

(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2013-508291

(P2013-508291A)

(43) 公表日 平成25年3月7日(2013.3.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 38/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 37/02	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 P 25/02 (2006.01)</b>	A 6 1 P 25/02	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	4 H 0 4 5
<b>A 6 1 P 15/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 15/00	
<b>A 6 1 P 15/10 (2006.01)</b>	A 6 1 P 15/10	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 27 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2012-534366 (P2012-534366)	(71) 出願人	501073611
(86) (22) 出願日	平成22年10月14日 (2010.10.14)		アコーダ セラピューティクス インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成24年6月7日 (2012.6.7)		アメリカ合衆国 ニューヨーク州 105
(86) 国際出願番号	PCT/US2010/052715		32 ホーソーン スカイライン ドライブ 15
(87) 国際公開番号	W02011/047183	(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開日	平成23年4月21日 (2011.4.21)		弁理士 清水 初志
(31) 優先権主張番号	61/252, 161	(74) 代理人	100102118
(32) 優先日	平成21年10月16日 (2009.10.16)		弁理士 春名 雅夫
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100160923
(31) 優先権主張番号	61/251, 583		弁理士 山口 裕孝
(32) 優先日	平成21年10月14日 (2009.10.14)	(74) 代理人	100119507
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 刑部 俊
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 末梢神経損傷を処置するためのニューレグリンの使用

(57) 【要約】

本発明の態様は、末梢神経損傷の防止または処置、末梢神経機能の喪失の減弱、改善、または回避のためにニューレグリンを用いることに向けられる。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

末梢神経損傷を受けるリスクのある対象、または末梢神経損傷を既に有する対象にニューレグリンの有効量を投与する段階を含む、末梢神経損傷を防止または処置する方法。

## 【請求項 2】

ニューレグリンが手術手技の前に投与される、請求項1記載の方法。

## 【請求項 3】

手術手技が前立腺癌手術である、請求項1記載の方法。

## 【請求項 4】

前立腺癌手術が前立腺切除術である、請求項3記載の方法。

10

## 【請求項 5】

ニューレグリンが乳児出産の前に妊娠中の母親に投与される、請求項1記載の方法。

## 【請求項 6】

ニューレグリンが、乳癌処置の前に患者に投与される、請求項1記載の方法。

## 【請求項 7】

乳癌処置が完全または部分的乳房切除術である、請求項4記載の方法。

## 【請求項 8】

勃起機能障害を起こす末梢神経損傷を有する対象、またはそのような末梢神経損傷を受けるリスクのある対象にそれぞれ、ニューレグリンの有効量を投与する段階を含む、末梢神経損傷に起因する勃起機能障害を処置または予防する方法。

20

## 【請求項 9】

以下の段階を含む、患者における勃起機能障害の病因を診断する方法：

勃起障害を有する患者にニューレグリンの有効量を投与する段階；およびその後、

勃起機能障害が軽減するか否かを同定する段階であって、

それにより、投与する段階の後に勃起機能障害が軽減した場合、患者は末梢神経傷害の結果としての勃起機能障害を有すると診断される、前記段階。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本出願は、その各々の全内容が参照により本明細書に組み入れられる、2009年10月14日に提出された米国特許仮出願第61/251,583号および2009年10月16日に提出された第61/252,161号に対する優先権を主張する。

30

## 【0002】

## 発明の分野

本発明は、神経の外傷または損傷に関する。より詳しくは、末梢神経損傷を防止、処置、または改善するために、ニューレグリンまたはその機能的セグメントを用いることに関する。

## 【背景技術】

## 【0003】

## 発明の背景

40

末梢神経は一般的に、自動車事故、オートバイ事故、手術、刃物および弾丸による創傷、ならびに母子双方に対する出生時の損傷を含む外傷によって損傷を受ける。神経損傷の一般的な外科的原因には、前立腺切除および乳房切除が挙げられる。術中の他の一般的な損傷は、長時間の肢位または不可避もしくは偶発的な神経圧迫の結果である。神経が損傷を受けると、傷害を受けた神経によって支配される体の領域において感覚および/または機能の喪失が起こる。たとえば、前立腺切除による神経の損傷後では、一般的に勃起機能障害が起こる。乳房切除後では、上肢および/または肩甲骨の固有の機能がしばしば失われる。さらに、出生時の損傷または上腕神経叢に対する傷害を伴う他の外傷後では、同側の肢の機能障害が起こる。

## 【0004】

50

神経損傷後の機能障害の程度を防止または制限することができるいかなる治療も、末梢神経損傷の処置に関する現行の治療戦略に有意な影響を及ぼすであろう。末梢神経損傷に関するさらなる治療および処置が必要である。

【発明の概要】

【0005】

ニューレグリンは、中枢神経系の疾患および損傷に関する多様な動物モデルにおいて神経保護および神経回復効果に関係している。しかし、本発明の前までは、ニューレグリンが、末梢神経損傷を防止および/または処置できることは立証されていなかった。したがって、本発明のある態様は、ニューレグリン（たとえば、GGF2）またはその機能的セグメントを、末梢神経損傷を有するまたは末梢神経損傷のリスクのある対象に投与することによって、末梢神経損傷を処置または改善する方法に向けられる。

10

【0006】

本発明は、末梢神経損傷のニューレグリン処置が、神経損傷の前または後のいずれかに与えられた場合に、末梢神経機能の喪失を減弱させること、末梢神経機能の喪失を改善または減弱させること、およびいくつかの例では末梢神経機能を回復させることができることを証明する。ある態様において、末梢神経損傷は回避される。ある態様において、既に存在する末梢神経損傷は消失する。ある態様において、末梢神経損傷は完全には回避されない。ある態様において、既に存在する末梢神経損傷は完全には消失しない。

【0007】

末梢神経損傷の処置におけるニューレグリンの有効性を証明するために、ラット勃起機能障害モデルをインビボ系として用いる。ある局面において、本発明は、末梢神経損傷に起因する勃起機能障害の処置に向けられるが、本発明は勃起機能障害のみに限定されない。ニューレグリンは、任意の末梢神経損傷に関して単独療法として有効でありえ、天然もしくは人工の神経導管による同時処置またはシュワン細胞などの細胞治療による同時処置を必要としない。

20

【0008】

ある態様は、末梢神経損傷を有するまたは末梢神経損傷を受けるリスクのある対象にニューレグリンの有効量を投与する段階を含む、末梢神経損傷を処置する方法に向けられる。ある態様は、末梢神経損傷を受けるリスクのある対象にニューレグリンの有効量を投与する段階を含む、末梢神経損傷を予防または防止する方法に向けられる。対象という用語は、哺乳動物および特にヒト対象を含む。

30

【0009】

ある態様において、末梢神経損傷は、自動車事故、オートバイ事故、手術、刃物および弾丸による創傷、ならびに出生時の損傷が挙げられるがこれらに限定されない外傷の結果である。ある態様において、末梢神経損傷は、前立腺切除、乳房切除等などの手術の結果である。本質的に任意の外科的介入の状況において、末梢神経損傷は、組織切開、組織切除の直接の結果でありえ、および/または肢位および/または圧迫により二次的に起こりうる。特定の態様において、ニューレグリンは、勃起機能障害を起こすであろう末梢神経損傷を処置または防止するために用いられる。

【0010】

さらなる態様は、海綿体神経および/または陰茎神経などの勃起機能に関連する末梢神経に対する外科的損傷に起因する勃起機能障害の処置に向けられる。海綿体神経損傷はしばしば前立腺癌切除の結果として起こり、この損傷は勃起機能障害（ED）を引き起こしうる。

40

【0011】

現行の薬学的介入は、陰茎の勃起を助長するために海綿体への血流を増加させることによって、損傷の結果として生じる機能的欠損を処置する。現在、陰茎の体積を増加させて正常な陰茎勃起と類似の状態にすることによって、損傷の結果として生じる機能的欠損を処置する、医学装置による介入が存在する。EDを処置するために用いられる既存の介入には全て欠点がある。

50

## 【 0 0 1 2 】

本発明は、任意の機能的欠損の重症度を減少させることによって、損傷時に神経を急性的に保護するおよび/または患者の回復を増強する。

## 【 0 0 1 3 】

ニューレグリン1ペプチド (GGF2) を、容認された海綿体神経損傷モデルであるラットの両側挫滅モデルにおいて試験した；このモデルはシルデナフィルおよび他のED薬を試験するために用いられている。本明細書において述べられるように、損傷後5週目に神経を電気刺激して、海綿体内圧 (ICP) を測定したところ、GGF2は機能的転帰を改善した。

## 【 0 0 1 4 】

ある態様は、乳房切除後の神経損傷のニューレグリンによる処置に向けられる。乳房切除の際には、長胸、肋間上腕、および胸背神経の損傷が一般的であるが、他の神経も同様に傷害を受けることがあり、そのような損傷を防止または処置するためにニューレグリンを用いることができる。ニューレグリンは、神経機能を保護および回復するために乳房切除の前および/または後に送達することができる。強さ、感覚、可動域および反射を含む上肢の機能に関して一般的に用いられる多くの測定が存在し、その全てまたは任意のものも神経機能の保護または回復を決定するために適切である。本発明は、任意の医学的または手術手技で損傷を受けた任意の神経に等しく当てはまる。

