

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4914344号  
(P4914344)

(45) 発行日 平成24年4月11日(2012.4.11)

(24) 登録日 平成24年1月27日(2012.1.27)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02
A 6 1 K 38/22 (2006.01)	A 6 1 K 37/24
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10

請求項の数 21 (全 11 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2007-506527 (P2007-506527)  
 (86) (22) 出願日 平成17年3月30日 (2005.3.30)  
 (65) 公表番号 特表2007-537160 (P2007-537160A)  
 (43) 公表日 平成19年12月20日 (2007.12.20)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/010822  
 (87) 国際公開番号 W02005/097172  
 (87) 国際公開日 平成17年10月20日 (2005.10.20)  
 審査請求日 平成20年3月19日 (2008.3.19)  
 (31) 優先権主張番号 60/557,935  
 (32) 優先日 平成16年3月31日 (2004.3.31)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 501324834  
 ザ・フェインスタイン・インスティテュー  
 ト・フォー・メディカル・リサーチ  
 The Feinstein Institute for Medical Research  
 アメリカ合衆国、ニューヨーク州、マンハ  
 セット、コミュニティ・ドライブ 350  
 350 Community Drive  
 , Manhasset, NY 110  
 30, U. S. A.  
 (74) 代理人 100110423  
 弁理士 曾我 道治  
 (74) 代理人 100084010  
 弁理士 古川 秀利

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 虚血／再灌流障害治療用のアドレノメデュリン及びアドレノメデュリン結合タンパク質

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

虚血再灌流障害の危険性がある哺乳類を治療するための医薬を製造するためのアドレノメデュリン結合タンパク質 - 1 (AMB P - 1) の使用。

【請求項 2】

さらにアドレノメデュリンを含む、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 3】

前記アドレノメデュリン及び前記 AMB P - 1 が、前記哺乳類と同じ種由来である、請求項 2 に記載の使用。

【請求項 4】

前記アドレノメデュリン及び前記 AMB P - 1 が、前記同じ種由来である、請求項 2 に記載の使用。

【請求項 5】

前記哺乳類がヒトである、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 6】

前記虚血再灌流障害の危険性が、前記哺乳類の腸に対するものである、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 7】

前記哺乳類がまた、肺障害の危険性も有する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 8】

前記虚血再灌流障害の危険性が、前記哺乳類の腎臓に対するものである、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 9】

前記腎臓が、前記哺乳類へ移植された、請求項 8 に記載の使用。

【請求項 10】

前記虚血再灌流障害の危険性が、前記哺乳類の心筋に対するものである、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 11】

前記虚血再灌流障害の危険性が、挫滅四肢に対するものである、請求項 1 に記載の使用。

10

【請求項 12】

前記虚血再灌流障害の危険性が、発作によるものである、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 13】

前記虚血再灌流障害の危険性が、前記哺乳類の肝臓に対するものである、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 14】

前記肝臓が、移植された、請求項 13 に記載の使用。

【請求項 15】

前記虚血再灌流障害の危険性が、糖尿病患者の神経に対するものである、請求項 1 に記載の使用。

20

【請求項 16】

前記虚血再灌流障害の危険性が、前記哺乳類の肺に対するものである、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 17】

前記哺乳類が、腸管虚血の危険性があるか、腸管虚血を抱えているか、又は腸管虚血を抱えていた、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 18】

前記虚血が、前記腸の虚血である、請求項 17 に記載の使用。

【請求項 19】

前記 A M B P - 1 の体重に対する濃度は、0.2 ~ 200  $\mu$ g / kg である、請求項 1 に記載の使用。

30

【請求項 20】

前記アドレノメデュリンの体重に対する濃度は、0.1 ~ 100  $\mu$ g / kg である、請求項 2 に記載の使用。

【請求項 21】

アドレノメデュリン結合タンパク質 - 1 ( A M B P - 1 ) 及びアドレノメデュリンを含む、虚血再灌流障害の危険性がある哺乳類を治療するための医薬。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

