(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2025年5月15日(15.05.2025)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2025/100427 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 31/7088 (2006.01) *A61P 9/12* (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01) *A61P 11/00* (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)
A61K 31/4965 (2006.01) *C12N 15/115* (2010.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2024/039369

(22) 国際出願日： 2024年11月6日(06.11.2024)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2023-189333 2023年11月6日(06.11.2023) JP

(71) 出願人:国立研究開発法人国立循環器病研究センター (NATIONAL CEREBRAL AND CARDIOVASCULAR CENTER) [JP/JP]; 〒5648565 大阪府吹田市岸部新町６番１号 (JP).

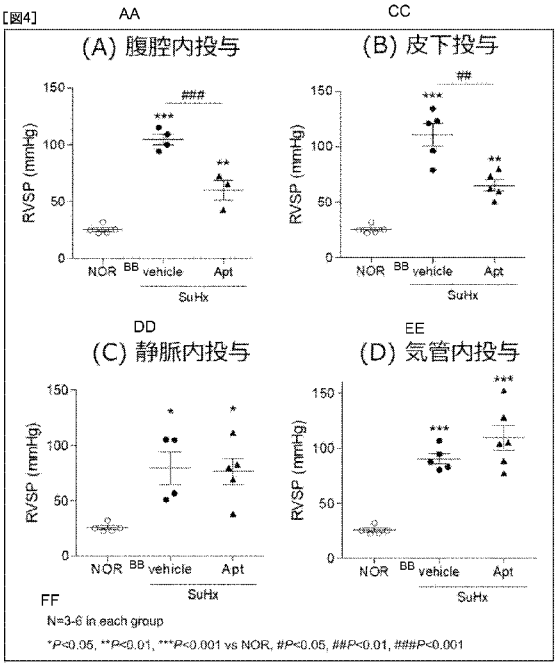
(72) 発明者: 中岡 良和 (NAKAOKA Yoshikazu); 〒5648565 大阪府吹田市岸部新町６番１号 国立研究開発法人国立循環器病研究センター内 (JP). 稲垣 薫克 (INAGAKI Tadakatsu); 〒5648565 大阪府吹田市岸部新町６番１号 国立研究開発法人国立循環器病研究センター内 (JP).

(74) 代理人:岩谷 龍 (IWATANI Ryo); 〒5300003 大阪府大阪市北区堂島２丁目１番３１号 京阪堂島ビル６階 (JP).

(54) **Title:** MEDICINE FOR PREVENTION AND/OR TREATMENT OF PULMONARY HYPERTENSION

(54) 発明の名称： 肺高血圧症の予防および／または治療用医薬

[図4]



AA Intraperitoneal administration
BB vehicle
CC Subcutaneous administration
DD Intravenous administration
EE Intratracheal administration
FF N = 3-6 in each group

(57) **Abstract:** The present invention provides a medicine for the prevention and/or treatment of pulmonary hypertension. The medicine contains an aptamer capable of binding to interleukin-21 as an active ingredient and is administered subcutaneously. For the medicine, the single dose is 0.001 mg/kg to 50 mg/kg, and the frequency of administration is selected from once/1 day to once/28 days.

(57) 要約：本発明は、インターロイキン－２１に結合するアプタマーを有効成分とし、皮下投与され、１回投与量が０．００１ｍｇ／ｋｇ～５０ｍｇ／ｋｇであり、投与頻度が１回／日～１回／２８日から選択される、肺高血圧症の予防および／または治療用医薬を提供する。

［続葉有］

WO 2025/100427 A1

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告(条約第21条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト(規則5.2(a))

明　細　書

発明の名称 ： 肺高血圧症の予防および／または治療用医薬

技術分野

[0001]　本発明は、肺高血圧症の予防および／または治療用医薬に関するものである。

背景技術

[0002]　肺高血圧症は、肺動脈に血管リモデリング（狭窄や閉塞）を来たして肺動脈圧の上昇から右心不全に至る予後不良の難病である。肺高血圧症は、病態の主座から１群から５群に分類される（非特許文献１）。中でも、肺動脈中膜肥厚や内膜増殖病変といった肺動脈リモデリングにより肺高血圧症をきたす肺動脈性肺高血圧症、慢性的な肺動脈内血栓閉塞により肺高血圧症をきたす慢性血栓塞栓性肺高血圧症は、厚生労働省指定難病である。

[0003]　現在、肺高血圧症治療には、エンドセリン受容体拮抗薬（ボセンタン、アンブリセンタン、マシテンタンなど）、ホスホジエステラーゼ（ＰＤＥ）５阻害薬（シルデナフィル、タダラフィルなど）、可溶性グアニル酸シクラーゼ（ｓＧＣ）刺激薬（リオシグアトなど）、プロスタサイクリン受容体（ＩＰ受容体）作動薬（エポプロステノール、セレキシパグ、ベラプロスト、イロプロスト、トレプロスチニルなど）などが使用されている。しかし、これらの治療による予後の改善は十分とはいえない。

[0004]　肺高血圧症の遺伝性素因にはBMPR2シグナル関連遺伝子が知られるが、疾患浸透率は約20％と低く、肺高血圧症発症には炎症や外来化学物質の曝露が重要と考えられている。本発明者らは、インターロイキン－６（ＩＬ-６）／Ｔｈ１７細胞／インターロイキン－２１（ＩＬ－２１）シグナル軸が肺高血圧症病態形成に重要であることを報告した（非特許文献２）。

[0005]　特許文献１には、ＩＬ－２１からのシグナル伝達を阻害する物質（例えば、抗ＩＬ－２１抗体）により、肺高血圧症の予防および治療が可能であることが記載されている。特許文献２には、ＩＬ－２１に結合するアプタマーが

肺高血圧症の予防および治療に有用であることが記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開２０１６－０５６１１５

特許文献2：ＷＯ２０２１／２５６５３０　Ａ１

非特許文献

[0007] 非特許文献1：J Am Coll Cardiol. 2013 Dec 24;62(25 Suppl):D34-41. doi: 10.1016/j.jacc.2013.10.029.

非特許文献2：Proc Natl Acad Sci USA. 2015 May 19;112(20):E2677-86. doi: 10.1073/pnas.1424774112.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008]　本発明は、ＩＬ－２１に結合するアプタマーの新規な医薬用途を提供することを課題とする。さらに、当該医薬用途におけるＩＬ－２１に結合するアプタマーの好ましい用法・用量を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0009]　本発明は、上記の課題を解決するために以下の各発明を包含する。

［１］インターロイキン－２１に結合するアプタマーを有効成分とし、皮下投与されることを特徴とする、肺高血圧症の予防および／または治療用医薬。

［２］前記アプタマーの１回投与量が０．００１ｍｇ／ｋｇ～５０ｍｇ／ｋｇである前記　［１］に記載の医薬。

［３］投与頻度が１回／日～１回／２８日から選択される、前記［１］に記載の医薬。

［４］肺高血圧症が肺動脈性肺高血圧症である、前記［１］に記載の医薬。

［５］エンドセリン受容体拮抗薬と組み合わせて投与される、前記［１］～［４］のいずれかに記載の医薬。

［６］可溶性グアニル酸シクラーゼ刺激薬と組み合わせて投与される、前記［１］～［４］のいずれかに記載の医薬。

［７］プロスタサイクリン受容体作動薬と組み合わせて投与される、前記［１］～［４］のいずれかに記載の医薬。

[0010] ［８］インターロイキン－２１に結合するアプタマーを有効成分とする肺高血圧症の予防および／または治療用医薬。

［９］肺高血圧症患者に、インターロイキン－２１に結合するアプタマーの有効量を投与することを含む、肺高血圧症の治療方法。

［１０］肺高血圧症患者に、インターロイキン－２１に結合するアプタマーの有効量を皮下投与することを含む、肺高血圧症の治療方法。

［１１］肺高血圧症の予防および／または治療に使用するためのインターロイキン－２１に結合するアプタマー。

［１２］皮下投与により、肺高血圧症の予防および／または治療に使用するためのインターロイキン－２１に結合するアプタマー。

［１３］肺高血圧症の予防および／または治療用医薬を製造するためのインターロイキン－２１に結合するアプタマーの使用。

［１４］肺高血圧症の予防および／または治療に用いる、皮下投与に適した医薬を製造するためのインターロイキン－２１に結合するアプタマーの使用。

発明の効果

[0011] 本発明により、ＩＬ－２１に結合するアプタマーを有効成分とする肺高血圧症の予防および／または治療用医薬を提供することができる。本発明の医薬は、皮下投与により、他の投与経路より優れた治療効果を奏することができる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]実施例１の実験プロトコルを示す図である。

[図2]抗ラットIL-21アプタマーによる重症肺高血圧症ラットモデルの治療効果を確認した結果を示す図であり、（A）は右室収縮期圧（RVSP）、（B）は

右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）、（C）は肺動脈のエラスチカ・ワンギーソン染色画像（EVG）、（D）は血管閉塞率、（E）は閉塞血管割合の結果である。

[図3]実施例２の実験プロトコルを示す図である。

[図4]重症肺高血圧症ラットモデルに異なる投与経路で抗ラットIL-21アプタマーを投与して右室収縮期圧（RVSP）を測定した結果を示す図であり、（A）は腹腔内投与、（B）は皮下投与、（C）は静脈内投与、（D）は気管内投与の結果である。

[図5]重症肺高血圧症ラットモデルに異なる投与経路で抗ラットIL-21アプタマーを投与して右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）を測定した結果を示す図であり、（A）は腹腔内投与、（B）は皮下投与、（C）は静脈内投与、（D）は気管内投与の結果である。

[図6]重症肺高血圧症ラットモデルに異なる投与経路で抗ラットIL-21アプタマーを投与して血管閉塞率を算出した結果を示す図であり、（A）は腹腔内投与、（B）は皮下投与、（C）は静脈内投与、（D）は気管内投与の結果である。

[図7]血漿中および右肺上葉中の抗ラットIL-21アプタマー濃度を測定した結果を示す図である。

[図8]実施例３の実験プロトコルを示す図である。

[図9]抗ラットIL-21アプタマーの皮下投与による用量反応試験の結果を示す図であり、（A）は右室収縮期圧（RVSP）、（B）は右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）、（C）は血管閉塞率、（D）は閉塞血管割合の結果である。

[図10]実施例４の実験プロトコルを示す図である。

[図11]抗ラットIL-21アプタマーとエンドセリン受容体拮抗薬（ERA）との組み合わせによる重症肺高血圧症ラットモデルの治療効果を確認した結果を示す図であり、（A）は右室収縮期圧（RVSP）、（B）は右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）、（C）は肺動脈のエラスチカ・ワンギーソン染色画像（EVG）、（D）は血管閉塞率、（E）は閉塞血管割合の結果である。

[図12]実施例５の実験プロトコルを示す図である。

[図13]抗ラットIL-21アプタマーと可溶性グアニル酸シクラーゼ（sGC）刺激薬との組み合わせによる重症肺高血圧症ラットモデルの治療効果を確認した結果を示す図であり、（A）は右室収縮期圧（RVSP）、（B）は右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）、（C）は肺動脈のエラスチカ・ワンギーソン染色画像（EVG）、（D）は血管閉塞率、（E）は閉塞血管割合の結果である。

[図14]実施例６の実験プロトコルを示す図である。

[図15]抗ラットIL-21アプタマーとプロスタサイクリン受容体（IP受容体）作動薬との組み合わせによる重症肺高血圧症ラットモデルの治療効果を確認した結果を示す図であり、（A）は右室収縮期圧（RVSP）、（B）は右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）、（C）は肺動脈のエラスチカ・ワンギーソン染色画像（EVG）、（D）は血管閉塞率、（E）は閉塞血管割合の結果である。

発明を実施するための形態

[0013] 本発明は、ＩＬ－２１に結合するアプタマーを有効成分とする肺高血圧症の予防および／または治療用医薬を提供する（以下「本発明の医薬」と記す）。本発明の医薬は皮下投与されることが好ましい。

[0014] 本発明の医薬の有効成分であるＩＬ－２１に結合するアプタマー（以下「抗ＩＬ－２１アプタマー」という）は、ヒトＩＬ－２１に結合し、ヒトＩＬ－２１の機能を阻害する活性を有するものであれば特に限定されない。例えば、上記特許文献２（WO2021/256530 A1）においてヒトＩＬ－２１に結合し、細胞評価系でヒトＩＬ－２１の活性を阻害することが確認されたアプタマーを好適に用いることができる。具体的には、以下の式（５）：

