



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I868051 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：107120839

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 06 月 15 日

(51)Int. Cl. :	<i>C07K14/81</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A61K38/49</i>	<i>(2006.01)</i>
	<i>A61P3/00</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A61P5/00</i>	<i>(2006.01)</i>
	<i>A61P9/00</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A61P11/00</i>	<i>(2006.01)</i>
	<i>A61P13/12</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A61P15/08</i>	<i>(2006.01)</i>
	<i>A61P17/02</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A61P17/14</i>	<i>(2006.01)</i>
	<i>A61P25/28</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>A61P43/00</i>	<i>(2006.01)</i>

(30)優先權：2017/06/23 美國 62/523,901

(71)申請人：美商波麥堤克生物治療股份有限公司 (美國) PROMETIC BIOTHERAPEUTICS INC.
(US)

美國

(72)發明人：加格諾 萊恩 GAGNON, LYNE (CA)；格洛克斯 布萊吉特 GROUX, BRIGITTE
(CA)；拉瑞琳 皮爾瑞 LAURIN, PIERRE (CA)

(74)代理人：劉法正；尹重君

(56)參考文獻：

WO 2017/077380A1

審查人員：林佳慧

申請專利範圍項數：13 項 圖式數：9 共 26 頁

(54)名稱

與 PAI-1 過表現相關之病狀的纖維蛋白溶酶原治療

(57)摘要

本發明涉及纖維蛋白溶酶原、其具有纖維蛋白溶酶原活性之變異體或其類似物的用途，其用於預防或治療特徵在於 PAI-1 含量增加之病狀或疾病。將該等特徵在於 PAI-1 含量增加的病狀及疾病重新分組成兩個類別：與受損之血管或組織重塑能力相關的疾病，及與 PAI-1 含量增加相關的代謝及激素病症。

The present invention concerns the use of plasminogen, a variant thereof, or an analog thereof having a plasminogen activity, for the prevention or treatment of a condition or a disease that is characterized with an increased PAI-1 level. The conditions and diseases that are characterized with an increased PAI-1 level, are regrouped within two categories: the diseases associated with an impaired vascular or tissue remodeling capacity, and the metabolic and hormonal disorders associated with an increased PAI-1 level.



I868051

【發明摘要】

【中文發明名稱】

與 PAI-1 過表現相關之病狀的纖維蛋白溶酶原治療

【英文發明名稱】

PLASMINOGEN TREATMENT OF CONDITIONS ASSOCIATED WITH PAI-1
OVEREXPRESSION

【中文】

本發明涉及纖維蛋白溶酶原、其具有纖維蛋白溶酶原活性之變異體或其類似物的用途，其用於預防或治療特徵在於 PAI-1 含量增加之病狀或疾病。將該等特徵在於 PAI-1 含量增加的病狀及疾病重新分組成兩個類別：與受損之血管或組織重塑能力相關的疾病，及與 PAI-1 含量增加相關的代謝及激素病症。

【英文】

The present invention concerns the use of plasminogen, a variant thereof, or an analog thereof having a plasminogen activity, for the prevention or treatment of a condition or a disease that is characterized with an increased PAI-1 level. The conditions and diseases that are characterized with an increased PAI-1 level, are regrouped within two categories: the diseases associated with an impaired vascular or tissue remodeling capacity, and the metabolic and hormonal disorders associated with an increased PAI-1 level.

【指定代表圖】 (無)

【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】

與 PAI-1 過表現相關之病狀的纖維蛋白溶酶原治療

【英文發明名稱】

PLASMINOGEN TREATMENT OF CONDITIONS ASSOCIATED WITH PAI-1 OVEREXPRESSION

【技術領域】

【0001】 本發明係關於醫學領域。本發明之特定態樣係關於纖維蛋白溶酶原用於預防 PAI-1 含量受損之病狀或治療適應症、減慢其進展及對其進行治療之用途；預防、減慢進展及治療之相關方法；及纖溶酶原作為 PAI-1 調節劑之用途。

【先前技術】

【0002】 已知若干病狀及疾病之特徵為損傷組織中之 PAI-1 過表現或血液中之 PAI-1 過表現。已知降低 PAI-1 之血漿含量的藥物包括血管緊張素轉化酶(ACE)抑制劑、胰島素敏化劑及女性中之激素替代療法中所用之激素。

【0003】 在過度產生 PAI-1 之組織中，注意到對血管及組織重塑能力之深入影響(Carmeliet 等人 1997, *Inhibitory role of plasminogen activator inhibitor-1 in arterial wound healing and neointima formation: a gene targeting and gene transfer study in mice*. Circulation 96: 3180-3191)。不管潛在疾病為何，在慢性腎病中幾乎普遍觀察到腎小球及間質中細胞外基質(ECM)之進行性累積。存在大量證據證明降低之 ECM 降解有助於基質累積，且 ECM 降解主要由纖維蛋白溶酶原活化劑/系統控制。纖維蛋白溶酶藉由降解基質蛋白，包括纖連蛋白、層黏連蛋白、蛋白聚糖及 IV 型膠原蛋白以及纖維蛋白而直接促進 ECM 降解，且藉由將非活性基質金屬蛋白酶轉化為降解膠原蛋白之活性形式而間接促進 ECM 降解。在最廣泛研究之疾病中，似乎受 PAI-1 影響之疾病為腎小球硬化症及腎小管間質纖維化

(Eddy 2002, *Plasminogen activator inhibitor-1 and the kidney*. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 283: F209-220)、肺纖維化(Olman 等人 1995, *Changes in procoagulant and fibrinolytic gene expression during bleomycin-induced lung injury in the mouse*. J. Clin. Invest. 96(3): 1621-1630)、腎小球性腎炎(Keeton 等人 1995, *Expression of type 1 plasminogen activator inhibitor in renal tissue in murine lupus nephritis*. Kidney Int. 47(1): 148-157 ; 及 Yamamoto 及 Loskutoff 1997, *The kidneys of mice with autoimmune disease acquire a hypofibrinolytic/procoagulant state that correlates with the development of glomerulonephritis and tissue microthrombosis*. Am. J. Pathol. 151(3): 725-734)、動脈粥樣硬化(Schneiderman 等人 1992, *Increased type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in atherosclerotic human arteries*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89(15): 6998-7002 ; 及 Chomiki 等人 1994, *Plasminogen activator inhibitor-1 expression in human liver and healthy or atherosclerotic vessel walls*. Thromb Haemost. 72(1): 44-53)、慢性阻塞性肺病(COPD) (Wang 等人 2016, *Elevated circulating PAI-1 levels are related to lung function decline, systemic inflammation, and small airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease*. Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.11: 2369-2376)、慢性腎臟疾病(CKD) (Eddy 及 Fogo 2006, *Plasminogen activator inhibitor-1 in chronic kidney disease: evidence and mechanisms of action*. J. Am. Soc. Nephrol.17(11): 2999-3012)、膜性腎病變(Eddy 及 Fogo 2006)及慢性移植腎病變(Eddy 及 Fogo 2006)。

【0004】 研究已確定纖維化之程度與 PAI-1 表現之模式及程度相對應(Oikawa 等人 1997, *Modulation of plasminogen activator inhibitor-1 in vivo: a new mechanism for the anti-fibrotic effect of renin-angiotensin inhibition*. Kidney Int. 51: 164-172)。

