

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5111716号
(P5111716)

(45) 発行日 平成25年1月9日(2013.1.9)

(24) 登録日 平成24年10月19日(2012.10.19)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 38/27 (2006.01)	A 6 1 K 37/36
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P 25/14 (2006.01)	A 6 1 P 25/14
A 6 1 P 25/16 (2006.01)	A 6 1 P 25/16
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28

請求項の数 15 (全 10 頁)

(21) 出願番号	特願2002-522924 (P2002-522924)	(73) 特許権者	503195056
(86) (22) 出願日	平成13年8月28日 (2001. 8. 28)		オーロジエン・インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2004-513884 (P2004-513884A)		アメリカ合衆国、コロラド・80522、
(43) 公表日	平成16年5月13日 (2004. 5. 13)		フオート・コリンズ、ピー・オー・ボック
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/026750		ス・ビー
(87) 国際公開番号	W02002/017951	(74) 代理人	100062007
(87) 国際公開日	平成14年3月7日 (2002. 3. 7)		弁理士 川口 義雄
審査請求日	平成20年8月27日 (2008. 8. 27)	(74) 代理人	100103920
(31) 優先権主張番号	60/228, 633		弁理士 大崎 勝真
(32) 優先日	平成12年8月29日 (2000. 8. 29)	(72) 発明者	イシイ, ダグラス・エヌ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国、コロラド・80535、
前置審査			ラポート、ローハイド・ドライブ・330 1
		審査官	深草 亜子
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 IGFの構造的アナログを投与することによる中枢神経系の治療方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

中枢神経系を治療するための医薬組成物であって、
中枢神経系におけるニューロン損傷を治療または防止するのに有効量のIGFの構造的アナログを含み、

IGFの構造的アナログが、ヒトdes(1-3)IGF-I、ヒト[Leu24]IGF-I、またはヒト[Leu60]IGF-Iであり、

IGFの構造的アナログが、非頭蓋内投与および非脊柱内投与によって投与される、前記医薬組成物。

【請求項2】

中枢神経系に対するニューロン損傷が、出生後の脳または脊髄における障害または疾患に帰因する、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項3】

脳におけるニューロン損傷が、アルツハイマー病、パーキンソン病、AIDS関連痴呆、老人性痴呆、脳卒中、トラウマ、皮質基底神経節症候群、進行性痴呆、痙攣性不全対麻痺を伴う家族性痴呆、進行性核上麻痺、多発性硬化症、肝性脳症、ピック病、ハンチントン病、シルダーの汎発性脳性硬化症、または急性壊死性出血性脳脊髄炎のためである、請求項1または2に記載の医薬組成物。

【請求項4】

IGFの構造的アナログが、0.01μg/kg/日~4mg/kg/日の量で投与さ

れる、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

I G F の構造的アナログが、局所、経皮、皮下、静脈内、筋肉内、動脈内または腹腔内経路の送達により投与される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

I G F の構造的アナログが、皮下に設置されたカテーテルを経由して、一定または可変速度の注入ポンプからの送達により投与される、請求項 1 または 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

I G F の構造的アナログが、生分解性の化学的組成物またはポリマーからの一定な皮下放出により投与される、請求項 1 または 3 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 8】

I G F の構造的アナログが、好適なプロモーターを含み且つ前記 I G F 構造的アナログをコードする合成遺伝子をヒト体内に導入することにより投与される、請求項 1 または 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

出生後の中枢神経系におけるニューロン損傷を治療または防止するための医薬の製造における、I G F の構造的アナログの使用であって、

I G F の構造的アナログが、ヒト d e s (1 - 3) I G F - I、ヒト [L e u 2 4] I G F - I、またはヒト [L e u 6 0] I G F - I であり、

I G F の構造的アナログが、非頭蓋内投与および非脊柱内投与によって投与される、前記使用。

20

【請求項 10】

脳におけるニューロン損傷が、アルツハイマー病、パーキンソン病、A I D S 関連痴呆、老人性痴呆、脳卒中、トラウマ、皮質基底神経節症候群、進行性痴呆、痙攣性不全対麻痺を伴う家族性痴呆、進行性核上麻痺、多発性硬化症、肝性脳症、ピック病、ハンチントン病、シルダーの汎発性脳性硬化症、または急性壊死性出血性脳脊髄炎のためである、請求項 9 に記載の使用。

