

(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2021-526221

(P2021-526221A)

(43) 公表日 令和3年9月30日 (2021.9.30)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53 D	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	4 C 2 0 6
A 6 1 K 33/26 (2006.01)	A 6 1 K 33/26	
A 6 1 K 31/7016 (2006.01)	A 6 1 K 31/7016	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 22 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2021-516548 (P2021-516548)	(71) 出願人	520457096 レニバス・セラピューティクス・インコーポレイテッド アメリカ合衆国、テキサス・76092、サウスレイク、グラント・アベニュー・206、スイート・225
(86) (22) 出願日	令和1年5月24日 (2019.5.24)	(74) 代理人	110001173 特許業務法人川口国際特許事務所
(85) 翻訳文提出日	令和3年1月15日 (2021.1.15)	(72) 発明者	ゼーガー、リチャード・エイ アメリカ合衆国、ワシントン・98109、シアトル、フェアビュー・アベニュー・1100、ジェイ・2-302
(86) 国際出願番号	PCT/US2019/034018		
(87) 国際公開番号	W02019/227055		
(87) 国際公開日	令和1年11月28日 (2019.11.28)		
(31) 優先権主張番号	62/676, 157		
(32) 優先日	平成30年5月24日 (2018.5.24)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	62/715, 508		
(32) 優先日	平成30年8月7日 (2018.8.7)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 腎障害及び腎不全のリスクのある患者を治療する方法

(57) 【要約】

p 2 1 バイオマーカーは、患者が腎損傷又は腎不全に罹患しているか否かの評価に利用され、さらに、腎代替療法を開始する1つ又は複数の妥当性を決定することによって腎損傷又は腎不全を治療し、腎臓に損傷を与えることが知られている化合物の送達を中止し、腎臓に損傷を与えることが知られている手順を遅らせるか、又は回避し、利尿薬の投与を変更する方法において使用することができる。

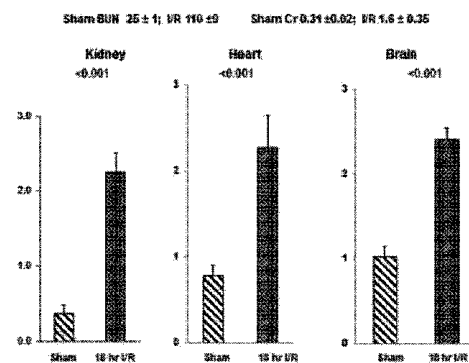


Fig. 8

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

腎損傷又は腎臓病が進行しているリスクのある患者を治療する方法であって、

(a) 前記患者の p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実施すること；及び

(b) 前記患者が p 2 1 のレベルの上昇を示した場合、さらなる腎損傷のリスクを減らすために患者を治療することを含み、治療は、1つ又は複数のステロイド、ACE 阻害剤、NRF 2 アクティベーター、アンジオテンシン II 受容体遮断薬、抗酸化剤、アルドステロン拮抗薬、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT - 2 阻害薬、免疫抑制剤の投与、臓器保護、又は急性腎損傷治療、腎代替療法の開始、腎臓に損傷を与えることが知られている化合物の送達中止、腎臓に損傷を与えることが知られている手順の遅延又は回避、及び利尿薬投与の変更の1つ又は複数を含む、方法。

10

【請求項 2】

前記アッセイが、(i) 患者から体液サンプルを入手すること、(ii) 前記体液サンプルの全部又は一部を、p 2 1 の検出のために特異的に結合する結合試薬と接触させること、及び、結合試薬への p 2 1 の結合を示すアッセイ結果を決定して、1つ又は複数のアッセイ結果を提供することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記治療が、1つ又は複数のステロイド、細胞老化遮断薬、ACE 阻害剤、NRF 2 アクティベーター、アンジオテンシン II 受容体遮断薬、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT - 2 阻害薬、免疫抑制薬の投与、臓器保護、又は急性腎損傷の治療を含む、請求項 1 の方法。

20

【請求項 4】

急性又は慢性腎臓病及び組織老化の進行のリスクを決定する方法であって、

(a) 前記患者の血清、尿、又は血漿の p 2 1 レベルによって示される臓器老化のレベルを決定するためのアッセイを実施すること；及び、

(b) 前記患者が p 2 1 のレベルの上昇を示す場合、前記患者の老化を治療することが知られている薬剤の投与量を投与することを含む、方法。

【請求項 5】

前記アッセイが、(i) 前記患者から体液サンプルを入手すること、(ii) 前記体液サンプルの全部又は一部を、p 2 1 の検出のために特異的に結合する結合試薬と接触させること、及び、結合試薬への p 2 1 の結合を示すアッセイ結果を決定して、1つ又は複数のアッセイ結果を提供することを含む、請求項 4 に記載の方法。

30

【請求項 6】

前記老化を治療することが知られている薬物の投与量が、p 2 1 のレベルが増加していると決定される場合に増加される、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

将来において腎損傷のリスクがあると決定された患者を治療する方法であって、

(a) 前記患者の p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実施すること；

(b) 前記患者の尿中アルブミンのレベルを決定するためのアッセイを実施すること；及び、

40

(c) 前記患者が p 2 1 及びアルブミンのレベルの上昇を示す場合、さらなる腎損傷のリスクを減らすために患者を治療（ここで、治療は、1つ又は複数のステロイド、ACE 阻害剤、NRF 2 アクティベーター、抗酸化剤、アルドステロン拮抗薬、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT - 2 阻害剤、免疫抑制剤の投与、臓器保護、又は急性腎損傷の治療、腎代替療法の開始、腎臓に損傷を与えることが知られている化合物の送達中止、腎臓に損傷を与えることが知られている手順の遅延又は回避、及び利尿薬投与の変更の1以上を含む）することを含む、方法。

【請求項 8】

対象における腎状態を評価するための方法であって、

(a) 前記対象から得られた体液サンプルに存在する p 2 1 の測定を含む、腎損傷マーカ

50

ーを検出するように構成された１つ又は複数のアッセイを実行すること、

(b) アッセイ結果を使用することによって、測定された p 2 1 レベルを、前記対象から体液サンプルが採取されてから 7 2 時間以内に前記対象が将来の急性腎障害のリスクにさらされる可能性と関連させ、7 2 時間以内に将来の急性腎障害の既知の素因を有する個体の所定の部分母集団に前記対象を割り当てること；及び、

(c) 前記患者が割り当てられた個人の所定の部分母集団に基づいて対象を治療（ここで、治療は、１つ又は複数のステロイド、ACE 阻害剤、NRF 2 アクティベーター、抗酸化剤、アルドステロン拮抗薬、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT - 2 阻害薬、免疫抑制薬の投与、臓器保護、又は急性腎損傷の治療、腎代替療法の開始、腎臓に損傷を与えることが知られている化合物の送達中止、腎臓に損傷を与えることが知られている手順の遅延又は回避、及び利尿薬投与の変更の１つ又は複数を含む）することを含む、方法。

10

【請求項 9】

腎損傷又は腎臓病が進行しているリスクのある患者を治療する方法であって、

(a) 前記患者の p 1 6 i n k 4 a、p 1 9、及び p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実行すること、

(b) p 1 6 i n k 4 a、p 1 9、及び p 2 1 の相対レベルを考慮して、前記患者が腎損傷又は腎臓病に罹患しているか否かを決定すること；及び、

(c) 前記患者が腎損傷又は腎臓病に罹患していると決定された場合、さらなる腎損傷のリスクを減らすために前記患者を治療（ここで、治療は、１つ又は複数のステロイド、ACE 阻害剤、NRF 2 アクティベーター、抗酸化剤、アルドステロン拮抗薬、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT - 2 阻害薬、免疫抑制薬の投与、臓器保護、又は急性腎損傷治療、腎代替療法の開始、腎臓に損傷を与えることが知られている化合物の送達中止、腎臓に損傷を与えることが知られている手順の遅延又は回避、及び利尿薬投与の変更の１つ又は複数を含む）することを含む、方法。

20

【請求項 10】

前記患者が、鉄又は鉄複合体と、ヘムタンパク質分解阻害剤との組み合わせで治療される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記患者が、鉄スクロースとスズプロトポルフィリンとの組み合わせで治療される、請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 12】

前記患者が、クルクミノイド製剤で治療される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記患者が、バルドキシロンメチルで治療される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