因此，證據為影響 PAI-1 表現將影響纖維化之證據，該纖維化包括動脈硬化、腎

硬化、肺纖維化、骨髓纖維化(Vaughan 2011)及其他纖維化。在罹患特發性肺纖維化之患者的肺臟新月中觀測到 PAI-1 之過表現。

【0005】 纖維化定義為纖維增生性或異常纖維母細胞活化相關疾病。傷口癒合反常導致傷口區域中纖維母細胞之超活化及細胞外基質(ECM)蛋白之過度累積，此為纖維化之病理表現。ECM 中過度含量之膠原蛋白之累積取決於兩個因素：增加之膠原蛋白合成速率及或降低之膠原蛋白因細胞蛋白水解活性而降解的速率。尿激酶/組織型纖維蛋白溶酶原活化劑(uPA/tPA)及纖維蛋白溶酶在 ECM 蛋白之細胞蛋白水解降解及組織穩態之維持中發揮顯著作用。uPA/tPA/纖維蛋白溶酶及纖維蛋白溶酶依賴性 MMP 之活性主要依賴於 uPA/tPA 之有效抑制劑纖維蛋白溶酶原活化劑抑制劑-1 (PAI-1)的活性。在正常生理條件下，PAI-1 控制 uPA/tPA/纖維蛋白溶酶/MMP 蛋白水解活性之活性且因此維持組織穩態。在傷口癒合期間，升高之 PAI-1 含量抑制 uPA/tPA/纖維蛋白溶酶及纖維蛋白溶酶依賴性 MMP 活性，且因此，幫助加快傷口癒合。與此情形相比之下，在病理條件下，過量 PAI-1 促進膠原蛋白及其他 ECM 蛋白在傷口區域之過度累積，且因此保留疤痕。雖然在纖維化組織中 PAI-1 之含量顯著升高，但缺乏 PAI-1 防止不同器官響應於損傷相關之促纖維化信號而發生纖維化。因此，包括心臟、肺臟、腎臟、肝臟及皮膚之不同器官中的纖維化病變均涉及到 PAI-1 (Ghosh 及 Vaughan, 2012)。

【0006】 除了上述病狀，受損之 PAI-1 含量亦與以下疾病相關：代謝/激素病症，諸如肥胖症、多囊卵巢病；及其他疾病，諸如澱粉樣變性(Vaughan 2011)、阿茨海默氏病(Alzheimer's disease) (Oh 等人 2014, *Plasminogen activator inhibitor-1 as an early potential diagnostic marker for Alzheimer's disease. Exp. Gerontol.* 60: 87-91)、脫髮(Vaughan 2011)及衰老(Vaughan 2011)。與增加之胞質 PAI-1 產量相關的最常見之臨床病狀可能為肥胖症。PAI-1 基因之上游調控區之

分析研究已允許鑑定相關轉錄反應位點，包括糖皮質素反應元件(GRE)，其亦定位醛固酮反應性(4)；極低密度脂蛋白(VLDL)反應位點(Eriksson 等人 1998, *Very-low-density lipoprotein response element in the promoter region of the human plasminogen activator inhibitor-1 gene implicated in the impaired fibrinolysis of hypertriglyceridemia*. Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol. 18: 20-26)；及兩個 Sp1 位點，其似乎介導葡萄糖-葡糖胺反應性(Chen 等人 1998, *Sp1 sites mediate activation of the plasminogen activator inhibitor-1 promoter by glucose in vascular smooth cells*. J. Biol. Chem. 273: 8225-8231)。

【0007】 本領域中需要發現 PAI-1 調節劑及其用於治療許多與異常 PAI-1 含量相關之治療適應症的用途。

【0008】 雖然不斷報導若干疾病可能與 PAI-1 含量增加有關，但 Vaughan 2011 將將來之研究朝向開發合成之口服活性 PAI-1 拮抗劑引導。儘管如此，Vaughan 2011 告誡不要完全抑制 PAI-1，因為其可能會引起異常出血，諸如輕度外傷之後的顱內及關節出血、延遲之手術出血、嚴重月經出血及頻繁瘀傷。因此，對不會完全抑制或拮抗 PAI-1，而是使 PAI-1 之表現降低至正常水準的化合物存在需要。

【發明內容】

【0009】 本發明人已發現下調 PAI-1 過表現而不會完全抑制 PAI-1 之 PAI-1 調節劑。由本發明人發現之 PAI-1 調節劑不為合成的，而是完全天然的。其為纖維蛋白溶酶原。令人驚訝地，本發明人已發現向具有正常內源性胞質纖維蛋白溶酶原活性水準之個體投與外源性纖維蛋白溶酶原隨後下調 PAI-1 過表現之損傷組織中之 PAI-1 表現。已發現投與外源性纖維蛋白溶酶原抑制罹患特發性肺纖維化(IPF)之個體的肺臟新月中 PAI-1 之過表現且允許細胞外基質(ECM)之降解。

【0010】 本發明之一般態樣係關於纖維蛋白溶酶原、其變異體或具有纖維蛋白溶酶原活性之類似物的醫藥用途，其用於預防特徵在於 PAI-1 含量增加之病狀或疾病、減慢其進展或對其進行治療。本發明之一般態樣亦係關於一種預防特徵在於 PAI-1 含量增加之病狀或疾病、減慢其進展或對其進行治療的方法，該方法包括投與纖維蛋白溶酶原、其具有纖維蛋白溶酶原活性之變異體或類似物。本發明之一般態樣進一步係關於纖維蛋白溶酶原、其具有纖維蛋白溶酶原活性之變異體或其類似物的用途，其用於製備用於預防特徵在於 PAI-1 含量增加之病狀或疾病、減慢其進展或對其進行治療之藥劑。將特徵在於 PAI-1 含量增加之病狀及疾病重新分組成(但不限於)三個類別：與受損之血管或組織重塑能力相關的疾病，及與 PAI-1 含量增加相關之代謝及激素病症。

【0011】 可藉由本發明預防或治療或可減慢進展之與受損之血管或組織重塑能力相關之疾病包括但不限於慢性腎病、腎小球硬化症、纖維化、腎小管間質纖維化、肺臟纖維化、腎小球性腎炎、動脈粥樣硬化、慢性阻塞性肺病(COPD)、肺纖維化、特發性肺纖維化、慢性腎臟疾病(CKD)、膜性腎病變或慢性移植物腎病變。

【0012】 藉由本發明所要預防或治療或可減慢進展之與 PAI-1 含量增加相關之代謝或激素病症包括但不限於肥胖症、多囊卵巢病、澱粉樣變性、阿茨海默氏病、脫髮及衰老。

【0013】 本發明與以下項目有關：

1. 纖維蛋白溶酶原、其變異體或其類似物之用途，其用於製備用於預防個體之疾病或病狀、減慢其進展或對其進行治療之藥劑，其中該疾病或病狀與 PAI-1 之過表現相關。
2. 如第 1 項之用途，其中該 PAI-1 過表現發生血液中或損傷組織中。
3. 如第 1 項或第 2 項之用途，其中該個體為非纖維蛋白溶酶原缺陷型個體。

