

(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2013-503110

(P2013-503110A)

(43) 公表日 平成25年1月31日(2013.1.31)

| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|-------------------------------------|---------------------|-------------|
| A 6 1 K 38/00 (2006.01) | A 6 1 K 37/02 | 4 C 0 8 4 |
| A 6 1 P 9/04 (2006.01) | A 6 1 P 9/04 | 4 H 0 4 5 |
| A 6 1 P 9/10 (2006.01) | A 6 1 P 9/10 | |
| A 6 1 P 29/00 (2006.01) | A 6 1 P 29/00 1 0 1 | |
| A 6 1 P 31/12 (2006.01) | A 6 1 P 31/12 | |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁) 最終頁に続く | | |

| | | | |
|---------------|------------------------------|----------|----------------------|
| (21) 出願番号 | 特願2012-514326 (P2012-514326) | (71) 出願人 | 511130209 |
| (86) (22) 出願日 | 平成22年6月12日 (2010. 6. 12) | | ゼンサン (シャンハイ) サイエンス |
| (85) 翻訳文提出日 | 平成24年2月1日 (2012. 2. 1) | | アンド テクノロジー リミテッド |
| (86) 国際出願番号 | PCT/CN2010/000845 | | 中華人民共和国 201203 シャンハ |
| (87) 国際公開番号 | W02010/142141 | | イ プドン グ サンジャン ハイ-テック |
| (87) 国際公開日 | 平成22年12月16日 (2010. 12. 16) | | パーク ナンバー68 ジュ ルイ ロ |
| (31) 優先権主張番号 | 61/236, 849 | (74) 代理人 | 100097456 |
| (32) 優先日 | 平成21年8月25日 (2009. 8. 25) | | 弁理士 石川 徹 |
| (33) 優先権主張国 | 米国 (US) | (72) 発明者 | ミングドン グ ブホウ |
| | | | 中華人民共和国 201203 シャンハ |
| | | | イ プドン グ サンジャン ハイ-テック |
| | | | パーク ナンバー68 ジュ ルイ ロ |
| | | | ード |
| | | | 最終頁に続く |

(54) 【発明の名称】 ニューレグリンに基づく心不全の治療方法

(57) 【要約】

本発明は、有効である上に安全でもある用量範囲内のニューレグリンポリペプチドを投与することによって慢性心不全患者を治療する方法を特徴とする。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項1】

それを必要とする哺乳動物の心不全を予防、治療、または遅延させるための方法であって、それを必要とする該哺乳動物に：

- a) 約0.3 μg ~ 約2.4 μg / kg / 日；
- b) 約6EU ~ 約48EU / kg / 日；又は
- c) 約0.04nmol ~ 約0.34nmol / kg / 日

の量のニューレグリン1タンパク質を投与することを含む方法。

【請求項2】

前記ニューレグリン1タンパク質が、ニューレグリン1 2アイソフォームである、請求項1記載の方法。 10

【請求項3】

前記ニューレグリン1タンパク質が、配列番号：1に示すアミノ酸配列を含む、請求項1記載の方法。

【請求項4】

前記ニューレグリン1タンパク質が、配列番号：1に示す前記アミノ酸配列からなる、請求項1記載の方法。

【請求項5】

前記ニューレグリン1タンパク質が、前記哺乳動物に静脈内投与される、請求項1記載の方法。 20

【請求項6】

前記ニューレグリン1タンパク質が、1日又は複数日の間、前記哺乳動物に投与される、請求項1記載の方法。

【請求項7】

前記ニューレグリン1タンパク質が、少なくとも10日間、前記哺乳動物に投与される、請求項6記載の方法。

【請求項8】

前記ニューレグリン1タンパク質が、1日当たり10分から12時間、前記哺乳動物に投与される、請求項7記載の方法。

【請求項9】

前記ニューレグリン1タンパク質が、1日当たり10時間で、10日間、前記哺乳動物に投与される、請求項8記載の方法。 30

【請求項10】

前記哺乳動物が、心不全を有するか又はそれを有することが疑われる、請求項1記載の方法。

【請求項11】

前記心不全が、1以上の虚血性因子、先天性因子、リウマチ性因子、特発性因子、ウイルス性因子、又は毒性因子によって引き起こされる、請求項10記載の方法。

【請求項12】

前記哺乳動物がヒトである、請求項1記載の方法。 40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(1. 発明の分野)

本発明は、ニューレグリンタンパク質を用いて哺乳動物の心不全を予防、治療、又は遅延させるための方法に関する。特に、本発明は、該哺乳動物の心不全を予防、治療、又は遅延させるためのニューレグリンタンパク質の用量範囲を提供する。

【背景技術】

【0002】

(2. 発明の背景)

心不全は約5,000,000人のアメリカ人が罹患し、毎年550,000人を超える新規患者がその病状と診断される。心不全のための現在の薬物療法は、主にアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害剤に向けられているが、それらは、血管を拡張させ、血圧を低下させ、心臓の仕事量を減少させる血管拡張薬である。死亡率の減少割合は顕著であるが、ACE阻害剤による実際の死亡率の減少は平均3%~4%に過ぎず、いくつかの潜在的な副作用がある。さらなる限界は、心不全を予防又は治療するための他の選択肢と関連する。例えば、心臓移植は薬物治療よりも明らかに高額で侵襲的であり、それはドナーの心臓の入手可能性によってさらに制限される。両心室ペースメーカーなどの機械装置の使用も同様に侵襲的で高額である。したがって、現在の療法の欠点を考慮した新しい療法が必要とされている。

【0003】

1つの有望な新しい療法は、心不全に罹患しているか又はそれを発症するリスクのある患者に対するニューレグリン(以下、「NRG」と呼ぶ)の投与を伴う。EGF様成長因子のファミリーであるNRGは、NRG1、NRG2、NRG3、及びNRG4、並びにこれらのアイソフォームを含む構造的に関連した成長及び分化因子のファミリーを含み、様々な生物学的応答: 乳癌細胞の分化及び乳タンパク質分泌の刺激; 神経堤細胞のシュワン細胞への分化誘導; 骨格筋細胞のアセチルコリン受容体合成の刺激; 並びに心筋細胞の生存及びDNA合成の促進に参与する。心筋小柱形成及び後根神経節発生に重度の欠陥があるニューレグリン遺伝子標的ホモ接合マウス胚のインビボ研究により、ニューレグリンが心臓及び神経の発生に必須であることが示されている。

【0004】

NRGは、EGFR、ErbB2、ErbB3、及びErbB4を含むEGF受容体ファミリーに結合するが、その各々は、細胞の成長、分化、及び生存を含む複数の細胞機能で重要な役割を果たす。それらは、細胞外のリガンド結合ドメイン、膜貫通キナーゼドメイン、及び細胞質チロシンキナーゼドメインからなるタンパク質チロシンキナーゼ受容体である。NRGがErbB3又はErbB4の細胞外ドメインに結合した後、それは、ErbB3、ErbB4、及びErbB2の間のヘテロ二量体形成又はErbB4自体の間のホモ二量体形成をもたらす構造変化を誘導し、それによって細胞膜の内側にある受容体のC末端ドメインのリン酸化が起こる。次に、リン酸化された細胞内ドメインは細胞内のさらなるシグナルタンパク質と結合し、対応する下流のAKT又はERKシグナル伝達経路を活性化し、細胞増殖、細胞分化、細胞アポトーシス、細胞移動、又は細胞接着の刺激又は低下などの、一連の細胞反応を誘導する。これらの受容体のうち、主にErbB2及びErbB4が心臓で発現される。

【0005】

サイズが50~64アミノ酸の範囲であるNRG-1のEGF様ドメインは、これらの受容体に結合して、それらを活性化するのに十分であることが示されている。以前の研究により、ニューレグリン-1 (NRG-1) は、高い親和性でErbB3及びErbB4に直接結合することができることが示されている。オーファン受容体ErbB2は、ErbB3ホモ二量体又はErbB4ホモ二量体よりも高い親和性で、ErbB3及びErbB4とヘテロ二量体を形成することができる。神経発生の研究により、交感神経系の形成には、完全なNRG-1、ErbB2、及びErbB3シグナル伝達系が必要であることが示されている。NRG-1又はErbB2又はErbB4の標的破壊は、心臓の発生異常による胚性致死をもたらした。最近の研究により、心血管の発生並びに成体の正常な心機能の維持におけるNRG-1、ErbB2、及びErbB4の役割も明らかになった。NRG-1は、成体心筋細胞におけるサルコメアの組織化を強化することが示されている。組換えNRG-1のEGF様ドメインの投与は、心不全の異なる動物モデルにおいて心筋のパフォーマンスの悪化を顕著に改善するか又はそのような悪化から顕著に保護する。より重要なことに、NRG-1は、心不全の動物の生存を顕著に延長する。これらの効果により、NRG-1は、種々の通常疾患による心不全のための広域スペクトルの治療化合物又はリード化合物として有望なものとなっている。しかしながら、心不全の予防、治療、又は遅延のために臨床の場で使用することができる、NRGの許容用量及び有効用量に関するより多くの情報が依然として必要とされている。

【発明の概要】

10

20

30

40

50

【0006】

(3. 発明の概要)

本発明は、NRGが、心筋細胞の分化並びにサルコメア構造及び細胞骨格構造の組織化、並びに細胞接着を強化するという発見に基づいている。本発明はまた、NRGが、心不全の異なる動物モデルにおいて心筋のパフォーマンスの悪化を顕著に改善するか又はそのような悪化を顕著に防ぎ、かつ心不全動物の生存を延長するという発見に基づいている。ニューレグリン、ニューレグリンポリペプチド、ニューレグリン誘導体、又はニューレグリンの活性を模倣する化合物は、本発明の方法の範囲内に含まれる。

【0007】

本発明の第1の態様では、哺乳動物（例えば、ヒト）で使用されるときにNRGタンパク質の許容用量範囲が提供される。該許容用量範囲は、害を伴わずに該哺乳動物（例えば、ヒト）に投与し得るNRGの最大量を意味する。一実施態様では、該許容用量範囲は、 $2.4 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 以下、例えば、 $2.4 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $1.2 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $0.6 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 、又は $0.3 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ である。一実施態様では、該許容用量範囲は、 $48\text{U} / \text{kg} / \text{日}$ 以下、例えば、 $48\text{U} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $24\text{U} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $12\text{U} / \text{kg} / \text{日}$ 、又は $6\text{U} / \text{kg} / \text{日}$ である。別の実施態様では、該許容用量範囲は、 $0.34\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$ 以下、例えば、 $0.34\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $0.17\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $0.08\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$ 、又は $0.04\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$ である。

