202409064

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202409064 A

(43)公開日： 中華民國 113 (2024) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：112119546 (22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 05 月 25 日

(51)Int. Cl.： *C07K14/47 (2006.01)* *A61K38/16 (2006.01)*
A61P25/00 (2006.01) *A61P25/04 (2006.01)*

(30)優先權：2022/05/25 歐洲專利局 22305773.8

(71)申請人：法商塔法吉斯生技公司 (法國) TAFALGIE THERAPEUTICS (FR)
法國

(72)發明人：蓋拉德 斯蒂芬 GAILLARD, STEPHANE (FR)；穆克雷什 阿卜杜勒阿齊茲 MOQRICH, ABDELAZIZ (FR)

(74)代理人：張仲謙

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：16 項 圖式數：10 共 78 頁

(54)名稱

用於治療疼痛的肽和方法

(57)摘要

本發明係關於一組肽、包含該等肽或允許該等肽表現的組成物和套組，以及其用途，尤其用於預防或治療有需要之個體之疼痛的用途。

The present invention relates to a set of peptides, to compositions and kits comprising or allowing the expression of said peptides, as well as to uses thereof, in particular for preventing or treating pain in a subject in need thereof.

指定代表圖：

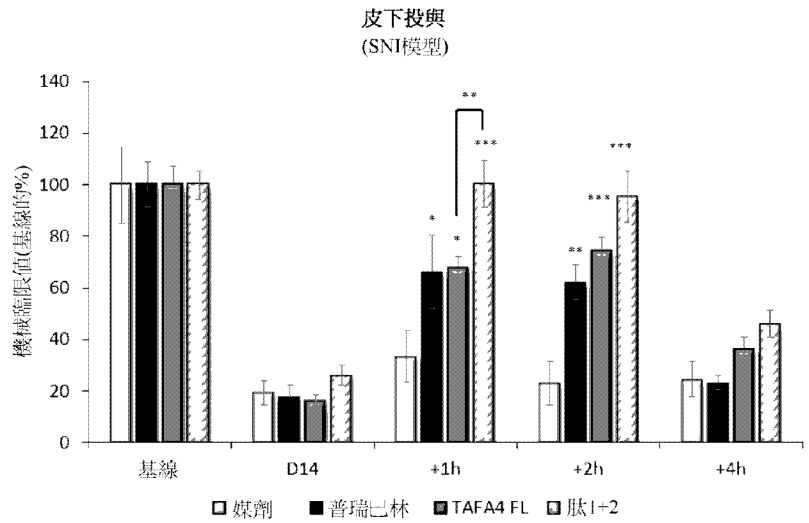


圖1

專利案號：112119546
202406716
202409064
申請日：
IPC 分類：

【發明摘要】

【中文發明名稱】用於治療疼痛的肽和方法

【英文發明名稱】PEPTIDES AND METHODS FOR USE IN TREATING PAIN

【中文】

本發明係關於一組肽、包含該等肽或允許該等肽表現的組成物和套組，以及其用途，尤其用於預防或治療有需要之個體之疼痛的用途。

【英文】

The present invention relates to a set of peptides, to compositions and kits comprising or allowing the expression of said peptides, as well as to uses thereof, in particular for preventing or treating pain in a subject in need thereof.

【指定代表圖】圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無。

【特徵化學式】

無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】用於治療疼痛的肽和方法

【英文發明名稱】PEPTIDES AND METHODS FOR USE IN TREATING PAIN

【技術領域】

【0001】本發明大體上關於疼痛管控領域。更特定而言，本發明係關於一組肽、包含該等肽或允許該等肽表現的組成物和套組，以及其用途，尤其用於預防或治療有需要之個體之疼痛的用途。該組肽為人類TAFA-4蛋白的特定片段或其等效片段，其可作為活性成分用於預防或治療疼痛，特定言之，源自神經性病變疼痛、手術後疼痛或發炎性疼痛的急性、亞急性或慢性疼痛，或用於預防或治療由損傷誘導性疼痛引起的痛覺過敏或觸摸痛。

【先前技術】

【0002】疼痛通常分類為急性或慢性。急性疼痛係短暫的且對於維持身體完整性而言係必要的，而慢性疼痛持續超過正常癒合時間且不利地影響健康。慢性發炎性疼痛、神經性病變疼痛或手術後疼痛引起持久的感覺異常，諸如痛覺過敏(由有害刺激引發之極度疼痛)及機械性觸摸痛(由無害機械刺激誘發之疼痛)。雖然此等類別之疼痛在病因及臨床特徵方面不同，但其具有若干共同機制，包括周邊與中樞之神經-免疫相互作用之改變及神經元敏化(Costigan 等人, 2009)。愈來愈多的證據表明，抑制作用之喪失可能為慢性疼痛之潛在關鍵機制(Bourane 等人, 2015a; Bourane 等人, 2015b; Boyle 等人, 2019; Coull 等人, 2005; Duan 等人, 2014; Peirs 等人, 2015; Petitjean 等人, 2019; Petitjean 等人, 2015; Zeilhofer 等人, 2012; Zhang 等人, 2018, Yoo 等人, 2021)。然而，儘管對嚙齒動物中慢性疼痛之潛在機制及迴路有廣泛瞭解，但將此等發現轉化為人類慢性疼痛之有效治療仍然無法令人滿意(Colloca 等人, 2017)。實際上，非類固醇消炎劑

(NSAID)對慢性疼痛功效有限，且類鴉片具有多種副作用，包括可能致死性呼吸抑制、噁心、便秘、痛覺過敏、耐受性、身體及精神依賴性(Benyamin 等人, 2008)。因此，應鼓勵努力去鑑別具有鎮痛或止痛潛能以治療慢性疼痛之新目標。

【0003】 在過去幾年中，發明人發現分泌型蛋白 TAFA-4 之驚人特徵，表明其可為治療慢性疼痛之所關注藥物(WO2014180853)。TAFA-4 屬於五種高度保守分泌型神經節細胞因子(neurokine)之家族(Sarver 等人, 2021)。TAFA-4 含有信號肽，繼之為具有 10 個半胱胺酸殘基之高度保守核心區，其包括 CC-趨化因子模體，使得其類似於細胞介素(Tom Tang 等人, 2004)。

【0004】 發明人先前亦展示，在 TAFA-4 基因缺失之小鼠中，由神經損傷誘發之機械過敏持續時間比野生型(WT)小鼠中長得多(Delfini 等人, 2013)。此等表型藉由鞘內注射重組 TAFA-4 而逆轉。

【0005】 如WO2014180853中所述，發明人先前報導實驗證據證明，TAFA-4對病理學上增加之機械疼痛具有強力作用。已顯示，在雄性與雌性小鼠中，人類重組TAFA-4之鞘內及皮下投與逆轉發炎性、手術後及神經損傷誘導的機械過敏。其亦顯示，TAFA-4可逆轉脊椎板層II中間神經元之神經損傷誘發之神經元敏化，據報導該敏化會引起機械臨限值改變。然而，重組成熟TAFA-4蛋白之產生可能有挑戰性，因為TAFA-4為富半胱胺酸蛋白質(總計10個半胱胺酸)。實際上，再摺疊可引起獲得非天然構形或不當的二硫鍵橋接模式，其可大大影響蛋白質活性。此外，獲得高純度重組TAFA-4蛋白所需的若干純化步驟以及可能的聚集問題可能會限制適當摺疊之蛋白質的產量。此外，當實施TAFA-4蛋白之化學合成時，其亦因蛋白質之長度而具有挑戰性，需要組裝不少於4個(經保護或部分保護)肽區段(始於N端且終止於最C端肽)。為了產生全長TAFA-4，需要三個接合純化步驟，導致產量低，與工業規模生產不相容。因此，強烈需要用於有效預防或治療疼痛、尤其急性、亞急性或慢性疼痛的替代治療劑及方法，

該等治療劑及方法在鑑別活性類似於或優於全長TAFA-4蛋白活性的新穎化合物方面具有實質優勢且可依工業規模、以有成本效益的方式製造。

【發明內容】

【0006】 本發明至少部分地基於鑑別展現止痛或鎮痛活性、尤其止痛活性的肽。本發明人已發現，此等肽能夠有利地逆轉神經損傷、手術或注射消炎劑(諸如角叉菜膠)所誘導的機械過敏，亦即，能夠治療神經性病變、手術後或發炎性疼痛。

【0007】 所關注的肽為或來源於人類 TAFA-4 蛋白的特定片段。與人類 TAFA-4 全長蛋白質(在本文中亦標識為「TAFA-4 FL」)相比，該等肽更有效地抵禦疼痛，尤其慢性疼痛，典型地抵禦損傷誘導的疼痛，且更容易產生。實際上，此等肽為短肽，其無需為了產生治療作用而彼此連接。本發明人在本文中向患者提供能夠緩解對疼痛治療成癮之問題的新穎工具。

【0008】 本發明人首次在本文中特定描述一組產物或組分，特定言之，一組肽、編碼此類肽之核酸、允許此類肽表現的載體及/或細胞，該等肽包含以下或由以下組成：SEQ ID NO: 1 (CFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWW)之第一肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽(在本文中亦標識為序列 SEQ ID NO: 1 之「變異體」、「肽變異體」或「肽之變異體」)，及 SEQ ID NO: 2 (CHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR)之第二肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽(在本文中亦標識為序列 SEQ ID NO: 2 之「變異體」、「肽變異體」或「肽之變異體」，其中該等(至少兩種)肽彼此不連接。該變異體典型地為功能變異體，亦即，與本發明人在本文中關於 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 之肽所述之作用(治療作用)相同的變異體。

【0009】 本文中亦描述一種組成物，其包含序列 SEQ ID NO: 1 之肽或其變異體(亦即，與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽)，及序列 SEQ ID NO: 2 之肽或其變異體(亦即，與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽)，其中該等(至少兩種)肽彼此不連接。

【0010】 在一個特定態樣中，類似於 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2 之肽，本文中所述之其變異體調節脊髓中間神經元(較佳為脊髓椎板 IIi 中間神經元)的興奮性。

【0011】 在一較佳態樣中，SEQ ID NO: 1 之肽中之位置 13 的麩醯胺酸(Q)殘基(/參考 SEQ ID NO: 1 中所示之位置)在 SEQ ID NO: 1 之肽的變異體中保持不變。類似地，SEQ ID NO: 2 之肽中之位置 18 的酪胺酸(Y)殘基(/參考 SEQ ID NO: 2 中所示之位置)在 SEQ ID NO: 2 之肽的變異體中保持不變，或被絲胺酸(S)置換。

【0012】 本發明人在本文中特定描述允許彼此不連接之(至少兩種)肽表現的一組核酸，其中(第一)核酸包含編碼 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之肽的序列，且(第二)核酸包含編碼 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之肽的序列；以及包含此組核酸的組成物。

【0013】 本文亦揭示允許彼此不連接之(至少兩種肽)表現的一組載體，其中(第一)載體包含編碼 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之肽的序列，且(第二)載體包含編碼 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之肽的序列；以及包含此組載體的組成物。

【0014】 本文進一步揭示允許如本文所述之彼此不連接之(至少兩種)肽(或其變異體)表現的細胞，且其中 i)該細胞包含(第一)核酸序列或載體，其編碼 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽；及(第二)核酸序列或載體，其編碼 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽。亦揭示包含此類細胞及可接受之負載體的組成物。

【0015】 本文亦描述如本文首次揭示之組、組成物或細胞，其用作治療性或預防性活性成分，典型地用作醫藥組成物、藥物或藥劑。

【0016】 本文中所述之任一種組成物典型地為醫藥學、治療學、獸醫學或飲食學/飲食組成物，除(至少兩種)肽之外，其亦包含醫藥學及/或飲食學/飲食上可接受的負載體。

【0017】 在一個特定態樣中，組成物可進一步包含至少一種其他(不同)活性化合物/藥劑，較佳為有效抵禦疼痛(急性、亞急性或慢性疼痛)的活性劑，甚至更佳為類固醇消炎藥(SAID)、非類固醇消炎藥(NSAID)或類鴉片藥物。

【0018】本發明亦關於如本文所述之組或細胞，典型地關於一組肽、一組編碼此類肽的核酸，或一組允許此類肽表現的載體，或關於包含或表現此組的細胞，其[作為活性成分]用於預防或治療有需要之個體的疼痛。其亦關於此類肽或此組用於製造供預防或治療有需要之個體之疼痛之醫藥組成物、藥物或藥劑的用途。特定而言，本發明可用於治療慢性疼痛、神經性病變疼痛、手術後疼痛、發炎性疼痛、痛覺過敏、觸摸痛或急性疼痛。本發明亦可用於治療關節炎疼痛、與關節損傷相關的疼痛、與艾登二氏症候群(Ehlers-Danlos syndrome)有關的疼痛、由曬傷引起的疼痛或由冰灼傷引起的疼痛。

【0019】本發明亦關於一種預防或治療有需要之個體之疼痛的方法，其包含投與(治療有效)量的產物，諸如如本文所述之組及/或組成物，較佳為包含 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之其變異體及 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之其變異體的一組肽，或包含此組的組成物。

【0020】如本文所述之產物(特定而言，肽、組及組成物)可藉由任何途徑投與個體，諸如肌肉內、靜脈內、腹膜內、口服(經口)、肛門、皮膚、皮下、外用、真皮、經皮或鞘內。較佳地，向個體皮下、經口或靜脈內(甚至更佳為皮下或經口)投與本文所述之產物(例如肽或組成物)。

【0021】本文所述之產物(例如肽)或組成物中之每一者可為套組之一部分。

【0022】本發明之特定套組包含 i) SEQ ID NO: 1 之第一肽、與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽，或編碼此類肽的核酸序列；ii) SEQ ID NO: 2 之第二肽、與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽，或編碼此類肽、第一及第二肽的核酸序列，或編碼該等肽、第一及第二肽的核酸，或編碼該等肽的核酸，其處於不同容器中；及視情況存在的 iii)套組的書面使用說明書。本文所述之套組典型地用於預防或治療疼痛之情形下。

【0023】在一特定態樣中，本發明之產物亦可用於研究之情形下。編碼本文所述之肽或其變異體的核酸、允許其表現的載體，或包含此類核酸或使用此類載體修飾的細胞，可用於表現或活體外或離體調節SEQ ID NO: 1之肽或與SEQ

ID NO: 1具有至少90%一致性之其功能變異體及/或SEQ ID NO: 2之肽或與SEQ ID NO: 2具有至少90%一致性之其功能變異體的表現。在另一特定態樣中，本發明亦關於一種基因轉殖動物，其經改造以表現本文所述之至少兩種不同核酸。

【圖式簡單說明】

【0024】 圖1：TAFA-4 (全長蛋白質)及該組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2當活體內皮下投與時，對神經性病變疼痛之選擇性神經損傷(SNI)模型之止痛作用的比較。向罹患機械過敏的小鼠皮下投與該組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (此組在本文中標識為「肽1+2」)、TAFA-4全長蛋白質(標識為「TAFA4 FL」)、陰性對照物(媒劑)或陽性對照物(普瑞巴林(Pregabalin))。該圖繪示在各種條件下誘使50%小鼠發生縮爪反應所需的機械力(用其等效體重(公克)表示)與時間的關係。資料用相對於基線水平的百分比反應表示。在建構SNI疼痛模型之前(T0=基線)、在SNI之後的第14天進行量測以驗證機械性觸摸痛的建立，且接著在皮下注射後的1、2及4小時進行量測。顯示「肽1+2」治療之小鼠、「TAFA-4 FL」治療之小鼠及媒劑組之間的統計學差異(雙向RM ANOVA，隨後為邦弗朗尼事後檢驗(Bonferroni post-hoc test)：* $p < 0.05$，** $p < 0.01$，*** $p < 0.001$)。

圖2：TAFA-4 (全長蛋白質)及該組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2當活體內經口投與時，對神經性病變疼痛之SNI模型之止痛作用的比較。向罹患機械過敏的小鼠經口投與該組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (此組在本文中標識為「肽1+2」)、TAFA-4全長蛋白質(標識為「TAFA4 FL」)、陰性對照物(媒劑)或陽性對照物(普瑞巴林)。該圖繪示在各種條件下誘使50%小鼠發生縮爪反應所需的機械力(用其等效體重(公克)表示)與時間的關

係。資料用相對於基線水平的百分比反應表示。在建構SNI疼痛模型之前(T0=基線)、在SNI之後的第14天進行量測以驗證機械性觸摸痛的建立，且接著在經口管飼後的1、2及4小時進行量測。顯示「肽1+2」治療之小鼠、「TAFA-4 FL」治療之小鼠及媒劑組之間的統計學差異(雙向RM ANOVA，隨後為邦弗朗尼事後檢驗：* p <0.05，** p<0.01，*** p<0.001)。

圖3：該組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2當活體內靜脈內投與時對神經性病變疼痛之SNI模型的止痛作用。向罹患機械過敏的小鼠靜脈內投與該組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (此組在本文中標識為「肽1+2」)或陰性對照物(媒劑)。該圖繪示在各種條件下誘使50%小鼠發生縮爪反應所需的機械力(用其等效體重(公克)表示)與時間的關係。資料用相對於基線水平的百分比反應表示。在建構SNI疼痛模型之前(T0=基線)、在SNI之後的第14天進行量測以驗證機械性觸摸痛的建立，且接著在靜脈內注射後的1、2及4小時進行量測。顯示「肽1+2」治療之小鼠與媒劑組之間的統計學差異(雙向RM ANOVA，隨後為邦弗朗尼事後檢驗：*p <0.05，** p<0.01，*** p<0.001)。

圖4：該組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2當活體內皮下投與雄性與雌性小鼠時對手術後疼痛模型(布倫南爪切開模型(Brennan paw incision model))的止痛作用，其中

A. 方案示意圖。該組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2或陰性對照物(媒劑)在以下不同時間點皮下投與，一天兩次：手術前一天(D-1)、手術當天(D0)，以及手術之後的第D+1及D+2天。在D0，分別在手術之前的1小時及

手術(且喚醒)之後的1小時進行投與。在D+1及D+2進行的機械臨限值反應量測亦在該組兩種肽或媒劑投與之前進行；以及

B. 該圖表示誘使50%小鼠發生縮爪反應所需的機械力(用基線水平的百分比表示)與時間的關係。將該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (此組在本文中標識為「肽1+2」)治療之小鼠與陰性對照物(媒劑)治療之小鼠進行比較。顯示「肽1+2」治療之小鼠與媒劑組之間的統計學差異(雙向RM ANOVA，隨後為邦弗朗尼事後檢驗：*** p<0.001)。「肽1+2」治療組：24隻小鼠，媒劑組：22隻小鼠；模型=手術後疼痛模型；性別：經「肽1+2」治療之小鼠中有12隻雄性及12隻雌性，媒劑組中有11隻雄性及11隻雌性；投與：皮下；「肽1+2」總濃度：300 μg/kg.(大致對應於肽1：128 μg/kg，及肽2：172 μg/kg))

圖5：該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2皮下重複投與之後，對慢性縮窄損傷(CCI)神經性病變疼痛模型的耐受性缺乏其中

A. 方案示意圖。CCI神經性病變疼痛模型建立之後，在手術後第7天開始的連續14天期間，用該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (此組在本文中標識為「肽1+2」)或陰性對照物(媒劑)治療小鼠，一天兩次。每兩天測定「肽1+2」的止痛作用；以及

B. 該圖表示誘使50%小鼠發生縮爪反應所需的機械力(用基線水平的百分比表示)與時間的關係。將「肽1+2」治療的小鼠與陰性對照物(媒劑)治療的小鼠進行比較。顯示第一次投藥與最後一次投藥之後的止痛作用在經「肽1+2」治療之小鼠與媒劑組之間的統計學差異(雙向RM ANOVA，隨後為邦弗朗尼事後檢驗：ns：不顯著)。模型 = CCI神經性病變疼痛模型；性別：

「肽1+2」治療之小鼠為10隻雄性，媒劑組n=9；投與：皮下；「肽1+2」總濃度：300 μg/kg。

圖6：當活體內皮下投與雄性與雌性小鼠時，該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2治療對手術後疼痛模型(布倫南爪切開模型)之不同劑量學的比較其中A. 方案示意圖。根據三種不同方案皮下投與該組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (「肽1+2」)或陰性對照物(媒劑)，一天兩次。「D-1/D0」方案：手術前一天(D-1)及手術當天(D0)；「D0」方案：手術當天(D0)；「D0/D+1/D+2」方案：手術前一天(D-1)、手術當天(D0)以及手術之後的第D+1及D+2天。在D0，分別在手術之前的1小時及手術(且喚醒)之後的1小時進行投與。在D+1及D+2進行的機械臨限值反應量測亦在該組兩種肽或媒劑投與之前進行；以及

B. 該圖表示誘使50%小鼠發生縮爪反應所需的機械力(用基線水平的百分比表示)與時間的關係。根據上述三種不同方案「D-1/D0」、「D0」、「D0/D+1/D+2」，將「肽1+2」治療的小鼠與陰性對照物(媒劑)治療的小鼠進行比較。顯示「肽1+2」治療之小鼠與媒劑組之間的統計學差異(雙向RM ANOVA，隨後為邦弗朗尼事後檢驗：** $p<0.01$，*** $p<0.001$)。「肽1+2」治療組：16隻小鼠；媒劑組：11隻小鼠；模型 = 手術後疼痛模型；性別：「肽1+2」治療之小鼠中有8隻雄性及8隻雌性，媒劑組中有6隻雄性及5隻雌性；投與：皮下；「肽1+2」總濃度：300 μg/kg。