10

## 【 0 0 1 5 】

さらなる態様は、上腕神経叢に対する外傷後の神経損傷のニューレグリン処置を含む。上腕神経叢の損傷は、影響を受けた肢の運動および知覚の欠陥を起こす、鈍器による外傷、出生時外傷、乗り物での事故、ならびにスポーツ時の損傷の、共通の結果である。ニューレグリンは、傷害を低減させて肢の機能を回復するために、上腕神経叢を有する人に投与することができる。出産などの予測される事態では、本発明の組成物を予防的に与えることができる。肢の機能は、運動機能、強さ、感覚、可動域および/または反射に関する任意の数の容認された神経学的測定によって測定することができる。

20

## 【 0 0 1 6 】

ある局面は、用いられる特定のニューレグリンの活性および当業者によって認識される医学的状況に基づいて、ニューレグリンポリペプチドまたはペプチド約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、1~10、1~20、10~20、1~30、1~40、1~50、10~20、10~30、10、15、20、25、30、35、40、50、15~25、15~40、15~35、15~50、20~50、20~40、20~40、25~35、30~50、30~60、50~75、50~100、100、1~100、100~150、150~200、200、1~200  $\mu$ gまたはmgの投与を含む。ある局面は、手術の前および/または後にニューレグリンの投与を含む。

30

## 【 0 0 1 7 】

ある局面において、ニューレグリンは、NRG1、2、3、または4遺伝子によってコードされる任意の完全長のニューレグリンでありうる。さらなる局面において、ニューレグリンは、ニューレグリンポリペプチドの任意の機能的セグメントでありうる。ある態様において、ニューレグリンの機能的セグメントは、EGF様ドメインを含有する。ある態様において、ニューレグリンは、erbB受容体に結合してこれを活性化するNRG1、2、3、または4遺伝子由来の任意のペプチドでありうる。ある態様において、ニューレグリンは、改変ペプチドがerbB受容体に結合してこれを活性化するように、NRG1、2、3、または4遺伝子によってコードされる野生型ペプチドから改変された任意のペプチドでありうる。

40

## 【 0 0 1 8 】

ニューレグリンおよびニューレグリンのEGF様ドメインを含有するポリペプチドは、単位剤形で、薬学的に許容される希釈剤、担体、または賦形剤と共に対象に投与することができる。従来薬学の実践を使用して、患者または実験動物に対してそのような組成物を投与するために適した製剤または組成物を提供してもよい。静脈内投与が好ましいが、任意の適切な投与経路、たとえば非経口、皮下、筋肉内、頭蓋内、眼窩内、眼、脳室内、嚢内、脊髄内、槽内、腹腔内、鼻腔内、エアロゾル、経口、または経皮もしくは表面投与 (たとえば、真皮を通過して血流に入ることができる製剤を運ぶ装置または粘着性のパッチ

50

を適用することによる)を使用してよい。治療製剤は、液体の溶液または懸濁液の剤形でありえ；経口投与の場合、製剤は錠剤またはカプセル剤の剤形でありえ；および鼻腔内製剤の場合、粉剤、点鼻剤、またはエアロゾルの剤形でありうる。

【0019】

「ニューレグリン-1」、「NRG-1」、「ヘレグリン」とは、ErbB受容体1、3、または4に結合し、かつ受容体対形成(二量体化)によりErbB2にも結合するポリペプチドを意味する。1つの態様において、ニューレグリンは、その各々の全内容が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第5,530,109号；第5,716,930号；および第7,037,888号に記述されるp185erbB2リガンド遺伝子によってコードされる。1つの態様において、ニューレグリンは、GGF2もしくはその任意の小配列、またはGGF2の配列の全てもしくは活性な部分を含む任意の分子である。

10

【0020】

「治療的有効量」または「有効量」という用語は、研究者、獣医師、医師、または他の臨床家によって求められる組織、系、動物またはヒトの生物学的または医学的応答を誘発するニューレグリンの量を意味することが意図される。

【0021】

治療の変化は、対処される疾患または病態、たとえば末梢神経損傷を軽減する方向への、測定された生化学または生理学的特徴の変化である。より詳しくは、「有効量」は、医学的病態もしくは虚弱に関連する症状を減少させる、特定の身体機能の障害を起こす疾患もしくは障害における身体機能を正常化する、または疾患もしくは病態の臨床的に測定されたパラメータの1つもしくは複数における改善を提供するために十分な量である。

20

【0022】

特許請求の範囲における「または」という用語の使用は、代替物のみを指すまたは代替物が相互に排他的であると明白に示されている場合を除き、「および/または」を意味するために用いられる。同様に、「または」という用語を用いて記載されたいかなるものもまた、記載の他の選択肢から具体的に除外されうることも企図される。

【0023】

本出願を通して、「約」という用語は、値を決定するために使用される装置または方法に関する誤差の85%、90%、95%以内、または標準偏差内である値を示すために用いられる。

30

【0024】

長年の特許法に従い、特許請求の範囲または明細書における用語「1つの(a)」および「1つの(an)」という用語は、具体的に記されていない場合、1つまたは複数を目指す。

【0025】

本発明に従うある態様において、ニューレグリンは予防的に用いられ、それにより、起こりうる損傷を防止するまたは弱める。本発明に従うある態様において、ニューレグリンは、対象の今後の状態を示すために予後的に用いられる。本発明に従うある態様において、ニューレグリンは、病態または状態の存在または存在の可能性を示すために診断的に用いられる。本発明に従うある態様において、ニューレグリンは、処置される病態または疾患の症状または徴候を弱めるまたは取り除く何らかの様式で病態に影響を及ぼすために治療的に用いられる。

40

【0026】

本発明の他の目的、特色、および長所は、以下の詳細な説明から明らかとなるであろう。しかしながら、本発明の精神および範囲内の様々な変化および改変がこの詳細な説明から当業者に明らかであろうことから、詳細な説明および具体例は本発明の特定の態様を示しながら例証のために与えられているに過ぎないことを理解すべきである。

【図面の簡単な説明】

【0027】

以下の図面は本明細書の一部を形成し、本開示のある局面を説明するために含まれる。本発明は、本明細書において紹介した特定の態様の詳細な説明と共に、これらの図面の

50

1つを参照することによってよりよく理解されうる。

【図1】平均ICP変化のデータである。

【図2】大動脈圧に対して正規化したデータである。

【図3】処置群（（パネルA）正常、（パネルB）挫滅、（パネルC）挫滅 + GGF2）あたり動物3匹の骨盤神経節（major pelvic ganglia）（MPG）の代表的なフルオロゴールド標識である。陰茎組織に注入されたフルオロゴールドは、無傷の神経を通してMPGの細胞体まで逆行的に輸送される。パネルA：正常な動物は、神経損傷の非存在下で観察される逆行性の標識の量を示す。パネルB：挫滅動物は、フルオロゴールド標識が完全にMPGまで戻るよう輸送されることが不可能なため、損傷による、無傷の神経線維の劇的な低減を示す。パネルC：挫滅 + GGF2動物は、フルオロゴールド標識MPG細胞数の増加を示し、このことは GGF2処置の結果として損傷後により多くの神経線維が保存されることを示している。

【図4】MPGにおけるフルオロゴールド標識の定量。結果は、正常な動物がMPGにおいて多数の細胞体標識を有することを示した。挫滅損傷後、標識細胞数は、神経線維の傷害およびその結果標識をMPGまで逆行的に輸送できないことにより、劇的に低減する。しかし、GGF2処置は、フルオロゴールドを陰茎組織からMPGまで逆行的に輸送するために利用可能な無傷の神経線維の数を改善し、その結果、多数の標識細胞をもたらした。

【図5】nNosレベルでの代表的な染色。海綿体nNOSは、十分に確立された海綿体神経保存のマーカである。この研究結果は、正常な組織染色（パネルA）を含んだ。比較すると、海綿体神経挫滅損傷（パネルB）後にnNOS染色は有意に喪失した。陰茎体における海綿体神経終末のnNOS染色が保存されたことは、GGF2処置により挫滅損傷後の海綿体神経の生存率が増加したことを証明した（パネルC）。染色密度は、GGF2処置によるnNOS染色の保存を示している。

【図6】チロシンヒドロキシラーゼ（TH）レベルの代表的な染色。この図の結果は、パネルAにおいて正常組織の染色を示し、パネルBにおいて海綿体神経挫滅損傷後のTH染色の有意な喪失を示す。パネルCは、陰茎体における海綿体神経終末の保存されたTH染色を示し、この知見は、挫滅損傷後にGGF2処置によってもたらされる陰茎神経支配の全般的保存または再確立に対応する。このように、染色密度は、GGF2処置によるTH染色の保存を示した。

