

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7678748号
(P7678748)

(45)発行日 令和7年5月16日(2025.5.16)

(24)登録日 令和7年5月8日(2025.5.8)

(51)国際特許分類		F I			
A 6 1 K	31/4545(2006.01)	A 6 1 K	31/4545		
A 6 1 K	31/506(2006.01)	A 6 1 K	31/506		
A 6 1 K	31/407(2006.01)	A 6 1 K	31/407		
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/00		
A 6 1 K	31/4523(2006.01)	A 6 1 K	31/4523		
				Z N A	
				請求項の数 11 (全69頁)	
(21)出願番号	特願2021-520923(P2021-520923)	(73)特許権者	398076227		
(86)(22)出願日	令和1年10月16日(2019.10.16)		ザ・ジョンズ・ホプキンス・ユニバーシ		
(65)公表番号	特表2022-504990(P2022-504990		ティー		
	A)		アメリカ合衆国、メリーランド州 2 1		
(43)公表日	令和4年1月13日(2022.1.13)		2 1 8、ボルチモア、ノース・チャール		
(86)国際出願番号	PCT/US2019/056616		ズ・ストリート 3 4 0 0		
(87)国際公開番号	WO2020/081741	(74)代理人	100102978		
(87)国際公開日	令和2年4月23日(2020.4.23)		弁理士 清水 初志		
審査請求日	令和4年9月9日(2022.9.9)	(74)代理人	100160923		
(31)優先権主張番号	62/746,524		弁理士 山口 裕孝		
(32)優先日	平成30年10月16日(2018.10.16)	(74)代理人	100119507		
(33)優先権主張国・地域又は機関			弁理士 刑部 俊		
	米国(US)	(74)代理人	100142929		
(31)優先権主張番号	62/747,587		弁理士 井上 隆一		
(32)優先日	平成30年10月18日(2018.10.18)	(74)代理人	100148699		
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 血管型エーラース・ダンロス症候群および関連障害を処置するための組成物および方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】
血管型エーラース・ダンロス症候群(vEDS)の処置のための薬学的組成物であって、ルボキシスタウリン、エンザスタウリン、およびソトラスタウリンからなる群より選択される作用物質、またはその薬学的に許容される塩の有効量を含む、薬学的組成物。

【請求項2】
エンザスタウリンの有効量を含む、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項3】
ルボキシスタウリンの有効量を含む、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項4】
ソトラスタウリンの有効量を含む、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項5】
前記作用物質またはその薬学的に許容される塩の有効量が、約0.001 mg/kg～250 mg/kg体重であるか、または約0.05 mg/kg～約50 mg/kg体重である、請求項1～4のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項6】
前記作用物質またはその薬学的に許容される塩の有効量が約1 mg/kg～約15 mg/kgであるか、または約1 mg/kg～約30 mg/kgである、請求項5記載の薬学的組成物。

【請求項7】
大動脈解離または破裂のリスクを減少させるための薬学的組成物であって、エンザスタウ

リンまたはその薬学的に許容される塩の有効量を含む、薬学的組成物。

【請求項 8】

エンザスタウリンまたはその薬学的に許容される塩の有効量が、約0.001 mg/kg～250 mg/kg体重であるか、または約0.05 mg/kg～約50 mg/kg体重である、請求項7記載の薬学的組成物。

【請求項 9】

エンザスタウリンまたはその薬学的に許容される塩の有効量が、約1 mg/kg～約15 mg/kgであるか、または約1 mg/kg～約30 mg/kgである、請求項8記載の薬学的組成物。

【請求項 10】

(1)請求項1～6のいずれか一項記載の薬学的組成物、および(2)vEDSを処置するための説明書を含む、キット。

【請求項 11】

(1)請求項7～9のいずれか一項記載の薬学的組成物、および(2)大動脈解離もしくは破裂のリスクを減少させるための説明書を含む、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2019年4月24日に出願された米国特許仮出願第62/838,049号、2018年10月18日に出願された米国特許仮出願第62/747,587号、および2018年10月16日に出願された米国特許仮出願第62/746,524号の恩典を主張する。これらの出願の全内容は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる。

【0002】

連邦政府支援の研究に関する言明

本発明は、国立衛生研究所によって与えられた助成金番号5T32GM007309-44の下で政府支援によってなされた。政府は本発明において特定の権利を有する。

【0003】

分野

本発明は結合組織障害に関する。

【背景技術】

【0004】

背景

血管型エーラース・ダンロス症候群(vEDS)は、COL3A1遺伝子中のヘテロ接合突然変異によって引き起こされる遺伝性結合組織障害である。血管型EDSを有する患者は、薄く、半透明な皮膚、易出血性、特徴的な顔立ちを有し、中型血管から大血管中における自然解離ならびに臓器(子宮、結腸)破裂を発症し、これは、早死におよび約45歳の生存期間中央値をもたらす¹。

【0005】

vEDSの多くの特徴は、過剰なTGF- β 活性と関連付けられた、マルファン症候群(MFS)およびロイス・ディーツ症候群(LDS)のような、他の遺伝性血管症とは明らかに異なる。これらの特徴は、中型血管または大血管中ならびに中空臓器中における、事前の動脈瘤を伴わない大動脈解離および破裂を含む。これらの特徴は疾患予測およびモニタリングを困難または不可能にし、vEDSと診断された成人の大部分における徴候は血管解離または臓器破裂であり、患者の25%が20歳までに主要合併症を経験する^{1,2}。従って、vEDSおよび関連する結合組織障害を処置するための満たされない要求が存在する。

【発明の概要】

【0006】

概要

本明細書において提供されるのは特に、結合組織障害、例えば、血管症を阻害する、処置する、予防する、かつ／またはその症状の重症度を低下させるための、組成物、製剤、

10

20

30

40

50

および方法である。本主題の局面は、広範囲の結合組織障害の処置のための作用物質の使用に関する。特定の態様において、結合組織障害は血管症を含み、ある態様において、血管症は血管型エーラース・ダンロス症候群(vEDS)を含む。

【0007】

本明細書に含まれるのは、対象における血管症(例えば、vEDS)を処置するための方法である。方法は、作用物質が細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)またはプロテインキナーゼC(PKC)の活性または発現を減少させるように、作用物質の有効量を対象へ投与する工程を含む。

【0008】

ある態様において、作用物質は、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ/細胞外シグナル調節キナーゼ(MEK)、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)、ホスホリパーゼC(PLC)、イノシトール三リン酸(IP3)、またはプロテインキナーゼC(pKC)の発現を阻害し、それによってERK、PLC、IP3、またはPKCの活性を阻害する。

【0009】

ある態様において、作用物質は、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ(MAPK)経路と関連する1つまたは複数の分子、例えば、RAS-RAF/MEK/細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)プロテインキナーゼの活性または発現を阻害する。

【0010】

複数の態様において、作用物質は、抗体もしくはその断片、ポリペプチド、小分子、核酸分子、またはそれらの任意の組み合わせを含む。特定の態様において、作用物質は小分子を含む。

【0011】

場合によっては、作用物質は小分子を含む。小分子は、質量が2000ダルトン未満である化合物である。小分子の分子質量は、好ましくは1000ダルトン未満、より好ましくは600ダルトン未満であり、例えば、化合物は、500ダルトン未満、400ダルトン未満、300ダルトン未満、200ダルトン未満、または100ダルトン未満である。

【0012】

小分子は有機または無機である。例示的な有機小分子としては、脂肪族炭化水素、アルコール、アルデヒド、ケトン、有機酸、エステル、単糖類および二糖類、芳香族炭化水素、アミノ酸、ならびに脂質が挙げられるが、これらに限定されない。例示的な無機小分子は、微量元素、イオン、フリーラジカル、および代謝産物を含む。あるいは、小分子は、酵素の結合ポケットを充填するように、断片、または小部分、またはより長いアミノ酸鎖からなるように合成的に操作され得る。典型的に、小分子は1キロダルトン未満である。

【0013】

場合によっては、作用物質は核酸分子を含む。例えば、リボ核酸(RNA)またはデオキシリボ核酸(DNA)は、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ/細胞外シグナル調節キナーゼ(MEK)、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)、ホスホリパーゼC(PLC)、イノシトール三リン酸(IP3)またはプロテインキナーゼC(pKC)の発現を阻害し、それによってERK、PLC、IP3、またはPKCの活性を阻害する。場合によっては、核酸は、低分子干渉RNA(siRNA)、RNA干渉(RNAi)、メッセンジャーRNA(mRNA)、小ヘアピンRNAもしくは短ヘアピンRNA(shRNA)、二本鎖リボ核酸(dsRNA)、アンチセンスRNAもしくはマイクロRNA、またはそれらの任意の部分を含む。しかし、当業者は、ERKもしくはPKC、またはIP3もしくはPLCを阻害する／アンタゴナイズするまたは活性化する／アゴニストする(agonist)さらなる核酸を容易に同定することができる。

【0014】

ポリヌクレオチド、ポリペプチド、または他の作用物質は、本明細書において使用される場合、精製および／または単離される。具体的には、本明細書において使用される場合、「単離された」または「精製された」核酸分子、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはタンパク質には、他の細胞物質も、組換え技術によって産生された場合は培養培地も、化学的に合成された場合は化学的前駆体もしくは他の化学物質も実質的にない。精製さ

10

20

30

40

50

れた化合物は、少なくとも60重量%(乾燥重量)が関心対象の化合物である。好ましくは、調製物は、重量で、少なくとも75%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも99%が、関心対象の化合物である。例えば、精製された化合物は、重量で少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、98%、99%、または100%(w/w)が所望の化合物であるものである。純度は、任意の適切な標準的方法によって、例えば、カラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、または高速液体クロマトグラフィー(HPLC)分析によって測定される。精製されたまたは単離されたポリヌクレオチド(リボ核酸(RNA)またはデオキシリボ核酸(DNA))には、その天然状態においてそれに隣接する遺伝子も配列もない。精製されたまたは単離されたポリペプチドには、その天然状態においてそれに隣接するアミノ酸も配列もない。「精製された」はまた、ヒト対象への投与に安全である、例えば、感染性または毒性作用物質を欠いている、滅菌の程度を定義する。

10

【0015】

複数の態様において、作用物質は、コピメチニブ、またはその薬学的に許容される塩を含む。他の態様において、作用物質は、ルボキシスタウリン、またはその薬学的に許容される塩を含む。他の態様において、作用物質は、エンザスタウリン、またはその薬学的に許容される塩を含む。他の企図される態様において、作用物質は、ソトラスタウリン、またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0016】

代替の態様において、方法は、ホスホリパーゼC(PLC)またはイノシトール三リン酸(IP3)の活性または発現を減少させる作用物質を投与する工程をさらに含む。

20

【0017】

複数の態様において、方法は、作用物質の有効量を投与する工程を含む。作用物質の有効量は、約0.001 mg/kg～約250 mg/kg体重、例えば、約0.001 mg/kg、約0.05 mg/kg、約0.1 mg/kg、約0.5 mg/kg、約1 mg/kg、約5 mg/kg、約10 mg/kg、約25 mg/kg、約50 mg/kg、約75 mg/kg、約100 mg/kg、約125 mg/kg、約150 mg/kg、約175 mg/kg、約200 mg/kg、約225 mg/kg、または約250 mg/kg体重である。最終的には、担当の医師または獣医が、適切な量および投薬レジメンを決定する。

【0018】

場合によっては、作用物質は、1日当たり少なくとも1回、1週間当たり少なくとも1回、または1カ月当たり少なくとも1回、投与される。作用物質は、1日、1週間、1カ月、2カ月、3カ月、6カ月、9カ月、または1年間の期間の間、適切に投与され得る。場合によっては、作用物質は、毎日、例えば、24時間毎に投与される。または、作用物質は、連続的に、または1日当たり数回、例えば、1時間毎に、2時間毎に、3時間毎に、4時間毎に、5時間毎に、6時間毎に、7時間毎に、8時間毎に、9時間毎に、10時間毎に、11時間毎に、もしくは12時間毎に投与される。

30

【0019】

さらに、本明細書に記載される方法は、少なくとも約1%、例えば、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%、血管症(vEDS)の重症度を低下させるかまたは予防する。

40

【0020】

様々な投与経路が利用可能である。例えば、作用物質は、局所的に、経口的に、吸入によって、または注射によって投与される。

【0021】

対象は、好ましくは、そのような処置または予防の必要がある哺乳動物、例えば、血管症と診断された対象またはその素因を有する対象である。哺乳動物は、任意の哺乳動物、例えば、ヒト、霊長動物、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウマ、ならびに食物消費のために育てられる家畜または動物、例えば、ウシ、ヒツジ、ブタ、ニワトリ、およびヤギであ

50

る。好ましい態様において、哺乳動物はヒトである。

【0022】

複数の局面において、結合組織障害、例えば、血管症(ある態様においてvEDS)を有するかまたはこれらに罹患する危険性がある対象は、正常対照とは異なるレベルのERKタンパク質もしくはPKCタンパク質またはmRNAを有する。いくつかの態様において、対象から得られた試験サンプルは、正常対照とは異なるレベルのERKタンパク質もしくはPKCタンパク質またはmRNAを含む。例えば、試験サンプルは、正常対照と比較して少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%、95%、99%、100%、5~50%、50~75%、75~100%、1倍、2倍、3倍、4倍、または5倍高いレベルのERKタンパク質もしくはPKCタンパク質またはmRNAを含み得る。

10

【0023】

ある態様において、試験サンプルは、正常対照と比較して少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%、95%、99%、100%、約5~約50%、約50~約75%、約75~約100%、1倍、2倍、3倍、4倍、または5倍高いレベルのERK活性またはPKC活性を含み得る。

【0024】

「対照」サンプルまたは値は、試験サンプルとの比較のためのリファレンスとして、通常は既知のリファレンスとして役立つサンプルを指す。例えば、試験サンプルは、試験対象、例えば、血管症(例えば、vEDS)のような結合組織障害を有するかまたは診断の必要がある対象から採取され、既知の状態、例えば、疾患を有さないある対象(もしくは複数の対象)(陰性もしくは正常対照)、または疾患を有するある対象(もしくは複数の対象)(陽性対照)からのサンプルと比較され得る。対照はまた、多数の試験または結果から集められた平均値を示し得る。当業者は、任意の数のパラメータの評価のために対照が設計され得ることを認識すると考えられる。当業者は、どの対照が所定の状況において有益であり、かつ対照値との比較に基づいてデータを解析することができるかを理解すると考えられる。対照はまた、データの有意性を判定するのに有益である。例えば、所定のパラメータについての値が対照において可変である場合、試験サンプル中の変動は有意と見なされない。

20

【0025】

化合物(例えば、タンパク質またはmRNA)に関して、「正常量」という用語は、血管症(例えば、vEDS)のような結合組織障害を有さない個体中のまたは健常もしくは一般集団中の化合物の正常量を指す。化合物の量が試験サンプルにおいて測定され、(例えば、特定のvEDSまたはその症状についての)カットオフ点および異常値を定義するための参照限度、識別限度またはリスク規定閾値のような技術を用いて「正常対照」レベルと比較され得る。正常対照レベルは、vEDSに罹患していないことが既知の対象において典型的に見られる1つまたは複数の化合物または複合化合物のレベルを意味する。そのような正常対照レベルおよびカットオフ点は、化合物が単独で使用されるかまたは他の化合物と組み合わせて指数にする式において使用されるかどうかに基づいて変動し得る。あるいは、正常対照レベルは、臨床的に関連する時間範囲にわたってvEDSまたはその特定の症状を発症しなかった以前に試験された対象からの化合物パターンのデータベースであり得る(例えば、vEDSが発症するかまたはvEDSを既に有する対象を試験する場合)。

30

40

【0026】

決定されるレベルは、対照レベルもしくはカットオフレベルもしくは閾値レベルと同じであってもよいが、または、対照レベルもしくはカットオフレベルもしくは閾値レベルと比べて増加もしくは減少していてもよい。いくつかの局面において、対照対象は、同じ種、性別、民族性、年齢層、喫煙状況、肥満度指数(BMI)、現在の治療レジメン状況、病歴、またはそれらの組み合わせの一致した対照であり、しかし、対照が問題の疾患(またはその症状)に罹患していないかまたは疾患のリスクがない点で、診断される対象とは異なる。

【0027】

対照レベルと比べて、決定されるレベルは増加したレベルであり得る。本明細書におい

50

て使用される場合、レベル(例えば、タンパク質またはmRNAのレベル)に関して「増加した」という用語は、対照レベルを上回る任意の%増加を指す。様々な態様において、増加したレベルは、対照レベルと比べて、少なくとも5%または約5%増加、少なくとも10%または約10%増加、少なくとも15%または約15%増加、少なくとも20%または約20%増加、少なくとも25%または約25%増加、少なくとも30%または約30%増加、少なくとも35%または約35%増加、少なくとも40%または約40%増加、少なくとも45%または約45%増加、少なくとも50%または約50%増加、少なくとも55%または約55%増加、少なくとも60%または約60%増加、少なくとも65%または約65%増加、少なくとも70%または約70%増加、少なくとも75%または約75%増加、少なくとも80%または約80%増加、少なくとも85%または約85%増加、少なくとも90%または約90%増加、少なくとも95%または約95%増加であり得る。

10

【0028】

対照レベルと比べて、決定されるレベルは減少したレベルであり得る。本明細書において使用される場合、レベル(例えば、タンパク質またはmRNAのレベル)に関して「減少した」という用語は、対照レベルを下回る任意の%減少を指す。様々な態様において、減少したレベルは、対照レベルと比べて、少なくとも5%または約5%減少、少なくとも10%または約10%減少、少なくとも15%または約15%減少、少なくとも20%または約20%減少、少なくとも25%または約25%減少、少なくとも30%または約30%減少、少なくとも35%または約35%減少、少なくとも40%または約40%減少、少なくとも45%または約45%減少、少なくとも50%または約50%減少、少なくとも55%または約55%減少、少なくとも60%または約60%減少、少なくとも65%または約65%減少、少なくとも70%または約70%減少、少なくとも75%または約75%減少、少なくとも80%または約80%減少、少なくとも85%または約85%減少、少なくとも90%または約90%減少、少なくとも95%または約95%減少であり得る。

20

【0029】

複数の局面において、対象から得られた試験サンプルは、血液、血清、血漿、唾液、涙、硝子体、脳脊髄液、汗、脳脊髄液、または尿を含む。

【0030】

さらに本明細書において提供されるのは、対象における結合組織障害を処置するための方法である。方法は作用物質の有効量を投与する工程を含み、ここで、作用物質は、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK) (extracellular signal-related kinase (ERK)) またはプロテインキナーゼC(PKC)の活性または発現を減少させる。複数の態様において、結合組織障害は、血管症(例えば、vEDS)、マルファン症候群、ロイス・ディーツ症候群、および家族性胸部大動脈瘤 (Familal thoracic aortic aneurysm) からなる群より選択される。他の例としては、非限定的に、非ミオパチー性皮膚筋炎；傍骨性骨軟骨異形増生 (bizarre parosteal osteochondromatous proliferation) ；古典型エーラース・ダンロス症候群；皮膚脆弱型エーラース・ダンロス症候群；エーラース・ダンロス症候群；好酸球性筋膜炎；表皮水疱症(EB) レッグ-カルヴェ-ペルテス病；マルファン症候群；メロレオストーシス；骨斑紋症を伴うメロレオストーシス；混合性結合組織疾患；リウマチ因子陰性多発性関節炎；魚鱗癬および早発卵巣不全を伴う骨硬化症；パックマン異形成 (pachman dysplasia) ；骨パジェット病；家族性骨パジェット病；多発性筋炎；あぶみ骨固着を伴う進行性難聴；リビング病；強皮症；顎関節強直症 (temporomandibular ankyloses) ；20爪ジストロフィー；血管型エーラース・ダンロス症候群；ヴァイル-マルケサーニ症候群；Worth型常染色体優性遺伝性骨硬化症が挙げられる。ある態様において、結合組織障害は血管症を含む。

30

40

【0031】

マルファン症候群自体の処置に加えて、本発明はまた、様々なマルファン関連障害を処置する方法を提供する。いくつかの態様において、マルファン関連障害は、ロイス・ディーツ症候群、家族性大動脈瘤、大動脈拡張を伴う二尖大動脈弁、家族性水晶体偏位(脱臼した水晶体)、僧帽弁逸脱症候群、マルファン体型、先天性拘縮性クモ指症(ビールズ症候群)

50

、スティックラー症候群、シュブリンツェン・ゴールドバーグ症候群、ヴァイル-マルケサーニ症候群、およびエーラース・ダンロス症候群からなる群より選択される。

【0032】

複数の態様において、結合組織障害を処置するための方法は、作用物質を投与する工程を含み、ここで、作用物質は、抗体もしくはその断片、ポリペプチド、小分子、核酸分子、またはそれらの任意の組み合わせを含む。好ましい態様において、小分子を含む。

【0033】

複数の態様において、作用物質は、コビメチニブ、またはその薬学的に許容される塩を含む。他の態様において、作用物質は、ルボキシスタウリン、またはその薬学的に許容される塩を含む。他の態様において、作用物質は、エンザスタウリン、またはその薬学的に許容される塩を含む。他の企図される態様において、作用物質は、ソトラスタウリン、またはその薬学的に許容される塩を含む。

10

【0034】

代替の態様において、方法は、ホスホリパーゼC(PLC)またはイノシトール三リン酸(IP3)の活性または発現を減少させる作用物質を投与する工程をさらに含む。

【0035】

さらに本明細書において提供されるのは、血管症の処置のための薬学的組成物である。複数の態様において、組成物は、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)またはプロテインキナーゼC(PKC)の活性または発現を減少させる作用物質の有効量を含む。薬学的組成物は作用物質を含み、ここで、作用物質は、抗体もしくはその断片、ポリペプチド、小分子、核酸分子、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

20

【0036】

本明細書に記載される組成物は、経口投与、静脈内投与、局所投与、非経口投与、腹腔内投与、筋肉内投与、髄腔内投与、病巣内投与、頭蓋内投与、鼻腔内投与、眼内投与、心臓内投与、硝子体内投与、骨内投与、脳内投与、動脈内投与、関節内投与、皮内投与、経皮投与、経粘膜投与、舌下投与、腸内投与、唇下投与、吹送投与、坐剤投与、吸入投与、または皮下投与を介して投与される。

【0037】

さらに本明細書において提供されるのは、血管症を処置するためのキットである。複数の態様において、キットは、(1)本明細書に記載される組成物のいずれかの薬学的組成物、および(2)血管症を処置するための説明書を含む。

30

【0038】

他の局面において、結合組織障害(例えば、マルファン症候群)を処置するための方法が企図される。複数の態様において、方法は作用物質の有効量を投与する工程を含み、ここで、作用物質は、抗体もしくはその断片、ポリペプチド、小分子、核酸分子、またはそれらの任意の組み合わせを含む。ある態様において、1つまたは複数の作用物質の治療有効量を対象へ同時投与する。

【0039】

ある態様において、結合組織障害(例えば、マルファン症候群)を処置するための方法は、プロテインキナーゼC(PKC)の活性または発現を減少させる作用物質を投与する工程を含む。ある態様において、結合組織障害(例えば、マルファン症候群)を処置するための方法は、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)の活性または発現を減少させる作用物質を投与する工程を含む。ある態様において、結合組織障害(例えば、マルファン症候群)を処置するための方法は、プロテインキナーゼC(PKC)、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)、またはそれらの組み合わせの活性または発現を減少させる作用物質を投与する工程を含む。

40

【0040】

ある態様において、結合組織障害(例えば、マルファン症候群)を処置するための方法は、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ/細胞外シグナル調節キナーゼ(MEK)、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)、ホスホリパーゼC(PLC)、イノシトール三リン酸(IP3)、またはプロテインキナーゼC(pKC)の発現を減少させるかまたは阻害する作用物質を投与し、そ

50

れによってERK、PLC、IP3、またはPKCの活性を阻害する工程を含む。

【0041】

ある態様において、結合組織障害(例えば、マルファン症候群)を処置するための方法は、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ(MAPK)経路と関連する1つまたは複数の分子、例えば、RAS-RAF/MEK/細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)プロテインキナーゼの活性または発現を減少させるかまたは阻害する作用物質を投与する工程を含む。

【0042】

いくつかの態様において、患者はヒト患者である。いくつかの態様において、患者は15歳またはそれ以上である。いくつかの態様において、患者は成人患者である。いくつかの態様において、患者は小児患者である。

【0043】

いくつかの態様において、方法は、vEDSが診断され次第(または診断された後すぐに)、開始される。いくつかの態様において、方法は、患者が15歳の時に、または最初に診断された時に、開始される。

【0044】

いくつかの態様において、患者は、vEDSの表現型に基づいて、または分子検査vEDSに基づいて診断される(例えば、患者が三重らせん内のグリシン置換またはスプライス部位変異体を有することを判定する検査のような、1つまたは複数の遺伝子検査に基づいて、患者はvEDSを有すると判定される)。

【0045】

いくつかの態様において、患者はCOL3A1突然変異を有する。いくつかの態様において、患者は、三重らせん内のグリシン置換またはスプライス部位変異体を有する。いくつかの態様において、患者は、コラーゲン三重らせんの繰り返し(Gly-X-Y)_n配列中のグリシンについてのミスセンス置換、およびまたは、インフェーズエキソンスキッピングへ至るスプライス部位変異体を有する。いくつかの態様において、患者は、三重らせん内にグリシン置換を有する(グループI)。いくつかの態様において、患者は、スプライス部位変異体、インフレーム挿入-欠失または重複を有する(グループII)。いくつかの態様において、患者は、ハプロ不全へ至る変異体を有する(グループIII)。

【0046】

いくつかの態様において、患者は、本明細書において具現化される1つまたは複数の作用物質、またはその薬学的に許容される塩の初回用量前に、急性vEDS関連事象(例えば、動脈事象、破裂または解離、腸管または子宮破裂)を以前に有したことがある。

【0047】

ある態様において、作用物質は、正常対照と比較して、PKCタンパク質またはmRNAのレベルを少なくとも約5%減少させる、10%減少させる、15%減少させる、20%減少させる、25%減少させる、30%減少させる、40%減少させる、45%減少させる、50%減少させる、55%減少させる、60%減少させる、65%減少させる、70%減少させる、75%減少させる、80%減少させる、90%減少させる、95%減少させる、99%減少させる、100%減少させる、5~50%減少させる、50~75%減少させる、75~100%減少させる、1/1に減少させる、1/2に減少させる、1/3に減少させる、1/4に減少させる、または1/5に減少させる。他の態様において、作用物質は、正常対照と比較して、PKC活性のレベルを少なくとも約5%減少させる、10%減少させる、15%減少させる、20%減少させる、25%減少させる、30%減少させる、40%減少させる、45%減少させる、50%減少させる、55%減少させる、60%減少させる、65%減少させる、70%減少させる、75%減少させる、80%減少させる、90%減少させる、95%減少させる、99%減少させる、100%減少させる、5~50%減少させる、1/5に減少させる。

【0048】

いくつかの態様において、作用物質は、正常対照と比較して、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)タンパク質またはmRNAのレベルを少なくとも約5%減少させる、10%減少させる、15%減少させる、20%減少させる、25%減少させる、30%減少させる、40%減少させる

10

20

30

40

50

る、45%減少させる、50%減少させる、55%減少させる、60%減少させる、65%減少させる、70%減少させる、75%減少させる、80%減少させる、90%減少させる、95%減少させる、99%減少させる、100%減少させる、5~50%減少させる、50~75%減少させる、75~100%減少させる、1/1に減少させる、1/2に減少させる、1/3に減少させる、1/4に減少させる、または1/5に減少させる。他の態様において、作用物質は、正常対照と比較して、ERK活性のレベルを少なくとも約5%減少させる、10%減少させる、15%減少させる、20%減少させる、25%減少させる、30%減少させる、40%減少させる、45%減少させる、50%減少させる、55%減少させる、60%減少させる、65%減少させる、70%減少させる、75%減少させる、80%減少させる、90%減少させる、95%減少させる、99%減少させる、100%減少させる、5~50%減少させる、1/5に減少させる。

10

【0049】

複数の態様において、結合組織障害(例えば、マルファン症候群)を処置するための作用物質は、エンザスタウリン、またはその薬学的に許容される塩を含む。他の態様において、結合組織障害(例えば、マルファン症候群)を処置するための作用物質は、ソトラスタウリン、またはその薬学的に許容される塩を含む。他の企図される例において、結合組織障害(例えば、マルファン症候群)を処置するための作用物質は、ルボキシスタウリン、またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0050】

定義

特に定義されない限り、本明細書において使用される全ての専門用語および科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般的に理解される意味を有する。以下の参考文献は、本開示において使用される用語の多くの一般的定義を当業者に提供する：The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988); The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991); および Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991)。本明細書において使用される場合、以下の用語は、特に指定されない限り、下記においてそれらに与えられる意味を有する。

20

【0051】

「薬学的組成物」という用語は、少なくとも1つの治療的にまたは生物学的に活性な作用物質を含有し、患者への投与に適している、任意の組成物を意味する。これらの製剤のいずれも、当技術分野の周知でありかつ受け入れられている方法によって調製することができる。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th edition, (ed. A. R. Gennaro), Mack Publishing Co., Easton, Pa., 2000を参照されたい。

30

【0052】

「Gタンパク質共役受容体(GPCR)」とは、細胞外の分子を感知し、細胞内で、シグナル伝達経路、最終的には細胞応答を活性化する、タンパク質受容体を意味する。GPCRは、細胞膜を7回通過するため、7回膜貫通型受容体と呼ばれる。

【0053】

「アゴニスト」とは、受容体へ結合し、受容体を活性化させて生物学的応答を生じさせる、化学物質を意味する。アゴニストが作用を引き起こすのに対し、「アンタゴニスト」はアゴニストの作用を遮断し、逆アゴニストはアゴニストの作用とは逆の作用を引き起こす。本明細書において使用される場合、「アンタゴニスト」および「阻害物質」という用語は、その標的分子の生物学的活性を相殺もしくは阻害する、減少させる、または抑制する、任意の分子を指すために、交換可能に使用される。いくつかの態様において、アゴニストは、その標的分子の生物学的活性を誘導するかまたは増加させる場合、「スーパーアゴニスト」である。いくつかの態様において、アンタゴニストは、その標的分子の生物学的活性を相殺もしくは阻害する、減少させる、または抑制する場合、「スーパーアンタゴニスト」である。好適な阻害物質、アンタゴニスト、アゴニストは、可溶性受容体、ペプチド阻害物質、小分子阻害物質、リガンド融合体、および抗体を含む。

40

【0054】

50

本明細書において使用される場合、「塩」という用語は、本明細書において使用される作用物質の酸塩または塩基塩を指す。許容される塩の説明的なしかし非限定的な例は、鉱酸(塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸など)塩、有機酸(酢酸、プロピオン酸、グルタミン酸、クエン酸など)塩、および第四級アンモニウム(ヨウ化メチル、ヨウ化エチルなど)塩である。