圖7：活體內皮下投與之該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2對發炎性疼痛模型(辣椒鹼發炎性疼痛模型)的止痛作用。該圖表示誘使50%小鼠發生縮爪反應所需的機械力(用基線水平的百分比表示)與時間的關係。將一組肽SEQ

ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (此組在本文中標識為「肽1+2」)治療之小鼠與陰性對照物(媒劑)治療之小鼠進行比較。顯示「肽1+2」治療之小鼠與媒劑組之間的統計學差異(雙向RM ANOVA，隨後為邦弗朗尼事後檢驗：*p <0.05，** p<0.01，*** p<0.001)。模型 = 發炎性疼痛模型；「肽1+2」治療組：8隻雄性小鼠，媒劑組：8隻雄性小鼠；投與：皮下；「肽1+2」總濃度：300 μg/kg。

圖8：活體內皮下投與之該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2對骨關節炎疼痛模型(單碘乙酸鹽模型)的止痛作用，該圖表示誘使50%小鼠發生縮爪反應所需的機械力(用基線水平的百分比表示)與時間的關係。將一組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (此組在本文中標識為「肽1+2」)治療之小鼠與陰性對照物(媒劑)治療之小鼠進行比較。顯示「肽1+2」治療之小鼠與媒劑組之間的統計學差異(雙向RM ANOVA，隨後為邦弗朗尼事後檢驗：*p <0.05，** p<0.01，*** p<0.001)。模型 = 骨關節炎疼痛模型；「肽1+2」治療組：8隻雄性小鼠，媒劑組：8隻雄性小鼠；投與：皮下；「肽1+2」總濃度：300 μg/kg。

圖9：活體內皮下投與之該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2對冷凍灼傷疼痛模型的止痛作用，該圖表示誘使50%小鼠發生縮爪反應所需的機械力(用基線水平的百分比表示)與時間的關係。將一組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (此組在本文中標識為「肽1+2」)治療之小鼠與陰性對照物(媒劑)治療之小鼠進行比較。顯示「肽1+2」治療之小鼠與媒劑組之間的統計學差異(雙向RM ANOVA，隨後為邦弗朗尼事後檢驗：*p <0.05，** p<0.01，*** p<0.001)。模型 = 冷凍灼傷疼痛模型；「肽1+2」治療組：8隻雄性小鼠，媒劑組：8隻雄性小鼠；投與：皮下；「肽1+2」總濃度：300 μg/kg。

圖10：活體內皮下投與之該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2對紫外線灼傷疼痛模型的止痛作用，該圖表示誘使50%小鼠發生縮爪反應所需的機械力(用其等效體重(公克)表示)與時間的關係。資料用相對於基線水平的反應百分比表示。將一組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (此組在本文中標識為「肽1+2」)治療之小鼠與陰性對照物(媒劑)治療之小鼠進行比較。顯示「肽1+2」治療之小鼠與媒劑組之間的統計學差異(雙向RM ANOVA，隨後為邦弗朗尼事後檢驗：*p <0.05，** p<0.01，*** p<0.001)。模型 = 紫外線灼傷疼痛模型；各組有16隻小鼠(8隻雄性及8隻雌性小鼠)；投與：皮下；「肽1+2」總濃度：300 μg/kg。

【實施方式】

定義

【0025】 本說明書中所用之術語在本發明之上下文內及在使用各術語之特定情形中一般具有其在此項技術中之通常含義。下文或說明書中其他地方論述某些術語，以在描述本發明之方法及如何使用本發明之方法時為需要技能之讀者提供額外指導。應瞭解相同事項可以超過一種方式表達。因此，可替代的措辭及同義詞可用於本文所論述之術語中之任何一或多者。提供了某些術語之同義詞。敍述一或多個同義詞並不排除使用其他同義詞。

【0026】 術語「肽」、「肽變異體」、「蛋白質片段」、「蛋白質區段」可互換使用且係指胺基酸殘基之序列或聚合物。胺基酸殘基之此類聚合物可含有天然或非天然胺基酸殘基。術語亦包括肽之表現後修飾，例如糖基化、唾液酸化、乙醯化、醯胺化、磷酸化、羧甲基化及其類似修飾。另外，在本發明的上下文中，「肽」係指蛋白質片段或區段，其可包括此類表現後修飾或此類修飾之組合，視情況以及原生(野生型)序列的一種或若干種修飾，諸如缺失、添加及取代(在自然界中通常為保守的)，只要該肽維持所需活性(亦即、預防或治療

疼痛)即可。此等修飾較佳為有意突變，例如經由定點誘變獲得。

【0027】 術語「經分離之肽」係指自原始環境(亦即，若其天然存在，則為天然環境)移除之肽。將自然系統(例如活的動物中)中天然存在之肽與已與該自然系統中之所有或一部分共存物質分離的相同肽相區別。經分離之肽在本文中稱為「經分離之肽」。換言之，在本發明之上下文中，經分離之肽為 TAFA-4 蛋白之片段，其本身並不天然存在。

【0028】 術語「合成肽」係指藉由化學合成獲得之肽。

【0029】 如本文所用，術語「組肽」或「肽組」係指組合用作活性成分(該組之活性成分)的至少兩種肽，其以在組成物中混合，但彼此不連接。若存在兩種肽，則該組肽不藉由任何鍵(例如藉由由肽(胺基酸序列)組成的鍵/鍵聯，或化學性質為有機與化學性質的鍵/鍵聯)結合在一起(若該組肽超過兩種，則此等肽彼此不結合)。該組肽為經分離之肽、合成肽或其混合物。該組可呈乾燥粉末、溶液、懸浮液或膠體形式，且可為均質或非均質的。該組肽通常為組成物之一部分。組成物典型地亦包含醫藥學上及/或飲食學上可接受的負載體、載劑、賦形劑或媒劑。典型地，賦形劑可為抗壞血酸及/或抗壞血酸鹽。抗壞血酸或 L-酸抗壞血酸(IUPAC 名稱：(5R)-5-[(1S)-1,2-二羥基乙基]-3,4-二羥基呋喃-2(5H)-酮)為天然存在之水溶性維生素，通常稱為維生素 C。抗壞血酸鹽之實例包括但不限於抗壞血酸鎂、抗壞血酸鈉、抗壞血酸鈣及抗壞血酸棕櫚酸酯。L-抗壞血酸及其鈉鹽為抗氧化劑且當與肽組組合使用時適用作防腐劑或穩定劑。亦可使用其他抗氧化劑(例如甲硫胺酸)。

【0030】 術語「序列一致性」、「具有至少 X%一致性之序列」及「與……X%一致的序列」(X 為例如 90)可互換使用且係指基於逐核苷酸或基於逐胺基酸，序列在比較窗口上一致的程度。因此，「序列一致性百分比」可藉由在比較窗內比較兩個最佳比對序列來計算，其中聚核苷酸或多肽序列在比較窗中之部分相較於參考序列可包含添加或缺失(亦即，間隙)以對兩個序列進行最佳比對。百分比可如下計算：確定二個序列中存在一致核酸鹼基(例如，A、T、C、G、U)或一致胺基酸殘基(例如，Ala、Pro、Ser、Thr、Gly、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Lys、Arg、His、Asp、Glu、Asn、Gln、Cys 及 Met)之位置的數目，得到匹配位

置數，將該匹配位置數除以比較窗中之位置總數(亦即，窗口大小)，且將結果乘100，得到序列一致性百分比。或者，該百分比可如下計算：測定二個序列中存在相同核酸鹼基或胺基酸殘基之位置的數目或核酸鹼基或胺基酸殘基與空位對準之位置的數目以產生匹配位置數，將該匹配位置數除以比較窗中之總位置數且將結果乘以100，以產生序列一致性百分比。較佳地，在參考序列(在此為SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2)之整個長度上測定序列一致性。

【0031】 可對用於比較的序列進行最佳比對，例如藉由Smith及Waterman之局域同源算法，(1981) Adv. Appl. Math. 2:482；Needleman及Wunsch之同源比對算法，(1970) J. Mol. Biol. 48:443；Pearson及Lipman之相似性搜尋方法，(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444；此等算法之電腦化實施方案(GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA)；或藉由目視檢查(一般參見Current Protocols in Molecular Biology, F. M. Ausubel 等人編, Current Protocols, Greene Publishing Associates, Inc.及John Wiley & Sons, Inc., (1995年增刊))。

【0032】 適於測定序列一致性及序列相似性百分比之算法實例為 BLAST及BLAST 2.0算法，其分別描述於Altschul等人(1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410及Altschul等人(1977) Nucleic Acids Res. 3389-3402中。用於進行BLAST分析之軟體可經由國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology Information)網站(www.ncbi.nlm.nih.gov/)公開獲得。此算法包括藉由鑑別查詢序列中之長度W之短字來首先鑑別高評分序列對(HSP)，該等短字當與資料庫序列中相同長度之字對準時匹配或滿足一些正值臨限評分T。T稱為鄰域字評分臨限值(Altschul等人，同上)。此等初始鄰域字成功結果充當用於起始搜尋之種子以尋找含有其之較長 HSP。字匹配接著沿各序列在兩個方向上延伸，只要累計比對評分增加即可。就核苷酸序列而言，使用參數M(一對匹配殘基之獎勵評分；始終>0)及N(錯配殘基之罰分；始終<0)計算累計評分。對於胺基酸序列，使用計分矩陣計算累計評分。當累計比對評分自其達成之最大值降低量「X」；累計評分因一或多次負分殘基比對之累計而變成零或低於零；或到達任一序列之末端時，則中斷字匹配在各方向上的延伸。BLAST算法參數W、T及X決定比對之靈敏度及速度。BLASTN程式(對於核苷酸序列)使用以下作為預設參數：字長(W)為11，期

望值(「E」)為 10，M=5，N=-4 及兩股比較。對於胺基酸序列而言，BLASTP 程式係使用字長(W) 3、期望值(E) 10 及 BLOSUM62 評分矩陣(參見 Henikoff 及 Henikoff, (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915)作為預設參數。

【0033】 胺基酸序列一致性百分比程度亦可藉由 ClustalW 分析(W 1.8 版)如下獲得：將比對中之一致匹配數目計數及將此類一致匹配數目除以參考序列長度，且使用以下預設 ClustalW 參數達成緩慢/準確的成對最佳比對 - 空位開放罰分：10；空位延伸罰分：0.10；蛋白質權重矩陣：Gonnet 系列；DNA 權重矩陣：IUB；切換緩慢/快速逐對比對=緩慢或完整比對。

【0034】 如本文所用，術語「核酸」及「聚核苷酸」係指任何長度之核苷酸，核糖核苷酸(RNA)或去氧核糖核苷酸(DNA)的聚合形式。因此，此等術語包括但不限於單股、雙股或多股 DNA 或 RNA、基因體 DNA、cDNA、DNA-RNA 雜交體或包含嘌呤及嘧啶鹼基或其他天然、經化學或生物化學修飾、非天然或衍生之核苷酸鹼基的聚合物。聚核苷酸之主鏈可包含糖及磷酸酯基團(如通常可於 RNA 或 DNA 中發現)，或經修飾或取代之糖或磷酸酯基團。或者，聚核苷酸之主鏈可包含諸如胺基磷酸酯之合成子單元之聚合物，且因此可為寡聚去氧核苷酸胺基磷酸酯(P-NH2)或混合胺基磷酸酯-磷酸二酯寡聚物。此外，雙股聚核苷酸可藉由在適當條件下合成互補股且將股黏合，或藉由使用具有適當引子之 DNA 聚合酶重新合成互補股而自化學合成之單股聚核苷酸產物獲得。

【0035】 術語「表現卡匣」、「核酸構築」或「核酸構築體」在本文中可互換使用且係指包含至少一個轉錄啟動子的核酸，該轉錄啟動子可操作地連接(具有熟習此項技術者所理解的含義)至一或多種所關注的(編碼)序列，典型地連接至包含所關注之若干編碼序列的操縱子，其表現產物有助於在細胞內建立所關注的功能；或係指進一步包含活化序列及/或轉錄終止子的核酸。

【0036】 術語「載體」係指 i)編碼肽、多肽或蛋白質的 DNA 或 RNA 分子，其包含聚核苷酸序列，例如表現卡匣或轉殖基因；或 ii)囊封此類 DNA 或 RNA 分子的產物。載體一般含有調控元件，該等調控元件其能夠引導編碼聚核苷酸序列(亦稱為轉殖基因)在引入核酸分子之細胞中的表現。術語「轉殖基因」係指引入細胞中且能夠轉錄成 RNA 且視情況在適當條件下轉譯及/或表現的聚核苷

酸。在某些態樣中，其賦予其所引入之細胞所需特性，或以其他方式產生所需技術作用，此處通常為治療作用。轉殖基因可含有編碼一或多種蛋白質或蛋白質之一或多個片段的序列。在一個特定態樣中，載體為質體。或者，載體為能夠以人工方式攜載如本文所述之所關注之外來核酸序列的任何熟知媒劑，諸如囊封如本文所述之所關注產物、可用於將其遞送至所關注之部位的病毒載體、黏質體、噬菌體或雙脂膜(諸如脂質體)等。

【0037】 術語「基因療法」係指出於預防或治療疾病之目的而治療個體，其涉及將基因/核酸遞送至個體之細胞中。

【0038】 術語「轉染」係指細胞(諸如原核生物或真核生物細胞)對外來聚核苷酸之吸收。當外源聚核苷酸已引入至細胞中時，細胞被鑑別為「經轉染」。多種轉染技術係本領域中通常已知的。參見例如 Graham 等人, Virology 52:456 (1973), Sambrook 等人, Molecular Cloning, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratories, New York (1989), Davis 等人, Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier (1986), 及 Chu 等人, Gene 13:197 (1981)。此類技術可用於將一或多個外源核酸引入至適合宿主細胞中。

【0039】 術語「轉導」係指將核酸分子遞送至接受者的宿主細胞中，諸如藉由基因遞送載體來遞送，例如重組病毒載體，特定而言，逆轉錄病毒、腺病毒、重組腺相關病毒(AAV)、單純疱疹病毒或慢病毒。舉例而言，rAAV 病毒體對目標細胞之轉導使得該病毒體中所含之 rAAV 載體轉移至經轉導細胞中。

【0040】 重組「腺相關病毒(AAV)」為已使用重組方法人工產生的具有單股線性 DNA 基因體之小型依賴細小病毒(Dependoparvovirus)，缺乏病原性且呈現低免疫原性。重組 AAV(rAAV)較佳具有組織/細胞特異性靶向能力，使得 rAAV 之轉殖基因將特異性或優先遞送至一或多個預定組織/細胞。AAV 衣殼以及調控區及投與途徑之類型為決定此等組織特異性靶向能力之重要元件。

【0041】 術語「疼痛」在本發明之上下文內係指與組織損傷相關之任何疼痛或敏感性。較佳地，如本文中所使用之術語疼痛理解為異常敏感性，亦即，通常理解為過敏性，其由包括痛覺受器及非痛覺受器之所有類型感覺神經元之活性異常增加介導。術語疼痛包括選自以下之任何疼痛：痛覺受器介導之疼痛(在

本文中亦稱為「傷害感受性疼痛」)、神經性病變疼痛、發炎性疼痛、病理性疼痛、急性疼痛、亞急性疼痛、慢性疼痛、機械疼痛、化學疼痛、軀體疼痛、內臟疼痛、深部軀體疼痛、淺表軀體疼痛、軀體形式疼痛、觸摸痛、痛覺過敏或與神經損傷相關之疼痛。

【0042】「傷害性」疼痛或「痛覺受器介導」之疼痛係回應於強烈或有毒刺激對周邊感覺神經元之特定子集(痛覺受器)之活化出現。根據本發明之傷害感受性疼痛包括機械疼痛(擠壓、撕裂等)及化學疼痛(切口中之碘、眼睛中之紅辣椒粉末)。傷害感受性疼痛之實例包括但不限於外傷或手術疼痛、陣痛、扭傷、骨折、燒傷、腫塊、瘀傷、注射、牙科程序、皮膚活組織檢查及阻塞。傷害感受性疼痛包括內臟疼痛及軀體疼痛，尤其深度軀體疼痛及淺表軀體疼痛。

【0043】「內臟疼痛」為彌漫性的，難以定位且通常係指遠端(通常淺表)結構。其可伴隨噁心及嘔吐，且可描述為厭膩(sickening)、深部、擠壓及/或鈍痛。深度軀體疼痛由韌帶、肌腱、骨骼、血管、筋膜及肌肉中痛覺受器之刺激引起，且為鈍痛、隱痛及難以定位的疼痛。深度軀體疼痛之實例包括扭傷及骨折。淺表疼痛由皮膚或其他淺表組織中痛覺受器之活化引起，且急劇、界限分明且定位清晰。產生淺表軀體疼痛之損傷之實例包括輕微創傷及輕微(一度)燒傷。

【0044】術語「損傷誘發之疼痛」在本發明之上下文內涵蓋神經性病變疼痛、發炎性疼痛及手術後疼痛。

【0045】「發炎性疼痛」為在組織損傷或發炎存在下出現之疼痛，包括手術後、外傷後疼痛、關節炎(類風濕性關節炎或骨關節炎)疼痛、與自體免疫疾病(諸如牛皮癬)相關之疼痛及與關節、肌肉及肌腱損傷相關之疼痛，如軸性下背痛。發炎引起周邊感覺神經元敏化，引起自發性疼痛及失效性疼痛過敏。急性或慢性病理性組織發炎藉由使周邊感覺神經元敏感，引起局部及失能性疼痛過敏而強烈影響疼痛感知。已知發炎介體藉由改變神經末梢中存在之離子通道之表現及/或功能而增強傷害性初級傳入纖維興奮性。

【0046】「神經性病變疼痛」為一種常見類型的慢性非惡性疼痛，其係周邊或中樞神經系統損傷或功能障礙之結果。神經性病變疼痛可具有不同致病源，且可能例如由於外傷、手術、椎間盤突出、脊髓損傷、糖尿病、帶狀疱疹(herpes

zoster/shingles)感染、HIV/AIDS、晚期癌症、切除術(諸如乳房切除術)、腕隧道症候群、長期飲酒、暴露於輻射及作為神經毒性治療劑(諸如某些抗 HIV 及化學治療藥物)之不希望副作用而出現。一種特定類型的神經性病變疼痛為«化學療法誘發之周邊神經性病變疼痛»(CIPN)或«化學療法誘發之神經性病變疼痛»(CINP)。CINP 或 CIPN 為抗癌劑之最嚴重副作用，該等抗癌劑諸如為鉑及紫杉烷衍生之藥物(奧沙利鉑(oxaliplatin)、順鉑(cisplatin)、卡鉑(carboplatin)及太平洋紫杉醇(paclitaxel)。CINP 甚至可能為治療中斷因素且因此增加死亡風險。神經性病變疼痛之特徵通常在於或造成慢性觸摸痛(定義為由通常不會引發疼痛反應之刺激、諸如輕觸產生的疼痛)及/或痛覺過敏(定義為對通常疼痛性刺激之敏感性增加)之出現，且可能在任何損傷組織明顯癒合後持續數月或數年。疼痛亦可能出現在癌症患者中，其可歸因於多種病因，諸如發炎、壓迫、侵襲、轉移擴散至骨骼或其他組織中。疼痛亦包括偏頭痛及與使腦膜受神經支配之感覺纖維之活化相關的頭痛。

【0047】 本發明之產物(特定而言，肽、組、細胞或組成物)可用於預防或治療慢性疼痛、神經性病變疼痛、手術後疼痛、發炎性疼痛、痛覺過敏、觸摸痛或急性疼痛。

【0048】 在另一特定實施例中，本發明之產物(特定而言，肽、組、細胞或組成物)可用於預防或治療關節炎疼痛、與關節損傷相關的疼痛、與艾登二氏症候群有關的疼痛、由曬傷引起的疼痛或由冰灼傷引起的疼痛。

【0049】 特定而言，本發明之產物(特定而言，肽、組、細胞或組成物)可用於預防或治療、尤其是治療與艾登二氏症候群有關的疼痛，包含肌肉及/或骨骼及/或關節慢性疼痛。本發明之產物(特定而言，肽、組、細胞或組成物)亦可用於預防或治療、尤其是治療由曬傷引起的疼痛(亦即，過度曝露於紫外輻射引起的結果)或由冰灼傷(亦稱為冷凍器灼傷或冷凍灼傷)引起的疼痛。

【0050】 較佳地，本發明之產物(特定而言，肽、組、細胞或組成物)係用於預防或治療損傷誘發的疼痛。更佳地，本發明之產物(特定而言，肽、組、細胞或組成物)係用於預防或治療神經性病變疼痛(諸如化學療法誘導的神經性病變疼痛或化學療法誘導的周邊神經性病變疼痛)、手術後疼痛及/或發炎性疼痛。