【図7】小胞アセチルコリントランスポーター（VaChT）の代表的な染色。結果は、正常組織染色（パネルA）および海綿体神経挫滅損傷後のVaChT染色の有意な喪失（パネルB）を示す。対照的に、（パネルC）に示された、陰茎体において海綿体神経終末のVaChT染色が保存されたことは、GGF2処置により挫滅損傷後の海綿体神経の生存率が増加したことを証明している。染色密度は、GGF2処置によるVaChT染色の保存に向かう傾向を示す。

【発明を実施するための形態】

【0028】

発明の詳細な説明

末梢神経に対する損傷は、たとえば外傷、事故、または手術によって引き起こされる様々な事象、圧迫、挫傷、相互作用、挫滅、または伸長の共通の結果である。神経損傷に至る外部要因は多様であるが、神経レベルでの症状発現は共通の特色である（論評に関しては、Lee and Wolfe, J Am Acad Orthop Surg, 8(4), p. 243, 2008を参照されたい）。任意の原因の外傷による損傷はしばしば、有髄化、神経上膜、神経周膜、神経内膜、および軸索に対して傷害を引き起こす。最も軽症の症例では、損傷は主にミエリンおよび神経上膜に起こり、その後数日または数週間以内に完全な回復が自然に起こる。

【0029】

しかしながら、多くの神経損傷では神経内膜および軸索の破壊が起こり、完全に回復しない、または回復に長期間を要する機能破壊が起こる。

【0030】

その上、軸索に対する障害を伴う末梢神経損傷では、損傷後数時間以内にその軸索の局所変性が起こる。翌数日のあいだに、近位ニューロン細胞体および軸索は、ウォーラー変性として知られるプロセスを受ける。軸索が変性すると、ミエリン産生シュワン細胞が死

滅して後に破片および炎症が残る。このシュワン細胞の死および関連炎症は神経傷害を悪化させる。

【0031】

中枢神経系とは異なり、末梢神経では有意な量の再生が起こりうる。軸索は神経周膜チャンネルに沿って成長して遠位標的を再度神経支配し、およびシュワン細胞は、軸索を再度有髄化する。末梢神経の再生は認められるが、残念なことに、このプロセスは完全ではない；変性を受ける多くのニューロンは決して再生することなく、またはその本来の標的を決して発見せず、永続的な機能障害が起こる。この機能障害は、運動機能の喪失、知覚機能の喪失、感覚異常、反射の喪失、硬直、拘縮、または可動域の減少を含み得る。

【0032】

神経損傷後の機能障害の程度を制限することができるいかなる治療も、末梢神経損傷の処置に関する現行の治療戦略に対して有意な影響を有するであろう。

【0033】

一連の文献から、ニューレグリンが人工導管を通したニューロンの再生能を増強して、シュワン細胞移植片などの細胞治療との補助治療として機能することが証明されている。本発明の前では、末梢神経損傷において、機能の保護および/または回復などにより、ニューレグリン単独で処置できることは知られていなかった。

【0034】

これらの試験において使用されるモデル（ラット勃起機能障害モデル）は、標準的な認められた十分周知されている末梢神経損傷モデルである。この具体的なアプローチでは、鉗子で圧迫することによって、海綿体神経に損傷を与える。同じ圧迫または挫滅損傷を、他の任意の末梢神経においてモデルとして用いることができる。海綿体神経損傷モデルにおいて、機能的欠損は勃起機能の欠損である。外傷性神経損傷の一般的で一貫した病理生理学の観点から、そのような海綿体神経損傷は、前立腺切除誘発損傷の優れたモデルであるのみならず、全ての外傷性末梢神経損傷の一般的モデルである。

【0035】

末梢神経に対する損傷は、後根神経節（DRG）に位置する知覚ニューロンの細胞体内で変化を誘導する；これらの変化は、生存および軸索再生を促進する。都合のよい条件下では、例として挫滅損傷後、ほとんどの神経線維は再生に成功する。しかし、多くの臨床的に関連する状況において、外傷または疾患誘発神経損傷は不良な転帰を有し、機能回復はごく限定的で、しばしばかなりの遅れを伴う。そのような例では、ニューロパシー性または慢性の疼痛状態が発症しうる。

【0036】

疼痛は、通常、知覚神経損傷または傷害に関連し、それによって罹患領域の防御および不動化が起こる。それゆえ、侵害受容（疼痛知覚の基礎となるニューロンシグナル伝達）は、不快な知覚および感情的経験を誘発するものの、迅速な治癒の機構および迅速な治癒の促進と同時に起こる。しかし、多くの病的な事態において、侵害受容性のインプットにより、生物にとって非常に有害である機能的変化が起こりうる。

【0037】

神経の損傷により、一次求心性ニューロンおよび脊髄でのその中心接続の特性の多くに変化が起こり、それによって異痛症（通常無害な刺激からの疼痛の知覚）、痛覚過敏（任意の所定の疼痛刺激に対する誇張された応答）、および受容野（すなわち、刺激が適用された場合に「痛い」領域）の拡大が起こる。慢性疼痛の病態の大部分は、中枢または末梢神経組織のいずれかに対する傷害の結果として生じる。

【0038】

勃起機能障害

性的不能または勃起機能障害（ED）とも呼ばれる障害は、米国だけでも2000万人の男性が罹患している一般的な問題である。陰茎の勃起は、神経の完全性および機能的血管の双方に依存する神経血管現象である。性的刺激が与えられると、神経伝達物質（特に酸化窒素）が海綿体神経終末および内皮細胞から放出される。その結果起こる動脈および細動脈

10

20

30

40

50

平滑筋の弛緩が動脈流を増加させる。海綿体内部に貯留された血液は、陰茎を勃起状態にする。

【0039】

前立腺癌、膀胱癌、または直腸癌の手術などの、根治的骨盤手術による海綿体神経の損傷は、米国における医原性EDの最も一般的な原因の1つである。EDは、根治的前立腺切除後の病的状態の主な原因である。たとえば、神経温存手術技法が導入されたにもかかわらず、限局性前立腺癌のために両側海綿体神経温存技法を受けた男性では、術後の性交能の割合は30%から80%の範囲である(Wang, J Sex Med, 4: 1085-97, 2007)。

【0040】

今日まで様々な神経調整戦略が研究されているが、損傷前もしくは損傷時の海綿体神経の神経保護のために利用可能な処置はなく、または損傷後に神経再生を誘発する処置もない(Michi et al., J Urol 176:227-31, 2006; Burnett and Lue, J Urol 176:882-7, 2006)。骨盤の悪性疾患に関する外科および放射線療法が、現在では神経を温存するよう修正されたにもかかわらず、処置後に勃起機能を保存して回復させる新しい手段が必要である。

10

【0041】

傷害部位の遠位では、軸索およびミエリン鞘の変性、マクロファージの浸潤、貪食、およびシュワン細胞の脱分化から始まり、ビュングナー帯の形成に至る十分に定義されたパターンの細胞変化が認められる。これらの変化は、損傷を受けた神経の環境および軸索の再生能を変化させる。ニューロンの生存は、軸索が「伝達」モードから成長モードへと切り替わる際は栄養因子、タンパク質(GAP-43、チューブリン、アクチン)、新規ニューロペプチド、およびサイトカインの発現によって助長される。遠位神経断端の支持およびニューロンの再生能は無限ではないことから、成長能を増強する新しい戦略が必要である(Fu and Gordon, Mol Neurobiol. 14: 67-116, 1997)。

20

【0042】

ニューレグリン

「ニューレグリン」、「ニューレグリン-1」、「NRG-1」、「ヘレグリン」とは、ErbB1、ErbB3、またはErbB4受容体に結合して、ErbB2受容体と対を形成する(二量体化する)ポリペプチドを意味する。たとえば、ニューレグリンは、その各々の全内容が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第5,530,109号；第5,716,930号；および第7,037,888号に記述されるp185erbB2リガンド遺伝子によってコードされうる；ニューレグリンはまた、NRG-2、3、および4遺伝子によってコードされうる。ニューレグリンは、GGF2またはその任意の活性断片でありうる；これはまた、GGF2の保存的変種またはGGF2を含む分子でありうる。当技術分野におけるいくつかの用途において、「ニューレグリン」という用語は、完全なニューレグリン分子のEGF-様ドメインのみを指すことが意図される；これはまた、「ニューレグリン様」タンパク質、ペプチド、またはポリペプチドとしても知られる。

30

【0043】

「ニューレグリン様」タンパク質、ペプチド、またはポリペプチドとは、ニューレグリン遺伝子によってコードされるEGF-様ドメインを保有するポリペプチドを意味する。ある態様において、「ニューレグリン様」タンパク質、ペプチド、またはポリペプチドは、末梢神経損傷を有する対象、または末梢神経損傷のリスクのある対象(たとえば、関連する末梢神経損傷のリスクがある手術または出産を予定している患者)において治療効果を生じる。