$X_1CCKYCX_2-N_{1a}-X_3CGRYKACYX_4-N_{2a}-X_5GYMCGX_6$ （５）

（式中、N_{1a}は、３～７個の長さの任意の塩基配列であり、N_{2a}は、３～８個の長さの任意の塩基配列であり、X_1とX_6、X_2とX_5およびX_3とX_4はそれぞれ互いに相補的な塩基配列であり、ＲはＡまたはＧを表し、ＹはＣまたはＵを表し、ＫはＧまたはＵを表し、ＭはＡまたはＣを表す。）で示される

塩基配列を含むアプタマーが挙げられる。

[0015] 本発明の医薬の有効成分である抗ＩＬ－２１アプタマーは、配列番号１～２９に示される塩基配列を含むアプタマーであってもよい。以下に、配列番号１～２９で示される塩基配列（ただし、ウラシルはチミンであってもよい）を示す。下線は共通配列を示す。

配列番号１：GGGAGAAGAACCUUCAACACGCGACUACUCGUGAUUGCCCGUUCUGAGCCCAGACGCUCUGCGCU

配列番号２：GGGAGAAGAACCUUCCACGACCGACUACUGUCAAUGGCCCGUUCUUUGCCCAGACGCUCUGCGCU

配列番号３：GGGAGAAGAACCUUCAACACGCGACUACUCGUGAUUGCCCGUUCUGAGCCC

配列番号４：GGAGAACCUUCAACACGCGACUACUCGUGAUUGCCCGUUCUCC

配列番号５：GGACCUUCAACACGCGACUACUCGUGAUUGCCCGUCC

配列番号６：GGCCUUCAACACGCGACUACUCGUGAUUGCCCGCC

配列番号７：GACCUUCAACACGCGACUACUCGUGAUUGCCCGUC

配列番号８：ACCUUCAACACGCGACUACUCGUGAUUGCCCGU

配列番号９：GGACCUUCAACACGCGGCUACUCGUGAUUGCCCGUCC

配列番号１０：GAACCUUCAACACGCGACUACUCGUGAUUGCCCGUUC

[0016] 配列番号１１：GACCUUCAACACGCGGCUACUCGUGAUUGCCCGUC

配列番号１２：GGACCUUCAACACGCGAUUACUCGUGAUUGCCCGUCC

配列番号１３：GGACCUUCAACAAGCGAUUACUCUUGAUUGCACGUCC

配列番号１４：GGACCUUCAACCCGCGAUUACUCGGGAUUGCCCGUCC

配列番号１５：GGACCUUCAACCCGCGACUACUCGGGAUUGCCCGUCC

配列番号１６：GGCCCGCCAACACACGAUUACUUGUGAUUGUCCGGCC

配列番号１７：GGACCUUCAACGCGCGACUACUCGCGAUUGCCCGUCC

配列番号１８：GGACCGCCAACACACGAUUACUUGUGAUUGCCCGUCC

配列番号１９：GGACCUUCAACCCGCGAUUACUCGGGAUUGCACGUCC

配列番号２０：GGACCGCCAACACACGACUACUUGUGAUUGUCCGUCC

[0017] 配列番号２１：GGACCUUCAUCACGCGAUUACUCGUGAAUGCCCGUCC

配列番号２２：GGACCGCCAACAAACGAUUACUUUUGAUUGUCCGUCC

配列番号２３：GGACCUUCAACCCGCGGCUACUCGGGAUUGCCCGUCC

配列番号２４：GACCUUCAACCCGCGGCUACUCGGGAUUGCCCGUC

配列番号２５：GGACCGUCAACACGCGACUACUCGUGAUUGCCCGUCC

配列番号２６：GGACCUCCAACACGCGACUACUCGUGAUUGCCCGUCC

配列番号２７：GGACCUUCAACACGCGACGACUCGUGAUUGCCCGUCC

配列番号２８：GGACCUUCAACACGCGACUACCCGUGAUUGCCCGUCC

配列番号２９：GGACCUUCAACACGCGACUACUCGUGAUUGCACGUCC

[0018] 本発明の医薬の有効成分である抗ＩＬ－２１アプタマーは、上記配列番号１～２９で示される塩基配列を含むアプタマーにおいて、１個または数個のヌクレオチドが置換、欠失、挿入または付加された塩基配列を含み、かつヒトＩＬ－２１に結合しヒトＩＬ－２１の活性を阻害するアプタマーであってもよい。置換、欠失、挿入または付加されるヌクレオチド数は特に限定されないが、例えば５個、４個、３個、２個または１個であってもよい。

[0019] 抗ＩＬ－２１アプタマーは、上記配列番号１～２９で示される塩基配列を含むアプタマーから選ばれる１種のアプタマーの複数の連結物であってもよく、上記配列番号１～２９で示される塩基配列を含むアプタマーから選ばれる２種以上のアプタマー各々１個以上含む連結物でであってもよい。

[0020] 抗ＩＬ－２１アプタマーに含まれる各ヌクレオチドはそれぞれ、同一または異なって、リボースの２’位においてヒドロキシ基を含むヌクレオチド（即ち、天然のリボヌクレオチド）であるか、あるいはリボースの２’位において、ヒドロキシ基が、任意の原子または基で置換（修飾）されているヌクレオチドであってもよい。任意の原子または基としては、例えば、水素原子、フッ素原子、－Ｏ－アルキル基（例えば、－Ｏ－Ｍｅ基）、－Ｏ－アシル基（例えば、－Ｏ－ＣＨＯ基）、アミノ基（例えば、－NH_2基）などが挙げられる。

[0021] 抗ＩＬ－２１アプタマーは、末端にポリエチレングリコール（ＰＥＧ）が付加されていてもよい。ＰＥＧの分子量は特に限定されず、１０００～１０

００００であってもよく、３００００～９００００であってもよい。ＰＥＧは、直鎖状であってもよく、２つ以上の鎖に分岐したものであってもよい。

[0022] 本発明の医薬は、肺高血圧症の予防および／または治療に用いることができる。肺高血圧症のなかでも、肺動脈性肺高血圧症（ＰＡＨ：pulmonary arterial hypertension）の予防および／または治療に好適に用いることができる。

[0023] 本発明の医薬は、医薬製剤の製造法として公知の方法（例えば、日本薬局方に記載の方法等）に従って、薬学的に許容される担体または添加剤を適宜配合して製剤化することができる。具体的には、例えば錠剤（糖衣錠、フィルムコーティング錠、舌下錠、口腔内崩壊錠、バッカル錠等を含む）、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤（ソフトカプセル剤、マイクロカプセル剤を含む）、トローチ剤、シロップ剤、液剤、乳剤、懸濁剤、放出制御製剤（例えば速放性製剤、徐放性製剤、徐放性マイクロカプセル剤等）、エアゾール剤、フィルム剤（例えば口腔内崩壊フィルム、口腔粘膜貼付フィルム等）、注射剤（例えば皮下注射剤、静脈内注射剤、筋肉内注射剤、腹腔内注射剤等）、点滴剤、経皮吸収型製剤、軟膏剤、ローション剤、貼付剤、坐剤（例えば肛門坐剤、膣坐剤等）、ペレット、経鼻剤、経肺剤（吸入剤）、点眼剤等の経口剤または非経口剤が挙げられる。担体または添加剤の配合割合については、医薬分野において通常採用されている範囲に基づいて適宜設定することができる。配合できる担体または添加剤は特に制限されないが、例えば水、生理食塩水、その他の水性溶媒、水性または油性基剤等の各種担体；賦形剤、結合剤、ｐＨ調整剤、崩壊剤、吸収促進剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、香料等の各種添加剤が挙げられる。

[0024] 錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラチン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリ

ーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は通常の製剤化手順（例えば有効成分を注射用水、天然植物油等の溶媒に溶解または懸濁させる等）に従って調製することができる。注射用の水性液としては、例えば生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えばD-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えばアルコール（エタノール等）、ポリアルコール（プロピレングリコール、ポリエチレングリコール等）、非イオン性界面活性剤（ポリソルベート80、HCO-50等）などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。また、緩衝剤（例えばリン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液等）、無痛化剤（例えば塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカイン等）、安定剤（例えばヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコール等）、保存剤（例えばベンジルアルコール、フェノール等）、酸化防止剤などと配合してもよい。

[0025] 本発明の医薬の投与経路は特に限定されないが、皮下投与を好ましく用いることができる。本発明の医薬は、皮下投与された場合に他の経路で投与されるより優れた治療効果を奏することが確認されている。皮下投与用の医薬として実施する場合、注射剤の形態で実施することができる。

[0026] 抗ＩＬ－２１アプタマーは、ヒトや他の哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して毒性が低く、安全に投与することができる。製剤中の抗ＩＬ－２１アプタマーの含量は、剤型、投与方法、担体等により異なるが、製剤全量に対して通常０．０１～１００％（ｗ／ｗ）の割合であり、０．１～９５％（ｗ／ｗ）の割合であってもよい。

[0027] 抗ＩＬ－２１アプタマーの投与量は、病気の重篤度、投与対象の薬物受容性、体重、年齢等によって異なるが、通常、成人１日あたり有効成分量として約０．００１～約５０ｍｇ／ｋｇであり、約０．０１～約１０ｍｇ／ｋｇ

であってもよく、約０．１～約１ｍｇ／ｋｇであってもよい。また、その投与頻度は、１回／日～１回／２８日から選択される。投与頻度は１回／日～１回／２１日であってもよく、１回／日～１回／１４日であってもよく、１回／日～１回／７日であってもよい。

[0028] 本発明の医薬は、公知の肺高血圧症治療薬と組み合わせて使用してもよい。公知の肺高血圧症治療薬としては、エンドセリン受容体拮抗薬、ホスホジエステラーゼ（ＰＤＥ）５阻害薬、可溶性グアニル酸シクラーゼ（ｓＧＣ）刺激薬、プロスタサイクリン（PGI_2）製剤、プロスタサイクリン受容体（ＩＰ受容体）作動薬などが挙げられる。エンドセリン受容体拮抗薬には、例えばボセンタン、アンブリセンタン、マシテンタンなどが含まれる。ホスホジエステラーゼ５阻害薬には、例えばシルデナフィル、タダラフィルなどが挙げられる。可溶性グアニル酸シクラーゼ刺激薬には、例えばリオシグアトなどが含まれる。プロスタサイクリン製剤には、例えばエポプロステノール、セレキシパグ、ベラプロスト、イロプロスト、トレプロスチニルなどが含まれる。

[0029] 本発明の医薬と公知の肺高血圧症治療薬は、これらを投与対象に対し、同時に投与してもよいし、時間差をおいて投与してもよい。本明細書において「組み合わせて投与される」とは、本発明の医薬の適用時期と公知の肺高血圧症治療薬の適用時期が重複していることを意味し、同時に投与することを要するものではない。本発明の医薬の投与開始と公知の肺高血圧症治療薬の投与開始の時間差は特に限定されず、1日以上、2日以上、3日以上、4日以上、5日以上、6日以上、7日以上の時間差であってもよい。公知の肺高血圧症治療薬の投与量は、臨床上用いられている投与量に準ずればよく、投与対象、投与対象の年齢および体重、症状、投与時間、剤形、投与方法、組み合わせ等により適宜選択することができる。

実施例

[0030] 以下、実施例により本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0031] 〔実験材料と方法〕

（１）実験動物

全ての実験は6週齢のSprague-Dawley（SD）ラットを日本Charles River社から購入して行った。低酸素負荷をする際には、10%酸素の低酸素チェンバー内で持続的に3週間飼養し、掃除のために週2回5分程度開ける以外はこの条件を維持した。低酸素ガスは、流量7L/分で低酸素チェンバーへ持続的に送達した。全てのラットは明暗12時間/12時間サイクルで24±1℃の飼育室にて、特に記載のない限り、標準的ラット飼料と水を与えて飼養した。

