

(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2009-511426

(P2009-511426A)

(43) 公表日 平成21年3月19日(2009.3.19)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>A61K 38/00</b> (2006.01)	A 61 K 37/02	Z N A 4 B 0 6 5
<b>A61P 5/20</b> (2006.01)	A 61 P 5/20	4 C 0 7 6
<b>A61P 43/00</b> (2006.01)	A 61 P 43/00	4 C 0 8 4
<b>A61P 3/14</b> (2006.01)	A 61 P 43/00	4 H 0 4 5
<b>A61K 47/48</b> (2006.01)	A 61 P 3/14	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 22 頁) 最終頁に続く

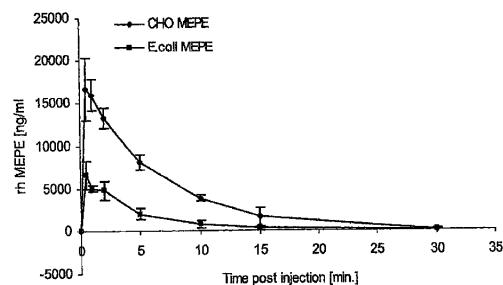
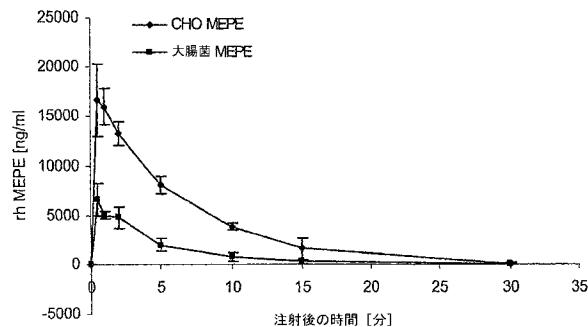
(21) 出願番号	特願2008-529121 (P2008-529121)	(71) 出願人	506298275 アコロジックス インコーポレイティッド
(86) (22) 出願日	平成18年8月23日 (2006.8.23)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94 545 ヘイワード ポイント エデン ウェイ 3960
(85) 翻訳文提出日	平成20年4月7日 (2008.4.7)	(74) 代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(86) 國際出願番号	PCT/US2006/033133	(74) 代理人	100119507 弁理士 刑部 俊
(87) 國際公開番号	W02007/027510	(74) 代理人	100128048 弁理士 新見 浩一
(87) 國際公開日	平成19年3月8日 (2007.3.8)	(74) 代理人	100129506 弁理士 小林 智彦
(31) 優先権主張番号	60/713,154	(74) 代理人	100130845 弁理士 渡邊 伸一
(32) 優先日	平成17年8月30日 (2005.8.30)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	60/717,115		
(32) 優先日	平成17年9月13日 (2005.9.13)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	60/807,797		
(32) 優先日	平成18年7月19日 (2006.7.19)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】ミネラルおよび骨格代謝の調節

## (57) 【要約】

患者におけるカルシウム、リン酸、および副甲状腺ホルモンのレベルを測定する方法を開示する。フォスフォトニン活性を有する化合物を含む製剤で患者を処置し、およびその後再び測定を行なう。必要に応じて測定、投与、および投薬の調整を継続的に繰り返しながら、製剤の投薬を測定に基づいて調整する。



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

担体ならびに配列番号：2、3、5、6、8～13によって示されるアミノ酸配列および少なくとも長さ51アミノ酸を含みかつフォスフォトニン(phosphotonin)活性を有するその生物学的活性断片より選択される分子の治療的有効量を含む、副甲状腺ホルモンの循環レベルを低下させるために製造される薬学的組成物。

**【請求項 2】**

製剤が、

- (a) リン酸の循環レベルを低下させること；
- (b) 腎尿細管細胞におけるナトリウム依存性リン酸共輸送体の効果を低下させること；
- (c) リン酸の腸吸収を低下させること；
- (d) 腸細胞におけるナトリウム依存性リン酸共輸送体の効果を低下させること；および
- (e) 患者の循環中のリン酸を患者の硬組織に吸収すること

より選択される付加的な効果のために製造される、請求項1記載の組成物。

**【請求項 3】**

- (a)～(e)の全てのために製造され、硬組織が骨である、請求項2記載の組成物。

**【請求項 4】**

(a) 患者のカルシウムの循環レベルを低下させること；  
 (b) 循環中のカルシウムを患者の硬組織に吸収すること  
 より選択される付加的な効果を有する量および期間にわたる投与のための製剤として提供され；ならびに

アミノ酸配列が遺伝子改変された大腸菌(E.coli)、哺乳動物細胞、およびチャイニーズハムスター卵巣細胞より選択される供給源によって產生される、請求項1記載の組成物。

**【請求項 5】**

アミノ酸配列がペグ化されている、請求項1記載の組成物。

**【請求項 6】**

以下の工程を含む患者を処置する方法：  
 (a) 患者における副甲状腺ホルモン(PTH)、リン酸(PO<sub>4</sub>)、およびカルシウム(Ca)のレベルを測定する工程；  
 (b) 担体およびフォスフォトニン活性を有するペプチドを含む1用量の製剤を患者に投与する工程；ならびに  
 (c) フォスフォトニン活性を有するペプチドを投与した後のレベルを決定するために、患者における(PTH)、(PO<sub>4</sub>)、および(Ca)のレベルを再測定する工程。

**【請求項 7】**

(d) (c)で決定された(PTH)、(PO<sub>4</sub>)、および(Ca)のレベルに基づいて(b)での用量を調整する工程をさらに含む、請求項1記載の方法。

**【請求項 8】**

- (e) (a)～(d)のいずれかを繰り返す工程をさらに含む、請求項7記載の方法。

**【請求項 9】**

担体ならびに配列番号：2、3、5、6、8～13によって示されるアミノ酸配列および少なくとも長さ51アミノ酸を含みかつフォスフォトニン活性を有するその生物学的活性断片より選択される分子の治療的有効量を含む、副甲状腺機能亢進症に罹患している対象を処置するために製造される薬学的製剤。

**【請求項 10】**

組成物が二次性副甲状腺機能亢進症を処置するために製造される、請求項9記載の製剤。

**【請求項 11】**

10

20

30

40

50

二次性副甲状腺機能亢進症が慢性腎疾患と関連する、請求項10記載の製剤。

【請求項 1 2】

担体ならびに配列番号：2、3、5、6、8～13によって示されるアミノ酸配列および少なくとも長さ51アミノ酸を含みかつフォスフォトニン活性を有するその生物学的活性断片より選択される分子の治療的有効量を含む、副甲状腺機能亢進症および高リン血症に同時に罹患している対象を処置するために製造された薬学的製剤。

【請求項 1 3】

患者が慢性腎疾患に罹患している、請求項12記載の製剤。

【請求項 1 4】

担体ならびに配列番号：2、3、5、6、8～13によって示されるアミノ酸配列および少なくとも長さ51アミノ酸を含みかつフォスフォトニン活性を有するその生物学的活性断片より選択される分子の治療的有効量を含む、高カルシウム血症、高リン血症、またはその組み合わせに罹患している対象の循環中のカルシウム-リン積を低下させるために製造される組成物。10

【請求項 1 5】

慢性腎疾患に罹患している患者のために製造される、請求項14記載の組成物。

【請求項 1 6】

心臓血管疾患に罹患している患者のために製造される、請求項14記載の組成物。

【請求項 1 7】

担体ならびに配列番号：2、3、5、6、8～13によって示されるアミノ酸配列および少なくとも長さ51アミノ酸を含みかつフォスフォトニン活性を有するその生物学的活性断片より選択される分子の治療的有効量を含む、カルシウム、リン酸、および副甲状腺ホルモンのそれらの循環レベルを同時に低下させるように副甲状腺機能亢進症および高いカルシウム-リン積を有する対象を処置するために製造される組成物。20

【請求項 1 8】

慢性腎疾患に罹患している患者のために製造される、請求項17記載の組成物。

【請求項 1 9】

心臓血管疾患に罹患している患者のために製造される、請求項17記載の組成物。

【請求項 2 0】

担体ならびに配列番号：2、3、5、6、8～13によって示されるアミノ酸配列および少なくとも長さ51アミノ酸を含むその生物学的活性断片より選択される分子の治療的有効量を含む、骨格の喪失を処置するために製造される組成物。30

【請求項 2 1】

腎性骨ジストロフィーによる骨格の喪失を処置するために製造される、請求項20記載の組成物。

【請求項 2 2】

循環カルシウムおよびリン酸が骨格組織に取り込まれる、または吸収される、請求項21記載の組成物。

【請求項 2 3】

骨格組織が骨である、請求項22記載の組成物。

【請求項 2 4】

配列番号：2、3、5、6、8～13によって示されるアミノ酸配列より選択されるペプチドおよび少なくとも長さ51アミノ酸を含みかつフォスフォトニン活性を有するその生物学的活性断片を含む、患者における副甲状腺ホルモンのレベルを制御するために製造される組成物。40

【請求項 2 5】

カルシウムおよびリン酸レベルとは無関係に副甲状腺ホルモンレベルが制御される、請求項24記載の組成物。

【請求項 2 6】

3日またはそれより多くの期間にわたって投与される、請求項25記載の組成物。

50

**【請求項 27】**

5日またはそれより多くの期間にわたって投与される、請求項25記載の組成物。

**【請求項 28】**

ペプチドが注射によって投与され、かつペプチドが持続放出製剤の中にある、請求項24記載の組成物。

**【請求項 29】**

ペプチドの投与により腸細胞におけるナトリウム依存性リン酸共輸送が阻害される、請求項24記載の組成物。

**【請求項 30】**

配列番号：2、3、5、6、8～13によって示されるアミノ酸配列由来のペプチドおよび少なくとも長さ51アミノ酸を含みかつフォスフォトニン活性を有するその生物学的活性断片を含む、患者におけるカルシウムのレベルを制御するために製造される薬学的組成物。 10