40

[ 発明の分野 ]

本発明は概して、虚血再灌流障害を予防又は最小化するための治療に関する。より具体的には、本発明は、虚血再灌流障害の危険性がある哺乳類へのアドレノメデュリン結合タンパク質 - 1 の投与に関する。

【0002】

[ 関連出願の相互参照 ]

本出願は、2004年3月31日に提出された米国仮出願第60/557,935号の利益を主張する。

【背景技術】

【0003】

50

## 【関連出願の説明】

組織虚血は、組織中の酸素の欠乏、並びに炎症誘発性サイトカイン、特に腫瘍壊死因子 - ) ( T N F - ) 並びにインターロイキン I L - 1 、 I L - 6 及び I L - 1 0 の誘導に起因して、細胞機能障害及び壊死をもたらす可能性のある幾つかの化学的事象を招く。血流が回復すると(再灌流)、大部分がフリーラジカル形成により引き起こされ、再灌流部位で活性化される好中球により幾分もたらされると考えられるさらなる障害を生じる別の一連の事象が起こる。多くの場合、再灌流障害は、特に虚血がほんの短期間起こる場合、虚血障害よりも重篤である。

## 【0004】

虚血再灌流障害は、血流が中断され、続いて回復される時にいつでも起こる可能性がある。例としては、バルーン血管形成術又は t P A 処理に続く心筋障害、挫滅障害に続く重篤なコンパートメント症候群のための減圧(decompression)筋膜切開、発作に続く血流の回復、移植臓器(特に腎臓又は肝臓)への血流の回復、過敏性腸症候群又はクローン(Chrohn's)病のような腸疾患、並びに糖尿病患者における血管機能不全に起因するニューロパシーが挙げられる。

10

## 【0005】

虚血再灌流障害は多くの場合、好中球活性化を阻害するメチルキサンチン誘導体であるペントキシフィリン、及びノ又は有毒な酸素ラジカルを低減するキサンチンオキシターゼ阻害剤であるアロプリノールで治療される。他の治療としては、好中球化学誘引物質に対する抗体が挙げられる。しかしながら、これらの治療は、無効であるか、又はほんの部分的に有効である場合が多い。したがって、虚血再灌流障害のための新たな治療が必要とされる。

20

## 【0006】

新たに報告されている強力な血管拡張性ペプチドであるアドレノメデュリン(A M )は、生理学的状態及び病理学的状態の両方に関する重要な媒介物質である。ヒト A M ( 5 2 個のアミノ酸ペプチド)は、最初に 1 9 9 3 年に単離及び報告された。A M は、カルボキシ末端アミド化残基及びアミノ末端付近で分子内ジスルフィド結合により形成される 6 員環構造を有し、市販されている。ラットアドレノメデュリンは、ヒトアドレノメデュリンと比較すると、2 個のアミノ酸欠失及び 6 個のアミノ酸置換を伴う 5 0 個のアミノ酸を有する。アドレノメデュリン転写物及びタンパク質は、多数の組織で発現され、アドレノメデュリンの循環レベルは、正常条件並びに病態生理学的条件下で観察された。

30

## 【0007】

1 9 9 9 年には、Elsasser他(Endocrinol. 140: 4908-11)は、特定のアドレノメデュリン結合タンパク質(A M P B )がヒトを含む数種の血漿中に存在することを報告した。最近になって、結合タンパク質 A M B P - 1 が、ヒト血漿で同定されており、またヒト補体因子 H と同一であることが示されている。A M B P - 1 は、繊維芽細胞において c A M P のアドレノメデュリン媒介性誘導を増強し、癌細胞系のアドレノメデュリン媒介性成長を増大させ、E . c o l i に関するアドレノメデュリンの殺菌能力を抑制する。