【0055】

本明細書において使用される場合、「アンタゴニスト」は、例えば、アゴニストの1つまたは複数の結合部位について競争することによって、別のものの活性または結合に干渉し、しかし活性反応を誘導しない、抗体またはその断片、ペプチド、ポリペプチドまたはその断片、小分子、および阻害性核酸またはその断片を指し得る。

10

【0056】

「野生型」または「WT」とは、自然界において存在する種の典型的な形態の表現型を意味する。あるいは、野生型は、非標準的な「突然変異」対立遺伝子によって産生されるものとは対照的に、ある遺伝子座における標準的な「正常」対立遺伝子の産物として概念化される。

【0057】

「投与すること」という用語は、本明細書において使用される場合、作用物質を、例えば、疾患または状態についての処置の必要がある対象へ移行させる、送達する、導入する、または輸送する、任意の様式を指す。そのような様式としては、経口、局所、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮内、鼻腔内、および皮下投与が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0058】

「同時投与する」とは、本明細書に記載される組成物が、追加の療法の投与と同時に、その直前に、またはその直後に投与されることを意味する。本開示の作用物質または組成物は、患者へ単独で投与することができるか、または同時投与することができる。同時投与は、個々にまたは組み合わせての化合物(2つ以上の化合物または作用物質)の同時のまたは逐次の投与を含むことを意味する。調製物はまた、必要に応じて、他の活性物質と組み合わせることができる。

【0059】

本明細書において使用される場合、「逐次投与」は、2つの作用物質(例えば、本明細書に記載される作用物質または組成物)の投与が、同日に別々に生じるか、同日に生じない(例えば、連続日において生じる)ことを含む。

30

【0060】

本明細書において使用される場合、「並行投与」は、少なくとも部分的な持続期間の重複を含む。例えば、2つの作用物質(例えば、生物活性を有する本明細書に記載される作用物質のいずれか)が並行して投与される場合、それらの投与はある所望の時間内に生じる。作用物質の投与は同日に始まり同日に終わり得る。一方の作用物質の投与はまた、両方の作用物質が同日に少なくとも1回服用される限り、第2の作用物質の投与よりも日単位で先行し得る。同様に、一方の作用物質の投与は、両方の作用物質が同日に少なくとも1回服用される限り、第2の作用物質の投与を超えて延長され得る。生物活性作用物質／作用物質は、並行投与を含むために毎日同時に服用される必要はない。

40

【0061】

本明細書において使用される場合、「間欠投与」は、ある期間(これは、「第1の投与期間」と見なすことができる)の作用物質の投与と、それに続く、作用物質が服用されないかまたはより少ない維持用量で服用される時間(これは、「オフ期間」と見なすことができる)と、それに続く、作用物質が再度投与される期間(これは、「第2の投与期間」と見なすことができる)を含む。一般に、第2の投与相において、作用物質の投薬量レベルは、第1の投与期間中に投与されるものと一致するが、医学的な必要に応じて増加されても減少されてもよい。

【0062】

本明細書において使用される場合、「変更」はまた、遺伝子またはポリペプチドの発現

50

レベルまたは活性における2倍またはそれ以上の、例えば、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、500倍、1000倍、またはそれ以上の変化を含む。

【0063】

本明細書において定義される場合、タンパク質阻害物質(例えば、ERKもしくはPKC阻害物質、またはPLCもしくはIP3阻害物質)相互作用に関して「阻害」、「阻害する」、「阻害すること」という用語などは、阻害物質の非存在下でのタンパク質の活性または機能と比べて、タンパク質の活性または機能に悪影響を与えること(例えば、減少させること)(例えば、ERKもしくはPKC、またはPLCもしくはIP3の活性または量を減少させること、受容体へ結合するERKもしくはPKC、またはPLCもしくはIP3の能力を減少させること、ERKまたはPKCに結合する受容体の能力を減少させること、または、受容体へのERKもしくはPKC、またはPLCもしくはIP3の結合時のERKまたはPKCシグナル伝達を減少させること)を意味する。複数の態様において、阻害は、疾患または疾患(例えば、結合組織障害)の症状の低下を指す。同様に、「阻害物質」は、結合する、部分的にもしくは完全に遮断する、減少させる、防止する、遅らせる、不活性化する、脱感作する、または活性をダウンレギュレートすることによって、標的を阻害する化合物またはタンパク質である。

10

【0064】

「改善する」とは、例えば、偽アレルギー型反応等の疾患の発病または進行を、減少させる、抑制する、軽減する、和らげる、停止させる、または安定させることを意味する。

【0065】

「増幅する」とは、分子のコピーの数を増加させることを意味する。一例において、核酸を増幅するためにポリメラーゼ連鎖反応(PCR)が使用される。

20

【0066】

「結合」とは、分子に対する物理化学的親和性を有することを意味する。結合は、本開示の方法のいずれか、例えば、細胞上に発現した受容体との薬物／化合物によって、測定される。

【0067】

本開示において、「含む」、「含むこと」、「含有すること」、「有すること」などは、米国特許法においてそれらに与えられている意味を有することができ、「包含する」、「包含すること」などを意味することができ；「から本質的になる」または「本質的になる」という用語は、同様に、米国特許法において与えられている意味を有し、これらの用語は、オープンエンドであり、記載されているものの基本的なまたは新規の特徴が、記載されている以上のものの存在によって変更されない限り、記載されている以上のものの存在を許可し、しかし先行技術の態様は除外する。

30

【0068】

「有効量」とは、未処置患者に比べて疾患の症状を改善させるために必要とされる量を意味する。疾患の治療的処置について本発明を実施するために使用される活性化化合物の有効量は、投与の様式、対象の年齢、体重、および身体全体の健康に依存して変動する。最終的には、担当の医師または獣医が、適切な量および投薬レジメンを決定することになる。そのような量を、「有効」量と称する。

【0069】

哺乳動物へ投与される投薬量および頻度(単回または複数回用量)は、様々な因子、例えば、哺乳動物が別の疾患に罹患しているかどうか、およびその投与経路；レシピエントのサイズ、年齢、性別、健康、体重、肥満度指数、および食事；処置される疾患の症状の性質および程度、併用治療の種類、処置される疾患からの合併症、または他の健康関連問題に依存して変動し得る。他の治療レジメンまたは剤が本開示の方法および作用物質と併用して使用され得る。確立された投薬量(例えば、頻度および期間)の調節および操作は、十分に当業者の能力内にある。

40

【0070】

本明細書に記載される任意の作用物質について、治療有効量(例えば、有効用量または有効量)は、細胞培養アッセイから最初に決定することができる。目標濃度は、本明細書に記

50

載されるかまたは当技術分野において公知の方法を使用して測定された場合の、本明細書に記載される方法を達成することができる、治療薬の濃度である。

【0071】

当技術分野において周知であるように、ヒトにおける使用についての治療有効量はまた、動物モデルから決定することができる。例えば、ヒトについての用量は、動物において有効であると分かった濃度を達成するように製剤化され得る。ヒトにおける投薬量は、上述したように、作用物質の有効性をモニタリングし、投薬量を上方へまたは下方へ調節することによって、調節することができる。上述の方法および他の方法に基づいてヒトにおける最大効能を達成するように用量を調節することは、十分に当業者の能力内にある。

【0072】

投薬量は、患者の要件および用いられる治療薬に依存して変動し得る。患者へ投与される用量は、経時的に患者において有利な治療反応をもたらすために十分であるべきである。用量のサイズはまた、任意の有害な副作用の存在、性質、および程度によって決定される。特定の状況についての適切な投薬量の決定は、専門家の技能内にある。一般に、処置は、作用物質の最適用量未満であるより少ない投薬量で開始される。その後、状況にしたがって最適な効果が達成されるまで、投薬量を少しずつ増加させる。処置される特定の臨床的適応症について有効な投与される作用物質のレベルを提供するために、投薬量および間隔を個々に調節することができる。これは個体の疾患状態の重症度に見合う治療レジメンを提供する。

【0073】

vEDSを処置する、マルファン症候群を処置する、かつ／またはPLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路の発現もしくは活性を変更するための本開示の作用物質(例えば、薬理学的阻害物質)の有効用量は、作用物質約0.001 mg/kg～約0.01 mg/kg、作用物質約0.01 mg/kg～約0.1 mg/kg、作用物質約0.1 mg/kg～約1.0 mg/kg、作用物質約1.0 mg/kg～約5.0 mg/kg、作用物質約5.0 mg/kg～約10 mg/kg、作用物質約10 mg/kg～約15 mg/kg、作用物質約15 mg/kg～約20 mg/kg、作用物質約20 mg/kg～約25 mg/kg、作用物質約25 mg/kg～約30 mg/kg、作用物質約30 mg/kg～約35 mg/kg、作用物質約35 mg/kg～約40 mg/kg、作用物質約40 mg/kg～約45 mg/kg、作用物質約45 mg/kg～約50 mg/kg、作用物質約50 mg/kg～約55 mg/kg、作用物質約55 mg/kg～約60 mg/kg、作用物質約60 mg/kg～約65 mg/kg、作用物質約65 mg/kg～約70 mg/kg、作用物質約70 mg/kg～約75 mg/kg、作用物質約75 mg/kg～約80 mg/kg、作用物質約80 mg/kg～約85 mg/kg、作用物質約85 mg/kg～約90 mg/kg、作用物質約90 mg/kg～約95 mg/kg、または作用物質約95 mg/kg～約100 mg/kgであり得る。

【0074】

いくつかの局面において、本開示は、本開示の作用物質の有効用量を含む組成物を含み、ここで、作用物質は組成物の約0.1%～約20% w/vであり得る。成分の重量パーセントは、それとは反対に特に指定されない限り、成分が含まれる製剤または組成物の総重量に基づく。

【0075】

例えば、本明細書に開示される作用物質の有効用量は、組成物の約0.001%～約0.01%、約0.01%～約0.1%、約0.1%～約1.0%、約1.0%～約2.0%、約2.0%～約3.0%、約3.0%～約4.0%、約4.0%～約5.0%、約5.0%～約6.0%、約6.0%～約7.0%、約7.0%～約8.0%、約8.0%～約9.0%、約9.0%～約10%、約10%～約11%、約11%～約12%、約12%～約13%、約13%～約14%、約14%～約15%、約15%～約16%、約16%～約17%、約17%～約18%、約18%～約19%、または約19%～約20% w/vであり得る。

【0076】

「処置すること」および「処置」という用語は、本明細書において使用される場合、症状の重症度および／もしくは頻度を低下させる、症状および／もしくはそれらの根底にある原因を排除する、かつ／または損傷の改善もしくは修復を促進するような、有害な状態、障害、または疾患を患っている臨床的症候性の個体への剤または製剤の投与を指す。

10

20

30

40

50

【0077】

「対象」、「患者」、「個体」という用語などは、本明細書において使用される場合、限定的であるようには意図されず、一般に交換することができる。「対象」、「患者」、「個体」などとして記載される個体は、必ずしも所定の疾患を有しておらず、しかし、単に医学的助言を求めているもよい。「対象」、「患者」、「個体」という用語などは、本明細書において使用される場合、示される障害に罹患し得る動物界の全てのメンバーを含む。いくつかの局面において、対象は哺乳動物であり、いくつかの局面において、対象はヒトである。

【0078】

「サンプル」という用語は、本明細書において使用される場合、インビトロでの評価の目的のために得られた生物学的サンプルを指す。複数の態様において、サンプルは体液を含み得る。いくつかの態様において、体液としては、対象から得られた、全血、血漿、血清、リンパ液、母乳、唾液、粘液、精液、細胞抽出物、炎症液、脳脊髄液、硝子体液、涙、硝子体、房水、または尿が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの局面において、サンプルは、2つまたはそれ以上の体液の複合パネルである。例示的な局面において、サンプルは、血液またはそのフラクション(例えば、血漿、血清、または白血球搬出法によって得られたフラクション)を含む。

【0079】

本明細書において提供される範囲は、その範囲内の値の全てについての省略表現であると理解される。例えば、1~50の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または50、ならびに前述の整数の間の全ての介在する十進数値、例えば、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、および1.9からなる群からの任意の数、数の組み合わせ、または部分範囲を含むと理解される。部分範囲に関して、範囲のいずれかの端点から広がる「入れ子の部分範囲」が具体的に企図される。例えば、1~50の例示的な範囲の入れ子の部分範囲は、一方の方向における1~10、1~20、1~30、および1~40、または他方の方向における50~40、50~30、50~20、および50~10を含み得る。

【0080】

「組換え」とは、複数の供給源由来の遺伝物質と一緒にして、他の場合では生物には見られない配列を作成するための、遺伝子組換え(例えば、分子クローニング)の実験室的方法によって形成された核酸分子を意味する。

【0081】

DNA核酸配列(例えば、遺伝子)に関して本明細書において使用されるような「発現」または「発現している」という単語は、その配列の転写および／または翻訳産物を意味する。細胞中のDNA分子の発現のレベルは、細胞内に存在する対応するmRNAの量または細胞によって産生されたそのDNAによってコードされたタンパク質の量のいずれかに基づいて決定され得る(Sambrook et al., 1989 Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 18.7-18.88)。ポリペプチドに関して使用される場合、発現は、転写、転写後修飾、翻訳、翻訳後修飾、および分泌を含むが、これらに限定されない、ポリペプチドの産生に関与する任意の段階を含む。発現は、タンパク質を検出するための従来の技術(例えば、ELISA、ウエスタンブロット法、フローサイトメトリー、免疫蛍光、免疫組織化学など)を使用して、検出することができる。

【0082】

「低下させる」とは、少なくとも10%、25%、50%、75%、または100%の負の変更を意味する。

【0083】

「リファレンス」とは、標準または対照条件を意味する。

【0084】

10

20

30

40

50

特に指定されない限り、または文脈から明らかでない限り、本明細書において使用される場合、「1つの (a)」、「1つの (an)」、および「その (the)」という用語は、単数形または複数形であることが理解される。特に指定されない限り、または文脈から明らかでない限り、本明細書において使用される場合、「または」という用語は、包含的であることが理解される。

【0085】

特に指定されない限り、または文脈から明らかでない限り、本明細書において使用される場合、「約」という用語は、当技術分野における通常の許容の範囲内、例えば、平均値の2標準偏差内であると理解される。約は、記載されている値の、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%、または0.01%以内であると理解することができる。文脈から別段に明らかでない限り、本明細書において提供される全ての数値は、「約」という用語によって修飾されている。

【0086】

本明細書において使用される場合、「誘導体」という用語は、親化合物(例えば、本明細書に開示される化合物)の構造に由来する構造を有する化合物を指し、その構造は、本明細書に開示されるものと十分に類似しており、その類似性に基づいて、特許請求される化合物と同じまたは同様の活性および有用性を示すこと、または、前駆体として、特許請求される化合物と同じまたは同様の活性および有用性を誘導することが当業者によって予想される。例示的な誘導体としては、親化合物の塩、エステル、アミド、エステルもしくはアミドの塩、およびN-オキシドが挙げられる。

【0087】

本明細書に開示される各態様は、他の開示される態様の各々に適用可能であるとして企図される。従って、本明細書に記載される様々な要素の全ての組み合わせが、本発明の範囲内である。

【0088】

本発明の他の特徴および利点は、その好ましい態様の下記の説明から、および特許請求の範囲から明らかであろう。別段の定義がない限り、本明細書において使用される全ての専門用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書において記載されているものと同様のまたは同等の方法および材料を、本発明の実施または試験において使用することができるが、好適な方法および材料を以下に記載する。本明細書において引用される全ての公開された外国特許および特許出願は、参照により本明細書に組み入れられる。本明細書において引用されるアクセッション番号によって示されるGenbankおよびNCBI提出物は、参照により本明細書に組み入れられる。本明細書において引用される全ての他の公開された参考文献、文書、原稿、および科学文献は、参照により本明細書に組み入れられる。矛盾する場合、定義を包含する本明細書が優先するものとする。加えて、材料、方法および例は、説明的なものにすぎず、限定的であるようには意図されない。

[本発明1001]

細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)またはプロテインキナーゼC(PKC)の活性または発現を減少させる作用物質の有効量を投与する工程であって、それによって血管症を処置する、該工程

を含む、対象における血管症を処置する方法。

[本発明1002]

前記血管症が血管型エーラース・ダンロス症候群(vEDS)を含む、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記作用物質が、抗体もしくはその断片、ポリペプチド、小分子、核酸分子、またはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1001の方法。

[本発明1004]

前記作用物質が小分子を含む、本発明1003の方法。

[本発明1005]

10

20

30

40

50

前記作用物質が、コビメチニブまたはその薬学的に許容される塩を含む、本発明1001の方法。

[本発明1006]

前記作用物質が、ルボキシスタウリンまたはその薬学的に許容される塩を含む、本発明1003の方法。

[本発明1007]

前記作用物質が、エンザスタウリンまたはその薬学的に許容される塩を含む、本発明1003の方法。

[本発明1008]

前記作用物質が、ソトラスタウリンまたはその薬学的に許容される塩を含む、本発明1003の方法。

[本発明1009]

ホスホリパーゼC(PLC)またはイノシトール三リン酸(IP3)の活性または発現を減少させる作用物質を投与する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1010]

前記作用物質の有効量が約0.001 mg/kg～250 mg/kg体重である、本発明1001の方法。

[本発明1011]

前記対象が、正常対照とは異なるレベルのERKタンパク質もしくはPKCタンパク質またはmRNAを含む、本発明1001の方法。

[本発明1012]

前記対象が、正常対照と比較して少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%、95%、99%、100%、5～50%、50～75%、75～100%、1倍、2倍、3倍、4倍、または5倍高いレベルのERKタンパク質もしくはPKCタンパク質またはmRNAを含む、本発明1011の方法。

[本発明1013]

前記対象が、正常対照と比較して少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%、95%、99%、100%、5～50%、50～75%、75～100%、1倍、2倍、3倍、4倍、または5倍高いレベルのERK活性またはPKC活性を含む、本発明1011の方法。

[本発明1014]

前記レベルが、前記対象から得られた試験サンプルにおけるレベルである、本発明1011の方法。

[本発明1015]

前記試験サンプルが、血液、血清、血漿、唾液、涙、硝子体、脳脊髄液、汗、脳脊髄液、または尿を含む、本発明1014の方法。

[本発明1016]

細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)またはプロテインキナーゼC(PKC)の活性または発現を減少させる作用物質の有効量を投与する工程であって、それによって結合組織障害を処置する、該工程を含む、対象における結合組織障害を処置する方法。

[本発明1017]

前記結合組織障害が、血管症、マルファン症候群、ロイス・ディーツ症候群、および家族性胸部大動脈瘤からなる群より選択される、本発明1016の方法。

[本発明1018]

前記血管症が血管型エーラース・ダンロス症候群(vEDS)を含む、本発明1016の方法。

[本発明1019]

前記作用物質が、抗体もしくはその断片、ポリペプチド、小分子、核酸分子、またはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1016の方法。

[本発明1020]

前記作用物質が小分子を含む、本発明1019の方法。

10

20

30

40

50

[本発明1021]

前記作用物質が、コビメチニブまたはその薬学的に許容される塩を含む、本発明1019の方法。

[本発明1022]

前記作用物質が、エンザスタウリンまたはその薬学的に許容される塩を含む、本発明1019の方法。

[本発明1023]

前記作用物質が、ソトラスタウリンまたはその薬学的に許容される塩を含む、本発明1019の方法。

[本発明1024]

前記作用物質が、ルボキシスタウリンまたはその薬学的に許容される塩を含む、本発明1019の方法。

[本発明1025]

ホスホリパーゼC(PLC)またはイノシトール三リン酸(IP3)の活性または発現を減少させる作用物質を投与する工程をさらに含む、本発明1016の方法。

[本発明1026]

細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)またはプロテインキナーゼC(PKC)の活性または発現を減少させる作用物質の有効量を含み、それによって血管症を処置する、血管症の処置のための薬学的組成物。

[本発明1027]

前記作用物質が、抗体もしくはその断片、ポリペプチド、小分子、核酸分子、またはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1026の薬学的組成物。

[本発明1028]

(1)本発明1026または1027の薬学的組成物、および(2)血管症を処置するための説明書を含む、キット。

[本発明1029]

抗体もしくはその断片、ポリペプチド、小分子、核酸分子、またはそれらの任意の組み合わせを含む作用物質の有効量を投与する工程であって、それによって結合組織障害を処置する、該工程を含む、結合組織障害を処置する方法。

[本発明1030]

前記結合組織障害がマルファン症候群を含む、本発明1029の方法。

[本発明1031]

前記作用物質が、プロテインキナーゼC(PKC)の活性または発現を減少させる、本発明1029の方法。

[本発明1032]

前記作用物質が、正常対照と比較して、前記PKCタンパク質またはmRNAのレベルを少なくとも約5%減少させる、10%減少させる、15%減少させる、20%減少させる、25%減少させる、30%減少させる、40%減少させる、45%減少させる、50%減少させる、55%減少させる、60%減少させる、65%減少させる、70%減少させる、75%減少させる、80%減少させる、90%減少させる、95%減少させる、99%減少させる、100%減少させる、5~50%減少させる、50~75%減少させる、75~100%減少させる、1/1に減少させる、1/2に減少させる、1/3に減少させる、1/4に減少させる、または1/5に減少させる、本発明1031の方法。

[本発明1033]

前記作用物質が、正常対照と比較して、PKC活性のレベルを少なくとも約5%減少させる、10%減少させる、15%減少させる、20%減少させる、25%減少させる、30%減少させる、40%減少させる、45%減少させる、50%減少させる、55%減少させる、60%減少させる、65%減少させる、70%減少させる、75%減少させる、80%減少させる、90%減少させる、95%減少させる、99%減少させる、100%減少させる、5~50%減少させる、1/5に減少

10

20

30

40

50

させる、本発明1031の方法。

[本発明1034]

前記作用物質が、エンザスタウリンまたはその薬学的に許容される塩を含む、本発明1029の方法。

[本発明1035]

前記作用物質が、ソトラスタウリンまたはその薬学的に許容される塩を含む、本発明1029の方法。

[本発明1036]

前記作用物質が、ルボキシスタウリンまたはその薬学的に許容される塩を含む、本発明1029の方法。

【図面の簡単な説明】

【0089】

【図1A】 G209S/+マウスモデルが血管型エーラース・ダンロス症候群(vEDS)表現型を再現したことを実証するグラフである。日齢に対する生存率%を示す。生存期間中央値は400日間であった； $p < 0.0001$ 。

【図1B】 G938D/+マウスモデルがvEDS表現型を再現したことを実証するグラフである。日齢に対する生存率%を示す。生存期間中央値は45日間であった； $p < 0.0001$ 。

【図1C】 vEDSマウスの心臓および大動脈を示す画像である。矢印(左側)は上行大動脈を示し、赤色の矢印(右側)は下行大動脈中の大動脈解離部位を示す。

【図1D】 vEDSサンプルが対照とは別個にクラスター化したことを実証するグラフであり、これは、vEDS大動脈のトランスクリプトームにおける有意差を示す。

【図1E】 vEDS大動脈が、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ(MAPK)活性の上昇についての遺伝子発現シグネチャー(P38、JNK、AKT、ERK、ERK1/2)を示したことを示したネットワーク解析を実証する図である。

【図1F】 上流解析が、vEDS大動脈中の転写差異は、関連のPLC/IP3/PKC/ERK軸を通してシグナル伝達する、Gタンパク質共役受容体(GPCR)活性化によって駆動されたことを予測したことを示す表である。

【図1G】 この経路を通しての活性シグナリングのマーカータについて、イムノブロットングによって、GPCRおよびMAPKシグナリングの上昇についてのシグネチャーを実証したイムノブロットおよびグラフである。ERK1/2リン酸化およびPKCリン酸化がvEDS大動脈中において有意により高かったことが分かった。

【図2A】 FDAに承認されたMEK阻害物質である、コビメチニブで処置されたマウスの生存を描写するグラフである。処置無しでの僅か55%の生存率と比較して、94%の生存率が処置の45日後に観察された。

【図2B】 PKC β を特異的に阻害する十分に許容される経口投与される薬理学的作用物質である、ルボキシスタウリンで処置されたマウスの生存を描写するグラフである。処置無しでの僅か55%の生存率と比較して、100%の生存率が処置の39日後に観察された。

【図2C】 PLC/IP3/PKC/ERK軸を遮断する、ヒドララジンで処置されたマウスの生存を描写するグラフである。未処置vEDSマウスについての生存期間中央値である、45日齢で、98%の生存率という保護が観察された。

【図3-1】 図3Aは、本明細書に記載されるvEDSマウスモデルにおいて、妊娠および泌乳が、vEDSマウスにおいて分娩後の最初の30日における動脈解離に起因して、60%の致死率と関連することを描写するグラフである。図3Bは、出産後の仔の除去による泌乳の防止がvEDSマウスにおいて解離および死を予防することができ、100%の生存率が観察されたことを描写するグラフである。

【図3-2】 図3Cは、ほぼ完全な生存(95%)が、オキシトシンによって活性化されるPLC/IP3/PKC/ERK軸を遮断するヒドララジン(16 mg/kg/日)での処置で達成されたことを描写するグラフである。図3Dは、保護(95%の生存率)が、ERKを活性化するキナーゼである、FDAに承認されたMEK阻害物質である、トラメチニブ(GSK-1120212) 1 mg/kg/日での処置で観察されたことを描写する。

10

20

30

40

50

【図3-3】図3Eは、イムノブロッティングによって測定されたように、増加した死亡リスクはERK活性化の増加と相関し、一方、大動脈解離からの保護はERK活性化の減少と相関したことを描写する棒グラフである。図3Fは、ERK標的遺伝子発現によって測定されたように、増加した死亡リスクはERK活性化の増加と相関し、一方、大動脈解離からの保護はERK活性化の減少と相関したことを描写する棒グラフである。

【図4】図4Aは、大動脈ライゼートのイムノブロットによって評価されたように、PKC β の薬理的阻害が大動脈壁中におけるPKCの自己リン酸化ならびにERKのリン酸化を防止したことを示し、かつ、MEKの薬理的阻害が、MEKの下流基質である、ERKのリン酸化の予想された減少と相関しただけでなく、奇妙なことに、PKCリン酸化も減少させたことを示し、正のフィードバックループの存在を示唆している、イムノブロットの画像である。図4Bおよび4Cは、PKC β の薬理的阻害が大動脈壁中におけるPKCの自己リン酸化ならびにERKのリン酸化を防止し、かつ、MEKの薬理的阻害が、MEKの下流基質である、ERKのリン酸化の予想された減少と相関しただけでなく、奇妙なことに、PKCリン酸化も減少させたことを描写し、正のフィードバックループの存在を示唆している、イムノブロット画像の定量化を描写するグラフである(* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$)。コビメチニブもルボキシスタウリンも血圧に対して効果を有さなかった。

【図5】図5Aおよび5Bは、PLC/IP3/PKC/ERK軸を遮断する、ヒドララジン(32mg/kg/d)でのマウスは、顕著な保護である未処置、vEDSマウスについての生存期間中央値である45日齢で98%の生存率を与えること、および生存が思春期で影響され、リスクがほぼ例外なく雄性マウスにおいて見られたことを描写するグラフである(図5A雄性マウスおよび図5B雌性マウス)。

【図6】ヒドララジン(32mg/kg/d)とピカルタミド(50mg/kg/d)との組み合わせが、ヒドララジン単独処置雄性マウスにおける僅か24%の生存率と比較して、雄性マウスにおいて90%の生存率をもたらすことを描写するグラフである。雄性マウスは、思春期後にピカルタミドを除去した後生存し続け、これは、このマウスモデルにおいてアンドロゲン感受性についての時間依存性があったことを示唆している。

【図7】ピカルタミド単独で処置された雄性マウスが、約80%の中程度生存に至り、雄が、思春期後にピカルタミドを除去した後に生存し続かなかったことを描写するグラフであり、これは、アンドロゲンシグナル伝達単独の阻害は、本発明者らのvEDSのマウスモデルにおいて大動脈疾患を予防するには十分でなかったことを示唆している。

【図8】図8Aおよび8Bは、スピロラクトン単独(100mg/kg/d)で処置されたマウスが、ピカルタミド単独と同様に、約80%の中程度生存を示し、しかし、スピロラクトン(100mg/kg/d)およびヒドララジン(32mg/kg/d)の組み合わせが、ヒドララジンおよびピカルタミドの組み合わせと同様に、処置の50日後に100%の生存率をもたらすことを描写するグラフである。

【図9】より高い用量のヒドララジンで処置されたマウスが、増加用量のヒドララジン(50mg/kg/d)を有し、それらの生存が、32mg/kg/d用量が改善したよりも改善しなかったことを描写するグラフである。

【図10】図10Aは、マウスの処置への特定のオキシトシン受容体拮抗薬2の追加が、依然として泌乳中であるvEDSマウスにおいて分娩後の最初の30日における95%の生存率をもたらしたことを描写するグラフであり、これは、妊娠での大動脈解離に起因する有意に上昇した死亡リスクが、授乳中のオキシトシン受容体の活性化によって特異的に駆動されたことを実証した。図10Bは、vEDSマウスにおいて血圧を下げる非特異的 β アンタゴニストである、プロプラノロールは、依然として泌乳中であるvEDSマウスにおいて分娩後の最初の30日における生存を改善しないことを描写するグラフであり、これは、妊娠での大動脈解離に起因する有意に上昇した死亡リスクは、血圧を減少させることによって改善されないことを実証した。

【図11】図11Aは、アンギオテンシン受容体拮抗薬である、ロサルタン(60mg/kg/d)でマウスを処置することによる、アンギオテンシン-IIシグナル伝達の阻害は、生存に対する影響を示さなかったことを示すグラフである(図11A)。トロンビン受容体拮抗薬である、

10

20

30

40

50

ボラプラキサール (voraprazar) (1mg/kg/d)でのマウスの処置は、それもまた生存に対して影響を有さなかったことが分かったと示された(図11B)。

【図12】非特異的チロシンキナーゼ受容体拮抗薬、ニンテダニブ(50mg/kg/d)でのマウスの処置は、生存に対して影響を有さなかったことを描写するグラフであり、これは、チロシンキナーゼ受容体活性化は、vEDSマウスにおいてPLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路の活性化を駆動していなかったことを示唆している。

【図13】図13A~13Cは、非特異的βアンタゴニスト、プロプラノロール(80mg/kg/d)(図13A)、特異的β1アンタゴニスト、アテノロール(120mg/kg/d)(図13B)、およびβ1アンタゴニスト/β2アゴニスト、セリプロロール(200mg/kg/d)(図13C)でのマウスの処置を描写するグラフであり、これらの操作のいずれも、血圧の減少にもかかわらず、本発明者らのvEDSマウスモデルにおいて生存の改善をもたらさないことを示した。