【請求項 11】

I G F の構造的アナログが、 $0.01 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日} \sim 4 \text{mg} / \text{kg} / \text{日}$ の量で投与される、請求項 9 に記載の使用。

30

【請求項 12】

I G F の構造的アナログが、局所、経皮、皮下、静脈内、筋肉内、動脈内または腹腔内経路の送達により投与される、請求項 9 に記載の使用。

【請求項 13】

I G F の構造的アナログが、皮下に設置されたカテーテルを経由して、一定または可変速度の注入ポンプからの送達により投与される、請求項 9 または 10 に記載の使用。

【請求項 14】

I G F の構造的アナログが、生分解性の化学的組成物またはポリマーからの一定な皮下放出により投与される、請求項 9 または 10 に記載の使用。

【請求項 15】

40

I G F の構造的アナログが、好適なプロモーターを含み且つ前記 I G F 構造的アナログをコードする合成遺伝子をヒト体内に導入することにより投与される、請求項 9 または 10 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本特許出願は米国仮特許出願第 60 / 228, 633 号 (2000 年 8 月 29 日出願) に基づく。

【0002】

合衆国政府は、国立神経障害・脳卒中研究所 (National Institute of Neurological Disorders and Stroke) 補助金番号 5 R O 1 N S 2 4 3 2 7 および同 9 R O 1 D K 5 3 9 2

50

2 ならびに疾病管理センター補助金 R 4 9 C C R 8 1 1 5 0 9 に準じて本発明において一定の権利を有し得る。

【 0 0 0 3 】

(発明の概要)

本発明は、1つ以上の I G F の構造的アナログを非頭蓋内および非脊柱内に投与することによる中枢神経系の治療方法に関する。より詳細には、本発明は、1つ以上の I G F の構造的アナログを非頭蓋内または非脊柱内に投与することによって脳または脊髄の障害または疾患を治療するための方法に関する。

【 0 0 0 4 】

(図面の説明)

図 1 は、E L I S A による (A) h I G F - I、(B) D e s (1 - 3) h I G F - I、(C) [L e u ^{2 4}] h I G F - I および (D) [L e u ^{6 0}] h I G F - I の濃度依存的な検出を示す。サンプルはそれぞれの濃度において三連でアッセイされた。相関係数 r が、コンピューターソフトウェアプログラムを使用する線形回帰によって求められた。

【 0 0 0 5 】

図 2 は、成体ラットにおける皮下注射後の C S F および血漿における免疫反応性 h I G F - I の用量依存的な分布を示す。血漿および C S F は、示された用量の h I G F - I の単回ボラス皮下注射の 9 0 分後に E L I S A のために採取され、それぞれのサンプルは三連でアッセイされた。群の平均値 ± S E M が示される (n = 3 ラット / 用量)。A 部、C S F 中の h I G F - I。B 部、血漿中の h I G F - I。データは、線形回帰を使用してプロットされた (r = 0 . 9 7)。

【 0 0 0 6 】

図 3 は、h I G F - I の C S F への取り込みに対する h I G F - I I の同時投与の影響を示す。ラットには、1 5 0 μ g の h I G F - I が単独 (n = 8) で、または 1 5 0 μ g の h I G F - I および 4 0 0 μ g の h I G F - I I の組合せ (n = 6) が皮下に注射された。血漿および C S F をアッセイのために 9 0 分後に採取した。値は平均値 ± S E M である。群の平均値を、t 検定を使用して比較した (* P < 0 . 0 2)。

【 0 0 0 7 】

図 4 は、D e s (1 - 3) h I G F - I (n = 4)、h I G F - I (n = 3) またはビヒクル (n = 2) を投与した後の C S F および血漿における分布の比較を示す。D e s (1 - 3) h I G F - I または h I G F - I の等量 (2 0 0 μ g / ラット) を皮下に注射して、血漿および C S F をアッセイのために 9 0 分後に採取した。群の平均値を、ニューマン・クルズ事後検定を使用して比較した。C S F におけるコントロールに対する D e s および h I G F - I については、それぞれ、* P < 0 . 0 0 2 および * P < 0 . 0 0 3。血漿におけるコントロールに対する h I G F - I については * P < 0 . 0 0 2。