【0008】

本発明の第2の態様では、哺乳動物（例えば、ヒト）の心不全を予防、治療、又は遅延させるためのNRGタンパク質の有効用量範囲が提供される。該有効用量範囲は、該哺乳動物（例えば、ヒト）に投与したときに1以上の有益な効果を生じるNRGの量を意味する。該有益な効果は、心不全患者の心機能の改善、又は心不全患者の心機能の悪化の予防、又は心不全患者の心機能の悪化の遅延であり得る。一実施態様では、該有効用量範囲は、 $0.3 \sim 2.4 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 、例えば、 $2.4 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $1.2 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $0.6 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 、又は $0.3 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ である。一実施態様では、該有効用量範囲は、 $6 \sim 48\text{U} / \text{kg} / \text{日}$ 、例えば、 $48\text{U} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $24\text{U} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $12\text{U} / \text{kg} / \text{日}$ 、又は $6\text{U} / \text{kg} / \text{日}$ である。別の実施態様では、該有効用量範囲は、 $0.04 \sim 0.34\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$ 、例えば、 $0.34\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $0.17\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$ 、 $0.08\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$ 、又は $0.04\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$ である。

【0009】

本発明の第3の態様では、哺乳動物（例えば、ヒト）の心不全を予防、治療、又は遅延させるための方法であって、該許容用量範囲内のNRGタンパク質をそれを必要とする該哺乳動物（例えば、ヒト）に投与することを含む該方法が提供される。一実施態様では、該許容用量範囲内の該NRGタンパク質は1日に1回投与される。別の実施態様では、該許容用量範囲内の該NRGタンパク質は1日に数回投与される。一実施態様では、該許容用量範囲内の該NRGタンパク質は1日間投与される。別の実施態様では、該許容用量範囲内の該NRGタンパク質は数日間投与される。

【0010】

本発明の第4の態様では、哺乳動物（例えば、ヒト）の心不全を予防、治療、又は遅延させるための方法であって、該有効用量範囲のNRGタンパク質をそれを必要とする該哺乳動物（例えば、ヒト）に投与することを含む該方法が提供される。一実施態様では、該有効用量範囲内の該NRGタンパク質は1日に1回投与される。別の実施態様では、該有効用量範囲内の該NRGタンパク質は1日に数回投与される。一実施態様では、該有効用量範囲内の該NRGタンパク質は1日間投与される。別の実施態様では、該有効用量範囲内の該NRGタンパク質は数日間投与される。

【0011】

本発明の第5の態様では、心不全を予防、治療、又は遅延させるための医薬組成物が提供され、該組成物は、該許容用量範囲内の量のNRGタンパク質を含む。

【0012】

本発明の第6の態様では、心不全を予防、治療、又は遅延させるための医薬組成物が提供され、該組成物は、該有効用量範囲内の量のNRGタンパク質を含む。

10

20

30

40

50

【0013】

本発明の第7の態様では、心不全を予防、治療、又は遅延させるためのキットが提供され、該キットは、心不全を予防、治療、又は遅延させるための1回分の投与量又は数回分の投与量の前述の医薬組成物を含む。

【発明を実施するための形態】

【0014】

(4. 発明の詳細な説明)

本明細書に記載されているものと同様又は同等の任意の方法を本発明の実施において使用することができるが、好ましい方法及び材料を次に記載する。

【0015】

本発明は、該許容及び/又は有効用量範囲内のNRGタンパク質を用いて、それを必要とする哺乳動物(例えば、ヒト)の心不全を予防、治療、又は遅延させるための方法を提供する。好ましくは、該哺乳動物(例えば、ヒト)は、心不全に罹患しているか又はそれを発症するリスクのある対象又は患者である。

【0016】

限定するためではなく、開示を明確にするために、以降の本発明の詳細な説明を以下のサブセクションに分割する。本明細書で言及される全ての刊行物は、それらと関連して該刊行物が引用される方法及び/又は材料を開示及び記載するために、参照により組み込まれる。

【0017】

(A. 定義)

別途定義されない限り、本明細書で用いる全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する分野の当業者が共通に理解するのと同じ意味を有する。本明細書で参照される全ての特許、出願、公表出願、及び他の刊行物は、その全体が参照により組み込まれる。このセクションで示す定義が、参照により本明細書中に組み込まれる特許、出願、公表出願、及び他の刊行物で示される定義と反するか、さもなければ矛盾する場合、このセクションで示す該定義が参照により本明細書中に組み込まれる定義に優先する。

【0018】

本明細書で用いるように、本文で明らかに別の指示がない限り、単数形「a」、「an」、及び「the」は、「少なくとも1つ」又は「1つ以上」を意味する。

【0019】

本明細書で用いるように、本発明で用いる「ニューレグリン」又は「NRG」は、ErbB2、ErbB3、ErbB4、又はそれらの組合せと結合して、それらを活性化することができるタンパク質又はペプチドを指し、これらには、限定するものではないが、全てのニューレグリンアイソフォーム、ニューレグリンEGFドメインのみ、ニューレグリンEGF様ドメインを含むポリペプチド、ニューレグリン突然変異体又は誘導体、及び以下に詳述するような、上記の受容体を同じく活性化する任意の種類の新レグリン様遺伝子産物が含まれる。ニューレグリンには、NRG-1、NRG-2、NRG-3、及びNRG-4タンパク質、ペプチド、断片、並びにニューレグリンの活性を模倣する化合物も含まれる。本発明で用いるニューレグリンは、上記のErbB受容体を活性化して、それらの生物学的反応を調節すること、例えば、骨格筋細胞におけるアセチルコリン受容体合成を刺激すること；並びに/又は心臓細胞の分化、生存、及びDNA合成を改善することができる。ニューレグリンには、それらの生物学的活性を実質的に変化させない保存的アミノ酸置換を有する変異体も含まれる。アミノ酸の好適な保存的置換は当業者に公知であり、かつ通常、得られる分子の生物学的活性を変化させることなく行ない得る。当業者は、ポリペプチドの非必須領域の単一アミノ酸置換が、一般に、生物学的活性を実質的に変化させないことを認識している(例えば、Watsonらの文献「遺伝子の分子生物学(Molecular Biology of the Gene)」、第4版、1987、The Benjamin Cummings Pub. co., p.224を参照されたい)。好ましい実施態様では、本発明で用いるニューレグリンは、ErbB2/ErbB4又はErbB2/ErbB3ヘテロ二量体に結合して、それらを活性化する。これには、例えば、アミノ酸配列：

10

20

30

40

50

【化1】

SHLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKC

PNEFTGDRCQNYVMASFYKAEELYQ (配列番号1)

を含むNRG-1 2アイソフォームの177~237残基を含むペプチドがあるが、これに限定するものではない。

【0020】

ニューレグリンは、当業者の判断に従って任意の経路で投与することができ、そのような経路には、限定するものではないが、経口、吸入、非経口（例えば、静脈内、筋肉内、皮下、又は皮内）が含まれる。ある実施態様では、ニューレグリンは経口投与される。ある実施態様では、ニューレグリンは静脈内投与される。ある実施態様では、ニューレグリンは皮下投与される。好ましい実施態様では、ニューレグリンは、該哺乳動物に対して静脈内又は皮下に徐放される。

10

【0021】

ニューレグリンの徐放は、ある期間にわたって、ニューレグリンの連続的な治療レベルを提供する。いくつかの実施態様では、ニューレグリンは、1時間、2時間、4時間、8時間、10時間、12時間、14時間、16時間、20時間、24時間、又はそれより長い期間にわたって放出される。いくつかの実施態様では、ニューレグリンは、1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、10日、又はそれより長い期間にわたって放出される。別の実施態様では、ニューレグリンは、1週間、2週間、3週間、4週間、又はそれより長い期間にわたって放出される。別の実施態様では、ニューレグリンは、1カ月、2カ月、4カ月、8カ月、12カ月、又はそれより長い期間にわたって放出される。別の実施態様では、ニューレグリンは、1年、2年、3年、4年、又はそれより長い期間にわたって放出される。別の実施態様では、ニューレグリンは、3日間連続で毎日4時間、5日間連続で毎日4時間、7日間連続で毎日4時間、10日間連続で毎日4時間、3日間連続で毎日6時間、5日間連続で毎日6時間、7日間連続で毎日6時間、10日間連続で毎日6時間、3日間連続で毎日8時間、5日間連続で毎日8時間、7日間連続で毎日8時間、10日間連続で毎日8時間、放出される。

20

【0022】

本明細書で用いるように、「上皮成長因子様ドメイン」又は「EGF様ドメイン」は、ErbB2、ErbB3、ErbB4、又はそれらの組合せに結合して、それらを活性化し、かつその内容が全て参照により本明細書中に組み込まれる、WO 00/64400、Holmesらの文献（Science, 256:1205-1210（1992））；米国特許第5,530,109号及び第5,716,930号；Hijaziらの文献（Int. J. Oncol., 13:1061-1067（1998））；Changらの文献（Nature, 387:509-512（1997））；Carrawayらの文献（Nature, 387:512-516（1997））；Higashiyamaらの文献（J. Biochem., 122:675-680（1997））；並びにWO 97/09425に開示されているような、EGF受容体結合ドメインと構造的類似性を有する、ニューレグリン遺伝子によってコードされるポリペプチドモチーフを指す。ある実施態様では、EGF様ドメインは、ErbB2/ErbB4又はErbB2/ErbB3ヘテロ二量体に結合して、それらを活性化する。ある実施態様では、EGF様ドメインは、NRG-1の受容体結合ドメインのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施態様では、EGF様ドメインは、NRG-1のアミノ酸残基177~226、177~237、又は177~240に対応するアミノ酸配列を含む。ある実施態様では、EGF様ドメインは、NRG-2の受容体結合ドメインのアミノ酸配列を含む。ある実施態様では、EGF様ドメインは、NRG-3の受容体結合ドメインのアミノ酸配列を含む。ある実施態様では、EGF様ドメインは、NRG-4の受容体結合ドメインのアミノ酸配列を含む。ある実施態様では、EGF様ドメインは、米国特許第5,834,229号に記載されているような、

30

40

【化2】

Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly

Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro (配列番号2)

