

(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2010-519192

(P2010-519192A)

(43) 公表日 平成22年6月3日(2010.6.3)

(51) Int.Cl.

A61K 38/00 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

F 1

A 61 K 37/02
A 61 P 17/02
A 61 P 1/16
A 61 P 1/00
A 61 P 9/00

テーマコード(参考)

4 B 02 4
4 C 08 4
4 H 04 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 49 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2009-549467 (P2009-549467)
(86) (22) 出願日 平成20年2月14日 (2008.2.14)
(85) 翻訳文提出日 平成21年10月16日 (2009.10.16)
(86) 國際出願番号 PCT/GB2008/000500
(87) 國際公開番号 WO2008/099174
(87) 國際公開日 平成20年8月21日 (2008.8.21)
(31) 優先権主張番号 0702930.9
(32) 優先日 平成19年2月15日 (2007.2.15)
(33) 優先権主張国 英国(GB)

(71) 出願人 500588178
レノボ・リミテッド
RENOVO LTD.
イギリス、エム13・9エックスエックス
、マンチェスター、グラフトン・ストリー
ト48番、マンチェスター・インキュベイ
ター・ビルディング
(74) 代理人 100099634
弁理士 平井 安雄
(74) 代理人 100087675
弁理士 筒井 知

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 瘢痕の抑制のためのWNT3A

(57) 【要約】

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体を、瘢痕の予防、軽減、または抑制のための薬剤として使用することを目的として提供する。また、瘢痕の予防、軽減、または抑制のための方法であって、当該瘢痕の予防、軽減、または抑制を必要とする患者に対して、治療に効果的な量のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体を投与することを含む方法も提供する。本発明の方法および薬剤は、創傷治癒の結果として生じた瘢痕または線維性疾患に関連する瘢痕の予防、軽減、または抑制における使用に適する。開示した方法および薬剤は、皮膚の瘢痕の予防、軽減、または抑制において特に有益である。

【選択図】 図 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

瘢痕の予防、軽減、または抑制のための薬剤として使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 2】

請求項1に記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、薬剤が、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片もしくはその誘導体として使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 3】

請求項1または請求項2に記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、瘢痕が、創傷治癒により生じる瘢痕の場合において使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 4】

上述の請求項のうちいずれかに記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、瘢痕が、皮膚；眼；腱、靭帯または筋肉；口腔、唇および口蓋；肝臓；心臓；消化組織；生殖組織；腹腔；中枢神経系および末梢神経系；骨盤腔および胸腔から成る群から選択される組織で生じた場合において使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 5】

上述の請求項のうちいずれかに記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、瘢痕が、線維性疾患に関連する場合において使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 6】

請求項5に記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、線維性疾患が、皮膚線維症；強皮症；進行性全身性線維症；肺線維症；筋線維症；腎臓線維症；糸球体硬化症；糸球体腎炎；子宮線維症；腎線維症；肝硬変、肝線維症；腹部、骨盤、脊椎、または靭帯で発生するような癒着；慢性閉塞性肺疾患；心筋梗塞を引き起こすような線維症；増殖性硝子体網膜症(PVR)に関連する線維症；子宮内膜症；虚血性疾患および放射線線維症から成る群から選択された場合において使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 7】

上述の請求項のうちいずれかに記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、薬剤が、皮膚の瘢痕の予防、軽減、または抑制に使用される場合に使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 8】

請求項1から請求項6のうちいずれかに記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、薬剤が、眼の瘢痕の予防、軽減、または抑制に使用される場合において使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 9】

請求項1から請求項6のうちいずれかに記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、薬剤が、腹部、骨盤、脊椎、または靭帯で発生する癒着の予防、軽減、または抑制に使用される場合において使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 10】

上述の請求項のうちいずれかに記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、薬剤が、局所用薬剤として使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

10

20

30

40

50

【請求項 1 1】

上述の請求項のうちいずれかに記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、薬剤が、注射用溶液として使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 1 2】

請求項11に記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、薬剤が、皮内注射に使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 1 3】

上述の請求項のうちいずれかに記載のWNT3Aであって、瘢痕の予防、軽減、または抑制のための薬剤として使用される

WNT3A。

【請求項 1 4】

請求項1から請求項12のうちいずれかに記載のWNT3Aの誘導体であって、瘢痕の予防、軽減、または抑制のための薬剤として使用される

WNT3Aの誘導体。

【請求項 1 5】

請求項14に記載のWNT3Aの誘導体であって、該誘導体がWNT3Aよりも分解に対する耐性を増強した

WNT3Aの誘導体。

【請求項 1 6】

請求項14または請求項15に記載のWNT3Aの誘導体であって、該誘導体がペプトイド誘導体である

WNT3Aの誘導体。

【請求項 1 7】

上述の請求項のうちいずれかに記載のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体であって、薬剤が、約1ngのWNT3A、またはその断片もしくはその誘導体を、創傷または線維症のセンチメートル当たりに与えて使用される

WNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体。

【請求項 1 8】

瘢痕の予防、軽減、または抑制のための方法であって、治療に効果的な量のWNT3A、または治療に効果的なその断片もしくはその誘導体を、当該予防、軽減、または抑制を必要とする患者に投与することを含む

方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、瘢痕(scarring)を予防、軽減、または抑制のための薬剤に関する。また、本発明は、瘢痕の予防、軽減、または抑制のための方法も提供する。

【背景技術】**【0002】**

創傷治療に対する臨床的なアプローチは、一般的に、期待される成果に応じて決定される。この成果において、考慮される点としては、例えば、瘢痕発生の度合いであり、創傷の治癒速度である。ある創傷治療では、発生した瘢痕の度合いを制御することを最重要とする一方で、創傷治癒の速さを促進させることはあまり重要でないものがある。また、他のある治療では、創傷治癒の速さを促進させることを最重要とする一方で、発生した瘢痕の度合いを制御することがあまり重要とされないものがある。

【0003】

瘢痕とは、例えば、「身体組織における損傷または疾患の部位に生じた線維性結合組織(fibrous connective tissue)」と定義することができる(創傷反応は、全ての成長し

10

20

30

40

50

た哺乳類で共通する）。瘢痕は、創傷を治癒した結果として生じることもあり、線維性疾患（fibrotic disorders）に関連する瘢痕組織の沈着(deposition)として生じることもある。瘢痕反応は、大部分の組織タイプの間で保存されており、いずれの場合でも、同じ結果、すなわち「瘢痕（a scar）」と称される線維性組織が形成することに繋がる。多くの異なるプロセスが、瘢痕に対する反応の間に作用しており、これまでに多くの研究が、これらのプロセスを媒介するものや、これらのプロセスが如何に相互作用して最終状態を生み出すか、ということを発見するためになってきた。

【0004】

瘢痕反応は、負傷した動物が死亡することを防止しようとする生物学的本能に対する進化的な解決策として生じる。それゆえ、感染症（mortality）または出血による死亡リスクを抑えるために、身体は、損傷した組織を再生しようとするよりも、損傷した領域を直ちに修復するように反応する。

10

【0005】

創傷を治癒することにより生じた瘢痕の例では、瘢痕は、修復反応により生じた構造体（structure）として定義することができる。損傷組織は、損傷前と同じ組織構造には再生されないために、瘢痕は、非損傷組織と比較した場合のその異常な形態（morphology；モルホルジー）から、識別することもできる。そのような瘢痕は、治癒プロセスの間に沈着した結合組織から成る。瘢痕は、（皮膚の瘢痕に見受けられるような）異常組織を有する結合組織、および／または異常に量が増加した結合組織から成ることもある。大部分の瘢痕は、異常化組織および過剰の結合組織の両方から成る。

20

【0006】

瘢痕の異常構造は、例えば、内部構造（例えば、微視的解析で確定される）および外観（例えば、巨視的に評価される）の両方から観察できる。

【0007】

細胞外マトリックス（ECM）分子は、「正常（normal）」（未創傷（unwounded））の皮膚と、瘢痕状態の皮膚との両方の主要な構成成分から成る。正常の皮膚において、これらの分子は、特徴的なランダム配列を有する線維を形成し、この配列は通称「バスケット（籠）織り（basket-weave）」と称される。一般的に、正常の皮膚で観察される線維は、瘢痕で見受けられる線維よりも直径が大きい。瘢痕における線維は、相互間で顕著な整列状態（alignment）を示し、これは、正常の皮膚における線維のランダム配列とは対照的である。ECMの大きさおよび配列状態の両方は、正常の皮膚と比較した場合に、瘢痕の機械的性質を変化させる一因（最も顕著な点は硬度が増すこと）となることもある。

30

【0008】

巨視的に観察すれば、瘢痕は、組織の周辺の表面より下に押し下げられていることもあります、無傷状態の皮膚の表面より上に押し上げられていることもあります。瘢痕は、正常の皮膚よりも相対的に暗い（色素沈着過剰（hyperpigmentation））こともあります、周囲よりも青白い（色素沈着低下（hypopigmentation））こともあります。色素沈着過剰、または色素沈着低下の瘢痕は、いずれも、明白な美容的欠陥となり易い。また、瘢痕は、無傷の皮膚よりも赤くなることもあるために、目立つと共に美容的に受け入れ難いものとしても知られています。瘢痕の美容的外観は、瘢痕による心理的影響を患者に与える主な要因の1つであり、これらの影響は、瘢痕（創傷または線維性疾患のいずれのものでも）の原因が消失した後であっても、引き続き長期間にわたることが示されている。

40

また、瘢痕は、患者に有害な心理的影響も与えることがある。これらの影響は、通常、瘢痕と正常の皮膚との間の物理的な相違から生じる。瘢痕の異常な構造および組成物（composition）は、通常、正常の皮膚よりも柔軟性が少ないという特徴がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

結果として、瘢痕は、正常な機能を障害する原因となり（瘢痕が関節を覆うことで可動域を制限する場合のように）、若年者の場合には正常な成長を阻害することもある。

50

また、瘢痕は、多くの他の身体部位においても発生することがあり、これらの部位における瘢痕の影響も、患者にとって有害となりうる。眼の瘢痕（事故による外傷、外科処置、または線維性疾患の結果として生じる）の場合には、視力を損ない、さらには失明に繋がる虞がある。内器官の瘢痕の場合には、該当する器官の機能の相当な部分または全ての部分を損なわせるような狭窄（restenosis）および癒着（adhesion）の形成を引き起こすことがある。腱（tendons）および靭帯（ligaments）の瘢痕の場合には、これらの器官への損傷が、長期間続くことがある、このため、関連する関節の自動能（motility）または機能を低下させることがある。血管（特に心臓弁）に関連する瘢痕は、外傷または外科手術の事後に発生することがある。血管における瘢痕は、再狭窄に至ることもあり、これにより、血管が細くなり、瘢痕領域を流れる血流量が減少することもある。中枢または末梢神経系における瘢痕は、神経伝達を阻害することもあり、さらに、損傷した神経組織および／または機能的神経伝達の再生を阻害または抑制することがある。

10

【0010】

上記に概要を述べた効果は、創傷治癒反応が正常に進行した結果として生じることがある（創傷の治癒により生じた瘢痕の例において）。しかしながら、瘢痕反応が異常に変化する場合がある場合が多くあり、このことは、さらなる損傷を与える結果と関連することも多い。

20

【0011】

瘢痕反応が変化しうる1つの場合としては、過剰の瘢痕が異常に生成されることがある（これは通称、病理学的瘢痕（pathological scarring）と称される）。

【0012】

肥厚性瘢痕（hypertrophic scar）とは、病理学的瘢痕のよく知られた一形態であり、患者に有害な影響を与えてきた。肥厚性瘢痕は、皮膚の正常な表面を隆起させ、異常配列された過剰のコラーゲンが含まれる。結果として、このような瘢痕は、皮膚の正常機能を著しく損失せることも多い。これは、肥厚性瘢痕がその形成後に収縮する傾向、すなわち、筋肉に関連するタンパク質（特に、平滑筋におけるアクチン（smooth-muscle actin））の異常な発現に通常基づく活性により悪化することがある。また、小児は、特に火傷により、肥厚性瘢痕が形成される可能性が高い。

30

【0013】

ケロイド（keloids）は、病理学的瘢痕としてよく知られた別の形態である。ケロイド瘢痕は、皮膚の表面を隆起させるのみならず、本来の外傷の範囲を拡大させる。ケロイドは、過剰結合組織を含むが、この組織は、異常に形成され、通常はコラーゲン性組織の螺旋状態として発現する。ケロイド形状の原因是、様々に推測されるが、一般的には、個々人がこれらの形態に関する遺伝子素因を保有しているものと考えられている。肥厚性瘢痕およびケロイドは、共に、アフリカ大陸系集団（African Continental Ancestry Group）またはアジア大陸系集団（Asian Continental Ancestry Group）で特に知られている。

40

【0014】

病理学的瘢痕のさらなる共通形態は、翼状片（pterygium）であり、これは、結膜下組織（subconjunctival tissue）の楔状（wedge-shaped）線維が、角膜（cornea）の境界まで、または境界を越えて伸張することができる。翼状片は、強い日光または埃の多い条件下に、頻繁に晒されることで、より発現頻度が高くなる。

【0015】

結合組織の拘縮（contracture）とは、病理学的瘢痕のさらによく知られた形態であり、通常、弾性を有する結合組織が、非弾性の線維性組織に置き換わっている。結合組織の肥厚性瘢痕は、デュピュイトラン拘縮（Dupuytren's contracture）において観察されるが、これは、手掌筋膜（palmar fascia）が肥厚化することで、厚い「瘢痕様の（scar like）」靭帯が手掌に沿って形成されている。

【0016】

瘢痕とは、創傷の治癒中に存続する構造が生成することと定義できるが、細胞外マトリックスにおける同様の障害は、線維性疾患として知られる多くの医学的状況に関連する瘢

50

痕も引き起こすことがある。これらの疾患においては、過剰の線維形成は、組織の病理学的な乱れおよび機能不全を引き起こす。線維性疾患に関連する瘢痕は、線維性組織（上述したようにコラーゲンが優位となる）が損傷組織内で異常に蓄積することで特徴付けられる。このような線維性組織の蓄積は、様々な病理学的プロセスから生じることがあり、これらは、全て同じ最終結果を引き起こす。線維性疾患に関連する瘢痕の進行の根底にある生物学的および病理学的なプロセスは、創傷の治癒による瘢痕形成に関連する場合（一般に、ある形態に関連する瘢痕の予防、軽減、または抑制に使用される化合物が、他の形態の瘢痕に対しても同様の効果を発揮する）と十分に類似している。

【0017】

線維性疾患は、通常、慢性的(chronic)である。線維性疾患の例としては、肝硬変(cirrhosis of the liver)、肝線維症(liver fibrosis)、糸球体腎炎(glomerulonephritis)、肺線維症(lung fibrosis)、慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease)、強皮症(scleroderma)、心筋線維症(myocardial fibrosis)、心筋梗塞(myocardial infarction)を引き起こすような線維症、増殖性硝子体網膜症(proliferative vitreoretinopathy; PVR)、関節炎(arthritis)、癒着(adhesion)（例えば、腹部(digestive tract)、骨盤(abdomen)もしくは脊椎(pelvis)、または腱(spine)に発生する）がある。

線維性疾患に関連する瘢痕は、治療しなければ、病理学的作用として臓器不全を引き起こし、最終的には患者を死に至らしめる。

【0018】

本明細書の大部分は、主にヒトの瘢痕（創傷治癒により生じた瘢痕または線維性疾患に関連する瘢痕のいずれの場合でも）への作用に向けられているが、この瘢痕に対する反応は、多くの点で、多種の動物の間で保存されている。このため、上記に概要を述べた問題も、非ヒト動物、特に、家畜用動物またはペット（馬、牛、犬、猫など）にも適用できる。腹部創傷の不適切な治癒により生じる癒着は、馬（特に競走馬）の家畜としての病死の主因であることは広く知られている。同様に、ペットまたは家畜動物における腱および靭帯も損傷することが多く、これらの損傷に対する治癒も、動物の死亡率の増大に関わる瘢痕を引き起こすことがある。

【0019】

瘢痕（平常もしくは異常な創傷治癒のいずれかから生じる瘢痕、または線維性疾患に関連する瘢痕）の害は、広く知られているが、これらの害を軽減できる効果的な治療法は、これまでのところ無い。このように効果的な治療法が無いことから、瘢痕（創傷治癒により生じたか、または線維性疾患に関連するかのいずれであっても）の形成を予防、軽減、または抑制できる治療および薬剤が、強く望まれていることが理解されるであろう。

【0020】

WNT遺伝子ファミリー(wingless-type MMTV integration site family)は、多面発現性細胞シグナリング分子(pleiotropic cell signalling molecules)として機能する多くのタンパク質をコード化している。これらのタンパク質は、WNTsと称され、多くの保存された残基を共有し、特有のシステイン配列(cysteine pattern)を含む。WNTタンパク質という定義は、このような構造的な特徴に由来し、共通する機能によるわけではない。なぜなら、様々なWNT遺伝子ファミリーメンバーの作用は、反応する細胞に応じて顕著に異なることがあるためである。

【0021】

Frizzled(Fz)分子が、WNTファミリーメンバーの主要な受容体(receptors; レセプター)群を構成すると一般的に考えられている。Frizzled受容体は、7つの膜貫通(membrane-spanning)部分を含むとともに、システインリッチドメイン(cysteine-rich domain; CRD)と称される長いアミノ酸末端領域を有する。このCRDは、Fz受容体のWNT結合部位を構成すると思われる。効果的なWNTシグナリングには、WNTおよびFz受容体が存在することだけではなく、LRP(LDL受容体関連タンパク質)クラスのタンパク質が存在することを必要とする。

【0022】

10

20

30

40

50

WNT3Aは、シグナリング分子のWNTファミリーのメンバーの一つである。ヒトのWNT3Aは、352個のアミノ酸から成るポリペプチドであり、その配列は、配列番号No.1として示している。ヒトおよびマウスのWNT3Aの組成は、96%のアミノ酸配列の同一性を示す。ヒトのWNT3A(WNT3Aと称することもある)をコード化する遺伝子(DNA)配列は、配列番号No.2として示している。マウスの相当物(Wnt3aと称することがある)のアミノ酸配列は、配列番号No.3として示し、マウスのWnt3aをコード化する遺伝子(DNA)配列は、配列番号No.4として示している。ラットのWnt3aのアミノ酸配列は、配列番号No.5として示し、ラットのWnt3aをコード化する遺伝子(DNA)配列は、配列番号No.6として示している。

【0023】

10

これまでの報告では、WNT3Aが多くの受容体または受容体複合体を介して、シグナリングを行うことが可能であることが示されている。WNT3Aは、LRP5およびLRP6、さらにはFrizzled8分子(FZD8)と反応することが示されている。LRP5のヌクレオチド配列は、配列番号No.7として示し、LRP5のアミノ酸配列は、配列番号No.8として示している。LRP6のヌクレオチド配列は、配列番号No.9として示し、LRP6のアミノ酸配列は、配列番号No.10として示している。FZD8のヌクレオチド配列は、配列番号No.11として示し、FZD8のアミノ酸配列は、配列番号No.12として示している。

