー・イクスペリメンタル・セラピューティクス第107巻:385～393頁,1953年；ボート（Vaught）ら，ライフ・サイエンス（Life Sci.）第48巻:2233～2241頁,1991年）。ホットプレートおよびテイルーフリックの無活動時間を各マウスにつき２回測定した。ホットプレートのアッセイにおいて、後ろ脚をなめるかまたは後ろ脚を３回振るまでのカットオフ（cutoff）時間は20秒であり、テイルーフリックのアッセイにおいて、その尾を加熱したコイルから出すまでのカットオフ時間は10秒であった。ダネットの（Dunnett's）ｔ－試験（タラリダ（Tallarida）ら，マニュアル・オブ・ファーマコロジック・カリキュレイション・ウィズ・コンピューター・プログラムズ（Manual of Pharmacologic Calculation with Computer Programs）第２版，ニューヨークのシュプリンガーーフェアラク（Springer－Verlag）,145～148頁,1987年）により、担体およびタクソール処置群間の有意な相違が明らかとなり、ニューマンーキュールの（Newman－Keul's）試験（タラリダら，上記,121～125頁）によりすべての群の間の相違が明らかとなった。

タクソール/rhIGF－Ｉ担体で処置したマウスのみが、担体で処置したマウスよりも長いテイルーフリックおよびホットプレート無活動時間を有していた。タクソールは有意にテイルーフリックおよびホットプレート無活動時間をそれぞれ43％および73％増加させた。さらに、タクソール処置マウスのテイルーフリックおよびホットプレート無活動時間もまた、rhIGF－Ｉまたはタクソール/rhIGF－Ｉ処置マウスよりも有意に長かった。よって、テイルーフリックおよびホットプレート無活動時間の変化により測定されるように、rhIGF－Ｉは感覚神経障害の進行を予防するものであった。

タクソール誘導性神経障害を予防するrhIGF－Ｉ投与効果を表６、図４（テイルーフリック無活動時間）および図５（ホットプレート無活動時間）に示す。結果を平均値＋標準偏

差で表す。* 印は、rhIGF－Ｉのみおよびタクソール/rhIGF－Ｉ処置群の両群とは有意に異なることを示す（ｐ＜0.05）。

治療

医薬上許容される緩衝液（例えば生理食塩水または酢酸緩衝液）中の本明細書記載のいずれかのIGF－Ｉ神経障害軽減剤を患者に投与してもよい。IGF－ＩまたはIGF－IIIを皮下注射、経口投与、鼻腔内または局所投与（例えば液剤あるいはスプレー）するのが便利であろうが、該治療用調製物を治療すべき症状にしたがって投与する。例えば、IGF－Ｉを静脈から、または適当な組織へ外科的に投与、あるいはカテーテルを通して投与することができる。

適当な用量は、インスリン様成長因子－Ｉ、そのフラグメントまたはアナログが神経障害の程度を軽減させる量である。例えば、0.03～10mg/kg/剤型のIGF－Ｉを、丸塊としてまたは浸剤により、毎日、間欠的に、もしくは必要に応じて投与することができる。この用量はビンクリスチンに対するIGF－Ｉの重量比にほぼ対応し、1:400および75:1の間、好ましくは1:40および8:1の間である。他のインスリン様成長因子－Ｉ、そのフラグメントまたはアナログの用量、あるいはその毒性薬剤に対する相対的な重量比を、当業者は本明細書記載の方法にしたがって決定することができる。

IGF－Ｉで神経障害を治療する有効性を、以下の回復の兆候により評価することができる: 1）四肢の温度感受性により評価されうる正常な感覚機能の回復;2）筋肉の弱さ、細かい運動コントロール、および深在性の腱反射の測定値により評価されうる正常な運動機能の回復；および３）電気生理学的に評価される神経伝達速度の正常化。末梢神経障害の評価方法は、アスベリー（Asbury）ら（アスベリーら,1992年，ディジーズ・オブ・ザ・ナーバス・システム，クリニカル・ニューロバイオロジー（Diseases of the Nervous System ,Clinical Neurobiology），アスベリーら編，ペンシルバニア州フィラデルフィアのダブリュー・ビー・サウンダース・インコーポレイテッド（W.B.Saunders,Inc.）第１巻:252～269頁）により記載されており、神経障害軽減におけるインスリン様成長因子－Ｉの有効性を決定するために当業者により使用されうる。