というアミノ酸を含む。

【0023】

本明細書で用いるように、「許容用量」は、害を伴わずに哺乳動物に投与し得るNRGの最大量を指す。ある実施態様では、該害は、臨床的有害事象の発生率及び重症度、血圧、心拍数、呼吸、及び体温を含むバイタルサインの異常、心電図の新たな変化、並びに身体的異常又は臨床検査異常により決定することができる。ある実施態様では、許容用量は、重篤な有害事象を伴わずにヒトに投与し得るNRGの最大量を指す。1つの具体的な実施態様では、該重篤な有害事象は、死に至るもの又は生命を脅かすものである。別の具体的な実施態様では、該重篤な有害事象は、入院患者の入院又は現在の入院の延長をもたらす。別の具体的な実施態様では、該重篤な有害事象は、永続的又は顕著な身体障害又は無能力をもたらす。別の具体的な実施態様では、該重篤な有害事象は、心筋梗塞、不安定狭心症への進行、又は他の心筋虚血の増加をもたらす。別の具体的な実施態様では、該重篤な有害事象は、新たな持続性不整脈、例えば、心房粗動又は心房細動、心室性頻脈又は心室細動、完全心ブロックの発生をもたらす。別の具体的な実施態様では、該重篤な有害事象は、先天異常をもたらす。他の実施態様では、該重篤な有害事象は、直ちに生命を脅かすものでない場合もあるし、又は死亡もしくは入院をもたらさない場合もあるが、該対象を危険に陥らせる場合もあるし、又は上に列挙した転帰の1つを予防するために介入を必要とする場合もある。

10

20

【0024】

本明細書で用いるように、「有効用量」は、哺乳動物に投与したときに1以上の有益な効果を生じるNRGの量を指す。ある実施態様では、該有益な効果は、限定するものではないが、MRIで測定されるLVEF、LVEDV、及びLVESVを含む、心機能の変化により決定することができる。ある実施態様では、該有益な効果は、限定するものではないが、心拍出量、左心及び右心充満圧、肺血圧及び全身血圧、並びに全身血管抵抗及び肺血管抵抗を含む、急性の血行動態変化により決定することができる。ある実施態様では、該有益な効果は、血液中の神経ホルモンマーカー及び免疫学的マーカー、例えば、ノルアドレナリン、アルドステロン、エンドセリン-1、NT-proBNP、III型プロコラーゲンの末端プロペプチド(PIIINP)、hsCRP、TNF、及びIL6により決定することができる。ある実施態様では、該有益な効果は、6分間歩行試験により決定することができる。ある実施態様では、該有益な効果は、ニューヨーク心臓協会によるCHF患者分類により決定することができる。ある実施態様では、該有益な効果は、生活の質(QOL、Minnesota、1986)により決定することができる。ある実施態様では、該有益な効果は、該患者の再入院の頻度により決定することができる。ある実施態様では、該有益な効果は、該患者の生存率又は死亡率により決定することができる。

30

40

【0025】

本明細書で用いるように、「治療する」、「治療」、及び「治療すること」は、病気、障害、又は疾患の症状を改善するか、さもなければ有益に変化させる任意の方法を指す。該効果は、疾患もしくはその症状の完全もしくは部分的な予防という観点では予防的であり得、並びに/又は疾患及び/もしくは該疾患に起因する有害効果の部分的もしくは完全な治癒という観点では治療的であり得る。治療は、本明細書中の該組成物の任意の医薬的使用も包含する。

【0026】

本明細書で用いるように、「左室駆出分画」又は「LVEF」は、心臓の鼓動の結果として充満した心室から拍出される血液の部分の意味する。それは、次式： $(LVEDV - LVESV) / LVEDV$ により定義することができる。

50

【0027】

本明細書で用いるように、「LVEDV」は、左室拡張末期容積を意味する。

【0028】

本明細書で用いるように、「LVESV」は、左室収縮末期容積を意味する。

【0029】

本明細書で用いるように、「短縮率」又は「FS」は、収縮状態と弛緩状態の間の左室の直径の変化の比を意味する。それは、次式： $(LV拡張末期直径 - LV収縮末期直径) / LV拡張末期直径$ により定義することができる。

【0030】

本明細書で用いるように、「心不全」は、心臓が代謝組織の要求に必要とされる速度で血液を拍出しない心機能の異常を意味する。心不全は、例えば、鬱血性心不全、心筋梗塞、頻拍性不整脈、家族性肥大性心筋症、虚血性心疾患、特発性拡張型心筋症、心筋炎などの広範な疾患状態を含む。心不全は、限定するものではないが、虚血性、先天性、リウマチ性、ウイルス性、毒性、又は特発性の形態を含む、いくつもの因子によって起こり得る。慢性心肥大は、鬱血性心不全及び心停止の前触れとなる重大な病的状態である。

10

【0031】

本明細書で用いるように、本文で明らかに別の指示がない限り、「タンパク質」は、「ポリペプチド」又は「ペプチド」と同義である。

【0032】

本明細書で用いるように、「活性単位」又は「EU」又は「U」は、50%最大反応を誘発することができる規格品の量を意味する。言い換えると、所与の活性剤の活性単位を決定するために、EC50を測定しなければならない。例えば、あるロットの製品のEC50が仮に0.1µgであるならば、それが1単位となる。さらに、1µgのその製品を用いている場合、10EU(1/0.1)を用いている。EC50は、当技術分野で公知の任意の方法で決定することができ、これには、本発明者によって利用される方法が含まれる。こうした該活性単位の決定は、遺伝子操作された製品及び臨床的に使用される薬物の品質管理にとって重要であり、異なる医薬及び/又は異なるロット番号に由来する製品を統一基準で定量化することを可能にする。

20

【0033】

以下は、NRGと細胞表面ErbB3/ErbB4分子との組合せ及びErbB2リン酸化の間接的な仲介による、例示的で、迅速で、高感度で、高流量で、かつ定量的なNRG-1の生物学的活性の決定方法である(例えば、Michael D. Sadickらの文献、1996, Analytical Biochemistry, 235: 207-214及びWO03/099300を参照されたい)。

30

【0034】

簡潔には、該アッセイは、キナーゼ受容体活性化酵素結合免疫吸着アッセイ(KIRA-ELISA)と呼ばれるが、これは、2つの別々のマイクロタイタープレートからなり、一方は、細胞培養、リガンド刺激、及び細胞溶解/受容体可溶化用、もう一方のプレートは、受容体捕捉及びホスホチロシンELISA用である。該アッセイは、NRG誘導性のErbB2活性化の解析用に開発された。該アッセイは、接着性乳癌細胞株MCF-7表面の無傷の受容体の刺激を利用する。膜タンパク質をTriton X-100溶解によって可溶化し、該受容体をErbB3又はErbB4と交差反応しないErbB2特異的抗体でコーティングしたELISAウェル中で捕捉する。次に、受容体リン酸化の程度を、抗ホスホチロシンELISAによって定量化する。再現性のある標準曲線を、ヘレグリン 1(177~244)の約360pMというEC50を用いて作成する。HRG 1(177~244)の同一の試料を、該KIRA-ELISAと定量的抗ホスホチロシンウェスタンブロット解析の両方で解析した場合、結果は互いに非常に密接に相関する。この報告で記載されているアッセイは、HRGとErbB3及び/又はErbB4との相互作用から生じるErbB2のチロシンリン酸化を特異的に定量化することができる。

40

【0035】

遺伝子操作された医薬品の大半は、タンパク質及びポリペプチドであるので、それらの活性は、それらのアミノ酸配列又はそれらの空間構造によって形成される活性中心によ

50

て決定することができる。タンパク質及びポリペプチドの活性力価は、それらの絶対的な質とは一致せず、それゆえ、化学薬品の活性力価のように重量単位で決定することができない。しかしながら、遺伝子操作された医薬品の生物学的活性は、通常、それらの薬力学と一致しており、また、所与の生物学的活性によって確立される力価決定系は、その力価単位を決定することができる。それゆえ、生物学的活性の決定は、生物学的活性を有する物質の力価を測定する過程の一部であることができ、かつ遺伝子操作された製品の品質管理の重要な構成要素である。遺伝子操作された製品及び臨床的に使用される薬物の品質管理のための生物学的活性基準を決定することが重要である。

【0036】

50%最大反応を誘発することができる標準製品の量は活性単位(1EU)と定義される。したがって、異なる医薬に由来する及び異なるロット番号の製品を統一基準で定量化することができる。

10

【実施例】

【0037】

(B.実施例)

本発明は、以下の実施例によって例証され、これらの実施例は、いかなる点においても限定的であることが意図されない。

【0038】

(実施例1) 健常ボランティアにおける注射用組換えヒトニューレグリン-1の忍容性を評価する第I相非盲検非比較単回投与試験

20

【0039】

健常対象における注射用組換えヒトニューレグリン-1の単回投与の安全性及び忍容性を決定するために、第I相臨床試験(プロトコルID:KW-70112)を中国の北京大学第一病院(Peking University First Hospital)で実施した。28名の健常ボランティアを登録し、その登録順に従って、6つの用量群に無作為化した。これらの用量群の中では、男女比は約1:1であった。

【0040】

被験薬:

【0041】

規格: Neucardin(商標)。ニューレグリン-1 2アイソフォームのEGF様ドメインを含み、配列番号: 1に示すアミノ酸配列を有する61アミノ酸のポリペプチド。分子量7054Da($1\mu\text{g} = 0.14\text{nmol}$)。250 μg (5000EU)/バイアル($1\mu\text{g} = 20\text{EU}$)。

30

【0042】

製剤: 注射用。

【0043】

投与の様式: 低速ポース(20ml/10分、注入ポンプ制御)。

【0044】

保存: 安全な場所に、利用を制限し、遮光して、3~8℃で。

【0045】

用量群:

40

【0046】

28名のボランティアを、0.2 μg 、0.4 μg 、0.8 μg 、1.2 μg 、1.6 μg 、及び2.4 μg に相当する漸増投与量にした6つの群に分けた(詳細については表1を参照されたい)。前の用量群の安全性及び忍容性を確認する前提条件の下で、0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ から始めて、該試験を次の用量へと段階的に増加させた。

【表 1】

表 1. 用量群及び各群における対象

| 群 | 用量 | サンプル |
|---|---------------------|------|
| A | 0.2µg/kg (4 EU/kg) | 4 |
| B | 0.4µg/kg (8 EU/kg) | 4 |
| C | 0.8µg/kg (16 EU/kg) | 4 |
| D | 1.2µg/kg (24 EU/kg) | 5 |
| E | 1.6µg/kg (32 EU/kg) | 6 |
| F | 2.4µg/kg (48 EU/kg) | 5 |