【図14】マウスモデルにおいて大動脈解離のリスクを加速させる、セリプロロールを描写するグラフであり、Col3a1^{G209S/+}突然変異を有するvEDS突然変異もまた、セリプロロールにおける大動脈解離の増加したリスクを実証した。

【図15】アムロジピン(12mg/kg/d)もまたマウスモデルにおいて大動脈解離のリスクを増加させたことを描写するグラフであり、これは、同様にMFSマウスと一致することが示された。

【図16】図16Aは、第2の特異的PKCβ阻害物質、エンザスタウリンを使用してのPKCβの薬理的阻害を実証するグラフである。図16A：エンザスタウリン(60 mg/kg/d)もまた大動脈解離からの死亡リスクをレスキューし、未処置vEDSマウスの僅か50%と比較して、エンザスタウリン処置vEDSマウスの80%が処置の40日後に生存していた(p=0.0305)。図16Bは、エンドセリン受容体拮抗薬、ボセンタンでのマウスの処置が生存を改善したことを実証するグラフである。図16B：ボセンタンでの処置は、未処置vEDSマウスにおける僅か50%の生存率と比較して、処置の40日後に80%の生存率をもたらした(p=0.0298)。

【図17】シグナル伝達経路が、vEDSを有するヒト患者からの血管組織サンプル中において上昇していることを実証する免疫蛍光染色である。図17は、vEDSを有する患者からの2つの組織サンプル(腸骨動脈および下行胸部大動脈)中のPKCリン酸化を実証した。

【図18】シグナル伝達経路が、vEDSを有するヒト患者からの血管組織サンプル中において上昇していることを実証する免疫蛍光染色である。図18は、vEDSを有する患者からの2つの組織サンプル(腸骨動脈および下行胸部大動脈)中のERK1/2リン酸化を実証する。

【図19】ルボキシスタウリン処置が129 MFSマウスにおける大動脈根成長を低下させることを実証するグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0090】

詳細な説明

本発明は少なくとも部分的に、vEDSの病因に寄与する新規のターゲティング可能なシグナル伝達異常の同定に基づく。特に、ERK1/2活性化またはPKC活性化を阻害する薬理学的作用物質が、大動脈解離に起因する死を首尾よく予防することができることが観察された。さらに、PLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路の活性化を阻害する作用物質もまた、大動脈解離に起因する死を予防する。まとめると、これらの新規の知見は、vEDSおよび潜在的な他の血管症、ならびに他の結合組織障害の病因に寄与するターゲティング可能なシグナル伝達異常についての最初の証拠を提供する。

【0091】

血管症

血管症は、血管を侵す疾患を記載するために使用される用語である。それは、変性、代謝性および炎症性状態、塞栓性疾患、凝固性障害、ならびに機能性障害、例えば、可逆性後頭葉白質脳症によって引き起こされる血管異常をしばしば含む。血管症の病因は一般に不明であり、この状態は病理学的に証明されていないことが多い。他方で、血管炎は、より具体的な用語であり、血管壁の炎症と定義される。

【0092】

本明細書において使用される場合、「脈管炎(血管炎 (angiitis) または血管炎 (angitis))」は、血管の炎症、例えば、動脈炎、静脈炎、またはリンパ管の炎症、例えば、リンパ管炎を指す。脈管炎は、皮膚血管炎、じんま疹様血管炎、白血球破碎性血管炎、皮斑様血管炎および結節性血管炎のような、様々な形態をとり得る。小型脈管炎は、小型または中型の血管またはリンパ管、例えば、毛細管、細静脈、細動脈、および動脈の炎症を指し得る。

【0093】

血管型エーラース・ダンロス症候群(vEDS)

血管型エーラース・ダンロス症候群(vEDS)は、III型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖(COL3A1)遺伝子中のヘテロ接合突然変異によって引き起こされる遺伝性結合組織障害である。vEDSにおける主な死亡原因は、動脈解離および／または破裂であるが、この疾患の病因についてはほとんど知られていない。この破壊的な状態についての有効な処置戦略は存在しない。現在の確信は、コラーゲンIIIの量の減少が、組織の構造的完全性の固有の低下に起因してvEDSの徴候および症状に直接至るということである。しかし、マルファン症候群(MFS)の初期病原性モデルもまた、失敗した弾性繊維形成によって与えられた組織脆弱性を著しく引き起こし、しかし、その後の研究は、MFSにおける欠損遺伝子産物である^{3,4}、フィブリリン1が欠損しているマウスモデル中における増強されたトランスホーミング増殖因子 β (TGF- β)シグナル伝達を明らかに実証した。フォローアップ研究が、TGF- β および下流細胞シグナル伝達分子が疾患病態の主なメディエーターであったことを示すために継続した。さらに、TGF- β シグナル伝達および関連経路を弱める療法、例えば、TGF- β 中和抗体(Nab)、アンギオテンシン-II (Ang-II)1型受容体遮断薬(ARB)ロサルタン、またはERK1/2活性化の阻害物質 RDEA119/トラメチニブは、MFSマウスにおいて大動脈疾患を抑制することができる³⁻⁶。

【0094】

しかし、マルファン症候群およびロイス・ディーツ症候群のような他の遺伝性血管症と同様に、本明細書において提供されるのは、vEDSにおける疾患病態の主なメディエーターであるシグナル伝達異常である。患者由来のCol3a1突然変異を有するマウスの大動脈に対するRNA-seqプロファイリングは、野生型大動脈と比較して上昇したPLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達を実証した。近位下行胸部大動脈のイムノプロットリングは、上昇したPKCおよびERK1/2活性化を確認した。

【0095】

ある態様において、COL3A1は、以下のアミノ酸配列(参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、NCBIアクセッション番号: AAH28178.1 (SEQ ID NO: 1)):

```
1 mmsfvqkgs w lllallhpti ilaqqeaveg gcshlgqsya drdvwkpepc qicvcdsgsv
61 lcddiicddq eldcnppeip fgeccavcpq pptaptrppn gqgpggpkgd pgppgipgrn
121 gdpqipgqpg spgspgppgi cescptgpqn yspqydsydv ksgvavggla gypgpagppg
181 ppgppgtsg h pgspgspgyq gppgepgqag psgppgppga igpsgpagkd gesgrpgrpg
241 erglpqppgi kgpagipgfp gmkghrgfdg rngekgetga pglkgenglp gengapgpmg
301 prgapgergr pglpgaagar gndgargsdg qppppgppgt agfpgspgak gevgpagspg
361 sngapqgrge pgpqghagaq gppgppging spggkgemgp agipgapglm gargppgpag
421 angapglrgg agepgkngak gepgrgerg eagipgvpga kgedgkdgsp gepganglp
481 aagergapgf rgpagpnpip gekgpagerg apgpagprga agepgrdgvp gpggmrgmpg
541 spggpgsdgk ppppgsqges grpgpppgsg prgpggvmgf pgpkgndgap gknrgergpg
601 gpgpgqppgk ngetgpqgpp gptgpggdkg dtgppgpqgl qglpgtgppg gengkpgepg
661 pkgdagapga pggkqdagap gergppglag apglrggagp pgpeggkga gppgppgaag
721 tpglqgmpge rgglgspgpk gdkgepggpg adgvpgkdgp rgptgpigpp gpagpggdkg
781 eggapglpgi agprgspger getgppgpag fpgapqng epggkgergap gekgeggppg
841 vagppgkdg t shhpgpipp gprgnrgerg segspghpgq pgppgppgap gpccggvgaa
901 aiagiggeka ggfapyygde pmdfkintde imtslksvng qieslispgd srknparncr
961 dlkfchpelk sgeywvdnpq gckldaikvf cnmetgetci sanplnvprk hwwtdssaek
1021 khvwfgesmd ggfqfsygnp elpedvldvq laflrlssr asqnityhck nsiaymdqas
1081 gnvkkalklm gsnegefkae gnskftytvl edgctkhtge wsktvfeyrt rkavrlpivd
1141 iapydigppd qefgvdvgpv cfl
```

10

20

30

40

50

を含む。

【0096】

ある態様において、COL3A1は、以下の核酸配列(参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、NCBIアクセッション番号: NM_000090.3 (SEQ ID NO: 2)):

```

1  ggctgagttt tatgacgggc ccggtgctga agggcaggga acaacttgat ggtgctactt
61  tgaactgctt ttctttttctc ctttttgcac aaagagtctc atgtctgata tttagacatg
121 atgagctttg tgcaaaaggg gagctggcta cttctcgctc tgcttcaccc cactattatt
181 ttggcacaac aggaagctgt tgaaggagga tgttcccatc ttggtcagtc ctatgcggat
241 agagatgtct ggaagccaga accatgccaa atatgtgtct gtgactcagg atccgttctc
301 tgcgatgaca taatatgtga cgatcaagaa ttagactgcc ccaaccaga aattccattt
361 ggagaatggt gtgcagtttg ccacagcct ccaactgctc ctactcgccc tcctaattgt
421 caaggacctc aaggcccaa gggagatcca ggccctcctg gtattcctgg gagaaatggt
481 gacctgggta ttccaggaca accagggtcc cctggttctc ctggccccc tggaatctgt
541 gaatcatgcc ctactggtcc tcagaactat tctccccagt atgattcata tgatgtcaag
601 tctggagtag cagtaggagg actcgcaggc tatcctggac cagctggccc ccaggccct
661 cccggtcccc ctggtacatc tggtcaccc ctggtccctg gatctccagg ataccaagga
721 cccctgggtg aacctgggca agctggctcc tcaggccctc caggacctcc tgggtgctata
781 ggtccatctg gtcctgctgg aaaagatgga gaatcaggta gacccgagc acctggagag
841 cgaggattgc ctggacctcc aggtatcaaa ggtccagctg ggatacctgg attccctggt
901 atgaaaggac acagaggctt cgatggacga aatggagaaa agggtgaaac aggtgctcct
961 ggattaaagg gtgaaaatgg tcttccaggc gaaaatggag ctccctggacc catgggtcca
1021 agaggggctc ctggtgagcg aggacggcca ggacttcctg gggctgcagg tgctcggggt
1081 aatgacggtg ctcgaggcag tgatggtcaa ccaggccctc ctggtcctcc tggaactgcc
1141 ggattccctg gatcccctgg tgctaagggt gaagttggac ctgcagggtc tctggttca
1201 aatggtgccc ctggacaaa aggagaacct ggacctcagg gacacgctgg tgctcaagg
1261 cctcctggcc ctccctgggat taatggtagt cctggtggtg aaggcgaaat gggcccgct
1321 ggcattcctg gagctcctgg actgatggga gcccggggtc ctccaggacc agccggtgct
1381 aatggtgctc ctggactgag aggtggtgca ggtgagcctg gtaagaatgg tgccaaagga
1441 gagcccgagc cacgtggtga acgcggtgag gctggtattc caggtgttcc aggagctaaa
1501 ggcgaagatg gcaaggatgg atcacctgga gaacctggtg caaatgggct tccaggagct
1561 gcaggagaaa ggggtgcccc tgggttccga ggacctgctg gaccaaattg catcccagga
1621 gaaaagggtc ctgctggaga gcgtggtgct ccaggccctg cagggccccag aggagctgct
1681 ggagaacctg gcagagatgg cgtccctgga ggtccaggaa tgaggggcat gcccggaagt
1741 ccaggaggac caggaaagtga tgggaaacca gggcctcccg gaagtcaagg agaaagtgg
1801 cgaccaggtc ctccctgggc atctggtccc cgaggtcagc ctggtgtcat gggcttcccc
1861 ggtcctaaag gaaatgatgg tgctcctggt aagaatggag aacgaggtgg ccctggagga
1921 cctggccctc agggtcctcc tggaaagaat ggtgaaactg gacctcaggg accccaggg
1981 cctactgggc ctggtggtga caaaggagac acaggacccc ctggtccaca aggattacaa
2041 ggcttgccct gtacagggtg tcctccagga gaaaatggaa aacctgggga accaggtcca
2101 aagggtgatg ccggtgcacc tggagctcca ggaggcaagg gtgatgctgg tgccctggt

```

10

20

30

40

50

2161 gaacgtggac ctcctggatt ggcaggggcc ccaggactta gaggtggagc tgggtccccct
 2221 ggtcccgaag gaggaagggg tgctgctggg cctcctgggc cacctgggtgc tgctgggtact
 2281 cctgggtctgc aaggaatgcc tggagaaaga ggaggtcctg gaagtccctgg tccaaaggggt
 2341 gacaagggtg aaccaggcgg tccagggtgct gatgggtgtcc cagggaaaga tggcccaagg
 2401 ggtcctactg gtcctattgg tcctcctggc ccagctggcc agcctggaga taagggtgaa
 2461 ggtgggtgcc ccggacttcc aggtatagct ggacctcgtg gtaccctgg tgagagaggt
 2521 gaaactggcc ctccaggacc tgctgggtttc cctgggtgtc ctggacagaa tgggtgaacct
 2581 ggtggtaaag gagaaagagg ggctccgggt gagaaagggt aaggaggccc tcctggagtt
 2641 gcaggacccc ctggagggtt tggaacctgct ggtcctcctg gtccccaagg tgtcaaagggt
 2701 gaacgtggca gtccctgggtg acctgggtgct gctggcttcc ctgggtgctcg tgggtcttcct
 2761 ggtcctcctg gtatgaatgg taacccagga cccccaggtc ccagcgggtt tccaggcaag
 2821 gatggggccc caggtcctgc gggtaacact ggtgtcctg gcagccctgg agtgtctgga
 2881 ccaaaaagggt atgctggcca accaggagag aagggatcgc ctggtgcccc gggcccacca
 2941 ggagctccag gccacttggt gattgctggg atcactggag cacgggggtct tgcaggacca
 3001 ccaggcatgc caggtcctag gggaagccct ggccctcagg gtgtcaaggg tgaaagtggg
 3061 aaaccaggag ctaacgggtc cagtggagaa cgtgggtccc ctggacccca ggggtcttcct
 3121 ggtctggctg gtacagctgg tgaacctgga agagatggaa accctggatc agatgggtctt
 3181 ccaggccgag atggatctcc tgggtggcaag ggtgatcgtg gtgaaaatgg ctctcctggg
 3241 gccctggggt cctcctggta tccaggccca cctgggtcctg tcgggtccagc tggaaagagt
 3301 ggtgacagag gagaaaagggt ccctgctggc cctgctgggt ctcccgggtc tgggtgggtcc
 3361 cgagggtgtc ctgggtcctc agggccacgt ggtgacaaag gtgaaacagg tgaacgtgga
 3421 gctgctggca tcaaaggaca tcgaggattc cctggtaatc caggtgcccc aggttctcca
 3481 ggccctgctg gtacagcagg tgcaatcggc agtccaggac ctgcaggccc cagaggacct
 3541 gttggaccca gtggacctcc tggcaaagat ggaaccagtg gacatccagg tcccattgga
 3601 ccaccagggc ctcgaggtaa cagaggtgaa agaggatctg agggctcccc agggccacca
 3661 gcccaaccag gccctcctgg acctcctggg gccctcgtg ctgtgtgtgg tgggtgtgga
 3721 gccgctgcca ttgctgggat tggagggtgaa aaagctggcg gttttgcccc gtattatgga
 3781 gatgaaccaa tggatttcaa aatcaacacc gatgagatta tgacttctact caagtctgtt
 3841 aatggacaaa tagaaagcct cattagtcct gatggttctc gtaaaaaccc cgctagaaac
 3901 tgcagagacc tgaatttctg ccacctgaa ctcaagagtg gagaatactg ggttgacctt
 3961 aaccaaggat gcaaattgga tgctatcaag gtattctgta atatggaaac tggggaaaca
 4021 tgcataagtg ccaatccttt aatggttcca cggaaacact ggtggacaga ttctagtgtc
 4081 gagaagaac acgtttgggt tggagagtcc atggatgggt gttttcagtt tagctacggc
 4141 aatcctgaac ttcctgaaga tgtccttgat gtgcagctgg cattccttcg acttctctcc
 4201 agccgagctt ccgagaacat cacatatcac tgcaaaaata gcattgcata catggatcag
 4261 gccagtgga atgtaaagaa ggccctgaag ctgatggggg caaatgaagg tgaattcaag
 4321 gctgaaggaa atagcaaat caccacacac gttctggagg atggttgcac gaaacacact
 4381 gggaatgga gcaaacaggt ctttgaatat cgaacacgca aggctgtgag actacctatt
 4441 gtatatattg caccctatga cattgggtgt cctgatcaag aatttgggtg ggacgttggc
 4501 cctgtttgct tttta~~ta~~aac caaactctat ctgaaatccc aacaaaaaaa atttaactcc
 4561 atatgtgttc ctctgtttct aatcttgtca accagtgcaa gtgaccgaca aaattccagt
 4621 tattttatttc caaatgtttt ggaaacagta taatttgaca aagaaaaatg atacttctct
 4681 ttttttgctg ttcacccaaa tacaattcaa atgctttttg ttttattttt ttaccaattc
 4741 caatttcaaa atgtctcaat ggtgctataa taaataaact tcaacactct ttatgataac
 4801 aacactgtgt tatattcttt gaatcctagc ccactctgag agcaatgact gtgctacca
 4861 gtaaaagata acctttcttt ctgaaatagc caaatacgaa attagaaaag cctccctat
 4921 ttttaactacc tcaactgggtc agaaacacag attgtattct atgagtccca gaagatgaaa
 4981 aaaattttat acgttgataa aacttataaa tttcattgat taatctcctg gaagattggg
 5041 ttaaaaagaa aagtgtaatg caagaattta aagaaatatt tttaaagcca caattatttt
 5101 aatattggat atcaactgct tgtaaagggt ctccctcttt ttcctgtcat tgcgtggtaa
 5161 gattactaat atttgggaag gctttaaaga cgcattgtat ggtgctaag tactttcact
 5221 tttaaactct agatcagaat tgttgacttg cattcagaac ataaatgcac aaaattctga
 5281 catgtctccc atcagaaaga ttcattggca tgccacaggg gattctcctc cttcatcctg
 5341 taaagggtcaa caataaaaac caaattatgg ggctgctttt gtcacactag catagagaat
 5401 gtgttgaaat ttaactttgt aagcttgtat gtggtgtgtg atcttttttt tccttacaga
 5461 caccataat aaaaatcat attaaaattc

10

20

30

40

を含み、開始および終止コドン~~は~~太字かつ下線付きである。

【0097】

MAP/ERK経路

MAPK/ERK経路(Ras-Raf-MEK-ERK経路としても公知)は、細胞の表面上の受容体から細胞の核中のDNAへシグナルを伝える細胞中におけるタンパク質の鎖である。

【0098】

シグナルは、シグナル伝達分子が細胞表面上の受容体へ結合すると開始し、核中のDNAがタンパク質を発現すると終了し、そして細胞分裂のような、細胞中における何らかの変化をもたらす。経路は、「オン」または「オフ」スイッチとして作用する、隣接するタン

50

パク質ヘリン酸基を付加することによって連絡する、MAPK(ERK、細胞外シグナル調節キナーゼと元は呼ばれた、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ)を含む、多くのタンパク質を含む。

【0099】

「ERK」という用語は、任意のヒトERK1またはERK2遺伝子またはタンパク質を指す。ERK1は、例えば、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ3、細胞外シグナル調節キナーゼ1、インスリン刺激性MAP2キナーゼ、MAPキナーゼ1、MAPK 1、p44-ERK1、ERT2、p44-MAPKまたは微小管結合タンパク質2キナーゼを含む、いくつかの名称によって公知である。

【0100】

ERK2は、例えば、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ1、細胞外シグナル調節キナーゼ2、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ2、MAPキナーゼ2、MAPK 2、p42-MAPK、またはERT1を含む、いくつかの名称によって公知である。

【0101】

ある態様において、ERK1は、以下のアミノ酸配列(参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、NCBIアクセッション番号: P27361.4 (SEQ ID NO: 3)):

```
1 MAAAAAQGGG GGEPRRTEGV GPGVPGEVEM VKGQPFDVGP RYTQLQYIGE GAYGMVSSAY
61 DHVRKTRVAI KKISPFEHQT YCQRTLREIQ ILLRFRHENV IGIRDILRAS TLEAMRDVYI
121 VQDLMETDLY KLLKSQQLSN DHICYFLYQI LRGLKYIHSA NVLHRDLKPS NLLINTTCDL
181 KICDFGLARI ADPEHDHTGF LNEYVATRWY RAPEIMLNSK GYTKSIDIWS VGCILAEMLS
241 NRPIFPKGHY LDQLNHILGI LGSPSQEDLN CIINMKARNY LQSLPSKTKV AWAKLFPKSD
301 SKALDLLDRM LTFNPNKRIT VEEALAHPLY EQYYDPTDEP VAEFPFTFAM ELDDLPERL
361 KELIFQETAR FQPGVLEAP
```

を含む。

【0102】

ある態様において、ERK1は、以下のヌクレオチド配列(参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、NCBIアクセッション番号: X60188.1 (SEQ ID NO: 4)):

10

20

30

40

50

```

1  cgttcctcgg cgccgcgggg gccccagagg gcagcggcag caacagcagc agcagcagca
61  gcgggagtg agatggcggc ggcgcggtc caggggggcg ggggcgggga gccccgtaga
121 accgaggggg tcggcccggg ggtcccgggg gaggtggaga tggggaagg gcagccgttc
181 gacgtgggccc cgcgctacac gcagttgcag tacatcggcg agggcgcgta cggcatggtc
241 agctcggcct atgaccacgt gcgcaagact cgcgtggcca tcaagaagat cagccccctc
301 gaacatcaga cctactgcca gcgcacgctc cgggagatcc agatcctgct gcgcttcgcg
361 catgagaatg tcatcggcac ccgagacatt ctgcgggctg ccaccctgga agccatgaga
421 gatgtctaca ttgtgcagga cctgatggag actgacctgt acaagttgct gaaaagccag
481 cagctgagca atgaccatat ctgctacttc ctctaccaga tcctgcgggg cctcaagtac
541 atccactccg ccaacgtgct ccaccgagat ctaaagccct ccaacctgct cagcaacacc
601 acctgcgacc ttaagatttg tgatttcggc ctggcccgga ttgccgatcc tgagcatgac
661 cacaccggct tcctgacgga gtatgtggct acgcgctggg accgggcccc agagatcatg
721 ctgaactcca agggctatac caagtccatc gacatctggt ctgtgggctg cattctggct
781 gagatgctct ctaaccggcc catcttccct ggcaagcact acctggatca gctcaaccac
841 attctgggca tcctgggctc cccatcccag gaggacctga attgtatcat caacatgaag
901 gcccgaact acctacagtc tctgccctcc aagaccaagg tggcttgggc caagcttttc
961 cccaagttag actccaaagc ccttgacctg ctggaccgga tgtaacctt taaccccaat
1021 aaacggatca cagtggagga agcgctgggt caccctacc tggagcagta ctatgaccgc
1081 acggatgagc cagtggcgga ggagcccttc accttcgcca tggagctgga tgacctacct
1141 aaggagcggc tgaaggagct catcttccag gagacagcac gcttccagcc cggagtgtctg
1201 gagggccctc agccccagaca gacatctctg caccctgggg cctggacctg cctcctgcct
1261 gcccctctcc cgccagactg ttagaaaatg gacactgtgc ccagcccgga ccttggcagc
1321 ccaggccggg gtggagcatg ggccctggcca cctctctcct ttgctgaggc ctccagcttc
1381 aggcaggcca aggccttctc ctccccaccc gccctcccca cggggcctcg ggagctcagg
1441 tggccccagt tcaatctccc gctgctgctg ctgctgcgcc cttaccttc ccagcgtccc
1501 agtctctggc agttctggaa tggaagggtt ctggctgccc caacctgctg aagggcagag
1561 gtggagggtg gggggcgctg agtagggact cagggccatg cctgcccccc tcatctcatt
1621 caaaccacac cctagtttcc ctgaaggaac attccttagt ctcaagggt agcatccctg
1681 aggagccagg ccgggcccga tccctccct gtcaaagctg tcacttcgag tgccctcgct
1741 gcttctgtgt gtggtgagca gaagtggagc tggggggcgt ggagagccc gcgcccctgc
1801 cacctccctg acccgtctaa tatataaata tagagatgtg tctatggctg aaaaaaaaaa
1861 aaaaaa

```

10

20

を含み、コード領域は太字かつ下線付きである。

【0103】

ある態様において、ERK2は、以下のアミノ酸配列(参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、NCBIアクセッション番号: P28482.3 (SEQ ID NO: 5)):

30

```

1  MAAAAAAGAG PEMVRGQVFD VGPRYTNSY IGEGAYGMVC SAYDNVNKVR VAIKKISPFE
61  HQTYCQRTL R EIKILLRFRH ENIIGINDII RAPTIEQMKD VYIVQDLMET DLYKLLKTQH
121 LSNDHICYFL YQILRGLKYI HSANVLHRDL KPSNLLLNTT CDLKICDFGL ARVADPDHDH
181 TGFLTEYVAT RWYRAPEIML NSKGYSKSID IWSVGCILAE MLSNRPIFPG KHYLDQLNHI
241 LGILGSPSQE DLNCIINLKA RNYLLSLPHK NKVPWNRLFP NADSKALDLL DKMLTFNPHK
301 RIEVEQALAH PYLEQYYDPS DEPIAEAPFK FDMELDDL PK EKLKELIFEE TARFQPGYRS

```

を含む。

【0104】

ある態様において、ERK2は、以下のヌクレオチド配列(参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、NCBIアクセッション番号: NM_138957.3 (SEQ ID NO: 6)):

40

```

1  gcccctccct cgcggcgccc gccggcgccgc ccgtcagttc ggcaggcagg caggcaatcg
61  gtccgagtgg ctgtcggttc ttccagctctc ccgtcgggcg tcttccttcc tcttcccggg
121 cagcgtcggc ggctgcaccg gcggcgggcg agtccctgcg ggaggggcca caagagctga
181 gcggcgggcg ccgagcgtcg agctcagcgc ggcgaggcg gcggcgggcc ggcagccaac
241 atggcggcggc cggcgggcggc gggcgcgggc ccggagatgg tccgcgggca ggtgttcgac
301 gtggggcggc gctacaccaa cctctcgtag atcggcgagg gcgcctacgg catggtgtgc
361 tctgcttatg ataagttaa caaagttcga gtagctatca agaaaatcag cccctttgag
421 caccagacct actgccagag aacctgagg gagataaaaa tcttactgcg cttcagacat
481 gagaacatca ttggaatcaa tgacattatt cgagcaccaa ccatcgagca aatgaaagat
541 gtatatatag tacaggacct catggaaaca gatctttaca agctcttgaa gacacaacac
601 ctccagcaatg accatatctg ctattttctc taccagatcc tcagagggtt aaaatatatc
661 cattcagcta acgttctgca ccgtgacctc aagccttcca acctgctgct caacaccacc
721 tctgacttca agatctgtga ctttggcctg gcccggtgtg cagatccaga ccatgatcac
781 acagggttcc tgacagaata tgtggccaca cgttgggtaca gggctccaga aattatgttg
841 aattccaagg gctacaccaa gtccattgat atttggtctg taggctgcat tctggcagaa
901 atgctttcta acaggcccat ctttccaggg aagcattatc ttgaccagct gaaccacatt
961 ttgggtattc ttggatcccc atcacaagaa gacctgaatt gtataataaa tttaaaagct
1021 aggaactatt tgctttctct tccacacaaa aataaggtgc catggaacag gctgttccca
1081 aatgctgact ccaaagctct ggacttattg gacaaaatgt tgacattcaa cccacacaag
1141 aggattgaag tagaacaggc tctggcccac ccatatctgg agcagtatta cgacccgagt
1201 gacgagccca tcgccgaagc accattcaag ttccgacatg aattggatga cttgcctaag
1261 gaaaagctca aagaactaat ttttgaagag actgctagat tccagccagg atacagatct
1321 taaattttgtc aggtacctgg agtttaatac agtgagctct agcaaggagg gcgctgcctt
1381 ttgtttctag aatattatgt tcttcaaggt ccattatttt gtattctttt ccaagctcct
1441 tattggaagg tattttttta aatttagaat taaaaattat ttagaaagtt acatataaaa
1501 aaaaaaaaaa aaaa

```

10

20

を含み、コード配列は太字かつ下線付きである。

【0105】

ある態様において、本開示は、その必要がある対象における血管症(例えば、vEDS)を処置するための方法を提供し、該方法は、ERKの活性または発現を減少させる作用物質の治療有効量を含む薬学的組成物を対象へ投与する工程を含む。ERK阻害物質の例としては、ASN007 (Asana BioSciences, Bridgewater, New Jersey)、ウリキセルチニブ(BVD-523) (BioMed Valley Discoveries, Kansas City, MO)、CC-90003 (Celgene Corporation, Summit, New Jersey)、GDC-0994 (Array BioPharma, Boulder, CO)、KO-947 (Kura Oncology, San Diego, California)、LTT462 (Novartis, Basel, Switzerland)、LY3214996 (Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN)、MK-8353 (Merck Sharp and Dohme Corp, Kenilworth, NJ)が挙げられる。

30

【0106】

MEK阻害物質

複数の態様において、本開示は、その必要がある対象における血管症(例えば、vEDS)を処置するための方法を提供し、該方法は、ERKまたはPKCの活性または発現を減少させる作用物質の治療有効量を含む薬学的組成物を対象へ投与する工程を含む。例えば、Ras/Raf/MEK/ERK経路阻害物質。複数の態様において、Ras経路阻害物質は、Raf阻害物質、例えば、ベムラフェニブ、ソラフェニブ、またはダブラフェニブ、MEK阻害物質、例えば、AZD6244 (セルメチニブ)、PD0325901、GSK1120212 (トラメチニブ)、U0126-EtOH、PD184352、RDEA119 (ラファメチニブ (Rafametinib))、PD98059、BIX 02189、MEK162 (ピメチニブ)、AS-703026 (ピマセルチブ)、SL-327、BIX02188、AZD8330、TAK-733、コビメチニブまたはPD318088、およびERK阻害物質、例えば、LY3214996、BVD-523、またはGDC-0994より選択される。

40

【0107】

複数の態様において、MEK阻害物質は、トラメチニブ、レファメチニブ、コビメチニブ、TAK-733、PD0325901、PD184352 (CI-10-40)、R05126766、R0-4987655；E6201；GDC-0623；CH5126766；G-573；WX-554；セルメチニブ、ピメチニブ、およびピマセルチブからなる群より選択される。複数の態様において、MEK阻害物質は

50

コビメチニブを含む。複数の態様において、MEK阻害物質はトラメチニブを含む。複数の態様において、MEK阻害物質はトラメチニブおよびコビメチニブを含む。複数の態様において、MEK阻害物質、またはその薬学的に許容される塩もまた、本明細書で企図される。