## 【0008】

他の研究により、A M 及び A M B P - 1 が、敗血症モデルにおいて抗炎症特性を有することも示されている。当該研究により、アドレノメデュリン結合タンパク質 - 1 ( A M B P - 1 ) が、ショック中にアドレノメデュリンに対して制限的であり、ショックの有害な影響を低減するためのアドレノメデュリン療法の有効性を制限することが見出された。A M B P - 1 の投与は、このアドレノメデュリン低応答性を軽減し、したがって、単独で又は A M 治療とともに、ショックのための有用な療法である。2 0 0 3 年 1 2 月 5 日に出願された米国特許出願第 1 0 / 7 2 9 , 1 9 3 号を参照されたい。

40

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0009】

さらに、A M は、心筋梗塞により引き起こされる虚血再灌流障害(Kato他, Am. J. Phys

50

iol. Heart Circ. Physiol. 285: H1506-14, 2003)、並びに虚血腎臓障害(Nishimatsu他, Circulation Res. 90: 625-7, 2002)を治療するのに有効であることが見い出されている。したがって、AM治療が、他の虚血再灌流障害を低減又は予防するのに有効であるかどうか、また、AM及びAMB P - 1治療が、虚血再灌流障害で有効であるかどうかを確定することが必要である。本発明は、この必要性に対処している。

【課題を解決するための手段】

【0010】

[発明の概要]

したがって、本発明は、AM + AMB P - 1による治療が、虚血腸に起因する虚血再灌流障害を低減又は排除するのに有効であるという発見に基づいている。実施例を参照されたい。この発見により、AMを伴うか又は伴わないAMB P - 1治療が、任意の虚血再灌流障害で有効であること、及びAM治療単独が、虚血腸の治療に有効であることが当業者に理解されよう。

10

【0011】

このように、いくつかの実施形態では、本発明は、虚血再灌流障害の危険性がある哺乳類を治療する方法に関する。当該方法は、上記障害を低減するのに十分な量で、上記哺乳類へアドレノメデュリン結合タンパク質 - 1 (AMB P - 1)を投与することを含む。

【0012】

他の実施形態では、本発明は、腸に対して虚血再灌流障害の危険性がある哺乳類を治療する方法に関する。当該方法は、上記障害を低減するのに十分な量で、上記哺乳類へアドレノメデュリンを投与することを含む。

20

【0013】

[発明の詳細な説明]

実施例で確立されるように、AM + AMB P - 1による虚血腸の治療は、虚血再灌流障害を低減又は排除する。不十分な内因性AMP B - 1は、ショックの治療に関するAMの有効性を制限することが見出されている(2003年12月5日に出願された米国特許出願第10/729,193号を参照)ため、虚血再灌流障害の治療のためのAM単独の使用に関する場合も同様であることが理解されよう。したがって、当業者は、添加したAMB P - 1は続いて、過剰に存在するAMと結合するのに利用可能であり、虚血再灌流障害を低減又は排除するのに有効であるため、AMB P - 1治療単独が虚血再灌流障害の治療において有効であると予測するであろう。任意の特定のメカニズムに拘束されないが、AMのAMB P - 1との結合は、炎症性サイトカイン、特にIL - 1、IL - 6、IL - 10及びTNF - (これらは、別の状況では虚血及び/又は再灌流により誘導される)の増加を防止することにより、炎症の低減を引き起こし、且つ血管低応答性を増大させると考えられる。また、特にAMB P - 1治療がその時AMを制限的にする場合に、AMB P - 1と組み合わせたAMは、AMB P - 1治療単独よりも効果的であることが予測される。

30

【0014】

したがって、幾つかの実施形態では、本発明は、虚血再灌流障害の危険性がある哺乳類を治療する方法に関する。上記方法は、上記障害を低減するのに十分な量で、上記哺乳類へアドレノメデュリン結合タンパク質 - 1 (AMB P - 1)を投与することを含む。