【課題を解決するための手段】

20

【0024】

本発明は、1つの観点において、瘢痕の予防、および/または軽減、および/または抑制に適する薬剤を提供することを目的とする。また、本発明は、さらなる観点において、瘢痕の予防、および/または軽減、および/または抑制の使用に適する治療方法を提供する。また、本発明は、1つの実施態様において、創傷治癒により生じた瘢痕の予防、および/または軽減、および/または抑制に適する薬剤を提供する。また、本発明は、さらなる実施態様において、線維性疾患に関連する瘢痕の予防、および/または軽減、および/または抑制のための使用に適する薬剤を提供する。また、本発明は、さらなる実施態様において、創傷治癒により生じた瘢痕の予防、および/または軽減、および/または抑制のための使用に適する治療方法を提供する。また、本発明は、さらなる実施態様において、線維性疾患に関連する瘢痕の予防、および/または軽減、および/または抑制のための使用に適する治療方法を提供する。本発明に係る薬剤および/または治療方法は、先行技術により提供される技術を含んでいてもよい。しかし、本発明により提供される薬剤および/または治療方法は、先行技術を改善した技術を含むことが好ましい。

30

【0025】

本発明の第1の観点によれば、瘢痕の予防、軽減、または抑制に用いられる薬剤の調製(製造)におけるWNT3A、または治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体の使用が提供される。また、本発明のこの観点によれば、瘢痕の予防、軽減、または抑制に用いられる薬剤として使用されるWNT3A、または治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体もまた提供される。

40

【0026】

本発明の第2の観点によれば、瘢痕の予防、軽減、または抑制のための方法が提供されるが、これには、治療に効果的な量のWNT3A、または治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体を、そのような予防、軽減、または抑制を必要とする患者に投与することが含まれる。WNT3A、または治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体は、瘢痕を予防、軽減、または抑制すべき部位に投与することが好ましい。この部位としては、創傷、または創傷が形成された部位であることが好ましい。

【0027】

50

本発明の薬剤または方法は、WNT3Aそのものを利用することが好ましい。この場合に使用されるWNT3Aは、一般的には、配列番号No.1で示されるヒトのWNT3Aである。

【0028】

本発明の薬剤または方法により予防、軽減、または抑制が達成される瘢痕は、創傷またはそれに類するものを治癒することで生じた瘢痕でもよく、線維性疾患に関連する瘢痕でもよい。このような瘢痕は、創傷の治癒により生じた瘢痕であることが好ましい。

【0029】

皮膚は、本発明の薬剤または方法を利用することで、瘢痕が、予防、軽減、または抑制できる好ましい部位である。そのような皮膚の瘢痕は、創傷の治癒から生じること、および／または線維性疾患に関連することもある。皮膚の創傷治癒により生じた瘢痕は、本発明、および本発明の薬剤または方法に従う予防、軽減、または治療を行うことで著しい効果が得られる瘢痕の一つの形態である。

10

【0030】

本発明は、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を、瘢痕の予防、軽減、または抑制のために使用することができるという本発明者らによる新規で驚くべき発見に基づくものである。WNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体が、瘢痕の予防、軽減、または抑制のために使用できることを、当業者に想起させるような先行技術報告は未だ無い。

【0031】

WNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体が、瘢痕の予防、軽減、または抑制のために使用できるという発見は、瘢痕の治療または処置に使用できる新規の薬剤または方法の基盤となろう。さらに、WNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体が、瘢痕を予防、軽減、または抑制するためにも使用できるという本発明者らの発見は、改良された薬剤および方法が、瘢痕の治療または処置のために提供されることへの展望を与える。

20

【0032】

本発明者らは、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を使用して瘢痕の予防、軽減、または抑制を行うことで、任意の身体部位および任意の組織もしくは器官において効果を発揮できると考えている。WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を利用する本発明の薬剤および方法は、創傷治癒により生じる瘢痕を予防、軽減、または抑制することに使用することができる。別の方法として、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を利用する本発明の薬剤および方法は、線維性疾患に関連する瘢痕を予防、軽減、または抑制することに使用することができる。本発明の薬剤または方法は、皮膚の瘢痕を予防、軽減、または抑制することに使用されることが特に好ましいが、どのような瘢痕が、皮膚の創傷治癒の結果として生じたものであるか、または、皮膚を傷める線維性疾患に関連するものであるかは関係ない。

30

【0033】

WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、瘢痕に関連する部位（本発明においては、瘢痕が既に発生している部位、または、発生することが予期される部位）に投与することが好ましい。WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、そうしなければ、瘢痕が発生しそうな患者の創傷に投与することができる。

40

【0034】

WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、瘢痕のさらなる進行を予防するため、既に形成された瘢痕に投与してもよい。WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を、既に形成された瘢痕に投与することにより、既に形成された瘢痕に関連する瘢痕の度合いを軽減することができる。このように、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、線維性疾患に関連して、さらなる瘢痕を予防するため、および／または既に形成された瘢痕を軽減させるために、線維性疾患の部位に投与してもよい。上記で検討したあらゆる実施態様に従い使用される好ましい投与経路としては、局所投与が

50

あり、特に、適切に活性化された薬品（エージェント）の局所注入が含まれる。

【0035】

本発明の特定の例として、創傷治癒により生じうる瘢痕の予防、軽減、または抑制を、本発明の薬剤および方法を使用して達成されるものには、次のようなものが挙げられるが、これらに、本発明が限定されるものではない：皮膚への使用；眼への使用（LASIC、PRK外科手術、または白内障手術(cataract surgery)（例えば、水晶体囊(lens capsule)が瘢痕化される）のような眼への外科手術から生じる瘢痕の予防、軽減、または抑制を含む）；前囊収縮(capsular contraction)（豊胸手術(breast implant)の周辺にも共通する）への使用；血管への使用；中枢および末梢神経系への使用（例えば、瘢痕を予防、軽減、または抑制することで、神経細胞の再結合(neuronal reconnection)を促進する）；腱(tendons)、韌帯(ligaments)または筋肉への使用；口腔(oral cavity)、唇(lips)および口蓋(palate)への使用（唇または口蓋の治療から生じる瘢痕の予防、軽減、または抑制におけるような使用）；肝臓、心臓、脳、消化組織(digestive tissues)および生殖組織(reproductive tissues)のような内部器官への使用；腹腔(abdominal cavity)、骨盤腔(pelvic cavity)および胸腔(thoracic cavity)のような体内腔(body cavities)（瘢痕の予防、軽減、または抑制が、癒着形成率を低減させることおよび／または形成された癒着の大きさを低下させることもある）。また、本発明の薬剤および方法は、腹部(digestive tract)、骨盤(abdomen)および脊椎(pelvis)に発生するような癒着を予防、軽減、または抑制することに使用することができる。本発明の薬剤および方法は、皮膚の瘢痕（真皮性瘢痕(dermal scarring)）を予防、軽減、または抑制するために使用することが特に好みしい。

10

20

30

40

50

【0036】

本発明の薬剤または方法を使用することで、予防、軽減、または抑制される線維性疾患に関連する瘢痕は、例えば、次のようなものから成る群の中から選択することが好みしい：すなわち、皮膚線維症(skin fibrosis)；強皮症(scleroderma)；進行性全身性線維症(progressive systemic fibrosis)；肺線維症(lung fibrosis)；筋線維症(muscle fibrosis)；腎臓線維症(kidney fibrosis)；糸球体硬化症(glomerulosclerosis)；糸球体腎炎(glomerulonephritis)；子宮線維症(uterine fibrosis)；腎線維症(renal fibrosis)；肝硬変(cirrhosis of the liver)、肝線維症(liver fibrosis)；慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease)；心筋梗塞(myocardial infarction)を引き起こすような線維症；脳卒中(stroke)を引き起こすような中枢神経系線維症(central nervous system fibrosis)；多発性硬化症(multiple sclerosis)のような神経変性疾患(neuro-degenerative disorders)に関連する線維症；増殖性硝子体網膜症(proliferative vitreoretinopathy；PVR)；再狭窄(restenosis)；子宮内膜症(endometriosis)；虚血性疾患(ischemic disease)および放射線線維症(radiation fibrosis)。

【0037】

本明細書において、本発明を説明するために使用した様々な用語は、後ほど解説する。以下で説明する定義および指針(ガイダンス)は、必要に応じて、また文脈上必要な場合には、本明細書の他の箇所でさらに詳述する。

【0038】

(「治療に効果的な量」(therapeutically effective amount))

WNT3A、またはその断片(フラグメント)もしくはその誘導体における治療に効果的な量とは、WNT3A、または治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体が、瘢痕を抑制することを可能とする量である。そのような瘢痕としては、創傷に関連するものでもよいし、線維性疾患に関連するものでもよい。

【0039】

WNT3A、またはその断片(フラグメント)もしくはその誘導体における治療に効果的な量とは、WNT3A、またはその断片(フラグメント)もしくはその誘導体が、それらが投与されて、創傷(もしくは創傷が形成される部位)または線維性疾患(もしくは線維性疾患が発生した部位)の瘢痕の抑制を可能とする量であることが好みしい。

【0040】

本発明の薬剤の治療に効果的な量とは、瘢痕を抑制することができる本発明の薬剤の量である。ここで、瘢痕を抑制することは、本発明の薬剤が投与された部位でなされことが好ましい。

【0041】

WNT3Aもしくは本発明の薬剤の断片(フラグメント)または誘導体における治療に効果的な量は、関連する対照(コントロール)と比較して、瘢痕を少なくとも10%抑制する効果が得られる断片(フラグメント)またはその誘導体の量が好ましい。好ましくは、WNT3A、またはWNT3Aもしくは本発明の薬剤の断片(フラグメント)もしくは誘導体における治療に効果的な量は、関連する対照(コントロール)と比較して、瘢痕を少なくとも20%抑制できる量でもよく、より好ましくは、瘢痕を少なくとも50%、さらに好ましくは、瘢痕を少なくとも75%、さらに一層好ましくは、瘢痕を少なくとも90%抑制できる量でもよい。最も好ましくは、WNT3A、またはWNT3Aもしくは本発明の薬剤の断片(フラグメント)もしくは誘導体における治療に効果的な量は、関連する対照(コントロール)と比較して瘢痕を100%抑制できる量である。

10

【0042】

適切な対照(コントロール)を選定することは、当業者にとっては自明なことであるが、その方針としては、治療された創傷の治癒における瘢痕を抑制することへの評価を行いたい場合には、適切な対照(コントロール)は、未治療創傷でもよいし、対照(コントロール)治療創傷でもよい。

20

【0043】

WNT3A、または治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体を、既に存在する瘢痕に与えることで達成される場合の瘢痕の抑制を評価したい状況では、未治療の瘢痕を適切な対照(コントロール)としてもよい。

【0044】

従って、WNT3Aもしくは本発明の薬剤の断片(フラグメント)または誘導体における治療に効果的な量は、例えば、未治療または対照(コントロール)の創傷の治癒で生じた瘢痕と比較して、治療瘢痕の治癒から生じた瘢痕を少なくとも10%抑制する効果が得られる量である。「治療された創傷(treated wounds)」および「未治療の創傷(untreated wounds)」もしくは「対照(コントロール)創傷(control wounds)」とは、本明細書の他の箇所で定義している。治療に効果的な量は、未治療または対照(コントロール)の創傷の治癒で生じた瘢痕と比較して、好ましくは、20%の瘢痕(治療創傷の治癒により生じた瘢痕)を抑制可能な量でもよく、より好ましくは、少なくとも50%、さらに好ましくは、少なくとも75%、さらに一層好ましくは、少なくとも90%の瘢痕を抑制可能な量でもよい。

30

【0045】

線維性疾患に関連する瘢痕において、WNT3Aもしくは本発明の薬剤の断片(フラグメント)または誘導体における治療に効果的な量は、例えば、線維症の治療部位の瘢痕を、他の状況で同等の線維症の未治療部位に存在する瘢痕の量よりも、少なくとも10%抑制する効果が得られる量である。「線維症の治療された部位(treated site of fibrosis)」および「線維症の未治療の部位(untreated site of fibrosis)」とは、本明細書の他の箇所で定義している。治療に効果的な量としては、例えば、線維症の比較可能な未治療部位に存在する瘢痕と比較して、20%の瘢痕を抑制可能な量が好ましく、より好ましくは、少なくとも50%、さらに好ましくは、少なくとも75%、さらに一層好ましくは、少なくとも90%の瘢痕を抑制可能な量である。

40

【0046】

当業者にとっては、生来的な治療活性(inherent therapeutic activity)がほとんど無いWNT3Aの断片(フラグメント)または誘導体であっても、治療に効果的な量が投与されることで治療に効果があることは理解されるであろう。

【0047】

50

WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体の治療に効果的な量は、治療された瘢痕におけるECM組成物（例えば、コラーゲン）の総量および／または配向を治療的に変化できる量であることが好ましい。

【0048】

本発明による薬剤は、治療に効果的な量のWNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を提供する。本発明による薬剤は、1回以上の服用単位(dosage units)として与えられることが好ましい。各々の服用単位は、治療に効果的な量のWNT3A、治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体でもよく、このような治療に効果的な量を既知の割合で分けたもの、もしくは複合したものでもよい。

10

【0049】

本発明者らは、驚くべきことに、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体が、相対的に服用が少ない場合において、最も強く瘢痕を抑制することを発見した。

【0050】

本発明者らは、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体の治療に効果的な量は、創傷または線維性疾患（その瘢痕が抑制対象となる）の直線長さ1cm（または 1 cm^2 ）あたり24ピコモル(pmole)より少ないことが好ましいということを確立した。WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体の治療に効果的な量は、創傷または線維性疾患の直線長さ1cm（または 1 cm^2 ）あたり12ピコモル(pmole)を超えないことが好ましい。治療に効果的な量のWNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、創傷または線維性疾患（抑制しようとする瘢痕が含まれる）の直線長さ1cm（または 1 cm^2 ）あたり24フェムトモル(fmole)から2.4ピコモル(pmole)の間であることが好ましい。

20

【0051】

さらなる例としては、創傷の直線長さ1cm、または創傷もしくは線維性疾患 1 cm^2 あたり約100ng以下のWNT3Aの投与が24時間にわたって（24時間の間に）行われる場合には、治療に効果的な量となる。より好ましくは、WNT3Aの治療に効果的な量は、24時間にわたって（24時間の間に）創傷の直線長さ1cm、または創傷もしくは線維性疾患 1 cm^2 あたり約50ng未満であり、さらに一層好ましくは、24時間にわたって（24時間の間に）創傷の直線長さ1cm、または創傷もしくは線維性疾患 1 cm^2 あたり約1ng未満である。

30

【0052】

創傷の直線長さ1cm、または創傷もしくは線維性疾患 1 cm^2 あたり約1ngのWNT3Aを投与することで、本発明の薬剤および方法の使用において治療に効果的な好ましい量となる。

【0053】

WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体の治療に効果的な好ましい量は（一般的なものか、または、特定の選択された断片（フラグメント）もしくはその誘導体に基づくものかのいずれであっても）、例えば、インビトロモデル、インビオモデル、および、瘢痕を測定するための様々なパラメタに基づく適切な效能評価（本明細書の他の箇所で記載されている）を利用して調べることができる。

40

【0054】

（「WNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）または誘導体」）

本発明においては、「WNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）または誘導体（therapeutically effective fragments or derivatives of WNT3A）」とは、（特に記載のない限り）瘢痕を抑制することができるWNT3Aの断片（フラグメント）または誘導体が含まれる。そのような瘢痕の抑制を評価できる好ましい方法は、本明細書の他の箇所で検討している。

50

【 0 0 5 5 】

特に記載のない限り、治療に効果的な誘導体は、WNT3Aそのものから生じたものであっても、WNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）から生じたものであっても、いずれでもよい。本発明の薬剤および方法におけるWNT3Aの断片（フラグメント）または誘導体は、ヒトのWNT3A（アミノ酸配列が配列番号No.1で示される）に基づくものが好ましい。

【 0 0 5 6 】

WNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）または誘導体は、例えば、適切な対照（コントロール）と比較して瘢痕を少なくとも10%抑制することができる断片（フラグメント）または誘導体である。WNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）または誘導体は、適切な対照（コントロール）と比較して、例えば、瘢痕を少なくとも20%抑制することができる断片（フラグメント）または誘導体が好ましく、より好ましくは、少なくとも瘢痕を50%、さらに好ましくは、瘢痕を少なくとも75%、さらに一層好ましくは、瘢痕を少なくとも90%抑制することができる断片（フラグメント）または誘導体である。最も好ましくは、WNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）または誘導体は、例えば、適切な対照（コントロール）と比較して、瘢痕を100%抑制することができる断片（フラグメント）または誘導体である。

10

【 0 0 5 7 】

特に、本発明の薬剤または方法において適切に使用されるWNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）または誘導体は、例えば、治療された瘢痕における細胞外マトリックス組成物（例えば、コラーゲン）の量および/または配向を変化させ、それにより瘢痕を抑制する。

20

【 0 0 5 8 】

WNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）または誘導体は、WNT3Aの断片（フラグメント）または誘導体が投与された部位で、瘢痕を抑制できることが好ましい。そのような部位は、例えば、創傷または創傷の治癒により生じた瘢痕である。別的方法として、そのような部位は、例えば、線維性疾患の部位である。

治療に効果的な適切な量のWNT3A、さらに、WNT3Aの治療に効果的な適切な断片（フラグメント）または誘導体とは、本明細書の他の箇所で考慮している。

30

【 0 0 5 9 】

本発明に従い使用されるのに好適なWNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）または誘導体は、好ましくは、創傷により生じる瘢痕を予防、軽減、または抑制できるようなものである。WNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）または誘導体は、それらを添加した創傷（または創傷が形成された部位）の瘢痕を予防、軽減、または抑制できるものが好ましい。別の例として、本発明に従い適切に使用されるWNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）または誘導体は、線維性疾患に関連する瘢痕を予防、軽減、または抑制できる。そのようなWNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）または誘導体は、その断片（フラグメント）または誘導体を添加した部位における線維性疾患に関連する瘢痕を予防、軽減、または抑制することができる。

40

【 0 0 6 0 】

（「WNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）」）

本発明の使用に適する治療に効果的なWNT3Aの断片（フラグメント）は、例えば、配列番号がNo.1由来のアミノ酸残基を25個以上含むものであり、このアミノ酸残基を100個まで含むものが好ましく、より好ましくは、当該アミノ酸残基を200個まで含むものであり、さらに一層好ましくは、当該アミノ酸残基を300個まで含むものである。本発明の薬剤および方法において使用に適する断片（フラグメント）は、例えば、配列番号がNo.1のアミノ酸残基を350個まで含むものである。この断片（フラグメント）としては、配列番号No.1由来のアミノ酸残基を少なくとも25個含むものが好ましい。

50

【 0 0 6 1 】

本発明の使用に適する治療に効果的なWNT3Aの断片（フラグメント）は、例えば、配列番号がNo.1由来の連続した（互いに隣接した）アミノ酸残基を10個まで含むものであり、当該アミノ酸残基を100個まで含むものが好ましく、より好ましくは、このアミノ酸残基を200個まで含むものであり、さらに好ましくは、このアミノ酸残基を300個まで含むものである。本発明の薬剤および方法における使用に適する断片（フラグメント）は、例えば、配列番号がNo.1のアミノ酸残基を、350個まで含む。この断片（フラグメント）としては、配列番号No.1由来のアミノ酸残基を少なくとも10個含むことが好ましい。

【0062】

本発明の使用に適する治療に効果的なWNT3Aの断片（フラグメント）は、例えば、配列番号がNo.1由来の連続した（互いに隣接した）アミノ酸残基を少なくとも10個含むものであり、当該アミノ酸残基を少なくとも100個含むものが好ましく、より好ましくは、当該アミノ酸残基を少なくとも200個含むものであり、さらに好ましくは、このアミノ酸残基を少なくとも300個含むものである。本発明の薬剤および方法における使用に適する断片（フラグメント）は、例えば、配列番号がNo.1のアミノ酸残基を、少なくとも350個含む。

