(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0065283
(43) 공개일자 2024년05월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/501 (2006.01) *A61K 31/506* (2006.01)
A61P 17/14 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/501 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7012854
(22) 출원일자(국제) 2022년09월22일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년04월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/044346
(87) 국제공개번호 WO 2023/049241
국제공개일자 2023년03월30일
(30) 우선권주장
63/247,672 2021년09월23일 미국(US)

(71) 출원인
브리스톨-마이어스 스퀩 컴퍼니
미국, 뉴저지 08543-4000, 프린스톤, 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드
(72) 발명자
캐트렛, 이안 맥쿼리
미국 08543 뉴저지 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 브리스톨-마이어 스퀩 컴퍼니 내
김, 진
미국 08543 뉴저지 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 브리스톨-마이어 스퀩 컴퍼니 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이귀동

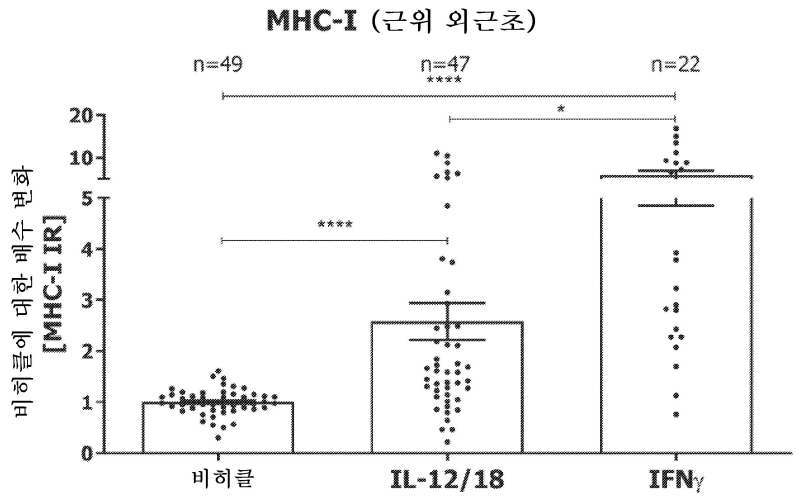
전체 청구항 수 : 총 23 항

(54) 발명의 명칭 **TYK2 억제제를 사용하여 탈모 장애를 치료하는 방법**

(57) 요 약

포유동물 대상체에서 면역-매개 탈모 장애, 예컨대 원형 탈모증을 예방 또는 치료하는 방법은 포유동물 대상체에게 TYK2의 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 이러한 방법에 유용한 TYK2 억제제는 본원에 제시된 바와 같은 화학식 (I)의 구조를 갖는 화합물 및 본원에 제시된 바와 같은 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물을 포함한다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61P 17/14 (2018.01)
(72) 발명자
베르톨리니, 마르타
독일 48149 뮌슈터 멘델스트라세 17 나노-비오아날뤼티크 첸트룸 모나스테리움 라보라토리 슈킨 운트 하이어 레제아르히 졸루티온스 게엠바하 내
에델캄프, 야닌
독일 48149 뮌슈터 멘델스트라세 17 나노-비오아날뤼티크 첸트룸 모나스테리움 라보라토리 슈킨 운트 하이어 레제아르히 졸루티온스 게엠바하 내
로우일레, 토마스
독일 48149 뮌슈터 멘델스트라세 17 나노-비오아날뤼티크 첸트룸 모나스테리움 라보라토리 슈킨 운트 하이어 레제아르히 졸루티온스 게엠바하 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

포유동물 대상체에게 TYK2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 포유동물 대상체에서 탈모 장애를 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 탈모 장애가 원형 탈모증인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 탈모 장애가 전두 탈모증인 방법.

청구항 4

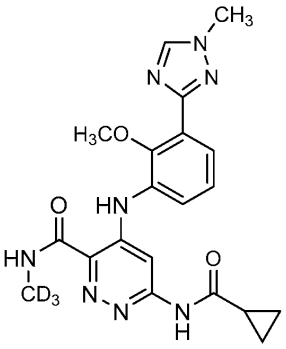
제1항에 있어서, 탈모 장애가 범발성 탈모증인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, TYK2 억제제가 데우크라바시티닙인 방법.

청구항 6

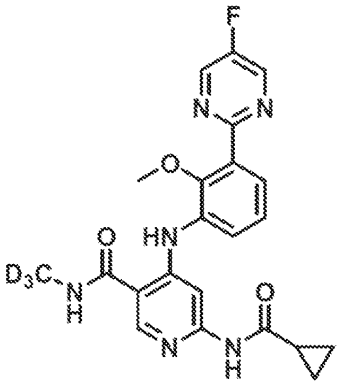
제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, TYK2 억제제가 하기 화학식 (I)의 구조를 갖는 화합물의 제약상 허용되는 염인 방법.



화학식 (I)

청구항 7

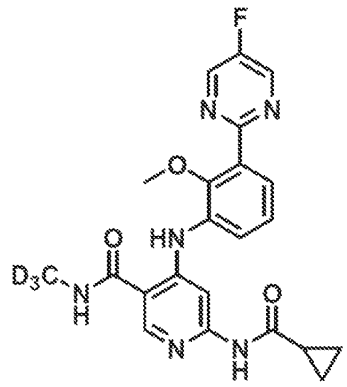
제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, TYK2 억제제가 하기 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물인 방법.



화학식 (II)

청구항 8

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, TYK2 억제제가 하기 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물의 제약상 허용되는 염인 방법.



화학식 (II)

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, TYK2 억제제가 경구로 투여되는 것인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, TYK2 억제제가 국소로 투여되는 것인 방법.

청구항 11

이전에 원형 탈모증을 앓은 포유동물 대상체에게 TYK2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 포유동물 대상체에서 탈모를 예방하는 방법.

청구항 12

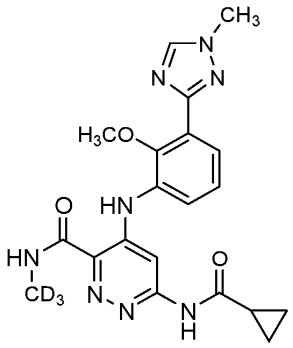
이전에 전두 탈모증을 앓은 포유동물 대상체에게 TYK2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 포유동물 대상체에서 탈모를 예방하는 방법.

청구항 13

이전에 범발성 탈모증을 앓은 포유동물 대상체에게 TYK2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 포유동물 대상체에서 탈모를 예방하는 방법.

청구항 14

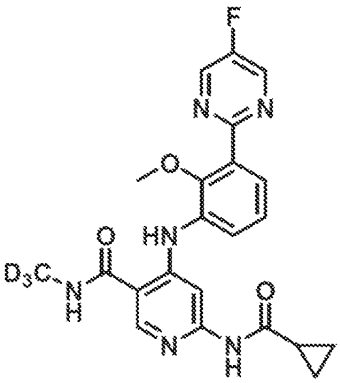
제11항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, TYK2 억제제가 하기 화학식 (I)의 구조를 갖는 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염인 방법.



화학식 (I)

청구항 15

제11항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, TYK2 억제제가 하기 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염인 방법.



화학식 (II)

청구항 16

제11항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, TYK2 억제제가 경구로 투여되는 것인 방법.

청구항 17

제11항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, TYK2 억제제가 국소로 투여되는 것인 방법.

청구항 18

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TYK2 억제제를 포유동물 대상체에게 투여하는 것이 TYK2 억제제를 1주에 적어도 2회 투여하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, TYK2 억제제가 포유동물 대상체에게 1일 1회 투여되는 것인 방법.

청구항 20

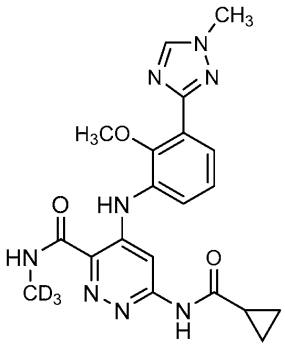
제18항 또는 제19항에 있어서, 포유동물 대상체에서 모발의 재성장을 촉진하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 21

원형 탈모증을 앓고 있는 인간 대상체에게 TYK2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 인간 대상체에서 모발을 재성장시키는 방법.

청구항 22

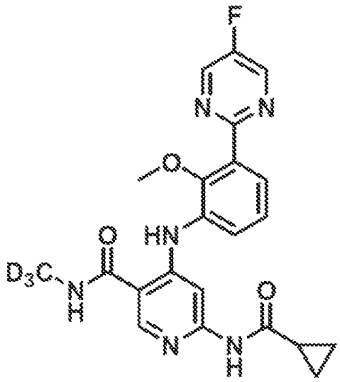
제21항에 있어서, TYK2 억제제가 하기 화학식 (I)의 구조를 갖는 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염인 방법.



화학식 (I)

청구항 23

제21항에 있어서, TYK2 억제제가 하기 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염인 방법.



화학식 (II)

발명의 설명

기 술 분 야

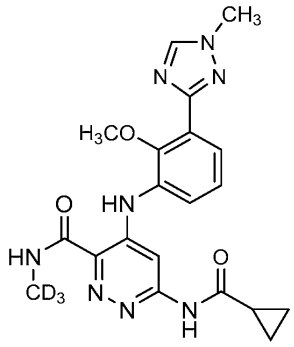
[0001] 본 발명은 일반적으로 티로신 키나제 2 (TYK2) 억제제를 사용하여 탈모 장애를 예방 또는 치료하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 원형 탈모증 (AA)은 비-반흔형성 탈모를 유발하는 모낭의 면역-매개 질환이다. 원형 탈모증을 갖는 개인은 종종 만성 또는 재발성 질환을 경험하며, 심각한 심리적 결과를 갖는다. 부분적으로는 AA 발병기전의 불완전한 이해로 인해, 요법에 대한 임상적 필요에도 불구하고, AA 환자는 제한된 치료 옵션을 갖는다. 본 발명은 원형 탈모증을 비롯한 탈모 장애의 치료 및 관리를 위한 신규 접근법을 제공함으로써 이러한 필요를 해결한다.

발명의 내용

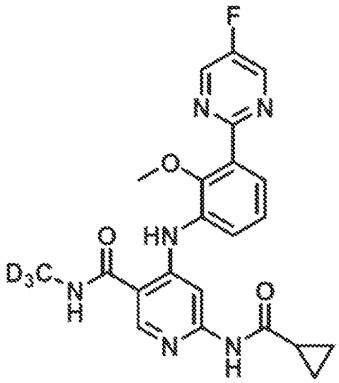
[0003] 대상체에게 TYK2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 탈모 장애를 치료하는 방법이 본원에 기재된다. 일부 실시양태에서, TYK2 억제제는 하기 화학식 (I)의 구조를 갖는 화합물이다.



화학식 (I)

[0004]

[0005] 이 화합물은 또한 데우크라바시티닙으로도 공지되어 있다. 특정 실시양태에서, TYK2 억제제는 하기 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물이다.



화학식 (II)

[0006]

[0007] 특정 실시양태에서, TYK2 억제제는 화학식 (I)의 구조를 갖는 화합물의 제약상 허용되는 염이거나, 또는 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물의 제약상 허용되는 염이다.

[0008] 특정 실시양태에서, 탈모 장애는 원형 탈모증 (AA)이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 방법은 원형 탈모증을 앓고 있는 대상체에게 TYK2 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 원형 탈모증은 다양한 표현형 하위유형, 예컨대 패치형 원형 탈모증, 전두 탈모증 및 범발성 탈모증을 포함한다. TYK2 억제제는 경구로, 국부로 (예컨대 이환된 피부 영역(들)에의 국소 투여 또는 국부 주사에 의해), 또는 경구로 및 국부로 둘 다로 투여될 수 있다.

[0009] 일부 실시양태에서, 대상체는 전두 탈모증 또는 범발성 탈모증을 앓고 있다. 예를 들어, 본 발명의 특정 실시양태는 TYK2 억제제를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 전두 탈모증을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0010] 또한, 이전에 탈모 장애 (예컨대, 예를 들어, 원형 탈모증)를 앓았던 대상체에게 TYK2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 탈모를 예방하는 방법이 본원에 기재된다. 일부 실시양태에서, TYK2 억제제는 화학식 (I)의 구조를 갖는 화합물이다. 특정 실시양태에서, TYK2 억제제는 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물이다. TYK2 억제제는 경구로, 또는 국부로 (예컨대 이전에 이환된 피부 영역(들)에의 국소 투여 또는 국부 주사에 의해), 또는 경구로 및 국부로 둘 다로 투여될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 비히클, IL-12 및 IL-18, 또는 IFNγ로 처리된 모낭의 근위 외근초에서의 MHC 클래스 I (MHC-I)의 상대적 발현을 보여주는 그래프이다.

도 2는 비히클, IL-12 및 IL-18, 또는 IFNɣ로 처리된 모낭의 진피 컵에서의 MHC-I의 상대적 발현을 보여주는 그래프이다.

도 3은 비히클, IL-12 및 IL-18, 또는 IFNɣ로 처리된 모낭의 근위 외근초에서의 MHC 클래스 II-양성 (MHC-II+) 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다.

도 4는 비히클, IL-12 및 IL-18, 또는 IFNɣ로 처리된 모낭의 모구 결합 조직초에서의 MHC-II+ 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다.

도 5는 비히클, IL-12 및 IL-18, 또는 IFNɣ로 처리된 모낭의 근위 외근초에서의 MICA/B의 상대적 발현을 보여주는 그래프이다.

도 6은 비히클, IL-12 및 IL-18, 또는 IFNɣ로 처리된 모낭의 진피 컵에서의 MICA/B의 상대적 발현을 보여주는 그래프이다.

도 7은 MHC-I에 대한 모낭의 면역염색의 영상을 보여준다. 좌측 영상은 비히클로 처리된 모낭을 보여주고; 중간 영상은 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여주고; 우측 영상은 IFNɣ로 처리된 모낭을 보여준다.

도 8은 MHC-II에 대한 모낭의 면역염색의 영상을 보여준다. 좌측 영상은 비히클로 처리된 모낭을 보여주고; 중간 영상은 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여주고; 우측 영상은 IFNɣ로 처리된 모낭을 보여준다.

도 9는 MICA/B에 대한 모낭의 면역염색의 영상을 보여준다. 좌측 영상은 비히클로 처리된 모낭을 보여주고; 중간 영상은 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여주고; 우측 영상은 IFNɣ로 처리된 모낭을 보여준다.