<u>他の具体例</u>

他の具体例は下記の請求の範囲内である。例えば、毒性の神経障害を軽減するのに有用な薬剤としては、インスリン様成長因子－Ｉのいずれかの族および関連向神経剤、神経成長因子増強分子、繊毛用向神経因子、IGF－Ｉから誘導されたペプチドフラグメント、インスリン様成長因子－Ｉのアナログ、またはこれらの薬剤の組み合わせが挙げられる。

最も典型的には、ビンクリスチンの神経毒性は末梢神経障害として明らかであるが、本発明方法を用いて例えば自律神経または頭部神経系のごとき他の毒性の神経障害を軽減することができ、他の毒性薬剤の効果を緩和することができる。

さらに本発明は、全身的疾患に関連した神経障害を包含する。全身的疾患とは：アスベリーら（上記）（出典明示により本明細書に一体化させる）により記載されたように、尿毒症、小児期の胆汁分泌停止後の肝臓疾患、慢性呼吸不全、アルコール性多発性神経障害、多数の器官疾患、敗血症、低アルブミン血症、好酸球増加－筋痛症候群、肝炎、ポルフィリン症、低血糖症、ビタミン欠乏症、慢性肝臓疾患、初期の胆汁性肝硬変、高脂血症、らい病、ライム（Lyme）病、帯状ヘルペス、ギランーバレ（Guillain－Barre）症候群、慢性炎症性脱髄性多発性根神経症、感覚神経外周炎、好転性免疫不全症候群（AIDS）関連神経障害、ショーグレン（Sjogren）症候群、初期の血管炎（結節性多発性動脈炎のごとき）、アレルギー性肉芽腫性血管炎（チャーグーストラウス（Churg－Strauss））、過敏性血管炎、ウェグナー（Wegner）肉芽腫、リューマチ性関節炎、全身性狼瘡紅斑、混合性結合組織疾患、強皮症、サルコイドーシス、血管炎、全身性血管炎、急性炎症性脱髄性多発性神経障害、ポリオ後の症候群、手根骨トンネル症候群、全身性自律神経異常症、初期の全身性アミロイド症、甲状腺機能低下症、慢性閉塞性肺疾患、末端肥大症、吸収不良（スプレー、腹腔疾患）、癌（感覚、感覚・運動神経のもの、末期および脱髄性のもの）、リンパ腫（ホジキン腫を含む）、ポリシセミア・ベラ（polycythemia vera）、多発性肉腫（様塊誘発性型、骨硬化性または孤立性プラスマ細胞腫）、良性単クローン性γグロブリ

ン異常、マクログロブリン血症、およびクリオグロブリン血症である。
本発明は、以下の遺伝性神経障害をも包含する：腓骨筋萎縮症（シャルコーーマリーーツース病,I、IIおよびＸ型）、先天性アミロイド神経障害、先天性感覚神経障害（Ｉ型およびII型）、ポルフィリン神経障害、先天性圧力麻痺傾向、ファブリ病、副腎脊髄神経障害、リリーーデイ（Riley－Day）症候群、デジェリンーソッタス（Dejerine－Sottas）神経障害（先天性運動感覚神経障害－III）、レフスム病、運動失調－毛細血管拡張、先天性チロシン血症、無α－リポ蛋白血症、無β－リポ蛋白血症、巨大軸索神経障害、異染性ロイコジストロフィー、グロボイド（globoid）細胞ロイコジストロフィー、およびフリードリヒ（Friedrich's）運動失調（アスベリーら，上記）。本発明はまた、アスベリーら，上記により記載された多発性単神経障害、神経叢障害、および純粋な運動神経障害をも包含する。
表１

傾斜試験（秒）

群	平均値	標準偏差
対照	２７．６	２．４
ビンクリスチンのみ	１５．４*	６．５
ビンクリスチン＋ＩＧＦ低投与	３０	０
ビンクリスチン＋ＩＧＦ高投与	２７．７	２．３
ＩＧＦ低投与	３０	０
ＩＧＦ高投与	２７	３

