

(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2017-506220

(P2017-506220A)

(43) 公表日 平成29年3月2日(2017.3.2)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 14/705 (2006.01)	C07K 14/705 ZNA	4C076
A61P 43/00 (2006.01)	A61P 43/00 121	4C084
A61P 9/00 (2006.01)	A61P 9/00	4H045
A61P 37/02 (2006.01)	A61P 37/02	
A61P 19/02 (2006.01)	A61P 19/02	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 42 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-547931 (P2016-547931)
 (86) (22) 出願日 平成27年1月21日 (2015.1.21)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年9月20日 (2016.9.20)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2015/050135
 (87) 国際公開番号 W02015/110809
 (87) 国際公開日 平成27年7月30日 (2015.7.30)
 (31) 優先権主張番号 1400994.8
 (32) 優先日 平成26年1月21日 (2014.1.21)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 510133975
 ユーシーエル ビジネス パブリック リ
 ミティド カンパニー
 イギリス国, ロンドン ダブリュ1ティー
 4ティーピー, トッテナム コート ロ
 ード 97, ザ ネットワーク ビルディ
 ング
 (74) 代理人 100099759
 弁理士 青木 篤
 (74) 代理人 100077517
 弁理士 石田 敬
 (74) 代理人 100087871
 弁理士 福本 積
 (74) 代理人 100087413
 弁理士 古賀 哲次

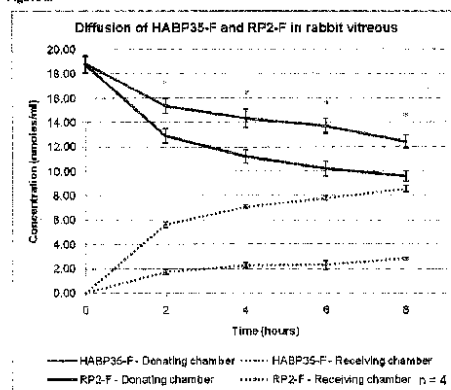
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 薬物送達システム

(57) 【要約】

本発明は、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ (式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である)を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなるペプチドであって、該ペプチドのN末端に、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含む、上記ペプチドおよび治療剤もしくは診断剤を含んでなるコラーゲンもしくはヒアルロン酸複合体、並びに組成物、およびそれらの使用に関する。また、本発明は、眼性疾患または状態の治療または予防における使用のための、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ (式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である)を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなるペプチドにも関する。さらに、本発明は、ヒアルロン酸結合物質を検出する方法であって、ヒアルロン酸の試料を設けること、該ヒアルロン酸の試料を検査物質に接触させること、および前記検査物質と前記ヒアルロン酸との結合の存在を検出することを含む方法にも関する。

Figure 2.



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ （式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3～10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である）を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなる単離されたペプチドであって、

該ペプチドのN末端に、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含む、前記ペプチド。

【請求項 2】

前記ペプチドは、配列番号1と少なくとも60%の同一性を有する配列、またはその機能的部分もしくは断片を有する、請求項 1 に記載のペプチド。

10

【請求項 3】

前記ペプチドのN末端は、D-アミノ酸を含んでなる、請求項 1 または 2 に記載のペプチド。

【請求項 4】

前記ペプチドのN末端は、保護基を含む、請求項 1 または 2 に記載のペプチド。

【請求項 5】

前記保護基は、アセチル、ベンゾイル、ベンジル、tert-ブトキシカルボニル、カルボベンジルオキシ、p-メトキシベンジルカルボニル、p-メトキシベンジル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、3,4-ジメトキシベンジル、p-メトキシフェニル、トシル、およびノシルからなる群より選択される、請求項 4 に記載のペプチド。

20

【請求項 6】

前記保護基はアセチルである、請求項 5 に記載のペプチド。

【請求項 7】

前記機能的部分もしくは断片は、配列番号1から少なくとも5個の連続するアミノ酸を含んでなり、そして、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の同一性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の同一性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、請求項 2～6 のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項 8】

前記ペプチドは、表 1 に示すいずれかの配列を有する機能的部分もしくは断片であり、そして、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の同一性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の同一性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、請求項 2～7 のいずれか1項に記載のペプチド。

30

【請求項 9】

アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ （式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3～10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である）を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなるペプチドおよび治療剤もしくは診断剤を含んでなるコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体であって、

ここで該ペプチドのN末端は、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含み、

ここで前記治療剤もしくは診断剤は、場合により、リンカーにより前記ペプチドに結合している、前記コラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

40

【請求項 10】

前記ペプチドは、配列番号1と少なくとも60%の同一性を有する配列、またはその機能的部分もしくは断片である、請求項 9 に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項 11】

前記保護基は、前記ペプチドのN末端アミノ酸の窒素に位置している窒素保護基であり、かつ、アセチル、ベンゾイル、ベンジル、tert-ブトキシカルボニル、カルボベンジルオキシ、p-メトキシベンジルカルボニル、p-メトキシベンジル、9-フルオレニルメチルオ

50

キシカルボニル、3,4-ジメトキシベンジル、p-メトキシフェニル、トシル、およびノシルからなる群より選択される、請求項9または10に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項12】

前記保護基はアセチルである、請求項11に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項13】

前記治療剤もしくは診断剤は、前記ペプチドに共有結合する、請求項9～12のいずれか1項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項14】

前記治療剤もしくは診断剤は、前記ペプチドに非共有的に結合する、請求項9～12のいずれか1項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項15】

前記治療剤もしくは診断剤は、ビオチン-ストレプトアビジン複合体により前記ペプチドに非共有的に結合する、請求項14に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項16】

前記ペプチドは、場合により、リンカーを介して、ビオチン部分に共有結合し、かつ、前記治療剤もしくは診断剤は、場合により、リンカーを介して、ストレプトアビジン部分に共有結合する、請求項15に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項17】

前記ペプチドは、場合により、リンカーを介して、ストレプトアビジン部分に共有結合し、かつ、前記治療剤もしくは診断剤は、場合により、リンカーを介して、ビオチン部分に共有結合する、請求項15に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項18】

存在する場合、前記リンカーは、短鎖ペプチド、ポリエチレングリコールオリゴマー、 C_{1-20} アルキレン基、 C_{2-20} アルケニレン基、マレイミド、および C_{1-20} アルキレンまたは C_{2-20} アルケニレン基により分離されたヒドラジド官能基、またはそれらの任意の組み合わせを含んでなる、請求項9～17のいずれか1項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項19】

前記リンカーの短鎖ペプチドは、アミノ酸グリシン、セリン、リジン、システイン、グルタミン酸および/またはアスパラギン酸を含む、請求項18に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項20】

存在する場合、前記リンカーは、前記ペプチドのC末端に位置する、請求項9～19のいずれか1項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項21】

前記機能的断片は、配列番号1から少なくとも5個の連続するアミノ酸を含んでなり、そして、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、請求項10～20のいずれか1項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項22】

前記ペプチドは、表1に示すいずれかの配列を有する機能的部分もしくは断片であり、そして、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、請求項10～20のいずれか1項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項23】

10

20

30

40

50

前記診断剤は、蛍光、発光、または放射性核種標識を含んでなる、請求項 9 ~ 22 のいずれか 1 項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項 24】

前記治療剤は、VEGF阻害剤、2-アドレナリンアゴニスト、 β -アドレナリンアンタゴニスト、アンジオテンシンIIアンタゴニスト、ACE阻害剤、NSAID、抗マラリア薬、コルチコステロイド、免疫抑制剤、モノクローナル抗体、レチノイド、DMARD、生物製剤、硝酸塩、プロスタグランジン、およびエンドセリンアンタゴニストからなる群より選択される少なくとも1つである、請求項 9 ~ 22 のいずれか 1 項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項 25】

請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のペプチド、または請求項 9 ~ 24 のいずれか 1 項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体、および少なくとも1つの医薬的に許容される賦形剤を含んでなる医薬組成物。

【請求項 26】

VEGF阻害剤、2-アドレナリンアゴニスト、 β -アドレナリンアンタゴニスト、アンジオテンシンIIアンタゴニスト、ACE阻害剤、NSAID、抗マラリア薬、コルチコステロイド、免疫抑制剤、モノクローナル抗体、レチノイド、DMARD、生物製剤、硝酸塩、プロスタグランジン、およびエンドセリンアンタゴニストからなる群より選択される少なくとも1つの追加的非複合性治療剤を更に含んでなる、請求項 25 に記載の医薬組成物。

【請求項 27】

治療に使用するための、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のペプチド、請求項 9 ~ 24 のいずれか 1 項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体、あるいは請求項 25 または 26 に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、緑内障、全身性エリテマトーデス、関節炎、関節リウマチ、強皮症、多発性筋炎、または皮膚筋炎の予防または治療に使用するための、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のペプチド、請求項 9 ~ 24 のいずれか 1 項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体、あるいは請求項 25 または 26 に記載の医薬組成物。

【請求項 29】

コラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体を調製するための、
アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ (式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である) を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなる単離されたペプチドであって、該ペプチドのN末端に、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含む、前記ペプチドの使用。

【請求項 30】

前記ペプチドは、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する配列、またはその機能的部分もしくは断片を有する、請求項 29 に記載の使用。

【請求項 31】

前記機能的部分もしくは断片は、配列番号1から少なくとも5個の連続するアミノ酸を含んでなり、そして、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、請求項 30 に記載の使用。

【請求項 32】

前記ペプチドは、表 1 に示すいずれかの配列を有する機能的部分もしくは断片であり、そして、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、請求項 30 ま

10

20

30

40

50

たは 3 1 に記載の使用。

【請求項 3 3】

加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、または緑内障等の眼性疾患もしくは状態の予防または治療に使用するための、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ （式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である）を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなる単離されたペプチド。

【請求項 3 4】

前記ペプチドは、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する配列、またはその機能的部分もしくは断片である、請求項 3 3 に記載の使用のためのペプチド。

10

【請求項 3 5】

前記ペプチドのN末端は、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含む、請求項 3 3 または 3 4 に記載の使用のためのペプチド。

【請求項 3 6】

加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、または緑内障等の眼性疾患もしくは状態の予防または治療に使用するための、

アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ （式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である）を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなるペプチドおよび治療剤もしくは診断剤を含んでなるコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体であって、

20

ここで、前記治療剤もしくは診断剤は、場合により、リンカーにより前記ペプチドに結合している、前記コラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体。

【請求項 3 7】

ヒアルロン酸の試料を設けること、該ヒアルロン酸の試料を検査物質に接触させること、および、前記検査物質と前記ヒアルロン酸との結合の存在を検出することを含む、ヒアルロン酸結合物質を検出する方法。

【請求項 3 8】

前記ヒアルロン酸は、固体支持体に非共有的に結合する、請求項 3 7 に記載の方法。

30

【請求項 3 9】

前記固体支持体は、アミン表面である、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

ウシ血清アルブミンをブロック剤および/または希釈剤として使用する、請求項 3 7 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 1】

ビオチン化検査基質およびストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼを用い、ペルオキシダーゼ基質を添加して検出を行う、請求項 3 7 ~ 4 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 2】

加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、緑内障、全身性エリテマトーデス、関節炎、関節リウマチ、強皮症、多発性筋炎、または皮膚筋炎に関連する状態を予防または治療する方法であって、

40

請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のペプチド、請求項 9 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体、あるいは請求項 2 5 または 2 6 に記載の医薬組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 4 3】

加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、または

50

緑内障等の眼性疾患もしくは状態を予防または治療する方法であって、

アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ （式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である）を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなるペプチドを、それを必要とする対象に投与することを含み、前記方法。

【請求項44】

加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、または緑内障等の眼性疾患もしくは状態を予防または治療する方法であって、

アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ （式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である）を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなるペプチドおよび治療剤もしくは診断剤を含んでなるコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体を、それを必要とする対象に投与することを含み、

ここで前記治療剤もしくは診断剤は、場合により、リンカーにより前記ペプチドに結合している、前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、薬物送達システムに関する。本発明は特に、これらに限定されないが、デポ薬物送達システムとしてのコラーゲンおよび/またはヒアルロン酸結合複合体に関する。

【背景技術】

【0002】

薬物を硝子体液（「硝子体」）へ直接注射することにより眼の中へ送達することは、加齢性黄斑変性症（AMD）、糖尿病性網膜症、網膜静脈閉塞症、ブドウ膜炎、および緑内障などの多くの消耗性眼性状態の管理に革命をもたらした。主なブレークスルーは、例えば、血管内皮増殖因子（VEGF）阻害剤の開発を伴うものであった。これらの薬剤は他の送達方法では吸収されにくいので、通常、硝子体内への注射により投与される。しかし、VEGF阻害剤が必要な疾患は本質的に慢性である場合が多いので、投与を何回も繰り返す必要があることが多い。それにもかかわらず、VEGF阻害剤は、この薬剤が無かった従前には少なくとも部分的に盲目になったであろうような視力を保存または改善すらできる。

【0003】

眼性状態を治療するための次世代の薬物の開発に強い関心がもたれている。しかし、眼性状態を治療するための薬物は急速に硝子体から拡散して網膜を通過し、脈絡膜の空間内で除去（クリアランス）されるため、眼内における半減期によりその有用性が非常に制限される。抗体などの大きな治療剤であっても、硝子体内での半減期は2~4日である、つまり、最大の治療効果をもたらすためには年間9~12回の注射をしなくてはならない。多くの開発中のより小さな分子だと、硝子体内での滞留時間は時間単位である。

【0004】

頻繁に硝子体内に注射するのは、患者および医療提供者にとって高価で時間がかかる。また、感染症や網膜剥離といった注射に関連する合併症の小ささが重要なリスクにもつながり、患者の視力の質を脅かしかねない。反復注射により、リスクが累積的に増大する。

【0005】

従って、硝子体内に投与された薬物の作用を延長する方法への関心が高まっている。このような方法は、注射の頻度（及びその後の合併症の頻度）を低減するだけでなく、保健サービス提供の負担を軽減するのに役立つであろう。また、VEGFアンタゴニストは、例えば、このような状況における網膜神経の損失を悪化させることが示されているので、網膜への高濃度の薬物の暴露を減少させるのにも役立つだろう。