40

【0044】

GGF2アミノ酸配列(下線で示されるそのEGF-様ドメインを含む領域を有する)は、



MRWRRAPRRSGRPGPRAQRPGSAARSSPPLPLLPLLLLLGTAALAPGAAAGNEAAPA  
 GASVCYSSPPSVGSVQELAQRAAVVIEGKVHPQRRQQGALDRKAAAAAGEAGAWG  
 GDREPPAAGPRALGPPAEEPLLAANGTVPSWPTAPVPSAGEPGEEAPYLVKVHQVW  
 AVKAGGLKKDSLLTVRLGTWGHPAFPSCGRLKEDSRYIFFMEPDANSTSRAPAAFRA  
 SFPPLETGRNLKKEVSRVLCKRCALPPQLKEMKSQESAAGSKLVLCETSSEYSSLRF  
 KWFKNGNELNRKNKPQNIKIQQKPGKSELRINKASLADSGEYMCKVISKLGNDSSASA  
 NITIVESNATSTSTTGTSHLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFT  
GDRCQNYVMASFYSTSTPFLSLPE (SEQ ID NO:1)

10

(GenBankアクセッション番号AAB59622、参照により本明細書に組み入れられる)である。本発明のある局面において、ニューレグリンポリペプチドまたはそのセグメントは、GGF2のアミノ酸配列と75、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、または100%同一または相同である。本発明のある局面において、ニューレグリン様ポリペプチドは、GGF2のEGF-様ドメインのアミノ酸配列と75、80、85、86、97、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、または100%同一もしくは相同である。

## 【0045】

本明細書において用いられる「タンパク質」または「ポリペプチド」は、アミノ酸残基を少なくとも10個を含む分子を指す。ある態様において、タンパク質は、GGF2ポリペプチドの全てまたは一部を含む。いくつかの態様において、タンパク質またはポリペプチドの野生型が使用されるが、本発明のいくつかの態様において、末梢神経損傷を処置するために改変タンパク質またはポリペプチドが使用される。「ペプチド」、「タンパク質」、または「ポリペプチド」という用語は、本明細書において互換的に用いられる。便宜上、ペプチドという用語は、本明細書において任意の長さのアミノ酸配列を指すために用いられる。

20

## 【0046】

「改変ペプチド」は、その化学構造、特にそのアミノ酸配列が、それぞれの野生型ペプチドに対して変化しているペプチドを指す。いくつかの態様において、改変ペプチドは少なくとも1つの改変アミノ酸を有する。いくつかの態様において、改変ペプチドは、少なくとも1つのd-アミノ酸を有する。いくつかの態様において、改変ペプチドは少なくとも1つの天然に存在しないアミノ酸を有する。

30

## 【0047】

限定されないが、ある態様において、ペプチド(野生型または改変型)の大きさは、本明細書において記述されるまたは参照される対応するアミノ酸配列の5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、275、300、325、350、375、400、422個またはそれより多くのアミノ酸分子およびそこから派生する任意の範囲のいずれか(またはそこから派生する任意の範囲)を含みうる;1つの態様において、そのようなタンパク質、ポリペプチド、またはサイズの範囲は、GGF2に関連する。ポリペプチドは、その対応する野生型より短くするために、アミノ末端またはカルボキシ末端切断によって変異されうるが、ポリペプチドはまた、特定の機能を有する異種タンパク質配列と融合またはコンジュゲートすることによって変更されうる(たとえば、標的化または局在、精製目的のため等)ことが企図される。

40

## 【0048】

50

本明細書において用いられる「アミノ酸分子」は、当技術分野において公知である任意のアミノ酸、アミノ酸誘導体、またはアミノ酸模倣体を指す。ある態様において、ペプチド分子の残基は連続的であり、いかなる非アミノ分子もアミノ分子残基の配列を中断しない。他の態様において、配列は、1つまたは複数の非アミノ分子部分を含みうる。特定の態様において、ペプチド分子の残基の配列は、1つまたは複数の非アミノ分子部分によって中断されうる。

【0049】

したがって、「ペプチド」組成物という用語は、アミノ酸配列を含む；これらのアミノ酸は自然界で合成されるタンパク質における一般的な20個のアミノ酸、または任意の改変されたもしくは普通でないアミノ酸のいずれかでありうる。

10

【0050】

ペプチド組成物は、以下を含む当業者に公知の任意の技術によって作製されうる：(i) 標準的な分子生物学技術を通じたペプチドの発現、(ii) 天然起源からのペプチド化合物の単離、または(iii) 化学合成。あるニューレグリン遺伝子に関するヌクレオチド配列ならびにペプチド配列が既に開示されており、広く認められているコンピューター化データベースにおいて見いだされうる。そのような1つのデータベースは、National Center for Biotechnology InformationのGenbankおよびGenPeptデータベース(ncbi.nlm.nih.gov/でのワールドワイドウェブで入手可能)である。本明細書において開示される技術または当業者に公知であろう技術を用いて、これらの遺伝子のコード領域を増幅および/または発現させてもよい。

20

【0051】

改変ペプチドには、置換、挿入、または欠失変種を挙げることができる。欠失変種は典型的に、本来のまたは野生型分子の1つまたは複数の残基を欠損する。個々の残基を欠失させることができ、または多数の隣接するアミノ酸を欠失させることができる。切断型タンパク質を生成するために、コード核酸配列に終止コドンを導入してもよい(置換または挿入による)。挿入変異体は典型的に、ペプチドの非末端点での材料の付加を伴う。これは、1つまたは複数の残基の挿入を含みうる。しばしば融合タンパク質または融合ペプチドと呼ばれる末端の付加も同様に生成されうる。置換変種は典型的に、ペプチド内の1つまたは複数の部位でのあるアミノ酸と別のアミノ酸との交換を含有し、ニューレグリン受容体の結合および活性化などの他の機能または特性を失ってまたは失うことなく、ペプチドの1つまたは複数の特性を調整するように設計されうる。置換は保存的でありうる、すなわち、あるアミノ酸が類似の形状および電荷のアミノ酸に交換される。または、置換は、ペプチドの機能または活性が影響を受けうるように、非保存的でありうる。非保存的変化は典型的に、残基を化学的に異なる残基に置換すること、たとえば極性または荷電アミノ酸を非極性または非荷電アミノ酸の代わりとすることおよびその逆を含む。

30

【0052】

「保存的置換」は、当技術分野において周知であり、これにはたとえば以下の変化が挙げられるが、これらに限定されない：アラニンからセリン；アルギニンからリジン；アスパラギンからグルタミンまたはヒスチジン；アスパラギン酸塩からグルタミン酸塩；システインからセリン；グルタミンからアスパラギン；グルタミン酸塩からアスパラギン酸塩；グリシンからプロリン；ヒスチジンからアスパラギンまたはグルタミン；イソロイシンからロイシンまたはバリン；ロイシンからバリンまたはイソロイシン；リジンからアルギニン；メチオニンからロイシンまたはイソロイシン；フェニルアラニンからチロシンまたはロイシンまたはメチオニン；セリンからトレオニン；トレオニンからセリン；トリプトファンからチロシン；チロシンからトリプトファンまたはフェニルアラニン；およびバリンからイソロイシンまたはロイシン。

40

【0053】

同様に、アミノ酸および核酸配列は、配列が生物活性の維持などの本明細書において記載される機能的基準を満たす限り、追加のN-もしくはC-末端アミノ酸、または5'もしくは3'配列などの追加の残基を含みうるということが理解されるであろう。末端配列の付加は、特に

50

、コード領域の5'または3'部分のいずれかに隣接する様々な非コード配列を含みうる核酸配列に当てはまる。

【0054】

薬学的製剤

本発明の薬学的製剤は、薬学的に許容される担体に溶解または分散されたペプチドの有効量を含む。「薬学的または薬理的に許容される」という句は、対象、たとえば適切であればヒトに投与した場合に、有害な、アレルギーまたは他の望ましくない反応を通常生じない組成物を指す。そのような薬学的組成物の調製は、参照により本明細書に組み入れられる、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990によって例示されるように、本開示に照らして当業者に公知である。その上、ヒトでの投与目的に関して、調製物は、たとえばUSFDA Office of Biological Standardsによって必要とされる無菌性、発熱性、一般安全性、および純度標準を満たすべきであることが理解されるであろう。

10

【0055】

さらに、本明細書において用いられる「薬学的に許容される担体」には、本開示を考慮して当業者に公知であるように、溶媒、分散媒体、コーティング、界面活性剤、抗酸化剤、保存剤（たとえば、抗菌剤、抗真菌剤）、等張剤、吸収遅延剤、塩、保存剤、薬物、薬物安定化剤、ゲル、結合剤、賦形剤、崩壊剤、潤滑剤、甘味料、着色料、色素、これらの類似材料および組み合わせなどの材料が挙げられる。いかなる従来の担体も活性成分と不適合性である場合を除き、治療的または薬学的組成物におけるその使用が企図される。