【 0 0 0 8 】

図 5 は、[L e u ^{2 4}] h I G F - I および [L e u ^{6 0}] h I G F - I の C S F への取り込みを示す。[L e u ^{2 4}] h I G F - I (2 0 0 μ g / ラット ; n = 3 ラット)、[L e u ^{6 0}] h I G F - I (1 0 0 μ g / ラット ; n = 4)、または h I G F - I (2 0 0 μ g / ラット ; n = 3)、またはビヒクル (n = 9) を皮下に注射し、9 0 分後に血漿および C S F をアッセイのために採取した。A 部、C S F ; B 部、血漿。群平均値の差が、ニューマン・クルズ事後検定を使用して検出された。C S F における [L e u ^{2 4}] h I G F - I に対する h I G F - I については * P < 0 . 0 0 2。コントロールに対する [L e u ^{2 4}] および [L e u ^{6 0}] については * P < 0 . 0 0 0 4、C S F におけるコントロールに対する h I G F - I については * P < 0 . 0 0 0 7。血漿において、h I G F - I に対する [L e u ^{2 4}] および [L e u ^{6 0}] についてはそれぞれ * P < 0 . 0 0 0 2 および * P < 0 . 0 0 0 5。コントロールに対する [L e u ^{6 0}] および h I G F - I についてはそれぞれ * P < 0 . 0 0 0 5 および * P < 0 . 0 0 0 2。

【 0 0 0 9 】

(発明の詳細な説明)

10

20

30

40

50

本発明は、1つ以上のIGFの構造的アナログを非頭蓋内および非脊柱内に投与することによる中枢神経系の治療方法に関する。より詳細には、本発明は、1つ以上のIGFの構造的アナログを非頭蓋内または非脊柱内に投与することによって脳または脊髄の障害または疾患を治療するための方法に関する。本発明の目的のために、「IGFの構造的アナログ」は、ヒトおよび動物（ウシ、ブタ、イヌ、ヒツジ、ウマ、シカ、ヤギ、ラット、マウスおよびニワトリ（これらに限定されない）を含む）のIGF-IおよびIGF-IIを含む、天然に存在するインスリン様増殖因子（IGF）に対する実質的な配列相同性を有する分子として定義される。より好ましくは、IGFの構造的アナログは、欠失、置換および/または15個以下のアミノ酸の付加によって修飾されているIGF分子のアミノ酸配列を有する。

10

【0010】

本発明による方法において、IGFの構造的アナログの好ましい投与経路は、血液脳関門（BBB）、血液中枢神経系関門（B-CNS-B）および血液脊髄関門（B-SC-B）の外側の部位からである。IGFの構造的アナログを循環内に送達することができる、薬学者に知られている一般的な投与経路はいずれも使用することができ、これには、経皮、皮内、皮下、静脈内、筋肉内、動脈内、腹腔内、非経口、口内、舌下、直腸内、経口、鼻内、吸入、皮下の埋め込まれたポンプもしくはマトリックスから、またはIGFの構造的アナログの遺伝子を含み、かつBBB、B-CNS-BおよびB-SC-Bの外側の部位に投与されるプラスミド構築物からが含まれるが、これらに限定されない。例えば、鼻腔および肺には血管が多く分布しており、鼻腔内に、または吸入によって投与されたIGFの構造的アナログは局所的な微小血管によって迅速に取り込まれ、これにより、IGFアナログがBBBまたはB-CNS-Bを越えて脳脊髄液（CSF）に取り込まれ得る。本発明は、投与が、BBB、B-CNS-BおよびB-SC-Bの外側の部位からである場合以外、特定の投与経路に限定されない。

20

【0011】

好ましい実施形態において、IGFの構造的アナログは単独で投与することができ、または他のIGFアナログとの組合せで投与することができる。IGFアナログはまた、製剤において使用することができる、薬学者に知られている1つ以上の賦形剤、着色剤、塩、溶媒、担体、安定化剤および他の成分と組み合わせることができる。さらなる好ましい実施形態において、IGFの構造的アナログは約0.01 μg/kg/日から約4 mg/kg/日までの量で投与される。