【0051】典型地，本發明之產物(特定而言，肽、組、細胞或組成物)係用於預防或治療損傷誘發的慢性疼痛。典型地，本發明之產物係用於預防或治療慢性神經性病變疼痛，諸如化學療法誘發的周邊神經性病變慢性疼痛(CIPN)、化學療法誘發的神經性病變慢性疼痛(CINP)或神經損傷誘發的慢性疼痛；手術後慢性疼痛；及/或慢性發炎性疼痛；與嚴重燒傷相關或由嚴重燒傷引起的慢性疼痛。

【0052】在本發明之上下文內，術語「治療(treatment)」或「治療(treating)」個體之疼痛表示在個體暴露於本發明之適合產物或產物組之後，亦即，在施加或投與本發明之適合產物或產物組之後，延遲、穩定、治癒、癒合、緩解、減輕、改變、減緩、改善、補救或影響個體之如本文所述的任何疼痛形式，或與疼痛相關的任何疾病或病狀，特定而言，急性、亞急性或慢性疼痛(特定而言，與慢性疼痛相關的任何神經性病變病狀，該慢性疼痛典型地起因於神經性病變疼痛、手術後疼痛或發炎性疼痛)，或此類疾病或病狀的任何症狀，本發明之適合產物或產物組特定而言為：i)一組肽(其中該等肽彼此不連接)，較佳為序列 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2 之肽或如本文所定義之其變異體；ii)允許彼此不連接之此組肽表現的核酸或核酸組；iii)包含如本文所定義之一組核酸的表現卡匣或一組表現卡匣；iv)允許彼此不連接之此組肽表現的載體或一組載體；v)允許彼此不連接之此組肽表現的細胞或一組細胞；或 vi)包含此類肽、核酸、表現卡匣、載體及/或細胞的根據本發明之組成物。

【0053】術語「治療(treatment」或「治療(treating)」亦指成功治療疼痛(其可與任何損傷、病變或病狀相關)之任何指標，包括任何客觀或主觀參數，諸如消除、緩解、減緩進展或嚴重程度、穩定、減弱疼痛症狀或使個體可耐受或更耐受其。術語「治療」疼痛亦包括增加疼痛耐受性及/或減少感知之疼痛。在特定態樣中，本發明之方法、化合物及組成物用於增加疼痛耐受性及/或用於減少感知之疼痛。如本文所用，術語「疼痛耐受性」係指個體在情緒上及/或身體上崩潰之前可感知及經受住的疼痛量。疼痛耐受性不同於疼痛臨限值(產生疼痛所需之最小機械刺激)。如本文所用，「增加疼痛耐受性」通常係指如下情形：其中相較於先前狀態，個體可出現更大的疼痛耐受性(亦即，不大感知到疼痛)，例

如，在向個體投與序列 SEQ ID NO: 1 及序列 SEQ ID NO: 2 之適合肽或其變異體或包含該等肽或變異體之組成物後。

【0054】 在本發明之上下文內，關於個體的疼痛，「預防(preventing)」或「預防(prevention)」係指在個體暴露於本發明之產物之後，亦即，在施加或投與本發明之產物之後，至少降低個體罹患(或容易罹患)任何種類之疼痛的可能性，本發明之產物特定而言為：i)一組適合肽(其中該等肽彼此不連接)，較佳為序列SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2之肽或如本文所定義之其變異體(典型地為功能變異體)；ii)允許彼此不連接之此組肽表現的核酸或一組核酸；iii)包含如本文所定義之一組核酸的表現卡匣或一組表現卡匣；iv)允許彼此不連接之此組肽表現的載體或一組載體；v)允許彼此不連接之此組肽表現的細胞或一組細胞；或vi)包含此類肽、核酸、表現卡匣、載體及/或細胞的根據本發明之組成物。舉例而言，「預防」包括使可能暴露於或易有疼痛但尚未經歷或顯示疼痛症狀之個體中不出現疼痛之臨床症狀中之至少一者。

【0055】 在本發明之上下文中，「個體」或「患者」表示需要治療疾病或病症或其症狀之動物，尤其哺乳動物。個體可為已診斷為罹患疾病或病症或確定具有罹患疾病或病症之風險的個體，已知該疾病或病症引起個體感覺到疼痛。在特定實例中，個體經診斷或罹患疼痛，諸如急性疼痛及/或亞急性疼痛或慢性疼痛，包括神經性病變疼痛、手術後疼痛、發炎性疼痛、痛覺過敏及/或觸摸痛。

【0056】 在一特定態樣中，個體為人類。

【0057】 在另一特定態樣中，個體為動物，尤其家畜或種畜，尤其馬、犬、貓、牛等。

【0058】 在另一特定態樣中，個體在myo1A基因中具有至少一種突變對偶基因。

肽

【0059】本發明人在本文中鑑別一組新穎組分，特定而言，一組肽(其中該等肽彼此不連接)，其當組合使用(同時或依序，較佳為同時)時可預防或治療疼痛，特定而言，在損傷或發炎神經系統之上下文中可逆轉機械過敏。不受任何理論束縛，本發明人咸信藉由調節脊髓網路之興奮性，此等肽藉由特異性靶向機械及/或化學誘發之傷害感受性信號而展現止痛或鎮痛活性，尤其止痛活性。

【0060】本文所述之肽為來自人類 TAFA-4 成熟蛋白之 105 個胺基酸殘基的特定片段(SEQ ID NO: 5：SQHLRGHAGHHQIKQGTCEVVAVHRCCNKNRIEERSQTVKCSCFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWWCHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR)(信號序列裂解而引起且以登錄號 NP_0011005527 或以 Genbank 登錄號 AAP92409 標識於公用資料庫中，如 Tang 等人，2004 所揭示)。

【0061】本發明人在本文中首次特定描述一組產物/組分，特定而言，一組經分離之肽或合成肽，其包含、由以下組成或基本上由以下組成：i) SEQ ID NO: 1 之第一肽(CFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWW，亦即，Cys-Phe-Pro-Gly-Gln-Val-Ala-Gly-Thr-Thr-Arg-Ala-Gln-Pro-Ser-Cys-Val-Glu-Ala-Ser-Ile-Val-Ile-Gln-Lys-Trp-Trp)或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽(在本文中亦標識為序列 SEQ ID NO: 1 之「變異體」、「肽變異體」或「肽之變異體」)；及 ii) SEQ ID NO: 2 之第二肽(CHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR，亦即，Cys-His-Met-Asn-Pro-Cys-Leu-Glu-Gly-Glu-Asp-Cys-Lys-Val-Leu-Pro-Asp-Tyr-Ser-Gly-Trp-Ser-Cys-Ser-Ser-Gly-Asn-Lys-Val-Lys-Thr-Thr-Lys-Val-Thr-Arg)或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽(在本文中亦標識為序列 SEQ ID NO: 2 之「變異體」、「肽變異體」或「肽之變異體」)，其中該等(至少兩種)肽彼此不連接。

【0062】與特定胺基酸/肽序列具有至少 90%一致性的肽在本文中標識為具有該序列之「變異體」、「肽變異體」或「肽之變異體」。在一較佳態樣中，

存在於該組中或存在於包含/表現此組之組成物中的任何變異體為功能變異體，如下文進一步解釋。

【0063】 術語「基本上由...組成」具有一般歸屬於其之意義，例如，其允許未明確敍述之要素，但不包括在先前技術中發現或影響本發明之基本或新穎特徵的要素。因此，「基本上由指定序列組成」的一組肽係指包含此等序列或由此等序列(該等序列彼此不連接)組成的肽且包括肽活性非必需的其他特徵。

【0064】 SEQ ID NO: 1 之肽由人類 TAFA-4 成熟蛋白之 27 個 C 端胺基酸殘基組成，且可標識為 UniProt 登錄號 Q96LR4 之胺基酸 78 至 104。

【0065】 SEQ ID NO: 2 之肽由人類 TAFA-4 成熟蛋白之 36 個胺基酸殘基組成，且可標識為 UniProt 登錄號 Q96LR4 之胺基酸 105 至 140。

【0066】 在一個特定態樣中，SEQ ID NO: 1 之肽及/或 SEQ ID NO: 2 之肽在 N 端位置乙醯化且/在 C 端位置醯胺化。

【0067】 本發明人咸信 SEQ ID NO: 1：CFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWW 內之位置 13 以粗體呈現的兩個胺基酸殘基 Q (Glu)及 SEQ ID NO: 2：CHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR 內之位置 18 以粗體呈現的 Y (Tyr)(參考 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2 中分別所示的位置)涉及肽之生物活性。

【0068】 發明人亦首次在本文中揭示 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2 之肽之變異體。變異體意欲表示一種肽，其來源於 SEQ ID NO: 1 之肽或來源於 SEQ ID NO: 2 之肽且因 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 之該等肽中之一或多個位置出現一或多個胺基酸的缺失或添加及/或一或多個胺基酸的取代而產生。若變異體基本上保持 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 之肽的功能活性，或甚至改善該功能活性、從而允許預防或治療疼痛，則該變異體將被視為「功能變異體」。活性可使用功能分析來量測，諸如實驗部分中所進行之行為分析。

【0069】 如上文中所解釋，在本發明的上下文中可使用的肽變異體與編碼該肽之序列(例如 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2)可具有至少 90%序列一致性，例如(至少)90.5%、91%、92%、92.1%、93%、93.7%、94%、95%、95.2%、96%、

96.8%、97%、98%、98.4%或 99%序列一致性。

【0070】 在一特定態樣中，與 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之變異體調節脊髓中間神經元(較佳脊髓椎板 IIi 中間神經元)之興奮性。在一較佳態樣中，變異體為包含一或多個點突變(例如 2、3、4、5 或 6 個點突變)的肽，該等點突變為如本文所述之所關注肽序列(特定而言，諸如 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2)中存在的任一胺基酸添加、缺失或取代。

【0071】 具體而言，關於與 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽變異體，前述段落適用，限制條件為 SEQ ID NO: 1 中之位置 13 的胺基酸殘基 Q 在與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之肽之胺基酸序列中保持不變，且限制條件為 SEQ ID NO: 2 中之位置 18 的胺基酸殘基 Y 在與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之肽的胺基酸序列中保持不變或被絲胺酸(S)置換(位置 13 及 18 係參考 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2 中分別所示的位置)。在位置 18 具有胺基酸殘基 S 的肽具有 SEQ ID NO:6 (CHMNPCLEGEDCKVLPDSSGWSCSSGNKVKTTKVTR，亦即，Cys-His-Met-Asn-Pro-Cys-Leu-Glu-Gly-Glu-Asp-Cys-Lys-Val-Leu-Pro-Asp-Ser-Ser-Gly-Trp-Ser-Cys-Ser-Ser-Gly-Asn-Lys-Val-Lys-Thr-Thr-Lys-Val-Thr-Arg)。

【0072】 因此，在本發明之一較佳態樣中，SEQ ID NO: 1 之肽中之位置 13 的胺基酸 Q (麩醯胺酸殘基)(/參考 SEQ ID NO: 1 中所示之位置)在與 SEQ ID NO: 1 至少 90%一致性之肽變異體的胺基酸序列中保持不變。類似地，在另一較佳態樣中，SEQ ID NO: 2 之肽中之位置 18 的胺基酸 Y (酪胺酸殘基)(/參考 SEQ ID NO: 2 中所示之位置)在與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之肽變異體的胺基酸序列中保持不變或被 S (絲胺酸)置換。

【0073】 在本發明之另一較佳態樣中，位置 13 (參考 SEQ ID NO: 1)之胺基酸 Q 在與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之肽變異體的胺基酸序列中保持不變且位置 18 (參考 SEQ ID NO: 2)之胺基酸 Y 在與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之肽變異體的胺基酸序列中保持不變或被絲胺酸(S)置換。

【0074】 在另一特定態樣中，在本發明的上下文中可使用的 SEQ ID NO: 1 之肽變異體可與 SEQ ID NO: 1 之肽序列具有至少 88.8%、92.5%、96.2%序列一

致性，限制條件較佳為上文關於位置 13 (參考 SEQ ID NO: 1)之胺基酸殘基 Q 所述。在另一特定態樣中，在本發明的上下文中可使用的 SEQ ID NO: 2 之肽之變異體可與 SEQ ID NO: 2 之肽序列具有至少 91.6%、94.4%、97.2%序列一致性，限制條件較佳為上文關於位置 18 (參考 SEQ ID NO: 2)之胺基酸殘基 Y 所述。較佳地，該等變異體調節脊髓中間神經元(較佳為脊髓椎板 IIi 中間神經元)之興奮性。

【0075】 在一個特定態樣中，變異體為包含一或多個點突變(例如 1、2 或 3 個點突變)的肽，該等點突變為如本文所述之所關注肽序列(特定而言，諸如 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2)中存在的任一胺基酸添加、缺失或取代，限制條件為上文關於位置 13 (參考 SEQ ID NO: 1)之胺基酸殘基 Q 及位置 18 (參考 SEQ ID NO: 2)之胺基酸殘基 Y 所述。

【0076】 在一個特定態樣中，一或多個缺失位於所關注序列(諸如 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2)的 N 端。在另一態樣中，一或多個缺失位於 C 端，或位於所關注序列(諸如 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2)之任何其他位置，限制條件為上文關於 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2 所述、關於位置 13 (參考 SEQ ID NO: 1)之胺基酸殘基 Q 及位置 18 (參考 SEQ ID NO: 2)之胺基酸殘基 Y 所述。在又另一態樣中，兩個或更多個缺失位於所關注序列(諸如 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2)的 N 端與 C 端。位於例如 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 之肽之 N 端及/或 C 端或位於其核心中的此類缺失可產生 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 之經截斷的人類肽變異體。

【0077】 另外，根據本發明之肽組中的任何肽可與另一種肽或蛋白質融合以形成本文所述之方法中可使用的結合物，只要該「另一種肽或蛋白質」不為本發明之肽組中之「至少兩種」肽之一。實際上，本文所述之肽組中的肽(肽組中的活性成分)不應彼此連接。在本上下文中，術語「結合物」係指一種經工程改造之融合構築體，其將兩種分子之生物功能組合在單一多肽(特定而言，SEQ ID NO: 1 或 2 之肽或其變異體)內，例如能夠調節傷害感受器或中間神經元之興奮性；以及例如與目標細胞特異性相互作用或結合至目標細胞的多肽。

【0078】 本發明亦關於一種核酸，其編碼本發明之肽組中的肽，例如序列

SEQ ID NO: 1 之肽、序列 SEQ ID NO: 2 之肽或如本文所述之其變異體。舉例而言，本發明涵蓋編碼 SEQ ID NO: 1 之肽、SEQ ID NO: 2 之肽或其變異體的任何序列，以及由遺傳密碼簡併產生的相似序列。在一個特定態樣中，編碼如本文所述之肽的核酸包含、由以下序列組成或主要由以下序列組成：SEQ ID NO: 3 之序列：

TGCTTCCCGGGACAGGTGGCGGGCACAACTCGGGCTCAACCTTCTTGTGT TGAAGCTTCCATTGTGATTCAGAAATGGTGG，或 SEQ ID NO: 4 之序列：

TGTCACATGAATCCGTGTTTGGAAGGAGAGGATTGTAAAGTGCTGCCAGAT TACTCAGGTTGGTCCTGTAGCAGTGGCAATAAAGTCAAAACTACGAAGGT AACGCGG。

【0079】 本發明人在本文中特定描述允許彼此不連接之(至少兩種)肽表現的一組核酸，其中(第一)核酸包含編碼所關注之(第一)肽(例如 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽)的序列，且(第二)核酸包含編碼所關注之(第二)肽(例如 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽)的序列。本發明人在本文中亦描述一種組成物，其包含此組核酸，較佳與如本文所述之可接受的負載體、載劑、賦形劑或媒劑一起。

【0080】 編碼 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2 之肽或其變異體的上述核酸序列可側接調節序列以便控制其在適當宿主細胞中的表現。

【0081】 在另一態樣中，本發明亦關於一種表現卡匣，其自5'至3'依序包含：

- 啟動子，
- 編碼所關注之肽(諸如SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2，或如本文所述之其變異體)的核酸序列；以及
- 終止信號，諸如聚腺苷酸化信號。

【0082】 編碼所關注之肽的上述核酸序列或本文所揭示之表現卡匣可側接適合將其封裝於載體中的序列，從而使其在細胞中之轉錄及/或轉譯最佳化。

【0083】 在另一態樣中，本發明亦關於一種允許如本文所述之肽或一組肽表現的載體。本發明亦關於一種載體，其包含允許彼此不連接之(至少兩種)肽表

現的一組核酸，或如本文所定義之一組表現卡匣。

【0084】在另一態樣中，本發明係關於允許彼此不連接之(至少兩種肽)表現的一組載體，其中(第一)載體包含編碼所關注之(第一)肽(例如SEQ ID NO: 1或與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之肽)的序列，且(第二)載體包含編碼所關注之另一(第二)肽(例如SEQ ID NO: 2之肽或與SEQ ID NO: 2具有至少90%一致性之肽)的序列。本發明人在本文中亦描述一種組成物，其包含此組載體，較佳與如本文所述之可接受的負載體、載劑、賦形劑或媒劑一起。

用於產生肽之方法

【0085】為了允許在宿主細胞中表現，編碼(a)如本文所述之肽(或其變異體)的核酸可存在於(a)載體中且在該載體引入適合的宿主細胞中之後，可根據此項技術中熟知的標準選殖及表現技術表現序列以產生本文所述之經編碼的肽(例如以下文獻中所述：Sambrook, J., Fritsh, E. F.及Maniatis, T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual第2版, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989)。各種表現載體可用於表現編碼如本文所述之肽之聚核苷酸序列。可用於本發明中之表現載體非窮盡性地包括真核表現載體，尤其哺乳動物表現載體、基於病毒之表現載體、桿狀病毒表現載體、植物表現載體及任何質體表現載體，以便在宿主細胞中產生本文所述之肽中之任一者。表現載體亦可為允許肽在細菌系統中表現之載體。當單一核酸編碼若干肽或單一載體允許若干肽表現時，所產生的肽彼此不連接。

【0086】表現載體之選擇視欲表現載體之指定宿主細胞而定。熟習此項技術者容易作出此選擇。本發明亦關於包含編碼如本文所述之肽之核酸序列的細胞，特定而言，宿主細胞。本發明人亦首次在本文中揭示使用如本文所述之載體修飾的(宿主)細胞。

【0087】本文中特定揭示一種允許彼此不連接之如本文所述之(至少兩種)肽(或其變異體)表現的細胞。此細胞典型地包含編碼所關注之肽(諸如 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽)的(第一)核酸序列或載體，及編碼所關注之(第二/不同)肽(諸如 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽)的(第二)核酸序列或載體。亦揭示一種組成物，其包含此類細胞，較佳與如本文所述之可接受的負載體、載劑、賦形劑或媒劑一起。

【0088】本文中特定揭示允許彼此不連接之如本文所述之(至少兩種)肽(或其變異體)表現的一組細胞。各種細胞典型地包含編碼所關注之肽(諸如 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 之肽，或與 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽)的核酸序列或載體。亦揭示一種組成物，其包含此類細胞，較佳與如本文所述之可接受的負載體、載劑、賦形劑或媒劑一起。

【0089】本發明之肽或其變異體可在原核或真核宿主細胞中表現。代表性宿主細胞包括多種大腸桿菌菌株；哺乳動物細胞株，諸如 CHO、CHO-K1 及 HEK293；昆蟲細胞，諸如 Sf9 細胞；及酵母細胞，諸如釀酒酵母(*S. cerevisiae*)及巴斯德畢赤酵母(*P. pastoris*)。

【0090】本文所述之核酸或載體可藉由常用於引入外源 DNA 至原核或真核宿主細胞中之標準技術轉染至宿主細胞中，諸如電穿孔、磷酸鈣沈澱、DEAE-聚葡萄糖轉染等。或者，本文所述之核酸或載體可藉由使用基於病毒之載體轉導而遞送至宿主細胞中。

【0091】純度可藉由任何適當標準方法，例如藉由管柱層析、薄層層析或高效液相層析(HPLC)分析來量測。「經分離」或「合成」的肽亦定義安全投與人類個體之無菌程度，例如缺乏傳染或毒性媒介物。

【0092】用於本文述之組成物及方法中的肽亦可藉由固相合成技術產生。肽之直接化學合成可藉由熟習此項技術者極為熟知之方法(諸如天然化學接合(NCL))實現。此化學方法由偶接未受保護之肽片段組成：具有N端半胱胺酸之肽與C端硫酯肽反應。此硫酯轉移反應後快速進行分子內S,N-醯基移位，在接合位點形成天然醯胺鍵。

基因療法

【0093】藉由將編碼本文所述之肽的核酸序列選殖至適當載體中，本發明人亦在本文中提供新穎基因遞送工具，尤其基因構築體(諸如表現卡匣或載體)，用於疼痛、尤其急性、亞急性或慢性疼痛、較佳慢性疼痛之基因療法。基因療法可用於允許個體中之特定細胞內源性產生TAFA-4肽或其變異體。基因療法可在活體內或離體進行。離體基因療法需要分離且純化個體之至少一種細胞樣品、將編碼如本文所述之一組肽的至少一種核酸序列(亦即，轉殖基因)引入經分離之細胞中，且將基因改變/修飾之細胞引回至個體中。相比之下，在活體內基因療法中，轉殖基因通常經封裝用於投與個體。基因遞送構築體可為非病毒或病毒構築體。較佳地，本文所述之基因構築體係使用可用於表現目標組織/細胞中之轉殖基因/編碼序列(亦即，編碼所關注之該組肽或其變異體的核酸序列)的病毒元件、病毒載體及/或任何病毒封裝系統製備。病毒載體可併入允許或促進轉殖基因產物在靶向之組織/細胞中之表現的任何適合啟動子及其他轉錄調控因子。病毒封裝系統較佳適於靶向之細胞。一旦進入目標細胞中，此類系統促進遞送至靶向之組織。本文所述之方法中可使用的病毒載體較佳為(a)複製缺乏型病毒，諸如腺病毒或腺相關病毒(AAV)載體。