[0032] （２）重症肺高血圧症ラットモデルの作成

重症肺高血圧症ラットモデルにはSuHxラットモデル（Abe et al. Circulation 121, 2747, 2010）を用いた。SuHxラットモデルは、既報に従って、以下のようにして作製された。6週齢のSDラットに、20mg/kgのSU5416を皮下投与し、10%酸素の低酸素チャンバー内で3週間飼育し、その後低酸素チャンバーから出して、正酸素条件下で5週間飼育した。

[0033] （３）抗ラットIL-21アプタマー

抗ラットIL-21アプタマーは、ラットIL-21に結合することでその働きを特異的に阻害するアプタマーである。本実施例では、株式会社リボミックから供与された抗ラットIL-21アプタマー（ILba15-6Rb-10-21-53-3'P）を使用した。アプタマーは、5%グルコース溶液で所定の濃度に希釈して使用した。

[0034] 抗ラットIL-21アプタマー（ILba15-6Rb-10-21-53-3'P）の配列は、株式会社リボミックより提供された配列番号３０で示される塩基配列（GGAGACCUCCUCUGCCACCAAGCUGCAAGGUGGAUCCAGACGCU）を含む。ILba15-6Rb-10-21-53-3'Pは、さらに、フッ素原子または0-メチル基で修飾されたヌクレオチドを含み、3'末端にポリエチレングリコール（PEG）が付加された構造を有する。以下にILba15-6Rb-10-21-53-3'Pの構造を示す。

G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)C(M)C(M)U(M)C(M)C(M)U(M)C(M)U(F)GC(M)C(M)A(M)C(M)C(F)A(M)A(M)G(M)C(F)U(F)GC(F)AAG(M)G(M)U(M)G(M)G(M)A(M)U(F)C(M)C(M)AG(M)A(M)C(F)G(M)C(M)U(M)_N(6)_X

（式中(F)および(M)は、RNAのヌクレオチド中のリボースの2'位の修飾を示し、Fはフッ素原子、Mは0-メチル基を表す。N(6)はアミノC6リンカーを表し、Xは40kDaのポリエチレングリコールを表す。）

[0035] （４）右室収縮期圧測定

3%イソフルラン吸入にて麻酔導入を行い、気管を切開して人工呼吸器を装着し、1回換気量8～10μL/g、頻度60～80回/分に設定して呼吸管理を行い、1.5～2%イソフルラン吸入にて麻酔維持を行った。直腸温モニターと連動したサーモスタット制御のヒートパッドを用いて、血行動態測定中のラットの体温を37～38℃に維持した。

[0036] 18ゲージBDアンジオカット（商品名、静脈留置用カテーテル）を右外頸静脈に挿入して右心室まで進めて右心室圧（RVP）を測定した。RVPシグナルは圧トランスデューサー（MLT0670; ADインスツルメンツ）で検出して、圧アンプリファイアー（ML117; ADインスツルメンツ）でそのシグナルを中継して、持続的にPower Labシステム（ADインスツルメンツColorado Springs, CO）でサンプリングし、Chart software（ADインスツルメンツ）を用いてコンピューターに記録した。平均動脈圧（MAP）は同じく静脈カテーテル挿入前に右内頸動脈にポリエチレンチューブを挿入し、静脈カテーテルと同じシステムを用いて測定した。心拍数（HR）は動脈圧波形の収縮期のピークから拾われて算出された。MAPが50mmHg以上、および心拍数が200～500回/分の条件を満たす場合に測定を行った。MAPが50mmHg未満またはHRが200回/分未満に低下した場合は測定から除外した。

[0037] （５）右室／左室＋中隔重量比

右心カテーテルによる血行動態測定後、ラットを下大静脈からの放血で安楽死させ、右心カテーテルから生理食塩水を灌流し、左心房を切開することにより脱血した。心臓を摘出し、心房を取り除き、右心室（RV）を左心室（LV）と中隔（septum）から分離した。水分を吸い取った後、右心室重量と左心室＋中隔の重量を測定し、両者の重量比（RV/LV+septum比）を算出して右心室の肥大を評価した。

[0038] （６）組織学的解析

肺は組織学的解析のために回収した。気管は4%パラホルムアルデヒド（PFA）で潅流して、気道を伸展させる条件で固定した。切除した肺サンプルは4%PFAにて4℃で一夜固定した後にPBSで置換し、パラフィン包埋して4μm厚でスライスした。肺血管の形態解析のために、エラスチカ・ワンギーソン（Elastica van Gieson）染色およびヘマトキシリン・エオジン（Hematoxylin-Eosin）染色を行った。肺血管の画像はScanScope CS（Leica）またはNanoZoomer（Hamamatsu Photonics）で撮像した。各実験群でランダムに選んだ動物の肺切片を用いて形態解析を行った。肺血管リモデリング評価は、血管内腔の新生内膜領域係数によって行った。対象血管は、肺実質にある肺動脈、終末細気管支レベルにある小動脈（small artery）、肺細葉レベルにある細小動脈(arteriole)のうち、直径30～100μmのものとし、各処置群40本以上選択して評価を行った。中肺動脈の直径はAperio ImageScope（Leica）を用いて決定した。血管内腔の新生内膜領域係数は、各血管について、新生内膜病変を認めないもの（Open）、血管内腔の50%未満に内膜病変を認めるもの（Partial closed）、血管内腔の50%以上が内膜病変で占められるもの（Closed）として分類し、各群における血管数の割合を評価した。

[0039] （６）統計解析

全てのデータは平均値±標準誤差で表現されている。多群間での有意差検定はone-way ANOVAで行い、Turkey-Kramerの方法で検定した。2群間の検定はStudent t検定で解析した。P値0.05未満を統計的有意として考えた。*はP<0.05、**はP<0.01、***はP<0.001を示す。

[0040] 〔実施例１：抗ラットIL-21アプタマーによる重症肺高血圧症ラットモデルの治療効果〕

実験プロトコルを図１に示した。アプタマー群は、SuHxラットモデルに抗ラットIL-21アプタマーを、SU5416投与（0w）の5週後（5w）から3週間、3日に1度の頻度で腹腔内投与した（1mg/kg/3day）。溶媒群は、SuHxラットモデルに溶媒（5%グルコース溶液）を5wから3週間、3日に1度の頻度で腹腔内投与

した。対照群は、正酸素条件下で全期間飼育したラットに、5%グルコース溶液を5wから3週間、3日に1度の頻度で腹腔内投与した。実験開始から8週後（8w）に右室収縮期圧の測定を行い、ラットを安楽死させて心臓と肺を切除し、組織重量を測定後、組織解析に供した。

[0041] 結果を図２（A）～（E）に示した。（A）は右室収縮期圧（RVSP）、（B）は右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）、（C）は肺動脈のエラスチカ・ワンギーソン染色画像（EVG）、（D）は肺動脈中膜肥厚係数、（E）は肺動脈閉塞率の結果である。溶媒群（vehicle）では右室収縮期圧、右室／左室＋中隔重量比および肺動脈中膜肥厚係数のいずれも対照群（NOR）と比較して有意な上昇が認められ、肺動脈閉塞率の増加も認められた。一方、アプタマー群（Aptamer）では、肺高血圧症病態の有意な抑制が認められた。

[0042] 〔実施例２：抗ラットIL-21アプタマーの投与経路による重症肺高血圧症ラットモデルの治療効果〕

実験プロトコルを図３に示した。アプタマー群は、SuHxラットモデルに抗ラットIL-21アプタマーを、SU5416投与（0w）の3週後（3w）から5週間、3日に1度の頻度で投与した（1mg/kg/3day）。溶媒群は、SuHxラットモデルに溶媒（5%グルコース溶液）を3wから5週間、3日に1度の頻度で投与した。対照群は、正酸素条件下で全期間飼育したラットに、5%グルコース溶液を3wから5週間、3日に1度の頻度で投与した。投与経路は腹腔内投与（i.p.）、皮下投与（s.c.）、静脈内投与（i.v.）および気管内投与（i.t.）とした。対照群の投与経路は腹腔内投与のみとした。実験開始から8週後（8w）に右室収縮期圧の測定を行い、採血した後にラットを安楽死させて心臓と肺を切除し、組織重量を測定後、組織解析に供した。また、血漿と右肺上葉の一部をアプタマー濃度測定に供した。採血および肺組織採取日は、最終投与日から2日目である。

[0043] 右室収縮期圧（RVSP）の結果を図４に示した。アプタマー腹腔内投与群およびアプタマー皮下投与群において、溶媒群と比較して有意な抑制効果が確認された。右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）の結果を図５に示した。アプ

タマー腹腔内投与群、アプタマー皮下投与群およびアプタマー静脈内投与群において、溶媒群と比較して有意な抑制効果が確認された。血管閉塞率の結果を図６に示した。アプタマー腹腔内投与群およびアプタマー皮下投与群において、溶媒群と比較して有意な血管閉塞率の減少が確認された。これらの結果から、アプタマー皮下投与群はアプタマー腹腔内投与群に匹敵する肺高血圧病態の有意な抑制効果を奏することが確認された。

[0044] 皮下投与群、静脈内投与群および気管内投与群の血漿中アプタマー濃度および右肺上葉中アプタマー濃度の測定は株式会社リボミックにより実施され、その結果を図７に示した。血漿または肺組織のホモジネート上清を試料とし、Judith M. Healyら（Pharmaceutical Research, December 2004, Volume 21, Issue 12, pp2234-2246）の方法に従い、ELOSA法（ハイブリダイゼーション法）を用いて定量を行った。血漿中アプタマー濃度および右肺上葉中アプタマー濃度は、いずれも皮下投与より静脈内投与の方が高値であった。したがって、血漿中アプタマー濃度および右肺上葉中アプタマー濃度と肺高血圧病態の抑制効果の間には正の相関が成立しないことが示された。

[0045] 〔実施例３：抗ラットIL-21アプタマーの皮下投与による用量反応試験〕

実験プロトコルを図８に示した。アプタマー群は、SuHxラットモデルに抗ラットIL-21アプタマーを、SU5416投与（0w）の3週後（3w）から5週間、3日に1度の頻度で投与した。1回あたりの用量は、0.1μg/kg、1μg/kg、10μg/kg、100μg/kgおよび1000μg/kgの5段階を設けた。溶媒群は、SuHxラットモデルに溶媒（5%グルコース溶液）を3wから5週間、3日に1度の頻度で投与した。対照群は、正酸素条件下で全期間飼育したラットに、5%グルコース溶液を3wから5週間、3日に1度の頻度で投与した。実験開始から8週後（8w）に右室収縮期圧の測定を行い、ラットを安楽死させて心臓と肺を切除し、組織重量を測定後、組織解析に供した。

[0046] 結果を図９（A）～（D）に示した。（A）は右室収縮期圧（RVSP）、（B）は右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）、（C）は血管閉塞率、（D）は閉塞血管割合の結果である。アプタマー群は、10μg/kg/3dayおよび1000μg/kg/3da

yの用量で右室収縮期圧（RVSP）の上昇を有意に抑制した。また、アプタマー群は、10μg/kg/3dayおよび1000μg/kg/3dayの用量で血管閉塞率を有意に減少させた。

[0047] 〔実施例４：抗ラットIL-21アプタマーとエンドセリン受容体拮抗薬（ERA）との組み合わせによる重症肺高血圧症ラットモデルの治療効果〕

実験プロトコルを図１０に示した。ERAとしてマシテンタン（MedChemExpress）を使用した。抗ラットIL-21アプタマー投与群、ERA投与群、組み合わせ投与群、溶媒群、対照群の5群を設けた。SuHxラットモデルに、SU5416投与（0w）の5週後（5w）から3週間投与を行った。抗ラットIL-21アプタマー投与群および組み合わせ投与群には、抗ラットIL-21アプタマー（1mg/kg）を3日に1度の頻度で皮下投与し、ERA投与群および溶媒群には、5%グルコース溶液を3日に1度の頻度で皮下投与した。また、ERA投与群および組み合わせ投与群には、ERAを混餌投与し、抗ラットIL-21アプタマー投与群および溶媒群には、粉末化した標準的ラット飼料を与えた。給餌器にローデンカフェ（オリエンタル酵母）を用いて飼料を自由に摂取させた。摂餌量に基づいて算出した１日当たりのERA投与量は約30mg/kg/dayであった。対照群は、正酸素条件下で全期間飼育したラットとした。実験開始から8週後（8w）に右室収縮期圧の測定を行い、ラットを安楽死させて心臓と肺を切除し、組織重量を測定後、組織解析に供した。