30

【0012】

好ましい実施形態において、本発明は、出生後の脳または脊髄の障害または疾患、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、AIDS関連痴呆、老人性痴呆、脳卒中、トラウマ、皮質基底神経節症候群、進行性痴呆、痙攣性不全対麻痺を伴う家族性痴呆、進行性核上麻痺、多発性硬化症、肝性脳症、ピック病、ハンチントン病、シルダーの汎発性脳硬化症、急性壊死性出血性脳脊髄炎、脳腫瘍などを治療するための方法に関する。本発明には、筋萎縮性側索硬化症は含まれない。

【0013】

本発明において使用され得るIGFの構造的アナログには、des(1-3)IGF-I（これは、N末端のトリペプチドを有しないIGF-Iアナログである）、[Arg3]IGF-I（これは、3位のGluがArgに置換されているIGF-Iアナログである）、[Leu24]IGF-I（これは、24位のThrがLeuに置換されているIGF-Iアナログである）、[Leu60]IGF-I（これは、60位のTyrがLeuに置換されている変異体IGF-Iである）、ロングR3IGF-I（これは、3位のGluがArgに置換され、かつ13アミノ酸の伸長をN末端に有する変異体IGF-Iである）、des(1-6)IGF-II（これは、N末端の6ペプチドを有しないIGF-IIアナログである）、[Gly1]IGF-II（これは、1位のAlaがGlyに置換されているIGF-II変異体である）、[Arg6]IGF-II（これは、6位のGluがArgに置換されているIGF-II変異体である）、および[Leu27]

40

50

表1. h I G F - 1 およびそのアナログの E L I S A による選択的検出

サンプル	OD (450)	平均値±SEM	P値
ブランク	0.0±0		
ヒトIGF-I (150pg)	0.568±.113		0.001
Des (1-3) hIGF-I (150pg)	0.276±.047		0.001
Leu24hIGF-I (150pg)	0.661±.072		0.001
ヒトIGF-II (150pg)	0.004±.017		0.959
インスリン (150pg)	0.016±.006		0.903
ラットCSF (抽出物)	0.018±.034		0.971
ラット血漿 (抽出物)	0.051±.037		0.818

h I G F - I および他のタンパク質を、図1に示されるE L I S A に供した。未処置ラットのCSFおよび血漿を、これらの実験を通してアッセイされた同じ容量で試験した。CSFおよび血漿におけるラットのIGF-I、IGF-II、インスリンおよびIGFBPはE L I S A を妨害しないことに留意すること。値は、4回連続測定の前平均値±SEMである。

【0019】

E L I S A により、ヒトIGF-IおよびIGFの構造的アナログが検出された。しかし、このE L I S A では、IGF-IIまたはインスリンは検出されなかった。さらに、非治療ラットのCSFまたは血漿におけるいずれの成分もE L I S A を妨害しなかった。このことは、この試験は、ヒトのIGF-IおよびIGFの構造的アナログに対して特異的であったことを示している。すなわち、CSFまたは血漿における内因性のラットIGF-I、ラットIGF-II、ラットインスリンおよび他のラット物質はE L I S A を妨害しなかった。図1には、種々の濃度のヒトのIGF-I、des (1-3) IGF-I、[Leu24] IGF-Iおよび[Leu60] IGF-Iに対する標準的なE L I S A 曲線が示される。

【0020】

成体ラットに様々な用量のヒトIGF-Iを皮下注射した。図2は、血漿中のIGF-Iが用量に比例して直線的に増大したことを示している。しかし、CSF内へのIGF-Iの取り込みは用量の増大により飽和した。このことは、取り込みがIGF取り込みキャリアを介してであったことを示している。図3は、IGF-IIが、CSF内への取り込みに対してIGF-Iと競合したことを示している。

【0021】

(実施例)

実施例1. des (1-3) IGF-Iは、N末端から最初の3アミノ酸を失っており、これにより、IGF結合タンパク質-3 (IGFBP-3)、IGFBP-4およびIGFBP-5に対して少なくとも1/25に低下した親和性をもたらす。IGFBP-1に対する結合も同様に低下している。des (1-3) IGF-IはI型IGF受容体に結合し、そしてニューロンに対する生物学的活性が増強されている。des (1-3) IGF-Iは、IGFBPに対する結合が低下しているために、より強力である。図4は、皮下に投与されたdes (1-3) IGF-Iが成体ラットにおいて脳脊髄液に取り込まれることを示している。従って、IGFBP-1、IGFBP-3、IGFBP-4およびIGFBP-5に対するIGFおよび変異型IGFの結合はCSF内への取り込みには必要とされず、IGF取り込みのキャリア分子は、IGFBP-1、IGFBP-3、IG