10

【0063】

WNTタンパク質は、一般的に、システイン残基がパルミトイル化(palmitoylated)されている。WNTsのパルミトイル化が、アシル化タンパク質チオエステラーゼ(acyl protein thioesterase)により、妨げられてきたことに関する研究から、パルチミンエステル(palmitate)の存在が、WNTsが生物学的活性を発揮するために重要であることが示唆されている。

20

【0064】

本発明者らは、WNT3Aは、配列番号No.1に示されるアミノ酸配列の77番目に位置するシステイン残基でパルミトイル化されると考えている。従って、本発明に従い使用されるWNT3Aの断片（フラグメント）は、配列番号がNo.1の77番目の位置のシステイン残基を含む断片（フラグメント）が好ましい。（当業者であれば、このシステイン残基の位置の番号は、例えば、システイン77(cysteine 77)のように呼ばれているものであり、断片（フラグメント）の範囲内で、その断片（フラグメント）の長さに応じて、変わることがあるということは、容易に理解されるであろう）。WNT3Aの断片（フラグメント）は、好ましくは、パルミトイル化された断片（フラグメント）でもあり、特に、システイン77(cysteine 77)でパルミトイル化された断片（フラグメント）である。

30

【0065】

断片（フラグメント）は、WNT3Aを、その細胞受容体（レセプター）に結合させることに関与するアミノ酸残基が含まれていることが好ましい。従来の報告では、WNT3Aが多くの受容体、または受容体複合体を介してシグナリングを行うことができる事が示されている。WNT3Aは、LRP5およびLRP6の両方、さらにはFZD8とも反応することが示されている。

40

【0066】

治療に効果的なWNT3Aの断片（フラグメント）または誘導体は、WNT3Aの受容体結合（receptor-bind）領域を（全部または一部のいずれであっても）、組み込んでいくことが好ましい。受容体結合を考える上で重要なことは、WNT3Aの3次元構造であることから、受容体結合に必須の3次元コンホメーション(three dimensional conformation)を形成する能力に基づいて、適切な断片（フラグメント）を選択しなければならない。

【0067】

（「治療に効果的な誘導体」）

WNT3A（配列番号がNo.1で定義される）の全てまたは一部を含んで成るペプチドは、好ましい薬剤として、本発明の使用に用いることができるが、ペプチド分解に対する

50

る感受性 (sensitivity) が、不利益をもたらすことがある。また、多くの公知技術には、ペプチド誘導体を生成する際に、ペプチド誘導体がその由来する親ペプチドよりも分解に対する耐性を大きくするものがある。

【0068】

ペプトイド誘導体 (peptoid derivatives) は、本発明のペプチド薬剤よりも分解に対する耐性が大きいことともに、その一方では、瘢痕を抑制することに関して同様の能力を保持することが期待されよう。適切なペプトイド誘導体は、例えば、WNT3Aの配列および構造に関する知識に基づいて、容易に設計できる。例えば、市販されているソフトウェアを利用することにより、確立された手順に従い適切なペプトイド誘導体を開発できる。ペプトイドおよび他の誘導体の治療効果は、例えば、任意の適切な技術（これを説明する例は、本明細書の他の箇所で記載している）を用いて調べられる。10

【0069】

WNT3Aまたは治療に効果的なその断片（フラグメント）に基づくレトロペプトイド（Retropeptides）（但し、全てのアミノ酸がペプトイド残基(peptoid residues)により逆順に置換される）も、瘢痕を抑制することができる。レトロペプトイドは、リガンド結合溝（ligand-binding groove）において、反対方向に結合すると考えられるが、これは、1つのペプトイド残基を含むペプチドまたはペプトイド - ペプチド混成体（peptoid-peptide hybrid）の場合と対照的である。結果として、ペプトイド残基の側鎖は、前記親ペプチドの側鎖と同じ方向に向くことができる。20

【0070】

WNT3Aまたは治療に効果的なその断片（フラグメント）のD-アミノ酸形態も、瘢痕を抑制するために必要な能力を与える。D-アミノ酸形態においては、この断片（フラグメント）を含むアミノ酸残基の配列順序は、前記親ペプチドと比べて逆転している。L-アミノ酸ではなくD-アミノ酸を使用する誘導体の調製は、標準代謝プロセスにより、これらの薬剤における望まれない分解を著しく減少させ、投与頻度と共に薬剤の必要投与量を減少させる。20

【0071】

本発明の薬剤および方法に従う使用に適するWNT3Aの誘導体には、完全長（full length）のWNT3Aから誘導されるもの、およびWNT3Aの治療に効果的な断片（フラグメント）から誘導されるものの両方が含まれる（本明細書の他の箇所で検討している）。30

【0072】

本発明の薬剤および方法に従う使用に適するWNT3Aの誘導体は、例えば、配列番号がNo.1の配列に対して少なくとも10%の相同性（homology；ホモロジー）を有するものであり、好ましくは、少なくとも25%の相同性、より好ましくは、少なくとも50%の相同性、さらに一層好ましくは、少なくとも75%の相同性を有するものである。この誘導体は、特に好ましくは、配列番号がNo.1の配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、またはそれより大きい相同性を有するものである。

【0073】

本発明の薬剤および方法に従う使用に適するWNT3Aの誘導体は、例えば、配列番号がNo.1の配列に対して少なくとも10%の同一性（identity）を有するものであり、好ましくは、少なくとも25%の同一性、より好ましくは、少なくとも50%の同一性、さらに一層好ましくは、少なくとも75%の同一性を有するものである。この誘導体は、特に好ましくは、配列番号がNo.1の配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、またはそれより大きい同一性を有するものである。40

相同性（homology；ホモロジー）または同一性（identity）を決定するのに適する手段は、当業者には明らかなことであろう。

【0074】

（「活性化された薬品（エージェント）」）

「活性化された薬品（エージェント）」（active agent）とは、本発明においては、WNT

10

20

30

40

50

T 3 A、または任意の治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体の使用が含まれる。

当業者であれば、2つ以上の異なる活性化された薬品の混合物が、本発明の薬剤または方法において、瘢痕を抑制するために使用することができるということは容易に理解されることである。むしろ、そのような使用は、本発明の好ましい実施態様となる。

【0075】

本発明の使用に適するWNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、WNT3A以外のWNTファミリーのメンバーを除外することが好ましい。

【0076】

当業者であれば、本発明の薬剤または方法における使用に適する多くの活性化された薬品が、瘢痕を抑制しようとする部位（または、それらの製品が、例えば、瘢痕を抑制しようとする部位に利用できる起点となる部位）における細胞発現に適するということは容易に理解されることである。このような適用方法は、「遺伝子治療」(gene therapy)と呼ばれるが、これに関しては、さらに本明細書の他の箇所で一層詳しく述べる。上記の観点から、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体の細胞発現（瘢痕を抑制しようとする部位において）は、本発明のより好ましい実施態様となる。そのような発現は、好ましくは、一時的なものとしてもよく、さらには一旦瘢痕が望ましく抑制された場合には用済みとしてもよい。例えば、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体をコード化する核酸構築体（nucleic acid construct）は、本発明の薬剤または方法において使用することができる。

10

20

30

【0077】

（「本発明の薬剤」）

本発明においては、本発明の薬剤とは、本発明の任意の観点または実施態様に従って製造される任意の薬剤が含まれる。

本発明の薬剤は、一般的に、薬学的に許容し得る賦形剤（vehicle;ベヒクル）、希釈剤（diluent）、または基材（carrier）を、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体に加えて構成される。本発明の薬剤は、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を含む注射用溶液（injectable solution）の形態が好ましい。局部注射（localised injection）（例えば、皮内注射（intradermal injection））に適する溶液は、本発明の薬剤の特に好ましい形態である。

【0078】

（本発明の治療における好ましい部位、条件および疾患）

治療に効果的な量のWNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を使用して瘢痕を抑制することは、もしこれらを使用しなければ、望まれない瘢痕が生じるような殆どすべての状況において、有益となろう。

【0079】

以下の説明は、本発明の方法および薬剤の使用を制限するものではなく、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を使用することで、瘢痕を抑制することが期待される状況に関する有益な指針を提供するものである。

40

【0080】

本発明の瘢痕を抑制する方法および薬剤の使用は、以下に述べるような治療を施された外傷部位の美容的外觀において、著しい改善をもたらすことができる。美容に関する配慮は、多くの臨床状況（clinical context）において重要であり、特に、瘢痕が、人目につきやすい身体部位（例えば、顔、首および手）に形成された場合に重要である。このため、さらに好ましい実施態様としては、本発明の薬剤および方法が、瘢痕の抑制に使用され、この瘢痕の部位は、形成された瘢痕の美容的外觀を改善することが望まれている部位である。より具体的には、好ましい実施態様としては、本発明の薬剤および方法が、美容的手術に関連する瘢痕を抑制することに使用される。美容的手術の大部分が、本人の意思に沿

50

つた外科処置から成ることから、直ちに可能となることは、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を手術に優先して投与すること、および／または、引き続き直ちに創傷を閉塞すること（例えば、縫合すること(sutures)）であり、このような使用は、本発明における特に好ましい実施態様となる。本人の意思に沿った外科処置の場合において、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体の投与経路は、皮内注射（intradermal injection）であることが好ましい。このような注射は、例えば、隆起した小疱(bleb)を形成するが、これらは、創傷が形成されようとする部位に形成されるか（この場合には、これらは、その後に手術処置の一環として切開することができる）、または、形成された創傷の縁に沿って形成される。あるいはまた、創傷が、形成および／または閉塞（例えば、縫合(sutures)による）した後に、小疱(bleb)が、創傷の縁に注射されることにより、隆起することがある。

10

【0081】

外科的処置による美容上の結果は、形成外科(plastic surgery)においても、重視されている。かくして、本発明の方法または薬剤の使用は、さらなる好ましい実施態様として、形成外科における瘢痕を抑制する。

【0082】

このような美容的影響に加えて、皮膚の瘢痕は、このような瘢痕を受ける患者を悩ます多くの害を招く。例えば、皮膚の瘢痕は、物理的および機械的機能の低減に関連することがあるが、これは、特に、収縮性瘢痕(contractile scars)（例えば、肥大性瘢痕(hypertrophic scars)）の場合、および／または、瘢痕が関節（joint /articulation）を横断して形成される場合である。この種の収縮性瘢痕(contractile scar)で見られる収縮(contraction)は、治癒プロセスの正常部分として生じる創傷収縮よりも明らかであることから、そのような正常に生じた収縮と区別することは、例えば、治癒プロセスが完了した後（すなわち、創傷の閉塞後）も長期にわたり残存しているかという見方でも行える。関節部位の瘢痕の例では、瘢痕化した皮膚の機械的特性が変質し（瘢痕化していない皮膚と対比して）、さらに瘢痕の収縮(contraction)が起き、それらの結果として、関節の可動域が大幅に制限される。このため、好ましい実施態様としては、本発明の適切な薬剤および方法は、身体の関節を覆う創傷における瘢痕を抑制するために使用することができる（そのような瘢痕は、関節を覆う創傷の治癒により生じたもの、または、関節を覆う線維症に関連するもののいずれでもよい）。他の好ましい実施態様としては、本発明の適切な薬剤および方法は、収縮瘢痕の形成リスクを高めている創傷における瘢痕を抑制するために使用することができる。（創傷の治癒により生じた瘢痕の場合には、この瘢痕としては、子供の創傷、および／または、火傷により形成された創傷が含まれる）

20

【0083】

火傷から生じた創傷（本発明においては、熱い液体および気体を伴う火傷をするような傷害も含まれる）は、人々を苦しめながら個々の広い領域にわたり拡大する。このため、火傷は、瘢痕形成を引き起こすことがあり、これは、患者の身体の広い領域に及ぶ。このように火傷が広い範囲に拡大することにより、形成された瘢痕が美容的に重要な領域（例えば、顔、首、腕、または手）または機械的に重要な領域（特に、関節を覆う領域または囲む領域）を覆ってしまうリスクが増大する。熱い液体により引き起こされた火傷は、子供を苦しめることも多く（例えば、なべ、やかんまたは同類のものをひっくり返した結果として）、子供は相対的に体格が小さいがために、特に、身体の広い範囲にわたり大きな損傷を被る傾向にある。さらに、火傷、そのうち特に子供が被るものには、以下で述べるタイプの病理学的な肥大性瘢痕を生じるリスクが高い。このような肥大性瘢痕は、美容的のみならず機械的な損傷を、火傷後の瘢痕とともに増大させことがある。本発明の薬剤および方法は、好ましい実施態様として、火傷により生じた瘢痕を抑制するために使用することもできる。瘢痕形成の範囲、さらには、美容的もしくは他の損傷の範囲（例えば、瘢痕により引き起こされる）は、その瘢痕が形成された部位の張力（創傷を治癒することで生じた瘢痕の例では、創傷が形成された部位の張力）のような要素にも影響される。例

30

40

50

えば、相対的に強い張力を有する皮膚（例えば、胸部を覆う皮膚、または、張力線（line of tension）に関連する皮膚）は、他の身体部位よりも、さらに危険な瘢痕を生成しやすいということが知られている。かくして、本発明の方法または薬剤は、好ましい実施態様として、皮膚張力の強い部位における瘢痕（例えば、そのような部位における創傷の結果として生じた瘢痕）を抑制するために使用することもできる。

【0084】

外科処置として、瘢痕の整形手術で、例えば、創傷および瘢痕の再統合（realignment）を行うことで、その張力を低減させようとするものは多い。おそらく、これらのうち最もよく知られた外科処置としては、「Z-plasty」（Z形成術）があるが、これは、2つのV字型の皮弁（flaps of skin）を移動させて、張力線（line of tension）を張り替えるものである。本発明の方法または薬剤は、さらに好ましい実施態様として、瘢痕の外科整形中に、創傷の瘢痕を抑制するために使用することもできる。

10

【0085】

病理学的瘢痕（pathological scarring）は、例えば、相対的に重症である正常の瘢痕の結果として生じるものよりも、さらに著しく有害である。病理学的瘢痕の一般例としては、ケロイド（keloids）、肥厚性瘢痕（hypertrophic scars）、および翼状片（pterygium）が含まれる。

【0086】

ケロイド瘢痕（または、ケロイド）とは、病理学的瘢痕に関して注目に値する一例であるが、これは、隆起した瘢痕であり、本来の創傷の縁を越えて拡大し、周囲の正常の皮膚に侵入するものである。ケロイドは、時間が経過するとともに成長し続け、自然に退縮することなく、さらには手術による摘出後に再発することも多い。ケロイド瘢痕は、男女に等しい頻度で発症し（主に10歳から30歳まで）、ピアス、手術、ワクチン接種（vaccination）、入れ墨、刺し傷、鈍的外傷（blunt trauma）および火傷により生じることがある。多くの研究で示されていることは、ケロイドが形成されることに関する潜在的な遺伝子素因（genetic predisposition）が存在するということであるが、これは、ケロイド瘢痕が、色の黒い人種、すなわち、アフリカ大陸系集団（African Continental Ancestry Group）またはアジア大陸系集団（Asian Continental Ancestry Group）からなる群において、より多く蔓延しているためである。

20

【0087】

ケロイドは、隆起した瘢痕として現れるが、典型的な例では、周囲の皮膚との兼ね合いで、色素沈着過剰（hyperpigmented）、または色素沈着低下（hypopigmented）となっている。ケロイドを特徴付けることとしては、例えば、創傷の本来の（それらが発生した）境界を超えて成長する傾向がある。顕微鏡レベルにおいて、ケロイドを特徴付けることとしては、例えば、コラーゲンが広範な渦巻状となっており、さらに、病変部の内部が主に無細胞となっていることである。

30

【0088】

肥厚性瘢痕は、隆起した瘢痕であるが、これは、ケロイド病変と非常に似た外観を示すことがある。ケロイドとは異なり、肥厚性瘢痕は、本来の外傷の境界を越えて拡大することではなく、さらに、摘出後に再発しやすくはない。例えば、肥厚性瘢痕が頻繁に収縮することから、肥厚性瘢痕の収縮特性は、筋線維芽細胞（myofibroblasts）の数の上昇（これらのタイプの瘢痕で報告されることも多い）に関連することも考えられている。肥厚性瘢痕は、一般的には、火傷または火傷をするような傷害で生じるもので、特に、子供の間でよく見られる。

40

【0089】

翼状片（pterygium）とは、結膜下組織が、角膜との境界まで肥大化したか、または、それを超えて肥大化した派生物である。この派生物は、通常、三角形の形状をしており、その先端が瞳孔（pupil）を向いている。翼状片は、視界を遮ってしまうために、肥厚組織を切除する手術が必要となることもある。さらに、この組織は、切除後に再生することも多いことから（ケロイド瘢痕と同様に）、複数回の手術が必要なこともある

50

。

【0090】

創傷のうちのあるタイプ、またはある人種において、病理学的瘢痕を形成しやすい傾向を有するものもある。例えば、アフリカ大陸系集団 (African Continental Ancestry Group)、アジア大陸系集団 (Asian Continental Ancestry Group)、または、病理学的瘢痕になりやすい家系の場合には、肥厚性瘢痕またはケロイドの形成リスクが高まることが考えられる。子供の創傷、特に子供の火傷の創傷も、増加する肥厚性瘢痕の形成と関連している。翼状片の発現率は、例えば、強い日差しまたは埃に、眼が晒されることが多い人々には増加する。かくして、本発明の好ましい実施態様としては、適切な方法または薬剤が、病理学的瘢痕を形成するリスクの高い創傷の瘢痕を、抑制するために使用することもできる。

10

【0091】

病理学的瘢痕を既に患っている人々は、例えば、さらなる瘢痕形成を被り易いことに悩まされることがあるが、肥厚性瘢痕またはケロイドを外科的に整形すること(重大な病理学的瘢痕を形成するリスクを伴うもの)が臨床的に必要とされる場合が多い。かくして、本発明のさらに好ましい実施態様としては、ここで述べた方法または薬剤は、病理学的瘢痕の外科整形で生成された創傷による瘢痕を、抑制することに使用することもできる。

【0092】

WNT3A、および、治療に効果的なその断片 (fragment) およびその誘導体が瘢痕を抑制できることは、移植処置 (grafting procedures) に関連する瘢痕を抑制することに、非常に有用である。特に、本発明の方法または薬剤は、移植処置に関連する創傷による瘢痕を、抑制するために使用することもできる。本発明の方法または薬剤を使用することで瘢痕を抑制することは、移植提供 (ドナー) 部位および移植受容 (レシピエント) 部位のいずれに対しても有効である。本発明の方法または薬剤による瘢痕を抑制する効果としては、例えば、移植の際に組織が切除された部位で発生する瘢痕か、または、移植組織の治癒および融合に関連する瘢痕を抑制できることである。本発明者らは、本発明の方法および薬剤が、移植利用皮膚 (grafts utilising skin)、人工皮膚 (artificial skin)、または皮膚代用物 (skin substitutes) に関連する瘢痕を抑制することにも有益となるであろうと考えている。

20

【0093】

また、本発明者らは、本発明の方法または薬剤が、被包化 (encapsulation) に関連する瘢痕を抑制するために、使用できるとも考えている。被包化とは、瘢痕の一形態であり、これは、移植組織片 (インプラント) 物質 (implant materials) (例えば、生物活性物質 (biomaterial; バイオマテリアル)) が、生体内に導入される部位の周囲で発生する。被包化は、豊胸 (breast implants) に関連して併発すること多く、かくして、本発明において、被包化を抑制するために、本発明の方法または薬剤を使用することは、本発明の好ましい実施態様となる。

