

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7667539号
(P7667539)

(45)発行日 令和7年4月23日(2025.4.23)

(24)登録日 令和7年4月15日(2025.4.15)

(51)国際特許分類	F I
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 38/00
A 6 1 K 31/7088(2006.01)	A 6 1 K 31/7088
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00
A 6 1 P 7/06 (2006.01)	A 6 1 P 7/06
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12

請求項の数 19 (全13頁)

(21)出願番号	特願2019-552887(P2019-552887)	(73)特許権者	507189574 ウェイク・フォレスト・ユニヴァーシテ ィ・ヘルス・サイエンス アメリカ合衆国ノースカロライナ州27 157, ウィンストン セイラム, メデ ィカル・センター・ブルヴァード
(86)(22)出願日	平成30年3月29日(2018.3.29)	(74)代理人	100099623 弁理士 奥山 尚一
(65)公表番号	特表2020-512338(P2020-512338 A)	(74)代理人	100125380 弁理士 中村 綾子
(43)公表日	令和2年4月23日(2020.4.23)	(74)代理人	100142996 弁理士 森本 聡二
(86)国際出願番号	PCT/US2018/025063	(72)発明者	ウィリアムズ, ジェイムズ・ケイ アメリカ合衆国ノースカロライナ州27 012, クレモンズ, メイドストーン・
(87)国際公開番号	WO2018/183625		
(87)国際公開日	平成30年10月4日(2018.10.4)		
審査請求日	令和3年3月8日(2021.3.8)		
審判番号	不服2022-17939(P2022-17939/J 1)		
審判請求日	令和4年11月8日(2022.11.8)		
(31)優先権主張番号	62/478,684		
(32)優先日	平成29年3月30日(2017.3.30)		
(33)優先権主張国・地域又は機関			

最終頁に続く

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 腎臓疾患の治療方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

腎臓の細胞破壊および/または線維症の減少をもたらすことによって、腎臓疾患を患っているかまたは発症するリスクがある対象を治療する医薬であって、前記医薬は前記対象の腎臓に、腎臓組織上および/または中への直接的な注射によって、直接的に投与されるものであり、治療有効量でストロマ細胞由来因子1アルファ(SDF-1)を含み、前記腎臓疾患が、急性腎不全、慢性腎臓疾患、末期の腎疾患または貧血である、医薬。

【請求項2】

前記対象が、ヒト対象である、請求項1に記載の医薬。

【請求項3】

前記対象が、非ヒト哺乳動物の対象である、請求項1に記載の医薬。

【請求項4】

前記対象が、ネコ、イヌまたはウマである、請求項1に記載の医薬。

【請求項5】

前記対象が、飼いネコである、請求項1に記載の医薬。

【請求項6】

前記腎臓疾患が、慢性間質性腎炎である、請求項1から5のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項7】

薬学的に許容される担体を更に含み、前記SDF-1が前記薬学的に許容される担体中に提供されている、請求項1から6のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項 8】

前記薬学的に許容される担体が、無菌である（例えば、エンドトキシンフリーもしくはパイロジェンフリーの水、またはエンドトキシンフリーもしくはパイロジェンフリーの水の生理食塩水）、請求項 7 に記載の医薬。

【請求項 9】

前記直接投与が、前記腎臓組織上および / または中の複数の部位で行われるものである、請求項 1 に記載の医薬。

【請求項 10】

前記直接投与が、中腎皮質中へのものである、請求項 1 または請求項 9 に記載の医薬。

【請求項 11】

前記 S D F - 1 __ が、ヒト S D F - 1 である、請求項 1 から 10 のいずれか 1 項に記載の医薬。

10

【請求項 12】

前記 S D F - 1 __ が、ネコ S D F - 1 またはイヌ S D F - 1 である、請求項 1 から 10 のいずれか 1 項に記載の医薬。

【請求項 13】

前記 S D F - 1 __ が、前記 S D F - 1 __ をコードする核酸ベクターとして含まれており、前記投与が、前記核酸ベクターを前記腎臓に注射することによって行われるものであり、これにより前記酢酸ベクターが前記コードされた S D F - 1 __ を発現する、請求項 1 から 12 のいずれか 1 項に記載の医薬。

20

【請求項 14】

前記ベクターが、プラスミドベクターまたはウイルスベクターである、請求項 13 に記載の医薬。

【請求項 15】

前記投与が、前記 S D F - 1 __ と組み合わせて血管新生増殖因子（例えば、血管内皮増殖因子（V E G F））を前記対象に投与するものである、請求項 1 から 14 のいずれか 1 項に記載の医薬。