傾斜試験のデータ。値は、動物が垂直に傾斜した板につかまっていることのできた時間（最大３０秒）を表す。

＊は、この値が他の群と異なることを意味する（ｐ＜０．０００１）。

表２

すね骨－運動神経

群	無活動時間（msec）平均値	無活動時間（msec）標準偏差	振幅（mV）平均値	振幅（mV）標準偏差
対照	１．２１	０．０３	２２．９８	１．０６
ビンクリスチンのみ	１．３５	０．０５	１３．９４*	２．１１
ビンクリスチン＋ＩＧＦ低投与	１．３８	０．０５	１７．１２	１．５３
ビンクリスチン＋ＩＧＦ高投与	１．４３	０．０８	１８．４８	１．８９
ＩＧＦ低投与	１．２１	０．０２	１９．８	１．８１
ＩＧＦ高投与	１．２３	０．０３	２０．７６	１．４７

すね骨神経からの電気生理学的測定値。

* は、この群が対照群と異なることを意味する（ｐ＜０．０２）。

表３

尾部－コンパウンド神経

群	無活動時間（msec）平均値	無活動時間（msec）標準偏差	振幅（mV）平均値	振幅（mV）標準偏差
対照	１．３９	０．０３	５７．３２	３．４７
ビンクリスチンのみ	１．７４**	０．０９	３０．６６*	８．５６
ビンクリスチン＋ＩＧＦ低投与	１．５５*	０．０３	３７．０１*	２．５９
ビンクリスチン＋ＩＧＦ高投与	１．５８*	０．０３	３６．０５*	１．６５
ＩＧＦ低投与	１．４６	０．０３	５５．９３	５．６８
ＩＧＦ高投与	１．４５	０．０３	５１．９６	４．２５

尾部の電気生理学的測定値。

* は、これらの値が対照群と異なることを意味する（ｐ＜０．０５）。

** は、この値が対照群と異なることを意味する（ｐ＜０．００１）。

表４

群	腓腹－運動神経 無活動時間（msec） 平均値	標準偏差	振幅（mV） 平均値	標準偏差
対照	０．５４	０．０１	３５．２９	３．５５
ビンクリスチンのみ	０．６２	０．０４	５５．６６	７．４６
ビンクリスチン＋ＩＧＦ低投与	０．６１	０．０２	４４．４９	７．０９
ビンクリスチン＋ＩＧＦ高投与	０．５７	０．０３	３７．２７	５．４
ＩＧＦ低投与	０．５５	０．０２	３０．５２	３．３４
ＩＧＦ高投与	０．５	０．０２	４３．０６	７．７３

腓腹神経からの電気生理学的測定値。群の間には統計学的有意差はなかった。

表5

末梢神経障害を引き起こす薬剤

薬剤	活性
アセトアゾラミド	利尿
アクリルアミド	凝集、グローチング（grouting）剤
アドリアマイシン	抗新生物
アルコール（エタノール）	溶媒、気晴らし剤
アルミトリン	呼吸刺激
アミオダロン	抗不整脈
アンフォテリシン	抗細菌
ひ素	除草
アウロチオグルコース	抗リューマチ
バルビツラート類	殺虫
クロウメモドキ	毒性漿果
カルバマート類	殺虫
二硫化炭素	工業用
クロラムフェニコール	抗細菌
クロロキン	抗マラリア
コレスチラミン	抗高リポ蛋白血症
シスプラチン	抗新生物
クリオキノール	殺アメーバ、抗細菌
コレスチポール	抗高リポ蛋白血症
コルヒチン	痛風抑制
コリスチン	抗微生物
シクロセリン	抗細菌
シタラビン	抗新生物
ダプソン	らい病を含む皮膚科学に使用

表５（続き）

ジデオキシシチジン	抗新生物
ジデオキシイノシン	抗新生物
ジデオキシチミジン	抗ウイルス
ジスルフィラム	抗アルコール
ドクソルビシン	抗新生物
エタムブトール	抗細菌
エチオナミド	抗細菌
グルテチミド	鎮静、睡眠
金	抗リューマチ
ヘキサカーボン類	溶媒
ホルモン性避妊薬	
ヘキサメチロールメラミン	防火処理、耐しわ性
ヒドララジン	抗高血圧
ヒドロキシクロロキン	抗リューマチ
イミプラミン	抗鬱
インドメタシン	抗炎症
無機鉛	塗料中の毒性金属、その他
イソニアジド	抗結核
リチウム	抗鬱
メチル水銀	産業廃棄物
メトホルミン	抗糖尿病
メチルヒドラジン	合成中間体
メトロニダゾール	抗原虫
ミソニダゾール	放射線増感