30

【0094】

本発明の方法または薬剤は、広い範囲の創傷のタイプにより生じた瘢痕を抑制するためにも使用することができるが、この瘢痕としては、身体部位の幅広い範囲において発生するものがある。本発明の方法または薬剤は、擦過傷 (abrasions) ; 剥離創 (avulsions) ; 圧挫創 (crush wounds) ; 切開創 (incisional wounds) ; 裂傷 (lacerations) ; 穿刺 (punctures) ; 銃弾創 (missile wounds) からなる群のうちから選択された創傷の治癒により生じた瘢痕を、抑制することにも使用することができる。これらの異なるタイプのすべての創傷は、皮膚 (他の組織または器官の間にある) を傷つけ、さらには、程度の大小に違いこそあれ、瘢痕化してしまうことがある。

40

【0095】

切開創 (incisional wounds) は、通称、「切り傷 (cuts)」とも呼ばれる。切開創は、鋭器 (sharp instrument) を用いて、組織を切開 (incision) または薄切り (slicing) することで生じるが、その結果として、相対的に平坦な境界部を有する創傷となつていい

50

る。切開創は、その重傷度が個々で大いに異なり、ごく小さい創傷（例えば、紙による切り傷（paper cut））から、かなり大きな創傷（外科的切開の結果として生じるもののような）まである。切開創は、多かれ少なかれ瀉血（bleeding）を伴うことがあるが、この程度は、創傷の深さおよび長さ、さらには関連する組織にも応じて異なる。切開創の平坦な境界部は、一般的には、すみやかに整列状態となるが、これにより、そのような創傷の閉塞を促進する。切開創は、瘢痕を引き起こすことも多いことから、本発明の方法または薬剤は、切開創により生じた瘢痕を抑制するために使用すると効果を發揮し得る。

【0096】

切開創は、本発明の方法または薬剤が抑制できる好ましい創傷瘢痕に含まれる。外科的切開創は、特に好ましい創傷の群に含まれ、この点において、その瘢痕は、本発明の方法または薬剤を使用することで、抑制することもできる。10

【0097】

皮膚以外の組織（例えば、角膜）も、上記および本明細書の他の箇所で述べたタイプの創傷となりやすい。本発明の方法または薬剤は、これらの組織におけるそのような創傷に関連する瘢痕を抑制するために、使用しても効果的である。

【0098】

腹膜（peritoneum）（内部器官の上皮膜(epithelial covering)、および／または、体腔(body cavity)内部）を含む創傷を治癒することで、癒着が引き起こされることは多い。そのような瘢痕は、帯状の線維状瘢痕組織により形成され、腸(intestines)が、各々の腸、他の腹部の臓器、または、腹壁(abdominal wall)と、環状に連結されることがある。癒着は、腸の切片(section)を外部に引き抜くことがあり、このため、食物が通過することを塞ぐことがある。癒着とは、婦人科医学的組織(gynaecological tissues)に関連する通常の手術結果でもある。癒着が形成されることで、感染（例えば、バクテリア感染(bacterial infection)）、または放射能被爆を受けた創傷が増加することもある。20

【0099】

本発明者らは、本発明の薬剤または方法の效能として、癒着の発生を抑制できると考えている。このため、本発明の薬剤または方法を使用し、腸または婦人科に関する癒着の形成を予防することは、本発明の好ましい実施態様となる。本発明の薬剤および方法は、瘢痕（癒着の形成を含む）を抑制することにも有用であり、この瘢痕としては、感染創または放射能被爆創傷の治癒で生じる瘢痕を対象とすることができる。実際には、当業者であれば、本発明の薬剤または方法を使用し、腹膜を含む任意の創傷を治癒することは、本発明の好ましい実施態様となることは理解されることである。本発明の薬剤は、洗浄(lavage)投与してもよく、または、非経口ゲル(parenteral gel)／点滴(instillate)で投与してもよく、または、局所的に（例えば、手術時に挿入された薄膜(film)または基材(carrier)から）投与してもよい。30

【0100】

本発明の薬剤または方法は、眼の瘢痕の抑制における使用に適することから、この状況での使用は、本発明の好ましい実施態様となる。本発明者らは、本発明の薬剤または方法が、眼の創傷を治癒することにより生じた瘢痕を抑制すること、および／または、眼の線維性疾患に関連する瘢痕を抑制することにも使用できると考えている。単なる例示に過ぎないが、本発明の薬剤または方法は、緑内障濾過手術(glaucoma filtration surgery)、または、白内障手術(cataract surgery)（瘢痕が水晶体嚢(lens capsule)の収縮(contraction)に関連することも多い）に関連する瘢痕を抑制することにも使用できる。40

【0101】

角膜の瘢痕の例では、薬剤の処方として、局所点眼(local eye drops)、スponジ(sponge applicator)等を適用することができる。角膜瘢痕は、角膜の創傷を治癒することで生じることもあり、この創傷としては、LASIK処置、または、PRK処置により生じるものがある。さらに、角膜の瘢痕を評価できる方法としては、角膜における乳白度(opacity)、または、透過度(transmitting)／不応(refractory)に関する特性を測定することがある。そのような評価は、例えば、インビボの共焦点顕微鏡(confocal microsc50

opy) を使用して行える。

【 0 1 0 2 】

眼における他の瘢痕として、例えば、緑内障手術(glaucoma surgery)で形成された小胞(blebs)を浮き彫りにする圧力(pressure)をもつ部位、または、増殖性硝子体網膜症(proliferative vitreoretinopathy)に関連する網膜(retina)の瘢痕も、本発明の薬剤および方法を用いて抑制できる。治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片(フラグメント)もしくはその誘導体は、局所使用することもでき、この例としては、眼に埋め込む手段(device)、または、注射が挙げられる。

【 0 1 0 3 】

末梢神経および中枢神経組織における瘢痕も、本発明の薬剤を使用することにより抑制することができる。このような瘢痕は、外科手術または心的外傷(trauma)から生じることがあり、さらには、神経機能の可能性分析(future assays)(例えば、知覚(sensory)または運動(motor)テスト)を用いて評価することもできる。本発明者らは、本発明の薬剤または方法が、そのような将来起こりうる事態を、改善することに対しても有用であろうと考えている。

10

【 0 1 0 4 】

血管の瘢痕(例えば、吻合手術(anastomotic surgery)の事後に生じる)は、筋内膜肥厚(myointimal hyperplasia)および血管内腔(blood vessel lumen)の体積減少(再狭窄(restenosis))をもたらす可能性がある。これは、例えば、超音波を用いて直接測定することや、血流を用いて間接測定することができる。本発明の薬剤または方法を使用することで、もたらされる瘢痕の抑制により、血管内腔における狭窄を低減し、より正常な血流に戻すこともできる。治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片(フラグメント)もしくはその誘導体は、任意の適切な手段を用いて、血管に投与することができる。

20

【 0 1 0 5 】

単なる例示に過ぎないが、これらとしては、縫合(suturing)前の血管壁への直接注入、本WNT3Aまたはその断片(フラグメント)もしくはその誘導体からなる媒体を用いた吻合部位(anastomotic site)の洗浄(bathing)、または、局所処方手段(例えば、ステント)により活性化された薬品(エージェント)の投与が含まれる。血管の瘢痕を効果的に抑制していることは、例えば、標準レベルの血流が、血管障害の後に維持されていることで示すことができる。

30

【 0 1 0 6 】

本発明の薬剤または方法は、腱(tendons)および靭帯(ligaments)の瘢痕を抑制するためにも使用することができる。このような瘢痕は、外科手術または心的外傷(trauma)(このタイプの組織と関連する)により生じ得るものである。瘢痕を抑制することを達成したことは、本発明の薬剤または方法により処置された組織の機能が、回復することで示すことができる。機能が適切であることとしては、腱および靭帯が、耐加重性、伸縮性、可撓性などを有することが含まれる。

40

【 0 1 0 7 】

(「治療された創傷」(treated wounds)、「未治療の創傷」(untreated wounds)、「線維症の治療部位」(treated sites of fibrosis)、「線維症の未治療部位」(untreated sites of fibrosis)、「治療された瘢痕」(treated scars)、および「未治療の瘢痕」(untreated scars))

治療に効果的な量のWNT3A、または、その断片(フラグメント)もしくは誘導体は、未治療創傷の治癒において発生が予測される瘢痕を抑制することができる。本発明者らは、本手法を用いた治療が、このような治療された創傷の治癒において形成された瘢痕の巨視的、および/または微視的外観に影響を与えることができると考えている; すなわち、瘢痕は、巨視的には、あまり目立たずに周囲の皮膚と馴染むことができ、微視的には、正常の皮膚構造に一層類似した内部構造を示すことができる。皮膚の創傷を治癒することにより生じた瘢痕の例では、治療された瘢痕は、微視的には、ECM分子が大量に存在することおよび配向性を有することを示す(コラーゲンのように、未治療の瘢痕よりも正常

50

の皮膚に近い)。

【0108】

本発明において、「未治療の創傷」(untreated wound)とは、治療に効果的な量のWNT3A、または、治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体と接触していない創傷を意味する。また、「希釈剤対照(コントロール)治療創傷」(diluent control-treated wound)とは、未治療の創傷であって、対照(コントロール)希釈剤が投与された創傷であり、「未投薬対照(コントロール)」(naive control)とは、未治療の創傷であって、WNT3A、または、治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体が投与されることなく、さらに適切な対照(コントロール)希釈剤を使用することなく形成され、治療処置を介すことなく治癒した創傷である。10

【0109】

これに対して、「治療された創傷」(treated wound)とは、例えば、治療に効果的な量のWNT3A、または、治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体と接触している創傷を意味する。このため、治療された創傷とは、例えば、本発明の薬剤を施された創傷か、または、本発明の方法に従う治療を受けた創傷である。

【0110】

別の方法として、線維性疾患の部位の治療を、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片(フラグメント)もしくはその誘導体を用いて行うことにより、そのような「治療された線維症の部位」(treated site of fibrosis)における瘢痕を抑制することが可能となる。このような瘢痕は、線維性疾患における未治療または対照(コントロール)の部位(未だ治療に効果的な量のWNT3A、または、治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体が施されていない部位)に発生する瘢痕と比較することができる。20

【0111】

本発明者らは、本手法を用いた線維性疾患の治療が、例えば、線維性疾患に関連する瘢痕の巨視的、および/または微視的外観に影響を与え、線維症が治療された部位における瘢痕の巨視的、および/または微視的な構造は、正常の非線維組織(non-fibrotic tissue)に一層類似すると考えている。例えば、皮膚に関連する線維症の場合には、治療された瘢痕は、微視的には、ECM分子が大量に存在することおよび配向性を有することを示す(コラーゲンのように、未治療の瘢痕よりも正常の皮膚に近い)。30

【0112】

本発明においては、「治療された瘢痕」(treated scar)とは、次のようなものが含まれる。

i) 治療された創傷の治癒により生じた瘢痕(すなわち、この創傷は、治療に効果的な量のWNT3A、または、その断片(フラグメント)もしくはその誘導体を使用して治療されたものである); および/または

ii) 線維性疾患の部位で生じた瘢痕(この線維性疾患は、治療に効果的な量のWNT3A、または、その断片(フラグメント)もしくはその誘導体により治療されてきたものである); および/または

iii) 治療に効果的な量のWNT3A、または、その断片(フラグメント)もしくはその誘導体が投与されてきた瘢痕40

これに対して、「未治療の瘢痕」(untreated scar)とは、次のようなものが含まれる。

【0113】

i) 未治療創傷の治癒により生じた瘢痕(この創傷としては、例えば、プラシーボ治療、対照(コントロール)治療、または、標準治療により治療された創傷); および/または

ii) 治療に効果的な量のWNT3A、または、治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体が、未だ投与されていない瘢痕

未治療の瘢痕は、例えば、コンパレータ(比較測定)として使用され、通常、治療され50

た瘢痕において明白な瘢痕を抑制することを評価することに用いられる。適切なコンパレータ（比較測定）としてのこのタイプの未治療の瘢痕は、好ましくは、1または複数の評価基準に関連する治療された瘢痕に一致し、この評価基準としては、次の群から選択してもよい：瘢痕の経年数；瘢痕の大きさ；瘢痕の部位；患者の年齢；患者の人種および患者の性別である。

【0114】

(瘢痕のモデル)

創傷の治癒により生じた瘢痕を抑制する場合において、WNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体の治療有効性を評価でき、活性化された薬剤（エージェント）の治療に効果的な量を決定できる適切な動物モデルでは、WNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体を、実験動物（例えば、マウス(mice)、ラット(rats)、または豚(pigs)）の切開(incisional)または切除(excisional)された創傷に投与し、さらに、そのような創傷の治癒で生じた瘢痕を評価することが含まれる。

10

【0115】

線維性疾患に関連する瘢痕を抑制する場合は、瘢痕に内在する生物学的メカニズムの共通点から、このような瘢痕は、切開(incisional)または切除(excisional)された創傷の治癒モデル（上記に概略を述べたタイプ）を使用することでも調べることができる。

【0116】

しかしながら、当業者であれば、線維性疾患の特殊モデルであって、本発明のWNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体の治療有効性を、調べることに使用できるようなモデルも案出するであろう。実験動物に、ブレオマイシン(bleomycin)を投与することにより、肺の線維症の実験モデルを構築することができるが、これは、肺線維症(lung fibrosis)に関連する瘢痕を抑制する場面で、WNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体の治療有効性を評価することに使用することができる。また、実験動物に、CC1₄を投与することにより、肝臓の線維症の実験モデルを構築することができるが、これは、肝線維症に関連する瘢痕を抑制する場面で、WNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体の治療有効性を評価することに使用することができる。さらに、糸球体腎炎(glomerulonephritis)の実験モデルを構築することは、実験動物に適切な血清タンパク質(serum protein)を注入するか、または、腎毒性血清(nephrotoxic serum)を注入するかのいずれかを用いることでもでき、これらの動物モデルの各々は、腎臓線維症(kidney fibrosis)に関連する瘢痕を抑制する場面で、WNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体を評価することに有用となろう。

20

30

【0117】

(瘢痕、および、瘢痕の抑制の評価(アセスメント))

本発明において、瘢痕の予防、軽減、または抑制とは、治療された瘢痕の治癒が達成された瘢痕、または、治療された瘢痕もしくは線維症の治療部位において、対照（コントロール）治療もしくは未治療の創傷の治癒により生じた瘢痕、未治療の瘢痕、または、線維性疾患の未治療部位の瘢痕レベルと比較した場合に、どのような程度であれ、瘢痕を予防、軽減、または抑制するということを意味するものと理解されるべきである。本明細書において、瘢痕の「予防(prevention)」、「軽減(reduction)」、または「抑制(inhibition)」とは、通例、特に記載の無い限り、WNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体が介在する同等のメカニズムが関与し、すべて抗瘢痕活性(anti-scarring activity)として示される効果的には同等の活性を有するものである。

40

【0118】

簡潔化のために、本明細書では、WNT3A、または、治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体が使用される瘢痕に関して、主として「抑制」(inhibition)と言及する。しかしながら、特に記載のない限り、この「抑制」とは、そのような活性化された薬品（エージェント）を使用した瘢痕の予防または軽減も含む。同様に、WNT3A、または、治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体が使用され

50

る瘢痕に関しては「予防」(prevention)と言及しているが、特に記載のない限り、そのような薬品(エージェント)を使用して瘢痕を治療することも含む。

【0119】

治療効果を達成するために必要となりうる瘢痕の抑制範囲は、明白であり、例えば、患者のケアに責任を持つ臨床医により、容易に判定される。臨床医は、WNT3A、または治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体を使用して達成された瘢痕の抑制範囲に関して、適切な決定を行い、治療効果が達成されたか否か、または、達成されている最中であるかを評価する。このような評価は、必ずしも必要ではないが、本文中に記載の測定方法を用いて行うこともできる。

【0120】

WNT3A、または治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体を使用して達成された瘢痕の抑制範囲は、このような活性化された薬剤(エージェント)が、ヒトの患者に本発明の方法または薬剤による治療を与えて達成する効果に関して評価することもできる。代わりに、WNT3A、または治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体により達成される瘢痕の抑制は、適切なインビトロまたはインビボのモデルを適用した臨床試験に基づいて評価することもできる。瘢痕を抑制することを調べるための実験モデルの使用は、WNT3Aの特定の断片(フラグメント)もしくは誘導体における治療効果を評価する場合、または、そのような断片(フラグメント)もしくは誘導体における治療に効果的な量を確定する場合になされることが、特に好ましい。

瘢痕に関する動物モデルは、本発明の薬剤または方法を使用して達成できる瘢痕の抑制範囲を、インビボ評価するための好ましい実験モデルとなる。

【0121】

好適なモデルを用いることにより、特に、創傷の治癒により生じた瘢痕を調べることができ、さらには、線維性疾患に関連する瘢痕を調べることもできる。この両タイプにおける好適なモデルは、当業者には公知なものである。このようなモデルの例は、例示のみを目的とし、以下に詳述する。

【0122】

瘢痕のモデル、および、上記に記載した瘢痕の評価方法は、WNT3Aにおける治療に効果的なその断片(フラグメント)またはその誘導体、および、そのような断片(フラグメント)またはその誘導体の治療に効果的な量を確定するためにも使用することができる。

【0123】

本発明の薬剤および方法を使用することで、瘢痕を抑制することは、現在までに調べられた任意の身体部位、および、任意の組織もしくは器官を、対象とすることができます。

なお、説明のために、本発明の薬剤および方法において瘢痕を抑制する活性は、主に、瘢痕を抑制することに関して、例えば、皮膚(身体のなかで最も広い器官)に発生するものを、対象に述べる。しかし、当業者にとって、皮膚の瘢痕を抑制することを考慮する場合に関連している多くの要素も、他の組織または器官の瘢痕を抑制することに関連しているということは、容易に理解されるであろう。従って、当業者にとって、特に記載の無い限り、皮膚の瘢痕に関して以下で述べるパラメタおよび評価が、皮膚以外の組織の瘢痕にも適用することができるということは、理解されるであろう。

【0124】

皮膚においては、治療により、瘢痕の巨視的および微視的外観を改善できることもある；瘢痕は、巨視的には、あまり目立たずに周囲の皮膚と馴染んでいることがあり、微視的には、瘢痕中のコラーゲン線維が、周囲の皮膚とよく似た形態(morphology；モルホジー)および組織を有することがある。

【0125】

本発明の方法および薬剤を使用して達成される瘢痕の抑制は、その評価および/または測定を、治療された瘢痕の巨視的または微視的外観のいずれかに基づいて、未治療瘢痕の外観と比較することで行うこともできる。また、瘢痕の抑制は、治療瘢痕の巨視的外観お

10

20

30

40

50

より微視的外観の両方に基づいても、適切に評価することができる。

【0126】

治療した創傷により生じた瘢痕の巨視的外観を検討する際に、瘢痕の範囲およびそれに伴う瘢痕の抑制の程度は、多くのパラメタのいずれかを用いて評価することができる。最も好ましくは、瘢痕の包括的評価 (holistic assessment) であり、これは、独立専門パネリスト (independent expert panel) により巨視的な写真を用いて行うか、独立設置パネリスト (independent lay panel) により行うか、または、臨床的に、患者自身の臨床医による巨視的評価を用いて行われる。評価 (アセスメント) は、視覚尺度 (Visual Analogue Scale; VAS) またはカテゴリー化スケール (categorical scale) を用いて表す。

