

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3771280号
(P3771280)

(45) 発行日 平成18年4月26日(2006.4.26)

(24) 登録日 平成18年2月17日(2006.2.17)

(51) Int. Cl. F I
A 6 1 K 38/27 (2006.01)
A 6 1 P 19/10 (2006.01)

A 6 1 K 37/36

A 6 1 P 19/10

請求項の数 12 (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願平5-51727	(73) 特許権者	597011463
(22) 出願日	平成5年3月12日(1993.3.12)		ノバルティス アクチエンゲゼルシャフト
(65) 公開番号	特開平6-9429		スイス国、4056 バーゼル、リヒトシ
(43) 公開日	平成6年1月18日(1994.1.18)		ユトラーセ 35
審査請求日	平成12年3月9日(2000.3.9)	(74) 代理人	100077517
(31) 優先権主張番号	850545		弁理士 石田 敬
(32) 優先日	平成4年3月13日(1992.3.13)	(74) 代理人	100092624
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 鶴田 準一
前置審査		(74) 代理人	100127085
			弁理士 越阪部 倫子
		(74) 代理人	100082898
			弁理士 西山 雅也
		(74) 代理人	100081330
			弁理士 樋口 外治

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 オステオポロシスの治療方法およびそのための組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

皮質骨無機質密度の減少した哺乳動物において、皮質骨のオステオポロシスを治療するための、または当該オステオポロシスに罹り易い哺乳動物において、当該オステオポロシスを予防するための医薬組成物であって、IGF-I、又はIGF-Iの抗オステオポロシス活性を保持するIGF-I断片から選ばれる化合物の治療有効量または予防有効量を含む、前記医薬組成物。

【請求項 2】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

前記 IGF-I が、前記 IGF-I を投与しようとする種と同じ種の天然 IGF-I と同じアミノ酸配列を有する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

前記化合物が天然に存在する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記化合物が合成的に生産される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記化合物が組換え技術により生産される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記化合物が非経口的に投与される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

10

20

【請求項 8】

前記哺乳動物における前記皮質無機質密度の減少が、前記哺乳動物の前の皮質骨無機質密度測定値の 2 % より多い、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記哺乳動物における前記皮質無機質密度の減少が、前記哺乳動物の前の皮質骨無機質密度測定値の 4 % より多い、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

前記哺乳動物における前記皮質無機質密度の減少が、前記哺乳動物の前の皮質無機質密度測定値の 6 % より多い、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

前記減少した皮質無機質密度が、前記種の 1 . 5 倍 ~ 2 倍生殖成熟期の年齢では前記種の哺乳動物の総合集団の下側 10 パーセンタイル以下であると特徴づけられる、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

前記哺乳動物がヒトであり、そして前記 1 . 5 倍 ~ 2 倍生殖成熟期が 20 ~ 25 才の年齢層である、請求項 11 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は、皮質にオステオポロシスを有するかまたは発生する実質的危険状態にある高等哺乳動物の処置方法であって、該処置はインスリン様増殖因子 I (IGF-I) の投与を含んで成る。よって、本発明は、骨の成長および変性の分野、IGF-I、および医薬品として使われるその組成物に向けられる。

【0002】

【従来の技術】

オステオポロシスは、様々な病因を有する広域の臨床症候群を包含する。閉経血後の女性では、例えば、2つの別個のタイプのオステオポロシスが同定されている。タイプ I のオステオポロシスは、主に約 50 ~ 65 才からの閉経血後初期に起こる。それは、主として海綿質における過剰な吸収によって特徴付けられる。脊椎骨の骨折が一般的である。有意な骨減量の前であるとすれば、骨吸収を減少または防止する処置（例えばエストロゲンまたはカルシトニンによる）が効果的な治療法と考えられる。

【0003】

タイプ II のオステオポロシス（別名、老年性オステオポロシス）は、本質的には全ての老年女性に起こり、男性では少頻度で起こる。それは皮質並びに海綿質の割合の低下によって特徴付けられる。ここでは、減少した骨形成が、増大した骨吸収よりも重要な役割でないとしても、主な役割を果たす。このタイプのオステオポロシスに特徴的であるのは股関節部の骨折である。