**【請求項 31】**

注射による投与のために製造される、請求項30記載の組成物。

**【請求項 32】**

配列番号：2、3、5、6、8～13によって示されるアミノ酸配列由来のペプチドおよび少なくとも長さ51アミノ酸を含みかつフォスフォトニン活性を有するその生物学的活性断片を含む、患者におけるカルシウムおよびリン酸のレベルを同時に制御するために製造される薬学的組成物。

**【請求項 33】**

副甲状腺ホルモンレベルとは無関係にカルシウムおよびリン酸レベルが同時に制御される、請求項32記載の組成物。 20

**【請求項 34】**

許容される賦形剤ならびに配列番号：2、3、5、6、8～13によって示されるアミノ酸配列およびそれらの長さにおいて少なくとも51アミノ酸を含みかつフォスフォトニン活性を有するそれらの断片を含む分子の群より選択される1つまたは複数の分子の薬理学的有効量を含む薬理学的活性成分を含む、薬学的組成物。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】****発明の分野**

本発明は、骨格組織の形成、破壊、および代謝回転を含むが、これらに限定されない、副甲状腺ホルモン(PTH)のホルモン効果によって影響される代謝および生物学的機能の調節を伴う処置の方法に関する。より具体的には、本発明は、副甲状腺ホルモン(PTH)の代謝を制御するための方法に関する。

**【0002】****相互参照**

本出願は、2005年8月30日に出願された米国特許出願第60/713,154号；2005年9月13日に出願された米国特許出願第60/717,115号；および2006年7月19日に出願された米国特許出願第60/807,797号の恩典を主張し、その出願は参考により本明細書に組み入れられる。 40

**【背景技術】****【0003】****発明の背景**

PTHは、哺乳動物で主要な役割を果たすように副甲状腺によって產生されかつ全身に循環される内分泌ホルモンである。ビタミンD<sub>3</sub>の活性型であるカルシトリオール、カルシトニン、およびPTHrpなどの少数のその他のホルモンと協調して、PTHはカルシウム(Ca)およびリン酸(PO<sub>4</sub>)の全身および局所代謝両方を調節することが公知である。

**【0004】**

CaおよびPO<sub>4</sub>は様々な細胞の生物学的および生理学的機能に必須の基本的過程の多くな

10

20

30

40

50

らびに骨、軟骨、および歯などの骨格組織の石化において中心的な役割を果たす。特に、骨格の石化は体内のCaおよびPO<sub>4</sub>の調節に依存的であり、ならびにCa-PO<sub>4</sub>ホメオスタシスにおける任意の乱れは、腎臓、血管系を含む幾つかの重要な組織に対して、および硬組織の完全性に対して深刻な影響をもたらすことができる。

#### 【0005】

腎臓では、CaおよびPO<sub>4</sub>両方が糸球体濾過液の中へと受動的に失われ、ならびに遠位および近位尿細管で能動的に再吸収されて、血液などの体液におけるそれらの生理学的レベルを維持している。腸では、CaおよびPO<sub>4</sub>両方が食物から吸収され、ならびにそのような吸収の調節がCaおよびPO<sub>4</sub>の全身性ホメオスタシスに寄与していることも公知である。骨格組織、特に骨は、CaおよびPO<sub>4</sub>ホメオスタシスに重要な役割を果たす器官の1つであることも公知である。骨格組織はCaおよびPO<sub>4</sub>を貯蔵または放出し、循環におけるそれらの適切なレベルを維持する。

10

#### 【0006】

CaおよびPO<sub>4</sub>代謝に関連する少数のホルモンの中で、PTHはCaおよびPO<sub>4</sub>のホメオスタシスだけでなく骨代謝回転に対しても最も影響力の大きいホルモンであることが公知である。PTHは腎尿細管におけるCaの能動的再吸収を増大させ、それによって循環カルシウムを増大させる。さらに、PTHは腎尿細管におけるPO<sub>4</sub>の能動的再吸収を阻害することができ、それによって循環PO<sub>4</sub>を減少させることができる。PTHは骨格組織の代謝回転を増大させ、および微小環境に応じて骨量を増大または減少させる。通常、骨のPTHへの継続的な曝露はより高い骨吸収を結果的にもたらし、それによってより多くのCaが骨から循環中へと動員される。

20

#### 【0007】

PTHは副甲状腺によって産生されかつ循環中へと分泌される。副甲状腺は、それらのPTHの分泌を調節するためにCaおよびPO<sub>4</sub>の血清レベルに感受性である。例えば、低い血清Caレベルまたは高い血清PO<sub>4</sub>レベルはPTH分泌を増大させ、および高い血清Caレベルまたは低い血清PO<sub>4</sub>レベルはそれを減少させる。Ca感知分子（CaセンサーまたはCa受容体）がクローニングされ、ならびにそのアゴニストおよびアンタゴニストが副甲状腺によるPTH分泌レベルを治療的に調節するために合成されている。

#### 【0008】

カルシトニンは甲状腺によって産生され、および破骨細胞機能を阻害し、それがその結果骨吸収を低下させる。結果として、より多くのCaが循環に入ることなく骨の中に保持される。

30

#### 【0009】

カルシトリオールは腸における食物からのCa吸収を刺激してその循環レベルを増大させる。カルシトリオールはまた、骨代謝回転に影響を与え、およびPTH分泌を低下させる。

#### 【0010】

数十年間公知のこれらのホルモンに加え、マトリックス細胞外リン糖タンパク質（MEPE；Genomics 67 54 2000(非特許文献1), Bone 34 303-319 2004(非特許文献2)）、纖維芽細胞増殖因子-23（FGF-23；JCEM 86 497-500 2001(非特許文献3)）、およびfrizzled関連タンパク質-4（FRP-4；Current Opinion in Nephrology and Hypertension 11 423-430 2002(非特許文献4)）などの少数の新しく同定された分子が、PO<sub>4</sub>の血清レベルを選択的に調節する「 fosfatidin 」であると主張されている。それらの「 fosfatidin 」分子は、ナトリウム（Na<sup>+</sup>）依存性リン酸共輸送体（NaPiまたはNPT；Hilfiker, PNAS 95(24)(1998), 14564-14569(非特許文献5)）を抑制することによって腎尿細管の能動的PO<sub>4</sub>再吸収を低下させると考えられている。ナトリウム（Na<sup>+</sup>）依存性リン酸共輸送体は、腎尿細管および腸における能動的PO<sub>4</sub>輸送に最も責任のある分子であると考えられている。

40

#### 【0011】

fosfatidin 活性を有するこれらの分子は、X連鎖低リン酸血症性くる病（XLH）、常染色体優性くる病（ADR）、および腫瘍誘導性骨軟化症（TIO）[またはあるいは発癌性低リン酸血症性骨軟化症（OHO）と呼ばれる]などの希少疾患に罹患している患者の臨床

50

症状を観察することによって同定された。CaおよびPTHの血清レベルは正常の範囲内であるが、これらの疾患は、低リン酸血症（異常に低い血清PO<sub>4</sub>レベル）、リン酸塩尿症（PO<sub>4</sub>の尿中への過度の漏出）、循環における極めて低いレベルのカルシトリオール、および骨軟化症などの非常によく似た症状を共有する。

#### 【0012】

MEPE、FGF-23、およびFRP-4の公表された生物学的データは、それらの生物学的活性がPO<sub>4</sub>およびカルシトリオールに選択的であったということをこれまで示唆している（Bone 34 303-319 2004(非特許文献2)；Am J Physiol Renal Physiol. 2005 Feb ; 288(2) : F363-70(非特許文献6)；J Clin Invest. 2003 Sep ; 112(5) : 785-94.(非特許文献7)）。

#### 【0013】

CaおよびPO<sub>4</sub>ホメオスタシスの障害ならびにPTHおよびカルシトリオールなどのミネラル代謝ホルモンの不均衡は慢性腎疾患で典型的に観察される。それらは、一般に心不全を結果的にもたらす血管石灰化、脳血管障害、疾患進行の一様な加速、および慢性腎疾患と関連する深刻な骨喪失である腎性骨ジストロフィーなどの幾つかの深刻な二次性合併症の病原体として幅広く認識されている。

#### 【0014】

慢性腎疾患は通例、何年もかけて末期腎疾患（ESRD）に進行し、その場合患者は生き続けるために透析または腎移植を必要とする。疾患進行の過程において、Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTHの不均衡は徐々に進展する。腎臓による減退する濾過機能のために、PO<sub>4</sub>の血清レベルが最初に上昇する傾向にある。PTHは腎尿細管でのPO<sub>4</sub>の再吸収に対する阻害活性を有するので、そのようなPO<sub>4</sub>上昇を防ぐために、より多くのPTHが分泌される。これは通常、二次性副甲状腺機能亢進症として周知である。ひとたび上昇したレベルのPTHが血清PO<sub>4</sub>上昇を防ぐのに不十分になると、血清PO<sub>4</sub>レベルが顕著に上昇し始める（高リン血症）。この過程と共に、より高いPTHがCaの腎再吸収および骨吸収を増大させ、それによって血清Caレベルが押し上げられる。これらの事象の全ての結果として、慢性腎疾患患者は、高リン血症、高い血清カルシウム-リン（Ca・P）積、副甲状腺機能亢進症、および腎性骨ジストロフィーを典型的に示す。

#### 【0015】

したがって、損なわれた骨格代謝（すなわち、腎性骨ジストロフィー）を処置するだけでなく、Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTHの血清レベルを正常化することも、これらの患者における臨床的必要性である。