前記患者が鉄又は鉄複合体と、ヘムタンパク質分解阻害剤との組み合わせで治療される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 15】

前記患者が鉄スクロースとスズプロトポルフィリンの組み合わせで治療される、請求項 7 に記載の方法。

40

【請求項 16】

前記患者が、クルクミノイド製剤で治療される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 17】

前記患者が、バルドキシロンメチルで治療される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 18】

前記患者が、鉄又は鉄複合体と、ヘムタンパク質分解阻害剤との組み合わせで治療される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 19】

前記患者が、鉄スクロースとスズプロトポルフィリンとの組み合わせで治療される、請

50

求項 8 に記載の方法。

【請求項 20】

前記患者が、クルクミノイド製剤で治療される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 21】

前記患者が、バルドキソロンメチルで治療される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 22】

前記患者が、鉄又は鉄複合体と、ヘムタンパク質分解阻害剤との組み合わせで治療される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 23】

前記患者が、鉄スクロースとスズプロトボルフィリンとの組み合わせで治療される、請求項 9 に記載の方法。 10

【請求項 24】

前記患者が、クルクミノイド製剤で治療される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 25】

前記患者が、バルドキソロンメチルで治療される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 26】

患者を治療する方法であって、(a) 前記患者の p 1 6 i n k 4 a、p 1 9、及び p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実行すること；(b) p 1 6 i n k 4 a、p 1 9、及び p 2 1 の相対レベルを考慮して、患者が肝臓、腎臓、心臓、又は脳の機能障害、損傷、又は老化に罹患しているか否かを決定することを含む、方法。 20

【請求項 27】

腎損傷に罹患している患者に有効量のヒト p 2 1 を投与することを含む、腎損傷に罹患している患者を治療する方法。

【請求項 28】

前記ヒト p 2 1 が組換えヒト p 2 1 である、請求項 2 7 に記載の方法。

【請求項 29】

腎損傷に罹患している患者に有効量のヒト p 2 1 活性化因子を投与することを含む、腎損傷に罹患している患者を治療する方法。

【請求項 30】

前記ヒト p 2 1 活性化因子がテノビン - 1 である、請求項 2 9 に記載の方法。 30

【請求項 31】

(a) 前記患者の p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実施することはまた、前記患者の微量アルブミン、フェリチン、ヘモペキシン、及びハプトグロビンのレベルを決定するためのアッセイを実施することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 32】

(a) 前記患者の p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実施することはまた、患者の微量アルブミン、フェリチン、ヘモペキシン、及びハプトグロビンのレベルを決定するためのアッセイを実施することを含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 33】

(a) 前記患者の p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実施することはまた、患者の微量アルブミン、フェリチン、ヘモペキシン、及びハプトグロビンのレベルを決定するためのアッセイを実施することを含む、請求項 8 に記載の方法。 40

【請求項 34】

(a) 前記患者の p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実施することはまた、前記患者の微量アルブミン、フェリチン、ヘモペキシン、及びハプトグロビンのレベルを決定するためのアッセイを実施することを含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 35】

前記患者が腎臓移植を受けた、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 36】

前記患者が腎臓移植を受けた、請求項 7 に記載の方法。 50

【請求項 37】

前記患者が腎臓移植を受けた、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 38】

前記患者が腎臓移植を受けた、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 39】

前記患者が腎臓移植を受けた、請求項 26 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願)

10

本出願の請求項は、2018年5月24日に出版された米国仮出願 62 / 676 , 157 および 2018年8月7日に出版された 62 / 715 , 508 から利益を得る。これらはそれぞれ、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

腎臓は、体からの水分と溶質の排泄に関与している。その機能には、酸塩基平衡の維持、電解質濃度の調節、血液量の制御、及び血圧の調節が含まれる。腎臓はまた、エリスロポエチンを生成することによって血中ヘモグロビン/ヘマトクリットを維持するのを助け、また活性化されたビタミンDを生成する。このように、損傷及び/又は疾患による腎機能の喪失は、実質的な罹患率及び死亡率をもたらす。腎障害については、Harris on 's Principles of Internal Medicine, 17. sup. th Ed., McGraw Hill, New York, pages 1741-1830、において詳細な記載がなされており、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。腎疾患及び/又は損傷は、急性又は慢性の場合がある。急性及び慢性腎臓病は、次のように説明されている (Current Medical Diagnosis & Treatment 2008, 47th Ed, McGraw Hill, New York, pages 785-815、これらは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) : 急性腎不全は、数時間から数日にわたって腎機能を悪化させ、その結果、血中の窒素廃棄物 (尿素窒素など) 及びクレアチニンが蓄積する。これらの物質の蓄積は高窒素血症と呼ばれる。慢性腎不全 (慢性腎臓病) は、数ヶ月から数年にわたる腎機能の異常な喪失に起因する。

20

30

【0003】

急性腎不全 (ARF、急性腎損傷、又はAKIとも呼ばれる) は、糸球体濾過の突然の減少 (通常、約48時間から1週間以内に検出) である。このろ過能力の喪失により、通常は腎臓から排泄される窒素 (尿素及びクレアチニン) 並びに非窒素の老廃物が蓄積するか、尿量が減少するか、又はその両方が発生する。ARFは、入院の約5%、心肺バイパス手術の15~30%、集中治療入院の最大35%を悪化させると報告されている。ARFは、原因として、腎前、内因性腎、又は腎後に分類されることがある。内因性腎疾患はさらに、糸球体、尿細管、間質、及び血管の異常に分類することができる。ARFの主な原因は、以下の表に記載されており、これは、出典メルクマニユアル、第17版、第22章であり、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

40

【0004】

慢性腎障害への進行を防ぐために、適切な介入を行う腎損傷及び腎不全の早期診断及び予後診断の方法の開発に関心が高まっている。そのようなテストの1つは、バイオマーカーTIMP-2 (メタロプロテイナーゼ2の組織阻害剤) 及びIGFBP-7 (インスリン様成長因子結合タンパク質7) に依存しており、カリフォルニア州サンディエゴのAstute Medical から NEPHROCHECK (登録商標) として市販されている。特許には、例えば、ジョセフ・アンダーバーグらに発行され、Astute Medical, Inc に譲渡された、"Methods and compositions for diagnosis and prognosis of renal inj

50

ury and renal failure」と題する、米国特許第 8,778,615 号が含まれる。'615 の特許は、いくつかのバイオマーカーの組み合わせを使用した腎損傷及び腎不全の診断を開示している。その他の関連特許には、9,879,091; 9,822,172; 9,784,750; 9,733,261; 9,696,322; 9,470,695; 9,459,261; 9,417,250; 9,366,683; 9,360,488; 9,229,010; 9,057,735; 9,029,093; 8,993,250; 及び 8,871,459 が含まれる。

【0005】

Astute Medical NEPHROCHECK (登録商標) テストシステムは、患者評価の 12 時間以内の中程度又は重度の急性腎損傷 (AKI) に関するリスク評価の補助として、現時点で急性心血管系及び / 又は呼吸器系障害に罹患しているか、又は過去 24 時間以内に罹患した患者であり、かつ、ICU 患者である患者において、臨床評価と組み合わせて用いられることが意図されている。NEPHROCHECK (登録商標) テストシステムは、21 歳以上の患者に使用することが意図されている。FDA は、「腎ストレス」の検出用に NEPHROCHECK (登録商標) を承認した。

10

【0006】

腎臓のストレス又は腎損傷のバイオマーカーとしての TIMP-2 及び IGFBP-7 の問題の 1 つは、損傷に反応して腎臓で生成されないことである。むしろ、それらの尿中上昇は、血漿からの濾過後、尿細管細胞からのそれらの喪失から、これらのタンパク質を再吸収できないことを反映している。さらに、それらの有用性は、腎臓の損傷を測定するための長い間認められている標準の尿中アルブミンよりも優れていることが実証されていない。NEPHROCHECK (登録商標) テストは細胞周期停止テストとして提案されているが、NEPHROCHECK (登録商標) マーカーが腎臓から失われ、細胞周期停止 / 老化プロセスを引き起こす可能性が非常に低いため、これは正確ではない可能性がある。これらのプロセスは進行性の腎臓 (及び他の臓器) の損傷を引き起こすため、医師が新しい治療法を導入できるようにするこれらのプロセスのマーカーを開発することが重要である。