10

【 0 0 4 7 】

試験手順

【 0 0 4 8 】

1) スクリーニング期間：

- ・ 書面によるインフォームドコンセントフォームを得る；
- ・ 包含 / 除外基準を確認する；
- ・ 人口統計学
- ・ 病歴を収集する；
- ・ 健康診断；
- ・ バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
- ・ 血液検査、尿検査；
- ・ 血液生化学検査；
- ・ 血清心臓マーカー；
- ・ ECG；
- ・ 心臓超音波画像；
- ・ 血液凝固検査：APTT、PT；
- ・ 血清学的検査（HBsAg、抗HCV、抗HIVアッセイを含む）；
- ・ 胸部X線；
- ・ 尿HCG検査（女性対象、必要な場合）；
- ・ 有害事象及び重篤な有害事象を記録する；
- ・ 併用薬を記録する。

20

30

【 0 0 4 9 】

2) ベースライン：予定された治験薬投与の前夜から治験薬投与の開始までの時間

- ・ 健康診断；
- ・ バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
- ・ 特異的抗体アッセイ；
- ・ 包含 / 除外基準を再確認する；
- ・ 有害事象及び重篤な有害事象を記録する；
- ・ 併用薬を記録する。

40

【 0 0 5 0 】

3) 治験薬が投与された日

- ・ 治験薬投与；
- ・ ECG；
- ・ 心エコー検査；
- ・ 有害事象及び重篤な有害事象を記録する；

50

- ・併用薬を記録する（毎日）。

【0051】

4) 薬物投与の中止後1日目及び7日目

- ・健康診断；
- ・バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
- ・特異的抗体アッセイ；
- ・血液検査、尿検査；
- ・血液生化学検査；
- ・血清心臓マーカー；
- ・ECG；
- ・心臓超音波画像（薬物投与の中止後7日目）；
- ・血液凝固検査：APTT、PT；
- ・尿HCG検査（女性対象、必要な場合）；
- ・有害事象及び重篤な有害事象を記録する；
- ・併用薬を記録する。

10

【0052】

5) 薬物投与の中止後10日目

【0053】

薬物投与の中止後7日目の検査結果における任意の異常な項目に関して、この項目を投与後10日目に再検査した。その後、結果が正常になるまで、それを一定の間隔で再検査した。

20

【0054】

結果及び解析

【0055】

合計28名の健常対象を0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の6つの用量群に登録し、各用量群で試験を終了した対象の数は、それぞれ、4名、4名、4名、5名、6名、5名であった（表1参照）。

【0056】

インフォームドコンセントに署名した時から治療最後の来診まで有害事象（AE）をモニタリングした。16名の対象（57.1%）は、該試験期間中に少なくとも1回の有害事象を経験し、全ての有害事象は軽度であった。該試験中、中等度又は重症の有害事象を経験した対象はいなかった。

30

【0057】

該試験中、最も頻繁に報告された有害事象を表2に記載し、重症度別の有害事象を表3に記載した。

【表 2】

表 2. 有害事象のリスト

| 群 | 対象 | AE | 重症度 | 転帰 |
|----------|-----|-----------------------|-----|----|
| 0.2µg/kg | 402 | 異常な ECG | 軽度 | 回復 |
| 0.8µg/kg | 101 | 吐き気 | 軽度 | 回復 |
| | 102 | 吐き気; 下肢の疲労 | 軽度 | 回復 |
| | 103 | 吐き気; 疲労; 軟便; 意識朦朧 | 軽度 | 回復 |
| | 104 | 吐き気 | 軽度 | 回復 |
| 1.2µg/kg | 601 | 異常な ECG | 軽度 | 回復 |
| | 603 | 血液検査異常 | 軽度 | 回復 |
| | 605 | 異常な ECG | 軽度 | 回復 |
| 1.6µg/kg | 201 | 食欲不振; 血液検査異常 | 軽度 | 回復 |
| | 202 | ECG 及び尿検査異常 | 軽度 | 回復 |
| | 204 | 吐き気; 異常な ECG | 軽度 | 回復 |
| | 206 | 吐き気; 食欲不振 | 軽度 | 回復 |
| 2.4µg/kg | 302 | 異常な ECG | 軽度 | 回復 |
| | 303 | 風邪 | 軽度 | 回復 |
| | 304 | 異常な ECG | 軽度 | 回復 |
| | 305 | 吐き気; 意識朦朧; 異常な ECG | 軽度 | 回復 |

10

20

30

【表 3】

表 3. 重症度別の有害事象のまとめ

| | 0.2µg/kg (N=4) n (%) | 0.4µg/kg (N=4) n (%) | 0.8µg/kg (N=4) n (%) | 1.2µg/kg (N=5) n (%) | 1.6µg/kg (N=6) n (%) | 2.4µg/kg (N=5) n (%) | 合計 (N=28) n (%) |
|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| 少なくとも1回の有害事象を経験した対象 | 1 (25.0) | 0 (0.0) | 4 (100.0) | 3 (60.0) | 4 (66.7) | 4 (80.0) | 16 (57.1) |
| 最も悪い有害事象によって分類された対象 | | | | | | | |
| 軽度 | 1 (25.0) | 0 (0.0) | 4 (100.0) | 3 (60.0) | 4 (66.7) | 4 (80.0) | 16 (57.1) |
| 中等度 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| 重症 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| 少なくとも1回のSAEを経験した対象 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| 少なくとも1回の有害事象を経験し、 早期終了に至った対象 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| 死亡 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |

40

50

【0058】

治験薬関連の有害事象は、ECG異常（8名の対象、28.6%）及び胃腸障害（7名の対象、25.0%）であった。ECG異常には、わずかなST-T部の低下、T波平坦化、又は最小限のT波逆転が含まれた。治験薬投与期間及び観察期間中、前胸部不快感、窒息感、胸痛、呼吸困難を経験した対象はおらず、血圧は投与後2時間及び24時間で正常であり、血液生化学検査、電解質、血清心臓マーカー、及び心エコー検査に異常は見られなかった。

【0059】

各用量の全ての対象は、健康診断パラメータにおいてベースラインから変化しなかった。血清抗体アッセイは全ての対象で陰性の結果を示した（表4参照）。

【表4】

10

表4. 各群の血清抗NRG-1抗体

| 群 | 1回目のサンプリング | | 2回目のサンプリング | | 3回目のサンプリング | |
|----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|
| | 1:50 | 1:100 | 1:50 | 1:100 | 1:50 | 1:100 |
| 0.2µg/kg | 0.18±0.05 | 0.12±0.02 | 0.18±0.06 | 0.13±0.02 | 0.17±0.06 | 0.14±0.02 |
| 0.4µg/kg | 0.12±0.01 | 0.10±0.01 | 0.12±0.06 | 0.10±0.02 | 0.11±0.01 | 0.10±0.01 |
| 0.8µg/kg | 0.16±0.05 | 0.15±0.02 | 0.18±0.03 | 0.15±0.04 | 0.18±0.05 | 0.16±0.05 |
| 1.2µg/kg | 0.12±0.02 | 0.10±0.02 | 0.12±0.03 | 0.10±0.02 | 0.11±0.02 | 0.10±0.02 |
| 1.6µg/kg | 0.21±0.12 | 0.17±0.08 | 0.22±0.10 | 0.17±0.07 | 0.22±0.10 | 0.18±0.06 |
| 2.4µg/kg | 0.15±0.04 | 0.15±0.03 | 0.17±0.04 | 0.13±0.03 | 0.14±0.03 | 0.14±0.03 |

20

【0060】

第I相臨床試験の結果により、2.4 µg / kg / 日を超えない用量では、薬物関連の有害事象は、主に、軽度のECG異常及び胃腸障害であることが示され、中等度又は重症の有害事象は認められなかった。したがって、単回投与で投与される場合の2.4 µg / kg / 日を超えない用量は忍容性である。

30

【0061】

（実施例2）健常ボランティアにおける注射用組換えヒトニューレグリン-1の忍容性を評価する第I相非盲検非比較複数回投与試験

【0062】

健常対象における連続5日間の注射用組換えヒトニューレグリン-1の複数回投与の安全性及び忍容性を評価するために、第I相臨床試験（プロトコルID：KW-70112）を中国の北京大学第一病院（Peking University First Hospital）で実施した。32名の健常ボランティアを登録し、4つの用量群に無作為化した。

【0063】

被験薬：

40

【0064】

規格：Neucardin（商標）。ニューレグリン-1 2アイソフォームのEGF様ドメインを含み、配列番号：1に示すアミノ酸配列を有する61アミノ酸のポリペプチド。分子量7054Da（1 µg = 0.14nmol）。250 µg（5000EU）/ パリアル（1 µg = 20EU）。

【0065】

製剤：注射用。

【0066】

投与の様式：低速ボラス（20ml / 10分、注入ポンプ制御）。

【0067】

50

保存：安全な場所に、利用を制限し、遮光して、3～8 で。

【 0 0 6 8 】

用量群：

【 0 0 6 9 】

32名のボランティアを、0.2 µg、0.4 µg、0.8 µg、及び1.2 µgに相当する漸増投与量にした4つの群に分けた（詳細については表5を参照されたい）。前の用量群の安全性及び忍容性を確認する前提条件の下で、0.2 µg / kgから始めて、該試験を次の用量へと段階的に増加させた。

【表 5】

表 5. 用量群及び各群における対象

| 群 | 用量 | サンプル |
|----------|-----------------|------|
| I (5日) | 0.2µg/kg (4EU) | 8 |
| II (5日) | 0.4µg/kg (8EU) | 8 |
| III (5日) | 0.8µg/kg (16EU) | 8 |
| IV (5日) | 1.2µg/kg (24EU) | 8 |

10

【 0 0 7 0 】

試験手順

【 0 0 7 1 】

1) スクリーニング期間：

- ・ 書面によるインフォームドコンセントフォームを得る；
- ・ 包含 / 除外基準を確認する；
- ・ 人口統計学；
- ・ 病歴を収集する；
- ・ 健康診断；
- ・ バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
- ・ 血液検査、尿検査；
- ・ 血液生化学検査；
- ・ 血清心臓マーカー；
- ・ ECG；
- ・ 心臓超音波画像；
- ・ 血液凝固検査：APTT、PT；
- ・ 血清学的検査（HBsAg、抗HCV、抗HIVアッセイを含む）；
- ・ 胸部X線；
- ・ 尿HCG検査（女性対象、必要な場合）；
- ・ 有害事象及び重篤な有害事象を記録する；
- ・ 併用薬を記録する。

20

30

40

【 0 0 7 2 】

2) ベースライン：予定された治験薬投与の前夜から治験薬投与の開始までの時間

- ・ 健康診断；
- ・ バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
- ・ 包含 / 除外基準を再確認する；
- ・ 有害事象及び重篤な有害事象を記録する；
- ・ 併用薬を記録する。