【請求項 16】

S D F - 1 __ および水性担体を含む、腎臓組織上および / または中への直接的な注射による腎臓疾患の治療のための無菌注射用組成物であって、前記 S D F - 1 __ が、対象の腎臓に腎臓組織上および / または中への直接的な注射によって直接的に投与される際に、前記腎臓の細胞破壊の減少および / または線維症の減少をもたらすのに有効な量で存在し、前記腎臓疾患が、急性腎不全、慢性腎臓疾患、末期の腎疾患または貧血である、組成物。

30

【請求項 17】

ゼラチンを含む、請求項 16 に記載の無菌注射用組成物。

【請求項 18】

V E G F をさらに含む、請求項 16 に記載の無菌注射用組成物。

【請求項 19】

腎臓組織上および / または中への直接的な注射によって、腎臓疾患を患っているかもしくは発症するリスクがある対象を治療する方法の実施のための医薬の調製における、S D F - 1 __ または S D F - 1 __ をコードするベクターの使用であって、前記 S D F - 1 __ または S D F - 1 __ をコードするベクターが、前記対象の腎臓の細胞破壊の減少および / または線維症の減少をもたらすのに有効な量で存在し、前記腎臓疾患が、急性腎不全、慢性腎臓疾患、末期の腎疾患または貧血である、S D F - 1 __ または S D F - 1 __ をコードするベクターの使用。

40

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

慢性腎疾患または慢性腎不全としても知られる、慢性腎臓疾患（C K D）は、数カ月または数年にわたる進行性の腎機能の喪失である。C K D は、さまざまな状態およびメカニ

50

ズムによって引き起こされ得、ヒト、ならびにコンパニオンアニマルなどの他の動物に影響を及ぼす。例えば、CKDは、高齢のネコにおけるもっとも一般的な疾病および死亡の原因の1つである。

【0002】

新たな治療選択肢が腎臓疾患の治療に必要とされている。

【発明の概要】

【0003】

本明細書において、腎臓疾患を患っているかまたは発症するリスクがある対象を治療する方法であって、対象に（例えば、対象の腎臓に）治療有効量でストロマ細胞由来因子1（SDF-1）を投与することを含む、方法を提供する。いくつかの実施形態において、腎臓疾患は、急性腎不全、慢性腎臓疾患、末期の腎疾患または貧血である。いくつかの実施形態において、腎臓疾患は、慢性間質性腎炎である。

10

【0004】

いくつかの実施形態において、本方法は、前記SDF-1と組み合わせて血管新生増殖因子（例えば、血管内皮増殖因子（VEGF））を前記対象に投与することをさらに含む。

【0005】

さらに、SDF-1および水性担体を含む、腎臓疾患の治療のための無菌注射用組成物を提供する。いくつかの実施形態において、本組成物は、コラーゲンまたはゼラチンを含む。いくつかの実施形態において、本組成物は、血管新生増殖因子（例えば、血管内皮増殖因子（VEGF））をさらに含む。

20

【0006】

また、腎臓疾患を患っているかもしくは発症するリスクがある対象を治療する方法の実施における使用のための、または腎臓疾患を患っているかもしくは発症するリスクがある対象を治療する方法の実施のための医薬の調製における使用のための、本明細書に記載のSDF-1またはSDF-1をコードするベクターを提供する。

【0007】

図1A～図1Dは、異なる対照群および治療群の腎臓組織の組織像（マッソントリクローム染色）を示す。

【図面の簡単な説明】

【0008】

【図1A】対照の対象からの腎臓組織の組織像を示す図である。

【図1B】治療なしの損傷した対象からの腎臓組織の組織像を示す図である。

【図1C】担体の注射を受けた損傷した対象からの腎臓組織の組織像を示す図である。

【図1D】担体中のSDF-1の注射を受けた損傷した対象からの腎臓組織の組織像を示す図である。SDF-1の投与は、より正常な皮質-髄質構造を組織に回復させる。

【発明を実施するための形態】

【0009】

本開示は、ケモカインタンパク質であるストロマ細胞由来因子1（SDF-1）による腎臓疾患の治療のための組成物および方法を提供する。

【0010】

本明細書において引用されるすべての特許文献の開示は、それらが本明細書において説明される開示と一致する範囲で、引用することにより本明細書の記載の一部となすものとする。本発明の明細書および添付の特許請求の範囲において、本明細書で使用される場合、単数形の「a」、「an」および「the」は、文脈が他を明確に指示していない限り、複数形を同様に含むことを意図する。本明細書で使用される場合、「および/または」および「/」は、関連する列挙された項目の1つもしくは複数のありとあらゆる可能な組合せ、ならびに別の可能性（「または」）で解釈される場合は組合せの欠如を指し、かつ包含する。