4. 如第 1 項至第 3 項中任一項之用途，其中該個體具有大於正常纖維蛋白溶酶原活性水準之 70% 的胞質纖維蛋白溶酶原活性。
5. 如第 1 項至第 4 項中任一項之用途，其中該與 PAI-1 之過表現相關的疾病或病狀為與受損之血管或組織重塑能力相關的疾病，或代謝或激素病症。
6. 如第 5 項之用途，其中該與受損之血管或組織重塑能力相關的疾病為慢性腎病、腎小球硬化症、纖維化、腎小管間質纖維化、腎小球性腎炎、動脈粥樣硬化、慢性阻塞性肺病(COPD)、肺纖維化、慢性腎臟疾病(CKD)、膜性腎病變或慢性移植腎病變。
7. 如第 5 項之用途，其中該代謝或激素病症為肥胖症、多囊卵巢病、澱粉樣變性、阿茨海默氏病、脫髮或衰老。
8. 如第 5 項之用途，其中該疾病為肺纖維化。
9. 如第 8 項之用途，其中該肺纖維化為特發性肺纖維化。
10. 如第 8 項或第 9 項之用途，其中纖維蛋白溶酶原、其變異體或其類似物與抗纖維化劑組合使用。
11. 如第 10 項之用途，其中該抗纖維化劑為吡非尼酮(pirfenidone)。
12. 纖維蛋白溶酶原、其變異體或其類似物，其用於預防個體之疾病或病狀之進展或對其進行治療，其中該疾病或病狀與 PAI-1 之過表現相關。
13. 預防個體之疾病或病狀、減慢其進展或對其進行治療的方法，其中該疾病或病狀與 PAI-1 之過表現相關，其中該方法包括向該個體投與纖維蛋白溶酶原、其變異體或其類似物。
14. 纖維蛋白溶酶原、其變異體或其類似物之用途，其用於製備用於下調個體之損傷組織中之 PAI-1 過表現的藥劑。
15. 纖維蛋白溶酶原、其變異體或其類似物，其用於下調個體之損傷組織中的 PAI-1 過表現。

16. 下調個體之損傷組織中之 PAI-1 過表現的方法，該方法包括向該個體投與纖維蛋白溶酶原、其變異體或其類似物。

【0014】 由以下描述、申請專利範圍及本文之概述本發明之其他態樣對熟習此項技術者而言將顯而易見。

【圖式簡單說明】

【0015】 圖 1 顯示在博來黴素(bleomycin)誘導之小鼠(Bleo)及非損傷小鼠(對照)中內源性鼠纖維蛋白溶酶原之胞質濃度。

【0016】 圖 2 顯示在博來黴素誘導之小鼠(Bleo)及非損傷小鼠(對照)中 PAI-1 之胞質濃度。

【0017】 圖 3 顯示博來黴素誘導之小鼠(Bleo)及非損傷小鼠(對照)之支氣管肺泡灌洗流體(BALF)中的 PAI-1 濃度。

【0018】 圖 4 顯示在博來黴素損害之後第 21 天時量測的(i)正常小鼠(對照)、(ii) 博來黴素誘導之小鼠(Bleo)及(iii)在 10 天及 14 天時用 60 mg/kg 之纖維蛋白溶酶原處理的博來黴素誘導之小鼠(Bleo+Plg)的炎性病變中的膠原蛋白 mRNA 表現。

【0019】 圖 5 顯示在博來黴素損害之後第 21 天時量測的(i)正常小鼠(對照)、(ii) 博來黴素誘導之小鼠(Bleo)及(iii)在 10 天及 14 天時用 6、20 或 60 mg/kg 之纖維蛋白溶酶原處理的博來黴素誘導之小鼠(Bleo+Plg)的炎性病變中的 CTGF mRNA 表現。

【0020】 圖 6 顯示在博來黴素損害之後第 21 天時量測的(i)正常小鼠(對照)、(ii) 博來黴素誘導之小鼠(Bleo)及(iii)在 10 天及 14 天時用 6、20 或 60 mg/kg 之纖維蛋白溶酶原處理的博來黴素誘導之小鼠(Bleo+Plg)的炎性病變中的 IL-6 mRNA 表現。

【0021】 圖 7 顯示在博來黴素損害之後第 21 天時量測的(i)正常小鼠(對照)、(ii) 博來黴素誘導之小鼠(Bleo)及(iii)在 10 天及 14 天時用 6、20 或 60 mg/kg 之纖維蛋白溶酶原處理的博來黴素誘導之小鼠(Bleo+Plg)的炎性病變中的 PAI-1 mRNA 表現。

【0022】 圖 8 顯示在博來黴素損害之後第 28 天時量測的(i)正常小鼠(對照)、(ii) 博來黴素誘導之小鼠(Bleo)、(iii)用 6 mg/kg 之纖維蛋白溶酶原處理的博來黴素誘導之小鼠(Bleo+纖維蛋白溶酶原)、(iv)用 400 mg/kg 之吡非尼酮處理的博來黴素誘導之小鼠(Bleo+吡非尼酮)及(v)用 6 mg/kg 之纖維蛋白溶酶原與 400 mg/kg 之吡非尼酮的組合處理的博來黴素誘導之小鼠(Bleo+纖維蛋白溶酶原+吡非尼酮)的炎性病變中的 PAI-1 mRNA 表現。

【0023】 圖 9 顯示在博來黴素損害之後第 28 天時量測的(i)正常小鼠(對照)、(ii) 博來黴素誘導之小鼠(Bleo)、(iii)用 6 mg/kg 之纖維蛋白溶酶原處理的博來黴素誘導之小鼠(Bleo+纖維蛋白溶酶原)、(iv)用 400 mg/kg 之吡非尼酮處理的博來黴素誘導之小鼠(Bleo+吡非尼酮)及(v)用 6 mg/kg 之纖維蛋白溶酶原與 400 mg/kg 之吡非尼酮的組合處理的博來黴素誘導之小鼠(Bleo+纖維蛋白溶酶原+吡非尼酮)的炎性病變中的 IL-6 mRNA 表現。

【實施方式】

【0024】 本文公開了含有纖維蛋白溶酶原、其變異體或其類似物之藥劑的用途，其用於下調組織中或血漿中之 PAI-1 過表現，且較佳係在該 PAI-1 過表現與疾病或病狀相關時。本文公開了纖維蛋白溶酶原、其變異體或其類似物之用途，其用於預防與組織或血漿中之 PAI-1 過表現相關的疾病或病狀、減慢其進展或對其進行治療。

【0025】 纖維蛋白溶酶原之來源為可變的，且可包括但不限於自血液、血漿或其部分純化；合成產生；或重組製備。變異體包括但不限於胺基酸取代、截

短或延長。纖維蛋白溶酶原包括 Glu-纖維蛋白溶酶原及 Lys-纖維蛋白溶酶原。纖維蛋白溶酶原可以其完全長度形式(1-791) (稱為 Glu-纖維蛋白溶酶原)；或以較短型式(78-791) (稱為 Lys-纖維蛋白溶酶原)被發現。由本發明指定之纖維蛋白溶酶原之變異體及纖維蛋白溶酶原之類似物包括彼等具有纖維蛋白溶酶原活性之變異體及類似物。

【0026】 PAI-1 過表現對應於增加之 PAI-1 含量或超過正常 PAI-1 含量之 PAI-1 含量。該 PAI-1 含量係指在個體之血漿中或組織中且較佳在損傷組織中發現之 PAI-1 含量。