【 0 0 7 3 】

3) 薬物投与の1日目から5日目

- ・ 治験薬投与；

50

- ・ ECG ;
- ・ 有害事象及び重篤な有害事象を記録する（毎日）；
- ・ 併用薬を記録する（毎日）。

【 0 0 7 4 】

4) 薬物投与の中止後1日目及び7日目

- ・ 健康診断；
- ・ バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
- ・ 血液検査、尿検査；
- ・ 血液生化学検査；
- ・ 血清心臓マーカー；
- ・ ECG；
- ・ 心臓超音波画像（薬物投与の中止後7日目）；
- ・ 血液凝固検査：APTT、PT；
- ・ 尿HCG検査（女性対象、必要な場合）；
- ・ 有害事象及び重篤な有害事象を記録する；
- ・ 併用薬を記録する。

10

【 0 0 7 5 】

5) 薬物投与の中止後14日目

【 0 0 7 6 】

薬物投与の中止後7日目の検査結果における任意の異常な項目に関して、この項目を投与後10日目に再検査した。その後、結果が正常になるまで、それを一定の間隔で再検査した。

20

【 0 0 7 7 】

結果及び解析

【 0 0 7 8 】

合計32名の健常対象を登録し、0.2、0.4、0.8、及び1.2 µg / kgの4つの異なる用量群に無作為化した。各群に8名の対象とし、男女比を1：1とした。1.2 µg / kg用量群の1名の対象は有害事象のために試験を中止し、他の全ての対象は該試験を終了した。

【 0 0 7 9 】

インフォームドコンセントに署名された時から治療最後の来院まで有害事象をモニタリングした。23名の対象（71.9%）は、該試験期間中に少なくとも1回の有害事象を経験し、全ての有害事象は軽度であった。該試験中に、重症の又は重篤な有害事象を経験した対象はいなかった（表6参照）。

30

【表 6】

表 6. 重症度別の有害事象

| | 0.2μg/kg (N=8) n(%) | 0.4μg/kg (N=8) n(%) | 0.8μg/kg (N=8) n(%) | 1.2μg/kg (N=8) n(%) | 合計 (N=32) n(%) |
|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|
| 少なくとも1回の有害事象を経験した対象 | 4 (50.0) | 5 (62.5) | 7 (87.5) | 7 (87.5) | 23(71.9) |
| 最も悪い有害事象によって分類された対象 | | | | | |
| 軽度 | 4 (50.0) | 5 (62.5) | 7 (87.5) | 7 (87.5) | 23(71.9) |
| 中等度 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| 重症 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| 少なくとも1回のSAEを経験した対象 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| 少なくとも1回の有害事象を経験し、 早期終了に至った対象 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (12.5) | 1 (3.1) |
| 死亡 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |

10

20

【0080】

頻繁に報告された治験薬関連の有害事象には、ECG異常（14例、40.63%）及び胃腸障害（9例、28.13%）が含まれた。ECG異常には、わずかなST-T部の低下、T波平坦化、又は最小限のT波逆転が含まれた。治験薬投与期間及び観察期間中、ECGが異常であった対象の中で、前胸部不快感、窒息感、胸痛、及び呼吸困難を経験したものはいなかった。試験の全過程において、いかなる治療も施されなかった。5回目の治験薬投与後48時間以内に、ほとんど全てのECG異常が正常に戻った

【0081】

治験薬に関連する胃腸障害は、胃の不快感、吐き気、嘔吐、及び軟便であった（表7参照）。

30

【表 7】

表 7. 頻繁に報告された治験薬関連の有害事象

| MedDRA体系の臓器クラス/ MedDRAの好ましい用語 | 0.2µg/kg (N=8) n(%) | 0.4µg/kg (N=8) n(%) | 0.8µg/kg (N=8) n(%) | 1.2µg/kg (N=8) n(%) | 合計 (N=32) n(%) |
|----------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|
| 少なくとも1回の有害事象を 経験した対象 | 2 (25.0) | 4 (50.0) | 7 (87.5) | 7 (87.5) | 20 (62.5) |
| 皮膚及び皮下組織の障害 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (25.0) | 0 (0.0) | 2 (6.3) |
| 発疹 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (25.0) | 0 (0.0) | 2 (6.3) |
| 神経系障害 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (12.5) | 0 (0.0) | 1 (3.1) |
| 頭痛 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (12.5) | 0 (0.0) | 1 (3.1) |
| 胃腸障害 | 0 (0.0) | 1 (12.5) | 4 (50.0) | 4 (50.0) | 9 (28.1) |
| 吐き気 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 4 (50.0) | 2 (25.0) | 6 (18.8) |
| 嘔吐 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (25.0) | 2 (6.3) |
| 胃の不快感 | 0 (0.0) | 1 (12.5) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (3.1) |
| 軟便 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (12.5) | 1 (3.1) |
| 心臓障害 | 2 (25.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (6.3) |
| 心室性不整脈 | 2 (25.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (6.3) |
| ECG異常 | 0 (0.0) | 3 (37.5) | 5 (62.5) | 6 (75.0) | 14 (43.8) |
| T波逆転 | 0 (0.0) | 2 (25.0) | 2 (25.0) | 3 (37.5) | 7 (21.9) |
| T波低下 | 0 (0.0) | 2 (25.0) | 5 (62.5) | 4 (50.0) | 11 (34.4) |
| T波異常 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (12.5) | 1 (3.1) |

【 0 0 8 2 】

第I相臨床試験の結果により、1.2 µg / kg / 日を超えない用量では、薬物関連の有害事象は、主に、軽度のECG異常及び胃腸障害であることが示され、中等度又は重症の有害事象は認められなかった。この複数回投与試験で経験されるAEは、単回投与試験のAEと類似しており、該治験薬を複数日投与した場合、AEの発生率及び強度が増加しないことを裏付けた。

【 0 0 8 3 】

(実施例3) 標準療法を受けている心不全患者における注射用組換えヒトニューレグリン-1の有効性及び安全性を評価する非盲検単一施設並行群試験

【 0 0 8 4 】

慢性心不全に対する注射用組換えヒトニューレグリン-1の有効性及び安全性を評価するために、並びに慢性心不全を治療するための注射用組換えヒトニューレグリン-1の有効用量範囲を検討するために、標準治療をベースとした第II相非盲検単一施設並行群試験(プロトコルID:HREC 06/035)をオーストラリアの聖ビンセント病院(St Vincent's Hospital)で実施した。15名の慢性心不全患者を登録し、3つの群に無作為化した。

【 0 0 8 5 】

被験薬：

規格：Neucardin（商標）。ニューレグリン-1 2アイソフォームのEGF様ドメインを含み、配列番号：1に示すアミノ酸配列を有する61アミノ酸のポリペプチド。分子量7054Da（ $1\mu\text{g} = 0.14\text{nmol}$ ）。 $250\mu\text{g}$ （5000EU）/バイアル（ $1\mu\text{g} = 20\text{EU}$ ）。

【0086】

製剤：注射用。

【0087】

投与の様式：静脈内に点滴する。

【0088】

保存：安全な場所に、利用を制限し、遮光して、3～8℃で。

【0089】

用量群：

【0090】

15名の慢性心不全患者（LVEF 40%、NYHAクラスII/III、ACEI/ARA及び 遮断薬を服用し、先立つこと3カ月間、安定投与量のこれらの薬物で安定している）を登録し、各群に5名の患者として3つの用量群に無作為化した（表8参照）。

【表8】

表8. オーストラリアでの第II相試験の用量レジメン

| 用量群 | サンプル | 用量（1日目） | 用量（2～11日目） |
|-----|------|----------------------------------|-----------------------------------|
| A | 5 | 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/6$ 時間 | 2.4 $\mu\text{g}/\text{kg}/12$ 時間 |
| B | 5 | 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/6$ 時間 | 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/12$ 時間 |
| C | 5 | 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/6$ 時間 | 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}/12$ 時間 |

【0091】

試験手順

【0092】

1) スクリーニング及びベースライン：

- ・ 書面によるインフォームドコンセントフォームを得る；
- ・ 病歴を収集する；
- ・ バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
- ・ 健康診断；
- ・ 包含/除外基準を確認する；
- ・ ECG；
- ・ FBC；
- ・ 神経ホルモンマーカー、免疫学的マーカー（NT-proBNP、PIIINP、NA、アルドス、エンドセリン、hsCRP、TNF-a、IL-6）；

・ 心臓超音波画像；

- ・ MRI。

【0093】

2) 薬物投与の1日目

- ・ バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
- ・ 治験薬投与；
- ・ ECG；
- ・ RHカテーテル；
- ・ NT-proBNP。

3) 薬物投与の2～11日目

- ・ バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
- ・ 治験薬投与；

10

20

30

40

50

- ・ ECG。

【 0 0 9 4 】

4) 該試験の12日目

- ・ バイタルサイン (臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温) ；
- ・ ECG ；
- ・ RHカテーテル ；
- ・ FBC ；
- ・ 神経ホルモンマーカー、免疫学的マーカー (NT-proBNP、PIIINP、NA、アルドス、エンドセリン、hsCRP、TNF-a、IL-6) ；
- ・ 心臓超音波画像 ；
- ・ MRI。

10

【 0 0 9 5 】

5) 該試験の30日目

- ・ バイタルサイン (臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温) ；
- ・ ECG ；
- ・ FBC ；
- ・ 神経ホルモンマーカー、免疫学的マーカー (NT-proBNP、PIIINP、NA、アルドス、エンドセリン、hsCRP、TNF-a、IL-6) ；
- ・ 心臓超音波画像 ；
- ・ MRI。

20

【 0 0 9 6 】

6) 該試験の60日目

- ・ バイタルサイン (臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温) ；
- ・ ECG ；
- ・ FBC ；
- ・ 神経ホルモンマーカー、免疫学的マーカー (NT-proBNP、PIIINP、NA、アルドス、エンドセリン、hsCRP、TNF-a、IL-6) ；

【 0 0 9 7 】

7) 該試験の90日目

- ・ 病歴を収集する ；
- ・ バイタルサイン (臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温) ；
- ・ 健康診断 ；
- ・ ECG ；
- ・ FBC ；
- ・ RHカテーテル ；
- ・ 神経ホルモンマーカー、免疫学的マーカー (NT-proBNP、PIIINP、NA、アルドス、エンドセリン、hsCRP、TNF-a、IL-6) ；
- ・ 心臓超音波画像 ；
- ・ MRI。

30

【 0 0 9 8 】

結果及び解析

【 0 0 9 9 】

有効性の主要評価項目は、(MRIで測定されるLVEF、LVEDV、及びLVESVの変化によって決定されるような) 左室機能及びリモデリングを評価することである。血行動態パラメータ並びに神経ホルモンマーカー及び免疫学的マーカーは、有効性の副次的評価項目の役割を果たす。