[0048] 結果を図１１（A）～（E）に示した。（A）は右室収縮期圧（RVSP）、（B）は右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）、（C）は肺動脈のエラスチカ・ワンギーソン染色画像（EVG）、（D）は血管閉塞率、（E）は閉塞血管割合の結果である。アプタマー投与群およびERA投与群は、いずれも各肺高血圧症病態を有意に抑制した。さらにアプタマーとERAの組み合わせ群では、肺高血圧症病態抑制の相加効果が認められた。

[0049] 〔実施例５：抗ラットIL-21アプタマーと可溶性グアニル酸シクラーゼ（sGC）刺激薬との組み合わせによる重症肺高血圧症ラットモデルの治療効果〕

実験プロトコルを図１２に示した。sGC刺激薬としてBAY41-2272（Selleck

）を使用した。抗ラットIL-21アプタマー投与群、sGC刺激薬投与群、組み合わせ投与群、溶媒群、対照群の5群を設けた。SuHxラットモデルに、SU5416投与（0w）の5週後（5w）から3週間投与を行った。抗ラットIL-21アプタマー投与群および組み合わせ投与群には、抗ラットIL-21アプタマー（1mg/kg）を3日に1度の頻度で皮下投与し、ERA投与群および溶媒群には、5%グルコース溶液を3日に1度の頻度で皮下投与した。また、sGC投与群および組み合わせ投与群には、sGC刺激薬を混餌投与し、抗ラットIL-21アプタマー投与群および溶媒群には、粉末化した標準的ラット飼料を与えた。給餌器にローデンカフェ（オリエンタル酵母）を用いて飼料を自由に摂取させた。摂餌量に基づいて算出した１日当たりのsGC刺激薬投与量は約10mg/kg/dayであった。対照群は、正酸素条件下で全期間飼育したラットとした。実験開始から8週後（8w）に右室収縮期圧の測定を行い、ラットを安楽死させて心臓と肺を切除し、組織重量を測定後、組織解析に供した。

[0050] 結果を図１３（A）～（E）に示した。（A）は右室収縮期圧（RVSP）、（B）は右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）、（C）は肺動脈のエラスチカ・ワンギーソン染色画像（EVG）、（D）は血管閉塞率、（E）は閉塞血管割合の結果である。差替えました。さらにアプタマーとsGC刺激薬の組み合わせ群では、肺高血圧症病態抑制の相加効果が認められた。

[0051] 〔実施例６：抗ラットIL-21アプタマーとプロスタサイクリン受容体（IP受容体）作動薬との組み合わせによる重症肺高血圧症ラットモデルの治療効果〕

実験プロトコルを図１４に示した。IP受容体作動薬としてセレキシパグ（MedChemExpress）を使用した。抗ラットIL-21アプタマー投与群、IP受容体作動薬投与群、組み合わせ投与群、溶媒群、対照群の5群を設けた。SuHxラットモデルに、SU5416投与（0w）の5週後（5w）から3週間投与を行った。抗ラットIL-21アプタマー投与群および組み合わせ投与群には、抗ラットIL-21アプタマー（1mg/kg）を3日に1度の頻度で皮下投与し、IP受容体作動薬投与群および溶媒群には、5%グルコース溶液を5wから3週間、3日に1度の頻度で皮下投与した。IP受容体作動薬投与群および組み合わせ投与群には、IP受容体作動

薬を混餌投与し、抗ラットIL-21アプタマー投与群および溶媒群には、粉末化した標準的ラット飼料を与えた。給餌器にローデンカフェ（オリエンタル酵母）を用いて飼料を自由に摂取させた。摂餌量に基づいて算出した１日当たりのsGC刺激薬投与量は約30mg/kg/dayであった。対照群は、正酸素条件下で全期間飼育したラットとした。実験開始から8週後（8w）に右室収縮期圧の測定を行い、ラットを安楽死させて心臓と肺を切除し、組織重量を測定後、組織解析に供した。

[0052] 結果を図１５（A）～（E）に示した。（A）は右室収縮期圧（RVSP）、（B）は右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）、（C）は肺動脈のエラスチカ・ワンギーソン染色画像（EVG）、（D）は血管閉塞率、（E）は閉塞血管割合の結果である。アプタマーとIP受容体作動薬の組み合わせ群は、各肺高血圧症病態を有意に抑制した。また、右室／左室＋中隔重量比（RV/LV+S）の上昇抑制および血管閉塞率の減少については、アプタマーとIP受容体作動薬の相加効果が認められた。

[0053] なお本発明は上述した各実施形態および実施例に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせて得られる実施形態についても本発明の技術的範囲に含まれる。また、本明細書中に記載された学術文献および特許文献の全てが、本明細書中において参考として援用される。

請求の範囲

[請求項1] インターロイキン－２１に結合するアプタマーを有効成分とし、皮下投与されることを特徴とする、肺高血圧症の予防および／または治療用医薬。

[請求項2] 前記アプタマーの１回投与量が０．００１ｍｇ／ｋｇ～５０ｍｇ／ｋｇである請求項１に記載の医薬。

[請求項3] 投与頻度が１回／日～１回／２８日から選択される、請求項１に記載の医薬。

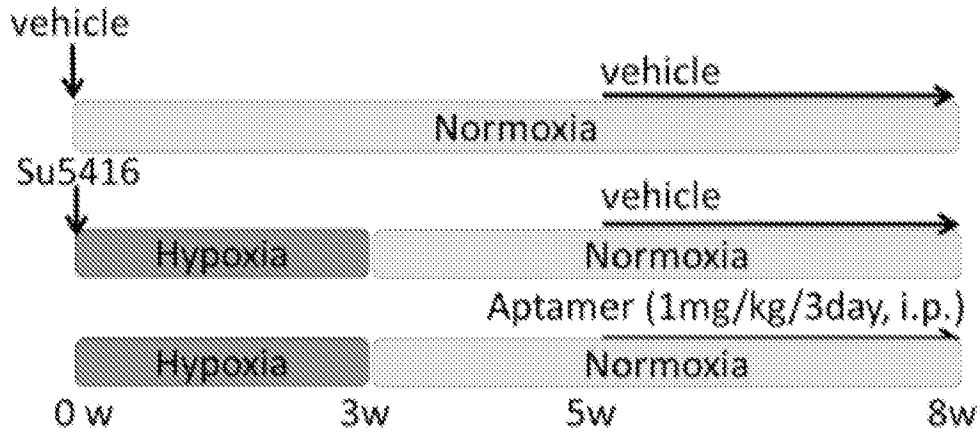
[請求項4] 肺高血圧症が肺動脈性肺高血圧症である、請求項１に記載の医薬。

[請求項5] エンドセリン受容体拮抗薬と組み合わせて投与される、請求項１～４のいずれか一項に記載の医薬。

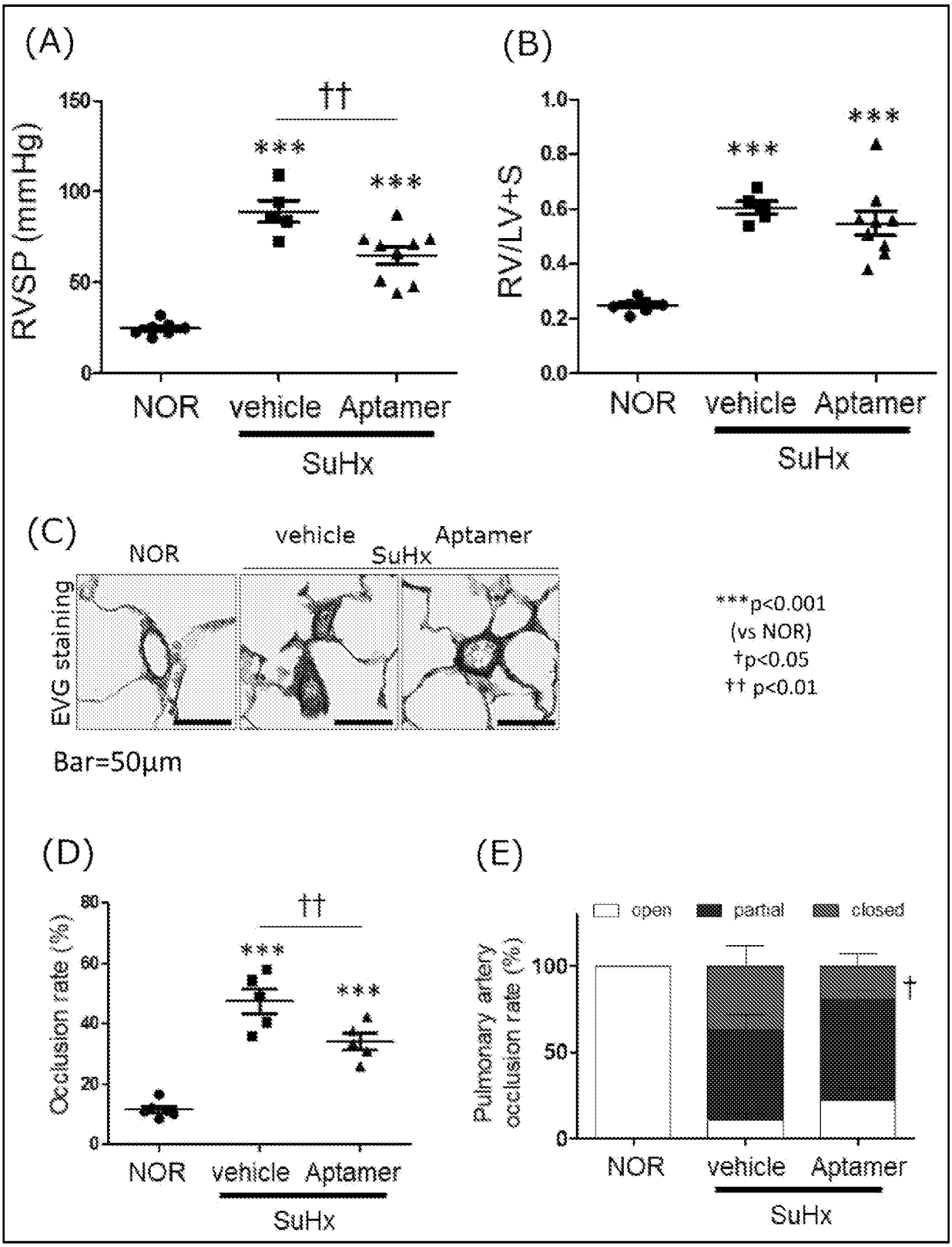
[請求項6] 可溶性グアニル酸シクラーゼ刺激薬と組み合わせて投与される、請求項１～４のいずれか一項に記載の医薬。

[請求項7] プロスタサイクリン受容体作動薬と組み合わせて投与される、請求項１～４のいずれか一項に記載の医薬。

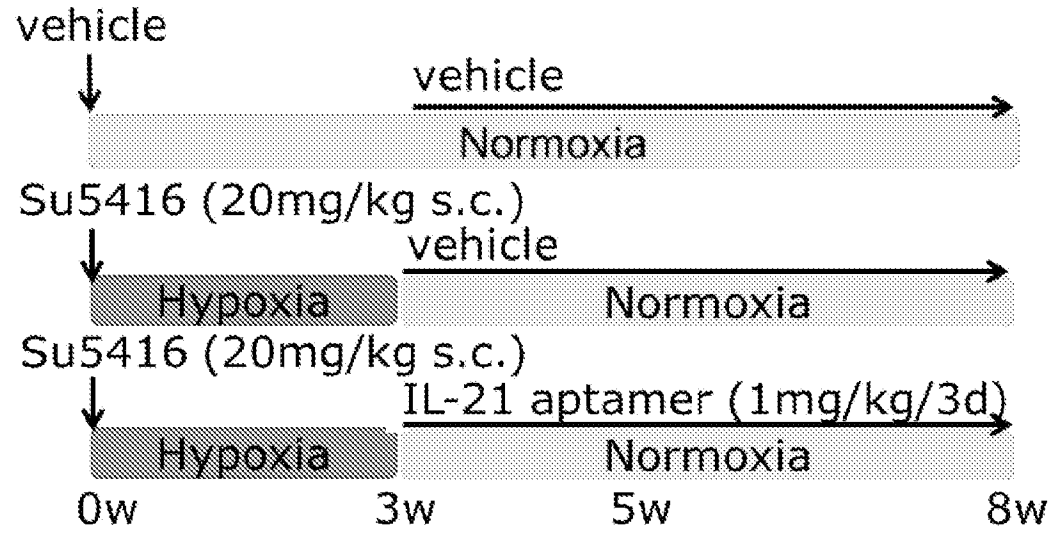
[図1]


vehicle
vehicle
Normoxia
Su5416
vehicle
Hypoxia
Normoxia
Aptamer (1mg/kg/3day, i.p.)
Hypoxia
Normoxia
0 w
3w
5w
8w