20

【0007】

早期腎損傷を示すより安定したバイオマーカーに基づき、さらなる腎損傷の治療法を開発する必要が依然として存在する。特に、「細胞周期停止」として知られる損傷後のプロセスの尿中マーカーを特定する必要がある。これは、「老化」として知られる「早期の組織老化」につながる可能性のあるプロセスである。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

- 【特許文献 1】米国特許第 8,778,615 号明細書
- 【特許文献 2】米国特許第 9,879,091 号明細書
- 【特許文献 3】米国特許第 9,822,172 号明細書
- 【特許文献 4】米国特許第 9,784,750 号明細書
- 【特許文献 5】米国特許第 9,733,261 号明細書
- 【特許文献 6】米国特許第 9,696,322 号明細書
- 【特許文献 7】米国特許第 9,470,695 号明細書
- 【特許文献 8】米国特許第 9,459,261 号明細書
- 【特許文献 9】米国特許第 9,417,250 号明細書
- 【特許文献 10】米国特許第 9,366,683 号明細書
- 【特許文献 11】米国特許第 9,360,488 号明細書
- 【特許文献 12】米国特許第 9,229,010 号明細書
- 【特許文献 13】米国特許第 9,057,735 号明細書
- 【特許文献 14】米国特許第 9,029,093 号明細書
- 【特許文献 15】米国特許第 8,993,250 号明細書

40

50

【特許文献 16】米国特許第 8871459 号明細書

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明は、腎損傷又は腎臓病が進行していることを含む、腎臓病のリスクのある患者又は腎臓移植を受けた患者を治療する方法に関する。これらの方法は、一般に、(a) 患者の p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実施すること；及び (b) 患者が p 2 1 のレベルの上昇を示した場合、さらなる腎損傷のリスクを減らすために患者を治療することに関する。治療は、1 つ又は複数のステロイド、ACE 阻害剤、NRF 2 アクティベーター、アンジオテンシン II 受容体遮断薬、抗酸化剤、アルドステロン拮抗薬、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT - 2 阻害薬、免疫抑制剤の投与、臓器保護、又は急性腎損傷治療、腎代替療法の開始、腎臓に損傷を与えることが知られている化合物の送達中止、腎臓に損傷を与えることが知られている手順の遅延又は回避、及び利尿薬投与の変更の 1 つ又は複数を含み得る。場合によっては、治療には、1 つ又は複数のステロイド、細胞老化遮断薬、ACE 阻害剤、NRF 2 アクティベーター、アンジオテンシン II 受容体遮断薬、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT - 2 阻害薬、免疫抑制薬の投与、臓器保護、又は急性腎損傷の治療が含まれる。

10

【0010】

一態様では、患者は、鉄又は鉄複合体（例えば、鉄スクロース）と、ヘムタンパク質分解阻害剤（スズプロトポルフィリン、SnPP）との組み合わせで治療され得る。別の態様において、患者は、クルクミノイド製剤で治療され得る。さらに別の態様では、患者はバルドキシロンメチルで治療され得る。

20

【0011】

一態様では、患者の p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実施するステップ (a) はまた、患者の微量アルブミン、フェリチン、ヘモペキシン、及びハプトグロビンのレベルを決定するためのアッセイを実施することを含む。

【0012】

一実施形態では、本発明は、(a) 患者の血清、尿、又は血漿の p 2 1 レベルによって示される臓器老化のレベルを決定するためのアッセイを実施すること；及び、(b) 患者が p 2 1 のレベルの上昇を示す場合、患者の老化を治療することが知られている薬剤の投与量を投与することを含む、急性又は慢性腎臓病及び組織老化の進行のリスクを決定する方法を含み得る。特定の実施形態では、老化を治療することが知られている薬物の投与量は、p 2 1 のレベルが増加していると決定される場合に増加される。

30

【0013】

一実施形態では、本発明は、(a) 患者の p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実施すること；(b) 患者の尿中アルブミンのレベルを決定するためのアッセイを実施すること；及び、(c) 患者が p 2 1 及びアルブミンのレベルの上昇を示す場合、さらなる腎損傷のリスクを減らすために患者を治療（ここで、治療は、1 つ又は複数のステロイド、ACE 阻害剤、NRF 2 アクティベーター、抗酸化剤、アルドステロン拮抗薬、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT - 2 阻害剤、免疫抑制剤の投与、臓器保護、又は急性腎損傷治療、腎代替療法の開始、腎臓に損傷を与えることが知られている化合物の送達中止、腎臓に損傷を与えることが知られている手順の遅延又は回避、及び利尿薬投与の変更を含む）することを含む、将来において腎損傷のリスクがあると決定された患者を治療する方法を含み得る。

40

【0014】

一態様では、患者は、鉄又は鉄複合体（例えば、鉄スクロース）と、ヘムタンパク質分解阻害剤（スズプロトポルフィリン、SnPP）との組み合わせで治療され得る。別の態様では、患者は、クルクミノイド製剤で治療され得る。

【0015】

さらに別の態様では、患者はバルドキシロンメチルで治療され得る。一態様では、患者

50

の p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実施するステップ (a) はまた、患者の微量アルブミン、フェリチン、ヘモペキシン、及びハプトグロビンのレベルを決定するためのアッセイを実施することを含む。

【 0 0 1 6 】

一実施形態では、本発明は、(a) 対象から得られた体液サンプルに存在する p 2 1 の測定を含む、腎損傷マーカーを検出するように構成された 1 つ又は複数のアッセイを実行すること、(b) アッセイ結果を使用することによって、測定された p 2 1 レベルを、対象から体液サンプルが採取されてから 7 2 時間以内に対象が将来の急性腎障害のリスクにさらされる可能性と関連させ、7 2 時間以内に将来の急性腎障害の既知の素因を有する個人の所定の部分母集団に対象を割り当てること；及び、(c) 患者が割り当てられていた個人の所定の部分母集団に基づいて対象を治療（ここで、治療は、1 つ又は複数のステロイド、ACE 阻害剤、NRF 2 アクティベーター、抗酸化剤、アルドステロン拮抗薬、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT - 2 阻害薬、免疫抑制薬の投与、臓器保護、又は急性腎損傷治療、腎代替療法の開始、腎臓に損傷を与えることが知られている化合物の送達中止、腎臓に損傷を与えることが知られている手順の遅延又は回避、及び利尿薬投与の変更の 1 つ又は複数を含む）することを含む、対象における腎状態を評価するための方法を含み得る。一態様では、患者は、鉄又は鉄複合体（例えば、鉄スクロース）と、ヘムタンパク質分解阻害剤（スズプロトポルフィリン、SnPP）との組み合わせで治療され得る。別の態様において、患者は、クルクミノイド（例えば、テトラヒドロクルクミン）製剤で治療され得る。さらに別の態様では、患者はバルドキソロンメチルで治療され得る。

10

20

【 0 0 1 7 】

一実施形態では、本発明は、(a) 患者の p 1 6 i n k 4 a、p 1 9、及び p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実行すること、(b) p 1 6 i n k 4 a、p 1 9、及び p 2 1 の相対レベルを考慮して、患者が腎損傷又は腎臓病に罹患しているか否かを決定すること；及び、(c) 患者が腎損傷又は腎臓病に罹患していると決定された場合、さらなる腎損傷のリスクを減らすために患者を治療（ここで、治療は、1 つ又は複数のステロイド、ACE 阻害剤、NRF 2 アクティベーター、抗酸化剤、アルドステロン拮抗薬、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT - 2 阻害薬、免疫抑制薬の投与、臓器保護、又は急性腎損傷治療、腎代替療法の開始、腎臓に損傷を与えることが知られている化合物の送達中止、腎臓に損傷を与えることが知られている手順の遅延又は回避、及び利尿薬投与の変更の 1 つ又は複数を含む）することを含む、腎損傷又は腎臓病が進行しているリスクのある患者を治療する方法を含み得る。患者は、腎臓移植を受けた患者であり得る。

30

【 0 0 1 8 】

一態様では、患者は、鉄又は鉄複合体（例えば、鉄スクロース）と、ヘムタンパク質分解阻害剤（スズプロトポルフィリン、SnPP）との組み合わせで治療され得る。別の態様において、患者は、クルクミノイド（例えば、テトラヒドロクルクミン）製剤で治療され得る。さらに別の態様では、患者はバルドキソロンメチルで治療され得る。