【0094】在一些態樣中，本發明係關於一種重組腺相關病毒(AAV)，其基因體中包含編碼所關注之肽組中之至少一種肽(較佳為至少兩種肽，例如 SEQ ID NO: 1 之肽及/或 SEQ ID NO: 2 之肽，或其變異體)的核酸序列。核酸的編碼部分典型地可操作地連接至啟動子。

【0095】迄今為止，已自人類或非人類靈長類動物(NHP)分離表面特性有所變化之至少數十種不同 AAV 血清型且進行表徵。術語「血清型」允許熟習此項技術者區分具有血清學上不同之衣殼的 AAV。血清獨特性基於與其他 AAV 血

清型相比抗體與一種 AAV 血清型之間缺乏交叉反應性來判定。本文所述之 rAAV (亦稱為 rAAV 載體或 rAAV 顆粒)可具有以下已知血清型中之任一者，亦即，可選自例如 AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV14、AAV15、AAV16、AAV.rh8、AAV.rhIO、AAV.rh20、AAV.rh39、AAV.Rh74、AAV.RHM4-1、AAV.hu37、AAV.Anc80、AAV.Anc80L65、AAV.7m8、AAV.PHP.B、AAV2.5、AAV2tYF、AAV3B、AAV.LK03、AAV.HSC1、AAV.HSC2、AAV.HSC3、AAV.HSC4、AAV.HSC5、AAV.HSC6、AAV.HSC7、AAV.HSC8、AAV.HSC9、AAV.HSC10、AAV.HSC11、AAV.HSC12、AAV.HSC13、AAV.HSC14、AAV.HSC15、AAV.HSC16 及 AAVhu68。rAAV 載體可具有增強的對特定細胞、組織或器官之向性。在藉由經口途徑投與之情形下，rAAV 載體可具有增強的對胃、小腸或結腸組織之向性，且更特定言之，具有增強的對構成此等組織之細胞，尤其對上皮細胞，諸如腸上皮細胞、杯狀細胞、腸內分泌細胞、潘氏細胞(Paneth cell)或簇細胞(Tuft cell)之向性。對於位於腸道中之靶向細胞或靶向遞送至腸道之細胞，可選擇 AAV 4、AAV7、AAV8、AAV9 或 AAV10 中之任一者，尤其有效。

【0096】 本發明之基因療法載體或卡匣可藉由熟習此項技術者熟知且先前描述於例如 PCT 專利申請公開案第 WO03042397 號及美國專利第 6,632,670 號中的方法產生。

【0097】 本說明書亦關於一種用於產生重組載體，例如病毒載體，諸如 AAV之方法，其包含：

a)培養已經本文所述之重組載體轉染/轉導的細胞；以及

b)自該等經轉染/轉導之細胞之上清液回收該重組載體。

【0098】 本發明之基因療法載體可藉由將兩種或三種質體轉染至 293 或 293T 人類胚胎腎細胞株中來產生。在一個特定態樣中，編碼治療肽之 DNA 由一種質體提供；自一或多種血清型之 AAV 發出的蛋白殼蛋白及複製基因以及自例如腺病毒發出的輔助功能皆由第二質體反式提供。在另一特定態樣中，編碼 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2 之肽或其變異體的 DNA 由一種質體提供；自一

或多種血清型之 AAV 發出的蛋白殼蛋白及複製基因由第二質體反式提供，且自例如腺病毒發出的輔助功能由第三質體提供。在一個特定態樣中，第一質體包含表現卡匣，該表現卡匣包含可操作地連接至啟動子、編碼如本文所述之 SEQ ID NO: 1 之肽及 SEQ ID NO: 2 之肽或其變異體的核酸序列，包括側接的兩個反向末端重複序列(ITR)。在另一特定態樣中，編碼各治療肽的 DNA 經由兩種不同質體提供：包含編碼 SEQ ID NO: 1 之肽或其變異體之核酸序列的第一質體，及包含編碼 SEQ ID NO: 2 之肽或其變異體之核酸序列的第二質體。

【0099】 在細胞培養之後，基因療法載體可例如藉由凍融循環自細胞釋放，且藉由熟習此項技術者熟知之任何方法純化，諸如使用碘克沙醇(iodixanol)階段梯度進行純化，隨後在 Hi-Trap QHP 管柱上進行離子交換層析。接著，所得基因療法載體可藉由旋轉管柱濃縮，且經純化之載體可冷凍儲存(處於或低於-60 °C)，例如在磷酸鹽緩衝生理鹽水中。

【0100】 本發明之相關態樣包括經至少一種重組載體轉染或轉導的宿主細胞，例如經本文所述之至少一種AAV載體轉導的宿主細胞；或經載體或一組載體轉染的一組細胞，該載體或該組載體包含編碼如本文所定義之治療肽或其變異體的DNA。本發明之其他相關態樣包括任何包含本文所述之重組載體(例如AAV)之基因體或由其組成(基本上由其組成)的核酸分子。

組成物

【0101】 本文所述之組成物可為醫藥學、治療性、預防性或獸醫學組成物，該組成物包含如本文所述之彼此不連接的一組(至少兩種)肽，或允許該等(至少兩種)肽表現的如本文所述產物(例如核酸、細胞、一組核酸或一組細胞)。該組成物亦可為(可能同時為)飲食學/飲食組成物。

【0102】 本文所述之特定組成物包含序列 SEQ ID NO: 1 之肽或其變異體(典型地為功能變異體)(亦即，與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽)，及序列 SEQ ID NO: 2 之肽或其變異體(典型地為功能變異體)(亦即，與 SEQ ID NO: 2

具有至少 90%一致性的肽)，其中該等(至少兩種)肽彼此不連接。

【0103】 本文所述之該組兩種或更多種肽有利地調配成該等肽組合使用(分開或同時使用)。因此，肽組中的各種肽可以各別形式製備或以包含肽組中之至少兩種肽之混合物的組成物形式製備。組成物可為飲食/食療組成物或醫藥組成物，且可用於如本文所述之治療或預防方法中。

【0104】 在一個特定態樣中，本發明係關於一種組成物，其包含：彼此不連接的至少兩種肽或其變異體，典型地為彼此不連接的一組(至少兩種)肽；編碼彼此不連接之(至少兩種)肽的核酸或一組核酸；允許彼此不連接之(至少兩種)肽表現的表現卡匣或一組表現卡匣；允許彼此不連接之(至少兩種)肽表現的載體或一組載體；或允許彼此不連接之(至少兩種)肽表現的細胞或一組細胞，如本文所述；及較佳如本文所述之可接受的負載體、載劑、賦形劑或媒劑，特定而言，飲食學上及/或醫藥學上可接受之負載體、載劑、賦形劑或媒劑。

【0105】 術語「飲食學上可接受的負載體」係指一種載劑，其允許個體無風險地攝入且消化組成物，該組成物包含如本文所述之肽或一組肽、核酸序列或一組核酸序列、表現卡匣或一組表現卡匣、載體或一組載體、或細胞或一組細胞，且能夠保護該等肽免受任何侵蝕，尤其與食物消化有關的侵蝕，在該組成物於正確部位及正確時刻(此視疼痛的性質及位置而定)產生其治療作用之前，侵蝕可改變該等肽。

【0106】 在組成物包含兩種肽的一特定態樣中，第一肽及第二肽可以等比例或不同比例存在於本發明之組成物中。在特定組成物中，第一及第二肽以等(等莫耳)比例存在於組成物中，亦即，各種肽佔組成物之肽組分的 50%，此意謂組成物含有莫耳數相同的兩種肽中之每一者。

【0107】 另一種特定肽組成物可包含比例大於另一種肽或其他肽的一或多種特定肽。舉例而言，特定肽可佔組成物之肽組分的至少 1%、至少 5%、至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 35%、至少 40%、至少 45%、至少 50%、至少 55%、至少 60%、至少 65%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%或至少 95%。

【0108】 在經口投與之上下文中，組成物可進一步包含至少一種胃腸道保

護劑，較佳為酸抑制劑，其以有效提高個體之胃 pH 至至少 2、至少 3、至少 4 且更佳至少 5 或 6 之量存在。術語「酸抑制劑」係指抑制胃酸分泌且提高胃 pH 之藥劑。酸抑制劑可包括但不限於 H_2阻斷劑，包括西咪替丁(cimetidine)、雷尼替丁(ranitidine)、乙溴替丁(ebrotidine)、帕布替丁(pabutidine)、拉呋替丁(lafutidine)、拉伏替丁(loxtidine)、法莫替丁(famotidine)；質子泵抑制劑，包括奧美拉唑(omeprazole)、埃索美拉唑(esomeprazole)、泮托拉唑(pantoprazole)、蘭索拉唑(lansoprazole)、右蘭索拉唑(dexlansoprazole)、雷貝拉唑(rabeprazole)、哌利拉唑(pariprazole)、雷米拉唑(leminoprazole)及泰妥拉唑(tenatoprazole)；或其任何組合。

【0109】「醫藥學上可接受之負載體/媒劑/載劑」可為與活性劑(亦即，本發明之至少兩種肽或其變異體及視情況存在之任何其他不同活性劑)一起投與之稀釋劑、佐劑或賦形劑。此類醫藥載劑可為無菌液體，諸如水或油，包括石油、動物、植物或合成來源之油，諸如花生油、大豆油、礦物油、芝麻油及其類似物。當靜脈內投與醫藥組成物時，水為較佳的載劑。亦可使用鹽水溶液及右旋糖水溶液及甘油溶液作為液體載劑，尤其用於可注射溶液。適合醫藥賦形劑包括澱粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、硬脂酸鈉、甘油單硬脂酸酯、滑石、氯化鈉、脫脂奶粉、甘油、丙二醇、水、乙醇及其類似物。

【0110】醫藥學上可接受的負載體/媒劑/載劑可由抗壞血酸及/或抗壞血酸鹽組成或包含抗壞血酸及/或抗壞血酸鹽。抗壞血酸鹽之實例為抗壞血酸鎂、抗壞血酸鈉、抗壞血酸鈣及抗壞血酸棕櫚酸酯。

【0111】在一個實施例中，本發明之組成物包含抗壞血酸或抗壞血酸鹽。

【0112】當組成物(例如醫藥組成物)適於經口投與時，錠劑或膠囊可藉由習知方式、用醫藥學上可接受之賦形劑製備，諸如黏合劑(例如預膠凝化玉米澱粉、聚乙烯吡咯啶酮或羥丙基甲基纖維素)；填充劑(例如乳糖、微晶纖維素或磷酸氫鈣)；潤滑劑(例如硬脂酸鎂、滑石或二氧化矽)；崩解劑(例如馬鈴薯澱粉或乙醇酸澱粉鈉)；或濕潤劑(例如月桂基硫酸鈉)。錠劑可藉由此項技術中熟知之任何方法包覆包衣。用於經口投與之液體製劑可呈例如溶液、糖漿或懸浮液形式，或其可呈乾燥產物呈現，在使用之前用水或另一適合媒劑復原。此類液體

製劑可藉由習知方式、用醫藥學上可接受之添加劑製備，諸如為懸浮劑(例如山梨糖醇糖漿、纖維素衍生物或氫化食用脂肪)；乳化劑(例如卵磷脂或阿拉伯膠)；非水性媒劑(例如杏仁油、油酯、乙醇或分餾植物油)；及防腐劑(例如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯或山梨酸)。該等製劑亦可按需要含有緩衝鹽、調味劑、著色劑及甜味劑。

【0113】本發明之組成物(例如醫藥組成物、預防或治療組成物)可進一步包含至少一種其他(不同)活性化合物。較佳地，其他活性化合物為對疼痛有效之活性劑。「對疼痛有效」意謂具有鎮痛或止痛特性(個體可量測地感覺到)之活性劑。更佳地，其他活性化合物為類固醇消炎藥(SAID)、非類固醇消炎藥(NSAID)或類鴉片藥物。

【0114】SAID 可包括但不限於氫化可體松(hydrocortisone)、可體松(cortisone)、伊塞米松(ethamethasoneb)、普賴松(prednisone)、普賴蘇穠(prednisolone)、曲安西龍(triamcinolone)、地塞米松(dexamethasone)、氟可體松(fludrocortisone)或其任何組合。

NSAID 可包括但不限於塞內昔布、羅非昔布(rofecoxib)、盧米羅可(lumiracoxib)、伐地昔布(valdecoxib)、帕瑞昔布(parecoxib)、依他昔布(etoricoxib)、CS-502、JTE-522、L-745,337、NS398、阿司匹靈(aspirin)、乙醯胺苯酚(acetaminophen)(出於本發明之目的，視為 NSAID)、布洛芬(ibuprofen)、氟比洛芬(flurbiprofen)、酮洛芬(ketoprofen)、萘普生(naproxen)、奧沙普嗪(oxaprozin)、依託度酸(etodolac)、吲哚美辛(indomethacin)、酮咯酸(ketorolac)、氯諾昔康(lornoxicam)、美洛昔康(meloxicam)、吡羅昔康(piroxicam)、屈噁昔康(droxicam)、替諾昔康(tenoxicam)、萘丁美酮(nabumetone)、雙氯芬酸(diclofenac)、甲氯芬那酸(meclofenamate)、甲芬那酸(mefenamic acid)、二氟尼柳(diflunisal)、舒林酸(sulindac)、托美丁(tolmetin)、非諾洛芬(fenoprofen)、舒洛芬(suprofen)、苯惡洛芬(benoxaprofen)、醋氯芬酸(aceclofenac)、托芬那酸(tolfenamic acid)、羥布宗(oxyphenbutazone)、阿紮丙酮(azapropazone)、苯基丁氮酮(phenylbutazone)或其任何組合。

【0115】類鴉片藥物可包括但不限於)(右旋)丙氧吩((dextro)propoxyphene)、A-甲基芬太尼(A-methylfentanyl)、阿芬太尼(alfentanil)、烯丙羅定(allylprodine)、貝齊米特(bezitramide)、丁丙諾啡(buprenorphine)、布托啡諾(butorphanol)、卡芬太尼(carfentanyl)、去甲羅定(desmethylprodine)、右旋嗎拉邁得(dextromoramide)、地佐辛(dezocine)、二乙醯嗎啡(diacetylmorphine)、二氫可待因(dihydrocodeinone)、二氫埃托啡(dihydroetorphine)、氫嗎啡酮(dimorphone)、地芬諾酯(diphenoxylate)、地匹哌酮(dipipanone)、埃托啡(etorphine)、芬太尼(fentanyl)、凱托米酮(ketobemidone)、利非他明(lefetamine)、左醋美沙朵(levacetylmethadol)、左美沙芬(levomethorphan)、左啡諾(levorphanol)、洛哌丁胺(loperamide)、哌替啶(meperidine)、美普他酚(meptazinol)、美沙酮(methadone)、甲基嗎啡(methylmorphine)、嗎啡、納布啡(nalbuphine)、尼可嗎啡(nicomorphine)、羥甲芬太尼(ohmefentanyl)、東罌粟鹼(oripavine)、羥考酮(oxycodone)、羥嗎啡酮(oxymorphone)、PEPAP、副嗎啡(paramorphine)、噴他佐辛(pentazocine)、非那佐辛(phenazocine)、哌腈米特(piritramide)、普魯丁(prodine)、瑞芬太尼(remifentanil)、舒芬太尼(sufentanil)、他噴他多(tapentadol)、替利定(tilidine)、曲馬多(tramadol)或類鴉片拮抗劑，諸如納美芬(nalmefene)、那若松(naloxone)、那曲酮(naltrexone)或其任何組合。

治療性及預防性用途

【0116】本說明書揭示如上文中所述的肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其組，或其任何組合，以及包含此類肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及/或其組的組成物，其用作預防性或治療性活性成分，較佳用作醫藥組成物、藥物或藥劑。

【0117】在一個特定態樣中，如本文所述之肽，特定而言，SEQ ID NO: 1之經分離之肽或合成肽及/或 SEQ ID NO: 2 之經分離之肽或合成肽，較佳為一組該等肽、允許此類肽表現的任一組，或包含此類肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及/或組的任何組成物，係用作醫藥組成物、藥物或藥劑，尤其用於預防或治療疼痛。

【0118】在另一態樣中，本說明書係關於如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體或細胞，及/或如本文所述之組，其用作預防或治療有需要之個體之疼痛的活性成分/藥劑。

【0119】本說明書尤其關於本文所揭示之產物或本文所揭示之任一產物組，例如如本文所述之一組細胞，典型地關於一組肽，或包含或表現此組肽的細胞，其[作為活性成分]用於預防或治療有需要之個體的疼痛。

【0120】在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之任何本發明產物(諸如如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞，及其對應組，或如本文所述之其任何組合)的用途，其用於製造供預防或治療有需要之個體之疼痛的醫藥組成物、藥物或藥劑。本發明人在本文中亦描述用於預防或治療疼痛的相應方法，該等方法典型地包含將如本文所述之該等肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞、組及/或組成物投與有需要之個體的步驟。

【0121】本說明書尤其提供一種預防或治療有需要之個體之疼痛的方法，其包含投與(治療)有效量之產物的步驟，該產物諸如(特定而言)如本文所述之一組肽及/或組成物，較佳為包含 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之其變異體及 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之其變異體的一組肽，或包含此組的組成物。

【0122】在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之本發明之任何產物(諸如如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組，或如本文所述之其任何組合或組成物)的用途，其用於預防或治療疼痛，特定而言，急性、亞急性或慢性疼痛，較佳為慢性疼痛。

【0123】較佳地，疼痛為神經性病變疼痛(諸如化學療法誘發之周邊神經性病變疼痛或化學療法誘發之神經性病變疼痛)、手術後疼痛、發炎性疼痛、痛覺

過敏或觸摸痛。

【0124】在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之任何本發明產物(諸如如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞，及/或如本文所述之其組，或如本文所述之其任何組合或組成物)的用途，其用於預防或治療神經性病變疼痛(諸如化學療法誘發的周邊神經性病變疼痛或化學療法誘發的神經性病變疼痛)、手術後疼痛或發炎性疼痛。

【0125】在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之任何本發明產物(諸如如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組，或如本文所述之其任何組成物)的用途，其用於預防或治療慢性神經性病變疼痛(諸如化學療法誘發的周邊神經性病變慢性疼痛，或化學療法誘發的神經性病變慢性疼痛)、手術後慢性疼痛或慢性發炎性疼痛。

【0126】在一更特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之任何本發明產物(諸如如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組，或如本文所述之其任何組成物)的用途，其用於預防或治療骨關節炎疼痛。

【0127】在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之任何本發明產物(諸如如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組，或如本文所述之其任何組成物)的用途，其用於預防或治療痛覺過敏，特定而言，熱(諸如熱或冷痛覺過敏，較佳為冷痛覺過敏)或機械痛覺過敏，較佳為機械痛覺過敏，甚至更佳為損傷誘發的機械痛覺過敏。

【0128】在另一特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之任何本發明產物(諸如如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組，或如本文所述之其任何組成物)的用途，其用於預防或治療觸摸痛，尤其機械性觸摸痛。較佳地，機械性觸摸痛為神經損傷誘發之機械性觸摸痛或靜態類型之機械性觸摸痛。

【0129】在另一特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之任何本發明產物(諸如如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組，或如本文所述之其任何組成物)的用途，其用於預防或治療觸摸痛，尤其熱觸摸痛，諸如熱觸摸痛(亦即，對通常無疼痛性溫熱刺激物感知到的疼痛)或冷觸摸痛(亦

即，對通常無疼痛性冷刺激物感知到的疼痛)，較佳為冷觸摸痛。

【0130】在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之任何本發明產物(諸如如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組，或如本文所述之其任何組成物)的用途，其用於預防或治療有需要之個體的機械過敏(亦稱為機械刺激過敏或簡稱為痛覺過敏)，較佳為損傷誘發的機械過敏。

【0131】在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之任何本發明產物(諸如如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組，或如本文所述之其任何組成物)的用途，其用於預防或治療由曬傷引起的疼痛或由冰灼傷引起的疼痛。

【0132】治療可改善以下中之一或多者之感覺：觸摸、灼燒或寒冷、「如坐針氈」、麻木、發癢、劇痛及難以恰當地感測溫度。在一個特定態樣中，治療消除疼痛。在另一特定態樣中，治療減少疼痛症狀，尤其是神經性病變疼痛(觸摸痛及/或痛覺過敏)的症狀。本發明之方法使神經性病變疼痛更可管控，即使其不消除神經性病變疼痛(亦即，改善生活品質)。