瘢痕の巨視的な特性は、以下のように客観的に評価することができる。

10

【0127】

i) 瘢痕の色。瘢痕は、典型例としては、周囲の皮膚との兼ね合いで、色素沈着過剰 (hypopigmented)、または色素沈着低下 (hyperpigmented) となっている。瘢痕の抑制は、治療された瘢痕の色素沈着が、未治療の瘢痕の色素沈着よりも非瘢痕皮膚に近似していることにより、示すこともできる。同様に、瘢痕は、周囲の皮膚よりも赤みを帯びていることがある。この場合において、瘢痕の抑制は、未治療の瘢痕と比較して、治療瘢痕の赤みがより早く、もしくはより完全に退色する場合、または周囲の皮膚の外観に類似していることにより示すこともできる。非湿潤比色分析 (non-invasive colorimetric) に関する装置 (デバイス) は多々あり、これらは、瘢痕および未だ瘢痕となっていない皮膚の色素沈着 (pigmentation) のみならず、皮膚の赤みに関するデータを提供することができる (これにより、例えば、瘢痕または皮膚に現れている血管束 (vasularity) の程度が示される)。このような装置に関する例としては、エックスライト (X-rite) SP-62 分光光度計、ミノルタ (Minolta) クロノメーター CR-200/300; Labscan 600; Dr. Lange Micro Colour; Derma 分光器; レーザードップラー血流計; および Spectrophotometric intracutaneous Analysis (SIA) スコープが含まれる。

20

【0128】

ii) 瘢痕の高さ。瘢痕は、典型例としては、周囲の皮膚と比較して、隆起しているか、または窪んでいるかのいずれかの形態となっている。瘢痕の抑制は、治療された瘢痕の高さが、未治療の瘢痕の高さよりも瘢痕化していない皮膚 (すなわち、隆起しているか、または、窪んでいるかのいずれでもない皮膚) に、より近似していることにより示すことができる。この瘢痕の高さを患者から測定する場合には、直接的にはプロフィロメトリー (profilometry) を用いることができ、間接的には瘢痕から得られるモールドのプロフィロメトリー (profilometry) を用いることができる。

30

【0129】

iii) 瘢痕の表面組織。瘢痕の表面は、周囲の皮膚と比較して、相対的に滑らかなこともあります (瘢痕に「艶のある (shiny)」外観を生じさせる)、また、周囲の皮膚よりも粗いこともある。瘢痕の抑制は、治療瘢痕の表面組織が未治療の瘢痕の表面組織よりも、瘢痕化していない皮膚に近似していることにより、示すこともできる。表面組織を測定する場合には、患者に対して、例えば、直接的にはプロフィロメトリーを用いることができ、間接的には瘢痕から得られるモールド (moulds) のプロフィロメトリーを用いることができる。

40

【0130】

iv) 瘢痕の硬度。異常な瘢痕の組成、および構造は、通常、瘢痕の周囲にある無傷状態の皮膚よりも硬直している。このような例では、瘢痕の抑制は、治療された瘢痕の硬度が、未治療の瘢痕の硬度よりも瘢痕化していない皮膚に、より近似していることにより、示すこともできる。

【0131】

治療された瘢痕が、抑制されたことは、本明細書で述べる巨視的評価のパラメタのうち少なくとも 1 つに関して評価されることが好ましい。さらに好ましくは、治療された瘢痕が、抑制されたことは、これらのパラメタのうち少なくとも 2 つに関して評価され、さら

50

に一層好ましくは、少なくとも3つのパラメタに関し、最も好ましくは、これらのパラメタのうち少なくとも4つ（例えば、上記に述べたパラメタのうちの4つすべて）に関して評価される。上記に述べたパラメタは、瘢痕の巨視的評価を行うためのえ視覚尺度(Visual Analogue Scale;VAS)で使用される。VASを実施することに関しては、以下に詳述する。

【0132】

微視的評価は、治療された瘢痕、および、未治療もしくは対照（コントロール）瘢痕を比較できる適切な手段も提供できる。瘢痕の特性を微視的評価することは、典型例として、瘢痕の組織片を使用することにより実施される。

瘢痕を微視的評価するための適切なパラメタとしては、例えば、以下のものが含まれる；

10

【0133】

i) 細胞外マトリックス(ECM)線維の厚さ。瘢痕は、典型例として、周囲の皮膚の中で見受けられるよりも薄いECM線維が含まれている。この特性は、ケロイドおよび肥厚性瘢痕の場合において、さらに一層顕著となる。瘢痕の抑制は、治療された瘢痕のECM線維の厚さが、未治療瘢痕のECM線維の厚さよりも、瘢痕化していない皮膚で見受けられるECM線維に近似していることにより、示すこともできる。

【0134】

ii) ECM線維の配向性。瘢痕で見受けられるECM線維は、その傾向として、瘢痕化していない皮膚で見受けられるものよりも、その相互間で一層明確な整列状態となっている（この線維は、ランダム配向性を有し、「バスケット（籠）織り（basket-weave）」と称されることも多い）。ケロイドおよび肥厚性瘢痕のような病理学的な瘢痕のECMは、さらに一層、変則的な配向性を示すこともあり、ECM分子からなる大きな「渦(swirls)」または「カプセル(capsules)」を形成することも多い。従って、瘢痕の抑制は、治療された瘢痕におけるECM線維の配向性が、未治療の瘢痕におけるECM線維の配向性よりも、瘢痕化していない皮膚で見受けられるECM線維に近似していることにより、示すこともできる。

20

【0135】

iii) 瘢痕のECM組成。瘢痕に存在するECM分子の組成は、正常の皮膚で見受けられるものとは異なっているが、これは、瘢痕のECMに存在するエラスチン量が減少しているためである。このため、瘢痕の抑制は、治療された瘢痕の真皮におけるECM線維の組成が、未治療の瘢痕で見受けられる組成よりも、瘢痕化していない皮膚で見受けられる組成に近似していることにより、示すこともできる。

30

【0136】

iv) 瘢痕の細胞（充実）性（cellularity）。瘢痕は、その傾向として、瘢痕化していない皮膚よりも、相対的に少ない細胞（セル）が含まれる。従って、瘢痕の抑制は、治療された瘢痕の細胞性が、未治療の瘢痕の細胞性よりも、瘢痕化していない皮膚の細胞性に近似していることとして示すこともできる。

【0137】

瘢痕の微視的な特性を評価する際に考慮できる他の特徴は、例えば、周囲の瘢痕化していない皮膚と比較して、瘢痕が隆起しているか、もしくは、窪んでいるかということを含み、さらに、瘢痕が、瘢痕化していない皮膚との境界面で、突出しているか、もしくは、目立っているかということを含む。

40

【0138】

上記に述べたパラメタは、例えば、瘢痕の巨視的評価を行うための視覚尺度(Visual Analogue Scale;VAS)を作成するのに使用される。このようなVASとしては、コラーゲン組織を評価できるものもあり、さらに、多量の乳頭真皮（papillary dermis）および網状真皮（reticular dermis）から、瘢痕の特性に関する有益な指標が得られることもある。瘢痕の抑制は、治療された瘢痕の特性が、例えば、未治療の瘢痕の特性よりも、瘢痕化していない皮膚の特性に近似していることにより、示すこともできる。

【0139】

驚くべきことは、瘢痕（例えば、皮膚の瘢痕）の全体的な外観が、瘢痕が表皮(epiderm

50

a1)を覆うことによる影響を、あまり受けていないということである（但し、瘢痕のうち、観察者に観察される部分について）。

【0140】

それよりむしろ、本発明者らが発見したことによれば、瘢痕に内在する結合組織（例えば、真皮（dermis）、または新生真皮(neo-dermis)を構成している）の特性により、さらに重大な影響を受けるのは、瘢痕として認識される範囲のみならず、瘢痕化した組織の機能までも及ぶということである。従って、結合組織（例えば、真皮（表皮よりも））に関する評価基準は、瘢痕の抑制を評価することにおいて、最も役立つものとなろう。

【0141】

ECM線維の厚さおよび配向性は、瘢痕を抑制することを評価するための有意なパラメタとなり得る。治療された瘢痕は、改善されたECM配向性を有することが好ましい（すなわち、この配向性は、未治療の瘢痕における配向性よりも、瘢痕化していない皮膚のほうに近似している）。

10

【0142】

治療された瘢痕について、瘢痕を抑制することが示されたことは、本明細書で述べる微視的評価のパラメタのうち少なくとも1つを用いて評価することが好ましい。さらに好ましくは、治療された瘢痕は、これらのパラメタのうち少なくとも2つを用いて評価することで、瘢痕を抑制することが示され、さらに一層好ましくは、少なくとも3つのパラメタを用い、最も好ましくは、これらのパラメタのうちの4つすべてを用いて、瘢痕の抑制が示される。

20

【0143】

瘢痕を抑制することが、本発明の薬剤または方法を使用することで達成されたということは、1または複数の適切なパラメタ（異なる評価スキームを組み合せたもの）が改善されたことで示すこともできる。（例えば、抑制を評価することは、巨視的評価に使用される少なくとも1つのパラメタ、および、微視的評価に使用される少なくとも1つのパラメタに関してなされる）

【0144】

適切なパラメタのさらなる例として、瘢痕の臨床的な測定および評価に関するものは、様々な測定または評価に基づいて選択できることにより示すことができる。これらに関しては、Duncanら(2006)、Beausangら(1998)、およびvan Zuijlenら(2002)により言及されているものも含まれる。特に記載のない限り、以下に挙げるパラメタの多くは、瘢痕の巨視的および／または微視的な評価に適用することもできる。皮膚の瘢痕を評価する適切なパラメタの例としては、以下のものが含まれる；

30

【0145】

(1. 視覚尺度(Visual Analogue Scale ; VAS)瘢痕スコアに関する評価(アセスメント))

瘢痕を予防、軽減、または抑制することは、対照（コントロール）瘢痕と比較して、治療された瘢痕のVASスコアが低いことにより示すことができる。瘢痕を評価することに使用する適切なVASとしては、Duncanら(2006)またはBeausangら(1998)により言及された方法に基づくものでもよい。これは、通常、10cmのライン（直線）であり、0cmの位置ではわずかな瘢痕であることを示し、10cmの位置では非常に悪性な肥厚性瘢痕(hypertrophic scar)であることを示す。

40

【0146】

(2. カテゴリー化スケール(categorical scale)に関する評価(アセスメント))

瘢痕を予防、軽減、または抑制することは、瘢痕を、いくつかの文字表現に基づく異なるカテゴリー（例えば、「からうじて気付く程度の状態(barely noticeable)」、「正常の皮膚と混在した状態(blends well with normal skin)」、「正常の皮膚と明確に区別された状態(distinct from normal skin)」等）に、割当てることで測定でき、この割当ては、治療された瘢痕、および、未治療もしくは対照（コントロール）の瘢痕を比較し、それらの間における何らかの違いを注意深く観察し、その違いを、選択された

50

カテゴリー（適切な例としては、「穏やかな違い(mild difference)」、「中程度の違い(moderate difference)」、「大きな違い(major difference)」等）に割当てることで行うことができる。この種の評価を行うことは、患者(patient)、研究者(investigator)、独立パネリスト(independent panel)、または、臨床医(clinician)によりなされ、直接的には、患者か、患者から採取された写真もしくはモールド(moulds)か、のいずれかに基づいて実施される。瘢痕の抑制は、治療された瘢痕が、未治療もしくは対照(コントロール)の瘢痕よりも、一般的に、より良好なカテゴリーに割当てられることとして示すことができる。

【0147】

(3. 瘢痕の高さ、瘢痕の幅、瘢痕の周囲長、瘢痕の部位、または、瘢痕の量)

10

瘢痕の高さおよび幅は、患者から直接測定することが可能であり、この測定には、例えば、カルス(callipers)のような手動の測定装置を使用するか、または、プロフィロメータ(profilometers)を使用することで自動化することができる。瘢痕の幅、周囲長、および部位は、患者から直接測定することもでき、これには、瘢痕写真を画像分析するか、または、瘢痕から成形した石膏模型(plaster casts)を使用するかのいずれかを用いて行うことができる。また、当業者であれば、さらなる非湿潤(non-invasive)の方法および手段(装置)も考え付くことができるであろうが、これには、適切なパラメタを調べるために使用することが可能なものであり、シリコンモールド(silicone moulding)、超音波.ultrasound)、光学立体的側面分析法(optical three-dimensional profilimetry)、および、高解像度の磁気共鳴画像法(Magnetic Resonance Imaging)が含まれよう。

20

【0148】

瘢痕の抑制は、未治療の瘢痕と比較して、治療された瘢痕の高さ、幅、周囲長、部位もしくは量、または、これらのうちのいずれかの組み合わせが、抑えられる(低下する)ことにより示すことができる。

【0149】

(4. 瘢痕の歪みおよび機能的動態)

瘢痕の歪み(distortion)は、瘢痕および瘢痕化していない皮膚を、視覚的に比較することにより、評価することができる。適切な比較としては、例えば、選択された瘢痕に生じている状態が、歪み無し(no distortion)、穏やかな歪み(mild distortion)、中程度の歪み(moderate distortion)、または、かなりの歪み(severe distortion)であるとして分類する。

30

【0150】

瘢痕の機械的動態(mechanical performance)は、多くの非湿潤の方法および手段(装置)を使用して評価することが可能であり、これらの評価は、吸引(suction)、圧力(pressure)、ねじれ(torsion)、張力(tension)、および聴覚(acoustics)に基づくものとなる。瘢痕の機械的動態を評価することに使用可能な手段(装置)に関する適切な例としては、インデントメーター(indentometer)、皮膚粘弹性測定装置(Cutemeter; キュートメーター)、衝撃波伝播時間測定装置(Reviscometer; リビスコメーター)、粘弹性皮膚分析装置(Visco-elastic skin analysis)、Dermaflex、硬度計(Durometer)、皮膚トルク計(Dermal Torque Meter)、弾力計(Elastometer; エラストメーター)が挙げられる。

40

【0151】

瘢痕の抑制は、未治療の瘢痕により生じた歪みと比較して、治療された瘢痕により生じた歪みが低減することとして示すことができる。また、瘢痕の抑制は、瘢痕化していない皮膚の機械的動態が、未治療の瘢痕よりも治療された瘢痕に、より近似していることとしても、示すことができる。

【0152】

(写真評価(Photographic Assessments))

(独立設置パネリスト(independent lay panel))

治療された瘢痕および未治療の瘢痕に関して写真評価を行うことは、評価者(assessors)

50

)から成る独立設置パネリスト (independent lay panel) により実施することもでき、この実施の際には、標準化され且つ較正化された瘢痕の写真が使用される。

【 0 1 5 3 】

瘢痕は、独立設置パネリストで評価することもできるが、この評価においては、明確なランクイングデータ(ranking data)（例えば、所与の治療された瘢痕は、未治療の瘢痕と比較されることで、「より良い(better)」、「より悪い(worse)」、または、「差異なし(no different)」に分類される）、および、定量データ(Duncanら(2006)およびBeau sangら(1998)により述べられた方法に基づいて視覚尺度(Visual Analogue Scale; VAS)を使用する）が規定される。これらのデータを取得することは、例えば、適切なソフトウェアおよび／または電気的システムを使用してもできるが、これについては、本発明者らの同時出願中の特許出願(PCT/GB2005/004787)に記載している。10

【 0 1 5 4 】

(専門パネリスト (Expert Panel))

治療された瘢痕および未治療の瘢痕に関する写真評価は、別 の方法として、専門評価者(expert assessors)から成るパネリスト(Panel)により実施することもでき、この実施の際には、標準化され且つ較正化された評価を受ける瘢痕の写真、および／または、シリコンモールド(silicone moulds)から成る実質的な石膏模型(casts)が使用される。専門家から成るパネリストは、当業者である人々で構成されることが好ましく、その適切な例としては、形成外科医(plastic surgeons)、皮膚科専門医(dermatologists)、または科学者(scientists)であって、関連技術のバックグラウンドを有する人々が挙げられる。20

【 0 1 5 5 】

(臨床評価 (Clinical assessment))

臨床医(clinician)、または、臨床医から成る独立パネリスト(independent panel)は、患者の瘢痕の評価を、上述のパラメタ（例えば、VAS、色、カテゴリー化スケール等のうちのいずれか）を使用して行うことができる。適切な臨床医は、例えば、患者のケアに責任を持っている者か、または、瘢痕を抑制する治療の有効性を調べている者である。20

【 0 1 5 6 】

(患者評価 (Patient assessment))

患者(被験者)は、体系的に作成されたアンケート(questionnaire)を用いて、自身の瘢痕を評価すること、および／または、瘢痕を比較することもできる。適切なアンケートとしては、次のようなパラメタを測定することができる：すなわち、瘢痕の状態に患者が納得(満足)しているか；瘢痕が、瘢痕化していない皮膚に、どの程度馴染んでいるか；さらには、日常生活における瘢痕の影響はどうか(適切な質問としては、例えば、衣服を使って瘢痕を隠しているか、また、その一方で瘢痕の露出を避けているかどうかが考慮されていてもよい)、および／または、瘢痕の兆候(その例として、痒み、痛み、または異常感覚)である。瘢痕の抑制は、未治療の瘢痕と比較して、治療された瘢痕が、患者から、より高い評価を受けたこと、および／または、患者にあまり問題を引き起こさなかったこと、および／または、瘢痕の兆候が少なかったこと、および／または、患者がより納得(満足)していることとして示すこともできる。30

【 0 1 5 7 】

カテゴリー化データに加えて、定量データ(好ましくは、上記パラメタに関するもの)を生成することもでき、これには、適切な画像化技術と組み合せた画像解析を使用する。適切な画像化技術の例として、瘢痕の特性を評価することに用いられるものには、特定の組織染色(histological stains)または免疫標識(immuno-labelling)があり、これらにより、例えば、染色(staining)または標識(labeling)の度合いが、画像解析により、定量的に確定できるであろう。40

定量データは、例えば、次のパラメタに関して有意かつ迅速に生成できる。

【 0 1 5 8 】

1 . 瘢痕の幅、高さ、隆起、量および部位

2 . コラーゲン組織、コラーゲン線維の厚さ、コラーゲン線維の密度50

2. 線維芽細胞の数および配向性

4. 他のECM分子(例えば、エラスチン(elastin)、フィブロネクチン(fibronectin))の量および配向性

【0159】

瘢痕の予防、軽減、または抑制は、上記で検討したパラメタのうちのいずれかにおける変化で示すことができ、この変化とは、治療された瘢痕が、対照(コントロール)または未治療の瘢痕(または、他の適切なコンパレータ(比較測定)瘢痕)と比較して、瘢痕化していない皮膚に近似していることである。

【0160】

上記に述べた評価およびパラメタは、WNT3A、またはその断片(フラグメント)もしくはその誘導体の瘢痕形成における影響を評価することに適切であり、この評価は、ヒトまたは動物に対する対照(コントロール)治療、 placebo 治療または標準治療と比較することでなされる。これらの評価およびパラメタは、治療に効果的なWNT3Aの断片(フラグメント)またはその誘導体(瘢痕を予防、軽減、または抑制しうるもの)を決定する際に利用することができ、さらには、WNT3A、またはその断片(フラグメント)もしくはその誘導体における治療に効果的な量を決定する際に利用することができる。また、例えば、適切な統計試験(statistical tests)を用いることで、異なる治療から得られた分析データセットを解析して、結果の有意性を調べることもできる。

【0161】

上記に述べた瘢痕を評価するためのパラメタの多くは、創傷の治癒により生じた瘢痕を評価することに関して前述したものである。しかしながら、本発明者らは、これらのパラメタの多くが、線維性疾患に関連する瘢痕を評価することにも適すると考えている。別のパラメタとして、例えば、線維性疾患に関連する瘢痕を評価する際に検討できるものは、当業者にとっては明らかである。以下に例を挙げるが、これらは、例示のみを目的とする。