【0004】

現在認可されているオステオポロシス用治療薬は吸収抑制剤である。それらは、自体、タイプ I のオステオポロシスを有する患者において更なる損失を防止することができるが、それらはタイプ I もしくはタイプ II のオステオポロシスを逆行させるかまたはタイプ II のオステオポロシスを停止させるのには有効でない。The American Journal of Medicine, 第 91 巻（増補 5 B）37S-41S；The American Journal of Medicine, 第 91 巻（増補 5 B）10S-13S；および The American Journal of Medicine, 第 91 巻（増補 5 B）23S-28S を参照のこと。加えて、現在最も広く使用が承認されるオステオポロシス用予防薬はエストロゲン療法であるが、乳癌または子宮内膜癌の病歴を有するかまたはその危険がある女性には実際は承認される治療薬ではない。

【0005】

インスリン様増殖因子 I (IGF-I) は、クラス名ソマトメジンの化合物群に属する 70 アミノ酸ペプチドであり、インスリンとの幾つかの構造的および生物学的類似性を保有している

10

20

30

40

50

。ソマトメジン活性は、インスリンに似た低血糖作用から成長ホルモンにより例示される成長促進作用までのスペクトルにある。IGF-I は主に成長および細胞増殖を誘導する。IGF-I はラットの骨芽細胞様骨細胞上のレセプターに特異的に結合することも証明されている〔Bennett ら、Endocrin. 115 (4):1577-1583, 1984 〕。IGF-I は肝臓で日常生産され、血漿中の担体タンパク質に結合するために放出され〔Schwander ら、Endocrin. 113 (1):297-305, 1983 〕、結合した形は不活性である。その上、高いソマトメジン濃度が成長ホルモン放出を抑制し内因性IGF-I の生産の低下を引き起こすような、ソマトメジンと成長ホルモンが関与する生体フィードバックレギュレーションループが存在する。

【0006】

ラット中に注入されたIGF-I は、対照に比べて体重増加の著しく大きい増加を引き起こし、脛骨の骨端幅および肋軟骨中へのチミジン取込みの増加を伴い〔Nature 107:16-24, 1984 〕、そして骨芽細胞を直接刺激して一層多数の機能的骨芽細胞を生ぜしめることが示された。Simpson, Growth Factors Which Affect Bone, Physiol. 235, TIBS, 12/84において、IGF-I は骨に対する成長ホルモンの作用を媒介するビヒクルであるとも言及されている。

10

【0007】

それにもかかわらず、上記の予備臨床実験が胎児性または新生ラット細胞を使って行われたことに注目することは重要である。そのような「幼若の」細胞は、老年の細胞、特に確立されたオステオポロシスを有する年配者の細胞または骨密度の減少を引き起こす薬剤誘発もしくは環境誘発された欠損を有する細胞よりもずっとIGF-I (並びに他の影響) に対して反応性であるのは十分にありそうなことだ。更に、J. Bone and Mineral Res., 第6巻, 増補1, 詳録549, p.S-221, 1991年8月において、著者らは卵巣摘出したラットの皮質に対してはIGF-I が事実上全く効果を持たないことを報告している。

20

【0008】

驚くべきことに、減少した皮質無機質密度を示す哺乳動物並びに骨密度減少を引き起こす傾向および潜在的にオステオポロシス状態になる傾向がある薬剤または環境条件に暴露された哺乳動物におけるオステオポロシスの処置にIGF-I が有用であることが発見された。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

30

従って、本発明の目的は、減少した皮質無機質密度を示す哺乳動物においてオステオポロシスを治療するためまたは臨床的に皮質無機質密度減少の傾向がある哺乳動物において皮質無機質密度減少によるオステオポロシスを予防するための方法を提供することである。

本発明の別の目的は、上記目的を達成するのに有用な医薬組成物を提供することである。

【0010】

【課題を解決するための手段】

驚くべきことに、本発明の上記および他の目的は、減少した皮質無機質密度を示す高等哺乳動物並びに皮質無機質密度減少を引き起こしやすい薬剤もしくは環境状態に暴露された高等哺乳動物および潜在的に皮質オステオポロシス状態になる傾向がある高等哺乳動物におけるオステオポロシスの処置にIGF-I が有用であるという発見によって達成された。

40

【0011】

【具体的記載】

本発明はオステオポロシスの治療と予防に関し、該オステオポロシスは一般的には哺乳動物における減少した皮質無機質密度に関係づけられるが、特にヒトにおけるそのようなオステオポロシスの治療と予防に適する。

