

(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2015-500221

(P2015-500221A)

(43) 公表日 平成27年1月5日(2015.1.5)

(51) Int.Cl.

**A61K 45/00** (2006.01)  
**A61P 43/00** (2006.01)  
**A61P 27/02** (2006.01)  
**A61K 45/06** (2006.01)  
**A61K 31/5375** (2006.01)

F 1

A 61 K 45/00  
A 61 P 43/00 1 1 1  
A 61 P 27/02  
A 61 K 45/06  
A 61 K 31/5375

テーマコード(参考)

4 C 084  
4 C 085  
4 C 086

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 53 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-543925 (P2014-543925)  
(86) (22) 出願日 平成24年11月30日 (2012.11.30)  
(85) 翻訳文提出日 平成26年7月30日 (2014.7.30)  
(86) 國際出願番号 PCT/EP2012/074156  
(87) 國際公開番号 WO2013/079696  
(87) 國際公開日 平成25年6月6日 (2013.6.6)  
(31) 優先権主張番号 61/565,707  
(32) 優先日 平成23年12月1日 (2011.12.1)  
(33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 397009934  
グラクソ グループ リミテッド  
G L A X O G R O U P L I M I T E D  
イギリス ミドルセックス ティーダブリ  
ュ8 9ジーエス プレントフォード グ  
レイト ウエスト ロード 980  
(74) 代理人 100117787  
弁理士 勝沼 宏仁  
(74) 代理人 100107342  
弁理士 横田 修孝  
(74) 代理人 100126099  
弁理士 反町 洋  
(74) 代理人 100137497  
弁理士 大森 未知子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】眼疾患の治療および予防方法

## (57) 【要約】

本発明は、CCR3の阻害によって、新生血管型AMDを治療および予防するために有用な組成物および方法を提供する。前記組成物および方法は、限定されるものではないが新生血管型AMDなどの疾患および障害を治療および予防するために有用である。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

被験体において新生血管形成に関連する眼障害または疾患を治療および／または予防する方法であって、新生血管形成に関連する眼疾患もしくは障害を有する、またはそれを発症するリスクのある被験体を特定すること、およびそれを必要とする被験体に、CCR3タンパク質の活性および／または発現を阻害するための薬剤を含んでなる医薬組成物を投与することを含んでなる、方法。

## 【請求項 2】

前記眼疾患または障害が新生血管型AMDである、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 3】

被験体において脈絡膜血管透過性の増大に関連する眼障害または疾患を治療および／または予防する方法であって、新生血管型AMDもしくは脈絡膜血管透過性の増大に関連する障害を有する、またはそれを発症するリスクのある被験体を特定すること、およびそれを必要とする被験体に、CCR3タンパク質の活性および／または発現を阻害するための薬剤を含んでなる医薬組成物を投与することを含んでなる、方法。

## 【請求項 4】

前記眼疾患または障害が乾燥型または地図状萎縮型AMDである、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 5】

AMDを有する、またはAMDのリスクのある被験体において、AMDを治療および／または予防する方法であって、前記被験体に、CCR3タンパク質の活性および／または発現を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物を投与することを含んでなる、方法。

## 【請求項 6】

CCR3タンパク質の阻害がAMDの症状を軽減または停止する、請求項5に記載の方法。

## 【請求項 7】

AMDを有する、またはAMDのリスクのある被験体において、AMDを治療および／または予防する方法であって、前記被験体に、CCR3タンパク質の活性および／または発現を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物を投与すること（ここで、CCR3タンパク質の阻害はAMDの症状を軽減または停止する）、およびさらに前記薬剤と組み合わせて抗VEGF阻害剤を投与することを含んでなる、方法。

## 【請求項 8】

脈絡膜新生血管形成および／または続発する脈絡膜血管透過性の増大を発症するリスクのある被験体において、萎縮性網膜を背景とするCNV病変の発症を予防する方法であって、前記被験体に、CCR3タンパク質の活性および／または発現を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物を投与することを含んでなり、CCR3タンパク質の阻害がこのような病変の発症を予防し、前記薬剤は単独で、または抗VEGF阻害剤と組み合わせて投与することができる、方法。

## 【請求項 9】

萎縮型・非血管型AMDから新生血管型AMDへの移行を予防する方法であって、被験体に、CCR3タンパク質の活性および／または発現を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物を投与することを含んでなり、CCR3タンパク質の阻害がこのような新生血管型AMDへの移行を予防し、前記薬剤は単独で、または抗VEGF阻害剤と組み合わせて投与することができる、方法。

## 【請求項 10】

前記薬剤が4-[[(2s)-4-[(3,4-ジクロロフェニル)メチル]-2-モルホリニル]メチル]-アミノ]カルボニル]-アミノ]メチル]ベンズアミドまたはその薬学上許容される塩である、請求項1、3、5、7、8または9に記載の方法。

## 【請求項 11】

10

20

30

40

50

前記薬剤が N - [ [ ( 2 S ) - 4 - [ ( 3 , 4 - ジフルオロフェニル ) メチル ] - 2 - モルホリニル ] - メチル ] - 3 - [ ( メチルスルホニル ) アミノ ] - ベンゼンアセトアミド、またはその薬学上許容される塩である、請求項 1、3、5、7、8 または 9 に記載の方法。

【請求項 12】

前記被験体が哺乳動物である、請求項 1、3、5、7、8 または 9 に記載の方法。

【請求項 13】

前記被験体がヒトである、請求項 1、3、5、7、8 または 9 に記載の方法。

【請求項 14】

前記被験体に付加的治療薬を投与することをさらに含んでなる、請求項 1、3、5、7 10、8 または 9 に記載の方法。

【請求項 15】

前記付加的治療薬が、パゾパニブ、ルセンティス（商標）、アバスチン（商標）、およびアフリバーセプト（商標）から選択される抗 VEGF 阻害剤である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

CCR3 を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物を投与した後に、前記被験体の視力を測定することによって治療をモニタリングすることをさらに含んでなる、請求項 1、3、5、7、8 または 9 に記載の方法。

【請求項 17】

眼の新生血管型障害の治療および／または予防を目的とする医薬の調製のための、CCR3 タンパク質の発現および／または活性を阻害する薬剤の使用。

【請求項 18】

AMD の治療および／または予防を目的とする医薬の調製のための、CCR3 タンパク質の発現および／または活性を阻害する薬剤の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は一般に、CCR3 のまたは VEGF の発現および／または活性を阻害する薬剤、および VEGF シグナル伝達阻害剤を単独でまたは組み合わせて使用する、眼疾患の治療および／または予防のための方法、より詳しくは、乾燥型（萎縮型）黄斑変性に続発する新生血管型加齢黄斑変性などの眼疾患の治療および／または予防に関する。

【背景技術】

【0002】

新生血管形成（血管新生とも呼ばれる）は、新たな血管を形成するプロセスである。新生血管形成は通常の発生の過程で見られ、また、組織の損傷後の創傷治癒にも重要な役割を果たしている。しかしながら、新生血管形成はまた、例えば、癌、関節リウマチ、アテローム性動脈硬化症、乾癬、ならびに糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫および新生血管型 AMD を含む眼の疾患をはじめとするいくつかの病的状態の重要な原因として関連づけられている。血管漏出および／または新生血管形成に関連する眼疾患は、先進国において、大部分の視力障害および失明の原因となっている（Campochiaro (2004) Expert Opin. Biol. Ther. 4:1395-402）。眼の新生血管形成および血管透過性の増大に関連する眼障害は、視力低下および失明の主因である。

【0003】

加齢黄斑変性（AMD）は、先進国における失明の主要な原因である。AMD には、萎縮型（乾燥型 AMD）と滲出型 AMD の 2 つの主要な臨床像がある。萎縮型 AMD は、網膜色素上皮（RPE）と神経網膜の変性を特徴とする。初期の萎縮型 AMD は、RPE 細胞層下のドルーゼンの形成を伴う。初期の萎縮型 AMD は、RPE が完全に変性し黄斑部に境界鮮明な RPE 萎縮領域を形成する末期疾患「地図状萎縮」へと進行し得る。この形態の疾患では、RPE の変性は黄斑の光受容器の二次的な死滅をもたらし、これらの場合

10

20

30

40

50

、重篤な視力低下に至る。

【0004】

乾燥型または地図状萎縮型AMDに罹患しているAMD患者のおよそ10～20%が続発性の脈絡膜新生血管形成(CNV)を発症する。この疾患の形態は「滲出型AMD」として知られ、最も重篤な視力低下の一部に関連すると思われる。滲出型AMDでは、脈絡膜内で新たな脈絡膜血管(新生血管)が増殖するか、またはブルッフ膜を突き破ってRPEおよび神経網膜内およびその下方へと増殖する場合がある(例えば、Campochiaro et al. (1999) Mol. Vis. 5:34参照)。典型的な場合では、萎縮型AMDは、滲出型の発症前に眼内で発症するが、まれにではあるが、萎縮型の先行発症がなく新生血管型または滲出型が発症する場合がある。両形態の疾患とも、光受容細胞の死滅のために視力低下が起こるが、滲出型AMDでは、CNV過程で形成された漏出性血管(血管透過性の増大)からの体液の漏出および場合によっては内出血もまた視力低下を引き起こす。

10

【0005】

AMDについては、血管内皮増殖因子(VEGF)またはVEGF受容体シグナル伝達経路のいずれかを阻害する様々な分子により、滲出型AMDのいくつかの側面、特に、CNVからの漏出性血管の出血の軽減に取り組むための新規な治療の開発が進められている。

20

【0006】

ケモカインは、白血球の輸送および動員に関与する小タンパク質の大きなファミリーである(総説としては、Luster, New Eng. J. Med., 338, 436-445 (1998)参照)。ケモカインは広範な細胞により放出され、好酸球、好塩基球、好中球、マクロファージ、TおよびBリンパ球をはじめとする種々の細胞種を誘引および活性化する働きをする。ケモカインには、ケモカインタンパク質のアミノ末端近傍の2個の保存されたシステイン残基の間隔に応じて分類される、CXC-( )ケモカインとCC-( )ケモカインという2つの主要なファミリーが存在する。ケモカインは、Gタンパク質共役7回膜貫通型ドメインタンパク質のファミリーに属する特異的な細胞表面受容体に結合する(総説としては、Luster, 1998参照)。ケモカイン受容体が活性化されると、いくつかの応答の中でも、細胞内カルシウムの増加、細胞形状の変化、細胞接着分子の発現の増加、脱顆粒、および細胞移動(走化性)の促進が起こる。

30

【0007】

現在までのところ、9つのメンバーのCCケモカイン受容体が同定されている(CCR-1～9)。本発明に特に重要なのは、主として好酸球上で、さらにまた好塩基球、マスト細胞、およびTh2細胞上でも発現されるCCケモカイン受容体3(CCR-3)である(Luster, 1998)。RANTES、MCP-3、およびMCP-4のようにCCR-3に作用するケモカインは、好酸球を動員および活性化することが知られている。

40

【0008】

ヒト微小血管内皮細胞はCCR3を発現すること(Salcedo et al., 2001)、およびCCR3受容体で活性なアゴニストは血管内皮に走化性物質として働き得ることがこれまでに示されている。このプロセスは、ニワトリ漿尿膜および大動脈輪の両方の血管内皮細胞に、この走化性作用を介して血管新生の促進をもたらし得る(Salcedo et al., 2001)。

【0009】

これらの所見は次にAMDの研究へと拡張され(Takeda et al., 2009)、抗CCR3抗体、抗CCR3アゴニスト抗体、またはCCR3の薬理学的阻害剤の硝子体内注射が、マウスにおけるレーザー誘導後のCNV程度の限定に有効であったことを示した。これらのデータは、CCR3または特異的CCR3アゴニスト遺伝子のいずれかに同型接合性の遺伝子欠損を有するレーザー処理マウスにおいて確認された。他のデータもまた、CCR3アゴニストであるCCL11およびCCL24がCNVのレーザー誘導の後に誘導されたことを示した(Takeda et al., 2009)。

【0010】

これらの研究を、好酸球または肥満細胞(すなわちCCR3の発現に最も関連のある細

50

胞)の産生に欠陥があるマウスに拡張したところ、これらのマウスはレーザー光凝固に応答してCNVを生じる能力を保持し、この疾患の遮断において、硝子体内CCR3拮抗作用に対してやはり感受性があったことが実証された。これらの研究は、レーザー誘導性のCNVの発生の限定におけるCCR3の作用機序が全身の好酸球または肥満細胞に対する作用によるものではないことを強く示唆する。これらのモデルにおいて硝子体内抗CCR3療法を用いて疾患を管理したという事実は、眼のより限局的な効果の裏付けともなる。抗CCR3療法がレーザー誘導性のCNV病変へのマクロファージまたは好中球の動員を限定しないことを示唆する研究もある(Takeda et al., 2009)。

#### 【0011】

現在、さらなる独立したいくつかの研究がCNV AMDのマウスモデルにおけるこれらの知見を確認しており、具体的には、YM-344031の経口投与がレーザー誘導性のCNV AMDモデルに効果的であった(Mizutani et al., 2011)。しかしながら、CCR3アンタゴニストが膜下腔に投与された場合、このような薬剤はマトリゲルの併用投与により誘導される血管新生を限定することができないが、抗VEGF治療薬はこのモデルで効果的であった(Li et al., 2010)。

10

#### 【0012】

他の研究において、抗CCR3抗体を用いてCCR3を中和しても、レーザーに応答して眼で生成されたVEGFの量は変化しなかったが、このことは、CNV AMDの制御においてCCR3とVEGFの作用が非依存的であり得ることを示唆している。同様に、抗VEGF mAbを中和する硝子体内注射は、脈絡膜内皮細胞上に存在するCCR3の発現に効果がなかったが、このことはさらに、齧歯類におけるCNVの制御における非依存的作用というこの仮説を裏付ける(Takeda et al., 2009)。

20

#### 【0013】

角膜の病的血管新生を調べる研究でも、損傷/プロスタグランジンE2誘導性血管新生はVEGFに依存しなかったが、エオタキシンとは相関があったという所見が得られたが、このこともまた、エオタキシン/CCR3軸が血管新生の制御においてVEGFに非依存的な機構であり得ることを示唆している(Liclican et al., 2010)。

#### 【0014】

抗VEGF治療薬は、ヒトおよび動物の両モデルで、血管新生に対する直接的作用というよりも、網膜に進入した新生脈絡膜血管の血管透過性を軽減することによってCNVを制御することが一般に認知されている。ヒト冠動内皮細胞の培養系において、*in vitro*培養物の透過性がCCR3のアゴニスト(エオタキシン)により増強され得ることを示唆した研究もあり(Jamaluddin et al., 2009)、これはCCR3拮抗作用が一般に眼の血管の血管透過性に影響を及ぼす可能性を示している。

30

#### 【0015】

Takeda et al., 2009による初期の研究では、CCR3はヒトCNV網膜では発現されたが、CNV疾患への進行の臨床エビデンスがない萎縮型AMDのみを持った網膜では発現されなかったことが示された。この発現は脈絡膜血管系のマーカーであるCD31(PECAM-1)と共に局在し、網膜線維症および黒色腫の両方では染色が存在しないことにより、CNV AMDにおける血管に対する特異性が確認された(Takeda et al., 2009)。天然CCR3アゴニストであるエオタキシン-1(CCL11)、エオタキシン-2(CCL24)およびエオタキシン-3(CCL26)もまた総て、間質で発現され、外科的に摘出されたヒト脈絡膜新生血管型AMD組織において血管と共に局在することが判明した(Takeda et al., 2009)。マウスモデルと同様のモデルにおいて、これまでに、好酸球または肥満細胞がヒトAMDに関連があるという証拠はなく、実際に、ヒトCNV AMD病変においてこのような細胞の位置決定する試みでも有意な知見は得られなかった(Takeda et al., 2009)。さらに、エオタキシンは、ヒトAMDの可能性のある血清バイオマーカーと同定されており(Mo et al. 2010)、I型およびII型AREDS患者ならびに萎縮型AMDと有意に関連しているが( $p < -0.02 \sim p < 0.005$ )、興味深いことにCNV AMDには関連がないことが判明したものとの、この同じ研究で死後のヒトの眼

40

50

を検査したところ、初期 A M D 、萎縮型 A M D および C N V A M D との相関が示唆され、 C N V A M D の新生血管型内皮には最も強い染色が伴っていた。エオタキシンはまた、未熟児網膜症患者からの硝子体サンプルの比較において、血管活性疾患および血管不活性疾患と有意に関連することも判明し、網膜循環における血管新生の促進への C C R 3 の関与の可能性が示唆された (Sato et al. , 2009) 。

#### 【 0 0 1 6 】

従って、これまでに、 A M D は機構的に血管新生と血管透過性という 2 つの異なる無関連の経路から発症することが証明されている。 A M D は抗 V E G F 阻害剤で治療可能であることが示されている (W O 2 0 0 7 / 0 6 4 7 5 2 号) 。また、 C C R 3 アンタゴニストによる硝子体内処置が C N V 病変の大きさに影響を及ぼし得ることも示されている (Takeda et al. , 2009) 。

10

#### 【 発明の概要 】

#### 【 0 0 1 7 】

驚くべきことに、本発明者らは、網膜 V E G F の異所産生により誘導されるまたは高压酸素処置により誘導された新生網膜血管とは違って、特に脈絡膜新生血管に対する血管透過性および血管新生の軽減に効果を有し、従って、新生血管型 A M D に関連する脈絡膜血管透過性の特異的治療 / 予防 ( その疾患および / またはその症状の進行の緩徐化を含む ) に有用であることを見出した。

#### 【 0 0 1 8 】

本発明者らは、この疾患の血管新生経路と透過性経路の両方の遮断は *i n v i v o* において機能的奏功をもたらすことも見出した。よって、抗 V E G F 阻害剤と C C R 3 阻害剤の組合せによる処置は、新生血管型 A M D の有効な併用治療および / または予防となり、両薬剤は非依存的に病変増長と血管透過性に作用し、相加作用をもたらす。

20

#### 【 0 0 1 9 】

依然として、眼の新生血管型障害、特に、新生血管型 A M D を治療する新規方法の必要がある。本発明はこのような必要に対するものである。

#### 【 0 0 2 0 】

#### 発明の概要

本発明は、 C C R 3 の阻害、例えば、 C C R 3 タンパク質の発現および / または活性の阻害による眼疾患および障害の治療および / または予防のための方法に関する。特定の実施形態では、本発明の方法による治療および / または予防に従う眼疾患は、新生血管形成および血管透過性の増大と関連する。具体的には、このような疾患には、例えば、限定されるものではないが、加齢黄斑変性などが含まれる。

30

#### 【 0 0 2 1 】

一実施形態では、本明細書に開示される方法は、眼疾患の治療および / または予防を必要とする被験体に、 C C R 3 を阻害する薬剤、例えば、 C C R 3 の発現および / または C C R 3 タンパク質の活性を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物を投与することを含んでなる。本発明は前記疾患の特定の病期 ( 例えば、初期または進行性 ) に限定されることを意図しない。

#### 【 0 0 2 2 】

いくつかの実施形態では、本発明は、関連の酵素活性および C C R 3 活性化の総ての下流エフェクターを遮断することにより C C R 3 を阻害する方法を提供する。

40

#### 【 0 0 2 3 】

いくつかの実施形態では、脈絡膜新生血管透過性の予防および / または軽減は、新生血管型 A M D に関連する症状の予防および / または軽減をもたらす ( すなわち、その疾患の進行を予防する ) 。

#### 【 0 0 2 4 】

別の実施形態では、本発明は、 A M D を有する、または A M D のリスクのある被験体において A M D を治療および / または予防する方法であって、前記被験体に、 C C R 3 タンパク質の活性および / または発現を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物を投与すること

50

を含んでなる方法を提供し、ここで、CCR3タンパク質の阻害はAMDの症状の進行を軽減するか、またはAMDの症状を停止する。

【0025】

別の実施形態では、本発明は、AMDを有する、またはAMDのリスクのある被験体を治療および/または予防する方法であって、前記被験体に、CCR3タンパク質の活性および/または発現を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物を投与すること(ここで、CCR3タンパク質の阻害はAMDの症状の進行を軽減するか、またはAMDの症状を停止する)、およびさらに前記薬剤と組み合わせて抗VEGF阻害剤またはVEGFシグナル伝達阻害剤を投与することを含んでなる方法を提供する。

【0026】

別の実施形態では、本発明は、乾燥型または地図状萎縮型AMDを有する被験体において、萎縮性網膜を背景とするCNV病変の発症を予防する方法であって、前記被験体に、CCR3タンパク質の活性および/または発現を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物を投与することを含んでなる方法を提供し、ここで、CCR3タンパク質の阻害はこのような病変の発症を予防し、前記薬剤は単独で、または抗VEGF阻害剤と組み合わせて投与することができる。