40

【 0 0 1 9 】

一態様では、患者の p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実施するステップ (a) はまた、患者の微量アルブミン、フェリチン、ヘモペキシン、及びハプトグロビンのレベルを決定するためのアッセイを実施することを含む。

【 0 0 2 0 】

一実施形態では、本発明は、(a) 患者の p 1 6 i n k 4 a、p 1 9、及び p 2 1 のレベルを決定するためのアッセイを実行すること；(b) p 1 6 i n k 4 a、p 1 9、及び p 2 1 の相対レベルを考慮して、患者が肝臓、腎臓、心臓、又は脳の機能障害、損傷、又は老化に罹患しているか否かを決定することを含む、患者を治療する方法を含み得る。

【 0 0 2 1 】

アッセイステップのいずれかにおいて、アッセイは、(i) 患者から体液サンプルを入

50

手すること、(i i) 体液サンプルの全部又は一部を、p 2 1 の検出のために特異的に結合する結合試薬と接触させること、及び、結合試薬への p 2 1 の結合を示すアッセイ結果を決定して、1 つ又は複数のアッセイ結果を提供することを含み得る。

【 0 0 2 2 】

一実施形態では、本発明は、腎損傷に罹患している患者に有効量のヒト p 2 1 を投与することを含む、腎損傷に罹患している患者を治療する方法を含み得る。ヒト p 2 1 は組換えヒト p 2 1 であり得る。

【 0 0 2 3 】

一実施形態では、本発明は、腎損傷に罹患している患者に有効量のヒト p 2 1 活性化因子を投与することを含む、腎損に罹患している患者を治療する方法を含み得る。ヒト p 2 1 活性化因子はテノビン - 1 を含み得る。

10

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 4 】

【 図 1 】 腎損傷後のいくつかの体液で上昇した p 2 1 の増加を示している。

【 図 2 】 腎損傷後の経時的な p 2 1 の増加を示している。

【 図 3 】 加齢に伴って増加する p 2 1 を示している。

【 図 4 】 腎損傷後の肝臓の老化バイオマーカーと比較した p 2 1 を示している。

【 図 5 】 腎損傷後の腎臓の老化バイオマーカーと比較した p 2 1 を示している。

【 図 6 】 腎損傷後の心臓の老化バイオマーカーと比較した p 2 1 を示している。

【 図 7 】 腎損傷後の脳の老化バイオマーカーと比較した p 2 1 を示している。

20

【 図 8 】 腎損傷に関連する心臓及び脳における p 2 1 発現を示している。

【 0 0 2 5 】

サイクリン依存性キナーゼ阻害剤 1、又は C D K 相互作用タンパク質 1 としても知られる、p 2 1 は、全てのサイクリン / C D K 複合体を阻害できるサイクリン依存性キナーゼ阻害剤 (C K I) である。ヒト p 2 1 のアミノ酸配列は以下のとおりである。

【 0 0 2 6 】

【 化 1 】

```
MSEPAGDVRQNPCGSKACRRLFGPVDSEQLSRDCDAL
MAGCIQEARERWNFDFVTETPLEGDFAWERVRGLGL
PKLYLPTGPRRGRDELGGGRRPGTSPALLQGTAEDH
VDLSLSCTLVPRSGEQAEGSPGGPGDSQGRKRRQTSM
TDFYHSKRRLIFSKRKP
```

30

【 0 0 2 7 】

P 2 1 は p 5 3 活性の主要な標的を表す。したがって、D N A 損傷により細胞周期停止に至ることと関連している。これにより、p 2 1 はこのプロセスをテストするための有望な診断分子マーカーとなる。本発明は、急性腎障害又は急性腎不全の早期発見及び治療における p 2 1 バイオマーカーの使用、並びに関連する細胞周期停止、並びに、好ましくは血漿及び尿の両方における p 2 1 バイオマーカーの試験キットに関する。本発明者らは、p 2 1 が、状態、特に A K I を含む腎臓に影響を与える状態を治療するために治療的に使用され得ることを見出した。

40

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 8 】

本発明は、p 2 1 が、損傷後 2 時間という早い時期に尿を含むいくつかの体液で上昇し、虚血性損傷後少なくとも 2 4 時間持続するという、発明者による驚くべき発見に基づいていた。図 1 に示すように、p 2 1 m R N A の増加は、腎損傷後の p 2 1 の産生の増加を示している。p 2 1 タンパク質の産生のこの増加は、腎皮質レベルの増加、つまり、p 2 1 の尿中レベルの増加につながる。p 2 1 のいくつかはそれをプラズマにする。驚くべきことに、尿中及び血漿中のレベルは予想外に劇的であり、腎臓細胞損傷 / 細胞周期停止バイオマーカーとしてのそれらの有用性を強調している。p 2 1 細胞核タンパク質が、細

50

胞死がなければ尿中に漏出するであろうことは、全く予想外である。理論に拘束されることを望まないが、p 2 1 の尿への輸送は、おそらく細胞プロセスであるエキソサイトーシスによって起こり、これにより、細胞はタンパク質産物をパッケージ化し、尿に入る細胞からそれらを輸送する。

【0029】

血漿と尿の両方で p 2 1 バイオマーカーを検出する機能により、尿サンプルは腎臓の状態の診断に日常的に利用されるため、腎障害のバイオマーカーとして特に有利となる。p 2 1 バイオマーカーは、血漿、血清、尿で E L I S A を使用して測定できる。あるいは、試験は試験紙上で行うことができる。好ましい実施形態では、p 2 1 は、p 2 1 を捕捉するためにプレートに固定された一次抗体を含むプレートを使用して測定される。その後、プレートに捕捉された p 2 1 を検出するために、2 次抗体が適用される。検出抗体には、E L I S A プレートリーダーを使用して定量化できる可視マーカー（西洋ワサビペルオキシダーゼなど）がある。1 つの好ましい態様における抗体対は、マウス p 2 1 捕捉抗体（部品番号 3 2 0 0 0 8 6）及びマウス p 2 1 検出抗体（部品番号 3 2 0 0 0 8 7）を含む A b c a m # a b 2 1 2 0 7 2 である。試験紙は、血液、尿、又はその他の体液中の p 2 1 を検出するために使用できる。

10

【0030】

p 2 1 バイオマーカーは、A K I 後の時間とともに増加し、図 2 に示すように、少なくとも部分的に老化プロセスに起因する腎疾患進行の潜在的なマーカーとなる。

20

【0031】

p 2 1 の 1 つの様態は、図 3 に示すように、p 2 1 のベースラインレベルが加齢に伴って増加することである。これらのデータは、健康なマウスで血漿 p 2 1 のレベルが時間とともに増加することを示している。データはまた、血漿 p 2 1 が腎皮質 p 2 1 と密接に関連していることを示している。この情報は、測定された p 2 1 の特定の値が腎損傷を示しているか否かを決定する際に考慮することができる。

【0032】

加齢に伴って p 2 1 が増加すると、バイオマーカーは健康な人の老化を検出するのにも役立つ。例えば、p 2 1 のベースラインレベルは、年代順の年齢とは異なる可能性のある個人の生物学的年齢を決定する際に利用できる。全てが等しい場合、p 2 1 のレベルが大きく異なる同じ年代の 2 人は、生物学的年齢が異なると見なされ得る。これは、特定の患者がより積極的な治療オプションに耐える能力を評価するのに役立つ可能性がある。したがって、p 2 1 アッセイを利用して患者の生物学的年齢を決定し、その情報を利用して特定の患者の治療オプションの中から選択することができる。

30

【0033】

p 2 1 バイオマーカーは、p 1 6 及び p 1 9 アッセイを含む老化の他のバイオマーカーと組み合わせて利用することができる。以下のデータは、健康なマウスの脳、腎臓、心臓、肝臓における老化のこれらのバイオマーカーの進行を、m R N A に反映されていることに示している。以下の図 4 ~ 7 を参照されたい。

【0034】

別の実施形態では、本発明が、p 1 6 i n k 4 a、p 1 9、及び p 2 1 を含む少なくとも 3 つのバイオマーカーの患者のレベルを試験し、これらのバイオマーカーの患者プロファイルに基づいて、患者が肝臓、腎臓、心臓及び / 又は脳の損傷又は老化を受けているか否かを決定することに関する。次の図に示すように、これらの 3 つのバイオマーカーの反応は、損傷が肝臓、腎臓、心臓、脳のいずれにあるかによって異なる。

