

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2011年3月10日(10.03.2011)

PCT

(10) 国際公開番号

WO 2011/027839 A1

- (51) 国際特許分類:
C07K 14/775 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01) C07K 19/00 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/065070
- (22) 国際出願日: 2010年9月2日(02.09.2010)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2009-202273 2009年9月2日(02.09.2009) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 学校法人福岡大学(Fukuoka University) [JP/JP]; 〒8140180 福岡県福岡市城南区七隈八丁目19番1号 Fukuoka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 朔啓二郎(SAKU Keijiro) [JP/JP]; 〒8140180 福岡県福岡市城南区七隈八丁目19番1号 学校法人福岡大学内 Fukuoka (JP). 安東勢津子(ANDO Setsuko) [JP/JP]; 〒8140180 福岡県福岡市城南区七隈八丁目19番1号 学校法人福岡大学内 Fukuoka (JP). 上原吉就(UEHARA Yoshinari) [JP/JP]; 〒8140180 福岡県福岡市城南区七隈八丁目19番1号 学校法人福岡大学内 Fukuoka (JP).
- (74) 代理人: 松尾憲一郎(MATSUO Kenichiro); 〒8100042 福岡県福岡市中央区赤坂1丁目10番17号 しんくみ赤坂ビル7階 Fukuoka (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告(条約第21条(3))
— 明細書の別個の部分として表した配列リスト(規則 5.2(a))

(54) Title: CHOLESTEROL-EFFLUX PEPTIDE

(54) 発明の名称: コレステロール搬出ペプチド

(57) Abstract: Disclosed is a peptide which has an effect of promoting cholesterol efflux and another effect of generating HDL. This cholesterol-efflux peptide has an effect of generating HDL in addition to the effect of promoting cholesterol efflux. A medicinal composition that comprises the aforesaid cholesterol-efflux peptide as the main active ingredient is useful in promoting cholesterol efflux, increasing serum HDL concentration, activating LCAT and promoting RCT and, therefore, can be used for preventing and treating cardiovascular diseases, for example, angina, hypertension, hyperlipemia such as hypercholesterolemia and arterial sclerosis such as atherosclerosis, cardiovascular diseases relating to cardiovascular disorders that are induced by medical treatments using a balloon, a stent or the like such as re-stenosis caused by atherosclerotic plaque, and disorders related thereto.

(57) 要約: コレステロール搬出作用ならびに HDL 新生作用を有するペプチドを提供する。この発明に係るコレステロール搬出ペプチドは、コレステロール搬出作用の他に、HDL 新生作用を有している。この発明のコレステロール搬出ペプチドを主な有効成分として含有する医薬組成物は、コレステロール搬出、血清 HDL 濃度の上昇および LCAT の活性化ならびに RCT の促進において有用であり、例えば狭心症、高血圧症、高コレステロール血症等の高脂血症、アテローム性動脈硬化症等の動脈硬化症などの心血管疾患や、例えばバルーンやステントなどの医療処置の結果進展するアテローム硬化性プラークによる再狭窄などの心血管疾患関連障害などの心血管疾患ならびに関連障害の予防ならびに治療に使用することができる。

WO 2011/027839 A1

明 細 書

発明の名称： コレステロール搬出ペプチド

技術分野

[0001] この発明は、コレステロール搬出ペプチドに関するものである。更に詳細には、この発明は、HDL産生作用を併せ持つコレステロール搬出ペプチドに関するものである。

背景技術

[0002] コレステロールは、生体を構成し、維持していく上で必須の成分である。しかし、コレステロール自体は、脂質の1種であることから、水が主体の血液には溶解しないので、そのままの状態では血液で運搬することができない。そこで、コレステロールは、生体内では、アポリポタンパク質と結合してリポタンパク質という複合体の状態では血液を運搬されている。このリポタンパク質は、一般的に、アポリポタンパク質粒子の密度・比重などにより、カイロミクロン、超低比重リポタンパク質（VLDL）、低比重リポタンパク質（LDL）および高比重リポタンパク質（HDL）の4つに大きく分類されている。

[0003] これらのリポタンパク質のうち、低比重リポタンパク質（LDL）および高比重リポタンパク質（HDL）が血液中でのコレステロールの運搬に主に関わっている。低比重リポタンパク質（LDL）は、コレステロールを細胞に運搬するという重要な役割を果たしている。一方、高比重リポタンパク質（HDL）は、コレステロールを細胞から肝臓に運搬するという重要な役割を果たしている。したがって、正常な状態では、LDLとHDLとは均衡が取れていて、コレステロールの受け渡しと排除とが適切に行われて問題は生じないようになっている。ところが、一旦LDLとHDLとの均衡が崩れると、体内でのコレステロールの制御ができなくなり、体内で様々な異常、障害、疾病などを起因することが知られている。

[0004] 特に低比重リポタンパク質（LDL）コレステロールの高値は、動脈硬化症な

どの心血管疾患の極めて高いリスクファクターであることはよく知られている。この意味で、低比重リポタンパク質（LDL）コレステロールが「悪玉コレステロール」と通称されている所以である。そこで、心血管疾患を予防または治療するための第一選択肢として、このLDLコレステロールを低下させるLDLコレステロール低下療法が適用される。このLDLコレステロール低下療法には、一般に、スタチンなどのコレステロール低下薬などの投与によって行われる。しかし、かかるLDLコレステロール低下療法だけでは、心血管疾患の発症を十分には抑制できていないのが現状である（例えば、非特許文献1参照）。

[0005] 一方、上記したように、高比重リポタンパク質（HDL）は、コレステロールを細胞から肝臓に運搬する”いわゆるコレステロール逆転送系“において重要な役割、すなわち組織コレステロールのスキャベンジャーとしての重要な役割を果たしている。このことから、高比重リポタンパク質（HDL）コレステロールは、低比重リポタンパク質（LDL）コレステロールが「悪玉コレステロール」と通称されているのに対して、「善玉コレステロール」と通称されている。したがって、高比重リポタンパク質（HDL）コレステロールの血中濃度は、規定濃度よりも高い値が必要とされる。反対に、HDLコレステロールが規定値よりも低値になると、十分な量のコレステロールが肝臓に運搬されず分解されなくなり、その結果血液中のコレステロール量が増加して、心血管疾患リスクファクターの1つになることが示されている（例えば、非特許文献2、3参照）。したがって、LDLコレステロール低下療法の次の治療標的として、HDLコレステロールの作用増強療法が注目を浴びている（例えば、非特許文献4、5参照）。

[0006] 現在、HDLコレステロールの作用増強療法としては、HDLコレステロールの増加薬としてのスタチン類、コレステロールエステル転送タンパク阻害薬などの薬物投与療法が実施されている。しかし、これらはいずれも十分な効果を上げているとはいえない。つまり、現在入手できるコレステロール予防・治療用薬は、満足できるHDLコレステロール増加作用効果を奏することができ

ていないのが現状である（例えば、非特許文献 1 参照）。

[0007] 一方、HDL またはその主要タンパク成分であるアポリポタンパク質 A-I (ApoA-I) が、アテローム性動脈硬化症状を予防することを示すインビボ (in vivo) での実験データが報告されている。つまり、ヒトにおいて、血清 ApoA-I (配列番号 1) とアテローム形成とは反比例の関係にあること（例えば、非特許文献 2、6、特許文献 1 参照）や、HDL の構成成分がアテローム性動脈硬化のリスクを減少する（例えば、非特許文献 7、特許文献 1 参照）が明らかにされてきた。また、HDL または ApoA-I が、プラークの退縮を生起することも明らかにされてきた（例えば、非特許文献 8、9 参照）。これらの知見から、HDL およびその主要タンパク成分であるアポリポタンパク質であるアポリポタンパク質 A-I (ApoA-I) 自体を治療標的とした研究開発も進められてきた。

[0008] これらの研究開発の結果、HDL 作用を増強するための合成 HDL (reconstituted high density lipoprotein: rHDL) が各種作製されている（例えば、非特許文献 10 参照）。かかる rHDL としては、例えば、ヒト血漿または血清を処理して一連の超遠心 (ultracentrifugation) 処理にて単離された HDL（例えば、非特許文献 11 参照）、クロマトグラフィー等の常套の精製手段を用いて精製したアポリポタンパク質 A-I (ApoA-I)（例えば、特許文献 2 および非特許文献 12 参照）などが挙げられる。その他、ApoA-I またはその変異体も遺伝子組替えにより作製されている（例えば、特許文献 1、5 および非特許文献 13 参照）。

[0009] 上記のように作製された HDL または ApoA-I は、脂質と組み合わせて各種の合成 HDL (rHDL) が調製されている。かかる rHDL としては、例えば、血漿と ApoA-I と大豆レシチンとから作製された rHDL (特許文献 6)、ApoA-I と、卵もしくは大豆から抽出したホスファチジルコリンとから作製された rHDL (特許文献 7)、ApoA-I とジミリストイルホスファチジルコリン (DMPC) とから作製された rHDL (例えば、非特許文献 14 参照) などを挙げることができる。これらの他に、本発明者らによって作製された rHDL として、アポリポタン

パク質 A-I (ApoA-I) と 1-パルミトイル-2-オレオイルホスファチジルコリン (POPC) とから作製された rHDL (POPC/ApoA-I) (例えば、非特許文献 1、15 参照) や、上記 rHDL (POPC/ApoA-I) に活性リン脂質の一つであるスフィンゴシン-1-リン酸 (sphingosine-1-phosphate: SIP) を加えた新型 rHDL (POPC/SIP/ApoA-I) などが挙げられる (例えば、非特許文献 3 参照)。本発明者らによって作製された rHDL (POPC/ApoA-I) は、マクロファージとの共培養により、細胞内に蓄積していた余分なコレステロールの引き抜きが確認された (例えば、非特許文献 1、3 参照)。また、この新型 rHDL (POPC/SIP/ApoA-I) は、インビトロ (in vitro) においてコレステロールの引き抜き作用に加えて、冠動脈内皮細胞の管腔形成促進作用を示した (例えば、非特許文献 15 参照)。このような結果の他に、rHDL (ApoA-I) の注入 (infusion) により、血漿高比重リポタンパク質抗炎症作用とコレステロール搬出能が増加したとの結果が得られたことから、rHDL (ApoA-I) の注入 (infusion) は、潜在的なアテローム形成予防効果を有している可能性も示された (例えば、非特許文献 16 参照)。このような rHDL についての結果から、rHDL は注目を浴びてきている。

[0010] しかし、一方では、アポリポタンパク質 A-I (ApoA-I) または HDL を医薬品として実際に使用するには、様々な問題点があることも浮き彫りになってきた。ApoA-I は、243 個のアミノ酸残基からなる大きな分子のタンパク質であることから、製造方法が複雑でかつ困難であり、その製造コストも高価になるとともに、保存中の安定性、生体内での活性物質の送達や半減期などの製造上ならびに再現性などにおける様々な困難な問題を解決しなければならぬことも判明した (例えば、特許文献 1 参照)。

[0011] 他方、ApoA-I 自体がコレステロール搬出作用を有しているとの有力な根拠から、ApoA-I の構造または活性を疑似 (mimic) する様々なペプチドが作製されてきた。かかる疑似ペプチドの設計に当たっては、ApoA-I の鍵となる活性が、このタンパク質の独特の二次構造特性の多数の反復の存在、すなわちクラス A 型の両親媒性 α ヘリックスに依存するとの報告 (例えば、

非特許文献 17 参照) に基づいて、クラス A 型の両親媒性 α ヘリックスを形成するように焦点が当てられてきた。

[0012] かかる ApoA-I 疑似ペプチドとしては、例えば、両親媒性 α ヘリックスを形成するように Glu、Lys および Leu だけを完全に規則的に配置した 22 残基からなる ApoA-I の 198-2192 フラグメントと 41% 配列相同性を有するペプチド (ELK ペプチド) (例えば、非特許文献 18、19 参照) ; 16-24 アミノ酸残基からなる LAP ペプチドと呼ばれる ApoA-I とは配列相同性を有しないモデル両親媒性ペプチド (例えば、非特許文献 20 参照) ; ApoA-I のヘリックスと配列相同性がない 18-24 アミノ酸残基からなるペプチド (例えば、非特許文献 21 参照) ; ヒト ApoA-I ヘリックスの配列に基づいたに基づいた共通する 22 アミノ酸残基を有するペプチド (例えば、非特許文献 22、23 参照) などが挙げられる。しかしながら、これまで作製された ApoA-I 疑似ペプチドは、いずれも ApoA-I と同程度の活性を示すものではなく、医薬品として有用といえる程の活性を示すものはなかった (例えば、特許文献 1 参照) 。

[0013] 上記 ApoA-I 疑似ペプチドの他に、脂質の存在下で両親媒性 α ヘリックスを形成する 15~29 残基のアミノ酸残基、好ましくは 22 アミノ酸残基からなる「コア」ペプチドからなる多数の ApoA-I アゴニストが作製されている (例えば、特許文献 1、5 参照)。これらの ApoA-I アゴニストは、活性にとって決定的であると提唱されている 22-mer の共通配列 (Pro(P) Val(V) Leu(L) Asp(D) Glu(E) Phe(F) Arg(R) Glu(E) Lys(K) Leu(L) Asn(N) Glu(E) Glu(E) Leu(L) Glu(E) Ala(A) Leu(L) Lys(K) Gln(Q) Lys(K) Leu(L) Lys(K) : 配列番号 2) (引用文献には配列番号 75 として引用されている。以後、「共通 22-mer」という) の一次配列中の特定の アミノ酸残基を交換することにより、自然の ApoA-I の活性に近いまたはそれを上回る活性を示す合成ペプチドが得られたと記載されている (例えば、特許文献 1、8 参照)。さらに、この共通 22-mer ペプチド中の 3 つの荷電アミノ酸残基 (Glu-5、Lys-9 及び Glu-13) を、疎水性ロイシン残基で置換する

ことによって、文献から予測できなかったApoA-Iの構造および機能特性を持つ疑似ペプチドが得られたと記載されている（例えば、特許文献1、8参照）。これらの疑似ペプチドは、医薬品として有用な程度の活性を未だ有していないといわざるを得ない。

- [0014] その上、アポリポタンパク質ApoA-I (ApoA-I)は、その中央ヘリックスのみがABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1)を媒介する脂質排出を促進させることができるけれども、脂質排出やHDL産生に対して機能的な相互作用を発揮させるためには、ApoA-IとABCA1との間には十分な長さのアミノ酸配列が必要であり、その長さは220-231残基であるとの報告がなされている（非特許文献24）。

先行技術文献

特許文献

- [0015] 特許文献1：アメリカ特許第6004925号
特許文献2：アメリカ特許第5089602号
特許文献3：フランス特許2343251号
特許文献4：WO/1994/013819
特許文献5：WO/1999/016409
特許文献6：アメリカ特許第7053049号
特許文献7：アメリカ特許第5128318号、同第5652339号
特許文献8：特表2001-517710号、特表2001-518282号、特表2003-525565号、特表2003-525840号、特表2001-522781号