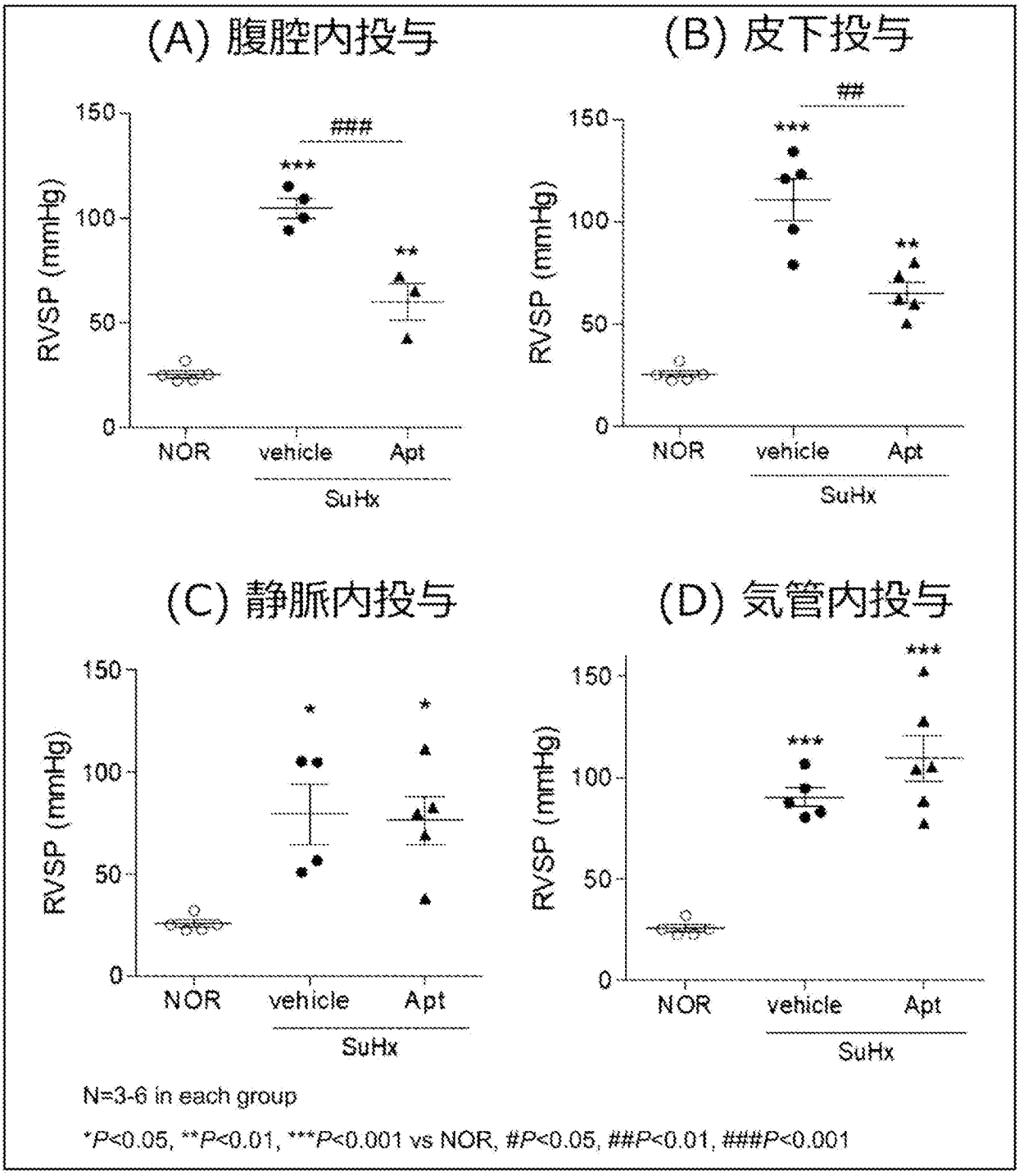
[図2]


(A)
RVSP (mmHg)
150
100
50
0
††
***
***
NOR
vehicle
Aptamer
SuHx
(B)
RV/LV+S
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
***
***
NOR
vehicle
Aptamer
SuHx
(C)
NOR
vehicle
SuHx
Aptamer
EVG staining
Bar=50μm
***p<0.001
(vs NOR)
†p<0.05
†† p<0.01
(D)
Occlusion rate (%)
80
60
40
20
0
††
***
***
NOR
vehicle
Aptamer
SuHx
(E)
open
partial
closed
Pulmonary artery occlusion rate (%)
100
50
0
†
NOR
vehicle
Aptamer
SuHx

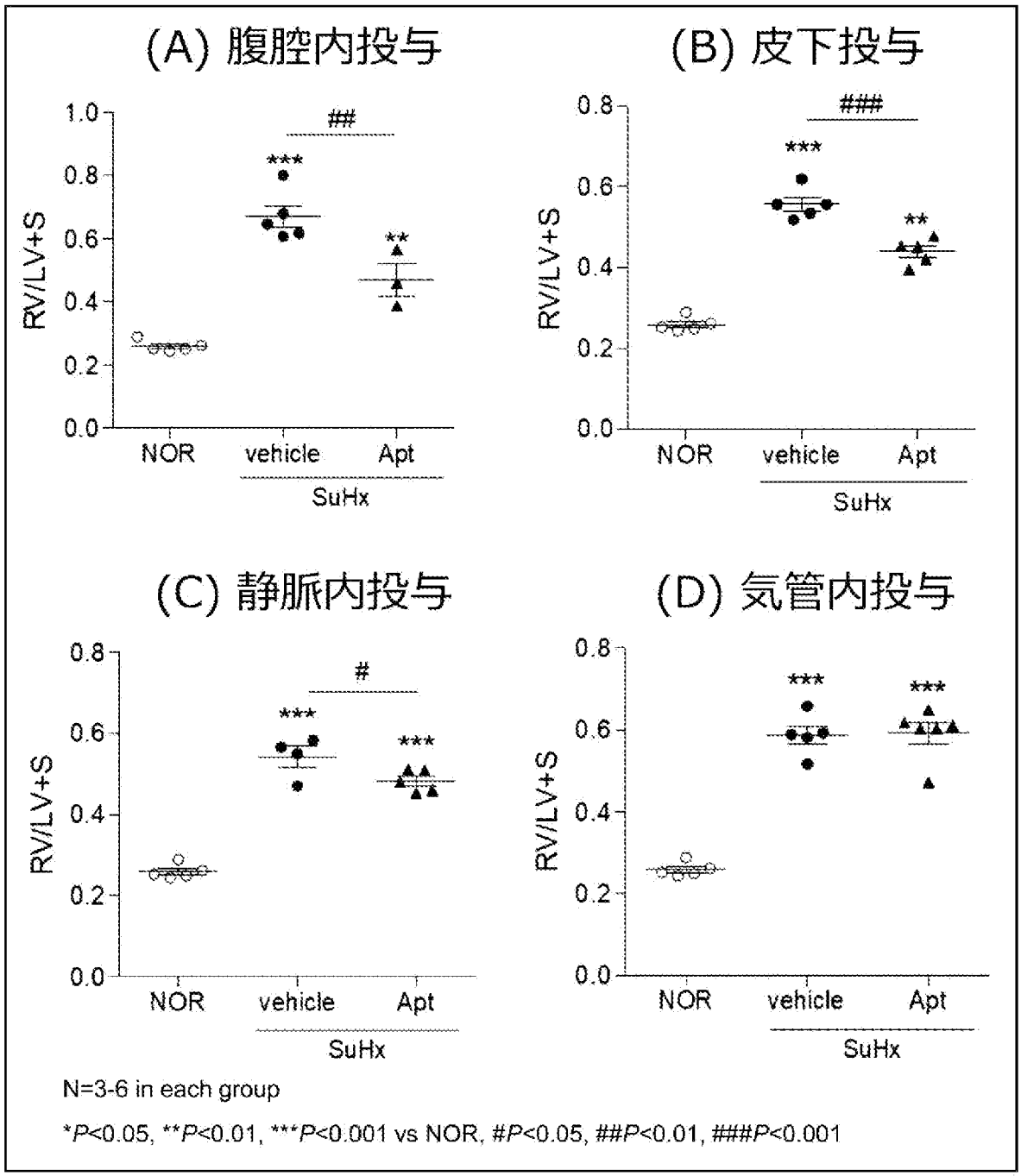
[図3]


vehicle
vehicle
Normoxia
Su5416 (20mg/kg s.c.)
vehicle
Hypoxia
Normoxia
Su5416 (20mg/kg s.c.)
IL-21 aptamer (1mg/kg/3d)
Hypoxia
Normoxia
0w
3w
5w
8w

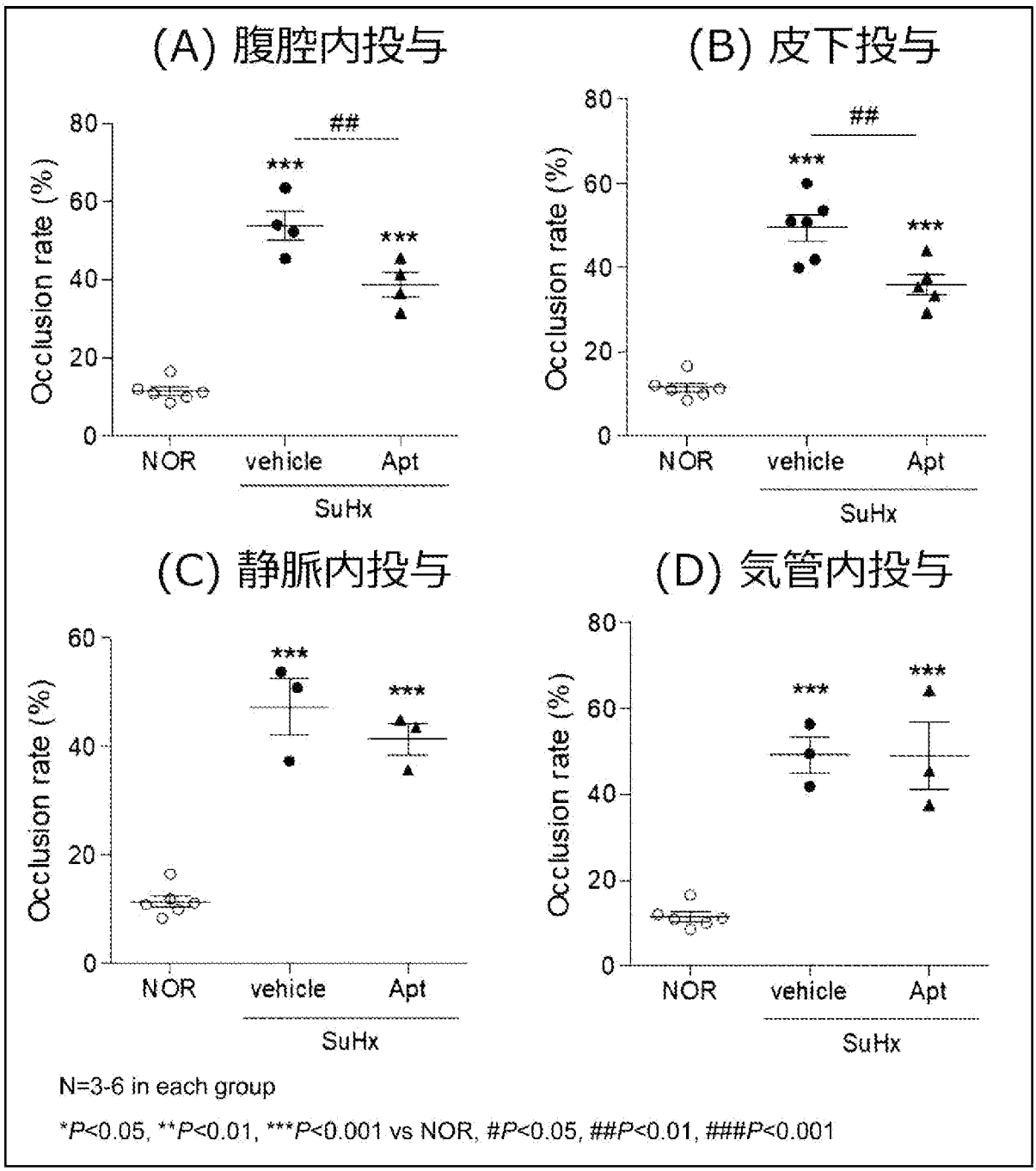
[図4]