【0108】

ある態様において、MEK阻害物質は、約0.001 mg/kg～約250 mg/kg体重、例えば、0.001 mg/kg、0.05 mg/kg、0.01 mg/kg、0.05 mg/kg、1 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、25 mg/kg、50 mg/kg、75 mg/kg、100 mg/kg、125 mg/kg、150 mg/kg、175 mg/kg、200 mg/kg、225 mg/kg、または250 mg/kg体重の濃度で使用され得る。

【0109】

プロテインキナーゼC(PKC)阻害物質

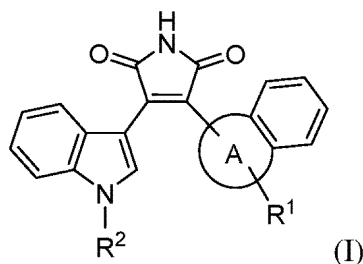
PKCと一般的に略される、プロテインキナーゼCは、他のタンパク質上のセリンおよびトレオニンアミノ酸残基のヒドロキシル基のリン酸化を通してのこれらのタンパク質の機能の制御に参与するプロテインキナーゼ酵素のファミリー、またはこのファミリーのメンバーである。PKC酵素は、次に、ジアシルグリセロール(DAG)またはカルシウムイオン(Ca^{2+})の濃度の増加のような、シグナルによって活性化される。従って、PKC酵素はいくつかのシグナル伝達カスケードにおいて重要な役割を果たす。PKCファミリーは、ヒトにおいて15個のアイソザイムからなり、それらのセカンドメッセンジャー要求に基づいて、3つのサブファミリーに分けられる：在来型(または古典型)、新型、および非典型。在来型PKCはアイソフォーム α 、 β_1 、 β_{II} 、および γ を含有する。これらは、活性化のために、 Ca^{2+} 、DAG、およびホスファチジルセリンのようなリン脂質を必要とする。新型(n)PKCは、 δ 、 ϵ 、 η 、および θ アイソフォームを含み、活性化のためにDAGを必要とするが、 Ca^{2+} を必要としない。従って、在来型および新型PKCは、ホスホリパーゼCと同じシグナル伝達経路を通して活性化される。他方で、非典型(a)PKC(プロテインキナーゼM ζ および ι / λ アイソフォームを含む)は、活性化のために Ca^{2+} もジアシルグリセロールも必要としない。「プロテインキナーゼC」という用語は、本明細書において使用される場合、一般に、アイソフォームのファミリー全体を指す。

【0110】

例示的なPKC作用物質としては、ルボキシスタウリン、ケレトリリン、ミヤベノールC、ミリシトリン、ゴシポール、ベルバスコシド、BIM-1、またはプリオスタチン1が挙げられるが、これらに限定されない。複数の態様において、PKC阻害物質はエンザスタウリンを含む。複数の態様において、PKC阻害物質はルボキシスタウリンを含む。複数の態様において、PKC作用物質、またはその薬学的に許容される塩もまた、本明細書で企図される。

【0111】

いくつかの態様において、PKC阻害物質は、



である構造、またはその塩を有し得、

式中、

環Aは、置換または非置換 $\text{C}_5\sim\text{C}_6$ シクロアルキル、置換または非置換5～6員ヘテロシクロアルキル（1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する）、置換または非置換フェニル、または置換または非置換5～6員ヘテロアリール（1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する）であり；

各 R^1 および R^2 は、独立して、水素、ハロゲン、 $-N_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NR^A R^B$ 、 $-C(O)R^C$ 、 $-C(O)-OR^C$ 、 $-C(O)NR^A R^B$ 、 $-OR^D$ 、 $-NR^A C(O)R^C$ 、 $-NR^A C(O)OR^C$ 、置換または非置換アルキル(例えば、 $C_1 \sim C_2$ 、 $C_1 \sim C_4$ 、 $C_1 \sim C_8$ 、または $C_1 \sim C_{10}$)置換または非置換ヘテロアルキル(例えば、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する、2~8員、2~6員、4~6員、2~3員、または4~5員)、置換または非置換シクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 、または $C_5 \sim C_6$)、置換または非置換ヘテロシクロアルキル(例えば、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する、3~8員、3~6員、4~6員、4~5員、または5~6員)、置換または非置換アリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ またはフェニル)、または置換または非置換ヘテロアリール(例えば、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する、5~10員、5~9員、または5~6員)であるか；または

10

R^1 および R^2 は、置換または非置換アルキレン(例えば、 $C_1 \sim C_2$ 、 $C_1 \sim C_4$ 、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_{10}$)、または置換または非置換ヘテロアルキレン(例えば、ヘテロアルキレン鎖中にそれ以上のN、OまたはSを有する、2~8員、2~6員、4~6員、2~3員、または4~5員)、置換または非置換シクロアルキレン(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 、または $C_5 \sim C_6$)、置換または非置換ヘテロシクロアルキレン(例えば、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する、3~8員、3~6員、4~6員、4~5員、または5~6員)、置換または非置換アリーレン(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ またはフェニレン)、または置換または非置換ヘテロアリーレン(例えば、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する、5~10員、5~9員、または5~6員)リンカーを形成するように一緒に連結され；

20

ここで、各出現での各 R^A 、 R^B 、 R^C 、および R^D は、独立して、水素、置換または非置換アルキル、置換または非置換ヘテロアルキル(例えば、1つまたは複数のN、OまたはS原子を有する2~8員)、置換または非置換シクロアルキル(例えば、2~3員)、置換または非置換ヘテロシクロアルキル(例えば、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する3~8員)、置換または非置換アリール、例えばフェニル(pheny)；または置換または非置換ヘテロアリール(例えば、例えば、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する5~10員)である。

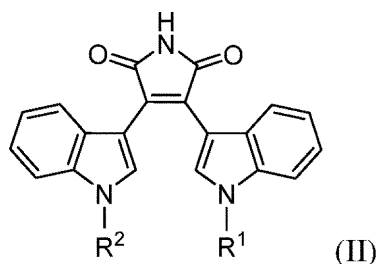
【0112】

いくつかの態様において、環Aは、環員として1つまたは複数の窒素を含み得る5~6員のヘテロアリールである。

【0113】

いくつかの態様において、PKC阻害物質は、

30

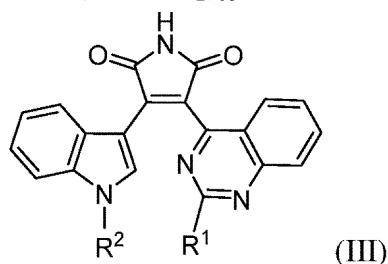


である構造を有し得、 R^1 および R^2 は上記に記載される通りである。

【0114】

いくつかの態様において、PKC阻害物質は、

40

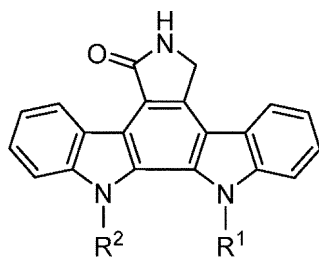


である構造を有し得、 R^1 および R^2 は上記に記載される通りである。

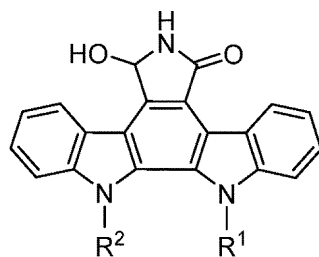
50

【0115】

いくつかの態様において、PKC阻害物質は、



(IV-A) または



(IV-B)

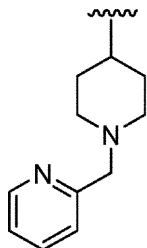
である構造を有し得、 R^1 および R^2 は上記に記載される通りである。

【0116】

いくつかの態様において、式(I)、(II)、(III)、(IV-A)または(IV-B)のPKC阻害物質について、各 R^1 および R^2 は、水素、置換または非置換 $C_1\sim C_4$ アルキル、置換または非置換2～6員ヘテロアルキル(例えば、1つまたは複数のN、OまたはS員を有する)、置換または非置換 $C_3\sim C_6$ シクロアルキル、置換または非置換5～10員ヘテロシクロアルキル(例えば、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する)、置換または非置換フェニル、または置換または非置換5～10員ヘテロアリール(例えば、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する)である。いくつかの態様において、各 R^1 および R^2 は、独立して、水素、置換または非置換 $C_1\sim C_4$ アルキル、または1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する置換ヘテロシクロアルキルである。いくつかの態様において、各 R^1 および R^2 は、独立して、水素、または非置換 $C_1\sim C_4$ アルキルである。

【0117】

いくつかの態様において、式(II)のPKC阻害物質について、 R^1 は、置換または非置換ピペリジニル、ピペラジニル、ピリジル、またはピリミジルである。例えば、 R^1 は、



である。

【0118】

いくつかの態様において、 R^2 は水素または非置換 $C_1\sim C_4$ アルキルである。いくつかの態様において、 R^2 は水素である。いくつかの態様において、 R^2 はメチルである。いくつかの態様において、 R^2 はエチルである。いくつかの態様において、 R^2 はプロピルである。態様において、 R^2 はブチルである。いくつかの態様において、 R^2 はt-ブチルである。

【0119】

いくつかの態様において、式(I)、(II)、(III)、(IV-A)、または(IV-B)のPKC阻害物質について、 R^1 および R^2 は、置換または非置換 $C_1\sim C_8$ アルキレン、またはヘテロアルキレン鎖中に1つまたは複数のN、OまたはS原子を有する置換または非置換2～8員ヘテロアルキレンリンカーを形成するように互いに連結される。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、置換または非置換 $C_1\sim C_8$ アルキレンリンカーを形成するように互いに連結される。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、置換 $C_1\sim C_8$ アルキレンリンカーを形成するように互いに連結される。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、非置換 $C_1\sim C_8$ アルキレンリンカーを形成するように互いに連結される。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、ヘテロアルキレン鎖中に1つまたは複数のN、OまたはS原子を有する2～8員ヘテロアルキレンリンカーを形成するように互いに連結される。いくつかの態様において、 R^1 および

10

20

30

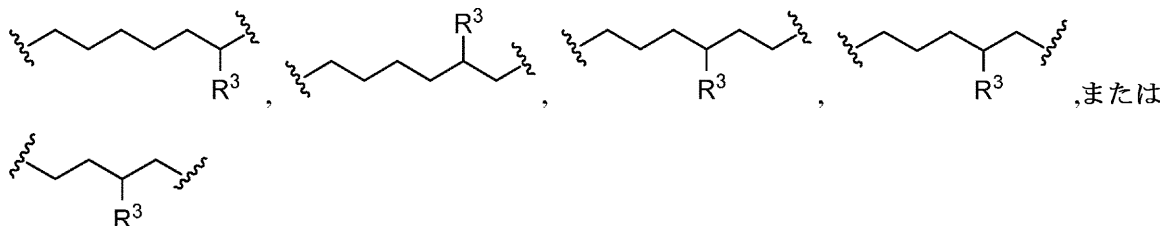
40

50

R^2 は、ヘテロアルキレンリンカー鎖中に1つまたは複数のN、OまたはS原子を有する非置換2～8員ヘテロアルキレンリンカーを形成するように互いに連結される。

【0120】

いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、



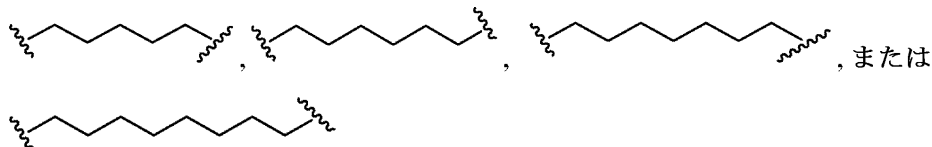
10

を形成するように互いに連結され、ここで、 R^3 は、水素、ハロゲン、 $-N_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NR^A R^B$ 、 $-C(O)R^C$ 、 $-C(O)-OR^C$ 、 $-C(O)NR^A R^B$ 、 $-OR^D$ 、 $-NR^A C(O)R^C$ 、 $-NR^A C(O)OR^C$ 、置換または非置換アルキル(例えば、 $C_1 \sim C_2$ 、 $C_1 \sim C_4$ 、 $C_1 \sim C_8$ 、または $C_1 \sim C_{10}$)置換または非置換ヘテロアルキル(例えば、1つまたは複数のN、OまたはS員を有する、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員、または4～5員)、置換または非置換シクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 、または $C_5 \sim C_6$)、置換または非置換ヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員、または5～6員、かつ1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する)、置換または非置換アリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ またはフェニル)、または置換または非置換ヘテロアリール(例えば、5～10員、5～9員、または5～6員、かつ1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する)である。 R^A 、 R^B 、 R^C 、および R^D は、上記のように記載される。

20

【0121】

いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、

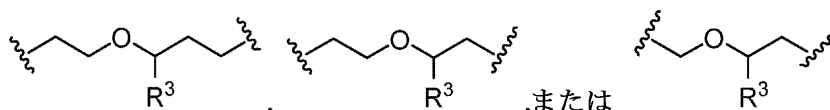


を形成するように互いに連結され、これらは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。

30

【0122】

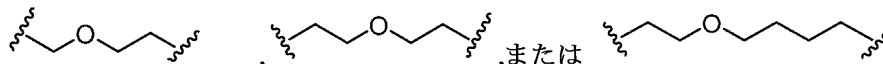
いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、



を形成するように互いに連結され、 R^3 は上記のように記載される。

【0123】

いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、



40

を形成するように互いに連結され、これらは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。

【0124】

いくつかの態様において、式(IV-A)または(IV-B)のPKC阻害物質について、 R^1 および R^2 は、置換または非置換 $C_5 \sim C_6$ シクロアルキレンリンカーを形成するように互いに連結される。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、置換 $C_5 \sim C_6$ シクロアルキレンリンカーを形成するように互いに連結され、例えば、これは上述の1つまたは複数の R^3 で置換され得

50

る。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、非置換 $C_5 \sim C_6$ シクロアルキレンリンカーを形成するように互いに連結される。

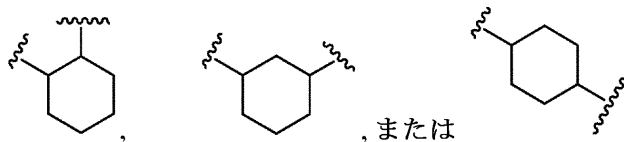
【0125】

いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、置換または非置換5～6員ヘテロシクロアルキレンリンカー(例えば、リンカー鎖中に1つまたは複数のN、OまたはS原子を有する)を形成するように互いに連結される。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、リンカー鎖中に1つまたは複数のN、OまたはS原子を有する置換5～6員ヘテロシクロアルキレンリンカーを形成するように互いに連結され、例えば、これは上述の R^3 で置換され得る。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、リンカー鎖中に1つまたは複数のN、OまたはS原子を有する非置換5～6員ヘテロシクロアルキレンリンカーを形成するように互いに連結される。

10

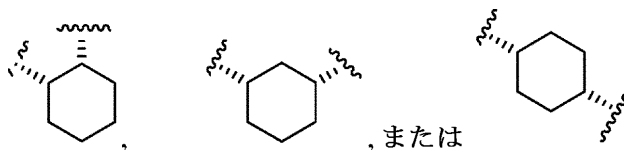
【0126】

いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、



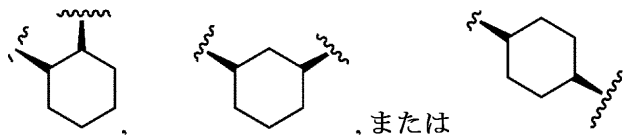
を形成するように互いに連結され、これらは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、

20



を形成するように互いに連結され、これらは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、

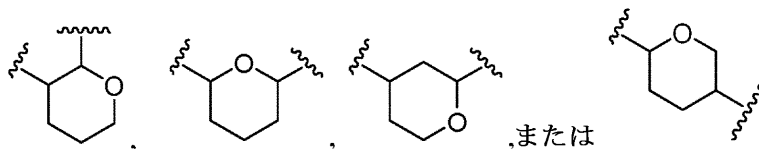
30



を形成するように互いに連結され、これらは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。

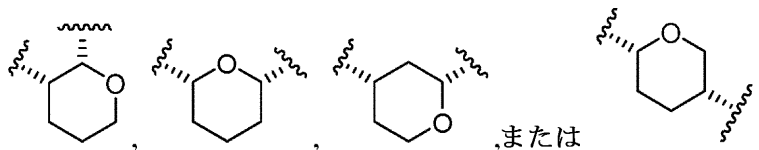
【0127】

いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、



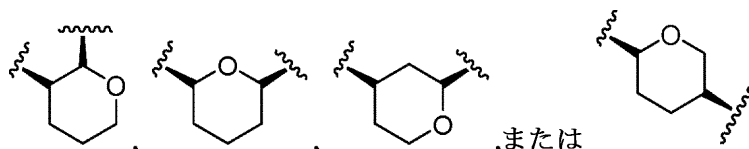
40

を形成するように互いに連結され、これらは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、



を形成するように互いに連結され、これらは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。いくつかの態様において、 R^1 および R^2 は、

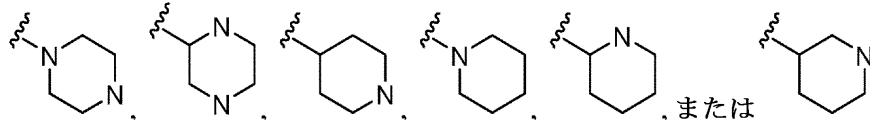
50



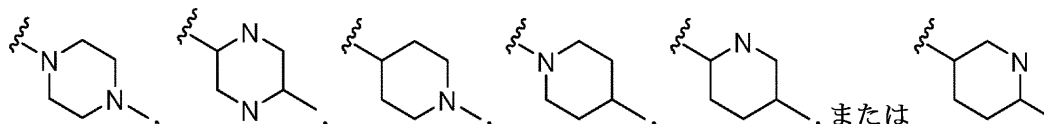
を形成するように互いに連結され、これらは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。

【0128】

いくつかの態様において、式(III)のPKC阻害物質について、各 R^1 および R^2 は、独立して、水素、置換または非置換 $C_1\sim C_4$ アルキル、または置換または非置換5～6員ヘテロシクロアルキル（1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する）である。いくつかの態様において、 R^1 は、非置換 $C_1\sim C_4$ アルキルである。いくつかの態様において、 R^1 は、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する置換5～6員ヘテロシクロアルキルであり、これは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。いくつかの態様において、 R^1 は、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する置換5～6員ヘテロシクロアルキルであり、これは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。いくつかの態様において、 R^1 は、置換または非置換ピペリジニルまたはピペラジニルである。いくつかの態様において、 R^1 は、置換ピペリジニルまたはピペラジニルであり、これらは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。いくつかの態様において、 R^1 は、非置換ピペリジニルまたはピペラジニルである。いくつかの態様において、 R^1 は、



であり、これらは上述の R^3 のうちの1つまたは複数で置換され得る。いくつかの態様において、 R^1 は、



である。

【0129】

いくつかの態様において、 R^2 は水素である。態様において、 R^2 はメチルである。

【0130】

上記に議論されるように、「置換」されている基は、1つまたは複数の利用可能な位置、典型的に1、2、3、4または5個の位置で水素以外によって、1つまたは複数の好適な基（これらは同じであっても異なってもよい）によって、例えば、ハロゲン、シアノ、アミノ、ヒドロキシ、ニトロ、アジド、カルボキサミド、 $-COOH$ 、 SO_2NH_2 、アルキル（例えば、 $C_1\sim C_8$ アルキル）、アルケニル（例えば、 $C_2\sim C_8$ アルケニル）、アルキニル（例えば、 $C_2\sim C_8$ アルキニル）、アルコキシ（例えば、 $C_1\sim C_8$ アルコキシ）、アルキルエーテル（例えば、 $C_2\sim C_8$ アルキルエーテル）、アルキルチオ（例えば、 $C_1\sim C_8$ アルキルチオ）、モノ-もしくはジ-（ $C_1\sim C_8$ アルキル）アミノ、ハロアルキル（例えば、 $C_1\sim C_6$ ハロアルキル）、ヒドロキシアルキル（例えば、 $C_1\sim C_6$ ヒドロキシアルキル）、アミノアルキル（例えば、 $C_1\sim C_6$ アミノアルキル）、ハロアルコキシ（例えば、 $C_1\sim C_6$ ハロアルコキシ）、アルカノイル（例えば、 $C_1\sim C_8$ アルカノイル）、アルカノン（例えば、 $C_1\sim C_8$ アルカノン）、アルカノイルオキシ（例えば、 $C_1\sim C_8$ アルカノイルオキシ）、アルコキシカルボニル（例えば、 $C_1\sim C_8$ アルコキシカルボニル）、モノ-およびジ-（ $C_1\sim C_8$ アルキル）アミノ、モノ-およびジ-（ $C_1\sim C_8$ アルキル）アミノ $C_1\sim C_8$ アルキル、モノ-およびジ-（ $C_1\sim C_8$ アルキル）カルボキサミド、モノ-および

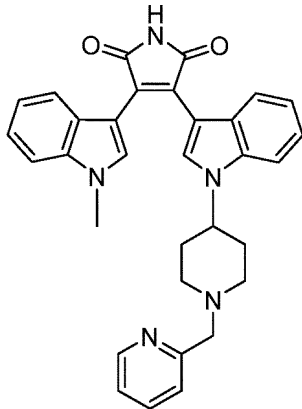
びジ-(C₁~C₈アルキル)スルホンアミド、アルキルスルフィニル(例えば、C₁~C₈アルキルスルフィニル)、アルキルスルホニル(例えば、C₁~C₈アルキルスルホニル)、アリール(例えば、フェニル)、アリールアルキル(例えば、(C₆~C₁₈アリール)C₁~C₈アルキル、例えばベンジルおよびフェネチル)、アリールオキシ(例えば、C₆~C₁₈アリールオキシ、例えばフェノキシ)、アリールアルコキシ(例えば、(C₆~C₁₈アリール)C₁~C₈アルコキシ)、ならびに／または、1つまたは複数のN、OまたはS環員を有する3~8員の複素環式基によって、置換されている。

【0131】

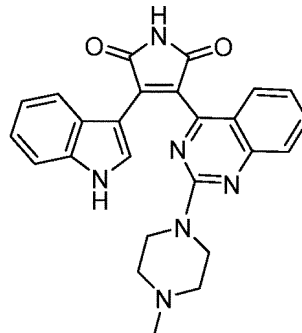
本明細書において言及される場合、「員」または「員の」という指定数を有する基は、基の原子の指定数を指す。

【0132】

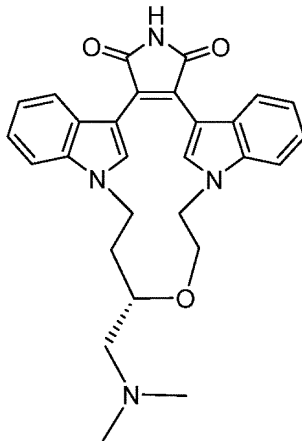
例示的なPKC阻害物質としては、



(エンザスタウリン),

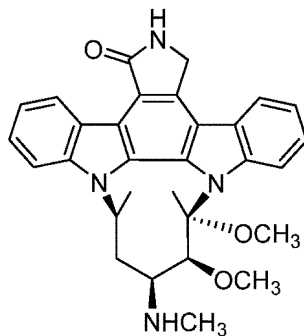
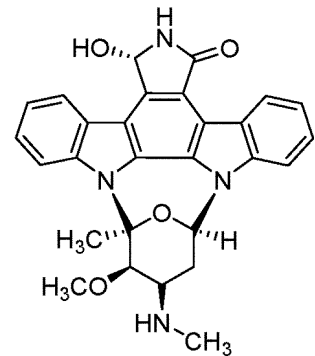
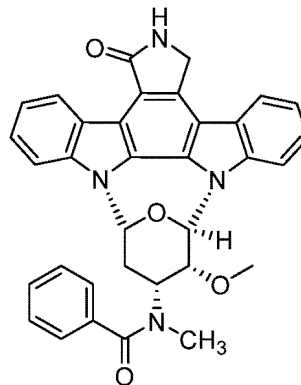


(ソトラスタウリン),



(ルボキシスタウリン),

,または



が挙げられ得る。

【0133】

ある態様において、EGFR、VEGFR、AKT、Erb1、Erb2、ErbB、Syk、Bcr-Abl、JAK、Src、GSK-3、PI3K、Ras、Raf、MAPK、MAPKK、mTOR、c-Kit、eph受容体また

10

20

30

40

50

はBRAF阻害物質のような、プロテインキナーゼまたは増殖因子シグナル伝達経路に關与する受容体を阻害するプロテインキナーゼ阻害物質またはモノクローナル抗体を、対象へ投与する。プロテインキナーゼまたは増殖因子シグナル伝達経路の阻害物質の非限定的な例としては、アフアチニブ、アキシチニブ、ベバシズマブ、ボスチニブ、セツキシマブ、クリゾチニブ、ダサチニブ、エルロチニブ、フォスタマチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、ラパチニブ、レンバチニブ、ムブリチニブ、ニロチニブ、パニツムマブ、パゾパニブ、ペガブタニブ、ラニビズマブ、ルキソリチニブ、サラカチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、トラスツズマブ、バンデタニブ、AP23451、ベムラフェニブ、MK-2206、GSK690693、A-443654、VQD-002、ミルテホシン、ペリホシン、CAL101、PX-866、LY294002、ラパマイシン、テムシロリムス、エベロリムス、リダフォロリムス、アルボシジブ、ゲニステイン、セルメチニブ、AZD-6244、バタラニブ、P1446A-05、AG-024322、ZD1839、P276-00、GW572016またはその混合物が挙げられる。

10

【0134】

ある態様において、PKCの活性または発現を減少させる作用物質は、約0.001 mg/kg～約250 mg/kg体重、例えば、0.001 mg/kg、0.05 mg/kg、0.01 mg/kg、0.05 mg/kg、1 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、25 mg/kg、50 mg/kg、75 mg/kg、100 mg/kg、125 mg/kg、150 mg/kg、175 mg/kg、200 mg/kg、225 mg/kg、または250 mg/kg体重の濃度で投与され得る。

【0135】

ある態様において、PKCは、以下のアミノ酸配列(参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、NCBIアクセッション番号: NP_002728.1 (SEQ ID NO: 7)):

20

```

1  MADVFPGNDS  TASQDVANRF  ARKGALRQKN  VHEVKDHKFI  ARFFKQPTFC  SHCTDFIWGF
61  GKQGFQCQVC  CFVVHKRCHE  FVTFSCPGAD  KGPDTDDPRS  KHKFKIHTYG  SPTFCDHCGS
121 LLYGLIHQGM  KCDTCDMNH  KQCVINVPSL  CGMDHTEKRG  RIYLKAEVAD  EKLHVTVRDA
181 KNLIPMDPNG  LSDPYVKLKL  IPDPKNESKQ  KTKTIRSTLN  PQWNESFTFK  LKPSDKDRRL
241 SVEIWDWDRT  TRNDFMGSL  FGVSELMKMP  ASGWYKLLNQ  EEGEYYNVPI  PEGDEEGNME
301 LRQKFKEAKL  GPAGNKVIS  SEDRKQPSNN  LDRVKLTDNF  FLMVLGKGSF  GKVMLADRKG
361 TEELYAIKIL  KKDVIQDDD  VECTMVEKRV  LALLDKPPFL  TQLHSCFQTV  DRLYFVMEYV
421 NGGDLMYHIQ  QVGKFKEPQA  VFYAAEISIG  LFFLHKRGII  YRDLKLDNVM  LDSEGHKIA
481 DFGMCKEHMM  DGVTRTRFCG  TPDYIAPEII  AYQPYGKSVD  WWAYGVLLYE  MLAGQPPFDG
541 EDEDELQFSI  MEHNVSYPKS  LSKEAVSICK  GLMTKHPAKR  LGCGPEGERD  VREHAFFRRI
601 DWEKLENREI  QPPFKPKVCG  KGAENFDKFF  TRGQPVLTTP  DQLVIANIDQ  SDFEGFSYVN
661 PQFVHPILQS  AV

```

30

を含む。

【0136】

ある態様において、PKCは、以下のヌクレオチド(参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、NCBIアクセッション番号: NM_002737.2 (SEQ ID NO: 8)):

```

1  ggccgcagct  ccccggcgga  ggcaagaggt  ggttgggggg  gaccatggct  gacgtttttcc
61  cgggcaacga  ctccacggcg  tctcaggacg  tggccaaccg  cttcgcccg  aaagggggcg
121 tgagggcagaa  gaacgtgcac  gaggtgaagg  accacaaatt  catcgcgcg  ttcttcaagc
181 agccacacctt  ctgcagccac  tgcaccgact  tcatctgggg  gtttgggaaa  caaggcttcc
241 agtgccaagt  ttgctgtttt  gtggtccaca  agaggtgcca  tgaatttgtt  actttttctt
301 gtccgggtgc  ggataaggga  cccgacactg  atgaccccg  gagcaagcac  aagttcaaaa
361 tccacactta  cggaagcccc  accttctgcg  atcactgtgg  gtcactgctc  tatggactta
421 tccatcaagg  gatgaaatgt  gacacctgcg  atatgaacgt  tcacaagcaa  tgcgtcatca