20

【0056】

本発明の薬剤は、固体、液体、またはエアロゾル型で投与されるか否かに応じて、および注射などの投与経路のために無菌的である必要があるか否かに応じて異なるタイプの担体を含みうる。本発明は、静脈内、皮内、動脈内、腹腔内、病変内、頭蓋内、関節内、前立腺内、胸膜内、気管内、鼻腔内、硝子体内、腔内、直腸内、腫瘍内、筋肉内、皮下、結膜下、膀胱内、粘膜、心膜内、臍帯内、眼内、経口、表面、局所、吸入（たとえば、エアロゾル）投与することができる。さらに、本発明は、注射、注入、持続注入、標的細胞を直接浴する局所灌流によって、カテーテルを介して、洗浄を介して、または他の方法によって、または当業者に公知であろう前述の任意の組み合わせによって投与することができる。

30

【0057】

対象に投与される本発明の組成物の実際の投与量は、体重、病態の重症度、処置される疾患のタイプ、過去のまたは同時の治療介入、患者の特発疾患、および投与経路などの身体および生理学的要因によって決定することができる。いずれにしても、投与の責任を有する医師は、組成物中の活性成分の濃度および個々の対象に関する適切な用量を決定するであろう。

【0058】

ある態様において、薬学的組成物は、たとえば少なくとも約0.1%の活性化化合物を含みうる。他の態様において、活性化化合物は、単位重量の約2%から約75%、またはたとえば、約25%から約60%、およびそこから派生する任意の範囲を構成する。他の非限定的な例において、用量はまた、投与あたり約1マイクログラム/kg体重、約5マイクログラム/kg体重、約10マイクログラム/kg体重、約50マイクログラム/kg体重、約100マイクログラム/kg体重、約200マイクログラム/kg体重、約350マイクログラム/kg体重、約500マイクログラム/kg体重、約1ミリグラム/kg体重、約5ミリグラム/kg体重、約10ミリグラム/kg体重、約50ミリグラム/kg体重、約100ミリグラム/kg体重、約200ミリグラム/kg体重、約350ミリグラム/kg体重、約500ミリグラム/kg体重から約1000 mg/kg体重またはそれより多く、およびそこから派生する任意の範囲を含みうる。本明細書において記載される数値から派生する範囲の非限定的な例では、上記の数値に基づいて、約5 mg/kg体重から約100 mg/kg体重、約5マイクログラム/kg体重から約500ミリグラム/kg体重等の範囲を投与することができる。

40

50

## 【0059】

いずれにしても、組成物は、1つまたは複数の成分の酸化を遅らせるために様々な抗酸化剤を含みうる。加えて、微生物の作用の防止は、パラベン（たとえば、メチルパラベン、プロピルパラベン）、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサル、またはその組み合わせが挙げられるがこれらに限定されない様々な抗菌剤および抗真菌剤などの保存剤によってもたらされうる。

## 【0060】

薬剤は、遊離の塩基、中性または塩型の組成物に調製されうる。薬学的に許容される塩には、酸付加塩、たとえばペプチド組成物の遊離のアミノ基によって形成される塩、またはたとえば塩酸もしくはリン酸などの無機酸、または酢酸、シュウ酸、酒石酸、もしくはマンデル酸などの有機酸によって形成される塩が挙げられる。遊離のカルボキシル基によって形成される塩はまた、たとえばナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、もしくは水酸化第二鉄などの無機塩基、またはイソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、もしくはプロカインなどの有機塩基に由来することができる。

10

## 【0061】

組成物が液体型である態様において、担体は、水、エタノール、ポリオール（たとえば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコール等）、脂質（たとえば、トリグリセリド、植物油、リポソーム）、およびその組み合わせを含むがこれらに限定されない溶媒または分散媒体でありうる。たとえばレシチンなどのコーティングを用いることによって；たとえば液体ポリオールまたは脂質などの担体中に分散させることによって必要な粒子径を維持することによって；たとえばヒドロキシプロピルセルロースなどの界面活性剤を用いることによって；またはそのような方法の組み合わせによって、適当な流動性を維持することができる。多くの場合において、たとえば砂糖、塩化ナトリウム、またはその組み合わせなどの等張物質を含めることが好ましいであろう。

20

## 【0062】

ある態様において、組成物は、経口摂取などの経路による投与のために調製される。これらの態様において、固体組成物は、たとえば液剤、懸濁剤、乳剤、錠剤、丸剤、カプセル剤（たとえば、硬または軟ゼラチンカプセル）、徐放性製剤、口腔内組成物、トローチ剤、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤、ウェーハ、またはその組み合わせを含みうる。経口組成物を、食事の食物と共に直接組み入れてもよい。経口投与のための好ましい担体は、不活性希釈剤、同化可能な食用担体、またはその組み合わせを含む。本発明の他の局面において、経口組成物は、シロップ剤またはエリキシル剤として調製されうる。シロップ剤またはエリキシル剤は、たとえば、少なくとも1つの活性物質、甘味料、保存剤、着色料、色素、保存剤、またはその組み合わせを含みうる。

30

## 【0063】

ある特に好ましい態様において、経口組成物は、1つまたは複数の結合剤、賦形剤、崩壊剤、潤滑剤、着色料、およびその組み合わせを含みうる。ある態様において、組成物は、以下の1つまたは複数を含みうる：たとえばトラガカントゴム、アカシアゴム、コーンスターチ、ゼラチンまたはその組み合わせなどの結合剤；たとえばリン酸二カルシウム、マンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムまたはその組み合わせなどの賦形剤；たとえばコーンスターチ、ジャガイモデンプン、アルギン酸、またはその組み合わせなどの崩壊剤；たとえばステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤；たとえばスクロース、ラクトース、サッカリン、またはその組み合わせなどの甘味料；たとえばペパーミント、冬緑油、サクランボ香料、オレンジ香料等などの着色料；または前述のその組み合わせ。用量単位形態がカプセル剤である場合、上記のタイプの材料に加えて液体担体などの担体を含有してもよい。様々な他の材料がコーティングとして、または用量単位の物理的形態を改変するために存在してもよい。例として、錠剤、丸剤、またはカプセル剤をシェラック、砂糖、またはその両者によってコーティングしてもよい。

40

## 【0064】

50

滅菌注射用液剤は、任意で、先に列挙した他の様々な成分と共に、適切な溶媒中に必要量の本発明の活性化化合物を組み入れ、必要であれば濾過滅菌することによって、調製することができる。一般的に、分散剤は、基礎分散媒体および/または他の成分を含有する滅菌溶剤に様々な滅菌活性成分を組み入れることによって調製される。滅菌注射用液剤、懸濁剤、または乳剤の調製のための滅菌粉末の場合、好ましい調製法は、予め濾過滅菌されたその液体媒体から活性成分プラス任意の追加の所望の成分の粉末を生じる真空乾燥または凍結乾燥技術である。液体媒体は、必要であればふさわしく緩衝作用を有するべきであり、液体希釈剤を最初に、十分量の食塩水またはグルコースによって注射前に等張にすべきである。直接注射のための高濃度組成物の調製物も同様に企図され、この場合、溶媒としてDMSOを用いることは、極めて迅速な浸透が起こり、小さい領域に高濃度の活性物質を送達すると想像される。

10

#### 【0065】

好ましくは、本発明の組成物は、標準的な製造および貯蔵条件下で安定であり、細菌および真菌などの微生物の混入作用から保護される。エンドトキシンの混入は、安全なレベル、たとえば0.5 ng/mgタンパク質未満で最小限に維持すべきであると認識されるであろう。

#### 【0066】

特定の態様において、注射可能な組成物の持続的吸収は、たとえばモノステアリン酸アルミニウム、ゼラチン、またはその組み合わせなどの吸収を遅らせる物質を含む本発明の組成物によってもたらすことができる。

20

#### 【実施例】

#### 【0067】

##### 実施例1：海綿体神経損傷のラットモデル

海綿体神経損傷のラットモデルは典型的に、以下の方法論を用いる。ラットをイソフルランによって麻酔する。体温を37℃に維持するために動物を温熱パッドの上に置く。腹部の毛を刈って、無菌的なクリニジン溶液（ポビドンヨード）によって拭く。腹腔の正中下腹部開口部を作製して、両方の海綿体神経および骨盤神経節（MPG）を露出する。海綿体神経の損傷は、血管鉗子によって海綿体神経を片側あたり2分間挫滅することによって引き起こされる。ニューレグリンに関連する試験において、2つのニューレグリン群を損傷の48時間前に処置した。

30

#### 【0068】

ラット挫滅モデルは、勃起機能の単純で再現可能で極めて信頼可能な減少を提供する。この技術は、広く用いられており、この技術を用いていくつかの試験が公表されている。挫滅損傷後の勃起機能を試験する必要はなく、勃起機能の減少は予測可能であり、典型的に機能的試験は挫滅損傷後約5週間目に行われる。

#### 【0069】

海綿体神経に対する損傷後、腹筋と筋膜（吸収可能な縫合）とを再近置して2~3回の連続縫合により腹腔を2層で閉鎖する。皮膚を非ウィッキング（PDSまたはコーティングしたビクリル（vicryl））縫合材料によって皮膚の表皮下（埋没）連続縫合を用いて閉じる。ブプレノルフィン麻酔薬を、疼痛管理のために術中（手技終了の10分前）および術後6~12時間毎に48時間与えた。