(A) 腹腔内投与
(B) 皮下投与
(C) 静脈内投与
(D) 気管内投与
RVSP (mmHg)
150
100
50
0
NOR
vehicle
Apt
SuHx
###
##
***
**
*
N=3-6 in each group
*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs NOR, #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001

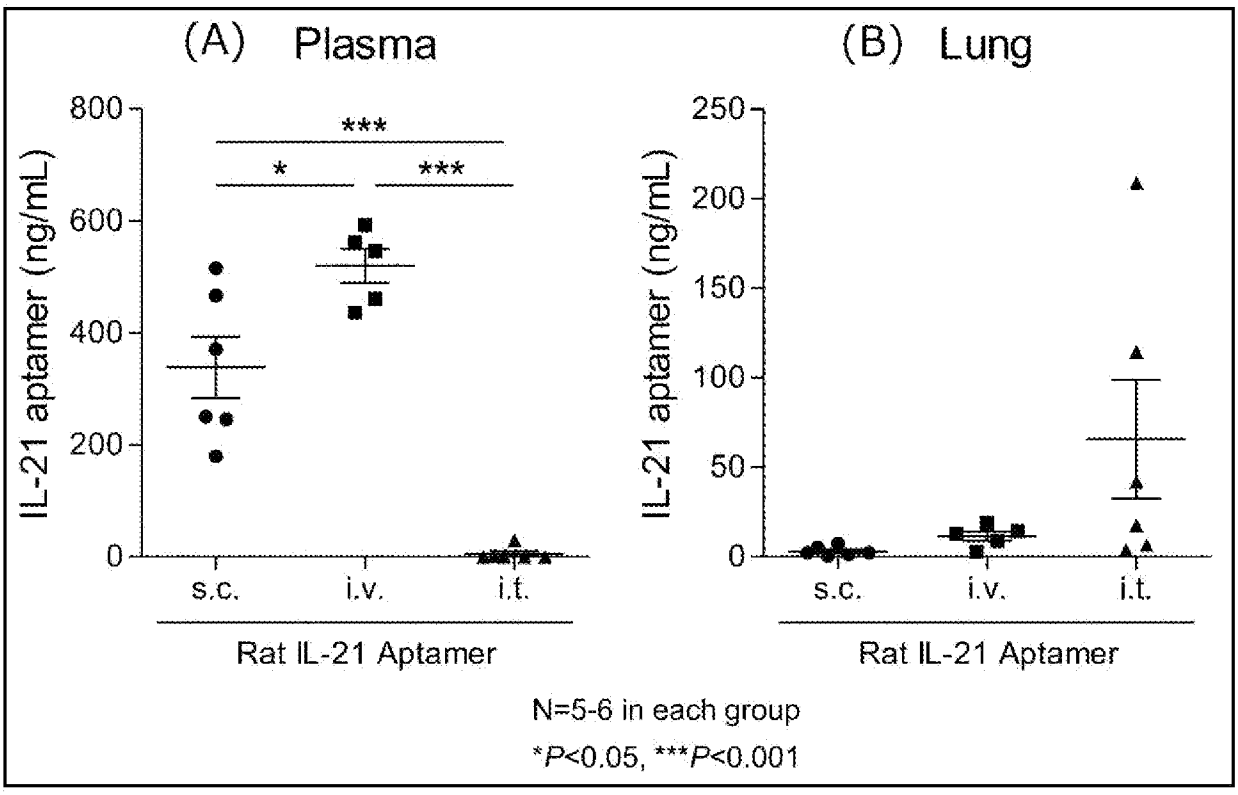
[図5]


(A) 腹腔内投与
(B) 皮下投与
(C) 静脈内投与
(D) 気管内投与
RV/LV+S
NOR
vehicle
Apt
SuHx
##
###
#
***
**
N=3-6 in each group
*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs NOR, #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001

[図6]

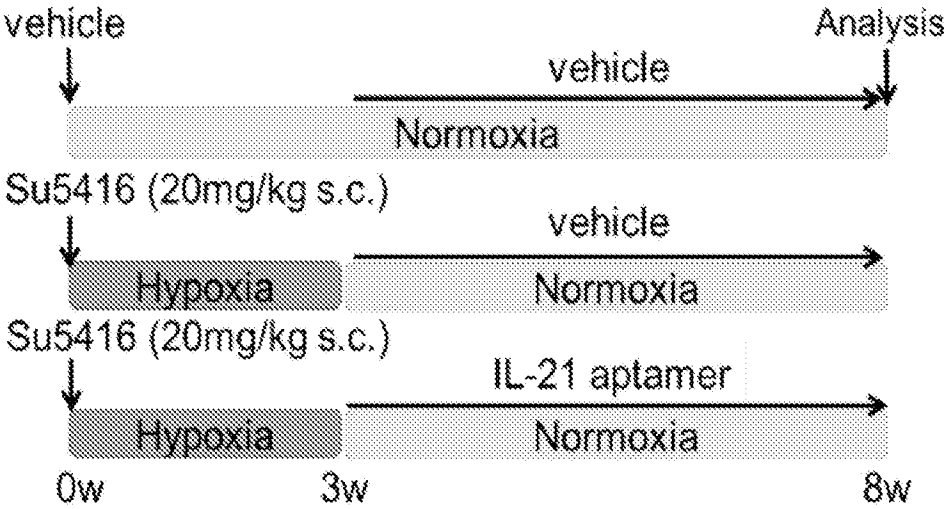

(A) 腹腔内投与
(B) 皮下投与
(C) 静脈内投与
(D) 気管内投与
Occlusion rate (%)
NOR
vehicle
Apt
SuHx
##
***
N=3-6 in each group
*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs NOR, #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001

[図7]

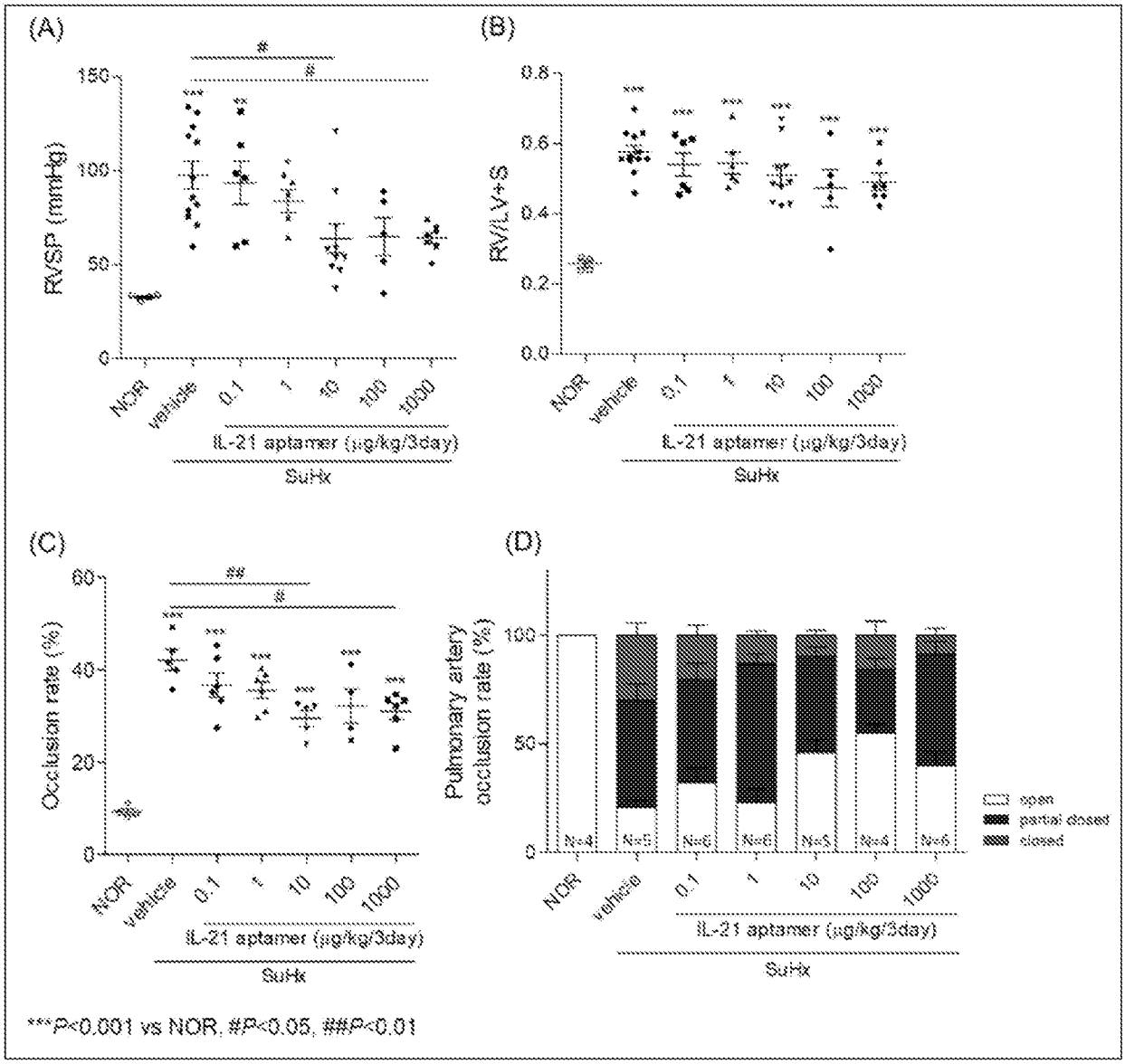


[図8]

IL-21 aptamer dose : 0.1, 1, 10, 100, 1000 μg/kg/3day
vehicle : 5% Glucose
Route : s.c.

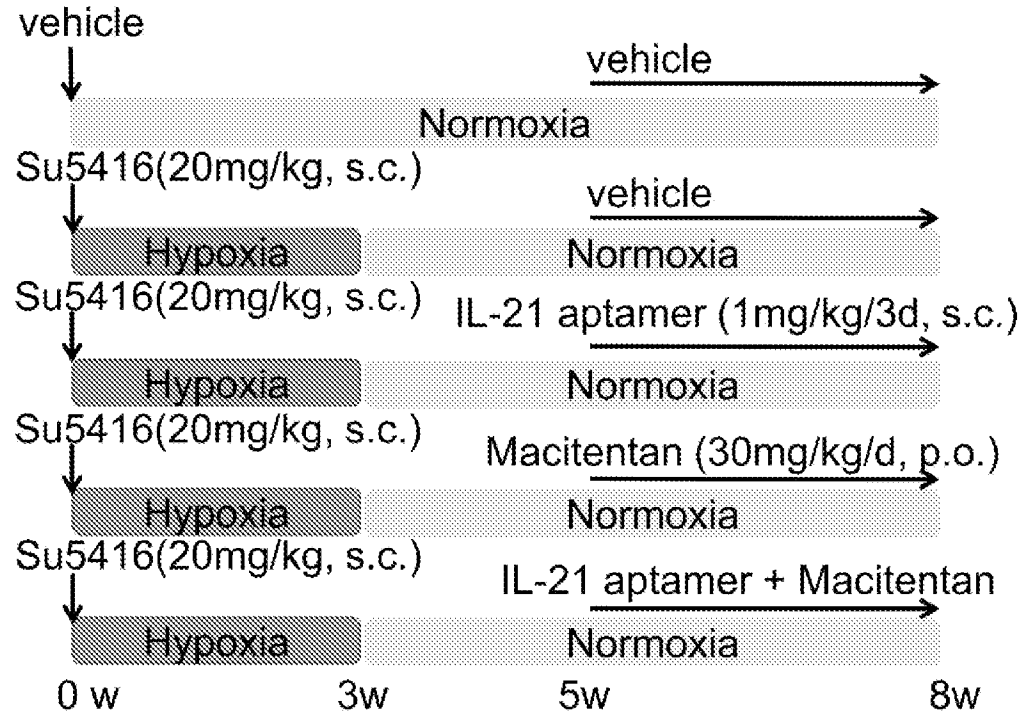


[図9]