非特許文献

- [0016] 非特許文献1：Miura, S. & Saku, K.: 脈管学 (J. Jpn. Coll. Angiol.), 2007, 47: 313-318
非特許文献2：Gordon, D.J. & Rifkind, B.M.: N. Engl. J. Med., 1989; 321: 1311-1316
非特許文献3：Matsuo, Y., et al.: Atherosclerosis, 2007, 194: 159-16

8

非特許文献4 : Brewer, H. B. Jr. : N. Engl. J. Med., 2004, 350: 1491—149

4

非特許文献5 : Newton, R. S. & Krause, B. R. : Atheroscler. Suppl., 2002,
3: 31—38

非特許文献6 : Gordon, D. J. , et al. : Circulation, 1989; 79:8—15

非特許文献7 : Miller, Amer. Heart, 1987, 113: 589—597

非特許文献8 : Koizumi, et al., 1988, J. Lipid Res. 29:1405—1415

非特許文献9 : Badimon, et al., 1989, Lab. Invest. 60:455—461

非特許文献10 : Jonas, A., Methods in Enzymology, 128, 553—582 (1986)

非特許文献11 : J. P. Segrest, J. J. Albers, eds.; Academic Press, Orlando, Fla., USA., 1986

非特許文献12 : Mezdour, H., et al., J. Chromatogr. 414, 35—45, 1987

非特許文献13 : Pharaprojects, Oct. 27, 1995; Atherosclerosis, 2(6): 26
1—265

非特許文献14 : Clay, M. A., et al., Atherosclerosis, 2001; 157:23—29

非特許文献15 : Imaizumi, S., et al.: J. Am. Coll. Cardiol. 2008; 51:16
04—12

非特許文献16 : Patel, S., et al., J. Am. Coll. Cardiol. 2009; 53:962—
971

非特許文献17 : Segrest, 1974, FEBS Lett. 38:247—253

非特許文献18 : Fukushima, et al.: J. Amer. Chem. Soc., 1979, 101: 3703
—3704

非特許文献19 : Nakagawa, et al.: J. Am. Chem. Soc., 1985, 107: 7087—7
092

非特許文献20 : Powell et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1980, 77: 31
54—3158

非特許文献21 : Segrest et al.: J. Biol. Chem., 1983, 258: 2290—2295

非特許文献22 : Anantharamaiah et al., Arteriosclerosis, 1990, 10: 95—105

非特許文献23 : Venkatatachalapathi, et al.: 1991, Indian Acad. Sci. B: 585—596

非特許文献24 : Chroni, A., et al., The Journal of Biological Chemistry, 2003, 278:6719—6730

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0017] そこで、先行技術に鑑みて、本発明者らは、ヒトアポリポタンパク質A-I (ApoA-I) の活性に近似した活性を有する合成ペプチドを検討した結果、ApoA-I の中央ヘリックスを構成するアミノ酸配列のアミノ酸残基の1部を変異させたある種の合成ペプチドがコレステロール搬出能を有することを見出して、この発明を完成した。さらに、本発明者らは、かかる合成ペプチドが、コレステロール搬出能ばかりではなく、HDL産生能をも併せて持つことを見出して、この発明を完成した。

[0018] したがって、この発明は、ApoA-Iの中央ヘリックスを構成するアミノ酸配列のアミノ酸残基の1部を変異させた、コレステロール搬出能を有するとともに、HDL産生能を併せ持つコレステロール搬出ペプチドを提供することを目的としている。

[0019] さらに具体的には、この発明は、下記一般式 [I] で表されるコレステロール搬出ペプチドを提供することを目的としている。

[0020] その上、この発明は、上記コレステロール搬出ペプチド[I]を有効成分として含有する医薬組成物を提供することを目的としている。

課題を解決するための手段

[0021] この発明は、ApoA-Iの中央ヘリックスを構成するアミノ酸配列のアミノ酸残基の1部を変異させた、コレステロール搬出能を有するある種の合成ペプチドであるコレステロール搬出ペプチドを提供する。

[0022] また、この発明は、その好ましい態様として、コレステロール搬出能を有

すると共に、HDL産生能を併せ持つ合成ペプチドであるコレステロール搬出ペプチドを提供する。

[0023] さらに、この発明は、その好ましい態様として、一般式[I]:

[0024] H—X1—X2—X3—His—Leu—X4—Thr—Leu—X5—Glu—Lys—Ala—
X6—X7—X8—X9—X10—X11—X12—X13—X14—X15—X16—X17—
X18—OH [I]

[0025] [式中、X1はAla、単結合（"—"）または一般式[1a]:

[0026] X1e—X1d—X1c—X1b—X1a— [1a]

[0027] (式中、X1aはAlaまたは単結合（"—"）を意味し、X1bはLys、Argまたは単結合（"—"）を意味し、X1cはAlaまたは単結合（"—"）を意味し、X1dはHisまたは単結合（"—"）を意味し、およびX1eはTyrまたは単結合（"—"）を意味する。)を意味し、

X2はThr、Leu、LysまたはSerを意味し、

X3はGlu、ThrまたはAspを意味し、

X4はSer、PheまたはLysを意味し、

X5はSer、Tyr、Trp、Phe またはGlyを意味し、

X6は単結合（"—"）、Lys、LeuまたはArgを意味し、

X7は単結合（"—"）、ProまたはLysを意味し、

X8は単結合（"—"）またはAlaを意味し、

X9は単結合（"—"）、PheまたはLeuを意味し、

X10は単結合（"—"）、Glu、GlnまたはAspを意味し、

X11は単結合（"—"）またはAspを意味し、

X12は単結合（"—"）またはLeuを意味し、

X13は単結合（"—"）、Arg、LeuまたはGlyを意味し、

X14は単結合（"—"）、GlnまたはHisを意味し、

X15は単結合（"—"）、Gly、LysまたはSerを意味し、

X16は単結合（"—"）、LeuまたはHisを意味し、

X17は単結合（"—"）、Leu、Metまたは一般式[1b]:

[0028] X17a-X17b-X17c-X1d [1b]

(式中、X17aは単結合(“-”)、Leu またはMetを意味し、X17bはPro、Tyrまたは単結合(“-”)を意味し、X17c はValまたは単結合(“-”)を意味し、ならびにはX1dはLeuまたは単結合(“-”)を意味する。)を意味し、

[0029] ただし、記号X6-X17、X1a-X1eおよび記号X17a-X17dがいずれも単結合(“-”)を意味する場合は、それらの単結合は全体として1個の単結合(“-”)を意味し、また、同時にX1がAla、X2がThr、X3がGlu、X4がSer、X5がSer、X6がLys、X7がPro、X8がAla、X9がLeu、X10がGlu、X11がAsp、X12がLeu、X13がArg、X14がGln、X15がGly、X16がLeu、およびX17がLeuである場合を除くものとする。]

で表されるペプチド；または一般式[11]：

[0030] A -X20 (X21-OH) - A [11]

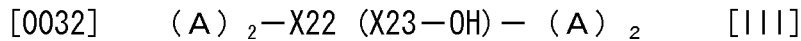
[式中、Aは、一般式[11a]：

H-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-
X33-X34-X35-X36-X37-X38-X39-X40-X41-X42-X43-X44-
X45-X46- [11a]

[0031] (式中、X22はAlaまたはValを意味し、X23はThr, Leu, LysまたはSerを意味し、X24はGlu, ThrまたはAspを意味し、X25はHisまたはSerを意味し、X26はLeuまたはPheを意味し、X27はSer, PheまたはLysを意味し、X28はThrまたはValを意味し、X29はLeuまたはSerを意味し、X30はSer, Gly, Phe, TyrまたはTrpを意味し、X31はGluまたはLeuを意味し、X32はLysまたはSerを意味し、X33はAlaを意味し、X34はLys, Leu, Argまたは単結合(“-”)を意味し、X35はPro, Glu, Lysまたは単結合(“-”)を意味し、X36はAla, Gluまたは単結合(“-”)を意味し、X37はLeu, Tyrまたは単結合(“-”)を意味し、X38はGlu, Gln, Asp, Thrまたは単結合(“-”)を意味し、X39はAsp, Lysまたは単結合(“-”)を意味し、X40はLeu, Lysまたは単結合(“-”)を意味し、X41はArg, Gly, Leuまたは単結合(“-”)を意味し、X42はGln, Leu, Lys, Hi

sまたは結合(“-”)を意味し、X43はGly, Leu, Lys, Serまたは結合(“-”)を意味し、X44はLeu, Hisまたは結合(“-”)を意味する。)を意味し、X20はLys等のアミノ酸残基を意味し、X21はLeuまたはAla等のアミノ酸残基を意味する。)

で表される二量体；または一般式[III]：



(式中、Aは前記と同じ意味を有し、

X22 はLys等のアミノ酸残基を意味し、および

X23はLeuまたはAla等のアミノ酸残基を意味する。)

で表される四量体からなるコレステロール搬出ペプチドを提供する。

[0033] その上、この発明は、上記コレステロール搬出ペプチドを有効成分として含有する医薬組成物を提供する。

発明の効果

[0034] この発明のコレステロール搬出ペプチドは、コレステロールを搬出する作用効果と、HDL産生能を併せ持つことから、心血管疾患の予防および治療に有効である。

図面の簡単な説明

[0035] [図1]ヒト A172 細胞において、ペプチド (FAMP) とApoA-I とのコレステロール引き抜き能ならびにT0901317と9cis-レチノイン酸(9cisRA)刺激によりペプチド (FAMP) のコレステロール引き抜き作用が著しく増加することを示す図 (実施例3)。

[図2]チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO細胞) IdIA7株におけるペプチド (FAMP-5 : Type 2 S9Y) のコレステロール引き抜き作用を示す図 (実施例4)。

[図3]実施例1で合成したペプチド (FAMP) を用いて、ヒト末梢血単球由来マクロファージにおける健常者由来細胞ならびに ABCA1 欠損症患者由来細胞によるコレステロール引き抜き能を示す図。

[図4]ヒトA172細胞による各ペプチド (20 μg/ml) のT0901317と9cis-レチノ

イン酸との刺激なしまたは刺激有りの条件下でのコレステロール引き抜き能を示す図（実施例6）。

[図5]ヒトA172細胞による各ペプチド（20 μ g/ml）のT0901317と9-cis-レチノイン酸との刺激下でのコレステロール引き抜き能を示す図（実施例7）。

[図6]実施例1で作成したペプチド（FAMP）（2 mg/ml）の存在下および非存在下でのキャピラリー電気泳動法によるヒト血漿リポタンパク質の解析結果を示す図。（実施例9）

[図7]マウスにペプチドを10日間持続投与した場合の高速液体クロマトグラフィ（HPLC）による血漿リポタンパク質の解析結果を示す図（実施例10）。

[図8]ペプチドをマウスへ経静脈投与した場合のキャピラリー電気泳動法によるマウス血漿リポタンパク質の解析結果を示す図。（実施例11）

[図9]ペプチドをマウスへ腹腔内投与した場合のキャピラリー電気泳動法によるマウス血漿リポタンパク質の解析結果を示す図（実施例11）。

[図10]ヒトA172細胞による各ペプチド（20 μ g/ml）のT0901317、LXR agonist、9-cis-レチノイン酸、RXR agonistによる刺激下でのコレステロール引き抜き能を示す図（実施例12）。

[図11]ヒトA172細胞に対するペプチド（FAMP-5）ならびにapoA-IのT0901317、LXR agonist（5 μ M）、9-cis-レチノイン酸、RXR agonistでの刺激によるProbucol（10 μ M）の非存在下または存在下でのコレステロール引き抜き能を示す図（実施例13）。

[図12]ヒトA172細胞に対する各ペプチドのT0901317、LXR agonist（5 μ M）、9-cis-レチノイン酸、RXR agonistによる刺激下でのコレステロール引き抜き能を示す図（実施例14）。

[図13]ヒトA172細胞に対する各ペプチドのT0901317、LXR agonist（5 μ M）、9-cis-レチノイン酸、RXR agonistでの刺激によるProbucol（10 μ M）の非存在下または存在下でのコレステロール引き抜き能を示す図（実施例14）。

。

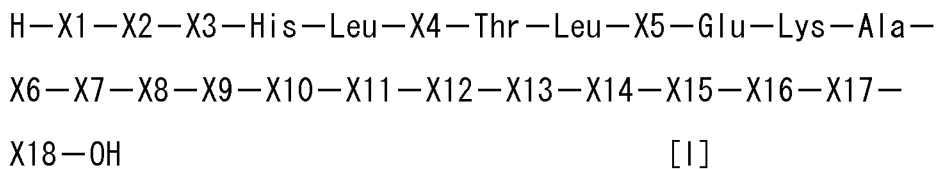
[図14] ペプチド(FAMP-5) のアガロースリポ蛋白電気泳動を用いた実験結果を示す図（実施例15）。

[図15] ペプチド(FAMP-5) のマウス下肢虚血モデルに対する血流増加を示す図（実施例16）。

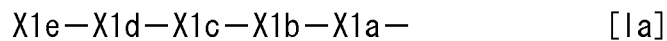
[図16] マクロファージ中の3H-コレステロールの便中排泄が有意に上昇したことを示す図（実施例17）。

発明を実施するための形態

[0036] この発明に係るコレステロール搬出ペプチドは、一般式[I]:



[0037] [式中、X1はAla、単結合（" -"）または一般式[la]:



[0038] （式中、X1aはAlaまたは単結合（" -"）を意味し、X1bはLys、Argまたは単結合（" -"）を意味し、X1cはAlaまたは単結合（" -"）を意味し、X1dはHisまたは単結合（" -"）を意味し、およびX1eはTyrまたは単結合（" -"）を意味する。）を意味し、

X2はThr、Leu、LysまたはSerを意味し、

X3はGlu、ThrまたはAspを意味し、

X4はSer、PheまたはLysを意味し、

X5はSer、Tyr、Trp、Phe またはGlyを意味し、

X6は単結合（" -"）、Lys、LeuまたはArgを意味し、

X7は単結合（" -"）、ProまたはLysを意味し、

X8は単結合（" -"）またはAlaを意味し、

X9は単結合（" -"）、PheまたはLeuを意味し、

X10は単結合（" -"）、Glu、GlnまたはAspを意味し、

X11は単結合（" -"）またはAspを意味し、

X12は単結合（" -"）またはLeuを意味し、

X13は単結合（" -"）、Arg、LeuまたはGlyを意味し、

X14は単結合（" -"）、GlnまたはHisを意味し、

X15は単結合（" -"）、Gly、LysまたはSerを意味し、

X16は単結合（" -"）、LeuまたはHisを意味し、

X17は単結合（" -"）、Leu、Metまたは一般式[1b]：

[0039] X17a-X17b-X17c-X1d [1b]

（式中、X17aは単結合（" -"）、Leu またはMetを意味し、X17bはPro、Tyrまたは単結合（" -"）を意味し、X17c はValまたは単結合（" -"）を意味し、ならびにはX1dはLeuまたは単結合（" -"）を意味する。）を意味し、