【0006】

検討中の方法は多数存在する（Anderson et al. Delivery of anti-angiogenic molecu

10

20

30

40

50

ar therapies for retinal disease. Drug Discov Today. 2010 Apr; 15(7-8): 272-282)。
 。かかる方法として、硝子体内への放出を遅らせるために、マトリックスまたはインプラ
 ント中の活性剤を分離することが挙げられる。これらは、生分解性であっても非生分解性
 であってもよい。インプラントは硝子体に直接注射してもまたは外科的に移植してもよい
 (Haller et al. Randomized, sham-controlled trial of dexamethasone intravitreal i
 mplant in patients with macular edema due to retinal vein occlusion. Ophthalmolo
 gy 2010; 117(6): 1134-1146、およびPavesio et al. Evaluation of an intravitreal f
 luocinolone acetonide implant versus standard systemic therapy in noninfectious
 posterior uveitis. Ophthalmology 2010; 117(3): 567-575)。開発中の別の技術として
 は、ウイルス遺伝子のトランスフェクションにより薬理的に活性な分子を内因的に産生
 させる方法がある(Bainbridge et al. Effect of gene therapy on visual function in
 Leber's congenital amaurosis. N. Engl. J. Med. 2008; 358: 2231-2239)。しかし、
 薬理的に適切なレベルの治療剤に達するために、その後の遺伝子発現を制御する必要が
 ある。

10

【0007】

ステロイド剤の硝子体内への送達は、外科的な移植(例えば、RetisertTM, Bausch & L
 omb, Inc.)または注射(例えば、IluvienTM, Alimera Sciences/pSivida, Inc.)のいずれ
 であっても、リザーバデバイスを用いて達成できることが示されている。しかし、眼
 内にそのような薬物を送達するには特定の注射デバイスまたは外科的手順が必要である。
 さらに、これらの薬物(RetisertTMおよびIluvienTM)は、非生分解性であり、そして治療
 に関係ない成分が長時間眼内に残ってしまう。また、これらの薬物に用いるデバイスはペ
 イロードの点で限定されるので、上記手段の使用は、ステロイドなどの非常に強力な分子
 に限られる。ポリ乳酸-コ-グリコール酸(PLGA)ミクロスフェアなどの生分解性の粒子が
 開発中であるが、ペイロード、製造に用いられる有機溶剤に対する不適合性、及び患者の
 視力の障害など、現在いくつかの欠点がある。

20

【0008】

薬物の薬物動態学的特性に影響を与える結合分子の使用が、眼科学の分野以外で研究さ
 れてきた。一例として、アルブミンなどの特定の標的に結合するように設計されているペ
 プチドの使用が挙げられる。アルブミンは、腎臓の糸球体で濾過されない、つまり血液循
 環中で保持される比較的大きな分子である。アルブミン結合ペプチドに結合した薬物は、
 結合していない薬物と比較してより長い時間、循環中に保持される。その結果、より少な
 い頻度で投与できる。

30

【0009】

ヒアルロン酸に有効な結合親和性を示すことが示されているかかる結合部分は、HABP35
 である。これは、マウスRHAMM受容体(receptor for hyaluronan mediated motility: ヒ
 アルロン酸媒介性運動の受容体)に由来する短いペプチドである。このペプチドは、ヒア
 ルロン酸(HA)結合ドメインI配列、およびそれに続くマウスHA結合ドメインII配列から
 構成され、その配列は、公的に利用可能なソースから決定された。RHAMM受容体は、腫瘍
 学、免疫学、および血管新生の分野で以前から研究されており、HABP35は、創傷感染に及
 ぼす影響のため具体的に検討されてきた(Zaleski et al. Hyaluronic acid binding pep
 tides prevent experimental staphylococcal wound infection. Antimicrob Agents Che
 mother. 2006; 50(11); 3856-3860)。しかし、かかる結合分子は、眼科、皮膚科や関節
 学の分野での薬物送達について検討されたことがない。

40

【0010】

従って、本発明の一実施形態では、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ (式中、 B^1 および B^2 はそ
 れぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸(例えば、リジンまたはアルギニン)であり、
 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である)を有する少なくとも
 1つのモチーフを含んでなる単離されたペプチドを提供する、ここで、該ペプチドは、N
 末端に、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含む。好ましくは、該ペプチド
 は、モチーフ $B^1-X_{3-10}-B^2$ を2つまたは3つ、より好ましくは4つ有する。かかるモチー

50

フは、連続的に、順番に、または重複して配置されてもよい。好ましくは、かかるモチーフは重複している。さらに、好ましいモチーフは、構造 $B^1-X_{5-10}-B^2$ または $B^1-X_{6-8}-B^2$ 、または $B^1-X_6-B^2$ 、 $B^1-X_7-B^2$ 、または $B^1-X_8-B^2$ 、最も好ましく $B^1-X_7-B^2$ (すなわち、 B^1 および B^2 が7つの同一または異なる非酸性アミノ酸の配列により隔てられている)を有する。

【0011】

好ましい実施形態では、前記ペプチドは、配列番号1と少なくとも60%の同一性を有する配列、またはその機能的部分/断片を有する。

【0012】

配列番号1のアミノ酸配列(HABP35として知られている)は、ヒアルロン酸媒介性運動のマウス受容体(RHAMM)に関し、マウスRHAMMヒアルロン酸結合ドメインI配列およびそれに続くマウスRHAMMヒアルロン酸結合ドメインIIから構成され、これらのドメインはリンカー(すなわちVVV)により隔てられている。配列番号1の特異的アミノ酸配列は、LKQKIKHVVKLVVVVKLRSQLVVRKQKQNである。

10

【0013】

硝子体の2つの主要な成分はコラーゲンおよびヒアルロン酸なので、本発明は、コラーゲンおよび/またはヒアルロン酸に結合する能力を有する結合複合体(binding conjugate)であって、それにより活性治療剤もしくは診断剤を可逆的に結合できる固定基質として作用する結合複合体を提供する。加えて、コラーゲンおよびヒアルロン酸は、上皮および神経組織に豊富に存在する結合成分であることを考えると、このような結合複合体は、一定の関節および皮膚状態、並びに一定の眼性状態の治療において重要な用途がある。

20

【0014】

例えば、VEGF阻害剤、抗体、又は新規の標的小分子といった薬物を、硝子体内の成分、主にコラーゲンおよび/またはヒアルロン酸、に結合する複合体に連結させることにより、硝子体からの薬物のクリアランス率が低減され、該薬物が長期間にわたって放出される。眼内における薬物の半減期を増加させることは、網膜への薬物の送達により長期になることを意味する。これは、経済上の利点(注射のための通院数の減少)および患者の安全上の利点(注射数の減少は注射に関連する合併症のリスクの低下を意味する)の両方をもたらす。現在、VEGF阻害剤(例えば、ラニズマブ、ペガプタニブ、ベバシズマブ、およびアフリベルセプト)の送達について、臨床現場にはデポ送達デバイスがない。

30

【0015】

驚くことに、アミノ酸のこれらの配列は、繊維、結合、上皮、及び神経組織、並びに、眼の硝子体液内に見られるようなコラーゲンおよび/またはヒアルロン酸の化学構造に対し可逆的な親和性を有するペプチドになることが発見された。加えて、N末端にD-アミノ酸を存在させるおよび/または保護基を含ませることにより、例えば、生体内における酵素分解に対する安定性がより優れたペプチドを提供できる可能性がある。

【0016】

本発明の別の実施形態では、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ (式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である)を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなるペプチドおよび治療剤もしくは診断剤を含んでなるコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体を提供する、ここで、該ペプチドは、N末端に、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含み、該治療剤もしくは診断剤は、場合により、リンカーにより前記ペプチドに結合している。有利なことに、複合体の結合作用により、治療剤もしくは診断剤の除去速度(ひいては排出速度)が非常に遅らせることが発見された。一態様では、複合体は、デポ薬物送達システムとして作用する。

40

【0017】

好ましくは、コラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体は、配列番号1と少なくとも60%の同一性を有する配列を有するペプチド、またはその機能的部分もしくは断片、および治療剤もしくは診断剤を含んでなり、ここで該治療剤もしくは診断剤は場合により、リンカーにより前記ペプチドに結合している。

50

【0018】

本発明における保護基は、N末端アミノ酸の -アミノ基を保護するものを指す。好適な保護基としては、アセチル、ベンゾイル、ベンジル、tert-ブトキシカルボニル、カルボベンジルオキシ、p-メトキシベンジルカルボニル、p-メトキシベンジル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、3,4-ジメトキシベンジル、p-メトキシフェニル、トシル、およびノシルからなる群より選択されるものが挙げられる。好ましくは、保護基は、アセチル、ベンゾイル、ベンジル、tert-ブトキシカルボニル、カルボベンジルオキシ、p-メトキシベンジルカルボニル、p-メトキシベンジル、3,4-ジメトキシベンジル、またはp-メトキシフェニルである。最も好ましくは、保護基はアセチルである。

【0019】

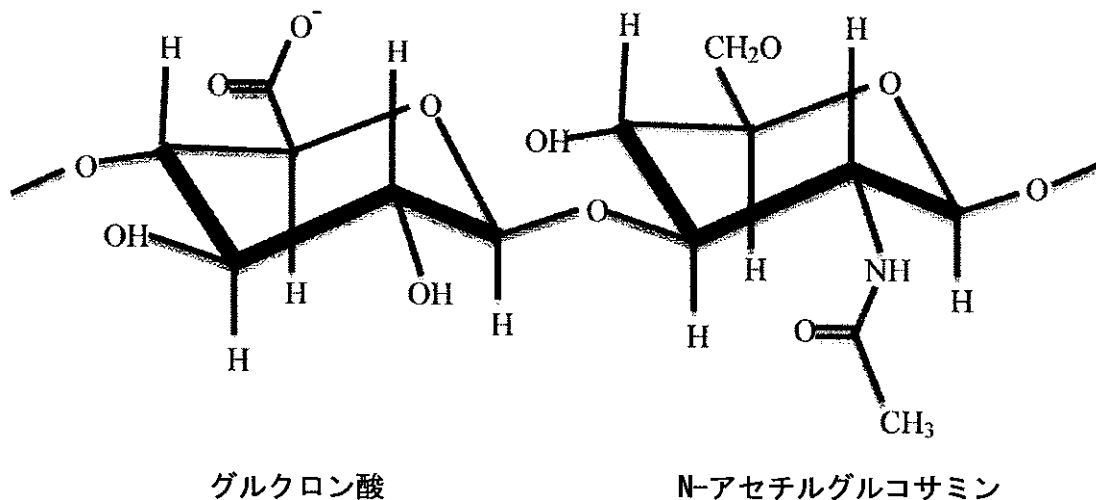
本明細書で使用する用語「コラーゲン」は、ヒトおよび動物の、特に肉および結合組織において見られる天然のタンパク質群を指す。細長いフィブリルの形態で、腱、靭帯、および皮膚のような線維性組織に主に見られ、また、角膜、軟骨、骨、血管、腸、および椎間板にも豊富に存在する。

【0020】

用語「ヒアルロン酸(hyaluronic acid, HA)」は、結合、上皮、および神経組織全体に広く分布する、アニオン性の非硫酸化グリコサミノグリカンを指す。また、硝子体液中にも見られる。ヒアルロン酸は、細胞外マトリックスの主要成分の一つであり、細胞の増殖および遊走に大きく寄与し、そして、いくつかの悪性腫瘍の進行に関与することもある。この用語は、用語「ヒアルロン酸(hyaluronan)」と「ヒアルロン酸(hyaluronate)」と同義的に使用されてもよい。これは、以下に示すようなD-グルクロン酸及びD-N-アセチルグルコサミンの反復単位からなる直鎖状で非分岐の分子である。

【0021】

【化1】



【0022】

用語「硝子体(vitreous)」は、ヒトおよび他の脊椎動物の眼球のレンズと眼球の裏側を裏打ちする網膜との間のスペースを埋める無色透明のゲル状物を指す。この用語は、「硝子体液(vitreous humour)」および「硝子体(vitreous body)」と同義的に使用できる。

【0023】

用語「軟骨」は、ヒトまたは動物の骨間の関節、胸郭、耳、鼻、気管支、及び椎間板を含む体の多くの場所で見られる柔軟な結合組織を指す。この組織は、骨ほど硬く剛性ではないが、筋肉よりは堅く柔軟性がない。これは、コラーゲン線維、プロテオグリカンに富

む大量の基質、及びエラスチン繊維からなる細胞外マトリックスを大量に生産する軟骨細胞と呼ばれる特殊化した細胞から構成されている。軟骨は、上記3つの主要な成分の相対量が異なる弾性軟骨、硝子軟骨、および線維軟骨の3種類に分類される。

【0024】

本発明は、治療対象の特定の部位を標的とし、治療剤もしくは診断剤を可逆的に付着させるためにコラーゲンおよび/またはヒアルロン酸結合複合体が使用できる薬物送達システムに関する。この付着の結果として、治療剤もしくは診断剤が治療部位から容易に除去されず、従って、それらの効果を発揮する滞留時間がより長くなる。

【0025】

驚くことに、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ （式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である）を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなる単離されたペプチドであって、該ペプチドのN末端に、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含み、好ましくは、タンパク質配列番号1と少なくとも60%の同一性を有する配列、またはその機能的部分もしくは断片を有するペプチドを使用することにより達成できることが発見された。しかし、配列番号1の正確な配列は当該技術分野において公知であり、ペプチド自体では特許請求される主題とはならない。そうであるものの、特定の状況での薬物送達システムとしてのその有用性は、以前に検討されていない。

【0026】

ペプチドの機能的断片および部分には、親ペプチドの1つまたは複数の機能を維持するそれらの断片および部分が含まれる。ペプチドをコードするcDNAの遺伝子は1つまたは複数のペプチド機能を実質的に変えずに、著しく変異し得ることが認識されている。第一に、一般的なコードは縮重する（degenerate）ので、したがって、異なるコドンが同じアミノ酸をコードすることが知られている。第二に、アミノ酸の置換が導入されている場合でも、変異は保存的でありタンパク質の本質的な機能に重大な影響を与えない。第三に、ペプチド鎖の一部は、そのすべての機能を損なうかまたは失うことなく欠失し得る。第四に、例えば、エピトプタグを付加することにより、その機能を損なうかまたは失うことなく、ペプチド鎖の挿入または欠失が起こりうる。また、機能的フラグメントおよび部分には、機能が向上したものも含まれる。

【0027】

ペプチドの1つまたは複数の機能を実質的に損なうことなく行うことができる他の修飾として、例えば、インビボまたはインビトロの化学的および生化学的な修飾または異常なアミノ酸の組み込みが挙げられる。かかる修飾として、例えば、アセチル化、カルボキシル化、リン酸化、グリコシル化、ユビキチン化、例えば放射性核種（ ^{32}P 等）による標識化、および種々の酵素的修飾が挙げられる。