40

【0011】

本明細書で使用される場合、「治療する」とは、対象または患者への利益を与える任意

50

の種類の治療、特に、腎臓機能の改善、腎臓機能の不全またはその徴候もしくは症状の、発症または進行または悪化の遅延または遅滞などを指す。

【0012】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」とは、化合物または組成物が、疾患の重症度および治療の必要性を考慮して過度に有害な副作用なく、対象への投与のために適切であることを意味する。

【0013】

「腎臓疾患」とは、限定されるものではないが、急性腎不全（例えば、毒物、心的外傷、ショック、感染症、腎臓結石などの閉塞、心不全などによって引き起こされる）、慢性腎臓疾患（CKD）（例えば、加齢、遺伝、腎臓結石などの閉塞、糖尿病、感染症、歯科疾患、免疫疾患、高血圧、甲状腺障害、がん、先天性腎奇形、先天性多発性嚢胞腎臓疾患などに起因する腎臓機能の段階的な喪失）、末期の腎臓疾患、貧血などを含む、1つまたは複数の腎臓機能を損ない得る任意の種類疾患または障害を指す。例として、間質性腎炎（尿細管の周囲の腎臓の間質の炎症）は、急性間質性腎炎または慢性間質性腎炎であってもよく、これは、最終的に腎不全をもたらす得る。

10

【0014】

本明細書で使用される場合、一般に、「対象」または「患者」は、研究または獣医学の目的のために、ヒト対象および非ヒト動物対象（例えば、イヌ、ネコ、ウマ、鳥類など）の両方を含む、腎臓疾患になりやすい動物対象を指す。対象は、雄または雌であってもよく、新生児、幼児、小児、青年、成人、および高齢の対象を含む、任意の適切な年齢の対象であってもよい。

20

【0015】

1. 活性化化合物

本明細書において使用される活性化化合物は、ケモカインタンパク質であるストロマ細胞由来因子1（SDF-1）である。本化合物は、C-X-Cモチーフケモカイン12（CXCL12）としても公知であり、ヒトにおいては、これは、CXCL12遺伝子によってコードされる。SDF-1は、例えば、M. D'Apuzzoら、The chemokine SDF-1, stromal cell-derived factor 1, attracts early stage B cell precursors via the chemokine receptor CXCR4、Eur. J. Immunol.、27巻、1788~1793頁（1997年）；Y. Tabata、米国特許第8,435,953号、ならびにPennら、米国特許第8,513,213号および米国特許第8,513,007号；ならびにS. Itescu、米国特許第7,662,392号において、公知かつ記載されており、これらの開示は、引用することでそれらの全体が本明細書の記載の一部をなすものとする。J. K. Williams、国際公開第2015/171417号も参照のこと。

30

【0016】

本明細書で使用される場合、SDF-1は、SDF-1もしくはその成熟型に加えて、例えば、SDF-1、SDF-1、SDF-1、SDF-1およびSDF-1などのアイソフォームおよびその成熟型、または任意の比率のこれらの混合物などを含み得る。本発明におけるSDF-1としては、SDF-1、SDF-1、または任意の比率のこれらの混合物などが挙げられる。米国特許第8,435,953号を参照のこと。

40

【0017】

本発明において、SDF-1がケモカインとしての活性を有する限り、SDF-1は、アミノ酸配列における1個または複数個のアミノ酸によって、置換、欠失および/または付加されていてもよい。同様に、SDF-1は、糖鎖によって、置換、欠失および/または付加されていてもよい。SDF-1は、生理学的に許容される酸（例えば、無機酸もしくは有機酸）または塩基（例えば、アルカリ金属塩）と塩（好ましくは、酸付加塩）を形成していてもよい。塩の例としては、無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸または

50

硫酸)との塩、および有機酸(例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、シュウ酸、安息香酸、メタンスルホン酸またはベンゼンスルホン酸)との塩が挙げられる。

【0018】

本発明において使用されるSDF-1は、ヒト、またはサル、ヒツジ、ウシ、ウマ、ブタ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラットもしくはマウスなどの非ヒト動物などの哺乳動物に由来していてもよい。例えば、いくつかの実施形態において、本発明の組成物がヒトにおける使用のためである場合、本発明の組成物は、ヒトSDF-1(例えば、SDF-1(GeneBank受託番号NP_954637)またはSDF-1(GeneBank受託番号NP_000600))を使用して産生されてもよい。別の例として、いくつかの実施形態において、本組成物が飼いネコにおける使用のためである場合、本発明の組成物は、ネコSDF-1(例えば、GeneBank受託番号NP_001009847(イエネコ(*Felis catus*)))を使用して産生されてもよい。さらなる例として、いくつかの実施形態において、本組成物が飼いイヌにおける使用のためである場合、本発明の組成物は、イヌSDF-1(例えば、GeneBank受託番号AAU89475(イヌ(*Canis lupus familiaris*)またはGeneBank受託番号NP_001121569(イヌ(*Canis lupus familiaris*)))を使用して産生されてもよい。