10

20

30

40

50

F B P - 4またはI G F B P - 5の特徴を有していない。

【 0 0 2 2 】

実施例 2 . [L e u 2 4] I G F - Iでは、24位のT h rがL e uに置換されている。
[L e u 2 4] I G F - Iを成体ラットに皮下注射した後、[L e u 2 4] I G F - Iが
脳脊髄液において容易に検出された(図5)。このことは、実施例 1および実施例 3と共
に、様々な欠失または置換を有するI G Fの構造的アナログが循環からC S F内に取り込
まれ得ることを示している。

【 0 0 2 3 】

実施例 3 . [L e u 6 0] I G F - Iでは、60位のT y rがL e uに置換されている。
[L e u 6 0] I G F - Iは、I型I G F受容体に対する親和性が1 / 20に低下している 10
。[L e u 6 0] I G F - Iを成体ラットに皮下注射した後、[L e u 6 0] I G F -
Iが脳脊髄液において容易に検出された(図5)。このことは、I型I G F受容体に対す
る結合は様々なI G Fの取り込みには必ずしも必要でないこと、そしてI G Fキャリア分
子はI型I G F受容体の特徴を有していないことを示している。

【 0 0 2 4 】

d e s (1 - 3) I G F - IおよびI G F - Iは、認められるほどI I型I G F受容体
に結合しないが、これらのリガンドはともに皮下投与後にC S F内に取り込まれる。従っ
て、I I型I G F受容体に対する結合は、様々なI G FのC S F内への取り込みには必要と
されず、そしてI G Fキャリア分子はI I型I G F受容体の特徴を有していない。

【 0 0 2 5 】

循環から脳脊髄液(C S F)内への様々なインスリン様増殖因子(I G F)の取り込みは
輸送キャリアタンパク質と一致している。このキャリアタンパク質は、I型もしくはI I型
のI G F受容体またはI G F結合タンパク質と同じ性質を有していない。従って、キャリ
アは、以前に特徴づけられたI G F結合分子の性質とは異なる性質を有する。 20

【 0 0 2 6 】

従って、I G Fの構造的アナログは、哺乳動物において、B B B、B - C S F - Bおよび
/またはB - S C - Bを通過してC S Fに進入することが明らかにされる。本発明は、変
異型I G FおよびI G Fアナログを、B B B、B - C S F - BおよびB - S C - Bの外側
から投与することができ、そして頭蓋内または髄膜下などの浸襲性で、より危険な投与方
法を使用する必要がないという利点を有する。手術の危険性および費用ならびにC N S感 30
染の危険性を本発明によって回避することができる。

【 図面の簡単な説明 】

【 図 1 A 】 E L I S Aによる(A) h I G F - Iの濃度依存的な検出を示す。

【 図 1 B 】 E L I S Aによる(B) D e s (1 - 3) h I G F - Iの濃度依存的な検出
を示す。

【 図 1 C 】 E L I S Aによる(C) [L e u ^{2 4}] h I G F - Iの濃度依存的な検出を
示す。

【 図 1 D 】 E L I S Aによる(D) [L e u ^{6 0}] h I G F - Iの濃度依存的な検出を
示す。

【 図 2 A 】 成体ラットにおける皮下注射後のC S Fおよび血漿における免疫反応性h I 40
G F - Iの用量依存的な分布を示す。A部、C S F中のh I G F - I。

【 図 2 B 】 成体ラットにおける皮下注射後のC S Fおよび血漿における免疫反応性h I
G F - Iの用量依存的な分布を示す。B部、血漿中のh I G F - I。

【 図 3 A 】 h I G F - IのC S Fへの取り込みに対するh I G F - I Iの同時投与の影
響を示す。

【 図 3 B 】 h I G F - IのC S Fへの取り込みに対するh I G F - I Iの同時投与の影
響を示す。

【 図 4 A 】 D e s (1 - 3) h I G F - I (n = 4)、h I G F - I (n = 3)または
ビヒクル(n = 2)を投与した後のC S Fおよび血漿における分布の比較を示す。