【0028】

ペプチドは、修飾の結果として分岐状であってもよく、分岐または非分岐の環状であってもよい。環状、分岐、および分岐環状ペプチドは、翻訳後の天然プロセスから生じ得るか、または合成方法によって作製され得る。

【0029】

実施形態では、ペプチドのC末端またはその機能的部分もしくは断片は、アミドに変換し得る。特に、ペプチドの機能的断片および部分に関し、親ペプチドの同部位が電荷を持つことはないようなペプチド中の部位において荷電基の不自然な導入が回避される。さらに、このことは、ペプチドが選択された全タンパク質の一部であるかのように、該ペプチドが認識されやすくなり得ることを意味する。加えてまたは代替的に、C末端におけるかかる官能基の存在により、エキソペプチダーゼの作用に起因する破壊（breakdown）に対しより耐性を強くすることが可能になる。

【0030】

本発明のタンパク質ホモログは、典型的には、NCBI Basic Protein Blast 2.0を用いてアミノ酸配列全長にわたりアラインすることでカウントする場合、少なくとも60%、例え

10

20

30

40

50

ば少なくとも70%、80%、90%、95%、またはさらには98%もの配列相同性 (homology) を有するという特徴がある。好ましくは、単離されたペプチドは、配列番号1に対し少なくとも80%の相同性、より好ましくは90%の相同性、最も好ましく95%の相同性を有するタンパク質配列、またはその機能的部分もしくは断片を有する。好ましくは、本明細書で使用する用語「相同性」は、同一のアミノ酸又は同一の化学クラス、例えば、極性、塩基性、酸性、疎水性アミノ酸の種類が同じアミノ酸の存在を指す。アミノ酸の種類の特徴付けは、当業者に知られている。

【0031】

好ましい実施形態では、本発明のタンパク質ホモログは、典型的には、NCBI Basic Protein Blast 2.0を用いてアミノ酸配列全長にわたりアラインすることでカウントする場合、少なくとも60%、例えば少なくとも70%、80%、90%、95%、またはさらには98%もの配列同一性 (identity) を有するという特徴がある。好ましくは、単離されたペプチドは、配列番号1に対し少なくとも80%の同一性、より好ましくは90%の同一性、最も好ましく95%の同一性を有するタンパク質配列、またはその機能的部分もしくは断片を有する。

10

【0032】

配列番号1の機能的断片もしくは部分の点では、本発明のペプチドは、配列番号1から少なくとも5個の連続するアミノ酸を含んでもよいが、但し、かかる断片または部分が、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示すことを条件する。好ましい態様では、本発明のペプチドは、少なくとも6、7、8、または9個の連続するアミノ酸、より好ましくは少なくとも10、11、または12個の連続するアミノ酸を含み、そして、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す。本ペプチドの機能的断片もしくは部分は、モチーフB¹-X₃₋₁₀-B²を有するアミノ酸の配列を少なくとも1つ、好ましくは2つまたは3つ含有する。

20

【0033】

ペプチドの親和性は、ヒアルロン酸および/またはコラーゲンに対するその結合親和性の観点で定義され得て、硝子体物質 (例えば、ヒアルロン酸) を含有するマイクロ平衡透析の一方のチャンバから、このような結合ペプチドが存在しない硝子体物質を含有する他方のチャンバへの拡散により評価し得る。したがって、時間の経過と共に最初のチャンバ内に残っているペプチドの濃度が、硝子体中に残存するペプチドの量を評価するための定量的なパラメータを提供し、このパラメータは、本質的にヒアルロン酸に対するペプチドの結合特性によって支配される。配列番号1のペプチドの結合特性を比較することにより、相対的な親和性が決定できる (例えば、図3参照)。

30

【0034】

本発明のペプチドまたはその機能的部分もしくは断片の親和性は、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す。しかし、親和性はこれよりも強力であってもよく、例えば、少なくとも75%、80%、および95%といったレベルの親和性が挙げられる。好ましい実施形態では、ペプチドの親和性は、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも85%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも85%の親和性を示し、より好ましくは、親和性は、少なくとも90%、更により好ましくは少なくとも95%または97%である。

40

【0035】

本願に記載の配列番号1の特定の断片もしくは部分としては、表1に挙げるものが含まれる。これらのペプチドのN末端は、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含

50

み、かつ、C末端はアミドに変換し得る。

【 0 0 3 6 】

【 表 1 - 1 】

配列番号	ペプチド配列
配列番号2	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKRKQ
配列番号3	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKRK
配列番号4	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKR
配列番号5	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVK
配列番号6	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLV
配列番号7	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQL
配列番号8	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQ
配列番号9	LKQKIKHVVKLKVVVKLRS
配列番号10	LKQKIKHVVKLKVVVKLR
配列番号11	LKQKIKHVVKLKVVVKL
配列番号12	LKQKIKHVVKLKVVVK
配列番号13	LKQKIKHVVKLKVVV
配列番号14	LKQKIKHVVKLKVV
配列番号15	LKQKIKHVVKLV
配列番号16	LKQKIKHVVKLK
配列番号17	LKQKIKHVVKL
配列番号18	LKQKIKHVVK
配列番号19	LKQKIKHV
配列番号20	LKQKIKHV
配列番号21	LKQKIKH
配列番号22	LKQKIK
配列番号23	KQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKRKQN
配列番号24	QKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKRKQN
配列番号25	KIKHVVKLKVVVKLRSQLVKRKQN
配列番号26	IKHVVKLKVVVKLRSQLVKRKQN
配列番号27	KHVVKLKVVVKLRSQLVKRKQN
配列番号28	HVVKLKVVVKLRSQLVKRKQN
配列番号29	VVKLKVVVKLRSQLVKRKQN
配列番号30	VKLKVVVKLRSQLVKRKQN
配列番号31	KLKVVVKLRSQLVKRKQN
配列番号32	LKVVVKLRSQLVKRKQN
配列番号33	KVVVKLRSQLVKRKQN
配列番号34	VVKLRSQLVKRKQN

10

20

30

40

【表 1 - 2】

配列番号	ペプチド配列
配列番号35	VVKLRSQLVKKRQN
配列番号36	VKLRSQLVKKRQN
配列番号37	KLRSQVKKRQN
配列番号38	LRSQVKKRQN
配列番号39	RSQVKKRQN
配列番号40	KQKIKHVVKLVVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号41	QKIKHVVKLVVVVKLRSQLVKKR
配列番号42	KIKHVVKLVVVVKLRSQLVKK
配列番号43	IKHVVKLVVVVKLRSQLVK
配列番号44	KHVVKLVVVVKLRSQLV
配列番号45	HVVKLVVVVKLRSQL
配列番号46	VVKLVVVVKLRSQL
配列番号47	VKLVVVVKLRSQL
配列番号48	KLKVVVKLR
配列番号49	LKVVVKL
配列番号50	KVVVK
配列番号51	QKIKHVVKLVVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号52	KIKHVVKLVVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号53	IKHVVKLVVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号54	KHVVKLVVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号55	HVVKLVVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号56	VVKLVVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号57	VKLVVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号58	KLKVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号59	LKVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号60	KVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号61	VVVVKLRSQLVKKRQ
配列番号62	VVKLRSQLVKKRQ
配列番号63	VKLRSQLVKKRQ
配列番号64	KLRSQVKKRQ
配列番号65	LRSQVKKRQ
配列番号66	RSQVKKRQ
配列番号67	QKIKHVVKLVVVVKLRSQLVKKR

10

20

30

40

【表 1 - 3】

配列番号	ペプチド配列
配列番号68	KIKHVVKLKVVVKLRSQLVKRK
配列番号69	IKHVVKLKVVVKLRSQLVKRK
配列番号70	KHVVKLKVVVKLRSQLVKRK
配列番号71	HVVVKLKVVVKLRSQLVKRK
配列番号72	VVKLKVVVKLRSQLVKRK
配列番号73	VKLVVVVKLRSQLVKRK
配列番号74	KLKVVVKLRSQLVKRK
配列番号75	LKVVVKLRSQLVKRK
配列番号76	KVVVKLRSQLVKRK
配列番号77	VVKLRSQLVKRK
配列番号78	VVKLRSQLVKRK
配列番号79	VKLRQSLVKRK
配列番号80	KLRSQLVKRK
配列番号81	LRSQLVKRK
配列番号82	RSQLVKRK
配列番号83	QKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKR
配列番号84	KIKHVVKLKVVVKLRSQLVKR
配列番号85	IKHVVKLKVVVKLRSQLVKR
配列番号86	KHVVKLKVVVKLRSQLVKR
配列番号87	HVVVKLKVVVKLRSQLVKR
配列番号88	VVKLKVVVKLRSQLVKR
配列番号89	VKLVVVVKLRSQLVKR
配列番号90	KLKVVVKLRSQLVKR
配列番号91	LKVVVKLRSQLVKR
配列番号92	KVVVKLRSQLVKR
配列番号93	VVKLRSQLVKR
配列番号94	VVKLRSQLVKR
配列番号95	VKLRQSLVKR
配列番号96	KLRSQLVKR
配列番号97	LRSQLVKR
配列番号98	RSQLVKR
配列番号99	QKIKHVVKLKVVVKLRSQLVK
配列番号100	KIKHVVKLKVVVKLRSQLVK

10

20

30

40

【表 1 - 4】

配列番号	ペプチド配列
配列番号101	IKHVVKLKVVVKLRSQLVK
配列番号102	KHVVKLKVVVKLRSQLVK
配列番号103	HVVVKLKVVVKLRSQLVK
配列番号104	VVKLKVVVKLRSQLVK
配列番号105	VKLVVVVKLRSQLVK
配列番号106	KLKVVVKLRSQLVK
配列番号107	LKVVVKLRSQLVK
配列番号108	KVVVKLRSQLVK
配列番号109	VVVVKLRSQLVK
配列番号110	VVKLRSQLVK
配列番号111	VKLRQSLVK
配列番号112	KLRSQLVK
配列番号113	LRSQLVK
配列番号114	RSQLVK
配列番号115	QKIKHVVKLKVVVKLRSQLV
配列番号116	KIKHVVKLKVVVKLRSQLV
配列番号117	IKHVVKLKVVVKLRSQLV
配列番号118	KHVVKLKVVVKLRSQLV
配列番号119	HVVVKLKVVVKLRSQLV
配列番号120	VVKLKVVVKLRSQLV
配列番号121	VKLVVVVKLRSQLV
配列番号122	KLKVVVKLRSQLV
配列番号123	LKVVVKLRSQLV
配列番号124	KVVVKLRSQLV
配列番号125	QKIKHVVKLKVVVKLRSQL
配列番号126	KIKHVVKLKVVVKLRSQL
配列番号127	IKHVVKLKVVVKLRSQL
配列番号128	KHVVKLKVVVKLRSQL
配列番号129	HVVVKLKVVVKLRSQL
配列番号130	VVKLKVVVKLRSQL
配列番号131	VKLVVVVKLRSQL
配列番号132	KLKVVVKLRSQL
配列番号133	LKVVVKLRSQL

10

20

30

40

【表 1 - 5】

配列番号	ペプチド配列
配列番号134	KVVVKLRSQ
配列番号135	QKIKHVVKLKVVVKLRSQ
配列番号136	KIKHVVKLKVVVKLRSQ
配列番号137	IKHVVKLKVVVKLRSQ
配列番号138	KHVVKLKVVVKLRSQ
配列番号139	HVVKLKVVVKLRSQ
配列番号140	VVKLKVVVKLRSQ
配列番号141	VVKLKVVVKLRSQ
配列番号142	KLKVVVKLRSQ
配列番号143	LKVVVKLRSQ
配列番号144	KVVVKLRSQ
配列番号145	QKIKHVVKLKVVVKLRS
配列番号146	KIKHVVKLKVVVKLRS
配列番号147	IKHVVKLKVVVKLRS
配列番号148	KHVVKLKVVVKLRS
配列番号149	HVVKLKVVVKLRS
配列番号150	VVKLKVVVKLRS
配列番号151	VVKLKVVVKLRS
配列番号152	KLKVVVKLRS
配列番号153	LKVVVKLRS
配列番号154	KVVVKLRS
配列番号155	QKIKHVVKLKVVVKLR
配列番号156	KIKHVVKLKVVVKLR
配列番号157	IKHVVKLKVVVKLR
配列番号158	KHVVKLKVVVKLR
配列番号159	HVVKLKVVVKLR
配列番号160	VVKLKVVVKLR
配列番号161	VVKLKVVVKLR
配列番号162	KLKVVVKLR
配列番号163	LKVVVKLR
配列番号164	KVVVKLR
配列番号165	VVKLR
配列番号166	VVKLR

10

20

30

40

【表 1 - 6】

配列番号	ペプチド配列
配列番号167	QKIKHVVKLKVVVKL
配列番号168	KIKHVVKLKVVVKL
配列番号169	IKHVVKLKVVVKL
配列番号170	KHVVKLKVVVKL
配列番号171	HVVKLKVVVKL
配列番号172	VVKLKVVVKL
配列番号173	VVKLKVVVKL
配列番号174	KLKVVVKL
配列番号175	LKVVVKL
配列番号176	KVVVKL
配列番号177	QKIKHVVKLKVVVK
配列番号178	KIKHVVKLKVVVK
配列番号179	IKHVVKLKVVVK
配列番号180	KHVVKLKVVVK
配列番号181	HVVKLKVVVK
配列番号182	VVKLKVVVK
配列番号183	VVKLKVVVK
配列番号184	KLKVVVK
配列番号185	LKVVVK
配列番号186	QKIKHVVKLKVVV
配列番号187	KIKHVVKLKVVV
配列番号188	IKHVVKLKVVV
配列番号189	KHVVKLKVVV
配列番号190	HVVKLKVVV
配列番号191	QKIKHVVKLKVV
配列番号192	KIKHVVKLKVV
配列番号193	IKHVVKLKVV
配列番号194	KHVVKLKVV
配列番号195	HVVKLKVV
配列番号196	QKIKHVVKLKV
配列番号197	KIKHVVKLKV
配列番号198	IKHVVKLKV
配列番号199	KHVVKLKV