#### 【0016】

慢性腎疾患患者における合併したCa、PO<sub>4</sub>、およびPTH不均衡に対処するために、幾つかの治療化合物が開発および使用されている。高リン血症を制御するために、炭酸カルシウム、酢酸カルシウム（PhosLo）、塩化セベラマー（Renagel（登録商標））、および炭酸ランタン（Fosrenol）などの「リン酸結合剤」が開発された。しかしながら、これらの薬物は、それらが血流の中に吸収される前に、腸で食物中のPO<sub>4</sub>にただ結合するだけである。それらはある程度の効果を実際に示すが、少なくとも数週間は食事のたびに摂取する必要がある大量の丸薬のせいでの投薬遵守は低い。患者が投薬遵守する場合であっても、血清リン酸レベルの低下は通常最低限である。

#### 【0017】

PTHを制御する少数の治療薬が開発されまたは開発中である。Cinacalcetなどのカルシウム受容体アゴニストは副甲状腺上のカルシウム受容体に結合し、ならびにPTHの産生および分泌を低下させる。しかしながら、カルシウムアゴニストは血清リン酸の低下に効果的ではない。

#### 【0018】

同じ問題に対処するために、ビタミンD<sub>3</sub>およびその誘導体が慢性腎疾患患者で幅広く用いられている。しかしながら、それらは時に腸でのCa吸収を刺激し、およびそれらの過度の使用は時に、骨代謝回転がほぼ完全に停止しつつ骨が再構築されることがない動的な骨疾患を引き起こす。

10

20

30

40

50

**【 0 0 1 9 】**

したがって、PTHレベルを低下させる一方で、リン酸およびカルシウムレベル両方に対処し得る治療薬は、慢性腎疾患のある患者を含む幅広い範囲の患者に対する独特でかつ極めて望ましい治療であると考えられる。

**【 0 0 2 0 】**

【非特許文献 1】Genomics 67 54 2000

【非特許文献 2】Bone 34 303-319 2004

【非特許文献 3】JCEM 86 497-500 2001

【非特許文献 4】Current Opinion in Nephrology and Hypertension 11 423-430 2002

【非特許文献 5】Hilfiker, PNAS 95(24)(1998), 14564-14569

10

【非特許文献 6】Am J Physiol Renal Physiol. 2005 Feb ; 288(2) : F363-70

【非特許文献 7】J Clin Invest. 2003 Sep ; 112(5) : 785-94

**【発明の開示】****【 0 0 2 1 】****本発明の詳細な説明**

本方法を記載する前に、本発明は、そのようなものが、勿論、様々であり得るように、記載される特定の方法に限定されるわけではないということが理解されるべきである。本発明の範囲は付随する特許請求の範囲によってのみ限定されるので、本明細書において使用される術語は特定の態様のみを記載するという目的のためのものであり、かつ限定的であることが意図されないということもまた理解されるべきである。

20

**【 0 0 2 2 】**

値の範囲が提供されている場合、その範囲の上限と下限の間の、文脈上明らかにそうでないように指示されない限りは下限の単位の10分の1までの、各々の介在値もまた具体的に開示されるということが理解される。任意の述べられた値または述べられた範囲内の介在値と任意のその他の述べられた値またはその述べられた範囲内の介在値の間の各々のより小さい範囲が本発明の中に含まれる。これらのより小さい範囲の上限および下限が範囲内に独立に含まれまたは除かれてもよく、ならびに述べられた範囲内の任意の具体的に除かれた限度を条件として、どちらかの限度がより小さい範囲内に含まれ、どちらの限度もより小さい範囲内に含まれず、または両方の限度がより小さい範囲内に含まれる場合の各々の範囲もまた本発明の中に含まれる。述べられた範囲が1つまたは両方の限度を含む場合、それらの含まれた限度のどちらかまたは両方を除く範囲もまた本発明の中に含まれる。

30

**【 0 0 2 3 】**

そうでないように定義されない限り、本明細書において使用される全ての技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書において記載されるものと同様または同等の任意の方法および材料を本発明の実施または試験において用いることができるが、可能性がありかつ好ましい幾つかの方法および材料をこれから記載する。それに関連して刊行物が引用される方法および/または材料を開示および記載するために、本明細書において記述される全ての刊行物は参照によって本明細書に組み入れられる。本開示は、矛盾がある程度まで、組み入れられる刊行物の任意の開示に優先するということが理解される。

40

**【 0 0 2 4 】**

本明細書においておよび付随する特許請求の範囲において使用される場合、単数形の「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、文脈上明らかにそうでないように指示されない限り、複数の指示対象を含むということに留意するべきである。したがって、例えば、「ペプチド(a peptide)」への言及は複数のそのような「ペプチド(peptides)」を含み、ならびに「体液(a body fluid)」への言及は1つまたは複数の体液(body fluids)および当業者に公知のその同等物などへの言及を含む。

**【 0 0 2 5 】**

本明細書において議論される刊行物は本出願の申請日の前にそれらの開示のためにのみ

50

提供される。本発明には先行発明によるそのような刊行物に先行する権利がないという承認として解されるべきものは本明細書において何もない。さらに、提供される刊行物の日付は、独立に確認される必要があり得る実際の刊行日と異なっていてもよい。

#### 【0026】

##### 定義

「処置」、「処置する」という用語、およびそれらと同様の用語は、所望の薬理学的および／または生理学的效果を得ることを通常意味するために本明細書において使用される。効果は、疾患もしくはその症状を完全にもしくは部分的に防ぐという点で予防的であってもよく、ならびに／または疾患および／もしくは疾患に起因する副作用を部分的にもしくは完全に治すという点で治療的であってもよい。本明細書において使用される場合の「処置」という用語は、哺乳動物、特にヒトにおける疾患の任意の処置に当てはまり、および：(a) 疾患に罹りやすい可能性はあるが、まだそれを有すると診断されていない対象において疾患が生ずるのを防ぐ工程；(b) 疾患を阻害する工程、すなわちその進展を止める工程；または(c) 疾患を緩和する工程、すなわち疾患の退行を引き起こす工程を含む。本発明は、リン酸代謝の障害に関する医学的状態がある患者を処置することに向けられている。したがって、本発明の処置は、カルシウム、リン酸、またはPTH障害に関連した任意の医学的状態を防ぎ、阻害し、または緩和する工程を伴うと考えられる。

10

#### 【0027】

本発明の処置の方法は、X連鎖低リン酸血症性くる病(XLH)、常染色体優性くる病(AD R)、および発癌性低リン酸血症性骨軟化症(OHO)とも称される腫瘍誘導性骨軟化症(TIO)などの希少疾患を処置する工程を含む。本発明の方法は、極めて低い血清PO<sub>4</sub>レベルと関連する様々な形態の低リン酸血症を処置する工程および尿中へのPO<sub>4</sub>の過度の漏出と関連するリン酸塩尿症を処置する工程を含む。本方法は、CaおよびPTHの血清レベルは正常の範囲内であるが、循環における極めて低いレベルのカルシトリオールを処置する工程および骨軟化症を処置する工程を含む。

20

#### 【0028】

本発明に従う処置は、Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTHのいずれかまたは全てのレベルを任意の様式でモニタリングし、測定し、および／または決定し、ならびにその後本発明の製剤を投与する工程を含むことができ、ならびにCa、PO<sub>4</sub>、およびPTHの全てまたはいずれかのレベルをその後再びモニタリングし、測定し、および／または決定し、ならびにその後製剤を同じ量で再投与しならびに／または該レベルの全てもしくはいずれかの最初の投与の効果を決定するために再測定したレベルに基づいて量を調整し、およびその結果それに従って投薬を調整する工程をさらに含んでもよい。本明細書において記載される測定および投与する方法工程は、必要に応じて、数日、数週、数か月、または数年の期間にわたって繰り返すことができる。測定は、血液、尿、もしくは任意の体液、または組織に対してあってもよい。

30

#### 【0029】

「治療的有効量」によって、患者における疾患もしくは障害の1つもしくは複数の症状をある程度緩和し；または疾患もしくは障害と関連しもしくは疾患もしくは障害の原因となる1つもしくは複数の生理学的もしくは生化学的パラメータを部分的にかもしくは完全にかのいずれかで正常に復帰させる量が意味される。したがって、治療的有効量は、疾患または障害の発病の可能性を予防的に減少させるのに有効な量であることができる。治療的有効量は、投与前に測定しつつ測定後に測定した後にCa、PO<sub>4</sub>、および／またはPTHのレベルに対する治療的に意味のある効果を有することを示す量であってもよい。

40

#### 【0030】

##### 発明全般

本発明は、現在理解されている生理学的機構とは全く異なる様式で副甲状腺ホルモン(PTH)の代謝を制御する方法に関する。本発明の特定の態様の1つにおいて、PTHの循環レベルを制御する新しい方法を提示する。本発明の態様に従って、製剤は担体ならびに配列番号：2、3、5、6、8～13より選択されるペプチドおよび少なくとも51アミノ酸から構成

50

される任意の生物学的に操作可能なその分画から構成される。別の態様において、Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTHの全てまたはいずれかのレベルを決定するために、患者の体液（例えば、血清および／または尿）を検査する。製剤を投与し、かつ適当な期間の後、Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTHの全てまたはいずれかのレベルについて患者の体液を再び検査する。最初の処置の後に得られるレベルを決定した後に、投薬の調整が必要となる場合がある。その後、製剤の反復投与をしながら処置を続け、その後レベルを検査し、必要に応じて投薬を調整し、および再び製剤を投与する。投薬、検査、服薬の調整、および最投薬の頻度は、必要に応じて介護士が決定することができる。

#### 【0031】

Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTHのホメオスタシスを取り巻く現在の理論

10

CaおよびPO<sub>4</sub>はヒトの身体において健康的な機能を維持するために極めて重要なミネラルである。哺乳動物において、Caの血液レベルは8.5～11mg/dLの範囲で厳密に維持され、かつ成熟した大人におけるリン（P）の血液レベルは2.7～4.5mg/dLの範囲である。