40

【0015】

AMB P - 1は、AMB P - 1投与の治療効果を最大にするために、アドレノメデュリンと一緒に投与されることが好ましい。

【0016】

これらの方法は、ラット、マウス及びモルモットのような実験動物、ウマ、イヌ、ブタ、ウサギ、ネコ及びフェレットのような家畜、並びにヒトを含む任意の哺乳類種で有効に使用することができる。

【0017】

これらの方法で投与されるAMB P - 1及びアドレノメデュリンは、任意の哺乳類種由

50

来であり得るが、治療に対するアレルギー反応の可能性を最低限に抑えるために、治療されるのと同じ哺乳類種由来であることが好ましい。したがって、ヒトは、任意の哺乳類種由来のAMB P - 1（及び望ましい場合にはアドレノメデュリン）で治療することができるが、ヒト形態のこれらのタンパク質による治療が好ましい。AMB P - 1及びアドレノメデュリンはまた、同種又は異種由来であり得る。多数の種由来のAMB P - 1及びアドレノメデュリンがクローニング及びシーケンシングされている。例としては、以下のGenBankアクセッション：Y00716（ヒトAMB P - 1）、NM 130409（ラットAMB P - 1）、NM 009888（マウスAMB P - 1）、AAH15961（ヒトアドレノメデュリン）、AAH61775（ラットアドレノメデュリン）、AAH52665（マウスアドレノメデュリン）、NP 776313（ウシアドレノメデュリン）、S41600（ブタアドレノメデュリン）及びBAA96494（ウマアドレノメデュリン）が挙げられる。この情報を使用して、当業者は、過度の実験なしで任意の他の哺乳類種からAMB P - 1及びアドレノメデュリンを同定することができる。

10

#### 【0018】

これらの方法のためのAMB P - 1又はアドレノメデュリンはまた、任意の種由来のものと同じでない合成タンパク質であり得る。当業者は、上記で同定されたGenBankアクセッションで提供される配列情報を使用して、単に上記配列の1つを変更させることにより、例えばある種由来のアミノ酸残基（又はアミノ酸をコードするヌクレオチド）を別の種の配列へ置換することにより、多数のかかるタンパク質を同定することができる。さらに、AMB P - 1又はアドレノメデュリンは、天然ポリペプチドよりも分解に対して抵抗性があるペプチド擬似体又は他の既知の形態であり得る。例としては、ペプチドに結合されたアミド基又はエステル基のような基（かかる保護ペプチドは、*in vivo*で脱保護されて、活性なアドレノメデュリン及びAMB P - 1を送達するため）が挙げられる。

20

#### 【0019】

これらの方法のためのAMB P - 1及びアドレノメデュリンの合成は、任意の既知の方法、例えばペプチド合成方法により合成、或いは好ましくは細菌、酵母、昆虫又は哺乳類細胞における発現ベクターからの発現によるものであり得る。

#### 【0020】

これらの方法は、例えば発作又は外傷の結果としての任意のタイプの虚血再灌流障害（例えば、腸、腎臓、肺、心筋、挫滅四肢、肝臓、神経又は脳に対するもの）を受けているか、又はその危険性がある哺乳類の治療に有用である。腎臓又は肝臓に対する虚血再灌流障害は特に、臓器が移植された場合に一般的に見られる。さらに、肺障害は、多くの場合、腸管、特に腸における虚血再灌流障害を付随する。本方法は、この肺障害を低減又は排除することができる。実施例2を参照されたい。

30

#### 【0021】

投与されるAMB P - 1の量は、患者の大きさ及び状態に依存し、標準的な用量応答プロトコルを使用して、過度の実験なしで確定することができる。概して、例えば0.5、1、2、5、10、25、50及び100 µg/kgを含む0.2~200 µg/kg（体重）のAMB P - 1の投与量が適切であると見なされ、投与量範囲の下端での投与量が成人ヒトに適切である。利用される場合、例えば0.2、0.5、1、2、5、10、25及び50 µg/kgを含む0.1~100 µg/kg（体重）のアドレノメデュリンが適切である。