40

#### 【0070】

術後約5週目に、ラットをケタミン（100 mg/kg IP）およびキシラジン（5 mg/kg）によって麻酔した。同じ切開部を通して海綿体脚を露出し、左脚部に挿入されて海綿体内圧を測定するように特異的に設計されたソフトウェアプログラムに接続された23 G針を用いて、機能的試験を行った。測定前に、海綿体神経を電極によって1.5 mAで刺激する。測定手順の長さはおよそ15分間である。ラットを、麻酔から回復する前に頸動脈安楽死によって安楽死させて、組織（海綿体神経、MPG、陰茎、前立腺）を、光学顕微鏡および分子組織学的評価のために収集した。

#### 【0071】

50

図1に示される海綿体内圧 (ICP) データに示されるように、損傷後5週目の海綿体神経の電気刺激は、両方のニューレグリン処置群について神経および終末器官機能が有意に保存されたことを証明し、これは高用量でさらに著しかった。データを、最初にボンフェローニt-検定を伴う非反復測定ANOVAによって分析し、 $p < 0.05$ で有意であると見なした。結果は全て平均値  $\pm$  SEMとして表記する。変化はまた、図2に示されるように大動脈圧に対して正規化しても有意に改善した。

#### 【 0 0 7 2 】

組織学的見地から、データは、NRG処置が、MPGにおけるフルオロゴールドの逆行的に輸送された標識に基づく無傷の神経線維の数を増加させて、陰茎の神経および平滑筋組織からのニューロン酸化窒素シンターゼおよびVaChTの保存を改善したことを示している。このことは、神経保護および/または神経再生作用機序が存在することを示している。平滑筋のアポトーシスも同様に、いかなるニューレグリンも受けていない挫滅損傷動物と比較して減少する。

10

#### 【 0 0 7 3 】

##### 実施例2：フルオロゴールドの組織学的方法

このプロトコルを行うために、4%フルオロゴールドの海綿体内注射を行い、1週目に骨盤神経節 (MPG) 組織を採取し4%パラホルムアルデヒド、0.1 Mリン酸緩衝液中で終夜固定した後、20%スクロース中に入れた。厚さ20  $\mu$ mの凍結切片を作製した。Infinityカメラおよびイメージングシステムを用いて画像を得た後、フルオロゴールド増強細胞数に関して盲検的に分析した。次に、MPG標本スライドガラスを無作為に選択して(10個/動物)、無傷のニューロン数を確認するために細胞計数を行った(たとえば、Dail, W. G., T rujillo, D., de la Rosa, D. and Walton, G.: Autonomic innervation of reproductive organs: analysis of the neurons whose axons project in the main penile nerve in the pelvic plexus of the rat. Anat Rec, 224: 94, 1989; Laurikainen A, Hiltunen JO, Vanhatalo S, Klinge E, Saarma M: Glial cell line-derived neurotrophic factor is expressed in penis of adult rat and retrogradely transported in penile parasympathetic and sensory nerves. (Cell Tissue Res 2000, 302:321-9を参照されたい)。

20

#### 【 0 0 7 4 】

このように、これはフルオロゴールドを用いる逆行性追跡プロトコルであった。このプロトコルからの結果は、ニューレグリン処置が、海綿体神経の再生およびその標的(陰茎海綿体)への再投射、ならびに/または神経保護を助けることを示す情報を提供した。

30

#### 【 0 0 7 5 】

したがって、フルオロゴールドを、標的器官、この場合は陰茎の体部に注射した。次に、終末器官の神経終末からの取込みが起こった。この取込みは、神経線維が保存されて注射領域に再成長することを示した。フルオロゴールドの取込みが起こった後、フルオロゴールドは神経軸索において逆行的に輸送されて、MPG(骨盤神経節)の本来のニューロンに標識が蓄積された。

40

#### 【 0 0 7 6 】

図3は、処置群((パネルA)正常、(パネルB)挫滅、(パネルC)挫滅+GGF2)あたり動物3例からの骨盤神経節(MPG)の代表的なフルオロゴールド標識を示す。正常な動物(パネルA)は、神経損傷の非存在下で観察される逆行性の標識量を示す。挫滅動物(パネルB)は、フルオロゴールド標識がMPGに完全に戻るよう輸送されることが不可能なため、損傷による、無傷の神経線維の劇的な低減を示す。挫滅+GGF2動物(パネルC)は、フルオロゴールド標識MPG細胞数の増加を示し、GGF2処置の結果として損傷後に、保存された神経線維がより多く存在することを示している。

#### 【 0 0 7 7 】

図4は、MPGにおけるフルオロゴールド標識の定量を提供する。正常動物は、MPGにおいて多数の細胞体標識を有する。挫滅損傷後、神経線維の損傷が起こり、その結果標識を逆

50

行的にMPGに輸送することができないことの結果として、標識細胞数は劇的に低減する。G GF2処置は、フルオロゴールドを陰茎組織からMPGに逆行的に輸送するために利用できる無傷の神経線維の数を改善し、それによって多数の標識細胞をもたらした。

【0078】

### 実施例3：免疫組織化学

海綿体の近位部分の長軸方向の凍結切片をnNos、VaChTに関して染色した。洗浄は全て、1% triton-Xを含有するTris緩衝液によって行った。組織を5%正常ヤギ血清によって1時間ブロックした後、

a) nNos (Sigma ; 1/1000)、または

b) VaChT (Abcam ; 1/150)、または

c) TH (Millipore ; 1/5000)

と共にそれぞれ、4℃で終夜インキュベートした。

【0079】

数回すすいだ後、ヤギ抗ウサギHRPおよびロバ抗ヤギ(1/1000)抗体と共に1時間インキュベートし、次いで0.2%硫酸アンモニウムニッケルおよび0.03%過酸化水素を含有するDB溶液中で10分間インキュベートした。最後の洗浄後、切片を脱水して、キシレン中で清浄にして、Permount (Fisher Scientific)においてカバーガラスを載せた。

【0080】

nNos染色：

海綿体内の海綿体神経の軸索終板から放出された酸化窒素(NO)は、内皮NOと共に、平滑筋の弛緩を引き起こし、陰茎勃起の血行力学的変化を開始すると共に、腫脹の維持に参与する。現在、海綿体神経の損傷後の性交能の回復は、残っている神経組織の軸索再生および終末器官(神経NO活性化を可能にする)の機能的な神経再支配の成否に、少なくとも部分的に依存すると理解されている。海綿体神経が損なわれた後の陰茎の動物モデル試験において、十分に定義された病理生物学的変化が観察されている。これらの病理生物学的変化は、ニューララクシーから致死性の軸索傷害にまで及ぶ可能性があり、これには平滑筋のアポトーシス、内皮のアポトーシス、酸化窒素シンターゼ(NOS)神経密度の低減、トランスフォーミング増殖因子(TGF-β)などの線維増殖性サイトカインのアップレギュレーション、平滑筋の線維症もしくは喪失、または変化したソニック・ヘッジホッグタンパク質などの病理生物学的シグナル伝達応答を挙げることができる。

【0081】

加えて、持続的な回復段階のあいだの海綿体神経ニューララクシーのために二次的に起こる勃起の慢性的欠如は、弛緩状態と勃起状態のあいだの正常な海綿体サイクリングの不全によるさらなる海綿体平滑筋の構造的悪化の可能性を増悪させると考えられている(Bella AJ, Lin G, Fandel TM, Hickling DR, Morash C, Lue TF. Nerve growth factor modulation of the cavernous nerve response to injury. J Sex Med 6 Suppl 3: 347-352, 2009)。

【0082】

海綿体nNOSは、海綿体神経保存の十分に確立されたマーカーである(たとえば、<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1464-410X.2010.09364.x/full>を参照されたい)。このプロトコルの結果は、実施例1のプロトコルに従って生じたラットにおける両側性の海綿体神経損傷後の神経保護効果および/または神経再生効果を示した。

【0083】

染色密度の結果(代表的な近位体部切片、無作為に選択したスライドガラス5枚、観察者に知らせない盲検-1群あたり動物5匹に基づく)は、ニューレグリンによって処置した対象に関してnNOS染色が保存されることを示した。

【0084】

図5は、nNosレベルの代表的な染色を提供する。染色密度はnNOSの存在を示す。この研究の結果は正常組織の染色(パネルA)を含む。比較すると、海綿体神経挫滅損傷(パネルB)後にnNOS染色は有意に失われる。陰茎体における海綿体神経終末のnNOS染色が保存

10

20

30

40

50

されたことは、GGF2処置により、挫滅損傷後（パネルC）の海綿体神経の生存率および／または再生が増加したことを証明している。染色密度は、GGF2処置によりnNOS染色が保存されたことを示している。