【0133】熟習此項技術者熟知之標準測試在此項技術中可用於評估疼痛，尤其(慢性)神經性病變疼痛是否已使用本發明之特定肽治療。舉例而言，個體中疼痛敏感性之評估已使用定量感覺測試(針刺、壓痛計、馮佛雷纖絲(von Frey filament)、觸摸、夾壓或使用手指輕壓)或使用疼痛評定量表進行標準化。

個體

【0134】在本發明之上下文中，個體或患者為動物，較佳為哺乳動物。在一特定態樣中，個體為家畜，諸如馬、犬、貓、牛等。在另一特定及較佳態樣中，個體為人類。

【0135】具有源自神經性病變疼痛之慢性疼痛的個體可能罹患通常與此類神經性病變疼痛相關之疾病，諸如肌肉纖維疼痛、複雜區域疼痛症候群、疱疹後遺神經痛、艾登二氏症候群及肢端紅痛症。

【0136】在一個特定態樣中，個體患有肌肉纖維疼痛(FM)。肌肉纖維疼痛

為特徵為慢性肌肉骨胳疼痛之症候群(Siracusa 等人, 2021)。FM 係由特徵為神經迴路功能障礙之中樞敏化現象引起，其涉及傳入傷害性刺激之感覺、傳輸及加工，在運動系統層面上普遍顯現疼痛。此疾病之主要症狀為肌肉僵硬、關節僵硬、失眠、疲勞、情緒障礙、認知功能障礙、焦慮、抑鬱、整體敏感性及無法進行正常日常活動。FM 亦可與特定疾病相關聯，該等疾病諸如為感染、糖尿病、風濕性疾病及/或精神或神經病症。

【0137】 在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組(亦即，此類肽、核酸、表現卡匣、載體或細胞之組)或如本文所述之包含此類肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞或組的組成物用於預防或治療肌肉纖維疼痛(FM)的用途。

【0138】 在另一態樣中，個體罹患複雜區域疼痛症候群(CRPS)。複雜區域疼痛症候群係涉及肢體之慢性神經病狀，其特徵為重度疼痛以及感覺、自主神經、運動及營養損傷(Goh 等人, 2017)。此病狀可由手術、外傷或輕微損傷誘發，且具有在輕度及自限性至慢性疾病範圍內之不同病程，其削弱日常生活活動及健康相關之生活品質。CRPS 可歸類為兩種類型：CRPS I 型及 II 型，其特徵為不存在或存在可鑑別之神經損傷。CRPS I 型係通常在起始有害事件之後產生的症候群，不限於單一周邊神經之分佈，且與刺激事件不成比例。其與水腫、皮膚血流量變化、疼痛區域中異常催汗活動、觸摸痛及痛覺過敏相關且通常涉及患肢之遠端態樣或遠端至近端梯度。CRPS II 型可定義為在肢體區域中在神經或其使該區域受神經支配之主要分支中之一者發生部分損傷之後出現的灼燒痛、觸摸痛及痛覺過敏。

【0139】 在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組(亦即，此類肽、核酸、表現卡匣、載體或細胞之組)或如本文所述之包含此類肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞或組的組成物用於預防或治療複雜區域疼痛症候群(CRPS)的用途。

【0140】 在再一態樣中，個體患有疱疹後遺神經痛(PHN)。疱疹後遺神經痛為帶狀疱疹(HZ)最常見之併發症，帶狀疱疹係由休眠水痘帶狀疱疹病毒在感覺神經節中再活化所引起之感染(Ngo 等人, 2020)。其特徵在於沿相關皮節之局

部起泡皮疹及疼痛。PHN 定義為在 HZ 皮疹初始發作之後至少 90 天的揮之不去的疼痛，且其顯著降低患病患者之生活品質。PHN 細分成易激痛覺受器及傳入神經阻滯模型。在 VZV 再活化期間，病毒複製且自背根神經節擴散至其相應周邊。該傳播引發損害周邊神經之免疫反應及發炎。此損害減少神經元之疼痛抑制，降低疼痛信號去極化之臨限值。此引起回應於非疼痛性刺激之疼痛感知，一種稱為周邊敏化之過程。亞型 C-痛覺受器之重複活化亦引起背角之興奮狀態升高。HZ 之直接病毒損害減弱下行抑制疼痛路徑，導致背角中二階神經元慢性活化。此外，當相比於無 PHN 之 HZ 患者時，患有 PHN 之 HZ 患者中已報導在背角產生抑制性 γ 胺基丁酸(GABA)之中間神經元的喪失。此等因素放大來自被稱為中樞敏化之過程中之傳入輸入的所有後續反應。在 PHN 中，此過程伴有低臨限值機械性刺激感受傳入之解剖學重組，稱為 Aβ-纖維，其通常將無害觸覺刺激轉送至中樞神經系統。當病毒損害導致周邊中之 C-痛覺受器喪失時，此等纖維與最初以補償方式連線至 C-痛覺受器傳入之二階神經元連接。此過程被稱為傳入神經阻滯，且罹患觸摸痛之患者展現感覺功能之嚴重喪失。

【0141】 在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組(亦即，此類肽、核酸、表現卡匣、載體或細胞之組)或如本文所述之包含此類肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞或組的組成物用於預防或治療疱疹後遺神經痛(PHN)的用途。

【0142】 在再一態樣中，個體罹患肢端紅痛症(EM)。肢端紅痛症係主要對稱影響兩側下肢或影響單側下肢之不頻繁的間歇性肢端症候群，伴隨紅斑、發熱及灼燒痛經典三要素(Maria Bibiana Leroux, 2018)。EM 歸類於慢性疼痛症候群。原發 EM 為線上人類孟德爾遺傳資料庫(Online Mendelian Inheritance in Man，OMIN)編碼的體染色體顯性遺傳病症#133020。其與 9 型鈉通道(SCN9A)之 α 亞單元蛋白的變異相關，該變異影響主要在背根神經節及交感神經節神經元中表現之 Nav1.7 通道。繼發性 EM 與骨髓增生疾病、副腫瘤、自體免疫疾病、接觸毒素及感染相關。

【0143】 在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組(亦即，此類肽、核酸、表現卡匣、載體

或細胞之組)或如本文所述之包含此類肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞或組的組成物用於預防或治療肢端紅痛症(EM)的用途。

【0144】 在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組(亦即，此類肽、核酸、表現卡匣、載體或細胞之組)或如本文所述之包含此類肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞或組的組成物用於預防或治療其中經痛覺受器或中間神經元轉導之信號減弱之任何疼痛相關病狀的用途。

【0145】 本發明人先前確定，與表現功能性 Myo1a 之 $Myo1a^{+/+}$參考個體中觀測到的表現相比，個體中之肌凝蛋白 IA (Myo1a)表現或非功能表現缺乏、降低或不足使個體傾向於產生損傷誘發之慢性機械疼痛及/或發炎誘發之慢性熱疼痛(WO2017153424)。

【0146】 在再一態樣中，個體係在 myo1A 基因中具有一或兩個突變對偶基因之個體。「突變」對偶基因意謂 myo1A 基因之核酸中(編碼或非編碼區中)改變 Myo1a 表現或表現水平之取代、缺失或插入。突變可影響一或多個核鹼基。取代可為單核苷酸多型性(SNP)。

【0147】 在一個特定態樣中，本發明人在本文中描述如本文所述之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞及其對應組(亦即，此類肽、核酸、表現卡匣、載體或細胞之組)或如本文所述之包含此類肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞或組的組成物用於預防或治療此類個體之損傷誘發慢性機械疼痛及/或發炎誘發慢性熱疼痛的用途。

劑量

【0148】 根據本發明的產物，特定而言，該等肽、肽組或包含此組或允許其表現的組成物，較佳以治療有效量直接投與個體。術語「治療有效量」係指所關注之肽(特定而言，SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2之肽或其功能變異體)為了治療、改善或預防個體之疼痛而必需的量。最初可在細胞培養分析中或在動物

模型中估計治療有效量。動物模型亦可用於確定肽(組)之適當濃度範圍及投與途徑。此類資訊可隨後用於確定適用於在人體內投與之劑量及途徑。

【0149】 本文所述之方法中使用的肽劑量可視以下而變化：個體之總體健康狀況、年齡、性別及體重、疼痛之性質及嚴重度/強度、投與時間、頻率及持續時間、所用特定肽、藥物組合、反應敏感性及對療法之耐受性/反應。此適合有效劑量可藉由常規實驗確定且在臨床醫師之判斷內。

【0150】 劑量可以推注形式投與或可分成一整天分開投與的若干部分(/單元)。換言之，治療可為單劑量時程或多劑量時程。有效劑量可投與數天、數週、數月或數年之時段。

【0151】 為了獲得適合的止痛或鎮痛作用，本發明人在本文中所述之一組肽(典型地為 SEQ ID NO: 1 之肽與 SEQ ID NO: 2 之肽)或包含此組肽之組成物中存在的肽或其變異體之有效總劑量以單位劑量計，介於 1 μg 與 10 g 之間，較佳介於 1 μg 與 100 mg 之間，更佳介於 25 μg 與 10 mg 之間，甚至更佳介於 2 mg 與 10 mg 之間。

【0152】 在本發明之一個特定態樣中，該組肽或包含此組肽的組成物針對哺乳動物投與的劑量介於每 24 小時每公斤體重 1 μg (亦即，1 μg/Kg/天)與 100 mg/kg/天之間，較佳介於 2.5 μg/kg/天與 0.6 mg/kg/天之間。

【0153】 當個體為人類時，如本發明人在本文中所述之肽或其變異體投與個體的有效劑量介於 2.5 μg/kg/天與 0.6 mg/kg/天之間，較佳介於 5 μg 或 10 μg/kg/天與 0.5 mg/kg/天之間，更佳介於 50 μg 或 75 μg/kg/天與 0.3 mg/kg/天之間(若該個體為人類個體)。

【0154】 在本發明之一個特定態樣中，該組肽或包含此組肽的組成物係以其中 SEQ ID NO: 1 之肽與 SEQ ID NO: 2 之肽處於當量莫耳濃度的劑量投與。

【0155】 在本發明之一更特定態樣中，該組肽或包含此組肽的組成物係以包含 50 μg/kg 與 150 μg/kg 之間之 SEQ ID NO: 1 肽及 100 μg/kg 與 250 μg/kg 之間之 SEQ ID NO: 2 肽的劑量投與。

【0156】 如本文所述之產物(特定而言，如本文所述之肽或組成物)遞送至有需要之個體可藉由任何途徑完成。

【0157】本文所述之產物可例如肌肉內、靜脈內、腹膜內、口服(經口)、肛門、皮膚、皮下、外用、真皮、經皮或鞘內投與。較佳地，本文所述之產物皮下、經口或靜脈內投與，甚至更佳地，皮下或經口投與。

【0158】如實驗部分中所示，本發明人證明包含 SEQ ID NO: 1 之肽及 SEQ ID NO: 2 之肽的該組肽當皮下投與以治療疼痛(尤其是神經性病變疼痛)時具有止痛作用。驚人的是，當包含 SEQ ID NO: 1 之肽及 SEQ ID NO: 2 之肽的該組肽經口(口服)或靜脈內投與時，亦觀測到止痛作用。甚至更驚人且有利的是，本發明之肽組在口服或皮下投與時，顯示優於 TAFA-4 (全長)蛋白質之止痛作用，使得其比該全長蛋白質更方便且更適於投與患者。

【0159】有利的是，本發明之該組兩種肽或包含此組肽的組成物雖然生產比全長TAFA-4蛋白質容易得多(且因此更便宜)，但當皮下投與時誘導的止痛活性/作用高於後者。甚至更驚人的是，就經口(口服)投與而言，本發明之該組肽顯示優於TAFA-4 (全長)蛋白質之止痛作用，使得比該TAFA-4全長蛋白質更方便且適於投與患者。靜脈內注射該組兩種肽有利地提供用於治療神經性病變疼痛的第三種投藥途徑。

套組

【0160】本文所述之各產物，例如本文所述之各產物，較佳本文所述之各種肽、各組肽或各種組成物，可為套組之一部分。

【0161】本發明之典型套組包含如本文所述之至少兩種產物，其選自肽或其變異體、核酸、表現卡匣、載體、細胞、一組肽、一組核酸、一組表現卡匣、一組載體、一組細胞，及包含此類肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞或組的組成物；以及視情況存在的至少一種有效抵禦疼痛之其他不同活性化合物。在一特定態樣中，套組進一步包含使用套組之書面說明書。

【0162】套組較佳為分裝部分之套組，其包含至少兩個部分，例如兩個不同容器，其中第一部分包含如本文所揭示之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞、一組肽、核酸、表現卡匣、載體或細胞或組成物，且第二部分包含至少一種有

效抵禦疼痛的其他不同活性化合物。較佳地，對疼痛之有效活性化合物為如本文所揭示之類固醇消炎藥(SAID)、非類固醇消炎藥(NSAID)或類鴉片藥物。

【0163】 在一個特定態樣中，套組包含 i) SEQ ID NO: 1 之第一肽、與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽，或編碼此類肽的核酸序列；ii) SEQ ID NO: 2 之第二肽、與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽，或編碼此類肽的核酸序列，該第一肽及第二肽或編碼該等肽的核酸處於不同容器中；及視情況存在的 iii) 至少一種有效抵禦疼痛的其他不同活性化合物；及/或 iv)使用套組的書面說明書。

【0164】 在一個態樣中，套組中之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞、組或組成物所呈形式適於肌肉內、靜脈內、腹膜內、經口(口服)、肛門、皮膚、皮下、外用、真皮、經皮或鞘內途徑，較佳皮下或經口途徑，甚至更佳經口途徑。

【0165】 在另一態樣中，至少一種有效抵禦疼痛的其他不同活性化合物所呈形式適於肌肉內、靜脈內、腹膜內、經口(口服)、肛門、皮膚、皮下、外用、真皮、經皮或鞘內途徑。

【0166】 視待治療之疼痛的性質、起源、強度而定，且亦視組成物中之肽、核酸、表現卡匣、載體、細胞、組或內容物的性質及至少一種有效抵禦疼痛的其他不同活性化合物之性質而定，該等產物同時/伴隨或依序共投與或不共投與。

【0167】 本發明亦關於本發明之套組活體內、離體或活體外預防或治療如上文所述之疼痛(例如慢性疼痛、神經性病變疼痛、手術後疼痛、發炎性疼痛、痛覺過敏或觸摸痛)的用途。本發明之套組亦可用於預防或治療急性或亞急性疼痛。

【0168】 本文亦揭示本發明之套組用於製造供預防或治療有需要之個體之上述疼痛(例如慢性疼痛、神經性病變疼痛、手術後疼痛、發炎性疼痛、痛覺過敏或觸摸痛)之醫藥組成物、藥物或藥劑的用途。本發明之套組亦可用於製造供預防或治療有需要之個體之急性或亞急性疼痛的醫藥組成物、藥物或藥劑。

研究工具

【0169】 在一特定態樣中，本發明之產物亦可用於研究之情形下。

【0170】本發明還包括使用如本文所述之肽或其變異體(特定而言，上文所述的一組肽或任何其他產物)作為研究工具。

【0171】編碼如本文所述之肽或其變異體的核酸、允許其表現的表現卡匣或載體、或包含此類核酸的細胞或使用此類表現卡匣或載體修飾的細胞典型地用於活體外或離體表現或調節所關注之肽(特定而言，SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的其功能變異體及/或 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的其功能變異體)的表現。

【0172】此等工具可用於研究疼痛或調節生物組織或細胞培養物之神經元興奮性，例如研究機械及/或化學誘發之疼痛傷害感受性信號。

【0173】本發明亦關於編碼 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之肽及 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之肽的核酸、或允許其表現的表現卡匣或載體用於表現或調節生物組織或細胞培養物中之 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之肽及 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之肽之表現(水平)的用途。

【0174】本文所述之核酸分子亦可用於建立轉殖基因動物。此可藉由修飾體細胞或經由生殖細胞之生殖系療法以併入可遺傳修飾來局部進行。本發明因此亦關於一種轉殖基因生物體(例如動物)，其包含(亦即，含有) SEQ ID NO: 3 及/或 SEQ ID NO: 4 之核酸或其變異體；包含 SEQ ID NO: 3 及/或 SEQ ID NO: 4 之核酸或其變異體的表現卡匣或載體；或表現 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽及/或 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽。本發明因此亦關於一種宿主細胞或轉殖基因生物體，尤其是轉殖基因動物，其含有編碼如本文所述之任一組(至少兩種)肽的核酸序列，或允許如本文所述之任一組(至少兩種)肽表現的表現卡匣或載體。

【0175】提供以下實例以便證明及進一步說明本發明之某些較佳態樣，且不應理解為限制其範疇。

實例

材料及方法

肽合成

【0176】在Symphony X儀器(Protein Technologies, Inc., USA)上、以200 μmol規模、使用Fmoc-SPPS合成所有肽。合成級Fmoc-AA試劑係購自Iris Biotech。使用特定的L-假脯胺酸二肽促進肽合成。HATU、2-氯三苯甲基氯樹脂(200至400目，1.2 mmol/g)、RINK醯胺樹脂(200至400目，0.42 mmol/g)係購自IRIS Biotech。DMF、DCM、甲醇、乙醚及HPLC級乙腈購自Aldrich。針對各殘基的標準脫除保護基-偶合循環係由六個步驟組成：

1. 用5 mL DMF洗滌(3×30秒)

2. 用5 mL含20%哌啶之DMF脫除Fmoc保護基(3×3分鐘)

3. 用5 mL DMF洗滌(3×30秒)

4. 偶合Fmoc-AA (2×60分鐘)

a. 5 mL溶有200 mM Fmoc-AA的DMF

b. 2 mL溶有500 mM HATU的NMP

c. 2 mL溶有1 M iPr$_2$NEt的NMP

5. 用5 mL含有10% Ac_2O的DMF封端(7分鐘)

6. 用5 mL DMF洗滌(3×30秒)

【0177】合成完成後，肽樹脂用DMF洗滌3次且用DCM洗滌3次。肽樹脂接著使用三種TFA裂解混合物中之一者裂解(按照100 μmol規模合成)：

o 35 mL TFA、1000 μL TIS、2000 μL水、1000 mg DTT

【0178】TFA裂解3小時之後，自樹脂過濾裂解溶液，且藉由添加至40 mL冰冷乙醚中而使肽沈澱。在-20°C下>1小時之後，使乙醚溶液以3500 RCF離心，

且傾析上清液。集結粒用乙醚洗滌兩次以上，且接著在真空乾燥器中乾燥>3小時，隨後進行溶解、分析表徵及純化。

用於製備肽樹脂醯胼的通用方法

【0179】將0.35 mmol Fmoc-NH-NH2溶解於30 mL DCM中，且接著將1.5 mmol DIPEA添加至溶液中。接著將此溶液添加至1 g樹脂中且在室溫下混合2小時。未反應的基團用17:2:1 DCM:MeOH:DIPEA封端30分鐘。Fmoc-AA樹脂接著用DMF洗滌3次，用DCM洗滌3次且真空乾燥>20分鐘。藉由對Fmoc基團保護基脫除進行滴定(UV，301 nm)來測定負載量。

分析及純化

【0180】藉由UPLC及ESI-MS質譜法來分析肽。儀器配備有BEH C18 (WATERS)、150*2.1 mm (150×2.1 mm)(流量：0.6 mL/min)。溶劑A及B為含0.1% TFA的水及含0.1% TFA的乙腈。

【0181】使用逆相管柱(Vydac Denali prep C-18，10 μm，120 Å，50×300 mm)及緩衝液B/緩衝液A之濃度增加的適當梯度(80 mL/min之流量)、經由製備型逆相HPLC (Waters Delta Prep 4000)系統來純化粗肽。藉由214 nm UV量測(Waters 2489 UV/可見光偵測器)來鑑別含有純化目標肽的溶離份且接著將所選溶離份合併且凍乾。

【0182】合 成Ac-CFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWW-$NHNH_2$ (肽F1-SEQ ID NO: 1)：

使用醯胼樹脂、隨後使用標準肽裂解條件(上文所述)、藉由如上文所述的標準Fmoc-SPPS製備肽F1

(Ac-CFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWW-$NHNH_2$)。

【0183】標準裂解程序之後，將F1粗肽溶解於水中且在RP-HPLC上純化。鑑別出含有純化目標肽的溶離份且接著將所選溶離份合併且凍乾。

【0184】合成CHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR-NH_2(肽F2 - SEQ ID NO: 2)：

使用RINK醯胺樹脂、藉由如上文所述的標準Fmoc-SPPS製備肽F2(CHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR-NH_2)。

【0185】標準裂解程序之後，將F2粗肽溶解於水中且在RP-HPLC上純化。鑑別出含有純化目標肽的溶離份且接著將所選溶離份合併且凍乾。

小鼠

【0186】C57/Bl6J小鼠(8至12週齡)購自Charles River Laboratories。所有實驗使用兩種性別之小鼠。因為注意到雄性與雌性之間無差異，所以隨後組合兩種性別之資料。小鼠在標準圈養條件(22°C，40%濕度，12小時光循環，且自由獲取食物及水)下維持。為將此研究中所用之小鼠數目及其經歷之應激及痛苦降至最低做出特別努力。所有實驗均根據歐洲實驗動物照護與使用準則(委員會指令86/609/EEC)進行。所有實驗程序視法國法律需要且根據法國動物實驗法規之相關機構規定，經用於動物實驗獨立倫理委員會(APAFIS)批准。所有實驗均根據ARRIVE準則進行。

