

(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2006-508128

(P2006-508128A)

(43) 公表日 平成18年3月9日(2006.3.9)

(51) Int.C1.

A 61 K 31/65 (2006.01)
A 61 P 11/00 (2006.01)

F 1

A 61 K 31/65
A 61 P 11/00

テーマコード(参考)

4 C 0 8 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 32 頁)

(21) 出願番号 特願2004-551865 (P2004-551865)
 (86) (22) 出願日 平成15年11月7日 (2003.11.7)
 (85) 翻訳文提出日 平成17年5月9日 (2005.5.9)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2003/035531
 (87) 國際公開番号 WO2004/043228
 (87) 國際公開日 平成16年5月27日 (2004.5.27)
 (31) 優先権主張番号 10/291,194
 (32) 優先日 平成14年11月9日 (2002.11.9)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 500312838
 ザ リサーチ ファウンデーション オブ
 ステイト ユニヴァーシティ オブ ニ
 ューヨーク
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 122
 01-0009 アルバニ ピーオーボッ
 クス 9
 (74) 代理人 100082005
 弁理士 熊倉 穎男
 (74) 代理人 100084009
 弁理士 小川 信夫
 (74) 代理人 100084663
 弁理士 箱田 篤
 (74) 代理人 100093300
 弁理士 浅井 賢治

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】敗血症-誘発型A R D S の治療方法

(57) 【要約】

本発明は、敗血症-誘発型A R D S の予防が必要な哺乳類の該A R D S の予防方法であつて、前記哺乳類に、敗血症-誘発型A R D S の予防に有効であるが、実質的に抗生物質活性のない量でテトラサイクリン化合物を投与することを含む方法である。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

敗血症-誘発型 A R D S の予防が必要な哺乳類の該 A R D S の予防方法であって、前記哺乳類に、敗血症-誘発型 A R D S の予防に有効であるが、実質的に抗生物質活性のない量でテトラサイクリン化合物を投与することを含む方法。

【請求項 2】

前記テトラサイクリン化合物が、抗生物質量の 10 ~ 80 % の量で投与される抗生物質テトラサイクリン化合物である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記テトラサイクリン化合物が、約 20 mg の用量で 1 日 2 回投与されるドキシサイクリンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記テトラサイクリン化合物が、約 38 mg の用量で 1 日 1 回投与されるミノサイクリンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記テトラサイクリン化合物が、約 38 mg の用量で 1 日 2 回投与されるミノサイクリンである、請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】

前記テトラサイクリン化合物が、約 38 mg の用量で 1 日 3 回投与されるミノサイクリンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記テトラサイクリン化合物が、約 38 mg の用量で 1 日 4 回投与されるミノサイクリンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記テトラサイクリン化合物が、約 60 mg/日の用量で 1 日 1 回投与されるテトラサイクリンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記テトラサイクリン化合物が、約 60 mg/日の用量で 1 日 2 回投与されるテトラサイクリンである、請求項 1 記載の方法。

【請求項 10】

前記テトラサイクリン化合物が、約 60 mg/日の用量で 1 日 3 回投与されるテトラサイクリンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記テトラサイクリン化合物が、約 60 mg/日の用量で 1 日 4 回投与されるテトラサイクリンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記テトラサイクリン化合物が、結果として最少抗生物質血清濃度の約 10 ~ 80 % である血清濃度になる量で投与される抗生物質テトラサイクリン化合物である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記テトラサイクリン化合物が、結果として約 1.0 μ g/ml の血清濃度になる量で投与されるドキシサイクリンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

前記テトラサイクリン化合物が、結果として約 0.8 μ g/ml の血清濃度になる量で投与されるミノサイクリンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】

前記テトラサイクリン化合物が、結果として約 0.5 μ g/ml の血清濃度になる量で投与されるテトラサイクリンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 16】

前記抗生物質テトラサイクリン化合物が、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、テトラ

10

20

30

40

50

サイクリン、オキシテトラサイクリン、クロロテトラサイクリン、デメクロサイクリン又はその薬学的に許容しうる塩である、請求項 2 又は 12 に記載の方法。

【請求項 17】

前記抗生物質テトラサイクリン化合物がドキシサイクリンである、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記ドキシサイクリンが、約 0.1 ~ 約 0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲の血清濃度を与える量で投与される、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記ドキシサイクリンが 1 日 2 回 20 mg の量で投与される、請求項 17 に記載の方法。 10

【請求項 20】

前記ドキシサイクリンが、24 時間にわたって徐放投与される、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 21】

前記ドキシサイクリンが 40 mg の量で投与される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記テトラサイクリン化合物が非抗生物質テトラサイクリン化合物である、請求項 1 に記載の方法。 20

【請求項 23】

前記非抗生物質テトラサイクリン化合物が、
4-デ(ジメチルアミノ)テトラサイクリン(CMT-1)、
テトラサイクリノニトリル(CMT-2)、
6-デメチル-6-デオキシ-4-デ(ジメチルアミノ)テトラサイクリン(CMT-3)、
4-デ(ジメチルアミノ)-7-クロロテトラサイクリン(CMT-4)、
テトラサイクリンピラゾール(CMT-5)、
4-ヒドロキシ-4-デ(ジメチルアミノ)テトラサイクリン(CMT-6)、
4-デ(ジメチルアミノ)-12-デオキシテトラサイクリン(CMT-7)、
6-デオキシ-5-ヒドロキシ-4-デ(ジメチルアミノ)テトラサイクリン(CMT-8)、
4-デ(ジメチルアミノ)-12-デオキシアンヒドロテトラサイクリン(CMT-9)、又は
4-デ(ジメチルアミノ)ミノサイクリン(CMT-10) 30

である、請求項 22 に記載の方法。

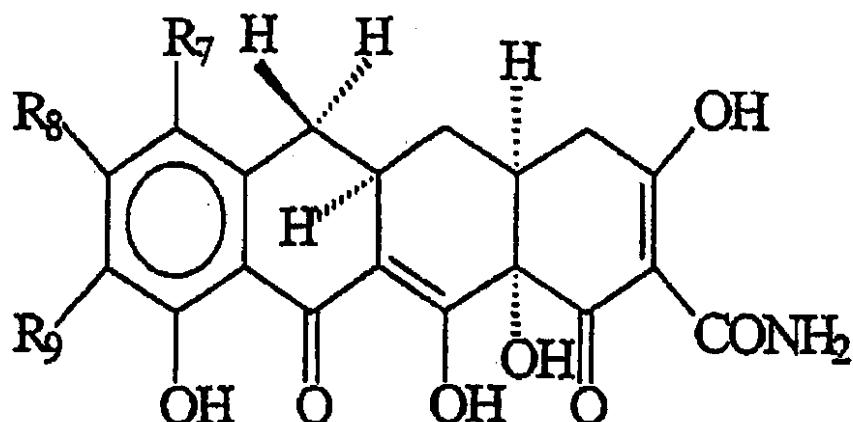
【請求項 24】

前記テトラサイクリン化合物が、ドキシサイクリンの光刺激係数より低い光刺激係数を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 25】

前記テトラサイクリン化合物が下記一般式を有する、請求項 24 に記載の方法。

【化1】



10

構造 K

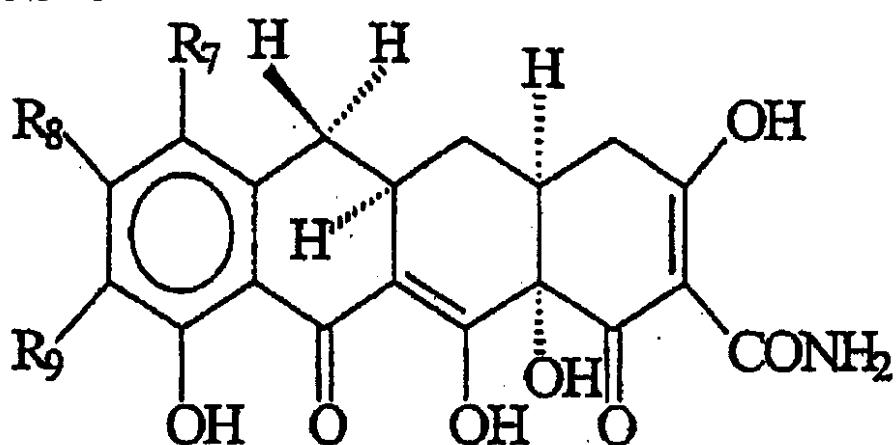
(式中、R₇、R₈、及びR₉は、ひとまとめにしてそれぞれ水素、水素及びジメチルアミノである。)