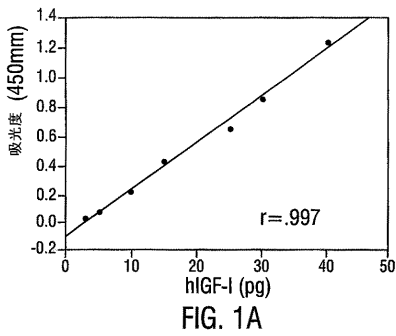
【 図 4 B 】 D e s (1 - 3) h I G F - I (n = 4)、h I G F - I (n = 3)または 50

ビヒクル (n = 2) を投与した後のCSFおよび血漿における分布の比較を示す。

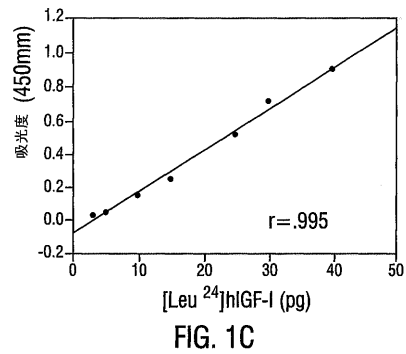
【図5A】 [Leu²⁴]hIGF-Iおよび[Leu⁶⁰]hIGF-IのCSFへの取り込みを示す。[Leu²⁴]hIGF-I (200 μg/ラット; n = 3ラット)、[Leu⁶⁰]hIGF-I (100 μg/ラット; n = 4)、またはhIGF-I (200 μg/ラット; n = 3)、またはビヒクル (n = 9) を皮下に注射し、90分後に血漿およびCSFをアッセイのために採取した。