【0162】

線維性疾患に関連する瘢痕は、トリクローム(三色)染色(trichrome staining)(例えば、マッソントリクローム染色(Masson's trichrome)、またはマロリトリクローム染色(Mallory's trichrome))で生検試料(biopsy samples;バイオプシーサンプル)を評価することができ、この生検試料は、治療を受けたかまたは治療を受けていない組織のうち、線維性疾患を受けていると考えられる組織から採取される。これらの試料(サンプル)は、瘢痕化していない組織(線維性疾患を受けていない組織から採取されたもの)と比較することもでき、さらに、線維性疾患に関連する瘢痕を異なる程度に受けている同様の組織(または一連の組織)で染色された代表例としての参照組織と比較することもできる。そのような組織を比較することにより、調べたい組織に存在する線維性疾患に関連する瘢痕の存在および程度を評価することができる。なお、トリクローム(三色)染色の手順は、当業者において既知なものであり、例えば、トリクローム(三色)染色に使用できるキットは、市販されている。

【0163】

多くの場合、バイオプシーの採集のような観血処置(invasive procedures)を回避することが好ましい。この事実の認識のもとで、多くの非観血処置(non-invasive procedures)が考案されており、これらは、線維性疾患に関連する瘢痕の評価を、生検試料(バイオプシーサンプル)を必要とせずに行うことができる。このような処置の例としては、線維試験(Fibrotest; FT)、および作用試験(Actitest; AT)が挙げられる。

【0164】

これらの市販されている測定法(アッセイ)としては、線維性疾患に関連する瘢痕の5つまたは6つの生化学的マーカーを、患者の肝臓生検を非観血で代替して使用することができ、この患者としては、慢性C型肝炎もしくは慢性B型肝炎、アルコール性肝臓疾患、および新陳代謝性脂肪肝(metabolic steatosis)(例えば、太り過ぎ、糖尿病、または高脂昉血症(hyperlipidemia))の患者が挙げられる。このような生化学的マーカーを使用す

10

20

30

40

50

ること、および、選択したアルゴリズムを使用して分析することを通じて、これらの処置は、肝線維症 (liver fibrosis) および壞死炎症活性 (necroinflammatory activity) のレベルを決定することが可能となる。このような試薬の使用は、生検 (バイオプシー) を代替するものとして、臨床的にますます受け入れられており、これらの試薬は、バイオプレディクティブ (BioPredictive) のような企業から市販されている。

【0165】

当業者であれば、上記に述べた方法を、1または複数の線維性疾患に関連する瘢痕の評価に使用することで、そのような瘢痕が、本発明の薬剤または方法を使用することにより予防、軽減、または抑制されることについて、有益であるか否かを決定できることは理解されるであろう。さらに、上記に述べたタイプの瘢痕を評価する方法は、WNT3Aの治療に効果的な断片 (フラグメント) または誘導体を、決定するためのみならず、WNT3A、またはその断片 (フラグメント) もしくは誘導体の治療に効果的な量を、決定するために使用することもできる。10

【0166】

(本発明の使用における好ましい投与経路)

治療に効果的な量のWNT3A、または治療に効果的なその断片 (フラグメント) もしくはその誘導体は、一般的には、組織 (その瘢痕が抑制対象であるもの) に局所投与を用いて与えられることが好ましい。このような局所投与を十分に機能させうる適切な方法は、この組織の個々の特質に依存しており、さらに、例えば、抑制対象の瘢痕が、創傷の治癒から生じたものか、または、線維性疾患に関連する瘢痕かのいずれかであるかとともに依存する。好ましい投与経路としては、局所注射 (例えば、皮膚の瘢痕を抑制することが望まれる場合では、皮内注射) が含まれる。その他の適切な投与手段としては、基本的形態の薬剤の使用が含まれ、この例としては、スプレー (sprays)；粉末 (powders)；滴薬 (drops) (例えば、耳または眼に用いる)；軟膏 (ointments) もしくは乳液 (creams)；または、局所的手段 (例えば、ステント (stents)、インプラント (implants)、ポリマー (polymers)、包帯剤 (dressing)) からの放出が挙げられる。20

【0167】

線維性疾患に関連する瘢痕は、相対的に隔離された組織および器官で発症することも多いことから、線維性疾患に関連する瘢痕を抑制しようとする場合には、本WNT3A、または治療に効果的なその断片 (フラグメント) もしくはその誘導体は、全身投与されることが好ましい。適切な投与経路としては、特に制約は無く、経口 (oral)、経皮 (transdermal)、吸入 (inhalation)、非経口 (parenteral)、経舌 (sublingual)、直腸 (rectal)、経腔 (vaginal) および経鼻 (intranasal) が含まれる。例として、固体を用いた経口処方 (例えば、錠剤 (tablets；タブレット) またはカプセル剤 (capsules)) を用いて、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片 (フラグメント) もしくはその誘導体を供給することで、腎線維症 (renal fibrosis) または肝硬変 (cirrhosis of the liver) に関連する瘢痕を抑制するために使用することもできる。煙霧剤 (aerosol；エアロゾル) は、吸入 (inhalation) を行うための形態であり、WNT3A、または、治療に効果的なその断片 (フラグメント) もしくはその誘導体を供給する手段として、抑制が望まれる瘢痕が、慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease)、または、肺 (lungs) および気道 (airways) に関連する場合に、使用することが好ましい。30

【0168】

上記に述べた投与経路の多くは、瘢痕を抑制することが望まれる組織に対する局所投与 (topical administration) にも適している (例えば、吸入 (inhalation) または経鼻 (intranasal) 投与があり、これらは、呼吸器系 (respiratory system) の瘢痕を抑制するためになされるが、この瘢痕は、創傷の治癒により生じたものか、または、線維性疾患に関連するものかのいずれでもよい。)。

【0169】

本発明の薬剤または方法は、予防的に (すなわち、瘢痕の形成前に) 使用してもよい。例えば、本発明の方法または薬剤は、創傷の形成前、または、線維性疾患の発症前に使用40

してもよい。

【0170】

創傷の治癒に関連する瘢痕を抑制する場合では、治療に効果的な量のWNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体を投与するに際して、投与される部位として、未だ創傷が存在していないが、瘢痕を生じうる創傷が形成されようとしている部位に投与してもよい。例として、治療に効果的な量のWNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、選択された処置（例えば、外科処置）の結果として創傷が引き起こされた部位、または、創傷のリスクが高まっていると考えられる部位に対して投与してもよい。

【0171】

本発明の薬剤は、創傷が発生したと思われる時間に対象部位へ投与するか、もしくは、創傷の形成前直ちに（例えば、創傷が発生して最大6時間前を期限として）対象部位へ投与するか、または、創傷の形成前の早い段階（例えば、創傷形成前の最大48時間前）で対象部位へ投与することが好ましい。当業者であれば、創傷形成前の投与時期は、多くの要素に関して決定されることが最も好ましく、この要素としては、選択した薬剤を投与することに関する処方および経路、投与する薬剤の服用量、形成された創傷の大きさおよび性質、および、患者の生物学的状態（患者の年齢、健康状態、および、治癒合併症（healing complications）もしくは有害な瘢痕の素因などの要素に関連して決定される）であることが理解されるであろう。本発明の方法および薬剤を予防医学的に使用することは、本発明の好ましい実施態様であり、外科的な創傷における瘢痕を予防、軽減、または抑制することが特に好ましい。

【0172】

線維性疾患に関連する瘢痕を抑制する例では、本発明の薬剤は、線維性疾患の進行リスクの高まっている部位に対して、前記疾患の形成前に投与することができる。適切な部位としては、例えば、線維性疾患の進行リスクの高まっている部位と認識されている箇所である。線維性疾患の進行に関する高いリスクは、例えば、疾患の結果としてか、環境的因素（線維症病原体（fibrotic agents）に晒されることを含む）の結果としてか、または、遺伝子素因の結果として生じる。

【0173】

線維性疾患に関連する瘢痕を抑制するために使用する場合には、治療に効果的な量のWNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、例えば、線維性疾患の発症前か、または、早い段階において直ちに投与する。当業者であれば、本発明の薬剤を、線維性疾患を治療する目的で投与する場合の最適な時期を見積ることは、標準技術を使用することにより可能であろう（標準技術とは、当業者に公知であり、且つ、線維性疾患に関連する瘢痕の臨床的進行に関して一般的なものである）。

【0174】

本発明の方法および薬剤は、瘢痕が既に形成された後に投与される場合であっても、瘢痕を抑制することが可能である。このような投与が、瘢痕が形成された後にできるだけ早急に行われることが好ましいが、本発明の薬品は、治癒プロセスが完了するまでの時期であれば、瘢痕を抑制することがいつでも可能である（即ち、創傷が、既に部分的には治癒している状況であっても、本発明の方法および薬剤は、残りの未治癒部分に関する瘢痕を抑制するために使用することができる）。本発明の方法および薬剤が、瘢痕を抑制するために使用できる「機会(window)」は、その対象となった創傷の特性（発生した損傷、および創傷を受けた領域の大きさの度合いが含まれる）に依存する。このため、大きな創傷の場合には、本発明の方法および薬剤は、治癒反応における相対的に遅い時期に投与したとしても、瘢痕を十分に抑制できことがあるが、これは、大きな創傷が治癒を必要とする時期が、相対的に長期化しているためである。

【0175】

本発明の方法および薬剤は、創傷が形成されてから24時間以内に初回の投与を行うことが好ましいが、創傷が発生してから10日またはそれ以上までの投与であっても、瘢痕

10

20

30

40

50

を十分に抑制できるであろう。

【0176】

同様に、本発明の方法および薬剤は、線維性疾患が既に進行している部位に投与してもよく、これにより、さらなる線維性疾患に関連する瘢痕が発症することを予防できることがある。このような使用が、明らかに有利に作用する状況としては、瘢痕の度合い（瘢痕は、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を投与する前に発症した場合である）が、十分に低く、その線維組織（fibrotic tissue）が、依然として機能している場合であろう。

【0177】

本発明の薬剤は、線維性疾患に関連する瘢痕が発症してから24時間以内に投与することが好ましいが、線維化プロセスにおける相当に遅い時期に投与されたとしても、十分な効果を奏し得る。例えば、薬剤の投与は、線維性疾患が発症してから（または、線維性疾患に関連する瘢痕が発症したと診断されてから）1ヶ月以内でもよく、6ヶ月以内でもよく、さらには1年以上でもよく、これらは、例えば、既に発生した瘢痕の範囲、線維性疾患の影響を受ける組織の面積、および、線維性疾患が進行している割合に応じて決めることができる。

10

【0178】

本発明の方法および薬剤は、瘢痕を抑制するために、1回または複数回（必要に応じて）で投与することができる。

20

例えば、創傷の治癒により生じた瘢痕を抑制する場合では、治療に効果的な量のWNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、治癒プロセスが完了するまで、必要な頻度で創傷に投与する。例として、本発明の薬剤は、毎日または2日ごとに創傷に投与することを、少なくとも最初の3日間（創傷の形成後）行う。特に好ましい実施態様としては、本発明の薬剤は、例えば、創傷が形成される前に投与され、さらに、創傷が形成されてから約24時間が経過するまでに再び投与する。

20

【0179】

本発明の方法および薬剤は、創傷が形成される前後の両方の時点で、投与することが最も好ましい。本発明者らが発見したことは、本発明の薬剤を投与することを創傷が形成される前に速やかに行い、それに引き続いて、WNT3A、または、その断片（フラグメント）もしくはその誘導体を毎日投与することを、創傷を受けてから1日以上の間行なうことが、瘢痕（創傷の治癒により生じたものか、または線維性疾患に関連するもの）を抑制することに特に効果的であるということである。

30

【0180】

WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体が、線維性疾患に関連する瘢痕を抑制するために使用される例では、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、多くの投与手段を用いて供給することができる。適切な投与形態としては、月1回、週1回、1日1回、または1日2回の投与が挙げられる。

40

【0181】

さらに、本発明者らは、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体が、既存の瘢痕を軽減することにも使用しうると考えている。これは、創傷の治癒により生じた既存の瘢痕、および／または線維性疾患に関連する既存の瘢痕に適用できる。すなわち、本発明の方法および薬剤の使用は、既存の瘢痕を軽減することに用いられる場合には、本発明の好ましい使用となる。治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、多くの適切な投与手段のいずれかを用いて供給することができる。これらの投与に関する適切な投与形態は、当業者であれば容易に考案することができ、各種技法（インビボ分野、動物およびヒト分野を含む）が使用されるが、これらは、薬剤業界において既知のものであり、且つ薬剤業界で確立されたものである。

【0182】

50

「活性化された薬品(エージェント)(active agent)」という用語は、本明細書の他の箇所で定義している。本発明において、「薬品(agent; エージェント)」または「本発明の薬品(エージェント)(agent of the invention)」という用語は、同等の意味に解釈すべきである。すべてのそのような適切な活性化された薬品(エージェント)は、本発明の薬剤に含めることができ、それらすべては、本発明の方法または使用において使用することもできる。本発明の薬剤は、好ましい組成物を構成することができ、例えば、その組成物を用いて、治療に効果的な量の活性化された薬品(エージェント)が投与されることより、本発明の方法を実用に供することができる。

【0183】

創傷または線維性疾患に与える本発明の薬剤の量は、治療に効果的な量の活性化された薬品(エージェント)が、投与されるようにしなければならず、これは、多くの要因に依存する。これらには、本薬剤が存在する薬品(エージェント)の生物学的活性およびバイオアベイラビリティ(bioavailability; 生体利用性)が含まれ、そして、これらは、他の要素の中でも、特に薬品(エージェント)の特性および薬剤の投与様式に依存している。薬剤の適切な治療量を決定する他の要素としては、例えば、以下のものが含まれる：

- A) 処方された患者における活性化された薬品(エージェント)の半減期
- B) 処方する特定条件(例えば、急性瘢痕(acute wounding)、または慢性線維性疾患(chronic fibrotic disorders))
- C) 患者の年齢
- D) 処方する部位の大きさ

投与する頻度も、上記に述べた要素(特に、患者に処方される選択された薬品の半減期)により影響を受ける。

【0184】

一般的に、本発明の薬剤は、任意の手法で調合および製造することができるが、但し、この薬剤を患者に投与することで、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片(フラグメント)もしくはその誘導体が、瘢痕を予防、軽減、または抑制しようとする部位に与えられるものでなければならない。

【0185】

本発明の薬剤は、多くの投与単位のうちの一形態で与えられてもよく、これらの投与単位としては、治療に効果的な量(または、既知の比率もしくは治療に効果的な量を組み合せたもの)のWNT3A、またはその断片(フラグメント)もしくはその誘導体を与えるものであることが好ましい。そのような投与単位を調製(調合)する方法は、当業者であれば、既知のものである；例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences 18th Ed. (1990)を参照することができる。

【0186】

一般的に、本発明の薬剤が、既存の瘢痕(創傷の治癒により生じたものでも、線維性疾患に関連するもののいずれでもよい)を治療するために使用される場合には、本薬剤は、瘢痕化プロセスにおいてはできるかぎり早急に、また、線維性疾患が発症した場合においては早めに投与されるべきである。

【0187】

創傷または線維性疾患が、外見上すぐには現れない場合の例(例えば、それらが体内部位に存在する場合)では、薬剤の投与は、例えば、創傷、または線維性疾患、つまり瘢痕のリスクが診断された時点で速やかに行う。本発明の方法または薬剤を用いた治療法は、臨床医が十分回復したと判断できる状態まで継続すべきである。

【0188】

投与の頻度は、使用した薬品(エージェント)の生物学的な半減期にも依存するであろう。一般に、本発明の薬品(エージェント)を含む乳液または軟膏は、ターゲットとなる組織に投与されることにより、線維症の創傷または部位における薬品の濃度が、瘢痕を抑制するための適切なレベルを維持できる。このためには、例えば、1日につき1回、または1日につきさらに数回の投与が必要である。本発明者らは、本発明の薬品を投与するこ

10

20

30

40

50

とに関して、創傷が形成される前には直ちに行い、創傷が形成された後には1日あたりにさらなる投与を行うことが、瘢痕（投与を行わなければ、創傷の治癒により生じ得た瘢痕）を抑制することに特に効果的であることを発見した。

【0189】

本発明の薬剤を投与する適切な経路としては、瘢痕を抑制するのに望ましい効果が得られるものであれば、どれでもよいが、創傷の部位または線維性疾患の部位に局所的に、本薬剤を投与することが好ましい。

【0190】

本発明者らは、瘢痕を抑制することが達成できることとして、本発明の薬品（エージェント）の投与の際に、創傷の部位または線維性疾患の部位へ注入することができるということを発見した。皮膚の創傷、または皮膚の線維症の例では、本発明の薬品（エージェント）は、皮内注射（intradermal injection）を用いて投与することができる。かくして、本発明の好ましい薬剤としては、本発明の薬品の注射溶液（injectable solution）（例えば、創傷の縁周辺、または、創傷と思われる部位への注射に使用される）が含まれる。このような実施態様における使用に関して、適切な処方を以下に述べる。

10

【0191】

本発明の薬剤は、別 の方法として、瘢痕（創傷の治癒により生じたものでも、線維性疾患に関連するもののいずれでもよい）を抑制するために、局所的な形態で投与してもよい。瘢痕（投与しなければ、創傷の治癒により生じた瘢痕）を抑制する例では、このような投与は、創傷部位に関する初期、および／または、それに引き続く治療の一部としてなされるであろう。

20

【0192】

本発明者らは、瘢痕の抑制を、非常に有意に達成できる場合として、本発明の薬品（エージェント）を投与する際に、創傷または線維性疾患（または、予防的に適用する場合では、創傷もしくは線維性疾患を発症しそうな組織もしくは部位）への局所適用があるということを発見した。

20

【0193】

（本発明の使用における好ましい処方）

本発明の薬品（エージェント）を含む組成物または薬剤は、多くの異なる形態をとれるが、その形態は、特に、それらが使用される投与形態に依存するであろう。例えば、それらは、液体（liquid）、軟膏（ointment）、乳液（cream）、ゲル（gel）、ハイドロゲル（hydrogel）、粉末（powder）、または煙霧剤（aerosol；エアロゾル）の形態であってもよい。そのような組成物のすべては、瘢痕の部位（例えば、創傷か、線維症かのいずれか）への局所適用に適しており、さらに、本発明の薬品（エージェント）を、治療を必要とする被験者（ヒトまたは動物）に投与するための好ましい手段となる。

30

【0194】

本発明の薬品（エージェント）は、例えば、無菌包帯剤（sterile dressing）または吸収薬（patch；パッチ）として与えられてもよく、これらは、創傷または線維症の部位（瘢痕を抑制しようとする箇所）を覆うように使用する。

40

【0195】

本発明の薬品（エージェント）は、デバイスもしくはインプラント（implant）から放出することができ、また、そのようなデバイス（例えば、ステント）もしくは制御された放出手段（controlled release device）（例えば、創傷被覆材（wound dressing））の表面を覆うように使用することができる。

【0196】

本発明の薬品（エージェント）を含む組成物の賦形剤（ベヒクル）は、患者が十分に耐えられるものであるべきで、さらに、薬品（エージェント）を創傷または線維症の部位に放出できるものであるべきである。そのような賦形剤（ベヒクル）としては、好ましくは、生分解性（biodegradeable）、生溶解性（bioresolveable）、非刺激性（bioreversible）、および／または非炎症性（non-inflammatory）を有するものである。