10

【0019】

いくつかの実施形態において、SDF-1は、SDF-1の作用が他の混入物によって阻害されないレベルに精製されていてもよい。好ましくは、SDF-1は、医薬調製物として使用可能なように精製されていてもよい。

20

【0020】

本発明において、SDF-1は、天然源から得てもよく、または遺伝子工学技術によって産生されてもよい。天然源から得られる場合、SDF-1は、SDF-1が存在することが既知の、ヒトまたは非ヒト動物(例えば、サル、ヒツジ、ウシ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラットもしくはマウス)などの哺乳動物の脾臓などのさまざまな臓器から抽出され得る。SDF-1が存在することが既知の臓器の具体例を挙げると、例えば、SDF-1は、SDF-1受容体であるCXCR4を発現する腫瘍細胞が高頻度で転移する臓器中に大量に存在することが知られている。他方では、遺伝子工学技術によって産生される場合、ヒトまたは非ヒト動物(例えば、サル、ヒツジ、ウシ、ウマ、ブタ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラットもしくはマウス)などの哺乳動物からのSDF-1をコードする遺伝子を適切なベクターに組み込み、これを形質転換のために適切な宿主細胞に導入し、それによって、形質転換体の培養上清から標的の組換えSDF-1を得ることが可能である。本明細書における宿主細胞は限定されず、遺伝子工学技術において通常使用されている、大腸菌(*E. coli*)などのさまざまな宿主細胞、酵母細胞、カイコ細胞などのさまざまな昆虫細胞、およびさまざまな動物細胞が使用され得る。

30

【0021】

本明細書に開示の活性化合物は、上述のように、それらの薬学的に許容される塩の形態で調製され得る。薬学的に許容される塩は、親化合物の所望の生物活性を維持し、かつ望ましくない毒性効果を与えない、塩である。このような塩の例は、(a)無機酸、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、硝酸などと形成される酸付加塩、および有機酸、例えば、酢酸、シュウ酸、酒石酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、グルコン酸、クエン酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、安息香酸、タンニン酸、パルミチン酸、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ナフタレンスルホン酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、ナフタレンジスルホン酸、ポリガラクトン酸などと形成される塩、(b)塩素、臭素およびヨウ素などの元素アニオンから形成される塩、ならびに(c)アンモニウム塩などの塩基に由来する塩、ナトリウムおよびカリウムの塩などのアルカリ金属塩、カルシウムおよびマグネシウムの塩などのアルカリ土類金属塩、ならびにジシクロヘキシルアミンおよびN-メチル-D-グルカミンなどの有機塩基との塩である。

40

50

【 0 0 2 2 】

いくつかの実施形態において、SDF - 1 は、腎臓組織上および/もしくは中へ直接的に、例えば、注射によって、または腎臓組織においてSDF - 1 をコードし、SDF - 1 を発現（例えば、一過性にまたは恒常的に発現）する核酸ベクター（例えば、組み込み、および非組み込みウイルスベクター、レトロウイルスベクター、プラスミドベクター、直鎖状DNAベクターなど）を投与することによって（例えば、注射によって）、投与されてもよい。一般に、このようなベクターは、組織中で作動可能なプロモーター（例えば、CMVプロモーター）と作動可能に関連する上記に記載のSDF - 1 をコードする核酸セグメントを含む。プラスミドベクターを含む適切なベクターは、公知であるか、または本開示に基づいて当業者には明らかであり、限定されるものではないが、例えば、引用することによってその開示が本明細書の記載の一部をなすものとする、Pennらの米国特許第8,513,213号および米国特許第8,513,007号に記載されている、受託番号PTA - 13320でアメリカ合衆国培養細胞系統保存機関に寄託されたプラスミドが挙げられる。

10

【 0 0 2 3 】

2. 医薬製剤

上記に記載の活性化化合物は、公知技術に従って、投与のために、医薬担体中で製剤化されてもよい。例えば、Remington, The Science And Practice of Pharmacy（第9版、1995年）を参照のこと。本発明による医薬製剤の製造において、活性化化合物（その生理学的に許容される塩を含む）は、典型的には、とりわけ、許容される担体と混合される。当然ながら、担体は、製剤中の任意の他の成分と適合するという意味で許容されていなければならない。担体は、固体もしくは液体、または両方であってもよく、好ましくは、単用量製剤、例えば、錠剤として、化合物と製剤化され、これは、0.01重量%または0.5重量%から95重量%または99重量%の活性化化合物を含有していてもよい。1つまたは複数の活性化化合物が、本発明の製剤中に組み込まれていてもよく、これは、1つまたは複数の補助成分を含んでいてもよい、構成要素と混合することを含む、調剤学の周知技術のいずれかによって調製され得る。