[0040] ただし、記号X1a-X1eおよび記号X17a-X17dがいずれも単結合（" -"）を意味する場合は、それらの単結合は全体として1個の単結合（" -"）を意味し、また、同時にX1がAla、X2がThr、X3がGlu、X4がSer、X5がSer、X6がLys、X7がPro、X8がAla、X9がLeu、X10がGlu、X11がAsp、X12がLeu、X13がArg、X14がGln、X15がGly、X16がLeu、およびX17がLeuである場合を除くものとする。]

で表されるペプチド、または一般式[11]：

[0041] A -X20 (X21-OH) - A [11]

[式中、Aは、一般式[11a]：

H-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-

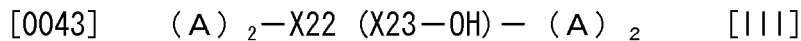
X33-X34-X35-X36-X37-X38-X39-X40-X41-X42-X43-

X44-X45-X46- [11a]

[0042] （式中、X22はAlaまたはValを意味し、X23はThr、Leu、LysまたはSerを意味し、X24はGlu、ThrまたはAspを意味し、X25はHisまたはSerを意味し、X26はLeuまたはPheを意味し、X27はSer、PheまたはLysを意味し、X28はThrまたはValを意味し、X29はLeuまたはSerを意味し、X30はSer、Gly、Phe、TyrまたはTrpを意味し、X31はGluまたはLeuを意味し、X32はLysまたはSerを意味し、X33はAlaを意味し、X34はLys、Leu、Argまたは単結合（" -"）を意味し、X35

はPro, Glu, Lysまたは単結合(“—”)を意味し、X36はAla, Gluまたは単結合(“—”)を意味し、X37はLeu, Tyrまたは単結合(“—”)を意味し、X38はGlu, Gln, Asp, Thrまたは単結合(“—”)を意味し、X39はAsp, Lysまたは単結合(“—”)を意味し、X40はLeu, Lysまたは単結合(“—”)を意味し、X41はArg, Gly, Leuまたはを単結合(“—”)を意味し、X42はGln, Leu, Lys, Hisまたは結合(“—”)を意味し、X43はGly, Leu, Lys, Serまたは結合(“—”)を意味し、X44はLeu, Hisまたは結合(“—”)を意味する。)を意味し、X20はLys等のアミノ酸残基を意味し、およびX21はLeuまたはAla等のアミノ酸残基を意味する。)

で表される二量体；または一般式[III]：



(式中、Aは前記と同じ意味を有し、

X22 はLys等のアミノ酸残基を意味し、および

X23はLeuまたはAla等のアミノ酸残基を意味する。)

で表される四量体である。

[0044] 本明細書において使用する用語「アミノ酸残基」は、アミノ酸のN末端アミノ基(—NH₃)がイミノ基(—NH₂—)、またC末端カルボキシル基(—COOH)がカルボニル基(—CO—)の状態の2価のアミノ酸残基を意味している。アミノ酸残基は、そのN末端イミノ基(—NH₂—)がそのN末端側に隣接する別のアミノ酸残基のC末端カルボニル基(—CO—)と結合してペプチド結合(—CO—NH—)を形成し、他方そのC末端カルボニル基(—CO—)がそのC末端側に隣接するさらに別のアミノ酸残基のN末端イミノ基(—NH₂—)と結合してペプチド結合(—CO—NH—)を形成して、それぞれ別のアミノ酸残基と結合している。したがって、記号Xで表される各アミノ酸残基とその隣接アミノ酸残基との間の記号(“—”)は、ペプチド結合の結合子を意味している。なお、隣接するアミノ酸残基が存在しない場合は、そのアミノ酸残基のN末端イミノ基(—NH₂—)は、水素原子(H—)と結合しアミノ基を形成し、他方C末端カルボニル基(—CO—)は、C末端側のヒドロキシ基(—OH)と結合してカルボキシル

基（-CO-OH）を形成する。換言すると、記号 X1aで表されるアミノ酸残基に隣接する記号X1bにアミノ酸残基が存在しない場合、記号X1bおよびそれ以降の記号X1c-X1d はすべて単結合となり、X1aで表されるアミノ酸残基のN末端イミノ基（-NH₂-）は水素原子（H-）と結合しアミノ基を形成する。他方、同様に、X17aで表されるアミノ酸残基に隣接する記号X17bにアミノ酸残基が存在しない場合、記号X17bおよびそれ以降の記号 X17c-X17dはすべて単結合となり、X17aで表されるアミノ酸残基のC末端カルボニル基（-CO-）は、C末端側のヒドロキシ基（-OH）と結合してカルボキシ基（-CO-OH）を形成する。

[0045] 上記一般式において、X6-X17、X1a-X1eおよびX17a-X17dのそれぞれが単結合（“-”）を意味する場合、全体として連続した1個の単結合（“-”）を構成していること意味するものとする。

[0046] この発明に係るコレステロール搬出ペプチドのうち、好ましいペプチドとしては、例えば、次のようなアミノ酸配列を有するペプチドを挙げることができる。

[0047] （ペプチド番号1）11アミノ酸残基（human type）（配列番号2）

H-Thr-Glu-His-Leu-Ser-Thr-Leu-Ser-Glu-Lys-Ala-OH

（ペプチド番号2）12アミノ酸残基（human type）（配列番号3）

H-Ala-Thr-Glu-His-Leu-Ser-Thr-Leu-Ser-Glu-Lys-Ala-OH

（ペプチド番号3）23アミノ酸残基（human type）（配列番号4）

H-Tyr-His-Ala-Lys-Ala-Thr-Glu-His-Leu-Ser-Thr-Leu-Ser-Glu-Lys-Ala-Lys-Pro-Ala-Leu-Glu-Asp-Leu-OH

（ペプチド番号4）Type1（配列番号5）

H-Ala-Leu-Glu-His-Leu-Phe-Thr-Leu-Ser-Glu-Lys-Ala-Lys-Lys-Ala-Leu-Glu-Asp-Leu-Leu-Leu-Lys-Leu-Leu-OH

（ペプチド番号5）Type2（FAMP）（配列番号6）

H-Ala-Leu-Glu-His-Leu-Phe-Thr-Leu-Ser-Glu-Lys-Ala-Leu-Lys-Ala-Leu-Glu-Asp-Leu-Leu-Lys-Lys-Leu-Leu-OH

(ペプチド番号6) FAMP-5 (Type2S9Y) (配列番号7)

H- Ala-Leu-Glu-His-Leu-Phe-Thr-Leu-Tyr-Glu-Lys-Ala-Leu-
Lys-Ala-Leu-Glu-Asp-Leu-Leu-Lys-Lys-Leu-Leu -OH

(ペプチド番号7) Type2S9W (配列番号8)

H- Ala-Leu-Glu-His-Leu-Phe-Thr-Leu-Trp-Glu-Lys-Ala-Leu-
Lys-Ala-Leu-Glu-Asp-Leu-Leu-Lys-Lys-Leu-Leu -OH

(ペプチド番号8) Type3 (配列番号9)

H- Ala-Thr-Glu-His-Leu-Ser-Thr-Leu-Ser-Glu-Lys-Ala-Leu-
Lys-Ala-Phe-Glu-Asp-Leu-Leu-Lys-Lys-Leu-Leu -OH

(ペプチド番号9) Type4 (配列番号10)

H- Ala-Thr-Glu-His-Leu-Ser-Thr-Leu-Ser-Glu-Lys-Ala-Lys-
Pro-Ala-Leu-Glu-Asp-Leu-Leu-Lys-Lys-Leu-Leu -OH

(ペプチド番号10) 25アミノ酸残基 (Type2NY) (配列番号11)

H- Ala-Leu-Glu-His-Leu-Phe-Thr-Leu-Ser-Glu-Lys-Ala-Leu-
Lys-Ala-Leu-Glu-Asp-Leu-Leu-Lys-Lys-Leu-Leu-Tyr-OH

(ペプチド番号11) 27アミノ酸残基 (Rattus type) type-J5 (配列番号12)

H- Ala-Ser-Asp-His-Leu-Lys-Thr-Leu-Gly-Glu-Lys-Ala-Lys-
Pro-Ala-Leu-Asp-Asp-Leu-Gly-Gln-Gly-His-Met-Pro-Val-Leu
-OH

(ペプチド番号12) 24アミノ酸残基 (Murine type) type-J6 (配列番号13)

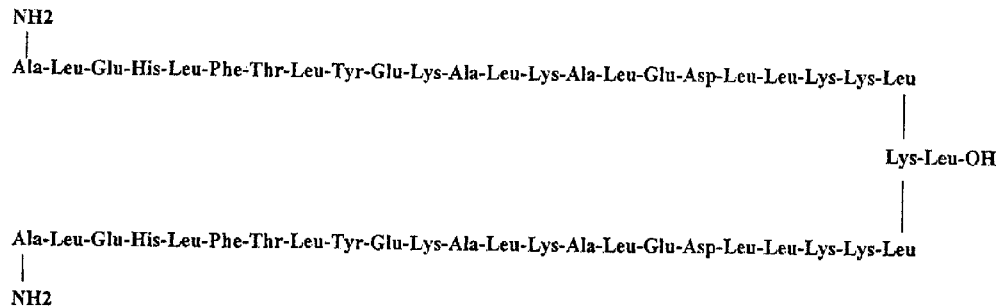
H- Arg-Ala-Lys-Thr-His-Leu-Lys-Thr-Leu-Gly-Glu-Lys-Ala-
Arg-Pro-Ala-Leu-Gln-Asp-Leu-Arg-His-Ser-Leu -OH

(ペプチド番号13) 24アミノ酸残基 (human type) (Original: 配列番号14)

H-Ala-Thr-Glu-His-Leu-Ser-Thr-Leu-Ser-Glu-Lys-Ala-Lys-P
ro-Ala-Leu-Glu-Asp-Leu-Arg-Gln-Gly-Leu-Leu -OH

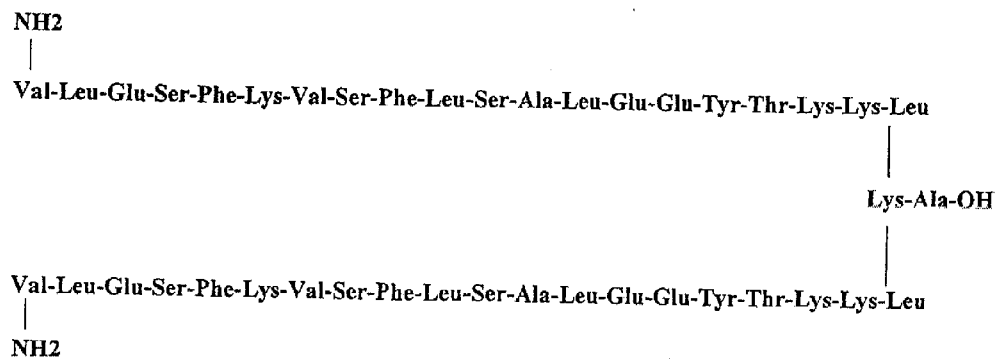
[0048] (ペプチド番号 14) 二量体 (FAMP-5 - Duo) (配列番号 15)

[化1]



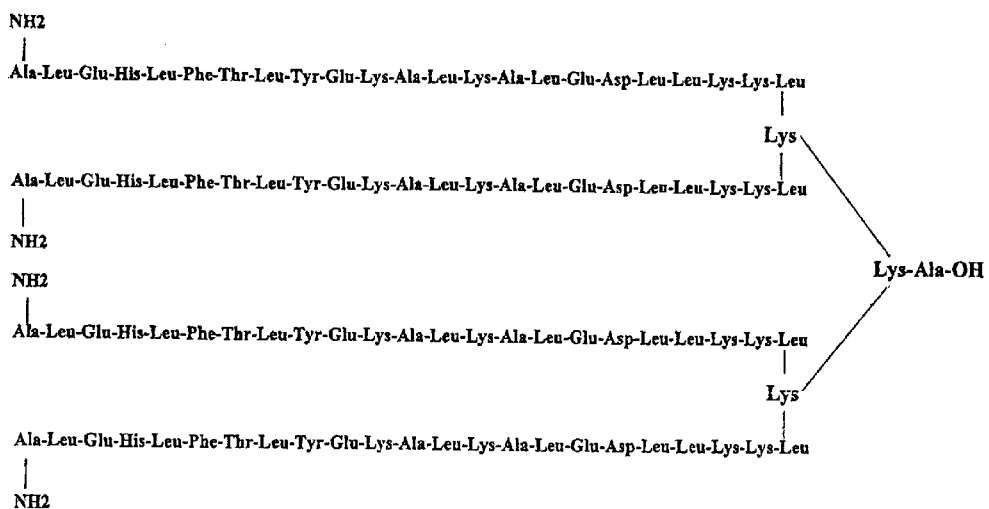
[0049] (ペプチド番号 15) 二量体 (Human type original (221-240) - Duo) (配列番号 16)

[化2]



[0050] (ペプチド番号 16) 四量体 (FAMP-5 - Quad)

[化3]



- [0051] この発明に係るコレステロール搬出ペプチドは当該技術分野で慣用されている合成化学的手法に従って調製することができる。合成化学的手法としては、例えば、縮合剤としてジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、ジイソプロピルカルボジイミド(DIPCDI)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)等のカルボジイミド系縮合剤、(1H-ベンゾトリアゾール-1-イルオキシ)トリス(ジメチルアミノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスファート(BOP)、1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-ベンゾトリアゾリウム-3-オキシドヘキサフルオロホスファート(HBTU)等の縮合剤を用いた縮合法、ニトロフェノール、N-ヒドロキシスクシンイミド、ペンタフルオロフェノール等とのエステルを用いた活性エステル法、クロロギ酸エステル、カルボン酸クロリド等を用いた混合酸無水物法などの液相法、Fmoc法、Boc法等の固相ペプチド合成法を用いて、調製することができる。
- [0052] この発明に係るコレステロール搬出ペプチドは、高比重リポタンパク(HDL)濃度を上昇させ、コレステロールアシルトランスフェラーゼ(LCAT)を活性化させ、さらに逆コレステロール輸送系(RCT)を促進させてコレステロールの搬出(efflux)を増強させるのに有用である。したがって、この発明のコレステロール搬出ペプチドは、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症等の高脂血症などの心血管疾患ならびに心血管疾患関連障害などの予防ならびに治療に有効である。
- [0053] かかる心血管疾患や障害を予防または治療するために、この発明のコレステロール搬出ペプチドは、単独でもまたはその1つ以上と組み合わせた医薬組成物として、または心血管疾患や障害の予防もしくは治療に使用することができるその他の薬剤、例えば、スタチン、ナイアシン等のコレステロール低下薬やフィブレート(fibrate)などと組み合わせた医薬組成物として使用することができる。
- [0054] また、この発明の医薬組成物は、ペプチド-脂質複合体としても製剤化することもできる。ペプチド-脂質複合体として製剤化する場合、使用可能な脂質は、例えば、飽和脂質または不飽和脂質であっても、また天然の脂質で