【請求項 2 6】

前記テトラサイクリン化合物が、以下の化合物：

20

【化2】



30

構造 K

(式中、R₇、R₈、及びR₉は、各場合ひとまとめにして以下の意味を有する。

R₇

水素

水素

及び

R₈

水素

水素

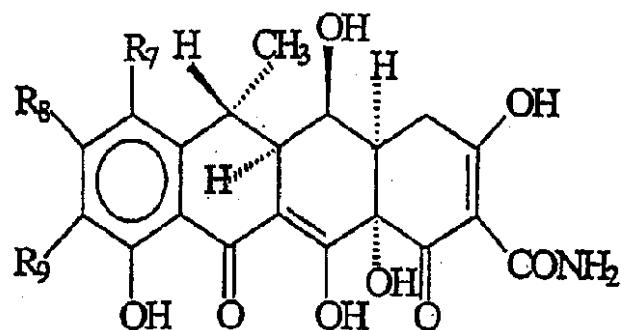
R₉

アミノ

パルミトアミド)；

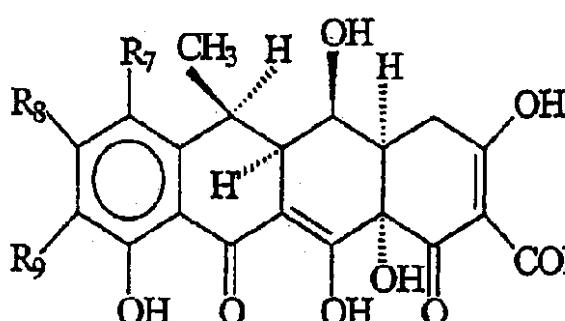
40

【化3】

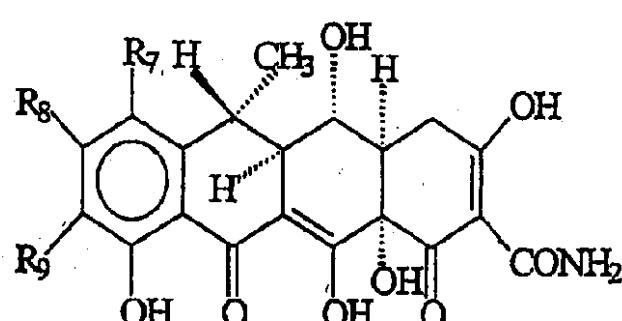


10

構造 L

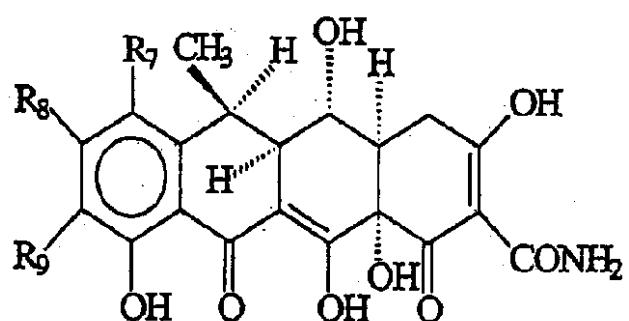


構造 M



構造 N

20



構造 O

30

(式中: R₇、R₈、及びR₉は、各場合ひとまとめにして以下の意味を有する。R₇

水素

水素

水素

水素

R₈

水素

水素

水素

水素

R₉

アセトアミド

ジメチルアミノアセトアミド

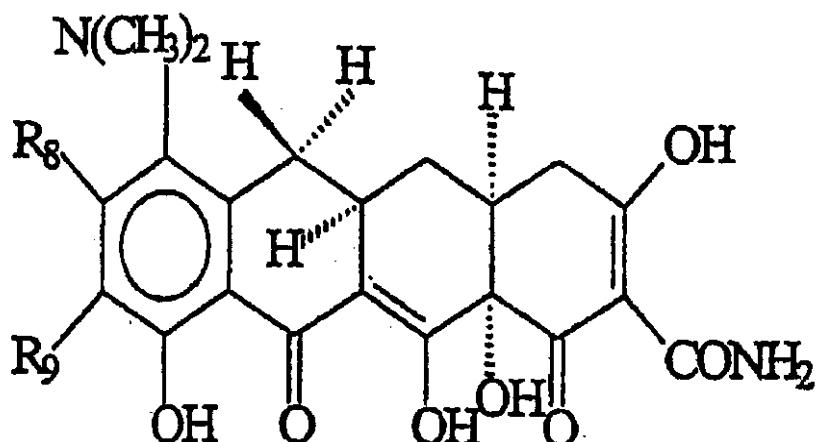
ニトロ

アミノ) ;

40

及び

【化4】



10

構造 P

(式中: R₈及びR₉は、ひとまとめにしてそれぞれ水素及びニトロである。) ;
から成る群より選択される、請求項24に記載の方法。

【請求項27】

前記テトラサイクリン化合物が全身投与される、請求項1に記載の方法。

20

【請求項28】

前記全身投与が、経口投与、静脈内注射、筋肉内注射、皮下投与、経皮投与又は鼻腔内投与である、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

毒ガスの吸入によって誘起されるARDSの予防が必要な哺乳類の該ARDSの予防方法であって、前記哺乳類に、毒ガスの吸入によって誘起されるARDSの予防に有効であるが、実質的に抗生物質活性のない量でテトラサイクリン化合物を投与することを含む方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

この発明は、以下の助成: 囊胞性線維症基金(Cystic Fibrosis Foundation)によって与えられたDR14817; 及び国立保健研究所(National Institutes of Health)によって与えられたR41HL65030-01、DE03987及びDE10985の援助を受けた。

【背景技術】

【0002】

(発明の背景)

急性呼吸不全症候群(ARDS)は、浸透性肺水腫及び呼吸不全につながる急性肺損傷を特徴とする危機的病気である。危機ケア管理の有意な進歩にもかかわらず、ARDS由来の死亡率は依然として40~60%である。米国では毎年100,000人を超える人がARDSの合併症で死亡する。現在の治療は、例えば、機械換気による呼吸器系の補助が優勢である。

一般に、ARDSの進行は2期: イニシエーター段階とその後のエフェクター段階に分けることができる。ARDSのイニシエーター期は、炎症媒介物質(すなわち、サイトカイン; 補体及び凝固因子; 及びアラキドン酸代謝物)の放出を含み、これらが全身性炎症を促し、肺の好中球隔離という結果になる。第2段階、すなわちエフェクター期は、引き続く毒性酸素ラジカルとタンパク質分解酵素、特に好中球エラスター(NE)の放出による好中球の活性化を含む。好中球エラスターは、肺の内皮細胞を損傷し、かつエラスチン、コラーゲン、及び肺の基底膜を構成するフィブロネクチンのような細胞外マトリックスの産物を分解する能力を有する。

40

【0003】

50

異なる病因と過程を有する多種多様な型のARDSが存在するが、これら多種多様な型の最終段階の病状は同じである。異なる型のARDSを誘起しうる臨床事象の例として、外傷、出血、びまん性肺炎、毒ガスの吸入、及び敗血症が挙げられる。これら各型のARDSはそのキネティクスと進行に差がある。例えば、イニシエーター及びエフェクター段階のタイミングが異なり；或いは種々の炎症媒介物質又は好中球のレベルが異なりうる。異なる型のARDSは異なる治療戦略を必要とする。

例えば、外傷-誘発型ARDSでは、内皮、上皮又は内臓に対する損傷が該損傷部位で好中球を活性化する。次にこれら好中球が肺内領域で隔離し、さらに活性化される。この型のARDSの予防方法は米国特許第5,877,091号に開示されている。この方法では、好中球の有意な肺内蓄積前にテトラサイクリン化合物を投与する。

10

最も臨床的に重大なARDSの型の1つの例は、敗血症-誘発型ARDSである。敗血症は体の感染に対する圧倒的な全身反応である。細菌、真菌及びウイルスを含むいずれの生きた微生物も感染源でありうる。敗血症の過程が進行するにつれてARDSが誘発されうる。

【0004】

別の型のARDSである内毒素-誘発型ARDSは、臨床的にまれに見られる。この型のARDSでは、内毒素、すなわちリポ多糖類(LPS)が高速で体内に放出される。LPS源は、分裂したグラム陰性細菌である。

LPSは、敗血症に似た症候群、すなわち内毒血症を誘発する。LPSが好中球を活性化し、引き続き肺内に隔離してARDSが起こる。内毒素-誘発型ARDSを誘起しうる珍しい臨床シナリオの1つは、グラム陰性細菌感染症を抗生物質で治療した患者に関与する。抗生物質が細菌を破壊し、ひいては内毒素を体内に放出させる。

20

内毒素-誘発型ARDSを模写した実験動物モデル(“LPSモデル”)は多くの研究者に利用されている。これらモデルは動物内へのLPSの注入を含む。

例えば、中外製薬の日本国特許出願第W095/03057号はマウス中へのLPSの注射を含む。このモデルは内毒素によって引き起こされる状態、すなわちARDSを模写すると述べられている。中外によって開示されているこのような状態の治療は、活性成分としてテトラサイクリン又はその誘導体を含む内毒素中和剤である。

【0005】

また、Sakamakiら、Effect of a Specific Neutrophil Elastase Inhibitor, ONO-5046, on Endotoxin-Induced Acute Lung Injury, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 153, 391-397(1996)は、LPSによって誘発される急性肺損傷のモルモットモデルを開示している。著者は、好中球-エラスターーゼインヒビター、N-[2-[4-(2,2-ジメチルプロピオニルオキシ)-フェニルスルホニルアミノ]ベンゾイル]アミノ酢酸(ONO-5046)が好中球エラスターーゼ活性を阻害すると報告している。

30

最近、LPSモデルを用いて特定タイプの免疫療法薬を評価した。これら免疫療法薬は、敗血症及びARDSのイニシエーター期に関与する特有のサイトカインの活性を遮断する。このLPSモデルに用いた動物は劇的によく反応した。この成功した免疫療法薬を臨床環境に移して敗血症及び敗血症-誘発型ARDSを患う患者を治療した。しかし、前臨床の成功にもかかわらず、ヒト臨床試験は患者の生存率に何らの改善も示さなかった。

【0006】

Remickらは、LPSで誘発される症候群は、無傷細菌で誘発される臨床的に関連する敗血症とは実質的に異なると想定した(Shock 13(2):110-6 (2000))。彼らは、LPSモデルから生じる死亡率、罹患率、及び免疫病理を盲腸連結及び穿刺モデル(cecal ligation and puncture model)(“CLPモデル”)の結果と直接比較した。全身に内毒素を導入するだけのLPSモデルと異なり、CLPモデルは無傷細菌を導入する。Remickらは、結果としてLPSモデルとCLPモデルは同様の死亡率レベルとなるが、これらモデルはそのキネティクスとサイトカイン生産に有意な差があることを観察した。彼らは、LPSモデルはサイトカインプロフィルのような臨床的に関連する敗血症の複雑な病理を十分には再生しないと結論した。必然的に、LPS注入の結果として起こるARDSは、無傷細菌の投与の結果として起こるARDSとは異なる。

40

50

【0007】

このように、内毒素-誘発型ARDSは、臨床的に関連する敗血症-誘発型ARDSとは病因と免疫病理の両方で実質的に差がある。従って、内毒素-誘発型ARDS、特にARDSのLPSモデルは、臨床的に関連する敗血症-誘発型ARDSについて何も熟練家に教示しない。特に、好中球エラスターーゼと内毒素インヒビターが内毒素-誘発型ARDSの治療に有用であるという教示は、熟練家に敗血症-誘発型ARDSの治疗方法を教示しなかった。これらインヒビターが敗血症-誘発型ARDSの治療に有用であるかどうかは予言できなかったはずである。

上で議論したARDSの先行術の治療は不十分である。敗血症によって誘発されるARDSは、依然として米国内で集中治療室における死亡の通常の原因であり、その発生率は上昇している。この増加は、おそらく侵襲性デバイスの使用増、多数の免疫無防備状態患者、及び上昇する抗生物質耐性によると考えられる。従って、臨床的に関連する敗血症-誘発型ARDSの効率的な治療に対する差し迫った要望がある。

10

20

30

40

【発明の開示】

【0008】

(発明の概要)

本発明は、敗血症-誘発型ARDSの予防が必要な哺乳類の敗血症-誘発型ARDSの予防方法を提供する。本方法は、哺乳類に、敗血症-誘発型ARDSの予防に有効であるが、実質的に抗生物質活性のない量でテトラサイクリン化合物を投与することを含む。

【0009】

(発明の詳細な説明)

本発明は、哺乳類の敗血症-誘発型急性呼吸不全症候群、すなわち敗血症-誘発型ARDSの予防方法を提供する。本発明で使用する場合、“敗血症-誘発型ARDS”は臨床的に関連する敗血症によって誘起されたARDSである。