【0027】

別の実施形態では、本発明は、萎縮型および非血管型AMDから新生血管型AMDへの移行/進行を予防する方法であって、前記被験体に、CCR3タンパク質の活性および/または発現を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物を投与することを含んでなる方法を提供し、ここで、CCR3タンパク質の阻害はこのような新生血管型AMDへの移行を予防し、前記薬剤は単独で、または抗VEGF阻害剤と組み合わせて投与することができる。

【0028】

いくつかの実施形態では、CCR3を阻害する薬剤は、CCR3の発現を阻害する、例えば、CCR3タンパク質を生産するためにCCR3 RNAの翻訳を阻害することができる。別の実施形態では、CCR3を阻害する薬剤は、CCR3タンパク質活性を阻害することができる。いずれの薬剤も、本明細書に開示される方法に使用するために包含される。いくつかの実施形態では、前記薬剤は、小分子、核酸、核酸類似体、タンパク質、抗体、ペプチド、アプタマーまたは変異体もしくはそれらの断片であり得る。いくつかの実施形態では、前記薬剤は、核酸薬剤、例えば、RNAi薬剤、例えば、siRNA、shRNA、miRNA、dsRNAもしくはリボザイムまたはそれらの変異体である。

【0029】

いくつかの実施形態では、CCR3のタンパク質活性を阻害する薬剤は、小分子、例えば、限定されるものではないが、CCR3タンパク質の可逆的または不可逆的阻害剤である小分子である。いくつかの実施形態では、このような小分子は、モルホリン-アセトアミドに基づく化合物である。いくつかの実施形態では、CCR3の小分子阻害剤は、例えば、限定されるものではないが、4-[4-[4-[4-(2S)-4-[3,4-ジクロロフェニル]メチル]-2-モルホリニル]メチル]-アミノ]カルボニル]-アミノ]メチル]ベンズアミドまたはその薬学上許容される塩(CCR3阻害剤'994)である。米国特許第7,157,457号明細書および同第7,531,651号明細書参照。

【0030】

別の実施形態では、このような小分子は、モルホリン尿素に基づく化合物である。いくつかの実施形態では、CCR3の小分子阻害剤は、例えば、限定されるものではないが、N-[4-(2S)-4-[3,4-ジフルオロフェニル]メチル]-2-モルホリニル]-メチル]-3-[メチルスルホニル]アミノ]-ベンゼンアセトアミドまたはその薬学上許容される塩(CCR3阻害剤'575)である。米国特許第7,101,882号明細書参照。

【0031】

被験体にCCR3の阻害剤を含んでなる医薬組成物が投与されるいくつかの実施形態では、本方法は、被験体に付加的治療薬、例えば、限定されるものではないが、AMDなど

10

20

30

40

50

を含む眼疾患の治療に使用される治療薬を投与することをさらに含み得る。眼疾患を治療するための治療薬の投与は、特定の手法、例えば、限定されるものではないが、網膜局部レーザー光凝固、汎網膜光凝固、トリアムシノロンなどの硝子体内投与用ステロイド、フルオシノロンアセトニドを含有する硝子体内ステロイドインプラント、ならびにパゾパニブ、ルセンティス（商標）、アバスチン（商標）およびアフリバーセプト（商標）などの硝子体内投与用抗VEGF治療薬の適用を含み得ると理解される。

【0032】

いくつかの実施形態では、新生血管型眼疾患または障害の治療および／または予防のための本明細書に開示される方法は、被験体、例えば、哺乳動物被験体に適用可能である。いくつかの実施形態では、CCR3タンパク質の活性または発現を阻害する薬剤が投与される被験体はヒトである。

10

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図1】図1はGW766994による全身処置の後の、蛍光血管造影によるC57B16マウスにおけるCNVの群定量を示す。上のパネルは、95%信頼限界に対応した一眼当たりの平均CNV病変サイズを示す。下のパネルは、CNVのレーザー誘導から1週間後および2週間後にCCR3アンタゴニスト4-[[[[[[[2s)-4-[ (3,4-ジクロロフェニル)メチル]-2-モルホリニル]メチル]-アミノ]カルボニル]-アミノ]メチル]ベンズアミド（CCR3阻害剤‘994’（2～30mg/kg QD po）およびスペクトル選択的キナーゼ阻害剤パゾパニブ（5-[4-[ (2,3-ジメチル-2h-インダゾール-6-イル)メチルアミノ]-2-ピリミジニル]アミノ]-2-メチルベンゼンスルホンアミド）（20mg/kg QD po）によりマウスを処置した後の、マウス網膜の直接蛍光血管造影により評価した眼底検査画像の例を示す。

20

【図2】図2はCNVのレーザー誘導から1週間後および2週間後にCCR3阻害剤‘994’（8～30mg/kg QDおよび8mg/kg BID po）およびスペクトル選択的キナーゼ阻害剤パゾパニブ（20mg/kg QD po）によりマウスを処置した後の、蛍光血管造影によるC57B16マウスにおける95%信頼限界に対応した平均CNVの群定量を示す。

30

【図3】図3はCCR3阻害剤‘994’による全身処置後の蛍光血管造影によるJR5558マウスにおける平均CNVの群定量を示す。上のパネルは、95%信頼限界に対応した一眼当たりの総平均CNV病変面積を示す。中央のパネルは、95%信頼限界に対応した一眼当たりのCNV病変の総数を示し、下のパネルは、CCR3阻害剤‘994’（2～30mg/kg QD）でマウスを処置した後の、マウス網膜の直接蛍光血管造影図を示す。化合物は、P14～P26の12日間投与した。

【図4】図4は8mg/kg CCR3阻害剤‘994’ BIDによる全身処置後の、蛍光血管造影によるJR5558マウスにおけるCNVの群定量を示す。上のパネルは、95%信頼限界に対応した一眼当たりの総平均CNV病変面積を示す。中央のパネルは、95%信頼限界に対応した一眼当たりのCNV病変の総数を示し、下のパネルは、CCR3阻害剤‘994’（8mg/kg BID）によりマウスを処置した後の、マウス網膜の直接蛍光血管造影図を示す。化合物は、P14～P26の12日間投与した。

40

【図5】図5はCCR3阻害剤‘994’（8～30mg/kg QD）によりマウスを処置した後の、イソレクチンB4染色によるJR5558の脈絡膜（網膜除去）における血管CNVの組織化学的検出を示す。化合物は、P14～P26の12日間投与した。

【図6】図6はCCR3阻害剤‘994’（8～30mg/kg QD）によりマウスを処置した後の、イソレクチンB4染色によるJR5558の脈絡膜（網膜除去）における血管CNVの組織化学的検出を示す。化合物は、P14～P26の12日間投与した。

【図7】図7は両眼に5μlの1～10mg/ml CCR3阻害剤‘994’ BIDを投与した場合の蛍光血管造影局所処置によるJR5558マウスにおけるCNVの群定量、および8mg/kg CCR3阻害剤‘994’ i.p. BIDを全身投与した場合と

50

の比較を示す。上のパネルは、95%信頼限界に対応した一眼当たりの総平均CNV病変面積を示す。下のパネルは、局所または全身のいずれかで適用するCCR3阻害剤'994(8mg/kg i.p.BID)によりマウスを処置した後の、95%信頼限界に対応した網膜当たりのCNV病変の総数を示す。化合物は、P14~P26の12日間投与した。

【図8】図8はビヒクル、100μg 抗VEGFR2 i.p. QD、30mg/kg CCR3阻害剤'994 i.p. QD、100μg 抗VEGFR2 i.p. QDと30mg/kg CCR3阻害剤'994 i.p. QD、および50μg 抗VEGFR2 i.p. QDと30mg/kg CCR3阻害剤'994 i.p. QDのいずれかを全身投与した後の、蛍光血管造影によるJR5558マウスにおけるCNVの群定量を示す。上のパネルは、95%信頼限界に対応した網膜当たりの総CNV病変面積を示す。下のパネルは、95%信頼限界に対応した網膜当たりのCNV病変の総数を示す。CCR3阻害剤'994は、P14~P26の12日間投与した。抗VEGFR2は、P14から6日間、さらにP19から5日間投与した。

【図9】図9はビヒクル、100μg 抗VEGFR2 i.p. QD、30mg/kg CCR3阻害剤'994 i.p. QD、または100μg 抗VEGFR2 i.p. QDと30mg/kg GW766994 i.p. QDのいずれかを全身投与した後の、蛍光血管造影によるJR5558マウスにおける個々のCNV病変の血管透過性の群定量を示す。CCR3阻害剤'994および抗VEGFR2ならびに組合せをP24~P26の間の2日間投与した。

【図10】図10はレーザー処置の1日前にビヒクル、20mg/kg GW782415X((S)-1-((4-(3,4-ジクロロベンジル)モルホリン-2-イル)メチル)-3-((2-メチル-2H-テトラゾール-5-イル)メチル)尿素)(以下、「415化合物」) po TIDまたは3mg/kg TID poを16、24または30日間投与した後にレーザー光凝固によりCNV誘導した後の、個々のカニクイザルの右眼および左眼のIV期病変の分析を示す。

【図11】図11はカニクイザル全血における好酸球形状変化に対するエオタキシン-1の濃度反応曲線を示し、10nMおよび100nMの「415化合物のプレインキュベーションの効果を付表1に示す。Schind分析によれば、カニクイザル全血におけるエオタキシン-1により刺激された好酸球の形状変化に対する「415化合物の平均pA2値は7.8と決定された。

【図12】図12はC57BL6マウスを高压酸素に曝した後(酸素誘導性網膜症モデル)の、網膜血管新生(新生血管形成)の群定量の効果および8mg/kg i.p. BIDの効果を示す。

【図13】図13はC57BL6マウスを高压酸素に曝した後(酸素誘導性網膜症モデル)の、網膜血管新生(新生血管形成)群定量の効果、ならびに一眼へのBIDでの10mg/ml局所投与およびSU4312(5μg、5日ごと、眼周囲)の効果を示す。

#### 【発明の具体的説明】

##### 【0034】

本発明者らは、CCR3阻害剤が、眼疾患、特に、新生血管型AMDに関連する血管透過性の進行を含む治療および/または予防に使用可能であることを見出した。

##### 【0035】

本発明者らは、CCR3阻害剤が、眼疾患、特に、AMDに関連する血管透過性の進行を含む、治療および/または予防のための抗VEGF治療薬およびVEGFシグナル伝達阻害剤と併用可能であることを見出した。

##### 【0036】

本発明者らはまた、CCR3阻害剤が抗VEGF阻害剤と組み合わせて、眼疾患、特に、AMDに関連する脈絡膜新生血管形成(進行を含む)の治療および/または予防に特異的に使用可能であることを見出した。高压酸素に曝した後に新生血管形成を受けている網膜血管(酸素誘導性網膜症)に対してはCCR3阻害剤の同様の効果は実証できること

10

20

30

40

50

から、これらの効果は、脈絡膜に特異的であると思われる。

【0037】

本発明者らは、CCR3阻害剤が、眼疾患、特に、萎縮性網膜を背景とする、例えば、乾燥型または地図状萎縮型(geographic trophy)関連AMDに罹患している患者における、脈絡膜新生血管形成(進行を含む)の治療および/または予防に使用可能であることを見出した。

【0038】

本発明者らは、CCR3阻害剤が、萎縮性網膜を背景とする、例えば、乾燥型または地図状萎縮型(geographic trophy)関連AMDに罹患している患者において、眼疾患、特に、脈絡膜新生血管形成(進行を含む)の治療および/または予防に、抗VEGF治療薬およびVEGFシグナル伝達阻害剤と併用可能であることを見出した。

10

【0039】

定義

便宜のため、本出願全体(明細書、実施例、および添付の特許請求の範囲を含む)に用いられている特定の用語を以下にまとめる。特に断りのない限り、本明細書に使用される総ての技術用語および科学用語は、本発明が属する分野の当業者が共通に理解しているものと同じ意味を有する。

【0040】

用語「疾患」または「障害」は本明細書では互換的に使用され、器官、機能の性能を中断もしくは妨害する、および/または罹患者もしくは人と接触した者に不快、機能不全、苦痛、またはさらには死などの症状を引き起こす身体の、またはいくつかの器官の状態の任意の変化を意味する。疾患または障害はまた、不調(distemper)、病的状態(ailing)、病気(ailment)、病気(malady)、障害、病気(sickness)、病気(illness)、病訴(complaint)または詐病(affectation)にも関し得る。

20

【0041】

用語「脈絡膜血管透過性」または「血管透過性」は一般に当業者により「漏出性血管」と呼ばれている。これらの用語は本明細書では、脈絡膜血管系の障害および血管透過性の増大を意味して互換的に使用される。

【0042】

用語「薬剤」は、通常には存在しないか、またはそのレベルでは存在しない任意の実体が細胞内に投与されることを意味する。薬剤は、化学物質；小分子；核酸配列；核酸類似体；タンパク質；ペプチド；アプタマー；抗体；またはそれらの断片を含んでなる群から選択され得る。核酸配列はRNAまたはDNAであり得、一本鎖または二本鎖であり得、目的タンパク質をコードする核酸、オリゴヌクレオチド、核酸類似体、例えば、ペプチド-核酸(PNA)、偽相補的PNA(pseudo-complementary PNA)(p c - PNA)、ロックド核酸(locked nucleic acid)(LNA)などを含んでなる群から選択され得る。このような核酸配列としては、例えば、限定されるものではないが、例えば、転写レプレッサー、アンチセンス分子、リボザイム、小阻害性核酸配列、例えば、限定されるものではないが、RNAi、shRNAi、siRNA、マイクロRNAi(mRNAi)、アンチセンスオリゴヌクレオチドなどとして働くタンパク質をコードする核酸配列が含まれる。タンパク質および/またはペプチドまたはその断片は、例えば、限定されるものではないが、変異型タンパク質；治療用タンパク質および末端切断型タンパク質などの、任意の目的タンパク質であり得、前記タンパク質は通常には細胞に存在しないか、または低レベルでしか発現されない。タンパク質はまた、変異型タンパク質、遺伝的に操作されたタンパク質、ペプチド、合成ペプチド、組換えタンパク質、キメラタンパク質、抗体、ミディボディー、ミニボディー、トリアボディー、ヒト化タンパク質、ヒト化抗体、キメラ抗体、修飾タンパク質およびそれらの断片を含んでなる群から選択され得る。あるいは、この薬剤は、核酸配列の細胞への導入およびその転写による細胞内でのCCR3の核酸および/またはタンパク質阻害剤の產生の結果として細胞内に存在することができる。いくつかの実施形態では、この薬剤は、限定されるものではないが合成および天然非タンパク質性実

30

40

50

体を含む、任意の化学物質、実体または部分である。特定の実施形態では、この薬剤は、化学部分を有する小分子である。例えば、化学部分は、マクロライド、レプトマイシンおよび関連の天然物またはそれらの類似体を含む、非置換もしくは置換アルキル、芳香族、またはヘテロシクリル部分を含んだ。薬剤は所望の活性および/または特性を有することを知ることができるか、または多様な化合物のライブラリーから選択することができる。

#### 【0043】

本明細書で使用される用語「阻害する」は、CCR3タンパク質またはその変異体もしくは同族体の発現または活性が所望の効果をもたらすのに十分な程度および/または時間に低減されることを意味し、例えば、CCR3タンパク質の阻害は、血管透過性および/または脈絡膜新生血管形成などの症状を軽減または停止する。この活性の低減は、その触媒活性を含むCCR3の1以上の特徴に影響を及ぼすことによるか、またはCCR3の補因子を阻害することによるか、または転帰が眼の障害を治療または予防するというものであるような活性の程度でCCR3に結合することによるものであり得る。特に、CCR3の阻害は、CCR3阻害に関するアッセイを用いて、例えば、限定されるものではないが、本明細書に開示されるようなCCR3タンパク質に関するバイオアッセイを使用することによって測定することができる。

10

#### 【0044】

用語「患者」、「被験体」および「個体」は、本明細書では互換的に使用され、予防的処置を含む処置が与えられる動物、特にヒトを意味する。本発明で使用される用語「被験体」は、ヒトおよび非ヒト動物を意味する。用語「非ヒト動物」および「非ヒト哺乳動物」は、本明細書では互換的に使用され、総ての脊椎動物、例えば、哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類（特に、高等霊長類）、ヒツジ、イヌ、齧歯類（例えば、マウスまたはラット）、モルモット、ヤギ、ブタ、ネコ、ウサギ、ウシ、および非哺乳動物、例えば、ニワトリ、両生類、爬虫類などを含む。一実施形態では、被験体はヒトである。別の実施形態では、被験体は、実験動物または疾患モデルとしての動物代替である。

20

#### 【0045】

本発明で使用する場合、用語「治療する」は、AMDに関連する病態、疾患または障害の少なくとも1つの有害な作用または症状の軽減、緩和または予防（その進行の予防を含む）を含む。AMDに関連する病態、疾患または障害の少なくとも1つの有害な作用または症状の進行の予防は、限定されるものではないが、脈絡膜新生血管形成および/もしくは続発性の脈絡膜血管透過性の増大を発症するリスクのある被験体における萎縮性網膜を背景とするCNV病変の発症の予防；ならびに/または萎縮型・非血管型AMDから新生血管型AMDへの移行の予防を含む。治療のプラスの転帰を測定するための方法としては、限定されるものではないが、光干渉断層撮影法により測定される網膜下浮腫の軽減もしくは維持、視力の低下の軽減もしくは視力の維持、または最良矯正視力により評価される視力の確保が含まれる。血管透過性および脈絡膜新生血管形成の増強は、眼底蛍光血管造影によっても測定される。

30

#### 【0046】

本明細書で使用される用語「有効量」は、疾患または障害の少なくとも1つの症状、例えば、AMDの一症状または障害を軽減、停止または予防するための、医薬組成物の治療薬の量を意味する。例えば、本明細書に開示される方法を用いた有効量は、疾患または障害の症状の軽減もしくは予防、例えば、OCTにより測定されるAMDの完全もしくは部分消散および/もしくは維持、または最良矯正視力における5 letters (EDTRS視力検査表により測定)を超える上昇および/もしくは維持、または眼底蛍光血管造影により測定される新生血管形成または新生血管型透過性サイズの縮小に十分な量と考えられる。本明細書で使用される有効量はまた、黄斑浮腫の発症、透過性の増大、CNV病変サイズおよび関連の視力低下の予防または遅延に十分な量も含む。本明細書で使用される有効量はまた、疾患の症状の発症の予防もしくは遅延、疾患の症状の経過の変更（例えば、限定されるものではないが、疾患の症状の進行の緩徐化）、または疾患の症状の逆転に十分な量も含むと考えられる。

40

50

## 【0047】

本明細書で使用される場合、脈絡膜新生血管形成および／または続発する脈絡膜血管透過性の増大を発症する「リスクのある被験体」においてC N V病変の発症を予防するまたは予防という用語は、例えば、乾燥型または地図状萎縮型A M Dに罹患している患者に対して言及するものである。

## 【0048】

本明細書で使用される場合、用語「投与する」および「導入する」は、互換的に使用され、本明細書に開示されるC C R 3を阻害する薬剤を、所望の部位に前記薬剤の少なくとも部分的局在をもたらす方法または経路により、被験体内に置くことを意味する。本発明の化合物は、被験体に有効な治療をもたらすいずれの適当な経路によって投与することもできる。

10

## 【0049】

冠詞「1つの(a)」および「1つの(an)」は、本明細書では、1または1を超える(すなわち、少なくとも1つの)この冠詞の文法的目的語を意味して使用される。例を挙げれば、「1つの(an)要素」は、1つの要素または1を超える要素を意味する。

## 【0050】

C C R 3を阻害する薬剤

いくつかの実施形態では、本発明は、C C R 3の阻害に関する。いくつかの実施形態では、阻害は、C C R 3をコードする核酸転写産物の阻害、例えば、メッセンジャーR N A(m R N A)の阻害である。別の実施形態では、C C R 3の阻害は、C C R 3の遺伝子産物、例えば、C C R 3のポリペプチドもしくはタンパク質、またはそれらのアイソフォームの発現の阻害および／または活性の阻害である。本明細書で使用される場合、用語「遺伝子産物」は、遺伝子から転写されたR N A、または遺伝子によりコードされている、もしくはR N Aから翻訳されたポリペプチドを意味する。