【0012】

本発明の目的上、哺乳動物は、分類学上の霊長目、食肉目、奇蹄目および偶蹄目の範囲内の全哺乳動物を包含する。この哺乳動物としては、限定なしに、旧世界サル、新世界サル

50

、モルモット、ヒト、ネコ、イヌ、ウマ、ブタ、ウシ、ヒツジおよびヤギが挙げられる。好ましくは、哺乳動物は分類学上の霊長目、食肉目、奇蹄目および偶蹄目、より好ましくは霊長目、ネコ、イヌ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ブタおよびウシ、より一層好ましくは霊長目、最も好ましくはヒトから選ばれる。

【0013】

IGF-I は、多数の源から得ることができる天然に存在するタンパク質である。好ましくは、IGF-I で処置しようとする種と同じ種からのIGF-I（またはその合成物）が使われるが、惹起される免疫応答がわずかであるかまたは存在しないならば、ある種のIGF-I を使って別の種を処置してもよい。加えて、IGF-I 活性、特にIGF-I 抗オステオポロシス活性を有するIGF-I の断片および類似体もまた、本発明において適切に使われる。本発明の文脈中で使われるとき、異なって言及されない限り、IGF-I はそのような断片および類似体を包含する。IGF-I の重量が与えられる場合、IGF-I のその重量またはそのような類似体および断片のほぼ効果の等しい重量は、そうでないとの明確な指示を欠く。IGF-I のタイプが指摘されない場合、本明細書の正当な解釈が別のものを要求しない限り、ヒトIGF-I への言及である（構造を意味するのであって種の起源を意味するのではない）。

【0014】

IGF-I 類似体およびIGF-I またはその類似体の断片は、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 第83巻, 4904-4907 頁, 7/86 ; Biochemical and Biophysical Research Communications, 第149 巻, 2 号, 398-404 頁, 12/16/87 ; Biochemical and Biophysical Research Communications, 第149 巻, 2 号, 672-679 頁, 12/16/87 ; Endocrinology, 第123 巻, 1 号, 373-381 頁 ; The Journal of Biological Chemistry, 第263 巻, 13号, 6233-6239 頁, 5/5/88 ;およびBiochemical and Biophysical Research Communications, 第165 巻, 2 号, 766-771 頁, 12/15/89からわかるように、当業界で一般に知られている。

【0015】

IGF-I は合成的に、化学的にまたは組換え技術により製造することができ、また組織から抽出することもできる。組換え生産が好ましい。1つのそのような組換え技術はEP 123,228に開示されており、これは参考として本明細書に組み込まれる。

【0016】

本発明のIGF-I の有効量は、皮質無機質密度減少を示す患者において皮質無機質密度減少速度を遅らせるか、停止させるかまたは逆行させるのに十分な量である。明細書を通して非皮質組織についての値が示される場合、それらは一般的にオステオポロシス状態を例示するためである。正常の健康な20~25才のヒト集団では、脊椎中の骨無機質密度（二光子デンスitometryを使用）は典型的には $0.85 \sim 1.9 \text{ g/cm}^3$ 、通常 $0.9 \sim 1.85 \text{ g/cm}^3$ 、大部分は $1.0 \sim 1.8 \text{ g/cm}^3$ の範囲内であり、そして中部橈骨および末端橈骨中では典型的には $0.7 \sim 1.4 \text{ g/cm}^3$ 、通常 $0.75 \sim 1.3 \text{ g/cm}^3$ 、大部分は $0.8 \sim 1.2 \text{ g/cm}^3$ の範囲内である。典型的な非限定的正常域は、例えば、Mayo Clin. Proc., 1985年12月, 第60巻, 827-835 頁およびOrthopedic Clinics of North America, 第16巻, 3 号, 1985年7 月, 557-568 頁中に与えられている。他の技術を使った標準は、そのような技術の経験が増えるにつれてそれに関する文献および一般的経験から明らかであろう。もちろん、異なる亜集団は骨無機質密度において異なる標準を有することを心に留めておくべきである。例えば、白人女性は、白人男性並びに黒人女性、東洋女性および他の人種の女性とはこのパラメータに関して典型的に異なる。本発明は、(a) 集団全体についてもしくは患者の亜集団についての正常な骨無機質密度範囲よりも全体的に低い、(b) 1.0 g/cm^3 より低い、または(c)骨折閾値より低い（35才の集団についての平均骨質量より約2標準偏差低い）、骨無機質を有する人を治療することに向けられることを心に留めておくことも重要である。脊椎についての骨折閾値は、例えば、全患者の90%が脊椎の1または複数の圧迫骨折を有すると認められるより下の骨無機質密度として定義される。（Mayo Clin. Proc., 1985年12月, 第60巻, 829-830 頁を参照のこと）。加えて、事前測定値を上回る統計学的に有意な骨密度の減少を示した人はいずれも、その患者が上述した典型的範囲にあるかどうかにかかわらず、本発明の治療が向けられる患者である。この文脈における統計学的有意さは、骨無