敗血症は、血液の感染に対する圧倒的な全身反応である。臨床的に関連する敗血症は、感染源が細菌、真菌及びウイルスを含むいずれかの生きた無傷の微生物である。臨床的に関連する敗血症は、内毒素だけの投与では体内で複製しえない。敗血症の過程が特定点に進行すると、ARDSが生じる。

ARDSは、肺の進行性機能不全の急速な発症である。この状態は広範囲な肺炎と肺胞内の流体の蓄積を伴い、酸素を摂取する肺の能力をなくすことになる。ARDSは、急性呼吸不全症候群とも呼ばれる。

【0010】

本発明で規定される治療から利益を受けうる哺乳類はいずれの哺乳類でもよい。哺乳類の分類として、ヒト、農場哺乳類、家庭哺乳類、実験室哺乳類などが挙げられる。農場哺乳類のいくつかの例として、ウシ、ブタ、ウマ、ヤギ等が挙げられる。家庭哺乳類のいくつかの例としてイヌ、ネコ等が挙げられる。実験室哺乳類のいくつかの例として、ラット、マウス、ウサギ、モルモット等が挙げられる。

本明細書において、テトラサイクリンが肺損傷の有意な阻害につながる場合、敗血症-誘発型ARDSを予防するとみなされる。治療の結果として、患者はいかなる肺損傷をも持続せず、或いは治療しない場合より肺損傷の持続を有意に低減するろう。他言すれば、治療の結果として患者の医療状態が改善されるだろう。

【0011】

本発明の方法は、ARDSの発症前のいずれかのときの本発明のテトラサイクリン化合物の投与を含む。この明細書において、哺乳類のARDSの発症は、肺動脈楔入圧が正常範囲内でありながら3つの特有の肺における現象が同時に起こるときである。この3つの肺における現象とは、i) PaO_2/FiO_2 比の有意な低下；ii) 有意な両側の間質性肺浸潤；及びiii) ARDSの臨床徴候の発生である。

PaO_2 は、動脈血の血漿相内の酸素の部分圧である。 FiO_2 は、吸酸素のフラクションである。有意に低い PaO_2/FiO_2 比は、約300未満、又は約250未満の値である。

有意な両側の間質性肺浸潤は胸部X線で見ることができる。当業者は浸潤が重大であるとみなすべきかを決定することができる。

50

ARDSの臨床徵候として、不應低酸素血症及び不十分な呼吸コンプライアンスが挙げられる。

【0012】

肺動脈楔入圧は、約18mmHg未満、約16mmHg未満、14mmHg未満、又は約12mmHg未満の正常範囲内とみなされる。

好ましくは、全身性炎症反応症候群(SIRS)の発症後かつARDSの発症前にテトラサイクリン化合物を投与する。SIRSは全身性炎症反応である。以下の徵候の1つ以上が現れた場合にSIRSの発症が起こったみなされる：(i) 温度 > 38 又は < 36 ；(ii) 心拍数 > 90 拍動/分；(iii) 呼吸数 > 20 呼吸/分又は $\text{PaCO}_2 < 32 \text{ mmHg}$ ；及び(iv) WBC数 $> 12,000/\text{mm}^3$ 又は $< 4000/\text{mm}^3$ 。好ましくは、SIRSの最初の出現時にテトラサイクリン化合物を投与する。

10

本発明に従って哺乳類に投与するテトラサイクリン化合物の量は、その目的に有効な量、すなわち敗血症-誘発型ARDSを予防するが、実質的に抗生物質活性のない量である。

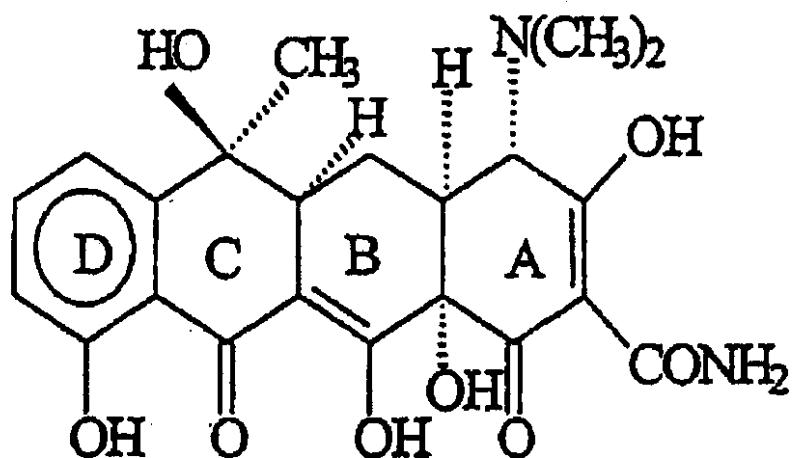
【0013】

テトラサイクリン化合物は、抗生物質化合物又は非抗生物質化合物でよい。テトラサイクリン類は、テトラサイクリンが親化合物である分類の化合物である。テトラサイクリンは以下の一般構造を有する。

20

【0014】

【化1】



30

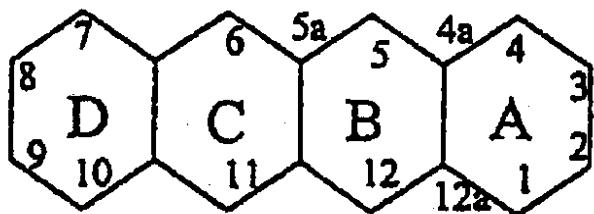
構造 A

40

複数の環核のナンバリングシステムは以下のとおりである。

【0015】

【化2】



構造 B

10

【0016】

テトラサイクリン、並びに5-ヒドロキシ(オキシテトラサイクリン、例えばテラマイシン)及び7-クロロ(クロロテトラサイクリン、例えばオーレオマイシン)誘導体は天然に存在し、すべて周知の抗生物質である。7-ジメチルアミノテトラサイクリン(ミノサイクリン)及び6-デオキシ5-ヒドロキシテトラサイクリン(ドキシサイクリン)のような半合成誘導体も周知なテトラサイクリン抗生物質である。天然のテトラサイクリンは、その抗生物質特性を損なわずに修飾しうるが、そうするためには、その構造の特定要素を保持しなければならない。

【0017】

20

抗生物質(すなわち抗菌性)テトラサイクリン化合物のいくつかの例として、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、クロロテトラサイクリン、デメクロサイクリン(demeclocycline)、ライムサイクリン(lymecycline)及びその薬学的に許容しうる塩が挙げられる。ドキシサイクリンは、好ましくはそのヒクラート(hyclate)塩又は水和物、好ましくは一水和物として投与される。

非抗生物質テトラサイクリン化合物は、抗生物質テトラサイクリンに構造的に関連するが、その有していた抗生物質活性が化学修飾によって実質的又は完全に除去されている。例えば、非抗生物質テトラサイクリン化合物は、それぞれテトラサイクリン又はドキシサイクリンの少なくとも約10倍、好ましくは少なくとも約25倍高い濃度でテトラサイクリン又はドキシサイクリンの抗生物質活性に匹敵する抗生物質活性を達成することができる。

【0018】

30

化学修飾した非抗生物質テトラサイクリン(CMTs)の例として、4-デ(ジメチルアミノ)テトラサイクリン(CMT-1)、テトラサイクリノニトリル(CMT-2)、6-デメチル-6-デオキシ-4-デ(ジメチルアミノ)テトラサイクリン(CMT-3)、7-クロロ-4-デ(ジメチルアミノ)テトラサイクリン(CMT-4)、テトラサイクリンピラゾール(CMT-5)、4-ヒドロキシ-4-デ(ジメチルアミノ)テトラサイクリン(CMT-6)、4-デ(ジメチルアミノ)-12-デオキシテトラサイクリン(CMT-7)、6-デオキシ-5-ヒドロキシ-4-デ(ジメチルアミノ)テトラサイクリン(CMT-8)、4-デ(ジメチルアミノ)-12-デオキシアンヒドロテトラサイクリン(CMT-9)、4-デ(ジメチルアミノ)ミノサイクリン(CMT-10)が挙げられる。

【0019】

40

本発明の目的のテトラサイクリン誘導体は、2000年5月18日提出の同時係属米国特許出願第09/573,654号及び2002年10月18日提出の第10/274,841号(参照によって本明細書に取り込まれる)に一般的又は具体的に開示されている当該化合物を含むいずれのテトラサイクリン誘導体でもよい。

ヒトに投与するテトラサイクリン化合物の最少量は、敗血症-誘発型ARDSの有効な治療を与えることのできる最も少ない量である。有効な治療はARDSの予防又は阻害である。テトラサイクリン化合物の量は、微生物、例えば細菌の増殖を有意には妨げないような量である。

テトラサイクリン化合物の投与量について述べる2つの方法があり、1日の用量と血清レベルである。

50

【0020】

有意な抗生物質活性を有するテトラサイクリン化合物は、例えば、その抗生物質用量の10~80%の用量（1日の用量又は血清レベルのどちらかで測定した）で投与することができる。さらに好ましくは抗生物質テトラサイクリン化合物は、その抗生物質用量の40~70%の用量で投与される。

抗生物質の1日の用量は技術的に周知である。テトラサイクリンファミリーのメンバーの抗生物質用量のいくつかの例として50、75、100、及び200mg/日のミノサイクリン；250mgのテトラサイクリン1日に1、2、3、又は4回；1000mg/日のオキシテトラサイクリン；600mg/日のデメクロサイクリン；及び600mg/日のライムサイクリンが挙げられる。

【0021】

定常状態の薬物速度論に基づいたテトラサイクリンの最大の非抗生物質用量の例は以下の通りである：ドキシサイクリンでは20mg/1日2回；38mgのミノサイクリン1日1、2、3又は4回；及び60mgのテトラサイクリン1日1、2、3又は4回。

好ましい実施形態では、約30~約60mgの1日量でドキシサイクリンを投与するが、有意な抗生物質効果の閾値未満のヒト血漿内濃度を維持する。

特に好ましい実施形態では、ドキシサイクリンヒクラートを1日2回20mg用量で投与する。このような製剤は、Newtown, PennsylvaniaのCollaGenex Pharmaceuticals, Inc.によって商標名Periostat(登録商標)で歯周病の治療用に販売されている。

【0022】

血清レベルで示されるテトラサイクリン化合物の投与量は以下のとおりである。

テトラサイクリンファミリーの近似的な抗生物質血清濃度のいくつかの例は次のとおりである。成人に投与した2個の100mgミノサイクリンHCl錠剤の単用量は、結果として1時間にわたって約0.74~4.45μg/mlの範囲の血清レベルとなる。平均レベルは2.24μg/mlである。