20

## 【0051】

いくつかの実施形態では、C C R 3の阻害は薬剤によるものである。例えば、限定されるものではないが、核酸、核酸類似体、ペプチド、ファージ、ファージミド、ポリペプチド、ペプチド模倣薬、リボソーム、アプタマー、抗体、小型もしくは大型の有機もしくは無機分子、またはそれらの任意の組合せなどいずれの薬剤を使用することもできる。いくつかの実施形態では、本発明の方法において有用な薬剤としては、C C R 3発現の阻害剤、例えば、C C R 3をコードするm R N Aの阻害剤として機能する薬剤が含まれる。

30

## 【0052】

本明細書に開示される方法においてC C R 3の阻害剤として有用な他の薬剤は、化学物質、小分子、大分子または実体または部分であり得、限定されるものではないが、合成および天然非タンパク質性実体を含む。特定の実施形態では、この薬剤は、本明細書に開示される化学部分を有する小分子である。

## 【0053】

小分子

いくつかの実施形態では、C C R 3を阻害する薬剤は小分子である。C C R 3の不可逆的または可逆的阻害剤が本発明の方法において使用可能である。

40

## 【0054】

ヒトにおいて有効なC C R 3阻害剤は当業者により一般に知られており、評価中、例えば、前臨床評価および臨床評価(第I I相臨床試験を含む)中のものを含む。いくつかの特許出願がSmithKline Beechamとその後継のGlaxoSmithKlineにより出願および公開されている。C C R 3の不可逆的阻害剤は、具体的に、引用することによりその全内容が本明細書の一部とされ、とりわけ、C C R 3の阻害剤である様々な系統のモルホリン-アセトアミドおよびモルホリン尿素化合物を開示している、WO 2002/26723 A 1号、WO 03/082293号、米国特許第7,101,882号明細書、同第7,157,457号明細書、同第7,531,651号明細書および同第7,560,548号明細書に開示されている。

50

## 【0055】

ヒトにおいて有効なV E G F治療薬は当業者により一般に知られており、評価中、例えば、前臨床評価および臨床評価（第I I相臨床試験を含む）中のもの、ならびにパゾパニブ、ルセンティス（商標）、アバスチン（商標）、およびアフリバーセプト（商標）を含む販売中のものを含む。

## 【0056】

化合物4 - [ [ [ [ (2s) - 4 - [ (3, 4 -ジクロロフェニル)メチル] - 2 - モルホリニル]メチル] - アミノ]カルボニル] - アミノ]メチル]ベンズアミド（CCR3阻害剤'994）、またはその薬学上許容される塩もしくは溶媒和物は、特に有効なCCR3阻害剤であり、本発明において特に有用である。

10

## 【0057】

化合物N - [ [ (2S) - 4 - [ (3, 4 -ジフルオロフェニル)メチル] - 2 - モルホリニル] - メチル] - 3 - [ (メチルスルホニル)アミノ] - ベンゼンアセトアミド（CCR3阻害剤'575）またはその薬学上許容される塩もしくは溶媒和物は、特に有効なCCR3阻害剤であり、本発明において特に有用である。

20

## 【0058】

本明細書に開示される方法において有用な他のCCR3阻害剤は、公開特許および出願WO2002/26723A1号、WO03/082293号、米国特許第7,101,882号明細書、同第7,157,457号明細書、同第7,531,651号明細書および同第7,560,548号明細書に記載されており、それらに記載されているCCR3阻害アッセイを用いて発見することができる。

20

## 【0059】

上記段落に述べた特許出願は総て、引用することにより本明細書の一部とされる。これらの文献に開示されている化合物のいずれかまたは総ては、AMDの予防または治療に有用であると考えられる。実施例に例示されているような本明細書に記載のモデルは、開示されている化合物またはCCR3のその他の阻害剤、例えば、抗体、またはRNAiのいずれが、本明細書で特許請求される眼疾患または障害の治療または予防に有効であるか決定するために当業者が使用することができる。

## 【実施例】

## 【0060】

30

本明細書に示される実施例は、CCR3の阻害による眼の新生血管型障害などの予防および/または治療のための方法および組成物に関するものである。本出願を通じて、様々な刊行物が参照される。それらの刊行物およびそれらの刊行物内に引用されている参考文献の総ての開示はそれらの全内容が、本発明が属する技術の現状をより詳しく記載するために、引用することにより本明細書の一部とされる。以下の実施例は、本発明の特許請求の範囲を限定することを意図せず、特定の実施形態の例示を意図するものである。これらの例示されている方法における、当業者に思いつくいずれの変形形態も本発明の範囲内にあるものとする。

## 【0061】

いくつかの実施形態では、CCR3を阻害する薬剤は、本明細書に開示されている動物モデルにおいて、レーザー誘導性CNVを軽減する効果について評価することができる。

40

## 【0062】

いくつかの実施形態では、CCR3を阻害する薬剤は、動物モデル、例えば、本明細書に開示されている、カニクイザルにおけるレーザー誘導性脈絡膜新生血管型AMD研究で評価することができる。

## 【0063】

いくつかの実施形態では、CCR3を阻害する薬剤は、単独でまたは抗V E G F阻害剤と組み合わせて、動物モデルにおいて、例えば、CNV AMDのJ R 5558自発的モデルにおけるCNVの発症の限定を評価することができる。

## 【0064】

50

実施例 1

方法：

C 5 7 / B L 6 マウスにおけるレーザー誘導性 C N V

12週齢の成体雌C 5 7 B L / 6 マウスを用いて、レーザー誘導性 C N V モデルを作出した。マウスを腹腔内塩酸ケタミン ( 2 5 m g / k g ) およびキシラジン ( 1 0 m g / k g ) により麻酔し、それらの局所的トロピカミド 1 % により散瞳させた。レーザー光凝固は、直視下で、コンタクトレンズとしてハンドヘルドカバースライドを用い、ダイオードレーザー ( 6 8 0 n m ; 電力 2 1 0 m W 、持続時間 1 0 0 m s 、スポット径 1 0 0 m ) にて行い、両眼の網膜後極部の 2 時、 1 0 時、および 6 時の位置に配置した。これらのレーザー設定は一貫して、レーザーにより誘導されるブルッフ膜の破裂および C N V 誘導の成功と強い相関を示す網膜下気泡を発生させる。気泡が生成される病変のみを分析に含めた。C N V 誘導の 1 週間後および 2 週間後に、 K o w a G e n e s i s 小動物眼底カメラを用いてフルオレセイン血管造影を行った。C N V 病変のサイズは、初期相 ( フルオレセイン注射の 9 0 秒後 ) の病変当たりの過蛍光の平均面積のデジタル画像解析によって定量した。局所的トロピカミド 1 % により散瞳させ、フルオレセインナトリウム 2 % を腹腔内注射 ( 0 . 2 m l ) により投与した。レーザーエネルギーの伝送または血管造影に影響を及ぼし得る顕著な白内障または角膜症が存在した場合にはその眼は除外した。

10

## 【 0 0 6 5 】

J R 5 5 5 8 の C N V および分析

J R 5 5 5 8 マウスは自発的に C N V ( 萎縮型を背景とする ) を発症し、出生からおよそ 1 2 日後に最初に C N V 病変が出現する。J R 5 5 5 8 マウスの腹膜内に様々な量のラット抗マウス V E G F 受容体 ( V E G F R ) - 2 阻止抗体 ( M A B 4 4 3 1 ; R & D systems ) または精製ラット非免疫アイソタイプ一致対照 I g G 2 抗体 ( R & D systems ) を、 P 1 4 から開始して 1 1 日間で合計 1 0 用量として施し、 P 2 5 に最後の投与を行ってから 2 4 時間後に、 C N V の発症をフルオレセイン血管造影 ( F A ) により分析した。C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 処置マウスについては、 P 1 4 から開始して合計 1 2 日間、種々の濃度の薬物を腹膜内にまたは点眼剤により投与し、 P 2 6 に最後の投与を行ってから 2 4 時間後に、 C N V の発症を F A により分析した。抗 V E G F R 2 抗体と C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 の組合せ効果を検討するために、マウスの腹膜内に各材料を単独でまたは組合せ、 P 1 4 から開始して 1 1 日間で合計 1 0 用量を施し、 P 2 5 に最後の投与を行ってから 2 4 時間後に、 C N V の発症を F A により分析した。確立された C N V 病変からの血管透過性に対する V E G F - A および C C R 3 アンタゴニストの効果を探る実験では、 J R 5 5 5 8 マウスに C N V 病変の発症後に 2 日間だけ投与を行い、 P 2 4 および P 2 5 に種々の量の V E G F R - 2 抗体もしくは C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 、または組合せで処置した。フルオレセイン血管造影 ( F A ) は P 2 6 に行った。

20

## 【 0 0 6 6 】

フルオレセイン血管造影 ( F A ) および画像解析

マウスを 2 . 5 % トロピカミド ( B a u s c h & L o m b 、口チェスター、 N Y ) で散瞳させ、 0 . 2 m l の 2 % フルオレセインナトリウム ( B a u s c h & L o m b ) 水希釈液を腹腔内注射により投与した。 K o w a G e n e s i s - D f 眼底カメラ ( K o w a 、東京、日本) を用いて、色素移行の初期相 ( フルオレセイン注射から 9 0 秒後 ) および後期相 ( 7 分 ) のフルオレセインの血管造影図を得た。初期相では、 C N V 組織の血管系は血管内フルオレセイン色素により鮮明に画定される。後期では、管外フルオレセインが過蛍光のパッチとして明確になる。C N V 面積を定量するために、 I m a g e J プログラムを用い、初期相からの F A 画像を用いて、各眼の過蛍光 C N V のそれぞれのサイズを測定した。各 C N V の透過性は、 I m a g e J を用い、後期相 ( フルオレセイン注射から 7 分後 ) の F A 画像の過蛍光面積から初期相 ( フルオレセイン注射から 9 0 秒後 ) の F A 画像の過蛍光面積を差し引くことによって決定した。

30

## 【 0 0 6 7 】

C N V 病変に関する網膜ホールマウント染色

40

50

F A から 24 時間後に、眼球を摘出し、P B S 中 4 % パラホルムアルデヒド ( P F A ) で 4 にて 3 時間固定した。網膜を含むまたは含まない眼杯を取り出し、切断し、P B S 中 0.3 % Triton X-100 および 5 % F B S を含有するバッファー ( プロッキングバッファー ) 中、室温で 1 時間プロッキングし、プロッキングバッファー中 1 : 200 希釀の 0.5 % フルオレセイン - イソチオシアネート ( F I T C ) - イソレクチン B 4 ( V e c t o r 、 バーリングーム、 C A ) とともに 4 で一晩インキュベートした。5 回洗浄した後、検体を、D A P I 含有媒体を用いてマウントし、落射蛍光顕微鏡で観察した。

【 0 0 6 8 】

カニクイザルにおけるレーザー誘導性脈絡膜新生血管型 A M D 研究

10

表 A に示されるように、カニクイザルにビヒクルまたは C C R 3 アンタゴニストツール化合物としての '415 化合物を 29 日間投与し、レーザーはレーザー 1 日後に光凝固を生じる。蛍光血管造影分析はレーザー処置の 14 日、21 日および 28 日後に行つた。

【 0 0 6 9 】

【表 1】

群	動物数 (雄)	用量水準 <sup>a</sup>		投与濃度 <sup>b</sup> (mg/mL)
		(mg/kg/回)	(mg/kg/日)	
1(対照) <sup>c</sup>	6	0	0	0
2(低)	6	3	9	0.6
3(高)	6	20	60	4.0

a 動物に 1~30 日目の投与期間に 5mL/kg/回の用量で、およそ 8 時間間隔で 1 日に 3 回投与した。

20

b 投与濃度は親化合物に関して表し、塩含量については、GW782415X では、補正率 1.015 を用いて補正する。

c 群 1 はビヒクル対照品のみを受容する。

30

表 A : レーザー誘導性カニクイザル C N V 研究に用いた '415 化合物の用量および投与計画

【 0 0 7 0 】

各眼の黄斑に、スリットランプ伝送システムおよび K a u f m a n - W a l l o w ( O c u l a r I n s t r u m e n t s I n c 、 ベルビュー、ワシントン州 ) プラノ眼底コンタクトレンズを用いた 532 nm ダイオード緑色レーザー焼結 ( O c u L i g h t G L 、 I R I D E X C o r p I n c 、 マウンテンビュー、カリフォルニア州 ) にてレーザー処置を施した。動物を麻酔し、各眼の黄斑に 9 つの領域を左右対称に配置した。レーザーパラメーターは、スポットサイズ 75 ミクロンおよび持続時間 0.1 秒を含んだ。使用電力設定は、水疱および小出血をもたらす能力によって評価した。最初のレーザー処置で出血が見られなければ、2 番目のレーザースポットは ( ワット数を調整する以外は ) 同じレーザー手法に従って最初のスポットの隣に配置する。眼窩に隣接しない領域については、最初の電力設定を 500 mW とし ; 2 番目のスポットを配置する場合には、電力を 650 mW に設定した。眼窩に隣接する領域については、電力設定を 400 mW ( 最初の処置 ) および 550 mW ( 2 回目の処置 ) とした。電力設定は、レーザー時の所見に基づき、網膜外科医の判断で調整した。

40

【 0 0 7 1 】

動物はフルオレセイン血管造影の前に少なくとも 2 時間絶食させ、その後、麻酔し、散瞳剤で散瞳させた。フルオレセイン注射後に嘔吐の可能性があるために動物に挿管した。

50

その後、動物にフルオレセインの静注を行った。フルオレセイン注射の開始時と終了時に画像を採取した。フルオレセイン注射の後、右眼について後極部の高速連写（およそ色素出現から35秒まで）の立体写真を撮影し、その後、左眼の後極部のステレオペアを撮影した。さらに、フルオレセイン注射からおよそ1～2分後と5分後に両眼のステレオペアを撮影した。フルオレセイン注射からおよそ2分～5分の間に、各眼の2つの中間周辺部視野（耳側と鼻側）の非双眼写真を撮影した。フルオレセイン血管造影のグレード評価は、表Bに示されている分類体系に従って画像評価をするための協力科学者によって行われた。グレードIVの病変が加齢黄斑変性を含む種々のヒト網膜障害で見られる古典的脈絡膜新生血管形成に最もよく似ていることから、これらを臨上有意とみなした。グレードIV病変の罹患率の群間比較を評価した。

10

【0072】

【表2】

病変グレード	定義
I	過蛍光無し
II	過蛍光、漏出は伴わない
III	初期の過蛍光または中央部への移行および後期の漏出
IV	初期の明るい過蛍光または中央部への移行および後期の処置免疫の境界を越える漏出

20

表B：カニクイザルにおけるレーザー誘導性CNVの病変分類

【0073】

カニクイザル全血のエオタキシン刺激好酸球形状変化アッセイ

カニクイザルから血液（10mL）を採取し、1.1mLの3.8%クエン酸ナトリウム溶液を加えた。アリコート（90μl）を室温で10分間アンタゴニストとともにインキュベートした後、アゴニスト（10μl ヒトエオタキシン（Protech））を含有するBSAコーティングmicronicチューブに移した。エオタキシンは0～1000nMの終濃度で存在した。細胞を37℃でさらに4分間インキュベートした後、250mLの氷冷固定バッファー（1倍Cell fix（Becton Dickinson）の1/4希釈液）を加えた。最低2分後に、固定されたサンプルを2mLの氷冷赤血球溶解バッファー（155mM NH<sub>4</sub>Cl、10mM KHCO<sub>3</sub>）に移し、溶解が完了するまで（約30分）氷上でインキュベートした。その後、好酸球集団の平均前方散乱をFACS caliberフローサイトメーターで測定した。

30

【0074】

酸素誘導性網膜症

出生後日数（P）7～P12に75%O<sub>2</sub>中に置いたC57BL/6マウスを室内空気に戻し、化合物またはビヒクルで処置を開始した。P17に、網膜表面の網膜NV面積を従前に記載されているように(Shen et al., 2007)測定した。簡単に述べると、P17マウスに1μlのラット抗マウス血小板内皮細胞接着分子-1（PECAM-1）抗体（Pharmingen、サンノゼ、CA、USA）の眼内注射を施し、12時間後に、マウスを安樂死させ、眼をPBS緩衝ホルマリン中、室温で5時間固定した。網膜を切り取り、洗浄し、Alexa 488結合ヤギ抗ラットポリクローナル抗体（Invitrogen、カールスバッド、CA、USA）の1:500希釈溶液とともに室温で45分間インキュベートし、フラットマウントした。処置群を隠された観測者が画像解析により網膜当たりのNV面積を測定した。

40

【0075】

観測

50

マウスレーザーC NV モデルにおけるCCR3阻害剤 '994 の評価

CCR3阻害剤 '994 による全身的CCR3拮抗作用はレーザー誘導性光凝固に続発するマウスのC NV の発症を限定する

12週齢の成体雌C57BL/6マウスを用い、レーザー光凝固とブルッフ膜穿刺を用いて、レーザー誘導性C NV (マウス網膜当たり3つのC NV病変) モデルを作出した。これらのマウスにおける、CCR3阻害剤 '994 をレーザー光凝固によるC NV 誘導の当日に経口投与した場合の研究では、1週間の時点で30mg p o QD用量で効果があるという有意な傾向を示したが (p = 0.0525)、これは2週間の時点では持続していなかった (図1、上および下のパネル) および表1参照)。

【0076】

【表3】

10

表1：蛍光血管造影法により評価した場合の、C57BL/6マウスにおけるレーザー誘導性C NV病変サイズ面積に対するCCR3阻害剤 '994 およびとの治療効果の統計学的比較

比較	第1週		第2週	
	平均病変サイ ズの比率	P値	平均病変サイ ズの比率	P値
8mg/kg 対ビヒクル	0.82	0.2721	0.99	0.9867
30mg/kg 対ビヒクル	0.70	0.0523	0.78	0.4825
20mg/kg パゾパニブ対 ビヒクル	0.48	0.0001	0.39	0.0086
30mg/kg 対 20mg/kg パ ゾパニブ	1.47	0.0357	2.03	0.0455

20

【0077】

30

同一用量での2回目の試験でも同様の効果が見られた (p = 0.0552) (図2および表2参照)。

【0078】

## 【表4】

表2: 蛍光血管造影法により評価した場合のC57Bl/6マウスにおけるレーザー誘導性CNV病変サイズ面積に対するCCR3阻害剤'994およびパゾパニブ対比ヒカルの治療効果の統計学的比較

比較	第1週		第2週	
	平均病変サイズの比率	P値	平均病変サイズの比率	P値
2mg/kg 対比ヒカル	0.93	0.7780	0.83	0.6799
8mg/kg 対比ヒカル	0.81	0.4017	0.66	0.3582
8mg/kg BID 対比ヒカル	0.80	0.3174	0.65	0.2818
30mg/kg 対比ヒカル	0.62	0.0552	0.56	0.2036
20mg/kg パゾパニブ対比ヒカル	0.30	< 0.0001	0.26	0.0036
30mg/kg 対 20mg/kg パゾパニブ	2.05	0.0041	0.16	0.0837

## 【0079】

両試験において、VEGFR1、2および3（ならびにPDGF受容体およびc-kit）に対して活性なスペクトル特異的キナーゼ阻害剤である、比較対照としてのパゾパニブを20mg/kg po QDで投与すると、CNV病変サイズに有意な縮小がもたらされ、これはヒカルとは異なっており、また、調べた総ての用量のCCR3阻害剤'994とも異なっていた。ここで行った統計分析は、観測数が処置した動物数と関連があるという点でストリンジエントであるが、このレーザー誘導性モデルを用いた他のほとんどの試験では（広く文献で行われている）では、各病変（マウス網膜当たり3つのCNV病変）は独立した観測としてみなされている。各CNV病変が独立としてみなされてデータが分析されるならば、両試験での30mg/kg CCR3阻害剤'994の効果は、それぞれ0.0395および0.0392のp値で病変サイズに対して有意な効果を持っていたと考えられたであろう。しかしながら、経口投与したパゾパニブの場合では、いずれの統計学的アプローチでも口バストな効果をもたらしたであろうことは明らかであり、または従って、このモデルにおけるCCR3阻害剤'994の効果は経口投与されたパゾパニブよりも弱いと思われる。

## 【0080】

マウスJRK5558 CNVモデルにおけるCCR3阻害剤'994の評価

CCR3阻害剤'994による全身的CCR3拮抗作用はCNV AMDのJRK5558自発的モデルにおけるCNVの発症を限定する

JRK5558マウスは、最初の病変が出生後約12日目に始まるという予測可能な経時的推移で両網膜に自発的CNVをマウスに発症させる未同定の遺伝子血管を有するマウス

10

20

30

40

50

系統である。従って、CCR3阻害剤 '994による処置は12日目に開始して12日間続け、この時点で、動物を網膜蛍光血管造影により検査して総CNV病変量および網膜に存在するCNV病変の総数を定量した。CCR3阻害剤 '994による動物の処置は、8mg/kg QDまたは30mg/kg QDのいずれかをi.p.投与した場合には、網膜に存在するCNV病変の総病変面積(図3、表3参照)および総数(図3、表4参照)の両方に抑制をもたらしたが、用量が2mg/kg QDであった場合にはそうではなかった。統計値は表3および表4に示す。