40

【0035】

本発明は、臓器損傷の独特のマーカーとしての p 2 1、並びに細胞老化及び細胞周期停止へのその移行に依存している。現在、これらの決定を行うための信頼できる方法はない。p 1 6 及び p 1 9 の同時測定は、それらが老化プロセスのマーカーでもあるため、p 2 1 の結果を裏付けるデータを提供する。組織が異なれば、老化を起こしている間、p 2 1、p 1 6、p 1 9 の比率も異なる。したがって、血漿、血清、又は尿中のこれらのタンバ

50

ク質の比率は、腎臓以外の組織（心臓及び脳など）と比較して、老化プロセスを腎臓に局在化させるのに役立つ。そのようにすることによって、これらのアッセイは、特定の臓器標的化にどの治療薬を使用すべきかについての見通しを提供することができる。

【 0 0 3 6 】

一態様では、本発明は、3つのバイオマーカーのプロファイルを検討して、損傷又は老化が腎機能障害に関連しているか否かを決定することに関する。進行中の腎損傷は従来の技術を使用して決定するのが難しい場合があるため、観察されたp21活性が腎機能障害に関連しているか否かを決定する機能は特に有用である。上記のチャートに示されているように、虚血性損傷に起因する腎機能障害は、3つ全てのバイオマーカーの存在の増加を示すが、他の臓器損傷は、3つ全てのバイオマーカーよりも低いレベルの上昇をもたらす。したがって、3つのバイオマーカー全ての分析は、腎臓機能障害、相対的な一般化された臓器機能障害、又は他の臓器損傷に関連するp21活性を指摘することができる。

10

【 0 0 3 7 】

一態様では、腎損傷のある患者を診断するために使用されるバイオマーカーの組み合わせには、患者のp21のレベルを決定するためのアッセイ、及び患者の微量アルブミン、フェリチン、ヘモペキシン、及びハプトグロビンのレベルを決定するためのアッセイが含まれる。

【 0 0 3 8 】

腎損傷が検出されると、患者はさらなる腎損傷のリスクを減らすために治療を受けることがある。治療は、1つ又は複数のステロイド、ACE阻害剤、NRF2アクティベーター、抗酸化剤、アルドステロン拮抗薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬（ARB）、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT-2阻害薬、免疫抑制剤の投与、臓器保護、又は急性腎損傷治療、腎代替療法の開始、腎臓に損傷を与えることが知られている化合物の送達中止、腎臓に損傷を与えることが知られている手順の遅延又は回避、及び利尿薬投与の変更の1つ又は複数を含み得る。

20

【 0 0 3 9 】

適切なステロイドには、メチルプレドニゾロン及びプレドニゾロンが含まれ得る。適切なACE阻害剤には、ベナゼプリル（Lotensin）、カプトプリル（Capoten - 製造中止ブランド）、エナラプリル（Vasotec、Epaned）、フォシノプリル（Monopril - 製造中止ブランド）、リシノプリル（Prinivil、ゼストリル、クブレリス）、モエキシプリラート（Univas - 製造中止ブランド）、ペリンドプリル（Aceon）、キナプリル（Accupril）、ラミプリル（Altace）、トランドラプリル（Mavik）が含まれる。適切なNRF2アクティベーターには、バルドキソロン及びスルフォラファン（イソチオシアネート）が含まれる。適切な抗酸化剤には、ビタミンC、ビタミンE、アルファリポ酸、セレン、及びベータカロチン、リコピン、ルテイン、ゼアキサントニンなどのカロテノイド、及びクルクミノイド（テトラヒドロクルクミン、ターメリック）が含まれる。適切なアルドステロン拮抗薬には、エプレレノン（Inspira）及びスピロラク톤（Aldactone、Carospir）が含まれる。適切なアンジオテンシンII受容体遮断薬（ARB）には、アジルサルタン（Edarbi）、カンデサルタン（Atacand）、エプロサルタン、イルベサルタン（Avapro）、ロサルタン（Cozaar）、オルメサルタン（Benicar）、テルミサルタン（Micardis）、バルサルタン（Diovan）が含まれる。適切なACE阻害剤には、ベナゼプリル（Lotensin）、カプトプリル、エナラプリル（Vasotec）、フォシノプリル、リシノプリル（Prinivil、Zestril）、モエキシプリル、ペリンドプリル（Aceon）、キナプリル（Accupril）、ラミプリル（Altace）、又はトランドラプリル（Mavik）が含まれる。適切なバソプレシン拮抗薬には、トルバプタン及びコニバプタンが含まれる。適切なSGLT-2阻害剤には、カナグリフロジン（Invokana）、ダバグリフロジン（Farxiga）、エンバグリフロジン（Jardiance）、エンバグリフロジン/リナグリプチン（Glyxambi）、エンバグリフロジン/メトホルミン（Syn

30

40

50

jardy)、及びダバグリフロジン/メトホルミン(Xigduo XR)が含まれる。適切な免疫抑制剤には、コルチコステロイド、ヤヌスキナーゼ阻害剤、カルシニューリン阻害剤、mTOR阻害剤、IMDH阻害剤、生物製剤、及びモノクローナル抗体を含むことができる。免疫抑制剤の特定の例には、プレドニゾン(Deltasone、Orasone)、ブデソニド(Entocort EC)、プレドニゾロン(Millipred)、トファシチニブ(Xeljanz)、シクロスポリン(Neoral、Sandimmune、SangCya)、タクロリムス(Astagraf XL、Envarsus XR、Prograf)、アザチオプリン(Azasan、Imuran)、レフルノミド(Arava)、ミコフェノール酸(CellCept、Myfortic)、アバタセプト(Orencia)、アダリムマブ(Humira)、アナキンラ(Kineret)、セルトリズマブ(Cimzia)、エタネルセプト(Enbrel)、ゴリムマブ(Simponi)、インフリキシマブ(Remicade)、イキセキズマブ(Taltz)、ナタリズマブ(Tysabri)、リツキシマブ(Rituxan)、セクキヌマブ(Cosentyx)、トシリズマブ(Actemra)、ウステキヌマブ(Stelara)、ベドリズマブ(Entyvio)、バシリキシマブ(Simulect)、及びダクリズマブ(Zinbryta)を含むことができる。適切な臓器保護剤は、好ましくは腎保護剤であり、フロセミド、ドーパミン、テオフィリン、マンニトール、カルシウムチャンネル遮断薬、 $\alpha 2$ アドレナリン受容体アゴニスト、強心配糖体、ナトリウム利尿ペプチド、プロスタグランジン(PGE2、プロスタサイクリン、ミストプロストル)、一酸化窒素シンターゼ阻害剤(L-NMMA)、カテコールアミン(アドレナリン、ノルアドレナリン、ドブタミン、ドベキサミン)、血管内容積充填、及び成長因子(IGF1、表皮成長因子、肝細胞成長因子)を含む他の薬剤、ブラジキニン、マグネシウム、エンドセリン-1拮抗薬、及び低用量エンドセリン-1を含むことができる。適切な急性腎損傷の治療には、上記の薬剤の多く、並びに、抗アポトーシス/壊死剤(カスパーゼ阻害剤、ミノサイクリン、グアノシン及びピフィスリン- α (p53阻害剤)、ポリADP-リボースポリメラーゼ阻害剤)、フリーラジカルスカベンジャー(デフェロキサミン)、防腐剤(ピルビン酸エチル、活性化プロテインC、インスリン)、成長因子(組換えエリスロポエチン、肝細胞成長因子)、血管拡張剤(一酸化炭素放出化合物及びビリルビン、エンドセリン拮抗薬)、抗炎症薬(例:スフィンゴシン1リン酸(S1P)アナログ、選択的A2ARアゴニスト、誘導型一酸化窒素合成酵素阻害剤)、及び好中球ゼラチナーゼ関連リポカリンを含む他の化合物、IL-6及びC5a拮抗薬、IL-10、及び α -メラノサイト刺激ホルモンが含まれる。適切なARBには、アジルサルタン(Edarbi)、カンデサルタン(Atacand)、エプロサルタン、イルベサルタン(Avapro)、ロサルタン(Cozaar)、オルメサルタン(Benicar)、テルミサルタン(Micardis)、バルサルタン(Diovan)が含まれる。適切なACE阻害剤には、ベナゼプリル(Lotensin)、カプトプリル、エナラプリル(Vasotec)、フォシノプリル、リシノプリル(Prinivil、Zestril)、モエキシプリル、ペリンドプリル(Aceon)、キナプリル(Accupril)、ラミプリル(Altace)、又はトランドラプリル(Mavik)が含まれる。