10

20

30

40

【表 1 - 7】

配列番号	ペプチド配列
配列番号200	HVVKLV
配列番号201	QKIKHVVKLK
配列番号202	KIKHVVKLK
配列番号203	IKHVVKLK
配列番号204	KHVVKLK
配列番号205	HVVKLK
配列番号206	QKIKHVVKL
配列番号207	KIKHVVKL
配列番号208	IKHVVKL
配列番号209	KHVVKL
配列番号210	QKIKHVVK
配列番号211	KIKHVVK
配列番号212	IKHVVK
配列番号213	KHVVK
配列番号214	KIKHV
配列番号215	IKHV
配列番号216	QKIKHV
配列番号217	KIKHV
配列番号218	QKIKH
配列番号219	LKQKIKHVVKLK
配列番号220	KQKIKHVVKLK
配列番号221	KQKIKHVVKL
配列番号222	KQKIKHVVK
配列番号223	KQKIKHV
配列番号224	KQKIKHV
配列番号225	KQKIKH
配列番号226	KQKIK
配列番号227	QKIKHVVKLK
配列番号228	KIKHVVKLK
配列番号229	IKHVVKLK
配列番号230	KHVVKLK
配列番号231	HVVKLK
配列番号232	KLRSQLVKRKQN

10

20

30

40

【表 1 - 8】

配列番号	ペプチド配列
配列番号233	KLRSQLVKRKQ
配列番号234	KLRSQLVKRK
配列番号235	KLRSQLVKR
配列番号236	KLRSQLVK
配列番号237	LRSQLVKRKQ
配列番号238	RSQLVKRKQ

10

【0037】

本発明の一部を形成するペプチドは、生物の細胞中で天然に生じる可能性のある他の生物学的成分、すなわち他の染色体又は染色体外DNAおよびRNA、タンパク質、細胞小器官等から実質的に隔離されているという意味で単離された生物学的成分である。単離された核酸およびタンパク質としては、標準的な精製方法によって精製された核酸およびタンパク質が挙げられる。また、用語「単離された」は、宿主細胞における組換え発現によって生じた核酸およびタンパク質、ならびに化学的に合成された核酸およびタンパク質をも包含する。

20

【0038】

本発明のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体における治療剤もしくは診断剤は、共有結合または非共有結合によりペプチドに結合し得る。

【0039】

治療剤もしくは診断剤が非共有的にペプチドに結合する場合、結合は、ビオチン-ストレプトアビジン複合体によって成され得る。例えば、ペプチドは、場合により、リンカーを介して、ビオチン部分に共有結合により結合することができ、そして、治療剤もしくは診断剤は、場合により、リンカーを介して、ストレプトアビジン部分に共有結合により結合することができる。あるいは、ペプチドは、場合により、リンカーを介して、ストレプトアビジン部分に共有結合により結合することができ、そして、治療剤もしくは診断剤は、場合により、リンカーを介して、ビオチン部分に共有結合により結合することができる。この例における任意のリンカー基は、場合によりペプチドを治療剤もしくは診断剤へ結合するリンカーと同じであってもよい。

30

【0040】

コラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体は、ペプチドを治療剤もしくは診断剤に結合するリンカーを含み得る。任意の市販のクロスリンカーは、適切なリンカーであってもよい。このようなクロスリンカーは、典型的には、各末端に化学的に反応性のある基を有する直鎖状分子である。適切な条件下で、これらのクロスリンカーは、2つの分子、つまり、ペプチドと治療剤もしくは診断剤との間に共有結合を形成できる。重要なことに、これらのクロスリンカーは、それぞれの生物学的機能を維持しながら、一端をペプチドに結合させ他端を治療剤もしくは診断剤に結合させる。好ましくは、存在する場合、本発明のリンカーは、両端に異なる反応性基を有するヘテロ二官能性クロスリンカーである。これにより、より特異的かつ順次的な (specific and sequential) (2段階の) 結合が可能になり、類似する基、例えば治療剤と治療剤との結合またはペプチドとペプチドとの結合による重合または二量体化の可能性を最小限に抑える。

40

【0041】

特に、存在する場合、リンカーは、短鎖ペプチド (例えば、1~10個のアミノ酸)、ポリエチレングリコールオリゴマー (例えば、2~10個のポリエチレングリコール単位)、 C_{1-20} アルキレン基 (例えば、 C_{1-10} アルキレン基)、 C_{2-20} アルケニレン基 (例えば、

50

C₂₋₁₀アルケニレン基)、C₁₋₁₀アルキレン基(例えば、C₁₋₁₀アルキレン基)またはC₂₋₁₀アルケニレン基(例えば、C₂₋₁₀アルケニレン基)により隔離されたマレイミドおよびヒドラジド官能基(例えば、図9参照)、またはそれらの任意の組み合わせを含んでもよい。好ましくは、リンカーは、1~10個のアミノ酸の短鎖ペプチド、C₁₋₁₀アルキレン基により隔離されたマレイミドおよびヒドラジド官能基、またはそれらの任意の組み合わせを含む。このようなリンカーは、ペプチドと治療剤もしくは診断剤との間の立体障害の発生を防ぐ。

【0042】

本明細書中で使用する用語「C_{x-y}アルキレン」とは、x~y個の炭素原子を含有する直鎖状または分岐状の飽和炭化水素基である二価の炭化水素基(例えば、-CH₂-または>CCH₃)を指す。C₁₋₁₀アルキレン基の例として、メチレン、エチレン、プロピレン、ブチレン、ヘキシレン、等が挙げられる。

10

【0043】

本明細書中で使用する用語「C_{x-y}アルケニレン」とは、1つまたは複数の炭素-炭素二重結合を含み、x~y個の炭素原子を有する直鎖状または分岐状の炭化水素基である二価の炭化水素基(例えば、-CH=CH-または>C=CH₂)を指す。C₂₋₁₀アルケニレン基の例として、ビニレン、プロペニレン、ブテニレン、ヘキセニレン、等が挙げられる。

【0044】

リンカーの一部を形成することができるポリエチレングリコールオリゴマーは、2~10個のエチレンオキシドの繰り返し単位を有するオリゴマー、すなわち式H-(O-CH₂-CH₂)_n-OH(式中、nは2~10の整数である)を指す。

20

【0045】

好ましくは、短鎖ペプチドは、アミノ酸グリシン、セリン、リジン、システイン、グルタミン酸および/またはアスパラギン酸、例えば、-GGGS-、GGGSK、GGGSKC、等を含む。また、存在する場合、前記リンカーは、好ましくはペプチドのC末端に位置する。

【0046】

また、リンカーは、更に標識部分を含んでもよい。好適な標識部分としては、蛍光、発光、または放射性核種標識が挙げられる。例えば、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)を、結合特性の定量的な分析をするための蛍光標識として用いてもよい。他の好適な標識部分としては、アレクサフルオロ色素、シアニン色素、および量子ドットが挙げられる。さらに、ビオチンを検出のための標識として用いてもよい。

30

【0047】

本発明のペプチドは、硝子体における様々な治療剤を保持するために使用できる。このような物質としては、抗体(例えば、ベバシズマブ)、FAB抗体断片(例えば、ラニビズマブ)、融合タンパク質(例えば、アフリベルセプト)、ペプチド(例えば、kinestatin)、アダプター(例えば、ペガプタニブ)、および小分子治療剤が挙げられる。

【0048】

特に、治療剤は、VEGF阻害剤、2-アドレナリンアゴニスト、-アドレナリンアンタゴニスト、アンジオテンシンIIアンタゴニスト、ACE阻害剤、NSAID、抗マラリア薬、コルチコステロイド、免疫抑制剤、モノクローナル抗体、レチノイド、DMARD、生物製剤、硝酸塩、プロスタグランジン、およびエンドセリンアンタゴニストからなる群より選択されてもよい。

40

【0049】

好適なVEGF阻害剤としては、モノクローナル抗体、例えばベバシズマブ(アバスチン)、抗体誘導体、例えばラニビズマブ(ルセンティス)、VEGFによって刺激されたチロシンキナーゼを阻害する分子、例えば、ラパチニブ(タイケルブ)、スニチニブ(スーテント)、ソラフェニブ(ネクサパール)、アキシチニブ、およびパゾパニブが挙げられる。これらの薬剤のいくつかは、VEGFではなくVEGF受容体を標的とする。テトラヒドロカンナビノール(THC)及びカンナビジオールの両者はVEGFを阻害し神経膠腫の成長を遅らせる。

【0050】

50

好適な 2-アドレナリンアゴニストとしては、アブラクロニジン、プリモニジン、クロニジン、デトミジン、デクスメドミジン、グアナベンズ、グアンファシン、ロフェキシジン、メドミジン、ロミフィジン、チザニジン、トロニジン、キシラジン、ファドルミジン、キシロメタゾリン、およびオキシメタゾリン（部分 2アゴニスト）が挙げられる。

【0051】

好適な β -アドレナリンアンタゴニストとしては、アルブレノロール、ブシンドロール、カルテオロール、カルベジロール、ラベタロール、ナドロール、オクスプレノロール、ペンプトロール、ピンドロール、プロプラノロール、ソタロール、チモロール、杜仲、アセプトロール、アテノロール、ベタキソロール、ピソプロロール、セリプロロール、エスモロール、メトプロロール、ネビボロール、プトキサミン、ICI-118,551、およびSR 5923 0Aが挙げられる。

10

【0052】

好適なアンギオテンシンIIアンタゴニストとしては、ロサルタン、イルベサルタン、オルメサルタン、カンデサルタン、バルサルタン、およびテルミサルタンが挙げられる。

【0053】

好適なACE阻害剤としては、カプトプリル（カボテン）、ゾフェノプリル、エナラプリル（Vasotec/Renitec）、ラミプリル（Altace/Prilace/Ramace/Ramiwin/Triatec/Tritace）、キナプリル（Accupril）、ペリンドプリル（Cover syl/Aceon）、リシノプリル（Listril/Lopril/Novatec/Prinivil/Zestril）、ベナゼプリル（Lotensin）、イミダプリル（Tanatril）、ゾフェノプリル（Zofecard）、トランドラプリル（Mavik/Odrik/Gopten）、およびフォシノプリル（Fositen/Monopril）が挙げられる。

20

【0054】

好適なNSAIDとしては、アスピリン（アセチルサリチル酸）、ジフルニサル、サルサレート、イブプロフェン、デクスイブプロフェン、ナブロキセン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、デクスケトプロフェン、フルルビプロフェン、オキサプロジン、ロキソプロフェン、インドメタシン、トルメチン、スリンダク、エトドラク、ケトロラク、ジクロフェナク、ナブメトン、ピロキシカム、メロキシカム、テノキシカム、ドロキシカム、ロルノキシカム、イソキシカム、メフェナム酸、メクロフェナム酸、フルフェナム酸、トルフェナム酸、セレコキシブ、ロフェコキシブ、バルデコキシブ、パレコキシブ、ルミラコキシブ、エトリコキシブ、フィロコキシブ、ニメスリド、リコフェロン、リジンクロニキシン、ハイパーフォリン、及びゴマノハグサが挙げられる。

30

【0055】

好適な抗マラリア薬としては、キニーネ、クロロキン、アモジアキン、ピリメタミン、プログアニル、スルホンアミド、メフロキン、アトバコン、プリマキン、アルテミシニン（及びその誘導体）、ハロファントリン、ドキシサイクリン、およびクリンダマイシンが挙げられる。

【0056】

好適なコルチコステロイドとしては、ヒドロコルチゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、酢酸コルチゾン、ピバル酸チキソコルトール、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾン、トリアムシノロンアセトニド、トリアムシノロンアルコール、モメタゾン、ラムシノニド、ブデソニド、デソニド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、ハルシノニド、ベタメタゾン、ベタメタゾンリン酸ナトリウム、デキサメタゾン、デキサメタゾンリン酸ナトリウム、フルオコルトロン、ヒドロコルチゾン-17-吉草酸、アルクロメタゾンジプロピオナート、吉草酸ベタメタゾン、ジプロピオン酸ベタメタゾン、プレドニカルバート、クロベタゾン-17-ブチレート、クロベタゾール-17-プロピオネート、カプロン酸フルオコルトロン、フルオコルトロンピバレート、フルプレドニデン酢酸、ヒドロコルチゾン-17ブチレート、17-アセボナート、17-ブテプレート、およびプレドニカルバートが挙げられる。

40

【0057】

50

好適な免疫抑制剤としては、グルココルチコイド、例えば、ヒドロコルチゾン、コルチゾン、プレドニゾン、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、デキサメタゾン、ベタメタゾン、トリアムシノロン、ベクロメタゾン、酢酸フルドロコルチゾン、酢酸デオキシコルチコステロン (DOCA)、アルドステロン、細胞増殖抑制剤、例えば、ナイトロジェンマスタード (シクロホスファミド)、ニトロソウレア、白金化合物等、葉酸類似体 (メトトレキサート)、プリン類似体 (アザチオプリン及びメルカプトプリン)、ピリミジン類似体、細胞傷害性抗生物質、例えば、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、およびミトラマイシン、カルシニューリン阻害剤 (CNIS)、例えば、タクロリムスおよびシクロスポリン、マクロライドラクトン、例えば、シロリムス (ラパマイシン、商品名ラパミューン)、インターフェロン、例えば、IFN- α 、オピオイド、例えば、コデイン、モルヒネ、テバイン、オリパビン、ジアセチルモルヒネ、ニコモルヒネ、ジプロパノイルモルヒネ、ジアセチルジヒドロモルヒネ、アセチルプロピノイルモルヒネ、デソモルヒネ、メチルモルデソルフィン、ジベンゾイルモルヒネ、ジヒドロコデイン、エチルモルヒネ、ヘテロコデイン、ブプレノルフィン、エトルフィン、ヒドロコドン、ヒドロモルフォン、オキシコドン、オキシモルフォン、フェンタニル、メチルフェンタニル、アルフェンタニル、スフェンタニル、レミフェンタニル、カーフェンタニル、オーメフェンタニル、ペチジン (メペリジン)、ケトベミドン、ア ril プロジン、プロジン、プロポキシフェン、デクストロプロポキシフェン、デクストロモラミド、ベジトラミド、ピリトラミド、メタドン、ジピバノン、酢酸レボメタジル (LAAM)、ジフェノキシ、ジフェノキシラート、ロペラミド、デゾシン、ペンタゾシン、フェナゾシン、ブプレノルフィン、ジヒドロエトルフィン、エトルフィン、ブトルファノール、ナルブフィン、レボルファノール、レボメトルファン、レフェタミン、メブタジノール、チリジン、トラマドール、タペンタドール、ナルメフェン、ナロキソン、およびナルトレキソン、TNF結合タンパク質、例えば、インフリキシマブ (レミケード)、エタネルセプト (エンブレル)、アダリムマブ、クルクミン (ウコンの原料)、およびカテキン類 (緑茶に見られる)、イノシン5'- α -リリン酸脱水素酵素 (IMPDH) 阻害剤、例えば、ミコフェノール酸、および他の小さな生物剤、例えば、フィンゴリモド、およびミリオシンが挙げられる。