【0081】

【表5】

表3: 蛍光血管造影法により評価した場合のJR8885試験における総CNV面積に対するGW766994対ビヒクルの治療効果の統計学的比較。化合物は、P14～P26の間の12日間投与した。

比較	一眼当たりの平均総CNV面積の差	P値
2mg/kg 対ビヒクル	-0.0065	0.2510
8mg/kg 対ビヒクル	-0.0171	0.0066
30mg/kg 対ビヒクル	-0.0264	0.0001

10

20

【0082】

【表6】

表4: 蛍光血管造影法により評価した場合のJR8885試験における総CNV数に対するGW766994対ビヒクルの治療効果の統計学的比較。化合物は、P14～P26の間の12日間投与した。

比較	一眼当たりのCNVの平均総数の差	P値
2mg/kg 対ビヒクル	-1.65	0.4312
8mg/kg 対ビヒクル	-5.03	0.0271
30mg/kg 対ビヒクル	-5.20	0.0169

30

【0083】

単離された眼杯(網膜除去)の免疫組織化学もまた、このモデルでの網膜血管病変の発症の限定におけるCCR3阻害剤 '994の効果を示す(図5)。CCR3阻害剤 '994の8mg/kg QD投与はレーザーCNVモデルにおいて統計学的にロバストな効果を示さなかつたが、そのモデルでは、化合物は経口投与されており、これはJR8885幼マウスモデルにおいて使用されたi.p.投与に比べて暴露が5分の1となる。

40

【0084】

CCR3阻害剤 '994がQDではなくBID投与された場合にも、CCR3阻害剤 '994はまた総病変面積(図4、表5参照)および総CNV数(図4、表6参照)の両方の限定に有意な効果をもたらした。この試験では、動物は蛍光血管造影の完了直後に犠牲し、眼を摘出し、固定液中に入れた。眼を完全に洗浄した後に定量的免疫組織化学により分析した。このような分析は、この分析方法が病変量に対する8mg/kg CCR3阻害剤 '994 BIDの治療効果の提示において実際の蛍光血管造影とよく相關していたが、このマウスモデルにおいて蛍光血管造影により評価した場合のCNV病変数とは相關していなかつたことを示し(図6参照)、おそらくこのことは、これらの病変の一部がよ

50

り小さく、蛍光血管造影により検出しやすかったことを示唆する。統計値は表 5 ~ 8 に示す。

【0085】

【表7】

表5: 蛍光血管造影法により評価した場合のJR8885試験における総CNV面積に対するCCR3阻害剤‘994対ビヒクルの治療効果の統計学的比較。化合物は、P14~P26の間の12日間投与した。

比較	一眼当たりの平均総CNV面積の差	P値
8mg/kg 対ビヒクル	-0.0214	0.0244

【0086】

【表8】

表6: 蛍光血管造影法により評価した場合のJR8885試験における総CNV数に対するCCR3阻害剤‘994対ビヒクルの治療効果の統計学的比較。化合物は、P14~P26の間の12日間投与した。

10

20

比較	一眼当たりのCNV病変の平均数の差	P値
8mg/kg 対ビヒクル	-4.63	0.0049

【0087】

【表9】

表7: 定量的免疫組織化学により評価した場合のJR8885試験における総CNV面積に対するCCR3阻害剤‘994対ビヒクルの治療効果の統計学的比較。化合物は、P14~P26の間の12日間投与した。

30

比較	一眼当たりの平均総CNV面積の差	P値
8mg/kg 対ビヒクル	-76632	0.0345

【0088】

【表10】

表8: 定量的免疫組織化学により評価した場合のJR8885試験における総CNV数に対するCCR3阻害剤‘994対ビヒクルとの治療効果の統計学的比較。化合物は、P14~P26の間の12日間投与した。

40

比較	一眼当たりのCNV病巣の平均数の差	P値
8mg/kg 対ビヒクル	-8.00	0.1280

【0089】

マウスJR5558 CNVモデルにおけるCCR3阻害剤‘994点眼剤の評価

CCR3の拮抗作用はマウス自発的JR5558モデルにおいて局所適用された後にCNV AMDを限定することができる

50

J R 5 5 5 8 マウスの両眼への局所適用点眼剤 5  $\mu$  l としての C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 の B I D 投与は、J 5 5 5 8 マウスの網膜に存在する自発的 C N V の総病変量（図 7、表 9 参照）と総数（図 7、表 1 0 参照）の両方に統計学的に有意な減少をもたらした。この効果の大きさは、本発明者らが従前にこのモデルにおいて病変量と総病変に効果的であることを示した 8 m g / k g B I D C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 の全身投与後に得られたものと同様の規模であった。この点眼剤投与計画は、従前の実験での、より多い薬物量である 2 m g / k g Q D の全身用量でこのモデルにおいて有効性が証明できなかったという事実を考えれば、このモデルにおける対照 C N V に対する C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 の効果は局所的効果であり得るということを実証する。統計値は表 9 および表 1 0 に示す。

【 0 0 9 0 】

10

【 表 1 1 】

表 9 : 蛍光血管造影法により評価した場合の J R 8 8 8 5 試験における総 C N V 面積に対する C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 (各眼に 5  $\mu$  l 点眼剤として B I D 投与) 対比ヒクル (各眼に 5  $\mu$  l 点眼剤として B I D 投与) の治療効果の統計学的比較。8 m g / k g C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 i. p. B I D も比較対照として投与した。化合物は、P 1 4 ~ P 2 6 の間の 1 2 日間投与した。

比較	一眼当たりの平均総 C N V 面積の差	P 値
1mg/kg 対比ヒクル	-5442.63	0.0198
10mg/kg 対比ヒクル	-8047.55	0.0010
8mg/kg I. P. 対比ヒクル	-9853.26	0.0002

20

【 0 0 9 1 】

【 表 1 2 】

表 1 0 : 蛍光血管造影法により評価した場合の J R 8 8 8 5 試験における総 C N V 数に対する C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 (各眼に 5  $\mu$  l 点眼剤として B I D 投与) 対比ヒクル (各眼に 5  $\mu$  l 点眼剤として B I D 投与) の治療効果の統計学的比較。8 m g / k g C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 i. p. B I D も比較対照として投与した。化合物は、P 1 4 ~ P 2 6 の間の 1 2 日間投与した。

30

比較	一眼当たりの C N V 病変の平均総数の差	P 値
1mg/kg 対比ヒクル	-2.25	0.1095
10mg/kg 対比ヒクル	-3.96	0.0071
8mg/kg I. P. 対比ヒクル	4.95	0.0017

40

【 0 0 9 2 】

マウス J R 5 5 5 8 C N V モデルにおける C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 および抗 V E G F A b の評価

C C R 3 の拮抗作用および V E G F 経路の阻害は J R 5 5 5 8 自発的モデルにおいて C N V の程度を限定するために相加的に働く

このモデルにおいて 3 0 m g / k g Q D C C R 3 阻害剤 ' 9 9 4 による全身処置はヒクルに比べて C N V 病変面積および総発生 C N V 病変の両方に有意な減少をもたらした（図 8、表 1 1 および表 1 2 参照）こと以外は従前に開示されたものと同様の実験における。このプロフィールは、5 0 ~ 1 0 0  $\mu$  g 抗血管内皮増殖因子受容体 - 1 モノクロ-

50

ナル抗体（抗 V E G F R 2 ）による全身処置と一致した（図 8、表 1 1 および表 1 2 参照）。予想されたように 5 0 ~ 1 0 0  $\mu$  g 抗 V E G F R 2 i . p . Q D と 3 0 m g C C R 3 阻害剤 ‘ 9 9 4 i . p . Q D の組合せもまた、C N V 病変面積と C N V 病変数の両方の抑制をもたらした。3 0 m g / k g C C R 3 阻害剤 ‘ 9 9 4 i . p . Q D または 1 0 0  $\mu$  g 抗 V E G F R 2 i . p . Q D の単剤処置の効果に比べて併用効果を検討する場合、C N V 病変面積と病変総数の両方においてさらなる減少が見られた。これらの差は 9 5 % 信頼限界で統計学的に有意ではないものの、C N V 病変面積に対する効果を検討する場合、この組合せを抗 V E G F R 2 Q D 単独 ( p = 0 . 0 6 ) ( 図 8 、表 1 1 参照 ) または 3 0 m g / k g C C R 3 阻害剤 ‘ 9 9 4 Q D ( p = 0 . 0 9 ) ( 図 8 、表 1 1 参照 ) と比較した場合には強い傾向を示した。C N V 病変数に対する組合せの効果を単剤処置単独に対して検討した場合には、組合せの効果はさらに大きいものではないことが明らかであった（図 8 、表 1 2 参照 ）。

10

【 0 0 9 3 】

【 表 1 3 】

表 1 1 : 蛍光血管造影法により評価した場合の J R 8 8 8 5 試験における網膜当たりの総 C N V 病変面積に対する 1 0 0  $\mu$  g 抗 V E G F R 2 i . p . Q D 、 3 0 m g / k g C C R 3 阻害剤 ‘ 9 9 4 i . p . Q D 、 1 0 0  $\mu$  g 抗 V E G F R 2 i . p . Q D と 3 0 m g / k g C C R 3 阻害剤 ‘ 9 9 4 i . p . Q D 、 および 1 0 0  $\mu$  g 抗 V E G F R 2 i . p . Q D と 3 0 m g / k g C C R 3 阻害剤 ‘ 9 9 4 i . p . Q D と、ビヒクルとの、また 1 0 0  $\mu$  g V E G F R 2 i . p . Q D と 3 0 m g / k g C C R 3 阻害剤 ‘ 9 9 4 i . p . Q D との治療効果の統計学的比較。C C R 3 阻害剤 ‘ 9 9 4 は、P 1 4 ~ P 2 6 の間の 1 2 日間投与した。抗 V E G F R 2 は、P 1 4 からの 6 日間とさらに P 1 9 からの 5 日間投与した。

20

30

比較	P 値	修正 P 値 ( ホルムの補正 )
100 $\mu$ g VEGFR2 対ビヒクル	0.0063	0.0379
30mg/kg GW766994X 対ビヒクル	0.0036	0.0284
50 $\mu$ g 抗 VEGFR2 + 30mg/kg GW766994X 対ビヒクル	0.0052	0.0362
100 $\mu$ g 抗 VEGFR2 + 30mg/kg GW766994X 対ビヒクル	< 0.0001	0.0002
50 $\mu$ g 抗 VEGFR2 + 30mg/kg GW766994X 対 100 $\mu$ g VEGFR2	0.5528	0.9999
50 $\mu$ g 抗 VEGFR2 + 30mg/kg GW766994X 対 30mg/kg GW766994X	0.6714	0.9999
100 $\mu$ g 抗 VEGFR2 + 30mg/kg GW766994X 対 100 $\mu$ g VEGFR2	0.0606	0.3032
100 $\mu$ g 抗 VEGFR2 + 30mg/kg GW766994X 対 30mg/kg GW766994X	0.0934	0.3736
100 $\mu$ g 抗 VEGFR2 + 30mg/kg GW766994X 対 50 $\mu$ g 抗 VEGFR2 + 30mg/kg GW766994X	0.3367	0.9999

40

【 0 0 9 4 】

## 【表14】

表12: 蛍光血管造影法により評価した場合のJ R 8 8 8 5試験における総CNV数に対する $100\mu\text{g}$ 抗VEGFR2 i. p. QD、 $30\text{mg}/\text{kg}$ CCR3阻害剤'994 i. p. QD、 $50\mu\text{g}$ 抗VEGFR2 i. p. QDと $30\text{mg}/\text{kg}$ CCR3阻害剤'994 i. p. QD、および $50\mu\text{g}$ 抗VEGFR2 i. p. QDとビヒクルとの、また $100\mu\text{g}$ VEGFR2 i. p. QDおよび $30\text{mg}/\text{kg}$ CCR3阻害剤'994 i. p. QDとの治療効果の統計学的比較。CCR3阻害剤'994は、P14～P26の間の12日間投与した。抗VEGFR2は、P14からの6日間とさらにP19からの5日間投与した。

10

20

30

比較	P値	修正P値 (ホルムの補正)
$100\mu\text{g}$ VEGFR2対ビヒクル	0.0107	0.0860
$30\text{mg}/\text{kg}$ GW766994X対ビヒクル	0.0152	0.1066
$50\mu\text{g}$ 抗VEGFR2 + $30\text{mg}/\text{kg}$ GW766994X対ビヒクル	0.0283	0.1700
$100\mu\text{g}$ 抗VEGFR2 + $30\text{mg}/\text{kg}$ GW766994X対ビヒクル	0.0001	0.0011
$50\mu\text{g}$ 抗VEGFR2 + $30\text{mg}/\text{kg}$ GW766994X対 $100\mu\text{g}$ VEGFR2	0.9250	0.9999
$50\mu\text{g}$ 抗VEGFR2 + $30\text{mg}/\text{kg}$ GW766994X対 $30\text{mg}/\text{kg}$ GW766994X	0.8374	0.9999
$100\mu\text{g}$ 抗VEGFR2 + $30\text{mg}/\text{kg}$ GW766994X対 $100\mu\text{g}$ VEGFR2	0.1336	0.5345
$100\mu\text{g}$ 抗VEGFR2 + $30\text{mg}/\text{kg}$ GW766994X対 $30\text{mg}/\text{kg}$ GW766994X	0.1029	0.5144
$100\mu\text{g}$ 抗VEGFR2 + $30\text{mg}/\text{kg}$ GW766994X対 $50\mu\text{g}$ 抗VEGFR2 + $30\text{mg}/\text{kg}$ GW766994X	0.2554	0.7663

## 【0095】

## マウスJ R 5 5 5 8 CNVモデルにおけるCNV病変の透過性に対するCCR3阻害剤'994の評価

CCR3の拮抗作用は、J R 5 5 5 8マウスにおけるナトリウムフルオレセインに対する脈絡膜新生血管の血管透過性を限定する。

40

## 【0096】

従前の文献は、CCR3は血管内皮細胞培養物の透過性の変化を媒介し得ることを報告している(Jamaluddin et al., 2009)。しかしながら、このことはこれまでには、脈絡膜もしくは網膜内皮、または実際にin vivoに対しては実証されていない。CNV病変の透過性の変化は、初期相フルオレセイン漏出から後期相フルオレセイン漏出を差し引いて漏出率を計算して求める。その後、各個のCNV病変に関するこれらの値を用いて透過性を計算する。総CNV病変量および病変総数の定量を目的とする実験とは対照的に、透過性に対する化合物の作用は、2日間だけ(P24～P26)投与した後に決定されるので、CNV病変は発症するに必要な時間を持っており、事前のCCR3アンタゴニスト暴露により発症から阻害されなかった。CCR3阻害剤'994( $30\text{mg}/\text{kg}$  i. p. QD,  $P = 0.0351$ )および抗VEGF( $100\mu\text{g}$  i. p. QD,  $P = 0.0176$ )の両方の投与は、フルオレセインに対するCNV病変の血管透過性の減少に対して独立した統計学的にロバストな効果をもたらした。抗VEGFR2療法とCCR3阻害剤'994との組合せは、CNV病変血管透過性にさらなる減少をもたらし、これ

50

はビヒクルから有意であったが (  $p = 0.0251$  、図 9 、表 13 ) 、単独で投与した際の CCR3 阻害剤 '994 または抗 VEGFR2 mAb のいずれと比べた場合にも有意でなかった ( 図 9 、表 13 参照 ) 。

【 0097 】

【 表 15 】

表 13 : 蛍光血管造影法により評価した場合の JR8885 試験における CNV 病変の透過性に対する  $100 \mu\text{g}$  抗 VEGFR2 i.p. QD,  $30 \text{mg}/\text{kg}$  CCR3 阻害剤 '994 i.p. QD,  $100 \mu\text{g}$  抗 VEGFR2 i.p. QD と  $30 \text{mg}/\text{kg}$  CCR3 阻害剤 '994 とビヒクルとの、また  $100 \mu\text{g}$  VEGFR2 i.p. QD および  $30 \text{mg}/\text{kg}$  CCR3 阻害剤 '994 i.p. QD との治療効果の統計学的比較 ( 各病変についても後期 - 初期 FFA ) 。 CCR3 阻害剤 '994 および抗 VEGFR2 は、 P24 ~ P26 の間の 2 日間、単独または組み合わせで投与した。

10

20

非処置との比較	p 値	95%信頼区間での変化率
CCR3	0.0345	1.26 (1.02, 1.56)
抗 VEGFR2	0.0176	1.31 (1.05, 1.64)

比較	p 値	95%信頼区間での変化率
CCR3 対組合せ	0.5291	1.09 (0.82, 1.45)
抗 VEGFR2 対組合せ	0.7408	1.05 (0.79, 1.40)
組合せ対対照	0.0251	1.38 (1.04, 1.82)

30

【 0098 】

カニクイザルレーザー CNV モデルにおける '415 化合物の評価

CCR3 アンタゴニスト GW782415X の経口投与はカニクイザルにおけるレーザー誘導性脈絡膜 CNV を限定する

CCR3 アンタゴニストが高等哺乳動物で CNV の誘導を抑制するかどうかを判定するため、CCR3 アンタゴニストツール分子 '415 化合物を選択し、これはこの化合物がカニクイザル CCR3 に対して良好な効力をもち (  $pA_2 = \text{実験によって } 7 \sim 8$  ) 、この靈長類において小さな動物間変動で合理的な暴露を示したためである。このモデルにおいて 15 日間の  $20 \text{mg}/\text{kg}$  '415 化合物 TID p.o 投与の効果は、レーザー処置から 16 日、 24 日および 30 日後に蛍光血管造影により評価した場合、このモデルにおいて総ての時点でグレード I V 病変の発生に対して統計学的にロバストな効果を示した ( 図 10 、表 14 参照 ) 。より低用量の '415 化合物の効果としては病変数の減少を示したが、これは、この試験の検出力を考えれば、対照と有意に異ならなかった ( 図 10 、表 14 参照 ) 。しかしながら、より低い  $9 \text{mg}/\text{kg}$  の '415 化合物 TID 用量によるグレード I V の抑制は、  $20 \text{mg}/\text{kg}$  の '415 化合物用量とともに、このモデルにおける、試験した 3 つの時点の総てでグレード I V CNV の抑制に関して統計学的に有意な用量関係を証明するのに十分であり、これは対数用量漸増仮定または直線的用量漸増仮定に依存しなかった ( 表 15 参照 ) 。

40

【 0099 】

## 【表16】

表14：16日、24日および30日に蛍光血管造影により評価したカニクイザルにおけるグレードIV CNV病変に対する20mg/kg po TIDおよび3mg/kg po TIDの‘415化合物とビヒクルとの治療効果の統計学的比較

比較	P値	修正P値 (ホルムの補正)
16日目の9mg/kg対ビヒクル	0.0819	0.5129
24日目の9mg/kg対ビヒクル	0.0781	0.5129
30日目の9mg/kg対ビヒクル	0.3913	0.8694
16日目の60mg/kg対ビヒクル	0.0005	0.0070
24日目の60mg/kg対ビヒクル	0.0009	0.0112
30日目の60mg/kg対ビヒクル	0.0011	0.0121

10

20

## 【0100】

## 【表17】

表15：16日、24日および30日に蛍光血管造影により評価したカニクイザルにおけるグレードIV CNV病変に対する20mg/kg po TIDおよび3mg/kg po TID出投与した‘415化合物とビヒクルとの治療効果および用量-効果関係の統計学的比較

時点	P値	修正P値 (ホルムの補正)
16日目	0.0005	0.0070
24日目	0.0009	0.0112
30日目	0.0014	0.0139

30

## 【0101】

高压酸素により誘導される網膜新生血管形成(酸素誘導性網膜症)に対する全身的および局所的CCR3阻害剤‘994の効果の評価

局所投与(5μl 10mg/ml BID)または全身投与8mg/kg BID i.p. (脈絡膜新生血管形成のモデルにおいて有効であった用量)のいずれかでのCCR3阻害剤‘994によるC57BL/6マウスの処置は、高压酸素による刺激の後の網膜血管の新生血管形成に効果がなかった(図12および13参照)。全身試験では、両眼を検査したところ、CCR3阻害剤‘994処置群とビヒクル処置群の間で有意な差は見られなかった。局所試験では、CCR3阻害剤‘994群とビヒクル群の間にも、CCR3阻害剤‘994処置群における処置眼と他眼の間に有意な差は示されなかった。注目すべきは、受容体チロシンキナーゼ阻害剤SU4312は5μgの用量で(5日ごとに眼周囲に投与)効果的な阻害剤であり、SU4312処置眼とビヒクル処置眼の間で( $p < 0.003$ )、また実際に処置眼と他眼(非処置眼)の間で( $p < 0.004$ )、網膜新生血管形成に有意に観測できる減少が見られた。結論として、SU4312は、脈絡膜新生