【0040】

一態様では、上記の方法に従って腎損傷が検出された患者は、鉄又は鉄複合体(例えば、鉄スクロース)と、ヘムタンパク質分解阻害剤(スズプロトポルフィリン、SnPP)の組み合わせで治療され得る。これらの治療法は、Compositions, Kits and Methods to Induce Acquired Cytoresistance Using Stress Protein Inducersと題される、米国特許第9,844,563号にさらに記載されており、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。'563特許に記載されている治療法により、予見される損傷の前に臓器を保護することができる。患者が腎損傷と診断された場合、例えば、鉄スクロース及びSnPPを投与して、さらなる損傷のリスクを低減することができる。

【0041】

10

20

30

40

50

別の態様では、上記の方法に従って腎損傷が検出された患者は、クルクミノイド（例えば、テトラヒドロクルクミン）製剤で治療することができる。これらの治療法は、Deuterated or a Non-Deuterated Molecule and Pharmaceutical Formulationsと題される、米国特許第9,375,408号にさらに記載されている。408特許に記載されている治療法により、テトラヒドロクルクミン（THCu）製剤を投与することにより、腎損傷の進行を予防又は遅らせることができる。一態様では、THCuはリボソーム中に製剤化されている。

【0042】

さらに別の態様では、上記の方法に従って腎損傷が検出された患者は、バルドキソロンメチル（RTA 402）で治療することができる。この化合物は、“Synthetic triterpenoids and method of use in the treatment of disease.”と題される、米国特許第8,455,544号に記載されている。バルドキソロンメチルは、炎症及び癌関連の適応症の臨床開発における抗酸化炎症モジュレーター（AIM）であり、炎症組織の酸化還元ホメオスタシスを回復することによって免疫性炎症を抑制する。それは細胞保護転写因子Nrf2を誘導し、酸化促進性及び炎症性転写因子NF-κB及びSTAT3の活性を抑制する。インビボでは、RTA 402は、シスプラチンモデルの腎障害及び虚血再灌流モデルの急性腎障害など、炎症のいくつかの動物モデルで有意な単剤抗炎症活性を示している。さらに、RTA 402で治療された患者では、血清クレアチニンの有意な低下が観察されている。

10

20

【0043】

p21バイオマーカーの別の態様は、その存在が加齢に伴って自然に増加することである。したがって、それを超えると腎損傷の可能性が高いと考えられるp21のベースラインレベルを決定する際に、患者の年齢を考慮に入れることができる。例えば、若い患者は、p21血漿レベルが200pg/mlを超える腎損傷に罹患している可能性があるが見なされる場合があるが、高齢患者は、腎損傷の可能性が高いと見なすには、400pg/mlを超えるp21血漿レベルを必要とする場合がある。いずれの場合も、p21レベルは、腎損傷後数時間以内にベースラインレベルを下回るレベルまで上昇していなければならない。例えば、損傷の場合、700pg/ml又は2000pg/mlを超えるレベルが予想される。または、腎損傷の可能性が高いと考えられるp21のベースラインレベルは、高齢患者で観察される自然レベルによって設定され得る。

30

【0044】

別の実施形態では、介入のレベルは、測定されたp21バイオマーカーのレベルに合わせて調整される場合がある。例えば、p21レベルがベースラインをわずかに上回っている患者では、介入は、腎臓に損傷を与えることが知られている化合物の送達中止、腎臓に損傷を与えることが知られている手順の遅延又は回避、及び利尿薬の投与の変更に限定され得る。血漿中の60pg/mlを超えるレベルなど、より高いレベルのp21によってさらなる腎損傷が示される場合、治療には、1つ又は複数のステロイド、ACE阻害剤、NRF2アクティベーター、アンジオテンシンII受容体遮断薬、抗酸化剤、アルドステロン拮抗薬、抗炎症薬、抗線維症薬、バソプレシン拮抗薬、SGLT-2阻害薬、免疫抑制薬の投与、臓器保護、又は急性腎損傷治療が含まれ得るか、あるいはまた、腎代替療法の開始が含まれる場合もある。

40

【実施例】

【0045】

図8に示すように、心臓及び脳におけるP21の発現は腎損傷に関連している。腎虚血は、再灌流又は偽手術、すなわち腎損傷のない手術によって誘発された。3つの臓器のp21レベルは、再灌流又は偽手術の18時間後に測定された。虚血は腎臓p21を6倍増加させた。しかしながら、驚くべきことに、腎不全（BUNとクレアチニン（Cr）の増加で示される）もまた心臓及び脳のp21 mRNAを2倍にした。そのため、腎損傷は

50

非腎器官で p 2 1 遺伝子の活性化を引き起こす。

【 0 0 4 6 】

近位尿細管をマウスの腎臓から分離し、インキュベートした。酸素欠乏への曝露により、シミュレートされた虚血性損傷が誘発された。30分以内に単離された細胞から p 2 1 漏出の3倍の増加が起こり、漏出の程度は細胞死の程度とよく相関している。ATPの細胞を枯渇させると、核が p 2 1 を保持することが不可能になり、これはおそらくエネルギーに依存するプロセスであると信じられている。次のグラフは、虚血性損傷後の p 2 1 放出の増加率を示している。

【 0 0 4 7 】

【表 1】

% p 2 1 放出		
日付	対照	低酸素
6 / 1 9 / 1 8	0 . 5 2	0 . 9 4
6 / 1 9 / 1 8	0 . 1 9	0 . 8 1
6 / 1 9 / 1 8	0 . 4 0	1 . 4 4
6 / 1 9 / 1 8	0 . 2 8	1 . 0 0
平均	0 . 3 5	1 . 0 5
標準誤差	0 . 0 7	0 . 1 4

10

20

30

40

50

【 0 0 4 8 】

これらのデータは、細胞傷害が細胞核から細胞外（尿）空間への p 2 1 の尿細管細胞放出を引き起こすことを証明している。p 2 1 は核から放出され、尿だけでなく血液にも浸透するため、細胞核及び、おそらく DNA の損傷を示す能力において、他のバイオマーカーより優れている。さらに、血液及び尿中の p 2 1 の検出可能性により、ポイントオブケア検出及び定量化が可能となる。

【 0 0 4 9 】

本発明はまた、患者の尿中の p 2 1 のレベルを測定するための尿検査装置を含む。上記のように、尿中の p 2 1 バイオマーカーを検出する能力は、尿サンプルが腎臓の状態の診断に日常的に利用されるため、腎障害のバイオマーカーとして特に有利となる。尿検査装置には、2つの抗体を含むテストストリップが含まれている。各抗体は、p 2 1 タンパク質の異なる部位に向けられる。1つの抗体がディップスティックに埋め込まれ、血漿、血清、又は尿サンプルの p 2 1 に結合又は捕捉する。ディップスティックをサンプルに数分間曝露させ、p 2 1 を結合させた後、ディップスティックを洗浄し（生理食塩水に1～2秒間浸し）、検出可能な読み出しがバインドされている（定義される）二次抗体を含む溶液にスティックを入れる。その後、読み出し分子（例えば、蛍光シグナル）が、蛍光シグナルを読み取ることができるデバイスで定量化される。

【 0 0 5 0 】

本発明はまた、患者の血液中の p 2 1 のレベルを測定するための血液検査装置を含む。上記のように、血液中の p 2 1 バイオマーカーを検出する能力は、血液サンプルが腎臓の状態の診断に日常的に利用されるため、腎障害のバイオマーカーとして特に有利となる。このデバイスは、血液滴を処理するか、又は、糖尿病患者の血糖値を測定するための既知のデバイスと同様のピン刺しを利用することができる。血液検査装置は、上記のように2つの抗体を含む試験ストリップを含む。あるいは、p 2 1 のレベルは、臨床検査室が利用