24時間にわたって6時間毎に投与した250mgのテトラサイクリンHClは、約3μg/mlのピーク血漿濃度をもたらす。24時間にわたって6時間毎に投与した500mgのテトラサイクリンHClは、約4~5μg/mlの血清濃度レベルをもたらす。

【0023】

一実施形態では、結果として約0.1~10.0μg/ml、さらに好ましい10.3~5.0μg/mlの血清濃度になる量でテトラサイクリン化合物を投与することができる。例えば、ドキシサイクリンは、結果として約0.1~0.8μg/ml、さらに好ましくは0.4~0.7μg/mlの血清濃度になる量で投与される。

定常状態の薬物速度論に基づいたテトラサイクリンの血漿抗生物質閾値レベルのいくつかの例は以下のとおりである：ドキシサイクリンでは1.0μg/ml；ミノサイクリンでは0.8μg/ml；及びテトラサイクリンでは0.5μg/ml。

【0024】

非抗生物質テトラサイクリン化合物は、微生物の無差別な死滅、及び微生物耐性の発生を回避しながら、抗生物質テトラサイクリンより高量で使用することができる。例えば、6-デメチル-6デオキシ-4デ(ジメチルアミノ)テトラサイクリン(CMT3)は、約40~約200mg/日の用量、又は結果として約1.55μg/ml~約10μg/mlの量になる用量で投与しうる。

【0025】

特有ケースでのテトラサイクリン化合物の実際の好ましい量は、調製される特定の組成物、適用の態様、適用の特定部位、及び治療する被験者（例えば、年齢、性、サイズ、薬物に対する耐性など）によって変わる。

【0026】

テトラサイクリン化合物は、該化合物の薬学的に許容しうる塩の形態でよい。用語“薬学的に許容しうる塩”は、テトラサイクリン化合物と薬学的に許容しうる無毒の酸又は塩基から調製される塩を意味する。酸はテトラサイクリン化合物の無機又は有機酸でよい。無機酸の例として、塩酸、臭化水素酸、硝酸、ヨウ化水素酸、硫酸、及びリン酸が挙げられる。有機酸の例として、カルボン酸及びスルホン酸が挙げられる。有機酸の遊離基は脂

10

20

30

40

50

肪族又は芳香族でよい。有機酸のいくつかの例として、ギ酸、酢酸、フェニル酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、グルクロン酸、マレイン酸、フロ酸、グルタミン酸、安息香酸、アントラニル酸、サリチル酸、フェニル酢酸、マンデル酸、エンボン(embonic)(パモン(pamoic))酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、パンテノン(panthenoic)酸、ベンゼンスルホン酸、ステアリン酸、スルファンイル酸、アルギン酸、酒石酸、クエン酸、グルコン酸、グロン酸、アリールスルホン酸、及びガラクトロン酸が挙げられる。適切な有機塩基は、例えば、N,N-ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、メグルミン(N-メチルグルカミン)、及びプロカインから選択しうる。

【0027】

10

上述したテトラサイクリン化合物、特にドキシサイクリンとミノサイクリンは、実質的に抗生素質活性がない用量で投与したとき、予想外にもARDSの予防に有効である。

好ましくは、テトラサイクリン化合物は低い光毒性を有し、或いは結果として光毒性が許容しうる血清レベルとなる量で投与する。光毒性は化学的に誘発される感光性である。このような光毒性は、光、特に紫外線に露出すると皮膚感受性損傷、例えば日焼け、水疱、加速老化、紅斑及び湿疹様傷害を与える。好ましい量のテトラサイクリン化合物は、1日の総用量40mgのドキシサイクリンの投与によって引き起こされるより多くは光毒性を生じさせない。

【0028】

20

低い光毒性を有するいくつかの抗生素質テトラサイクリンとして、例えば、ミノサイクリン及びテトラサイクリンが挙げられる。

低い光毒性を有するいくつかの非抗生素質テトラサイクリンとして、限定するものではないが、下記一般式を有するテトラサイクリン化合物が挙げられる。

【0029】

30

構造K

式中：R₇、R₈、及びR₉は、各場合ひとまとめにして以下の意味を有する。

R ₇	R ₈	R ₉
水素	水素	アミノ
水素	水素	パルミトアミド
水素	水素	ジメチルアミノ
構造L	構造M	
構造N	構造O	

式中：R₇、R₈、及びR₉は、各場合ひとまとめにして以下の意味を有する。

R ₇	R ₈	R ₉
水素	水素	アセトアミド
水素	水素	ジメチルアミノアセトアミド
水素	水素	ニトロ
水素	水素	アミノ

及び

構造P

40

式中：R₈及びR₉は、ひとまとめにしてそれぞれ水素及びニトロである。

【0030】

テトラサイクリン化合物は、例えば全身投与することができる。本明細書において、“全身投与”は、血流中に該化合物を吸収させる方法でヒトに投与することを意味する。

例えば、テトラサイクリン化合物は技術的に周知のいずれかの方法で経口投与することができる。例えば、錠剤、カプセル剤、丸剤、トローチ剤、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤、オブラート、チューブインガム等によって経口投与することができる。

【0031】

さらに、テトラサイクリン化合物は、経腸的又は非経口的、例えば静脈内；筋肉内；注射用溶液又は懸濁液として皮下；腹腔内；又は直腸投与することができる。例えば、鼻腔

50

内スプレーの形態で鼻腔内；又は例えばパッチの形態で経皮投与することもできる。

上述した医薬目的では、本発明のテトラサイクリン化合物は、それ自体、任意に当該技術の熟練家は了解しているような適切な製薬担体（媒体）又は賦形剤と共に、医薬組成物に調製することができる。これら調製は、通常の化学的方法によって行うことができる。

【0032】

経口用の錠剤の場合、普通に使用される担体として、ラクトース及びコーンスターTMが挙げられ、また通常ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤を添加する。カプセル形態の経口投与では、有用な担体としてラクトース及びコーンスターTMが挙げられる。担体及び賦形剤のさらなる例として、ミルク、糖、特定タイプの粘土、ゼラチン、ステアリン酸又はその塩、ステアリン酸カルシウム、タルク、植物性脂肪又は油、ゴム及びグリコールが挙げられる。

【0033】

水性懸濁液を経口投与に使用する場合、通常、乳化剤及び／又は懸濁剤を加える。さらに、経口組成物に甘味剤及び／又は調味剤を添加することができる。

筋肉内、腹腔内、皮下及び静脈内用では、テトラサイクリン化合物の無菌溶液を利用し、溶液のpHを適宜調整して緩衝化することができる。静脈内用では、溶質の総濃度を調節して製剤に等張性を与えることができる。

本発明のテトラサイクリン化合物は、さらに、ミョウバン、安定剤、緩衝剤、着色剤、調味剤などのような1種以上の薬学的に許容しうる添加成分を含むことができる。

【0034】

テトラサイクリン化合物を間欠的に投与することもできる。例えば、1日に1～6回、好ましくは1日に1～4回テトラサイクリン化合物を投与しうる。

代わりに、テトラサイクリン化合物を徐放投与することができる。徐放投与は、特定の期間にわたって該薬物の特定レベルを達成するための薬物送達方法である。レベルは、通常血清濃度で測定する。徐放によってテトラサイクリン化合物を送達する方法のさらなる詳細は、表題“テトラサイクリンとテトラサイクリン誘導体の制御送達”で2001年4月5日に提出され、Newtown, PennsylvaniaのCollaGenex Pharmaceuticals, Inc.に譲渡されている特許出願で見いだすことができる。上記出願は、参照によってその全体が本明細書に取り込まれる。例えば、40mgのドキシサイクリンを24時間にわたる徐放によって投与することができる。

【0035】

テトラサイクリン化合物は、技術的に周知の方法で調製される。例えば、天然のテトラサイクリンは、該構造の特定要素は保持しなければならないが、その抗生物質特性を損なうことなく修飾することができる。基本のテトラサイクリン構造に生じさせうる修飾又は生じさせえない修飾は、Mitscherによって、The Chemistry of Tetracyclines, Chapter 6, Marcel Dekker, Publishers, New York (1978)で精査されている。Mitscherによれば、テトラサイクリン環系の5～9位の置換基は、抗生物質特性の完全損失なしで修飾することができる。しかし、基本の環系に対する変化又は1～4及び1～12位の置換基の置換は、通常、実質的に抗生物質活性が低いか又は有効な抗生物質活性がない合成テトラサイクリンをもたらす。

テトラサイクリン化合物を調製するさらなる方法は、2000年3月18日に提出した同時係属米国特許出願第09/573,654号及び2002年10月18日に提出した第10/274,841号で一般的又は具体的に開示した実施例に記載されている（両出願は参照によって本明細書に取り込まれる）。

【0036】

さらなる実施形態では、本発明は毒ガスの吸入によって誘起されるARDSを予防する方法を提供する。この形態のARDSは微生物によっては誘発されない。毒ガスは、例えば喫煙、工業煙及び汚染物質を含むいずれのタイプの有毒ガスでもよい。

この方法は、上述したように、テトラサイクリン化合物の投与を含む。すなわち、本方法は、ARDSの発症前のテトラサイクリン化合物の投与を含む。好ましくは、毒ガスの吸入

10

20

30

40

50

後すぐにテトラサイクリン化合物を投与する。例えば、吸入約1時間後にテトラサイクリン化合物を投与することができる。

【0037】

(実施例)

実施例1

敗血症-誘発型ARDSのラットモデルで予防的に投与したCOL-3

(方法)

外科手術手順：体重が250～300gのオスのSprague-Dawleyラットを外科手術前1週間実験室の環境に順応させた。この期間、食物と水へのアクセスは自由に利用できた。ラットを腹腔内(IP)ケタミン(90mg/kg)/キシラジン(10mg/kg)で麻酔した。Chaudryらによって記載されている盲腸連結及び穿刺(CLP)法で敗血症を生じさせた。腹腔の毛皮をそぎ取った後、皮膚と腹膜を貫いて2cmの正中線切開を行った。盲腸を確認し、切開で取り除いた。腸間膜の無血管部分を鋭く切開し、腸管の連続性を維持するように、盲腸3～0号の絹縫合糸で回盲弁の直下に連結した。18ゲージ針を用いて対腸間膜表面上の2つの位置で盲腸を穿孔処理し、糞便を押し出して穴の開存性を確実にするまで徐々に加圧した。腸管を腹部に戻し、筋肉には3～0号のProleneTMを用い、皮膚には2～0号の絹を用いて切り口を2層で閉じた。