あっても合成の脂質であってもよい。かかる脂質としては、例えば、卵ホスファチジルコリン、大豆ホスファチジルコリン、ジラウリルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジミリストイルホスファチジルコリン、ジステアロイルホスファチジルコリン、1-パルミトイル-2-オレイルホスファチジルコリン、1-ミリストイル-2-パルミトイルホスファチジルコリン、1-パルミトイル-2-ステアロイルホスファチジルコリン、1-ステアロイル-2-パルミトイルホスファチジルコリン、ジオレオイルホスファチジルコリン等のホスファチジルコリン類；ホスファチジルエタノールアミン、ジミリストイルホスファチジルエタノールアミン、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン、ジオレオホスファチジルエタノールアミン等のホスファチジルエタノールアミン類；ホスファチジルグリセロール、ジホスファチジルグリセロール、ジミリストイルホスファチジルグリセロール、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール、ジステアロイルホスファチジルグリセロール、ジオレオイルホスファチジルグリセロール等のホスファチジルグリセロール類；ホスファチジン酸、ジミリストイルホスファチジン酸、ジパルミトイルホスファチジン酸等のホスファチジン酸類；ホスファチジルセリン、ジミリストイルホスファチジルセリン、ジパルミトイルホスファチジルセリン、脳ホスファチジルセリン等のホスファチジルセリン類；スフィンゴミエリン、脳スフィンゴミエリン、ジパルミトイルスフィンゴミエリン、ジステアロイルスフィンゴミエリン等のスフィンゴミエリン類；ホスファチジルイノシトール；スフィンゴシン1リン酸(SIP: sphingosine-1-phosphate)等のスフィンゴ脂質；ガラクトセレブロシド、ガングリオシド、セレブロシド、(1, 3)-D-マンノシル-(1, 3)ジグリセリド、アミノフェニルグリコシド、3-コレステリル-6'-(グリコシルチオ)ヘクシルエーテル糖脂質、ならびにコレステロール、およびこれらの誘導体が挙げられる。

[0055] この発明に係る医薬組成物は、この発明のコレステロール搬出ペプチドやその他の薬剤の他に、薬理的に許容される担体をさらに含有していてもよ

い。かかる薬理的に許容される担体としては、製剤の素材として慣用されている各種有機あるいは無機の担体物質を用いることができる。かかる担体物質としては、例えば、固形製剤においては、賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤など、また液状製剤においては、溶剤、分散剤、保存剤、等張化剤、溶解補助剤、懸濁化剤、安定剤、緩衝剤、無痛化剤などとして配合することができる。また、この発明の医薬組成物においては、例えば、防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤などの製剤添加物を用いることもできる。

[0056] この発明の医薬組成物の固形製剤において、賦形剤の例としては、乳糖、白糖、デンプン、 α 化デンプン、D-マンニトール、D-ソルビトール、デキストリン、結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、アラビアゴム、プルラン、軽質無水ケイ酸、合成ケイ酸アルミニウム、メタケイ酸アルミン酸マグネシウムなどが挙げられる。滑沢剤の例としては、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、コロイドシリカ、ポリエチレングリコール6000などが挙げられる。結合剤の例としては、ゼラチン、 α 化デンプン、ショ糖、アラビアゴム、結晶セルロース、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、白糖、D-マンニトール、トレハロース、デキストリン、プルラン、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。崩壊剤の例としては、乳糖、白糖、デンプン、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、軽質無水ケイ酸などが挙げられる。

[0057] この発明の医薬組成物の液状製剤において、溶剤の例としては、蒸留水、生理的食塩水、リンゲル液等の水性溶剤、アルコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール等の有樹溶剤あるいはゴマ油、トウモロコシ油、オリーブ油、綿実油等の植物油などの油性溶剤が挙げられる。分散剤の例としては、ポリソルベート80、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸ナトリウ

ムなどが挙げられる。保存剤の例としては、メチルパラベン、プロピルパラベン、ベンジルアルコール、クロロブタノール、フェノールなどが挙げられる。等張化剤の例としては、塩化ナトリウム、グリセリン、D-マンニトール、D-ソルビトール、ブドウ糖などが挙げられる。溶解補助剤の例としては、エタノール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、D-マンニトール、トレハロース、安息香酸ベンジル、トリエタノールアミン、トリスアミノメタン、コレステロール、炭酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、サリチル酸ナトリウム、酢酸ナトリウムなどが挙げられる。懸濁化剤の例としては、ステアリルトリエタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルアミノプロピオン酸、レシチン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、モノステアリン酸グリセリンなどの界面活性剤、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどの親水性高分子化合物、ポリソルベート類、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油などが挙げられる。安定化剤の例としては、ヒト血清アルブミンなどが挙げられる。緩衝剤の例としては、リン酸塩、酢酸塩、炭酸塩、クエン酸塩などの緩衝液などが挙げられる。無痛化剤の例としては、ベンジルアルコールなどが挙げられる。

[0058] また、防腐剤の例としては、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェネチルアルコール、デヒドロ酢酸、ソルビン酸などが挙げられる。抗酸化剤の例としては、亜硫酸塩、アスコルビン酸塩などが挙げられる。着色剤の例としては、 β -カロチン、クロロフィル、ベンガラ等の天然色素、食用赤色2、3号、食用黄色4、5号、食用青色1、2号等の水溶性食用タール色素、上記水溶性食用タール色素のアルミニウム塩等の水不溶性レーキ色素などが挙げられる。甘味剤の例としては、サッカリンナトリウム、グリチルリチン酸二カリウム、アスパルテーム、ステビアなどが挙げられる。

[0059] この発明に係る医薬組成物は、経口経路または非経口経路で投与すること

ができる。この発明の医薬組成物を経口投与経路で投与するには、例えば、溶液、乳剤、シロップ液、懸濁液などの液体の剤型や、錠剤、ソフトカプセル剤、マイクロカプセル剤等のカプセル剤、顆粒剤、散剤、粉剤、トローチ剤などの固体の剤型で投与することができる。一方、この発明の医薬組成物を非経口投与経路で投与するには、例えば、皮下注射剤、静脈内注射剤、筋肉内注射剤、腹腔内注射剤、点滴剤等の注射剤、経皮製剤、軟膏剤等の外用剤、坐剤、ペレット、経鼻剤、吸入剤、点眼剤などの剤型で投与するのがよい。これらの製剤は、速放性製剤または徐放性製剤などの放出制御製剤（例えば、徐放性マイクロカプセル剤など）であってもよい。

[0060] この発明の医薬組成物は、製剤に関する技術分野において慣用されている方法、例えば日本薬局方に記載の方法等により製造することができる。例えば、経口剤は、有効成分に、賦形剤、崩壊剤、結合剤または滑沢剤などを添加して圧縮成形し、次いで必要により、味のマスクング、腸溶性あるいは持続性を目的として、コーティング基剤を用いてそれ自体公知の方法でコーティングすることにより製造することができる。コーティング基剤としては、例えば糖衣基剤、水溶性フィルムコーティング基剤、腸溶性フィルムコーティング基剤、徐放性フィルムコーティング基剤などが挙げられる。

[0061] かかるコーティング基剤のうち、糖衣基剤としては、例えば、白糖、タルク、沈降炭酸カルシウム、ゼラチン、アラビアゴム、プルラン、カルナバロウなどが使用できる。水溶性フィルムコーティング基剤としては、例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、メチルヒドロキシエチルセルロースなどのセルロース系高分子；ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート、ポリビニルピロリドンなどの合成高分子；プルランなどの多糖類などが使用できる。腸溶性フィルムコーティング基剤としては、例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロース フタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロース アセテートサクシネート、カルボキシメチルエチルセルロース、酢酸フタル酸セルロースなどのセルロース系高分子；メタアクリル酸コポリマーなどのアク

リル酸系高分子；セラックなどの天然物などが使用できる。徐放性フィルムコーティング基剤としては、例えばエチルセルロースなどのセルロース系高分子；アミノアルキルメタアクリレートコポリマーなどのアクリル酸系高分子などが使用できる。

[0062] また、注射剤は、有効成分を、分散剤、保存剤、等張化剤などと共に水性溶剤などに溶解、懸濁あるいは乳化することによりそれ自体公知の方法で製造することができる。かかる注射剤の製造に際して、所望により溶解補助剤、安定剤、無痛化剤などの添加物を用いてもよい。

[0063] この発明に係る医薬組成物は、この発明のコレステロール搬出ペプチドを主な有効成分として含有していることから、コレステロール搬出、血清HDL濃度の上昇およびLCATの活性化ならびにRCTの促進が有用であり、特にヒトを含む哺乳動物における心血管疾患ならびに関連障害の予防ならびに治療に使用することができる。より具体的には、この発明の医薬組成物は、例えば狭心症、高血圧症、高コレステロール血症等の高脂血症、アテローム性動脈硬化症等の動脈硬化症などの心血管疾患や、血管新生作用があることから下肢虚血の閉塞性動脈硬化症やバージャー病や、リスクの類似したアルツハイマー病などにも有効である。更には、例えばバルーンやステントなどの医療処置の結果進展するアテローム硬化性プラークによる再狭窄などの心血管疾患関連障害などに有効である。

[0064] この発明に係るコレステロール搬出ペプチドおよび医薬組成物の1回投与量は、患者の病状や身体的状態、投与の方法などにより異なるが、非経口投与では、成人体重1kgあたり活性成分として約0.1~100mg、好ましくは約0.5~50mg、より好ましくは約1~25mgであり、1日投与回数は1回から3回静脈または筋肉注射などにより投与するのが好ましい。また経口または経鼻での投与では、1回投与量は成人の体重1kgあたり活性成分として約1~100mg、好ましくは約2~50mgが好ましく、1日投与回数は1~3回に分けて投与するのがよい。

[0065] 以下、この発明を実施例により更に詳細に説明するが、以下の実施例は、

この発明を限定もしくは制限する意図で一切なく記載されるものではなく、この発明を単に例示してさらに詳細に説明するだけのものであると理解されるべきである。また、この発明は、下記実施例の変異、改良などをその範囲に包含するものと理解されるべきである。

実施例 1

[0066] ペプチド番号 5 (FAMP : 配列番号 6) の合成方法

ペプチドの合成はアプライドバイオシステム社モデル433Aペプチド自動固相合成装置を用いて、0.25 mmol/scaleで合成した。アミノ酸はFmoc-アミノ酸を、樹脂としてFmoc-X-PEG-Alko-Resinを使用し、20% Piperidine/N-Methyl-2-pyrrolidoneを脱Fmoc 試薬として、HBTU/HOBt in DMF を活性縮合剤として用いて、カップリングを繰り返し合成した。手動固相合成容器に移し、DCMで数回洗浄後、デシケーターにて一晩減圧乾燥させた。乾燥後、樹脂よりペプチドの切断および側鎖の最終脱保護のために、切り出し試薬 (0.25 ml EDT/0.25 H₂O/TFA 9.5 ml) を加えて2時間攪拌。溶液をろ過し、ろ液をナスフラスコに移して、窒素ガスで濃縮した。冷エーテルを用いて結晶化させ、10回のデカンテーション後にこれを濾取し、粗ペプチドを得た。得られた粗ペプチド50 mgを2次水3mlに溶解し、この水溶液をSephadexG-25を用いて、ゲルクロマトグラフィーで分画した。分画したフラクションの吸光度 (260 nm) を測定し、各ピーク部分を集めて凍結乾燥し、目的のペプチドを得た。同定はMALDI TOF-MSにより行った。

実施例 2

[0067] ペプチド番号 (1 : 配列番号 2)、ペプチド番号 (2 : 配列番号 3)、ペプチド番号 (3 : 配列番号 4)、ペプチド番号 (4 : 配列番号 5)、ペプチド番号 (6 : 配列番号 7)、ペプチド番号 (7 : 配列番号 8)、ペプチド番号 (8 : 配列番号 9)、ペプチド番号 (9 : 配列番号 10)、ペプチド番号 (10 : 配列番号 11)、ペプチド番号 (11 : 配列番号 12)、ペプチド番号 (12 : 配列番号 13)、ペプチド番号 (13 : original : 配列番号 14)、ペプチド番号 (14 : FAMP-5 - Duo : 配列番号 15)、ペプチド番号 (15 : Huma

n type original (221-240) - Duo : 配列番号 16) およびペプチド番号 (16 : FAMP-5 - Quad) で表される各ペプチドは実施例 1 と実質的に同様にして合成・確認した。

実施例 3

- [0068] 実施例 1 で合成したペプチド (FAMP) を用いて、ヒト A172 細胞におけるコレステロール引き抜き作用を調べた。
- [0069] 本実施例では、ヒト A172 細胞に、ペプチド (FAMP) ($20 \mu\text{g/ml}$) および比較としてヒト血清由来脂質除去 ApoA-1 ($20 \mu\text{g/ml}$) を接触させて 4 時間放置した。4 時間後に、ヒト A172 細胞から浸出したコレステロール量を測定して、ペプチド (FAMP) と ApoA-1 とのコレステロール引き抜き能を調べた (図 1 左側)。なお、コントロールとしては、0.2%ウシ血清アルブミン (BSA) のみを用いた。その結果、ペプチド (FAMP) と ApoA-1 は、コレステロール引き抜き能を有していて、ペプチド (FAMP) のコレステロール引き抜き能は、ApoA-1 のコレステロール引き抜き能より有意に優れていた。
- [0070] また、このコレステロール引き抜き作用は、T0901317 と 9cis-レチノイン酸 (9cisRA) による刺激により著しく増加することが分かった (図 1 右側)。この結果、ペプチド (FAMP) は、それ単体でコレステロール引き抜き作用を有すると共に、HDL 新生作用も有していることが明らかとなった。

実施例 4

- [0071] 実施例 2 で製造した各ペプチドを、実施例 3 と実質的に同様にしてコレステロール引き抜き能を調べた結果を図 1 に示す。コントロールとして生理食塩水を用いた。

実施例 5

- [0072] 実施例 1 で合成したペプチド (FAMP) を用いて、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO 細胞) IdIA7 株におけるコレステロール引き抜き作用を調べた。
- [0073] 本実施例では、CHO 細胞 IdIA7 株において、pcDNA3.1 ベクター (mock) および pcDNA3.1 ベクターにヒト ABCA1 cDNA を挿入したプラスミドをそれぞれリポ

フェクション法を用いて遺伝子導入した。MockおよびABCA1 cDNA遺伝子導入CHO細胞を、ペプチド（FAMP-5）（ $20\mu\text{g/ml}$ ）および比較としてヒト血清由来脂質除去ApoA-1（ $20\mu\text{g/ml}$ ）に接触させて4時間放置した。4時間後に、細胞から浸出したコレステロール量を測定して、ペプチド（FAMP）と ApoA-1 とのコレステロール引き抜き能を調べた（図2）。なお、コントロールとしては、0.2%BSAのみを用いた。その結果、MockおよびABCA1cDNA遺伝子導入CHO細胞は、いずれもペプチド（FAMP）およびヒト血清ApoA-1ともに有意のコレステロール引き抜き作用を認めたが、ABCA1 cDNA遺伝子導入CHO細胞においては、ペプチド（FAMP）はコレステロール引き抜き作用をより顕著に増加させていた。このことは、ペプチド（FAMP）は、ペプチド単体でコレステロール引き抜き作用を有すると共に、ABCA1輸送体に依存的にHDL新生作用を有していることを明らかにしている。

