

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5194207号
(P5194207)

(45) 発行日 平成25年5月8日(2013.5.8)

(24) 登録日 平成25年2月15日(2013.2.15)

(51) Int.Cl.

F 1

A 61 K 31/198	(2006.01)	A 61 K 31/198
A 61 K 9/06	(2006.01)	A 61 K 9/06
A 61 K 38/00	(2006.01)	A 61 K 37/02
A 61 P 17/02	(2006.01)	A 61 P 17/02
A 61 L 31/00	(2006.01)	A 61 L 31/00

B

請求項の数 9 (全 14 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2008-525352 (P2008-525352)
(86) (22) 出願日	平成18年8月11日 (2006.8.11)
(65) 公表番号	特表2009-504576 (P2009-504576A)
(43) 公表日	平成21年2月5日 (2009.2.5)
(86) 國際出願番号	PCT/CA2006/001319
(87) 國際公開番号	W02007/016791
(87) 國際公開日	平成19年2月15日 (2007.2.15)
審査請求日	平成21年8月5日 (2009.8.5)
(31) 優先権主張番号	60/707,173
(32) 優先日	平成17年8月11日 (2005.8.11)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	512319863 エーディーイー、セラピューティックス、 インコーポレーテッド A D E T H E R A P E U T I C S, I N C. カナダ国サスカチュワン州、サスカトゥー ン、ダウニー、ロード、ナンバー 19-4 10
(74) 代理人	100117787 弁理士 勝沼 宏仁
(72) 発明者	アデボラ、オー、イー、オバヤン カナダ国サスカチュワン州、サスカツーン 、ペザー、コート、711

審査官 池上 京子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】腹腔内グルタミンによる術後癒着形成の減少

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

薬学上許容可能な担体と、アラニル グルタミンおよびL グルタミンから選択される少なくとも一種のグルタミン源とを含んでなる、術後癒着形成を減少させるための患者治療用の腹腔内投与用組成物。

【請求項 2】

前記組成物がゲルとして処方されている、請求項1に記載の組成物。

【請求項 3】

前記組成物が外科用品に含浸されている、請求項1に記載の組成物。

【請求項 4】

前記外科用品がメッシュである、請求項1に記載の組成物。

【請求項 5】

前記グルタミン源を手術時において腹膜腔へデリバリーするための、請求項1に記載の組成物。

【請求項 6】

請求項1に記載の組成物を含んでなる、埋込型医療器具。

【請求項 7】

請求項1に記載の組成物を含有している、デリバリー器具であって、該器具が、手術時における前記組成物の腹腔内デリバリー用である、デリバリー器具。

【請求項 8】

10

20

アラニル グルタミンおよびL-グルタミンから選択される少なくとも一種のグルタミン源を含んでなる、術後癒着形成を減少させるための腹腔内投与用薬剤。

【請求項 9】

前記グルタミン源がゲル処方物中に存在する、請求項8に記載の薬剤。

【発明の詳細な説明】

【発明の背景】

【0001】

癒着は、腹膜腔内で形成される線維組織の異常沈着である。腹部癒着は小腸閉塞および女性の不妊症の一般的な原因である〔1～3〕。癒着形成は外科手術後に生じる。ところが、それは腹部および骨盤手術後には極めて一般的であり、顕著な病的状態の原因であり続けている。発生率は、一般的な外科腹部手術後での約67%～93%から、開放性婦人科骨盤手術後での約97%にまで及ぶ〔4, 5〕。開腹術をうけたことのある患者の臨床および解剖研究において、腹内癒着の発生率は約70～90%であった〔6〕。手術における補強材としての、吸収性ポリグリコール酸メッシュおよび非吸収性ポリプロピレンメッシュ双方の使用は、癒着形成の高発生率と関連している〔6a, 6b〕。

10

【0002】

術後癒着の形成と関連する要因としては、外傷、熱傷、感染、虚血および異物がある。癒着形成と関連する他の要因として、縫合された腹膜内の張りが虚血および擦過傷を生じる、きつい縫合が挙げられる。手袋由来のタルクおよびパウダー、腹部用パック由来の糸くずまたは使い捨て紙のような異物への暴露も、癒着の形成に係わることがある〔7～9〕。好中球減少は癒着率の低下と関連し、術後癒着を調節する役割を果たしている可能性がある〔10〕。

20

【0003】

腹膜は、疎結合組織に包埋された脂肪細胞と、さらに単核食細胞の集合を主に含んだ、2枚の中皮シートから構成されている。大網は腹膜の最大部分であり、そのサイズは300g～2000gで、300cm²～1500cm²の表面積を有する。網には、腎糸球体との類似するため網糸球体と称される、多くの特徴的な毛細血管の回旋を備えた、豊富な血管の供給がある。これらの毛細血管床は中皮下に直接位置している〔11〕。癒着は、ほとんどが手術後に、腹膜損傷の線維修復の結果として形成されている。