```

40

481 atgtcccccag cctctgcgga atggatcaca ctgagaagag ggggcggatt tacctaaagg
 541 ctgaggttgc tgatgaaaag ctccatgtca cagtacgaga tgcaaaaaat ctaatcccta
 601 tggatccaaa ogggctttca gatccttatg tgaagctgaa acttattcct gatcccaaga
 661 atgaaagcaa gcaaaaaaac aaaaccatcc gctccacact aaatcccgag tggaaatgagt
 721 cctttacatt caaattgaaa ccttcagaca aagaccgacg actgtctgta gaaatctggg
 781 actgggatcg aacaacaagg aatgacttca tgggatccct ttcccttggg gtttcggagc
 841 tgatgaagat gccggccagt ggatggtaca agttgcttaa ccaagaagaa ggtgagtact
 901 acaacgtacc cattccggaa ggggacgagg aaggaaacat ggaactcagg cagaaattcg
 961 agaaagccaa acttggccct gctggcaaca aagtcatcag tccctctgaa gacaggaaac
 1021 aaccttccaa caaccttgac cgagtgaaac tcacggactt caatttcctc atgggtgttg
 1081 gaaaggggag ttttggaag gtgatgcttg ccgacaggaa gggcacagaa gaactgtatg
 1141 caatcaaaat cctgaagaag gatgtggtga ttcaggatga tgacgtggag tgcaccatgg
 1201 tagaaaagcg agtcttgccc ctgcttgaca aacccccgtt ctgacgcag ctgcactcct
 1261 gcttccagac agtgatcgg ctgtacttcg tcatggaata tgtcaacggt ggggacctca
 1321 tgtaccacat tcagcaagta ggaaaattta aggaaccaca agcagtattc tatgcggcag
 1381 agatttccat cggattgttc tttcttcata aaagaggaat catttatagg gatctgaagt
 1441 tagataacgt catgttggat tcagaaggac atatcaaaat tgctgacttt gggatgtgca
 1501 aggaacacat gatggatgga gtcacgacca ggacctctg tgggactcca gattatatcg
 1561 ccccgagag aatcgcttat cagccgtatg gaaaatctgt ggactggtgg gcctatggcg
 1621 tcctgttgta tgaaatgctt gccgggcagc ctccatttga tgggtgaagt gaagacgagc
 1681 tatttcagtc tatcatggag cacaacgttt cctatccaaa atccttgtcc aaggaggctg
 1741 tttctatctg caaaggactg atgaccaaac acccagccaa gcggctgggc tgtgggcctg
 1801 agggggagag ggacgtgaga gagcatgcct tcttccggag gatcgactgg gaaaaactgg
 1861 agaacaggga gatccagcca ccattcaagc ccaaagtgtg tggcaaggga gcagagaact
 1921 ttgacaagtt cttcacacga ggacagcccg tcttaacacc acctgatcag ctgggtattg
 1981 ctaacataga ccagtctgat tttgaagggt tctcgtatgt caacccccag tttgtgcacc
 2041 ccactttaca gagtgcctac tgaaactcac cagcgagaac aaacacctcc ccagcccca
 2101 gccctccccg cagtgggaag tgaatcctta accctaaaat ttttaaggcca cggccttggg
 2161 tctgattcca tatggaggcc tgaaaattgt aggggtatta gtccaaatgt gatcaactgt
 2221 tcagggtctc tctcttacia ccaagaacat tatcttagtg gaagatggta cgtcatgctc
 2281 agtgccagc ttaattctgt agaagttacg tctggctcta ggttaaccct tcctagaaag
 2341 ccaacagccc tagaatctga tttgggtaca atttgatata ctttccatac cctccatctg
 2401 tggatttttc agcattggaa tcccccaacc agagatgtta aagtgagcct gtcccaggaa
 2461 acatctccac ccaagacgtc tttggaatcc aagaacagga agccaaagaga gtgagcaggg
 2521 agggattggg ggtgggggag gcctcaaaat accgactgcg tccattctct gcctccatgg
 2581 aaacagcccc tagaatctga aaggccggga taaacctaat cactgttccc aaacattgac
 2641 aaatcctaac ccaaccatgg tccagcagtt accagtttaa acaaaaaaac ctcagatgag
 2701 tgttgggtga atctgtcatc tggtaacctc cttggttgat aactgtcttg atacttttoa
 2761 tttcttggta gaggccaaat cgtctaagga cgttgctgaa caagcgtgtg aaatcatttc
 2821 agatcaagga taagccagtg tgtacatatg ttcattttaa tctctgggag attatttttc
 2881 catccagggt gccatcagta atcatgccac tactcaccag tgttgttcgc caacaccac
 2941 cccacacac accaaccattt tgcctgcctac cttgttatcc tctcaagaa gctgaagtgt
 3001 acgccctctc cctttttgtg cttattttatt taataggctg cagtgtcgct tatgaaagta
 3061 cgatgtacag taacttaatg gaagtgtcga ctctagcatc agcctctacc gatttgattt
 3121 cctcccttct ctagccctgg atgtccaott agggataaaa agaatatggt tttggttccc
 3181 atttctagtt caggttgaat gacaggcctg gagctgtaga atcaggaaac ccggatgcct
 3241 aacagctcaa agatgttttg ttaatagaag gattttaata cgttttgcaa atgcatcatg
 3301 caatgaattt tgcatgttta taataaacct taataacaag tgaatctata ttattgatat
 3361 aatcgatatca agtataaaga gagtattata ataattttat aagacacaat tgtgctctat
 3421 ttgtgcagggt tcttgtttct aatcctcttt tctaatttaag ttttagctga atcccttgc
 3481 tctgtgcttt ccctccctgc acatgggcac tgtatcagat agattacttt taaatgtag
 3541 ataaaatttc aaaaatgaat ggctagttta cgtgatagat taggctctta ctacatatgt
 3601 gtgtgtatat atatgtattt gattctacct gcaaacaaat ttttattggt gaggactatt
 3661 tttgagctga cactccctct tagtttcttc atgtcacctt tcgtcctggg tccctcgcca
 3721 ctcttctctc tggggacaac aggaagtgtc tgattccagt ctgcctagta cgttgggtaca
 3781 cacgtggcat tgccgcagca cctgggctga cctttgtgtg tgcgtgtgtg tgtgttccct
 3841 tcttcccttc agcctgtgac tgttgcctgac tccagggtgt ggagggatgg ggagactccc
 3901 ctcttgcctg gtgtactgga cagcaggaa gcatgctgtc ttgctgcctc tgcaacgacc
 3961 tgtcgtttgc tccagcatgc aaaaacttcg tgagaccaac acagccgtgc cctgcaggca
 4021 ccagcacgtg cttttcagag gctgcggact ttcttcagc cattgtggca ttggcctttc
 4081 cagtcttggg agggagcgcg tgctttgggt agacaccccc atgcaaggct ctcagagtga

10

20

30

40

50

4141 ccgggttctta ccacaaacag aaacagaatg aaagtagctg tcagtccttg tagagagccg
 4201 ctctgttttc tcccagaagc atctcccagc taagctcgca ttatttttct cctctggctg
 4261 tttgcctgaa gttcacagaa cacacaacca tgaaaggctt tttgaggtga gaggccagg
 4321 tggctcctggc aacctgagtg agaaggagag acggggtagg gaacggggcc ggccagaaaa
 4381 gaaccatttc ttctgcatc ttttatgcac catagacatc gagactccag ggggtcctgg
 4441 ctccccgtgc cctgagcccc tgcaggtcag tgcattgatc ggggtcgtgt cctgaccagg
 4501 tgctcctcct ttgatccgag gggaaaggga ctggtttata gaaagagcct aggagacaaa
 4561 agggccagtc cccctgcccc gaatggagca gcagcaggac agacccccac gaggcccccc
 4621 agagaggagg aagatcccac ggaggaacac atgaggttag ggacccttgt tcagcacccc
 4681 aaacagcctg cctgtttaaa gcaggcagca ggcttaggcc ttccctgcaa cccaacacc
 4741 cacaagtttg tttctctagg aaacacattc actgtctcag ctggctgtta ctctctcaga
 4801 ccataatggca aagttttcca agaaaatgcc ccgacagggg tgcccagcac actgcctgag
 4861 ggacaacaga catcagaaca aacccccaga gagaaacagt caaaatcagg gcccggtgca
 4921 gtgttgtcat gtggaacctg ctttatccat tgctgagtggt tgaatgtggg taatggttag
 4981 ggctttccag atctcagcag ccaaagacag ttattgttgg aagactgtca tgtagataac
 5041 catgagcaat ggctcgccctc agaatcagtt cataaaattc tatggtagct gccccctcgt
 5101 gggatttgtg tgaaatgaga tgggtggcag ggggtgcctg tggaactgcc gcagccacgc
 5161 aggaggtcgc tgggggatgc tttgggaagt ccttgccctc gagcactgcc tgattgccag
 5221 ggctctgtgga ggcttaggcc gcctggcaga atctagcacc gtccgaatcc ccgcaggacc
 5281 catggagcta tgaccacacc aggccattca aatggctctg cattatcttc ccttggaagg
 5341 tggccactcc tcggtggcag ggcctttccc tgaggctgca ggcctgtggc tggcagccc
 5401 tctcttgga tttcaattga aggtcaccag gtgctgggtt tgaaaggaag tcaactggagt
 5461 gtgcccagg ggcgcctcc aaggttaatg agaggccac atccaggcaa gaactaattc
 5521 aaaaggcaga tcagaaacca caggagtcaa aattattgct ccggcagtgc ttcccttctc
 5581 ttcacccact ggctcgtgt ggtccatgca gggccactgt ctgcccttcc tgatgccacg
 5641 tattaggtct tcttactcag aattttgata gaaaaccatg gggccaagag ctctggaagc
 5701 ctggccggaa agacaaaggt tcattgcagcc caacaaatga ttgttgagca cctctcgag
 5761 ccaaagtcct taggcgagtg tgggtgacttc ctggaaggag gatgcagact tccagagagc
 5821 ccccccaacg gacgtgctga gaaggagag ggaggcgggg gctgtagtca ggaaggagcc
 5881 agagaagaac agggtttggg tgcattccaga aatattgcct cagtaggagg gagagggaag
 5941 ggtgccccgc tcaacggctt cccatcgag gtggttgggt cagatggaag tttctgtctg
 6001 ctggccctca agagagtggt ttgccaggga cacagtctgt tccctcctcag aaaacacccc
 6061 ccaaattgcta acaacatccc caccagctgc tagaagcccc tttccctccc ccacctgaa
 6121 gtagctcata gttctctggg cagagccaga ccatccagtg taccocagag gccagtaggt
 6181 tccctgccc atttctctct ggcttctctc caagaattat ggcagctgag gatgaatgga
 6241 gaagtaaaaa caactaacac cgcacaacta acaactaaca ccgcagttcc cacctgggtt
 6301 ccacttagca ggagacattt cggagggttt tttttgttt ttgttctgtt tttttttttt
 6361 ttgctggaat ttgttttctc agtaactgaaa agagaaaaag tgacaatctt gtatttttaa
 6421 aagcctcgga aaggtgatac catctgacag tcattttctc acgttggtct tctaaagtca
 6481 ccatcttctt gtgtgtgcac atcacaccat ttctgttttc tttataaacc gacaagggtg
 6541 ggagtgccctg tttccctctc tgggcacacc agacaatcgt aatcacaaaa cagacactga
 6601 gccagggggc caaagggtgt gatcatgaga gttaccggga cagcagtagg catgacagtc
 6661 accaggaagg acaagggtgc tctgttggtt gtggccacac accaatttga caaggagtgt
 6721 tgcgaaatth ttatttattt atttatttat tttgagatgg agtttctact ttgttgccca
 6781 ggctggagtg cggtggtaca atctcgctc actgcaacct ccacctccca ggttcaagcg
 6841 attctcctgc ctacgctcc caagtacctg ggactacagg tgcgtgccac cacaccagc
 6901 taaatthtgt gtttttagta gagatgggtt tccaccatgt tggccaggat ggtcttgaa
 6961 cctgacctc atgatctgcc tgccctcgcc tcccaaagtg ctgggattac aggcagtagc
 7021 caccacgccc agccaaaata tttttttaaa gtcattttcc ttaagctgct tgggctacat
 7081 gtgaaataca ctggacggtc aacattcctg tctcctccca tttgggctga tgcagcagat
 7141 ccagggaatg ttacctgttt ctgctgctag aagatccagg aaattgggaa ggttacctga
 7201 cgcacacatg gatgaaggcc atcatctaga aatggggtca accacaattg tgtaatttcc
 7261 gtagtgtcag ggattcttcg ggaaggtcaa cagtatgaag gattctgacc cctgtgcctc
 7321 ccatttatgt gatcagggtg cagtttaataa ccgtggaggt cacactcagc catccaacag
 7381 ccttacagtg accctacaca aaagccccc aattccaaag actttttctt aacctaaagg
 7441 aagaaattat ttgttaattc cagtagagca actgaatata ctgggctatt tgtacttttt
 7501 tatagagaac ttttaataata attcttttaa aatgagtttt tagaacaagg caactgacga
 7561 tttcctaaga ttccaatgcc ctggagcttg taggaggact tagcctgggt cagctggagc
 7621 acccccagac tgatctccca ctgccagatt ttcccatgct cctagggtat ggagtcacag
 7681 tgggaatgac tgcaagttca ggtggaactt ggccgactga tgctctgcga gtttttaata
 7741 gacactgggg acaactgctt aaggtttaga aacttccaaa ccacaggaaa gacattttta

10

20

30

40

```

7801 gtgtccccc tccagaggca gccctggaat aggattccca ggggtttctg ggaccccttt
7861 ccttgctccg tgaggctctg tggccatctt ttggcaggag gaggatgctt ccttggtctt
7921 gtgcccagac cgcctgggtc cccaggtctc tcacctggg tgaagattca gagatgccct
7981 gtaaggattt tgcccactgg gcaactcaga aatacttcga tctcccaaga tataagaggc
8041 agcagcaaac gtgcctattg acgtctgttt catagtacc acttacgcga gtagacagaa
8101 ctcggtcttt cagaaaatag gtgtcaagtc cactttataa gaaccttttt ttctaaaata
8161 agataaaaagg tggctttgca ttttctgatt aaacgactgt gtctttgtca cctctgctta
8221 acttttaggag tatccattcc tgtgattgta gacttttgtt gatattcttc ctggaagaat
8281 atcattcttt tcttgaaggg ttggtttact agaatttca aaatcaatca tgaaggcagt
8341 tactatcttt agtctaaagg ttttctaaaa attaacctca catcccttct gttagggtct
8401 ttcagaatat cttttataaaa cagaagcatt tgaagtcatt gcttttgcta catgatttgt
8461 gtgtgtgaag gacataccac gtttaaatca ttaattgaaa aacatcatat aagccccaac
8521 tttgtttgga ggaagagacg gaggttgagg tttttccttc tgtataagca cctactgaca
8581 aaatgtagag gccattcaac cgtcaaacac catttggtta tatcgagag gagacggatg
8641 tgtaaaattac tgcattgctt tttttttcag tttgtataac ctctaattctc cgtttgcatg
8701 atacgctttg ttagaaacat taattgtagt ttggaagcaa gtgtgtatga ataaagataa
8761 tgatcattcc aaaaaaaaaa aaaaaaaa

```

10

配列を含み、コード配列は太字かつ下線付きである。

【0137】

ホスホリパーゼC(PLC)またはイノシトール三リン酸(IP3)の発現または活性を減少させる作用物質

いくつかの例において、血管拡張薬として作用するある作用物質が、PLCまたはIP3の活性または発現を遮断するために使用される。複数の態様において、PLC阻害物質は、U-73122、U73343、およびET-18-OCH₃を含む。複数の態様において、IP3阻害物質は、2-APBおよびゼストスポンジンCを含む。複数の態様において、作用物質はヒドララジンを含む。阻害物質は単独でまたは任意の組み合わせで使用され得ることが企図される。複数の態様において、PLCまたはIP3阻害物質、またはその薬学的に許容される塩もまた、本明細書で企図される。

20

【0138】

ある態様において、PLCまたはIP3の活性または発現を減少させる作用物質は、約0.001 mg/kg～約250 mg/kg体重、例えば、0.001 mg/kg、0.05 mg/kg、0.01 mg/kg、0.05 mg/kg、1 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、25 mg/kg、50 mg/kg、75 mg/kg、100 mg/kg、125 mg/kg、150 mg/kg、175 mg/kg、200 mg/kg、225 mg/kg、または250 mg/kg体重の濃度で投与され得る。他の態様において、作用物質は、より高い、例えば、最高1000 mg/kg体重までの濃度で投与されることが企図される。

30

【0139】

いくつかの態様において、アンドロゲン拮抗薬との併用療法が企図される(例えば、抗アンドロゲン薬)。抗アンドロゲン薬は、テストステロンおよびジヒドロテストステロン(DHT)のようなアンドロゲンが体内においてそれらの生物学的効果を媒介するのを妨げる薬物のクラスである。それらは、アンドロゲン受容体(AR)を遮断しかつ／またはアンドロゲン産生を阻害もしくは抑制することによって作用する。例示的な抗アンドロゲン薬は以下を含む。

40

【0140】

アンドロゲン受容体拮抗薬：ARへ直接結合してARを遮断する薬物。これらの薬物としては、ステロイド性抗アンドロゲン薬である、酢酸シプロテロン、酢酸メゲストロール、酢酸クロルマジノン、スピロラクトン、オキシンドロン、および酢酸オサテロン(獣医学)、ならびに非ステロイド性抗アンドロゲン薬である、フルタミド、ピカルタミド、ニルタミド、トピルタミド、エンザルタミド、およびアパルタミドが挙げられる。酢酸シプロテロンおよび酢酸クロルマジノンは別として、ジエノゲスト、ドロスピレノン、メドロゲスト、酢酸ノメゲストロール、プロメゲスト、およびトリメゲストを含む、経口避妊薬においておよび／または閉経期HRTにおいて使用される少数の他のプロゲステンもまた、様々な程度のAR拮抗活性を有する。

50

【0141】

アンドロゲン合成阻害物質：テストステロンおよび／またはDHTのようなアンドロゲンの酵素生合成を直接阻害する薬物。例としては、CYP17A1阻害物質であるケトコナゾール、酢酸アピラテロン、およびセビテロネル、CYP11A1(P450_{sc})阻害物質であるアミノグルテチミド、ならびに5 α -レダクターゼ阻害物質であるフィナステリド、デュタステリド、エプリステリド、アルファトラジオール、およびノコギリヤシ抽出物(セレンオ・レペンス (*Serenoa repens*))が挙げられる。酢酸シプロテロン、スピロノラクトン、メドロゲストン、フルタミド、ニルタミド、およびビフルラノールを含む、いくつかの他の抗アンドロゲン薬もまた、アンドロゲン合成を弱く阻害することが公知である。

【0142】

抗ゴナドトロピン：ゴナドトロピンのゴナドトロピン放出ホルモン(GnRH)誘導放出および結果として生じる性腺アンドロゲン産生の活性化を抑制する薬物。例としては、GnRH調節因子、例えば、リュープロレリン(GnRHアゴニスト)およびセトロレリクス(GnRHアンタゴニスト)、プロゲストゲン、例えば、アリルエストレノール、酢酸クロルマジノン、酢酸シプロテロン、カプロン酸ゲストノロン、カプロン酸ヒドロキシプロゲステロン、酢酸メドロキシプロゲステロン、酢酸メゲストロール、酢酸オサテロン(獣医学)、およびオキセンドロン、ならびにエストロゲン、例えば、エストラジオール、エストラジオールエステル、エチニルエストラジオール、結合型エストロゲン、およびジエチルスチルベストロールが挙げられる。

【0143】

追加の例：上記以外の手段によってアンドロゲンの効果に反対する薬物。例としては、肝臓における性ホルモン結合グロブリン(SHBG)産生を刺激し、それによってテストステロンおよびDHTの遊離および従って生物活性レベルを減少させる、エストロゲン、特に経口および合成(例えば、エチニルエストラジオール、ジエチルスチルベストロール)；副腎アンドロゲンの副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)誘導産生を抑制する、糖質コルチコイドのような抗コルチコトロピン薬；ならびに、アンドロゲンおよびアンドロゲン前駆体アンドロステンジオン(獣医学においてのみ使用される)に対する抗体の産生を介してアンドロゲンのレベルを減少させる、オバンドロトンアルブミンおよびアンドロステンジオンアルブミンのようなアンドロステンジオンに対する免疫原およびワクチンが挙げられる。

【0144】

結合組織障害

結合組織疾患は、器官および身体の他の部分を支持するタンパク質に富む組織を伴う障害の一群を指す。結合組織の例は脂肪、骨、および軟骨である。これらの障害は、しばしば、関節、筋肉、および皮膚を伴うが、それらはまた、眼、心臓、肺、腎臓、胃腸管、および血管を含む、他の器官および器官系を伴い得る。結合組織を侵す200を超える障害が存在する。原因および特異的な症状は異なるタイプによって異なる。

【0145】

組成物および方法で潜在的に処置可能な組織疾患(例えば、上皮、結合、筋肉および神経組織)の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：自己免疫、変性、炎症、感染、癌、ウイルス、真菌、損傷または外傷由来。これらの組織および／または器官の疾患は、原発性疾患であり得、または既存の疾患および／もしくは病気によって引き起こされ得る。例としては、アミロイドーシス、心房細動 (atiral fibrillation)、痙攣 (convulsion)、痙攣 (cramp)、皮膚筋炎、内軟骨腫、線維腫、腰痛 (lumbao)、遺伝性結合組織障害(例えば、マルファン症候群、ペイロニー病、エーラース・ダンロス症候群、骨形成不全症、スティックラー症候群、アルポート症候群、先天性拘縮性クモ指症)、自己免疫結合組織障害(例えば、全身性エリテマトーデス(SLE)、関節リウマチ、強皮症、シェーグレン症候群、混合性結合組織疾患、乾癬性関節炎)、壊血病、筋肉疾患(例えば、筋腫瘍、筋ジストロフィー、非活動性萎縮、脱神経性萎縮、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (facioscapulohumoral muscular dystrophy))、肝疾患 重症筋無力症 (hepatic diseasemyasthenia gravis)、ミオパチー、筋炎、

10

20

30

40

50

骨化性筋炎、癌、線維筋痛症、筋疲労、痙攣 (spasm)、痙攣 (spasticity)、捻挫、挫傷、脳損傷、脊髄損傷、グリオーマ、ニューロエプセリオマトス (neuroepitheliomatous)、高血圧症、心血管疾患、糖尿病、アルツハイマー病、膀胱炎、AIDS、くる病、および神経鞘腫瘍が挙げられる。疾患によって侵され、本明細書に記載される組成物および方法で処置され得る、組織、器官および／または体システムの例は、しかし、以下に限定されない：免疫系、感覚器官 (例えば、味覚、嗅覚、視覚、聴覚の器官)、消化器系 (例えば、口、口峽、咽頭、食道、腹部、胃、小腸、大腸、肝臓、脾臓)、尿生殖器、内分泌系、代謝、心臓血管系 (例えば、心臓、血圧、動脈)、血液学 (例えば、血液化学)、泌尿器 (例えば、腎臓、尿管、膀胱、男性尿道、女性尿道、男性生殖器 (例えば、精巣およびそれらの被膜、精管、精囊 (vesiculae seminales)、射精管、陰茎、前立腺、尿道球腺)、女性生殖器 (例えば、卵巣、卵管、子宮、陰核、バルトリン腺、外生殖器、乳房))、内分泌腺 (例えば、甲状腺、副甲状腺、胸腺、脳下垂体、松果体、クロム親和性および皮質系 (chromophil and corticoid system)、脾臓)、生殖、呼吸 (例えば、喉頭、気管、気管支 (bronchi)、胸膜、縦隔、肺)、中枢神経系 (例えば、神経、神経線維)、皮膚、上皮 (例えば、単層、重層、多列 円柱、腺)、結合 (例えば、疎性結合 (例えば、疎性、脂肪、細網)、および密性結合 (例えば、平行、交織))、軟骨 (例えば、硝子、弾性、線維)、筋肉 (例えば、骨格筋 (例えば、I、II、IIa、IIx、IIb型)、心筋、平滑筋)、神経 (例えば、ニューロン (例えば、運動ニューロン、介在ニューロン、感覚ニューロン)、神経膠、脊髄、神経、脳)。

【0146】

複数の態様において、結合組織障害は、血管症 (例えば、血管型エーラース・ダンロス症候群)、マルファン症候群、ロイス・ディーツ症候群、または家族性胸部大動脈瘤を含む。

【0147】

エーラース・ダンロス症候群 (EDS)

エーラース・ダンロス症候群 (EDS) は、遺伝的結合組織障害の一群である。症状は、動揺関節、伸縮性のある皮膚、および異常瘢痕形成を含み得る。これらは、出生時にまたは小児期早期に気付かれ得る。合併症としては、大動脈解離、関節脱臼、脊柱側弯症、慢性疼痛、または早期変形性関節症が挙げられ得る。

【0148】

EDSは、1ダースを超える異なる遺伝子のうちの1つにおける突然変異に起因する。侵された特定の遺伝子は特定のEDSを決定する。いくつかの症例は初期発生中に生じる新たな突然変異に起因し、一方、他のものは常染色体優性または劣性遺伝する。これは、コラーゲンの構造またはプロセッシングにおいて欠陥を生じさせる。診断は、遺伝子検査または皮膚生検で確認され得る。人々は心気症、うつ病、または慢性疲労症候群と誤診され得る。

【0149】

今日まで、治療は分かっておらず、しかし、理学療法およびブレイシングが、筋肉を強化しそして関節を支持するのに役立ち得る。いくつかの障害は通常の平均余命をもたらす一方、血管を侵す障害は、一般に、より短い平均余命をもたらす。EDSは世界的に5,000人につき約1人を侵し、予後は具体的な障害に依存する。

【0150】

EDS分類

過可動型EDS (3型 hEDS) は、再発性関節脱臼および亜脱臼 (不全脱臼) をもたららし得る、大関節および小関節の両方を侵す関節過可動によって主に特徴付けられる。一般に、このタイプを有する人々は、易出血性ならびに筋肉および／または骨の慢性疼痛を伴う、柔らかく、滑らかなベルベット様の皮膚を有する。このタイプのEDSを引き起こす突然変異は不明である。他のタイプよりも少ない皮膚関与が見られる。このタイプについて遺伝子検査は利用可能でない。

【0151】

古典型EDS (1型 cEDS) は、脆弱でありかつ出血しやすい、非常に弾力性のある (伸縮性のある)、滑らかな皮膚；広範な、萎縮性瘢痕 (扁平または陥凹性瘢痕)；および関節過可動と関連する。モルスクム偽腫瘍 (肘のような圧迫部位の石灰化血腫) および球状体 (前腕およ

10

20

30

40

50

び脛上の脂肪含有嚢胞)も頻繁に見られる。緊張低下および運動発達遅滞が生じ得る。このタイプのEDSを引き起こす突然変異は、遺伝子COL5A1、COL5A2、およびCOL1A1中にある。それはhEDSよりも多く皮膚を伴う。

【0152】

血管型EDS(4型 vEDS)は、極めて脆弱でありかつ出血しやすい、薄く、半透明な皮膚によって特徴付けられる。動脈ならびに腸および子宮のようなある器官もまた、脆弱であり、破裂しやすい。このタイプを有する人々は、典型的に、低身長であり、頭髮が薄い。それはまた、大きな眼、小さな顎、くぼんだ頬、薄い鼻および唇、ならびに耳たぶを有さない耳を含む、特徴的な顔貌上の特徴を有する。関節過可動が存在し、しかし、一般に小関節(手指、足指)に局限される。他の共通の特徴としては、内反足、腱および／または筋断裂、末端早老症(手足の皮膚の早期老化)、早期発症静脈瘤、気胸(肺の虚脱)、歯肉後退、ならびに皮下脂肪量の減少が挙げられる。それはCOL3A1遺伝子中の突然変異によって引き起こされ得る。

10

【0153】

後側彎型EDS(6型 kEDS)は、出生時の重度の緊張低下、運動発達遅滞、進行性脊柱側弯症(出生から存在)、および強膜脆弱性と関連する。罹患した人々はまた、破裂しやすい易出血性の脆弱な動脈、通常は小さな角膜、および骨減少症(低い骨密度)を有し得る。他の共通の特徴としては、長く細長い手指を特徴とする「マルファン症候群様体型」(クモ指症)、通常は長い四肢、およびくぼんだ胸部(漏斗胸)または突き出した胸部(鳩胸)が挙げられる。それは遺伝子PLOD1中の突然変異によって引き起こされ得る。

20

【0154】

多発関節弛緩型EDS(7AおよびB型 aEDS)は、重度の関節過可動および先天性股関節脱臼によって特徴付けられる。他の共通の特徴としては、易出血性を伴う脆弱なゴム状皮膚、緊張低下、後側弯症(後弯および側弯)、ならびに軽度骨減少症が挙げられる。I型コラーゲンが通常、侵される。それは非常に稀であり、約30症例が報告された。それは、過可動型よりも重篤である。遺伝子COL1A1およびCOL1A2における突然変異がそれを引き起こす。

【0155】

皮膚脆弱型EDS(7C型 dEDS)は、重度の出血および瘢痕をもたらす極めて脆弱な皮膚；特に顔面における、垂れ下がった、余分な皮膚；およびヘルニアと関連する。それは極めて稀であり、およそ10症例が報告された。

30

【0156】

脆弱角膜症候群は、薄い角膜、早期発症進行性球状角膜または円錐角膜、および青色強膜によって特徴付けられる。古典的症状、例えば、過可動性関節および超弾性皮膚もしばしば見られる。

【0157】

類古典型EDS(1型 cEDS)は、ベルベット様の感触を伴うが、萎縮性瘢痕を伴わない皮膚過伸展性、反復性脱臼(最も頻度が高いのは肩と足首)を伴うこともあれば、伴わないこともある全身関節過可動、および内出血しやすい皮膚または自然発生する斑状出血(皮下出血に起因する皮膚の変色)によって特徴付けられる。

40

【0158】

脊椎異形成型EDS(spEDS)は、低身長(小児期に進行性)、筋緊張低下(先天性重症から晩期発症軽症まで)、および四肢湾曲によって特徴付けられる。

【0159】

筋拘縮型EDS(mcEDS)は、先天性多発関節拘縮、特徴的に内転-屈曲拘縮および／または内反尖足(内反足)、出生時または乳児早期に明らかである、特徴的な頭蓋顔面の特徴、ならびに皮膚特徴、例えば、皮膚過伸展性、易出血性、萎縮性瘢痕を伴う皮膚脆弱性、手掌の過剰な皺によって特徴付けられる。

【0160】

ミオパチー型EDS(mEDS)は、年齢に伴い改善する先天性筋緊張低下および／または筋萎

50

縮、近位関節拘縮(膝、股および肘の関節)、ならびに遠位関節過可動(足首、手首、足および手の関節)によって特徴付けられる。

【0161】

歯周型EDS(pEDS)は、早期発症(小児期または思春期)の重度かつ難治性の歯周炎、付着歯肉欠損、脛骨前面斑、および臨床的診断基準を満たす1度近親者の家族歴によって特徴付けられる。

【0162】

心臓弁型EDS(cvEDS)は、重篤な進行性の心臓弁問題(大動脈弁、僧帽弁)、皮膚問題(過伸展性、萎縮性瘢痕、薄い皮膚、易出血性)、および関節過可動(全身性、または、小関節に局限)によって特徴付けられる。

【0163】

処置方法

本開示は、作用物質の治療有効量を対象へ投与する工程による、その必要がある対象におけるバソパシー (vasopathy) (例えば、vEDS)または結合組織障害の処置のための方法を提供し、作用物質は、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)またはプロテインキナーゼC(PKC)の活性または発現を減少させる。方法は、ホスホリパーゼC(PLC)またはイノシトール三リン酸(IP3)の活性または発現を減少させる作用物質を投与する工程をさらに含む。複数の態様において、作用物質は、バソパシー(例えば、vEDS)または結合組織障害の処置に有用な医薬の調製のための、抗体もしくはその断片、ポリペプチド、小分子、核酸分子、または任意の組み合わせを含む。