この手順直後と外科手術後12時間及び24時間に、各ラットに10ccの生理食塩水を皮下投与した。水でラットを回復させ、研究の残余期間適宜食物を与えた。

【0038】

実験手順：ラットをランダムに5群に分けた：1群)偽CLP+食塩水中のカルボキシメチルセルロース(CMC;COL-3用媒体)の2%溶液-盲腸を露出させて腸間膜を鋭く切開する正中線開腹+外科手術時のCMCによる経口胃管栄養(n=6)；2群)偽CLP+COL-3(Collagenex Pharmaceutical, Newtown, PA)-腸を露出させて腸間膜を鋭く切開する正中線開腹+外科手術時のCOL-3による経口胃管栄養(30mg/kg, n=6)；3群)CLP+CMC-CLPによる正中線開腹+外科手術時のCMCによる経口胃管栄養(n=10)；4群)CLP+COL-3単用量[SD]-CLPによる正中線開腹+外科手術時のCOL-3の経口胃管栄養(30mg/kg, n=9)；5群)CLP+COL-3多用量[MD]-CLPによる正中線開腹+外科手術時とCLP24時間後にCOL-3による経口胃管栄養(30mg/kg各投与の総用量60mg/kg, n=15)。CLP後の時間として定義される生存について168時間(7日)ラットに注意を払い、各ラットの生存時間を記録した。168時間で、或いは死後即座にラットを犠牲にした。検死で、左肺を切除し、その気管支にカニューレを挿入した。10%ホルマリンで4cmH₂Oの圧力に肺を膨らませた。カニューレを留め、肺を室温で24時間ホルマリン中保存した。組織をパラフィン内に封鎖し、ヘマトキシリソ-エオジン染色用に連続切片を調製した。さらに、固定化した肺の残りのパラフィン切片をMMP-2とMMP-9の免疫組織化学測定に用いた。

【0039】

組織構造：各スライドガラス標本中の肺組織を、その由来する処理群の知識なしで評価した。概要を見るためスライドガラスを低倍率で再調査して気管支、結合組織、大きい血管、及び融合性アテレクターゼの領域を含む部分を排除して実質性損傷の程度と段階を反映する領域のみを評価するようにした。排除しなかったスライドガラスの領域を以下の様式で高倍率(400倍)で評価した。5つの高力フィールド(HPF)をランダムにサンプリングした。1)肺胞壁肥厚、2)肺胞内水腫流体及び3)好中球数の特徴を5つの各HPFについて記録した。具体的には、2細胞層を超える厚さとして定義される肺胞壁肥厚を各フィールドで“0”(非存在)又は“1”(存在)と類別した。肺胞内で染色している均質又は原纖維タンパク質性として定義される肺胞内水腫流体を各フィールドで“0”(非存在)又は“1”(存在)と類別した。肺胞壁肥厚及び肺胞内水腫流体について総スコア/5HPFを各動物について記録した。例えば、ある動物では、評価したすべての5つのHPFが肺胞壁肥厚と細胞内水腫流体を示す場合、記録される最大スコアは各基準について5/5HPFである。好中球の総数を5つの各HPFで数え、各動物について総数/5HPFとして表した。すべてのデータは平均±SEとして表した。

10

20

30

40

50

【0040】

肺組織 MMP-2 及び MMP-9 レベル：肺胞組織 MMP-2 と MMP-9 のレベルを他のところで述べた免疫組織化学分析で評価した。簡単には、4 μm のホルマリン固定化パラフィン切片をキシレンで処理してパラフィンを除去し、水和させた。パラフィン切片を 0.4% ペプシンで 45 分間 37℃ で処理した。免疫染色のため、VECTASTAIN™ Rabbit ABC Elite Kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA) を製造業者の使用説明書に従って使用した。メタノール中の 0.6% H₂O₂ と共に 30 分間インキュベートして内因性ペルオキシダーゼ活性を遮断した。正常なヤギ血清と共に (1:50 PBS 中 2% ウシ血清アルブミン (BSA)) 3 時間インキュベートして非特異的結合部位を遮断した。この切片を 1.5 時間 37℃ でインキュベートした後一晩中 (17 時間) 4℃ でポリクロナール抗-ヒト MMP-2 (39) 又はモノクロナール抗-ラット MMP-9 抗体 (1:100 PBS 中 1% BSA) (MAB 13421, Chemicon, Temecula, CA) と共にインキュベートした。ビオチン化した抗-ウサギ/抗-マウス免疫グロブリン G (1:250 PBS 中 0.1% BSA) と共に 1 時間、アビジン-ビオチン複合体 (1:125 PBS 中) と共に 30 分間インキュベーション後、切片を 3-アミノ-9-エチルカルバゾール (AEC) (0.05M の酢酸ナトリウム中 0.3mg/ml、pH 5.5) で染色した。スライドガラスは各工程間に PBS 中の 0.01% Triton X-100 (140mM NaCl, 2.7mM KCl, 10mM Na₂HPO₄, KH₂PO₄, pH 7.4) 内で 5 分間 3 回洗浄した。マイヤーのヘマトキシリソで対比染色を行った。負対照のため、一次抗体を対応濃度のウサギ/マウス免疫グロブリン G で置換した。2 人について独立的に 5 度まで全組織試料の免疫反応性を半定量した (0 = なし、1 = 穏やか、2 = 適度、3 = 豊富、4 = 非常に豊富な免疫反応性)。

10

20

30

40

50

【0041】

肺水：右肺からの代表的組織試料を非実質性組織から離れて鋭く解剖した。試料を皿に置き、秤量し、65℃ の乾燥器内で 24 時間乾燥させ、再び秤量した。これを 24 時間にわたって重量変化がなくなるまで繰り返し、この時を “乾燥” と決定した。肺水を乾燥に対する湿潤の比 (W/D) として表した。

【0042】

血清 COL-3 濃度：COL-3 レベルを評価するための血液試料は、CLP 後 48 時間で各ラットから引き出した。得られた血漿を 3,100 rpm で 5 分間遠心分離し、上清を集め、その後の分析用に -70℃ で凍結した。COL-3 のインビポ濃度について評価するため、50 μl の血漿試料をアセトニトリル：メタノール：0.5M シュウ酸 (60:30:10, v/v) を含有する 100 μl の予冷した (-10℃) 沈降溶液と共にインキュベートした。混合物を 10,000 rpm で 5 分間遠心分離し、HPLC 分析用に上清を収集した。Supelco LC-18-DB 逆相カラムを用いて 25 μl の上清を HPLC システムに注入して COL-3 濃度を決定し、アセトニトリル：メタノール：0.1M シュウ酸 (65:1:2.5, v/v) で 1 ml/分の流速で溶出した。350nm のピーク領域積分による UV 検出で最終濃度を定量した。この系の検出限界は 0.2 μg/ml だった。

【0043】

統計分析：Kaplan-Meier 法を用いて生存率を推定し、一般化ウィルコクソン法で有意性を決定した。群間の差異を分散のワンウェイ分析法で分析した。F 比を有意性と表すときは、Newman-Keul 試験を用いて個々の差異を同定した。0.05 未満の p 値を有意性とみなした。COL-3 濃度と生存率の関係、COL-3 濃度と MMP-2 及び MMP-9 レベルの関係、MMP-2 及び MMP-9 のレベルと生存率の関係は単純な線形回帰分析で決定した。

【0044】

(結果)

生存率：CLP+CMC 群の死亡率は 168 時間 (7 日) で 70% だった。CLP+COL-3 (SD) 群では、COL-3 の単回予防投与で死亡率が有意に (54%) 減少した (図 1)。さらに、CLP+COL-3 (MD) 群では CLP 後 24 時間 (最初の投与後 24 時間) での COL-3 による反復投与がさらに死亡率を減少 (33%) させた (図 1)。両偽 CLP 群の動物 (偽 CLP+CMC 及び偽 CLP+COL-3) はすべて生き残った。

【0045】

組織構造：処理なし盲腸連結及び穿刺 (CLP+CMC 群) は、急性肺損傷と一致する肥厚かつ充血した肺胞壁、肺胞内水腫流体、及びに顕著な白血球浸潤を引き起こした。対照的に、両偽 CLP 群の肺組織は、正常な肺に典型的な薄い肺胞壁を示し、かつ細胞内水腫流体がな

かった。これら病理学的变化はCOL-3の単投与で低減し、かつCLP後24時間でのCOL-3の反復投与でさらに減じた。CLP+CMC群は、両偽CLP群に比し、有意に多い肥厚化肺胞壁と肺胞内水腫流体を示した(表VI)。肥厚化肺胞壁の数は、CLP+CMC群と比べてCLP+COL-3(SD)とCLP+COL-3(MD)の両群で有意に減少した(表VI)。肺胞内水腫流体は、CLP+CMC群に比べてCLP+COL-3(SD)で減少したが、統計的に有意でなかった。しかし、第2用量のCOL-3の投与で、CLP+CMC群と比較した細胞内水腫流体の有意な減少が示された(表VI)。肺内に隔離された好中球の数には、CLP+CMC、CLP+COL-3(SD)、及びCLP+COL-3(MD)群間で有意な差異はなかったが、3つのCLP群すべてが両偽CLP群に比し、肺内的好中球の有意な上昇を示した(表VI)。

【0046】

肺組織MMP-2及びMMP-9レベル：3群のMMP-9の免疫組織化学染色の代表的スライドガラスは、変化する免疫反応性グレードを示した。処理なし盲腸連結及び穿刺(CLIP+CMC群)は両偽CLP群に比し、有意にMMP-2とMMP-9の両方の肺胞組織レベルを高めた(それぞれ図2及び3)。COL-3投与は、用量依存様式で肺胞組織中のMMP-2とMMP-9のレベルを有意に減らした(それぞれ図2及び3)。さらに、CLP後24時間でのCOL-3の反復投与は、MMP-9のレベルをさらに偽CLPレベルまで下げた(図3)。

【0047】

肺水腫：処理なし盲腸連結及び穿刺(CLIP+CMC群)は、両偽CLP群に比し、肺水(W/D重量比で示される)の有意な増加を引き起こした(図4)。肺水又は水腫は、用量依存様式でCOL-3の投与で有意に減少した(図4)。さらに、CLP後24時間でのCOL-3の第2用量の投与は、水腫を偽CLPレベルまで減少させた(図4)。

【0048】

血清COL-3濃度：COL-3の血清濃度は、両CLP+COL-3(SD)と偽CLP+COL-3群に比し、CLP+COL-3(MD)群でCLP後48時間で有意に上昇した(図5)。COL-3濃度と生存率の改善との間に直接的な関係が認められた(図6)。COL-3濃度はMMP-2(図7)及びMMP-9レベルと逆関係であるが、これはMMP-9では統計的な有意さに達しなかった(データ示さず)。さらに、両肺組織MMP-2及びMMP-9レベルの減少は、生存率の改善に直接関係した(それぞれ図8及び9)。