도 10은 비히클, IL-12 및 IL-18, 또는 IFNɣ로 처리된 모낭의 중간엽 및 상피에서 측정된 바와 같은, 모낭당 CD3+ T 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다.

도 11은 비히클, IL-12 및 IL-18, 또는 IFNɣ로 처리된 모낭의 중간엽 및 상피에서 측정된 바와 같은, 모낭당 CD56+ NK 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다.

도 12는 CD3 및 CD56에 대한 모낭의 면역염색의 영상을 보여준다. 상부 영상은 비히클로 처리된 모낭을 보여주고; 중간 영상은 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여주고; 하부 영상은 IFNɣ로 처리된 모낭을 보여준다. 상부 및 중간 영상에서 밝은 영역은 CD3 또는 CD56 염색의 영역이다. 하부 영상에서 밝은 영역은 CD3 염색의 영역이다. 염색 영역 중 일부는 화살표로 표시된다.

도 13은 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭에서의 유전자 발현을 비히클로 처리된 모낭에서의 유전자 발현과 비교하는 차등 유전자 발현 분석의 결과를 보여준다.

도 14는 특정 경로 또는 기능에 의해 유전자가 분류될 때, 비히클로 처리된 모낭과 비교하여 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭에서의 상향조절된 유전자의 수를 보여주는 그래프이다. 예를 들어, IFNɣ-유도성 유전자의 경우에, 78개의 이러한 유전자 중 35개가 비히클로 처리된 모낭과 비교하여 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭에서 상향조절되었고; 항원-제시 기구와 연관된 유전자의 경우에, 123개의 이러한 유전자 중 27개가 비히클로 처리된 모낭과 비교하여 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭에서 상향조절되었다.

도 15는 IFNɣ로 처리된 모낭에서의 유전자 발현을 비히클로 처리된 모낭에서의 유전자 발현과 비교하는 차등 유전자 발현 분석의 결과를 보여준다.

도 16은 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭에서의 유전자 발현을 IFNɣ로 처리된 모낭에서의 유전자 발현과 비교하는 차등 유전자 발현 분석의 결과를 보여준다.

도 17은 5-6일 동안 비히클, 화학식 (II)의 화합물 (도면에서 "BMS"로 표시된다), 또는 토파시티닙으로; 배양 제2일에, 비히클 또는 시토카인 IL-12 + IL-18을 첨가하여, 처리된 모낭의 근위 외근초에서의 MHC-I의 상대적 발현을 보여주는 그래프이다.

도 18은 5-6일 동안 비히클, 화학식 (II)의 화합물, 또는 토파시티닙으로; 배양 제2일에, 비히클 또는 시토카인 IL-12 + IL-18을 첨가하여, 처리된 모낭의 진피 컵에서의 MHC-I의 상대적 발현을 보여주는 그래프이다.

도 19는 5-6일 동안 비히클, 화학식 (II)의 화합물, 또는 토파시티닙으로; 배양 제2일에, 비히클 또는 시토카인 IL-12 + IL-18을 첨가하여, 처리된 모낭의 근위 외근초에서의 MHC-II+ 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다.

도 20은 5-6일 동안 비히클, 화학식 (II)의 화합물, 또는 토파시티닙으로; 배양 제2일에, 비히클 또는 시토카인 IL-12 + IL-18을 첨가하여, 처리된 모낭의 안구 결합 조직초에서의 MHC-II+ 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다.

도 21은 MHC-I에 대한 모낭의 면역염색의 영상을 보여준다. 좌측 영상은 5-6일 동안 비히클로 처리된 모낭을 보여주고; 중간 영상은 5-6일 동안 비히클로; 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여주고; 우측 영상은 5-6일 동안 화학식 (II)의 화합물로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여준다.

도 22는 MHC-II에 대한 모낭의 면역염색의 영상을 보여준다. 좌측 영상은 5-6일 동안 비히클로 처리된 모낭을 보여주고; 중간 영상은 5-6일 동안 비히클로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여주고; 우측 영상은 5-6일 동안 화학식 (II)의 화합물로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여준다.

도 23은 하기와 같이 처리된 모낭의 중간엽에서 측정된 바와 같은, 모낭당 CD3+ T 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다: 비히클로 5-6일 동안; 비히클로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; 화학식 (II)의 화합물로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; 또는 토파시티닙으로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안.

도 24는 하기와 같이 처리된 모낭의 상피에서 측정된 바와 같은, 모낭당 CD3+ T 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다: 비히클로 5-6일 동안; 비히클로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; 화학식 (II)의 화합물로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; 또는 토파시티닙으로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안.

도 25는 하기와 같이 처리된 모낭의 중간엽에서 측정된 바와 같은, 모낭당 CD56+ NK 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다: 비히클로 5-6일 동안; 비히클로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; 화학식 (II)의 화합물로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; 또는 토파시티닙으로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안.

도 26은 하기와 같이 처리된 모낭의 상피에서 측정된 바와 같은, 모낭당 CD56+ NK 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다: 비히클로 5-6일 동안; 비히클로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; 화학식 (II)의 화합물로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; 또는 토파시티닙으로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안.

도 27은 CD3 및 CD56에 대한 모낭의 면역염색의 영상을 보여준다. 좌측 영상은 5-6일 동안 비히클로 처리된 모낭을 보여주고; 중간 영상은 5-6일 동안 비히클로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여주고; 우측 영상은 5-6일 동안 화학식 (II)의 화합물로, 및 배양 제2일에 첨가된 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여준다. 밝은 영역은 CD3 또는 CD56 염색의 영역이다. 염색 영역 중 일부는 화살표로 표시된다.

도 28은 하기와 같이 처리한 모낭의 근위 외근초에서의 MHC-I의 상대적 발현을 보여주는 그래프이다: 비히클로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로 및 배양 제2일에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로 5-6일 동안; 또는 IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 토파시티닙으로 5-6일 동안.

도 29는 하기와 같이 처리된 모낭의 진피 컵에서의 MHC-I의 상대적 발현을 보여주는 그래프이다: 비히클로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로 5-6일 동안; 또는 IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 토파시티닙으로 5-6일 동안.

도 30은 하기와 같이 처리된 모낭의 근위 외근초에서의 MHC-II+ 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다: 비히클로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로 5-6일 동안; 또는 IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 토파시티닙으로 5-6일 동안.

도 31은 하기와 같이 처리된 모낭의 모구 결합 조직초에서의 MHC-II+ 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다: 비히클로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로 5-6일 동안; 또는 IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 토파시티닙으로 5-6일 동안.

도 32는 MHC-I에 대한 모낭의 면역염색의 영상을 보여준다. 좌측 영상은 5-6일 동안 비히클로 처리된 모낭을 보여주고; 중간 영상은 5-6일 동안 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여주고; 우측 영상은 5-6일 동안 IL-12

및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로 처리된 모낭을 보여준다.

도 33은 MHC-II에 대한 모낭의 면역염색의 영상을 보여준다. 좌측 영상은 5-6일 동안 비히클로 처리된 모낭을 보여주고; 중간 영상은 5-6일 동안 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여주고; 우측 영상은 5-6일 동안 IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로 처리된 모낭을 보여준다.

도 34는 하기와 같이 처리된 모낭의 중간엽에서 측정된 바와 같은, 모낭당 CD3+ T 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다: 5-6일 동안 비히클로; IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로 5-6일 동안; 또는 IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 토파시티닙으로 5-6일 동안.

도 35는 하기와 같이 처리된 모낭의 상피에서 측정된 바와 같은, 모낭당 CD3+ T 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다: 비히클로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로 5-6일 동안; 또는 IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 토파시티닙으로 5-6일 동안.

도 36은 하기와 같이 처리된 모낭의 중간엽에서 측정된 바와 같은, 모낭당 CD56+ NK 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다: 비히클로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로 5-6일 동안; 또는 IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 토파시티닙으로 5-6일 동안.

도 37은 하기와 같이 처리된 모낭의 상피에서 측정된 바와 같은, 모낭당 CD56+ NK 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다: 비히클로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로 5-6일 동안; IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로 5-6일 동안; 또는 IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 토파시티닙으로 5-6일 동안.

도 38은 CD3 및 CD56에 대한 모낭의 면역염색의 영상을 보여준다. 좌측 영상은 5-6일 동안 비히클로 처리된 모낭을 보여주고; 중간 영상은 5-6일 동안 IL-12 및 IL-18로 처리된 모낭을 보여주고; 우측 영상은 5-6일 동안 IL-12 및 IL-18로, 및 배양 제2일에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로 처리된 모낭을 보여준다. 밝은 영역은 CD3 또는 CD56 염색의 영역이다. 염색 영역 중 일부는 화살표로 표시된다.

도 39는 다음과 같이 처리된 모낭으로부터의 IFNγ의 상대적 생성을 보여주는 그래프이다: 비히클로; 비히클로 전처리, 배양 배지에 나중에 첨가된 IL-12 및 IL-18로; 화학식 (II)의 화합물로 전처리, 배양 배지에 나중에 첨가된 IL-12 및 IL-18로; 또는 토파시티닙으로 전처리, 배양 배지에 나중에 첨가된 IL-12 및 IL-18로.

도 40은 하기와 같이 처리된 모낭으로부터의 IFNγ의 상대적 생성을 보여주는 그래프이다: 비히클로; IL-12 및 IL-18로; IL-12 및 IL-18로 전처리, 배양 배지에 나중에 첨가된 화학식 (II)의 화합물로; IL-12 및 IL-18로 전처리, 배양 배지에 나중에 첨가된 토파시티닙으로.

도 41은 건강한 공여자, 급성 AA를 갖는 환자, 및 만성 AA를 갖는 환자로부터 얻은 모낭 에서의 IL-12RB2 양성 세포의 상대적 수를 보여주는 그래프이다.

도 42는 IL-12RB2에 대한 모낭의 면역염색의 영상을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 본 개시내용은 부분적으로 국부 IL-12가 AA 발병기전에 중요하다는 발견에 관한 것이다. 실시예에 제시된 바와 같이, IL-18에 의해 지지되는 IL-12는 IFNγ 분비 및 모낭 면역 특권 붕괴를 유도하는데 충분하다. 또한, IL-12 수용체 양성 면역 세포는 AA 환자에서 이환된 모구 주위에 존재한다. 이들 발견에 기초하여, 본 개시내용은 추가로 티로신 키나제 2 (TYK2)의 억제가 IL-12-유도된 모낭 면역 특권 붕괴를 방지할 수 있다는 발견에 관한 것이다. TYK2 억제는 또한 IL-12 및 IL-18에 의해 면역 특권 붕괴가 유도된 후에 모낭의 면역 특권을 회복시킬 수 있다. TYK2의 억제를 통해 모낭의 면역 특권을 회복시키는 능력은 AA 환자에서의 TYK2 억제가 실행가능한 치료 전략임을 입증한다.

[0013] TYK2는 비수용체 티로신 키나제의 야누스 키나제 (JAK) 패밀리의 구성원이고, 마우스 (Ishizaki, M. et al., "Involvement of tyrosine kinase-2 in both the IL-12/Th1 and IL-23/Th17 axes in vivo," J. Immunol., 187:181-189 (2011); Prchal-Murphy, M. et al., "TYK2 kinase activity is required for functional type I interferon responses in vivo," PLoS One, 7:e39141 (2012)) 및 인간 (Minegishi, Y. et al., "Human

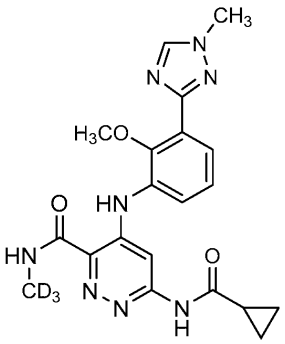
tyrosine kinase 2 deficiency reveals its requisite roles in multiple cytokine signals involved in innate and acquired immunity," Immunity, 25:745-755 (2006)) 둘 다에서 IL-12, IL-23 및 제I형 인터페론에 대한 수용체의 신호 전달 캐스케이드 하류를 조절하는데 중요한 것으로 밝혀졌다. TYK2는 STAT 단백질의 이량체화 및 STAT-의존성 염증유발 유전자의 전사로 이어지는 필수 신호인 전사 인자의 STAT 패밀리의 구성원의 수용체-유도된 인산화를 매개한다. TYK2-결핍 마우스는 결장염, 건선 및 다발성 경화증의 실험 모델에 대해 저항성이며, 이는 자가면역 및 관련 장애에서 TYK2-매개 신호전달의 중요성을 입증한다 (Ishizaki, M. et al., "Involvement of tyrosine kinase-2 in both the IL-12/Th1 and IL-23/Th17 axes in vivo," J. Immunol., 187:181-189 (2011); Oyamada, A. et al., "Tyrosine kinase 2 plays critical roles in the pathogenic CD4 T cell responses for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis," J. Immunol., 183:7539-7546 (2009)).

[0014] 인간에서, TYK2의 불활성 변이체를 발현하는 개체는 다발성 경화증 및 가능하게는 다른 자가면역 장애로부터 보호된다 (Couturier, N. et al., "Tyrosine kinase 2 variant influences T lymphocyte polarization and multiple sclerosis susceptibility," Brain, 134:693-703 (2011)). 게놈-전반 연관성 연구는 TYK2의 다른 변이체가 자가면역 장애, 예컨대 크론병, 건선, 전신 홍반성 루푸스 및 류마티스 관절염과 연관된 것으로 제시하였으며, 이는 자가면역에서 TYK2의 중요성을 추가로 입증한다 (Ellinghaus, D. et al., "Combined Analysis of Genome-wide Association Studies for Crohn Disease and Psoriasis Identifies Seven Shared Susceptibility Loci," Am. J. Hum. Genet., 90:636-647 (2012); Graham, D. et al., "Association of polymorphisms across the tyrosine kinase gene, TYK2 in UK SLE families," Rheumatology (Oxford), 46:927-930 (2007); Eyre, S. et al., "High-density genetic mapping identifies new susceptibility loci for rheumatoid arthritis," Nat. Genet., 44:1336-1340 (2012)).