【0004】

30

白濁斑(milky spot)は、20～35週目の妊娠期で、腹膜の大網に特別な構造として発達してくる〔12〕。それらは網糸球体でみられる小体であり、サイズが0.1～2mmであり、裸眼ではほとんどみられず、低倍率下では原綿のふさのようにみえる〔13, 14〕。白濁斑は、血管構造の永続的な糸球体パターン、特別な細胞群および特殊化された中皮ライニング(mesothelial lining)で特徴づけられる。ヒトの場合、白濁斑はマクロファージ(70%)、Bリンパ球(10%)、Tリンパ球(10%)、肥満細胞および間質細胞を含んでなる。1つの白濁斑における細胞の平均数は約600である〔500〕。白濁斑の数は幼時に最高であり、年齢と共に徐々に減少してくる〔12〕。腹部手術から6時間以内に生じる白濁斑の活性化が、癒着形成で役割を果たしている〔16〕。

【0005】

40

成熟網のマクロファージは本質的にスカベンジャーである。それらは白濁斑で単球前駆体から分化するらしく、骨髄由来の前駆体には依存していない〔17〕。それらは形状が樹状であり、顕著な食作用能を有している。それらは注入された炭素粒子および細菌を腹腔内で執拗に貪食する。活性化されると、白濁斑のマクロファージ前駆体は増殖し、中皮表面へ移動して、樹状マクロファージへと変化する。手術後、マクロファージは数が増加し、常在性マクロファージとは異なる機能に変わり、シクロオキシゲナーゼおよびリポキシゲナーゼ代謝産物、プラスミノーゲン活性化因子、プラスミノーゲン活性化因子インヒビター(PAI)などの様々な物質を分泌する〔9, 18〕。これらのマクロファージは新たな中皮細胞を取り込み、それが損傷箇所で増殖してアイランドを形成し(forming islands)、腹膜再中皮化をもたらす。白濁斑の刺激後、体液に対する微小血管透過性の増加

50

、好中球、単球およびフィブリンの白濁斑の結合組織マトリックス内における沈着、次いで腹膜腔への中皮ライニングを越えた細胞移動の増加がある〔19〕。

【0006】

癒着形成は、細菌、化学毒性、虚血、暴露による機械的または単なる乾燥などの有害な刺激によるか否かにかかわらず、腹膜に負わせた損傷から始まる〔16, 25〕。損傷は炎症応答へ至り、それがフィブリン沈着、次いでフィブリン癒着へと進行する。フィブリン癒着が損傷の初日のうちに解消されないと、線維芽細胞を含めた修復細胞がフィブリンマトリックス中へ増殖して、それを恒久的線維性癒着へと変えてしまう。このプロセスは損傷から1週間以内で完了する。フィブリン沈着および分解のバランスはしたがって腹膜修復および癒着形成の初期段階で重要である〔25, 27〕。腹膜マクロファージは腹膜腔でプラスミン活性の調節に関与し〔28〕、そのため癒着形成で役割を果たしているのかもしれない〔29〕。

【0007】

腹腔滲出液中のフィブリン沈着の防止、局部組織炎症の減少およびフィブリン沈着の除去を含めて、癒着防止および治療の様々な方法が用いられてきた。現行法のほとんどはこれらカテゴリーの1つを抑えているが、未だ限定的な成功に留まっている。再吸収性織布または膜の形をとるインプラント（マクロファージバリアとして作用する思われる）および生体適合性物質から形成されるゲルも、癒着の形成を減らすために用いられてきた。例としては、商標名INTERCEEDおよびSEPRAFILMで販売されている製品である。

【0008】

グルタミンは、大手術、ショック、外傷性損傷および重度敗血症のようなある生理学的状況下〔30, 31〕において、体が十分な量で合成することができない、条件的必須アミノ酸である。細胞外グルタミンの減少は、マクロファージおよび他の免疫細胞の機能を損ない、骨格筋におけるタンパク質分解の増加を招く〔20〕。マクロファージは、グルタミンを取り込み、それを生合成のためのエネルギー形成および前駆体の供給双方に向けた細胞内貯蔵として作用するグルタミン酸として‘捕捉する’高い能力を備えた、極めて活性な細胞である（ATP代謝回転に基づくと1分間当たり10回および酸素消費に基づくと1分間当たり5回）。マウス腹膜マクロファージは、それらが最終分化細胞とみられるとしても、グルタミノライシス(glutaminolysis)のプロセスで多量のグルタミンを利用することができる〔21, 22〕。これらのマクロファージは、高率のタンパク質分泌および膜リサイクリングで特徴付けられる〔23, 24〕。グルタミンはヒト骨格筋で未結合アミノ酸プールの>50%を占めているが、血液および組織グルタミンでは、大手術〔32〕、外傷〔33〕および敗血症〔34, 35〕のような異化事象後に急速な減少がみられた。

【0009】

グルタミンは安全でよく吸収され、報告された副作用を有しない。グルタミンは創傷治癒を高めることが知られている。グルタミンおよびそのジペプチド類は、危篤状態の患者において、非経口および経腸(enteral)の補給成分として用いられてきた。Fukuzawaら〔36〕による最近の研究では、グルタミンが、術後患者において、好中球による食作用および反応性酸素中間体(ROI)産生の双方とも高めている、と結論づけた。ランダム化予期研究において、完全非経口栄養(TPN)でグルタミンジペプチド類を用いたMorlisonらは、補給群が、腹部手術後に、入院期間が短く、改善された免疫状態および窒素バランスを有している、と結論づけた〔37〕。