可能な状況でネフィロメトリーを使用して臨床検査室で行うことができる。

【0051】

別の態様では、p21バイオマーカーは、既知のAKIバイオマーカーと組み合わせることができる。既知のAKIバイオマーカーは3つのカテゴリーに分類される。最初のグループには、早期AKIに反応して尿中に放出される構成的に発現する近位尿細管タンパク質が含まれる。例としては、リソソーム酵素N-アセチルβ-グルコサミニダーゼ(NAG)、細胞質ゾルタンパク質乳酸デヒドロゲナーゼ、又は刷子縁タンパク質gp330(以前は腎尿細管上皮抗原と呼ばれていた)がある。2番目のグループには、尿細管の「ストレス分子」が含まれる。これは、遺伝子転写(mRNAの上昇)、タンパク質の翻訳、そして最終的には尿路へのタンパク質の放出の増加で損傷に反応する。好中球ゼラチナーゼ関連リブカリン(NGAL)及びKIM-1は、おそらくこのカテゴリー内で最もよく知られている分子であるが、他の例(ヘムオキシゲナーゼ1[HO-1]、α-フェトプロテイン、ハプトグロビン)も存在する。3番目のカテゴリーには、糸球体によって自由にろ過される低分子量タンパク質(β2-ミクログロブリン、リゾチーム、α1-ミクログロブリン、軽鎖、シスタチンcなど)が含まれる。これらのバイオマーカーは異なる病態生理学的経路を反映するため、組み合わせバイオマーカーとしてp21と組み合わせることで有利に使用することができる。

10

【0052】

p21タンパク質は、様々な腎臓病を治療するための治療薬としても使用できる。この場合、ヒトp21タンパク質は、組換え技術を使用して産生され、腎臓病を治療するために静脈内又は筋肉内経路を介して投与され得る。治療上有効な用量は、投与時に、患者の尿細管p21のレベルが、その発現を軽減するために、損傷時に自然に存在するレベルよりも高くなるようなものでなければならない。投与は、手術の場合など、損傷の直前に行うことができ、または一般に、損傷が発生しているか、又は予想される臓器のp21レベルを上げるために使用することができる。これは、細胞が保護タンパク質としてp21を作るためである。組換えp21は、例えば、abcam、1 Kendall Square、Suite B2304、Cambridge、MA 02139-1517 USAから入手できる。

20

【0053】

p21タンパク質は、腎臓細胞でのp21産生レベルの上昇を引き起こす薬剤の投与によっても誘導される可能性がある。テノビン-1は、細胞周期停止のp21活性化因子及び誘導因子である。Wilking、M.J.、Singh、C.、Nihal、M.、Zhong、W. & Ahmad、N. SIRT1デアセチラーゼはヒトメラノーマで過剰発現しており、その小分子阻害はp53の活性化を介して抗増殖反応をもたらす。Arch. Biochem. Biophys. 563, 94-100 (2014)。本実施形態は、患者の腎臓病を治療するために、それを必要とする患者に治療有効量でテノビン-1を投与することを含む。

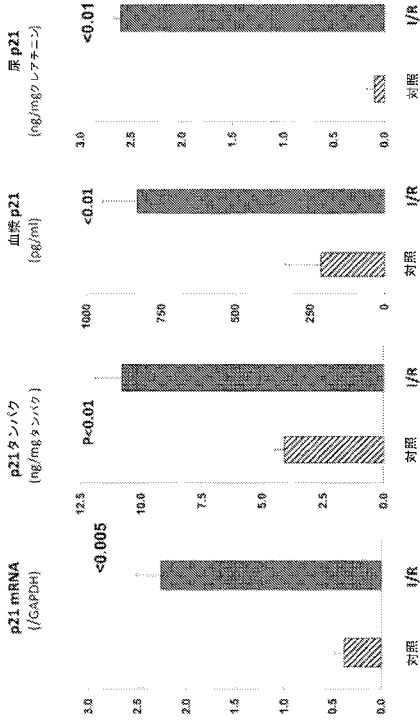
30

【0054】

本発明の他の実施形態及び使用は、本明細書に開示される本発明の仕様及び実施を考慮することから当業者には明らかであろう。全ての米国並びに、外国の特許及び特許出願を含む、本明細書で引用された全ての参考文献は、参照により本明細書に具体的かつ完全に組み込まれる。本明細書及び実施例は、以下の特許請求の範囲によって示される本発明の真の範囲及び精神を用いて、例示のみと見なされることが意図されている。