実施例 6

[0074] 実施例1で合成したペプチド（FAMP）を用いて、実施例4と実質的に同様に、ヒト末梢血単球由来マクロファージにおけるコレステロール引き抜き作用を調べた。

[0075] 本実施例では、ヒト末梢血単球由来マクロファージにおいて、健常者由来細胞ならびに ABCA1 欠損症患者由来細胞を、ペプチド（FAMP）（ $20\mu\text{g/ml}$ ）および比較としてヒト血清由来脂質除去ApoA-1（ $20\mu\text{g/ml}$ ）に接触させて4時間放置した。4時間後に、細胞から浸出したコレステロール量を測定して、ペプチド（FAMP）と ApoA-1 とのコレステロール引き抜き能を調べた（図3）。なお、コントロールとしては、0.2%BSAのみを用いた。その結果、健常者由来細胞においては、ペプチド（FAMP）およびヒト血清ApoA-1ともに有意のコレステロール引き抜き作用を認めたが、ABCA1 欠損症患者由来細胞においては、ペプチド（FAMP）はコレステロール引き抜き作用を保持していたが、ヒト血清ApoA-1のコレステロール引き抜き作用は欠損していた。このことは、ペプチド（FAMP）が、ペプチド単体でコレステロール引き抜き作用を有すると共に、ABCA1 輸送体に非依存的にもHDL新生作用を有していること

を明らかにしている。

実施例 7

[0076] 実施例 3 と同様にして、ヒト A172 細胞を用いてペプチド番号 5 (Type2)、ペプチド番号 6 (FAMP-5) およびペプチド番号 9 (Type4) のそれぞれについてのコレステロール引き抜き能を測定した。

[0077] つまり、ヒト A172 細胞に各ペプチド (20 μ g/ml) を接触させて 4 時間インキュベーション後、ヒト A172 細胞から浸出したコレステロール量を測定してコレステロール引き抜き能を調べた。なお、コントロールとしては 0.2% ウシ血清アルブミン (BSA) のみを用い、また比較として ApoA-1 とペプチド番号 13 (original) とを用いた。結果を図 4 左側に示す。

[0078] これに対して、ヒト A172 細胞に各ペプチド (20 μ g/ml) を T0901317 と 9cis-レチノイン酸との刺激下で接触させて 4 時間インキュベーション後、ヒト A172 細胞から浸出したコレステロール量を測定してコレステロール引き抜き能を調べた。結果を図 4 右側に示す。

[0079] これらの結果から、ペプチド番号 6 (FAMP-5) が有意に優れたコレステロール引き抜き能を有していることが明らかになった。

実施例 8

[0080] 実施例 1 と同様にして、ヒト A172 細胞に各ペプチド (20 μ g/ml) を T0901317 と 9cis-レチノイン酸との刺激下で接触させて 4 時間インキュベーション後、ヒト A172 細胞から浸出したコレステロール量を測定してコレステロール引き抜き能を調べた。結果を図 5 に示す。

実施例 9

[0081] 本実施例では、キャピラリー電気泳動法によるヒト血漿リポタンパク質の解析を行った。

[0082] インビトロ (in vitro) において、ヒト血漿を、実施例 1 で作成したペプチド (FAMP) (2 mg/ml) の存在下および非存在下で、17°C で 150 分間インキュベーションを行った。このインキュベーションしたヒト血漿をキャピラリー電気泳動により解析した (図 6)。この解析結果から、ペプチド (FAM

P) の存在下でインキュベーションしたヒト血漿には、pre β -HDLサブフラクションが顕著に増加していることが認められた。この結果は、この発明のペプチドがHDLを新生する作用を有していることを示している。なお、キャピラリー電気泳動は、張波らの手法 (Zhang, B. et al.) に従って実施した。

実施例 10

[0083] 本実施例では、マウスにペプチドを10日間持続投与した場合の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による血漿リポタンパク質の解析を行った。C57BL6マウスにペプチド (FAMP) (2 mg/ml) と生理食塩水を10日間腹腔内持続投与した後の血中脂質プロファイルの変化を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によって測定した。その結果、ペプチド (FAMP) の10日間腹腔内持続投与により、HDLサブフラクションが著名に増加していることが認められた (図7)。この解析結果は、この発明のペプチドがインビボ (in vivo) においてもHDLを新生する作用を有していることを示している。

実施例 11

[0084] 本実施例では、マウスへペプチド急性投与した場合のキャピラリー電気泳動法によるマウス血漿リポタンパク質の解析を行った。C57BL6マウスにペプチド (FAMP) (2mg/ml) を経静脈投与および腹腔内投与した後、30分後および18時間後の血中脂質プロファイルの変化をキャピラリー電気泳動によってそれぞれ測定した (図8および図9)。その結果、ペプチド (FAMP) は、経静脈投与および腹腔内投与においても、HDLサブフラクションを著名に増加していることが認められた。この解析結果は、この発明のペプチドがインビボ (in vivo) においてもHDLを新生する作用を有していることを示している。なお、キャピラリー電気泳動は、実施例9と同様に実施した。

実施例 12

[0085] 実施例1と同様にして、ヒト A172 細胞に各ペプチド (20 μ g/ml) をT0901317、LXR agonist (5 μ M)、9-cis-レチノイン酸、RXR agonist (5 μ M) にて刺激後、4時間インキュベーションしてヒト A172 細胞から浸出したコレステロール量を測定してコレステロール引き抜き能を調べた。コントロールと

して生理食塩水を用いた。結果を図10に示す。

実施例 13

[0086] 実施例12と同様にして、ヒト A172 細胞にペプチドFAMP-5 (type2S9Y) またはapoA-I (20 μ g/ml) をT0901317、LXR agonist (5 μ M)、9-cis-レチノイン酸、RXR agonist (5 μ M) にて刺激後、Probunol (10 μ M) の非存在下または存在下にて4時間インキュベーションしてヒト A172 細胞から浸出したコレステロール量を測定してコレステロール引き抜き能を調べた。コントロールとして生理食塩水を用いた。結果を図11図に示す。

実施例 14

[0087] 実施例12と同様にして、ヒト A172 細胞に各ペプチド(FAMP-5、FAMP-5-Duo、Human type original (221-240)、Human type original (221-240)-Duo) (20 μ g/ml) をT0901317、LXR agonist (5 μ M)、9-cis-レチノイン酸、RXR agonist (5 μ M) にて刺激後、Probunol (10 μ M) の非存在下または存在下にて4時間インキュベーションしてヒト A172 細胞から浸出したコレステロール量を測定してコレステロール引き抜き能を調べた。コントロールとして生理食塩水を用いた。結果をそれぞれ図12および13図に示す。

実施例 15

[0088] アガロースリボ蛋白電気泳動を用いた実験を行った。ペプチド(FAMP-5) (0.2 mg/ml ~2 mg/ml) をヒト血漿と、37°Cで150分間インキュベーションした後、アガロースリボ蛋白電気泳動を行った結果、ペプチド投与によってコレステロール含量の少ないアポA-Iリッチなpre- β の著名な産生が認められた。結果を図14に示す。

実施例 16

[0089] マウス下肢虚血モデルを使った実験を行った。マウスの左大腿動脈を結紮した後、第1、3、5病日にPBSまたはペプチド(FAMP-5) (10 mg/ml または50 mg/ml) を患側(左)肢に筋注を行った。下肢血流は、ドップラー血流計で評価した。その結果、ペプチド(FAMP-5)投与により虚血肢の顕著な血流増加が認

められた（図15）。

実施例 17

[0090] マクロファージ特異的RCTについて調べた。マウスに対して5日間PBS またはペプチド(FAMP-5) (50 mg/kg)を腹腔内投与した。投与開始3日後からマウス腹腔内に³H-コレステロールラベルしたマクロファージを投与した後、血中ならびに便中の³H-コレステロール量を測定した。その結果、ペプチド(FAMP-5)投与により、マクロファージ中の³H-コレステロールの便中排泄が有意に上昇したのがわかった（図16）。

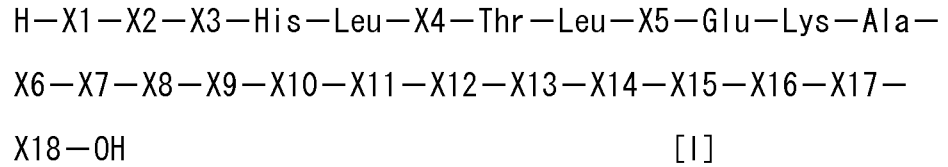
産業上の利用可能性

[0091] この発明に係るコレステロール搬出ペプチドは、コレステロール搬出作用の他に、HDL産生作用を有しているため、アテローム性動脈硬化症などの心血管疾患の予防ならびに治療に有効であるところから、この発明のコレステロール搬出ペプチドは、それ単体でももしくはペプチド-脂質混合物としても、またはこれらを含むその他の薬剤との組合せによる医薬組成物としても医薬品として適用することができる。

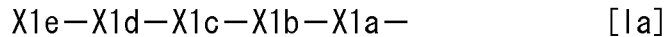
請求の範囲

[請求項1]

一般式 [I] :



[式中、X1はAla、単結合 (“-”) または一般式 [Ia]:



(式中、X1aはAlaまたは単結合 (“-”) を意味し、X1bはLys、Arg
または単結合 (“-”) を意味し、X1cはAlaまたは単結合 (“-”) を意
味し、X1dはHisまたは単結合 (“-”) を意味し、およびX1eはTyrまた
は単結合 (“-”) を意味する。) を意味し、

X2はThr、Leu、LysまたはSerを意味し、

X3はGlu、ThrまたはAspを意味し、

X4はSer、PheまたはLysを意味し、

X5はSer、Tyr、Trp、Phe またはGlyを意味し、

X6は単結合 (“-”)、Lys、LeuまたはArgを意味し、

X7は単結合 (“-”)、ProまたはLysを意味し、

X8は単結合 (“-”) またはAlaを意味し、

X9は単結合 (“-”)、Pheまたは Leuを意味し、

X10は単結合 (“-”)、Glu、GlnまたはAspを意味し、

X11は単結合 (“-”) またはAspを意味し、

X12は単結合 (“-”) またはLeuを意味し、

X13は単結合 (“-”)、Arg、LeuまたはGlyを意味し、

X14は単結合 (“-”)、GlnまたはHisを意味し、

X15は単結合 (“-”)、Gly、LysまたはSerを意味し、

X16は単結合 (“-”)、LeuまたはHisを意味し、

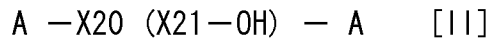
X17は単結合 (“-”)、Leu、Metまたは一般式 [Ib] :



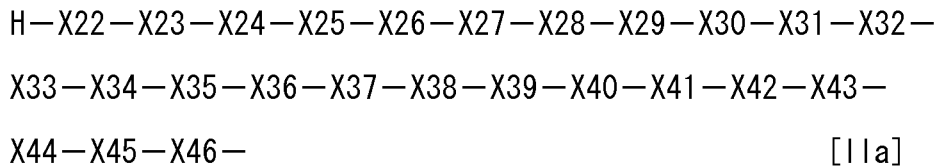
(式中、X17aは単結合(“-”)、Leu またはMetを意味し、X17bはPro、Tyrまたは単結合(“-”)を意味し、X17c はValまたは単結合(“-”)を意味し、ならびにはX1dはLeuまたは単結合(“-”)を意味する。)を意味し、

ただし、記号X1a-X1eおよび記号X17a-X17dがいずれも単結合(“-”)を意味する場合は、それらの単結合は全体として1個の単結合(“-”)を意味し、また、同時にX1がAla、X2がThr、X3がGlu、X4がSer、X5がSer、X6がLys、X7がPro、X8がAla、X9がLeu、X10がGlu、X11がAsp、X12がLeu、X13がArg、X14がGln、X15がGly、X16がLeu、およびX17がLeuである場合を除くものとする。]

で表されるペプチド、または一般式[II] :



[式中、Aは、一般式[IIa] :



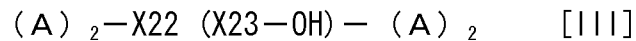
(式中、X22はAlaまたはValを意味し、X23はThr, Leu, LysまたはSerを意味し、X24はGlu, ThrまたはAspを意味し、X25はHisまたはSerを意味し、X26はLeuまたはPheを意味し、X27はSer, PheまたはLysを意味し、X28はThrまたはValを意味し、X29はLeuまたはSerを意味し、X30はSer, Gly, Phe, TyrまたはTrpを意味し、X31はGluまたはLeuを意味し、X32はLysまたはSerを意味し、X33はAlaを意味し、X34はLys, Leu, Argまたは単結合(“-”)を意味し、X35はPro, Glu, Lysまたは単結合(“-”)を意味し、X36はAla, Gluまたは単結合(“-”)を意味し、X37はLeu, Tyrまたは単結合(“-”)を意味し、X38はGlu, Gln, Asp, Thrまたは単結合(“-”)を意味し、X39はAsp, Lysまたは単結合(“-”)を意味し、X40はLeu, Lysまたは単結合(“-”)を意味し、X41はArg, Gly, Leuまたはを単結合(“-”)を意味し、X42はGln, Leu, Lys, His

または結合(“-”)を意味し、X43はGly, Leu, Lys, Serまたは結合(“-”)を意味し、X44はLeu, Hisまたは結合(“-”)を意味する。)を意味し、