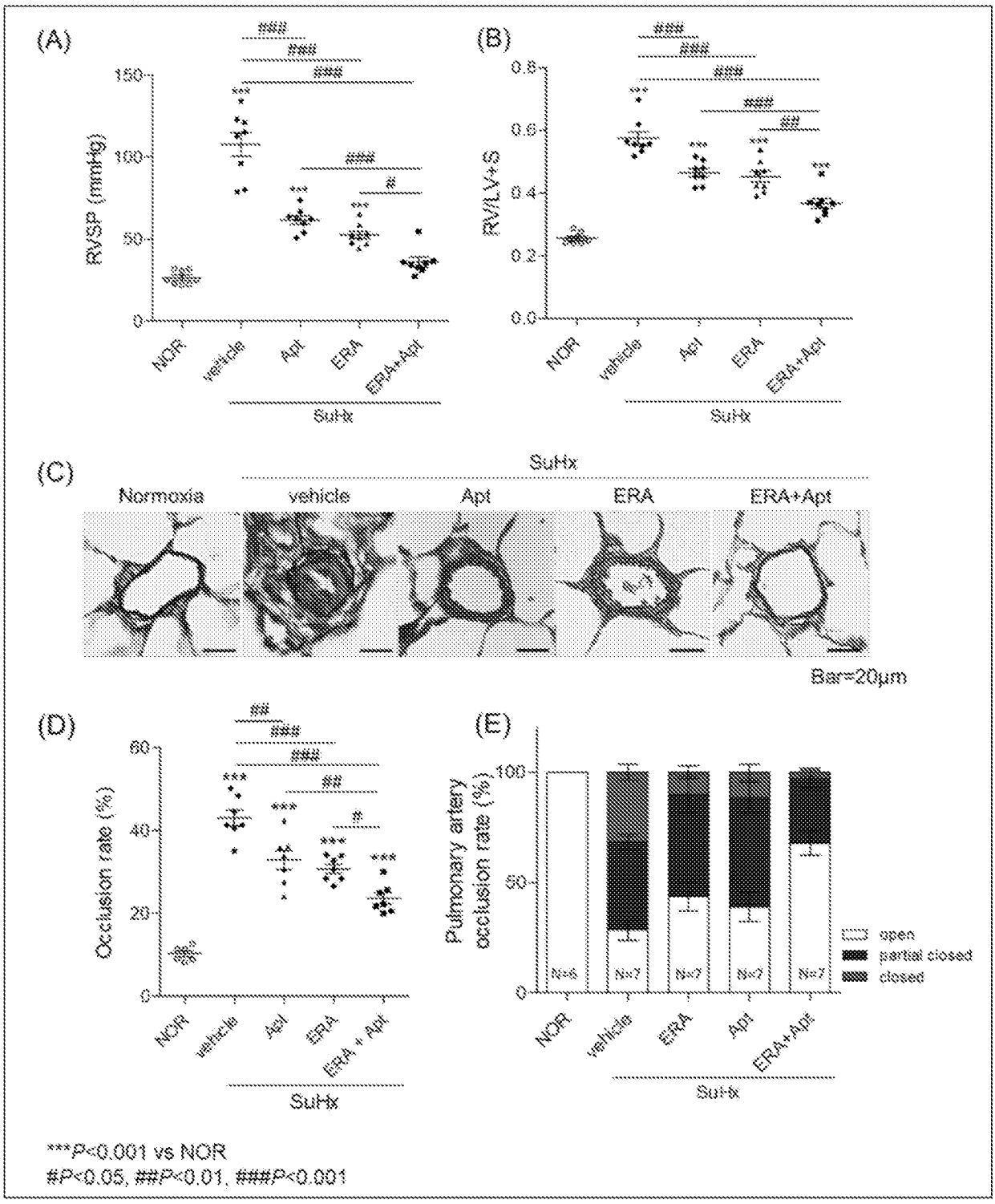


***P<0.001 vs NOR, #P<0.05, ##P<0.01

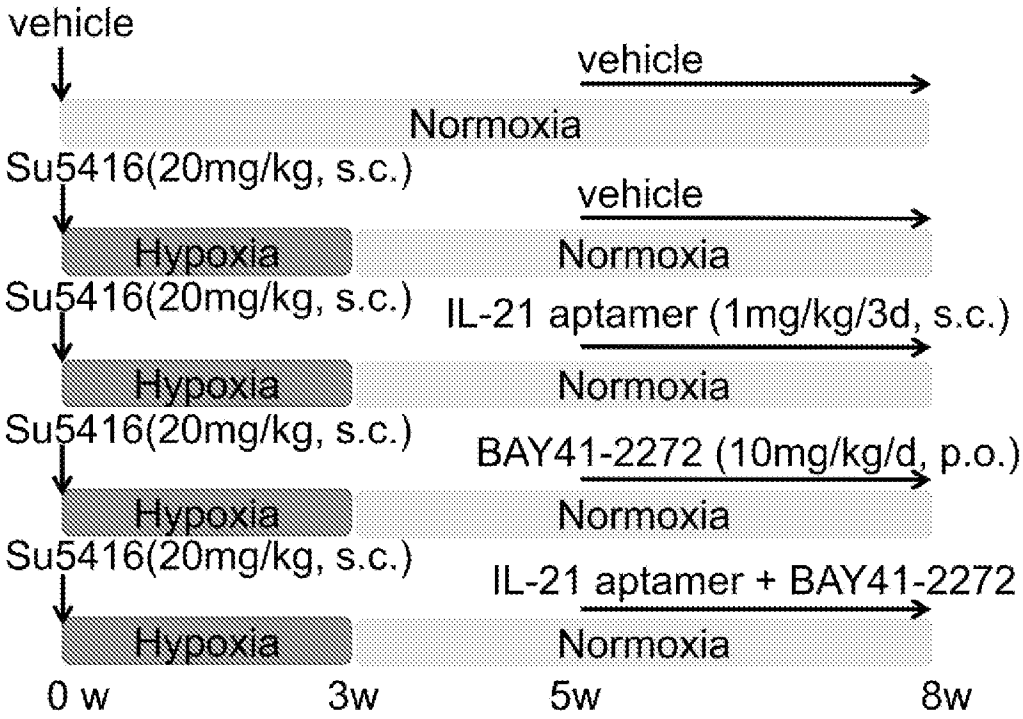
[図10]


vehicle
vehicle
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
vehicle
Hypoxia
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
IL-21 aptamer (1mg/kg/3d, s.c.)
Hypoxia
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
Macitentan (30mg/kg/d, p.o.)
Hypoxia
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
IL-21 aptamer + Macitentan
Hypoxia
Normoxia
0 w
3w
5w
8w

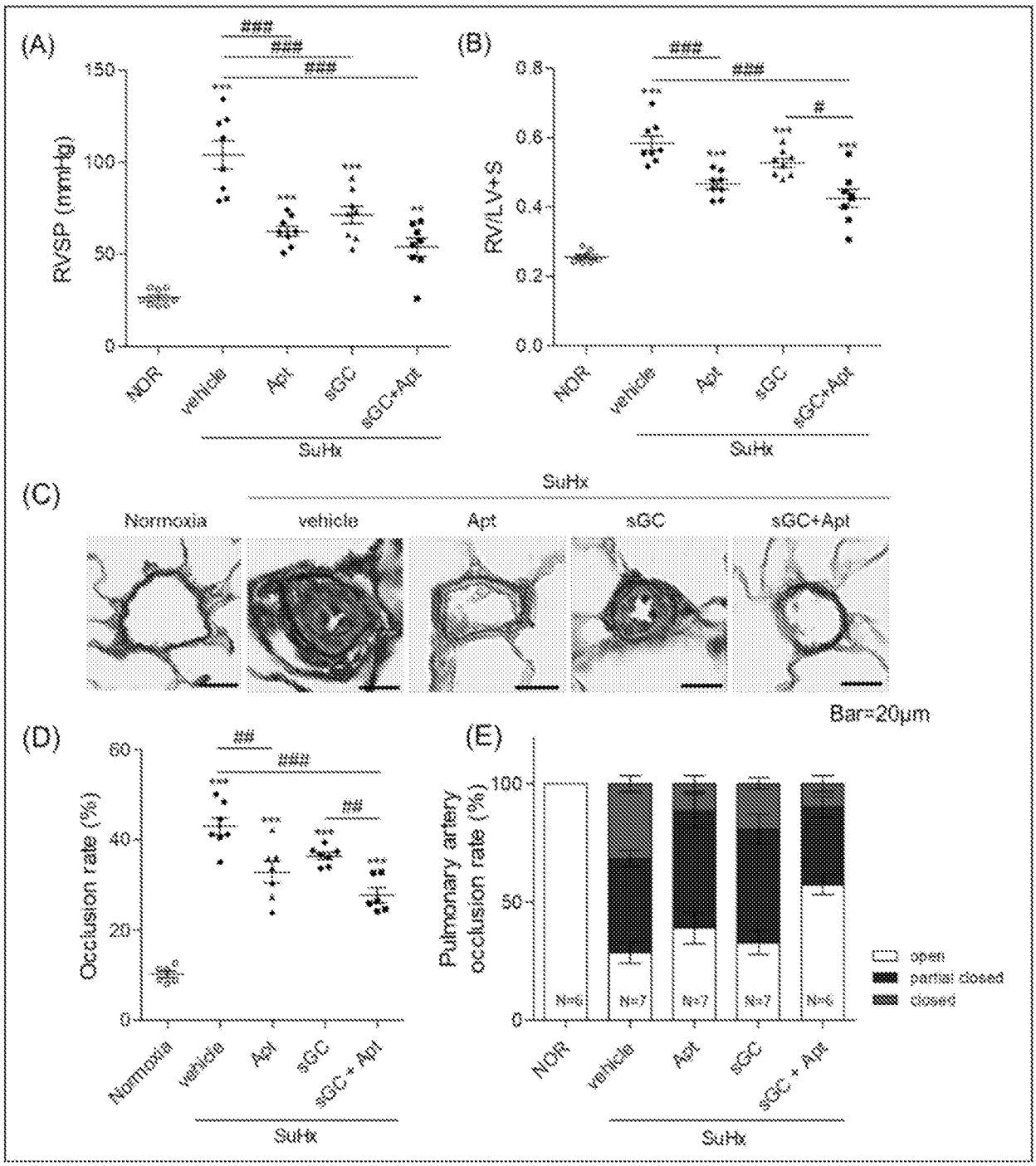
[図11]


(A)
RVSP (mmHg)
NOR
vehicle
Apt
ERA
ERA+Apt
SuHx
(B)
RV/LV+S
(C)
Normoxia
vehicle
Apt
ERA
ERA+Apt
SuHx
Bar=20μm
(D)
Occlusion rate (%)
(E)
Pulmonary artery occlusion rate (%)
open
partial closed
closed
N=6
N=7
***P<0.001 vs NOR
#P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001