40

【 図 1 】



【 図 3 】

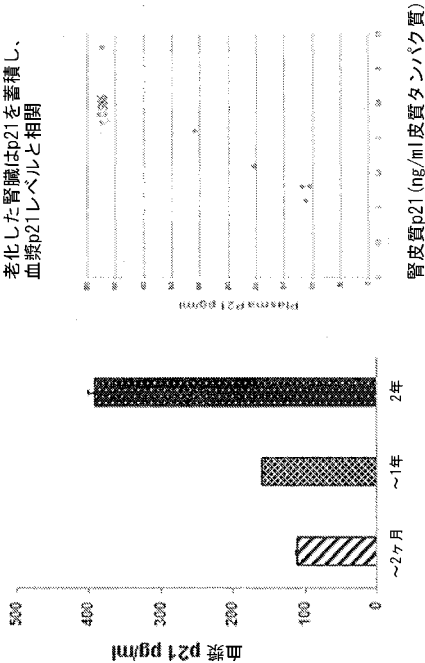


Fig. 1

【 図 2 】

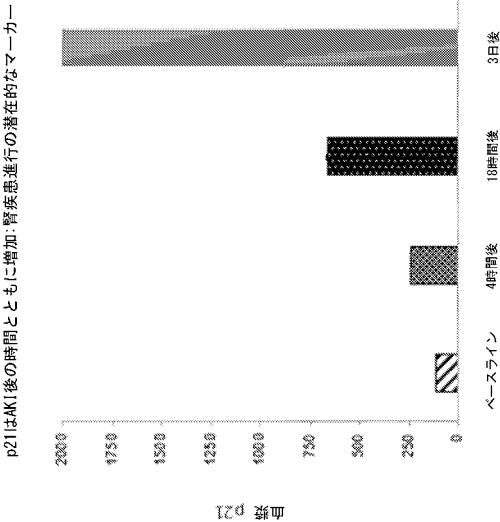


Fig. 2

【 図 4 】

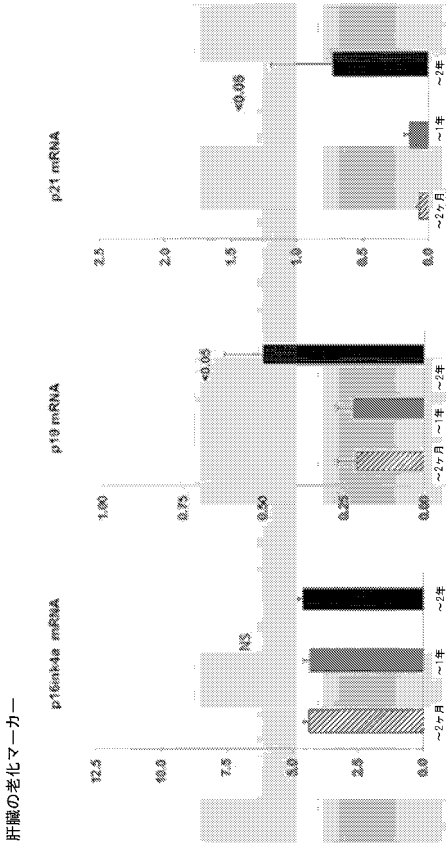


Fig. 4

Fig. 3

【図 5】

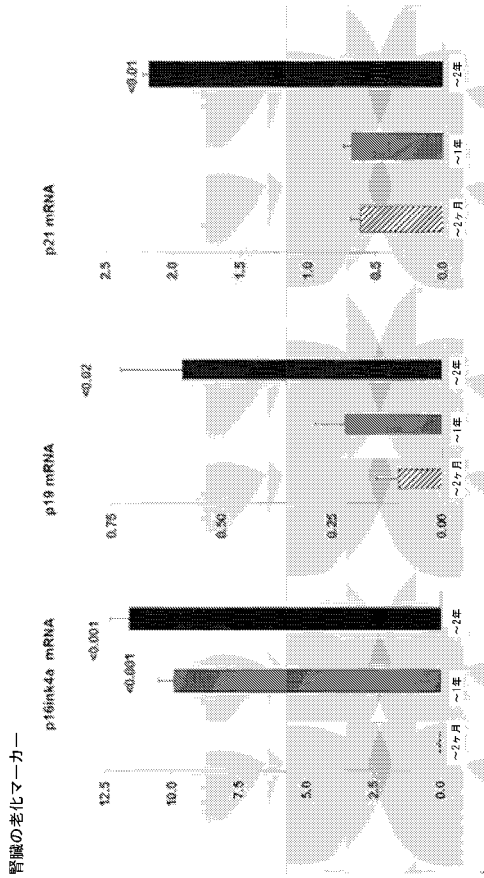


Fig. 5

【図 6】

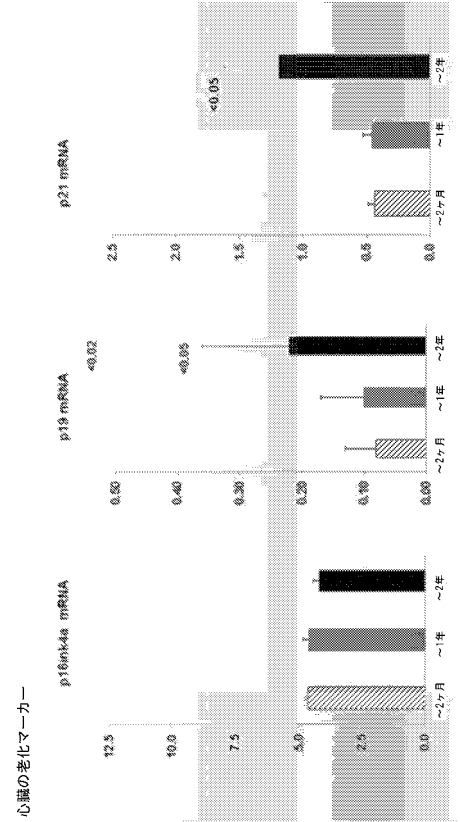


Fig. 6

【図 7】

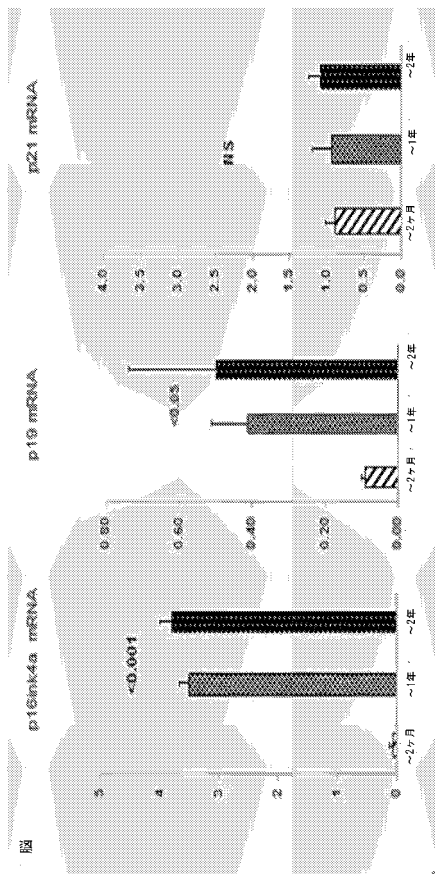


Fig. 7

【図 8】

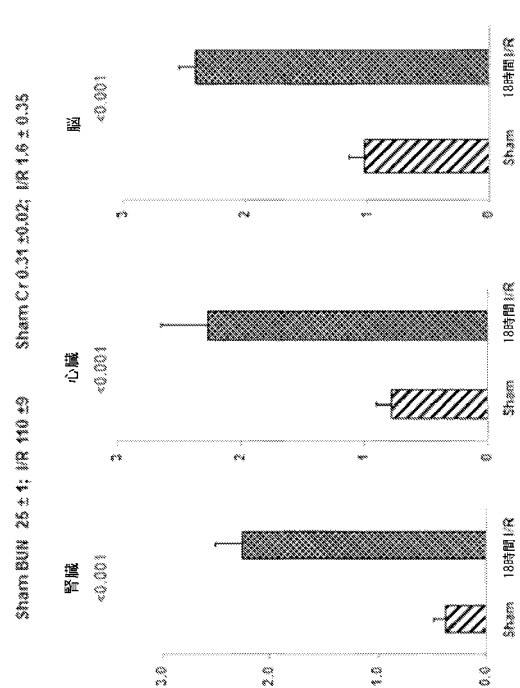


Fig. 8

【配列表】

2021526221000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2019/034018

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. G01N33/68
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)

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, BIOSIS, CHEM ABS Data, 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	PETER M. PRICE ET AL: "The cell cycle and acute kidney injury", KIDNEY INTERNATIONAL, vol. 76, no. 6, 17 June 2009 (2009-06-17), pages 604-613, XP055629731, LONDON, GB ISSN: 0085-2538, DOI: 10.1038/ki.2009.224 figures 4, 6 ----- -/--	27-29

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"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

28 October 2019

Date of mailing of the international search report

05/11/2019

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

Schwachtgen, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2019/034018

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FANG-FANG HE ET AL: "Inhibition of SIRT2 Alleviates Fibroblast Activation and Renal Tubulointerstitial Fibrosis via MDM2", CELLULAR PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY., vol. 46, no. 2, 1 April 2018 (2018-04-01), pages 451-460, XP055627813, CH ISSN: 1015-8987, DOI: 10.1159/000488613 page 452, paragraph 2 page 454, paragraph 2 page 457, lines 15-20 page 458, paragraph 4 -----	29,30
Y	W0 2014/113558 A1 (ASTUTE MEDICAL INC [US]) 24 July 2014 (2014-07-24) cited in the application paragraph [0075]; claims 1-21 paragraph [0087] -----	1-26, 31-39
Y	ALI C M JOHNSON ET AL: "Mechanisms and consequences of oxidant-induced renal preconditioning: an Nrf2-dependent, P21-independent, anti-senescence pathway", NEPHROLOGY DIALYSIS TRANSPLANTATION., vol. 33, no. 11, 7 March 2018 (2018-03-07), pages 1927-1941, XP055628215, GB ISSN: 0931-0509, DOI: 10.1093/ndt/gfy029 figures 1,5,6 page 1939, column 2, paragraph 1; figure 7 page 1935; figure 10 -----	1-26, 31-39
A	LUCIA ANDRADE ET AL: "Acute Kidney Injury as a Condition of Renal Senescence", CELL TRANSPLANTATION., vol. 27, no. 5, 27 April 2018 (2018-04-27), pages 739-753, XP055627819, US ISSN: 0963-6897, DOI: 10.1177/0963689717743512 page 742, paragraph 1 - paragraph 2 page 741, column 1, paragraph 1 - page 742, column 1, paragraph 2 -----	1-39

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2019/034018

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014113558 A1	24-07-2014	AU 2014207509 A1	20-08-2015
		CA 2898581 A1	24-07-2014
		CN 105074466 A	18-11-2015
		CN 107976547 A	01-05-2018
		EP 2946211 A1	25-11-2015
		EP 3361255 A1	15-08-2018
		ES 2681955 T3	17-09-2018
		HK 1212773 A1	17-06-2016
		JP 2016505143 A	18-02-2016
		PL 2946211 T3	31-08-2018
		PT 2946211 T	04-06-2018
		TR 201807542 T4	21-06-2018
		US 2015355196 A1	10-12-2015
		US 2016274128 A1	22-09-2016
		US 2017307634 A1	26-10-2017
		WO 2014113558 A1	24-07-2014

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 43/00 (2006.01)		A 6 1 P 43/00	1 2 1	
A 6 1 K 31/555 (2006.01)		A 6 1 K 31/555		
A 6 1 K 31/56 (2006.01)		A 6 1 K 31/56		
A 6 1 K 31/121 (2006.01)		A 6 1 K 31/121	Z N A	

(81) 指定国・地域 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, 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

(72) 発明者 カイザー , ドナルド・ジェフリー
アメリカ合衆国、テキサス・ 7 6 0 9 2、サウスレイク、ウィンダム・ヒル・レイン・ 1 2 1 6

(72) 発明者 ギエム , アルバロ・エフ
アメリカ合衆国、テキサス・ 7 6 2 2 6、ランタナ、ラスロップ・ストリート・ 7 2 7

F ターム (参考) 4C084 AA16 AA17 NA06 ZA811 ZA812 ZB082 ZC022 ZC202 ZC352 ZC422
4C086 AA01 AA02 CB04 DA08 EA01 HA11 HA28 MA01 MA02 MA04
ZA81 ZC75
4C206 AA01 AA02 CB14 KA01 MA01 MA04 NA06 ZA81