40

50

血管形成の限定に効果的であった代替受容体チロシンキナーゼ阻害剤パゾパニブの場合と同等に網膜新生血管形成に作用する。このデータは、受容体チロシンキナーゼ（例えばVEGF）の遮断が網膜および脈絡膜の両方の新生血管形成に適切であることを示すが、CCR3の拮抗作用は脈絡膜の新生血管形成だけを限定すると思われ、従って、CCR3の拮抗作用は脈絡膜に選択性があり、結果として、全般的に適用可能とは言えないまでも、眼球内であってもあらゆる血管床に適用可能な機構であることが強調される。

#### 【0102】

##### 齧歯類および靈長類モデルにおけるCNV AMDのPK/PD

##### CCR3阻害剤 '994 および J R 5558 マウスモデルにおける自発的CNVの発症

J R 5558 マウスにおける暴露効果を模倣するために幼マウスに 8 mg / kg i.p. QD の CCR3 阻害剤 '994 を投与した後、24 時間時点の血中濃度を 2 mg / kg i.p. および 30 mg / kg i.p. 用量の場合で PK プロフィールの対数直線相を見積もることにより計算した。次に、血中薬物濃度を用い、ラングミュア吸着等温式と CCR3 阻害剤 '994 の pKi (マウス好酸球走化性アッセイにおいて評価) を使用して受容体占有率 (fractional receptor occupancy) を求めた。受容体占有率は、CCR3 阻害剤 '994 の pKi がバッファーおよび無血液中で決定されたことから、真の値の推定値を少し上回る。好酸球が主要な CCR3 保持細胞集団であることから、この CCR3 受容体占有率は、大方のところ、好酸球への結合によるものであると考えられる。このような受容体占有率の計算は、8 時間の時点で、総ての用量が 97 % を超える CCR3 受容体占有率をもたらすのに十分な暴露を得ていたが (2 mg / kg = 97.95 %, 8 mg / kg = 99.48 %, 30 mg / kg = 99.86 %) 、24 時間目のトラフ時点では、CCR3 受容体占有率値は異なっていた (2 mg / kg = 3.1 %, 8 mg / kg = 11.36, 30 mg / kg = 32.45) ことを暗示する。8 mg / kg および 30 mg / kg の CCR3 阻害剤 '994 は両方の全身投与はこのモデルにおいて効果的であったことから、有効性のためには、トラフ時の全身占有率水準が 3.1 % ~ 11.36 % の間であることが必要とされると思われる。しかしながら、いくつかの所見が、J R 5558 モデルにおける CNV の発生に対する CCR3 阻害剤 '994 の影響は、全体的な CCR3 受容体占有率によって、またはこのモデルの CNV 媒介における CCR3 阻害剤 '994 の全身的効果によって導かれるものではないことを示唆している。第一に、Takeda et al., 2009 は、好酸球も肥満細胞も（主要な CCR3 保持細胞）遺伝的に生成することができない動物で、レーザー誘導性 CNV の緩和における CCR3 阻害剤の効果を実証した。同グループはまた、マウスモデルにおいてレーザー誘導性 CNV を限定するために極めて低用量の抗 CCR3 抗体の硝子体内注射による投与を用いており、このような極めて低用量は、それらが体循環に接近できたとしても受容体占有率に極めて限定された影響しか持たないであろう。さらに、CCR3 阻害剤 '994 の点眼剤形としての局所投与も J R 5558 モデルに効果的であった。これらの所見を総て考え合わせると、CNV 疾患の限定における CCR3 治療薬の効果は眼における局部的活性によるものであることが示唆される。しかしながら、全身投与は眼における CCR3 アンタゴニスト暴露を、そして最終的には疾患に対する効果を促す可能性が極めて高く、この眼における暴露はおそらく全身暴露の複雑な関数であると思われ、従って、全身性療法のプロファイルリングにおいては、有効性を促す全身薬物動態についての理解が重要であり得る。

#### 【0103】

'415 化合物は、カニクイザル全血において、ヒトエオタキシン誘導性の好酸球形状変化に濃度依存的な、打破可能な阻害を引き起こした。これらのデータの Schi1d 分析によれば、「415 化合物に関して 7.8 ~ 8.4 の間の平均 pA<sub>2</sub> が示された。カニクイザル全血における好酸球形状変化に対するエオタキシン - 1 の濃度反応曲線ならびに 10 nM および 100 nM の '415 化合物のプレインキュベーションの効果を図 11 に示す。

#### 【0104】

化合物が TID 投与される場合の、9 mg / kg / 日および 60 mg / kg / 日に関する

10

20

30

40

50

る8時間時点での‘415化合物暴露のトラフ値を用い、およびカニクイザル全血CCR3におけるエオタキシンを介した好酸球形状変化アッセイで決定される効力値を用い、受容体占有率はトラフ時に>95%であると計算された。

### 【0105】

まとめると、データは、脈絡膜新生血管型病変の発症に対する全身的または局所的点眼剤送達により投与されたCCR3アンタゴニストの強い薬理学的效果を証明する3つのin vivoモデルにおいて得られる。齧歯類モデルでは、CCR3アンタゴニストの投与のこれらの効果は、抗VEGFR2の全身投与またはパゾパニブの経口投与の効果と同等の規模である。CNV病変の増長に対する効果とともに、本発明者らはまた、抗VEGFR2とCCR3アンタゴニストの両方が、ヒトにおける臨床疾患の顕著な特徴であるナトリウムフルオロセインに対する血管透過性の増大の軽減に有効であることも証明することができる。これまでの文献のデータも、CNV発症の制御における抗VEGFR戦略とCCR3アンタゴニストアプローチの両方の局所的効果を裏付けている(Takeda et al., 2009)。少量の抗CCR3 mAbの局所的硝子体内送達またはCCR3のリガンドを標的とするMabの硝子体内投与という事実、および遺伝的に好酸球または肥満細胞を産生できないマウスでもレーザー誘導性のCNVの発生がなお可能であるという事実は、このようなCCR3機構が局所的であって、循環好酸球に依存しないということを強く主張している(Takeda et al., 2009)。また、このような文献の研究によれば、抗VEGFRによる齧歯類のCNVの制御が眼球内のCCR3保持細胞に影響を及ぼさなかった、また、レーザー誘導性CNVにおいて硝子体内抗CCR3 mAbを用いた試験はレーザー光凝固の後に誘導される硝子体のVEGFレベルに影響を及ぼさなかったという知見(Takeda et al., 2009)に基づけば、抗VEGFR機構とCCR3機構は独立したものであったことが示唆される。本発明者らのデータは、CCR3およびVEGFR2は両方とも単独でCNV病変体積、病変数およびCNV病変の血管透過性を限定することを証明し、これはこれまでに抗VEGFR治療薬に関して開示されているが、CCR3アンタゴニストに関して、CNV数および血管透過性に対する特異的効果が記載されたことはない。さらに、CNV病変体積、病変数およびCNV病変の血管透過性に対する抗VEGFR2 mAbとCCR3アンタゴニストアプローチの増強された組合せ効果も本発明において証明される。これらの病変は萎縮性網膜を背景として生じる(非血管型AMDおよび地図状萎縮型AMDを有する眼で起こる罹患率の高いCNV疾患と類似)ので、その後の自発的JRK5558モデルにおいて出現する病変の数に対するCCR3療法単独およびVEGF治療薬との組合せの効果を述べておくことも重要である。乾燥型または地図状萎縮型AMDの存在は、眼が新生血管型AMDへと移行する見込みに著しいリスクを与える。特に、JRK5558モデルは、ヒトにおける非血管型AMDの総ての特徴である網膜萎縮、網膜細胞のアポトーシス、および関連の炎症を示すとされている(データは示されていない)。硝子体内注射などの侵襲的処置が非血管型AMDから新生血管型AMDへの移行のリスクを防ぐための処置として適用可能であるとは考えにくいが、両眼を潜在的に保護すると思われる経口処置は全身適用または局所適用CCR3アンタゴニストを用いて企図可能である。CCR3アンタゴニストアプローチは、脈絡膜新生血管形成と血管透過性(これらは両方ともCNV病変の発生において重要な機構である)の制御において新規な特異的機構となり、この証拠の重みは、抗CCR3治療薬の効果が眼に局在すること、およびこれらの効果はVEGFにより媒介される非依存的作用機序を介したものであることを示唆する。最近のデータでは、VEGFおよびCCR3がヒト脈絡膜内皮細胞の、低分子GTPase rac1などの類似のシグナル伝達経路を活性化し得ること、およびこれらの2つの薬剤の効果は相加的であり得ることが証明されたが、CCR3経路とVEGF経路の両方の同時遮断がCNVの抑制に組合せ効果をもたらすということはまだ示されたことがない(Wang et al., 2011)。また、本発明者らは、CCR3は、高圧酸素により誘導される網膜新生血管形成の抑制に活性が無いが、抗VEGFR治療薬はこのモデルで極めて有効であることも実証し、CCR3機構の組織選択性が存在し得ることを示した。いくつかの組織における血管新生(Salcedo et al., 2001)および心臓由来内皮細胞培養物における血管透過性(Jama

10

20

30

40

50

Iuddin et al., 2009)を媒介する上での C C R 3 の全般的効果に最初に向けられた研究は、明らかに、総ての組織、実際には、眼の総ての組織、特に眼の血管新生部位および血管透過性増大部位に一般適用することができない。

#### 【 0 1 0 6 】

いくつかの実施形態では、C C R 3 を阻害する薬剤の最適用量は、C C R 3 の活性および／もしくは発現を低減する、例えば、核酸、例えば、C C R 3 遺伝子によりコードされているm R N A の発現を低減する、またはC C R 3 タンパク質の発現もしくは活性を低減する用量である。他の実施形態では、C C R 3 を阻害する薬剤の最適用量は、例えば、限定されるものではないが、新生血管型加齢黄斑浮腫および乾燥型または萎縮型A M D に続発する新生血管型加齢黄斑浮腫を含む眼疾患または障害の予防において最大の保護効果を生じる用量である。

10

#### 【 0 1 0 7 】

##### 組成物の処方

本明細書に開示される化合物、例えば、C C R 3 を阻害する薬剤は、医薬として使用可能であるか、または本明細書に開示される1以上の有用性を有する医薬組成物を処方するために使用可能である。それらはi n v i t r o において培養細胞に、i n v i v o において体内的細胞に、またはe x v i v o において個体外の細胞（この細胞は後に同じ個体または別の個体の体内に戻すことができる）に投与することができる。このような細胞は解離させることもできるし、または固体組織として提供することもできる。

20

#### 【 0 1 0 8 】

本明細書に開示される化合物、例えば、C C R 3 を阻害する薬剤は、医薬または他の医薬組成物を作製するために使用することができる。薬学上許容される担体をさらに含んでなるC C R 3 を阻害する薬剤、および個体にその組成物を送達するために有用な成分をさらに含んでなる組成物の使用は当技術分野で公知である。本明細書で開示される薬剤へのこのような担体および他の成分の添加は、十分に当技術分野の技術水準の範囲内である。

#### 【 0 1 0 9 】

医薬組成物は、血液脳関門の通過または内皮との直接的接触に適合した処方物として投与することができる。いくつかの実施形態では、本組成物は、全身送達に適合した処方物として投与することができる。いくつかの実施形態では、本組成物は、特定の器官、例えば、限定されるものではないが、肝臓、骨髄への送達または全身送達に適合した処方物として投与することができる。

30

#### 【 0 1 1 0 】

あるいは、医薬組成物は、e x v i v o において細胞の培養培地に添加することができる。活性化合物に加えて、このような組成物は、薬学上許容される担体および投与を助け、かつ／または取り込みを促進することができている他の成分（例えば、生理食塩水、ジメチルスルホキシド、脂質、ポリマー、親和性に基づく細胞特異的ターゲティング系）を含むことができる。本組成物は、ゲル、スポンジ、または他の浸透性マトリックス（例えば、ペレットまたはディスクとして形成されたもの）に組み込み、持続的局部的放出のために内皮に近接させることができる。本組成物は、単回用量で、または時間差で投与される複数用量で投与することができる。

40

#### 【 0 1 1 1 】

医薬組成物は任意の既知の経路によって投与することができる。例を挙げれば、本組成物は、粘膜経路、肺経路、局所経路、または他の限局的経路もしくは全身経路（例えば、経腸および非経口）により投与することができる。「非経口投与」および「非経口的に投与される」とは、本明細書で使用される場合、経腸および局所投与以外の、通常は注射による投与様式を意味し、限定されるものではないが、静脈内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、脳室内、囊内、眼窩内、心臓内、皮内の、腹腔内、経気管、皮下、皮内、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、脳脊髄内、および胸骨内の、限定されるものではないが、注射、注入およびその他の注射もしくは注入技術を含む。「全身投与」、「全身投与される」、「末梢投与」および「末梢投与される」とは、本明細書で使用される場合、動物の系

50

に入り、従って、代謝および他の同様のプロセスを受けるような、本明細書で開示される薬剤の投与、例えば、皮下投与を意味する。

【0112】

「薬学上許容される」とは、本明細書では、健全な医学的判断の範囲内で、過度な毒性、刺激作用、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症無く、妥当な利益／リスク比に見合って、ヒトおよび動物の組織との接触に使用するために好適な化合物、材料、組成物、および／または投与形を意味して用いられる。

【0113】

「薬学上許容される担体」とは、本明細書で使用される場合、ある器官または身体部分から別の器官または身体部分への対象薬剤の運搬または輸送に関与する、薬学上許容される材料、組成物またはビヒクル、例えば、液体または固体增量剤、希釀剤、賦形剤、溶媒または封入剤を意味する。各担体は、その処方物の他の成分と適合するという意味で「許容され」なければならず、例えば、担体は治療に対するその薬剤の影響を低下させない。言い換えれば、担体は、薬学的に不活性である。

10

【0114】

投与の量およびタイミング、処方、ならびに投与経路の好適な選択は、糖尿病性眼疾患またはそのリスクを有する被験体における好適な応答の達成（すなわち、有効性）、および毒性またはそれに対する他の害の回避（すなわち、安全性）を目的として行うことができる。従って、「有効な」とは、所望の効果を達成するための通常の条件操作を含むこのような選択を意味する。

20

【0115】

1日1回短時間で個体に投与される処方物のボーラスは、便宜な投与スケジュールである。あるいは、有効な一日用量は、投与の目的で複数回、例えば、1日当たり2～12回に分割することができる。医薬組成物中の有効成分の用量レベルはまた、化合物またはその誘導体の一時的または持続的濃度を達成するために、所望の治療奏功または保護をもたらすために変更可能である。しかし、所望の治療効果を達成するために必要なものよりも低いレベルで投与を開始すること、および所望の効果が達成されるまで用量を漸増させることもまた、当業者に技術の範囲内である。

30

【0116】

C C R 3 を阻害する薬剤の投与量は、化合物の生物活性およびバイオアベイラビリティ（例えば、体内での半減期、安定性、および代謝）；化合物の化学特性（例えば、分子量、疎水性、および溶解度）；投与の経路および計画などの当業者に公知の因子によって決まる。また、任意の特定の個体に対して達成されるべき特定の用量レベルは、齢、性、健康状態、病歴、体重、1以上の他の薬物との組合せ、および疾患の重篤度を含む様々な因子によって決まり得ると理解される。

40

【0117】

A M D の治療に関して「治療」という用語は、とりわけ、被験体における、疾患の発症の予防、または疾患の経過の変更（例えば、限定されるものではないが、疾患の進行の緩徐化）、または疾患の症状の逆転、または1以上の症状および／もしくは1以上の生化学マーカーの低減、1以上の症状の増悪または進行からの回避、回復の促進もしくは予後の改善、および／または非罹患被験体における疾患の予防、ならびに既存の疾患の緩徐化もしくは軽減を意味する。ある被験体に関して、症状の改善、その増悪、退縮、または進行は他覚的または自覚的尺度によって判定することができる。

【0118】

予防的方法（例えば、再発の防止または再発率の低減）もまた治療と考えられる。

【0119】

いくつかの実施形態では、治療はまた、他の既存の治療様式、例えば、糖尿病性眼疾患の治療のための既存の薬剤、例えば、抗 V E G F 治療薬（例えば、ルセンティス（商標）、アバスチン（商標）およびアフリバーセプト（商標））、ならびにステロイド類（例えば、トリアムシノロン）およびフルオシノロンアセトニドを含有するステロイドインプラ

50

ントとの組合せを含み得る。

【0120】

よって、CCR3を阻害する1以上の薬剤と1以上の他の医療行為との併用治療を実施することができる。

【0121】

さらに、治療はまた、CCR3の発現または活性を阻害するための複数の薬剤を含んでなり得る。

【0122】

併用療法を用いる場合、これらの治療薬は一緒にまたは別個に投与してもよい。併用療法の2種類以上の治療薬には同じ投与手段を用いてもよいし、あるいは、併用療法の異なる治療薬は異なる手段によって投与してもよい。治療薬が別個に投与される場合、それらは同時に、または任意の順序で、密な時間間隔および離れた時間間隔の両方で、逐次に投与することができる。所望の組合せ治療薬効果を達成するために、CCR3阻害化合物、および/または他の薬学上活性な1または複数の薬剤、例えば、抗VEGF治療薬の量、および投与の相対的タイミングが選択される。

10

【0123】

被験体に投与される量は好ましくは、その投与から得られる利点を上回る毒性作用を誘導しない量である。さらなる目的は、認知されている標準医療と比較して、個体における疾患の症状の数を少なくすること、重篤度を軽減すること、および/またはそうでなければそれらの症状からの苦痛を和らげることである。

20

【0124】

現行規制に従った化合物の製造は、政府当局（例えば、米国食品医薬品局）によって、優良試験所規範(good laboratory practices) (GLP) および優良製造規範(good manufacturing practices) (GMP) に関して規制される。これには正確かつ完全な記録管理ならびにQA/QCの監視が要求される。インフォームド・コンセントの取得を保証するために当局および施設内パネルによる患者プロトコールの監視も想定され；安全性、生物活性、適当用量、および製品の有効性が段階的に試験され；結果は統計学的に有意であり；倫理ガイドラインが遵守される。動物モデルを使用するプロトコール、ならびに毒性化学物質の使用に関する同様の監視、および規制遵守が求められる。

30

【0125】

CCR3の発現および/または活性の阻害を目的とする用量、処方、投与容量、投与計画、および結果の分析方法は多様であり得る。従って、最小および最大有効用量は投与方法によって異なる。AMDに関連する臨床的および組織学的变化の抑制は特定の用量範囲内で起こり得るが、しかしながらこれはその用量を受容する生物、投与経路、CCR3を阻害する薬剤が他の共刺激分子とともに投与されるかどうか、およびCCR3阻害剤の特定の投与計画によって異なる。例えば、一般に、鼻腔投与は、経口、経腸、直腸、または膜投与よりも低用量を要する。

【0126】

本発明とともに使用するための経口または経腸処方物に関して、錠剤は、当技術分野で周知の固体担体を使用する従来の手順に従って処方することができる。本発明の方法とともに使用される経口処方物用いられるカプセル剤は、ゼラチンまたはセルロース誘導体などの薬学上許容される任意の材料から製造することができる。米国特許第4,704,295号明細書、"Enteric Film-Coating Compositions," (1987年11月3日発行)；米国特許第4,556,552号明細書、"Enteric Film-Coating Compositions," (1985年12月3日発行)；米国特許第4,309,404号明細書、"Sustained Release Pharmaceutical Compositions," (1982年1月5日発行)；および米国特許第4,309,406号明細書、"Sustained Release Pharmaceutical Compositions," (1982年1月5日発行)に記載されているものなど、経口投与される投与形に関する徐放性経口送達系および/または腸溶コーティングも企図される。

40

【0127】

50

CCR3阻害剤によるAMDの治療はまた、局所的点眼剤、眼周囲注射（例えば、テノン嚢下）としての、または硝子体内注射による、またはイオン泳動、能動的もしくは受動的に薬物を送達することができる眼周囲デバイスを用いた局所投与であり得る。薬物の徐放性はまた、固体インプラント（生分解性であってもなくてもよい）または生分解性ポリマー・マトリックス（例えば、微粒子）などの技術の使用によっても達成され得る。これらは眼周囲または硝子体内のいずれかに投与することができる。