疼痛模型1：選擇性神經損傷(SNI)模型 - 神經性病變疼痛

【0187】使用Decosterd及Woolf (2000；Pain, 第87卷, 第149-158頁)開發的選擇性神經損傷(SNI)模型。其用作神經性病變疼痛模型。SNI模型主要在於脛骨

分支之橫切且由坐骨神經之腓總神經組成：腓腸神經保持完整。後者隨後顯現具有相當大之機械性觸摸痛之神經性病變疼痛的徵象。SNI模型具有許多優點：

- 神經性病變疼痛為持久性的。此允許在重複注射肽後掌握適應現象。
- 所產生之疼痛為穩固的。
- 該模型極可再現。

【0188】用氯胺酮(100 mg/kg IP)及甲苯噻哄(10 mg/kg IP)麻醉小鼠且在無菌條件下暴露左坐骨神經。鑑別坐骨神經之遠端三分叉，且脛骨及總腓骨分支用聚丙烯非吸收性6-0縫合線(Ethicon)接合；切掉1 mm，使腓腸分支完整。傷口用縫合線閉合，且使動物恢復且返回至其籠。

疼痛模型2：爪切開 - 手術後疼痛

【0189】爪切開手術如Brennan及同事(1999)所述進行(Brennan, 1999)。用氯胺酮(100 mg/kg IP)及甲苯噻哄(10 mg/kg IP)麻醉小鼠，且經由右後爪之皮膚及肌膜製造縱向切口。使用鉗子縱向抬升趾短屈肌且用刮刀穿過肌肉製造切口，以將其切成兩半。傷口用縫合線閉合，且使動物恢復且返回至其籠。該爪切口用作手術後疼痛模型。

疼痛模型3：角叉菜膠注射 - 發炎性疼痛

【0190】本發明人用Hamilton注射器將20 μl含1% λ-角叉菜膠(Sigma-Aldrich，22049-5G-F)之1×PBS注射至小鼠左後爪之蹠面中。角叉菜膠注射用作發炎性疼痛模型。

疼痛模型4：慢性縮窄損傷(CCI)模型 - 神經性病變

【0191】CCI神經性病變疼痛模型：如先前Bennett及Xie 1988 (大鼠之周邊單神經病變產生的疼痛病症感覺如同人類(A peripheral mononeuropathy in rats

that produces disorders of pain sensation like those in man). Pain第33卷：第87-107頁)所述進行慢性縮窄損傷(CCI)。簡言之，在用氯胺酮/甲苯噻哄(分別為100 mg/kg及10 mg/kg ip)麻醉之小鼠中誘發單側周邊單神經病變，其中在坐骨總神經周圍鬆散地系結兩個帶子(6-0 Monocryl，Ethicon)(間隔約1 mm)。神經被縮窄至幾乎不可辨別之程度，使得經由神經外膜血管之循環不中斷。

疼痛模型5：辣椒鹼發炎性疼痛

【0192】將辣椒鹼(Sigma)儲備溶液(溶解於純乙醇中，16.7 mg/mL)在0.9% NaCl中、以0.25 mg/mL稀釋，接著使用Hamilton注射器及26G針將10 μL注射至小鼠左後爪之蹠面中。

疼痛模型6：骨關節炎疼痛模型(單碘乙酸酯模型)

【0193】MIA模型為嚙齒動物之骨關節炎之關節破壞的標準樣品。簡言之，小鼠用氯胺酮(100 mg/kg IP)及甲苯噻哄(10 mg/kg IP)麻醉，隨後使用Hamilton注射器及26G針將含有1 mg/10 μL MIA (單碘乙酸酯，Sigma)的0.9% NaCl注射至小鼠左後爪之膝部滑液中，如Pitcher等人(2016)所述。

疼痛模型7：紫外線灼傷疼痛模型

【0194】小鼠用氯胺酮(100 mg/kg IP)及甲苯噻哄(10 mg/kg IP)麻醉且除一個後爪之蹠側面之外完全覆蓋。使用312 nm波長的UV燈(VL-215.MC Vilmer)，將爪在20 cm距離處照射60分鐘。喚醒後，使動物返回至其籠中。

疼痛模型8：冷凍灼傷疼痛模型

【0195】用氯胺酮(100 mg/kg IP)及甲苯噻哄(10 mg/kg IP)麻醉小鼠。經由置於乾冰中的銅管使後爪暴露於寒冷且經由NaCl浸漬的濾紙片接觸40秒。喚醒後，使動物返回至其籠中。

馮佛雷測試

【0196】馮佛雷測試係使用馮佛雷(VF)毛髮或纖維，其為長度大約50 mm的小耐綸棒片段，以測試嚙齒動物對機械刺激的敏感性。在此測試中，動物站立於升高的篩網平台上，且將馮佛雷毛髮插入網孔以戳動物後爪。動物之正常反應包括縮爪或舔舐或晃動爪。「上/下」馮佛雷法用於測定誘使50%動物發生縮爪反應所需的機械力。在此，將小鼠置於絲網柵格上之塑膠腔室中，且藉由「上/下」方法(45)、用馮佛雷纖絲(Vivotech)刺激，以1 g纖絲開始，且使用0.04 g及4 g纖絲作為截止值。

統計分析

【0197】資料表示為平均值±SEM。用Prism 7 (Graphpad Software, La Jolla, CA, USA)進行統計分析。

結果

實例1：疼痛模型1：選擇性神經損傷(SNI)模型 - 神經性病變疼痛

1.1 比較TAFA-4全長蛋白質(「TAFA-4 FL」)及該組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (「肽1+2」)在皮下投與之上下文中的止痛作用

【0198】此等實驗的目的係評估根據本發明之一組兩種肽(此組在本文中標識為「肽1+2」或「肽F1+F2」藉由皮下注射對選擇性神經損傷(SNI)之神經性病變疼痛模型的止痛作用，且將此作用與使用TAFA-4全長蛋白質(「TAFA-4 FL」)所獲得的作用進行比較。

【0199】對八週齡雄性 WT C57Bl6 小鼠進行實驗。使用四組 6 至 12 隻小鼠。將 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2 之肽再懸浮於 0.9% NaCl 中[0.6 mg/mL]。稀釋兩種肽以獲得當量莫耳濃度(SEQ ID NO: 1 之肽為 12.8 μg/ml 且 SEQ ID NO:

2 之肽為 17.2 μg/ml)，以便在此研究中使用 0.3 mg/kg「肽 1+2」的最終總濃度。類似地，將 TAFA-4 FL 再懸浮於 0.9% NaCl 中，稀釋且以 0.3 mg/kg 的最終濃度使用。

【0200】 0.9% NaCl 溶液用作陰性對照物(媒劑)且 3 mg/kg 普瑞巴林(用於治療神經性病變疼痛之熟知藥物)用作陽性對照物。

【0201】 使用馮佛雷(VF)纖絲、藉由上/下方法[顯示在不同條件下誘使50%小鼠發生縮爪反應所需之機械力(用其等效體重(公克)表示)與時間的關係]量測小鼠之基準臨限值(「基線」)之後，配置 SNI 模型。麻醉小鼠；將脛骨神經與腓骨神經接合；且接著切斷此兩個神經。保持完整之腓腸神經非常迅速地發展神經病變。手術後 3 天之後確定神經病變之發生。從而觀測到同側爪對馮佛雷纖絲之反應臨限值下降。

【0202】 手術之後第 14 天，再次量測反應臨限值(參見圖 1 上的「D14」)。接著由實驗者將分別包含該組兩種肽、TAFA-4 全長蛋白質、媒劑或普瑞巴林的 100 μl/10 g 各溶液不知情皮下注射至小鼠。

【0203】 投與/注射之後的 1 小時、2 小時及接著 4 小時之後量測反應臨限值。

【0204】 SNI後第14天，所有小鼠的機械臨限值展現急劇降低，說明相較於基線臨限值，存在強機械過敏(參見圖1)。皮下投與媒劑不具有作用。驚人的是，在投與後一小時，SEQ ID NO: 1與SEQ ID NO: 2之兩種肽之組/組成物的止痛作用(「肽1+2」)最大且顯著高於TAFA-4全長蛋白質(「TAFA4 FL」)之止痛作用(p值<0.01)且亦高於普瑞巴林之止痛作用。統計分析顯示，相較於陰性對照物(媒劑)，兩種肽之組/組成物在1小時及2小時存在強顯著結果(p值<0.001)。

1.2 比較TAFA-4全長蛋白質(「TAFA-4 FL」)及該組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (「肽1+2」)在經口投與之上下文中的止痛作用

【0205】 使用1.1中所述之方案，但其中在手術之後的第14天利用經口投與來完成該組兩種肽、TAFA-4 FL、媒劑及普瑞巴林的投與。

【0206】 對於經口投與而言，將SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2之兩種肽以30 μg/mL之總濃度在1% w/v羥丙基甲基纖維素(Sigma-Aldrich #423238，批次MKCD3665)、0.5% v/v Tween 80 (Euromedex #2002-A，批次100412/16S407)之溶液(下文中稱為HPMC溶液或「媒劑」)中稀釋。對TAFA-4 FL應用類似方案。

【0207】 利用兩根管飼針經口投與媒劑、TAFA-4 FL 溶液及包含該組兩種肽的溶液。由與執行 VF 量測之實驗者不同的實驗者根據經口管飼(「經口」)投與普瑞巴林(3 mg/kg)，使得執行 VF 量測的實驗者對治療不知情(對於各種療法，n=8)。手術後第 14 天進行投與。

【0208】 SNI後第14天，所有小鼠的機械臨限值均展現急劇降低(圖2)。經口投與媒劑不具有作用。TAFA-4全長蛋白質當經口投與(亦即，口服)時不顯示顯著止痛作用。驚人的是，經口投與本發明之兩種肽之組/組成物在投與後1小時就對機械臨限值誘導統計學上顯著的逆轉作用(p值<0.01)，在投與後2小時出現最大作用(p值<0.001)。本發明之兩種肽之組/組成物在投與後1小時及2小時的止痛作用類似於普瑞巴林，但在投與後2小時的止痛作用顯著高於TAFA-4全長蛋白質(「TAFA4 FL」)。由圖2可推斷，本發明之兩種肽的組/組成物當經口投與時，止痛作用比TAFA-4全長蛋白質好得多。

1.3 靜脈內投與之一組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (「肽1+2」)的止痛作用

【0209】 使用1.1中所述之方案，但其中在手術之後第14天利用靜脈內途徑投與該組兩種肽或媒劑。

【0210】 將 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2 之肽以 150 μg/mL 之總濃度再懸浮於 0.9% NaCl 中。

【0211】 如先前所述，用上/下法進行馮佛雷纖絲量測以便測定基線。接

著，SNI 模型設定就位。手術後第十四天(第 14 天 - D14)量測反應臨限值以檢查神經性病變疼痛之出現。接著，將 20 µl/10 g 溶液緩慢盲注入尾靜脈中，該溶液包含總濃度為 300 µg/kg 的該組兩種肽。在靜脈內投與之後的 1 小時、2 小時及接著 4 小時之後量測反應臨限值。亦靜脈內投與媒劑(n=11)。

【0212】 在 SNI 後第 14 天，與基線臨限值相比，所有小鼠均展現機械臨限值之急劇下降，說明強機械過敏(圖 3)。靜脈內投與媒劑不具有作用。驚人的是，觀測到該組兩種肽 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2 (「肽 1+2」)具有顯著的強止痛作用，在第 2 小時觀測到對機械臨限值的最大逆轉作用($p<0.001$)。

【0213】 總之，本實驗顯示，本發明之該組兩種肽藉由皮下、經口及靜脈內投與對 SNI 模型(神經性病變疼痛模型)誘導止痛作用。有利的是，當皮下投與時，本發明之該組兩種肽的極早期(亦即，投與後 1 小時)止痛作用比對 TAFA-4 (全長)蛋白質所觀測的止痛作用更顯著。甚至更驚人的是，當經口投與時，在投與後 2 小時，本發明之該組兩種肽顯示的止痛作用比 TAFA-4 (全長)蛋白質更佳。

【0214】 本發明人的結果證明該組兩種肽 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2 在神經性病變疼痛模型中具有止痛作用。此模型誘導的機械性觸摸痛(疼痛敏感性的臨限值降低)可藉由皮下、靜脈內或經口(口服)投與本發明之該組肽來減輕。

【0215】 有利的是，本發明之該組兩種肽或包含此組肽的組成物雖然生產比全長TAFA-4蛋白質容易得多(且因此更便宜)，但當皮下投與時誘導的止痛活性/作用高於後者。甚至更驚人的是，就經口(口服)投與而言，本發明之該組肽顯示優於TAFA-4 (全長)蛋白質之止痛作用，使得比該TAFA-4全長蛋白質更方便且適於投與患者。靜脈內注射該組兩種肽有利地提供用於治療神經性病變疼痛的第三種投藥途徑。

實例2：爪切開 - 手術後疼痛

【0216】 此等實驗的目的係評估根據本發明之一組兩種肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (此組在本文中標識為「肽1+2」)藉由皮下注射對手術後疼痛模型(布倫南爪切開模型)的止痛作用。

【0217】 對八週齡雄性及雌性小鼠 WT C57Bl6 進行實驗。「肽 1+2」治療組使用 12 隻雄性及 12 隻雌性，而媒劑組使用 11 隻雄性及 11 隻雌性。將 SEQ ID NO: 1 與 SEQ ID NO: 2 之肽的等莫耳組合以[4 mg/mL]再懸浮於超純水中。在此研究中，稀釋兩種肽以獲得 0.3 mg/kg「肽 1+2」的最終總濃度。

【0218】「肽 1+2」或媒劑在以下不同時間點皮下投與，一天兩次：手術前一天(D-1)、手術當天(D0)，及手術後的 D+1 及 D+2。在 D0，分別在手術之前的 1 小時及手術(且喚醒)之後的 1 小時進行投與。在 D+1 (在 D+1 注射之前)、D+2 (在 D+2 注射之前)及 D+3 進行機械臨限值反應量測(圖 4A)。

【0219】 爪切開之後，經媒劑治療之小鼠出現機械性觸摸痛(參見圖 4B 上的 D+1、D+2 及 D+3)。相反，經「肽 1+2」治療的小鼠未出現機械性觸摸痛。相較於經媒劑治療的小鼠，經「肽 1+2」治療的小鼠在 D+1、D+2 及 D+3 呈現統計學上顯著的較高反應臨限值(圖 4B)。

【0220】 此等結果顯示，本發明之該組肽可用作爪切開模型(手術後疼痛模型)的止痛劑。

實例3：慢性縮窄損傷(CCI)神經性病變疼痛模型的耐受性缺乏

【0221】 此實驗的目的係評估經該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (「肽 1+2」)治療之個體在該組肽重複皮下投與之後是否可誘導針對此組肽的耐受性。

【0222】 根據上文所述的方案將CCI模型就位。在手術後的D7開始，連續14天向小鼠皮下注射「肽1+2」(0.3 mg/kg)，一天兩次。在手術之前及之後第7天，使用馮佛雷纖絲、利用上/下方法測試機械敏感性，以驗證CCI誘導的機械性觸摸痛。首次投與之後，實施時間過程反應。接著每隔一天測試「肽1+2」的止痛作用。接著在最後一次投與(D20)之後，實施完整的時間過程反應(圖5A)。在D+30 (治療結束之後的第10天)進行最後一次量測，以驗證小鼠的正確恢復。

【0223】 首次皮下注射「肽1+2」誘導反應(亦即，縮爪)臨限值極大增加，證明「肽1+2」具有止痛作用(圖5B - 首次注射時，在「給藥前」條件下相對於投

與後兩小時所量測之反應之間的比較)。有趣的是，「肽1+2」的止痛作用在整個治療期間(14天)保持恆定且功效未出現任何下降，即使在對應於D20之最後一次注射時亦如此(圖5B，首次注射時所量測之反應相較於最後一次注射時所量測之反應之間無顯著差異)。此等結果顯示，本發明之該組肽可長期重複使用而不會在個體中誘導耐受性。

實例4：不同治療劑量在手術後疼痛模型中的比較 - 預防作用

【0224】 此實驗之目的係測試該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (「肽1+2」)當活體內皮下投與手術後疼痛模型時，用於治療罹患手術後疼痛之個體的不同劑量學。

【0225】 「肽1+2」或媒劑根據三種不同方案皮下投與，一天兩次。「D-1/D0」方案：手術前一天(D-1)及手術當天(D0)進行投與；「D0」方案：手術當天(D0)進行投與；「D0/D+1/D+2」方案：手術前一天(D-1)、手術當天(D0)及手術之後第D+1及D+2天進行投與。在D0，分別在手術之前的1小時及手術(且喚醒)之後的1小時進行投與。在D+1及D+2進行的機械臨限值反應量測亦在該組兩種肽或媒劑投與之前進行(圖6A)。

【0226】 爪切開之後，經媒劑治療之小鼠出現機械性觸摸痛(參見圖6B上的D+1、D+2及D+3)。相反，不論所用方案，經「肽1+2」治療的小鼠未出現機械性觸摸痛。有趣的是，經「D-1/D0」及「D0」方案治療、在手術之後未治療的小鼠未出現機械性觸摸痛，從而顯示本發明之該組肽可預防性地用於爪切開模型(手術後疼痛模型)。

實例5：在發炎性疼痛模型中的止痛作用

【0227】 此實驗的目的係評估活體內皮下投與之該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (「肽1+2」)在發炎性疼痛模型(辣椒鹼發炎性疼痛模型)中的止痛作用。

【0228】 對八週齡雄性 WT C57Bl6 進行實驗。使用兩組各 8 隻小鼠。將「肽 1+2」以 30 μg/mL 之濃度再懸浮於 HMPC 溶液中，以得到 10 μl 注射劑/公克。

【0229】 將辣椒鹼(Sigma)儲備溶液(溶解於純乙醇中，16.7 mg/mL)在 0.9% NaCl 中、以 0.25 mg/mL 稀釋，接著使用 Hamilton 注射器及 26G 針將 10 μL 注射至小鼠左後爪之蹠面中。如先前所述，藉由上/下法用馮佛雷纖絲量測以便測定基線。注射辣椒鹼之後的第 24 小時(D+1)，兩組小鼠分別用「肽 1+2」或媒劑治療。在 1 小時(+1h)、2 小時(+2h)及接著 4 小時(+4h)量測反應臨限值，隨後皮下投與 0.3 mg/kg「肽 1+2」溶液(n=8)或媒劑溶液(n=8)。

【0230】 辣椒鹼注射之後的 24 小時，小鼠出現機械性觸摸痛(參見 D+1 - 圖 7)，而皮下投與本發明之該組肽在投與之後兩小時誘導反應臨限值出現統計學上顯著的增加。

【0231】 此等結果顯示，本發明之該組肽經由皮下投與對辣椒鹼模型(發炎性疼痛模型)產生止痛作用。

實例6：在骨關節炎疼痛模型中的止痛作用

【0232】 此實驗的目的係評估活體內皮下投與之該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (「肽1+2」)對骨關節炎疼痛模型(單碘乙酸酯模型)的止痛作用。

【0233】 使用兩組各 8 隻小鼠。在單碘乙酸酯(MIA)注射之前(基線)及之後的第 14 天，使用馮佛雷纖絲、利用上/下方法測試各組的機械敏感性。MIA 注射之後的第 14 天，兩組小鼠分別用「肽 1+2」或媒劑(NaCl 溶液)治療。實施時間過程反應以追蹤「肽 1+2」的止痛作用。「肽 1+2」或媒劑投與之後的 1 小時(+1h)、2 小時(+2h)及接著 4 小時(+4h)量測反應臨限值。

【0234】 MIA 注射後第 14 天，所有小鼠的機械臨限值展現急劇降低，說明相較於基線臨限值，存在強機械過敏(圖 8)。皮下投與媒劑不具有止痛作用。

相反，在投與後的一小時及兩小時，「肽 1+2」的止痛作用相較於陰性對照物(媒劑)具有統計學顯著性(圖 8)。

【0235】 此等結果顯示，本發明之該組肽經由皮下投與對關節炎疼痛模型產生止痛作用。

實例7：在冷凍灼傷疼痛模型中的止痛作用

【0236】 此實驗的目的係評估活體內皮下投與之該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (「肽1+2」)對冷凍灼傷疼痛模型的止痛作用。

【0237】 使用兩組各 16 隻小鼠。各組具有 8 隻雄性及 8 隻雌性。在寒冷暴露之前(基線)及之後的第 24 小時(D+1)，使用馮佛雷纖絲、利用上/下方法測試機械敏感性。在寒冷暴露之後的第 24 小時投與「肽 1+2」或媒劑(NaCl 溶液)之後，實施時間過程反應以追蹤「肽 1+2」在投與後一小時(D1+1)、兩小時(D1+2h)及四小時(D1+4h)的止痛作用。

【0238】 在寒冷暴露之後的第 24 小時，所有小鼠的機械臨限值展現急劇降低，說明相較於基線臨限值，存在強機械過敏(圖 9)。皮下投與媒劑不具有止痛作用。相反，在投與後的一小時及兩小時，「肽 1+2」的止痛作用相較於陰性對照物(媒劑)具有統計學顯著性(圖 9)。

【0239】 此等結果顯示，本發明之該組肽經由皮下投與對冷凍灼傷(或冰灼傷)疼痛模型產生止痛作用。此類模型亦被視為急性疼痛模型類型。

實例8：在紫外線灼傷疼痛模型中的止痛作用

【0240】 此實驗的目的係評估活體內皮下投與之該組肽SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2 (「肽1+2」)對紫外線灼傷疼痛模型(亦稱為曬傷疼痛模型)的止痛作用。

【0241】 使用兩組各 16 隻小鼠。各組具有 8 隻雄性及 8 隻雌性。在紫外線照射之前(基線)及之後的第 24 小時(D+1)，使用馮佛雷纖絲、利用上/下方法測試機械敏感性。投與「肽 1+2」或媒劑(NaCl 溶液)之後，實施時間過程反應以追蹤

「肽 1+2」在投與後一小時(D1+1h)、兩小時(D1+2h)及四小時(D1+4h)的止痛作用。

【0242】 在紫外線照射之後的第 24 小時，所有小鼠的機械臨限值展現急劇降低，說明相較於基線臨限值，存在強機械過敏(圖 10)。皮下投與媒劑不具有止痛作用。相反，在投與後的一小時及兩小時，該組「肽 1+2」的止痛作用相較於陰性對照物(媒劑)具有統計學顯著性(圖 10)。

【0243】 此等結果顯示，本發明之該組肽經由皮下投與對UV灼傷(或曬傷)疼痛模型產生止痛作用。此類模型亦被視為急性疼痛模型類型。

參考文獻

Benyamin, R., Trescot, A.M., Datta, S., Buenaventura, R., Adlaka, R., Sehgal, N., Glaser, S.E., and Vallejo, R. (2008). Opioid complications and side effects. Pain Physician 11, S105-120.