【0027】 在一實施例中，本發明排除預防或治療纖維蛋白溶酶原缺陷型個體；或具有低胞質纖維蛋白溶酶原活性水準之個體；或胞質纖維蛋白溶酶原活性水準低於非纖維蛋白溶酶原缺陷型正常個體中之胞質纖維蛋白溶酶原活性(稱為『正常纖維蛋白溶酶原活性』)之水準的個體。換言之，本發明與預防非纖維蛋白溶酶原缺陷型個體、減慢其進展或對其進行治療有關。非纖維蛋白溶酶原缺陷型個體可指定為具有正常胞質纖維蛋白溶酶原含量之個體，或正常個體。由於正常個體之纖維蛋白溶酶原活性存在可變性，故較佳以自非纖維蛋白溶酶原缺陷型正常個體或健康個體收集之血漿的彙集物的形式來計算正常纖維蛋白溶酶原活性。該血漿彙集物較佳係自足夠大量之個體收集以便校正存在於個體中之偏差。較佳地，該血漿彙集物係自至少 240 個非纖維蛋白溶酶原缺陷型正常個體收集，例如覆蓋 20 與 80 歲之間的年齡的 120 個健康成年雄性及 120 個健康成年雌性。在另一實施例中，正常纖維蛋白溶酶原活性對應於在健康或非纖維蛋白溶酶原缺陷型個體群體中所測定之平均(mean/average)纖維蛋白溶酶原活性。若干用於量測纖維蛋白溶酶原活性之方法為此項技術中已知的。舉例而言，通常藉由發色或螢光分析來測定纖維蛋白溶酶原活性。用於測定正常纖維蛋白溶酶原活性之個體的彙集物以及較佳根據本發明使用之用於量測纖維蛋白溶酶

原活性之方法描述於 Criteria for specific measurement of plasminogen (enzymatic; procedure) in human plasma, Electronic Journal Of The International Federation Of Clinical Chemistry And Laboratory Medicine, 第 12 卷, 第 3 期, 2000: www.ifcc.org/ifccfiles/docs/plasminogen.pdf 中。在一實施例中, 低胞質纖維蛋白溶酶原活性水準對應於正常纖維蛋白溶酶原活性之 70%或更低、正常纖維蛋白溶酶原活性之 60%或更低、正常纖維蛋白溶酶原活性之 50%或更低、正常纖維蛋白溶酶原活性之 40%或更低、正常纖維蛋白溶酶原活性之 35%或更低或正常纖維蛋白溶酶原活性之 30%或更低。該具有低胞質纖維蛋白溶酶原活性水準之個體包括具有先天纖維蛋白溶酶原缺陷或後天纖維蛋白溶酶原缺陷之個體。

【0028】 在一實施例中, 本發明排除預防或治療具有先天纖維蛋白溶酶原缺陷或後天纖維蛋白溶酶原缺陷之個體。在一實施例中, 本發明排除預防或治療任何個體或具有先天纖維蛋白溶酶原缺陷、後天纖維蛋白溶酶原缺陷、低於正常纖維蛋白溶酶原活性水準之胞質纖維蛋白溶酶原活性水準或對應於正常纖維蛋白溶酶原活性水準之 70%或更低的胞質纖維蛋白溶酶原活性水準之個體的本樣結膜炎、散播性血管內凝血(DIC)、敗血病、白血病、透明膜病、肝病、阿根廷出血熱(Argentine hemorrhagic fever)、甲狀腺機能亢進、L-天冬醯胺酶療法後、血栓溶解事件、手術、川崎病(Kawasaki disease)、燒傷及嚴重燒傷、異位性骨化或骨化性肌炎、透明膜病、新生兒呼吸道疾病症候群(NRDS)、敗血病、血栓溶解療法、中風、急性肺損傷(ALI)、急性呼吸窘迫症候群(ARDS)、糖尿病(類型: 1、1.5、2 及 3)、暴發性肝衰竭、布德-查理症候群(Budd-Chiari Syndrome)、微血管病性溶血性貧血(MAHA)、非典型性溶血性尿毒症症候群或用於傷口癒合。在一實施例中, 個體為非纖維蛋白溶酶原缺陷型正常個體且具有大於正常纖維蛋白溶酶原活性水準之 70%的胞質纖維蛋白溶酶原活性。

【0029】 術語「個體」包括需要如本文所揭示之治療的活有機體，例如其中器官為損傷的。術語「個體」包括諸如哺乳動物或鳥之動物。較佳地，個體為哺乳動物，包括但不限於人類、馬、狗及貓。在一些實施例中，哺乳動物不為小鼠。更佳地，個體為人類。

【0030】 在本發明之一實施例中，藉由以下投藥途徑中之一者來投與纖維蛋白溶酶原：經靜脈內、經腹膜內、經皮下、經鼻、經肺或經直腸。在一實施例中，藉助於適合用於緩慢釋放遞送、持續遞送、多次遞送或單次遞送之裝置；或藉助於用注射器注射來皮下投與纖維蛋白溶酶原。在一實施例中，藉助於適合於緩慢輸注、推注、單次或多次遞送之裝置靜脈內投與纖維蛋白溶酶原。

【0031】 可投與纖維蛋白溶酶原一次，或其可以重複劑量進行投與。該等重複劑量較佳按以下頻率投與：每天一次、每隔一天一次、每週兩次或每週一次。在治療開始時可能需要選擇高投與頻率以便快速達至所需水準且然後將投與頻率降至所需等級。在另一實施例中，當達成一些臨床益處時可在某一時間段之後降低投與頻率。相反地，在其他實施例中，當未達成所需臨床益處中之一些時可在某一時間段之後增加投與頻率。

【0032】 在一實施例中，治療有效劑量在約 0,5 與 20 mg/kg；或 0,5 至 15 mg/kg；或 0,5 至 10 mg/kg；或 2 至 10 mg/kg；或 3 至 10 mg/kg；或 3 至 8 mg/kg；或 4 至 8 mg/kg；或 5 至 8 mg/kg；或 6 至 7 mg/kg 之間；或為約 2,0 mg/kg；或約 2,5 mg/kg；或約 3,0 mg/kg；或約 3,5 mg/kg；或約 4,0 mg/kg；或約 4,5 mg/kg；或約 5,0 mg/kg；或約 5,5 mg/kg；或約 6,0 mg/kg；或約 6,5 mg/kg，或約 6,6 mg/kg；或約 7,0 mg/kg；或約 7,5 mg/kg；或約 8,0 mg/kg；或約 8,5 mg/kg；或約 9,0 mg/kg；或約 9,5 mg/kg；或約 10,0 mg/kg。多個劑量可適合用於在所需時間段內維持胞質纖維蛋白溶酶原含量。所需時間段有所變化且可基於所觀測到之症狀減輕、與 PAI-1 過表現相關之病症或病狀的治療之達成或在與 PAI-1 過表現相關之病狀

或病症之預防中有效胞質纖維蛋白溶酶原含量之建立來確定。重複劑量可每天一次、每隔一天一次、每兩天一次、每週兩次、每週一次或每兩週一次來進行投與，較佳在每天一次與每週一次之間。在一實施例中，劑量係每天一次地投與且在約 0,5 至約 5 mg/kg 或約 3 至約 4 mg/kg 或約 6 至約 7 mg/kg 之間，或為約 3,5 mg/kg 或約 5 mg/kg 或約 6 mg/kg 或約 6,6 mg/kg。在一實施例中，劑量係每隔一天一次地投與且在約 3 至約 7 mg/kg 或約 6 至約 7 mg/kg 或約 4 至約 6 mg/kg 之間，或為約 5 mg/kg 或約 6 mg/kg 或約 6,6 mg/kg。在一實施例中，劑量係每週兩次地投與且在約 4 至約 8 mg/kg 或約 5 至約 7 mg/kg 或約 6 至約 7 mg/kg 之間，或為約 6 mg/kg 或約 6,6 mg/kg。在一實施例中，劑量係每週一次地投與且在約 5 至約 10 mg/kg 或約 6,5 至約 8,5 mg/kg 或約 6 至約 7 mg/kg 之間，或為約 6 mg/kg 或約 6,6 mg/kg 或約 7,5 mg/kg。