【0128】

局所投与に適合した医薬製剤は、軟膏、クリーム、懸濁液、ローション、散剤、溶液、ペースト、ゲル、スプレー、エアゾールまたはオイルとして処方することができる。

【0129】

眼または他の外部組織、例えば、口腔および皮膚の治療には、これらの処方物を局所的軟膏またはクリームとして塗布することができる。軟膏として処方される場合、本有効成分はパラフィン基剤または水混和性軟膏基剤のいずれとともに使用してもよい。あるいは、本有効成分は、水中油型クリーム基剤または油中水型基剤基とともにクリームとして処方してもよい。

【0130】

眼への局所投与に適合した医薬製剤としては、有効成分が好適な担体、特に、水性溶媒に溶解または懸濁された点眼剤が含まれる。眼に投与される処方物は、眼科的に適合するpHおよびモル浸透圧濃度を有する。1以上の眼科的に許容されるpH調整剤および/または緩衝剤が本発明の組成物が含まれてもよく、酢酸、ホウ酸、クエン酸、乳酸、リン酸および塩酸などの酸；水酸化ナトリウム、リン酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、および乳酸ナトリウムなどの塩基；ならびにクエン酸/デキストロース、重炭酸ナトリウムおよび塩化アンモニウムなどの緩衝剤が挙げられる。このような酸、塩基、および緩衝剤は、組成物のpHを眼科的に許容される範囲に維持するために必要とされる量で含むことができる。1以上の眼科的に許容される塩が、組成物のモル浸透圧濃度を眼科的に許容される範囲とするために十分な量で組成物に含まれてもよい。このような塩としては、ナトリウム、カリウムまたはアンモニウム陽イオンと、塩化物、クエン酸、アスコルビン酸、ホウ酸、リン酸、重炭酸、硫酸、チオ硫酸または重亜硫酸陰イオンを有するものが挙げられる。

【0131】

眼用送達デバイスは、複数の所定放出速度および持続的投与速度論・透過性を備えた1以上の治療薬制御放出向けに設計することができる。制御放出は、生分解性/生腐食性ポリマー（例えば、ポリ（エチレンビニル）アセテート（EVA）、超加水分解(superhydrated) PVA）、ヒドロキシアルキルセルロース（HPC）、メチルセルロース（MC）、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、ポリカプロラクトン、ポリ（グリコール）酸、ポリ（乳）酸、ポリ無水物、ポリマー分子量、ポリマー結晶度、コポリマー比、処理条件、表面仕上げ、幾何学、賦形剤の添加および薬物の拡散、腐食、溶解および浸透を促進するポリマーコーティングの種々の選択および特性を組み込んだポリマー・マトリックスの設計によって得ることができる。

【0132】

眼用デバイスを用いる薬物送達のための処方は、示された投与経路に適当な1以上の活性薬剤とアジュバントを合わせればよい。例えば、活性薬剤は、任意の薬学上許容される賦形剤、ラクトース、スクロース、デンプン粉末、アルカン酸のセルロースエステル、ステアリン酸、タルク、ステアリン酸マグネシウム、酸化マグネシウム、リン酸および硫酸のナトリウムおよびカルシウム塩、アラビアガム、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリジン、および/またはポリビニルアルコールと混合し、従来の投与向けに打錠またはカプセル封入すればよい。あるいは、これらの化合物は、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、カルボキシメチルセルロースコロイド溶液、エタノール、トウモロコシ油、落花生油、綿実油、ゴマ油、トラガカントガム、および/または種々のバッファーに溶解させてもよい。これらの化合物はまた、生分解性および非生分解性の両

10

20

30

40

50

方のポリマーの組成物、および遅延特性を有する担体または希釈剤と混合してもよい。生分解性組成物の代表例としては、アルブミン、ゼラチン、デンプン、セルロース、デキストラン、多糖、ポリ(D,L-ラクチド)、ポリ(D,L-ラクチド-コ-グリコリド)、ポリ(グリコリド)、ポリ(ヒドロキシ酪酸)、ポリ(アルキル炭酸)およびポリ(オルトエステル)ならびにそれらの混合物を含み得る。非生分解性ポリマーの代表例としては、EVAコポリマー、シリコーンゴムおよびポリ(メチルアクリル酸)、およびそれらの混合物を含み得る。

【0133】

眼送達用の医薬組成物はまた、in situゲル化水性組成物も含む。このような組成物はゲル化剤を、眼または涙液と接触した際にゲル化を促進するために効果的な濃度で含んでなる。好適なゲル化剤としては、限定されるものではないが、熱硬化性ポリマーが挙げられる。用語「in situゲル化」は、本明細書で使用される場合、眼または涙液と接触した際にゲルを形成する低粘度の液体を含むだけでなく、眼に投与した際に粘度またはゲル硬度の実質的増大を示す半流体およびチキソトロピーゲルなどのより粘稠な液体も含む。例えば、眼への薬物送達において使用するためのポリマーの例を教示する目的で引用することにより本明細書の一部とするLudwig (2005) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 3;57:1595-639を参照。

10

【0134】

参照文献

ここに、また本出願中に引用される参照文献は、引用することにより本明細書の一部とされる。

20

【0135】

## 【表18】

- [1] Salcedo R, Young HA, Ponce ML, Ward JM, Kleinman HK, Murphy WJ, Oppenheim JJ. *Eotaxin (CCL11) induces in vivo angiogenic responses by human CCR3+ endothelial cells*, J Immunol, Jun 15; 166(12):7571-8 (2001). Erratum in: J Immunol Jan 1; 168(1):511 (2002).
- [2] Jamaluddin MS, Wang X, Wang H, Rafael C, Yao Q, Chen C. *Eotaxin increases monolayer permeability of human coronary artery endothelial cells*, Arterioscler Thromb Vasc Biol, Dec; 29(12):2146-52 (2009). 10
- [3] Mo FM, Proia AD, Johnson WH, Cyr D, Lashkari K. *Interferon gamma-inducible protein-10 (IP-10) and eotaxin as biomarkers in age-related macular degeneration*, Invest Ophthalmol Vis Sci, Aug; 51(8):4226-36 (2010). Epub 2010 Mar 10, 2010. 20
- [4] Takeda A, Baffi JZ, Kleinman ME, Cho WG, Nozaki M, Yamada K, Kaneko H, Albuquerque RJ, Dridi S, Saito K, Raisler BJ, Budd SJ, Geisen P, Munitz A, Ambati BK, Green MG, Ishibashi T, Wright JD, Humbles AA, Gerard CJ, Ogura Y, Pan Y, Smith JR, Grisanti S, Hartnett ME, Rothenberg ME, Ambati J. *CCR3 is a target for age-related macular degeneration diagnosis and therapy*, Nature, Jul 9; 460(7252):225-30 (2009). Epub 2009 Jun 14, 2009. 30
- [5] Mizutani et al., ARVO abstract 2011, A386
- [6] Li Y, Huang D, Xia X, Wang Z, Luo L, Wen R. *CCR3 and choroidal neovascularization*, PLoS One, Feb 15; 6(2):e17106 (2011).
- [7] Liclican EL, Nguyen V, Sullivan AB, Gronert K. *Selective activation of the prostaglandin E2 circuit in chronic injury-induced pathologic angiogenesis*, Invest Ophthalmol Vis Sci, Dec; 51(12):6311-20. Epub 2010 Jul 7, 2010. 40

[8] Sato T, Kusaka S, Shimojo H, Fujikado T; *Simultaneous analyses of vitreous levels of 27 cytokines in eyes with retinopathy of prematurity*, Ophthalmology, Nov;116(11):2165-9. Epub 2009 Aug 22, 2009.

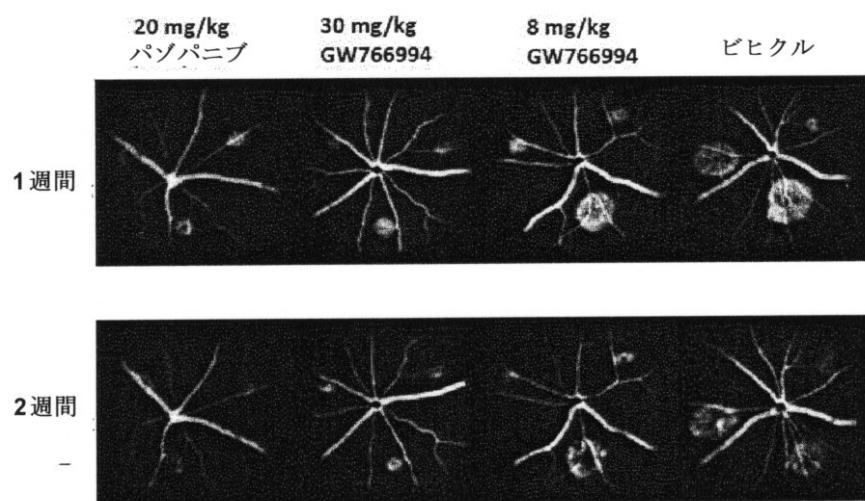
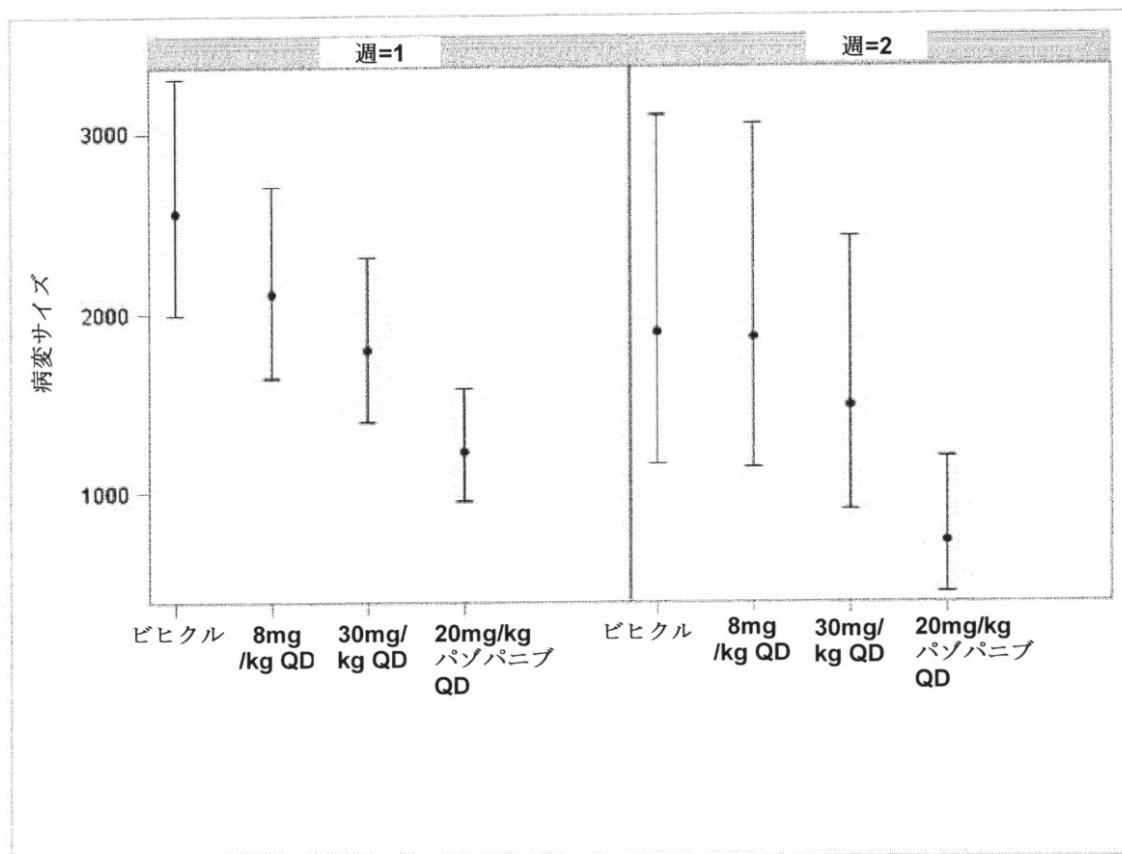
[9] Wang H, Wittchen ES, Jiang Y, Ambati B, Grossniklaus HE, Hartnett ME. 2011

*Upregulation of CCR3 by age-related stresses promotes choroidal endothelial cell migration via VEGF-dependent and independent signalling*. Invest Ophthalmol Vis Sci.

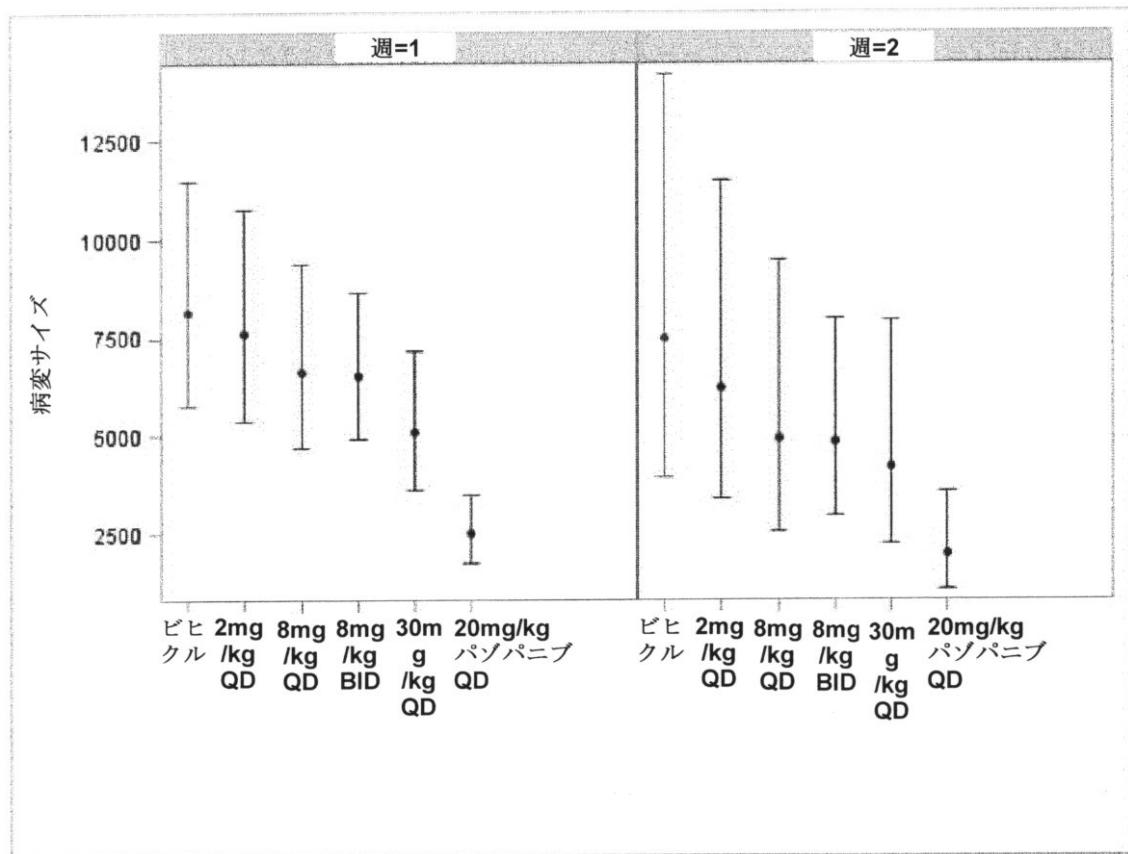
Sep 14

[10] Shen, J., Xie, B., Dong, A., Swaim, M., Hackett, S. F., Campochiaro, P. A. (2007) *In vivo immunostaining demonstrates macrophages associate with growing and regressing vessels*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 48, 4335-4341.