Bourane, S., Duan, B., Koch, S.C., Dalet, A., Britz, O., Garcia-Campmany, L., Kim, E., Cheng, L., Ghosh, A., Ma, Q., et al. (2015a). Gate control of mechanical itch by a subpopulation of spinal cord interneurons. Science 350, 550-554.

Bourane, S., Grossmann, K.S., Britz, O., Dalet, A., Del Barrio, M.G., Stam, F.J., Garcia-Campmany, L., Koch, S., and Goulding, M. (2015b). Identification of a spinal circuit for light touch and fine motor control. Cell 160, 503-515.

Boyle, K.A., Gradwell, M.A., Yasaka, T., Dickie, A.C., Polgar, E., Ganley, R.P., Orr, D.P.H., Watanabe, M., Abraira, V.E., Kuehn, E.D., et al. (2019). Defining a Spinal Microcircuit that Gates Myelinated Afferent Input: Implications for Tactile Allodynia. Cell reports 28, 526-540 e526.

Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A.H., Yarnitsky, D., Freeman, R., Truini, A., Attal, N., Finnerup, N.B., et al. (2017). Neuropathic pain. Nat Rev Dis Primers 3, 17002.

Costigan, M., Scholz, J., and Woolf, C.J. (2009). Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. Annu Rev Neurosci 32, 1-32.

Coull, J.A., Beggs, S., Boudreau, D., Boivin, D., Tsuda, M., Inoue, K., Gravel, C., Salter, M.W., and De Koninck, Y. (2005). BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. Nature 438, 1017-1021.

Delfini, M.C., Mantilleri, A., Gaillard, S., Hao, J., Reynders, A., Malapert, P., Alonso, S., Francois, A., Barrere, C., Seal, R., et al. (2013). TAFA4, a chemokine-like protein, modulates injury-induced mechanical and chemical pain hypersensitivity in mice. Cell reports 5, 378-388.

Duan, B., Cheng, L., Bourane, S., Britz, O., Padilla, C., Garcia-Campmany, L., Krashes, M., Knowlton, W., Velasquez, T., Ren, X., et al. (2014). Identification of spinal circuits transmitting and gating mechanical pain. Cell 159, 1417-1432.

Goh, EL., Chidambaram, S., Ma, D. (2017). Complex regional pain syndrome: a recent update. Burns & Trauma 5:2.

Leroux, Maria Bibiana (2018). Erythromelalgia: a cutaneous manifestation of neuropathy ? An Bras Dermatol. 93(1):86-94.

Ngo, AL., Urits, I., Yilmaz, M., Fortier, L., Anya, A., Oh, JH., Berger, AA., Kassem, H., Sanchez, MG., Kaye, AD, et al. (2020). Postherpetic Neuralgia: Current Evidence on the Topical Film-Forming Spray with Bupivacaine Hydrochloride and a Review of Available Treatment Strategies. Adv Ther. 37(5): 2003-2016.

Peirs, C., Williams, S.P., Zhao, X., Walsh, C.E., Gedeon, J.Y., Cagle, N.E., Goldring, A.C., Hioki, H., Liu, Z., Marell, P.S., et al. (2015). Dorsal Horn Circuits for Persistent Mechanical Pain. Neuron 87, 797-812.

Petitjean, H., F, B.B., Tsao, D., Davidova, A., Sotocinal, S.G., Mogil, J.S., Kania, A., and Sharif-Naeini, R. (2019). Recruitment of Spinoparabrachial Neurons by Dorsal Horn Calretinin Neurons. Cell reports 28, 1429-1438 e1424.

Petitjean, H., Pawlowski, S.A., Fraine, S.L., Sharif, B., Hamad, D., Fatima, T., Berg, J., Brown, C.M., Jan, L.Y., Ribeiro-da-Silva, A., et al. (2015). Dorsal Horn Parvalbumin Neurons Are Gate-Keepers of Touch-Evoked Pain after Nerve Injury. Cell reports 13, 1246-1257.

Sarver, D.C., Lei, X., and Wong, G.W. (2021). FAM19A (TAFA): An Emerging Family of Neurokines with Diverse Functions in the Central and Peripheral Nervous System. ACS Chem Neurosci 12, 945-958.

Siracusa, R., Di Paola, R., Cuzzocrea, S., Impellizzeri, D. (2021). Fibromyalgia: Pathogenesis, Mechanisms, Diagnosis and Treatment Options Update. Int J Mol Sci. 22(8): 3891.

Tom Tang, Y., Emtage, P., Funk, W.D., Hu, T., Arterburn, M., Park, E.E., and Rupp, F. (2004). TAFA: a novel secreted family with conserved cysteine residues and restricted expression in the brain. Genomics 83, 727-734.

Zeilhofer, H.U., Wildner, H., and Yevenes, G.E. (2012). Fast synaptic inhibition in spinal sensory processing and pain control. Physiol Rev 92, 193-235.

Zhang, Y., Liu, S., Zhang, Y.Q., Goulding, M., Wang, Y.Q., and Ma, Q. (2018). Timing Mechanisms Underlying Gate Control by Feedforward Inhibition. Neuron 99, 941-955 e944.

【符號說明】

【0244】

無。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="AT-FRTWI-
B23004_序列表中文.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.1.2"
productionDate="2023-06-22">
 <ApplicantFileReference>B3727PC00</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>EP</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>22305773.8</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-05-25</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="en">TAFALGIE THERAPEUTICS</ApplicantName>
 <InventionTitle languageCode="zh">用於治療疼痛的肽和方法</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>6</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>27</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q1">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Peptide 1</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>肽1</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q2">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>CFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWW</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>36</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q3">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Peptide 2</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>肽2</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q4">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>CHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="3">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>81</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..81</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q5">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Peptide l&apos;s coding
sequence</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>肽l編碼序列</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..81</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q6">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tgcttcccgggacaggtggcgggcacaactcgggctcaaccttcttgtgttgaagcttccat
tgtgattcagaaatggtgg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>108</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..108</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q7">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Peptide 2&amp;apos;s coding
sequence</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>肽2編碼序列</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..108</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q8">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tgtcacatgaatccgtgtttggaaggagaggattgtaaagtgctgccagattactcaggttg
gtcctgtagcagtggcaataaagtcaaaactacgaaggtaacgcgg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>105</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..105</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q9">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Mature human TAFA-4 protein</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>人類成熟TAFA-4蛋白質
</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..105</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q10">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SQHLRGHAGHHQIKQGTCEVVAVHRCCNKNRIEERSQTVKCSCFPGQVAGTTRAQPSCVEAS
IVIQKWWCHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>36</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q11">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Peptide 2 (18-S)</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>肽2 (18-S)</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q12">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>CHMNPCLEGEDCKVLPDSSGWSCSSGNKVKTTKVTR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種組成物，其包含 SEQ ID NO: 1 之第一肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽，及 SEQ ID NO: 2 之第二肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽，其中該兩種肽彼此不連接。

【請求項2】 如請求項 1 所述之組成物，其中若該組成物包含與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽及/或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽，則 SEQ ID NO: 1 之該肽中之位置 13 的麩醯胺酸(Q)殘基在與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之該肽的胺基酸序列中保持不變，且 SEQ ID NO: 2 之該肽中之位置 18 的酪胺酸(Y)殘基在與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之該肽的胺基酸序列中保持不變或被絲胺酸(S)置換。

【請求項3】 一種組分組或組成物，其包含允許彼此不連接之兩種肽表現的核酸，其中第一核酸包含編碼 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之肽的序列，且第二核酸包含編碼 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之肽的序列。

【請求項4】 一種組分組或組成物，其包含允許彼此不連接之兩種肽表現的載體，其中第一載體包含編碼 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之肽的序列，且第二載體包含編碼 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之肽的序列。

【請求項5】 一種細胞或包含該細胞及可接受之負載體的組成物，其中該細胞允許彼此不連接之兩種肽表現且其中該細胞包含編碼 SEQ ID NO: 1 之肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性之肽的第一核酸序列或載體，及編碼 SEQ ID NO: 2 之肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性之肽的第二核酸序列或載體。

【請求項6】 如請求項1至5中任一項所述之組成物，其中該組成物進一步包含至少一種其他活性化合物，較佳為有效抵禦疼痛之活性化合物，甚至更佳為SAID、NSAID或類鴉片藥物。

【請求項7】 如請求項1至6中任一項所述之組成物，其中該組成物包含醫藥學上及/或飲食學上可接受之負載體。

【請求項8】 如請求項1至7中任一項所述之組成物，其中該組成物進一步包含抗壞血酸或抗壞血酸鹽。

【請求項9】 一種SEQ ID NO: 1之第一肽或與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性的肽及SEQ ID NO: 2之第二肽或與SEQ ID NO: 2具有至少90%一致性的肽的組，其中該兩種肽彼此不連接；如請求項3或4所述之組，如請求項1至8中任一項所述之組成物，或如請求項5之所述細胞，其中該組、該組成物或該細胞係用作有需要之個體的藥劑。

【請求項10】 一種SEQ ID NO: 1之第一肽或與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性的肽及SEQ ID NO: 2之第二肽或與SEQ ID NO: 2具有至少90%一致性的肽的組，其中該兩種肽彼此不連接；如請求項3或4所述之組，如請求項1至8中任一項所述之組成物，或如請求項5所述之細胞，其中該組、該組成物或該細胞係用於預防或治療有需要之個體的疼痛。

【請求項11】 如請求項10所述之組、組成物或細胞，其中該疼痛為慢性疼痛、神經性病變疼痛、手術後疼痛、發炎性疼痛、關節炎疼痛、與關節損傷相關的疼痛、與艾登二氏症候群(Ehlers-Danlos syndrome)有關的疼痛、由曬傷引起的疼痛、由冰灼傷引起的疼痛、痛覺過敏、觸摸痛或急性疼痛。

【請求項12】 如請求項9至11中任一項所述之組、組成物或細胞，其中該個

體為哺乳動物，特定言之，人類。

【請求項13】 如請求項 9 至 12 中任一項所述之組或組成物，其中該組成物係肌肉內、靜脈內、腹膜內、經口(口服)、肛門、皮膚、皮下、外用、真皮、經皮或鞘內投與該個體，較佳為皮下或經口投與。

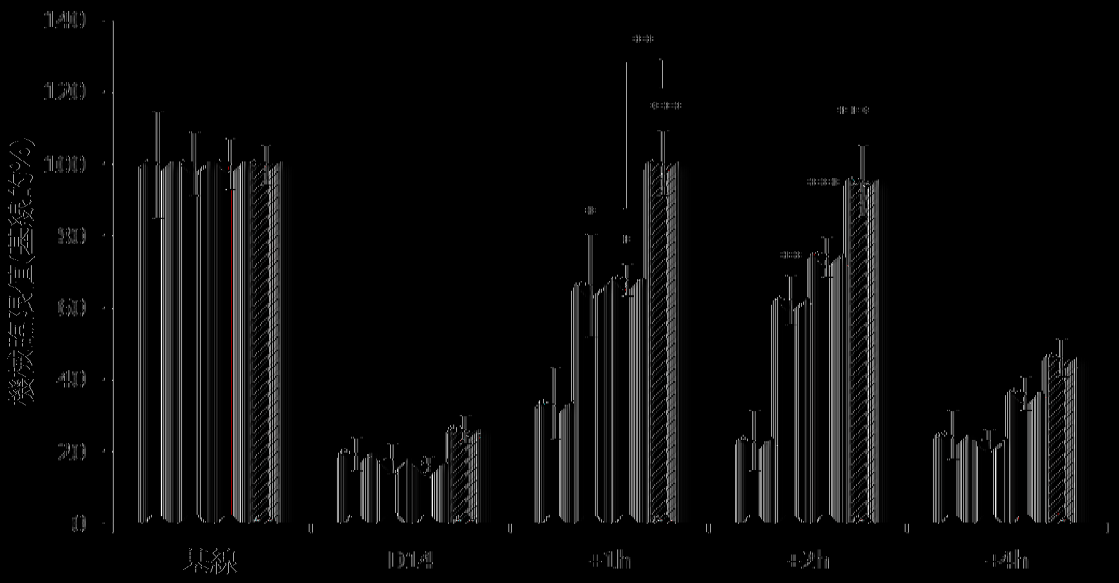
【請求項14】 如請求項 9 至 13 中任一項所述之組或組成物，其中該組或該組成物每單位劑量包含 1 μg 與 100 mg 之間、較佳 25 μg 與 10 mg 之間的該第一肽與第二肽。

【請求項15】 如請求項 9 至 13 中任一項所述之組或組成物，其中對於哺乳動物而言，該組或該組成物投與的劑量介於 1 μg/kg/天與 100 mg/kg/天之間，較佳介於 2.5 μg/kg/天與 0.6 mg/kg/天之間。

【請求項16】 一種套組，其包含 i) SEQ ID NO: 1 之第一肽或與 SEQ ID NO: 1 具有至少 90%一致性的肽，或編碼該肽的核酸序列；ii) SEQ ID NO: 2 之第二肽或與 SEQ ID NO: 2 具有至少 90%一致性的肽，或編碼該肽的核酸序列，其中，該第一肽及該第二肽或編碼該等肽的該等核酸處於不同容器中；以及視情況存在的 iii)使用該套組的書面說明書。

【發明圖式】

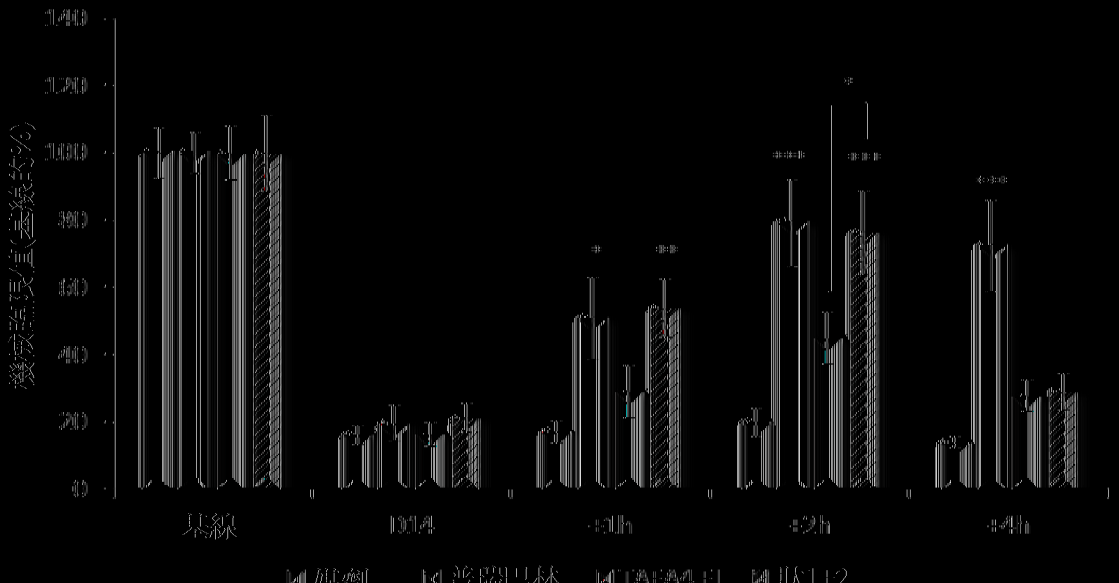
皮下投與
(SN模型)



■ 媒劑　■ 普瑞巴林　■ TAFAMIL　■ 肽112

圖1

經口投與
(SN模型)