40

#### 【0022】

上述のAMB P - 1及び/又はAM組成物は、特定の用途に適切であるように、ヒトを含む哺乳類への投与に関して過度の実験なしで配合することができる。

#### 【0023】

したがって、経口、舌、舌下、口腔及び口内投与用に設計された組成物は、例えば不活性な賦形剤を用いて、或いは食用キャリアを用いて、当該技術分野で既知の手段により過度の実験なしで作製することができる。組成物は、ゼラチンカプセル中に封入してもよく

50

、或いは錠剤へと圧縮してもよい。経口療法的投与の目的で、本発明の医薬組成物は、賦形剤と組み込ませることができ、錠剤、トローチ、カプセル、エリキシル、懸濁剤、シロップ、オブラート、チューインガム等の形態で使用され得る。

【0024】

錠剤、丸剤、カプセル、トローチ等はまた、結合剤、賦形剤、崩壊剤、潤滑剤、甘味剤及び香味剤を含有してもよい。結合剤の幾つかの例としては、微結晶性セルロース、トラガカントゴム又はゼラチンが挙げられる。賦形剤の例としては、デンプン又はラクトースが挙げられる。崩壊剤の幾つかの例としては、アルギン酸、コーンスターチ等が挙げられる。潤滑剤の例としては、ステアリン酸マグネシウム又はステアリン酸カリウムが挙げられる。流動促進剤の例は、コロイド状二酸化ケイ素である。甘味剤の幾つかの例としては、スクロース、サッカリン等が挙げられる。香味剤の例としては、ペパーミント、サリチル酸メチル、オレンジ香味料等が挙げられる。これらの様々な組成物を調製する際に使用される材料は、医薬的に純粋であり、且つ使用量で無毒性であるべきである。

10

【0025】

本発明のAMB P - 1及び/又はAM組成物は、例えば静脈内、筋内、髄腔内又は皮下注射のような、非経口的に容易に投与することができる。非経口投与は、本発明の組成物を溶液又は懸濁液へ組み込ませることにより達成することができる。かかる溶液又は懸濁液はまた、滅菌賦形剤（例えば、注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶媒）を包含してもよい。非経口配合物はまた、例えばベンジルアルコール又はメチルパラベンのような抗菌剤、例えばアスコルビン酸又は亜硫酸水素ナトリウムのような酸化防止剤、及びEDTAのようなキレート剤を包含してもよい。酢酸塩、クエン酸塩又はリン酸塩のような緩衝液、及び塩化ナトリウム又はデキストロースのような張性の調節用の作用物質もまた添加され得る。非経口調製物は、アンプル、使い捨て可能なシリンジ或いはガラス又はプラスチック製の複数回用量バイアル中に封入することができる。

20

【0026】

直腸投与は、AMB P - 1及び/又はAM組成物を直腸又は大腸へ投与することを包含する。これは、坐剤又は浣腸を使用して達成することができる。坐剤配合物は、当該技術分野で既知の方法により容易に作製することができる。例えば、坐剤配合物は、グリセリンを約120ヘ加熱すること、グリセリン中に組成物を溶解すること、加熱されたグリセリンを混合すること（その後、精製水を添加してもよい）、及び熱混合物を坐剤型へ注入することにより調製することができる。

30

【0027】

本発明は、治療上有効な量のAMB P - 1及び/又はAM組成物を哺乳類へ経鼻的に投与することを包含する。本明細書中で使用する場合、経鼻的に投与すること又は経鼻投与は、患者の鼻道又は鼻腔の粘膜へ組成物を投与することを包含する。本明細書中で使用する場合、組成物の経鼻投与用の医薬組成物は、例えば鼻腔用スプレー、点鼻薬、懸濁剤、ゲル、軟膏、クリーム又は粉剤として投与されるように既知の方法により調製される治療上有効な量の組成物を包含する。組成物の投与はまた、鼻腔タンポン又は鼻腔スポンジを使用して行ってもよい。