20

【 0 0 2 4 】

非経口投与のために適切な本発明の製剤は、活性化化合物の無菌の水性および非水性の注射液を含み、この調製物は、好ましくは、目的とするレシピエントの血液と等張である。これらの調製物は、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、および製剤を目的とするレシピエントの血液と等張にする溶質を含有していてもよい。水性および非水性の無菌の懸濁液は、懸濁化剤および増粘剤を含んでいてもよい。製剤は、単用量容器または複数回用量容器中、例えば、密封されたアンプルおよびバイアル中に存在していてもよく、使用の直前に、無菌の液体担体、例えば、生理食塩水または注射用水の添加のみを必要とするフリーズドライ（freeze-dried）（凍結乾燥（lyophilized））状態で保存されてもよい。即時注射液および懸濁液は、先述の種類の無菌の散剤、顆粒剤および錠剤から調製されてもよい。

30

【 0 0 2 5 】

例えば、本発明の1つの態様において、密封容器中に、活性化化合物またはその塩を単剤形で含む、注射可能で、安定な無菌組成物を提供する。本化合物または塩は、対象へのその注射のために適切な液体組成物を形成するために、適切な薬学的に許容される担体を用いて再構成することが可能な、凍結乾燥の形態で提供される。単剤形は、典型的には、約10mgから約10グラムの本化合物または塩を含む。本化合物または塩が実質的に水不溶性である場合、十分な量の生理学的に許容される乳化剤を、水性担体中で本化合物または塩を乳化するために十分な量で、用いてもよい。このような有用な乳化剤の1つは、ホスファチジルコリンである。

40

【 0 0 2 6 】

無菌担体の非限定的な例としては、エンドトキシンフリーもしくはパイロジェンフリー

50

の水または生理食塩水が挙げられる。

【0027】

活性化化合物に加えて、医薬組成物は、pH調節添加剤などの他の添加剤を含有してもよい。特に、有用なpH調節添加剤としては、塩酸などの酸、乳酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、リン酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウムもしくはグルコン酸ナトリウムなどの塩基または緩衝剤が挙げられる。さらに、本組成物は、微生物保存剤を含有してもよい。有用な微生物保存剤としては、メチルパラベン、プロピルパラベンおよびベンジルアルコールが挙げられる。微生物保存剤は、典型的には、製剤が複数回投与の使用のために設計されたバイアル中に入れられる場合に用いられる。当然ながら、示されるように、本発明の医薬組成物は、本技術分野において周知の技術を使用して凍結乾燥されてもよい。

10

【0028】

医薬組成物は、SDF-1の即時放出および/または持続放出のために、例えば、カルボキシル基および/またはスルホ基を有する修飾ゼラチンを用いるハイドロゲルを含有する持続放出組成物に、製剤化されてもよい。例えば、T a b a t aに対する米国特許第8,435,953号を参照のこと。いくつかの実施形態において、本組成物は、コラーゲンおよび/またはゼラチンを含んでいてもよい。

【0029】

3. 投与量および投与経路

上述のように、本発明は、活性化化合物(その薬学的に許容される塩を含む)を非経口投与のための薬学的に許容される担体中に含む、医薬製剤を提供する。

20

【0030】

臓器への直接投与(例えば、腎臓の一部または複数の部分の上および/または中への直接注射)は、任意の適切な技術によって行われ得る。注射による投与は、持続注入によって、または単回もしくは複数回のボラスによって、行われてもよい。例えば、P e r e i r a - K a m a t h らに対する米国特許出願公開第2009/0306625号を参照のこと。

【0031】

いくつかの実施形態において、臓器への直接投与は、画像化技術によって、例えば、超音波誘導によって、誘導されてもよい。いくつかの実施形態において、投与は、中腎皮質中の一部または複数の部位(例えば、1、2、または3から7、8、9または10部位)への直接投与(例えば、直接注射または注入)による。いくつかの実施形態において、投与は、腎臓への動脈内注入による。