【0033】 在一實施例中，纖維蛋白溶酶原活性之峰值含量不高於正常纖維蛋白溶酶原活性之約 5 倍(約 500%)、正常纖維蛋白溶酶原活性之約 3 倍(約 300%)、正常纖維蛋白溶酶原活性之約 2.5 倍(約 250%)、正常纖維蛋白溶酶原活性之約 2 倍(約 200%)、正常纖維蛋白溶酶原活性之約 1.75 倍(約 175%)、正常纖維蛋白溶酶原活性之約 1.5 倍(約 150%)、正常纖維蛋白溶酶原活性之約 1.25 倍(約 125%) 或正常纖維蛋白溶酶原活性之約 1 倍(約 100%)為所需的。

【0034】 如本文所用，術語「治療有效量」意謂當向個體投與化合物以治療與受損之 PAI-1 含量相關之特定病症、疾病或病狀、減慢其進展或對其進行預防或發揮生物作用時，足以實現該病症、疾病或病狀之此類治療或預防或發揮該生物作用的量。由本發明指定之生物作用包括調節組織或血漿中之 PAI-1 過表現、減輕纖維化病變及/或刺激纖維化器官中之 ECM 降解。劑量及治療有效量可例如視包括以下各項之多種因素而變化：所採用之特定藥劑的活性；個體之年齡、體重、總體健康、性別及膳食；投藥時間；投藥途徑；排泄速率；及任何

藥物組合(若可適用)；從業者希望化合物對個體產生之影響；化合物之特性(例如生物可用性、穩定性、效能、毒性等)；及個體罹患之特定病症。此外，治療有效量可視個體之血液參數(例如鈣含量、脂質型態、胰島素含量、血糖、凝血因子、纖維蛋白溶解因子)、疾病狀態之嚴重程度、器官功能或潛在疾病或併發症而定。此類適當劑量可使用包括本文所描述之分析的任何可獲得之分析來確定。當投與人類纖維蛋白溶酶原時，醫師可例如首先開出相對低之劑量，隨後增加劑量直至獲得適當反應。所要投與之劑量將最終由健康護理專業人員決定。然而，一般而言，設想纖維蛋白溶酶原之劑量及其投與頻率可在上文關於治療有效劑量所給出之範圍內。

【0035】 在本發明之一實施例中，纖維蛋白溶酶原不為放射性標記的。在本發明之一實施例中，纖維蛋白溶酶原包含於醫藥組合物中，該醫藥組合物不含或實質上不含另一蛋白質，亦即除纖維蛋白溶酶原外之蛋白質，且較佳不含或實質上不含白蛋白。在本發明之一實施例中，纖維蛋白溶酶原包含於不含或實質上不含抑肽酶之醫藥組合物中。在本發明之一實施例中，纖維蛋白溶酶原包含於實質上不含胰蛋白酶抑制劑之醫藥組合物中。在本發明之一實施例中，纖維蛋白溶酶原包含於不含或實質上不含絲胺酸蛋白酶抑制劑之醫藥組合物中。在本發明之一實施例中，纖維蛋白溶酶原包含於不含或實質上不含纖維蛋白溶酶之醫藥組合物中。在本發明之一實施例中，纖維蛋白溶酶原包含於不含或實質上不含表面活性劑(例如表面活性劑之濃度小於 0.01 mM)之醫藥組合物中。術語「實質上不含」意在指其含量低於偵測水準或低於定量水準。

【0036】 如本文所用，術語「醫藥組合物」係指準備好商業化或準備好投與之纖維蛋白溶酶原製劑。醫藥組合物可含有至少一種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑、媒劑或賦形劑。如本文所用，術語「醫藥學上可接受之載劑」、「醫藥學上可接受之稀釋劑」或「醫藥學上可接受之賦形劑」意在指但不限於任何

佐劑、載劑、賦形劑、助流劑、甜味劑、稀釋劑、防腐劑、染料/染色劑、增味劑、表面活性劑、潤濕劑、分散劑、懸浮劑、穩定劑、等張劑、溶劑、乳化劑、囊封劑、脂質體、環糊精、囊封聚合遞送系統及/或聚乙二醇基質，其為在個體中使用可接受的，且較佳為在人類中使用可接受的。術語「使用可接受的」較佳係指經聯邦政府或州政府之管理機構批准或可由其批准或列於美國藥典或其他普遍認可之藥典中的化合物。醫藥學上可接受之媒劑可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇及液體聚乙二醇)、其適合之混合物及/或植物油的溶劑或分散介質。醫藥學上可接受之媒劑之其他實例包括但不限於：注射用水 USP；水性媒劑，諸如但不限於氯化鈉注射液、林格氏注射液(Ringer's Injection)、右旋糖注射液、右旋糖及氯化鈉注射液及乳酸鹽林格氏注射液；水可混溶之媒劑，諸如但不限於乙醇、聚乙二醇及聚丙二醇；及非水性媒劑，諸如但不限於玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸異丙酯及苯甲酸苯甲酯。對微生物作用之預防可藉由添加抗細菌及抗真菌劑(例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗壞血酸、硫柳汞及類似物質)來達成。在許多情況下，組合物中包括等張劑，例如糖、氯化鈉或多元醇，諸如甘露糖醇及山梨糖醇。可藉由在組合物中包括延遲吸收之藥劑(例如單硬脂酸鋁或明膠)來引起可注射組合物之延長吸收。醫藥學上可接受之賦形劑的性質及濃度經選擇以便提供可接受之蛋白質穩定性、離子強度及 pH 值。

【0037】 術語「約」在本文中旨在較佳定義相關值之 $\pm 5\%$ 、相關值之 $\pm 10\%$ 或相關值之 $\pm 15\%$ 。

實例

【0038】 以下實例進一步說明對本發明之實踐，但不旨在限制本發明。

實例 1：纖維蛋白溶酶原製備

【0039】 纖維蛋白溶酶原係自彙集之人類血漿純化，所述彙集之人類血漿來源於 FDA/EMA 許可之美國血漿保藏中心(US plasma collection center)。所得純度超過 95%。經純化之纖維蛋白溶酶原由 Glu-纖維蛋白溶酶原組成，其中 95%或更多之纖維蛋白溶酶原為單體形式。Glu-纖維蛋白溶酶原係如先前在 PCT 公開案 WO 2006/120423 中所描述來製備。

【0040】 人類纖維蛋白溶酶原包含每小瓶約 75 毫克之凍乾纖維蛋白溶酶原。在輸注之前，將小瓶中之凍乾粉末用 12.5 mL 之水復水以便進行靜脈內注射。最終組合物含有檸檬酸鈉、氯化鈉、甘胺酸及蔗糖，以提供可接受之蛋白質穩定性、離子強度及 pH 值。

實例 2：在肺纖維化小鼠模型中纖維蛋白溶酶原之影響

【0041】 藉由將博來黴素氣管內滴注至小鼠中來誘導小鼠之肺纖維化。博來黴素為熟知抗癌劑藥物。首先，博來黴素損害早在第 1 天即產生急性炎症。隨後，在約第 10 天至第 14 天，纖維化事件出現且形成慢性纖維化病狀。博來黴素誘導之小鼠經識別為肺纖維化之動物模型。藉由在適當時間點用纖維蛋白溶酶原處理小鼠來進行纖維蛋白溶酶原活性之評估。在本研究中，在第 10 天及第 14 天投與纖維蛋白溶酶原。