【 0 1 0 0 】

総数として、13名の対象 (13 / 15、86.7%) に、IV注入により試験薬を連続11日間投与し、1名の対象 (1 / 15、6.7%) に、IV注入により試験薬を10日間投与し、1名の対象 (1 / 15、6.7%) に、IV注入により試験薬を7日間投与した。脱落した対象はいなかった。

50

【 0 1 0 1 】

A群 (1.2 µg/kg/日 * 1日 + 2.4 µg/kg/日 * 10日) では、4名の対象 (4/5、80.0%) に、IV注入により試験薬を連続11日間投与し、1名の対象 (1/5、20.0%) に、IV注入により試験薬を7日間投与した。B群 (1.2 µg/kg/日 * 1日 + 1.2 µg/kg/日 * 10日) では、5名の対象 (5/5、100.0%) に、IV注入により試験薬を連続11日間投与した。C群 (1.2 µg/kg/日 * 1日 + 0.6 µg/kg/日 * 10日) では、4名の対象 (4/5、80.0%) に、IV注入により試験薬を連続11日間投与し、1名の対象 (1/5、20%) に、IV注入により試験薬を10日間投与した。

【 0 1 0 2 】

A群では、Neucardin (商標) の投与後、12日で、該LVEF (%) は、ベースラインと比較して5.4%改善し、増加率は16.0%であった。1カ月で、該LVEF (%) は、ベースラインと比較して3.3%改善し、増加率は8.8%であった。3カ月で、該LVEF (%) は、ベースラインと比較してなおも2.6%改善し、増加率は6.1%であった。

10

【 0 1 0 3 】

B群では、12日で、該LVEF (%) は、ベースラインと比較して3.8%改善し、増加率は11.8%であった。1カ月で、該LVEF (%) は、ベースラインと比較して3.4%改善し、増加率は9.7%であった。3カ月で、該LVEF (%) の改善は、ベースラインと比較して4.8%に増加し、増加率は15.7%であった。

【 0 1 0 4 】

C群では、12日で、該LVEF (%) は、ベースラインと比較して2.2%改善し、増加率は8.4%であった。1カ月で、該LVEF (%) は、ベースラインと比較して4.6%改善し、増加率は15.4%であった。LVEF (%) の改善は、ベースラインと比較して4.4%差で3カ月まで維持され、増加率は15.5%であった。

20

【 0 1 0 5 】

そして、該試験を終了した (合せて) 全15名の対象について、LVEF (%) の改善は、ベースラインと比較して、12日、1カ月、3カ月で、それぞれ、3.8%、3.8%、及び3.9%であった (表9参照)。

【 0 1 0 6 】

該試験を終了した (合せて) 全15名の対象について、及び各々の個々の用量群について、どの時点においても、ベースラインと比較してLVEDV (ml) の顕著な変化はなかった。

30

【 0 1 0 7 】

LVESV (ml) に関して、A群では、12日で、該LVESV (ml) は、ベースラインと比較して8.4ml減少し、減少率は4.9%であった。1カ月で、該LVESV (ml) は、ベースラインと比較して14.3ml減少し、減少率は8.8%であった。3カ月で、該LVESV (ml) は、ベースラインと比較して12.0ml減少し、減少率は8.3%であった。

【表 9】

表 9. LVEFの測定値 (平均±SD) (%)

| 用量群 | 時点 | 測定された LVEF値 (%) | LVEFの 絶対的 変化 (%) | ベースラインと 比較したLVEFの 変化率 (%) |
|---|---------------|--------------------|------------------------|---------------------------------|
| A群 (1.2mcg/kg/日*1日 + 2.4mcg/kg/日*10日) | ベースライン (n=5) | 33.2±9.7 | | |
| | 12日 (n=5) | 38.6±11.6 | 5.4±2.9 | 16.0±8.2 |
| | 1カ月 (n=4) | 37.5±13.1 | 3.3±2.8 | 8.8±6.3 |
| | 3カ月 (n=5) | 35.8±13.1 | 2.6±4.0 | 6.1±11.0 |
| B群 (1.2mcg/kg/日*1日 +1.2mcg/kg/日*10日) | ベースライン (n=5) | 30.8±8.0 | | |
| | 12日 (n=5) | 34.6±10.0 | 3.8±2.6 | 11.8±5.9 |
| | 1カ月 (n=5) | 34.2±10.9 | 3.4±4.1 | 9.7±12.4 |
| | 3カ月 (n=5) | 35.6±9.4 | 4.8±3.4 | 15.7±11.2 |
| C群 (1.2mcg/kg/日*1日 + 0.6mcg/kg/日*10日) | ベースライン (n=5) | 32.6±7.3 | | |
| | 12日 (n=5) | 34.8±5.4 | 2.2±3.7 | 8.4±11.9 |
| | 1カ月 (n=5) | 37.2±6.8 | 4.6±3.4 | 15.4±11.5 |
| | 3カ月 (n=5) | 37.0±5.2 | 4.4±3.0 | 15.5±12.9 |
| 全対象 | ベースライン (n=15) | 32.2±7.9 | | |
| | 12日 (n=15) | 36.0±8.9 | 3.8±3.2 | 12.1±8.9 |
| | 1カ月 (n=14) | 36.2±9.6 | 3.8±3.3 | 11.5±10.3 |
| | 3カ月 (n=15) | 36.1±9.1 | 3.9±3.4 | 12.4±11.8 |

10

20

【0108】

B群では、12日で、該LVESV (ml) は、ベースラインと比較して1.0ml減少し、減少率は2.5%であった。1カ月で、該LVESV (ml) は、ベースラインと比較して3.8ml減少し、減少率は2.5%であった。3カ月で、該LVESV (ml) は、ベースラインと比較して12.6ml減少し、減少率は6.3%であった。

30

【0109】

C群では、12日で、該LVESV (ml) は、ベースラインと比較して11.4ml減少し、減少率は8.6%であった。1カ月で、該LVESV (ml) は、ベースラインと比較して8.0ml減少し、減少率は5.1%であった。3カ月で、該LVESV (ml) は、ベースラインと比較して10.8ml減少し、減少率は7.1%であった。

【0110】

そして、該試験を終了した(合せて)全15名の対象について、LVESV (%) の減少は、ベースラインと比較して、12日、1カ月、3カ月で、それぞれ、6.9%、8.3%、及び11.8%であった(表10参照)。

40

【表 10】

表10. LVESVの測定値(平均±SD)(ml)

| 用量群 | 時点 | 測定された LVEF値 (ml) | LVEFの 絶対的 変化 (ml) | ベースラインと 比較したLVEFの 変化率 (%) |
|---|---------------|---------------------|-------------------------|---------------------------------|
| A群 (1.2mcg/kg/日 *1日 + 2.4mcg/kg/日 *10日) | ベースライン (n=5) | 194.2±74.0 | | |
| | 12日 (n=5) | 185.8±73.2 | -8.4±10.4 | -4.9±6.3 |
| | 1カ月 (n=4) | 172.8±81.5 | -14.3±14.9 | -8.8±9.8 |
| | 3カ月 (n=5) | 182.2±83.4 | -12.0±17.6 | -8.3±11.4 |
| B群 (1.2mcg/kg/日 *1日 + 1.2mcg/kg/日 *10日) | ベースライン (n=5) | 179.6±34.7 | | |
| | 12日 (n=5) | 178.6±60.5 | -1.0±29.0 | -2.5±16.6 |
| | 1カ月 (n=5) | 175.8±40.1 | -3.8±14.5 | -2.5±8.3 |
| | 3カ月 (n=5) | 167.0±26.0 | -12.6±15.6 | -6.3±8.3 |
| C群 (1.2mcg/kg/日 *1日 + 0.6mcg/kg/日 *10日) | ベースライン (n=5) | 182.4±70.5 | | |
| | 12日 (n=5) | 171.0±81.6 | -11.4±22.2 | -8.6±14.2 |
| | 1カ月 (n=5) | 174.4±73.4 | -8.0±9.2 | -5.1±6.9 |
| | 3カ月 (n=5) | 171.6±74.4 | -10.8±8.9 | -7.1±6.6 |
| 全対象 | ベースライン (n=15) | 185.4±58.1 | | |
| | 12日 (n=15) | 178.5±67.2 | -6.9±20.8 | -5.3±12.4 |
| | 1カ月 (n=14) | 174.4±60.7 | -8.3±12.7 | -5.2±8.1 |
| | 3カ月 (n=15) | 173.6±61.7 | -11.8±13.5 | -7.2±8.4 |

10

20

【0111】

24時間にわたってモニタリングしたとき、6時間のNeucardin(商標)の注入は、いくつかの血行動態パラメータに急性にかつ顕著に影響を及ぼした。表11に示すように、血行動態に対するNeucardin(商標)の急性の影響は、全く疑いようのないものであった。

30

【表 1 1】

表 1 1. 6時間のNeucardin（商標）の注入時及び注入後の血行動態パラメータの
顕著な変化のまとめ

| 血行動態パラメータ | ベースラインと比較して パラメータが顕著に増加した時点 | ベースラインと比較して パラメータが顕著に減少した時点 |
|---|--------------------------------|---|
| 心拍数 (HR , 脈拍/分) | 1時間、2時間、4時間、及び6時間 | |
| 収縮期血圧 (SBP , mmHg) | 6時間 | |
| 拡張期血圧 (DBP , mmHg) | | 24時間 |
| 平均血圧 (MBP, mmHg) | | 24時間 |
| 右心房圧 (RA, mmHg) | | 1時間、2時間、4時間、6時間、 12時間、及び24時間 |
| 肺動脈収縮期圧 (PASP, mmHg) | 30分、1時間 | |
| 肺動脈拡張期圧 (PADP, mmHg) | | 2時間、12時間、及び24時間 |
| 平均肺動脈圧 (MPAP, mmHg) | | 2時間、12時間、及び24時間 |
| 肺動脈楔入圧 (PAWP, mmHg) | | 30分、1時間、2時間、4 時間、6時間、12時間、及び24 時間 |
| 肺圧差勾配 (TPG, mmHg) | 30分、1時間、2時間、4時間、6 時間、及び24時間 | |
| 肺血管抵抗 (PVR , ダイン.秒.cm ⁻⁵) | | |
| 全身血管抵抗 (SVR , ダイン.秒.cm ⁻⁵) | | 30分、2時間、4時間、6 時間、及び24時間 |
| 心拍出量 (CO, L/分) | 30分、1時間、2時間、4時間、6 時間、及び24時間 | |
| 心係数 (CI , L/分/m ²) | 30分、1時間、2時間、4時間、6 時間、及び24時間 | |
| 1回拍出量 (SV , ml) | 30分、2時間、4時間、12時間 及び24時間 | |
| 1回拍出量係数 (SVI, ml/m ²) | 30分、2時間、4時間、12時間 及び24時間 | |