【0164】

本開示はまた、併用療法を含む方法を提供する。本明細書において使用される場合、「併用療法」または「共療法 (co-therapy)」は、作用物質(例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、または阻害物質)および追加の活性作用物質の共作用 (co-action) からの有利な効果を提供するように意図される処置レジメンの一部としての、「医薬品有効成分」(「API」)とも本明細書において呼ばれる、少なくとも1つの追加の活性作用物質を伴う作用物質(例えば、ERK、PKC、および／またはPLCもしくはIP3の活性または発現を減少させる作用物質)またはその薬学的に許容される塩の治療有効量の投与を含む。

【0165】

下記に記載される態様によれば、「追加のAPI」は、作用物質(例えば、ERK、PKC、および／またはPLCもしくはIP3の活性または発現を減少させる作用物質)との併用療法レジメンにおいて投与される少なくとも1つの追加のAPIを指すように理解される。加えて、下記に記載される追加のAPIのうちの2つ以上がレジメンにおいて用いられ得ることが理解される。「併用療法」または「併用療法レジメン」という用語は、意図または予測されなかった有利な効果を偶然にかつ恣意的にもたらす別個の単剤療法レジメンの一部としての2つまたはそれ以上の治療用化合物の投与を包含するようには意図されない。

【0166】

好ましくは、本明細書において議論されるような1つまたは複数の追加のAPIと組み合わせる作用物質(例えば、例えば、ERK、PKC、および／またはPLCもしくはIP3の活性または発現を減少させる作用物質)を含む組成物の投与は、処置される対象において相乗的な反応を提供する。本文脈において、「相乗的な」という用語は、組み合わせの効能がいずれかの単剤療法単独の相加効果よりも有効であることを指す。

【0167】

本開示はまた、バソパシー(例えば、vEDS)または結合組織障害の処置のための併用療法を含む方法を提供する。本明細書において使用される場合、「併用療法」または「共療法」は、これらの治療用化合物の共作用からの有利な効果を提供するように意図される特定の処置レジメンの一部としての、本明細書に開示されるような、少なくとも1つの追加の作用物質を伴う本明細書に記載される化合物の投与を含む。少なくとも1つの追加の作用物質は、治療用物質または非治療用物質であり得る。組み合わせの有利な効果としては、治療用化合物の組み合わせに起因する薬物動態学的または薬力学的共作用が挙げられるが

10

20

30

40

50

、これらに限定されない。組み合わせの有利な効果はまた、組み合わせ中の別の作用物質と関連する毒性、副作用、または有害事象の軽減に関し得る。「併用療法」は、本開示の組み合わせを偶然にかつ恣意的にもたらす別個の単剤療法レジメンの一部としてのこれらの治療用化合物のうちの2つまたはそれ以上の投与を包含するように意図され得るが、一般的には意図されない。

【0168】

従って、ある態様において、その必要がある対象に、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ/細胞外シグナル調節キナーゼ(MEK)、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)、ホスホリパーゼC(PLC)、イノシトール三リン酸(IP3)またはプロテインキナーゼC(pKC)の発現または活性を阻害し、それによってERK、PLC、IP3、またはPKCの活性を阻害する、1つまたは複数の作用物質を投与する。

10

【0169】

ある態様において、その必要がある対象に、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ(MAPK)経路と関連する1つまたは複数の分子、例えば、RAS-RAF/MEK/細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)プロテインキナーゼの活性または発現を阻害する、1つまたは複数の作用物質を投与する。

【0170】

併用療法の文脈において、アンタゴニストの投与は、1つもしくは複数の追加の作用物質の投与と同時にであってもよい、または1つもしくは複数の追加の作用物質の投与に連続してもよい。別の局面において、併用療法の異なる成分の投与は、異なる頻度であり得る。1つまたは複数の追加の作用物質は、本開示の化合物の投与前(例えば、5分間、15分間、30分間、45分間、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、もしくは12週間前)、投与と同時に、または投与後(例えば、5分間、15分間、30分間、45分間、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、もしくは12週間後)に、投与され得る。

20

【0171】

1つまたは複数の追加の作用物質は、本明細書においてより詳細に記載されるような、単回投薬形態での本開示の作用物質との同時投与のために製剤化され得る。1つまたは複数の追加の作用物質は、本開示の化合物を含む投薬形態とは別に投与され得る。追加の作用物質が本開示の化合物とは別に投与される場合、それは、本開示の化合物と同じまたは異なる投与経路によってであり得る。

30

【0172】

好ましくは、1つまたは複数の追加の作用物質と組み合わせて本開示の作用物質を含む組成物の投与は、本開示の障害、疾患、または状態を有する対象において相乗的な反応を提供する。本文脈において、「相乗的な」という用語は、組み合わせの効能がいずれかの単剤療法単独の相加効果よりも有効であることを指す。本開示に従う併用療法の相乗効果は、組み合わせ外でのその用量および／または頻度と比較して、組み合わせ中での少なくとも1つの作用物質のより少ない投薬量および／またはより低い頻度の投与の使用を可能にし得る。相乗効果は、組み合わせ中のいずれかの療法単独の使用と関連する有害なまたは望まれない副作用の回避または低減で現れ得る。

40

【0173】

「併用療法」はまた、非薬物療法(例えば、手術または放射線治療)とのさらなる組み合わせにおける本開示の化合物の投与を包含する。併用療法が非薬物処置をさらに含む場合、非薬物処置は、治療用化合物および非薬物処置の組み合わせの共作用からの有利な効果が達成される限り、任意の好適な時間に行われ得る。例えば、適切な場合において、非薬物処置が治療用化合物の投与から時間的に、恐らく数日またはさらには数週間、離される場合、有利な効果が依然として達成される。

【0174】

本明細書に記載される方法の態様において、作用物質(例えば、ERK、PKCおよび／また

50

はPLCもしくはIP3の活性または発現を減少させる作用物質)は、バソパシー(例えば、vEDS)または結合組織障害を処置するための方法において、単独でまたは少なくとも1つの追加の作用物質と組み合わせて投与され得る。複数の態様において、作用物質、および少なくとも1つの追加の作用物質は、単回投薬形態で投与される。別の局面において、作用物質および少なくとも1つの追加の作用物質は、別個の投薬形態で投与される。複数の態様において、少なくとも1つの追加の作用物質は治療用物質である。複数の態様において、治療用物質は、バソパシー(例えば、vEDS)または結合組織障害の処置に適応される。別の局面において、作用物質は、バソパシー(例えば、vEDS)または結合組織障害の処置用ではない少なくとも1つの追加の作用物質、例えば、併用療法において投与される別の活性作用物質と関連する毒性または有害事象を軽減するように役立つ第2の作用物質と組み合わせて投与される。

10

【0175】

複数の態様において、少なくとも1つの追加の作用物質は、標的療法に向けられ、ここで、処置は、バソパシー(例えば、vEDS)もしくは結合組織障害、タンパク質、またはバソパシー(例えば、vEDS)もしくは結合組織障害進行に寄与する組織環境を標的とする。

【0176】

いくつかの態様において、アンドロゲン拮抗薬との併用療法が企図される(例えば、抗アンドロゲン薬)。抗アンドロゲン薬は、テストステロンおよびジヒドロテストステロン(DHT)のようなアンドロゲンが体内においてそれらの生物学的効果を媒介するのを妨げる薬物のクラスである。それらは、アンドロゲン受容体(AR)を遮断するかつ／またはアンドロゲン産生を阻害もしくは抑制することによって作用する。

20

【0177】

複数の態様において、例示的な組み合わせは、PLC、IP3、PKC、またはERK阻害物質に加えてアンドロゲン拮抗薬を含む。

【0178】

「治療有効量」という用語は、疾患、障害、または状態を処置する、その症状を改善する、その重症度を低下させる、またはその期間を減らす、あるいは、別の療法の治療効果を増強するもしくは向上させる、または特定される疾患、障害または状態を予防する、または検出可能な治療もしくは阻害効果を示すために十分な量を指す。効果は、当技術分野において公知の任意のアッセイ方法によって検出することができる。対象についての正確な有効量は、対象の体重、サイズ、および健康；状態の性質および程度；ならびに投与のために選択される治療薬または治療薬の組み合わせに依存する。

30

【0179】

作用物質の有効量は、1日1回、1日2～5回、1日最高2回までもしくは最高3回まで、または1日最高8回まで、投与することができる。複数の態様において、作用物質は、1日3回、1日2回、1日1回、3週間サイクルにおいて14日間オン(1日4回、1日3回もしくは1日2回、または1日1回)および7日間オフ、3週間サイクルにおいて最高5または7日間オン(1日4回、1日3回もしくは1日2回、または1日1回)および14～16日間オフ、あるいは2日毎に1回、または週1回、または2週間毎に1回、または3週間毎に1回、投与される。

【0180】

作用物質(例えば、ERK、PKC、および／またはPLCもしくはIP3の活性または発現を減少させる作用物質)の有効量は、約0.001 mg/kg～約1000 mg/kg、約0.01 mg/kg～約100 mg/kg、約0.1 mg/kg～約10 mg/kgの範囲であり得るか；または、範囲の下端が0.001 mg/kgおよび900 mg/kgからの任意の量でありかつ範囲の上端が0.1 mg/kgおよび1000 mg/kg(例えば、0.005 mg/kgおよび200 mg/kg、0.5 mg/kgおよび20 mg/kg)からの任意の量である任意の範囲であり得る。有効用量はまた、当業者によって認識されるように、処置される疾患、投与経路、賦形剤使用、および他の作用物質の使用のような他の治療的処置との共使用の可能性に依存して、変動する。

40

【0181】

より具体的な局面において、本開示の作用物質(例えば、ERK、PKC、および／またはP

50

LCもしくはIP3の活性または発現を減少させる作用物質)は、少なくとも1週間(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、36、48週間、またはそれ以上)、30～300 mg/日(例えば、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275、または300 mg/日)の投薬レジメンで投与される。ある態様において、本明細書において具現化される化合物は、4または16週間、100～300 mg/日の投薬レジメンで投与される。代わりにまたはその後、本明細書において具現化される作用物質は、8週間、または任意で、52週間、100 mg 1日2回の投薬レジメンで投与される。

【0182】

本明細書において使用される場合、「その必要がある対象」は、疾患、障害、もしくは状態を有する対象、または集団全体と比べて疾患、障害もしくは状態を発症する増加したリスクを有する対象である。好ましい局面において、その必要がある対象は、バソパシー(例えば、vEDS)もしくは結合組織障害を有する対象、または集団全体と比べてバソパシー(例えば、vEDS)もしくは結合組織障害を発症する増加したリスクを有する対象である。その必要がある対象は、疾患または障害について現在利用可能な方法に対して「非応答性」または「不応性」である対象であり得る。本文脈において、「非応答性」および「不応性」という用語は、疾患または障害と関連する1つまたは複数の症状を緩和するために臨床的に適切でないような、療法に対する対象の応答を指す。

10

【0183】

「対象」は哺乳動物を含む。哺乳動物は、例えば、任意の哺乳動物、例えば、ヒト、霊長動物、脊椎動物、トリ、マウス、ラット、家禽、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヤギ、ラクダ、ヒツジ、またはブタであり得る。好ましくは、哺乳動物はヒトである。「対象」および「患者」という用語は本明細書において交換可能に使用される。

20

【0184】

本開示は、本明細書に記載されるような疾患、障害、または状態の処置のための単剤療法を提供する。本明細書において使用される場合、「単剤療法」は、その必要がある対象への単一の活性または治療用化合物の投与を指す。好ましくは、単剤療法は、活性化合物の治療有効量の投与を伴う。例えば、本開示の作用物質を用いる単剤療法は、処置の必要がある対象へ治療有効量で投与され得る。単剤療法は併用療法と対比され得、ここで、複数の活性化合物の組み合わせが投与され、好ましくは組み合わせの各成分は治療有効量で存在する。一局面において、本開示の作用物質を用いる単剤療法は、所望の生物学的効果を誘導するのに併用療法よりも有効である。

30

【0185】

本明細書において使用される場合、「処置」、「処置すること」、または「処置する」は、疾患、状態、または障害と戦う目的のための患者の管理およびケアを記載し、疾患、状態もしくは障害の症状もしくは合併症を改善するための、または疾患、状態もしくは障害を排除するための、本開示の作用物質の投与を含む。

【0186】

本明細書において使用される場合、「予防」、「予防すること」、または「予防する」は、疾患、状態または障害の症状または合併症の発症を減少させるかまたは排除することを記載し、疾患、状態または障害の症状の発症、発病または再発を減少させるための、本開示の作用物質の投与を含む。

40

【0187】

本明細書において使用される場合、「軽減する」という用語は、障害の徴候または症状の重症度が低減されるプロセスを記載するように意図される。重要なことに、徴候または症状は、排除されることなく、軽減され得る。好ましい態様において、本開示の作用物質の投与は、徴候または症状の排除をもたらし、しかし、排除は必要ではない。有効投薬量は、徴候または症状の重症度を減少させることが期待される。

【0188】

本明細書において使用される場合、「症状」という用語は、疾患、病気、傷害、または

50

体内の何かが正常でないことの指標として定義される。症状は、症状を経験している個体によって感じられるまたは気付かれるが、他人には容易に気付かれないことがある。他人は、非医療従事者として定義される。

【0189】

本明細書に記載される方法に従って障害、疾患、または状態を処置することは、バソパシー(例えば、vEDS)または結合組織障害進行速度の減少をもたらし得る。好ましくは、処置後、バソパシー(例えば、vEDS)または結合組織障害進行速度は、処置前の数と比べて少なくとも5%低下し；より好ましくは、バソパシー(例えば、vEDS)または結合組織障害進行速度は、少なくとも10%低下し；より好ましくは、少なくとも20%低下し；より好ましくは、少なくとも30%低下し；より好ましくは、少なくとも40%低下し；より好ましくは、少なくとも50%低下し；さらにより好ましくは、少なくとも50%低下し；最も好ましくは、少なくとも75%低下する。バソパシー(例えば、vEDS)または結合組織障害進行速度は、任意の再現性のある測定手段によって測定され得る。

10

【0190】

本明細書において使用される場合、「選択的に」という用語は、ある集団において別の集団より高頻度で起こる傾向があることを意味する。比較される集団は細胞集団であってもよい。好ましくは、本開示の作用物質は、超増殖性細胞に選択的に作用するが、正常細胞には作用しない。本開示の作用物質は、ある分子標的を調節するように選択的に作用するが、別の分子標的を著しく調節しない。

【0191】

20

併用療法

複数の態様において、本開示はまた、ヒドララジンおよび少なくとも1つの追加の活性作用物質の併用療法を含む方法を提供する。複数の態様において、少なくとも1つの追加の活性作用物質は、治療用物質、例えば、抗アンドロゲン化合物、例えば、ピカルタミドまたはスピロラクトンである。

【0192】

本明細書において使用される場合、「併用療法」または「共療法」は、作用物質および追加の活性作用物質の共作用からの有利な効果を提供するように意図される特定の処置レジメンの一部としての、少なくとも1つの追加の活性作用物質を伴う本明細書に記載される作用物質の治療有効量の投与を含む。組み合わせの有利な効果としては、治療活性化合物の組み合わせに起因する薬物動態学的または薬力学的共作用が挙げられるが、これらに限定されない。「併用療法」は、意図または予測されなかった有利な効果を偶然にかつ恣意的にもたらす別個の単剤療法レジメンの一部としての2つまたはそれ以上の治療用化合物の投与を包含するようには意図されない。

30

【0193】

好ましくは、併用療法は、処置される対象において相乗的な反応を提供する。本文脈において、「相乗的な」という用語は、組み合わせの効能がいずれかの単剤療法単独の相加効果よりも有効であることを指す。本発明に従う併用療法の相乗効果は、組み合わせ外でのその用量および／または頻度と比較して、組み合わせ中での少なくとも1つの作用物質のより少ない投薬量および／またはより低い頻度の投与の使用を可能にし得る。組み合わせの追加の有利な効果は、組み合わせ中のいずれかの療法単独(単剤療法とも呼ばれる)の使用と関連する有害なまたは望まれない副作用の回避または低減で現れ得る。

40

【0194】

「併用療法」はまた、非薬物療法(例えば、手術または放射線治療)とのさらなる組み合わせにおける本発明のシグナル伝達経路(例えば、PLC/IP3/PKC/ERK)の生物学的活性および／または発現を阻害するまたは低下させる作用物質の投与を包含する。併用療法が非薬物処置をさらに含む場合、非薬物処置は、治療用化合物および非薬物処置の組み合わせの共作用からの有利な効果が達成される限り、任意の好適な時間に行われ得る。例えば、適切な場合において、非薬物処置が治療用化合物の投与から時間的に、恐らく数日またはさらには数週間、離される場合、有利な効果が依然として達成される。非薬物処置は、化

50

学療法、放射線療法、ホルモン療法、抗エストロゲン療法、遺伝子療法、および手術より選択され得る。

【0195】

本明細書に記載される方法の文脈において、対象へ投与される作用物質の量は治療有効量である。「治療有効量」という用語は、処置される疾患(例えば、vEDS)を処置する、その症状を改善する、その重症度を低下させる、またはその期間を減らす、あるいは、別の療法の治療効果を増強するもしくは向上させるために十分な、または対象における検出可能な治療効果を示すために十分な量を指す。一態様において、作用物質の治療有効量は、シグナル伝達経路(例えば、PLC/IP3/PKC/ERK)を低下させるのに有効な量である。

【0196】

複数の態様において、本明細書に記載される方法に従ってのヒドララジンおよび抗アンドロゲン剤の投与は、処置される疾患(例えば、vEDS)の症状または合併症の排除をもたらす；しかし、排除は必要ではない。一態様において、症状または合併症の重症度を減少させる。

【0197】

薬学的組成物

ある態様において、本発明は、本発明において用いられる作用物質(例えば、ERK、PKC および／またはPLCもしくはIP3の活性または発現を減少させる作用物質)を含む薬学的組成物を提供する。作用物質は、適切に製剤化され得、そのような送達について認識される任意の手段によって対象または細胞環境中へ導入され得る。

【0198】

「薬学的組成物」は、対象への投与に適した薬学的に許容される形態で、本明細書に記載される作用物質を含有する製剤である。本明細書において使用される場合、「薬学的に許容される」という句は、合理的なベネフィット／リスク比に見合った、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症のない、正しい医学的判断の範囲内で、ヒトおよび動物の組織と接触しての使用に適している、化合物、材料、組成物、担体、および／または投薬形態を指す。

【0199】

そのような組成物は、典型的に、作用物質および薬学的に許容される担体を含む。本明細書において使用される場合、言葉「薬学的に許容される担体」は、薬学的投与に適合する、食塩水、溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などを含む。補助的な活性化合物もまた組成物中へ組み入れることができる。

【0200】

本明細書において使用される場合、「薬学的に許容される塩」という用語は、例えば、本明細書に記載される作用物質の酸性基および塩基性基から、形成される塩である。説明的な塩としては、硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硝酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、重酒石酸塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ベシル酸塩、ゲンチシン酸塩 (gentisinate)、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩 (glucaronate)、糖酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、およびパモ酸塩(例えば、1,1'-メチレン-ビス-(2-ヒドロキシ-3-ナフトエート))が挙げられるが、これらに限定されない。

【0201】

薬学的組成物は、その意図される投与経路に適合するように製剤化される。投与経路の例としては、非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口(例えば、吸入)、経皮(局所)、経粘膜、および直腸投与が挙げられる。非経口、皮内、または皮下適用のために使用される溶液または懸濁液は、以下の成分を含み得る：無菌希釈剤、例えば、注射用水、食塩溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒；抗細菌剤、例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン；抗酸化剤、例え

10

20

30

40

50

ば、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウム；キレート剤、例えば、エチレンジアミン四酢酸；緩衝剤、例えば、酢酸塩、クエン酸塩、またはリン酸塩、および張度調節剤、例えば塩化ナトリウムまたはデキストロース。pHは、塩酸または水酸化ナトリウムなどの、酸または塩基により調節することができる。非経口調製物は、ガラスまたはプラスチックで製造されたアンプル、ディスポーザブル注射器または反復投与用バイアル内に封入することができる。

【0202】

注射用途に適した薬学的組成物は、無菌液剤(水溶性の場合)または分散剤、および無菌注射用液剤または分散剤の即時調製のための無菌散剤を含む。静脈内投与に関して、好適な担体は、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL(商標)(BASF, Parsippany, N.J.)またはリン酸緩衝食塩水(PBS)を含む。全ての場合において、組成物は、無菌でなければならない、かつ容易に注射器から流出される程度に流動性でなければならない。それは、製造および貯蔵条件下で安定していなければならない、かつ細菌および真菌などの微生物の汚染作用に対し保存されなければならない。担体は、例えば水、エタノール、ポリオール(例えばグリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど)、およびそれらの好適な混合物を含む、溶媒または分散媒であることができる。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用により、分散剤の場合は必要な粒子サイズの維持により、および界面活性剤の使用により、維持することができる。微生物の作用の防止は、様々な抗細菌剤および抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどにより達成することができる。多くの場合、組成物中に、等張剤、例えば糖類、マンニトール、ソルビトールなどのポリアルコール、塩化ナトリウムを含めることは好ましいと考えられる。注射用組成物の持続吸収は、吸収を遅延する作用物質、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを組成物中に含めることによりもたすことができる。

【0203】

無菌注射用液剤は、先に列記した成分の1つまたは組み合わせと共に、選択された溶媒中に活性化化合物を必要量で混入し、必要に応じて、続いて濾過滅菌することにより、調製することができる。一般に、分散剤は、基本分散媒および先に列記されたものからの必要な他の成分を含有する無菌ビヒクルへ活性化化合物を混入することにより、調製される。無菌注射用液剤の調製のための無菌散剤の場合、好ましい調製法は、活性成分に、任意の追加の所望の成分を加えた先に濾過滅菌された溶液から、それらの散剤を生じる、真空乾燥および凍結乾燥である。

【0204】

経口組成物は、一般に、不活性希釈剤または食用担体を含む。経口の治療的投与を目的として、活性化化合物は、賦形剤と共に混入し、かつ錠剤、トローチ剤、またはカプセル剤、例えば、ゼラチンカプセル剤の形で使用することができる。経口組成物は、含嗽剤として使用するための液体担体を使用し調製することもできる。薬学的に適合性の結合剤、および／または補助物質は、組成物の一部として含有することができる。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤などは、以下の成分または同様の性質の化合物のいずれかを含有することができる：微晶質セルロース、トラガカントガムまたはゼラチンなどの結合剤；デンプンまたは乳糖などの賦形剤；アルギン酸、Primogel、またはトウモロコシデンプンなどの崩壊剤；ステアリン酸マグネシウムまたはSterotesなどの滑沢剤；コロイド状二酸化ケイ素などの流動促進剤；シヨ糖またはサッカリンなどの甘味剤；または、ペパーミント、サリチル酸メチル、またはオレンジ香料などの香味剤。

【0205】

本発明の組成物はナノ粒子製剤として製剤化することもできる。本発明の化合物は、即時放出、遅延放出、調節放出、持続放出、パルス放出および／または制御放出適用のために投与することができる。本発明の薬学的組成物は、活性材料を0.01~99重量体積%含有し得る。吸入による投与に関して、化合物は、ネブライザー、または、例えば二酸化炭素のような気体の、好適な噴射剤を含んでいる加圧容器もしくはディスペンサーからのエア

ゾールスプレーの形で送達される。そのような方法としては、米国特許第6,468,798号に記載されるものが挙げられる。

【0206】

全身投与と同じく、経粘膜的または経皮的手段によることができる。経粘膜または経皮投与に関して、透過されるべき障壁に適した浸透剤が、製剤において使用される。そのような浸透剤は、当技術分野において一般に公知であり、例えば経粘膜投与に関して、界面活性剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体を含む。経粘膜投与は、鼻腔スプレーまたは坐薬の使用により実現することができる。経皮投与に関して、活性化合物は、当技術分野において一般に公知のように、軟膏、軟膏剤、ゲル剤またはクリーム剤に製剤化される。化合物は、直腸送達のための坐薬(例えば、カカオバターおよび他のグリセリドのような通常の坐薬基剤を伴う)または停留浣腸の形で調製することもできる。

10

【0207】

一態様において、活性化合物は、インプラントおよびマイクロカプセル封入された送達システムを含む、制御放出製剤のような体からの迅速排泄に対し化合物を保護する担体と共に調製される。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸などの、生分解性、生体適合性ポリマーを使用することができる。そのような製剤は、標準技法を使用して調製することができる。これらの材料は、Alza CorporationおよびNova Pharmaceuticals, Inc.から購入することもできる。リポソーム懸濁液(ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体により感染細胞を標的にするリポソームを含む)も、薬学的に許容される担体として使用することができる。これらは、例えば、米国特許第4,522,811号に記載されるように、当業者に公知の方法に従い調製することができる。

20

【0208】

そのような化合物の毒性および治療有効性は、例えば、LD₅₀(集団の50%に致死的な用量)およびED₅₀(集団の50%において治療的に有効な用量)を決定するための、細胞培養または実験動物における標準の薬学的手順により判定することができる。毒性効果と治療効果の間の用量の比は、治療指数であり、これは比LD₅₀/ED₅₀として表すことができる。大きい治療指数を示す化合物が好ましい。毒性副作用を示す化合物を使用することはできるが、非感染細胞への潜在的な損傷を最小化し、これにより副作用を軽減するために、そのような化合物の標的を罹患組織部位にする送達システムのデザインには、注意が払われるべきである。

30

【0209】

細胞培養アッセイおよび動物試験から得られるデータは、ヒトにおける使用のための投薬量範囲を処方する際に使用することができる。そのような化合物の投薬量は、ほとんどまたは全く毒性がないED₅₀を含む循環濃度範囲内であることが好ましい。投薬量は、使用される剤形および用いられる投与経路に応じて、この範囲内で変動し得る。本発明の方法において使用される任意の化合物に関して、治療有効用量は、最初に細胞培養アッセイから推定することができる。用量は、動物モデルにおいて、細胞培養において決定されたIC₅₀(すなわち、最大の半分の症状の阻害を達成する試験化合物の濃度)を含む循環血漿中濃度範囲を実現するように処方されてよい。そのような情報は、ヒトにおいて有用な用量をより正確に決定するために使用することができる。血漿中レベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーにより測定することができる。

40

【0210】

本明細書において定義される場合、作用物質の治療有効量(即ち、有効投薬量)は、選択される作用物質に依存する。例えば、およそ1 pg~1000 mgの範囲内の作用物質の単回投与量が投与され得；いくつかの態様において、10、30、100、もしくは1000 pg、または10、30、100、もしくは1000 ng、または10、30、100、もしくは1000 μg、または10、30、100、もしくは1000 mgが投与され得る。いくつかの態様において、1~5 gの組成物を投与することができる。

【0211】

50

本発明の化合物の治療有効量は、当技術分野において公知の方法によって決定することができる。選択される作用物質および／使用される薬学的製剤への依存に加えて、本発明の薬学的組成物の治療有効量は、患者の年齢および全体的な生理的状态ならびに投与経路に依存する。ある態様において、治療用量は、一般に、約10および2000 mg/日から、好ましくは約30および1500 mg/日からである。例えば、50～500 mg/日、50～300 mg/日、100～200 mg/日を含む、他の範囲も使用され得る。

【0212】

投与は、1日1回、1日2回、またはより頻繁であり得、疾患または障害の維持期中に減少させてもよい；例えば、毎日または1日2回の代わりに1日おきにまたは2日おきに1回。用量および投与頻度は、当業者に公知の急性期の少なくとも1つのまたはより好ましくは2つ以上の臨床徴候の減少または消失を伴う、寛解期の維持を確認する臨床徴候に依存する。当業者は、疾患または障害の重症度、以前の処置、対象の身体全体の健康および／または年齢、ならびに存在する他の疾患を含むがこれらに限定されない、ある因子が、対象を有効に処置するために必要とされる投薬量およびタイミングに影響を与え得ることを認識すると考えられる。さらに、作用物質の治療有効量を用いる対象の処置は、単一の処置を含み得、または、任意で、一連の処置を含み得る。

【0213】

細胞環境中へ作用物質を導入する方法は、細胞のタイプおよびその環境の構成に依存することが認識され得る。適切な量の作用物質が導入されなければならない、これらの量は、標準方法を使用して経験的に決定することができる。細胞環境中の個々の作用物質の例示的な有効濃度は、500ミリモル濃度もしくはそれ未満、50ミリモル濃度もしくはそれ未満、10ミリモル濃度もしくはそれ未満、1ミリモル濃度もしくはそれ未満、500ナノモル濃度もしくはそれ未満、50ナノモル濃度もしくはそれ未満、10ナノモル濃度もしくはそれ未満であり得るか、または、1ナノモル濃度もしくはそれ未満の濃度である組成物でさえも使用することができる。

【0214】

薬学的組成物は、投与説明書と一緒に、キット、容器、パック、またはディスペンサー中に含まれ得る。

【実施例】

【0215】

以下の実施例は、本発明のアッセイ、スクリーニング、および治療方法を作成および使用する方法の完全な開示および説明を当業者に提供するために示され、本発明者らが本発明と見なすものの範囲を限定するようには意図されない。

【0216】

実施例1：ノックイングリシン置換vEDSマウスの作製

新規のノックイングリシン置換(Col3a1 G209S/+およびCol3a1 G938D/+)vEDSマウスを、CRISPR/Cas9を使用して作った。マウスモデルはヒト血管表現型を再現し、血管壁の最終的な不全についての分子基盤が、疾患表現型に対する環境影響の利用を通して、明らかにされた。

【0217】

各突然変異を導入するために、意図される突然変異部位に隣接するDNA領域を標的とするよう3つのガイドRNA (tracrRNA + crRNA)を設計した。標的領域の上流および下流に相同配列、ならびに意図される突然変異を含んだ、DNAオリゴ修復テンプレート(ssDNAオリゴ)も設計した。RNアーゼフリーインジェクションバッファー中に希釈されたCas9タンパク質、tracrRNA、crRNA、およびssDNAオリゴのミックスを使用して、標準マイクロインジェクション技術を使用してJHU Transgenic Coreによって、1細胞C57BL/6J胚の前核注入が行われた。注入された胚を、確立された技術を使用して偽妊娠したICR雌の卵管中へ移した。突然変異の導入を確認するためにその部位のサンガーシーケンシングを用い、オフターゲット効果を排除するために少なくとも4世代についてマウスを戻し交配した。G209Sマウスについて、導入された突然変異は、ヒトにおいてはp.Gly210Serに対

10

20

30

40

50

応する、c.625_626GG> TCであった。G938Dマウスについて、導入された突然変異は、ヒトにおいてはp.Gly939Serに対応する、c.2813G> Aであった。野生型ヒトCol3a1 mRNA NCBIアクセッション番号: NM_000090.3 ; 野生型マウスCol3a1 mRNA NCBIアクセッション番号: NM_009930.2。