30

【0032】

その使用が本発明の範囲内である、任意の特定の化合物の治療有効投与量は、化合物間および患者間で幾分異なってもよく、患者の状態および送達経路に依存する。一般に、SDF-1の臓器への直接注射のためには、対象(例えば、ヒト対象またはコンパニオンアニマル対象)に応じて、1投与あたり約10もしくは50ナノグラムから400、800もしくは1000ナノグラムの量、または1投与あたり約10もしくは50マイクログラムから400、800もしくは1000マイクログラムの量が適切であり得、治療セッションあたり臓器組織への1回の注射、または治療の各セッションで臓器組織の異なる部位(例えば、臓器またはその一部の周辺に分布する部位(例えば、腎臓の背側極の周辺))への複数回の注射(例えば、2、3、4、5、6回)をそれぞれの対象が受け得る。

40

【0033】

治療セッションは、適切と考えられる場合、定期的に繰り返されてもよい(例えば、2カ月毎または4カ月毎に1回)。核酸ベクターが投与される場合、ベクターは、注射部位または近傍で、SDF-1の対応する発現のレベルを達成するために有効な量で投与することができる。

【0034】

4. 併用療法

50

いくつかの実施形態において、SDF-1は、血管新生増殖因子（例えば、血管内皮増殖因子（VEGF））と組み合わせて投与される。例えば、Schreinerらに対する米国特許第6,352,975号；Chadeら、Reversal of renal dysfunction by targeted administration of VEGF into the stenotic kidney: a novel potential therapeutic approach、Am J Physiol Renal Physiol、2012年5月15日、302巻（10号）、F1342～50頁；Chadeらに対する米国特許出願公開第2016/077618号を参照のこと。

【0035】

SDF-1およびVEGFなどの2以上の薬剤の「組み合わせて」の投与とは、2つの薬剤が、一方の存在が他方の生物学的効果を変えるのに十分に近い時間で投与されることを意味する。2つの薬剤は、同時に（併用してまたは同時期に）または逐次的に、適用され得る。いくつかの実施形態による投与は、有効な治療のために必要に応じて、数分（例えば、1、5、10、30、60または90分以上）から数日（例えば、1、2、5、8または10日以上）の範囲の期間内であり得る。

【0036】

同時投与、併用投与、または同時期投与は、薬剤を投与の前に同じ組成物に混合することによって、または薬剤を、同じ時点ではあるが、身体もしくは臓器の異なる部位で、または異なる種類の投与を使用して投与することによって行われてもよく、あるいは、観察される結果が、薬剤が同じ時点で投与される場合に達成される結果と実質的に同じである十分に近い時に適用されてもよい。

【0037】

薬剤の逐次適用は、前の投与がその後の投与の効果を増強するように、一方の薬剤を、別の薬剤が投与される前の同じ時点で投与することによって行われてもよい。

【0038】

VEGFと組み合わせられてもよいSDF-1はまた、1つまたは複数の治療、例えば、脱水に対処するための輸液療法、閉塞を除去するための外科手術、感染症を治療するための抗生物質、高血圧を制御するためのアンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害剤、食餌制限（例えば、タンパク質、リン、カルシウムおよび/またはナトリウムが少ない食餌）および/またはサプリメント（例えば、リン結合剤、ビタミンDサプリメント）などと組み合わせて投与されてもよい。例えば、抗酸化剤、ミトコンドリア補助因子などのサプリメントが食品組成物中に提供されてもよい。例えば、Zickerらに対する米国特許第8,859,613号を参照のこと。

【実施例】

【0039】

本発明を以下の非限定的な実施例においてさらに詳細に説明する。

【0040】

[実施例1]

慢性腎臓疾患（CKD）は、推定ですべてのネコの1%から3%に影響を及ぼす。ネコ科動物のCKDの有病率は、年齢とともに増加し、15歳以上のネコの30%から50%程度がCKDを有しており、CKDの有病率は、増加していると思われる。

【0041】

ネコにおけるCKDについての治療は、大部分は対症療法的である。CKDの初期段階では、血清リン濃度を減少させる食餌の変更は、CKDの血清マーカーの回復に有効である（Polzinら、Dietary management of feline chronic renal failure. Where are we now? In what direction are we headed?、J Feline Med Surg、2000年、2巻、75～82頁）。疾患の進行につれて、アンジオテンシン変換酵素阻害剤およびカルシウムチャネル遮断剤が、タンパク尿を減少させ、全身および糸

10

20

30

40

50

球体内の血圧を正常化させるために使用される (Chakrabartiら、Clinical copathological variables predicting progression of azotemia in cats with chronic kidney disease、J Vet Intern Med、2012年、26巻、275~281頁; Kingら、Tolerability and efficacy of benazepril in cats with chronic kidney disease、J Vet Intern Med、2006年、20巻、1054~1064頁; Mizutaniら、Evaluation of the clinical efficacy of benazepril in the treatment of chronic renal insufficiency in cats、J Vet Intern Med、2006年、20巻、1074~1079頁; Jepsonら、Effect of control of systolic blood pressure on survival in cats with systemic hypertension、J Vet Intern Med、2007年、21巻、402~409頁)。CKDの後期段階では、治療は、腎機能の低下と関連する臨床徴候の制限に焦点を当てる傾向がある。これらの治療は、寿命を延ばし、より高いクオリティオブライフを提供することができるが、これらは、治癒を提供しない。