【0010】

アラニル グルタミンおよびグリシル グルタミンは、遊離グルタミンより高い溶解性と化学的安定性を有し、より安定な構成アミノ酸源となっているため、臨床的に用いられてきた、グルタミンの二種のジペプチド類である〔37, 42〕。グルタミン+アラニン混合物ではなく、アラニル グルタミンによる経腸補給は、腸切除後のペプチド輸送の増加によって証明されるように、腸順応を促進している〔43〕。アラニル グルタミンはまた、CPM投与後において、ペプチド輸送発現が増加し、血漿グルタミン濃度が上昇す

10

20

30

40

50

ることによって証明されるように、腸のダメージも防いでいる〔44〕。最近、アラニルグルタミンが単独で術後患者に初めて経腸で用いられ、成功かつ安全と報告された〔53〕。

【発明の概要】

【0011】

本発明者らは、グルタミン源の腹腔内投与が術後癒着形成を減らすことを見出した。グルタミンはマクロファージの直接燃料であるため、これは意外である。腹膜修復および癒着形成において活性化白濁斑由来のマクロファージで推測される役割からみると、グルタミンは癒着の形成を悪化させると予想されことだろう。本発明者らは、本発明に関連した基本的メカニズムに関する推論に拘束されることを望むものではないが、グルタミンの腹腔内投与が活性化白濁斑由来のマクロファージの助力なしに腹膜修復を高めると考えている。10

【0012】

アラニル グルタミンおよびL グルタミンは、腹腔内で投与されたとき、術後癒着(二次癒着を含む)を減少させ、および/または防止する上で有効である。この効果は、腹腔内出血の存在、縫合糸タイプまたは炎症の程度により妨げられない。現在のところ、アラニル グルタミンの効果は、癒着防止について、L グルタミンの場合より顕著である。

【0013】

グルタミン投与を伴う以前の療法では、経腸投与(例えば、食品サプリメント)または静脈内経路による非経口投与(例えば、完全非経口栄養処方物の投与)を用いていた。本発明の結果として、腹膜に影響を及ぼす外科処置を受けるまたは受けた患者に、グルタミン源の腹腔内投与を用いると、有利であることが理解されるであろう。さらに、グルタミン源として作用し、かつ静脈内注射に適した処方物より大きな粘度を有するように増粘化された処方物の使用を介して、本発明は促進されうる。これは、腹膜腔内における処方物の意図通りの適用と選択部位への粘着とを促す。このような増粘化処方物は滅菌され、かつその他にも腹腔内投与に適していなければならず、そのため以前から経腸供給に用いられていたグルタミン含有処方物とは異なる。20

【0014】

グルタミン源は直接的に腹膜へまたは腹膜腔内に投与してもよく、腹膜内に配置されるインプラントおよび/または医療器具に適用してもよい。このようなインプラントまたは医療器具の例としては、外科癒着を減らす手段として現在用いられ、またはその使用が意図されている織布再吸収性物質、またはメッシュ、およびその他のバリアまたはシールドがある。本発明における使用向けに特に好ましい処方物は、グルタミン源が溶解した水相を含有するゲルまたはメッシュである。30

【0015】

第一の態様によれば、本発明は、薬学上許容可能な担体と、少なくとも一種のグルタミン源とを含んでなる腹腔内投与用組成物を提供する。このような組成物は、術後癒着形成を減少させるための患者治療において有用である。この組成物は外科用品または埋込型(implantable)医療器具に収容または含浸させてよい。この組成物は、手術時における組成物の腹腔内デリバリーに適したデリバリー器具中に存在してもよい。40

【0016】

他の態様によれば、本発明は、術後癒着形成を減少させるためのグルタミン源の使用を提供する。

他の態様によれば、本発明は、術後癒着形成を減少させるための腹腔内投与用薬剤の製造におけるグルタミン源の使用を提供する。

他の態様によれば、本発明は、有効量のグルタミン源を患者へ腹腔内投与することを含んでなる、術後癒着形成を減少させるための患者の治療方法を提供する。

【0017】

本発明の様々な態様は、術後癒着を減少させるために用いられる、グルタミン源と腹腔

10

20

30

40

50

内投与に適した薬学上許容可能な担体とを含んでなる、無菌組成物を提供する。該組成物は、増粘剤または他の粘度増強剤をはじめとする、一種以上の薬学上 / 生理学上許容可能な希釈剤および賦形剤を含んでもよい。好ましくは、粘度増強剤は水和されたときにゲルを形成する。このような組成物は、単に、水溶性グルタミン源と適切なゲル形成剤とを乾燥形態で含んでもよい。後者の処方物はまた、部分的に水和した形態または完全に水和した形態で提供することができる。