10

20

30

40

50

【0058】

好適なモノクローナル抗体としては、ベバシズマブ、セツキシマブ、パニツムマブ、トラスツズマブ、インフリキシマブ、アダリムマブ、バシリキシマブ、ダクリズマブ、およびオマリズマブが挙げられる。

【0059】

好適なレチノイドとしては、レチノール、レチナール、トレチノイン (レチノイン酸、レチンA)、イソトレチノイン、アリトレチノイン、エトレチナート及びその代謝物アシトレチン、タザロテン、ベキサロテン、およびアダパレンが挙げられる。

【0060】

好適な疾患修飾性抗リウマチ薬物 (DMARD) としては、アダリムマブ、アザチオプリン、シクロスポリン、クロロキンおよびヒドロキシクロロキン、D-ペニシラミン、エタネルセプト、ゴリムマブ、金塩 (アウロチオマレイン酸ナトリウム、オーラノフィン)、インフリキシマブ、レフルノミド、メトトレキサート (MTX)、ミノサイクリン、リツキシマブ、およびスルファサラジン (SSZ) が挙げられる。

【0061】

好適な生物製剤としては、アブシキシマブ、エタネルセプト (エンブレル)、インフリキシマブ (レミケード)、リツキシマブ (リツキサン)、トラスツズマブ (ハーセプチン)、およびオクリプラスミン (Jetrea) が挙げられる。

【0062】

好適な硝酸塩としては、ニトログリセリン (GTN)、硝酸イソソルビド、および一硝酸イソソルビドが挙げられる。

【0063】

好適なプロスタグランジンとしては、プロスタサイクリン I_2 (PG I_2)、プロスタグランジ

ンE₂(PGE₂)、およびプロスタグランジンF₂ (PGF₂)が挙げられる。

【0064】

好適なエンドセリンアンタゴニストとしては、シタキセンタン、アンブリセンタン、アトラセンタン、BQ-123、ジボテンタン、ボセンタン、マシテンタン、テゾセンタン、BQ-788、およびA192621が挙げられる。

【0065】

特に、本発明の結合複合体は、VEGF阻害剤と組み合わせて用いてもよい。この組み合わせは、いくつかの状態に対し他の可能性のある治療法よりも優れた多くの利点を有する。例えば、VEGF阻害剤を長期的に硝子体内へ送達する可能性のある遺伝子治療法とは異なり、単純な生物学的薬物の副作用プロファイルが比較的よく理解されている（ラニズマブ、ペガプタニブ、ベパシズマブ、およびアフリベルセプトを用いた世界的な経験則）。よって、本発明の技術を使用してこのような生物学的薬物を送達することは、投与された薬物の生物学的プロファイルを正確に予測および管理できることを意味する。さらに、副作用が生じることがわかっている例では、本発明の製剤を除去するための硝子体切除術を実施できるものの、遺伝子治療を用いた類似の治療的切除術（abrogation）は現在利用可能でない。

10

【0066】

コラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体の診断剤は、蛍光、発光、または放射性核種標識を含んでもよい。例えば、特定の診断剤として、フルオレセインナトリウムとインドシアニングリーンが挙げられる。

20

【0067】

本発明の別の実施形態では、本発明のペプチド、または本発明のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体、および少なくとも1つの医薬的に許容される賦形剤を含んでなる医薬組成物を提供する。

【0068】

特に、ヒトまたは動物の身体の特定の組織を標的とする結合部分の能力のため、本発明のペプチド、本発明のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体、または本発明の医薬組成物は、治療法、特に、加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、緑内障、全身性エリテマトーデス、関節炎、関節リウマチ、強皮症、多発性筋炎、または皮膚筋炎の予防または治療における使用に好適である。好ましくは、加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、または緑内障等の眼性疾患もしくは状態に適用可能である。特に、加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、網膜静脈閉塞症、ブドウ膜炎、および緑内障が、本発明のペプチド、複合体または医薬組成物を用いて予防または治療し得る好ましい医学的症状である。

30

【0069】

本医薬組成物は、結合複合体が使用に関連する部位に送達されることを可能にする賦形剤を含んでもよい。賦形剤は、特定の部位を標的とするか、あるいはその部位への送達を改善し得る。また、結合複合体を安定化する賦形剤を含んでもよい。任意の適切な安定剤を使用してもよい。

40

【0070】

本発明の医薬組成物は、任意の医薬的に許容される担体、アジュバントまたはビヒクルを含んでもよい。本医薬組成物に使用可能な医薬的に許容される担体、アジュバント、またはビヒクルとしては、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、血清タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミン、緩衝物質、例えば、リン酸塩、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、飽和植物脂肪酸の部分グリセリド混合物、水、塩または電解質、例えば、硫酸プロタミン、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイド状シリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロースベースの物質、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロー

50

スナトリウム、ポリアクリレート、ワックス、ポリエチレン-ポリオキシプロピレン-ブロックポリマー、ポリエチレングリコールおよび羊毛脂が挙げられるがこれらに限定されない。

【0071】

本発明の医薬組成物は、経口的、非経口的、吸入スプレーにより、局所的に、直腸から、経鼻的に、口腔内に、経膈的に、または移植リザーバーを介して投与されてもよい。好ましくは、医薬組成物は、局所的に、移植リザーバーを介して、または注射により（より好ましくは、注射により）投与される。本医薬組成物は、任意の従来のものでよい。本明細書で使用される非経口という用語は、皮下、皮内、静脈内、筋肉内、関節内、滑液嚢内、胸骨内、髄腔内、眼内、病巣内、および頭蓋内への注射または注入技術を含む。好ましくは、本組成物の投与経路は、眼内または関節内投与が好ましい。

10

【0072】

本医薬組成物は、例えば滅菌注射用の水性または油性懸濁液といった滅菌注射用製剤の形態であってもよい。この懸濁液は、適切な分散剤または湿潤剤（例えば、Tween 80など）や懸濁化剤を用いて、当該技術分野で公知の技術に従って調合できる。滅菌注射用製剤は、非経口的に許容される非毒性の希釈剤または溶媒の滅菌注射溶液または懸濁液、例えば、1,3-ブタンジオール溶液として、存在してもよい。許容されるビヒクルおよび溶媒の中でも、マンニトール、水、リンゲル液、および等張塩化ナトリウム溶液が使用できる。さらに、滅菌の固定油は、溶媒または懸濁媒体として従来から使用されている。この目的のため、合成モノグリセリドまたはジグリセリドを含めた任意のブランドの固定油を使用してもよい。オレイン酸およびそのグリセリド誘導体などの脂肪酸が、オリーブ油またはヒマシ油、特にそれらのポリオキシエチル化バージョンといった医薬的に許容される天然の油なので、注射剤の調製に有用である。また、これらの油溶液または懸濁液は、Ph. He Ivまたは類似のアルコールなどの長鎖アルコール希釈剤または分散剤を含んでもよい。

20

【0073】

所望の治療が局所適用によって容易に接近可能な領域または臓器を含む場合、本発明の医薬組成物の局所投与は特に有用である。皮膚への局所適用には、活性成分が担体中に懸濁または溶解した適切な軟膏を用いて本医薬組成物を調合すべきである。本発明の分子の局所投与用の担体としては、鉱油、液体石油、白色石油、プロピレングリコール、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン化合物、乳化ワックスおよび水が挙げられるが、これらに限定されない。あるいは、本医薬組成物は、活性化合物が担体中に懸濁または溶解した適切なローションまたはクリームを用いてもよい。適切な担体としては、鉱油、モノステアリン酸ソルビタン、ポリソルベート60、セチルエステルワックス、セテアリルアルコール、2-オクチルドデカノール、ベンジルアルコールおよび水が挙げられるが、これらに限定されない。また、本発明の医薬組成物は、局所的に、直腸坐薬製剤または適切な浣腸製剤により腸管下部に適用してもよい。局所経皮パッチも本発明に含まれる。

30

【0074】

特に、本発明の結合複合体は、透明な溶液に調合できる。したがって、眼性状態を治療するために使用されるとき、確実に視覚的濁りが発生しないようにし、既存の治療に関するペイロードの問題を軽減する。

40

【0075】

結合複合体が本発明のペプチドを含む場合、有利なことに、本製剤は固有の抗菌/抗炎症特性を有することが見出された。本製剤が非経口投与される場合、外部からの感染の可能性がさらに低減される。

【0076】

1の実施形態では、医薬組成物が、少なくとも1つの追加の非複合性の治療剤（additional unconjugated therapeutic agent）、つまり、コラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体に共有結合していない治療剤、を含むことが望ましいことがある。この場合、複合性および非複合性の両方の治療剤の混合物を含む製剤により、短期作用成分（すなわち

50

、非複合性剤)と長期作用成分(すなわち複合性剤)の両方が同じ製剤中に存在することが可能になる。

【0077】

好適な追加の非複合性治療剤としては、VEGF阻害剤、2-アドレナリンアゴニスト、-アドレナリンアンタゴニスト、アンジオテンシンIIアンタゴニスト、ACE阻害剤、NSAID、抗マラリア薬、コルチコステロイド、免疫抑制剤、モノクローナル抗体、レチノイド、DMARD、生物製剤、硝酸塩、プロスタグランジン、およびエンドセリンアンタゴニストからなる群より選択されるものが挙げられる。

【0078】

本発明の更なる実施態様では、コラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体を調製するための、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ (式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である)を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなる単離されたペプチドであって、該ペプチドのN末端に、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含むペプチドの使用が提供される。

10

【0079】

好ましくは、該使用は、コラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体を調製するための、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する配列を有するペプチド、またはその機能的部分もしくは断片に関する。より好ましくは、前記機能的部分もしくは断片は、配列番号1から少なくとも5個の連続するアミノ酸を含んでなり、そして、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す。追加的にまたは代替的に、該ペプチドは、表1に示すいずれかの配列を有する機能的部分もしくは断片であり、かつ、ヒアルロン酸に対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す、および/または、コラーゲンに対し、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する前記ペプチドの少なくとも70%の親和性を示す。

20

【0080】

本発明の別の実施形態では、加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、または緑内障等の眼性疾患もしくは状態の予防または治療に使用するための、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ (式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である)を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなる単離されたペプチドが提供される。好ましくは、このように使用するためのペプチドは、配列番号1と少なくとも60%の相同性を有する配列を有する単離されたペプチドまたはその機能的部分もしくは断片である。また、該ペプチドのN末端は、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含むことが好ましい。

30

【0081】

また、加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、または緑内障等の眼性疾患もしくは状態の予防または治療に使用するための、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ (式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である)を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなるペプチド、並びに治療剤もしくは診断剤を含んでなるコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体が提供される、ここで、前記治療剤もしくは診断剤は場合により、リンカーにより前記ペプチドに結合している。

40

【0082】

本発明のさらに別の実施形態では、ヒアルロン酸結合物質を検出する方法であって、ヒアルロン酸の試料を設けること、該ヒアルロン酸の試料を検査物質に接触させること、お

50

よび前記検査物質と前記ヒアルロン酸との結合の存在を検出することを含む方法が提供される。特に、ヒアルロン酸は、固体支持体に非共有的に結合され得る。この場合、固体支持体は、好ましくは、アミン表面である。

【0083】

追加的または代替的に、本方法は、好ましくは、ウシ血清アルブミンをブロッキング剤および/または希釈剤として使用する。

【0084】

本検出手段として特に限定されないが、類似の酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)に使用される任意の一般的な検出方法が挙げられる。しかし、好ましくは、本検出方法は、例えば、ビオチン化基質(例えば、ビオチン化組換えタンパク質)およびストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼに、塩化テトラメチルベンジジン等のペルオキシダーゼ基質を添加して実施する。ビオチン化組換えヒトアグリカン陽性対照として使用してもよい。

10

【0085】

本発明の別の実施形態では、加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、緑内障、全身性エリテマトーデス、関節炎、関節リウマチ、強皮症、多発性筋炎、または皮膚筋炎に関連する状態を予防または治療する方法であって、本発明のペプチド(すなわち、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ (式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である)を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなるペプチドであってN末端に、D-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含むペプチド、本発明のコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体、または本発明の医薬組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む前記方法が提供される。

20

【0086】

また、加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、または緑内障等の眼性疾患もしくは状態を予防または治療する方法であって、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ (式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である)を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなるペプチドを、それを必要とする対象に投与することを含む前記方法も提供される。

30

【0087】

更なる実施形態では、加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、病的な近視性黄斑浮腫、黄斑毛細血管拡張症、脈絡膜血管新生、ブドウ膜炎、または緑内障等の眼性疾患もしくは状態を予防または治療する方法であって、アミノ酸配列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ (式中、 B^1 および B^2 はそれぞれが同一または異なる塩基性アミノ酸であり、 X_{3-10} は、3~10個の同一または異なる非酸性アミノ酸の配列である)を有する少なくとも1つのモチーフを含んでなるペプチド、並びに治療剤もしくは診断剤を含んでなるコラーゲンもしくはヒアルロン酸結合複合体を、それを必要とする対象に投与することを含む前記方法が提供される、ここで前記治療剤もしくは診断剤は、場合により、リンカーにより前記ペプチドに結合している。

40

【0088】

本発明を、例示目的のみで以下の実施例および図面を参照しながらさらに詳細に説明する。

【図面の簡単な説明】

【0089】

【図1】図1は、Harvard高速マイクロ平衡透析装置を示す。各透析装置は、ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)製で、100kDaの分子量カットオフ(MWCO)のセルロースアセテート膜の両側にそれぞれ250 μ lのチャンバを有する。チャンバを最大8時間室温でインキュベ

50

ートし、一方のチャンバから他方のチャンバへの拡散を評価した。ペプチドが配置される側を供与チャンバと呼ぶ。ペプチドが拡散するに方向である反対側を収容チャンバと呼ぶ。