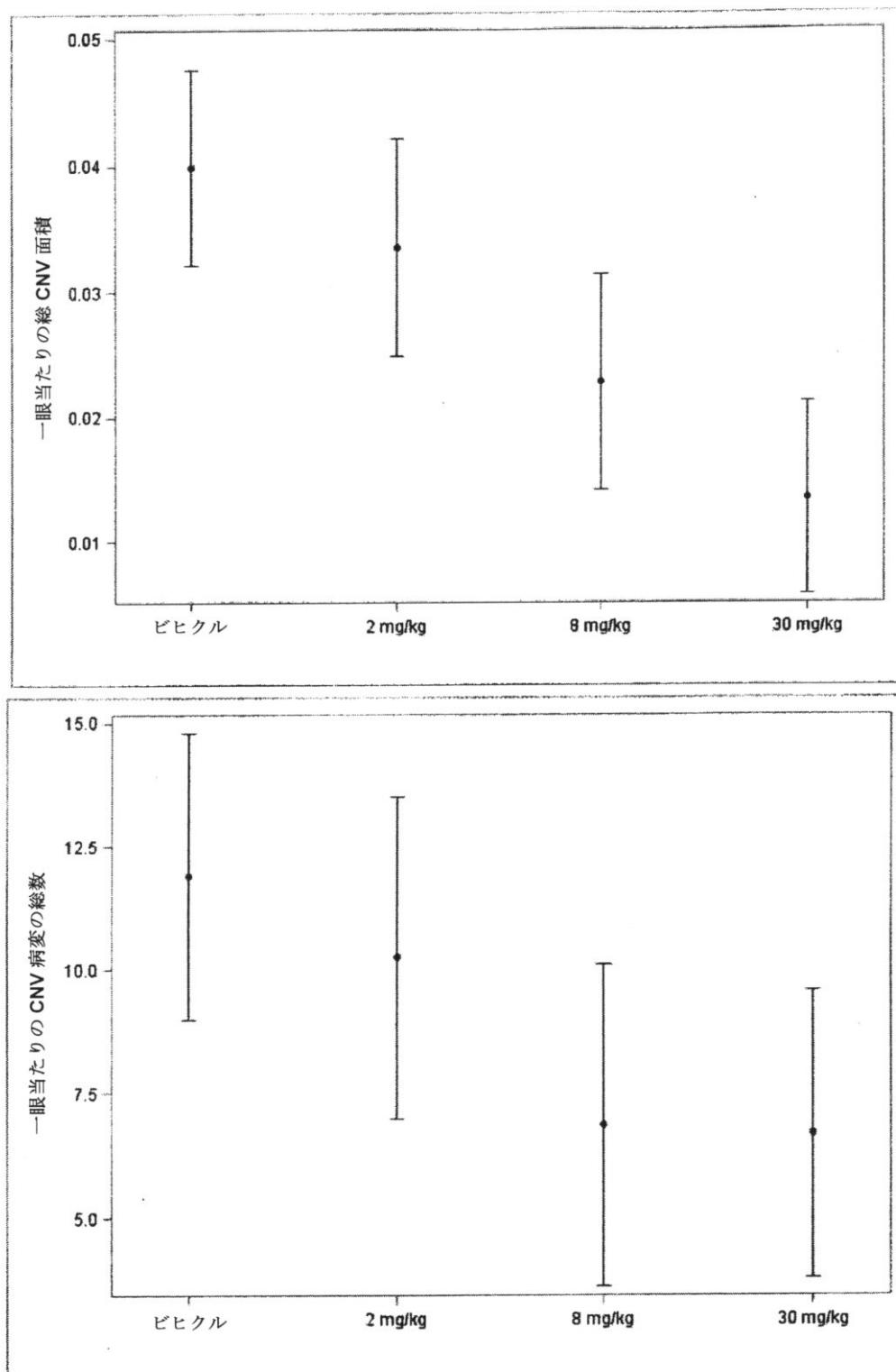
【図1】



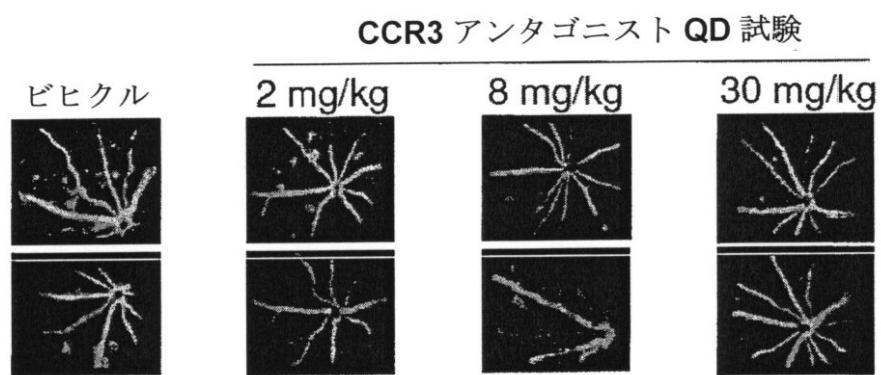
【図2】



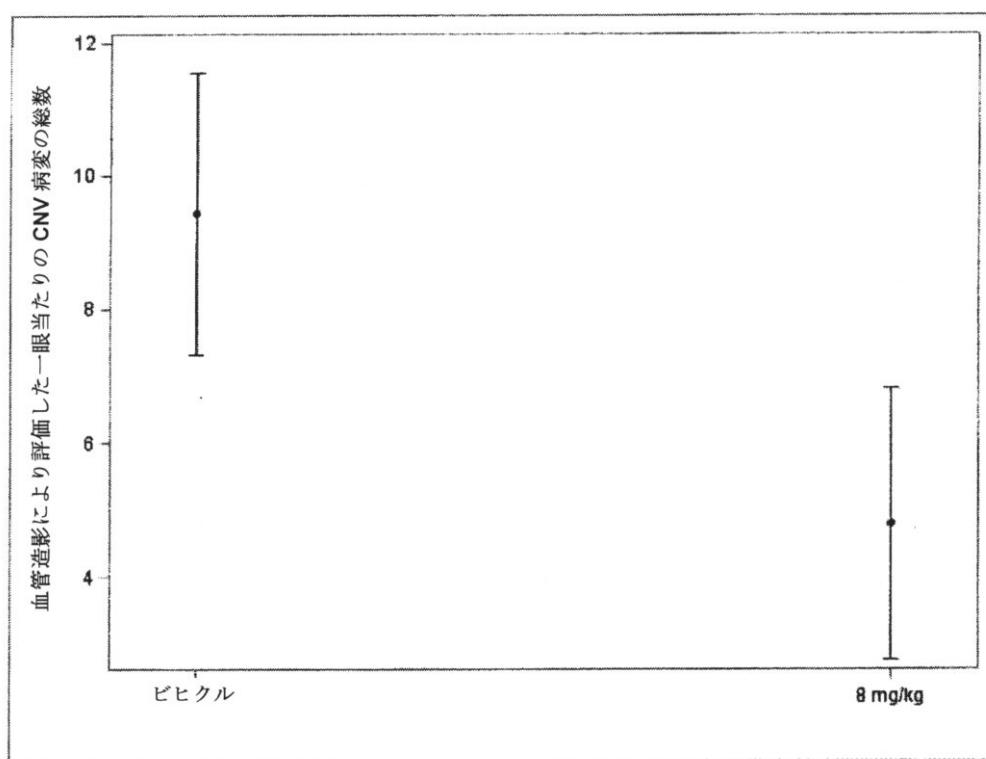
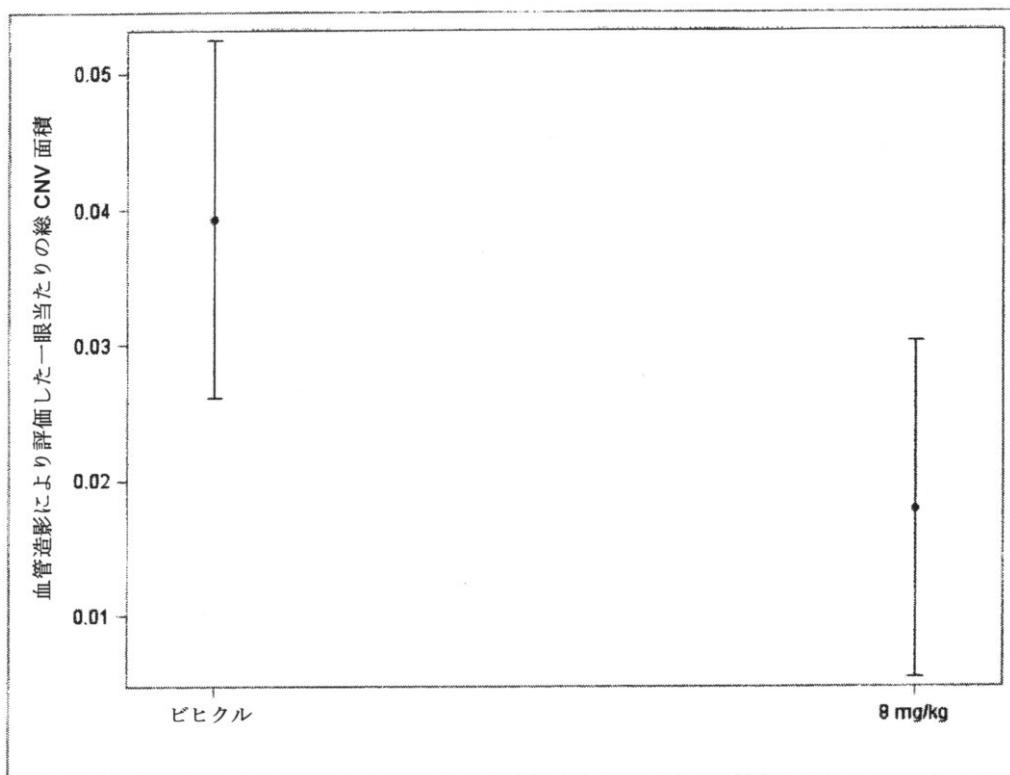
【図3-1】