【0018】

本発明はまた、グルタミン含有処方物の腹腔内投与を行なうために好適な器具を提供する。該器具は、注入またはその他の押出プロセス、滴下または噴霧をはじめとする様々な公知の手法において、処方物の腹腔内投与に適用させてよく、シリンジ、ペローズ(bellow)容器、スクイーザブル(squeezable)容器、加圧式スプレー器具などの形態をとるこ¹⁰とができる。

【発明の具体的説明】

【0019】

本明細書において、「グルタミン源」という用語は、L-グルタミンおよびその生理学上許容可能な塩、並びにL-グルタミンを含んでなるペプチドを含む。本発明ではL-グルタミンを用いてよいが、このアミノ酸は比較的低い水溶性(20で36g/L)を有し、滅菌および長期貯蔵中に分解しやすい。本発明ではまた、代謝されてL-グルタミンを供しうる、L-グルタミンを含んでなるオリゴペプチドを用いてよい。好ましいことには、このようなペプチドはL-グルタミンの場合よりも水に高い溶解性を示す。多くの場合、このようなペプチドはまた、滅菌および貯蔵中の分解に対して高い抵抗性も示す。本発明で用いられる、このようなペプチドのうち二種は、L-グルタミンと、L-アラニンまたはグリシンとを含んでなるジペプチドである。ジペプチド アラニル グルタミン(C末端位にグルタミン残基)は水に高い溶解性(568g/L)を有する。グリシル グルタミン(C末端位にグルタミン)もまた、グルタミンと比較して水に高い溶解性(154g/L)を示す。後者のジペプチドの各々は、静脈内注射用の完全非経口栄養処方物に従来適用されていた加熱滅菌および長期貯蔵に際して、十分に安定である。²⁰

【0020】

L-グルタミンおよびL-グルタミン含有ペプチド(アラニル グルタミンを含む)の薬学上許容可能な製剤は市販されている。加えて、本発明で使用のL-グルタミン含有ペプチド類は、公知の手法に従い合成して、薬剤使用向けに精製および滅菌してもよい。³⁰

【0021】

本発明による組成物は乾燥、部分的水和または完全水和の形態をとり、グルタミン源に加え、薬学上許容可能な担体または希釈剤成分、例えば無菌蒸留水、無菌等張液、無菌生理塩水、または希釈された場合にこのような溶液を形成する、乾燥緩衝剤および / または塩混合物もしくは濃縮物を含有する。組成物中グルタミン源の量は、投与に際して完全に溶解されたアミノ酸またはペプチドを供給するように選択される。さらに、投与用に処方されたときに組成物から得られるL-グルタミンの量および / または投与される処方物の総量は、適量のL-グルタミンを患者に供給するように、熟練医療従事者により選択される。⁴⁰

【0022】

L-グルタミンおよびそのジペプチドの静脈内投与を伴う以前の研究に基づくと、腹腔内用量としては、1日当たり患者kgにつき約0.01g～約1.0gのL-グルタミンを供給してもよい。しかしながら、本用量は、これら上限および下限量に入らないように選択してもよい。アラニル グルタミンを用いる典型的用量は約0.1g～約0.5gのジペプチド / kg / 日の範囲である。

【0023】

外科処置に際してグルタミン源を投与するとき、平均的成人患者の典型的用量としては、腹膜腔内に約0.3g～約2.0gまたは約0.3g～約1.5gのL-グルタミンまたはアラニル グルタミンとすることができます。⁵⁰

【0024】

本発明による投与によれば、手術中、閉合前の手術最後に、または閉合直後に、腹膜腔内へのグルタミン源のデリバリーを行なってよい。本発明はまた、その後、注射によるグルタミン源の、術後の腹腔内および／または静脈内投与も考慮している。

【0025】

本発明に用いられる処方物は、水相中に溶解されたグルタミン源を含んでなる液体、ペーストまたはゲルであってよい。本発明による組成物は、このような処方物であってもよく、または水和されたときにこのような処方物を生じるような組成物でもよい。特に簡単な形態では、本発明に用いられる処方物は、無菌水性液体ビヒクル中に溶解されたグルタミン源からなり、これは手術中における腹膜腔内への滴注(instill)またはその後で行なわれる腹腔内注入に適している。この溶液は、適切な無菌容器から腹膜腔中へそれを単に注入し、蓄積させ(depositing)または噴霧することにより、手術中に滴注される。処方物は腹腔鏡手術用に形成されたポートから滴注してもよい。

10

【0026】

本発明において使用上特に好適な処方物は、該処方物が静脈内注射に適した典型的液体処方物よりも高い粘度を示すように増粘化される。このような増粘化処方物は、外科処置に際して、腹膜の選択組織もしくは部位または腹膜腔内へ直接適用しうる、ペーストまたはゲルの形態をとりえる。好適な薬学上許容可能な増粘剤は公知であり、用いてもよい。好ましくは、このような剤は、水和されたときにヒドロゲルを形成するか、または適切な架橋剤へ曝されて水和されたときにヒドロゲルを形成する。このようなゲル形成成分はそれらの生体適合性から選択され、再吸収性であってもよい。医薬処方物で用いられてきた好適な増粘剤およびゲル形成剤の例としては、例えばコラーゲンなどの親水性成分を有するポリマー；例えばポリエチレンオキシド、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドンおよびポリヒドロキシエチルメタクリレートなどのポリオキシアルキレンポリマー；ヒアルロン酸；アルブミンなどの様々なタンパク質がある。フィブリノーゲンまたはフィブリンを含有するものをはじめとする止血ゲルもまた、用いてよい。