【0090】

【図2】図2は、Harvard高速マイクロ平衡透析装置を用いたウサギ硝子体内におけるHABP35-F（最も上側及び最も下側の線）およびRP2-F（中央の二本の線）の拡散を示す。実験開始時、供与チャンバにはHABP35-FまたはRP2-Fのいずれか20mole/mlを有する200 μ lのウサギ硝子体が含まれていた。収容チャンバには、ペプチドを含まない200 μ lのウサギ硝子体が含まれていた。100kDaのMWCOの酢酸セルロースフィルターを通り抜けるペプチド拡散を経時的に測定した。各時点で、各チャンバから硝子体を除去し、蛍光を測定することによってペプチド濃度を定量した。各時点（ $n = 4$ ）に4つのチャンバを用意した。供与チャンバ内でのHABP35-F濃度は、2、4、6、8時間で、RP2-Fよりも有意に高い（* $p < 0.05$ ：一元配置分散分析、ボンフェローニの事後検定）。したがって、HABP35-Fは、対照ペプチドRP2-Fよりも有意に多く供与チャンバ内に保持された。エラーバーは標準偏差を表す。

10

【0091】

【図3】図3は、Harvard高速マイクロ平衡透析装置を用いたウサギ硝子体内におけるHABP35-F（下側の線）およびRP2-F（上側の線）の拡散を示す。このグラフは、各時点での供与チャンバと収容チャンバとの間の濃度勾配（濃度差）を示す。濃度勾配=供与チャンバ内の濃度-収容チャンバ内の濃度。2、4、6、8時間でHABP35-Fの濃度勾配は、対照ペプチドRP2-Fよりも、有意に高い（* $p < 0.05$ ：一元配置分散分析、ボンフェローニの事後検定）。したがって、HABP35-Fは、対照ペプチドRP2-Fよりも有意に多く供与チャンバ内に保持された。エラーバーは標準偏差を表す。

20

【0092】

【図4】図4は、Harvard高速マイクロ平衡透析装置を用いたヒアルロン酸内におけるHABP35-F（それぞれ左側のバー）およびRP2-F（それぞれ右側のバー）の拡散を示す。ウサギ硝子体の代わりに、各チャンバに2.5mg/mlのヒアルロン酸（HA）またはHEPES緩衝食塩水（HBS）を投入した。供与チャンバおよび収容チャンバにおけるHABP35-FまたはRP2-Fの濃度を8時間の時点で測定した（ $n = 3$ ）。濃度勾配をその後決定した（供与チャンバと収容チャンバ間の濃度差）。HAの存在下では、有意に高い濃度勾配によって示されるように、HABP35-Fは、対照ペプチドRP2-Fよりも有意に多く供与チャンバ内に保持された（* $p < 0.05$ ：一元配置分散分析、ボンフェローニの事後検定）。HBS単独での存在下ではそのようにならなかった。従って、ウサギ硝子体におけるHABP35-Fの保持は、HAとの相互作用によるものである。エラーバーは標準偏差を表す。

30

【0093】

【図5】図5は、48時間後のラット硝子体内のHABP35-FおよびRP2-Fの保持を示す。2.5 μ lのHABP35-FまたはRP2-F(250 nmole/ml)を雄Sprague Dawleyラットの硝子体に注入した。48時間後、眼を取り出した。角膜とレンズを除去し、アイカップは、マルタ十字に開いた。硝子体と網膜を（同じ露出設定を使用した）落射蛍光顕微鏡を用いて撮影した。A) 注射後48時間における硝子体内のHABP35-Fの蛍光。B) 注射後48時間における硝子体内のRP2-Fの蛍光。C) 注射後48時間における硝子体内のHABP35-Fの蛍光を示すコラージュ写真。48時間後、対照ペプチドRP2-Fと比べて、HABP35-Fの硝子体内への注射では目に見えて多くの蛍光性ペプチドが見られる。

40

【0094】

【図6】図6は、ラット硝子体内のHABP35-FP（上側の線）およびRP2-F（下側の線）の経時的なin vivo拡散試験を示す。2.5 μ lの250nmole/mlペプチドを含むHBSを雄Sprague Dawleyラットの硝子体に注入した。異なる時点（0、8、24、72、168時間）でラットを屠殺し、硝子体内のペプチド濃度を蛍光により測定した。各ペプチド（ $n = 3$ ）にそれぞれ眼を3つ使用した。経時的に、ラットの硝子体内におけるHABP35-FPの保持がRP2-Fよりも増加した。2つのペプチド間の濃度差は、24、72、および168時間において統計的に有意であった（それぞれ対応のないt検定により $p = 0.034$ 、 0.011 、および 0.006 ）。エラーバーは標準

50

偏差を表す。

【0095】

【図7】図7は、Pep1-B、HABP42-B、HABP35-B、およびRP-BのHAへの非共有的な結合を示す。4つのグラフは、HAの存在（それぞれ上側の線）および不存在（それぞれ下側の線）下において、ブロックされたウェルへの結合を示す（それぞれ全結合および非特異的結合）。各濃度（ $n = 3$ ）に3つのELISAを実施した。エラーバーは標準偏差を表す。

【0096】

【図8】図8は、HABP35-B、HABP42-B、Pep1-B、およびRP-BのHAへの非共有的な特異的結合を示す（原点における最大初期応答の順で（in order of greatest initial response at the origin））。特異的結合は、図7に示される読み取り値より、HAを投入したウェルのA450からブランクウェルのA450を差し引くことで得た。各濃度（ $n = 3$ ）に3つのELISAを実施した。HABP42-BとPep1-Bのいずれもヒアルロン酸に対し特異的な結合を示し、25~50nmole/mlの濃度で飽和に達した（プラトー形成によって示される）。RP-Bと比較すると、HABP42-BとPep1-Bのいずれも、検査した全ての濃度において有意に高い特異的結合を示した（ $p < 0.0001$ ：一元配置分散分析）。HABP35-Bは、HABP42-BまたはPep1-Bよりも10倍以下の濃度で特異的結合を示した。しかし、非特異的結合が増すため、その特定のシグナルは濃度が高くなるにつれ悪化した。エラーバーは標準偏差を表す。

10

【0097】

【図9】図9は、架橋の化学的構造を示す。A) 抗IL-1抗体(マウス抗ヒト)(左)は、クロスリンカー(EMCH)(中)を使用して、ヒアルロン酸結合ペプチド(HABP35)(右)に共有結合された。反応基を3文字の省略形で示す：Ald = アルデヒド、Hyd = ヒドラジド、Mal = マレイミド、Sul = スルフヒドリル。反応1は反応2の前に起こった。B) 反応1：HABP35を、C末端にシステイン残基を用いて作製した。これにより、システイン残基のスルフヒドリル基とクロスリンカーのマレイミド反応基との間に架橋がおり、安定なチオエーテル結合が形成された。C) 反応2：抗体の糖残基を酸化してアルデヒド基を形成した。その後、これらは、クロスリンカーのヒドラジド反応基と架橋し安定なヒドラゾン結合を形成した(図9BおよびCは、Piercenet社より提供)。メタ過ヨウ素酸ナトリウムにより多糖翻訳後修飾を酸化(グリコシル化)することによりケトンまたはアルデヒド基が糖タンパク質内で作成できる。カルボニル基が抗体の糖残基上に存在するので、これらの基の架橋は、抗体の抗原結合部位を変えないという利点を有する。

20

30

【0098】

【図10】図10は、ウサギ硝子体によるHABP35-Fの分解に対するベスタチンの効果を示す。ウサギ硝子体におけるインキュベーションから6時間後、ベスタチン(250 μM)により、UPLC-MSによって検出可能なHABP35-F(10 nmole/ml)の量が有意に増加した($p=0.01$)。UPLC-MS=超高速液体クロマトグラフィー質量分析。

【0099】

【図11】図11は、ウサギ硝子体におけるインキュベーションから6時間後の、UPLC-MSによるHABP35-Fの検出に対するプロテアーゼ阻害剤アプロチニン(8 μM)、ベスタチン(500 μM)、E-64(150 μM)、およびロイペプチン(200 μM)の効果を示す。このプロテアーゼ阻害剤カクテルにより、検出されるHABP35-Fの量が増加したようだ。実験は3回行った($n = 3$)。UPLC-MS=超高速液体クロマトグラフィー質量分析。

40

【0100】

【図12】図12は、Harvard高速マイクロ平衡透析装置を用いたウサギ硝子体内におけるHABP35-FPの拡散を示す。各時点で、各チャンバから硝子体を除去し、蛍光を測定することによってペプチド濃度を定量した。HABP35-FPは供与チャンバ内に大幅に残留し、(いずれかのチャンバ内における)ペプチドの総量により、ペプチドの分解が最小であることが示された。TC-Aは供与チャンバに相当し、BC-Aは収容チャンバに相当する。T-Aは、ペプチドの総量に相当する。

【0101】

【図13】図13は、Harvard高速マイクロ平衡透析装置を用いたヒアルロン酸内におけ

50

るHABP35-Fの拡散を示す。各時点で、各チャンバからヒアルロン酸を除去し、蛍光を測定することによってペプチド濃度を定量した。HABP35-Fは供与チャンバ内に大幅に残留し、(いずれかのチャンバ内における)ペプチドの総量により、ペプチドの分解が最小であることが示された。TC-Aは供与チャンバに相当し、BC-Aは収容チャンバに相当する。T-Aは、ペプチドの総量に相当する。

【0102】

【図14】図14は、Harvard高速マイクロ平衡透析装置を用いたウサギ硝子体内におけるHABP35-Fの拡散を示す。各時点で、各チャンバから硝子体を除去し、ペプチド濃度を測定した。HABP35-Fは供与チャンバ内に残留していたが、供与チャンバおよび収容チャンバ内におけるHABP35-Fの濃度が一定ではなかったため、一部のペプチドが分解したことが示された。

10

【発明を実施するための形態】

【実施例】

【0103】

実施例1：硝子体内におけるHABP35-Fの拡散特性

標識分子とHABP35の間に発生する立体障害を防止するために、標識HABP35を、リンカー配列(GGGS)を用いてC末端領域に付加して作成した(GenScript Inc, USA)。C末端のリジン残基をフルオレセインイソチオシアネート(FITC)で標識した。修飾HABP35ペプチド(HABP35-F)の配列は、以下の通りである。

HABP35-F

20

LKQKIKHVVKLVKVVVKLRSQLVVKRQKQ-N-GGGS-K(FITC)-アミド

純度:95.3%

分子量:4013.9

【0104】

HABP35と同様の分子量を有する対照ペプチド(RP2-F)も作成した。これは、ヒアルロン酸への結合があまりないことが既に示されている配列を使用して設計した(Mummert et al. Development of a peptide inhibitor of hyaluronan-mediated leukocyte trafficking. J Exp Med. 2000; 18; 192(6): 769-779):

RP2-FSATPASAPYPLAGGGSSATPASAPYPLAGGGGS-K(FITC)-アミド

純度:95.1%

30

分子量:3305.61

【0105】

両ペプチドの純度を、高速液体クロマトグラフィーを用いて確認した。分子量は、エレクトロスプレー質量分析法を用いて確認した。ペプチドは、それぞれ、HABP35-FとRP2-Fと命名した。

【0106】

硝子体内におけるHABP35-Fの拡散特性を研究するために、高速マイクロ平衡透析装置(チャンバ体積:250 μ l)をHarvardApparatus Ltd (UK)から購入した。各透析装置は、酢酸セルロース膜(100kDaの分子量カットオフ)によって分離された2つの250 μ lチャンバを有していた(図1)。20nmole/mlのHABP35-FまたはRP2-Fを含む200 μ lのウサギ硝子体(Pel-freez Ltd, USA)を、透析装置の一方の側(供与チャンバ)に配置し、200 μ lのウサギ硝子体(ペプチドを含まず)をもう一方の側(収容チャンバ)に配置した。HABP35-FおよびRP2-Fが、透析装置の一方の側から他方の側へ拡散する速度を経時的に評価した。2、4、6、8時間でのサンプリングを可能にするために、4つの透析装置を各拡散の実行に用意した(1時点につき1台)。

40

【0107】

各時点において、1台の透析装置の各側から硝子体を採取した。各チャンバ内におけるペプチドの濃度は、蛍光(励起波長490nm、発光波長510-570nm(フルオレセインのピーク蛍光に対応する))を測定することによって定量した。濃度値を得るために、蛍光を、各ペプチドの標準濃度曲線と比較した。

50

【 0 1 0 8 】

対照ペプチドRP2-Fは、8時間かけて膜を横切って拡散しほぼ平衡（供与チャンバ内の濃度と収容チャンバ中の濃度が等しい）に達した（図2）。濃度勾配（供与チャンバと収容チャンバ間の濃度差）がほぼゼロに達した（図3）。HABP35-Fは、ゆっくりと膜を横切って拡散し、8時間後には、（RP2-Fと比較して）有意に高い濃度が供与チャンバに残っていた（図2）。HABP35-Fでは、濃度勾配も有意に高いままであり、供与チャンバ内に多く保持されていることが示された（図3）。

【 0 1 0 9 】

若いウサギの硝子体液を、上述の実験に用いた(Pel-freez Biologicals Ltd)。最初に解凍、等分し、その後-20 で再凍結した。解凍したい試料をその後1.8%のHClを添加して7.4-7.2の生理的pHにした。ウサギ硝子体を、その後、Heraeus Biofuge Fresco遠心分離機（Kendro Laboratory Products Ltd）で、13000で10分間遠心分離して不溶性物質を除去した。

10

【 0 1 1 0 】

実施例2：HABP35-Fのヒアルロン酸への結合特性

供与チャンバ内の保持が、ヒアルロン酸（HA）との相互作用によるものであったか否かを評価するために、ウサギの硝子体の代わりに、2.5mg/mlのHA溶液（HEPES緩衝化生理食塩水中）を各チャンバに加えた。20nmole/mlのHABP35-FまたはRP2-Fを供与チャンバに添加し、8時間にわたって拡散を測定した。各時点に3つのチャンバを使用した（n = 3）。対照としてHEPES緩衝化生理食塩水（HBS）単独における拡散を評価した。8時間後に、HA内では、HABP35-FがRP2-Fと比べて有意に高い濃度勾配を示した。これは、ペプチドの拡散をHBS単独で評価した場合には見られなかった（図4）。これは、ウサギの硝子体におけるHABP35-Fの保持が、少なくとも部分的に、HAとの相互作用に起因し得ることを示している。