機質密度を測定するために使う技術、並びに使用する機器の感度によって異なるだろう。しかしながら、1988年に一般的に利用可能な機器および技術では、最も初期の測定値から最も最近の測定値までの骨無機質密度の1または2%変化は、統計学的に有意とはみなされない。更に技術および機器が向上するにつれて、骨無機質密度測定分野の当業者は統計学的に有意であるとみなされない最大変化率を下方修正するだろう。

【0017】

現存の骨無機質密度測定技術としては、二重エネルギーラジオグラフィー、定量電算化トモグラフィー、単一光子デンスitrometry、二光子デンスitrometryが挙げられる。それらの技術は当業者にとって周知であるが、その説明はMayo Clin. Proc., 1985年12月, 第60巻, 827-835 頁; Orthopedic Clinics of North America, 第16巻, 3号, 1985年7月, 557-568 頁; Hologic QDRTM-1000 Product Literature; Annals of Internal Medicine, 1984, 100: 908-911; およびClinical Physiol. 4: 343, 1984中に見つけることができる。

10

【0018】

例えば、参照文献Mayo Clin. Proc., 1985年12月, 第60巻, 827-835 頁は、それ自体はRiggs BL, Wahner HW, Dunn WL, Mazess RB, Offord KP, Melton LJ III, "Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging: relationship to spinal osteoporosis.", J. Clin. Invest. 67: 328-335, 1981からのデータを基にした下記のデータを与えている:

【0019】

20

一年齢および性別調整した正常域(105人の女性)と比較した、オステオポロシスを有する76人の女性における脊椎(二光子吸光光度法を使って測定)、中部橈骨、および末端橈骨(単一光子吸光光度法を使って測定)中の骨無機質密度(BMD)。脊椎測定値は、オステオポロシス病が主として脊椎の海綿質を冒すため、オステオポロシスを有する患者と正常な被検者との最良の区別を与える。

【0020】

一正常域の値とオステオポロシスを有する76人の患者の値の上にスーパーインポーズした脊椎の骨無機質についての骨折閾値(水平線)。年齢が増加すると、骨折閾値より下にある正常被検者の数が増加する。骨折閾値は35才の年齢では平均骨質量より約2標準偏差下である。

30

【0021】

参考文献Orthopedic Clinics of North America, 第16巻, 3号, 1985年7月, 557-568 頁は、例えば下記のことを示している。

—95%信頼区間での立方回帰を使った、QCTによる脊椎骨網状無機質含量の正常男性値。

—95%信頼区間での立方回帰を使った、QCTによる脊椎骨網状無機質含量の正常女性値。

閉経後には加速した損失が観察される。

【0022】

—40~90才の年齢の11人の患者(男性10人女性1人)からの脊椎骨検体(アジ化ナトリウム中に保存したもの)について示された単一エネルギーQCTの正確度。—正常男性の曲線と比較した、特発性オステオポロシスおよび脊椎骨折を有する男性についての値。約110 mg/cm³において骨折閾値が観察される。

40

—放射線写真透過法および光子吸光光度法による平均末梢皮質無機質についての正常値からよりも脊椎骨無機質QCTについての正常値から大きい減少量を示す特発性オステオポロシス男性値。

【0023】

本発明は、減少した骨無機質密度が、前記種の1.5倍~2倍生殖成熟期の年齢では哺乳動物の総合集団の下側10パーセント以下、好ましくは人種、性別的または人種と性別的の両方の亜集団の下側10パーセント以下であると特徴付けられるオステオポロシスの処置に関する。前記哺乳動物は好ましくはヒトであり、そして前記1.5倍~2倍生殖成熟期は20~25才の年齢層である。

50

【0024】

特定の結果の統計学的有意さの欠損にもかかわらず、いずれの骨無機質密度減少でも更なる減少について観察すべきであり、累積的には有意であるかもしれない。

【0025】

本発明は特に、前記哺乳動物における任意の前の骨無機質密度測定値の2%より多い、より好ましくは4%より多い、最も好ましくは6%より多い骨無機質密度減少を有するオステオポロシスの処置に関する。