20

【0027】

グルタミン源は外科用インプラントに適用または含浸させてよい。例えば、本発明のゲル処方物はインプラントの外部へ付着させてよい。織布再吸収性セルロースのような物質から構成されるインプラント（例えば、商標名INTERCEEDで販売されている種類）も本発明による液体またはゲル処方物で含浸させてよい。

30

【実施例】

【0028】

例1

70匹以上の雄性Wistarラット（各350g超）を術後1、3、5、7、10、30日目および約6週目に組織学的に評価した。ラットは、処置の様式、縫合糸のタイプおよび手術中出血の有無に基づき、ランダムに分けた。最初に、3つの手術群（アラニル グルタミン処置、塩水、無処置）と、コントロール（無手術）とがあった。アラニル グルタミンの代わりにL グルタミンを用いた第五群が、予備結果が得られた後に含められた。

【0029】

40

ラットをハロタン／ケタミンで麻酔した。中線臍下切開と、腹部閉合後のソイレージ(soilage)を防ぐためのプルストリング(pulstring)での改変盲腸穿刺とを伴う、開放手術を行なった。腸の医原性／外傷性穿孔の臨床展開をまねて、その処置では糞便押出を少し行なった。アラニル グルタミン〔Degussa ; Coubevoie, France〕(0.3g / kg ~ 1.5g / kg)；塩水(5mL)；またはL グルタミン〔Wiler ; PCCA〕(1.5g / kg)をシリングから腹膜腔中へ滴注した。盲腸、腹部および皮膚を、同一縫合糸を用いて各層で閉じた。様々な吸収性縫合糸(3/0 Vicryl(商標), 3/0 Monocryl(商標), 3/0 PDS(商標), 2/0 Maxon(商標))および非吸収性縫合糸(3/0 Prolene(商標), 3/0 Ethibond(商標), 4/0 & 5/0 Surgilene(商標), 3/0 Novafil(商標))を用いた。創傷を局所麻酔剤で浸透させた。食するに十分な食べ物を動物に与えた

50

【数1】

(20 g / 日 ≈ 2 mmol e / kg / 日)。

胃腸管および網を胃からS状結腸まで集め、評価のためにホルムアルデヒド溶液で固定した。

【0030】

癒着の程度は、標準ヘマトキシリン&エオシンおよびMassonトリクロム染色スライドを用いて、組織学的に評価した。後者は線維形成およびコラーゲン沈着の程度を描写する上で役立った。

【0031】

白濁斑の平均数 / 高倍率視野 (high-power-field: H P F) をスコア化することにより、半定量分析を行った。実験群間でT検定を用いて定量的統計分析を行った。白濁斑は炎症および癒着形成のマーカーである。より多くの白濁斑がより多くの癒着形成と関連していることが見い出された。

10

【0032】

術後10日目、アラニル グルタミン処置ラットにおける腹膜の組織学的外観は無処置および塩水処置手術群と比較して極めて少ない癒着であり、バージン (コントロール) ラット腹膜にほぼ匹敵していた。6週目に評価されたラットでもこの結果は続いた。無処置手術群で6~7白濁斑 / 5 H P Fに対し、コントロールの腹膜では1白濁斑 / 5高倍率視野 (5 H P F) であった。アラニル グルタミン処置群における白濁斑はコントロールと同様であったが、塩水処置群は2~4白濁斑 / 5 H P Fを有していた。

20

【0033】

また、結果によれば、塩水および無処置手術群と比較して、3~7日目 (アラニル グルタミン) 処置群では著しく低い量の急性炎症応答が示された。低量のマクロファージおよびマクロファージ走化性タンパク質により、これは明らかであった。L グルタミン処置も減少に至ったが、アラニル グルタミン処置群より劣る程度であった。塩水および無処置手術群に対し、処置群では10日目の動物において線維形成およびコラーゲン沈着も減少していた。また一方、塩水処置は無処置手術群より良い結果を示した。

【0034】

アラニル グルタミンの用量は0.3 g / kg および1.5 g / kg で有効であった。無処置および塩水処置群では、非編組またはモノフィラメント縫合糸 (3/0 Monocryl (商標), 3/0 PDS (商標), 3/0 Prolene (商標), 4/0 & 5/0 Surgilene (商標), 3/0 Novafil (商標)) より編組縫合糸 (3/0 Vicryl (商標), 2/0 Maxon (商標), 3/0 Dexon (商標) & 3/0 Ethibond (商標)) で癒着が多かった。モノフィラメント縫合糸 (吸収性 vs. 非吸収性縫合糸) では癒着形成に差異的な傾向もみられた。しかしながら、アラニル グルタミン処置群は全縫合糸群で癒着を防いだ。