#### 【0085】

小胞アセチルコリントランスポーター（VaChT）染色

陰茎を神経支配する骨盤神経節ニューロンは、nNOSおよびコリン作動神経マーカーを発現するが、陰茎の交感神経ノルアドレナリン神経支配は主に交感神経鎖を介して生じ、陰茎神経または骨盤神経節を通らない。このプロトコールの結果は、ニューレグリン処置が、小胞アセチルコリントランスポーター（VaChT）に関する海綿体内染色に基づいて、海綿体神経の再生およびその標的（陰茎海綿体）への再投射、および／または神経保護を助けたことを示している。術後EDの主な病因は神経原性であるが、齧歯類での試験から、陰茎神経損傷後に、形態学および機能的変化も同様に海綿体組織内で起こることが判明した（たとえば、Keast JR. Plasticity of pelvic autonomic ganglia and urogenital innervation. *Int Rev Cytol* 2006;248: 141-208; Andersson KE, Hedlund P, Alm P. Sympathetic pathways and adrenergic innervation of the penis. *Int J Impot Res* 2000;12:S5-12; Mulhall JM, Bella AJ, Briganti A, McCullough A, Brock G. Erectile Function Rehabilitation in the Radical Prostatectomy Patient. *J Sex Med* 7(4), 1687-1698, 2010を参照されたい）。

10

#### 【0086】

染色密度の結果（代表的な近位体部切片、無作為に選択したスライドガラス5枚、観察者に知らせない盲検 - 1群あたり動物5匹に基づく）は、GGF2を投与されたラットにおいてVaChT染色が保存されることを示した。

20

#### 【0087】

図7は、小胞アセチルコリントランスポーター（VaChT）の代表的な免疫組織化学染色を提供する。染色密度は、VaChTの存在を示す。結果は、正常組織染色（パネルA）、および海綿体神経挫滅損傷後のVaChT染色の有意な喪失（パネルB）を含む。対照的に、パネルCに示される陰茎体における海綿体神経終末のVaChT染色が保存されたことは、GGF2処置によって処置した挫滅損傷の後に海綿体神経の生存率および／または再生が増加したことを証明した（パネルC）。染色密度は、GGF2処置によってVaChT染色が保存されたことを示す。

30

#### 【0088】

TH染色

THはアドレナリン作動神経線維のマーカーであり、体部における神経保存を裏付けるために用いられる。体部の近位部分の凍結切片を長軸方向に作製し、カテコラミン合成マーカーであるチロシンヒドロキシラーゼに対する一次抗体によって染色した（*Impaired Cavernous Reinnervation after Penile Nerve Injury in Rats with Features of the Metabolic Syndrome* Matthew R. Nangle, BSc, PhD, Joseph Proietto, MBBS, PhD, † and Jan et R. Keast, BSc, PhD *J Sex Med* 2009;6:3032-3044）。

#### 【0089】

染色密度の結果は、THが存在することを示す。実際に達成された染色密度の結果（代表的な近位体部切片、無作為に選択したスライドガラス5枚、観察者に知らせない盲検 - 1群あたり動物5匹）は、GGF2によって処置した動物においてTH染色が保存されることを示した。図6は、チロシンヒドロキシラーゼ（TH）レベルの代表的な染色を提供する。結果は、正常組織染色（パネルA）および海綿体神経挫滅損傷後のTH染色の有意な喪失（パネルB）を含む。パネルCは、陰茎体における海綿体神経終末のTH染色の保存が、GGF2処置による、挫滅損傷後の陰茎神経支配の保存の全般的増加に、最もよく対応することを示している（パネルC）。染色密度は、GGF2処置によりTH染色が保存される傾向があることを示す。

40

#### 【0090】

図6は、チロシンヒドロキシラーゼ（TH）レベルの代表的な染色を提供する。結果は、

50



正常組織染色（パネルA）および海綿体神経挫滅損傷後のTH染色の有意な喪失（パネルB）を含む。パネルCは、陰茎体における海綿体神経終末のTH染色の保存が、GGF2処置による、挫滅損傷後の陰茎神経支配の保存の全般的増加に、最もよく対応することを示している（パネルC）。染色密度は、GGF2処置によりTH染色が保存される傾向があることを示す。

【0091】

#### 実施例4：他の態様

末梢神経損傷はほとんどいかなる外科的状況においても起こりうる。神経損傷の可能性は、任意の手術における組織切開の位置および程度に相関する。たとえば乳房切除術は、腋窩および腕のしびれ（たとえば、肋間上腕神経損傷に対する損傷）、翼状肩甲骨（長胸神経損傷に対する損傷）、広背筋の麻痺（胸背神経損傷に対する損傷）が挙げられる、末梢神経損傷に起因する合併症を有することが多い（Watt-Boolsen et al., 1988; Aitken and Minton, 1983）。

10

【0092】

したがって、ニューレグリンは、神経に対する損傷を制限するために、および/または末梢神経機能の回復を増強するために、乳房切除術の前、後、または前後のいずれかで用いられる。乳房切除術を受ける予定の患者を、手術の約24時間前に適切な量のニューレグリンによって処置する。任意で、患者はまた、神経回復を増強するために術後に約6週間またはそれより多くの期間処置される。他の態様において、患者は術前に限って処置されるか、または術後に限って処置される。本明細書において注目されるように、ニューレグリンは腫瘍切除術（前立腺切除術、乳房切除術、甲状腺切除術等）の結果として起こる神経損傷を予防するために用いられる。ニューレグリンは、腫瘍細胞の形成および増殖の促進物質および抑制物質として関係していることに注意されたい（Atlas et al., 2003; Chua et al., 2009）。ニューレグリン処置は、ある腫瘍を有する患者において禁忌であるまたは禁忌でない可能性がある。ニューレグリンは、erbB陽性腫瘍を有する患者では、十分な安全性試験によりニューレグリンがそのような腫瘍の成長を増強しないことが証明される場合に限って、用いられる。

20

【0093】

さらに、手術による神経損傷の処置は、乳房切除術および前立腺切除術に限定されない。神経損傷は、大幅な切開および/または切除を伴ういかなる手術においてもしばしば起こる。これらの手術には、上肢の手術、手の手術、膝の手術/置換、股関節手術/置換、肘の手術/置換、動脈および静脈手術のための頸部切開、甲状腺手術、扁桃切除、手および足の手術が挙げられうるがこれらに限定されない。末梢神経損傷は骨盤、腹部手術、および結腸直腸手術に関して一般的である。神経損傷はまた、口腔および顔面手術についても起こる。

30

【0094】

手術における切開および切除を通した神経に対する直接の損傷に加えて、神経損傷はしばしば、患者の姿勢による術中の神経の圧迫または伸張、接点での、または覆い布、拘束、クリップ、テープ、もしくは組織を圧迫しうる他の任意の物体からの圧迫に起因する。これらは、手術の不可避の結果でありうるか、または不適切な技術の結果でありうる。末梢神経損傷の状況または病因によらず、ニューレグリンは、そのような損傷を防止および/または処置することが見いだされている。

40

【0095】

ヒトにおいて、臨床試験により、ニューレグリンまたはプラセボ対照によって処置した患者においてしばしば影響を受ける神経領域の知覚および/または運動機能を評価するデータによって、末梢神経損傷の防止および処置に関するNRGの効能が証明されている。たとえば、腋窩のしびれは、異痛症、痛覚過敏、知覚閾値または重症度（2点識別）の試験を含む知覚機能の標準的な神経学的方法によって試験されうる。これらの方法は、当技術分野において標準である。患者を、術後数ヶ月間追跡して、ニューレグリンによって処置した患者群と対照によって処置した患者群とのあいだで統計学的比較を行う。これらの追跡に拠って、手術事象の前および/または後のNRG処置は、評価した末梢神経損傷を防止

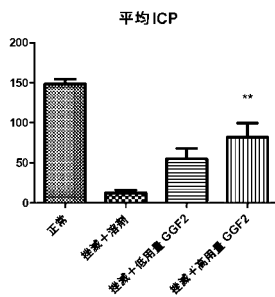
50

および/または処置することが見いだされる。

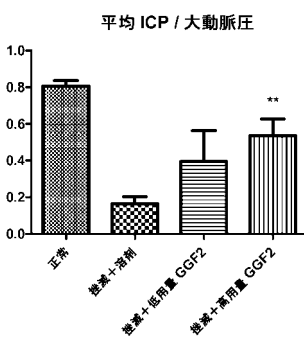
【0096】

前述と類似の試験もまた、運動強度、可動域、および協調運動を類似の様式で評価する。これらの試験に拠って、手術事象の前および/または後でのNRG処置は、運動強度、可動域、または協調運動の1つまたは複数の障害を起こす末梢神経損傷を防止および/または処置することが見いだされる。