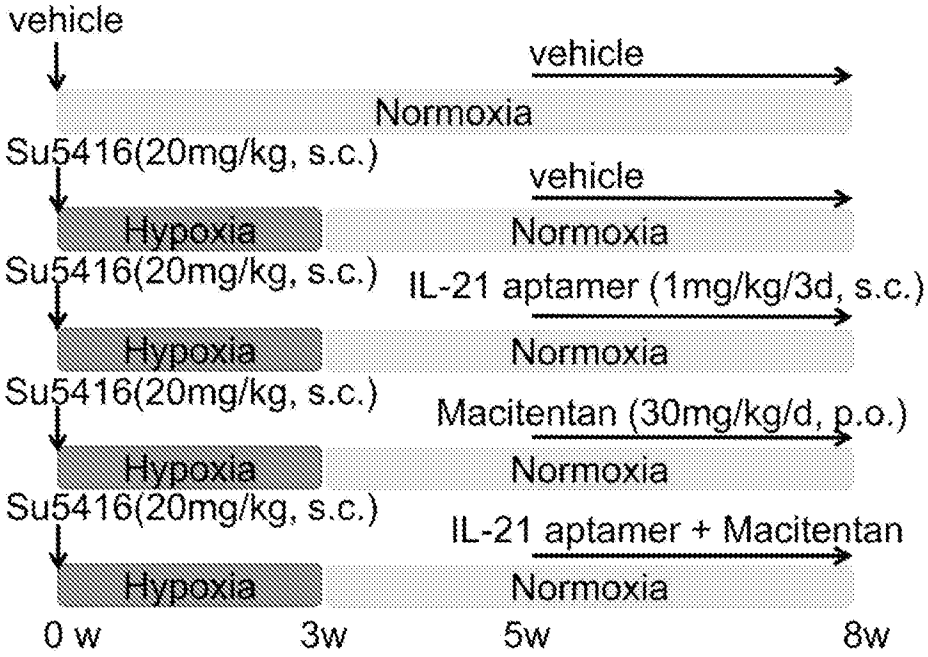
[図12]


vehicle
vehicle
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
vehicle
Hypoxia
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
IL-21 aptamer (1mg/kg/3d, s.c.)
Hypoxia
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
BAY41-2272 (10mg/kg/d, p.o.)
Hypoxia
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
IL-21 aptamer + BAY41-2272
Hypoxia
Normoxia
0 w
3w
5w
8w

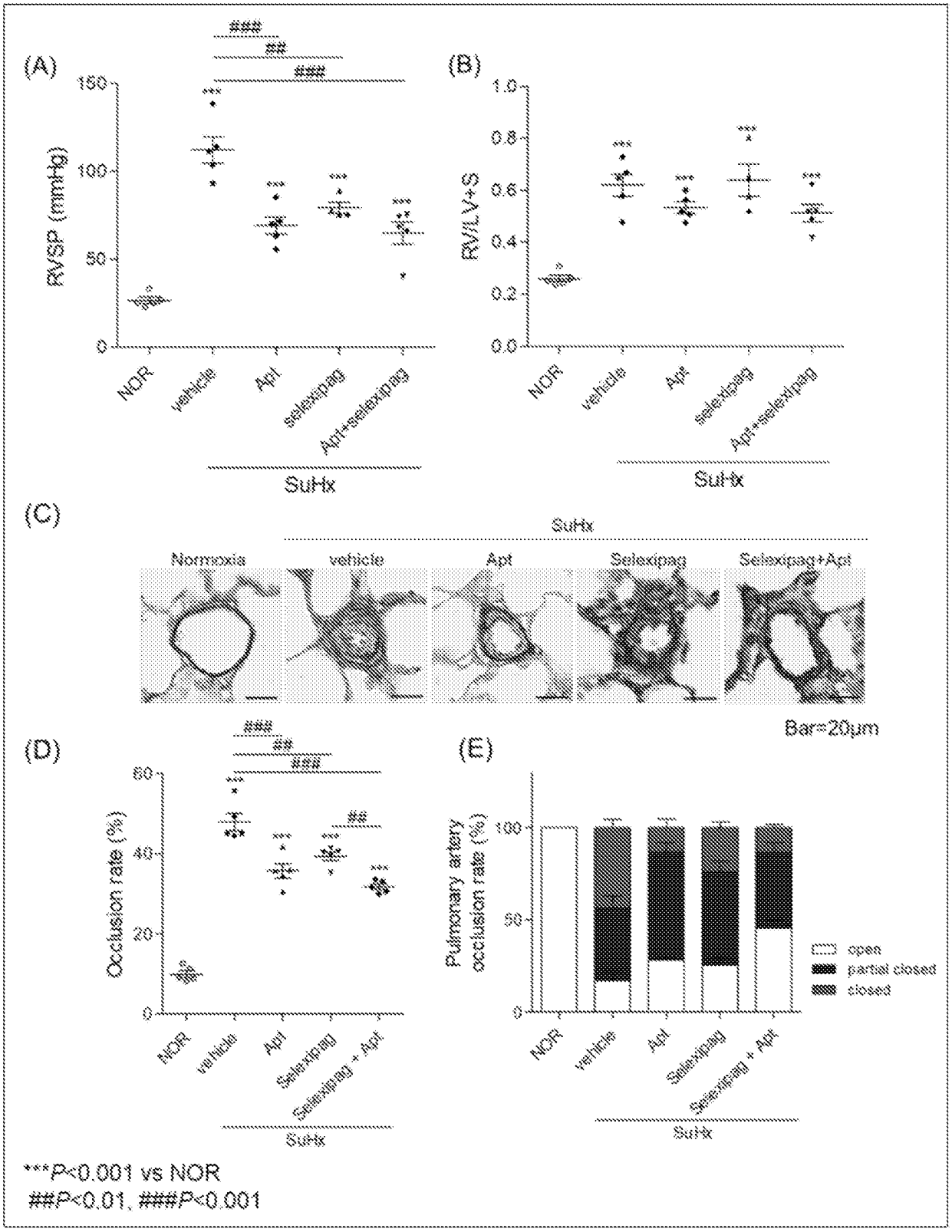
[図13]


(A)
RVSP (mmHg)
150
100
50
0
###
###
###
NOR
vehicle
Apt
sGC
sGC+Apt
SuHx
(B)
RV/LV+S
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
###
###
#
NOR
vehicle
Apt
sGC
sGC+Apt
SuHx
(C)
SuHx
Normoxia
vehicle
Apt
sGC
sGC+Apt
Bar=20μm
(D)
Occlusion rate (%)
60
40
20
0
##
###
##
Normoxia
vehicle
Apt
sGC
sGC + Apt
SuHx
(E)
Pulmonary artery occlusion rate (%)
100
50
0
N=6
N=7
N=7
N=7
N=6
open
partial closed
closed
NOR
vehicle
Apt
sGC
sGC + Apt
SuHx

[図14]


vehicle
vehicle
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
vehicle
Hypoxia
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
IL-21 aptamer (1mg/kg/3d, s.c.)
Hypoxia
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
Macitentan (30mg/kg/d, p.o.)
Hypoxia
Normoxia
Su5416(20mg/kg, s.c.)
IL-21 aptamer + Macitentan
Hypoxia
Normoxia
0 w
3w
5w
8w

[図15]



***P<0.001 vs NOR
##P<0.01, ###P<0.001

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2024/039369

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/7088(2006.01)i; ***A61K 31/437***(2006.01)i; ***A61K 31/506***(2006.01)i; ***A61K 31/4965***(2006.01)i; ***A61K 45/06***(2006.01)i; ***A61P 9/12***(2006.01)i; ***A61P 11/00***(2006.01)i; ***A61P 43/00***(2006.01)i; ***C12N 15/115***(2010.01)i
FI: A61K31/7088; A61P9/12; A61K45/06; A61K31/506; A61K31/437; A61K31/4965; A61P43/00 121; A61P11/00; C12N15/115 Z ZNA

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)

A61K31/7088; A61K31/437; A61K31/506; A61K31/4965; A61K45/06; A61P9/12; A61P11/00; A61P43/00; C12N15/115

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2021/256530 A1 (RIBOMIC INC.) 23 December 2021 (2021-12-23) claims, paragraphs [0002]-[0003], [0081], [0085], examples 1-9	1-4
Y	claims, paragraphs [0002]-[0003], [0081], [0085], examples 1-9	5-7
Y	肺高血圧症治療ガイドライン (2017年改訂版), 一般社団法人 日本循環器学会, 23 December 2021, pp. 1-51, [online], [retrieved on 20 December 2024], Internet: <URL: https://www.j-circ.or.jp/cms/wp-content/uploads/2017/10/JCS2017_fukuda_h.pdf>, (Guidelines for Treatment of Pulmonary Hypertension (JCS 2017/JPCPHS 2017), The Japanese Circulation Society)) in particular, 1. Clinical Classification of Pulmonary Hypertension, 1.1.5 Responding and Treatment	5-7
A	JP 2022-543191 A (MPEG LA LLC) 11 October 2022 (2022-10-11) claims, examples	1-7

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
20 December 2024	**07 January 2025**

Name and mailing address of the ISA/JP	Authorized officer
Japan Patent Office (ISA/JP) **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2024/039369

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	望月昭典, 核酸アプタマーを用いた創薬および医療応用, 血栓止血誌, 2020, vol. 31, no. 1, pp. 66-70, (MOCHIZUKI, Akinori, Oligonucleotide aptamers: therapeutics and clinical applications, Japanese Journal of Thrombosis and Hemostasis) 1. Introduction, 3. Aptamer Application Examples	1-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2024/039369

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed.
   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2024/039369

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2021/256530 A1	23 December 2021	US 2023/0235333 A1 claims, paragraphs [0002]-[0003], [0107], [0113], examples 1-9	
		EP 4170030 A1	
		AU 2021291555 A1	
		CA 3187798 A1	
		CN 115916979 A	
		KR 10-2023-0051484 A	
		TW 202214861 A	
JP 2022-543191 A	11 October 2022	US 2023/0114023 A1 claims, examples	
		WO 2021/021959 A2	
		EP 4004205 A2	
		CN 114466929 A	
		AU 2020319911 A1	
		CA 3144467 A1	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2024/039369

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K 31/7088(2006.01)i; A61K 31/437(2006.01)i; A61K 31/506(2006.01)i; A61K 31/4965(2006.01)i; A61K 45/06(2006.01)i; A61P 9/12(2006.01)i; A61P 11/00(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C12N 15/115(2010.01)i
FI: A61K31/7088; A61P9/12; A61K45/06; A61K31/506; A61K31/437; A61K31/4965; A61P43/00 121; A61P11/00; C12N15/115 Z ZNA

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K31/7088; A61K31/437; A61K31/506; A61K31/4965; A61K45/06; A61P9/12; A61P11/00; A61P43/00; C12N15/115

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２４年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２４年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２４年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	WO 2021/256530 A1 (株式会社リボミック) 23.12.2021 (2021-12-23) 請求の範囲，段落０００２～０００３，００８１，００８５，実施例１～９	1-4
Y	請求の範囲，段落０００２～０００３，００８１，００８５，実施例１～９	5-7
Y	肺高血圧症治療ガイドライン（2017年改訂版） Guidelines for Treatment of Pulmonary Hypertension (JCS 2017/JPCPHS 2017)，一般社団法人　日本循環器学会，2021.12.23，p.1-51，[online]，[検索日 2024.12.20]，インターネット：<URL：https://www.j-circ.or.jp/cms/wp-content/uploads/2017/10/JCS2017_fukuda_h.pdf> 特に，1. 肺動脈性肺高血圧症，1.1.5 対応および治療，c. 特異的薬物治療～d. 併用療法，表11	5-7
A	JP 2022-543191 A (エムペグ エルエイ リミテッド ライアビリティ カンパニー) 11.10.2022 (2022-10-11) 特許請求の範囲，実施例	1-7

☑ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
20.12.2024	07.01.2025

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
榎本　佳予子 4C 9638
電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	望月昭典，核酸アプタマーを用いた創薬および医療応用，血栓止血誌，2020，Vol.31，No.1，pp.66-70 1．はじめに，3．アプタマー応用例	1-7

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2024/039369

第Ⅰ欄　　ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第１ページの１．ｃの続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

a. ☑ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
b. ☐ 国際出願日後に、国際調査のために提出された配列表（ＰＣＴ規則13の3.1(a)）
☐ 配列表が出願時の国際出願の開示の範囲を超えるものではない旨の陳述書が添付されていた。

2. ☐ この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、この国際調査報告は、WIPO標準ST.26に準拠する配列表なしで有意義な国際調査をすることができる限度において作成された。

3. 補足意見:

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2024/039369

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2021/256530 A1	23.12.2021	US 2023/0235333 A1 請求の範囲，段落０００２～０００３，０１０７，０１１３，実施例１～９ EP 4170030 A1 AU 2021291555 A1 CA 3187798 A1 CN 115916979 A KR 10-2023-0051484 A TW 202214861 A	
JP 2022-543191 A	11.10.2022	US 2023/0114023 A1 特許請求の範囲，実施例 WO 2021/021959 A2 EP 4004205 A2 CN 114466929 A AU 2020319911 A1 CA 3144467 A1	