#### 【0032】

人間が普通の食事を取る場合、尿中のカルシウムの期待される量は100～300mg / 日であり、および尿中のリン酸の正常レベルは900～1300mg / 日である。これらのミネラルの血液濃度がそれらの正常範囲の外に出ると、幾つかの健康問題が生じる。例えば、高カルシウム血症（高過ぎるCaレベル）は、時に癲癇を引き起こし、および高カルシウム血症の極端な場合には昏睡状態または死を引き起こすニューロンにおける活動亢進を典型的に引き起こす。過度のリン酸濃度は、骨再構築を損なう骨芽細胞（骨形成細胞）のアポトーシスを引き起こすことが公知である。高リン酸血症（高過ぎるリン酸レベル）は、アテローム性動脈硬化症、高血圧症、心不全、脳卒中などの様々な心臓血管および脳血管疾患を結果的にもたらす、過度のリン酸及びカルシウムによって形成される不溶性塩類の堆積による血管石灰化を典型的に引き起こすことも公知である。低リン酸血症（異常に低いリン酸レベル）は通常骨再構築を損ない、および正常ではまだ成長していると考えられる若い患者において成長遅滞を引き起こす。

20

#### 【0033】

数十年間受け入れられている内分泌学の現在の理論によると、PTH、カルシトリオール、およびカルシトニンなどの内在性ホルモンはCaおよびPO<sub>4</sub>のホメオスタシスを調節する際に主要な役割を果たす。これらの中で、PTHがホメオスタシスを調節するのに中心的な役割を果たすと考えられている。

30

#### 【0034】

PTHの本来の機能は哺乳動物におけるCaホメオスタシスを維持することである。Caが糸球体で一度受動的に濾過された後に、PTHは腎尿細管での尿から血清へのCaの能動的再吸収を刺激する。PTHは腎尿細管細胞に発現するその受容体に結合し、タンパク質キナーゼA（PKA）を含むタンパク質キナーゼを上方調節し、およびそれによって細胞におけるcAMPを上方調節し、ならびにCa再吸収を増大させる。PTH検査に対する参照範囲は実験室によって幾分異なり、およびカルシウムの結果との関連において解釈されなければならない。以下の範囲が典型的である：インタクトなPTH：10～65pg/mL、（インタクトなPTHを含む）PTH N末端：8～24pg/mL、（C末端、インタクトなPTH、および中間分子を含む）PTH C末端：50～330pg/mL。

40

#### 【0035】

PTHはまた、その受容体ならびにPKAおよびその他のキナーゼを介するシグナリングカスケードを通じて骨芽細胞に影響を及ぼす。骨格細胞が循環PTHに絶えず曝露される生理学的条件では、PTHによって刺激された骨芽細胞が今度は破骨細胞を刺激して骨吸収を加速させる。全体として、より多くのCaが骨格組織から循環中に放出される場合に、PTHは全体の骨代謝回転を加速させる。

#### 【0036】

腎尿細管および骨格組織におけるこれらのホルモン機能を組合せて、PTHはCa血液レベルを増大させる。

50

## 【0037】

副甲状腺はPTH産生レベルを調節するための機構を有する。これらの腺は、Ca受容体またはCaセンサーと呼ばれる、Caの循環レベルを検出することができるセンサー分子を発現している。高いCaレベルが検出された場合、副甲状腺はそれらのPTH産生を下方調節する。低いCaレベルが検出された場合、PTH産生は増大する。このように、副甲状腺は、循環Caレベルに基づいてPTHの産生および分泌を調節し、ならびにCaホメオスタシスを維持する。

## 【0038】

PTHはまた、PO<sub>4</sub>ホメオスタシスに寄与する。PTHは腎臓の遠位尿細管におけるPO<sub>4</sub>の再吸収を阻害することが公知である。PTHは尿細管細胞上のその受容体に結合し、PKAを介するカスケードを活性化し、尿細管細胞上のナトリウム依存性リン酸共輸送体(NaPi)の量および/または活性を低下させ、ならびにそれによってPO<sub>4</sub>再吸収を阻害する。すなわち、PTHはPO<sub>4</sub>の血清レベルを低下させる。

10

## 【0039】

詳細な機構はまだ理解されていないが、副甲状腺は、それらのPTH産生を調節するために、循環PO<sub>4</sub>レベルを検出することが可能であるようと思われる。循環PO<sub>4</sub>レベルが上昇したままである場合、副甲状腺は、血清PO<sub>4</sub>レベルを低下させるはずである、より多くのPTHを産生する。

## 【0040】

要約すると、相互に調節する機構がPTHとCaおよびPO<sub>4</sub>などのミネラルの間に存在する。したがって、これらの分子の生理学的レベルを変化させるための方法論はこれらの相互に関連した機構を考慮に入れなければならない。

20

## 【0041】

PTH調節についての現在の方法論

CaおよびPO<sub>4</sub>代謝を調節するという目的のために、今まで少数の方法が提示されている。

## 【0042】

ある方法に従って、副甲状腺上のCa受容体を修飾し、およびアゴニストまたはアンタゴニストとして作用する合成分子が開発されている。アゴニストはまるで循環Caレベルが高いかのように副甲状腺にシグナルを送り、およびそれによってPTH産生を低下させる。アンタゴニストは反対のシグナルを送り、PTH産生を増大させる。

30

## 【0043】

アゴニストは過度のPTH分泌を結果的にもたらす状態を処置する際に有用である。Caアゴニストである、Censaparは、慢性腎疾患における二次性副甲状腺機能亢進症を処置するための治療薬として承認されている。PTHによる骨組織のパルス様刺激により骨形成が促進され、および短い半減期のCaアンタゴニストのパルス様投与により副甲状腺によるPTHのパルス様産生が引き起こされ得るということが公知であるので、アンタゴニストが骨喪失を処置するために開発されているところである。

## 【0044】

別の方法はPTHに選択的な抗体を用いる工程を伴う。そのようなものとして、抗体は、副甲状腺機能亢進症状態を処置するために循環PTHを選択的に中和する。

40

## 【0045】

多くの場合、PTH調節からの究極的な恩恵はCa代謝および/または骨代謝回転を修飾することである。しかしながら、PTHはPO<sub>4</sub>代謝にも影響を及ぼし、かつPTHそれ自体が、それぞれ、CaおよびPO<sub>4</sub>によって調節されるので、PTHを調節するための現在利用可能な方法論は、現在理解されている機構によって制限されている。

## 【0046】

CaおよびPO<sub>4</sub>代謝の伝統的理

上記のように、PTHは腎尿細管においてCa再吸収を増大させ、かつPO<sub>4</sub>再吸収を減少させ、その結果Caの血清レベルを増大させ、かつ血清PO<sub>4</sub>を減少させる。PTHはまた、骨組織か

50

らCaを動員して血清Caレベルを増大させる。PTHレベルが極めて低い場合、血清Caレベルは著しく低下し、およびPTHによるより少ない阻害のために尿から血清中へのPO<sub>4</sub>の再吸収は増大する。このように、CaおよびPO<sub>4</sub>は常に反対方向に移動すると通常信じられている。特に、CaおよびPO<sub>4</sub>両方の血清レベルを同時に低下させることは実質的に不可能であると考えられている。さらに、内分泌学の現在の理解に基づくと、3つ全て(Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTH)を同時に制御することがあり得ることとは考えられていない。

#### 【0047】

##### fosfatotinin 酸調節ホルモン

80年代以降、PO<sub>4</sub>代謝を主に調節する1つまたは複数の内在性分子があり得るという仮説がある。仮想分子には、「fosfatotinin」という遺伝子名が与えられ、および幾つかのグループが本分子を単離しようと試みた。10

#### 【0048】

少数の新規分子が過去2、3年で同定され、および血清PO<sub>4</sub>レベルを調節することが分かった。これらの分子は「fosfatotinin」(米国特許第6,818,745号)と称されてもよく、ならびにMEPE、FGF-23、およびFRP-4からなった。それらの全てが、CaまたはPTHの血清レベルに影響を及ぼすことなく、PO<sub>4</sub>の血清レベルを低下させるように思われた。

#### 【0049】

これら3つの分子の全てが、極めて低い血清PO<sub>4</sub>レベル、極めて低いビタミンD<sub>3</sub>レベル、および骨軟化症だが、正常レベルの血清CaおよびPTHによって典型的に特徴付けられる希少疾患から同定されまたは該疾患と相互に関連付けられた。これらの「fosfatotinin」の候補分子と相互に関連付けられた疾患におけるこれらの臨床的観察はまた、それらがCaまたはPTHに影響を及ぼすことのない主要でかつ選択的なPO<sub>4</sub>の調節因子であるということを強く示唆した。20

#### 【0050】

Caを増大させることなくPO<sub>4</sub>を制御する方法を提示するように思われたので、Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTHの調節に関する伝統的理解と比較して、「fosfatotinin」の発見は前進であるように思われた。

#### 【0051】

しかしながら、CaおよびPO<sub>4</sub>を同時に制御することまたはCa、PO<sub>4</sub>、およびPTHの全てを制御することはまだ達成されていなかった(米国特許第6,673,900号参照)。30

#### 【0052】

##### PTHの制御

本発明のある態様は、PTHの血清レベルを制御するための方法を開示および記載する。本方法は、体液中のPTHの測定と共に短い期間に、例えば24時間の内に、1回または複数回MEPE分子から構成される製剤を対象に投与する工程によって特徴付けられる。投与の方法または経路は、静脈内、皮下、腹腔内、もしくはその他の様式の注射、吸入、噴霧、鼻スプレー、もしくはその他の形態のエアロゾル、または経口、局所、座薬、およびその他の投与経路用の任意のその他の製剤のいずれかであることができ、ならびに測定は投与の時点の前、間、および後であってもよい。