【0218】

実施例2: Col3a1 G209S/+およびCol3a1 G938D/+マウスモデルはvEDS表現型を再現した

Col3a1 G209S/+およびCol3a1 G938D/+マウスモデルは両方ともvEDS表現型を再現した。vEDSを有するマウスは、大動脈破裂、大動脈解離または臓器破裂に起因して突然死し、ほとんどの場合、検死時に血胸または腹腔内出血を示した。Col3a1 G938D/+突然変異を有するマウスはより重篤な表現型を示す(生存期間中央値 = Col3a1 G209S/+モデルについての400日間に対して45日間、 $p < 0.0001$ 、図1A~1C)。図1Aは、G209S/+マウスモデルがvEDS表現型を再現し、生存期間中央値が400日間であったことを実証するグラフである; $p < 0.0001$ 。図1Bにおいて、G938D/+マウスモデルの生存が示され、vEDSを再現し、生存期間中央値は45日間であった; $p < 0.0001$ 。

【0219】

いずれのマウスモデルにおいても、心エコー検査による大動脈根動脈瘤の証拠は観察されなかった。

【0220】

実施例3: シグナル伝達異常はvEDSにおける疾患病態のメディエーターであった

シグナル伝達異常はvEDSにおける疾患病態の主なメディエーターであり得ると仮定した。この仮説を試験するために、近位下行大動脈がこのモデルにおいて大動脈解離の最も一般的な場所であることを考慮して、RNA-seqを3匹のCol3a1 G209S/+マウス、3匹のCol3a1 G938D/+マウス、および3匹のCol3a1 +/+ (野生型)マウスの近位下行胸部大動脈に対して行った。最も差次的に発現した遺伝子を使用して($FDR < 0.10$)、教師なし階層的クラスタリングを行った。vEDSサンプルが対照とは別個にクラスター化し(図1D)、これは、vEDS大動脈のトランスクリプトームにおける有意差を示す。

【0221】

ネットワーク解析は、vEDS大動脈が、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ(MAPK)活性の上昇についての遺伝子発現シグネチャー[P38、JNK、AKT、ERK、ERK1/2]を示したことを示した(図1E)。

【0222】

さらに、上流解析は、vEDS大動脈中の転写差異は、関連のPLC/IP3/PKC/ERK軸を通してシグナル伝達する、Gタンパク質共役受容体(GPCR)活性化によって駆動されたことを予測した(図1F)。

【0223】

GPCRおよびMAPKシグナリングの上昇についてのシグネチャーが、この経路を通しての活性シグナリングのマーカーについてのイムノブロッティングによって確認され、ERK1/2リン酸化およびPKCリン酸化が、vEDS大動脈中において有意により高いことが分かった(図1G)。

【0224】

マルファン症候群(MFS)またはロイス・ディーツ症候群(LDS)とは対照的に、vEDS大動脈の発現プロファイリングは、高いTGF β シグナル伝達に典型的な合成レパートリーを示さず、しかし、増加したERK活性化(MFSおよびLDSと同様)の証拠が観察された。小規模なヒト研究は、 β 遮断薬セリプロロールが、vEDSを有する患者において有害事象を遅らせる可能性を有することを示唆し、一方、ロサルタンのようなアンギオテンシン受容体遮断薬は、MFSまたはLDSのマウスモデルにおいて劇的な保護を与える。

【0225】

さらに、ロサルタン処置vEDSマウスにおける解離または死亡からの保護の証拠はなく、一方、セリプロロールは、両方のvEDSモデルにおいて解離および死亡の有意な加速と関連

10

20

30

40

50

し；両方の薬物が、血行力学的ストレスの予測される低下を達成した。初期データは、PLC/IP3/PKC/ERK軸を阻害するヒドララジンがvEDSマウスにおいていくらかの保護を与えることを示す一方、これらのデータは、予想外の治療戦略を明らかにするための発見ベースの方法についての必要性を強調する。

【0226】

表現型重症度の調節について評価するために、vEDS突然変異を純系の129およびBL6バックグラウンド上へ導入した。両方の突然変異が、BL6バックグラウンド上の大動脈解離に起因して早期死亡と関連する。極めて顕著なことに、129バックグラウンドは、完全に正常な寿命を伴って、両方のvEDS遺伝子型について解離からの完全な保護をもたらす。レスキューは、大動脈壁についての遺伝子発現プロファイルの正常化と関連する。これらのデータは、薬理学的作用物質を使用して自然の首尾よい戦略を模倣する希望および意図を伴って、vEDSマウスにおける改変の源および機構を特定するために遺伝学的研究を行うための論理的根拠および動機を提供する。

【0227】

実施例4：PLC/IP3/PKC/ERK軸の薬理学的阻害はvEDSマウスにおける大動脈破裂のリスクを減少させた

PLC/IP3/PKC/ERK軸の活性化はMFSにおいて病原性であることが示されたため⁷、この軸の薬理学的阻害はvEDSマウスにおける大動脈破裂のリスクを減少させると仮定した。

【0228】

薬理学的ERKアンタゴニストは生存を増加させた

薬理学的ERKアンタゴニストを、vEDSの病因におけるERK活性化の役割を支持するために、およびvEDSについての治療戦略を特定するための方法として、試験した。ERKを活性化するキナーゼ、MEKのFDAに承認された阻害物質である⁸、コビメチニブ[GDC-0973, R05514041] (2 mg/kg/日)で、マウスを処置した。ERK活性化が疾患リスクを真に駆動しているならば、ERK阻害は大動脈解離からの死亡リスクをレスキューすると仮定した。

【0229】

この仮説に沿って、処置無しでの僅か55%の生存率と比較して、94%の生存率が処置の45日後に観察された(図2A)。

【0230】

薬理学的PKC阻害は生存を増加させた

次に、PKC活性化を阻害する作用物質を試験するためにさらなる研究を行った。PKC β を特異的に阻害する十分に許容される経口投与される薬理学的作用物質である⁹、ルボキシスタウリン[LY 333531] (10mg/kg/日)で、マウスを処置した。ERK活性化およびそれによる疾患リスクがPLC/IP3/PKC活性化によって駆動されるならば、薬理学的PKC阻害物質もまた大動脈解離から死亡リスクをレスキューすると仮定した。

【0231】

この仮説に沿って、処置無しでの僅か55%の生存率と比較して、100%の生存率が処置の39日後に観察された(図2B)。

【0232】

PLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達カスケードを阻害する作用物質は生存を増加させた

このシグナル伝達カスケードを阻害する他の医薬を試験するために、さらなる研究を行った。PLC/IP3/PKC/ERK軸を遮断するヒドララジン(32mg/kg/d)の投与によって、マウスを処置し、この医薬は同じ経路を標的としそれによって同様の保護を与えると仮定した¹⁰。未処置vEDSマウスについての生存期間中央値である、45日齢で98%の生存率である顕著な保護が観察された(図2C)。

【0233】

生存が思春期で影響された一方、このリスクはほぼ例外なく雄性マウスにおいて見られ、従って、アンドロゲン拮抗薬での処置がこれらのマウスにとって有利であり得る。さらに、ヒドララジンの用量は、このマウスモデルにおけるこの経路を完全に阻害するためには不十分であり得、より高い用量のヒドララジンが有利であると判明し得る。

10

20

30

40

50

【0234】

マウスをヒドララジンおよびアンドロゲン拮抗薬の併用療法で処置する。

【0235】

さらに、マウスをより高い用量のヒドララジンで処置する。

【0236】

これらの結果は、大動脈中における過剰なPLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達の阻害が、vEDSのマウスモデル中における大動脈解離に起因する死亡リスクをレスキューすることを示唆する。

【0237】

実施例5：オキシトシン誘発ERKシグナル伝達はPLC/IP3/PKC/ERK軸を活性化しかつ大動脈解離のリスクを悪化させた

血管型エーラース・ダンロス症候群(vEDS)を有する患者は、中動脈から大動脈の解離を経験する。vEDSの多くの特徴は、過剰なTGF β 活性と関連付けられた、マルファン症候群(MFS)およびロイス・ディーツ症候群(LDS)のような、他の遺伝性血管症とは明らかに異なる。これらは、事前の血管拡張を伴わない解離および大動脈根の関与についての特定の素因を含まない。vEDSを有する患者中の血管破裂は、予測または予防するのが困難である。妊娠は解離のリスクを特に増加させ、妊娠の50%超において合併症が生じ、妊娠の約12~25%において死が生じる。血管解離の顕著な分娩後発生は、血行力学的ストレスを著しく引き起こす機構と一致しない。代わりに、子宮収縮を開始し、分娩後、泌乳の間維持されるホルモンである、オキシトシンが妊娠関連リスクに寄与し得ると仮定した。オキシトシン受容体の発現は、妊娠中、大動脈中において誘導され、このホルモンは、MFSおよびLDSの病因に以前関与したシグナル伝達カスケードである、ERKの活性化を通して末梢組織を刺激する。

【0238】

以前、妊娠関連大動脈解離は、MFSマウス大動脈中における泌乳関連オキシトシン放出およびオキシトシン誘発ERKシグナル伝達によって大いに駆動されることが示された¹¹。従って、PLC/IP3/PKC/ERK軸の活性化が大動脈解離のリスクを悪化させるかどうかを試験するための方法として、オキシトシン誘発ERKシグナル伝達を使用した。

【0239】

vEDSマウスモデルにおいて、妊娠および泌乳が、vEDSマウスにおいて分娩後の最初の30日における動脈解離に起因して、60%の致死率と関連したことが特定された(図3A)。また、出産後の仔の除去による泌乳の防止がvEDSマウスにおいて解離および死を予防することができた(100%の生存率、図3B)。さらに、ほぼ完全な生存(95%)が、オキシトシンによって活性化されるPLC/IP3/PKC/ERK軸を遮断するヒドララジン(16 mg/kg/日)での処置で達成された(図3C)。同様の保護(95%の生存率)が、ERKを活性化するキナーゼである、MEKのFDAに承認された阻害物質である、トラメチニブ[GSK-1120212] (1 mg/kg/日)での処置で観察された(図3D)。

【0240】

イムノブロットングおよびERK標的遺伝子発現(図3Eおよび図3F)によって測定されたように、この増加した死亡リスクはERK活性化の増加と相関し、一方、大動脈解離からの保護はERK活性化の減少と相関した。このデータは、PLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路の活性化を増加させることが、vEDSマウスモデルにおいて大動脈解離に起因する有意に上昇した死亡リスクをもたらす、そしてさらに、PLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路を阻害することが、このリスクを改善したことをさらに支持する。

【0241】

実施例6：血管型エーラース・ダンロス症候群および関連障害を処置するための組成物および方法

薬理学的MEK/ERKアンタゴニストおよびPKCアンタゴニストの両方の使用が、大動脈解離からの死亡リスクをレスキューし、これは、PKC依存性ERK活性化がvEDSにおける大動脈疾患の重要な要素であること、および、このシグナル伝達経路を標的とすることが、v

10

20

30

40

50

EDSマウスモデルにおいて大動脈疾患を低下させる際に有利であることを実証している。

【0242】

ここで、第2の特異的PKC β 阻害物質、エンザスタウリン(60 mg/kg/d)を使用し得るPKC β の薬理的阻害もまた、大動脈解離からの死亡リスクをレスキューしたことが実証され、未処置vEDSマウスの僅か50%と比較して、エンザスタウリン処置vEDSマウスの80%が処置の40日後に生存していた($p=0.0305$ 、図16A)。これは、PKC β リン酸化が、vEDSマウスにおける大動脈疾患の重要な要素であるというさらなる証拠を提供する。

【0243】

PLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路の活性化がvEDSにおいて病原性であったと本明細書において同定されたため、この異常なシグナル伝達経路を活性化し得る受容体のアイデンティティを調べた。この経路を通してのGPCR(Gq)シグナル - 大動脈中の一般的なGq受容体は、アンジオテンシンII受容体、トロンビン受容体、エンドセリン-1受容体、バソプレッシン受容体1、スフィンゴシン-1-リン酸受容体、 α -1アドレナリン作動性受容体、およびセロトニン受容体を含む。しかし、大動脈中に同様に発現する、コラーゲン3と相互作用する3,4ことが示されたGPR56のような、オーファンGPCRも存在する。

【0244】

理論によって拘束されることを望まないが、異常に活性化されている受容体を阻害すると、どのようにシグナル伝達経路が活性化されているかを正確に同定することができると仮定した。さらに、経口で生物学的に利用可能な非特異的エンドセリン受容体拮抗薬である、ボセンタン(100 mg/kg/d)でマウスを処置した。ボセンタンでの処置は、未処置vEDSマウスにおける僅か50%の生存率と比較して、処置の40日後に80%の生存率をもたらした($p=0.0298$ 、図16B)。これは、エンドセリン受容体シグナル伝達がvEDS病因に寄与することを示唆している。

【0245】

薬理的MEK/ERKアンタゴニストおよびPKCアンタゴニストの両方の使用が、大動脈解離からの死亡リスクをレスキューし、これは、PKC依存性ERK活性化がvEDSにおける大動脈疾患の重要な要素であること、および、このシグナル伝達経路を標的とすることが、vEDSマウスモデルにおいて大動脈疾患を低下させる際に有利であることを実証している。次に、このシグナル伝達経路が、vEDSを有するヒト患者からの血管組織サンプル中において上昇しているという証拠を特定しようとした。PKCリン酸化(図17)ならびにERK1/2リン酸化(図18)の両方が、vEDSを有する患者からの2つの組織サンプル(腸骨動脈および下行胸部大動脈)中において同定された。これらのリン酸化タンパク質のいずれも、vEDSを有さない人の上行大動脈から採取された組織サンプル中において見られなかった。

【0246】

結論

まとめると、結果は、vEDSの病因に寄与するターゲティング可能なシグナル伝達異常についての最初の証拠を提供する。これらのデータは、増加したPLC/IP3/PKCシグナル伝達は、増加したMAPK/ERK活性化を駆動しており、これは、次に、vEDSマウスモデルにおいて大動脈解離に起因する死亡リスクを増加させるという仮説を支持している。

【0247】

ERKのアクチベーター、MEKの薬理的阻害、またはPKCの薬理的阻害、またはPLC/IP3/PKC/ERK軸の薬理的阻害を通してのERK活性化の阻害は、大動脈解離からの死をレスキューするために十分であることが示された。この経路を阻害する作用物質は、血管型エーラース・ダンロス症候群および潜在的に他の結合組織障害について治療的利益を提供する。

【0248】

さらに、PLC/IP3/PKC/ERKアクチベーターは、vEDS大動脈中において同等のアップレギュレーションを示し得、これは、RNA-Seqプロファイルから現れる候補の解析を通して試験される。

【0249】

参考文献

1. Pepin M, Schwarze U, Superti-Furga A, Byers PH. Clinical and Genetic Features of Ehlers–Danlos Syndrome Type IV, the Vascular Type. *N Engl J Med*. 2000;342(10):673-680. doi:10.1056/NEJM200003093421001.
2. Pepin MG, Schwarze U, Rice KM, Liu M, Leistriz Dru, Byers PH. Survival is affected by mutation type and molecular mechanism in vascular Ehlers-Danlos syndrome (EDS type IV). *Genet Med*. 2014;16(12):881-888. doi:10.1038/gim.2014.72.
3. Habashi JP, Judge DP, Holm TM, *et al*. Losartan, an AT1 Antagonist, Prevents Aortic Aneurysm in a Mouse Model of Marfan Syndrome. *Science* (80-). 2006;312(5770):117-121. doi:10.1126/science.1124287. 10
4. Holm TM, Habashi JP, Doyle JJ, *et al*. Noncanonical TGF β signaling contributes to aortic aneurysm progression in Marfan syndrome mice. *Science*. 2011;332(6027):358-361. doi:10.1126/science.1192149.
5. Habashi JP, Doyle JJ, Holm TM, *et al*. Angiotensin II Type 2 Receptor Signaling Attenuates Aortic Aneurysm in Mice Through ERK Antagonism. *Science* (80-). 2011;332(6027):361-365. doi:10.1126/science.1192152. 20
6. Judge DP, Biery NJ, Keene DR, *et al*. Evidence for a critical contribution of haploinsufficiency in the complex pathogenesis of Marfan syndrome. *J Clin Invest*. 2004;114(2). doi:10.1172/JCI200420641.
7. Doyle JJ, Doyle AJ, Wilson NK, *et al*. A deleterious gene-by-environment interaction imposed by calcium channel blockers in Marfan syndrome. *Elife*. 2015;4. doi:10.7554/eLife.08648.
8. Larkin J, Ascierto PA, Dréno B, *et al*. Combined Vemurafenib and Cobimetinib in BRAF-Mutated Melanoma. *N Engl J Med*. 2014;371(20):1867-1876. doi:10.1056/NEJMoa1408868. 30
9. PKC-DRS2 Group L, Aiello LP, Davis MD, *et al*. Effect of ruboxistaurin on visual loss in patients with diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 2006;113(12):2221-2230. doi:10.1016/j.opthta.2006.07.032.
10. Gurney AM, Allam M. Inhibition of calcium release from the sarcoplasmic reticulum of rabbit aorta by hydralazine. *Br J Pharmacol*. 1995;114(1):238-244. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7712024>. Accessed September 24, 2018.
11. Habashi JP, Gallo EM, Bagirzadeh R, *et al*. Oxytocin Antagonism Prevents Pregnancy-Associated Aortic Dissection in a Mouse Model of Marfan Syndrome.; 2018. 40

【 0 2 5 0 】

実施例7：アンドロゲンは大動脈解離リスクおよびヒドララジンとの併用療法において重要な役割を有した

PKC β の薬理的阻害は、大動脈ライゼートのイムノブロットによって評価されたように、大動脈壁中におけるPKCの自己リン酸化ならびにERKのリン酸化を防止した(図4A~4C)。MEKの薬理的阻害は、MEKの下流基質である、ERKのリン酸化の予想された減少と相関しただけでなく、奇妙なことに、PKCリン酸化も減少させ、これは、正のフィードバックループの存在を示唆している(図1、*p < 0.05、**p < 0.01、***p < 0.001)。コビメ

チニブもルボキシスタウリンも血圧に対して効果を有さなかった。

【0251】

vEDSの処置のためのヒドララジンおよびビカルタミドの併用療法

PLC/IP3/PKC/ERK軸を遮断する、ヒドララジン(32mg/kg/d)でのマウスの処置は、顕著な保護である、未処置vEDSマウスについての生存期間中央値である、45日齢で98%の生存率を与える。生存が思春期で影響された一方、このリスクはほぼ例外なく雄性マウスにおいて見られ(図2Aおよび2B)、従って、アンドロゲン拮抗薬での処置がこれらのマウスにとって有利であり得ると仮定した。実際に、ヒドララジン(32mg/kg/d)とビカルタミド(50mg/kg/d)との組み合わせは、ヒドララジン単独処置雄性マウスにおける僅か24%の生存率と比較して、雄性マウスにおいて90%の生存率をもたらす(図6)。

10

【0252】

奇妙なことに、ビカルタミドを思春期後に(生後90日で)除去した場合、雄性マウスは、ヒドララジンに留まりながら同じ割合で生存し続け(図6)、これは、このマウスモデルにおいてアンドロゲン感受性についての時間依存性があったことを示唆している。有益に、ビカルタミド単独で処置された雄性マウスは、約80%の中等度生存に至り、雄が、思春期後にビカルタミドを除去した後に生存し続けず(図7)、これは、アンドロゲンシグナル伝達単独の阻害は、vEDSのマウスモデルにおいて大動脈疾患を予防するには十分でなかったことを示唆している。

【0253】

vEDSの処置のためのヒドララジンおよびスピロノラク톤の併用療法

20

アンドロゲンは本発明者らのvEDSマウスモデル中の大動脈解離リスクにおいて重要な役割を果たすというこれらの新しい観察および理解は、ヒドララジンと組み合わせての別のFDAに承認された医薬の試験に至った。スピロノラク톤は、副作用として直接的アンドロゲン拮抗作用を有する、FDAに承認された利尿薬である。スピロノラク톤は、ざ瘡、多毛症、および他のアンドロゲン依存性障害を特異的に処置するために適応外使用される¹。スピロノラク톤もまた、この障害において直接的アンドロゲン拮抗薬として同様に使用され得ると仮定した。

【0254】

マウスをスピロノラク톤単独(100mg/kg/d)(図8A)で処置し、ビカルタミド単独と同様に、約80%の中等度生存が観察された。しかし、スピロノラク톤(100mg/kg/d)およびヒドララジン(32mg/kg/d)の組み合わせは、ヒドララジンおよびビカルタミドの組み合わせと同様に、処置の50日後に100%の生存率をもたらす(図8B)。

30

【0255】

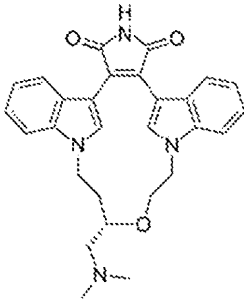
vEDSの処置のためのヒドララジンおよびルボキシスタウリンの併用療法

例において、ヒドララジンおよびルボキシスタウリンの投与を含む併用療法が企図される。ルボキシスタウリンは、プロテインキナーゼC-β(PKC-β)阻害物質であり、糖尿病黄斑浮腫および他の糖尿病性血管障害、例えば、糖尿病性網膜症、糖尿病性末梢神経障害および糖尿病性腎症についての療法としての可能性を有するEli Lillyによって開発中の大環状ビスインドリルマレイミド化合物である。追加のルボキシスタウリン命名は、Arxxant(提案されている商標名)、IUPAC: (9S)-9-[(ジメチルアミノ)メチル]-6,7,10,11-テトラヒドロ-9H,18H-5,21:12,17-ジ(メテノ)ジベンゾ[e,k]ピロロ[3,4-h][1,4,13]オキサジアザシクロヘキサデシン-18,20-ジオン、およびCAS番号: 169939-94-0を含む。

40

【0256】

ルボキシスタウリンの構造を以下に提供する。



【0257】

10

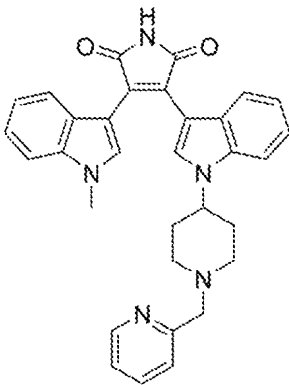
vEDSの処置のためのヒドララジンおよびエンザスタウリンの併用療法

例において、ヒドララジンおよびエンザスタウリンの投与を含む併用療法が企図される。エンザスタウリンは、潜在的な抗新生物活性を有する合成ビスインドリルマレイミドである。ATP結合部位へ結合して、エンザスタウリンは、血管内皮増殖因子(VEGF)刺激血管新生の誘導に関与する酵素である、プロテインキナーゼC β (PKC- β)を選択的に阻害する。この作用物質は、腫瘍血液供給を減少させ、増殖を防止し得る。追加のエンザスタウリン命名は、LY-317615、IUPAC: 3-(1-メチルインドール-3-イル)-4-[1-[1-(ピリジン-2-イルメチル)ピペリジン-4-イル]インドール-3-イル]ピロール-2,5-ジオン、およびCAS番号: 170364-57を含む。

【0258】

20

エンザスタウリンの構造を以下に提供する。



30

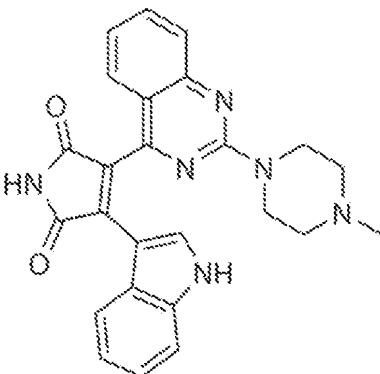
【0259】

vEDSの処置のためのヒドララジンおよびソトラスタウリンの併用療法

例において、ヒドララジンおよびソトラスタウリン (sotrastuarin) の投与を含む併用療法が企図される。ソトラスタウリン(EAB071)は、プロテインキナーゼC阻害を通してT-リンパ球活性化を遮断する治験中の免疫抑制薬である。

【0260】

ソトラスタウリンの構造を以下に提供する。



40

50

【0261】

vEDSの処置のためのヒドララジンおよび抗アンドロゲン薬の併用療法

ヒドララジンおよび異なる抗アンドロゲン薬の追加の組み合わせを試験する。例えば、ヒドララジンならびにステロイド性抗アンドロゲン薬(酢酸シプロテロン、酢酸メゲストロール、酢酸クロルマジノン、オキシメドロンおよび酢酸オサテロン)を含むアンドロゲン受容体拮抗薬が企図される。さらに、フルタミド、ニルタミド、トピルタミド、エンザルタミド、ドロスピレノンまたはメドロゲストンのような非ステロイド性抗アンドロゲン薬と組み合わせてのヒドララジンが企図される。

【0262】

他の例において、ヒドララジンおよびアンドロゲン合成阻害物質または抗ゴナドトロピンを含む併用療法が企図される。例示的なアンドロゲン合成阻害物質としては、ケトコナゾール、酢酸アビラテロン、セビテロネル、アミノグルテチミド、フィナステリド、デュタステリド、エプリステリド、およびアルファトラジオールが挙げられる。例示的な抗ゴナドトロピンとしては、リュープロレリンおよびセトロレリクスが挙げられる。他の企図される抗アンドロゲン薬としては、エチニルエストラジオールおよびジエチルスチルベストロールが挙げられる。

【0263】

増加用量のヒドララジン

さらに、ヒドララジンの用量は、このマウスモデルにおけるこの経路を完全に阻害するためには不十分であり得、より高い用量のヒドララジンが有利であると判明し得る。従って、これらのマウスを、より高い用量のヒドララジンで処置し、増加用量のヒドララジン(50mg/kg/d)は、32mg/kg/d用量が改善したよりも生存を改善しなかったことが分かった(図9)。

【0264】

実施例8：オキシトシン誘発シグナル伝達

オキシトシン誘発ERKシグナル伝達を、PLC/IP3/PKC/ERK軸の活性化が大動脈解離のリスクを悪化させるという仮説を試験するための方法として使用した。本明細書に記載されるvEDSマウスモデルにおいて、妊娠および泌乳は、vEDSマウスにおいて分娩後の最初の30日における動脈解離に起因する60%の致死率と関連することが分かり、出産後の仔の除去による泌乳の防止、ヒドララジン(16mg/kg/d)での処置、またはトラメチニブでの処置が、vEDSマウスにおいて解離および死を予防することができた。イムノブロットイングおよびERK標的遺伝子発現によって測定されたように、この増加した死亡リスクは、ERK活性化の増加と相関し、一方、大動脈解離からの保護はERK活性化の減少と相関した。

【0265】

特異的オキシトシン受容体拮抗薬²でのマウスの処置を追加し(使用した選択的オキシトシン受容体拮抗薬はdes Gly-NH₂,d(CH₂)₅[D-Tyr₂,Thr₄]OVTであった)、これは、依然として泌乳中であったvEDSマウスにおいて分娩後の最初の30日における95%の生存率をもたらし、これは、妊娠での大動脈解離に起因する有意に上昇した死亡リスクが、授乳中のオキシトシン受容体の活性化によって特異的に駆動されたことを実証している(図10Aおよび10B)。

【0266】

さらに、この集団における標準治療であり、かつ、PLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達に影響を与えることなく血圧を下げる、プロプラノロール(図10B)での処置は、この妊娠/授乳モデルにおいて生存に影響を与えなかった(分娩後の30日後において46%の生存率対50%の生存率)ことが実証された。このデータは、PLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路の活性化を増加させることが、本発明者らのvEDSマウスモデルにおいて大動脈解離に起因する有意に上昇した死亡リスクをもたらし、そしてさらに、PLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路を阻害することが、このリスクを改善したことをさらに支持する。

【0267】

GPCRはPLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路を活性化した

10

20

30

40

50

PLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路の活性化がvEDSにおいて病原性であったと同定されたため、この異常なシグナル伝達経路を活性化し得る受容体を同定した。この経路を通してのGPCR(Gq)シグナル - 大動脈中の一般的なGq受容体は、アンギオテンシンII受容体、トロンビン受容体、エンドセリン-1受容体、バソプレッシン受容体1、スフィンゴシン-1-リン酸受容体、 α -1アドレナリン作動性受容体、およびセロトニン受容体を含む。しかし、大動脈中に同様に発現する、コラーゲン3と相互作用する^{3,4}ことが示されたGPR56のような、オーファンGPCRも存在する。

【0268】

受容体の活性が阻害される場合、どのようにシグナル伝達経路が活性化され得るかが同定されると仮定した。アンギオテンシン-IIシグナル伝達を、アンギオテンシン受容体拮抗薬、ロサルタン(60mg/kg/d)でマウスを処置することによって最初に阻害し(図11A)、しかし、それは生存に対して影響を有さなかったことが分かった。次に、マウスをトロンビン受容体拮抗薬、ボラプラキサール(1mg/kg/d)で処置し、しかし、それもまた生存に対して影響を有さなかったことが分かった(図11B)。

【0269】

追加の特異的Gq受容体阻害物質を試験する。試験される例示的なGq受容体阻害物質としては、エンドセリン-1受容体、バソプレッシン受容体1、スフィンゴシン-1-リン酸受容体、 α -1アドレナリン作動性受容体、セロトニン受容体、およびオーファンGPCR、例えばGPR56が挙げられる。

【0270】

チロシンキナーゼ受容体およびPLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路

PLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路はまた、大動脈中に発現するチロシンキナーゼ受容体によってトランス活性化され得る。これらはEGFR、VEGFR、FGFR、およびPDGFRを含む。チロシンキナーゼ受容体は異常に活性化されており、PLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路の上昇をもたらすという仮説を試験するために、非特異的チロシンキナーゼ受容体拮抗薬、ニンテダニブ(50mg/kg/d)で処置し(treated were treated)、しかし、それもまた生存に対して影響を有さなかったことが分かった(図12)。これは、チロシンキナーゼ受容体活性化は、vEDSマウスにおいてPLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達経路の活性化を駆動していなかったことを示唆した。

【0271】

β アドレナリン作動性受容体遮断薬および大動脈破裂のリスク

他の人たちは、vEDS表現型は慢性的に「弱い」組織の結果であることを提案した⁵⁻⁸。従って、 β アドレナリン作動性受容体遮断薬で血圧を減少させることは、これらの患者において大動脈破裂のリスクを減少させるはずであることを提案する。この仮説に取り組むために、非特異的 β アンタゴニスト、プロプラノロール(80mg/kg/d)、特異的 β 1アンタゴニスト、アテノロール(120mg/kg/d)、および β 1アンタゴニスト/ β 2アゴニスト、セリプロロール(200mg/kg/d)をマウスに使用したが、これらの操作はいずれも、血圧の減少にもかかわらず、本発明者らのvEDSマウスモデルにおいて生存の改善をもたらさないことが分かった(図13A~13C)。セリプロロールはマウスモデルにおいて大動脈解離をさらに加速させ、Col3a1^{G209S/+}突然変異を有するvEDS突然変異もまた、セリプロロールにおける大動脈解離の増加したリスクを実証した(図14)。これは全ての β アンタゴニストに共通しなかったため、この観察は、セリプロロールの β 2アゴニズム活性によって駆動され得た。