[0015] 본 개시내용은 일반적으로 면역-매개 탈모 장애, 예컨대 원형 탈모증을 치료하기 위해 TYK2에 대한 억제제를 사용하는 것에 관한 것이다. 원형 탈모증은 염증성 T 세포 및 NK 세포에 의해 침윤된 병변 모낭을 특징으로 하는 질환이다. 건강한 모낭 상피는 모낭이 자가-염증성 면역 반응으로부터 보호되도록 면역 특권을 갖는 부위이고; 이러한 면역 특권은, 예를 들어 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 발현의 하향조절 또는 부재에 의해 달성되는 상대적 면역억제 환경으로 인한 것이다. 건강한 모낭과 대조적으로, AA에서의 모낭은 MHC-I 및 MHC-II의 보다 높은 발현을 갖는다. AA에서의 모낭의 이러한 면역 특권 붕괴는 탈모의 원인인 것으로 여겨진다. Bertolini et al., "Hair follicle immune privilege and its collapse in alopecia areata," Experimental Dermatology, 29:1(23 (2020)). IFNɣ는 AA를 구동시키는 주요 시토카인으로 간주되지만, 질환 발병의 초기 단계 및 사건은 아직 완전히 이해되지 않는다.

[0016] 본원에 제공된 실시예는 TYK2 억제가 면역 특권 붕괴를 방지할 수 있고, 또한 모낭의 면역 특권을 회복시킬 수 있음을 보여준다. 본원에 제시된 바와 같이, 국부 IL-12 신호전달은 상주 IL-12RB2+ 면역 세포로부터의 IFNɣ 생산을 촉진하여 모낭 면역 특권 붕괴를 유도함으로써 AA 발병기전의 초기 단계 및 유지 동안 중요할 수 있다. 본원에서 입증된 바와 같이, TYK2-의존성, IL-12-매개 신호전달의 억제는 모낭 면역 특권 붕괴를 방지하고, 선택적 TYK2 억제제를 사용한 치료는 면역 특권 (붕괴 후)을 회복시킬 수 있다. 이들 발견은 약리학적 AA 요법을 위한 TYK2의 타겟팅을 지지한다.

[0017] 본원에 기재된 방법에 유용한 TYK2 억제제는 미국 특허 번호 RE47,929 E에 개시된 화합물을 포함하며, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, TYK2 억제제는 데우크라바시티닙이다. 데우크라바시티닙은 또한 하기 화학식 (I)의 구조를 갖는 6-(시클로프로판카르복스아미도)-4-((2-메톡시-3-(1-메틸-1H-1,2,4-트리아졸-3-일)페닐)아미노)-N-(메틸-d3)피리다진-3-카르복스아미드로 공지되어 있다.

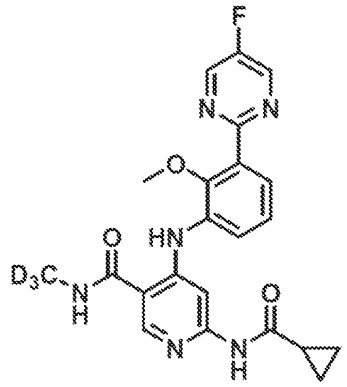


화학식(I)

[0018]

[0019] 데우크라바시티닙은 효소의 촉매 도메인보다는 TYK2의 조절 도메인에 결합함으로써 TYK2를 알로스테릭 억제한다. 데우크라바시티닙은 TYK2에 대해 고도로 선택적이다.

[0020] 본원에 기재된 방법에 사용될 수 있는 다른 TYK2 억제제는 미국 특허 번호 9,663,467에 개시된 화합물을 포함하고, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용되는 TYK2 억제제는 하기 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물이다.



화학식(II)

[0021]

[0022] TYK2 억제제는 제약상 허용되는 염, 예컨대 예를 들어 화학식 (I)의 구조를 갖는 화합물의 제약상 허용되는 염, 또는 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물의 제약상 허용되는 염으로서 투여되거나 제제화될 수 있다. 예를 들어, TYK2 억제제는 화학식 (I)의 구조를 갖는 화합물의 히드로클로라이드 염, 메탄술폰산 염 또는 술페이트 염으로서 제제화될 수 있다. 예를 들어, 국제 출원 번호 PCT/US2019/034534 및 PCT/US2020/036727 (각각 WO 2019/232138 및 WO 2020/251911로서 공개됨)을 참조하며, 이들 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0023] 본원에 기재된 바와 같이 탈모 장애를 치료하기 위해 TYK2 억제제를 투여하는 것은 TYK2 억제제를 전신으로 (예를 들어, 경구로), 또는 피부의 이환 부위(들)에 국부로 (예를 들어, 국소 투여에 의해 또는 국부 주사에 의해) 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, TYK2 억제제는 경구로, 국소로, 또는 경구 로 및 국소로 둘 다로 투여된다. 경구 투여 형태는, 예를 들어 국제 출원 번호 PCT/US2020/051342 (WO 2021/055652로서 공개됨)에 기재된 바와 같은 투여 형태를 포함하며, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 국소 투여 형태는 예를 들어 겔, 크림, 연고, 폼 및 용액을 포함한다. TYK2 억제제의 투여는 1일 1회, 1일 2회 또는 1일 3회 투여를 포함할 수 있다. 또한, TYK2 억제제는 수주 (예를 들어, 적어도 2주 동안) 또는 수개월 (예를 들어, 1개월, 2개월, 3개월 또는 그 초과 동안)의 과정에 걸쳐 투여될 수 있다.

[0024] 본원에 기재된 임의의 실시양태에 대해, 대상체에게 (예를 들어, 경구로) 투여될 수 있는 TYK2 억제제의 용량은 1일에 약 1 mg 내지 약 100 mg, 또는 1일에 약 1 mg 내지 약 40 mg의 범위일 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 1일에 3 mg, 6 mg, 12 mg, 15 mg 또는 36 mg 용량의 TYK2 억제제가 본원에 기재된 바와 같은 방법으로 대상체에게 투여된다. 이러한 1일당 용량은 1일 1회 투여될 수 있거나, 또는 2회 이상의 분할 용량으로 투여될 수 있다 (예를 들어, 12 mg의 총 1일 용량의 경우에, 12 mg은 1일 1회 투여될 수 있거나, 또는 2회 6 mg 용량으로 투여될 수 있거나, 또는 3회 4 mg 용량으로 투여될 수 있다). 특정 실시양태에서, TYK2 억제제는 데우크라

바시티닙이다. 다른 실시양태에서, TYK2 억제제는 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물이다.

[0025] 본 발명의 특정 실시양태는 탈모의 재발을 예방하는 방법에 관한 것이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 방법은 이전에 탈모 장애를 앓았거나 또는 탈모 장애 (예를 들어, 원형 탈모증)로 진단된 대상체에게 TYK2 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 특정의 이러한 실시양태에서, 대상체는 현재 탈모를 경험하고 있지 않을 수 있지만, 이전에 탈모를 앓았다. 추가 실시양태에서, 대상체는, 예를 들어 두피의 특정 영역에 TYK2 억제제를 국소적으로 투여받는다.

[0026] 또한, 본 발명의 실시양태는 대상체에서 탈모를 치료하는 방법에 관한 것이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 방법은 탈모를 앓고 있는 대상체에게 TYK2 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 이러한 대상체는 원형 탈모증과 연관된 탈모를 경험하는 환자일 수 있다. 이러한 대상체에게 TYK2 억제제를 투여하는 것은 이환 부위에서 모발 재성장을 촉진할 수 있다.

[0027] 원형 탈모증으로서 공지된 자가면역 질환의 여러 형태가 존재한다. 원형 탈모증을 갖는 대상체는 정상적으로 모발을 성장시키는 신체의 부위 (예를 들어, 두피)에서 반점형 탈모를 앓을 수 있다. 일부 경우에, 탈모는 전체 두피 (전두 탈모증으로 공지됨) 또는 전체 신체 (범발성 탈모증으로 공지됨)로 진행된다. 모든 유형의 원형 탈모증은 본원에 기재된 실시양태의 범주 내에 속한다.

[0028] 본원에 기재된 임의의 실시양태에서, 대상체에게 TYK2 억제제를 하나 이상의 다른 작용제와 조합하여 투여할 수 있다.

[0029] 본 발명의 문맥에서, 대상체, 특히 인간 대상체는 또한 환자로 지칭될 수 있다.

[0030] 실시예

[0031] 본 발명은 하기 실시예에 의해 추가로 기재될 것이다. 실시예는 단지 본 발명 및 그의 실시를 예시하는 역할을 한다. 실시예는 본 발명의 범주 또는 취지에 대한 제한으로 해석되어서는 안된다.

[0032] 하기 실시예 및 첨부 도면에서, 하기 약어가 적용된다: AA = 원형 탈모증; HF = 모낭; IFNɣ = 인터페론 감마; IL = 인터류킨; IR = 면역반응성; MHC = 주요 조직적합성 복합체; NK = 자연 킬러; ORS = 외근초; DC = 진피 컵; CTS = 결합 조직초; Tofa = 토파시티닙; FC = 변화 배수. 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물은 첨부 도면에서 "BMS"로 표시된다.

[0033] AA 병리생물학에서의 IL-12의 역할 및 치료 표적으로서의 그의 잠재력을 다루기 위해, 인간 두피로부터의 미세절제된 모낭을 IL-12 (3 ng/mL) 및 IL-18 (20 ng/mL)의 존재 하에 및 선택적 알로스테릭 TYK2 억제제인 화학식 (II)의 화합물 (300 nM)의 존재 또는 부재 하에 배양하였다. IFNɣ (75 UI/mL)를 면역 특권 (IP) 붕괴를 유도하기 위한 양성 대조군으로서 사용하고, 토파시티닙을 IFNɣ 신호전달을 차단하기 위한 양성 대조군으로서 사용하였다. 모낭 면역 특권 (HF-IP)을 MHC 클래스 I, MHC 클래스 II, 및 MHC 클래스 사슬-관련 단백질 A 및 MHC 클래스 사슬-관련 단백질 B (MICA/B)의 정량적 면역조직형태계측에 의해 평가하였다. 상주 면역 세포 집단을 CD3-양성 세포 및 CD56-양성 세포의 정량화에 의해 평가하였다. 처리된 모낭의 유전자 발현을 전체 트랜스크립톰 분석을 사용하여 평가하였다. IFNɣ 생산은 효소-결합 면역흡착 검정 (R&D 시스템)에 의해 정량화하였다. IL-12RB2-발현 세포를 건강한 공여자, 급성 AA 환자, 및 만성 AA 환자에서 면역조직형태계측을 이용하여 평가하였다.

[0034] **실시예 1: AA 발병기전에서의 IL-12의 역할 및 AA에서의 치료 표적으로서의 IL-12의 잠재력의 평가**

[0035] 모낭 면역 특권 붕괴의 생체외 모델을 확립하였다. 인간 두피로부터의 미세절제된 모낭을 비히클; IL-12 (3 ng/mL) 및 IL-18 (20 ng/mL); 또는 IFNɣ (75 UI/mL)의 존재 하에 5-6일 동안 생체외 배양하였다. 각각의 군은 4-9명의 독립적인 건강한 공여자로부터 수득된 19-48개의 모낭을 포함하였다. 모낭 면역 특권 붕괴를 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II, 및 MICA/B의 정량적 면역조직형태계측에 의해 평가하였다. 도 1 내지 9를 참조한다. 도 1 내지 6의 그래프는 평균 ± SEM (평균의 표준 오차) 및 던(Dunn) 다중 비교 시험의 결과 ($^{*}p < 0.05$; $^{**}p < 0.01$; $^{***}p < 0.001$; $^{****}p < 0.0001$)를 보여준다. 도 7, 8, 및 9는 각각 MHC-I, MHC-II, 및 MICA/B의 면역염색을 보여준다 (축척 막대 = 100 μm).

[0036] IL-12 및 IL-18로의 처리는 항원 제시 분자의 유의한 증가로 이어졌다. IL-12 및 IL-18로의 처리는, 비히클과 비교하여, 모낭 외근초에서, 및 유사하게 진피 컵에서 MHC 클래스 I 발현을 증가시켰다. IL-12 및 IL-18로의 처리는, 비히클과 비교하여, 또한 모구 결합 조직초에서 MHC 클래스 II-발현 세포의 수를 증가시켰고, 외근초에

서 MHC 클래스 II 이소성 발현을 증가시켰다. 이러한 MHC 클래스 II 이소성 발현은 HF-IP 붕괴의 주요 특징이다.

[0037] T 세포 및 NK 세포 확장에 대한 IL-12 및 IL-18 처리의 효과를 또한 조사하였다. 미세절제된 모낭을 다시 비히클, IL-12 (3 ng/mL) 및 IL-18 (20 ng/mL), 또는 IFNɣ (75 UI/mL)로 5-6일 동안 처리하였다. 각각의 군은 2-6명의 독립적인 건강한 공여자로부터 수득된 9-29개의 모낭을 포함하였다. 상주 면역 세포 집단을 CD3-양성 세포 및 CD56-양성 세포의 정량화에 의해 평가하였다. 도 10 내지 12를 참조한다. 도 10 및 11은 평균 ± SEM 및 던 다중 비교 시험의 결과 (* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$)를 보여준다. 도 12는 모낭에서의 CD3 (T 세포) 및 CD56 (NK 세포)의 면역염색을 보여준다 (축척 막대 = 50 μm).

[0038] 모낭의 IL-12 + IL-18 처리는 모낭 상피 및 중간엽에서 CD3+ T 세포 및 CD56+ NK 세포의 수를 증가시켰다. 소수의 T 및 NK 세포가 비히클-처리된 모낭에서 관찰되었다. 그러나, 모낭을 IL-12 + IL-18로 처리하는 것은 T 및 NK 세포의 수를 증가시켰다. T 세포 및 NK 세포는 AA에서 주요 이펙터 세포이고, 이들 결과는 IL-12 및 IL-18로의 처리가 건강한 두피 모낭에서 이들 세포의 수를 증가시킨다는 것을 보여준다.

[0039] 처리된 모낭의 유전자 발현을 전체 트랜스크립톰 분석을 사용하여 평가하였다. 이러한 분석을 위해, 2-3명의 독립적인 건강한 공여자로부터 수득된 6-15개의 모낭을 비히클과 함께, IL-12 (3, 4.5, 또는 6 ng/mL) 및 IL-18 (20, 30, 또는 40 ng/mL)과 함께, 또는 IFNɣ (75 IU/mL)와 함께 24시간 동안 배양한 후에 전체 트랜스크립톰 분석을 수행하였다. 도 13은 비히클-처리된 모낭 (3명의 공여자로부터)에 대해 정규화된 IL-12 + IL-18-처리된 모낭 (3명의 공여자로부터)에서의 차등 발현된 유전자를 보여준다 (수평 파선은 조정된 $p < 0.05$를 나타냄). 도 14는 메타코어(MetaCore) 데이터베이스를 참조하여 상위 10개의 유의하게 풍부화된 경로 (도 14에서의 수직 선은 조정된 $p < 0.05$를 나타냄)를 보여준다. 도 15는 비히클-처리된 모낭에 대해 정규화된 IFNɣ-처리된 모낭 (2명의 공여자로부터의 것)에서의 차등 발현된 유전자를 보여준다 (수평 파선은 조정된 $p < 0.05$를 나타냄). 도 16은 IL-12 + IL-18-처리된 모낭 대 IFNɣ-처리된 모낭의 차등 발현된 유전자를 보여준다 (파선 수평선은 조정된 $p < 0.05$를 나타냄).