30

【0035】

以前のあるヒト研究では、0.19~0.75 g / kg / 日の範囲で非経口用量のアラニル グルタミンを用いた [42, 47]。2.972 g / kg / 日 アラニル グルタミンおよび2.0 g / kg / 日 L グルタミン (1.22 g / kg / 日 アラニンと混合) 経腸ボーラスサプリメント (enteral bolus supplement) をラットに与えた [43]。本実施例では、0.3~1.5 g / kg アラニル グルタミンおよびL グルタミンを腹腔内投与した。ラットは手術から回復して通常の活動を続け、アラニル グルタミンおよびL グルタミンの腹腔内使用に起因した合併症は観察されなかった。

40

【0036】

我々は、マクロファージ走化性タンパク質 (M C P 1) 抗体染色を用いて、腹部手術後にマクロファージ活性を評価した。M C P 1はマクロファージ活性のマーカーである [46]。我々の観察によれば、塩水および無処置手術群と比較してグルタミン源処置群ではM C P 1が低くなっている、グルタミン源処置が腹部手術後にマクロファージ遊走に対して阻止効果を有することを示していた。M C P 1が上記処置により減少したが、完全

50

に不在ではないという事実は、完全な不在が開腹術後に腹膜炎および敗血合併症を伴うため望ましくないことから重要である。

【0037】

腹膜縫合は虚血、脈管遮断および壊死を増加させ、そのため癒着形成に至りやすい〔49〕。モノフィラメントは編組縫合糸より少なく癒着を生じることが示されたが、それらの細孔が細菌を宿す傾向を有しているからである〔50, 51〕。我々は無処置ラットで同様のパターンを観察した。しかしながら、処置によって全縫合糸群で癒着が防がれた。

【0038】

出血はまた、現行予防療法を使用しても、癒着の高発生率と関連する。腹腔内出血は激しい炎症反応とその広い癒着を引き起こし、それと癒着との関連性は動物およびヒト双方の研究で多数確認されている〔52〕。出血が上記処置の効果を妨げなかったことを我々は観察した。

10

【0039】

例2

以前の研究によれば、外科用メッシュが補強材として用いられたときに、癒着形成の高発生率が示されている〔6a, 6b〕。我々は実施例1で記載されたように試験を繰返し、手術群で処置に際しMarlex（商標）メッシュを挿入した。実施例1で記載されたものに匹敵する結果が1～42日目で得られた。

【0040】

癒着の程度はZuhlikeら〔54〕の癒着スコアを用いて90日目に評価した。このスコア化手順は、癒着に対する他の潜在的な処置法の評価に関する文献に記載されていた〔55〕。90日目に、アラニル グルタミンで処置された動物の癒着スコアは0～1（無癒着または弱い癒着）であり、コントロール群のバージン腹部に匹敵した。これは、約90%に達する癒着形成と報告された、ポリプロピレンメッシュを用いた以前の癒着測定とは異なる〔6a〕。

20

【0041】

例3

癒着は再発しやすい。我々はこのような二次癒着におけるアラニル グルタミン治療の効果を試験した。実施例1で記載されたブルストリング閉合処置での改変盲腸穿孔をSprague-Dawleyラット9匹で行なった。これらを5群に分け、各群に異なる形のメッシュ（INTERCEED（商標）；PROCEED（商標）；BARD（商標）複合材；プロレン；および創傷の反復再開により「汚染」させたメッシュ）を施した。メッシュ用品(mesh implantation)を用いて外科処置をグルタミン源の適用なしで行なった。初回手術後6ヶ月目に、開腹術、次いで癒着剥離（adhesiolysis）に続いてアラニル グルタミンの滴注を各ラットで行った。3週間後、ラットを癒着の再発について評価し、Zuhlikeら〔54〕に従いスコア化したところ、二次癒着はみられなかった。

30

【0042】

上記発明は、理解の明確化を目的として、説明および実施例によりある程度詳細に記載されてきたが、本請求の精神または範囲から逸脱することなく、本発明に変更および修正が加えうることは、本発明の教示から当業者には容易に明らかであろう。本明細書で言及されたすべての特許、特許出願および文献は、引用することにより本明細書の一部とされる。