50

【 0 1 9 7 】

本発明の薬品（エージェント）を含む薬剤および組成物は、様々な方法を用いて使用することができる。例えば、組成物は、瘢痕を抑制するために、創傷もしくは線維性疾患の内部、および／または周辺に適用してもよい。組成物を、既に存在する創傷または線維症の部位に適用しようとする場合には、薬学的に許容される賦形剤（ベヒクル）とは、相対的に「低刺激性(mild)」なもの（すなわち、生分解性（biodegradeable）、生溶解性（bioreseolveable）、非刺激性（bioresorbable）、および／または非炎症性（non-inflammatory））である。

【 0 1 9 8 】

本発明の薬品（エージェント）、または、このような薬品（エージェント）をコード化する核酸（以下で詳述する）は、緩速（slow）または遅延型（delayed）の送出手段（release device）の中に組み込むことができる。このような手段は、皮膚に据えられるか、または皮下挿入することことができ、さらに、本薬品（エージェント）または核酸は、数日、数週間、さらには数ヶ月にわたり放出することことができる。

10

【 0 1 9 9 】

遅延型の送出手段（delayed release devices）が、特に有用となりうる患者としては、例えば、広範囲もしくは病理学的な瘢痕、または、長期に及ぶ線維性疾患に関連する瘢痕を患っており、治療に効果的な量のWNT3A、またはその誘導体もしくはその断片（フラグメント）が、長期におよび投与されることを必要としている患者である。このような手段が、特に有益となるのは、例えば、薬品（エージェント）または核酸が、別に恒常的に頻繁に投与されることを必要としている状況で投与される場合（例えば、他の経路により、少なくとも毎日投与される場合）である。

20

【 0 2 0 0 】

本発明の薬品（エージェント）を毎日服用する際には、例えば、单一投与として与えられることができる（例えば、毎日の処方が、局所処方または毎日の注射における場合のように）。またその代わりとして、本発明の薬品（エージェント）は、1日2回以上の投与としてもよい。さらにその代わりとしては、緩速型（slow）の送出手段（release device）を使用することで、本発明の薬品（エージェント）の最適な服用を、繰返し服用を必要とすることなく、患者に提供してもよい。

30

【 0 2 0 1 】

本発明の薬品（エージェント）を含有する組成物の服用は、治療に効果的な量のWNT3A、またはその誘導体もしくはその断片（フラグメント）が、単一投与で十分に与えられるようにすることが好ましい。しかし、それぞれの服用は、それ自体では、治療に効果的な量の本発明の薬品（エージェント）が与えられる必要はないが、その代わりに、治療に効果的な量は、適切な服用を繰返し投与することにより積み上げられて達成されるようになる。

30

【 0 2 0 2 】

種々の適切な形態が、本発明の薬品（エージェント）を含む組成物に関して知られている。1つの実施態様では、本発明の薬品（エージェント）を投与するための薬学的な賦形剤（ベヒクル）は、液体としてもよく、この場合には、適切な病理学的組成物は、水溶液（solution）の形態となる。また、他の実施態様では、薬学的に許容される賦形剤（ベヒクル）は、固体であり、この場合には、適切な組成物は、粉末（powder）の形態となる。また、さらなる実施態様では、活性化された薬品（エージェント）は、薬学的に許容される経皮送達システム（transdermal delivery system）（例えば、パッチ（patch）／包帯剤（dressing））の一部として処方もよい。

40

【 0 2 0 3 】

固体の賦形剤（ベヒクル）には、1または複数の物質を含むことができ、これらの物質は、香味剤（flavouring agents）、潤滑剤（lubricants）、溶解剤（solubilizers）、懸濁剤（suspending agents）、注入剤（fillers）、流動促進剤（glidants）、圧縮補助剤（compression aids）、結合剤（binders）、または錠剤崩壊剤（tablet-disintegrating agents）として作

50

用することができる；また、カプセル化物質（encapsulating material）から成ることもできる。粉末においては、本賦形剤（ベヒクル）は、細分化された固体であり、本発明の細分化された薬品（エージェント）が混ぜ合わせられている。錠剤（タブレット）においては、本発明の薬品（エージェント）は、賦形剤（ベヒクル）と混ぜ合わされており、この賦形剤（ベヒクル）は、必要な圧縮特性（compression properties）を適切な割合で有しており、望ましい形状および大きさで小型化されている。粉末および錠剤（タブレット）は、好ましくは、本発明の薬品（エージェント）が99%まで含まれている。適切な固体の賦形剤（ベヒクル）としては、例えば、リン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、砂糖、乳糖（ラクトース）、デキストリン、澱粉、ゼラチン、セルロース、ポリビニルピロリジン、低融点ワックス、およびイオン交換樹脂を挙げることができる。

10

【0204】

液体状の賦形剤（ベヒクル）は、水薬（solutions）、懸濁液（suspensions）、乳剤（emulsions）、シロップ剤（syrups）、エリキシル剤（elixirs）および加圧された組成物（pressurized compositions）を調製することに使用することができる。活性化された薬品（エージェント）は、薬学的に許容される液状の賦形剤（ベヒクル）に溶解または懸濁することができるが、この賦形剤（ベヒクル）としては、例えば、水、有機溶媒、その両方の混合物、または、薬学的に許容される油脂もしくは脂肪が挙げられる。液状の賦形剤（ベヒクル）は、他の適切な薬学的な添加剤を含むことができ、これには、例えば、溶解剤（solubilizers）、乳化剤（emulsifiers）、緩衝剤（buffers）、防腐剤（preservatives）、甘味剤（sweeteners）、香味剤（flavouring agents）、懸濁剤（suspending agents）、增量剤（thickening agents）、着色剤（colours）、粘度調整剤（viscosity regulators）、安定剤（stabilizers）、または浸透圧調節剤（osmo-regulators）を挙げることができる。経口または非経口投与による液状の賦形剤（ベヒクル）の適切な例としては、水（部分的に上記添加物が含まれるが、これには、例えば、セルロース誘導体、好ましくは、カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液が挙げられる）、アルコール（一価アルコールおよび多価アルコール、例えば、グリコールが含まれる）およびその誘導体、および油脂（分留されたココナッツオイルやピーナッツオイル）を挙げることができる。非経口投与において、賦形剤（ベヒクル）は、油性エステル（例えば、オレイン酸エチルおよびミリスチン酸イソプロピル）とすることが可能である。無菌の液状の賦形剤（ベヒクル）は、無菌溶液形態の組成物を用いて、非経口投与を行う場合に有用である。加圧された組成物（pressurized compositions）における液状の賦形剤（ベヒクル）には、ハロゲン化炭化水素、または、他の薬学的に許容された推進剤（propellant）を用いることが可能である。

20

【0205】

液状の薬学的に許容された組成物（無菌の水薬（solutions）または懸濁液（suspensions）は、例えば、筋肉内（intramuscular）、クモ膜下腔内（intrathecal）、硬膜外（epidural）、腹腔内（intraperitoneal）、皮内（intradermal）、基質（intrastromal）（角膜）内、外膜（intraadventitial）（血管）内、または、皮下（subcutaneous）への注射により利用することができる。無菌の水薬（solutions）は、静脈注射を用いて投与することも可能である。本発明の薬品（エージェント）は、無菌の固体状組成物として調製してもよく、この組成物は、投与する際には、無菌の水、生理的食塩水、または他の適切な無菌の注射用媒体（例えばPBS）を用いて、溶解または懸濁させてもよい。賦形剤（ベヒクル）には、必要且つ不活性な結合剤（binders）、懸濁化剤（suspending agents）、潤滑剤（lubricants）、および防腐剤（preservatives）を含めることができる。

30

【0206】

本発明の薬品（エージェント）が経口摂取（oral ingestion）により投与されることが望まれる場合では、選択される薬品（エージェント）は、分解抵抗（resistance to degradation）の度合いが高いものが好ましい。例えば、活性化された薬品（エージェント）は、保護してもよく（例えば、当業者に既知の技術を使用して）、これにより、消化路（digestive tract）における分解率（rate of degradation）を低減することを図ることが

40

50

できる。

【0207】

本明細書の他の箇所でも定義したように、本発明の薬品（エージェント）の組成物は、眼（特に、角膜または網膜）の瘢痕を抑制することにおける使用に適する。角膜の瘢痕は、角膜創から生じることもあるが、この原因としては、例えば、角膜への心的外傷（トラウマ）が、偶発的な事故による負傷の結果、または、外科手術（例えば、角膜のレーザー手術）の結果として生じたことによる場合がある。本発明の薬品（エージェント）を眼（例えば、角膜）の外表面に投与する例では、本発明の好ましい薬剤（エージェント）としては、点眼薬（粘性または準粘性を有するものを含む）の形態としてもよい。

【0208】

眼の線維症は、増殖性硝子体網膜症（proliferative vitreoretinopathy）のような線維性疾患とも関連している。硝子体網膜症（例えば、増殖性硝子体網膜症）に関連する線維症を予防することが望まれている場合には、治療に効果的な量の活性化された薬剤（エージェント）が、硝子体内注入または局所（例えば、眼球内（intraocular））送出手段を用いて投与されることが好ましい。このような注入は、以下の手術または硝子体内移植処置（intravitreal implantation procedures）とともに実施することが好ましい。

【0209】

本発明の薬品（エージェント）は、例えば、「内部（internal）」に存在する創傷または線維性疾患の範囲における瘢痕を、抑制するために使用することができる（すなわち、創傷または線維性疾患が体外表面ではなく体内で発生する場合において）。内部創傷の例として含まれるものは、浸透性創傷（penetrative wounds）（皮膚を通過し、より内部の組織にまで達している創傷）、および、体内で実施される外科手術処置に関連する創傷である。内部部位に影響を与える線維性疾患は、広範囲にわたり、肺線維症（lung fibrosis）、肝線維症（liver fibrosis）、腎臓線維症（kidney fibrosis）、および筋線維症（muscle fibrosis）が含まれる。

【0210】

好ましい例として、本発明の薬剤が、肺（lungs）または他の呼吸器系組織（respiratory tissues）の瘢痕を抑制することに使用される場合に、吸入（inhalation）用に処方されてもよい。

【0211】

好ましい例としては、本発明の薬剤が、体腔（例えば、腹部（abdomen）または骨盤（pelvis））の瘢痕を抑制することに使用される場合に、洗浄液（lavage）、ゲル（gel）、または点滴（instillate）として処方されてもよい。

【0212】

WNT3A、または治療に効果的なその誘導体もしくはその断片（フラグメント）は、本発明の薬剤および方法において使用する場合には、例えば、生物活性物質（biomaterial）と一体化してもよく、そこから、瘢痕を抑制するために放出することもできる。活性化された薬品（エージェント）と一体化した生物活性物質（biomaterial）は、多くの状況、さらには多くの身体部位における使用に適するものであり、この部位としては、瘢痕を抑制することが望まれる部位であるが、WNT3A、またはその誘導体もしくはその断片（フラグメント）を、眼（例えば、網膜手術（retina surgery）または緑内障濾過手術（glaucoma filtration surgery）の施術後）に投与する場合、または、再狭窄（restenosis）もしくは癒着（adhesion）を抑制することが望まれる部位に投与する場合に、特に有用となるであろう。本発明者らは、活性化された薬品（エージェント）と一体化した生物活性物質（biomaterial）が、例えば、縫合糸（suture）を作製する際に使用してもよく、このような縫合糸（suture）は、本発明の薬剤の好ましい実施態様となると考えている。

【0213】

既知の処置、例えば、慣習的に、薬学業界で用いられてきたもの（例えば、インビボ実験、臨床試験など）を用いて、本発明の薬品（エージェント）が含まれる組成物を用いる

10

20

30

40

50

対症処方 (specific formulations) を確立することができ、さらに、そのような組成物を投与することにより、正確な治療プログラム（例えば、活性化された薬品（エージェント）の毎日の服用量、および投与頻度について）を確立することができる。

【0214】

瘢痕の抑制を可能にする本発明の薬品（エージェント）の適切な服用は、各種の要素、例えば、治療しようとする組織の特性、治療しようとする創傷もしくは線維症の面積および／または深さ、創傷または線維症の重症度、および病理学的瘢痕の形成しやすさの要素の有無に依存し得るが、これらに限定されるものではない。

【0215】

本発明者らは、WNT3A、または治療に効果的な断片（フラグメント）もしくはその誘導体の量としては、創傷または線維症の部位に、単一の治療頻度で投与される場合には、2.4フェムトモル（fmole）から24ピコモル（pmole）までの範囲（創傷のcmあたり、または線維症のcm²あたりにつき）が好ましいと考えている。 10

【0216】

本発明においては、創傷のセンチメートルは、創傷が形成されようとしている部位のみならず、創傷が生じた部位、または、創傷が生じた部位の両方の縁（そのような縁が存在する場合には）について言及しているものとする。

【0217】

本発明に関連して創傷のセンチメートルは、治療しようとする創傷の大きさを測定する単位である。創傷のセンチメートルは、身体の全体または一部に創傷を受けた身体表面のうちのどこかの平方センチメートルに含まれているものとする。例えば、2センチメートルの長さおよび1センチメートルの幅の創傷（すなわち、総創傷面積が2平方センチメートルの場合）は、「2創傷センチメートル」とみなされ、2センチメートルの長さおよび2センチメートルの幅の創傷（すなわち、総創傷面積が4平方センチメートルの場合）は、4創傷センチメートルとみなされる。さらに、直線状の創傷が、2センチメートルの長さを有するが、その幅が無視できる（すなわち、表面面積が無視できる）ものは、2平方センチメートルの身体表面を通って存在している場合には、本発明では「2創傷センチメートル」とみなされる。 20

【0218】

創傷センチメートルで示す創傷の大きさは、一般的に、その創傷が、緩和状態（relaxed state）となった場合に（すなわち、身体が安静な状態において、創傷領域を受けている身体部位が、所定の位置に置かれた状態で）評価を行うべきである。皮膚の創傷の場合は、創傷の大きさは、その皮膚が外部からの張力を受けていない場合に、評価を行うべきである。 30

【0219】

さらなる例として、WNT3A、または治療に効果的な断片（フラグメント）もしくはその誘導体が、創傷または線維症の部位に対して、約24時間にわたり（24時間の間に）投与される場合には、その好ましい投与量としては、24ピコモル（pmole）（創傷のcmまたは線維症のcm²あたり）以下とすることができる。

【0220】

WNT3Aに関する断片（フラグメント）または誘導体が、部位を結合する受容体（レセプター）の数が、原WNT3A（native WNT3A）とは異なる数の受容体（レセプター）から成る場合には、治療に効果的な量を提供するために必要となるそのような断片（フラグメント）または誘導体のモル数が変わることもある。例えば、WNT3Aの誘導体が、原WNT3A（native WNT3A）の2倍の結合部位からなる場合においては、その誘導体の量としては、治療に効果的な量を提供するためには、一般的に、上記に述べた量の半分となるであろう。他の同様な変化例は、当業者にとっては自明なことであろう。 40

【0221】

当業者であれば、上記の提案は、指針を示すために提示していることが理解されるであろう。特に、WNT3A、または治療に効果的な断片（フラグメント）もしくはその誘導

10

20

30

40

50

体の量は、局所的に投与する場合には、組織または器官（局所組成物が投与される）の透過性（permeability）に応じて変更することができる。かくして、相対的に不透過性（im permeable）を有する組織または器官の場合には、WNT3A、または治療に効果的な断片（フラグメント）もしくはその誘導体の投与量を、増やすことが好ましい。このように増やされたWNT3A、または治療に効果的な断片（フラグメント）もしくはその誘導体の量も治療に効果的な量となることができるが、その薬品（エージェント）の量が、瘢痕を抑制しようとする組織または器官に取り込まれることが必要である（すなわち、多量で非治療量の薬品（エージェント）が、治療している組織または器官の表面上に停滞して浸透できないような事実とは無関係に、治療に効果的な量が、瘢痕を抑制しようとする組織または器官に浸透することが必要である）。

10

【0222】

本発明者らは、WNT3A、または治療に効果的な断片（フラグメント）もしくはその誘導体が、創傷または線維症の部位に対して、単一の治療頻度で投与される場合には、その投与量は、約24ピコモル（pmole）（創傷のcmまたは線維症のcm²あたり）を超えないことが好ましいであろうと考えている。より好ましくは、単一の治療頻度で投与される量は、約12ピコモル（pmole）（創傷のcmまたは線維症のcm²あたり）より少なくてもよく、最も好ましくは、24フェムトモル（fmole）から2.4ピコモル（pmole）までの範囲（創傷のcmあたり、または線維症のcm²あたりにつき）であってもよい。

最も好ましくは、WNT3Aは、約1ng（創傷の直線センチメートルまたは線維症のcm²あたり）の量を、24時間単位に投与してもよい。

20

【0223】

当業者であれば、WNT3A、または治療に効果的な断片（フラグメント）もしくはその誘導体の治療に効果的な量は、例えば、その投与により器官または組織に到達した薬品（エージェント）の濃度の点から決定できることは、理解されるであろう。本文中で説明される治療に効果的な服用に関する情報は、当業者が、活性化された薬品（エージェント）の局所濃度（皮内注射（intradermal injection）によりもたらされる）を判断できる十分な指針を提供することとなろうし、さらに、これらの評価に基づいて、このような薬剤（エージェント）の適切な量（局所濃度相当に到達させるために他の経路により投与される）を決定できるであろう。

活性化された薬品（エージェント）の服用および投与量に関して、上記に提示した指針は、本発明の薬剤、さらに本発明の方法にも適用することができる。

30

【0224】

本発明者らは、WNT3Aが、1ng / 100μlの水薬（液剤；solution）の形態で投与され、その際に、そのような水薬の100μl（創傷または線維症のセンチメートルあたり）を、24時間あたりに投与することが、特に好ましいということを見出している。

【0225】

上記の段落の例では、薬剤を投与する具体量（創傷の直線cmあたり）を検討してきたが、この量は、治療しようとする創傷の片端か、または両端かのいずれかに、投与してもよい。（すなわち、100μlの薬剤を使用する例では、100μlを創傷の縁に投与してもよいし、50μlを創傷の縁（互いに接合する縁）の両方ともに投与してもよい。）

40

【0226】

当業者であれば、これまでに提示した情報は、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体に関して、瘢痕を抑制するために、創傷または線維性疾患の部位に投与する場合の量に関するものであるが、これらは、熟練した開業医（practitioner）により、患者ごとの特定の臨床的要要求に応じて、変更され得ることは、理解されることであろう。例えば、特に深いかまたは幅のある創傷の例では、上記の指針で示した投与量は、より高値に変化することもあるが、その場合でも、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体が提供される。上記に述べた指針に基づいて、適切な変形例が得られることは、当業者には自明なことであろう。

50

【 0 2 2 7 】

本発明の薬剤は、瘢痕を抑制するために、例えば、単剤療法(monotherapy)（例えば、本発明の薬剤のみを使用する治療）として使用してもよい。あるいはまた、本発明の方法または薬剤は、瘢痕を抑制するような他の化合物または治療と併用してもよい。例えば、そのような併合治療の要素として使用できる適切な化合物は、当業者には既知のものである。

【 0 2 2 8 】**(遺伝子治療 (gene therapy))**

当業者であれば、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体は、瘢痕を抑制することが望まれる部位への投与に、細胞発現(cellular expression)を利用してよいことが理解されるであろう（これは、一般的に、遺伝子治療 (gene therapy) と呼ばれる）。このような細胞発現(cellular expression)は、制御される必要があるが、この理由としては、このような活性化された薬品（エージェント）の非治療量が積み重なること、または、瘢痕もしくは線維症を悪化させてしまう量が積み重なることを予防するためである。従って、本発明は、瘢痕形成を抑制する方法であって、瘢痕を抑制しようとする部位に、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体の細胞発現(cellular expression)を誘導することを含む方法を提供する。そのような部位は、例えば、創傷であってもよく、または、線維性疾患の部位であってもよい。