[0040] 상기 전체 트랜스크립톰 및 경로 분석은 모낭의 IL-12 + IL-18 처리가 IFNɣ 및 IFNɣ-유도성 유전자, 및 항원-제시 경로와 관련된 유전자 (예를 들어, MHC-II, 상기 단백질 발현 결과와 일치함), 뿐만 아니라 AA와 관련된 화학유인물질 (예를 들어, CXCL-10)의 발현을 선택적으로 유도하였음을 밝혀내었다. IFNɣ-처리된 모낭 대 비히클-처리된 모낭에서 검출된 차등 조절된 유전자는 유사하였다. IL-12 + IL-18-처리된 모낭 대 IFNɣ-처리된 모낭 사이에 유의한 유전자 발현 차이는 관찰되지 않았다 (도 16 참조). 이들 결과는 IL-18에 의해 지지된 IL-12가 IFNɣ 발현을 유도한다는 것을 나타낸다.

[0041] **실시예 2: TYK2의 억제는 모낭의 IL-12 + IL-18-유도된 면역 특권 붕괴를 방지하였다**

[0042] 모낭을 예방적 검정에서 화학식 (II)의 구조를 갖는 화합물 (도면에서 "BMS"로 표시됨)로 전처리한 후, IL-12 및 IL-18을 첨가하였다. 비교를 위해 토파시티닙을 대조군으로서 사용하였다. 본 검정에서, 각각의 군은 3-5명의 독립적인 건강한 공여자로부터 수득된 19-40개의 모낭을 포함하였다. 군을 하기와 같이 처리하였다: 비히클, 화학식 (II)의 화합물 (300 nM), 또는 토파시티닙 (400 nM)으로 5-6일 동안; 배양 제2일에, 비히클, 또는 IL-12 (3 ng/mL) 및 IL-18 (20 ng/mL)을 첨가하였다. MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II의 수준을 상기 기재된 바와 같이 평가하였고, 도 17-22는 결과를 제공한다. 도 17-20의 그래프는 평균 ± SEM 및 던 다중 비교 시험의 결과 (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; **** $p < 0.0001$)를 보여준다. 도 21 및 22는 모낭에서의 MHC-I 및 MHC-II 각각의 염색을 보여준다 (축척 막대 = 100 μm).

[0043] 화학식 (II)의 화합물을 사용한 TYK2의 억제는 외근초에서 MHC 클래스 I 및 II의 IL-12 + IL-18-매개 상향조절을 방지하였다. 화학식 (II)의 화합물에 의한 TYK2 억제의 효과는 토파시티닙으로 관찰된 효과보다 더 컸다. 이러한 효과는 또한 다른 모낭 구획에서 관찰되었다. 예를 들어, 도 18을 참조한다. 이들 결과는 화학식 (II)의 화합물로의 전처리가 모낭의 IL-12 및 IL-18-유도된 면역 특권 붕괴를 방지하였음을 보여준다. 이들 결과는 또한 IL-12 신호전달이 IL-12 + IL-18-매개 면역 특권 붕괴의 유도에 요구된다는 것을 확인시켜 준다.

[0044] IL-12 및 IL-18 자극 후에 T 세포 및 NK 세포 확장에 대한 화학식 (II)의 화합물로의 전처리의 효과를 또한 조사하였다. 4-5명의 독립적인 건강한 공여자로부터 수득된 22-40개의 모낭을 비히클, 화학식 (II)의 화합물 (300 nM), 또는 토파시티닙 (400 nM)과 함께 5-6일 동안 인큐베이션하였다. 배양 제2일에, 비히클, 또는 IL-12 (3 ng/mL) 및 IL-18 (20 ng/mL)을 첨가하였다. 상주 면역 세포 집단을 CD3-양성 세포 및 CD56-양성 세포의 정량화에 의해 평가하였다. 도 23-27은 결과를 제공한다. 도 23-26의 그래프는 평균 ± SEM 및 던 다중 비교 시

험의 결과 ($^{*}p < 0.05$; $^{***}p < 0.001$)를 보여준다. 도 27은 모낭에서의 CD3 및 CD56의 염색을 보여준다 (축척 막대 = 50 μm). 화학식 (II)의 화합물로의 전처리는 상기 결과와 일치하게 CD3+ T 세포 빈도 및 CD56+ NK 세포 빈도의 상승을 방지하였다.

[0045] **실시예 3: 화학식 (II)의 화합물을 사용한 TYK2의 억제는 IL-12 및 IL-18-유도된 면역 특권 붕괴 후에 모낭 면역 특권을 회복시켰다.**

[0046] 상기 검정은 TYK2 억제가 진행중인 IL-12 + IL-18-매개 모낭 면역 특권 붕괴를 억제할 수 있는지, 및 따라서 TYK2 억제가 원형 탈모증을 치료하기 위한 실행가능한 치료 전략인지 여부를 조사하기 위해 적용되었다. 이들 검정에서, 면역 특권 붕괴를 먼저 IL-12 + IL-18로의 처리에 의해 유도하고, 이어서 화학식 (II)의 화합물을 첨가하였다.

[0047] TYK2 억제가 모낭 면역 특권을 회복시킬 수 있는지 여부를 평가하기 위해, 3-4명의 독립적인 건강한 공여자로부터 수득된 21-31개의 모낭을 비히클과 함께, 또는 IL-12 (3 ng/mL) 및 IL-18 (20 ng/mL)과 함께 5-6일 동안 배양하였다. 배양 제2일에, 화학식 (II)의 화합물 (300 nM) 또는 토파시티닙 (400 nM)을 제5-6일까지 첨가하였다. 이전에 수행된 바와 같이, MHC 클래스 I 발현 및 MHC 클래스 II 발현을 측정하였다. 도 28 내지 33을 참조한다. 도 28 내지 31의 그래프는 평균 ± SEM을 던 다중 비교 시험으로부터의 p-값 ($^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$; $^{***}p < 0.001$; $^{****}p < 0.0001$)과 함께 나타낸다. 도 32 및 33은 모낭에서 각각 MHC-I 및 MHC-II의 염색을 보여준다 (축척 막대 = 100 μm). 화학식 (II)의 화합물 및 토파시티닙은 각각 IL-12 + IL-18-유도된 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II의 발현을 유의하게 감소시켰다. 이들 결과는 TYK2 억제가 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 수준을 비히클-처리된 모낭에서 관찰된 수준 (건강한 모낭에서의 수준을 반영함)으로 회복시킬 수 있음을 보여준다. 상기 논의된 바와 같이, MHC 클래스 I 및 II는 면역 특권 붕괴의 마커이다.

[0048] TYK2 억제가 진행중인 T 세포 및 NK 세포 확장을 차단할 수 있는지 여부를 평가하기 위해, 모낭을 먼저 비히클, 또는 IL-12 + IL-18과 함께 인큐베이션한 다음, 화학식 (II)의 화합물 또는 토파시티닙을 첨가하였다. 구체적으로, 3-4명의 독립적인 건강한 공여자로부터 수득된 24-33개의 모낭을 비히클, 또는 IL-12 (3 ng/mL) 및 IL-18 (20 ng/mL)로 5-6일 동안 처리하였다. 배양 제2일에, 화학식 (II)의 화합물 (300 nM) 또는 토파시티닙 (400 nM)을 첨가하였다. T 세포 확장 및 NK 세포 확장을 CD3 (T 세포) 또는 CD56 (NK 세포)에 대한 면역염색에 의해 평가하였다. 도 34 내지 37의 그래프는 평균 ± SEM을 던 다중 비교 시험으로부터의 p-값 ($^{*}p < 0.05$; $^{**}p < 0.01$; $^{***}p < 0.001$; $^{****}p < 0.0001$)과 함께 보여준다. 도 38은 모낭에서 CD3 및 CD56에 대한 염색의 영상을 제공한다 (축척 막대 = 50 μm).

[0049] 화학식 (II)의 화합물로의 처리는 IL-12 + IL-18 자극 후에 모낭 상피 및 중간엽에서의 T 세포 및 NK 세포의 증가로부터 모낭을 구제하였다. 도 34-37에서 보여지는 바와 같이, 화학식 (II)의 화합물을 사용한 TYK2 억제는 비히클-처리된 모낭에서 관찰된 수와 유사한 T 세포 및 NK 세포 수를 달성하였고; 화합물은 IL-12 및 IL-18에 의해 유도된 T 세포 및 NK 세포 확장을 역전시켰다.

[0050] 모낭에 의한 IFNɣ 생산에 대한 TYK2 억제의 효과를 또한 평가하였다. 구체적으로, TYK2 억제가 IL-12 + IL-18로 처리된 생체외 배양된 모낭의 배지 내로의 IFNɣ 분비에 어떻게 영향을 미치는지를 조사하기 위해 2가지 검정을 수행하였다. 예방적 검정에서, 모낭을 화학식 (II)의 화합물 또는 토파시티닙으로 전처리한 다음, IL-12 + IL-18의 존재 하에 배양한 후, 배양 배지 중의 IFNɣ를 측정하였다. 도 39를 참조한다. 치료적 검정에서, 모낭을 먼저 IL-12 + IL-18로 처리한 다음; 화학식 (II)의 화합물 또는 토파시티닙을 첨가하고, 배양을 계속한 후, 배양 배지 중의 IFNɣ를 측정하였다. 도 40을 참조한다. 도 39 및 40의 데이터는 1-2명의 건강한 공여자로부터 수득된, 군당 n = 8개의 모낭으로부터 풀링된 배양 배지에서 측정된 IFNɣ의 양에 기초한다. 그래프는 기술적 중복으로부터의 평균 ± SEM을 보여준다.

[0051] 도 39 및 40에서 보여지는 바와 같이, IL-12 + IL-18에 의한 국부 자극은 생체외 모낭으로부터의 IFNɣ 방출로 이어진다. TYK2 억제는 배지 내로의 IFNɣ 분비를 방지할 수 있을 뿐만 아니라, 분비를 거의 기준선 수준으로 회복시킬 수 있는 반면, 이러한 회복은 토파시티닙으로는 관찰되지 않았다.

[0052] 상기 실시예는 IL-12가 IFNɣ 분비, 면역 세포 확장, 및 HF-IP 붕괴를 촉진하는데 있어서 주요 이펙터 시토카인이라는 것을 보여준다. 특히, 토파시티닙 처리는 배양 배지 내로의 IFNɣ 방출을 감소시키지 않았다. 토파시티닙과 달리, 화학식 (II)의 화합물은 TYK2 및 IL-12 수용체 신호전달 경로를 직접적으로 및 선택적으로 표적화

함으로써 IFNɣ 방출을 억제하는 TYK2 억제제이다.

[0053] **실시예 4: AA에서의 IL-12 수용체 발현**

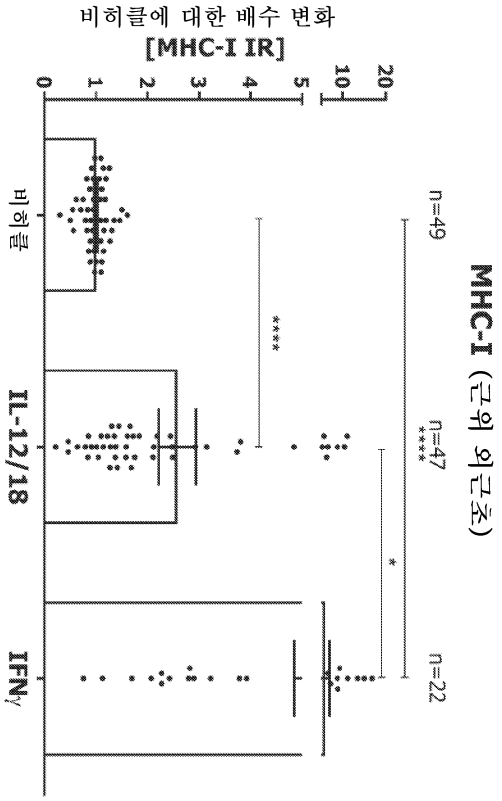
[0054] TYK2 억제가 원형 탈모증 관리를 위한 매력적인 새로운 표적임을 확인하기 위해, 급성 및 만성 AA 환자로부터 새로 수득한 병변 피부에서의 IL-12 수용체의 발현을 건강한 대조군으로부터의 피부에서의 IL-12 수용체 발현과 비교하였다. IL-12RB2-발현 세포를 건강한 공여자, 급성 AA 환자, 및 만성 AA 환자에서 면역조직형태계측을 이용하여 평가하였다. 도 41은 3-4명의 독립적인 공여자 (나타낸 바와 같이 건강한 공여자, 급성 AA를 갖는 환자, 또는 만성 AA를 갖는 환자)의 두피 생검으로부터 수득된, 군당 25-27개의 모낭으로부터의 데이터를 제공한다. 도 42에서의 면역염색의 경우, 축척 막대 = 200 μm이다.

[0055] 도 41에서 보여지는 바와 같이, 건강한 개체로부터의 피부에서의 IL-12RB2+ 세포의 수와 비교하여 급성 AA 환자로부터의 피부에서 모구 주위에서 보다 많은 수의 IL-12RB2+ 세포가 관찰되었다. 이러한 결과는 AA 발병기전에서의 IL-12 신호전달의 역할을 추가로 뒷받침한다. IL-12RB2+ 세포는 또한 만성 AA 환자에서 관찰되었고, 이것은 남아있는 상주 면역 세포가 IL-12 자극에 반응하는 능력을 보유함을 시사한다.