40

【0028】

AMB P - 1（任意にAMとともに）は、虚血再灌流の予想される開始の前ならいつでも、例えば移植又は血管形成術の前に予防的に投与することができる。あるいは、AMB P - 1は、虚血又は再灌流事象中に投与することができる。好ましくは、AMB P - 1は、虚血又は続く再灌流により引き起こされる虚血の開始の90分以内に投与される。アドレノメデュリンもまた投与される場合、アドレノメデュリンは、AMB P - 1の投与前、投与中又は投与後に投与することができる。

【0029】

AMB P - 1（及びアドレノメデュリン）はまた、虚血再灌流の生理学的影響を低減させる別の作用物質と併用して投与することができる。かかる作用物質の非限定的な例とし

50

ては、ペントキシフィリン、アロプリノール又は好中球化学誘引物質に対する抗体の投与が挙げられる。

【0030】

別の実施形態では、本発明は、腸に対して虚血再灌流障害の危険性がある哺乳類を治療する方法に関する。上記方法は、上記障害を低減するのに十分な量で、上記哺乳類へアドレノメデュリンを投与することを含む。

【0031】

上述の方法と同様に、アドレノメデュリンは、哺乳類と異種、又は好ましくは同種由来であり得る。これらの方法はまた、ヒトを含む任意の哺乳類に有効である。アドレノメデュリンは、好ましくは静脈内投与により、上述のように0.1~100 $\mu$ g/kg(体重)で投与されることが好ましい。さらに、アドレノメデュリンは、虚血の90分以内に、及び再灌流の前又は再灌流と同時に投与されることが好ましいが、再灌流後の治療もまた有益であり得る。

10

【0032】

上述のように、腸における虚血再灌流は、肺への障害を引き起こし得る。本実施形態は、肺障害を低減することができる。

【0033】

本発明の好ましい実施形態は、以下の実施例で記載される。本明細書中の特許請求の範囲内の他の実施形態は、本明細書中で開示するように、明細書から考慮すべき事項又は本発明のプラクティスから当業者に明らかであろう。明細書は、実施例と合わせて単なる例示と見なされ、本発明の範囲及び精神は、添付の特許請求の範囲により示されることが意図される。

20

【実施例】

【0034】

(実施例1)

「腸管虚血再灌流(I/R)障害において炎症性サイトカインをダウンレギュレートするための新規アプローチ：アドレノメデュリン(AM)及びアドレノメデュリン結合タンパク質-1(AMB P-1)の役割」

目的：虚血腸は、最大80%の死亡率をもたらす重要な臨床上的の問題を残している。これは一つには、炎症性サイトカインの放出を増大させる再灌流障害に関する。I/R誘導性死亡率を低減させるための多数の様式及び物質が研究されているにもかかわらず、完全に成功したものはない。過去の研究により、新規血管拡張性ペプチドAM及びその結合タンパク質AMB P-1が、敗血症モデルにおいて抗炎症特性を有することが示されているため、本発明者らは、腸管I/R後のAM/AMB P-1の投与が、炎症性サイトカインをダウンレギュレートし、組織障害を減少させると仮定する。

30

【0035】

方法：腸管I/Rは、成体雄ラットにおいて、90分間の上腸間膜動脈(SMA)クラッピング、続く90分間の再灌流により誘導された。SMAクラップの解除時に、AM(12 $\mu$ g/kg(BW))/AMB P-1(40 $\mu$ g/kg(BW))又は賦形剤(標準的な生理食塩水1mL)のいずれかを用いて、大腿静脈カテーテルを介して30分かけて処理を施した。処理の完了の60分後に、血液及び組織サンプルを収集して、IL-1、IL-6、IL-10(pg/mL)、乳酸塩(mg/dL)、クレアチニン( $\mu$ mol/L)及び肝臓酵素(すなわち、AST、IU/L)の血漿レベルを測定した。擬似手術又は虚血90分のみを伴う動物には、AM/AMB P-1処理を施さなかった。one-way ANOVA及びStudent-Newman-Keuls検定を使用して、統計学的解析を実施した。