X20はLys等のアミノ酸残基を意味し、および

X21はLeuまたはAla等のアミノ酸残基を意味する。)を意味し、

で表される二量体；または一般式[III]：



(式中、Aは前記と同じ意味を有し、

X22はLys等のアミノ酸残基を意味し、および

X23はLeuまたはAla等のアミノ酸残基を意味する。)を意味し、

で表される四量体からなるペプチド。

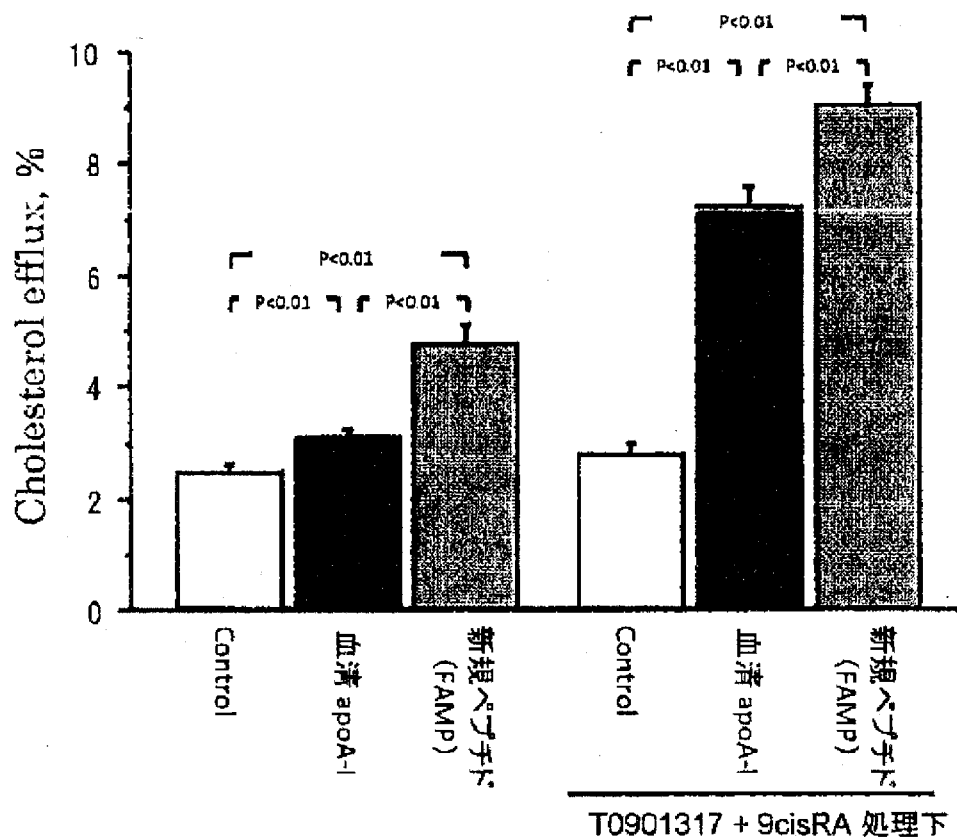
[請求項2] 請求項1に記載のペプチドであって、該ペプチドがコレステロール搬出作用を有していることを特徴とするペプチド。

[請求項3] 請求項1または2に記載のペプチドであって、該ペプチドがHDL新生作用をさらに有していることを特徴とするペプチド。

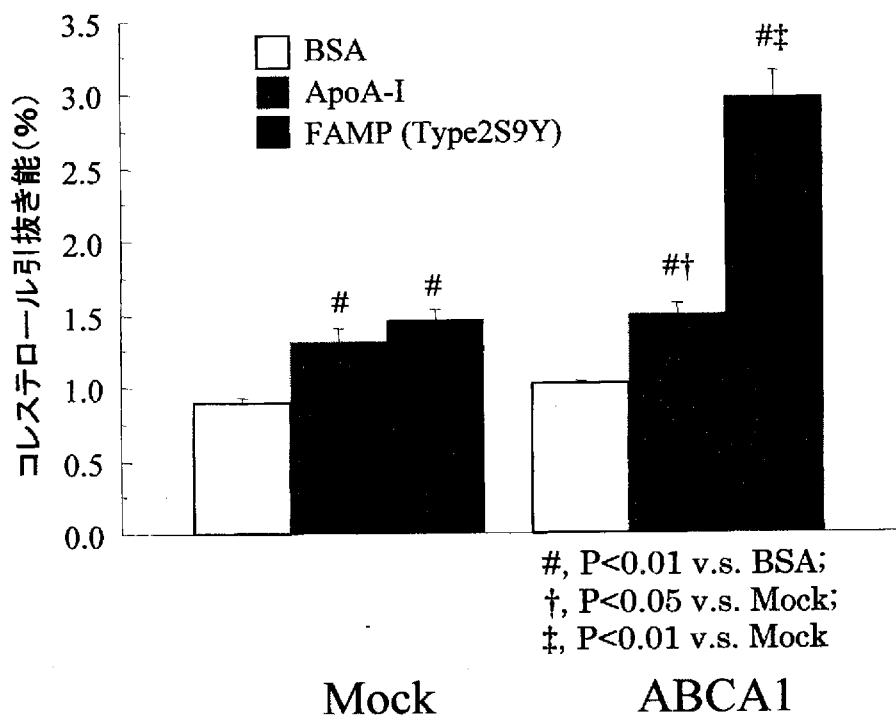
[請求項4] 請求項1ないし3のいずれか1項に記載のペプチドであって、ペプチド番号1～16のいずれか1つで表されることを特徴とするペプチド。

[請求項5] 請求項1に記載のペプチドを有効成分として含有することを特徴とする医薬組成物。

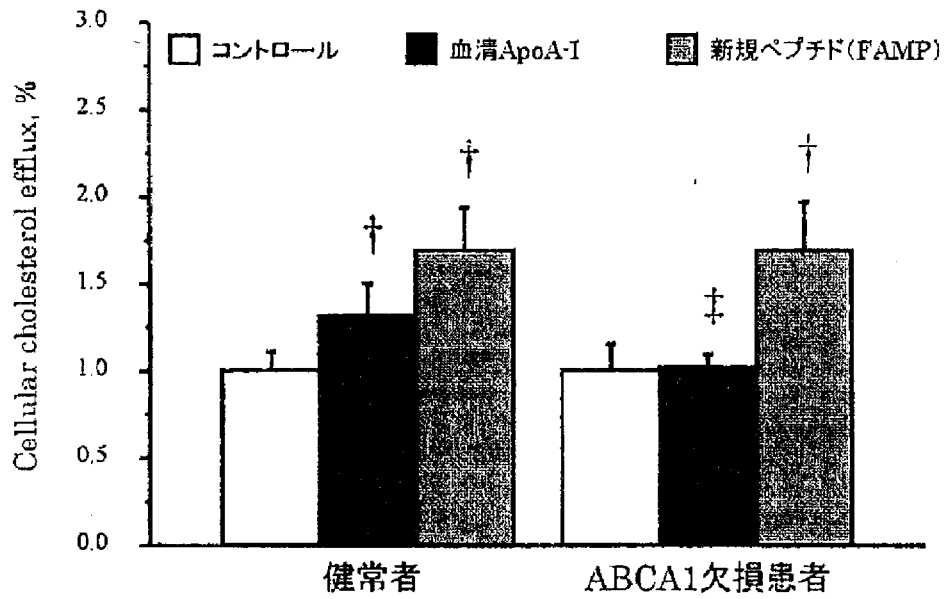
[図1]



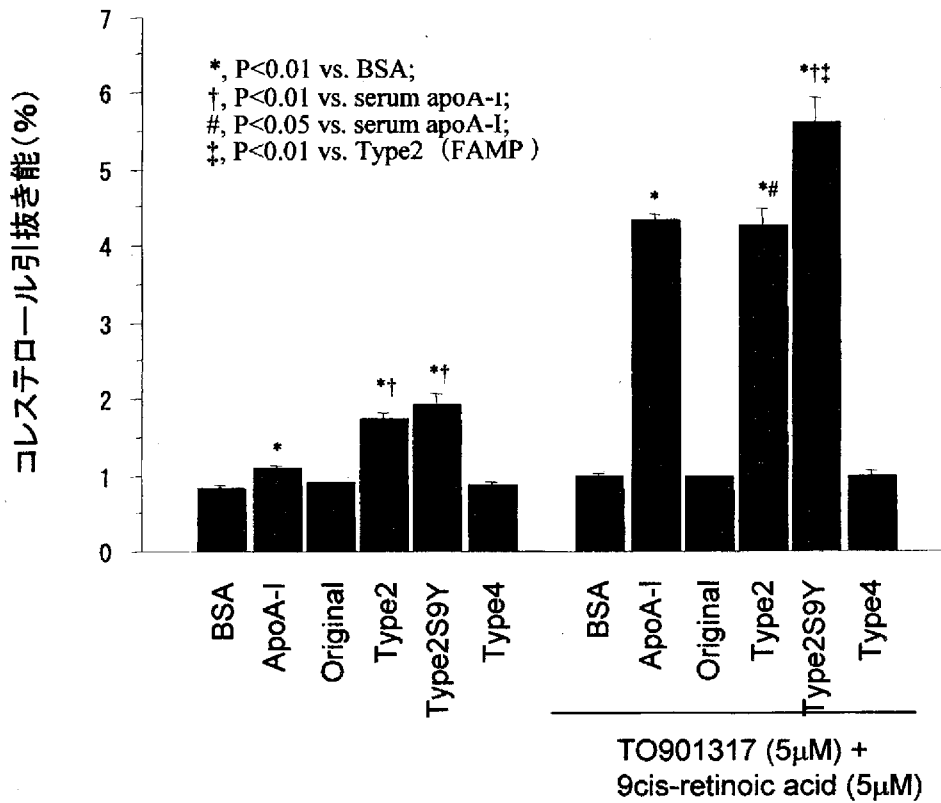
[図2]



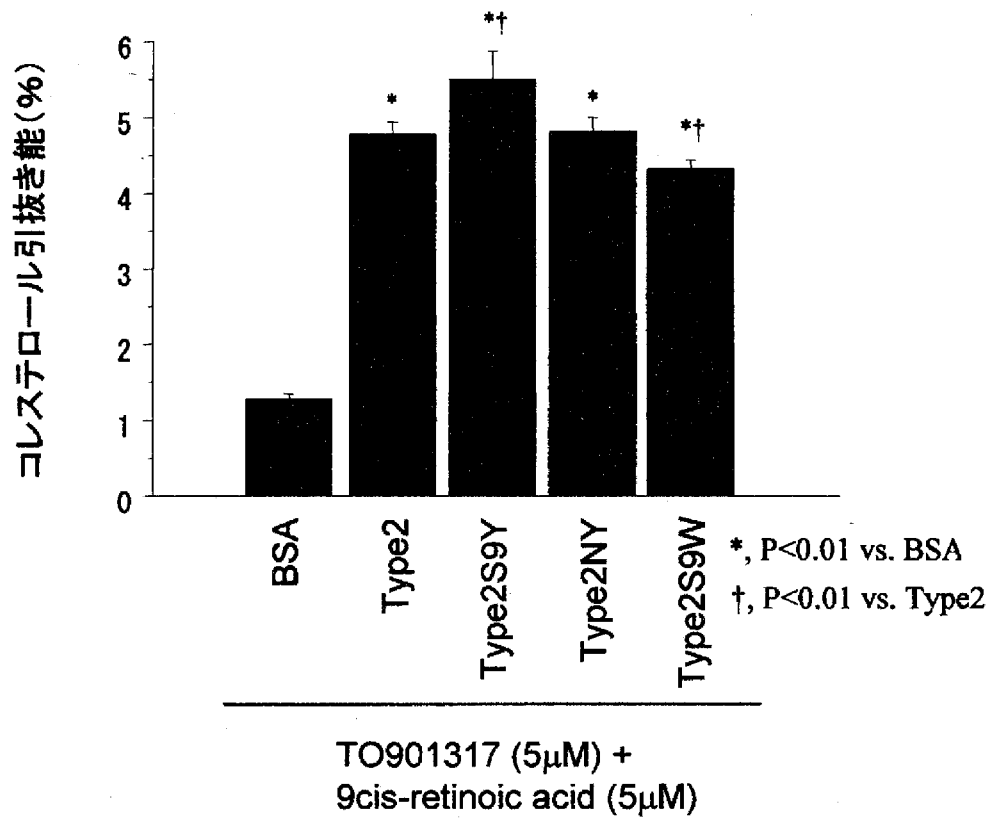
[図3]



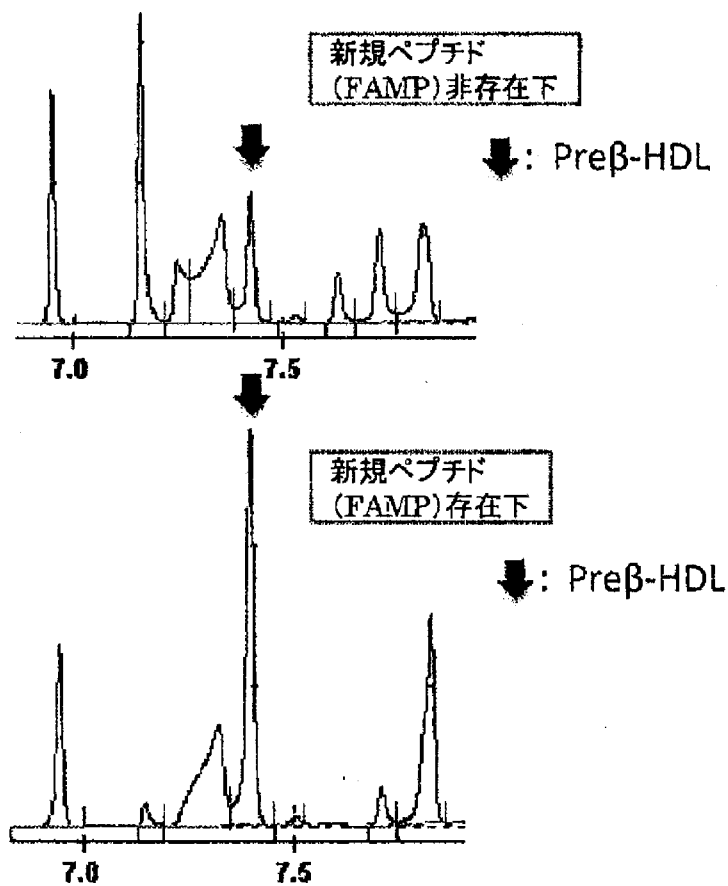
[図4]



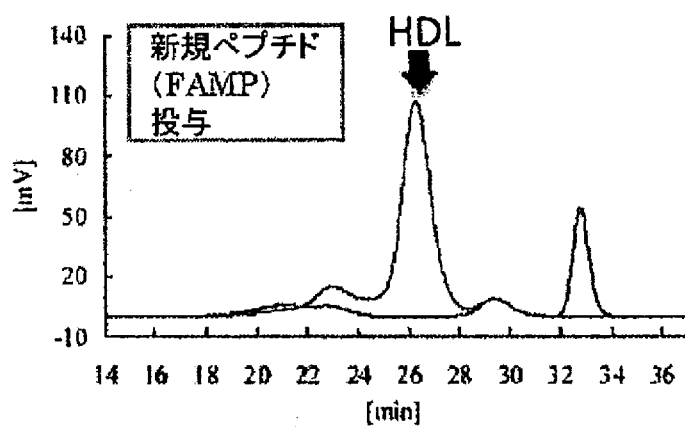
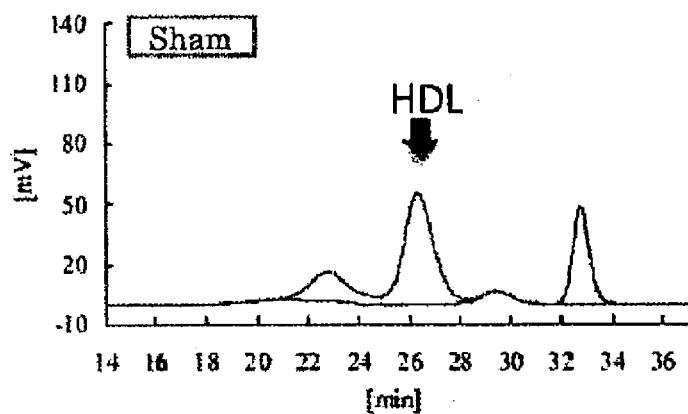
[図5]