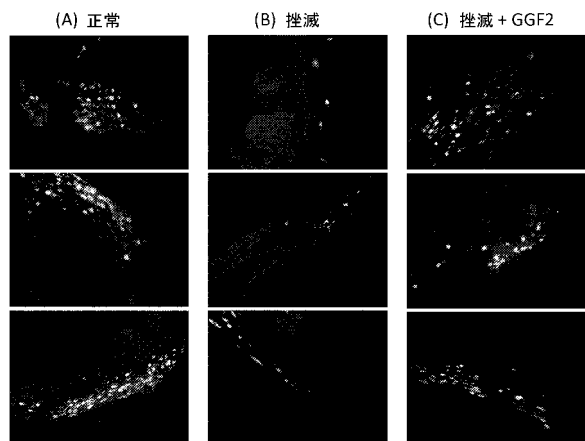
【図1】



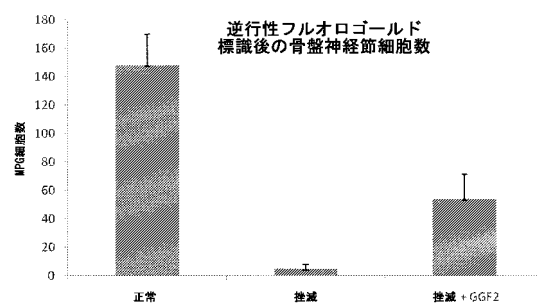
【図2】



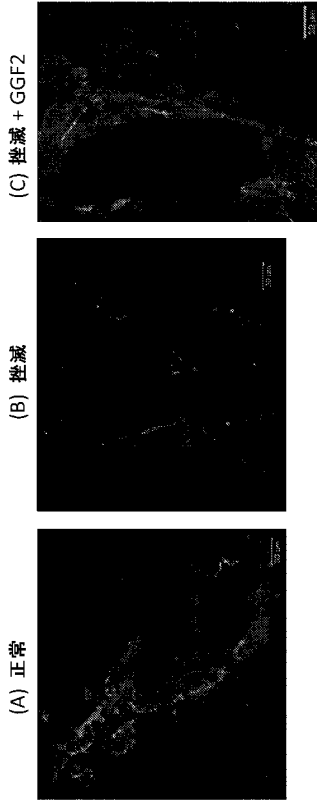
【図3】



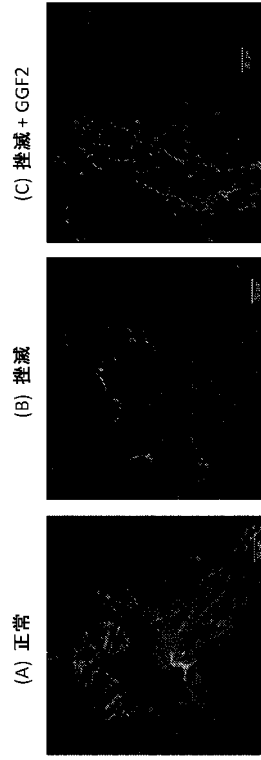
【図4】



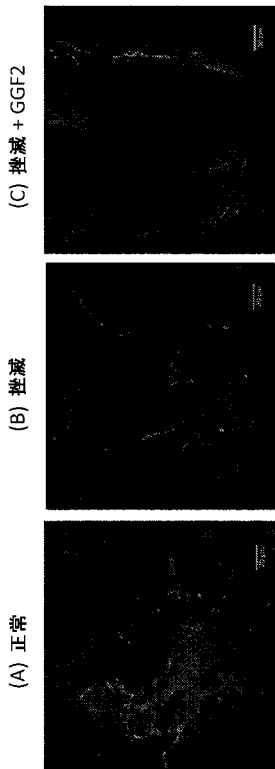
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【配列表】

2013508291000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成24年7月10日(2012.7.10)

【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】

2013508291000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2010/052715

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K38/18 A61P25/02 ADD.		
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) 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 practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/26607 A2 (UAB RESEARCH FOUNDATION [US]) 19 April 2001 (2001-04-19) page 8, paragraph 4; claims 42-46 -----	1-9
X	WO 01/89568 A1 (CENES PHARMACEUTICALS INC [US]) 29 November 2001 (2001-11-29) page 4, line 27 - page 5, line 27 page 20, line 1 - page 21, line 8 page 25, line 9 - page 26, line 6 ----- -/--	1-9
<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 document 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  22 July 2011		Date of mailing of the international search report  05/09/2011
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Schnack, Anne

5

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2010/052715
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>CHEN L-E ET AL: "Recombinant human glial growth factor 2 (rhGGF 2) improves functional recovery of crushed peripheral nerve (a double-blind study)", NEUROCHEMISTRY INTERNATIONAL, vol. 33, no. 4, 1 October 1998 (1998-10-01), pages 341-351, XP002262023, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB ISSN: 0197-0186, DOI: 10.1016/S0197-0186(98)00037-0 the whole document</p>	1-9
A	<p>----- DIMACHKIE M M ET AL: "Peripheral nerve injury after brief lithotomy for transurethral collagen injection.", UROLOGY, vol. 56, no. 4, 1 October 2000 (2000-10-01), pages 669IV-669VI, XP002619684, ISSN: 1527-9995 the whole document</p>	1-9
A	<p>----- SHARMA AJEET D ET AL: "Peripheral nerve injuries during cardiac surgery: Risk factors, diagnosis, prognosis, and prevention", ANESTHESIA AND ANALGESIA, vol. 91, no. 6, December 2000 (2000-12), pages 1358-1369, XP002619685, ISSN: 0003-2999 the whole document</p>	1-9
A	<p>----- DATABASE MEDLINE [Online] US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; February 2009 (2009-02), BURKE SIÚN ET AL: "When pain after surgery doesn't go away...", XP002619686, Database accession no. NLM19143655 abstract &amp; BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS FEB 2009 LNKD- PUBMED:19143655, vol. 37, no. Pt 1, February 2009 (2009-02), pages 318-322, ISSN: 1470-8752</p> <p>----- -/--</p>	1-9

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2010/052715
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	COLAK T ET AL: "Comparison of nerve conduction velocities of lower extremities between runners and controls", JOURNAL OF SCIENCE AND MEDICINE IN SPORT, vol. 8, no. 4, 1 December 2005 (2005-12-01), pages 403-410, XP025343663, SPORTS MEDICINE AUSTRALIA, BELCONNEN, AU ISSN: 1440-2440, DOI: 10.1016/S1440-2440(05)80055-6 [retrieved on 2005-12-01] the whole document	1-9
X	US 6 096 873 A (SCHAEFER GABRIELE MARIA [US] ET AL) 1 August 2000 (2000-08-01) column 24, line 56 - line 58	1-9
X	US 2002/082229 A1 (GODOWSKI PAUL J [US] ET AL) 27 June 2002 (2002-06-27) paragraph [0243]	1-9

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2010/052715**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.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
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:

see additional sheet

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 fees.
  
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**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2010/052715

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0126607	A2	19-04-2001 AU 7873200 A	23-04-2001
WO 0189568	A1	29-11-2001 AT 516304 T	15-07-2011
		AU 7494701 A	03-12-2001
		AU 2001274947 B2	17-08-2006
		BR 0111125 A	28-12-2004
		CA 2409996 A1	29-11-2001
		EP 1289553 A1	12-03-2003
		JP 2004507224 A	11-03-2004
		MX PA02011656 A	30-07-2004
		ZA 200210085 A	26-01-2004
US 6096873	A	01-08-2000 US 2009042797 A1	12-02-2009
		US 6500941 B1	31-12-2002
US 2002082229	A1	27-06-2002 US 6994856 B1	07-02-2006
		US 2006051351 A1	09-03-2006

International Application No. PCT/US2010/052715

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 2-4, 6, 7(completely); 1(partially)

Prevention of peripheral nerve injury by neuregulin prior to a surgical procedure  
---

2. claims: 5(completely); 1(partially)

Prevention of peripheral nerve injury by neuregulin prior to childbirth  
---

3. claims: 8, 9(completely); 1(partially)

Treatment/Prevention/Diagnosis of peripheral nerve injury by neuregulin in case of erectile dysfunction:  
(a) as a result of any kind of accident or injury, e.g. knife and projectile wounds  
(b) at risk of suffering a peripheral nerve injury such as prior to prostatectomy (prophylaxis)  
(c) method of diagnosing the etiology of erectile dysfunction  
---

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00 Z	
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	C 0 7 K 14/47 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, T M), 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, R S, 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, I D, 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

(74) 代理人 100142929  
弁理士 井上 隆一

(74) 代理人 100148699  
弁理士 佐藤 利光

(74) 代理人 100128048  
弁理士 新見 浩一

(74) 代理人 100129506  
弁理士 小林 智彦

(74) 代理人 100130845  
弁理士 渡邊 伸一

(74) 代理人 100114340  
弁理士 大関 雅人

(74) 代理人 100114889  
弁理士 五十嵐 義弘

(74) 代理人 100121072  
弁理士 川本 和弥

(72) 発明者 カッジャーノ アンソニー オー .  
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 ラーチモント ワイルドウッド ロード 1 0

(72) 発明者 ベラ アンソニー ジェイ .  
カナダ国 オンタリオ州 オタワ スプリング クレス ドライブ 1 3

(72) 発明者 イアチ ジェニファー エフ .  
アメリカ合衆国 ニュージャージー州 ブーントン テイラータウン ロード 1 2 1

F ターム (参考) 4C084 AA02 BA44 ZA202 ZA812 ZB262  
4C085 HH20 KB82 LL12  
4H045 BA10 CA40 EA20