表5（続き）

ニトロフラントイン	尿の防腐
ニトロゲンマスタード	抗新生物、神経ガス
笑気	麻酔
有機リン酸類	殺虫
オスポロト	抗痙攣
ペニシリン	抗細菌
ペルヘキシリン	抗関節炎
マレイン酸ペルヘキシリン	抗関節炎
フェニトイン	抗痙攣
白金	薬剤成分
プリミドン	抗痙攣
プロカルバジン	抗新生物
ピリドキシン	ビタミンＢ６
シアン酸ナトリウム	抗鎌型赤血球化
ストレプトマイシン	抗微生物
スルホンアミド類	抗微生物
スラミン	抗新生物
タモキシフェン	抗新生物
タクソール	抗新生物
サリドマイド	抗らい
タリウム	ラット毒
トリアムテレン	利尿
トリメチル錫	毒性金属
Ｌ－トリプトファン	健康食品添加物

表５（続き）

ビンクリスチン	抗新生物
ビンブラスチン	抗新生物
ビンデシン	抗新生物
ビタミンＡ	大量服用（mega doses）
ビタミンＤ	大量服用

表6

テイルーフリックおよびホットプレート無活動時間に対するタクソールおよびｒｈＩＧＦ－Ｉの影響

処置[a b]	テイルーフリック無活動時間（秒）	ホットプレート無活動時間（秒）
ｒｈＩＧＦ－Ｉ担体	３．４９±０．１５	８．７２±０．４０
タクソール担体	３．７０±０．３０	７．３４±０．４４
ｒｈＩＧＦ－Ｉ(１ｍｇ／ｋｇ)	３．４３±０．１４	８．１０±０．３９
タクソール／ｒｇＩＧＦ－Ｉ担体	４．９９±０．１５*	１１．９６±０．５４*
タクソール／ｒｈＩＧＦ－Ｉ	３．７０±０．１９	７．７４±０．６１