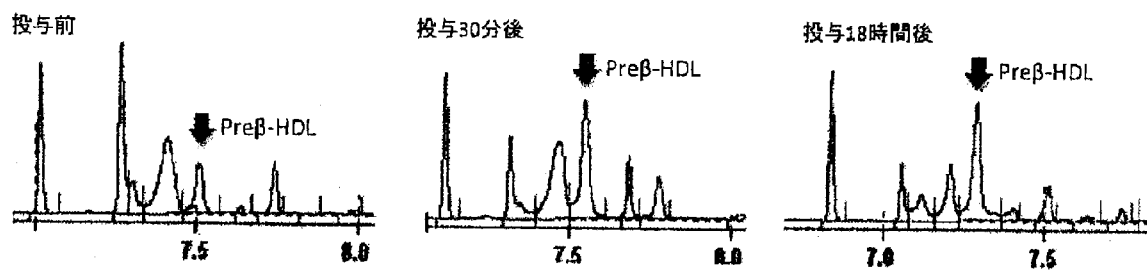
[図6]



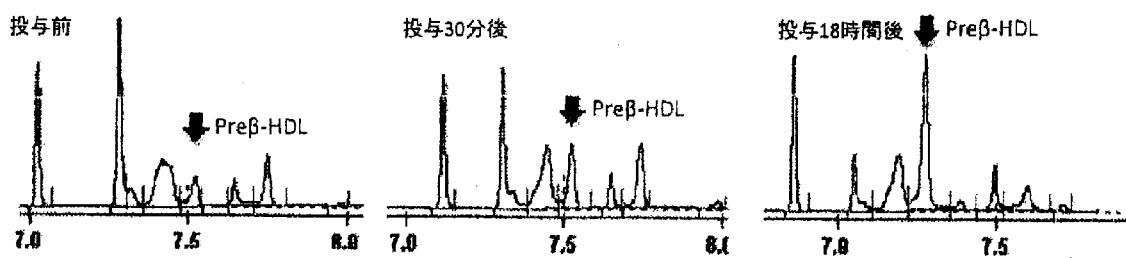
[図7]



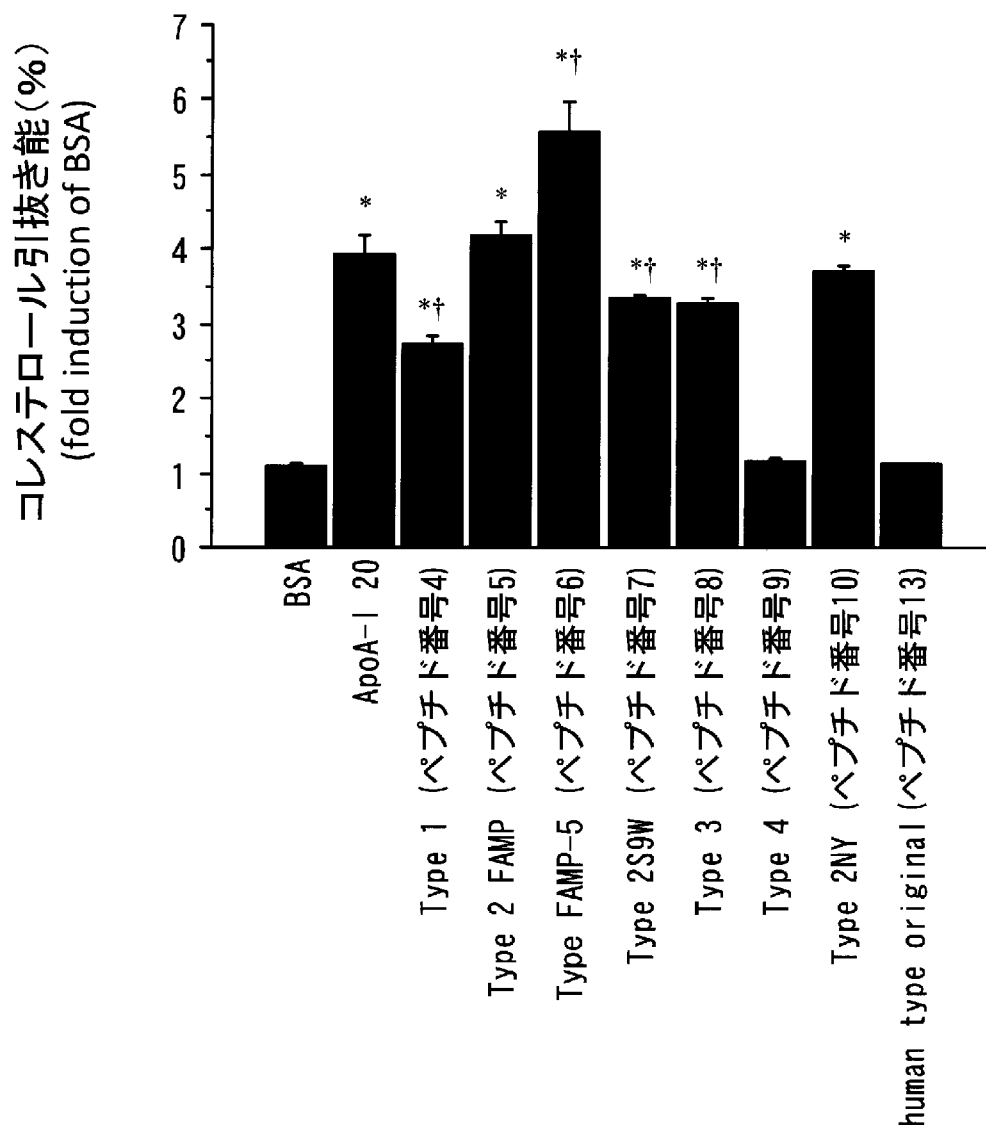
[図8]



[図9]



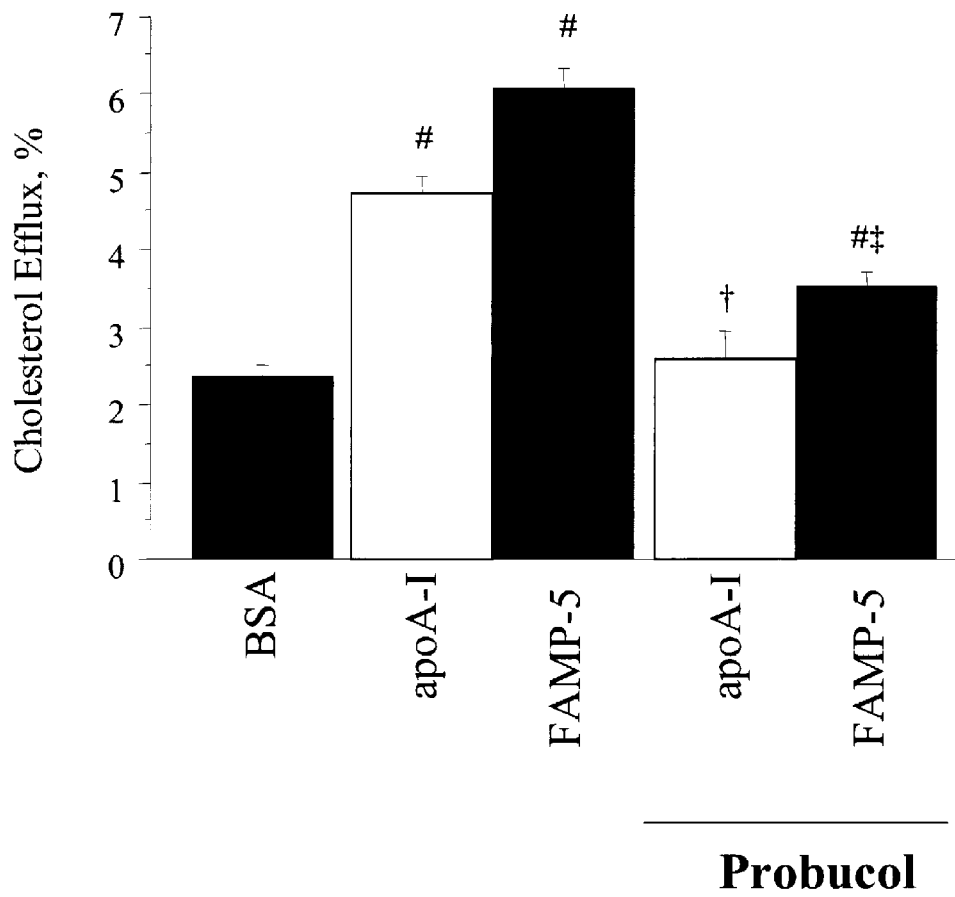
[図10]



*, $P < 0.01$ vs. BSA;

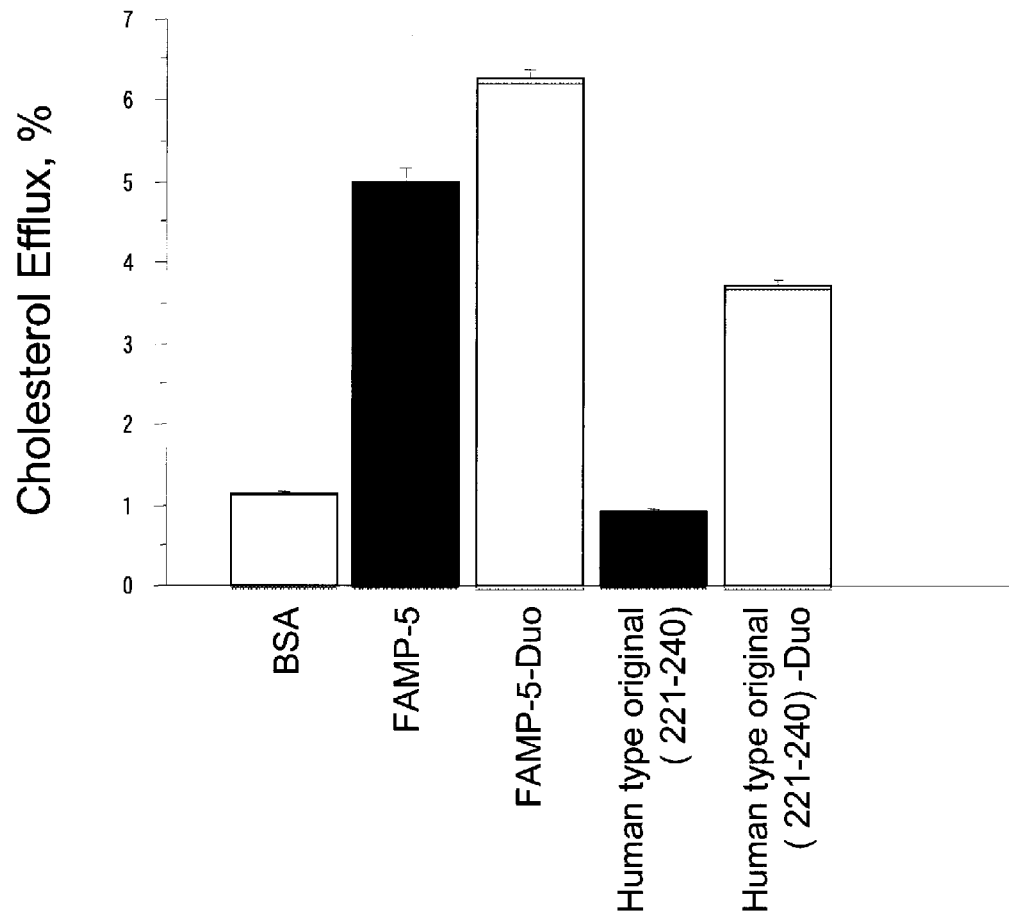
†, $P < 0.01$ vs. Type2(FAMP)

[Fig. 11]