20

【 0 1 1 1 】

実施例3：分解評価

ウサギ硝子体内に存在するプロテアーゼによるHABP35-Fの分解を評価するために、HABP35-Fをウサギの硝子体内で12時間インキュベートした。ウサギの硝子体におけるHABP35-Fのサンプルを0および12時間の時点で採取し、HABP35-Fについての質量スペクトルトレースを比較した。0時間では、質量スペクトルは、無傷のHABP35-Fを表すイオンを含有していた。12時間でもこれらのイオンがまだ存在していた（502.3, 574.1, 669.5、および803.7のm/z値、4012のMWの分子を表す）。しかし、12時間では、新しいイオンのセットも検出された（557.9, 651.0および781.0のm/z値、3899のMWの新しい分子を表す）。この新しい分子は、無傷のHABP35-Fより軽い113Daであった。ペプチド加水分解によるN末端ロイシン残基の損失が、HABP35-Fよりも軽いペプチド断片113Daとなったのであろう。したがって、この新しい分子はHABP35-FからN末端ロイシンを除いたものであると考えられた。

30

【 0 1 1 2 】

この新しい分子はHABP35-Fが存在しない場合には表れないので、当該分子がこのペプチドに由来することが示された。この断片化がN末端（C末端と反対側）で発生したことを確認するために、HABP35-Bをウサギの硝子体内で12時間インキュベートした。HABP35-Bの場合も、HABP35-Fで見られたものと同等の分子量の損失を含む新しいイオンが現れた。これにより、HABP35-FとHABP35-Bの両者とも、それぞれ異なるC末端（それぞれ標識の修飾が異なることにより異なる）と反対側の同じN末端に変化を受けたことが示された。

40

【 0 1 1 3 】

HABP35-FがN-末端で酵素的に分解されたことを更に確認するために、インキュベーション後に検出可能なHABP35-Fの比率をベスタチン有り無しの場合で評価した。ベスタチンは、アミノペプチダーゼ阻害剤である。アミノペプチダーゼは、ペプチド/タンパク質のN末端からアミノ酸の切断を触媒する。ベスタチンにより、ウサギ硝子体を用いたインキュベーションの6時間後に検出されたHABP35-Fの割合が有意に増加した（p=0.01：対応のないt検定）（図10）。これにより、アミノペプチダーゼがHABP35-Fの酵素分解に関与していたことが確認された。

50

【0114】

この分解によりペプチドが臨床治療には有効でなくなるが、ウサギの硝子体における酵素分解に対するN末端ロイシン残基の弱さに問題があった。これは、SIMモードでの質量分析を用いる残りの全ペプチド（無傷および断片化バージョンの両方）を定量する能力を低下させるためである。SIMモードを用いてHABP35-Fを走査してもHABP35-F断片は検出できないだろう。検出を最適化するために、さらに別のプロテアーゼ阻害剤（アプロチニン、ベスタチン、E-64、ロイペプチン）を加えた。これらのプロテアーゼ阻害剤はHABP35-Fを保護する傾向を示した（図11）。

【0115】

ペプチドのN末端にD-アミノ酸を含んでなるおよび/または保護基を含む場合、この分解は見られなかった。例えば、ウサギの硝子体内における拡散研究ではHABP35-FPのレベルは、供与および収容チャンバとの間でほぼ一定であることが観察され、供与チャンバ内に保持されていることは明らかであった（図12）。同様の結果がヒアルロン酸内でのHABP35-Fの拡散について観察されたが（図13）、ウサギ硝子体内でのHABP35-Fの拡散ではペプチドの総量が大幅な減少を示した（図14）。

10

【0116】

実施例4：HABP35保持のin vivoモデル

末端ロイシンを変換してD-構成にし、アセチル化することにより、HABP-35-Fを修飾して酵素分解からN末端を保護した。新しいペプチドはHABP35-FPと呼ばれた。成体雄Sprague Dawleyラットをin vivoモデルとして使用した。2.5 μ lの250nmole/ml HABP35-FPまたはRP2-Fを硝子体内に注射し、動物を様々な時点で選別した。硝子体液を抽出し、抽出された硝子体の蛍光を評価することによってペプチド濃度を測定した。各時点で、3つの眼を各ペプチドに評価した。加えて、落射蛍光顕微鏡を使用しアイカップフラットマウントで硝子体の蛍光を直接評価した。

20

【0117】

48時間後、落射蛍光顕微鏡下でHABP35-FPの保持がRP2-Fよりも多かった（図5）。この保持は、注射から少なくとも168時間まで続いた（図6）。

【0118】

実施例5：ペプチド-抗体複合体の調製

各システイン標識ペプチド（HABP35-CまたはRP2-C）を、1000 μ lの脱気リン酸緩衝生理食塩水（PBS、pH7.2、Invitrogen Ltd）に溶解し、250 μ g/mlの濃度にした。50 μ lの50mM 3,3'-N-[4-マレイミドカプロン酸]ヒドラジド、トリフルオロ酢酸塩（EMCH）をジメチルスルホキシド（DMSO, Sigma-Aldrich Ltd）で溶解したものをすぐに添加した。混合物をアルゴンでカバーし、密封してジスルフィド結合の酸化形成を防いだ。これを光から保護し、室温で2時間インキュベートした。

30

【0119】

未結合のEMCHを除去するために、3mlの2kDaの分子量カットオフ（MWCO）Slide-A-Lyzer透析カセット（Thermo Fisher Scientific/Pierce Ltd）内で、反応混合物を500mlのPBSに対して透析した。PBSを6および12時間後に交換し24時間までに透析を完了した。透析は4回で行った。

40

【0120】

250 μ gのマウスモノクローナル抗ヒトIL-1 β 抗体（R&D Systems Ltd）を500 μ lの冷滅菌PBSに溶解した。メタ過ヨウ素酸ナトリウム（Thermo Fisher Scientific/Pierce Ltd）を酸化緩衝液（20mM酢酸ナトリウム、pH5.5）に溶解し、20mMの濃度にした。体積は、抗体の体積（500 μ l）と等しく調製した。この溶液を氷上で保持し、光から保護した。500 μ lの冷メタ過ヨウ素酸ナトリウム溶液を、500 μ lの抗体溶液に添加した。すぐに室温に移し、30分間インキュベートし、光から保護し、20rpm（Stuart Ltd）のSB3可変速度ロータリーミキサーにかけた。5mlの7kDa MWCO Zebaスピン脱塩カラム（Thermo Fisher Scientific/Pierce Ltd）を用い、製品プロトコルに従って緩衝液の交換を行った（酸化緩衝液をPBSに置換）。

50

【 0 1 2 1 】

ペプチド-EMCH複合体を酸化抗体と混合した。混合物をオービタルシェーカー (Heidolph Ltd) で30rpmにて2時間室温でインキュベートした。未結合のペプチド-EMCH複合体を除去するために、3 mlの20kDaのMWCO Slide-A-Lyzer透析カセット (Thermo Fisher Scientific/Pierce Ltd) 内で、反応混合物を500 mlのPBSに対して透析した。PBSを6および12時間後に交換し24時間までに透析を完了した。透析は4で行った。

【 0 1 2 2 】

その後、ペプチド-EMCH-抗体複合体を、Costar Spin-X 0.22 μmのセルロースアセテート遠心チューブフィルター (Corning Ltd) を用いて濾過滅菌した。これをAmicon Ultra 30 kDaのMWCO遠心分離フィルターユニット (Millipore Ltd) を用いて濃縮した。

10

【 0 1 2 3 】

実施例 6 : HA結合剤のスクリーニング方法

透明なポリスチレンアミン表面の96ウェルELISAプレート (Corning Life Sciences Ltd) のウェルに、100 μlの1mg/ml HAナトリウム塩 (Sigma-Aldrich Ltd) を含む0.1Mの2-[N-モルホリノ]エタンスルホン酸 (MES、pH4.5-5、Sigma-Aldrich Ltd) を載せた。ウェルは、オービタルシェーカーで3時間室温でインキュベートした。すべてのさらなるインキュベーションは、オービタルシェーカーで室温にて行った。

【 0 1 2 4 】

次いで、ウェルを洗浄緩衝液 (0.05% Tween 20 (Sigma-Aldrich Ltd) を含むリン酸緩衝生理食塩水 (PBS)、pH7.2~7.4) で3回洗浄した。PBSは、以下の組成に調製した：137mMの塩化ナトリウム、2.7mMの塩化カリウム、8.1mMのリン酸ナトリウム二塩基、1.5mMのリン酸二水素カリウム、pH7.2~7.4、0.22 μmで濾過。300 μlの3%BSA (Sigma-Aldrich Ltd) を含むPBSを使用して各ウェルをブロックした。90分間のインキュベーション後、ウェルを再度3回洗浄した。その後、異なる濃度のビオチン化HA結合ペプチドまたは対照ペプチドを添加し、100 μlの3%BSA PBSに溶解し、1時間インキュベーションした。再度3回の洗浄を行った。100 μlのストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ (S-HRP) (R & D Systems Ltd) (PBSで1:200の作業濃度に希釈した) を各ウェルに添加して、結合したビオチン化ペプチドを検出した。ウェルを20分間インキュベートし、光から保護し、さらに3回洗浄した。100 μlのテトラメチルベンジジン (TMB)/H₂O₂ を各ウェルに添加した。ウェルは、10分間インキュベートし、光から保護した。反応は、50 μlの1M H₂SO₄ で停止した。450nmに設定したModulusマイクロプレートリーダーセットを使用して、各ウェルの光学密度をすぐに読み取った。一元配置分散分析 (ANOVA) を使用して、グループ間の統計的有意性を決定した (GraphPad Prism 5, GraphPad software Ltd)。

20

30

【 0 1 2 5 】

表2は、本方法のパラメータをまとめたものである。

【 0 1 2 6 】

【表 2】

ステップ	試薬 / 製品	希釈剤	期間 (分)	温度 (°C)
プレート	アミン表面プレート	NA	NA	NA
試料	1mg/ml HA	0.1M MES (pH 4.5-5.0)	180	21
ブロッキング	3% BSA	PBS	90	21
検出	HABP (各濃度)	3%BSAを含むPBS	60	21
	1:200 S-HRP	PBS	20	21
	TMB/H ₂ O ₂	NA	10	21
	H ₂ SO ₄	NA	NA	21

40

【 0 1 2 7 】

50

略語:HA = ヒアルロン酸、MES = 2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸、PBS = リン酸緩衝生理食塩水、S-HRP = ストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ、TMB = テトラメチルベンジジン

【 0 1 2 8 】

実施例 7 : ペプチドおよび複合体

HABP35:

LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKQKQ-アミド (配列番号1)

HABP35-F:

LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKQKQ-GGGS-K(FITC)-アミド (配列番号239)

HABP35-FP:

アセチル D-(L) KQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKQKQ-GGGS-K(FITC)-アミド (配列番号240)

HABP35-C:

アセチル D-(L) KQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKQKQ-GGGS-K(ビオチン)-C-アミド (配列番号241)

N末端におけるビオチン標識:

ビオチン-LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKQKQ-アミド (配列番号242)

C末端におけるビオチン標識:

LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKQKQ-GGGS-K(ビオチン)-アミド (配列番号243)

N末端の保護:

アセチル D-(L) KQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKQKQ-GGGS-K(FITC)-アミド (配列番号244)

Kinestatin-HABP35:

{ pGlu } IPGLGPLR-GGGS-LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKQKQ-アミド (配列番号245)

HABP35-Kinestatin:

アセチル- { d-Leu } KQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKQKQ-GGGS-QIPGLGPLR-アミド (配列番号246)

参照ペプチド:

HABP42-F:

D-(STMMSRSHKTRSHHV) L-(GGGS-K(FITC)-アミド) (配列番号247)

Pep1-B:

GAHWQFNALTVR-GGGS-K(ビオチン)-アミド (配列番号248)

RP-F:

SATPASAPYPLA-GGGS-K(FITC)-アミド (配列番号249)

RP2-F:

SATPASAPYPLAGGGSSATPASAPYPLAGGGGS-K(FITC)-アミド (配列番号250)

RP2-C:

SATPASAPYPLA-GGGS-K(ビオチン)-C-アミド (配列番号251)

10

20

30

【 図 1 】

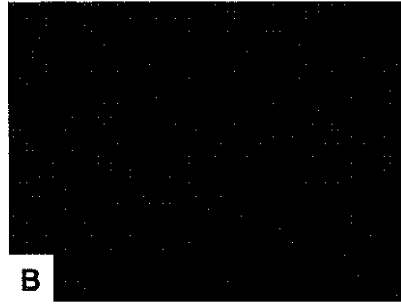
Figure 1.



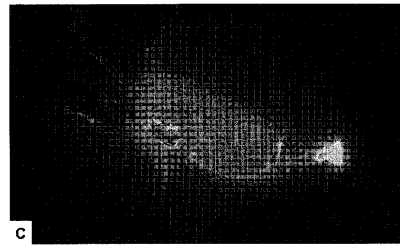
【 図 5 A 】



【 図 5 B 】

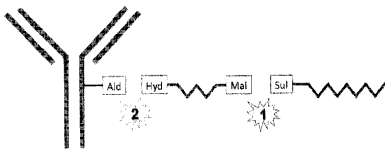


【 図 5 C 】



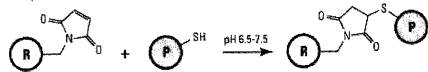
【 図 9 A) 】

A)



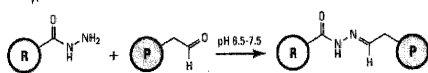
【 図 9 B) 】

B)



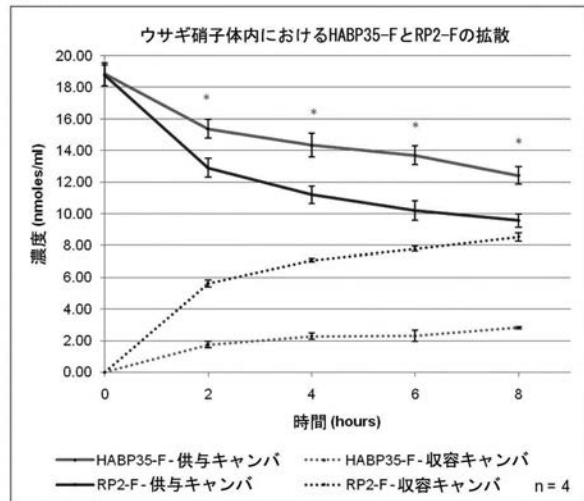
【 図 9 C) 】

C)



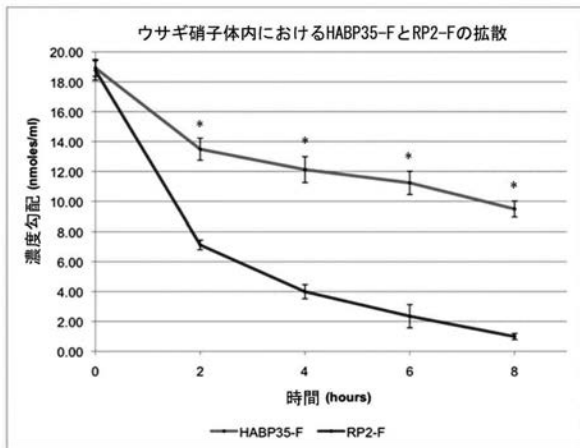
【 図 2 】

Figure 2.