通常、IGF-Iの有効量は、非経口（静内、皮下、筋内等）的に投与する時は2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ～約180 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、好ましくは約5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ～約150 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、より好ましくは約10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ～約120 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、より一層好ましくは10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ～約100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、更に一層好ましくは約10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ～約90 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。連続投与する時、そのような有効量はi.v.点滴または皮下注射によるなどして或る期間に渡り2または3回において投与することができる。この場合、合計一日量は投与期間の一部または全体に渡る。典型的な連続投与量は2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時間}$ ～約50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時間}$ 、好ましくは約5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時間}$ ～約25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時間}$ の範囲内であるが、より広範囲の「連続」投与量は当業者に明らかであろう。皮下注射により投与する時、1週間に2回から1日3回まで、好ましくは1週間に3回から1日1回または2回まで投与するのが最も好ましい。特に適当な投与量は10, 15, 30および60 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。

10

【0026】

特定患者についての特定の投与量は、もちろん、応答の程度、投与経路、治療すべき患者の個体体重および一般状態に合わせて調整しなければならず、最終的には治療を行う医師の判断に依存する。

20

【0027】

一般に、本発明に使われる医薬製剤は、医薬上および非経口用に許容される担体または補助剤と共に、有効量のIGF-Iまたはその活性断片もしくは類似体または類似体の断片を含んで成る。約6日分の組成物は、典型的には約0.1 mg～15 mg、好ましくは約1 mg～13 mg、より好ましくは約3 mg～約10 mg、最も好ましくは5 mg～10 mgのIGF-Iを含有する。液体担体は典型的には無菌蒸留水、ほぼ生理的な食塩水、約0.1 Mの酢酸、約5%の水性ブドウ糖等であり、好ましくは無菌蒸留水、生理的食塩水または5%水性ブドウ糖である。

30

【0028】

担体および補助剤は固体であっても液体であってもよく、有機性であっても無機性であってもよい。本発明の活性化合物および組成物は、好ましくは非経口（皮下、筋内または静内）投与用の製剤または注入液（輸液）の形で使われる。そのような溶液は、好ましくは、例えば活性物質の凍結乾燥製剤を再構成することにより使用前に調製することができる、等張水性溶液または懸濁液である。該医薬製剤は滅菌することができ、そして/または補助剤、例えば保存剤、抗炎症剤、安定剤、湿潤剤、乳化剤、張度調節剤および/または緩衝剤を含有することができる。他の補助剤はもちろん当業者にとって明白であろう。本発明において使われる他の剤形および投与経路としては、肺吸入用または鼻内スプレーとしてのエアゾールおよびスプレー、経皮貼付投与並びにバツカル投与が挙げられる。

40

【0029】

本発明の医薬製剤は、所望により、他の薬理学的に活性なまたは医薬上有効な物質、特に骨吸収抑制剤、例えばエストロゲン、カルシトニンおよびビスホスホネート、特に3-アミノプロピル-1-ヒドロキシ-1,1-ビスホスホネートを含有することができ、そして該医薬製剤は当業者に公知の技術、例えば中でも当業者に公知の凍結乾燥、溶解、再構成および懸濁技術によって、それらの構成部分から調製される。それらは典型的には約0.1%～約100%の活性成分を含有するが、特に溶液の場合には約1%～約20%そして凍結乾燥物の場合には100%まで活性成分を含有する。

【0030】

本発明は、例えば、上記で定義したような治療的骨吸収抑制量、例えば約0.2～20 mg/ml

50

、好ましくは約10 mg/mlの濃度のIGF-I と、上記で定義したような量、例えば約0.02～2 mg/ml、好ましくは約0.5 mg/ml の濃度のカルシトニンとの医薬上許容される非経口用組合せ製剤に関する。前記製剤は、例えば、適当な増量剤（担体）を含んでいるバイアルまたはアンプル中の凍結乾燥製剤を構成する。そのような増量剤は、例えば約20 mg/mlの濃度のマンニトール、ラクトース、トレハロースまたは他の医薬上許容される担体である。凍結乾燥混合物は、非経口用水性溶剤、例えば注射用無菌蒸留水、5 %ブドウ糖溶液、または場合により0.1 M酢酸と一緒に生理的食塩水、等の中に溶解せしめることにより再構成することができる。好ましいのは無菌蒸留水、5 %ブドウ糖溶液または生理的食塩水である。

【0031】

本発明は、皮質無機質密度減少を示す哺乳動物におけるオステオポロシスの治療用のまたはその傾向がある哺乳動物におけるオステオポロシスの予防用の医薬製剤の製造のためのIGF-Iの利用にも関する。前記医薬製剤は、有効量のIGF-I またはその生物学的活性断片と骨吸収抑制有効量の骨吸収抑制活性化合物との組合せ、および所望により医薬上許容される担体を含んで成ることもできる。