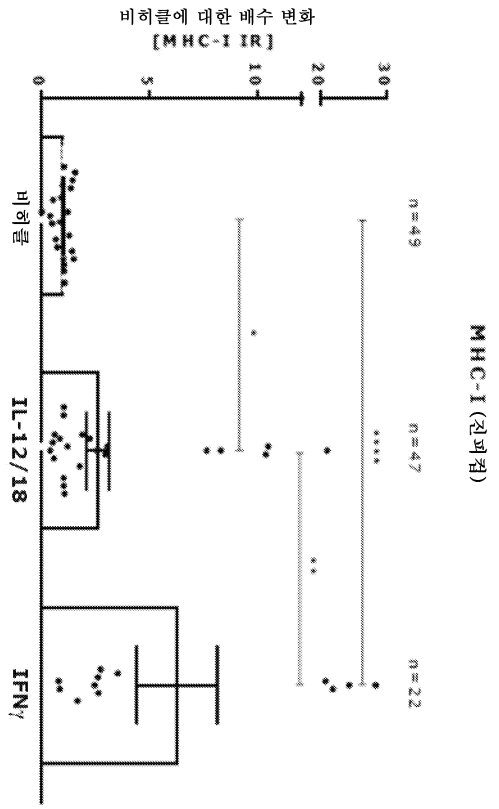
[0056] 본 발명은 특히 그의 바람직한 실시양태를 참조하여 제시되고 기재되었지만, 본 개시내용에 비추어 형태 및 세부사항에 있어서 다양한 변화가 첨부된 청구범위에 의해 포괄되는 본 발명의 범주로부터 벗어나지 않으면서 그 안에서 이루어질 수 있음이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다.

도면

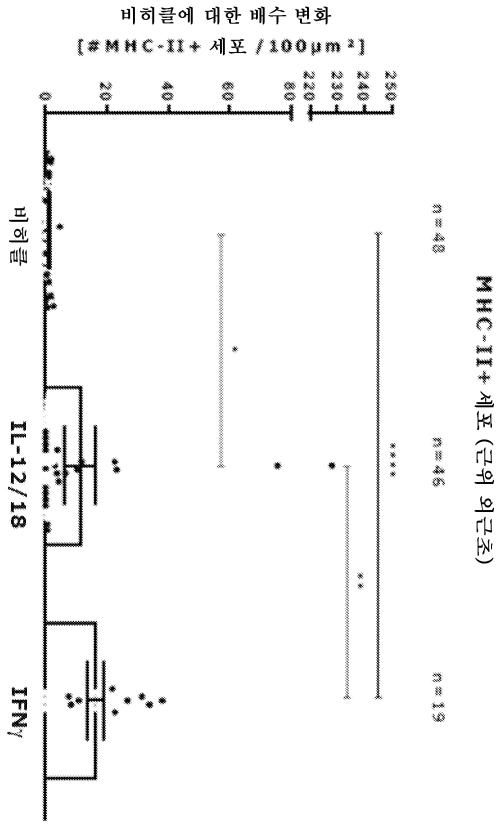
도면1



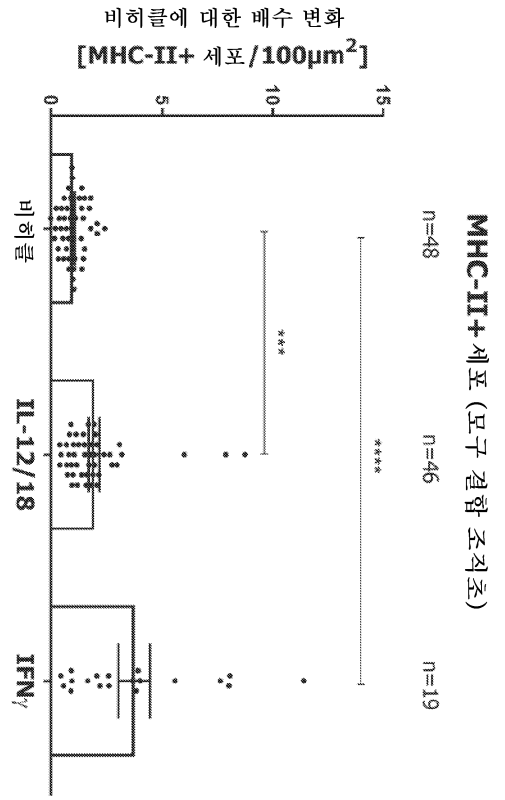
도면2


비히클에 대한 배수 변화
[MHC-I IR]
0
5
10
20
30
비히클
IL-12/18
IFNγ
n=49
n=47
n=22
MHC-I (전체컵)

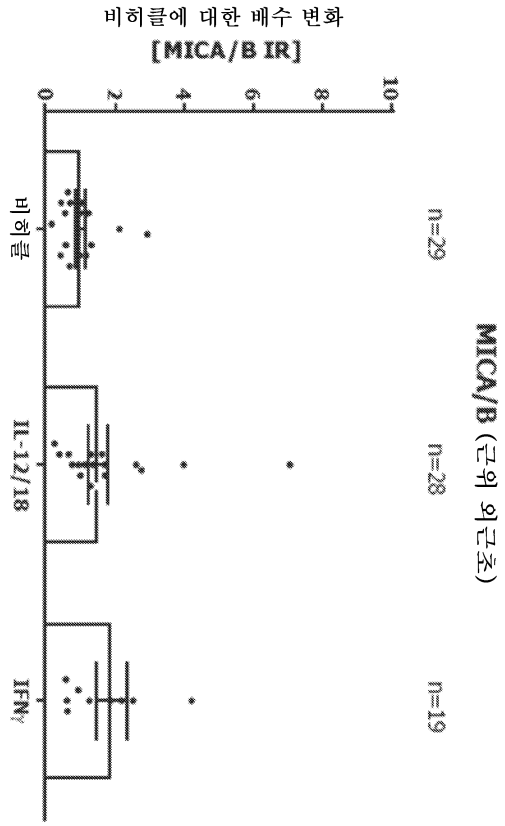
도면3


비히클에 대한 배수 변화
[#MHC-II+ 세포 /100μm²]
0
20
40
60
80
220
230
240
250
비히클
IL-12/18
IFNγ
n=48
n=46
n=19
MHC-II+세포 (근위 외근조)

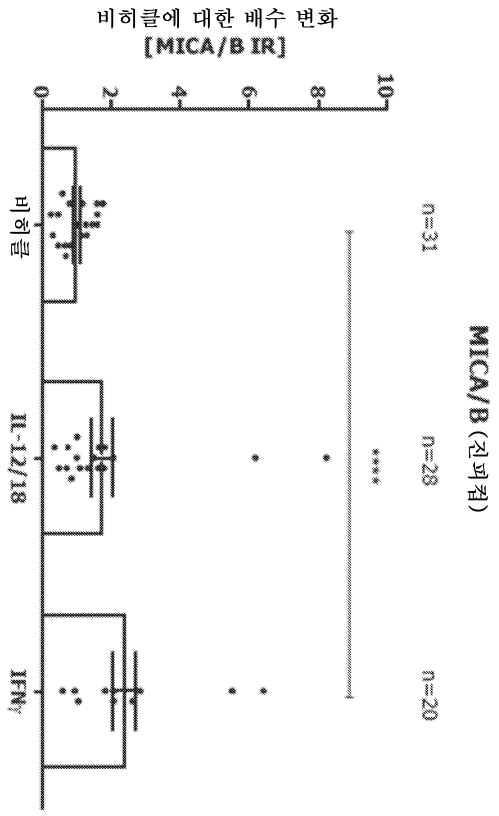
도면4


비히클에 대한 배수 변화
[MHC-II+ 세포/100μm²]
0
5
10
15
비히클
IL-12/18
IFNγ
***
****
MHC-II+세포 (모구 결합 조직초)
n=48
n=46
n=19

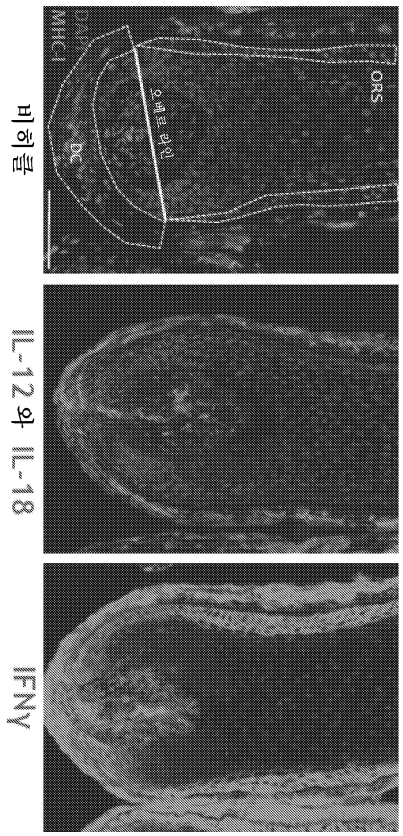
도면5


비히클에 대한 배수 변화
[MICA/B IR]
0
2
4
6
8
10
비히클
IL-12/18
IFNγ
MICA/B (근위 외근초)
n=29
n=28
n=19

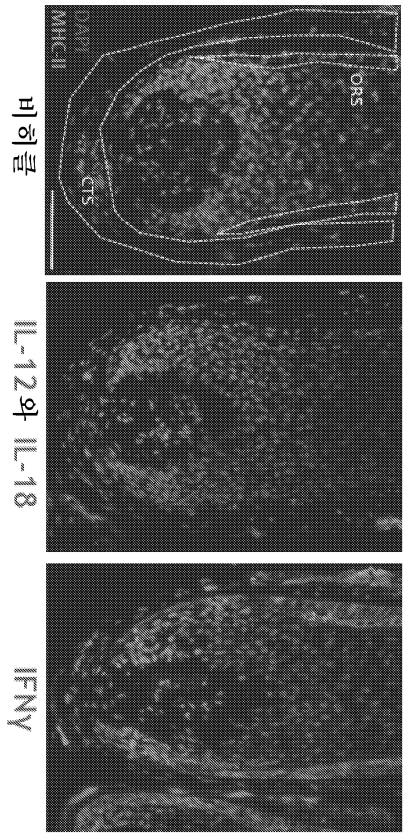
도면6


비히클에 대한 배수 변화
[MICA/B IR]
0
2
4
6
8
10
비히클
IL-12/18
IFNγ
n=31
n=28
n=20
****
MICA/B (진피컵)

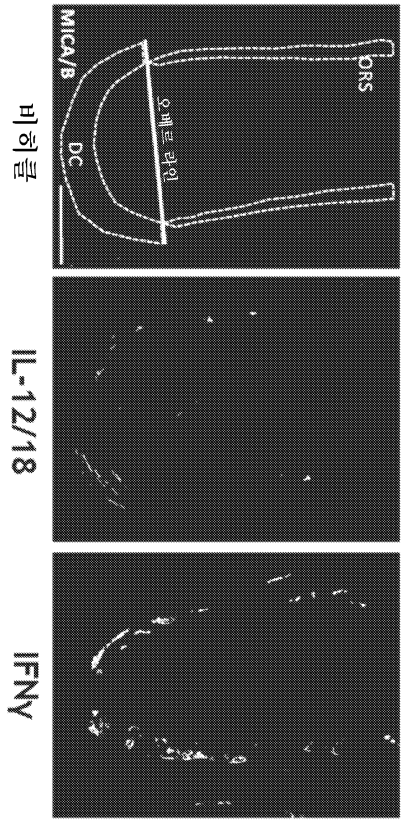
도면7


비히클
IL-12 와 IL-18
IFNγ
MHC I
ORS
DC

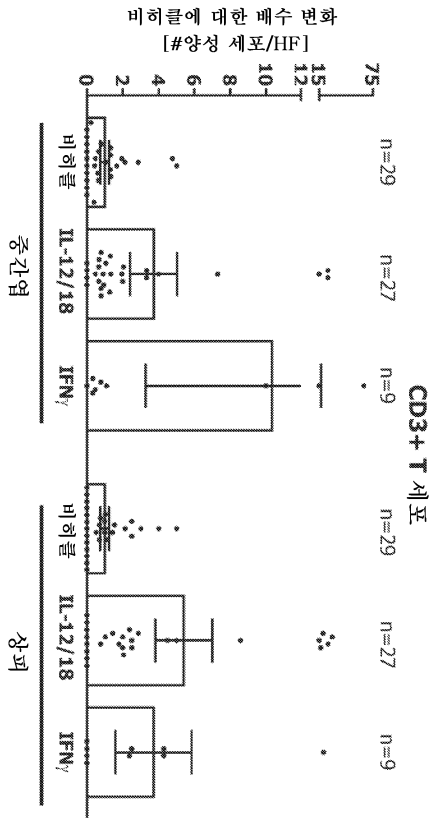
도면8


비히클
IL-12와 IL-18
IFNγ
MHC II
ORS
CTS

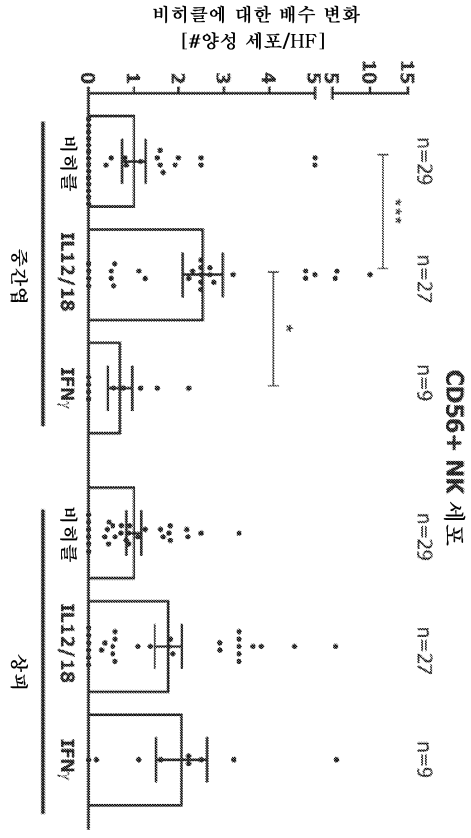
도면9


비히클
IL-12/18
IFNγ
MICA/B
ORS
DC

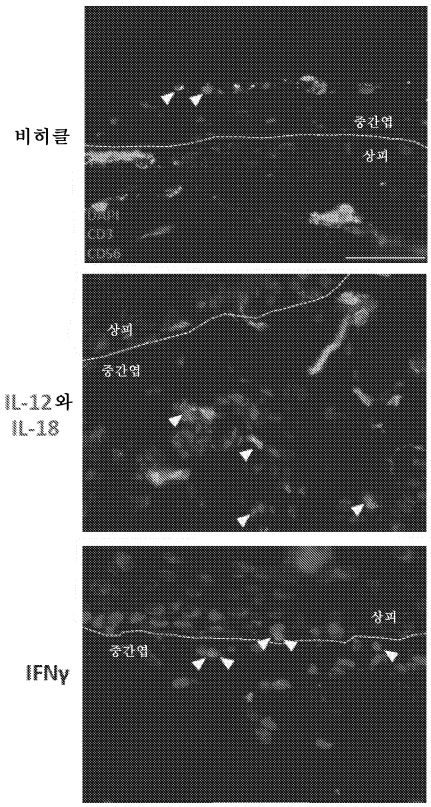
도면10


비히클에 대한 배수 변화
[#양성 세포/HF]
CD3+ T 세포
중간엽
상피
비히클
IL-12/18
IFNγ
n=29
n=27
n=9

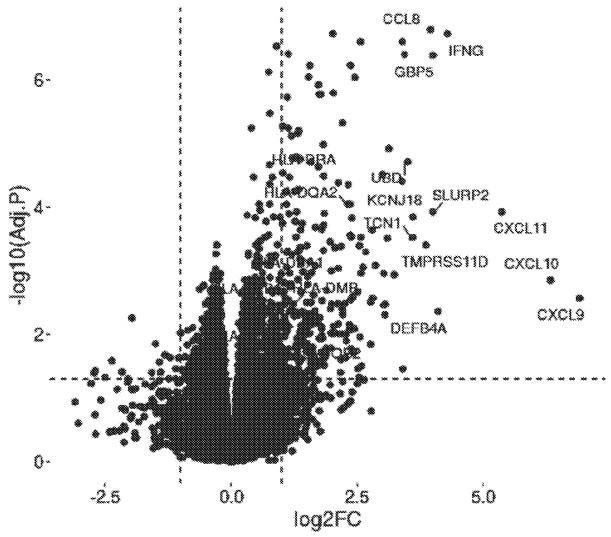
도면11


비히클에 대한 배수 변화
[#양성 세포/HF]
CD56+ NK 세포
중간엽
상피
비히클
IL12/18
IFNγ
n=29
n=27
n=9
***
*