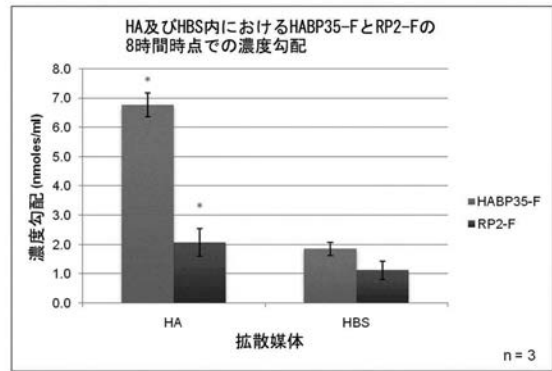
【 図 3 】

Figure 3.



【 図 4 】

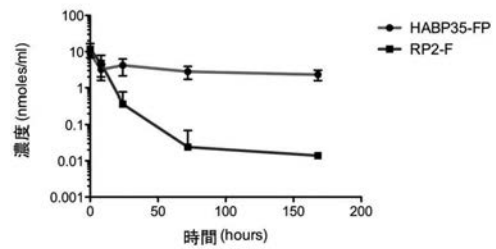
Figure 4.



【 図 6 】

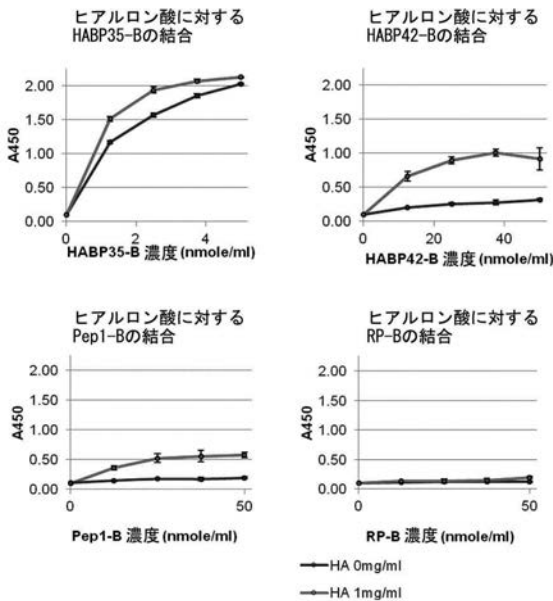
Figure 6.

ラット硝子体内における経時的なペプチド濃度



【 図 7 】

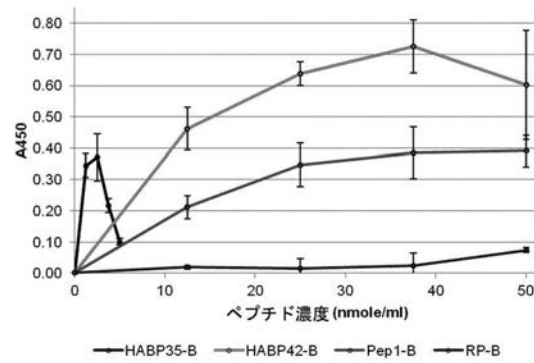
Figure 7.



【 図 8 】

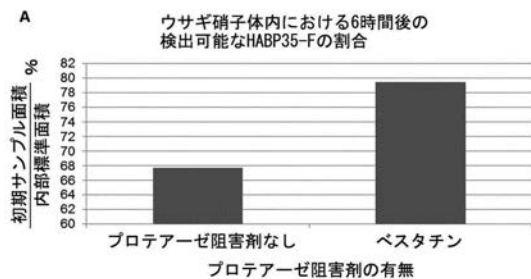
Figure 8.

ヒアルロン酸に対するペプチドの特異的な結合



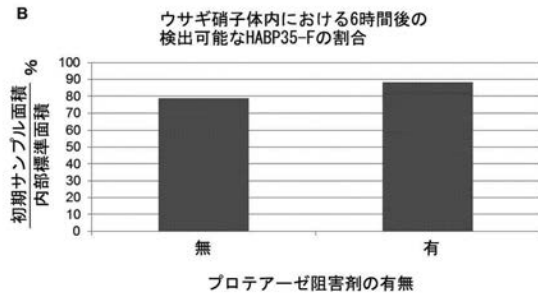
【 図 10 】

Figure 10.



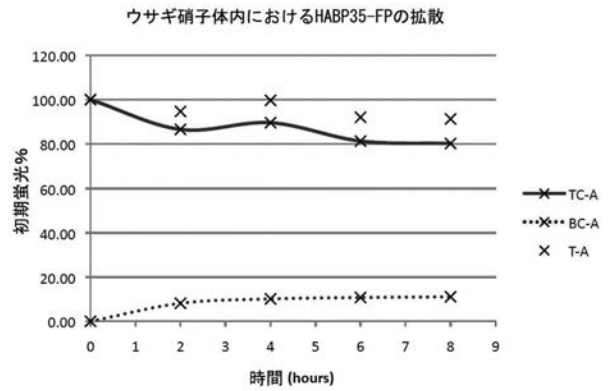
【 図 1 1 】

Figure 11.



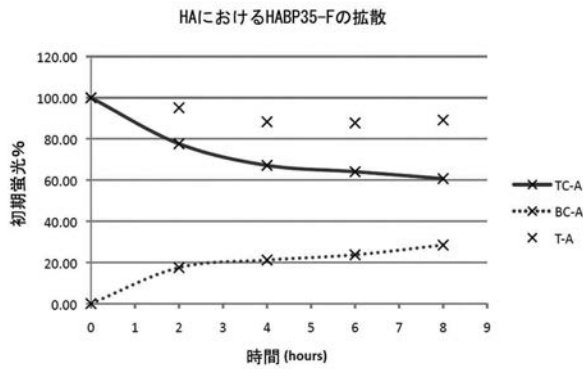
【 図 1 2 】

Figure 12.



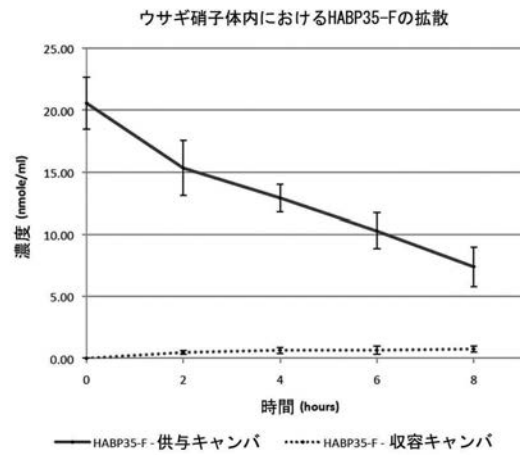
【 図 1 3 】

Figure 13.



【 図 1 4 】

Figure 14.



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2015/050135

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K14/705 A61K47/48 G01N33/53 A61P27/02 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) C07K A61K G01N		
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) EPO-Internal, Sequence Search, WPI Data, EMBASE, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/045506 A2 (FARINAS KATHLEEN COGAN [US]; CHAMOW STEVEN M [US]) 22 April 2010 (2010-04-22) the whole document	1,4,5,9, 11,13, 18, 24-29,42
X	WO 01/80899 A2 (CANGENE CORP [CA]; WOLOSKI B MICHAEL R [CA]; WILLIAMS ASHLEY MARTIN [C]) 1 November 2001 (2001-11-01) the whole document ----- -/--	1,2, 4-25, 27-32
<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 17 August 2015		Date of mailing of the international search report 28/08/2015
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 Wiame, Ilse

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2015/050135

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2006/130974 A1 (CANGENE CORP [CA]; KOLODKA TADEUSZ [CA]; CHARLTON BERNARD T [CA]; JOHN) 14 December 2006 (2006-12-14) abstract page 17, paragraph 2 page 18, paragraph 2 page 25; compounds HAPB35, HAPB42 page 26, paragraph 3 page 13, paragraph 2 -----	1-3,7-9, 21-23, 25,27, 29-32
A	WO 2013/067133 A1 (TEXAS A & M UNIV SYS [US]; PROCKOP DARWIN J [US]; WATANABE JUN [US]; K) 10 May 2013 (2013-05-10) the whole document example -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/GB2015/050135**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.:
1-32, 42

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 Application No. PCT/GB2015/050135

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-32, 42

A peptide comprising at least one motif having the amino acid sequence B1-X(3-10)-B2, wherein B1 and B2 are identical or different and each is a basic amino acid and X(3-10) is a sequence of 3 to 10 identical or different non-acidic amino acids, and wherein the N-terminus of the peptide comprises a D-amino acid and/or includes a protecting group.

A collagen or hyaluronic acid binding conjugate comprising said peptide.

A pharmaceutical composition comprising said peptide or conjugate.

Medical use thereof.

2. claims: 33-36, 43, 44

A peptide comprising at least one motif having the amino acid sequence B1-X(3-10)-B2, wherein B1 and B2 are identical or different and each is a basic amino acid and X(3-10) is a sequence of 3 to 10 identical or different non-acidic amino acids, or a conjugate comprising said peptide, for use in the prophylaxis or treatment of ocular diseases or conditions.

3. claims: 37-41

A method of detecting a hyaluronic acid binding substance, the method comprising providing a sample of hyaluronic acid, contacting the sample of hyaluronic acid with a test substance, and detecting the presence of binding between the test substance and the hyaluronic acid.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2015/050135

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010045506 A2	22-04-2010	CN 102215875 A	12-10-2011
		EP 2349339 A2	03-08-2011
		US 2011200599 A1	18-08-2011
		WO 2010045506 A2	22-04-2010

WO 0180899 A2	01-11-2001	AU 5021201 A	07-11-2001
		CA 2406593 A1	01-11-2001
		EP 1274461 A2	15-01-2003
		US 2004037834 A1	26-02-2004
		WO 0180899 A2	01-11-2001

WO 2006130974 A1	14-12-2006	CA 2610791 A1	14-12-2006
		EP 1896386 A1	12-03-2008
		JP 5140579 B2	06-02-2013
		JP 2008542404 A	27-11-2008
		US 2009030180 A1	29-01-2009
		WO 2006130974 A1	14-12-2006

WO 2013067133 A1	10-05-2013	US 2015119343 A1	30-04-2015
		WO 2013067133 A1	10-05-2013

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 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/00
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 K	47/50	(2017.01)	A 6 1 K	47/48
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/53 D
G 0 1 N	33/543	(2006.01)	G 0 1 N	33/543 5 4 5 D

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, 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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74) 代理人 100117019

弁理士 渡辺 陽一

(74) 代理人 100141977

弁理士 中島 勝

(74) 代理人 100196977

弁理士 上原 路子

(72) 発明者 デイビッド シマ

イギリス国, バーネット ハートフォードシャー イーエヌ4 0イーエス, ハードリー ウッド, ランカスター アベニュー 75

(72) 発明者 オーウェン アンダーソン

イギリス国, ロンドン イー18 1エルイー, アルバート ロード 12

F ターム(参考) 4C076 AA94 AA95 BB24 CC10 EE59 FF31

4C084 AA17 AA20 NA12 NA13 NA14 ZA33

4H045 AA10 AA30 BA01 BA18 BA50 CA40 DA50 EA20 EA34 EA50

GA10

专利名称(译)	药物输送系统		
公开(公告)号	JP2017506220A	公开(公告)日	2017-03-02
申请号	JP2016547931	申请日	2015-01-21
[标]申请(专利权)人(译)	UCL商业有限公司		
申请(专利权)人(译)	Yushieru企业公共Rimitido公司		
[标]发明人	デイビッドシマ オーウェンアンダーソン		
发明人	デイビッドシマ オーウェン アンダーソン		
IPC分类号	C07K14/705 A61P43/00 A61P9/00 A61P37/02 A61P19/02 A61P21/00 A61K45/00 A61K47/50 G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	A61K45/00 C07K14/70596 G01N33/5308 A61K47/6425 A61P9/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P27/02 A61P37/02 A61P43/00 A61K47/64 Y02P20/55 C07K16/245 G01N33/6872 G01N2333/70596 G01N2400/40		
FI分类号	C07K14/705.ZNA A61P43/00.121 A61P9/00 A61P37/02 A61P19/02 A61P21/00 A61K45/00 A61K47/48 G01N33/53.D G01N33/543.545.D		
F-TERM分类号	4C076/AA94 4C076/AA95 4C076/BB24 4C076/CC10 4C076/EE59 4C076/FF31 4C084/AA17 4C084/AA20 4C084/NA12 4C084/NA13 4C084/NA14 4C084/ZA33 4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/BA01 4H045/BA18 4H045/BA50 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/EA20 4H045/EA34 4H045/EA50 4H045/GA10		
代理人(译)	青木 笃 石田 敬 渡边洋一 中岛胜		
优先权	2014000994 2014-01-21 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

在本发明中，氨基酸序列B1-X3-10-B2（其中，B1和B2是相同或不同的碱性氨基酸，X3-10是（3至10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列），所述肽包含至少一个基序，所述基序在所述肽的N-末端包含D-氨基酸和/或保护。包含上述肽和包含基团的治疗剂或诊断剂的胶原蛋白或透明质酸复合物，以及组合物及其用途。本发明还提供了用于治疗或预防眼部疾病或病症的氨基酸序列B1-X3-10-B2（其中B1和B2）。分别是相同或不同的碱性氨基酸，并且X3-10是包含至少一个基序的肽的3至10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列。此外，本发明是一种检测透明质酸结合物质的方法，包括提供透明质酸样品，使透明质酸样品与测试物质接触，并使测试物质与透明质酸结合。一种方法，包括检测是否存在

Figure 2.