#### 【0053】

処置されている患者は任意の哺乳動物であってもよく、およびMEPE分子は(配列番号:1、2、4、5、7、8、10、もしくは12)より選択される複数の配列のうちの1つの配列または生物学的に活性がありかつfosfatotinin(phosphotonin)活性を有するという点で活性のある全長分子のアミノ酸配列と実質的に同等である少なくとも51の連続的なアミノ酸を含むその機能的断片のうちの1つであってもよい。これらの分子のいずれかを、ペグ化、グリコシル化、および/またはリン酸化することができる。注射の時間および頻度は、0~168時間の期間にわたる1回、2回、または数回を含むが、これらに限定されない、任意の回数であることができる。投与の時点の各々またはいずれかの前、間、または後に、Ca、PO<sub>4</sub>、またはPTHの全てまたはいずれかのレベルを測定する工程を実行することができる。より長い期間PTHの血清レベルを保持するために168時間よりもずっと長い期間MEPE分子4050

を投与することもまた本発明の範囲内である。投与の頻度を低下させかつ測定を行なう頻度を低下させるために、投与されるMEPEは持続放出製剤の中にあることができる。

#### 【0054】

副甲状腺ホルモン(PTH)レベル、リン酸レベル( $\text{PO}_4$ )、およびカルシウムレベル(Ca)の全てまたはいずれかを制御するための方法を開示する。本方法は、患者におけるPTH、 $\text{PO}_4$ 、およびCaのレベルの全てまたはいずれかを測定し、その後フォスフォトニン活性を有する治療的有効量のアミノ酸配列を患者に投与する工程を含む。配列は、配列番号：2、3、5、6、または8～13を有してもよく、および51またはそれより多くのアミノ酸を含んでもよい。患者の効果的な処置を実行するために、測定および投与の工程を任意の期間にわたって任意の回数繰り返してもよい。

10

#### 【0055】

本発明の別の局面は、上記の特定の方法を含むここに記載されたような方法との関連において使用するために製造される製剤である。本製剤は、担体と組み合わせて本明細書において記載された種類のフォスフォトニン活性を有するペプチドを含んでもよく、その担体は吸収可能なコラーゲンスポンジを含む本明細書において記載されたような注射可能な担体またはその他の種類の担体であってもよい。患者に対して実行されている特定の処置に応じて、特定の種類の担体を選択してもよい。特定の方法論を実行する際に使用するための製剤を開示する。さらに、処置の特定の方法を実行する際に使用するための製剤の製造を開示する。

20

#### 【0056】

実施例1および図1は、遺伝子改変された大腸菌(E.coli)またはチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞によって作られた組み換えヒトMEPE(rhMEPE)の薬物動態を示す。示されたように、大腸菌およびCHO両方が作ったrhMEPEは、循環における比較的短い保持を示した。

#### 【0057】

実施例2および図2は、 $\text{PO}_4$ の血清レベルに対するrhMEPEの効果を表す。先行技術(米国特許第6,673,900号、Bone 32(2) 303-319, 2004)で既に示されたように、齧歯類へのrhMEPEの投与によって $\text{PO}_4$ の血清レベルは低下した。

30

#### 【0058】

同じ実施例(実施例2)の図3は、PTHの血清レベルが、4～24時間のような限定された時間でのi.v.またはi.p.経路によるMEPE分子の複数のボーラス注射によって低下する傾向にあるということを示す。これらの結果の前、PTHは調節することが困難であると考えられていた。特に、MEPEが骨またはTIO腫瘍細胞によって過剰産生されると考えられているXLHまたはTIO腫瘍の患者においてPTHの血清レベルが通常は正常であるという事実に基づくと、これは特筆すべき観察であった。

#### 【0059】

以前にMEPEは、血清 $\text{PO}_4$ レベルを低下させると考えられたが、PTHレベルに影響を及ぼしまたは特にPTHレベルを低下させるとは考えられていなかった、フォスファトニンの候補としてTIO腫瘍から同定およびクローニングされた。

40

#### 【0060】

この観察をさらに検証するために、ペグ化された形態の大腸菌産生rhMEPE(PEG-MEPE)を検査した。実施例3および図4は、PEG-MEPEの非常に長い半減期を示した。ラットでおよそ3.5分の循環半減期を示した大腸菌またはCHOが作ったrhMEPEと比較して、PEG-MEPEの半減期は同じモデルで約11時間まで延長された。

#### 【0061】

したがって、実施例4の中の図5で表されたように、rhMEPEのペグ化によって、24時間以上の間、それが循環に留まことが可能になった。同じ実施例4の中の図6が示すように、PEG-MEPEの単回ボーラス注射を受けた動物における血漿PTHレベルは、PTHの血漿レベルを低下させる傾向を示した。

#### 【0062】

50

実施例5によって示されたように実験期間が72時間まで延長された場合、PTHの血漿レベルは、対照（実施例8参照）と比較して、用量依存的でかつ統計的に有意な低下を明らかに示した。その最高の用量での0時間における単回ボーラス注射の72時間後に、PEG-MEPEが依然として循環に留まるということも確認された（図7参照）。

## 【0063】

要約すると、動物へのMEPE分子の投与はPTHの循環レベルを低下させる際に効果的であるということが初めて思いがけなく示された。

## 【0064】

Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTHの同時制御

本発明の別の態様において、それによってCaおよびPO<sub>4</sub>の血清レベルを測定し、ならびに短い期間、例えば24時間未満の内に（間欠的な測定と共に）1回または複数回、MEPE分子から構成される製剤を投与することによって同時に低下させる、方法を開示および記載する。

10

## 【0065】

MEPEは「フォスファトニン」として理解され、かつ血清PO<sub>4</sub>レベルを低下させることが公知であったが、血清Caレベルを同時に低下させることは公知ではなかった。

## 【0066】

身体の自然なホメオスタシスは、一方が上昇すると他方が下落し、および一方が下落すると他方が上昇するものであったという本分野における一般的理解がある。したがって、CaおよびPO<sub>4</sub>両方の血清レベルの同時低下は新規でかつ思いがけない達成である。AE Broadusによる「Primer on Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism」の第5版の中の第16章、Mineral Balance and Homeostasis, 105-111頁, 2003. 編者MJ Favus. ASBMR出版, Washington DCを参照されたい。

20

## 【0067】

実施例2における結果の一部であった図9は、rhMEPE投与によってPTHレベルが低下する（図3）についてCaの血清レベルが低下した結果を示す。

## 【0068】

PTHの重要な生物学的機能のうちの1つはCaの血清レベルを調節することであるということが公知であるので、この実験における血清Caレベルの観察された低下は、血漿PTHレベルの低下の後に続くために、自然であるように思われた。しかしながら、PTHおよびCaの低下がPO<sub>4</sub>の血清レベルの低下と同時に生じる（図2）という事実は、達成することが極めて難しいと考えられていたために、驚くべき観察であった。

30

## 【0069】

図2、3、および9によって示された結果を組み合わせて、Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTHの循環レベルの同時低下がMEPE分子の投与によって達成された。

## 【0070】

加えて、MEPEは腸細胞において、血清PO<sub>4</sub>レベルの低下に寄与していたはずであるナトリウム依存性リン酸共輸送を阻害することが分かった。「フォスファトニン」の仮定された活性は、腎臓PO<sub>4</sub>再吸収を阻害することによって血清PO<sub>4</sub>レベルを制御することであったので、フォスファトニンのこの腸の活性もまた新たな知見であった。

40

## 【0071】

PTHレベルが減少する場合、ナトリウム依存性リン酸共輸送は増大するはずであるので、伝統的理論に従うと、PTHはそのような輸送を阻害することが公知であるので、これらの観察はミネラルおよびPTHホメオスタシスの新規の機構を示唆している。

## 【0072】

このように、MEPEは「フォスファトニン」のその予期された活性としてナトリウム依存性リン酸共輸送を低下させる腎尿細管細胞に直接的に影響を及ぼす一方で、MEPEはまたその「フォスファトニン」活性とは独立した機構でPTHの血清レベルを低下させ、およびそれによってCaの血清レベルも低下させるように思われる。

## 【0073】

50

### 処置の方法

本発明はまた、Ca、PO<sub>4</sub>、および／またはPTHの代謝不均衡だけでなく、そのような不均衡によって直接的または間接的に引き起こされるその後の臨床的问题にも苦しむ患者を処置する方法に関する。

#### 【0074】

本発明の別の態様は、副甲状腺機能亢進症を処置する方法を提供する。本方法は、MEPEから構成される製剤を副甲状腺機能亢進症に罹患している患者に投与する工程によって特徴付けられる。

#### 【0075】

また別の態様において、MEPEの投与により循環PTH、Ca、およびPO<sub>4</sub>レベルを同時に低下させることによって抗リン血症および副甲状腺機能亢進症を同時に処置する方法が開示される。別の態様において、著しく腎患者の利益になると考えられる、MEPE投与により血液中のCa-P積を低下させることによって心臓血管疾患を処置および／または予防し、それによって血管の過度の石灰化を低下させる方法が開示される。さらに、PTHは、Caと共に、心臓血管の死亡率を増大させるのに重要な役割を果たすということが最近示された。Calcium, calcium regulatory hormones, and calcimimetics : impact on cardiovascular mortality. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Apr ; 17 (4 Suppl 2) : S78-80を参照されたい。MEPEの投与はそのような状態をより広範囲に改善すると考えられる。

10

#### 【0076】

本発明の別の方法において、血清中のPTH、Ca、およびPO<sub>4</sub>の全てを同時に低下させ（腎患者にとって理想的）、ならびに（腎性骨ジストロフィーおよびその他の骨疾患を処置するために）Caを骨の中に取り込むことによって骨再構築を得るためにMEPEを投与する。これらの方法の全てまたはいずれかは、Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTHの全てまたはいずれかのレベルを測定することによって実行することができ、ならびに様々な時点でなされた測定に基づいて投薬を調整する工程をさらに含んでもよい。したがって、処置の任意の所望の期間にわたって任意の順序および回数で、投薬、測定、投薬の調整、および測定を繰り返すことができる。