【0042】 在第 0 天對雄性 C57BL6 小鼠施以博來黴素硫酸鹽之氣管內滴注(每一小鼠 0.007 mg)。在第 10 天及第 14 天以 6 mg/kg、20 mg/kg 或 60 mg/kg 之劑量皮下投與人類纖維蛋白溶酶原。在第 21 天將動物處死。藉由組織學分析使用天狼星紅染色(Red sirius staining) (螢光)定量膠原蛋白且以 400X 之放大倍數進行分析。藉由用 Image Pro Premier 軟體區段化來進行膠原蛋白定量，且使用具有 20 個定位於肺臟炎性病變中之區域的樣品。針對含有炎性病變之區域的總表面對膠原蛋白之量進行報導。此定量方法允許排除正常含於組織中之內源性膠原蛋白含量。由於對照小鼠沒有炎性病變，故炎性病變中所含之膠原蛋白百分比

必然為零。藉由實時 PCR 使用針對 HPRT1 內源性對照校正之小鼠 Taqman® 基因表現分析(史都登氏 t 檢驗(Student's t-test))來定量 CTGF、IL-6 及 PAI-1 mRNA 表現。

【0043】 已觀測到博來黴素對內源性鼠纖維蛋白溶酶原之胞質濃度無顯著影響(圖 1)，且對 PAI-1 之胞質濃度無顯著影響(圖 2)。然而，博來黴素使支氣管肺泡灌洗流體(BALF)中之 PAI-1 濃度顯著增加(圖 3)，此對應於如所預測由博來黴素損害造成之損傷組織的定位。

【0044】 已在用 60 mg/kg 之纖維蛋白溶酶原處理之博來黴素誘導之小鼠中量測炎性病變中之膠原蛋白表現，且與博來黴素誘導之小鼠(Bleo)及正常小鼠(對照)相比較。正常小鼠(對照)在肺臟中無炎性病變，且因此，在圖 4 中報導了零膠原蛋白百分比。博來黴素誘導之小鼠(Bleo)已呈現炎性病變，其中在第 21 天膠原蛋白表現升高。此膠原蛋白表現為肺臟中存在纖維化病變之特徵。在博來黴素誘導之小鼠(Bleo+Plg)中藉由在第 10 天及第 14 天投與 60 mg/kg 之纖維蛋白溶酶原在炎性病變中膠原蛋白表現之量顯著降低。

【0045】 已量測促纖維化標記物 CTGF 之 mRNA 表現且報導於圖 5 中。表明在博來黴素誘導之小鼠(Bleo)中 CTGF 之 mRNA 表現與正常小鼠(對照)中之 CTGF 含量相比所有增加。以 6、20 或 60 mg/kg 投與纖維蛋白溶酶原使博來黴素誘導之小鼠(Bleo+Plg)中 CTGF 之過表現顯著降低至類似於正常小鼠(對照)之 CTGF 含量的水準。反應不為劑量依賴性的且可由少數所研究之動物引起偏差。

【0046】 已量測促纖維化及促炎性標記物 IL-6 之 mRNA 表現且報導於圖 6 中。表明與正常小鼠(對照)中之 IL-6 含量相比在博來黴素誘導之小鼠(Bleo)中 IL-6 為高度過表現的。在用纖維蛋白溶酶原處理之博來黴素誘導之小鼠(Bleo+Plg)中，以 6、20 或 60 mg/kg 投與纖維蛋白溶酶原使 IL-6 mRNA 表現顯著降低。反應不為劑量依賴性的且可由少數所研究之動物引起偏差。

【0047】 纖維蛋白溶酶原對 PAI-1 mRNA 表現之影響已報導於圖 7 中。本研究再次證實與未損傷之正常小鼠(對照)之肺臟相比在博來黴素誘導之小鼠(Bleo)的損傷組織(肺臟)中 PAI-1 之表現增加。此結果印證了圖 3 中所報導之在博來黴素誘導之小鼠(Bleo)的 BALF 中所觀測到之 PAI-1 含量。博來黴素誘導之小鼠中 PAI-1 之過表現因以所有劑量投與纖維蛋白溶酶原而降低(Bleo+Plg)。在劑量之間缺乏顯著差異表明纖維蛋白溶酶原在較低劑量(6 mg/mkg)下已達至最大影響。此等結果表明纖維蛋白溶酶原下調 PAI-1 之過表現，而不會抑制它。

【0048】 此等結果表明在博來黴素誘導之肺臟纖維化模型中纖維蛋白溶酶原對肺臟纖維化之減輕具有直接影響，且可提供作為用於預防包括特發性肺纖維化(IPF)之肺纖維化及與 PAI-1 過表現相關之任何疾病、減慢其進展及對其進行治療之新穎療法的潛能。此等數據亦表明，在與 PAI-1 增加相關之疾病中，纖維蛋白溶酶原可有效調控 PAI-1。

實例 3：在肺纖維化小鼠模型中纖維蛋白溶酶原與纖維化劑之組合的影響

【0049】 藉由將抗癌劑藥物博來黴素氣管內滴注至小鼠中來誘導小鼠之肺纖維化。如實例 2 中所描述進行實驗，除了投與鼠纖維蛋白溶酶原。在第 0 天對雄性 C57BL6 小鼠施以博來黴素硫酸鹽之氣管內滴注(每一小鼠 0.007 mg)。單獨或與經口投與 400 mg/kg 之吡非尼酮(每天一次，第 7 天至第 27 天)組合在 7、10、13、16、19 及 23 天時以 6 mg/kg 之劑量皮下投與鼠纖維蛋白溶酶原。在第 28 天將動物處死。藉由組織學分析使用天狼星紅染色(螢光)來定量膠原蛋白且如實例 2 中所描述進行分析。藉由實時 PCR 使用針對 HPRT1 內源性對照校正之小鼠 Taqman®基因表現分析(史都登氏 t 檢驗)來定量 IL-6 mRNA 表現。

【0050】 此實驗測試了纖維蛋白溶酶原與抗纖維化化合物之組合。結果報導於圖 8 中，其中可注意到當在博來黴素誘導之肺纖維化小鼠模型中單獨投與兩種化合物時顯示有效減輕纖維化(Bleo+纖維蛋白溶酶原及 Bleo+吡非尼酮)。此

外，圖 8 表明纖維蛋白溶酶原與吡非尼酮之組合(Bleo+纖維蛋白溶酶原+吡非尼酮)對肺臟之炎性病變中膠原蛋白表現之降低具有相加作用。

【0051】 圖 9 報導了纖維蛋白溶酶原抑制 IL-6 mRNA 表現(Bleo+纖維蛋白溶酶原)。吡非尼酮對 IL-6 表現之影響(Bleo+吡非尼酮)不顯著不同於未處理之博來黴素誘導之小鼠中之 IL-6 含量(Bleo)。然而，圖 9 證實如由顯著增加之 IL-6 表現抑制所示，纖維蛋白溶酶原與吡非尼酮之組合(Bleo+纖維蛋白溶酶原+吡非尼酮)具有相加抗纖維化作用。用纖維蛋白溶酶原與吡非尼酮之組合處理之博來黴素誘導之小鼠(Bleo+纖維蛋白溶酶原+吡非尼酮)中的 IL-6 含量已降低至類似於正常小鼠(對照)之 IL-6 含量的水準。

* * *

【0052】 本文中包括標題供參考且用於幫助定位某些部分。此等標題不旨在限制其中所描述之概念的範疇，且此等概念可在整個說明書通篇中之其他部分中具適用性。因此，本發明不旨在限於本文所示之實施例，而是與符合本文所揭示之原理及新穎特徵的最寬範疇相一致。