40

【0043】

参考文献

【表1】

1. Thompson, J.N. and S.A. Whawell, *Pathogenesis and prevention of adhesion formation*. Br J Surg, 1995. 82(1): p. 3-5.
2. Thompson, J.N., *Preventing adhesions*. Lancet, 1995. 346(8987): p. 1382.
3. Ellis, H., *The clinical significance of adhesions: focus on intestinal obstruction*. Eur J Surg Suppl, 1997(577): p. 5-9.
4. Menzies, D. and H. Ellis, *Intestinal obstruction from adhesions--how big is the problem?* Ann R Coll Surg Engl, 1990. 72(1): p. 60-3. 10
5. Parker, M.C., et al., *Postoperative adhesions: ten-year follow-up of 12,584 patients undergoing lower abdominal surgery*. Dis Colon Rectum, 2001. 44(6): p. 822-29; discussion 829-30.
6. Ellis, H., *The causes and prevention of intestinal adhesions*. Br J Surg, 1982. 69(5): p. 241-3.
- 6a. Nairn, J.O., et al., J. Laparoendosc Surg, 1993. 3: p. 187-90.
- 6b. Baykal, A., et al., World J Surg, 1997. 21: p. 579-82. 20
7. Menzies, D., *Peritoneal adhesions. Incidence, cause, and prevention*. Surg Annu, 1992. 24 Pt 1: p. 27-45.
8. Bridges, J.B., F.R. Johnson, and H.W. Whitting, *Peritoneal adhesion formation*. Acta Anat (Basel), 1965. 61(2): p. 203-12.
9. Drollette, C.M. and S.Z. Badawy, *Pathophysiology of pelvic adhesions. Modern trends in preventing infertility*. J Reprod Med, 1992. 37(2): p. 107-21; discussion 121-2.
10. Vural, B., et al., *The role of neutrophils in the formation of peritoneal adhesions*. Hum Reprod, 1999. 14(1): p. 49-54. 30
11. Ackermann, P.C., P.D. De Wet, and G.P. Loots, *Microcirculation of the rat omentum studied by means of corrosion casts*. Acta Anat (Basel), 1991. 140(2): p. 146-9.
12. Shimotsuma, M., et al., *Ontogeny of milky spots in the fetal lamb omentum*. Arch Histol Cytol, 1994. 57(3): p. 291-9.
13. Takemori, N., [Morphological studies of the omental milk spots in the mouse: light and electron microscopy (author's transl)]. Hokkaido Igaku Zasshi, 1979. 54(3): p. 265-83. 40

【表2】

14. Shimotsuma, M., et al., *Milky spots in the human greater omentum. Macroscopic and histological identification.* Acta Anat (Basel), 1989. 136(3): p. 211-6.
15. Shimotsuma, M., et al., *Cellular subsets of the milky spots in the human greater omentum.* Cell Tissue Res, 1991. 264(3): p. 599-601.
16. Williams, R. and H. White, *The greater omentum: its applicability to cancer surgery and cancer therapy.* Curr Probl Surg, 1986. 23(11): p. 789-865.
17. Dux, K., *Proliferative activity of macrophages in the greater omentum of the mouse in relation to the early postnatal development of the vascular structures.* J Leukoc Biol, 1986. 40(4): p. 445-58. 10
18. Rodgers, K.E. and G.S. diZerega, *Function of peritoneal exudate cells after abdominal surgery.* J Invest Surg, 1993. 6(1): p. 9-23.
19. Cranshaw, M.L. and L.V. Leak, *Milky spots of the omentum: a source of peritoneal cells in the normal and stimulated animal.* Arch Histol Cytol, 1990. 53 Suppl: p. 165-77. 20
20. Newsholme, E.A., *The possible role of glutamine in some cells of the immune system and the possible consequence for the whole animal.* Experientia, 1996. 52(5): p. 455-9.
21. Newsholme, E.A., B. Crabtree, and M.S. Ardawi, *The role of high rates of glycolysis and glutamine utilization in rapidly dividing cells.* Biosci Rep, 1985. 5(5): p. 393-400.
22. Newsholme, E.A., B. Crabtree, and M.S. Ardawi, *Glutamine metabolism in lymphocytes: its biochemical, physiological and clinical importance.* Q J Exp Physiol, 1985. 70(4): p. 473-89. 30
23. Werb, Z. and Z.A. Cohn, *Plasma membrane synthesis in the macrophage following phagocytosis of polystyrene latex particles.* J Biol Chem, 1972. 247(8): p. 2439-46.
24. Ardawi, M.S. and E.A. Newsholme, *Glutamine metabolism in lymphocytes of the rat.* Biochem J, 1983. 212(3): p. 835-42.
25. Dijkstra, F.R., et al., *Recent clinical developments in pathophysiology, epidemiology, diagnosis and treatment of intra-abdominal adhesions.* Scand J Gastroenterol Suppl, 2000(232): p. 52-9. 40
26. Vipond, M.N., et al., *Peritoneal fibrinolytic activity and intra-abdominal adhesions.* Lancet, 1990. 335(8698): p. 1120-2.