この実施例は、修飾テトラサイクリンCOL-3が、敗血症-誘発型ARDSの臨床的に適用可能なモデルで用量依存様式でラットの生存率を高めることを実証する。生存率の改善は、肺損傷の減少と肺組織MMP-2及びMMP-9レベルの低減と相関する。

【0049】

実施例2

COL-3で予防的に治療した腹膜糞便血塊と上腸間膜動脈(SMA)の縫付けARDSモデル

敗血症-誘発型ARDSのブタモデルを開発した。腹膜内の糞便血塊(fecal clot(FC))の配置を上腸間膜動脈(SMA)の縫付けと組み合わせた(腸虚血/再灌流傷害)。この“ツーヒット(two-hit)”モデルは、調べた動物の100%で敗血症ショックとARDSをもたらした。さらに、該手順にはこのモデルに付随するARDSの重症度と全動物についての臨床的に妥当な終点データを得るという要望のため、3日という終了期間を含めた。COL-3の予防効果は非常に劇的だった。COL-3で処理した群(SMA+FC+COL-3)は、SMA+FC群に比し、PaO₂/FiO₂比の204%増加、肺吻合部分の80%減少、A-a勾配の64%改善、肺コンプライアンスの344%改善、及び肺のプラト-ー圧の52%改善を示した。実際、SMA+FC+COL-3群の重度菌血症にもかかわらず、SMA+FC+COL-3群の上記全てのパラメーターが対照群(糞便血塊の配置又はSMAの縫付けのない2つの実験群と同じ外科手術)と統計的に異なるわけがない(表I)。これらデータは、COL-3治療動物が未治療動物より生き延びることを強く示唆している。究極的に、肺組織の形態計測分析は、肺胞水腫の62%低減、胚葉膜の94%低減、気管支肺胞洗浄液(BALF)タンパク質濃度の51%低減、BALFエラスター活性の87%減少及び肺水の41%減少を実証した。

【0050】

モデル：ユニークな“ツーヒット”モデルはCOL-3治療があっても菌血症を引

10

20

30

40

50

き起こした(表Ⅰ)。実際、COL-3治療動物は、血中に未治療動物には見られない1種の細菌(クレブシエラニューモニエ(Klebsiella Pneumoniae))を有した(表Ⅰ)。血液から培養した細菌は、穿孔腸続発性腹膜炎の典型的な種だった(表Ⅰ)。この“ツーヒット”法は試験したブタの100%でARDSを引き起こした(7について7)。すべてのCOL-3未治療ブタが正常な肺動脈楔入圧を有する我々のARDS基準(250未満のFiO₂/PaO₂比)であり(表V)、外科手術の48時間以内に機械換気上に置いた。

【0051】

1匹の動物は24時間で我々のARDS基準を満たし、4匹は36時間で満たした。ARDSは肺コンプライアンスの減少(表IV)とPaO₂/FiO₂比(図10)、肺の吻合部分の増加(表IV)、肺水腫(図11)及び肺胞壁肥厚の増加、肺胞内水腫及び好中球隔離を含む組織学的証拠によって証明した(表III)。検死では2匹のSMA+FCブタが激症性肺水腫を有し、肺はCOL-3治療した肺と比べて肉眼で見えるほどに病的に見えた。

10

【0052】

COL-3治療：血液COL-3濃度は以下のとおりだった：日1=3.1±0.3、日2=4.9±1.0及び日3=3.1±1.0 μg/ml。COL-3治療は完全にARDSの発症-正常な(すなわち対照群と有意な差異がない)肺コンプライアンス(表IV)、PaO₂/FiO₂比(図10)、肺の吻合部分(表IV)、肺水(図11)及び組織学的測定(表III)によって証明される-を予防した。興味深いことに、形態計測評価は、肺内に隔離された好中球の数が対照群に比べてSMA+FCとSMA+FC+COL-3の両群で等しく上昇することを示した(表II)。これはCOL-3が好中球の殺菌特性を阻害しないことを示唆している。

20

【0053】

COL-3はBALF中のインターロイキン-6、IL-8、及びIL-10濃度の増加を遮断した(表III)。COL-3は、BALF中の好中球エラスター(表III)及びMMP-9も阻害した。SMA+FC群のみでのIL-10、抗炎症性サイトカインの増加は、COL-3がIL-10の放出を妨げるのに十分に炎症を低減したことを示唆している。インターロイキン-1の濃度は、いずれの群でも有意な差異がなかった(表III)。このデータは、この非常に重篤な傷害モデルでCOL-3が有する強力な抗炎症効果を際立たせている。COL-3によるほとんど完全な肺の保護は、検死で各群の肺の肉眼で見える外観によって強調される。

【0054】

I期の肺及び血行力学データの概要が表IV及びVに示される。これらデータは、糞便血塊+SMAの締付けという合併傷害がヒトのARDSに類似したタイムシーケンスと病理的結果でブタにARDSを引き起こすことを実証する。COL-3は敗血症-誘発型ARDSを予防する。肉眼写真(図12)は、COL-3によって提供されるほとんど完全な保護の概要を示す。本研究は、COL-3がCLP後12時間で与えてもよく、まだ有意に生存率を改善できることを示した。

30

40

50

10

20

30

【 0 0 5 5 】

【表1】

群	対照						SMA+FC						SMA+FC+COL-3						表1
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O				
ブタ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
日1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
日2	5	-	2,5,6	6	6	6	3,6	4,6	4	1-5	6,7	1,3	5,6	1,5					
日3	-	-	-	6	2,6	6	3,6	4,6	5,6	1-5	6,7	1,3	-	1,5					

個々のブタにA～Oのラベルを付けた。外科手術後1～3日の血中培養細菌：クレブシエラ-ニューモニエ=1、セラチア-マルセッセンス=2、シュードモナス-エルギノーザ=3、ストレプトコッカス=4、アエロモナス-ビドロフィラ=5、大腸菌=6、スタビロコッカス=7

【表2】

		肺の組織構造		
群	肺胞壁肥厚	肺胞内水腫	好中球	
対照	0.6±0.3	0.2±0.3	103±11†	
SMA+FC	3.7±0.4†	2.9±0.3†	221±35	
SMA+FC+COL-3	1.4±0.7	0.2±0.2	238±32	

肺病理の形態計測分析。壁肥厚及び水腫は、5つの高力顯微鏡フィールドについて列挙パラメーターの存在（0）又は非存在（1）として表す。それぞれサンプリングしたスライドがガラスの最大数は5である（すべてのフィールドが列挙パラメーターの存在を有する）。水腫は、肺胞内の均質又は纖維状タンパク質性染色として定義され、肺胞壁肥厚は2細胞層厚を超えるとして定義される。好中球は、5つの高力フィールド中の総数である。データは平均±SEM。†=p<0.05対両群、*=p<0.05対照群。

【表3】

群	気管支肺胞洗浄液(BALF)				タンパク質
	IL-1	IL-6	IL-8	IL-10	
対照	646±44	4±4*	5±2*	0*	12±3*
SMA+FC	750±168	1,400±690	89±46	53±3	64±20
SMA+FC+COL-3	622±255	7±6*	5±3*	0*	8±2*
					663±85*

気管支肺胞洗浄液中のインターロイキン-1、-6、-8、-10 (pg/ml)、タンパク質 (μg/100ml) の濃度、及び好中球エラスター活性 (μm 0分解基質/mgタンパク質/18時間)。データは平均±SEM。* = p < 0.05対SMA+FC群。

10

20

30

40

【0058】

I期肺疾患及び血行力学データの概要を表IVとVに示す。

【表4】

可変値	群	24時間		36時間		48時間	
		対照	Ppeak	対照	SMA+FC	対照	SMA+FC+COL-3
Pplat	対照	ND	31(n=1)	ND	36±3.5(n=4)	25±1	46±4.6#
	SMA+FC+COL-3	26(n=1)	24(n=1)	ND	24(n=1)	23±0.5	
Rinsp	対照	ND	26(n=1)	ND	31±3.7(n=4)	21±1.6	4±4.3#
	SMA+FC+COL-3	24(n=1)	24(n=1)	ND	26(n=1)	21±0.4	
A-a勾配	対照	ND	ND	ND	ND	2.3±0.3	
	SMA+FC	29(n=1)	17±4.8(n=4)	ND	17±4.8(n=4)	47±6#	
吻合	対照	10(n=1)	7(n=1)	ND	7(n=1)	3.6±0.6	
	SMA+FC+COL-3	26(n=1)	26(n=1)	ND	26(n=1)	32±4.9	
A-a勾配	対照	ND	18(n=1)	ND	15.4±3(n=4)	9±1.7#	
	SMA+FC+COL-3	26(n=1)	26(n=1)	ND	26(n=1)	31.6±2	
A-a勾配	対照	ND	12(n=1)	ND	17±4.5(n=4)	5±0.5	
	SMA+FC+COL-3	7(n=1)	7(n=1)	ND	5(n=1)	27.7±5.2#	
A-a勾配	対照	ND	ND	ND	ND	5.6±0.9	
	SMA+FC+COL-3	174(n=1)	174(n=1)	174(n=1)	174(n=1)	168±9	
A-a勾配	対照	ND	144(n=1)	144(n=1)	144(n=1)	168±26(n=4)	
	SMA+FC+COL-3	100(n=1)	100(n=1)	100(n=1)	100(n=1)	280±66#	

表IV. Ppeak=気道内ピーク圧(cmH₂O)；Pplat=気道内プラトー圧(cmH₂O)；Rinsp=吸気流に対する気道抵抗(cmH₂O/(l/s))；コンプライアンス=静的コンプライアンス(ml/cmH₂O)；吻合=吻合部分(%)；A-a勾配=肺胞動脈PaO₂差異(mmHg)；ND=データなし。データは平均土 SEM。*=p<0.05対照；#*=p<0.05対面対照とSMA+FC+COL-3。注：24時間でSMA+FC群の4匹の動物から1匹(n=1)及びSMA+FC+COL-3群の5匹の動物から1匹は機械換起を必要とし、かつモニタリングと共に機械換起し(すべて動物の臨床的困難さのため)、36時間でSMA+FC群の7匹の動物から4匹(n=4)は、Swan Ganzカテーテルモニタリングと共に機械換起し(すべて動物の臨床的衰弱のため)、48時間までにSMA+FC群のすべての動物(n=7)がその臨床的劣化に派生して機械換起とSwan Ganzカテーテルモニタリングを必要とした。SMA+FC+COL-3群の残りの動物は(n=5)では4匹の追加動物)及び対照群の動物(n=3)を換気装置上に置き、48時間で犠牲にした。