【0053】 除非上下文另外明確指示，否則單數形式「一(a/an)」及「該」包括相應複數參考物。

【0054】 除非另外指出，否則本說明書及申請專利範圍中所用之所有表示成分之量、反應條件、濃度、特性等之數字應理解為在所有情況下由術語「約」修飾。最低限度地，各數值參數至少應根據具有所報導有效數位之數字且藉由應用一般捨入技術來理解。因此，除非指示為相反，否則本說明書及所附申請專利範圍中所闡述之數值參數為近似值，其可視設法獲得之特性而變化。儘管闡述實施例之廣泛範疇之數值範圍及參數為近似值，但特定實例中所闡述之數值為儘可能精確報導的。然而，任何數值固有地含有因實驗、測試量測、統計分析及此類因素之偏差而產生的某些誤差。

【0055】 應瞭解，本文所描述之實例及實施例僅用於說明性目的，且將向熟習此項技術者建議根據其進行之各種修改或變化，且該等修改或變化應包括在本發明及隨附申請專利範圍之範疇內。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種纖維蛋白溶酶原用於製備一藥劑之用途，該藥劑係用於在一非纖維蛋白溶酶原缺陷型個體中預防、減慢其進展或治療與纖維蛋白溶酶原活化劑抑制劑-1 (PAI-1)之過表現相關之疾病或病狀，其中該與PAI-1之過表現相關之疾病或病狀為(a)與受損之血管或組織重塑能力相關的疾病，其選自於腎小球硬化症、慢性腎臟疾病(CKD)、膜性腎病變及慢性移植物腎病變，或(b)代謝或激素病症，其選自於肥胖症及多囊卵巢病，或選自於下列之一疾病或病狀：澱粉樣變性、阿茨海默氏病及脫髮，且其中該纖維蛋白溶酶原為glu-纖維蛋白溶酶原或lys-纖維蛋白溶酶原。