【表3】

27. Whawell, S.A. and J.N. Thompson, *Cytokine-induced release of plasminogen activator inhibitor-1 by human mesothelial cells*. Eur J Surg, 1995. 161(5): p. 315-8.
28. Holmdahl, L. and M.L. Ivarsson, *The role of cytokines, coagulation, and fibrinolysis in peritoneal tissue repair*. Eur J Surg, 1999. 165(11): p. 1012-9.
29. Ivarsson, M.L., et al., *Tissue markers as predictors of postoperative adhesions*. Br J Surg, 1998. 85(11): p. 1549-54.
30. Smith, R.J., *Glutamine metabolism and its physiologic importance*. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 1990. 14(4 Suppl): p. 40S-44S. 10
31. Lacey, J.M. and D.W. Wilmore, *Is glutamine a conditionally essential amino acid?* Nutr Rev, 1990. 48(8): p. 297-309.
32. Vinnars, E., J. Bergstrom, and P. Furst, *Influence of the postoperative state on the intracellular free amino acids in human muscle tissue*. Ann Surg, 1975. 182(6): p. 665-71.
33. Askanazi, J., et al., *Muscle and plasma amino acids after injury: hypocaloric glucose vs. amino acid infusion*. Ann Surg, 1980. 191(4): p. 465-72. 20
34. Roth, E., [Changes in protein metabolism in cachexia and catabolism]. Z Exp Chir Transplant Kunstliche Organe, 1985. 18(3): p. 150-6.
35. Roth, E., et al., *Liver amino acids in sepsis*. Surgery, 1985. 97(4): p. 436-42.
36. Fukuzawa, K., et al., *N-acetylcysteine ameliorates reperfusion injury after warm hepatic ischemia*. Transplantation, 1995. 59(1): p. 6-9.
37. Morlion, B.J., et al., *Total parenteral nutrition with glutamine dipeptide after major abdominal surgery: a randomized, double-blind, controlled study*. Ann Surg, 1998. 227(2): p. 302-8. 30
38. Furst, P., S. Albers, and P. Stehle, *Availability of glutamine supplied intravenously as alanylglutamine*. Metabolism, 1989. 38(8 Suppl 1): p. 67-72.
39. Karner, J. and E. Roth, *Influence of alanylglutamine infusion on gastrointestinal glutamine and alanine metabolism in anesthetized dogs*. Metabolism, 1989. 38(8 Suppl 1): p. 73-7.
40. Babst, R., et al., *Glutamine peptide-supplemented long-term total parenteral nutrition: effects on intracellular and extracellular amino acid patterns, nitrogen economy, and tissue morphology in growing rats*. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 1993. 17(6): p. 566-74. 40

【表4】

41. Nordfjeld, K., M. Rasmussen, and V.G. Jensen, *Storage of mixtures for total parenteral nutrition--long-term stability of a total parenteral nutrition mixture.* J Clin Hosp Pharm, 1983. 8(3): p. 265-74.
42. Cardona Pera, D., [Administration of glutamine and its dipeptides in parenteral nutrition. Which patients are candidates?]. Nutr Hosp, 1998. 13(1): p. 8-20.
43. Satoh, J., et al., *Enteral alanyl-glutamine supplement promotes intestinal adaptation in rats.* Int J Mol Med, 2003. 12(4): p. 615-20. 10
44. Satoh, J., et al., *Nutritional benefits of enteral alanyl-glutamine supplementation on rat small intestinal damage induced by cyclophosphamide.* J Gastroenterol Hepatol, 2003. 18(6): p. 719-25.
45. Ray, N.F., et al., *Abdominal adhesiolysis: inpatient care and expenditures in the United States in 1994.* J Am Coll Surg, 1998. 186(1): p. 1-9.
46. Valente, A.J., et al., *Mechanisms in intimal monocyte-macrophage recruitment. A special role for monocyte chemotactic protein-1.* Circulation, 1992. 86(6 Suppl): p. III20-5. 20
47. Ward, E., et al., *Oral glutamine in paediatric oncology patients: a dose finding study.* Eur J Clin Nutr, 2003. 57(1): p. 31-6.
48. Matsukawa, A., et al., *Endogenous monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) protects mice in a model of acute septic peritonitis: cross-talk between MCP-1 and leukotriene B4.* J Immunol, 1999. 163(11): p. 6148-54.
49. Luijendijk, R.W., et al., *Foreign material in postoperative adhesions.* Ann Surg, 1996. 223(3): p. 242-8. 30
50. Liakakos, T., et al., *Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management.* Dig Surg, 2001. 18(4): p. 260-73.
51. Bakkum, E.A., et al., *Quantitative analysis of the inflammatory reaction surrounding sutures commonly used in operative procedures and the relation to postsurgical adhesion formation.* Biomaterials, 1995. 16(17): p. 1283-9.
52. Gadallah, M.F., et al., *Relationship between intraperitoneal bleeding, adhesions, and peritoneal dialysis catheter failure: a method of prevention.* Adv Perit Dial, 2001. 17: p. 127-9. 40

【表5】

53. Obayan, A.O.E., *Oxidative stress: Natural History and Modulation in Surgery and Trauma Patients*. Ph.D. in Surgery Thesis, University of Saskatchewan, Spring 2004.
54. Zuhlke, H.V., et al., *Langenbecks Arch Chir Suppl II Verh Dtsch Ges Chir*, 1990. p. 1009-16.
55. Bae, J.S., et al., *World J Gastroenterol* 11: p. 810-816.

フロントページの続き

(51)Int.CI. F I
A 6 1 L 15/44 (2006.01) A 6 1 L 15/03

(56)参考文献 J Parenter Enteral Nutr , 2 0 0 5年 1月 , vol.29, no.1 , p.36-43
Proceedings of the Nutrition Society , 2 0 0 3年 , vol.62 , p.745-751

(58)調査した分野(Int.CI. , DB名)

A61K 31/00-31/80
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)
JSTplus/JMEDplus/JST7580(JDreamII)