10

20

30

40

【 0 1 1 2】

試験対象の血行動態における長期間の顕著な変化を次の表にまとめ、詳細を以下に記載する（表12）。

50

【表 1 2】

表 1 2. 長期間の血行動態パラメータの顕著な変化のまとめ

| 血行動態パラメータ | ベースラインと比較して パラメータが顕著に 増加した時点 | ベースラインと比較して パラメータが顕著に 減少した時点 |
|-------------|------------------------------------|------------------------------------|
| SBP (mmHg) | 12日、3カ月 | |
| DBP (mmHg) | 12日、3カ月 | |
| MBP (mmHg) | 12日、3カ月 | |
| TPG (mmHg) | 12日、3カ月 | |
| PAWP (mmHg) | | 3カ月 |

10

【0 1 1 3】

神経ホルモンマーカー及び免疫学的マーカーに関して、NT-proBNPは、1日目の6時間のN eucardin (商標) の注入後に増加し、投与の開始から24時間でベースラインに戻らず、投薬の終了後、それは減少し、試験の最後にベースラインに戻った。

【0 1 1 4】

顕著な変化はhs-CRPでは認められなかった。

20

【0 1 1 5】

安全性評価に関して、10名の対象(10/15、66.7%)は、少なくとも1回の有害事象(AE)を経験した。最もよく報告される個々のAEは、吐き気(20%)、倦怠感(20%)、及び胸痛(20%)であり、投与量との明確な因果関係はなかった。対象の約67%は、治験薬の投与中又は投与後にECG異常を有し、これには、T波の逆転又は平坦化、ST-T部の変化、心室性期外収縮、非持続的に続く上室性もしくは心室性頻脈又は心房粗動/細動が含まれた。ECG異常はCHF対象によく見られるものであり、かつ比較用のプラセボ群がなかったため、この試験で薬物との因果関係または関係性を評価するのは難しい。

【0 1 1 6】

A群の1名の対象(2.4 µg/kg/日)及びC群の1名の対象(0.6 µg/kg/日)は、重篤な有害事象(SAE)を経験した。

30

【0 1 1 7】

バイタルサイン、健康診断、実験室パラメータに関して同定された臨床的に重大な異常はなかった。

【0 1 1 8】

第II相試験の結果によれば、組換えヒトニューレグリン-1は、0.6~2.4 µg/kg/日(12~48EU/kg/日又は0.08~0.34nmol/kg/日)の用量範囲で慢性心不全患者を治療するのに有効かつ安全であると考えられる。

【0 1 1 9】

(実施例4)慢性心不全患者における組換えヒトニューレグリン1の有効性及び安全性を評価する、標準治療をベースとした無作為化二重盲検多施設共同プラセボ比較試験

40

【0 1 2 0】

慢性鬱血性心不全に対する注射用組換えヒトニューレグリン-1の有効性及び安全性を評価するために、並びに慢性鬱血性心不全を治療するための注射用組換えヒトニューレグリン-1の有効用量範囲を検討するために、標準治療をベースとした第II相二重盲検多施設共同プラセボ対照比較試験(プロトコルID: ZS-01-206)を中国の複数の臨床施設で実施した。拡張型心筋症、高血圧症、ウイルス性心筋炎、心筋梗塞、及びアルコール性心筋症を含む1以上の因子に起因する慢性心不全と診断された64名の患者を登録し、4つの群に無作為化した。

【0 1 2 1】

50

被験薬：

【0122】

規格：Neucardin（商標）。ニューレグリン-1 2アイソフォームのEGF様ドメインを含み、配列番号：1に示すアミノ酸配列を有する61アミノ酸のポリペプチド。分子量7054Da（ $1\mu\text{g} = 0.14\text{nmol}$ ）。 $250\mu\text{g}$ （5000EU）/バイアル（ $1\mu\text{g} = 20\text{EU}$ ）。

【0123】

製剤：注射用。

【0124】

投与の様式：静脈内に点滴する。

【0125】

保存：安全な場所に、利用を制限し、遮光して、3～8℃で。

【0126】

プラセボ：

【0127】

規格：Neucardin（商標）用の賦形剤。 $250\mu\text{g}$ /バイアル。活性のある組換えヒトニューレグリン-1タンパク質を含まない。

【0128】

用量群：

【0129】

64名の慢性心不全患者（LVEF 40%、NYHAクラスII/III、ACEI/ARA、遮断薬、利尿薬、又はジゴキシンを服用し、先立つこと1カ月の間、安定投与量のこれらの薬物で安定している）を登録し、各群に16名の患者として4つの用量群に無作為化するようデザインした（表13参照）。

【表13】

表13. 用量群及びレジメン

| 用量 | 0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ | 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ | 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ | 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ |
|----|------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 投与 | 静脈内注入 | | | |
| 容量 | 50ml | | | |
| 期間 | 1日当たり10時間で、連続10日間 | | | |

【0130】

試験手順

【0131】

1) スクリーニング及びベースライン：

- ・ 書面によるインフォームドコンセントフォームを得る；
- ・ 人口統計学；
- ・ 病歴を収集する；
- ・ バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
- ・ 健康診断；
- ・ 血液/尿検査、血液生化学検査；
- ・ 血液凝固検査：APTT、PT；
- ・ NT-proBNP；
- ・ ECG；
- ・ NYHA分類；
- ・ 心臓超音波画像；
- ・ 胸部ラジオグラフィ；
- ・ MRI；

- ・組織ドップラー（乳房、肝臓、胆嚢、腎臓、副腎、膵臓、脾臓、卵巣、子宮、前立腺）；
 - ・尿妊娠検査（出産年齢の女性）；
 - ・安静時の呼吸困難評価；
 - ・生活の質；
 - ・6分間歩行試験；
 - ・包含／除外基準を確認する；
 - ・24時間尿量；
 - ・有害事象及び重篤な有害事象を記録する；
 - ・併用薬を記録する。 10
- 【0132】
- 2) 薬物投与の1～10日目
- ・バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
 - ・ECG；
 - ・治験薬投与；
 - ・24時間尿量；
 - ・有害事象及び重篤な有害事象を記録する；
 - ・併用薬を記録する。
- 【0133】
- 3) 該試験の11～13日目 20
- ・バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
 - ・健康診断；
 - ・ECG；
 - ・血液／尿検査、血液生化学検査；
 - ・血液凝固検査：APTT、PT；
 - ・NT-proBNP；
 - ・尿妊娠検査（出産年齢の女性）；
 - ・生活の質；
 - ・6分間歩行試験；
 - ・MRI； 30
 - ・NYHA分類；
 - ・安静時の呼吸困難評価；
 - ・24時間尿量；
 - ・有害事象及び重篤な有害事象を記録する；
 - ・併用薬を記録する。
- 【0134】
- 4) 該試験の30及び90日目
- ・バイタルサイン（臥位血圧、脈拍、呼吸数、体温）；
 - ・健康診断；
 - ・通常の血液／尿検査、血液生化学検査； 40
 - ・血液凝固検査：APTT、PT；
 - ・NT-proBNP；
 - ・ECG；
 - ・胸部ラジオグラフィ；
 - ・6分間歩行試験；
 - ・MRI；
 - ・NYHA分類；
 - ・安静時の呼吸困難評価；
 - ・生活の質；
 - ・有害事象及び重篤な有害事象を記録する； 50

・併用薬を記録する。

【0135】

結果及び解析

【0136】

40名の患者が該試験を終了した。有効性の主要評価項目は、30日目の心機能パラメータ（LVEF、LVEDV、及びLVESV）である。LVEFに関して、LVEFの平均値は、プラセボ群では、ベースライン時の21.54%から30日目の20.93%に減少する。一方、0.3 μ g/kg/日の群では、LVEFの平均値は、ベースライン時の25.08%から26.61%にやや改善し、増加率は4.88%である。そして、0.6 μ g/kg/日の群では、LVEFの平均値は、ベースライン時の23.03%から30日目の28.01%に顕著に増加し、増加率は27.11%である（表14参照）。

10

【0137】

LVEDVに関して、LVEDVの平均値は、プラセボ群では、ベースライン時の392.16mlから30日目の413.35mlに増加し、増加率は5.93%である。一方、0.3 μ g/kg/日の群では、LVEDVの平均値は、ベースライン時の333.62mlから30日目の323.22mlにやや減少し、減少率は3.28%である。0.6 μ g/kg/日及び1.2 μ g/kg/日の群では、LVEDVの平均値は、それぞれ、ベースライン時の408.51ml及び397.04mlから30日目の386.89ml及び374.46mlに顕著に減少し、減少率は両方とも5%を上回る（表15参照）。

【表14】

表14. 治療前後のLVEF値

20

| | A群 (プラセボ) n=10 | B群 0.3 μ g/kg/日 n=11 | C群 0.6 μ g/kg/日 n=11 | D群 1.2 μ g/kg/日 n=8 |
|------------------|----------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| ベースライン(%) | 21.54 \pm 4.73 | 25.08 \pm 7.64 | 23.03 \pm 10.23 | 22.64 \pm 4.24 |
| 30日目(%) | 20.93 \pm 8.53 | 26.61 \pm 9.68 | 28.01 \pm 11.27 | 22.01 \pm 7.21 |
| Δ LVEF(%) | -0.61 \pm 8.22 | 1.53 \pm 3.81 | 4.98 \pm 5.37 | -0.63 \pm 4.34 |
| 変化率 (%) | -1.39 \pm 33.34 | 4.88 \pm 17.07 | 27.11 \pm 31.12 | -4.01 \pm 19.42 |

30

【表15】

表15. 治療前後のLVEDV値

| | A群 (プラセボ) n=10 | B群 0.3 μ g/kg/日 n=11 | C群 0.6 μ g/kg/日 n=11 | D群 1.2 μ g/kg/日 n=8 |
|--------------------|----------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| ベースライン(ml) | 392.16 \pm 107.38 | 333.62 \pm 106.14 | 408.51 \pm 142.85 | 397.04 \pm 86.94 |
| 30日目(ml) | 413.35 \pm 143.98 | 323.22 \pm 111.86 | 386.89 \pm 150.14 | 374.46 \pm 84.47 |
| Δ LVEDV(ml) | 21.20 \pm 108.13 | -10.40 \pm 33.19 | -21.63 \pm 42.72 | -22.58 \pm 37.72 |
| 変化率(%) | 5.93 \pm 31.48 | -3.28 \pm 11.34 | -5.64 \pm 10.03 | -5.41 \pm 8.53 |