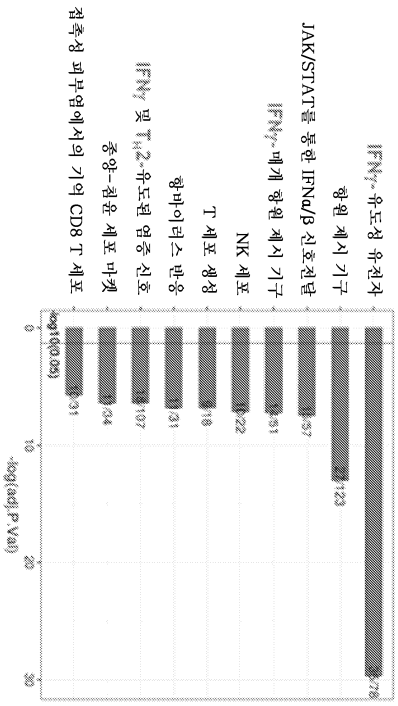
도면12


비히클
중간엽
상피
IL-12와
IL-18
상피
중간엽
IFNγ
상피
중간엽

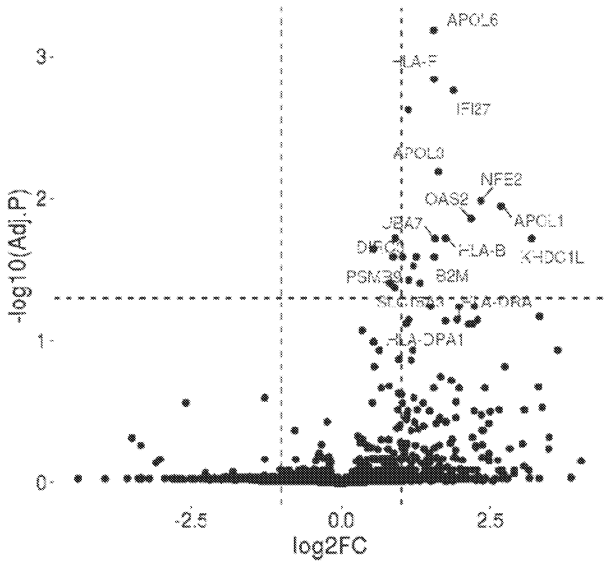
도면13


CCL8
IFNG
GBP5
UBD
KCNJ18
SLURP2
TCN1
CXCL11
TMPRSS11D
CXCL10
CXCL9
DEFB4A
6-
4-
2-
0-
-log10(Adj.P)
-2.5
0.0
2.5
5.0
log2FC

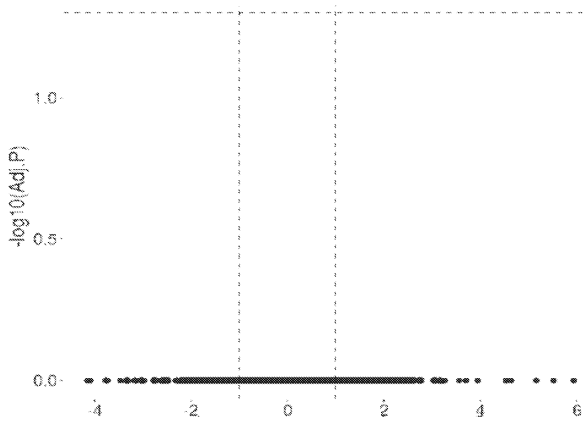
도면14


IFNγ-유도성 유전자
항원 제시 기구
JAK/STAT를 통한 IFNα/β 신호전달
IFNγ-매개 항원 제시 기구
NK 세포
T 세포 생성
항바이러스 반응
IFNγ 및 TH2-유도된 염증 신호
종양-침윤 세포 마켓
접촉성 피부염에서의 기억 CD8 T 세포
-log10(adj.p.val)

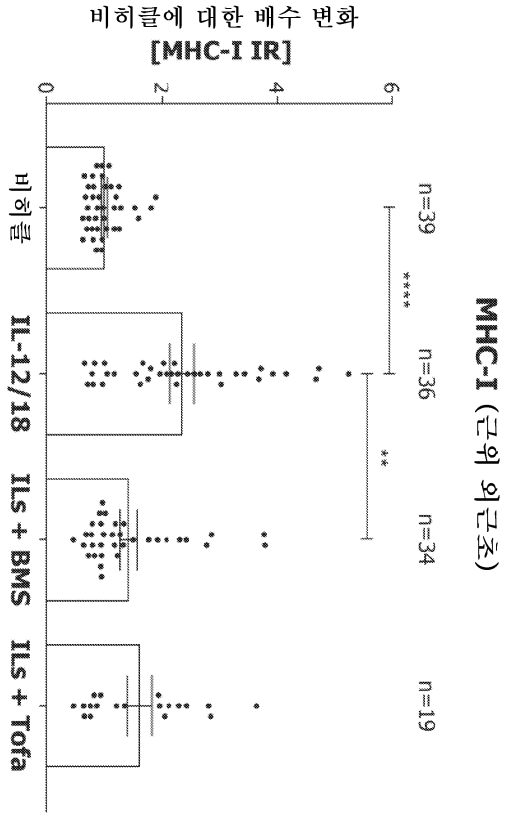
도면15


APOL6
IFI27
APOL3
NFE2
OAS2
APOL1
JUNB
DHFC
HLA-B
KHDC1L
PSMB9
B2M
HLA-DRA
HLA-DPA1
-log10(Adj.P)
log2FC

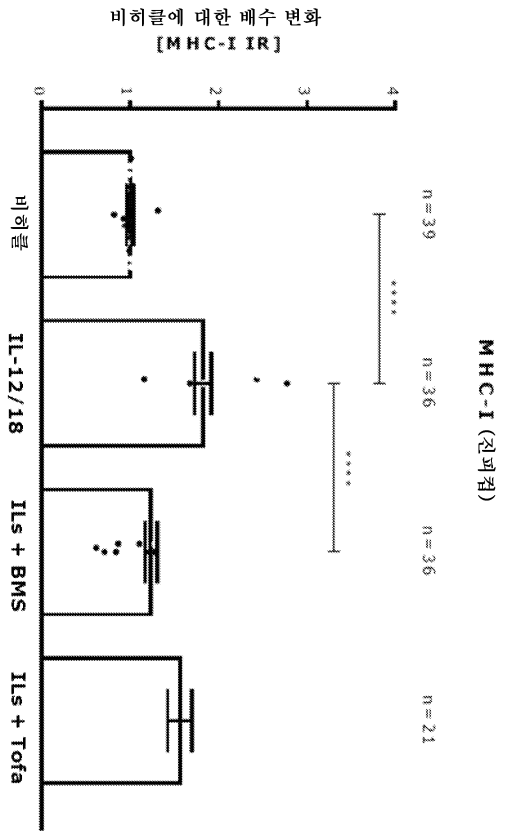
도면16


1.0
0.5
0.0
-log10(Adj.P)
-4
-2
0
2
4
6

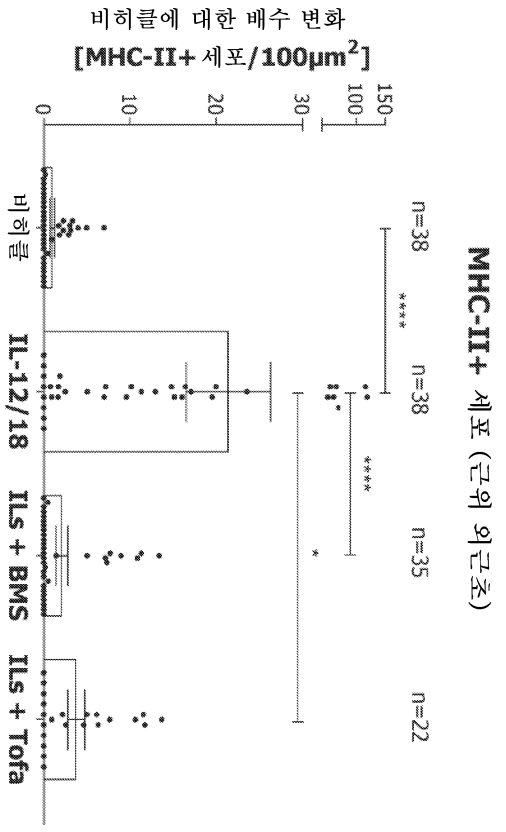
도면17


비히클에 대한 배수 변화
[MHC-I IR]
0
2
4
6
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=39
n=36
n=34
n=19
****
**
MHC-I (근위 외근초)

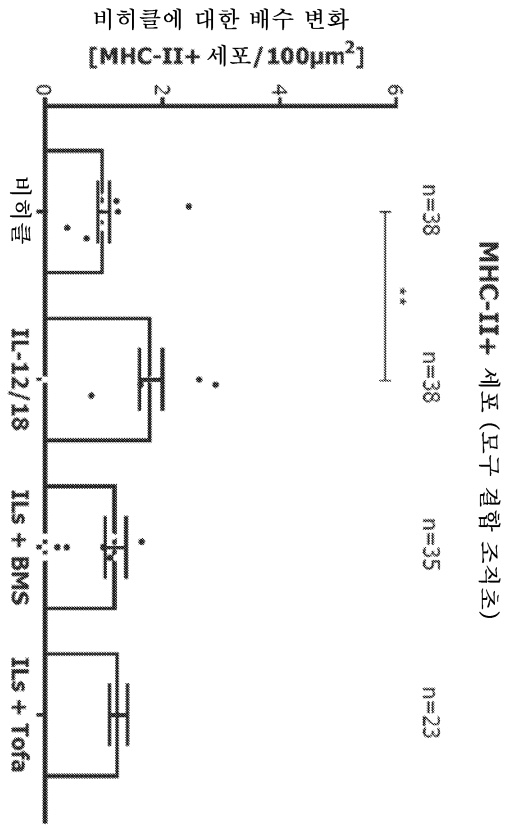
도면18


비히클에 대한 배수 변화
[MHC-I IR]
0
1
2
3
4
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=39
n=36
n=36
n=21
****
****
MHC-I (진피컵)

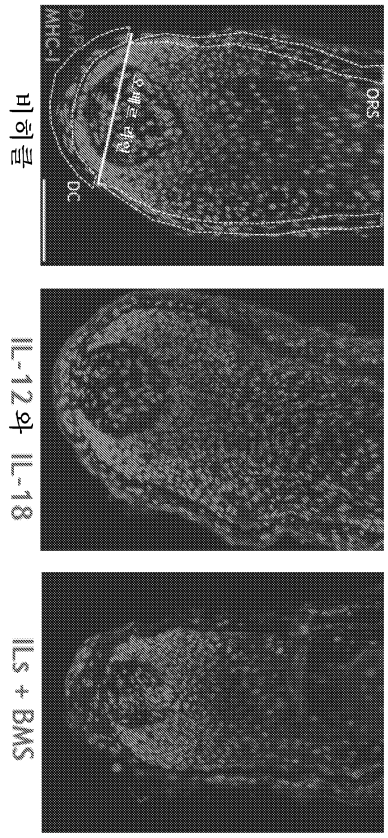
도면19


비히클에 대한 배수 변화
[MHC-II+ 세포/100μm²]
0
10
20
30
100
150
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=38
n=38
n=35
n=22
****
****
*
MHC-II+ 세포 (근위 외근초)

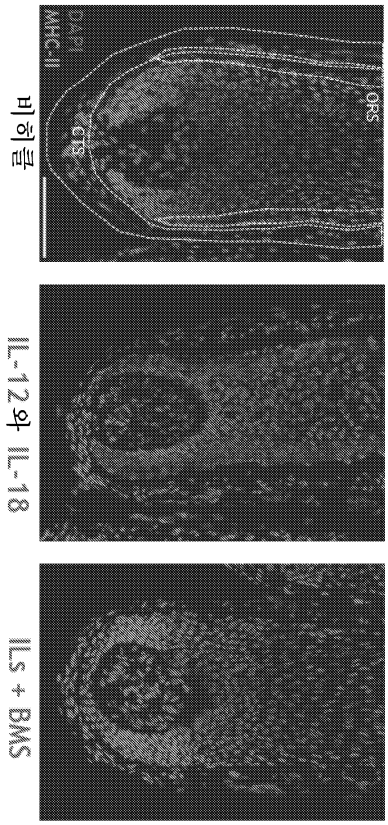
도면20


비히클에 대한 배수 변화
[MHC-II+ 세포/100μm²]
0
2
4
6
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=38
n=38
n=35
n=23
**
MHC-II+ 세포 (모구 결합 조직초)