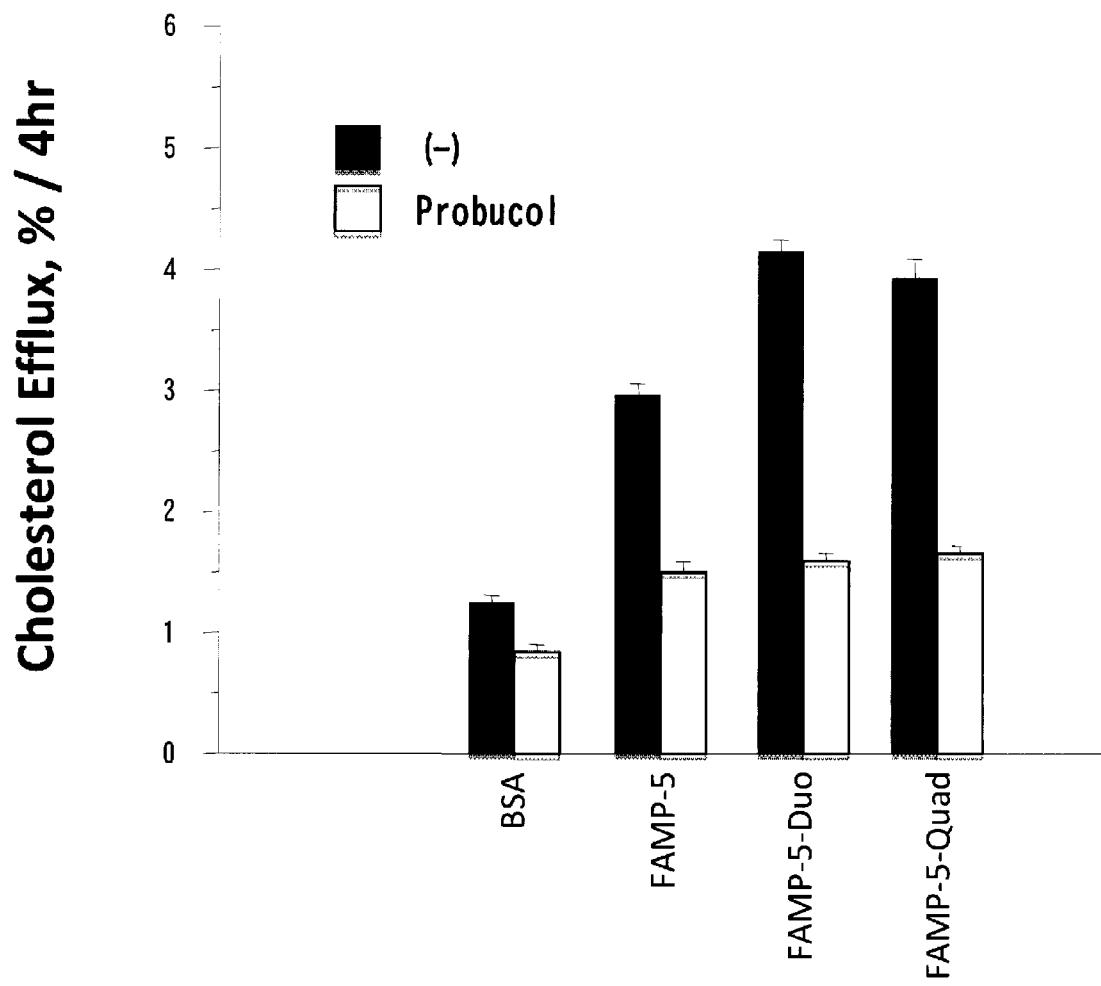


#, $P < 0.01$ v.s. BSA
†, $P < 0.01$ v.s. apoA-I
‡, $P < 0.01$ v.s. type FAMP-5

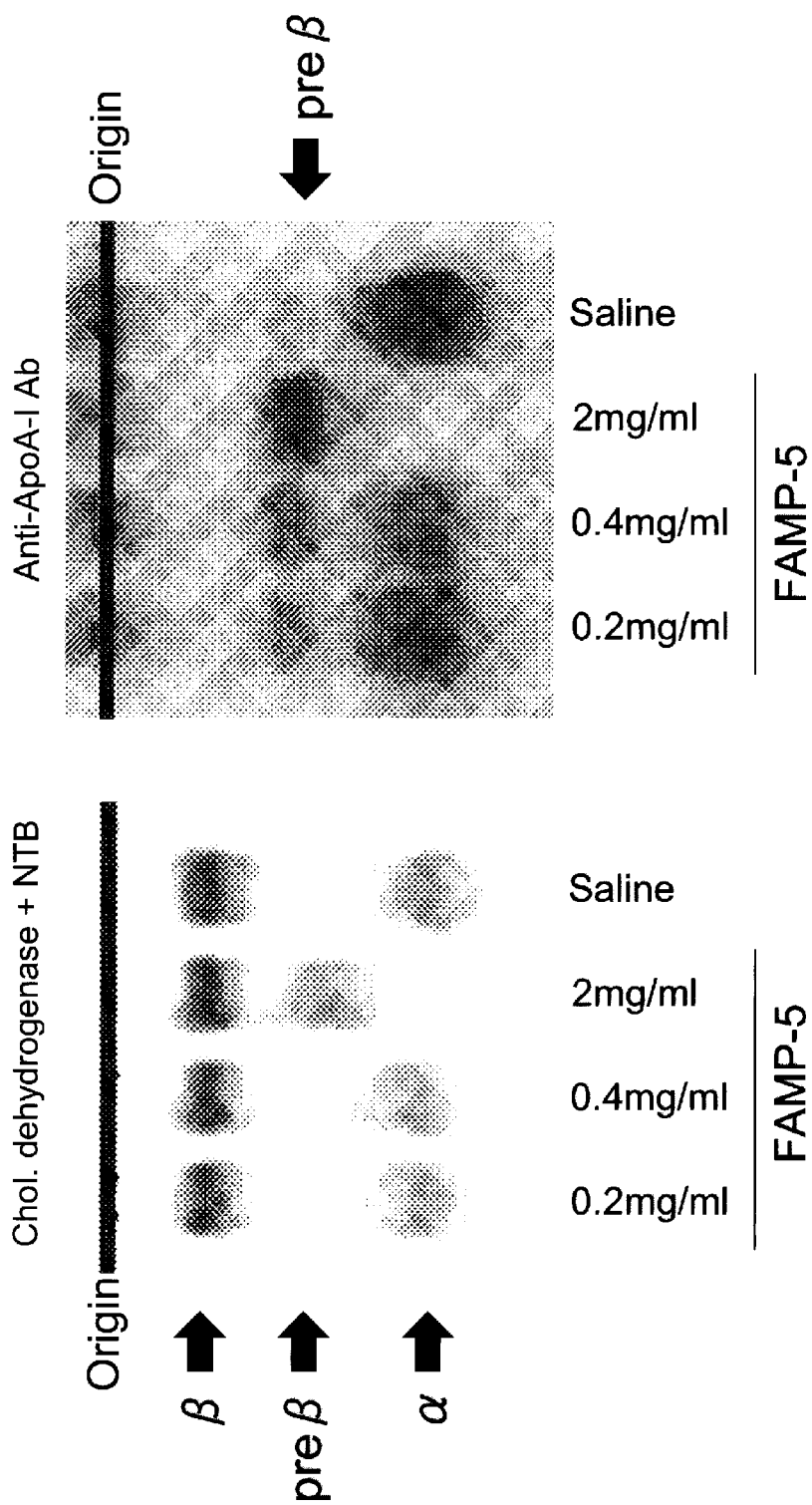
[12]



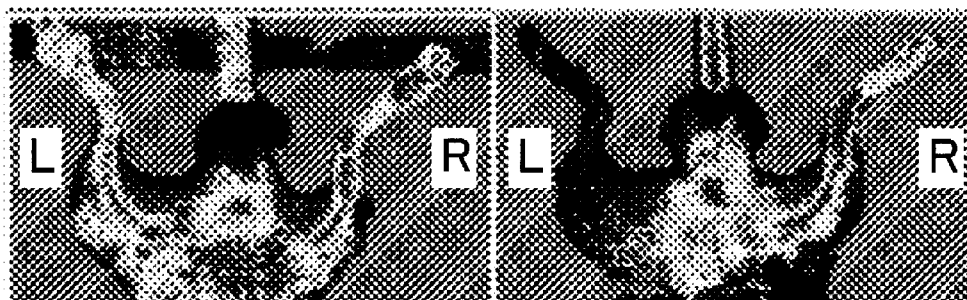
[13]



[14]

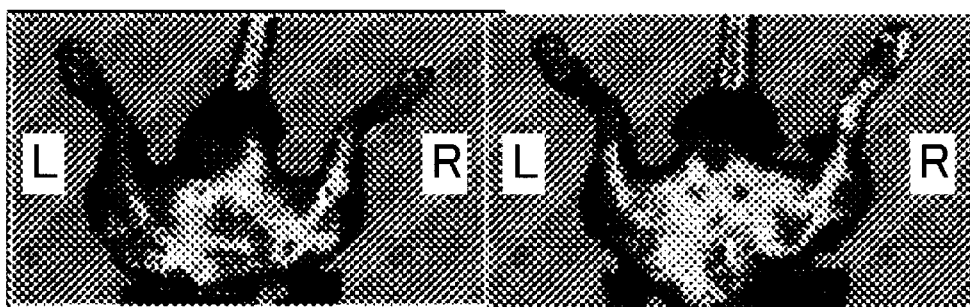


[図15]



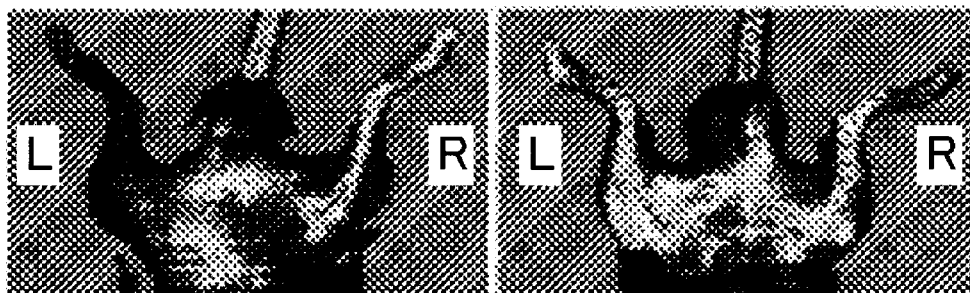
虚血前

虚血直後



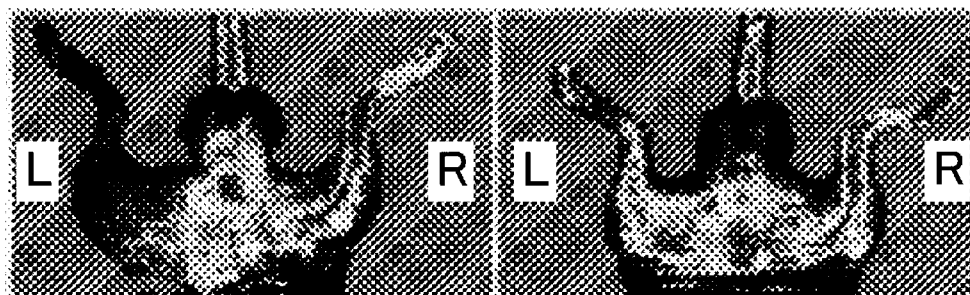
虚血1日後
PBS

虚血6日後
PBS



虚血1日後
type FAMP-5 (10mg/kg i.m.)

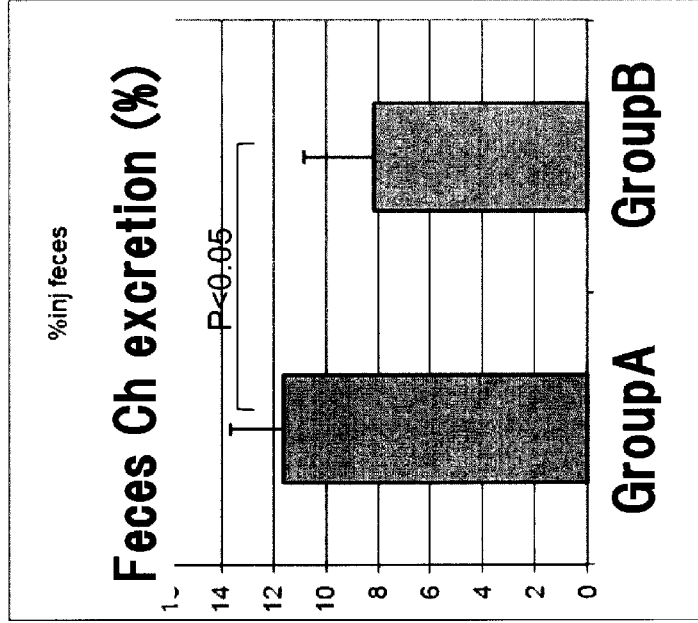
虚血6日後
type FAMP-5 (10mg/kg i.m.)



虚血1日後
type FAMP-5 (50mg/kg i.m.)

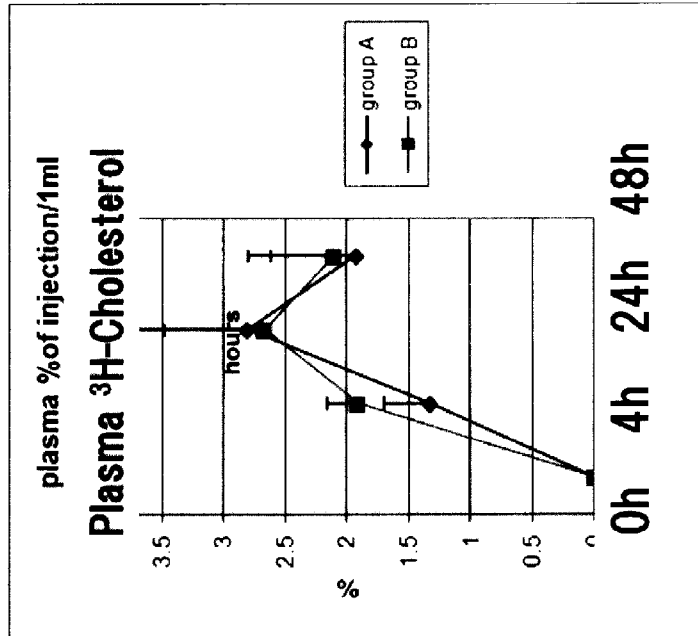
虚血6日後
type FAMP-5 (50mg/kg i.m.)

[16]



Group A: n=8
50mg/kg (type FAMP-5 ip)

Group B: n=8
Vehicle (PBS300ul ip)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/065070

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K14/775(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61P3/06(2006.01)i, A61P9/10(2006.01)i, C07K19/00(2006.01)i

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)

C07K1/00-19/00

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)

CA/REGISTRY/MEDLINE/WPIDS (STN), JSTPlus/JMEDPlus (JDreamII),

Igaku Yakugaku Yokoshu Zenbun Database

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2009-092550 A (Japan Health Sciences Foundation), 30 April 2009 (30.04.2009), entire text; for example, claim 9; paragraph [0031] (Family: none)	1-5
A	NAVAB, Mohamad, et al., Apolipoprotein A-I mimetic peptides., Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2005, Vol.25, No.7, pages 1325-1331	1-5

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 September, 2010 (28.09.10)

Date of mailing of the international search report
05 October, 2010 (05.10.10)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/065070

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SHAH, Prediman K., et al., Apolipoprotein A-I mimetic peptides: potential role in atherosclerosis management., Trends in cardiovascular medicine, 2005, Vol.15, No.8, pages 291-296	1-5
A	Shin'ichiro MIURA, Keijiro SAKU, "Cho'onpa Shindan ni Yakudatsu Domyaku Koka no Chishiki", Journal of Clinical Echocardiography, 2005, vol.6, no.9, pages 844 to 850	1-5
A	Yukihiro ONIKI, et al., "Saibo no Cholesterol Haishutsu o Sokushin suru apoA-I fragment no Gosei Oyobi sono Kino", Joint Chemical Conference of Kyushu Branch · Gaikokujin Kenkyusha Koryu Kokusai Symposium Koen Yokoshu, 11 July 2009 (11.07.2009), vol.46, pages 334 (Lecture No.:1_7.061)	1-5
P,A	UEHARA Y., et al., FAMP, a novel apoA-I mimetic peptide promotes HDL via abca1-dependent cholesterol efflux., Arteriosclerosis supplements, 2010, Vol.11, No.2, pages 3 (session:W11)	1-5

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. C07K14/775(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61P3/06(2006.01)i, A61P9/10(2006.01)i, C07K19/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野
 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. C07K1/00-19/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
 CA/REGISTRY/MEDLINE/WPIDS(STN), JSTPlus/JMEDPlus(JDreamII), 医学・薬学予稿集全文データベース

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2009-092550 A (財団法人ヒューマンサイエンス振興財団) 2009.04.30, 全文、例えば、請求項 9、【0031】(ファミリーなし)	1-5
A	NAVAB, Mohamad, et al., Apolipoprotein A-I mimetic peptides., Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2005, Vol.25, No.7, pages 1325-1331	1-5

C 欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

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

国際調査を完了した日 28.09.2010	国際調査報告の発送日 05.10.2010
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 清水 晋治 電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	SHAH, Prediman K., et al., Apolipoprotein A-I mimetic peptides: potential role in atherosclerosis management., Trends in cardiovascular medicine, 2005, Vol.15, No.8, pages 291-296	1-5
A	三浦伸一郎、朔啓二郎, 超音波診断に役立つ動脈硬化の知識., 心エコー, 2005, Vol.6, No.9, pages 844-850	1-5
A	鬼木幸祐、外 4 名, 細胞のコレステロール排出を促進する apoA-I fragment の合成及びその機能., 化学関連支部合同九州大会・外国人研究者交流国際シンポジウム講演予稿集, 2009.07.11, Vol.46, pages 334 (講演番号:1_7.061)	1-5
P, A	UEHARA Y., et al., FAMP, a novel apoA-I mimetic peptide promotes HDL via abca1-dependent cholesterol efflux., Arteriosclerosis supplements, 2010, Vol.11, No.2, pages 3 (session:W11)	1-5