40

【0138】

LVESVの結果は、LVEDVの結果と類似している。プラセボ群では、LVESVの平均値は、ベースライン時の310.54mlから30日目の335.78mlに増加し、増加率は9.45%である。一方、各々の組換えニューレグリン治療群では、LVESVの平均値は減少した。一例として、0.6 μ

50

g/kg/日の群では、LVESVの平均値は、ベースライン時の325.02mlから30日目の291.71mlに減少し、減少率は11.58%であった(表16参照)。

【表16】

表16. 治療前後のLVESV値

| | A群 (プラセボ) n=10 | B群 0.3 μ g/kg/日 n=11 | C群 0.6 μ g/kg/日 n=11 | D群 1.2 μ g/kg/日 n=8 |
|--------------------|----------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| ベースライン(ml) | 310.54 \pm 97.54 | 254.85 \pm 100.86 | 325.02 \pm 142.70 | 308.46 \pm 74.37 |
| 30日目(ml) | 335.78 \pm 145.37 | 244.01 \pm 110.30 | 291.71 \pm 147.66 | 292.22 \pm 69.20 |
| Δ LVESV(ml) | 25.24 \pm 119.19 | -10.84 \pm 25.10 | -33.31 \pm 44.54 | -16.24 \pm 20.89 |
| 変化率(%) | 9.45 \pm 48.04 | -5.33 \pm 12.89 | -11.58 \pm 12.74 | -5.01 \pm 6.77 |

10

【0139】

NT-proBNPは、慢性心不全患者の生存率の重要な独立予後因子である。結果から、30日目及び90日目のプラセボ及び1.2 μ g/kg/日の群におけるNT-proBNPの値は、ベースラインのNT-proBNPの値と比較して顕著に増加した。一方、0.3 μ g/kg/日及び0.6 μ g/kg/日の群では、それは、減少の傾向を示し(表17参照)、より良好な予後を示唆している。

20

【表17】

表17. 30日目及び90日目でのNT-proBNPの変化

| | A群 (プラセボ) n=10 | B群 0.3 μ g/kg/日 n=11 | C群 0.6 μ g/kg/日 n=11 | D群 1.2 μ g/kg/日 n=8 |
|---------------------|----------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| ベースライン (fmol/ml) | 1013 \pm 634.5 | 1732 \pm 1638.4 | 1403 \pm 1755.2 | 859 \pm 460.7 |
| 30日目(fmol/ml) | 811 \pm 436.6 | 1631 \pm 1222.1 | 1021 \pm 1045.9 | 822 \pm 349.4 |
| 変化率(%) | 6.54 \pm 74.29 | 25.68 \pm 72.09 | -4.27 \pm 41.37 | 49.42 \pm 118.19 |
| 90日目(fmol/ml) | 869 \pm 440.9 | 1663 \pm 1664.1 | 1112 \pm 1418.5 | 847 \pm 316.2 |
| 変化率(%) | 26.79 \pm 102.61 | -3.5 \pm 60.07 | 8.66 \pm 74.83 | 45.99 \pm 97.45 |

30

40

【0140】

各群で有害事象があり、特に、1.2 μ g/kg/日の群では、該群の100%の患者が少なくとも1回の有害事象を経験した。最もよく報告される個々のAEは、吐き気、食欲不振、及び頭痛であった。重篤な有害事象は報告されなかった(表18参照)。報告されたほとんどの有害事象は治療しなくても緩和され、残りは、治験薬投与の中止後又は対症療法により、後遺症なく緩和された。

【0141】

バイタルサイン及び健康診断に関して同定された臨床的に重大な異常はなかった。

【0142】

50

有効性及び安全性の結果から、本発明者らは、 $0.3 \sim 1.2 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ ($6 \sim 24\text{EU} / \text{kg} / \text{日}$ 又は $0.04 \sim 0.17\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$) の用量で、組換えヒトニューレグリン-1は、慢性心不全の治療に有効かつ安全であることを見出すことができる。

【表 1 8】

表 1 8. 各群におけるAE及びSAEの発生率

| | 用量群 | あり | なし | 発生率 (%) |
|-----|------------|----|----|---------|
| AE | A 群 (n=11) | 6 | 5 | 54.5 |
| | B 群 (n=11) | 7 | 4 | 63.64 |
| | C 群 (n=12) | 8 | 4 | 66.67 |
| | D 群 (n=10) | 10 | 0 | 100 |
| SAE | A 群 (n=11) | 0 | 11 | 0 |
| | B 群 (n=11) | 0 | 11 | 0 |
| | C 群 (n=12) | 0 | 12 | 0 |
| | D 群 (n=10) | 0 | 10 | 0 |

10

【 0 1 4 3】

20

これらの臨床試験の結果から、本発明者らは、 $0.3 \sim 2.4 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ ($6 \sim 48\text{EU} / \text{kg} / \text{日}$ 又は $0.04 \sim 0.34\text{nmol} / \text{kg} / \text{日}$) の用量で、組換えヒトニューレグリン-1は、慢性心不全の治療に忍容性がありかつ有効であると結論することができる。

【配列表】

[2013503110000001.xml](#)

【手続補正書】

【提出日】平成24年3月29日(2012.3.29)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

[2013503110000001.app](#)

【 國際調查報告 】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No. PCT/CN2010/000845 |
|---|--|--|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER | | |
| See extra sheet | | |
| 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) | | |
| IPC: A61K, A61P | | |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched | | |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) | | |
| CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, NCBI, ISI Web of Knowledge: neuregulin 1, NRG-1, heart failure, sequence search on SEQ ID NO:1 | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | CN1276381A (QIU L) 13 Dec. 2000 (13.12.2000) See claim 5, lines 15-28 in page 7 and lines 20-28 in page 8 of description. | 1-12 |
| X | CN101394861A (ZENSUN SHANGHAI SCI & TECH LTD) 25 March 2009 (25.03.2009), See claims 4, 94, pages 10, 20 in description, and SEQ ID NO: 1. | 1-12 |
| X | WO2003099300A1 (ZENSUN SHANGHAI SCI & TECH LTD) 04 Dec. 2003 (04.12.2003), See claims 22, 23, 29, 31, 57, 60, pages 4, 14, 27-28 and examples 1, 2 in description, and SEQ ID NO: 4. | 1-12 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex. | | |
| * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent 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 08 Sept. 2010 (08.09.2010) | Date of mailing of the international search report 16 Sep. 2010 (16.09.2010) | |
| Name and mailing address of the ISA/CN The State Intellectual Property Office, the P.R.China 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China 100088 Facsimile No. 86-10-62019451 | Authorized officer TIAN, Tian Telephone No. (86-10)62411042 | |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/000845

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 1-12
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 1-12 relate to methods for treating live human/animal bodies. However, the search has been carried out on the basis of the reasonable expectation that the subject matter of claims 1-12 is amended as follows: use of neuregulin 1 protein for manufacturing the drug for preventing, treating or delaying heart failure in mammals in need thereof.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
 - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
 - No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/000845

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| X | WO2009033373A1 (ZENSUN SHANGHAI SCI&TECHNOLOGY LTD) 19 March 2009 (19.03.2009), See claims 14, 15, pages 6, 14 in description and SEQ ID NO: 1. | 1-12 |
| X | US7226907B1 (ZENSUN SHANGHAI SCI & TECHNOLOGY LTD) 05 June 2007 (05.06.2007), See claims 24-26, columns 4, 8, 10, 16 in description, and SEQ ID NO: 2. | 1-12 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2010/000845

| Patent Documents referred in the Report | Publication Date | Patent Family | Publication Date |
|--|------------------|------------------|------------------|
| CN 1276381 A | 13.12.2000 | CN 1138785 C | 18.02.2004 |
| CN 101394861 A | 25.03.2009 | WO 2007076701 A1 | 12.07.2007 |
| | | US 2007190127 A1 | 16.08.2007 |
| | | EP 1981525 A1 | 22.10.2008 |
| | | AU 2006332340 A1 | 12.07.2007 |
| | | CA 2634974 A1 | 12.07.2007 |
| | | JP 2009522209T | 11.06.2009 |
| WO 03099300 A1 | 04.12.2003 | WO 03099321 A1 | 04.12.2003 |
| | | AU 2002336030 A1 | 12.12.2003 |
| | | AU 2003238336 A1 | 12.12.2003 |
| | | EP 1553960 A1 | 20.07.2005 |
| | | JP 2005532332 T | 27.10.2005 |
| | | US 2006019888 A1 | 26.01.2006 |
| | | AU 2003238336 B2 | 16.07.2009 |
| | | WO 03099320 A1 | 04.12.2003 |
| | | AU 2002304965 A1 | 12.12.2003 |
| | | CN 1655804 A | 17.08.2005 |
| | | CN 1935254 A | 28.03.2007 |
| | | CN 101007027 A | 01.08.2007 |
| | | CN 101491670 A | 29.07.2009 |
| | | CN 100522997 C | 05.08.2009 |
| WO 2009033373 A1 | 19.03.2009 | US 2009156488 A1 | 18.06.2009 |
| US 7226907 B1 | 05.06.2007 | WO 0037095 A1 | 29.06.2000 |
| | | AU 2422400 A | 12.07.2000 |
| | | EP 1158998 A1 | 05.12.2001 |
| | | US 2006194734 A1 | 31.08.2006 |
| | | US 2006199767 A1 | 07.09.2006 |
| | | US 2007129296 A1 | 07.06.2007 |
| | | US 2007264254 A1 | 15.11.2007 |
| | | EP 1158998 B1 | 19.11.2008 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2010/000845

| Patent Documents referred in the Report | Publication Date | Patent Family | Publication Date |
|--|------------------|---------------|------------------|
| | | DE 69939950 E | 02.01.2009 |
| | | EP 2027869 A2 | 25.02.2009 |
| | | EP 2027869 A3 | 04.03.2009 |
| | | ES 2318909 T3 | 01.05.2009 |
| | | US 7612164 B2 | 03.11.2009 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/000845

Continuation of:

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K38/18 (2006.01) i

A61P9/04 (2006.01) i

フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I テーマコード(参考)
 C 0 7 K 14/485 (2006.01) C 0 7 K 14/485 Z N A

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA03 BA01 BA08 BA20 BA22 CA17 CA18 MA13 MA16
 MA52 MA55 MA59 MA66 NA14 ZA362 ZB152 ZB332
 4H045 AA10 AA30 BA10 BA20 CA40 DA20 EA20 FA10 FA71