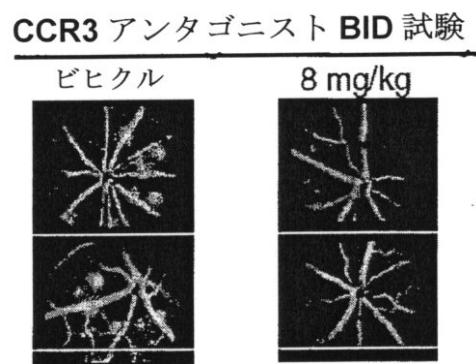
【図 3 - 2】



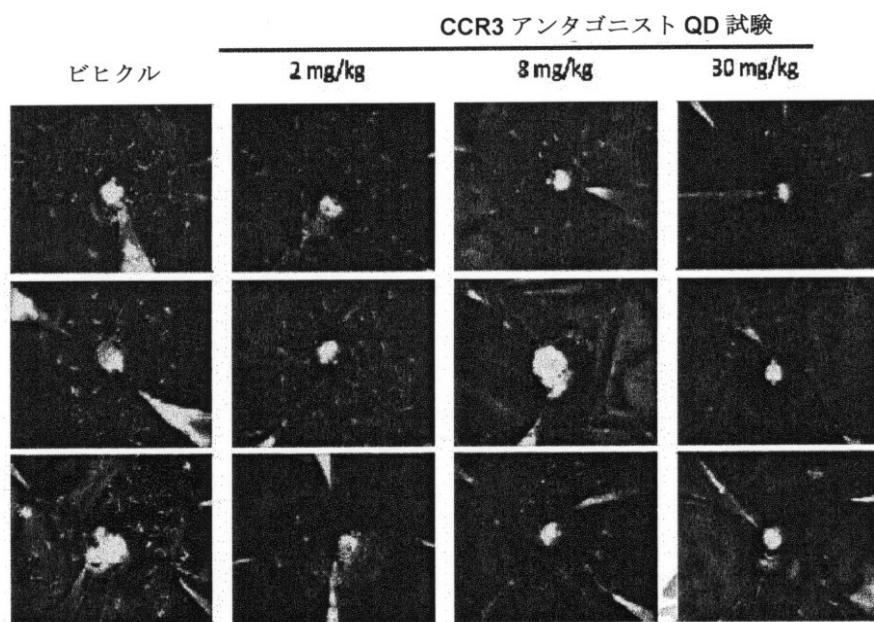
【図 4 - 1】



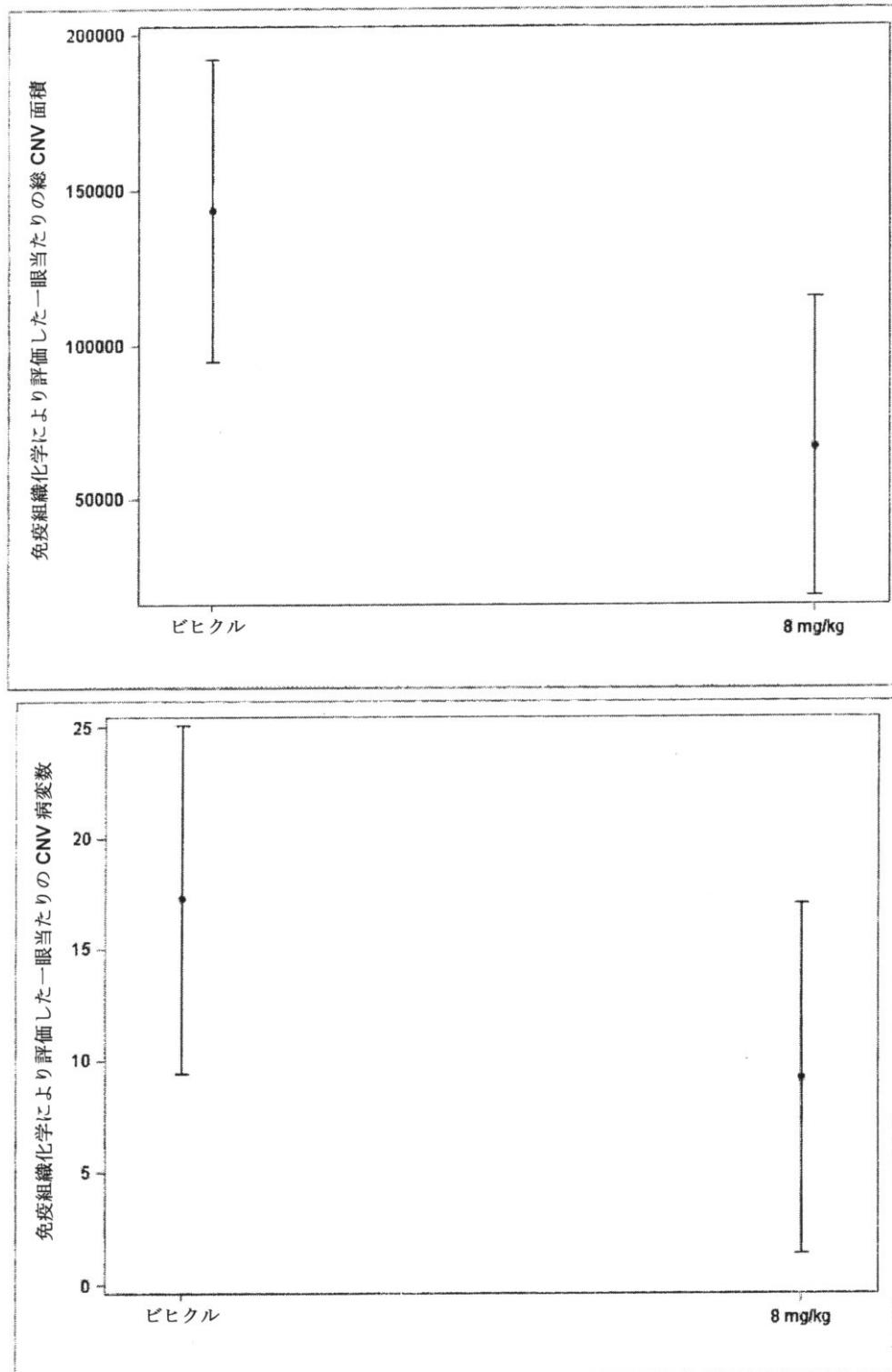
【図4-2】



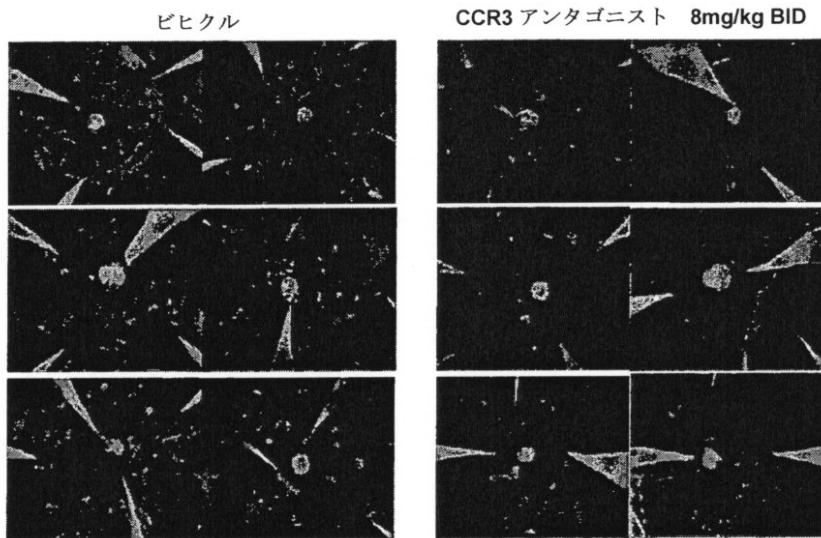
【図5】



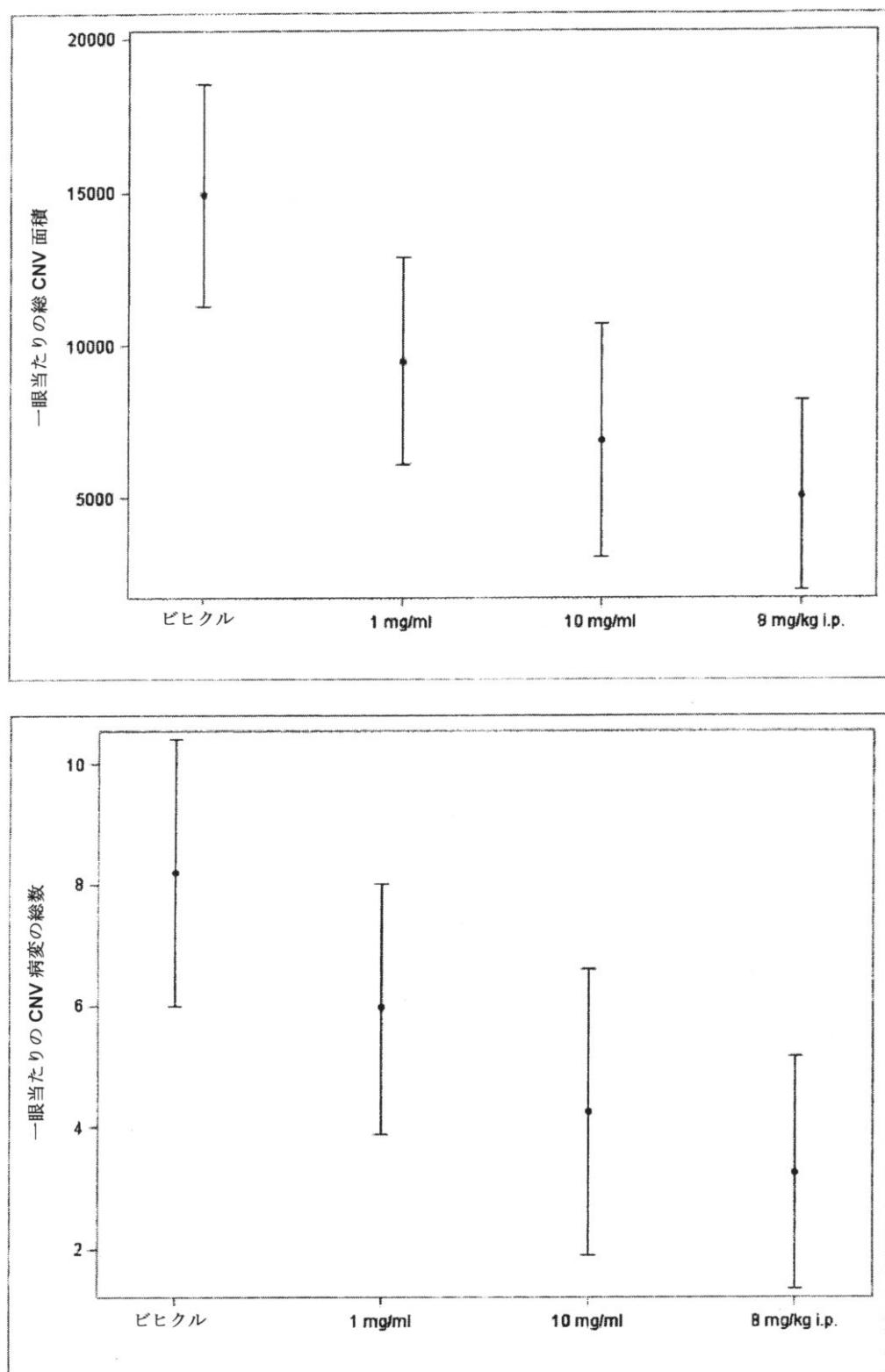
【図 6 - 1】



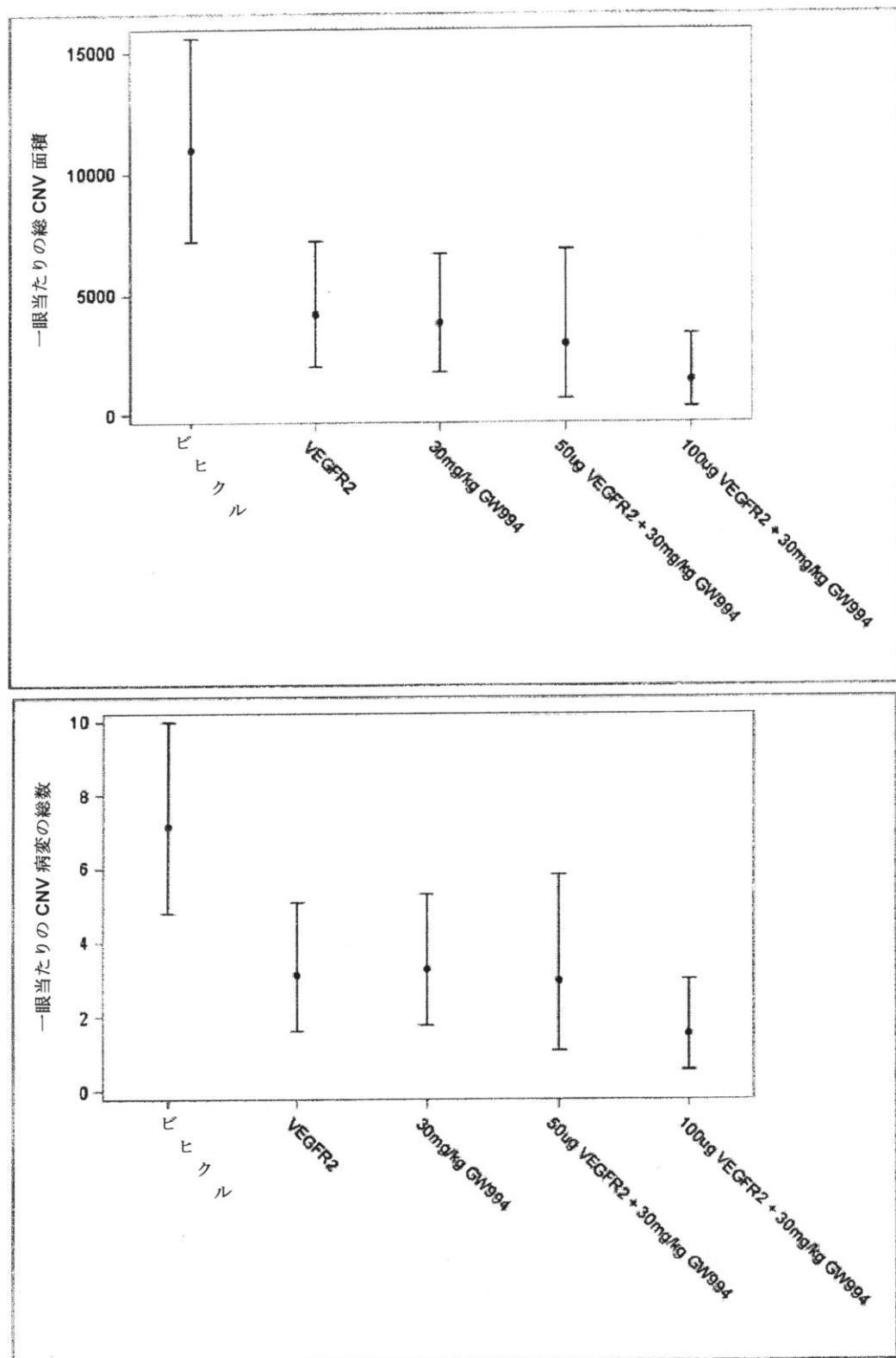
【図 6 - 2】



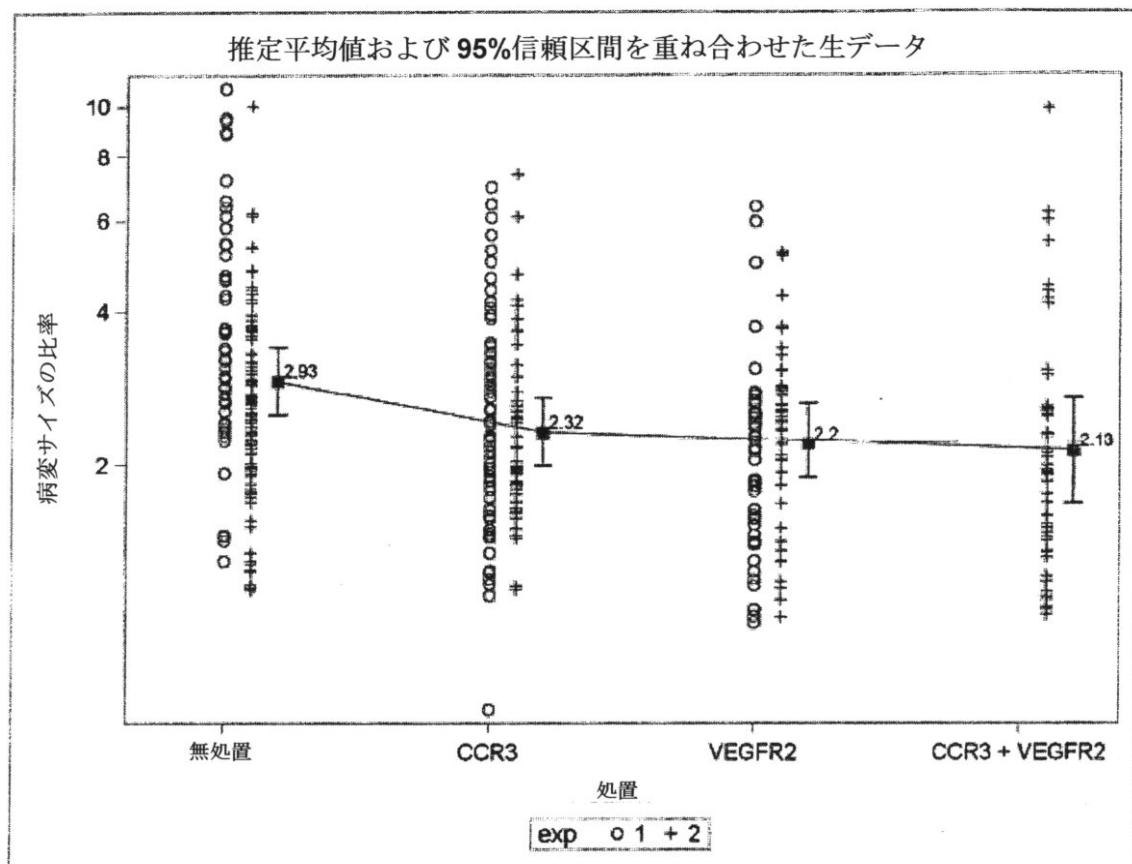
【図7】



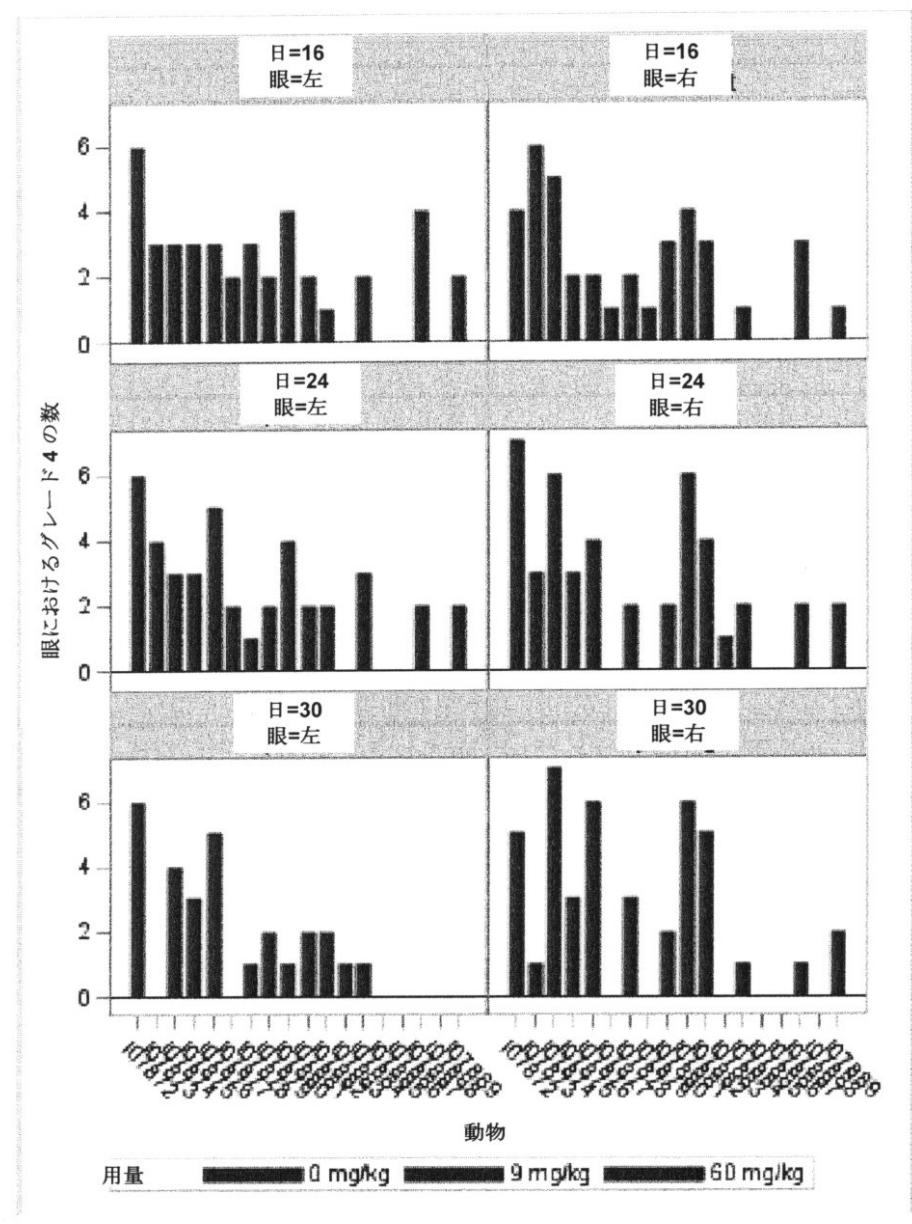
【図8】



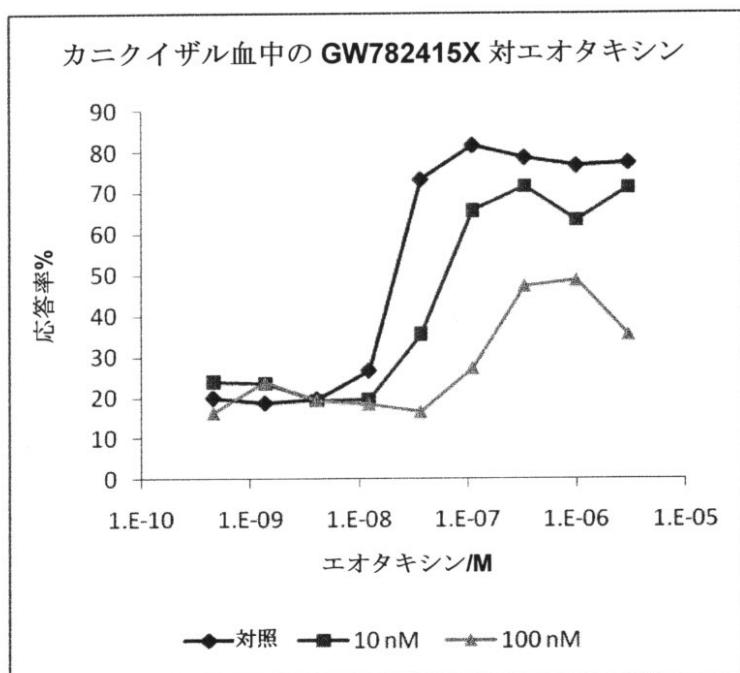
【図9】



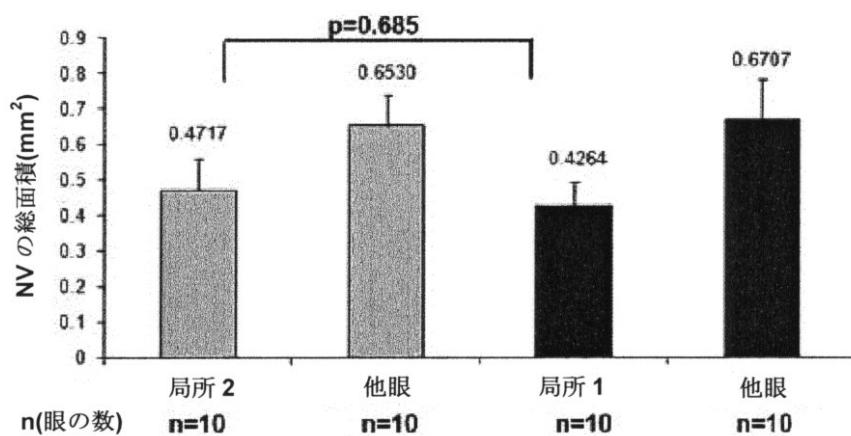
【図 10】



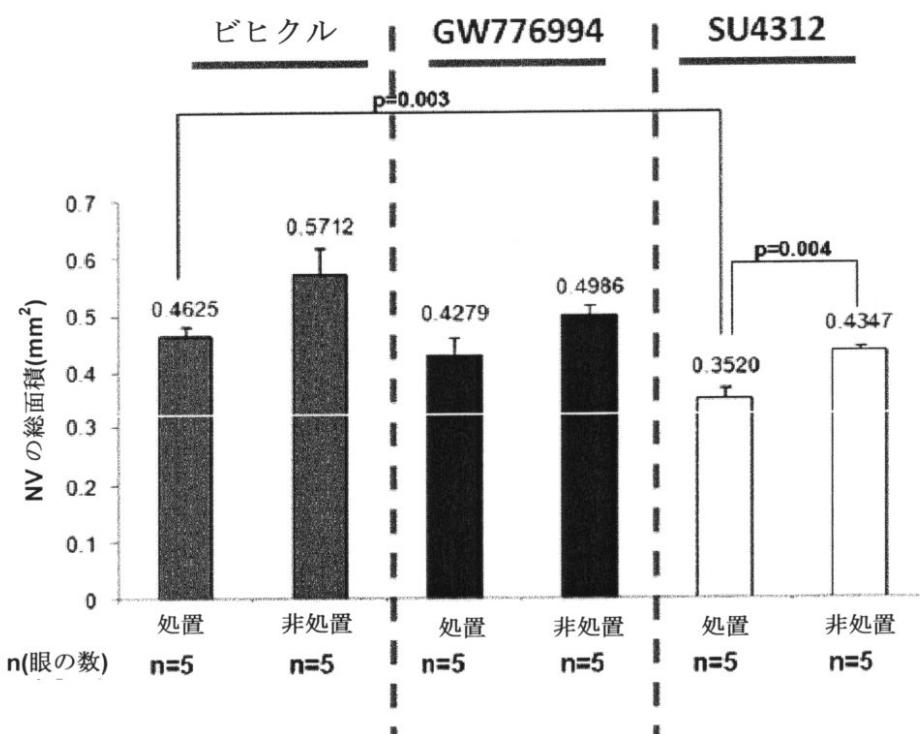
【図 1 1】



【図 1 2】



【図13】



## 【手続補正書】

【提出日】平成26年8月27日(2014.8.27)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

眼の新生血管型障害の治療および／または予防に用いるための、CCR3タンパク質の発現および／または活性を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物。

## 【請求項2】

前記眼の新生血管型障害が新生血管型AMDである、請求項1に記載の医薬組成物。

## 【請求項3】

AMDの治療および／または予防に用いるための、CCR3タンパク質の発現および／または活性を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物。

## 【請求項4】

前記AMDが乾燥型または地図状萎縮型AMDである、請求項3に記載の医薬組成物。

## 【請求項5】

CCR3タンパク質の発現および／または活性の阻害がAMDの症状を軽減または停止する、請求項3に記載の医薬組成物。

## 【請求項6】

AMDの治療および／または予防に用いるためのCCR3タンパク質の発現および／または活性を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物であって、CCR3タンパク質の阻害がAMDの症状を軽減または停止し、さらに前記薬剤と抗VEGF阻害剤とを組み合わせて

用いる、医薬組成物。

【請求項 7】

前記薬剤が 4 - [ [ [ [ ( 2 s ) - 4 - [ ( 3 , 4 - ジクロロフェニル ) メチル ] - 2 - モルホリニル ] メチル ] - アミノ ] カルボニル ] - アミノ ] メチル ] ベンズアミドまたはその薬学上許容される塩である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記薬剤が N - [ [ ( 2 S ) - 4 - [ ( 3 , 4 - ジフルオロフェニル ) メチル ] - 2 - モルホリニル ] - メチル ] - 3 - [ ( メチルスルホニル ) アミノ ] - ベンゼンアセトアミド、またはその薬学上許容される塩である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記薬剤とさらに付加的治療薬とを組合せて用いる、請求項 1 ~ 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

前記付加的治療薬が、パゾパニブ、ルセンティス（商標）、アバスチン（商標）、およびアフリバーセプト（商標）から選択される抗 VEGF 阻害剤である、請求項 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

脈絡膜新生血管形成および / または続発する脈絡膜血管透過性の増大を発症するリスクのある被験体において、萎縮性網膜を背景とする CNV 病変の発症の予防に用いるための、CCR3 タンパク質の発現および / または活性を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物であって、前記薬剤が単独で、または抗 VEGF 阻害剤と組み合わせて用いることができる、医薬組成物。

【請求項 12】

萎縮型・非血管型 AMD から新生血管型 AMD への移行の予防に用いるための、CCR3 タンパク質の発現および / または活性を阻害する薬剤を含んでなる医薬組成物であって、前記薬剤が単独で、または抗 VEGF 阻害剤と組み合わせて用いることができる、医薬組成物。

【請求項 13】

前記薬剤が 4 - [ [ [ [ ( 2 s ) - 4 - [ ( 3 , 4 - ジクロロフェニル ) メチル ] - 2 - モルホリニル ] メチル ] - アミノ ] カルボニル ] - アミノ ] メチル ] ベンズアミドまたはその薬学上許容される塩である、請求項 11 または 12 に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

前記薬剤が N - [ [ ( 2 S ) - 4 - [ ( 3 , 4 - ジフルオロフェニル ) メチル ] - 2 - モルホリニル ] - メチル ] - 3 - [ ( メチルスルホニル ) アミノ ] - ベンゼンアセトアミド、またはその薬学上許容される塩である、請求項 11 または 12 に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

前記薬剤とさらに付加的治療薬とを組合せて用いる、請求項 11 または 12 に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

前記付加的治療薬が、パゾパニブ、ルセンティス（商標）、アバスチン（商標）、およびアフリバーセプト（商標）から選択される抗 VEGF 阻害剤である、請求項 15 に記載の医薬組成物。

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2012/074156

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. A61K31/395 A61K31/5375 A61P27/02  
ADD.

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)  
A61K A61P

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)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, SCISEARCH, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2009/123375 A1 (AMBATTI JAYAKRISHNA [US]) 14 May 2009 (2009-05-14)  paragraph [0006] - paragraph [0045]; claims; figures; examples -----	1-6, 8-13, 16-18
X	US 2007/190055 A1 (AMBATTI JAYAKRISHNA [US]) 16 August 2007 (2007-08-16)  paragraph [0005] - paragraph [0034]; claims; examples -----	1-6, 8-13,17, 18
X	US 2010/261687 A1 (GRUNDL MARC [DE] ET AL) 14 October 2010 (2010-10-14)  paragraph [0691] - paragraph [0695]; claim 11 -----	1-3,5,6, 12,13, 17,18 -/-

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent 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

Date of mailing of the international search report

14 March 2013

08/04/2013

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Venturini, Francesca

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/074156

## C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>TAKEDA A; BAFFI JZ; KLEINMAN ME; CHO WG; NOZAKI M; YAMADA K; KANEKO H; ALBUQUERQUE RJ; DRIDI S; SAITO K: "CCR3 is a target for age-related macular degeneration diagnosis and therapy", NATURE, vol. 460, no. 7252, 14 June 2009 (2009-06-14), XP002693828, DOI: 10.1038/nature08151 cited in the application Pages 225-230, Methods. the whole document</p> <p>-----</p>	1-3,5,6, 8,9,12, 13,17,18
A	<p>WO 03/082291 A1 (GLAXO GROUP LTD [GB]; ANCLIFF RACHAEL ANN [GB]; COOK CAROLINE MARY [GB] 9 October 2003 (2003-10-09) claims</p> <p>-----</p>	1-18
A	<p>WO 03/082293 A1 (GLAXO GROUP LTD [GB]; COOK JOHN SPENCER [GB]; LANDON ROBERT PHILIP [GB] 9 October 2003 (2003-10-09) claims</p> <p>-----</p>	1-18

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No  
PCT/EP2012/074156

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
US 2009123375	A1 14-05-2009	US 2009123375 A1		14-05-2009
		US 2011268723 A1		03-11-2011
US 2007190055	A1 16-08-2007	US 2007190055 A1		16-08-2007
		WO 2007098113 A2		30-08-2007
US 2010261687	A1 14-10-2010	AR 076228 A1		26-05-2011
		AU 2010233849 A1		18-08-2011
		CA 2753151 A1		14-10-2010
		CN 102388032 A		21-03-2012
		CO 6501183 A2		15-08-2012
		EA 201101398 A1		30-04-2012
		EC SP11011427 A		30-11-2011
		EP 2417120 A1		15-02-2012
		JP 2012514024 A		21-06-2012
		KR 20120034590 A		12-04-2012
		MA 33178 B1		02-04-2012
		PE 01352012 A1		29-02-2012
		SG 175079 A1		28-11-2011
		TW 201103901 A		01-02-2011
		US 2010261687 A1		14-10-2010
		US 2013023517 A1		24-01-2013
		UY 32547 A		30-11-2010
		WO 2010115836 A1		14-10-2010
WO 03082291	A1 09-10-2003	AR 039177 A1		09-02-2005
		AT 454892 T		15-01-2010
		AU 2003216905 A1		13-10-2003
		BR 0308719 A		04-01-2005
		CA 2479910 A1		09-10-2003
		CN 1642553 A		20-07-2005
		EP 1487453 A1		22-12-2004
		ES 2339436 T3		20-05-2010
		IS 7415 A		19-08-2004
		JP 4490110 B2		23-06-2010
		JP 2005525390 A		25-08-2005
		MX PA04009458 A		27-07-2005
		US 2006058299 A1		16-03-2006
		WO 03082291 A1		09-10-2003
		ZA 200406990 A		08-11-2005
WO 03082293	A1 09-10-2003	AR 039179 A1		09-02-2005
		AT 317698 T		15-03-2006
		AU 2003226761 A1		13-10-2003
		BR 0308480 A		18-01-2005
		CA 2479912 A1		09-10-2003
		CN 1642554 A		20-07-2005
		DE 60303603 T2		26-10-2006
		EP 1487456 A1		22-12-2004
		ES 2258724 T3		01-09-2006
		IS 7432 A		31-08-2004
		JP 2005526808 A		08-09-2005
		MX PA04009456 A		25-01-2005
		US 2006089497 A1		27-04-2006
		WO 03082293 A1		09-10-2003
		ZA 200407463 A		12-10-2005

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
<b>A 6 1 K 31/506 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/506	
<b>A 6 1 K 39/395 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/395	N

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, T M), 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, 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, H U, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(74)代理人 100176083

弁理士 松山 祐子

(72)発明者 ピーター、アダムソン

イギリス国ハートフォードシャー、スティーブネッジ、ガネルズ、ウッド、ロード、グラクソsmithkline

(72)発明者 ディビッド、シャイマ

イギリス国ロンドン、バス、ストリート、11-43、ユーシーエル、インスティチュート、オブ、オフサルモロジー

(72)発明者 イン、シャン、エリック、ウン

イギリス国ロンドン、バス、ストリート、11-43、ユーシーエル、インスティチュート、オブ、オフサルモロジー

F ターム(参考) 4C084 AA17 AA19 AA20 AA23 AA24 MA52 MA55 MA66 NA05 NA14

ZA331 ZA332 ZC201 ZC202

4C085 AA14 CC23 EE01 EE03 GG01 GG08 GG10

4C086 AA01 AA02 BC42 BC73 GA07 MA01 MA02 MA03 MA04 MA07

NA05 NA14 ZA33 ZC20