【図5B】 [Leu²⁴]hIGF-Iおよび[Leu⁶⁰]hIGF-Iの血漿への取り込みを示す。

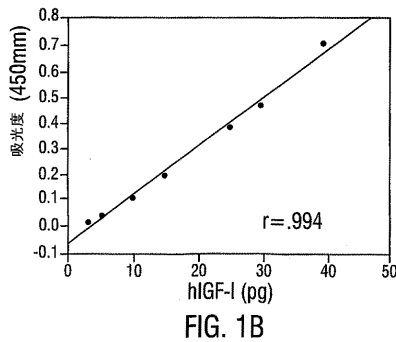
【図1A】



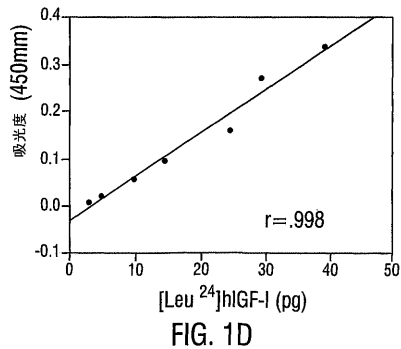
【図1C】



【図1B】



【図1D】



【 図 2 A 】

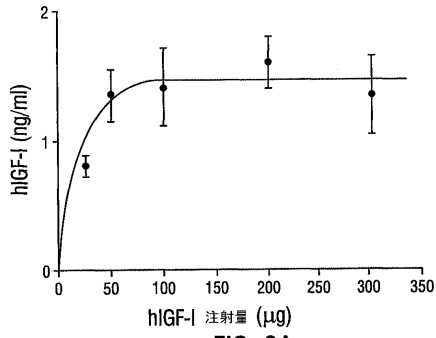


FIG. 2A

【 図 2 B 】

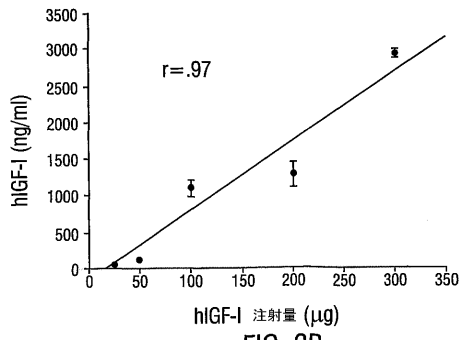


FIG. 2B

【 図 3 A 】

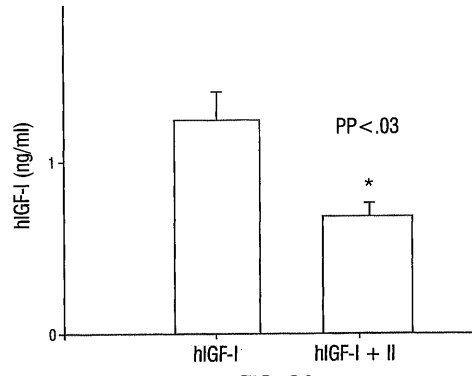


FIG. 3A

【 図 3 B 】

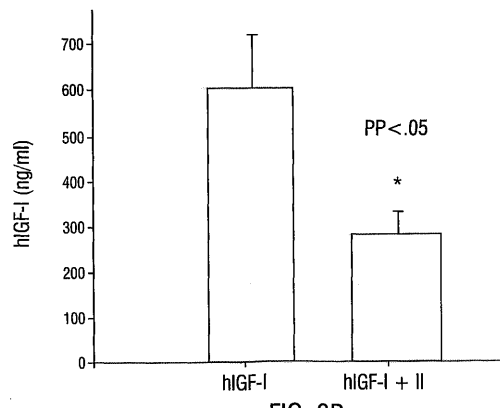


FIG. 3B

【 図 4 A 】

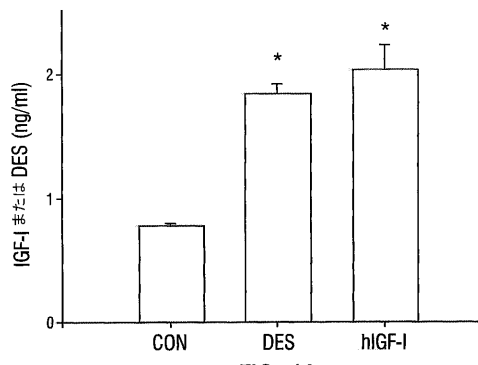


FIG. 4A

【 図 5 A 】

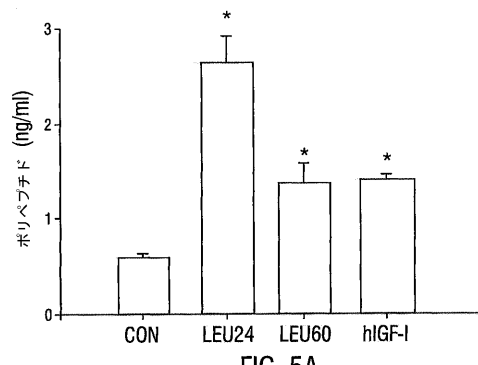


FIG. 5A

【 図 4 B 】

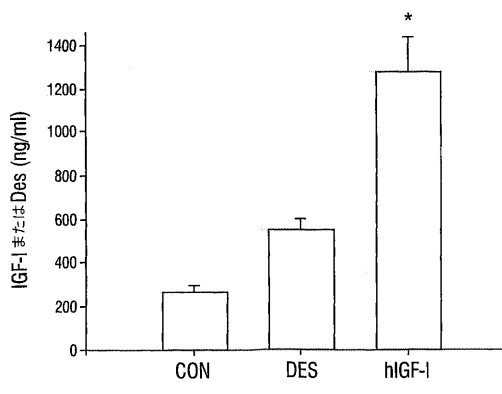


FIG. 4B

【 図 5 B 】

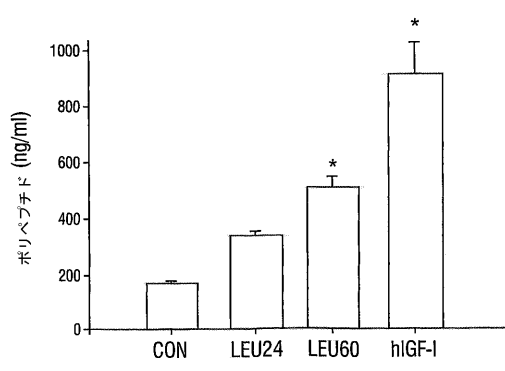


FIG. 5B

フロントページの続き

(56)参考文献 特表平05-504142(JP,A)

J.Neurosci.Res., 2000年 3月, Vol.59, p.649-660

Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 1998年, Vol.95, p.1894-1898

American Journal of Physiology, 1991年, Vol.260, E213-219

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/30