■ 媒劑　■ 普瑞巴林　■ TAFAMIL　■ 肽112

圖2

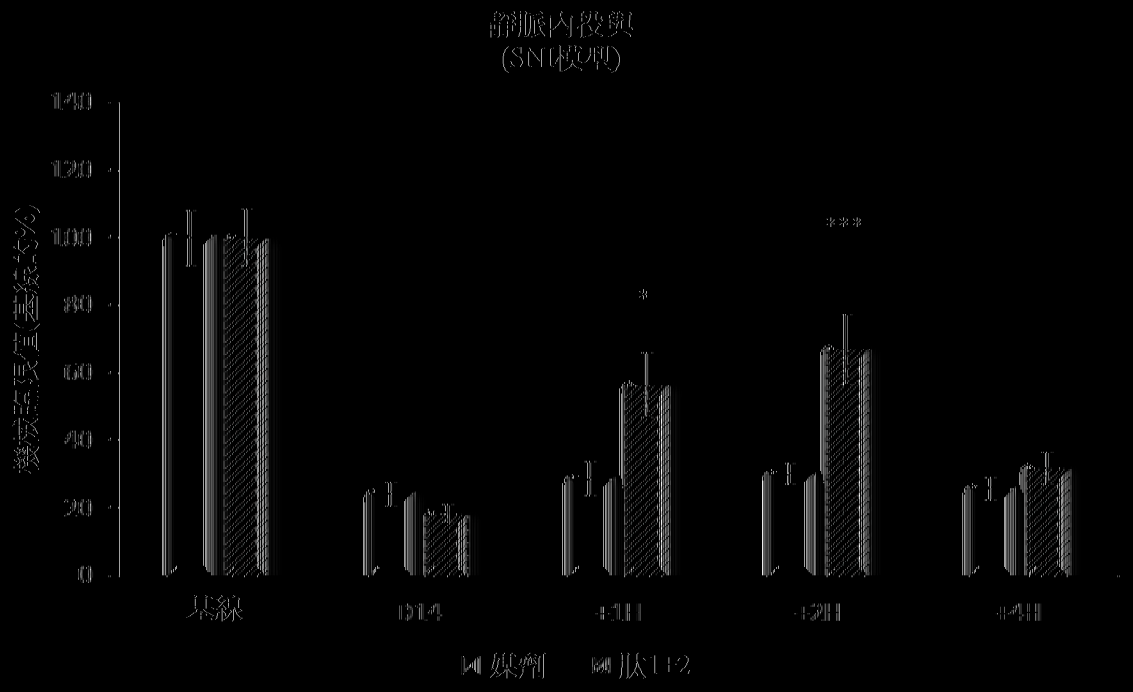


図3

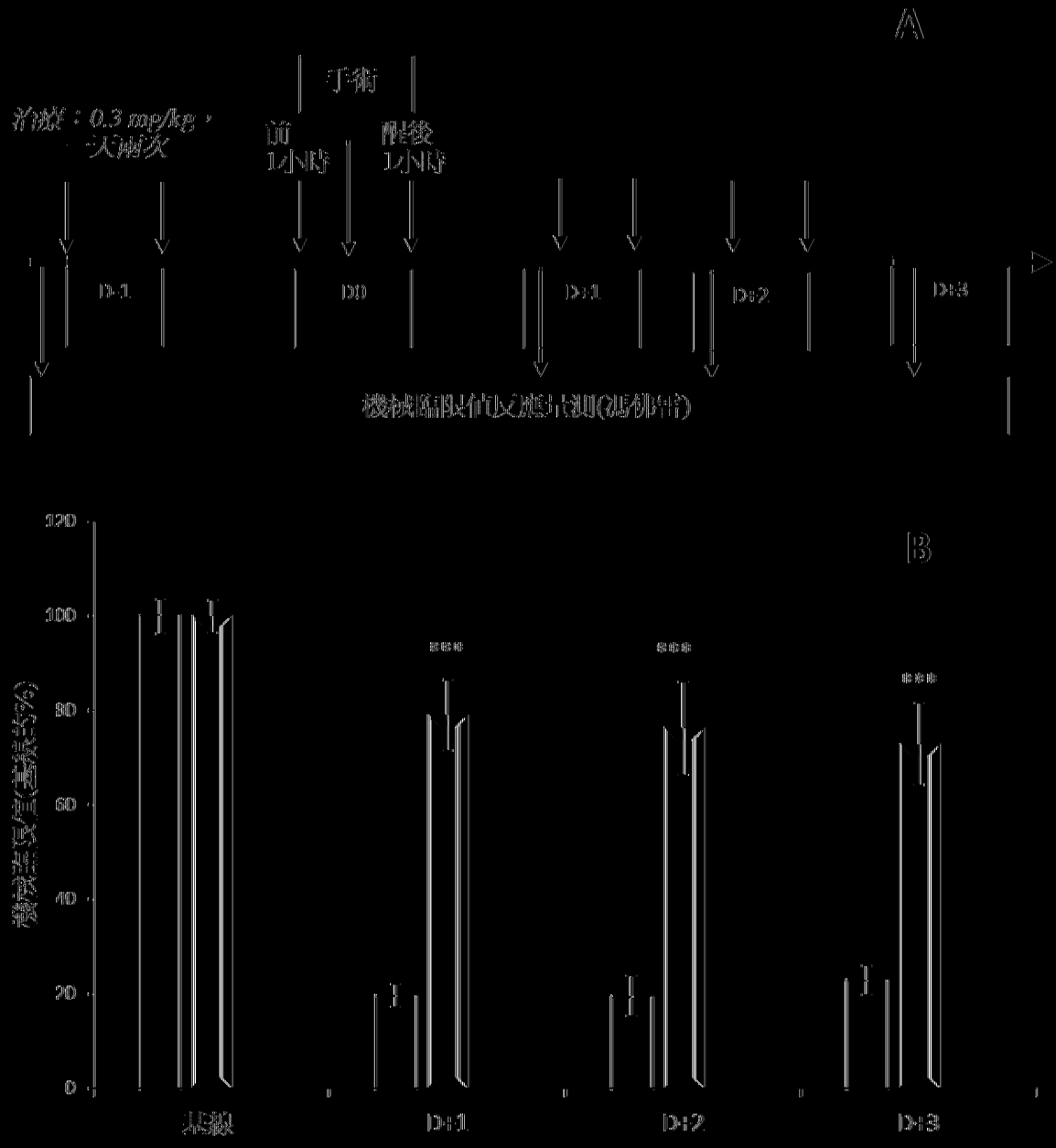
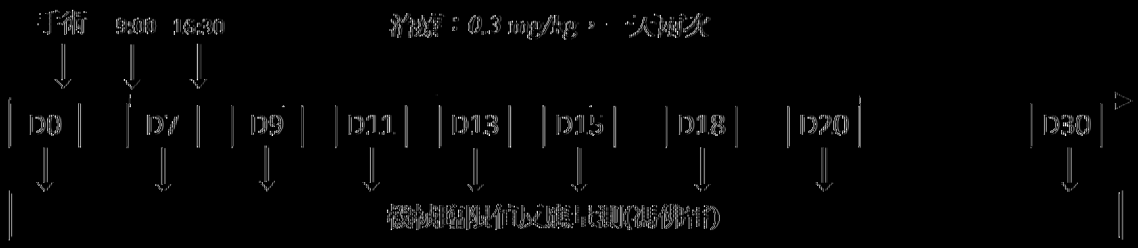

A
手術
治療：0.3 mg/kg，一天兩次
前1小時
後1小時
D-1
D0
D+1
D+2
D+3
機械肺阻抗(cmH2O·s/L)
B
120
100
80
60
40
20
0
體重變化(基準%)
基線
D+1
D+2
D+3
媒劑
貝洛昔布

圖4

A


手術
9:00
16:30
治療：0.3 mg/kg，一次静注
D0
D7
D9
D11
D13
D15
D18
D20
D30
経時的臨床評価と血液採取(評価)

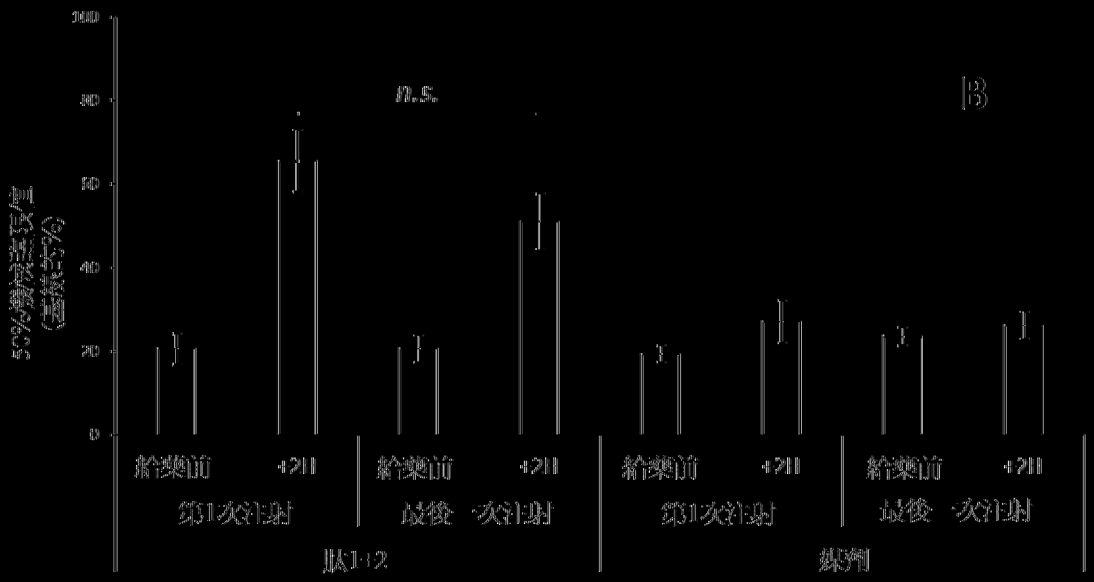

B
n.s.
50%髄液流出時間（分）
100
80
60
40
20
0
給薬前
+2H
第1次注射
最後一次注射
肢1-2
給薬前
+2H
第1次注射
最後一次注射
麻痺

図5

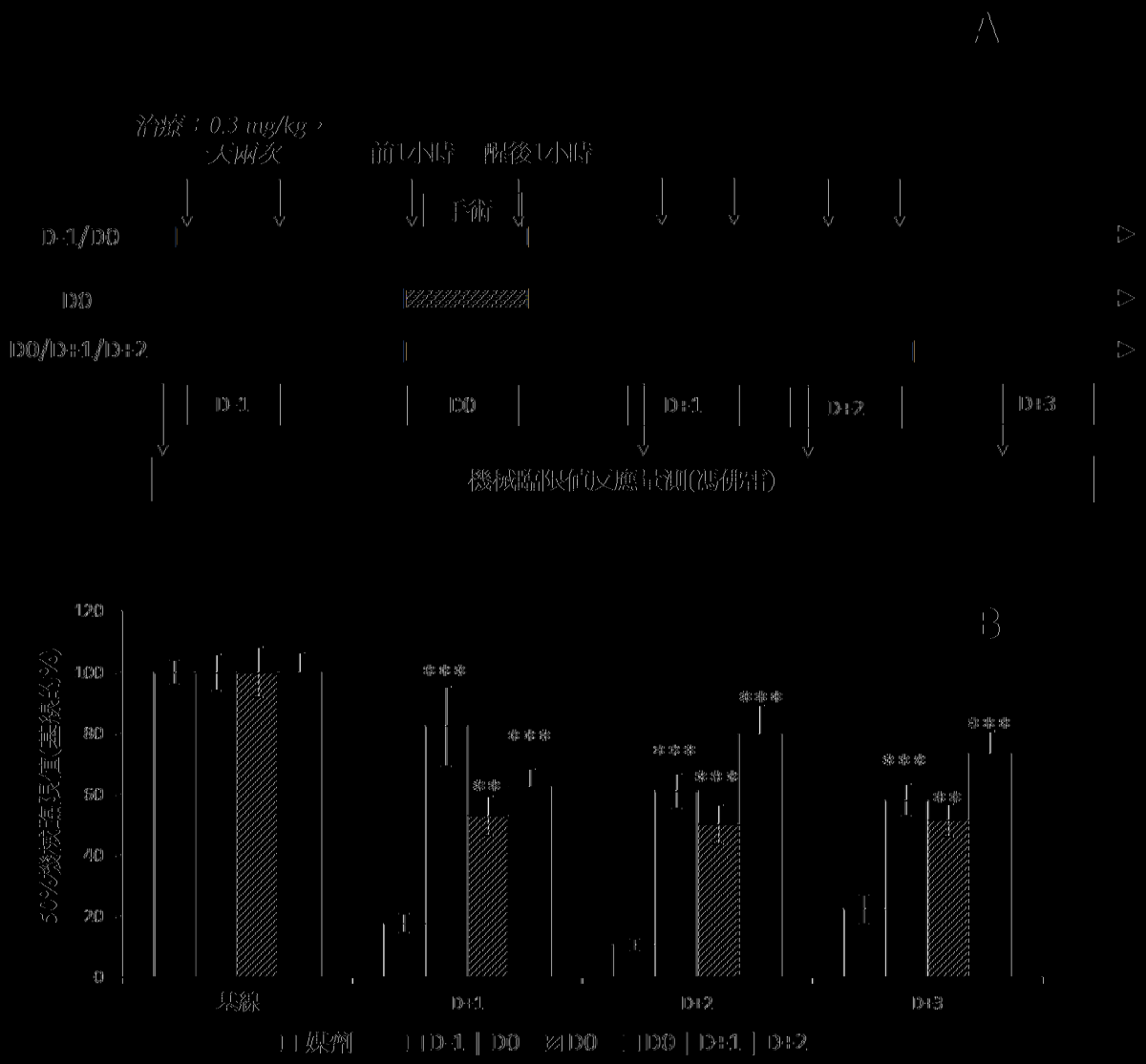

A
治療：0.3 mg/kg，
大鼠/次
前1小時
醒後1小時
手術
D-1/D0
D0
D0/D+1/D+2
D-1
D0
D+1
D+2
D+3
機械痛覺閾值反應量測(馮弗雷)
B
50%機械痛覺閾值(克)
120
100
80
60
40
20
0
基線
D+1
D+2
D+3
媒劑
D-1
D0
D0
D0
D+1
D+2

圖6

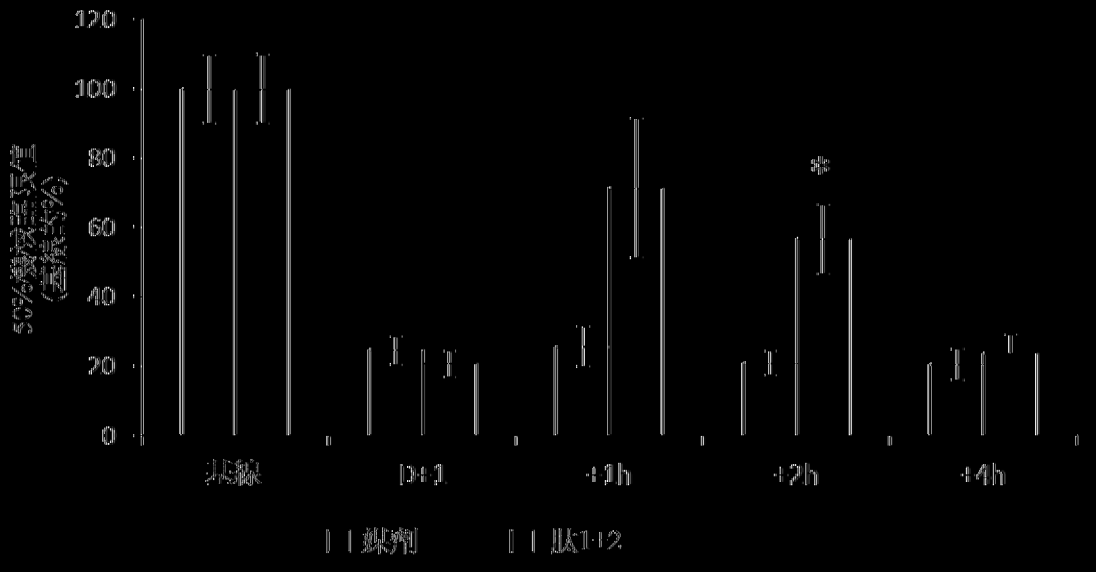

120
100
80
60
40
20
0
基線
D+1
+1h
+2h
+4h
藥劑
D+2

圖7

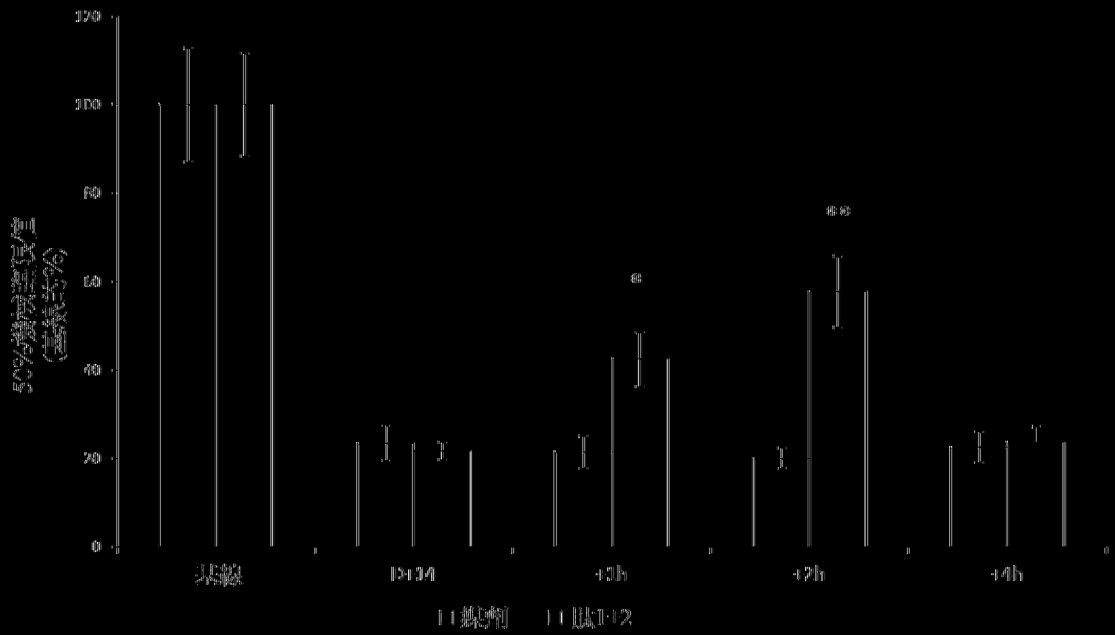

120
100
80
60
40
20
0
基線
D+4
+1h
+2h
+4h
藥劑
D+2

圖8

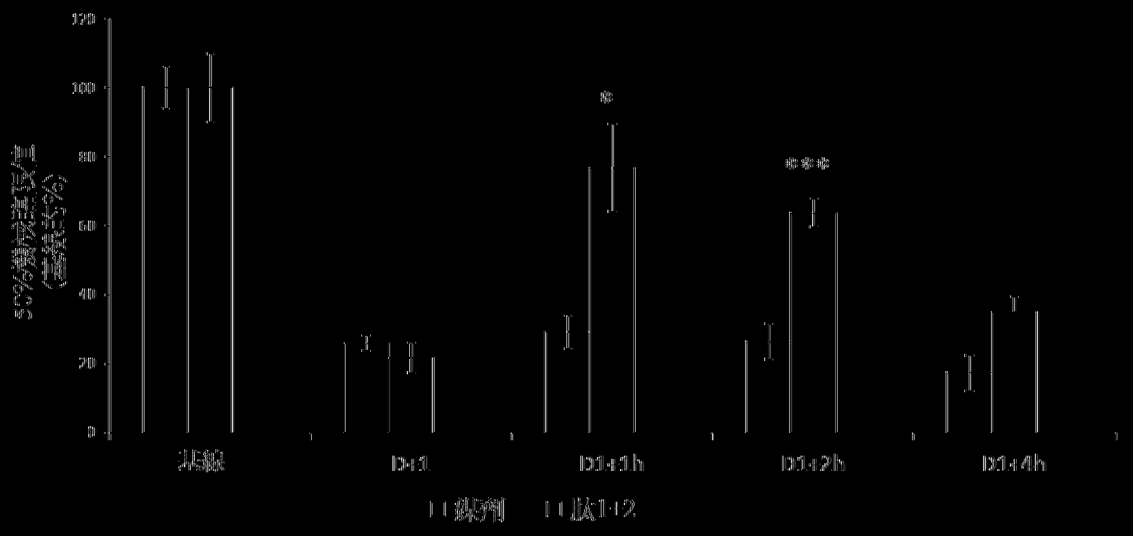

120
100
80
60
40
20
0
*
***
基線
D+1
D1+1h
D1+2h
D1+4h
□媒劑 □試1-2

圖9

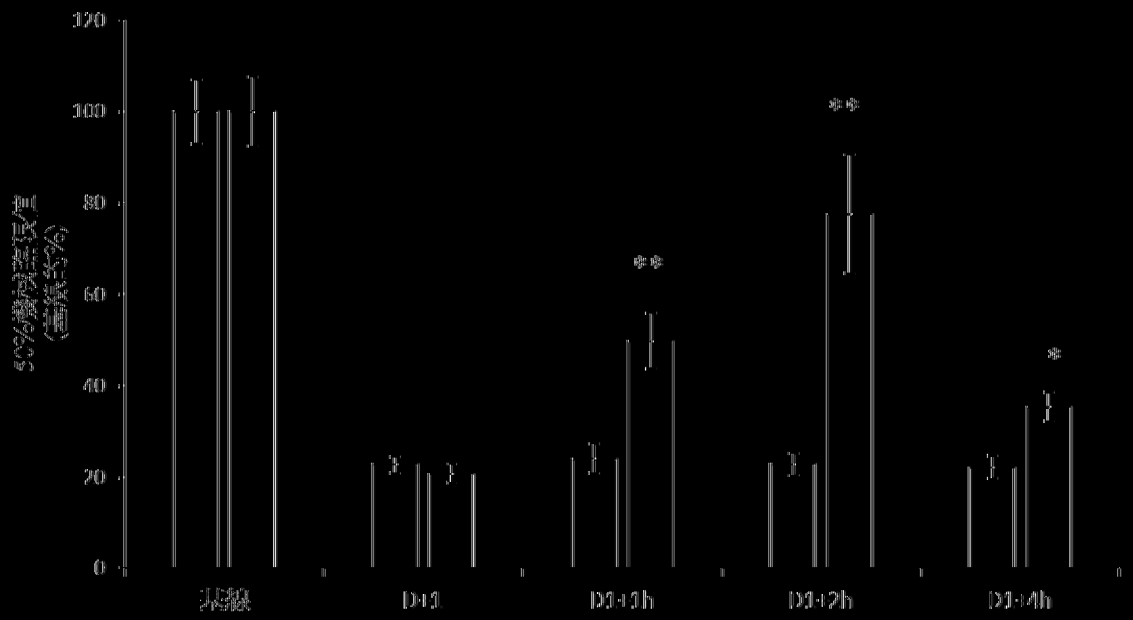

120
100
80
60
40
20
0
**
**
*
基線
D+1
D1+1h
D1+2h
D1+4h
□媒劑 □試1-2

圖10

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="AT-FRTWI-
B23004_序列表中文.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0"
productionDate="2023-10-25">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>112119546</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2023-09-20</FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>B3727PC00</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>EP</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>22305773.8</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-05-25</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">法商塔法吉斯生技公司</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>TAFALGIE THERAPEUTICS</ApplicantNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="zh">用於治療疼痛的肽和方法</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>6</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>27</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q1">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Peptide 1</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>肽1</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q2">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>CFPGQVAGTTRAQPSCVEASIVIQKWW</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>36</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q3">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Peptide 2</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>肽2</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q4">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>CHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="3">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>81</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..81</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q5">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Peptide 1&amp;apos;s coding
sequence</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>肽1編碼序列</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..81</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q6">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tgcttcccgggacaggtggcgggcacaactcgggctcaaccttcttgtgttgaagcttccat
tgtgattcagaaatggtgg</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>108</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..108</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q7">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Peptide 2&amp;apos;s coding
sequence</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>肽2編碼序列</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..108</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q8">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tgtcacatgaatccgtgtttggaaggagaggattgtaaagtgctgccagattactcaggttg
gtcctgtagcagtggcaataaagtcaaaactacgaaggtaacgcgg</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="5">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>105</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..105</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q9">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Mature human TAFA-4 protein</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>人類成熟TAFA-4蛋白質
</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..105</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q10">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SQHLRGHAGHHQIKQGTCEVVAVHRCCNKNRIEERSQTVKCSCFPGQVAGTTRAQPSCVEAS
IVIQKWWCHMNPCLEGEDCKVLPDYSGWSCSSGNKVKTTKVTR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>36</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q11">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Peptide 2 (18-S)</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>肽2 (18-S)</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q12">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>CHMNPCLEGEDCKVLPDSSGWSCSSGNKVKTTKVTR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```