20

#### 【0077】

### 投与の方法

投与の方法または経路は、静脈内、皮下、腹腔内、筋肉内、皮内、経口、または局所のいずれかであることができる。経口投与は、錠剤、カプセル、シロップ、エリキシル、または持続放出組成物を利用してよい。局所投与は、フォーム、ジェル、クリーム、軟膏、経皮パッチ、またはペーストを含んでもよい。好適な服薬形態は使用または侵入の経路による。製剤は、懸濁、溶液、またはエマルジョンの中にあってもよく、および懸濁薬剤、安定薬剤、および／または分散薬剤などの薬剤を含有してよい。分子の投与を容易にするために、担体または賦形剤を用いることもできる。担体の例として、ラクトース、グルコース、もしくはスクロース、またはでんぷんの種類などの様々な糖、セルロース誘導体、ゼラチン、植物油、ポリエチレングリコール、および生理学的に適合する溶剤が含まれる。配列番号：2、3、5、6、8～13のいずれかの51アミノ酸から構成される生物学的活性断片をこれらの担体のいずれかまたはrhBMPと共に販売されているあのACSを含む任意の種類の吸収可能なコラーゲンスポンジ（ACS）などのその他の担体に添加することができる。

30

#### 【0078】

### Ca、PO<sub>4</sub>、およびPTHレベルを測定する方法

血液または尿分析などの、標準的な医療技術によって、カルシウム、PO<sub>4</sub>、およびPTHレベルを診断することができる。例えば、体液中のカルシウムおよびリン酸イオンを測定するための公知の方法として、滴定、測色法、原子吸収法、フレーム光度法、電極法、および酵素法が含まれる。加えて、インタクトなPTHおよびその末端断片を測定するために、2つの検査が典型的に用いられる。C末端PTHアッセイは、二次性および三次性副甲状腺機能亢進症と共に生じるPTH代謝の進行中の変化を診断するのに用いられる。同時に両方測定

40

50

される、インタクトなPTHおよびN末端断片についてのアッセイは、PTHの突然の変化を検出する際により正確である。カルシウム、PO<sub>4</sub>、およびPTHレベルを測定するための代表的な方法として、その開示が参考により本明細書に組み入れられる；米国特許第6,521,460号；第6,387,646号；ならびに米国特許出願第20050191664号；第20050130321号；および第20030174802号に記載された方法だけでなく、Liesener et al., Anal Bioanal Chem. 2005 Aug ; 382(7) : 1451-64 ; Clin Chim Acta. 2005 July 1, 357(1) : 43-54 ; Clin Lab. 2005 ; 51 (1-2) : 31-41も含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0079】

##### 実施例

以下の実施例は、本発明をどのように作製および使用するかということについての完全な開示および記載を当業者に提供するために提案され、ならびに本発明者らが彼らの発明と見なすものの範囲を限定するよう意図されるものでもなければ、以下の実験が実施される全てもしくは唯一の実験であることをそれらが表すよう意図されるものでもない。使用される数（例えば、量、温度など）に関して正確性を保証するために努力がなされるが、幾つかの実験誤差および偏差が説明されるはずである。そうでないように指示されない限り、部分は重量部分であり、分子量は重量平均分子量であり、温度は摂氏温度であり、および圧力は大気圧下または大気圧付近である。

#### 【0080】

##### 実施例1：大腸菌およびCHO細胞によって產生されたrhMEPEの薬物動態プロファイル

それぞれ薬物投与および血液採集用の大腿部および頸部カテーテルを挿入することによって、Sprague-Dawleyラット（～300g）を調製した。各々の種類の材料について4匹のラットを用いた。rhMEPEを生理食塩水中で希釈し、および1mg/kgの標的用量を与えるよう注射した（0.5ml）。0、0.5、1、2、5、10、15、および30分で血液を採取した。血液を遠心分離して血漿を採取し、その後アッセイまで-80°で凍結した。MEPEの血漿レベルは、MEPEの合成断片に対して作製されたウサギポリクローナル抗体を利用する競合的ELISAを用いて決定した。これらの条件下で、ELISAは～10ng/mlから1000ng/mlの直線的検出範囲を有する。各々のラット由来の試料を2通りで解析し、およびMEPEレベルを標準曲線から決定した。

#### 【0081】

図1は、両材料がおよそ3.5分というよく似た半減期を有するということを示す。しかしながら、大腸菌材料についてのCmaxが～6500ng/mlであったのに対し、CHO材料についてのCmaxは～16,500ng/mlであった。全体の曝露の指標として、AUCが算出され、ならびにそれぞれ大腸菌について～31,300ng·分/mlおよびCHO材料について～115,400ng·分/mlであることが分かった。

#### 【0082】

##### 実施例2：リン酸および副甲状腺ホルモン（PTH）の血漿レベルに対するrhMEPEの効果

2mg/kgの大腸菌产生rhMEPEを時間0、2時間、および4時間においてSprague-Dawleyラット（～300g）に3回注射した。示されたように、MEPEの注射の前に（時間0）、その後最初の注射の2時間後（2時間の時点）、2回目の注射の後2時間後（4時間の時点）、3回目の注射の2時間後（6時間の時点）、および最後に24または26時間のいずれかにおいて血液を採取した。血清を採取し、およびクレアチニン、PO<sub>4</sub>、およびPTHについて解析した。図2および3は、それぞれ血清クレアチニンおよびPTHに対して標準化した場合のPO<sub>4</sub>血清に対するrhMEPEの効果を示す。

#### 【0083】

それぞれ、図2および3で示されたように、rhMEPEの投与はPO<sub>4</sub>およびPTH成分両方の急速な低下を結果的にもたらす。加えて、rhMEPEの最後の注射の後少なくとも20時間、該レベルは抑えられたままであるように見える。

#### 【0084】

##### 実施例3：ポリエチレングリコール（PEG）にコンジュゲートされた大腸菌rhMEPEの薬物動態プロファイル

10

20

30

40

50

大腸菌発現系を用いてrhMEPEを產生した。その後PEGの付加によってMEPEタンパク質を修飾した。この検討で用いられた材料の平均分子量は~130kDであった。PEG-MEPEを生理食塩水中で希釈し、およびラット(~300g)に1mg/kgの用量で(大腿部カテーテルを通して)IVで投与した。この検討では合計4匹のラットを用いた。その後、注射4時間後までの様々な時点での血液を採集し、および競合的ELISAを用いてMEPEについて解析した。図4は、PEG-MEPEの単回ボーラス注射後の長期にわたるMEPEの血漿濃度を示す。この検討から、PEG-MEPEについての半減期はおよそ10.9時間であるということが決定された。これは、およそ3分という半減期を有していた非PEG-MEPEと比較して、実質的な増強である。これらのデータから、本発明者らは、PEG-MEPEの単回投与が増強された生物学的応答を維持することを期待し得る。

10

#### 【0085】

実施例4：注射24時間後における副甲状腺ホルモン(PTH)の血漿レベルに対するPEG-MEPEの効果

実施例3で記載されたようにPEG-MEPEを調製した。ラット(N=5/群)は、生理食塩水または0.1mg/kgもしくは1.0mg/kg PEG-MEPEのいずれかをIVで注射することが可能であった。注射24時間後に血液を採集し、およびELISAを用いてMEPEレベルについて(図5)または血漿副甲状腺ホルモン、PTHについて(図6)測定した。PEG-MEPEの投与は、0.1および1.0mg/kgの用量でそれぞれ生理食塩水対照のレベルのおよそ3および70倍の検出可能なレベルの血漿MEPEを結果的にもたらした。同じ検討においてPTHの血漿レベルが測定され(図6)、およびPEG-MEPE投与の24時間後に減少することが分かった。したがって、PEG-MEPEの単回投与はPTHを低下させることができ、PTHが今度は血清カルシウムレベルを低減させると考えられる。

20

#### 【0086】

実施例5：注射72時間後における副甲状腺ホルモン(PTH)の血漿レベルに対するPEG-MEPEの効果

実施例3で記載されたようにPEG-MEPEを調製した。ラット(N=5/群)は、生理食塩水または0.1mg/kg、1.0mg/kgもしくは10.0mg/kg PEG-MEPEのいずれかをIVで注射することが可能であった。注射72時間後に血液を採集し、およびELISAを用いてMEPEレベルについて(図7)または血漿副甲状腺ホルモン、PTHについて(図8)測定した。PEG-MEPEの投与は、注射72時間後に、高用量群での実質的レベルの血漿MEPEおよび1mg/kg群での検出可能なレベルを結果的にもたらした。同じ検討においてPTHの血漿レベルが測定され(図8)、およびPEG-MEPE投与の72時間後に用量依存的な様式で減少することが分かった。したがって、PEG-MEPEの単回投与は72時間後にPTHの用量依存的な減少を結果的にもたらす。血漿MEPEのレベルが低用量群で検出されず、および中用量群でやや低かったとはいえ、それでもPTHレベルの減少があったということに留意するには興味深いことである。したがって、MEPEの多くが循環からクリアランスされた後でもPTHレベルに対する効果が持続できるかのように見える。

30

#### 【0087】

実施例6：カルシウムの血漿レベルに対するrhMEPEの効果

実施例2における実験と同じ実験において、同じスケジュールで血液を採集し、および血清をCaについても解析した。図9は、血清クレアチニンに対して標準化した場合の血清Ca+に対するrhMEPEの効果を示す。

40

#### 【0088】

図9で示されたように、rhMEPEの投与は血清Caの急速な低下を結果的にもたらす。加えて、MEPEの最後の注射の後少なくとも20時間、該レベルが抑えられたままであるように見える。

#### 【0089】

実施例2における実験と同じ実験からの結果と組み合わせて、rhMEPEの注射が3つの要素全て、すなわち、PO<sub>4</sub>、PTH、およびCaを同時に低下させるということが示された。