* 担体、ｒｈＩＧＦ－ＩまたはタクソールＩ／ｒｈＩＨＧ－Ｉ処置群とは有意に異なる（ｐ＜０．０５）。

[a] ｒｈＩＧＦ－Ｉ担体：ｒｈＩＧＦ－Ｉ無添加で、ｒｈＩＧＦ－Ｉに使用される担体を１つの群の動物に与えて対照群とした。

タクソール担体：タクソール無添加で、タクソールに使用される担体を１つの群の動物に与えて対照群とした。

ｒｇＩＧＦ－Ｉ(１ｍｇ／ｋｇ)：ｒｈＩＧＦ－Ｉ（その担体中）を記載のごとく投与した。

タクソール／ｒｈＩＧＦ－Ｉ担体：タクソール（その担体中）をｒｈＩＧＦ－Ｉ用担体（ｒｈＩＧＦ－Ｉ無添加）と同時に投与した。

タクソール／ｒｈＩＧＦ－Ｉ：タクソール（その担体中）およびｒｈＩＧＦ－Ｉ（その担体中）両方を記載のごとく投与した。

[b] 通常は、担体対照群も試験して、試験すべき薬剤を伴っている担体が該薬剤自体に何等影響しないことを確認する。

配列表

（１）一般的情報：

（ｉ）出願人：セファロン，インコーポレイテッド（Cephalon,Inc.）

アルバート・アインシュタイン・カレッジ・オブ・メディスン・オブ・イェシーバ・ユニ

バーシティ（Albert Einstein College of Medicine of Yeshiva University）
（ii）発明の名称：末梢神経障害の予防および治療
（iii）配列の数:1
（iv）連絡先：
（Ａ）名称：フィッシュ・アンド・リチャードソン（Fish & Richardson）
（Ｂ）通り名：フランクリン・ストリート225（Franklin Street 225）
（Ｃ）都市名：ボストン（Boston）
（Ｄ）州名：マサチューセッツ（Massachusetts）
（Ｅ）国名：アメリカ合衆国
（Ｆ）郵便番号:02110－2804
（ｖ）コンピューター・リーダブル・フォーム：
（Ａ）媒体形態:3.5インチディスケット,1.44Mb
（Ｂ）コンピューター:IBM　PS/2　モデル50Zまたは55S
（Ｃ）オペレーティング・システム:IBM　P.C.DOS（バージョン3.30）
（Ｄ）ソフトウェア・ワードパーフェクト（WordPerfect）
（バージョン5.0）
（vi）現在の出願データ：
（Ａ）出願番号：
（Ｂ）出願日：
（Ｃ）分類：
（vii）先の出願データ：
（Ａ）出願番号:07/899,070
（Ｂ）出願日:1992年６月12日
（viii）代理人等の情報：
（Ａ）氏名：ポール　ティー・クラーク（Paul T.Clark）
（Ｂ）登録番号:30,162
（Ｃ）代理人等における処理番号:02655/026001
（ix）テレコミュニケーションの情報：
（Ａ）電話番号：（617）542－5070
（Ｂ）ファックス番号：（617）542－8906
（Ｃ）テレックス:200154
（２）配列番号:1に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
（Ａ）配列の長さ:16
（Ｂ）配列の型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（xi）配列：配列番号:1:

Arg Arg Leu Glu Met Tyr Cys Ala

Pro Leu Lys Pro Ala Lys Ser Ala

【図１】

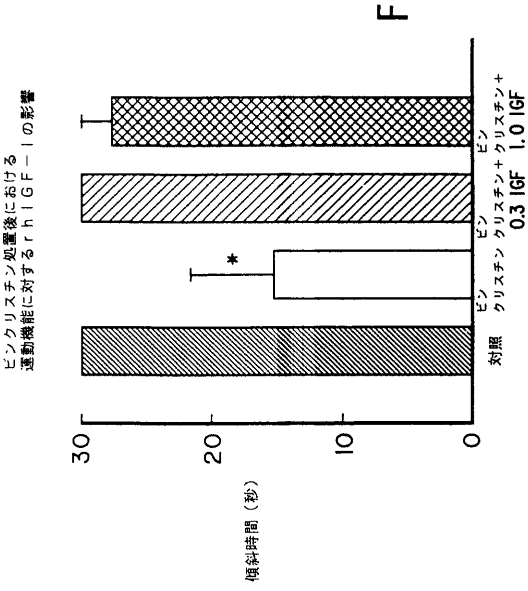

FIG. 1

【図２】

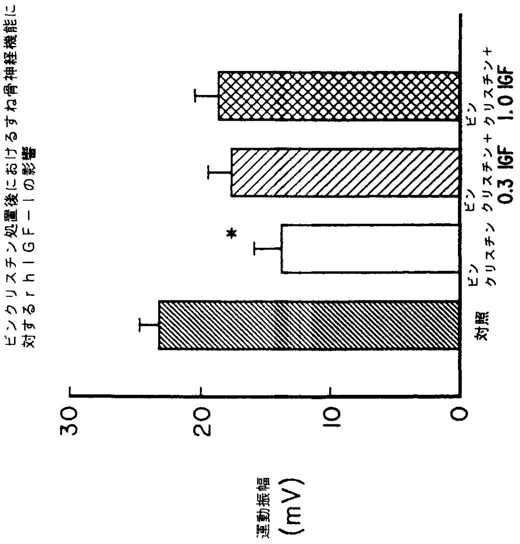

FIG. 2

【図３】

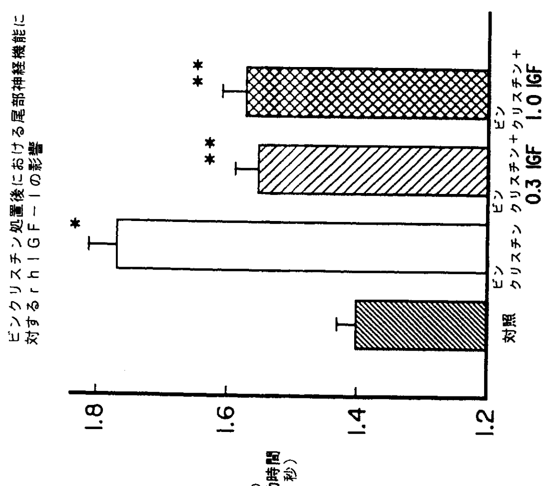

FIG. 3

【図４】

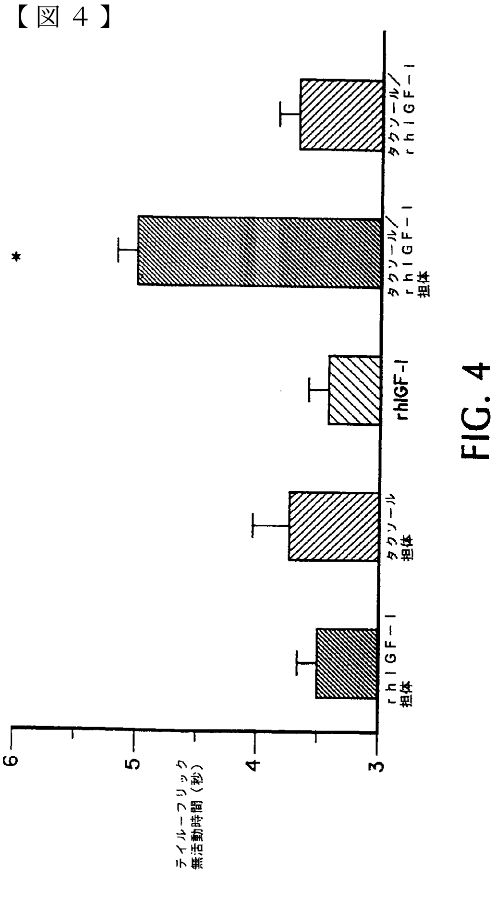

FIG. 4

【図５】

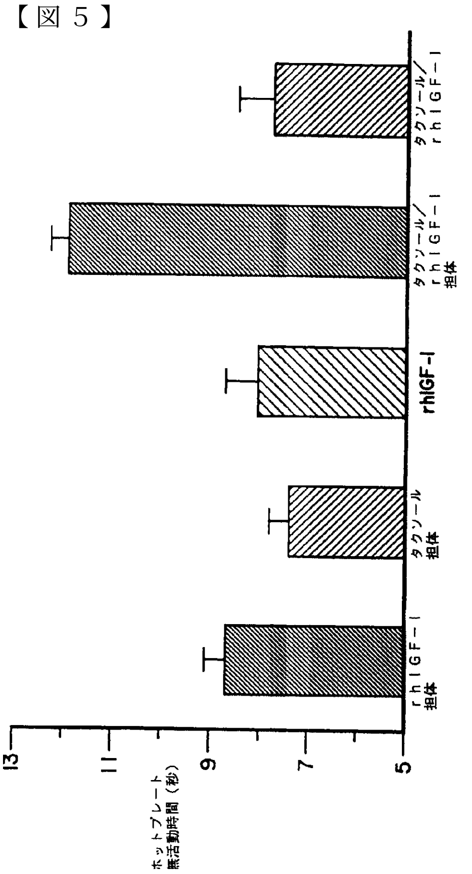
ホットプレート
無活動時間（秒）
13
11
9
7
5
ｒｈＩＧＦ－Ｉ
担体
タクソール
担体
rhIGF-I
タクソール／
ｒｈＩＧＦ－Ｉ
担体
タクソール／
ｒｈＩＧＦ－Ｉ

FIG. 5

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]　　　　　ＦＩ
ＡＨ６１Ｐ　25/02　　　　　Ａ６１Ｐ　25/02
Ａ６１Ｐ　43/00　　　　　Ａ６１Ｐ　43/00　　１２１

(74)代理人
弁理士　田中　光雄
(72)発明者　ルイス，マイケル・イー
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１９３５０、ランデンバーグ、ビルズ・ウェイ２３番
(72)発明者　アプフェル，スチュアート・シィ
アメリカ合衆国ニューヨーク州１１５５２、ウエスト・ヘンプステッド、ウォーカー・プレイス２１８番
(72)発明者　ケスラー，ジョン・エイ
アメリカ合衆国コネティカット州０６８４０、ニュー・カナン、ウイング・ロード（番地の表示なし）

審査官　内田　俊生

(56)参考文献　欧州特許出願公開第００３０８３８６（ＥＰ，Ａ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.[7]，ＤＢ名)
A61K 38/00 - 38/58