40

【0036】

結果：データ(平均値 $\pm$ SE、n=7~8、\* = 擬似又は虚血90分に対してp<0.05、# = I/R + 賦形剤に対してp<0.05)を表1に示す。

【0037】

50

【表 1】

	IL-1 $\beta$	IL-6	IL-10	乳酸塩	クレアチニン	AST
擬似	21 $\pm$ 4	78 $\pm$ 20	8 $\pm$ 4	14 $\pm$ 0.9	58 $\pm$ 8	54 $\pm$ 9
虚血90'	26 $\pm$ 7	41 $\pm$ 9	9 $\pm$ 6	16 $\pm$ 1	63 $\pm$ 11	66 $\pm$ 7
I/R+臍形剤	81 $\pm$ 24*	429 $\pm$ 118*	159 $\pm$ 50*	37 $\pm$ 4*	120 $\pm$ 14*	104 $\pm$ 12*
I/R+AM/AMB P-1	19 $\pm$ 4#	134 $\pm$ 33#	83 $\pm$ 18#	29 $\pm$ 2*#	79 $\pm$ 12#	79 $\pm$ 3#

10

20

30

40

## 【0038】

上記結果は、虚血90分単独と異なり、I/Rは、炎症性サイトカインIL-1、IL-6及びIL-10を著しくアップレギュレートすることを実証した。さらに、I/Rは、増大された乳酸塩、クレアチニン及びASTレベルから明らかであるように、臓器障害を引き起こした。しかしながら、虚血後のAM及びAMB P-1の投与は、サイトカインレベルを顕著に低減させ、組織障害を減少させた。

## 【0039】

結論：AM/AMB P-1注入は、腸管I/R後に炎症性サイトカインを劇的にダウンレギュレートし、臓器機能を保護する。そのため、AM/AMB P-1は、虚血腸のエピソード後の再灌流障害を減少させるための新規治療であるように思われる。これらの作用

50

物質は、この疾病実体と関連した罹患率及び死亡率を低減させ得る。

【0040】

(実施例2)

「アドレノメデュリン (AM) 及びその結合タンパク質 (AMB P - 1) は、消化管虚血 / 再灌流後の急性肺障害を予防する」

虚血腸は、最大80%の死亡率をもたらす重要な臨床上の問題を残している。虚血及び再灌流 (I/R) 障害により誘導される急性肺障害は、かかる高死亡率に関与し得る。本発明者らの過去の研究により、血管作用性ペプチドAM及びその結合タンパク質AMB P - 1の投与が、全身炎症応答を低減することが示されている。しかしながら、AM / AM B P - 1が、I / R誘導性急性肺障害に対して任意の防御的影響を有するかどうかは依然として未知のままである。これを研究するために、腸管I / Rは、成体雄ラットにおいて、微小血管クリップを間膜動脈 (SMA) に90分間設置することにより誘導された。SMAクランプの解除時に、AMB P - 1 (40 µg / kg (BW)) と組み合わせたAM (12 µg / kg (BW)) 又は賦形剤 (標準的な生理食塩水1 mL) により、大腿静脈カテーテルを介して30分間かけて、動物を処理した。動物を4時間後に安楽死させて、肺サンプルを、顆粒球ミエロペルオキシダーゼ活性 (MPO)、含水量、TNF - 、IL - 6、IL - 10レベル及び形態学的変化に関して評価した。抗炎症性核受容体であるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 - (PPAR - ) の遺伝子発現もまた測定した。結果は以下の通りである (平均値 ± SEM、n = 6 ~ 8 / 群)。