【0032】

本発明は更に、特に下記の実施例と関連して、本明細書中に記載される医薬組成物および方法に関する。

本発明を十分に記載してきたが、特許請求の範囲に定義されるような本発明の範囲に対して何ら制限を加えることなしに、本発明をより一層明確に説明するために下記の実施例を提供する。

【0033】

【実施例】

実施例1～3：IGF-Iの乾燥アンプル

滅菌濾過した1 % (w/v) IGF-I水溶液を、後述のそれぞれの乾燥アンプルに指示量で添加する。次いでその溶液を凍結乾燥して再構成用の乾燥アンプルを得る。このアンプルを指示量の無菌蒸留水、生理的食塩水、0.1 M酢酸または5 %水性ブドウ糖により再構成し、下記に示した総容量を有する再構成溶液を得る。各バイアルは目的の患者の6日間の連続治療に十分である。

【0034】

	<u>実施例1</u>	<u>実施例2</u>	<u>実施例3</u>
アンプルサイズ	5 ml	8 ml	50 ml
IGF-I 充填容量	1 ml	5 ml	30 ml
再構成容量	1 ml	5 ml	30 ml

【0035】

実施例4：骨形成の刺激

1グループあたり6匹のビーグル犬を使って、卵巣機能の損失後の皮質密度を改善するIGF-Iの能力を証明する。対照として働く1グループには偽手術を行う。その他4グループには卵巣摘出術を行う。それらの4グループのうち、1グループは直後にIGF-Iで処置し、1グループは骨成長機能が低下した後でIGF-Iを投与し、1グループはエストロゲンで処置し、そして1グループは処置せずに観察する。各グループを12か月間に渡り観察し、脊椎骨（海綿質）および大腿骨（皮質）の骨無機質密度(BMD)を測定する。8か月間に渡る1グループあたりの平均変化量として、結果を下記の表1に報告する。

【0036】

10

20

30

40

表1

処置グループ	BMD の変化 (%)	BMD の変化 (%)
	(12か月目－0時) 皮質	(12か月目－0時) 海綿質
偽手術	4.0 %	6.2 %
卵巣摘出術のみ	0.4 %	－1.4 %
卵巣摘出術＋直後IGF-I	10.1 %	12.3 %
卵巣摘出術＋8か月後に エストロゲンで4か月処置	1.9 %	8.8 %
卵巣摘出術＋8か月後に IGF-I で4か月処置	9.6 %	9.0 %

10

20

【0037】

予防的および治療的の両方でのIGF-Iによる処置は、卵巣摘出術に係る皮質成長の低下を完全に一掃するだけでなく、偽手術した対照により達成されたレベルよりも2倍以上高く、そしてエストロゲンにより達成されたレベルよりも4.5倍以上高く皮質成長を押し上げた。

【0038】

実施例5：IGF-Iとカルシトニンとを含んで成る組合せ製剤の製造

IGF-I (1% w/v)、カルシトニン (0.05% w/v) および増量剤としての発熱物質不含有マンニトール (2% w/v) の水溶液 1 ml を、0.2 ミクロンのフィルターを通して滅菌濾過し、無菌バイアル中に充填する。次いで該溶液を凍結乾燥して乾燥アンプルにする。この乾燥アンプルは、使用直前に 1 ml 量の無菌蒸留水、生理的食塩水、0.1 M 酢酸または 5% 水性ブドウ糖を使って再構成することができる。類似の方法では、増量剤として 20 mg のラクトースまたはトレハロースを使用する。

30

フロントページの続き

(72)発明者 ハンス - ピーター ガラー

アメリカ合衆国, ニュージャージー 07928, チャザム タウンシップ, バクストン ロード
27

(72)発明者 サティシュ バティア

アメリカ合衆国, ニュージャージー 07901, サミット, マウント パーノン ロード 10

審査官 荒木 英則

(56)参考文献 欧州特許出願公開第00436469 (EP, A1)

MUELLER, K., et al., INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-I INCREASES TRABECULAR BONE MASS IN THE OVARECTOMIZED RAT, J. Bone and Min. Res. Abstr., 6(Suppl.1), p.S221, Abstr. no.549 (1991)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/27

A61P 19/10

BIOSIS(STN)

EMBASE(STN)

BIOTECHABS(STN)

CA(STN)

MEDLINE(STN)