#### 【0090】

50

## 配列リスト

全長配列については、その後のPeter Roweの刊行物と一緒にその中に引用された特許および刊行物と同様に完全な形で参照により本明細書に組み入れられる2004年1月6日に公布された米国特許第6,673,900号を参照されたく、ならびにその中に引用された特許および刊行物と同様に完全な形で参照により本明細書に組み入れられる2005年6月26日に公布された米国特許第6,911,425号を参照されたい。

### 【0091】

ヒトMEPEの全525アミノ酸配列 - 2つの変異体（配列番号：1）

### 【0092】

その全長から16アミノ酸シグナル配列を切り離した後のヒトMEPEの509アミノ酸配列 -  
配列番号：1様の2つの変異体（配列番号：2）

### 【0093】

ヒトMEPEのC末端由来の430アミノ酸配列 - 配列番号：1様の2つの変異体（配列番号：3  
）

### 【0094】

マカクMEPEの全アミノ酸配列（配列番号：4）

### 【0095】

シグナル配列を切り離した後のマカクMEPE（配列番号：5）

### 【0096】

ヒトMEPEの中の配列番号：3に対応するマカクMEPEのC末端部分（配列番号：6）

20

### 【0097】

イヌMEPEの全アミノ酸配列（配列番号：7）

### 【0098】

シグナル配列を切り離した後のイヌMEPE（配列番号：8）

### 【0099】

ヒトMEPEの中の配列番号：3に対応するイヌMEPEのC末端部分（配列番号：9）

### 【0100】

ラットMEPEの全アミノ酸配列（配列番号：10）

### 【0101】

シグナル配列を切り離した後のラットMEPE（配列番号：11）

30

### 【0102】

マウスMEPEの全アミノ酸配列（配列番号：12）

### 【0103】

シグナル配列を切り離した後のマウスMEPE（配列番号：13）

### 【0104】

前述は、本発明の原理を単に例示しているに過ぎない。本明細書において明白に記載されまたは示されていないが、本発明の原理を具体化し、かつその精神および範囲内に含まれる様々な装置を当業者が考案することができるということが正しく理解されると考えられる。さらに、本明細書において列挙された全ての実施例および条件的言語は、当技術分野を進歩させるために本発明者らが貢献した本発明の原理および概念を理解するのを手助けすることが主として意図され、かつそのような具体的に列挙された実施例および条件に限定されるわけではないと解されるべきである。その上、本発明の原理、局面、および態様だけでなく、その特定の実施例も列挙した本明細書における記述は、その構造的および機能的同等物両方を包含することが意図されている。加えて、そのような同等物には、現在公知の同等物および将来開発される同等物、すなわち構造に関わらず、同じ機能を果たす任意の開発される要素の両方が含まれるということが意図される。それゆえ、本発明の範囲は、本明細書において示されおよび記載された例示的な態様に限定されないとすることが意図される。それどころか、本発明の範囲および精神は、付随する特許請求の範囲によって具体化される。

40

### 【図面の簡単な説明】

50

## 【0105】

【図1】ラットへの単回注射後の異なる時点での大腸菌またはCHO細胞によって作られた組み換えヒトMEPE (rhMEPE) の血漿濃度を示す。

【図2】rhMEPEを異なる投与スケジュールでマウスに腹腔内注射した場合の異なる時点でのマウスにおけるクレアチニンで標準化したリン酸の血漿レベルを示す。

【図3】rhMEPEを異なる投与スケジュールでマウスに腹腔内注射した場合の異なる時点でのマウスにおけるクレアチニンで標準化した副甲状腺ホルモン (PTH) の血漿レベルを示す。

【図4】ラットへのペグ化したrhMEPE (PEG-MEPE) の単回注射の約8時間後までの異なる時点でのMEPEの血漿濃度を示す。

10

【図5】マウスへの単回注射後24時間の時点でのPEG-MEPEの血漿濃度を示す。

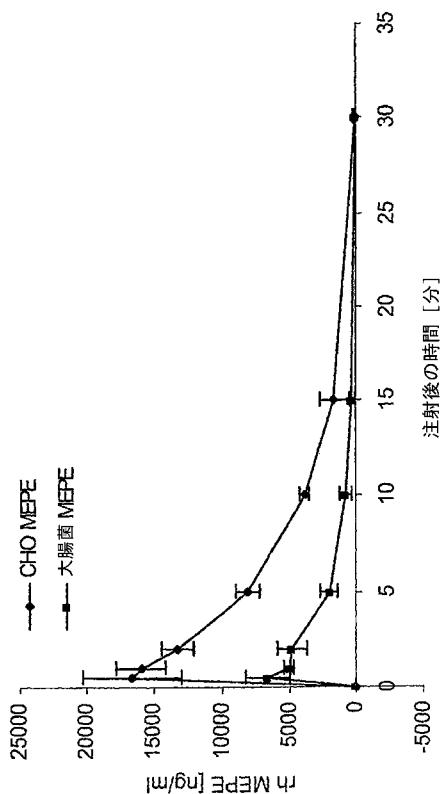
【図6】マウスへのPEG-MEPEの単回注射後24時間の時点でのマウスにおけるインタクトな副甲状腺ホルモン (iPTH) の血漿濃度を示す。

【図7】マウスへのPEG-MEPEの単回注射後72時間の時点でのMEPEの血漿濃度を表す。

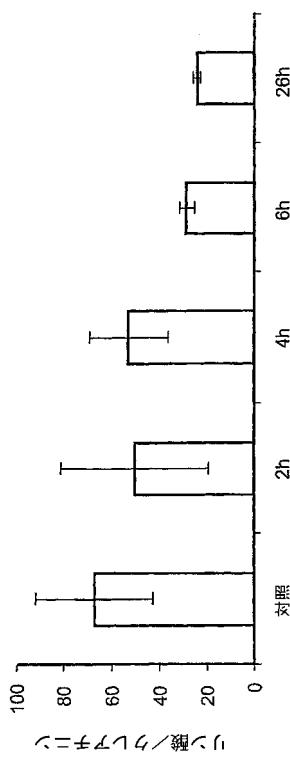
【図8】マウスへのPEG-MEPEの単回注射後72時間の時点でのマウスにおけるiPTHの血漿濃度を示す。