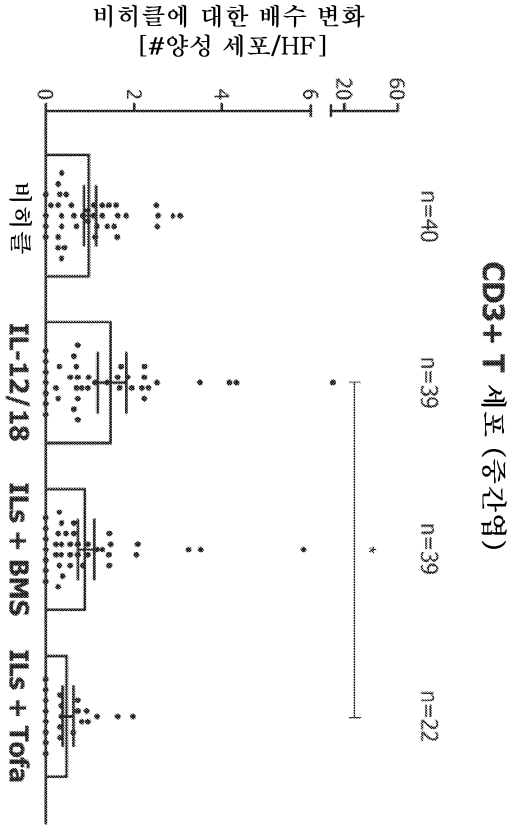
도면21


비히클
IL-12 와 IL-18
ILs + BMS
ORS
DC

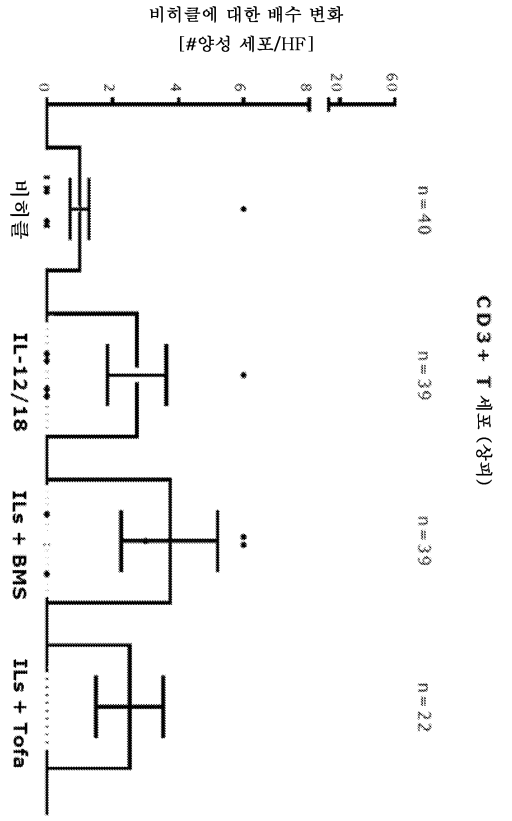
도면22


비히클
IL-12와 IL-18
ILS + BMS
MHC II
ORS
IRS

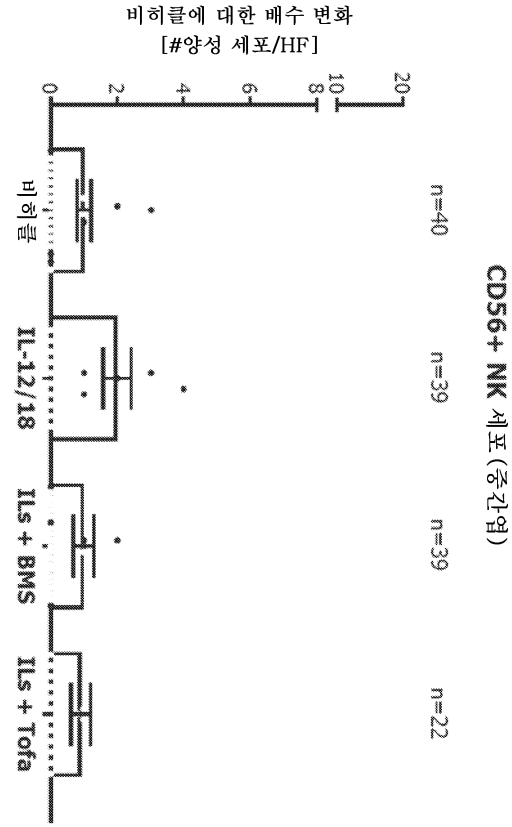
도면23


비히클에 대한 배수 변화
[#양성 세포/HF]
CD3+ T 세포 (중간엽)
0
2
4
6
20
60
n=40
n=39
n=39
n=22
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
*

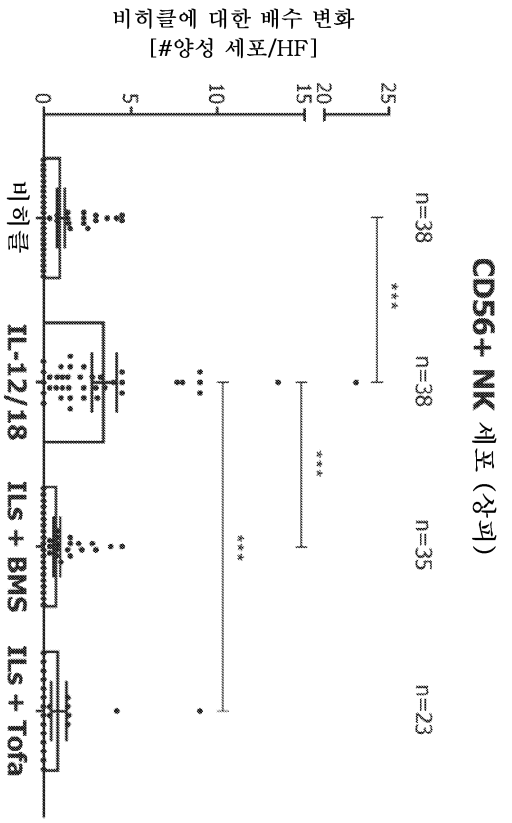
도면24


비히클에 대한 배수 변화
[#양성 세포/HF]
0
2
4
6
8
20
60
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n = 40
n = 39
n = 39
n = 22
CD3+ T 세포 (상피)

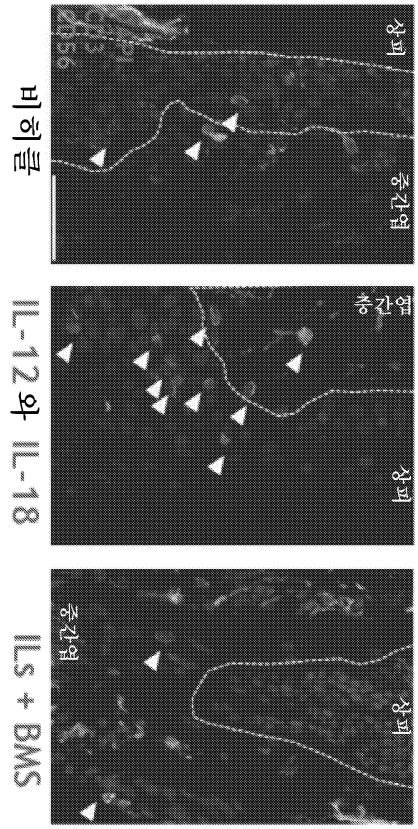
도면25


비히클에 대한 배수 변화
[#양성 세포/HF]
0
2
4
6
8
10
20
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=40
n=39
n=39
n=22
CD56+ NK 세포 (중간엽)

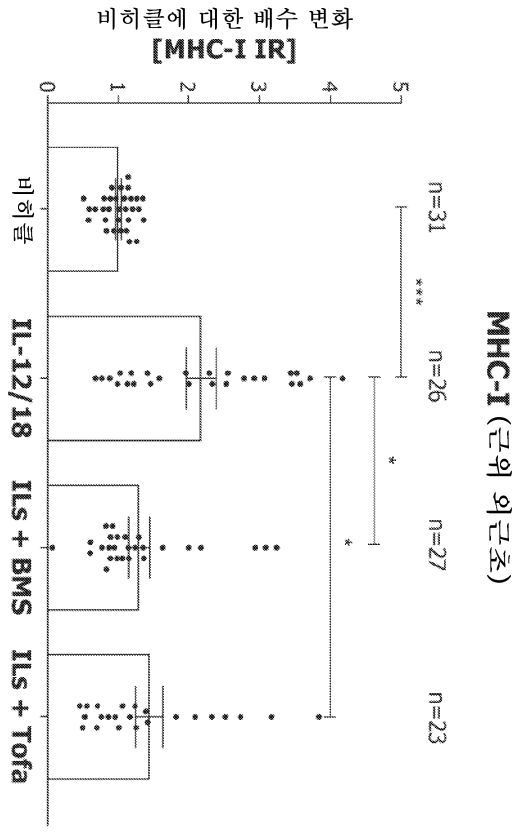
도면26


비히클에 대한 배수 변화
[#양성 세포/HF]
CD56+ NK 세포 (상피)
0
5
10
15
20
25
n=38
n=38
n=35
n=23
***
***
***
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa

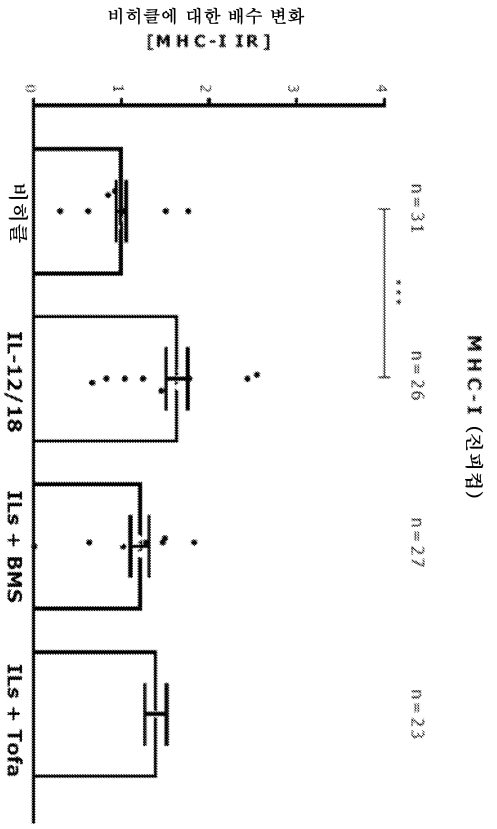
도면27


비히클
IL-12 와 IL-18
ILs + BMS
상피
중간엽
중간엽
상피
중간엽
상피

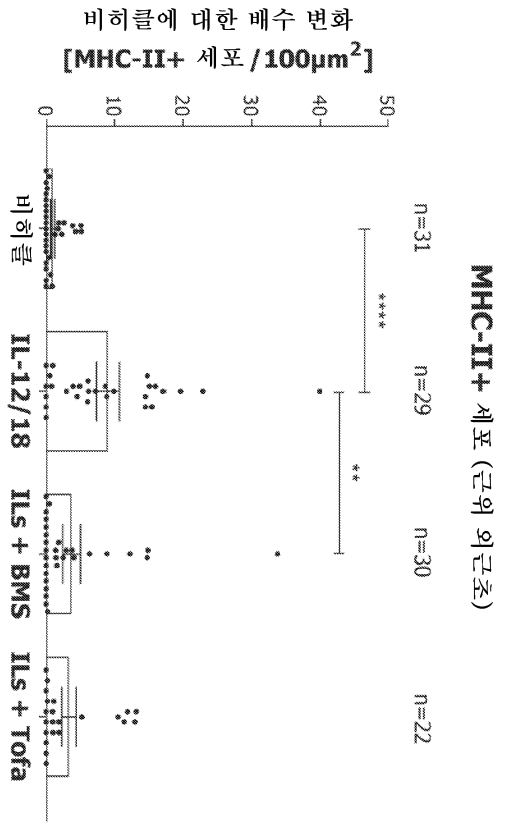
도면28


비히클에 대한 배수 변화
[MHC-I IR]
0
1
2
3
4
5
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=31
n=26
n=27
n=23
***
*
*
MHC-I (근위 외근초)

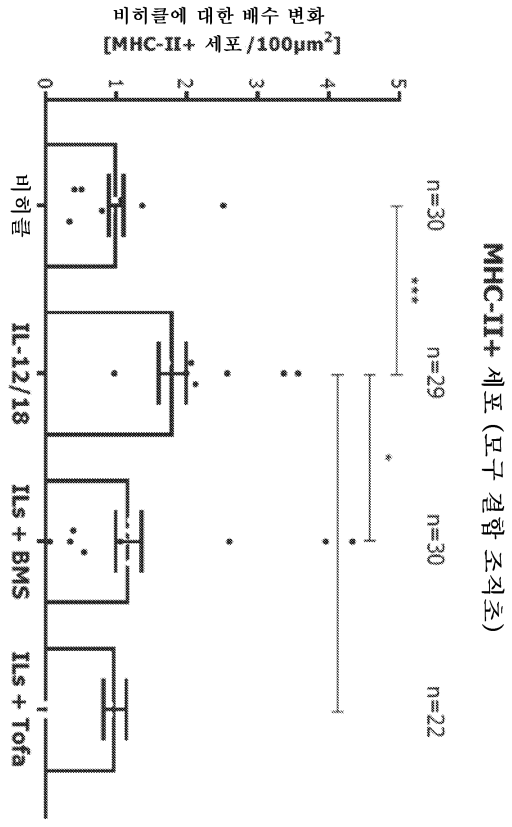
도면29


비히클에 대한 배수 변화
[MHC-I IR]
0
1
2
3
4
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=31
n=26
n=27
n=23
***
MHC-I (진피컵)

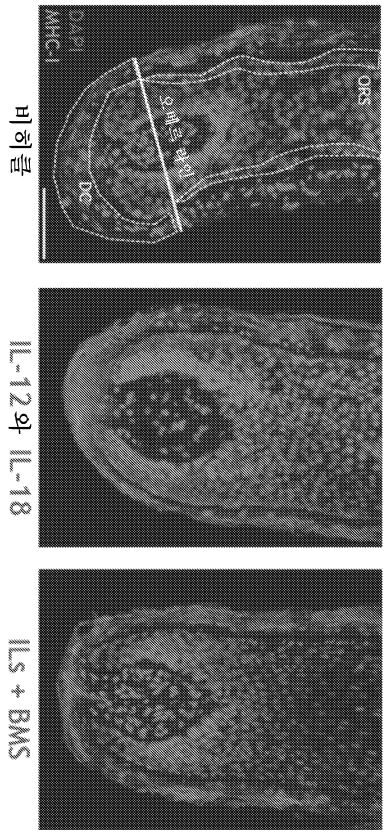
도면30


비히클에 대한 배수 변화
[MHC-II+ 세포 /100μm²]
0
10
20
30
40
50
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=31
n=29
n=30
n=22
****
**
MHC-II+ 세포 (근위 외근초)