10

【0042】

ケモカインCXCL12(しばしば、ストロマ由来因子-1またはSDF-1と呼ばれる)は、受容体(CXCR4/CXCR7)メカニズムによって損傷部位への前駆細胞の細胞輸送およびホーミングをもたらし、損傷部位である場合に細胞生存を増強する(Nagasawa、CXC chemokine ligand 12(CXCL12) and its receptor CXCR4、J Mol Med(Berl)、(2014年)92巻(5号)、433~9頁; Lauら、Stromal cell-derived factor-1(SDF-1): homing factor for engineered regenerative medicine、Expert Opin Biol Ther.、(2011年)11巻(2号)、189~97頁; Herbergrら、Stromal cell-derived factor-1 mediate s cell survival through enhancing autophagy in bone marrow-derived mesenchymal stem cells、PLoS One、(2013年)8巻(3号)、e58207頁; Araら、Long-term hematopoietic stem cells require stromal cell-derived factor-1 for colonizing bone marrow during ontogeny、Immunity、(2003年)19巻(2号)、257~67頁; Zisaら、Intramuscular VEGF activates an SDF1-dependent progenitor cell cascade and an SDF1-independent muscle paracrine cascade for cardiac repair、Am J Physiol Heart Circ Physiol、(2011年)6巻、2422~243頁)。1つのグループが、CXCL12が、急性腎臓損傷のマウスモデルにおいて、骨髄細胞の腎臓への動員に関与していることを報告している。

20

30

40

【0043】

[方法]

CXCL12を、実験的に生じさせた慢性腎臓疾患を有するネコの腎臓に直接投与する。

【0044】

安全性および実現可能性の研究。この研究は、6匹の雌成ネコを用いる。3匹のネコは、左腎臓の背極に沿って互いに等距離(おそらく約1cmの間隔)で5箇所(それぞれ0.25ml)に注射する担体注射のみ(CXCL12なし)を受ける。これらの注射は、中腎皮質のレベルで行われる。他の3匹のネコは、合計で200ngのCXCL12で同

50

じ部位に注射する40ng/ヒト組換えCXCL12(担体溶液の生理食塩水に添加)を除いて同じ注射を受ける。注射は、超音波誘導され、中腎皮質に注射される。

【0045】

CBC、BUN、クレアチニン、尿検査、IDEXX製のSDMA試験キット(糸球体濾過機能および腎臓機能を試験するため)を注射の前に評価する。これは、標準GFR(濾過率)についての代替として使用し、標準GFR(濾過率)と高い相関性がある。これらの測定を、注射4週間後、次いで、再度4週間後に繰り返す。

【0046】

有効性の研究。この研究は、14匹の雌成ネコを含む。2匹は何もしない対照である。1)片側だけCKDを誘発/治療なし(n=4);2)CKDを誘発/担体を注射(n=4);および3)CKDを誘発/担体とCXCL12を注射(n=4)の3つの治療群がある。

10

【0047】

左腎臓への虚血/再灌流傷害の誘発。腎臓が安全性の研究のために上記に記載のようにして注射される場合に、血液および尿の評価を、損傷の4週間後および8週間後に繰り返す。血液および尿の分析を、注射の4週間後および8週間後に繰り返す。CBC、BUN、クレアチニン、尿検査、SDMA(糸球体濾過機能および腎臓機能を試験するため)を評価する。

【0048】

ネコにおけるCKDの作成。Schmiedtらによって発表された手順を使用する(Unilateral Renal Ischemia as a Model of Acute Kidney Injury and Renal Fibrosis in Cats, Vet Pathol., 2016年1月、53巻(1号)、87~101頁)。注射を、上記に記載のようにして、中腎皮質のレベルで行う。

20

【0049】

[実施例2]

SDF-1(4)、担体(4)、Txなし(4)、対照(1)の4群を試験した。CKDモデルを、上記に記載のようにして、ネコにおいて外科的に作成した(n=12)。200ngの合計投与量の後腹膜注射を、超音波誘導の下、左腎皮質へのそれぞれ66.7ngの3回の注射で、左腎臓(n=6)に行った。

30

【0050】

[結果]