10

【 0 2 2 9 】

本明細書中で示唆する内容に基づいて、細胞を誘導して、治療に効果的な量のWNT3A（またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体）を発現させることのできる実験方法を案出することは、当業者にとっては、日常的で容易なことであろう。

20

【 0 2 3 0 】

例えば、当業者であれば、治療に効果的な量のWNT3Aのそのような細胞発現(cellular expression)が、このような分子の自然発現を、治療しようとする部位の近傍の細胞を用いて操作することで、達成できることは、理解されることであろう。

30

【 0 2 3 1 】

別の手段であり、好ましい手段として、当該薬品（エージェント）をコード化する物質を導入することにより、治療しようとする部位の近傍において、細胞を誘導して、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を発現させることもできる。好適な物質としては、例えば、DNAまたはRNAのような核酸から成るもののが典型的であり、そのような物質は、本明細書に記載した配列に基づいて案出できる。

40

【 0 2 3 2 】

本発明の当該実施態様の使用に用いられる核酸は、「原形のまま(as is)」投与され、例えば、弾丸導入(ballistic introduction)として投与されるか、又はより大きい構成体(construct; コンストラクト)の一部分として投与され、安定的に形質移入されて細胞に組み込まれる。適切な構成体は、制御（調節）要素も含み、これにより、WNT3A、又はその断片若しくはその誘導体の治療に効果的な量の発現(expression)を達成することができる。このような構成体も、本発明の別の側面を与える。

50

【 0 2 3 3 】

かくして、本発明は、WNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体をコード化する構造体(construct; コンストラクト)であって、瘢痕を抑制しようとする部位において発現することができ、治療に効果的な量のWNT3A、または治療に効果的なその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を生じさせる構造体を提供する。また、本発明は、瘢痕を抑制する方法であって、構造体（上記に述べたもの）を、瘢痕を抑制しようとする部位に投与することにより、治療に効果的な量のWNT3A、またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体を発現(expression)させることを含む方法を提供する。また、本発明は、瘢痕を抑制する薬剤の製造におけるこのような構

50

造体の使用も提供する。

【0234】

ヒトの瘢痕を抑制する結果として得られたような多くの利点は、例えば、他の動物、特に、家畜用動物またはペット（例えば、馬、牛、犬、猫など）にも適用できる。従って、本発明の薬剤および方法は、例えば、非ヒト動物の瘢痕を抑制することにも使用できる。一般的に、例えば、ヒトの瘢痕を抑制するために使用できるものと同一の活性化された薬品（エージェント）は、このような場合にも使用できるが、好ましくは、治療しようとする動物と同じタイプのものにより誘導されたWNT3A（またはその断片（フラグメント）もしくはその誘導体）を使用する（例えば、馬を治療する場合では、馬のWNT3Aを使用する）。

10

ここで、下記の実験結果および図面に沿って、本発明を、さらに詳述する：

【図面の簡単な説明】

【0235】

【図1】 巨視的VASスコアに関して、治療された創傷、未治療の創傷、および対照（コントロール）治療された創傷を比較したものであり、創傷の形成から70日後に評価したものである。（図において、「*」は、未投薬(naive)および希釈剤(diluent)対照（コントロール）と比較してp<0.05であることを示す）

20

【図2】 微視的VASスコアに関して、治療された創傷、未治療の創傷、および対照（コントロール）治療された創傷を比較したものであり、創傷の形成から70日後に評価したものである。（図において、「*」は、未投薬(naive)および希釈剤(diluent)対照（コントロール）と比較してp<0.05であることを示す）

【図3】 WNT3Aで、治療された瘢痕に関するもの（パネルA、濃度1ng/100μlのWNT3Aを用いて治療を行った図）、と未治療（未投薬(naive)）の創傷に関するもの（パネルB）を比較したものの代表例を示す。

【0236】

アミノ酸および核酸の配列の詳細は、本明細書の他の箇所で言及しているが、以下の表題「配列情報（Sequence Information）」でも定義している。

【発明を実施するための形態】

【0237】

（実験結果）

30

本発明者らは、インビボモデルを使用して、WNT3Aが瘢痕を抑制する効果を調べた。

【0238】

（切開性創傷治癒モデル（Incisional wound healing model）、およびWNT3Aを用いた治療）

遺伝子組替えマウスWNT3Aを、R&D Systemsから購入した（カタログ番号1324-WN/CF, Lot HTR054051）。

【0239】

WNT3Aは、リン酸緩衝食塩水（phosphate buffered saline；PBS）で希釈し、以下の濃度を示す3種の水薬（solution）を生成した：

40

1. 1ng/100μl (0.24nMの水薬（solution）);
2. 10ng/100μl (2.4nMの水薬（solution）); および
3. 100ng/100μl (24nMの水薬（solution）)

なお、PBS単独を、希釈剤(diluent)対照（コントロール）として使用した。

【0240】

（瘢痕モデル、投与、および組織回収(harvest)時点）

0日目に、オトナのオスのスプレーグドーリー（Sprague Dawley）ラット（体重225-250g）に麻酔をかけ、剪毛し、創傷部位として、次の創傷テンプレートに従って傷跡をつけた：すなわち、2x1cm創傷である切開性創傷が、各々のラットにおいて頭蓋骨(skull)の底部から5cm離れた位置、および正中線(midline)から1cm離れた位置である。上記に述べた

50

WNT3Aが含まれる水薬(solution)の100マイクロリットル(1ng、10ng、または100ngのWNT3Aが、100μlのPBSに含まれる)を、皮内注射を用いて、創傷が形成された部位に注入した。皮内注射により、隆起した小胞(bleb)が形成されたが、これを直ちに切開して、長さ1cmの全層型(full thickness)の実験的創傷を作成した。創傷を受けているが、注射を行わなかった別のラットの集団(group)を、未治療の未投薬(naive)対照(コントロール)集団とし、希釈剤(diluent)対照(コントロール)注射(WNT3Aを含まないでPBSのみを100μl)を受けた集団に追加した。

【0241】

このようにして、1ng/100μl濃度の水薬(solution)の各々では、24.4フェムトモル(fmole)のWNT3Aを供給し、10ng/100μl濃度の水薬の各々では、244フェムトモル(fmole)のWNT3Aを供給し、100ng/100μl濃度の水薬の各々では、2.4ピコモル(pmole)のWNT3Aを供給した。
10

【0242】

治療、または、希釈剤(diluent)対照(コントロール)注射のいずれかを受けたすべての創傷は、創傷が形成された後の1日目において、再注射を行い、適切な水薬(solution)を、この注射によりその50μlを創傷の1cmの2つの縁の各々に与えた。創傷は、創傷が形成されてから70日目に組織回収(harvest)した。

【0243】

創傷は、創傷が形成されてから撮影されたもので、1日目の再注射前、および組織回収前に撮影を行った。創傷は、巨視的および微視的に分析し、治療された創傷、未治療の創傷、および対照(コントロール)治療された創傷を治癒することで生じた瘢痕を評価した。
20

【0244】

(瘢痕の評価(アセスメント))

創傷が形成してから70日後に、実験用ラットを殺し、治療された創傷および対照(コントロール)創傷により生じた瘢痕を、巨視的および微視的に評価した。

【0245】

実験用ラットの瘢痕を撮影し、巨視的瘢痕評価シートを用いて評価した。瘢痕の巨視的評価(アセスメント)は、視覚尺度(Visual Analogue Scale; VAS)を用いた。このVASは、左から右に、0(正常の皮膚に相当する)から10(酷い瘢痕を示す)に応じたスケール(尺度)を示す0-10cmのライン(直線)から成る。目印(マーク)は、査定者(assessor)が、10cmの直線上に作成したが、この作成にあたっては、瘢痕の総合的評価に基づいて、パラメタ(例えば、瘢痕の高さ、幅、輪郭および色)を考慮した。最も良い瘢痕(通常、その小さな幅が、色、高さ、および輪郭と合わせて、正常の皮膚のようになっているもの)には、スケールの正常皮膚側の末端(VAS直線の左手側)の近傍で点数をつけ、酷い瘢痕(通常、その大きい幅が、不安定な輪郭およびより白っぽい色で、隆起しているもの)には、スケールの酷い瘢痕側の末端(VAS直線の右手側)の近傍で点数をつけた。目印(マーク)は、左手側から測定し、瘢痕を評価した最終評価値をセンチメートル単位で(小数点第1位まで)得た。
30

【0246】

微視的評価(アセスメント)において、瘢痕は、実験用ラットから切除し(少量の周囲の正常皮膚も含めて)、その瘢痕を、10% (v/v)の緩衝化された規定の生理的食塩水で固定化した。その後、この固定化組織に、ワックス組織処理(wax histology)を行った。組織スライドは、マッソントリクローム染色(Masson's trichrome)を使用して染色し、その瘢痕は、熟練した査定者(assessor)が、微視的な視覚尺度(Visual Analogue Scale; VAS)を使用して評価した。これは、左から右に、0(正常の皮膚に相当する)から10(酷い瘢痕を示す)に応じたスケール(尺度)を示す0-10cmのライン(直線)から成る。目印(マーク)は、査定者(assessor)が、10cmの直線上に作成したが、この作成にあたっては、瘢痕の総合的評価に基づいて、パラメタ(例えば、コラーゲン線維の間隔(spacing; スペーシング)、配向性および厚さ)を考慮した。
40
50

【 0 2 4 7 】

最も良い瘢痕(通常、幅の狭い瘢痕で、厚くランダムに配向するコラーゲン線維と共に存し、周囲の正常の真皮(dermis)の近傍における線維間で、正常の間隔を有しているもの)には、スケールの正常皮膚側の末端(VAS直線の左手側)の近傍で点数をつけ、酷い瘢痕(通常、幅の広い瘢痕で、低密度に充填された平行配向なコラーゲン線維と共に存しているもの)には、スケールの酷い瘢痕側の末端(VAS直線の右手側)の近傍で点数をつけた。目印(マーク)は、左手側から測定し、瘢痕を評価した最終評価値をセンチメートル単位で(小数点第1位まで)得た。

【 0 2 4 8 】

WNT3Aが治癒した結果の瘢痕の巨視的VASスコアを、治療された創傷、未投薬(naive)の創傷、および希釈剤(diluent)対照(コントロール)創傷に関して比較したものと、図1に示す。10

【 0 2 4 9 】

WNT3Aが治癒した結果の瘢痕の微視的VASスコアを、治療された創傷、未投薬(naive)の創傷、および希釈剤(diluent)対照(コントロール)創傷に関して比較したものと、図2に示す。

【 0 2 5 0 】

WNT3Aが治癒することで形成された瘢痕の巨視的外観を、治療された創傷、および未投薬(naive)の対照(コントロール)創傷に関して比較した代表図を、図3に示す。

【 0 2 5 1 】**(結果)**

瘢痕に対する巨視的および微視的分析の両方により、切開性創傷(incisional wounds)により形成される瘢痕に関しては(創傷後70日で評価を行った)、WNT3Aを投与することが、このような治療された創傷の瘢痕を、有意に抑制できることが示された。治療に効果的な量のWNT3Aを使用することにより、瘢痕を効果的に抑制することは、図3から明らかである(図3は、治療された瘢痕、および未投薬(naive)の対照(コントロール)瘢痕の巨視的イメージを示している)。

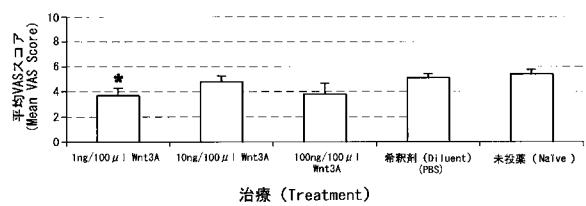
【 0 2 5 2 】

これらの結果から、治療に効果的な量のWNT3A、または治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体は、瘢痕を抑制することが可能であることが示された。これらの結果は、そのような活性化された薬品(エージェント)の治療に効果的な量をどのように方法で決定しうるかという点に関する指針(ガイダンス)も提供している。瘢痕を最も抑制したことが観察されたのは、1ng/100μl濃度の水溶液(solution)を投与した場合(各々、24.4フェムトモル(fmole)のWNT3Aが与えられる場合)であり、これは、WNT3Aの治療に効果的な量に関して好適な例である。30

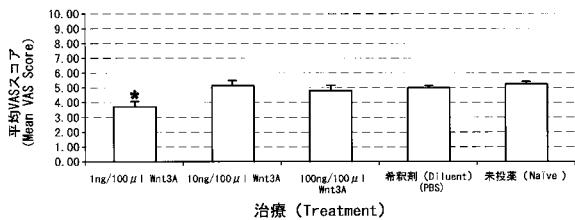
【 0 2 5 3 】

生物学的メカニズムに関して、創傷の治癒により生じる瘢痕に関与する生物学的メカニズムと線維性疾患に関連する瘢痕の生物学的メカニズムとの間に類似性があることを考慮すれば、上記の結果は、治療に効果的な量のWNT3A、または治療に効果的なその断片(フラグメント)もしくはその誘導体が、創傷により生じた瘢痕、および線維性疾患に関連する瘢痕の両方を、予防、軽減、または抑制することに利用できるであろうということも明示するものである。40

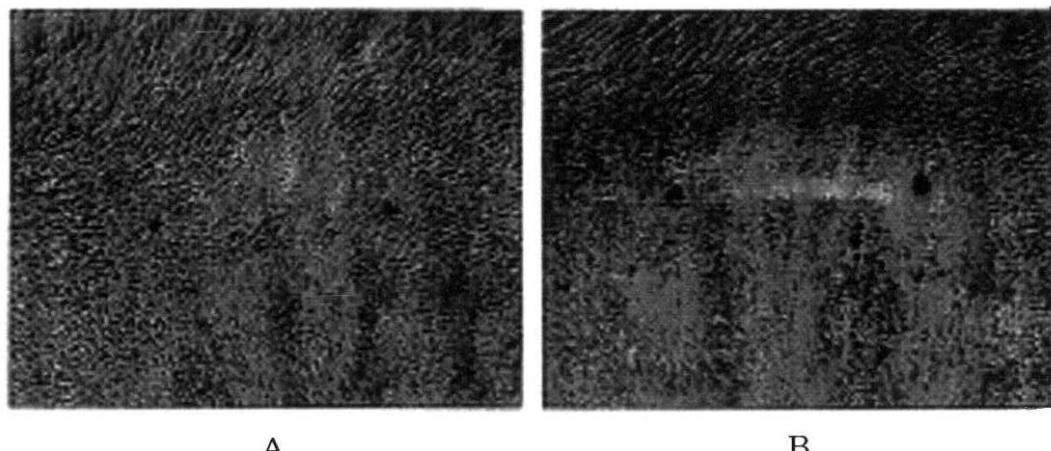
【 図 1 】



【 図 2 】



【図3】



【配列表】

2010519192000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/GB2008/000500
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K38/17 A61P17/02		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI-Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, Y	WO 2008/001113 A (RENOVO LTD [GB]; FERGUSON MARK WILLIAM JAMES [GB]; LAVERTY HUGH GERARD) 3 January 2008 (2008-01-03) the whole document	1-18
P, X	EP 1 844 787 A (UNIV KYOTO [JP]) 17 October 2007 (2007-10-17) claims 1-4 page 4, paragraphs 13,14	1-6, 8, 10, 13-16, 18
		-/-
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document 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		
Date of the actual completion of the International search 17 April 2008		Date of mailing of the International search report 02/05/2008
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.O. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Fayos, Cécile

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/GB2008/000500
C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, Y	<p>SHANG YAN-CHANG ET AL: "Wnt3a signaling promotes proliferation, myogenic differentiation, and migration of rat bone marrow mesenchymal stem cells." ACTA PHARMACOLOGICA SINICA NOV 2007, vol. 28, no. 11, November 2007 (2007-11), pages 1761-1774, XP002476914 ISSN: 1671-4083 abstract page 1771, left-hand column, paragraph 3 DISCUSSION</p> <p>-----</p>	1-18
X	WO 2005/118782 A (HYDRA BIOSCIENCES INC [US]; LARSEN GLENN [US]; MARVIN MARTHA [US]; LI) 15 December 2005 (2005-12-15) claims 1,2,5,6,24,26-30 page 1, line 18 - line 27 page 130, line 26 - line 32 page 131, line 25 - page 133, line 21 page 139, line 19 - line 26 page 158; example 6	1-6, 10-16,18
Y		1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2008/000500

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claim 18 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.: because they relate to parts of the International application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No PCT/GB2008/000500

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 2008001113	A	03-01-2008	NONE			
EP 1844787	A	17-10-2007	CA 2595004 A1 CN 101128212 A WO 2006077824 A1		27-07-2006 20-02-2008 27-07-2006	
WO 2005118782	A	15-12-2005	CA 2562940 A1 EP 1737948 A2 US 2005261189 A1		15-12-2005 03-01-2007 24-11-2005	

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 15/00	(2006.01)	A 6 1 P 15/00
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P 25/02	(2006.01)	A 6 1 P 25/02
A 6 1 P 13/12	(2006.01)	A 6 1 P 13/12
A 6 1 P 19/00	(2006.01)	A 6 1 P 19/00
A 6 1 P 21/00	(2006.01)	A 6 1 P 21/00
A 6 1 P 11/00	(2006.01)	A 6 1 P 11/00
A 6 1 P 9/10	(2006.01)	A 6 1 P 9/10
A 6 1 P 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 27/02
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5
C 0 7 K 14/47	(2006.01)	C 0 7 K 14/47 Z N A
C 1 2 N 15/09	(2006.01)	C 1 2 N 15/00 A

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MT,NL,NO,PL,PT,RO,SE,SI,SK,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,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,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,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 マーク ウィリアム ジェイムズ ファーガソン
イギリス、エム13・9エックスエックス、マンチェスター、グラフトン・ストリート48番、マンチェスター・インキュベーター・ビルディング レノボ・リミテッド内

(72)発明者 ヒュー ラベルティ
イギリス、エム13・9エックスエックス、マンチェスター、グラフトン・ストリート48番、マンチェスター・インキュベーター・ビルディング レノボ・リミテッド内

(72)発明者 ニコラス オクレストン
イギリス、エム13・9エックスエックス、マンチェスター、グラフトン・ストリート48番、マンチェスター・インキュベーター・ビルディング レノボ・リミテッド内

(72)発明者 シャロン オケイン
イギリス、エム13・9エックスエックス、マンチェスター、グラフトン・ストリート48番、マンチェスター・インキュベーター・ビルディング レノボ・リミテッド内

(72)発明者 ケリー ニールド
イギリス、エム13・9エックスエックス、マンチェスター、グラフトン・ストリート48番、マンチェスター・インキュベーター・ビルディング レノボ・リミテッド内

F ターム(参考) 4B024 AA01 CA02
 4C084 AA02 AA03 BA01 CA17 DC50 MA13 MA16 MA17 MA22 MA23
 MA28 MA32 MA35 MA37 MA43 MA52 MA55 MA56 MA57 MA58
 MA59 MA60 MA63 MA66 MA67 NA14 ZA02 ZA20 ZA33 ZA36
 ZA59 ZA66 ZA67 ZA75 ZA81 ZA89 ZA94 ZA96 ZB21
 4H045 AA10 AA20 AA30 CA40 EA28