【図9】rhMEPEを異なる投与スケジュールでマウスに腹腔内注射した場合の異なる時点でのマウスにおけるクレアチニンで標準化したカルシウムの血漿レベルを表す。

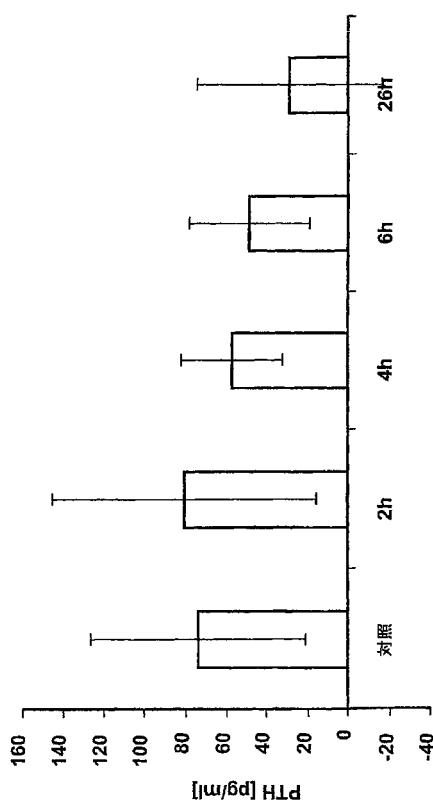
【図1】



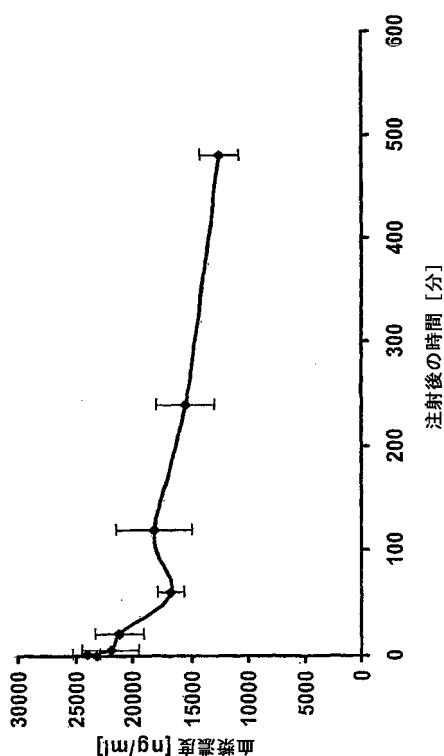
【図2】



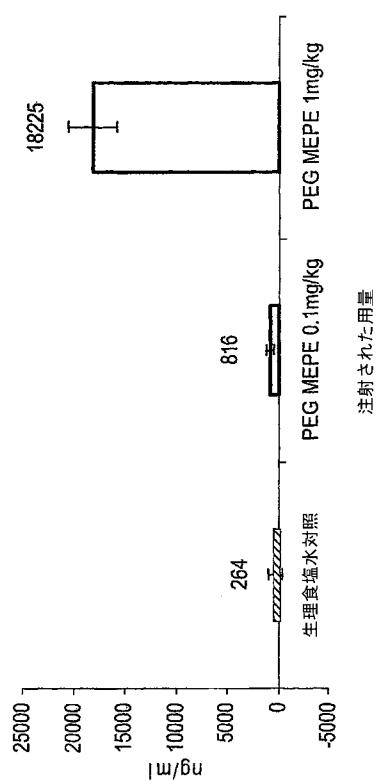
【図3】



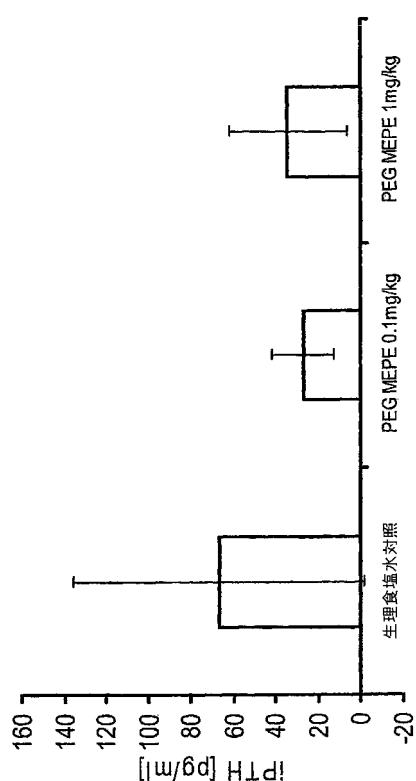
【図4】



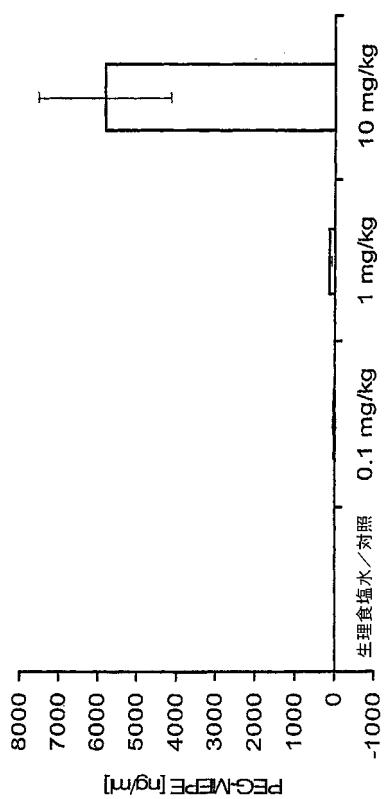
【図5】



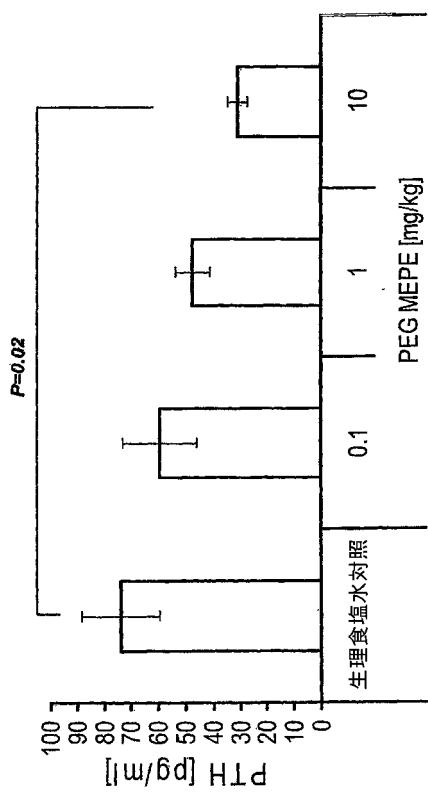
【図6】



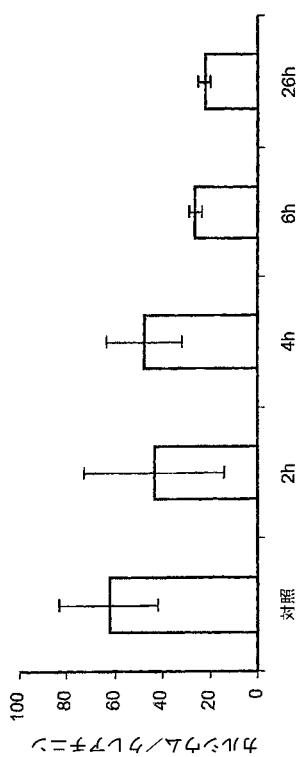
【図7】



【図8】



【図9】



## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 06/33133																					
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - A01N 37/18 (2007.01) USPC - 930/10, 514/2 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																							
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8): A01N 37/18 USPC: 930/10, 514/2																							
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched <i>Nephrol. Dial. Transplant. Vol. 20, pg. 2032-2035, 19 July 2005, J. Bone and Mineral Res., Vol. 18, No. 7, 2003</i>																							
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) USPTO WEST: Databases - PGPB, USPT, USOC, EPAB, JPAB - Google Scholar, PubMed - Terms: parathyroid hormone, PTH, phosphate, phosphatonin, MEPE, reduce, suppress, inhibit, FGF-23, calcium, hyperparathyroid, hyperphosphatemia, calcemia, calcium-phosphorus product																							
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <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="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">US 2003/0175808 A1 (KUROKAWA et al.) 18 September 2003 (18.09.2003) para [0009]; [0044]; SEQ ID NO: 10; abstract; para [0052]; [0018]; [0396]-[0397]; [0059]; [0042]; [0168]; [0256]; claim 42; para [0168]; [0402]; [0263]; [0067]; [0140]; [0053]; [0263]-[0264]; [0033];</td> <td style="padding: 2px;">1-2, 9-10, 12, 20-21, 24-27</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">WEBER et al. "Serum FGF23 Levels in Normal and Disordered Phosphorous Homeostasis" J. Bone and Mineral Res., Vol. 18, No. 7, 2003. abstract</td> <td style="padding: 2px;">3-8, 11, 13, 17-19, 22-23, 28-29</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">RAZZAQUE et al. "FGF-23, vitamin D and calcification: the unholy triad" Nephrol. Dial. Transplant. Vol. 20, pg. 2032-2035, 19 July 2005. pg. 2033, Col. 1, para 2</td> <td style="padding: 2px;">3-8, 11, 13-19, 22-23, 28-34</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">US 2003/0064498 A1 (ROWE) 3 April 2003 (03.04.2003) SEQ ID NO: 27</td> <td style="padding: 2px;">14-19</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;"></td> <td style="padding: 2px;"></td> <td style="padding: 2px;">16, 19</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;"></td> <td style="padding: 2px;"></td> <td style="padding: 2px;">14-16, 30-34</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	US 2003/0175808 A1 (KUROKAWA et al.) 18 September 2003 (18.09.2003) para [0009]; [0044]; SEQ ID NO: 10; abstract; para [0052]; [0018]; [0396]-[0397]; [0059]; [0042]; [0168]; [0256]; claim 42; para [0168]; [0402]; [0263]; [0067]; [0140]; [0053]; [0263]-[0264]; [0033];	1-2, 9-10, 12, 20-21, 24-27	Y	WEBER et al. "Serum FGF23 Levels in Normal and Disordered Phosphorous Homeostasis" J. Bone and Mineral Res., Vol. 18, No. 7, 2003. abstract	3-8, 11, 13, 17-19, 22-23, 28-29	Y	RAZZAQUE et al. "FGF-23, vitamin D and calcification: the unholy triad" Nephrol. Dial. Transplant. Vol. 20, pg. 2032-2035, 19 July 2005. pg. 2033, Col. 1, para 2	3-8, 11, 13-19, 22-23, 28-34	Y	US 2003/0064498 A1 (ROWE) 3 April 2003 (03.04.2003) SEQ ID NO: 27	14-19			16, 19			14-16, 30-34
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																					
X	US 2003/0175808 A1 (KUROKAWA et al.) 18 September 2003 (18.09.2003) para [0009]; [0044]; SEQ ID NO: 10; abstract; para [0052]; [0018]; [0396]-[0397]; [0059]; [0042]; [0168]; [0256]; claim 42; para [0168]; [0402]; [0263]; [0067]; [0140]; [0053]; [0263]-[0264]; [0033];	1-2, 9-10, 12, 20-21, 24-27																					
Y	WEBER et al. "Serum FGF23 Levels in Normal and Disordered Phosphorous Homeostasis" J. Bone and Mineral Res., Vol. 18, No. 7, 2003. abstract	3-8, 11, 13, 17-19, 22-23, 28-29																					
Y	RAZZAQUE et al. "FGF-23, vitamin D and calcification: the unholy triad" Nephrol. Dial. Transplant. Vol. 20, pg. 2032-2035, 19 July 2005. pg. 2033, Col. 1, para 2	3-8, 11, 13-19, 22-23, 28-34																					
Y	US 2003/0064498 A1 (ROWE) 3 April 2003 (03.04.2003) SEQ ID NO: 27	14-19																					
		16, 19																					
		14-16, 30-34																					
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>																							
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed																							
Date of the actual completion of the international search <b>15 September 2007 (15.09.2007)</b>		Date of mailing of the international search report <b>16 Nov 2007</b>																					
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. 571-273-3201		Authorized officer: <b>Lee W. Young</b> <small>PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774</small>																					

## 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 13/12 (2006.01)	A 6 1 K 47/48	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 19/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 19/08 (2006.01)	A 6 1 P 19/10	
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	A 6 1 P 19/08	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 0 7 K 14/47	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
	C 1 2 N 5/00	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,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,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,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,L,C,LK,LR,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,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

(74) 代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(72) 発明者 ハーバーバーガー トマス

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ヘイワード ポイント イーデン ウェイ 3960

(72) 発明者 ローゼン ディビッド

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ヘイワード ポイント イーデン ウェイ 3960

(72) 発明者 熊谷 是成

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ヘイワード ポイント イーデン ウェイ 3960

F ターム(参考) 4B065 AA26X AA90Y AA91X AB01 AC14 BA01 CA24 CA44

4C076 AA11 AA17 AA22 BB11 CC11 CC17 CC30 CC41 EE59 FF11

FF31

4C084 AA01 AA02 AA03 AA16 AA17 BA02 BA42 CA53 DC50 MA66

NA12 NA14 ZA362 ZA812 ZA962 ZA972 ZC022

4H045 AA10 AA20 AA30 BA20 BA57 CA40 DA31 DA50 EA27 FA74