【0059】
【表】

可変値	群	0時間			12時間			24時間			36時間			48時間			
		対照	SMA+FC	SMA+FC+COL-3	対照	SMA+FC	SMA+FC+COL-3	対照	SMA+FC	SMA+FC+COL-3	対照	SMA+FC	SMA+FC+COL-3	対照	SMA+FC	SMA+FC+COL-3	
pH	対照	7.43±.01	7.53±.07	7.53±.03	7.47±.03	7.52±.02	7.28±0.1 ζ #	7.41±.03	7.51±.02	7.40±.02	7.39±.04 ζ #	7.51±.03	7.48±.03	7.56±.02	7.54±.01	7.54±.02	
	SMA+FC																
	SMA+FC+COL-3																
PCO2	対照	36±4.8	38±2	31±0.8	31±1.2	30±3		39±3.5	37±2.6	25±2.2 ζ	27±3.1 ζ #	42±5		35±3.8	31±1.5	29±1.2	30±1.6
	SMA+FC																
	SMA+FC+COL-3																
BE	対照	5.3±.8	7±1.0	5±0.7	4.3±0.6	5.8±0.4		4.8±1.1	10±3.2 ζ #	5.8±2.1	1.2±3.4 ζ #	-2.8±3.2 ζ #		3.8±0.3	5.8±0.3 ζ	8.6±0.8 ζ #	4.8±0.9
	SMA+FC																
	SMA+FC+COL-3																
Hgb	対照	11.7±0.3	13±1.1	11±1.5	12.3±0.3	11.3±0.3		12.2±0.3	12.1±0.4	12.2±0.4	11±0.3	10.7±0.4		11.8±0.2	12.1±0.8	10.8±0.5	10.9±0.5
	SMA+FC																
	SMA+FC+COL-3																
SBP	対照	124±4	136±7.2	130±7	131±8	120±10		115±7.4	125±5	147±12 ζ	99±6 ζ #	79±6.4 ζ #		135±4.8	137±4.7	140±7.6	130±8.2
	SMA+FC																
	SMA+FC+COL-3																
DBP	対照	80±3.6	98±6.7	85±11.7	80±11.2	90±12		74±5.4	71±8.6#	88±8	48±6.9 ζ #	37±4.5 ζ #		82±6.9	98±4.4	98±4.3	90±3.4
	SMA+FC																
	SMA+FC+COL-3																
HR	対照	107±2	137±2.4 ζ	125±6.6	130±6.1	117±7.8		129±6.5	156±8	163±7.7 ζ *	151±11	127±14		109±7	149±6.7 ζ	141±4.5	133±4.2
	SMA+FC																
	SMA+FC+COL-3																

表V.血行力学パラメーター

PR	対照	31±1.6	36±1.6	35±2.8	41±1.6
	SMA+FC	35±1.5	83±1.6#	71±11.6#	40±13
	SMA+FC+COL-3	28±1.2	46±4	39±6.5	39±6
Temp	対照	98.9±0.4	101.3±0.8 ζ	100.7±0.2 ζ	100±0.1 ζ
	SMA+FC	99.9±0.6	104.5±0.2 ζ^*	104±0.2 ζ^*	102±1.4 ζ^*
	SMA+FC+COL-3	99.6±0.4	105±0.4 ζ^*	103.9±0.3 ζ^*	103.6±0.5 ζ^*
Ppa	対照	ND	ND	ND	ND
	SMA+FC	ND	ND	23(n=1)	25±3.4(n=4)
	SMA+FC+COL-3	ND	ND	21(n=1)	15(n=1)
Ppw	対照	ND	ND	ND	ND
	SMA+FC	ND	ND	9(n=1)	9.2±1.1(n=4)
	SMA+FC+COL-3	ND	ND	8(n=1)	8(n=1)
CO	対照	ND	ND	ND	ND
	SMA+FC	ND	ND	6.7(n=1)	6.5±1.2(n=4)
	SMA+FC+COL-3	ND	ND	6.8(n=1)	7.3(n=1)

表V. BE=塩基過剰；Hgb=ヘモグロビン；SBP=収縮期血圧(mmHg)；DBP=拡張期血圧(mmHg)；HR=心拍数(拍動/分)；RR=呼吸数(呼吸/分)；Temp=温度(°F)；Ppa=平均肺動脈圧(mmHg)；Ppw=平均肺動脈楔入圧(mmHg)；CO=心拍出量(L/分)；ND=データなし。データは平均±SE。*= $p<0.05$ 対照； ζ = $p<0.05$ 対BL；#= $p<0.05$ 対SMA+FC+COL-3。注：24時間でSMA+FC群の7匹の動物から1匹(n=1)及びSMA+FC+COL-3群の5匹の動物から1匹は機械喚起を必要とし、かつモニタリング用Swan Ganzカテーテルを配置した(SMA+FC群ではこれは動物の臨床的衰弱のためであるが、SMA+FC+COL-3群ではこれは動物の臨床的衰弱のためだった)。36時間でSMA+FC群の7匹の動物から4匹(n=4)は、Swan Ganzカテーテルモニタリングと共に機械喚起し(すべて動物の臨床的衰弱のため)、48時間までにSMA+FC群のすべての動物(n=7)がその臨床的劣化に派生して機械喚起とSwan Ganzカテーテルモニタリングを必要とした。SMA+FC+COL-3群の残りの動物は(n=5では4匹の追加動物)及び対照群の動物(n=3)を対照群の動物(n=3)を換気装置上に置き、48時間で犠牲にした。

【0061】

【表6】

	肺胞壁 肥厚/5HPF	肺胞内流体 (水腫)/5HPF	好中球/5HPF
CLP+CMC	4.4±6.2*	3.1±9.1 ₁	382.3±43.1 ₁
CLP+COL-3 (SD)	2.0±1.0	1.7±1.0	391.5±50.1 ₁
CLP+COL-3 (MD)	1.8±5.5	1.0±5.7	361.7±60.9 ₁
偽CLP+CMC	0	0	170.3±38.9
偽CLP+COL-3	0.5±0.5	0	195.8±38.8

CLP=盲腸連結及び穿刺；CMS=カルボキシメチルセルロース（媒体）；COL-3=化学修飾したテトラサイクリン；

SD=単用量；MD=多用量；HFP=高力フィールド。

*=p<0.01対すべての群

↓=p<0.02対CLP+COL-3(MD)と偽CLP

↑=p<0.04対偽CLP

【図面の簡単な説明】

【0062】

【図1】すべての治療群のラットの7日生存率。COL-3の単用量投与後に生存率の有意な改善が見られる [CLP+COL-3(SD); p<0.05対 CLP+CMC]。CLP後24時間での反復用量のCOL-3で生存率向上の利益が注目される [CLP+COL-3(MD); p<0.05対 CLP+CMCと CLP+COL-3(SD)の両方]。

【図2】免疫組織化学によるMMP-2の肺組織レベルの定量。すべての他の群と比較してCLP+CMC群の肺胞MMP-2レベルの有意な増加に留意せよ。単用量のCOL-3[CLP+COL-3(SD)]がCLP+CMC群のMMP-2レベルを有意に下げた。CLP+CMCとCLP+COL-3(SD)の両群に比し、CLP+COL-3(MD)群でMMP-2レベルのさらなる減少が注目される。データは平均±SE、*=p<0.05対すべての他の群。

【図3】免疫組織化学によるMMP-9の肺組織レベルの定量。CLP+COL-3(MD)と両偽CLP群と比較してCLP+CMC群の肺胞MMP-9レベルの有意な増加に留意せよ。単用量のCOL-3[CLP+COL-3(SD)]はCLP+CMC群に比べてMMP-9レベルを減らしたが、統計的に有意でなかった。多用量のCOL-3[CLP+COL-3(MD)]は、CLP+CMC及びCLP+COL-3(SD)の両群に比し、有意にMMP-9レベルを下げた。データは平均±SE、*=p<0.05対CLP+COL-3(MD)と両偽CLP群。

10

【図4】肺水の重量測定で評価した肺水腫(W/D重量比)。他のすべての群に比べてCLP+CMC群の肺水の有意な増加に留意せよ。単用量のCOL-3[CLP+COL-3(SD)]はCLP+CMC群に比べて有意に肺水を減らした。COL-3の反復投与[CLP+COL-3(MD)]で肺水がさらに減少した。データは平均±SE、*=p<0.05対すべての他の群。

【図5】すべての群のCLP後48時間での血清COL-3濃度。すべての他の群に比べてCLP+COL-3(MD)群のCOL-3濃度の有意な上昇に留意せよ。データは平均±SE、*=p<0.05対すべての他の群。