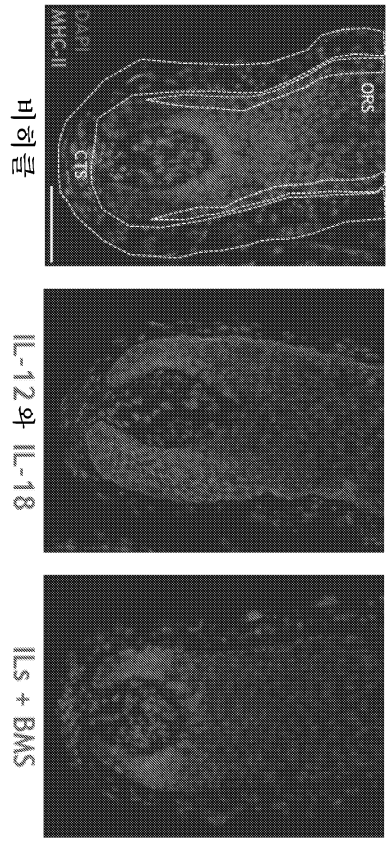
도면31


비히클에 대한 배수 변화
[MHC-II+ 세포 /100μm²]
0
1
2
3
4
5
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=30
n=29
n=30
n=22
***
*
MHC-II+ 세포 (모구 결합 조직초)

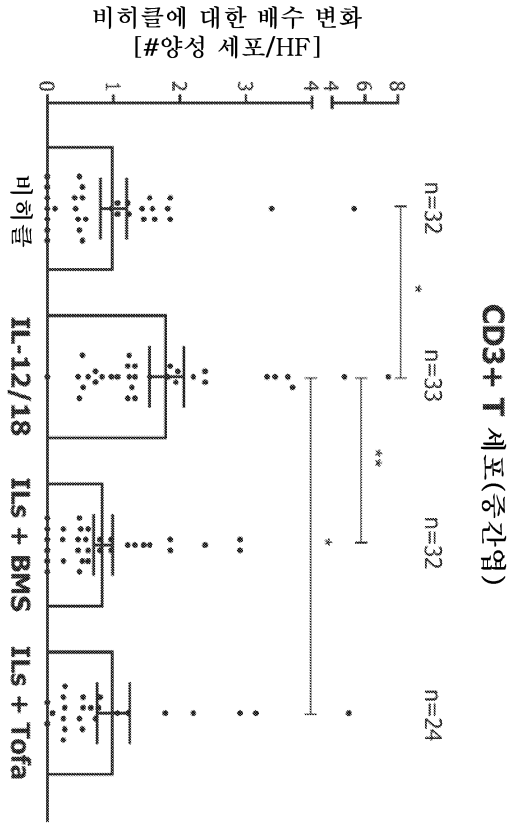
도면32


비히클
IL-12와 IL-18
ILS + BMS
DAPI
MHC-I
ORS
DC

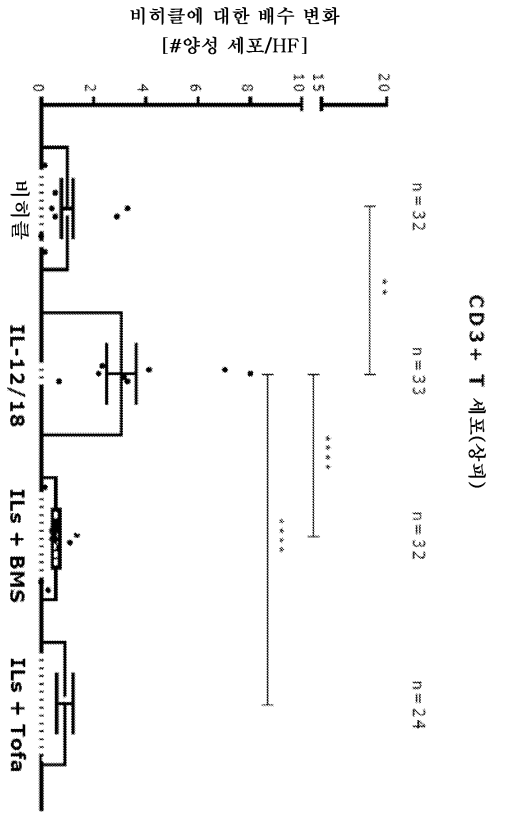
도면33


비히클
IL-12와 IL-18
ILS + BMS
DAPI
MHC-II
ORS
CTS

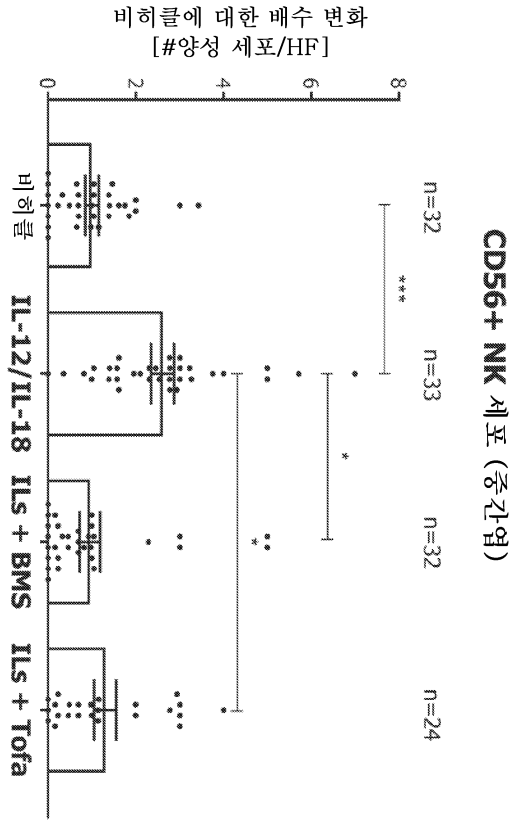
도면34


비히클에 대한 배수 변화
[#양성 세포/HF]
CD3+ T 세포(중간엽)
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=32
n=33
n=32
n=24
*
**
*

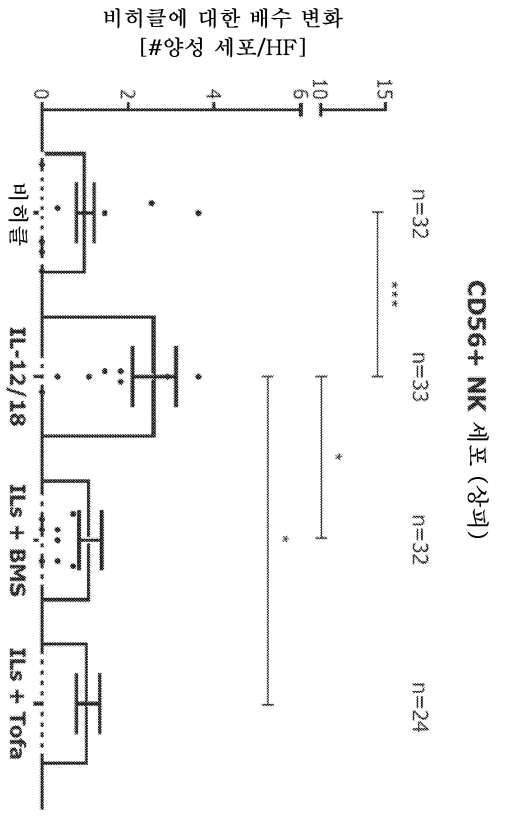
도면35


비히클에 대한 배수 변화
[#양성 세포/HF]
CD3+ T 세포(상피)
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=32
n=33
n=32
n=24
**
****
****

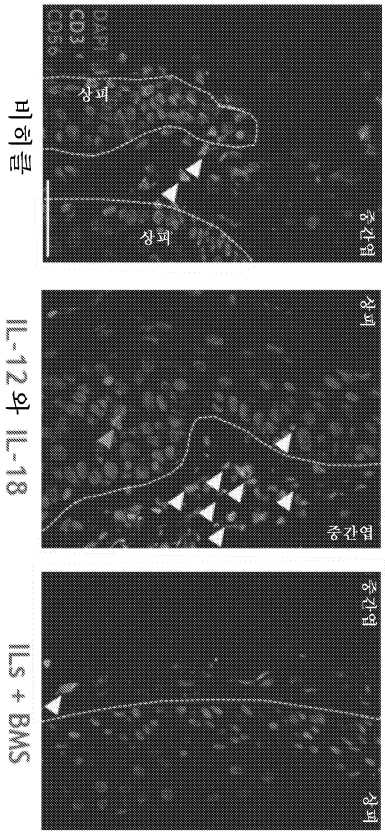
도면36


비히클에 대한 배수 변화
[#양성 세포/HF]
CD56+ NK 세포 (중간엽)
0
2
4
6
8
비히클
IL-12/IL-18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=32
n=33
n=32
n=24
***
*
*

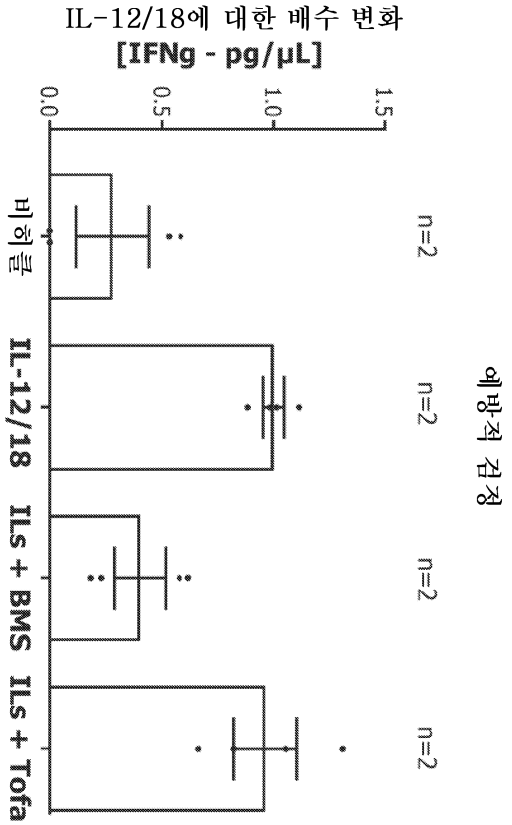
도면37


비히클에 대한 배수 변화
[#양성 세포/HF]
CD56+ NK 세포 (상피)
0
2
4
6
10
15
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=32
n=33
n=32
n=24
***
*
*

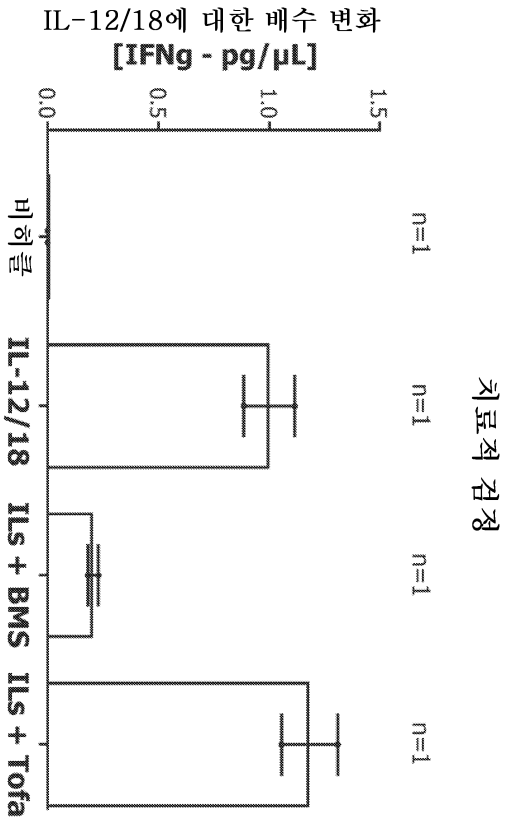
도면38



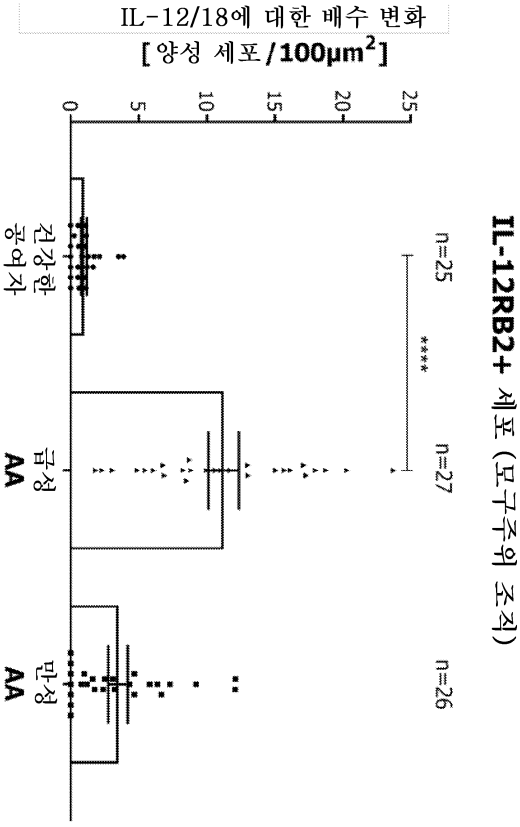
도면39


IL-12/18에 대한 배수 변화
[IFNg - pg/μL]
0.0
0.5
1.0
1.5
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=2
n=2
n=2
n=2
예방적 검정

도면40


IL-12/18에 대한 배수 변화
[IFNg - pg/μL]
0.0
0.5
1.0
1.5
비히클
IL-12/18
ILs + BMS
ILs + Tofa
n=1
n=1
n=1
n=1
치료적 검정

도면41


IL-12/18에 대한 배수 변화
[양성 세포/100μm²]
0
5
10
15
20
25
건강한 공여자
급성 AA
만성 AA
n=25
****
n=27
n=26
IL-12RB2+ 세포 (모구주위 조직)

도면42