【0041】

【表2】

	擬似	I/R-賦形剤	I/R-AM/AMB P-1
MPO(U/g タンパク質)	2.2±0.1	6.4±0.3*	3.3±0.2*#
含水量(%)	75.0±1.1	81.7±0.7*	75.8±1.4#
TNF-α (ng/g タンパク質)	1.8±0.1	3.1±0.3*	1.5±0.4#
IL-6 (ng/g タンパク質)	52.3±3.9	80.0±9.6*	53.6±7.7#
IL-10 (ng/g タンパク質)	11.3±1.2	19.3±2.4*	12.5±2.7#
PPAR-γ / G3PDH(mRNA)	0.30±0.05	0.31±0.04	0.44±0.02*#

(One-way ANOVA: 擬似に対して、\*P<0.05、賦形剤に対して、#P<0.05)

【0042】

サイトカインの遺伝子発現は、それらのタンパク質レベルと相関する (データは示さず)。組織学的検査により、AM / AM B P - 1は、擬似群のレベルと類似したレベルにまで肺形態を回復させることが示される。本発明者らの結果は、腸管虚血後のAM / AM B P - 1の投与が、肺障害を予防し、炎症性サイトカインをダウンレギュレートし、PPAR - 発現をアップレギュレートさせることを実証する。したがって、AM / AM B P - 1は、虚血腸のエピソード後の急性肺障害を減少させる新規治療であり得る。I / R後のAM / AM B P - 1の有益な効果は、PPAR - のアップレギュレーションにより媒介されると思われる。

【0043】

上記事項を鑑みて、本発明の幾つかの利点が達成され、他の利点が到達されることがわかる。

【0044】

本発明の範囲を逸脱することなく、上記方法及び組成物において様々な変更がなされ得るため、上記説明に含まれ、また添付の図面に示される事柄はすべて、説明的であり、限定的な意味合いではないと解釈されることを意図する。

【0045】

本明細書中で引用した参考文献はすべて、参照されて本明細書の一部とする。本明細書中の参考文献の論述は、著者によりなされた主張を単に概要するものと意図され、任意の参考文献が従来技術を構成することを認めるものではない。出願人らは、引用した参照文

10

20

30

40

50

献の正確性及び適切性の正当性を問う権利を保有する。

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 9/08	(2006.01)	A 6 1 P 9/08
A 6 1 P 1/16	(2006.01)	A 6 1 P 1/16
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00

(74)代理人 100094695  
弁理士 鈴木 憲七

(74)代理人 100111648  
弁理士 梶並 順

(74)代理人 100122437  
弁理士 大宅 一宏

(72)発明者 ワン、ピン  
アメリカ合衆国、ニューヨーク州、ロズリン、リッジ・ドライヴ・イースト 3

審査官 中尾 忍

(56)参考文献 Beltowski,J. et al. , Adrenomedullin-What do we know 10 years since its discovery?, Pol . J. Pharmacol. , 2 0 0 4年, Vol.56, No. , P.5-27  
Yin,H. et al. , Adrenomedullin protects against myocardial apoptosis after ischemia/rep erfusion through activation of Akt-GSK signaling, Hypertension , 2 0 0 4年 1月, Vol. 43, No.1 , P.109-116  
山崎和裕 外7名, "虚血再灌流障害に対する心筋保護", 移植, 日本, 2 0 0 3年1 0月, 第38巻 , 特殊号: 総会臨時号, P.314, P16  
Lien,Y.H.H. et al. , Pathogenesis of renal ischemia/reperfusion injury: lessons from knockout mice , Life Sci. , 2 0 0 3年1 2月1 9日, Vol.74, No.5 , P.543-552

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B名)

A61K 38/00  
A61K 38/22  
BIOSIS(STN)  
CAplus(STN)  
EMBASE(STN)  
MEDLINE(STN)  
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)