【図6】COL-3濃度の増加と生存率の改善との関係。データ点は個々の動物を示し、p<0.02。

【図7】COL-3濃度の増加とMMP-2レベルの減少との関係。データ点は個々の動物を示し、p<0.008。

【図8】MMP-2レベルの減少と生存率の改善との関係。データ点は個々の動物を示し、p<0.03。

【図9】MMP-9レベルの減少と生存率の改善との関係。データ点は個々の動物を示し、p<0.0001。

【図10】対照群、SMA+FC群及びSMA+FC+COL-3群のPaO₂/FiO₂結果。

【図11】対照群、SMA+FC群及びSMA+FC+COL-3群の肺水腫の結果。

【図12】SMA+FC+COL-3群とSMA+FC群の動物の肺の肉眼写真。

20

【図1】

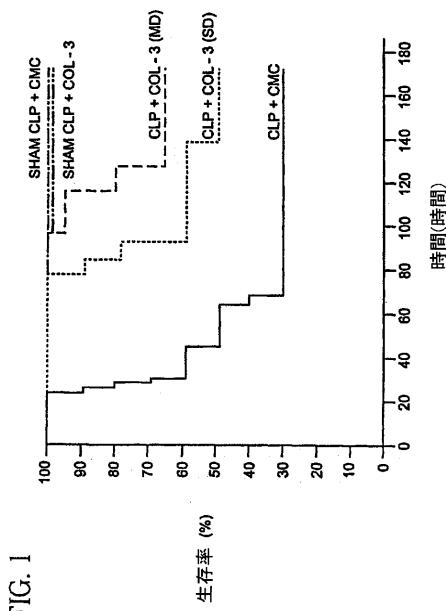


FIG. 1

【図2】

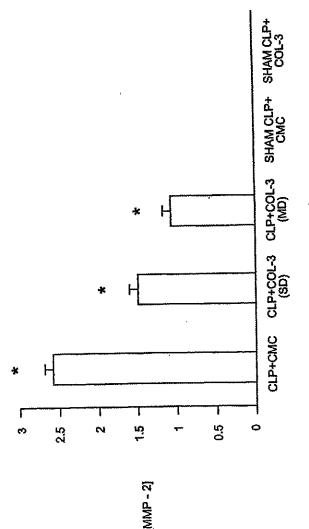


FIG. 2

【図3】

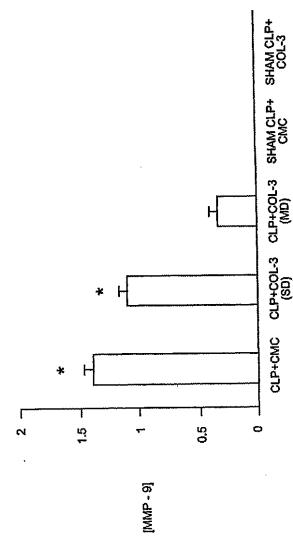


FIG. 3

【図4】

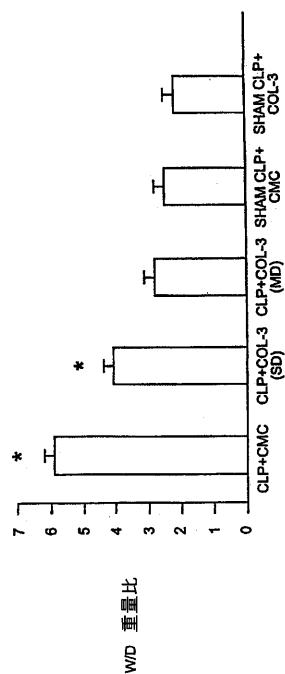


FIG. 4

【図5】

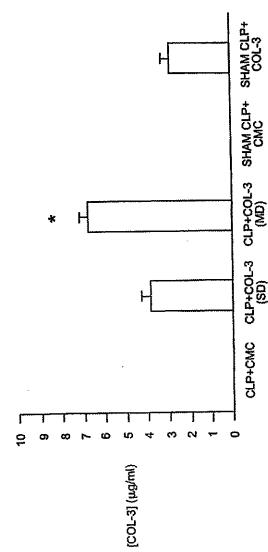


FIG. 5

【図6】

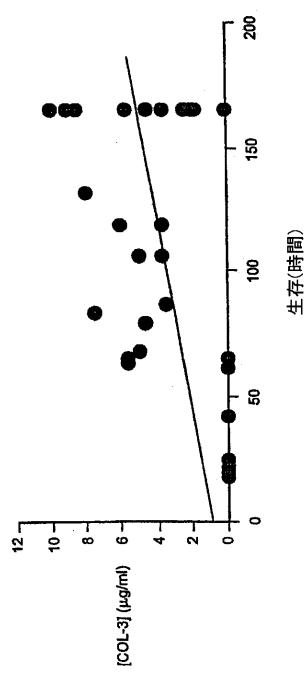


FIG. 6

【図7】

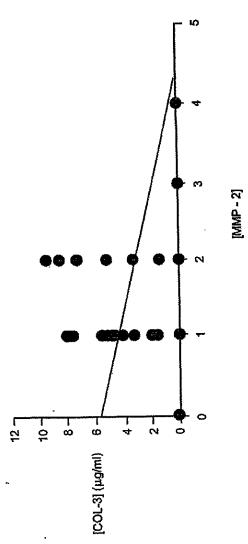


FIG. 7

【図8】

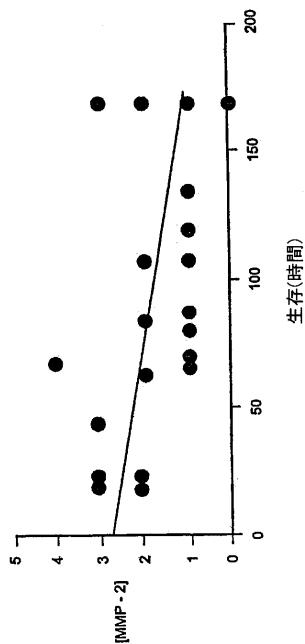
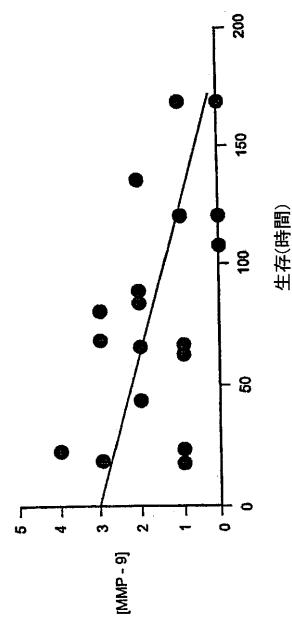


FIG. 8

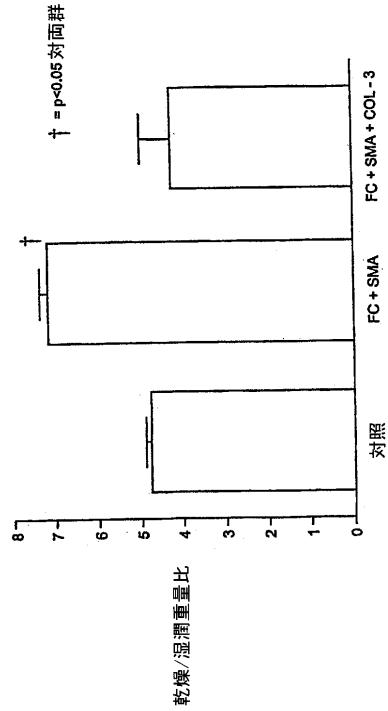
【図9】

FIG. 9



【図11】

FIG. 11 肺水腫



【図10】

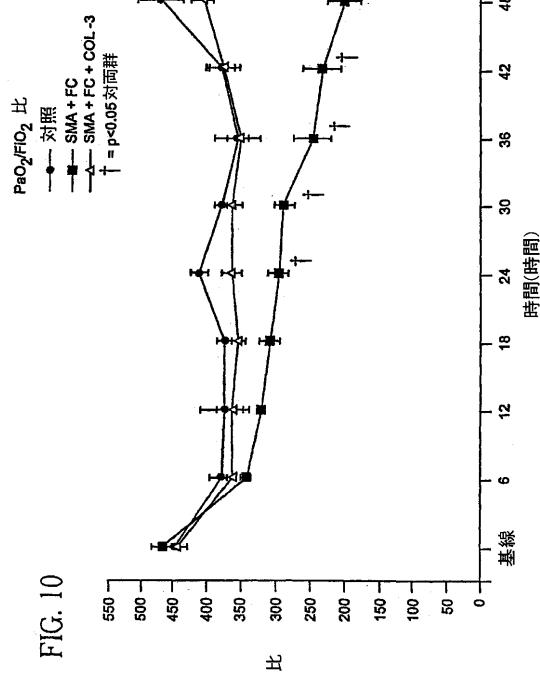


FIG. 10

【図12】

FIG. 12 SMA+FC+COL-3群(A)及びSMA+FC群(B)の動物の肺の肉眼写真
SMA+FC+COL-3群(A)及びSMA+FC群(B)の動物の肺の肉眼写真

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US03/35531																											
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61K 31/65 US CL : 514/152 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) U.S. : 514/152																													
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched																													
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet																													
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category *</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">X</td> <td style="text-align: left; padding: 2px;">US 5,977,091 A (NIEMAN et al.) 02 NOVEMBER 1999 (02.11.1999), The entire document.</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-2, 10-11, 22-23, 26-28</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">---</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">Y</td> <td></td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-9, 12-21, 24, 25, 29</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">X</td> <td style="text-align: left; padding: 2px;">US 5,773,430 A (SIMON et al.), 30 JUNE 1998 (30.06.1998), the entire document</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">29</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">---</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">Y</td> <td style="text-align: left; padding: 2px;">WO 95/03057 (TSENG et al.) 2 February 1995 (02.02.1995), The entire document.</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-11, 16-17</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">---</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">Y</td> <td></td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">12-15, 18-29</td> </tr> </tbody> </table>			Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	US 5,977,091 A (NIEMAN et al.) 02 NOVEMBER 1999 (02.11.1999), The entire document.	1-2, 10-11, 22-23, 26-28	---			Y		1-9, 12-21, 24, 25, 29	X	US 5,773,430 A (SIMON et al.), 30 JUNE 1998 (30.06.1998), the entire document	29	---			Y	WO 95/03057 (TSENG et al.) 2 February 1995 (02.02.1995), The entire document.	1-11, 16-17	---			Y		12-15, 18-29
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																											
X	US 5,977,091 A (NIEMAN et al.) 02 NOVEMBER 1999 (02.11.1999), The entire document.	1-2, 10-11, 22-23, 26-28																											

Y		1-9, 12-21, 24, 25, 29																											
X	US 5,773,430 A (SIMON et al.), 30 JUNE 1998 (30.06.1998), the entire document	29																											

Y	WO 95/03057 (TSENG et al.) 2 February 1995 (02.02.1995), The entire document.	1-11, 16-17																											

Y		12-15, 18-29																											
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input 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 application or patent 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 11 January 2005 (11.01.2005)		Date of mailing of the international search report 09 FEB 2005																											
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer Shengjun Wang Telephone No. (571) 272-1600																											

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US03/35531

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:

CAS ONLINE, MEDLINE, search terms: minocycline, tetracycline, doxycycline, oxytetracycline, respiratory distress syndrome, acute respiratory distress syndrome

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,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,HU,IE,IT,LU,MC,NL,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,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100114007

弁理士 平山 孝二

(72)発明者 サイモン サンフォード アール

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 11790 ストーニー ブルック シダー ストリート 7
1

(72)発明者 ゴーループ ローン エム

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 11787 スミスタウン ウィットニー ゲイト 29

(72)発明者 リー シー ミン

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 11733 セトーケット アリソン プレイス 20

(72)発明者 ニーマン ゲアリー

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 13104 マンリアス イースト セネカ ターンパイク
8556

(72)発明者 スタインバーグ ジェイ

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 13206 シラキュース ホームクロフト ロード 183

(72)発明者 シーラー ヘンリー

アメリカ合衆国 ミネソタ州 55902 ロチェスター サウスウェスト ナインス ストリート 828

(72)発明者 ハルター ジェフ

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 13088 リヴァプール シックスス ストリート 600

(72)発明者 ピコーン アンソニー

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 13104 マンリアス ウィジヤン パス 4593

(72)発明者 マークス ウィリアム

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 13078 ジェイムズヴィル ウッドチャック ヒル ロード 6634

(72)発明者 ガトー ルイス

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 13045 コートランド ノースウェイ ドライヴ 399
3

(72)発明者 ルツ チャールズ

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 13066 フェイエットヴィル ホリストン サークル 6
833

F ターム(参考) 4C086 AA01 AA02 DA29 MA01 MA52 MA59 MA63 MA66 NA14 ZA89