【請求項2】 如請求項1之用途，其中該PAI-1過表現發生在該個體之血液或中或損傷組織中。

【請求項3】 如請求項1之用途，其中該個體具有大於正常纖維蛋白溶酶原活性水準之70%的胞質纖維蛋白溶酶原活性。

【請求項4】 如請求項1至3中任一項之用途，其中該與受損之血管或組織重塑能力相關的疾病為慢性腎臟疾病(CKD)。

【請求項5】 如請求項1至3中任一項之用途，其中該代謝或激素病症為肥胖症。

【請求項6】 如請求項1至3中任一項之用途，其中該與受損之血管或組織重塑能力相關之疾病為腎小球硬化症。

【請求項7】 如請求項1至3中任一項之用途，其中該與受損之血管或組織重塑能力相關的疾病為膜性腎病變。

【請求項8】 如請求項1至3中任一項之用途，其中該與受損之血管或組織重塑能力相關的疾病為慢性移植物腎病變。

【請求項9】 如請求項1至3中任一項之用途，其中該代謝或激素病症為多

囊卵巢病。

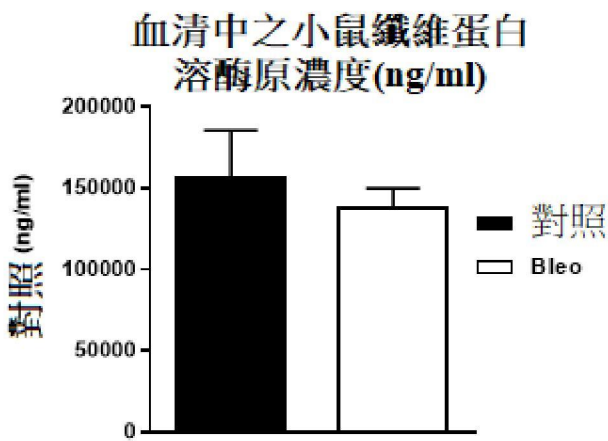
【請求項10】 如請求項1至3中任一項之用途，其中該疾病或病狀為澱粉樣變性。

【請求項11】 如請求項1至3中任一項之用途，其中該疾病或病狀為阿茨海默氏病。

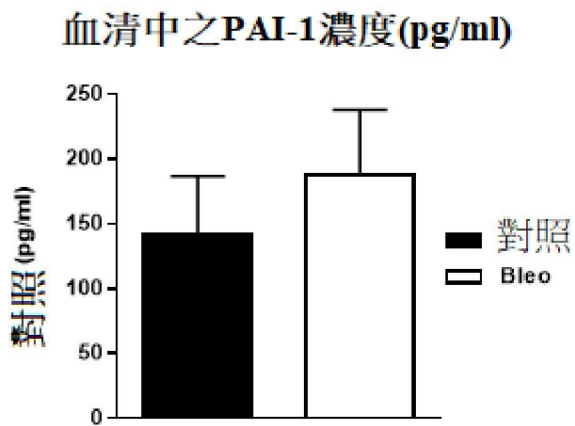
【請求項12】 如請求項1至3中任一項之用途，其中該疾病或病狀為脫髮。

【請求項13】 如請求項1至3中任一項之用途，其中該纖維蛋白溶酶原為 glu-纖維蛋白溶酶原。

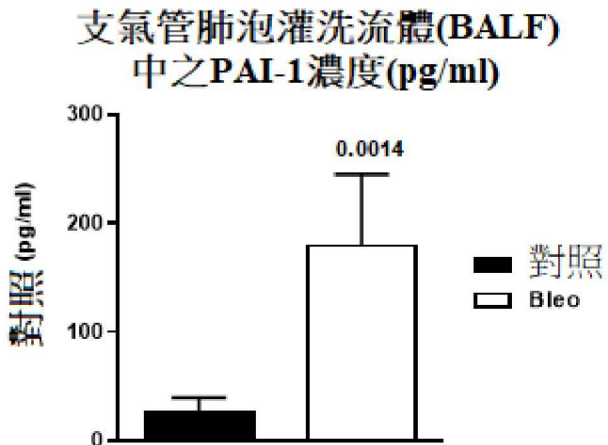
【發明圖式】



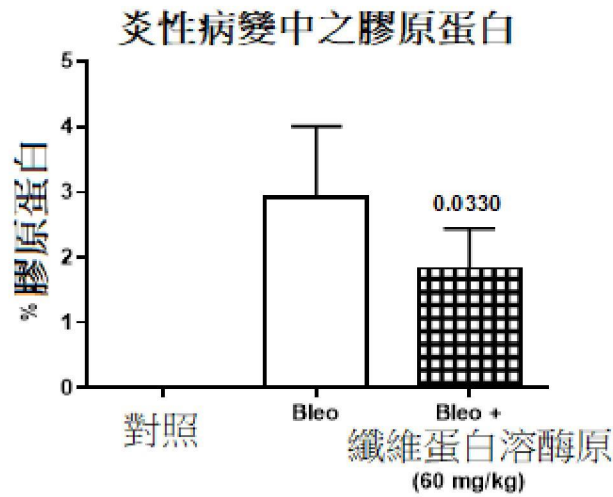
【圖 1】



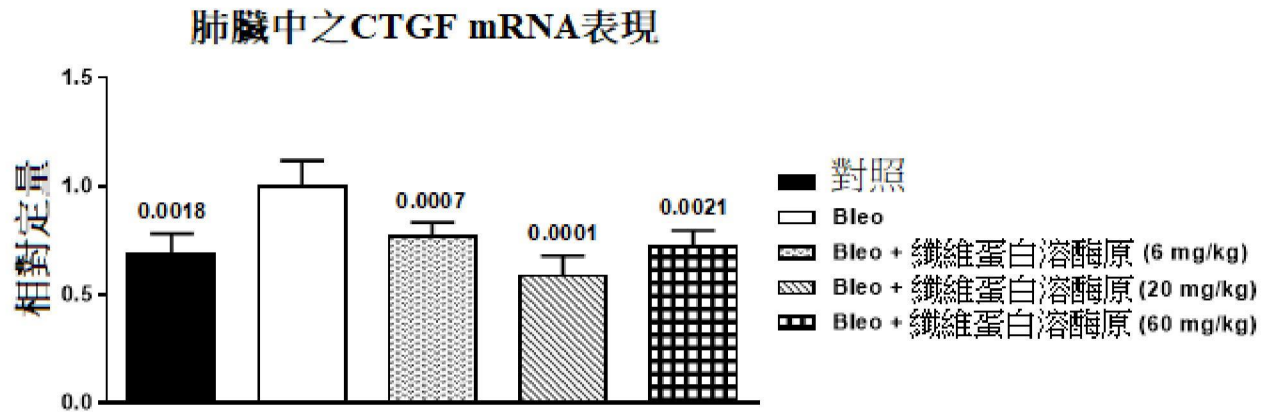
【圖 2】



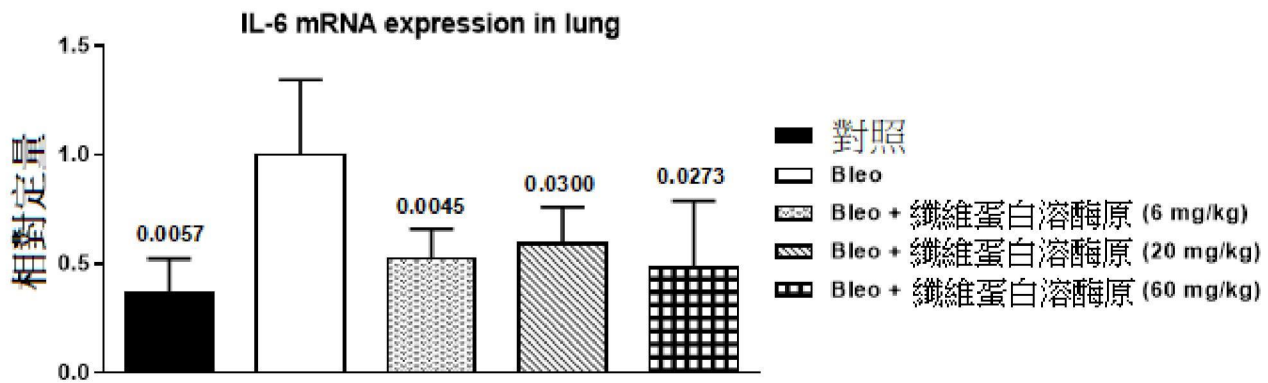
【圖 3】



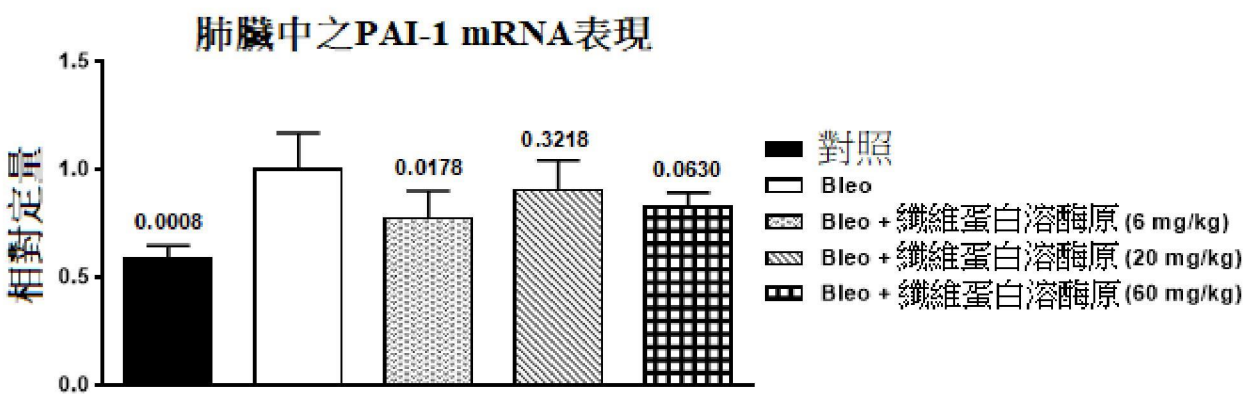
【圖 4】



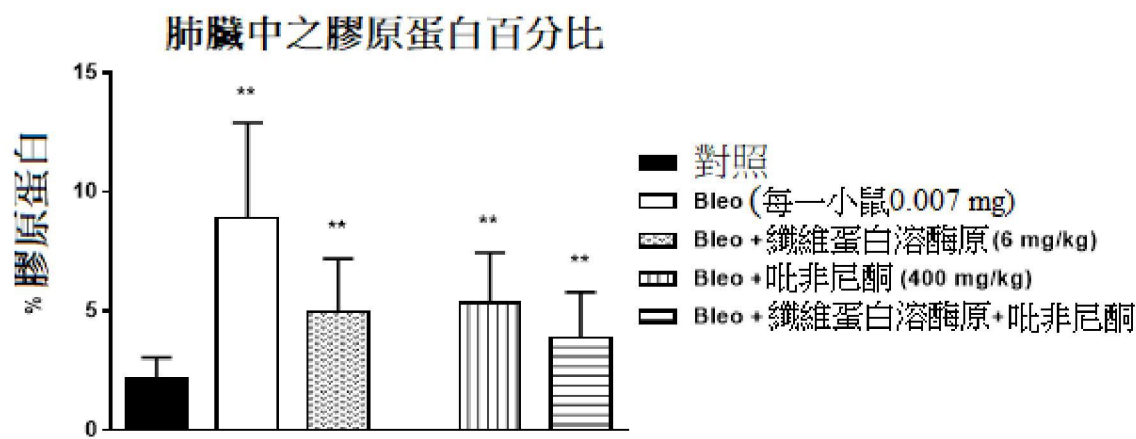
【圖 5】



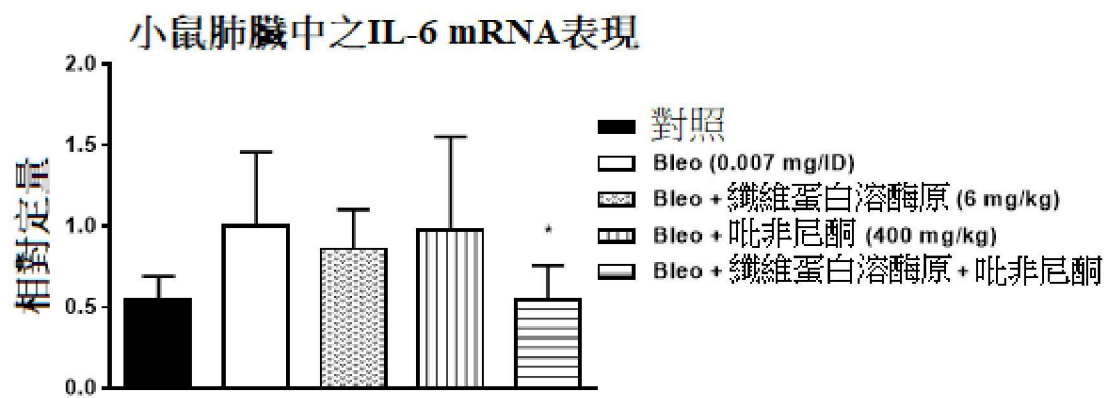
【圖 6】



【圖 7】



【圖 8】



【圖 9】