【0051】

【表1】

表1:左腎臓対右腎臓の容積%の比較

群	容積%
損傷なし、対照(注射なし)	91.2%
損傷、担体(注射)	83.9%
損傷、SDF-1(注射)	99.6%
損傷、Txなし(注射なし)	101.9%

40

【0052】

50

【表 2】

表2:腎臓パラメーター:群毎の平均

	SDMA	クレアチニン	BUN	リン	USG	タンパク尿
CXCL12						
損傷8週間後(4)	16.75	1.20	25.75	6.13	1.047	0
tx8週間後(4)	16.00	1.30	25.75	5.15	1.047	0
担体						
損傷8週間後(4)	15.75	1.20	25.50	5.75	1.047	0
tx8週間後(4)	13.75	1.30	28.50	5.85	1.044	0
対照						
損傷8週間後(1)	13	1.4	23	5.5	1.050	0
tx8週間後(1)	11	1.3	25	5.3	1.052	0
Txなし						
損傷8週間後(4)	13.50	1.28	26.00	6.50	1.044	0
tx8週間後(4)	12.25	1.4	29.25	6.13	1.046	0

10

【0053】

【表 3】

表3:腎臓パラメーター:群毎の平均、異常値をマイナス

	SDMA	クレアチニン	BUN	リン	USG	タンパク尿
CXCL12						
損傷8週間後(3)	16.67	1.23	26.33	6.4	1.050	0
tx8週間後(3)	17	1.33	27	5.33	1.046	0
担体						
損傷8週間後(3)	16.33	1.27	26.67	6.03	1.047	0
tx8週間後(3)	12.67	1.37	29	5.73	1.045	0
対照						
損傷8週間後(1)	13	1.4	23	5.5	1.050	0
tx8週間後(1)	11	1.3	25	5.3	1.052	0
Txなし						
損傷8週間後(3)	12.33	1.13	24.33	6.47	1.048	0
tx8週間後(3)	12.33	1.37	26.67	6.07	1.046	0

30

【0054】

[結論]

腎臓の容積、ならびに血液および尿の尺度に対するCXCL12の有益な効果があった。しかしながら、コラーゲンを含有する担体の注射（国際公開第2015/171417号を参照のこと）は、いくらかの腎臓の病理を引き起こす場合があり、および/またはこれらの尺度のいくらかの有害な変化を引き起こす場合がある。図1Aから図1Dに示す組織学的分析は、損傷が、腎臓の皮質 - 髄質、線維症および細胞損傷をもたらし、SDF-1 (CXCL12) が、より正常な皮質 - 髄質構造を回復することを証拠付ける。結果は有望であるが、少数の動物の試験であるため、今のところ統計学的有意性はない。

40

【0055】

先述は、本発明を例証するものであり、本発明を限定するものとして解釈されるべきで

50

はない。本発明は以下の特許請求の範囲によって定義され、特許請求の範囲の均等物は本発明に含まれる。

【図面】

【図 1 A】

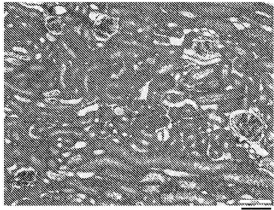


FIG. 1A 100 μm

【図 1 B】

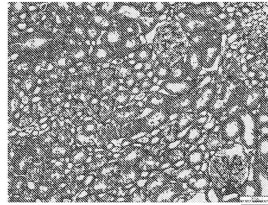


FIG. 1B 100 μm

10

【図 1 C】

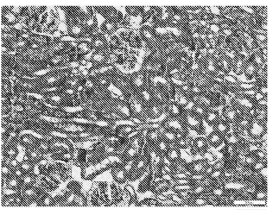


FIG. 1C 100 μm

【図 1 D】

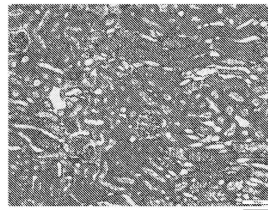


FIG. 1D 100 μm

20

30

40

50

フロントページの続き

米国(US)
レイン 559

合議体

審判長 松波 由美子

審判官 吉田 佳代子

審判官 田村 直寛

- (56)参考文献 国際公開第2009/60608(WO, A1)
特表2013-503202号公報(JP, A)
米国特許出願公開第2011/97379(US, A1)
国際公開第2015/171417(WO, A1)
Nephrology Dialysis Transplantation, 2009, 発行日, 24(7), 2082-2088
PLOS ONE, 2014, 発行日, 9(3), e92227
J. Vet. Med. Sci., 日本, 2015, 発行日, Vol. 77, No. 3, p. 313 -
319
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
A61K38/00
CaPlus / BIOSIS / MEDLINE / EMBASE (STN)