【0272】

別の機構によって血圧を下げる、カルシウムチャネル遮断薬もまた試験した。アムロジピン(12mg/kg/d)もまたマウスモデルにおいて大動脈解離のリスクを増加させ、これは同様にMFS(マルファン症候群)マウスと一致することが示された⁹(図15)。

【0273】

実施例9：プロテインキナーゼC- β (PKC- β)阻害物質を用いたマルファン症候群の処置

例において、異なるPKC- β 阻害物質をマルファン症候群の処置のために使用する。例え

10

20

30

40

50

ば、マルファン症候群の処置はルボキシスタウリンの投与を含み得る。ここで、ルボキシスタウリン(10 mg/kg/d)を使用してのPKC β の薬理的阻害が、マルファン症候群マウスにおいて大動脈根成長をレスキューしたことが実証される(p=2E-4、図19)。他の例において、マルファン症候群の処置は、エンザスタウリンまたはソトラスタウリンの投与を含む。

【0274】

vEDSの処置のためのヒドララジンおよび抗アンドロゲン薬の併用療法

ヒドララジンおよび異なる抗アンドロゲン薬の追加の組み合わせを試験する。例えば、ヒドララジンならびにステロイド性抗アンドロゲン薬(酢酸シプロテロン、酢酸メゲストロール、酢酸クロルマジノン、オキシンドロンおよび酢酸オサテロン)を含むアンドロゲン受容体拮抗薬が企図される。さらに、フルタミド、ニルタミド、トピルタミド、エンザルタミド、ドロスピレノンまたはメドロゲストンのような非ステロイド性抗アンドロゲン薬と組み合わせてのヒドララジンが企図される。

【0275】

他の例において、ヒドララジンおよびアンドロゲン合成阻害物質または抗ゴナドトロピンを含む併用療法が企図される。例示的なアンドロゲン合成阻害物質としては、ケトコナゾール、酢酸アビラテロン、セビテロネル、アミノグルテチミド、フィナステリド、デュタステリド、エプリステリド、およびアルファトラジオールが挙げられる。例示的な抗ゴナドトロピンとしては、リュープロレリンおよびセトロレリクスが挙げられる。他の企図される抗アンドロゲン薬としては、エチニルエストラジオールおよびジエチルスチルベストロールが挙げられる。

【0276】

実施例10：薬理的阻害はvEDSマウスにおける生存を増加させる

エンザスタウリンによる薬理的PKC阻害はvEDSマウスにおける生存を増加させる

Col3a1 G209S/+およびCol3a1 G938D/+マウスモデルは両方ともvEDS表現型を再現し、vEDSの処置についての作用物質を試験するために使用される。十分に許容される経口投与される作用物質、エンザスタウリンによって約30 mg/kg/日でマウスを処置する。ATP結合部位へ結合することによって、エンザスタウリンは、プロテインキナーゼC β (PKC- β)を選択的に阻害し、従って、薬理的PKC阻害物質は大動脈解離からの死亡リスクをレスキューすると仮定する。約100%の生存率が、処置無しのマウスにおける有意に減少した生存率と比較して、処置の約30日(1カ月)後に観察される(例えば、対照マウスと比較して統計的有意差)。

【0277】

マウスをまた少なくとも約45日間処置し、対照マウスに対するエンザスタウリン処置マウスの生存率を評価する。

【0278】

マウスをまた、より高い用量のエンザスタウリン、例えば、約40mg/kg/日、50mg/kg/日、または100mg/kg/日で処置する。他の例において、マウスをエンザスタウリンで1日1回または1日2回処置する。

【0279】

これらの結果は、大動脈中におけるエンザスタウリンでの過剰なPLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達の阻害が、vEDSのマウスモデル中における大動脈解離に起因する死亡リスクをレスキューすることを示唆している。

【0280】

ソトラスタウリンによる薬理的PKC阻害はvEDSマウスにおける生存を増加させる

本明細書に記載されるマウスモデル(例えば、Col3a1 G209S/+およびCol3a1 G938D/+マウスモデル)を使用しての追加の研究が、vEDSの処置のための追加の作用物質について試験するために使用される。十分に許容される経口投与される作用物質、ソトラスタウリンによって約30 mg/kg/日で処置されたマウスを評価する。ソトラスタウリン(AEB071)は、プロテインキナーゼC阻害を通してT-リンパ球活性化を遮断する免疫抑制薬である

。エンザスタウリンと同様に、PKC阻害物質(例えば、ソトラスタウリン)もまた、大動脈解離からの死亡リスクをレスキューすると仮定する。約100%の生存率が、処置無しのマウスにおける有意に減少した生存率と比較して、処置の約30日(1カ月)後に観察される(例えば、対照マウスと比較して統計的有意差)。マウスをまた少なくとも約45日間処置し、対照マウスに対するソトラスタウリン処置マウスの生存率を評価する。

【0281】

マウスをまた、より高い用量のソトラスタウリン、例えば、約40mg/kg/日、50mg/kg/日、または100mg/kg/日で処置する。他の例において、マウスをソトラスタウリンで1日1回または1日2回処置する。

【0282】

これらの結果は、大動脈中におけるソトラスタウリンでの過剰なPLC/IP3/PKC/ERKシグナル伝達の阻害が、vEDSのマウスモデル中における大動脈解離に起因する死亡リスクをレスキューするという証拠を提供する。

【0283】

参考文献

1. Zaenglein AL. Acne Vulgaris. Solomon CG, ed. *N Engl J Med*. 2018;379(14):1343-1352.
2. Manning M, Misicka A, Olma A, et al. Oxytocin and Vasopressin Agonists and Antagonists as Research Tools and Potential Therapeutics. *J Neuroendocrinol*. 2012;24(4):609-628.
3. Luo R, Jin Z, Deng Y, Strokes N, Piao X. Disease-Associated Mutations Prevent GPR56-Collagen III Interaction. Mei L, ed. *PLoS One*. 2012;7(1):e29818.
4. Luo R, Jeong S-J, Yang A, et al. Mechanism for Adhesion G Protein-Coupled Receptor GPR56-Mediated RhoA Activation Induced By Collagen III Stimulation. 2014.
5. Ong KT, Perdu J, De Backer J, et al. Effect of celiprolol on prevention of cardiovascular events in vascular Ehlers-Danlos syndrome: A prospective randomised, open, blinded-endpoints trial. *Lancet*. 2010;376(9751):1476-1484.
6. D'hondt S, Guillemin B, Syx D, et al. Type III collagen affects dermal and vascular collagen fibrillogenesis and tissue integrity in a mutant Col3a1 transgenic mouse model. *Matrix Biol*. 2018;70:72-83.
7. Briest W, Cooper TK, Tae H-J, Krawczyk M, McDonnell NB, Talan MI. Doxycycline ameliorates the susceptibility to aortic lesions in a mouse model for the vascular type of Ehlers-Danlos syndrome. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011;337(3).
8. Shalhub S, Black JH, Cecchi AC, et al. Molecular diagnosis in vascular Ehlers-Danlos syndrome predicts pattern of arterial involvement and outcomes. *J Vasc Surg*.
9. Doyle JJ, Doyle AJ, Wilson NK, et al. A deleterious gene-by-environment interaction imposed by calcium channel blockers in Marfan syndrome. *Elife*. 2015;4.

【0284】

他の態様

本発明はその詳細な説明と共に記載されたが、前述の記載は、添付の特許請求の範囲の範囲によって定義される、本発明の範囲を説明するように意図され、限定するようには意図されない。他の局面、利点、および改変は、下記の特許請求の範囲の範囲内である。

【0285】

本明細書において言及される特許および科学文献は、当業者に利用可能である知識を確立する。本明細書において引用される全ての米国特許および公開または非公開の米国特許出願は、参照により組み入れられる。本明細書において引用される全ての公開された外国特許および特許出願は、参照により本明細書に組み入れられる。本明細書において引用されるアクセッション番号によって示されるGenbankおよびNCBI提出物は、参照により本明細書に組み入れられる。本明細書において引用される全ての他の公表された参考文献、文書、原稿、および科学文献は、参照により本明細書に組み入れられる。

10

【0286】

本発明はその好ましい態様を参照して具体的に表示および記載されたが、形態および詳細における様々な変更が、添付の特許請求の範囲によって包含される本発明の範囲から逸脱することなく、その中において行われ得ることが当業者によって理解され则认为られる。

20

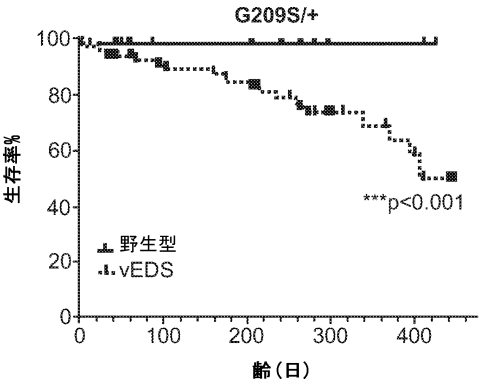
30

40

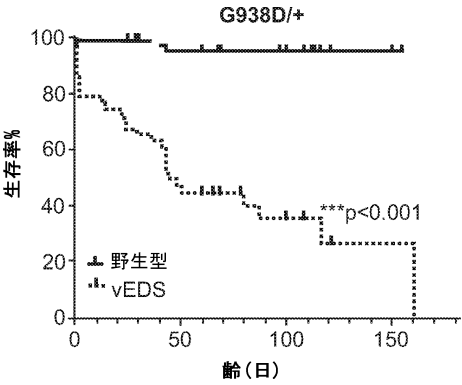
50

【図面】

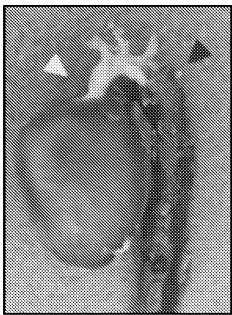
【図 1 A】



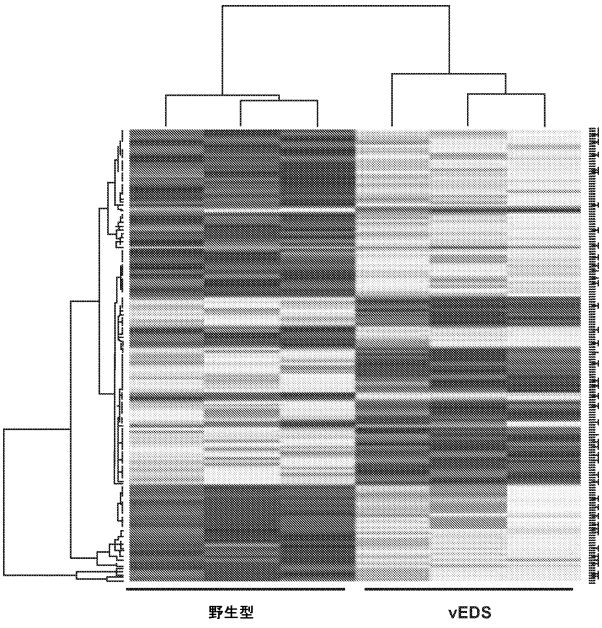
【図 1 B】



【図 1 C】



【図 1 D】



10

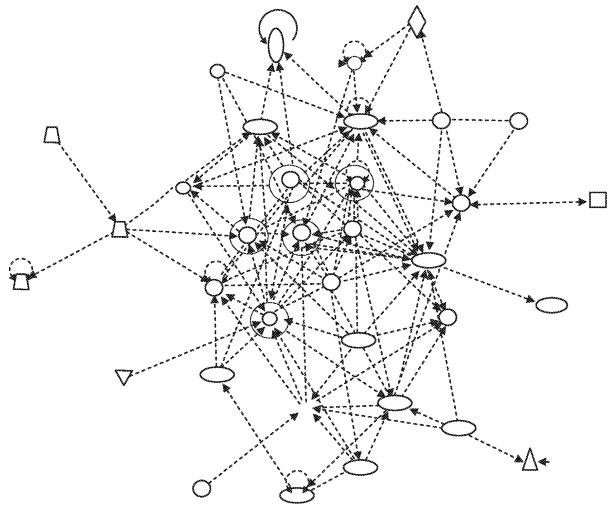
20

30

40

50

【図 1 E】

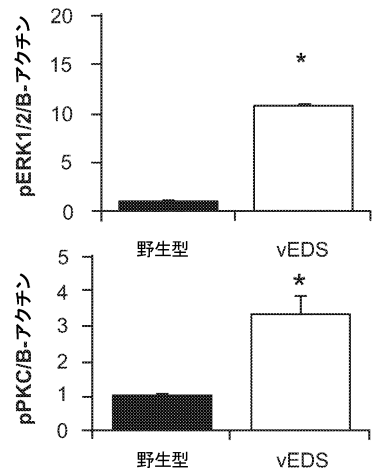
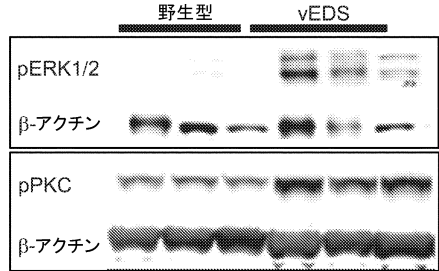


【図 1 F】

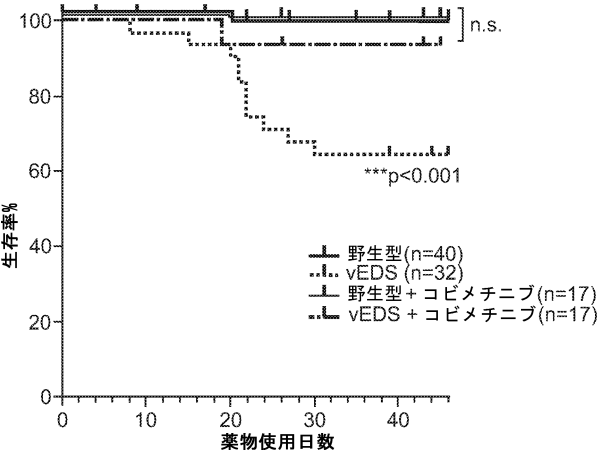
上流調節因子	説明	オーバーラップのp値
APOE	輸送体	3.47E-12
NFATC3	Ca ²⁺ によって活性化される転写調節因子	8.70E-11
F2R	GPCR	8.70E-08
ELK3	ERK1によって活性化される転写調節因子	5.41E-08
Mt2	GPCR	1.45E-07
Mt1	GPCR	1.79E-07
LIPE	酵素	3.09E-07
ELK4	ERK1によって活性化される転写調節因子	4.71E-07
AFP	輸送体	4.71E-07
ERK1/2	グループ	5.92E-07

10

【図 1 G】



【図 2 A】



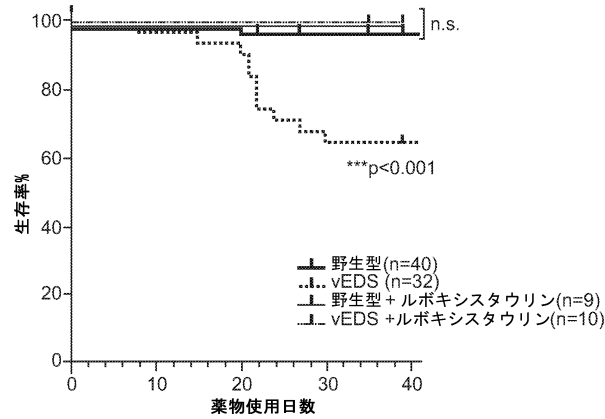
20

30

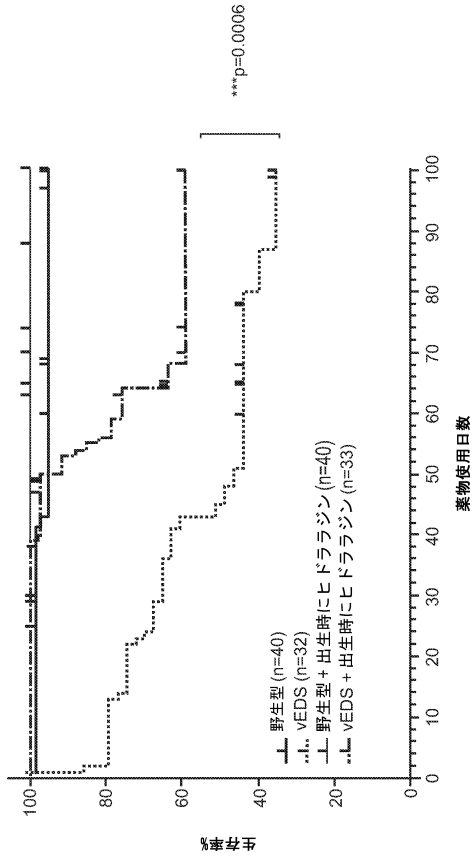
40

50

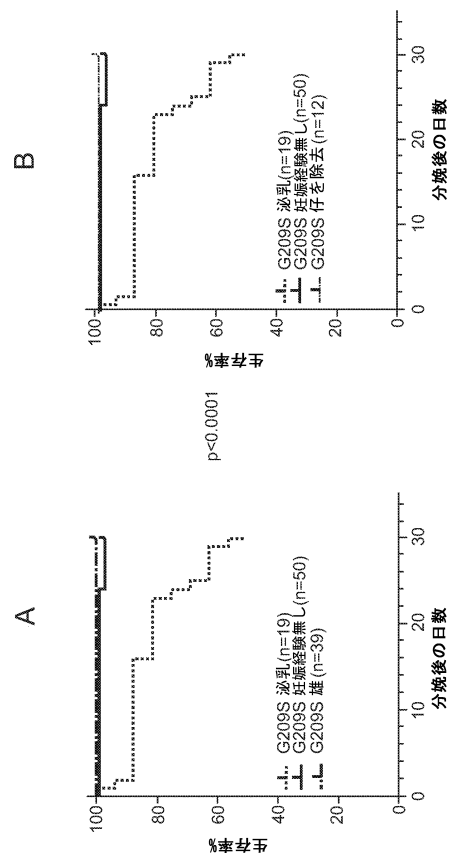
【図 2 B】



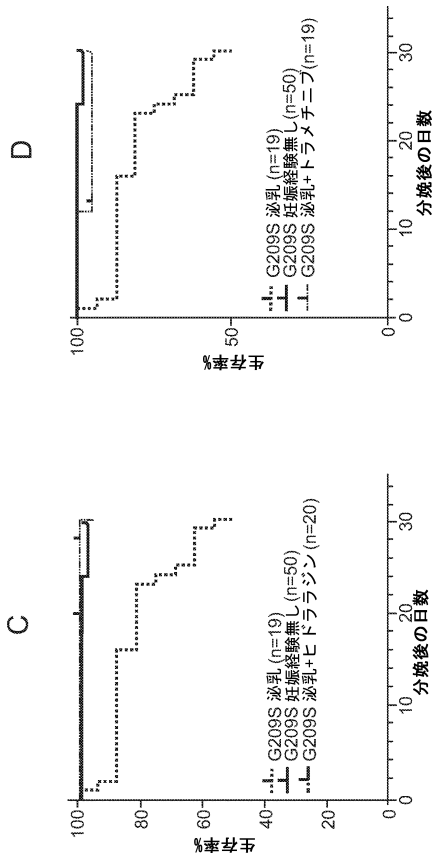
【図 2 C】



【図 3 - 1】



【図 3 - 2】



A

C

10

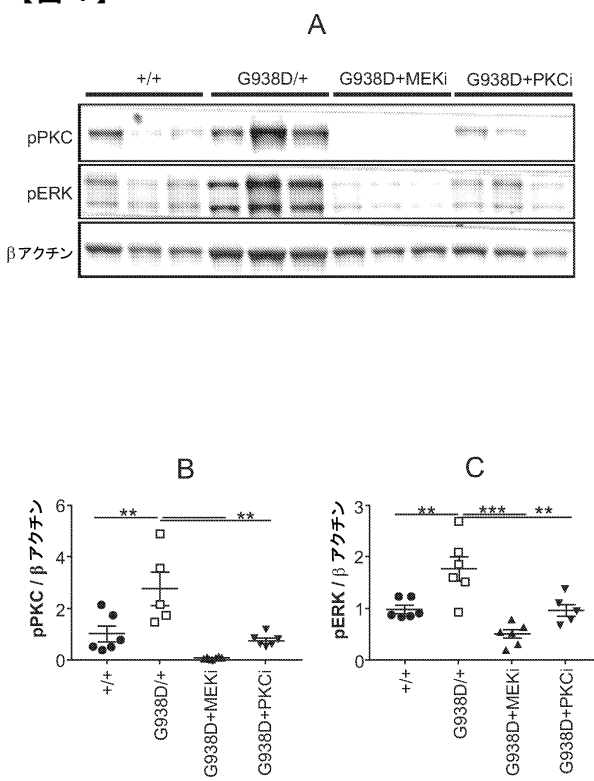
20

30

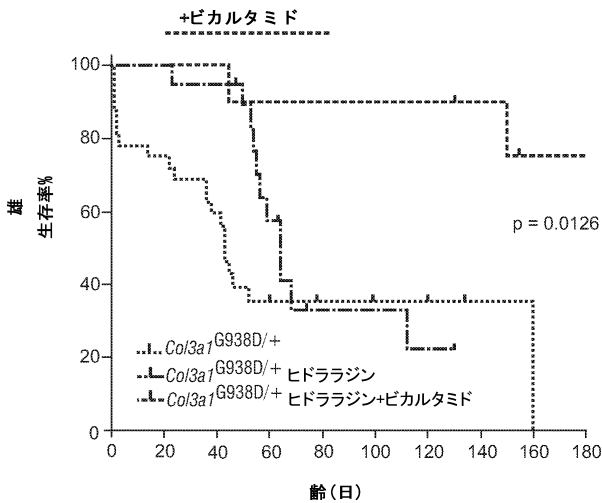
40

50

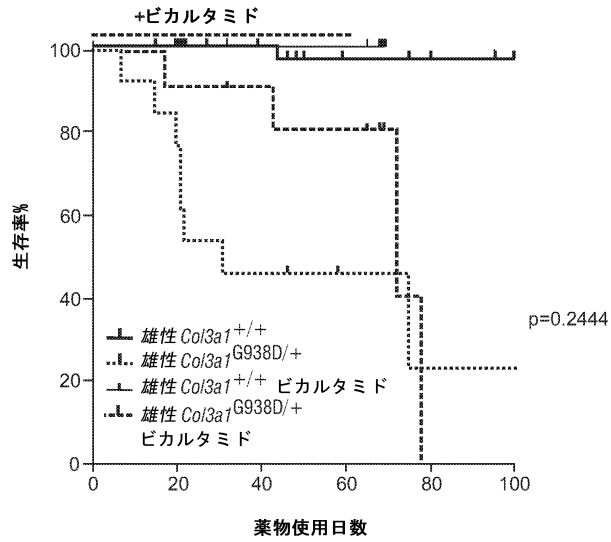
【図 4】



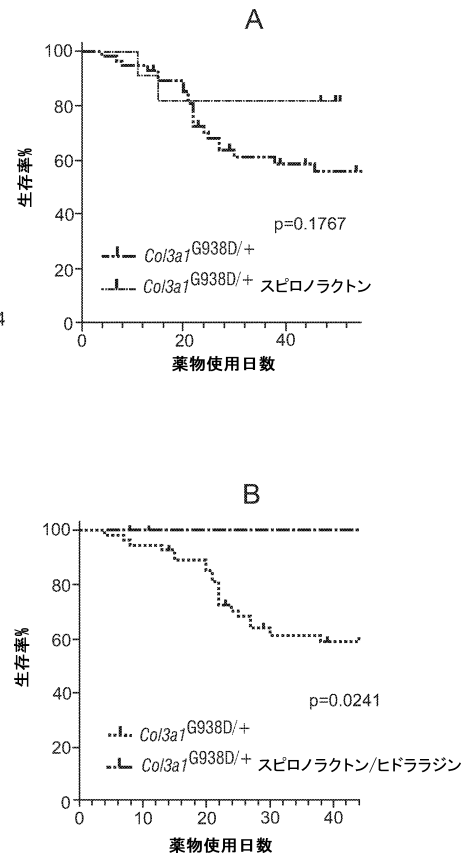
【図 6】



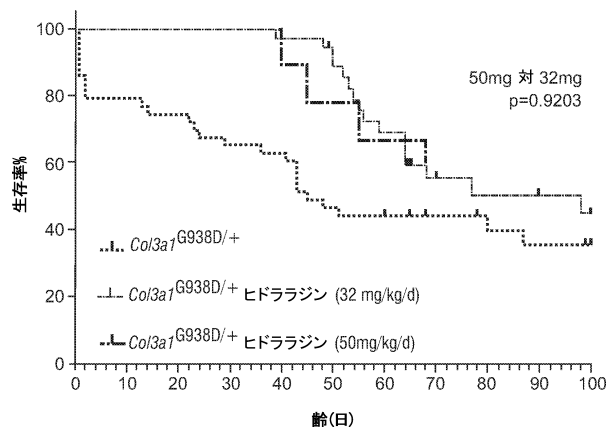
【図 7】



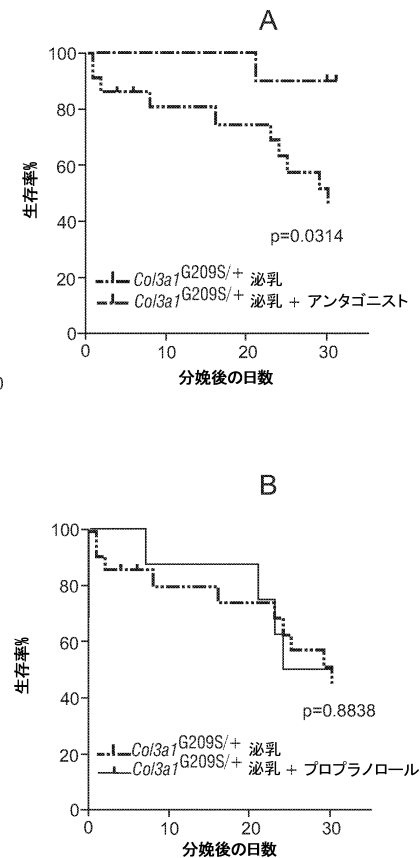
【図 8】



【図 9】



【図 10】



10

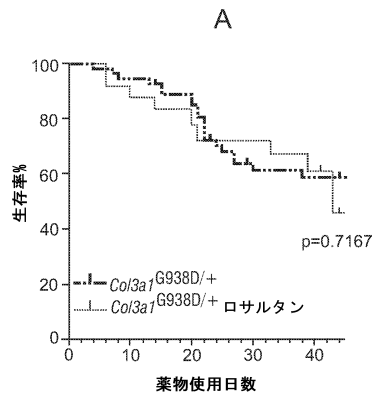
20

30

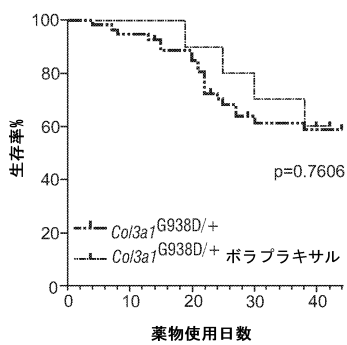
40

50

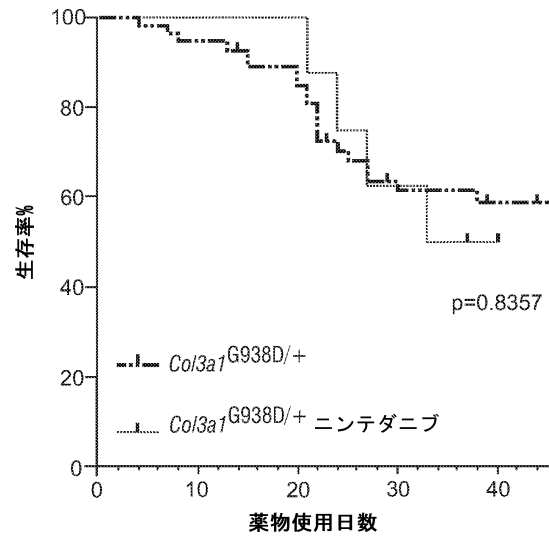
【図 1 1】



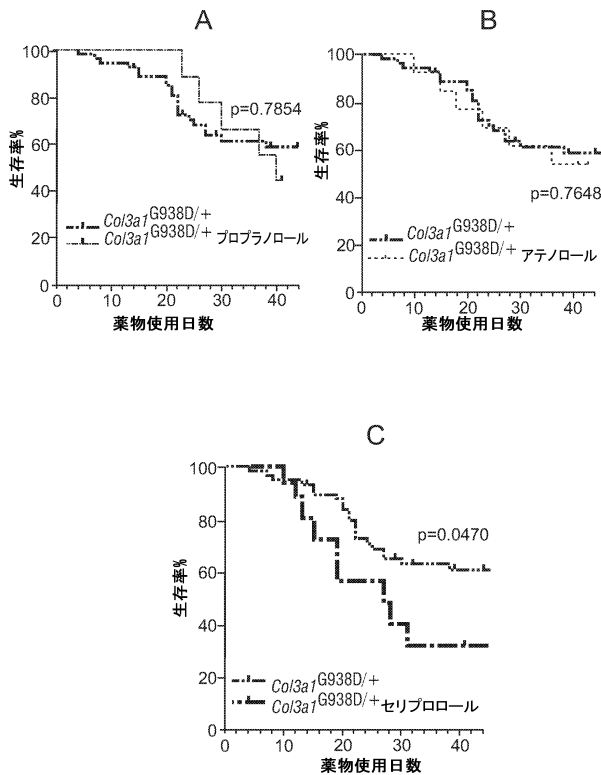
B



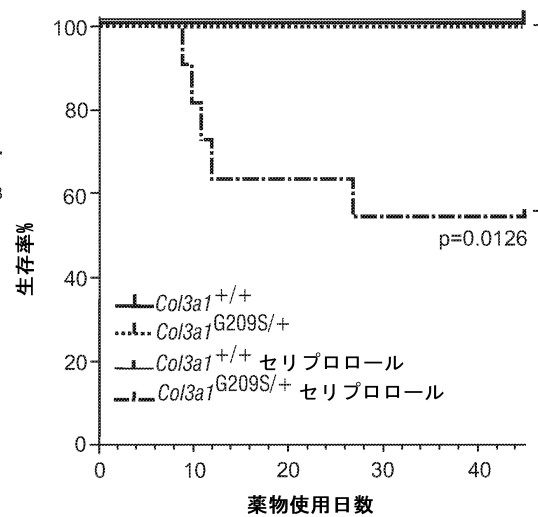
【図 1 2】



【図 1 3】



【図 1 4】



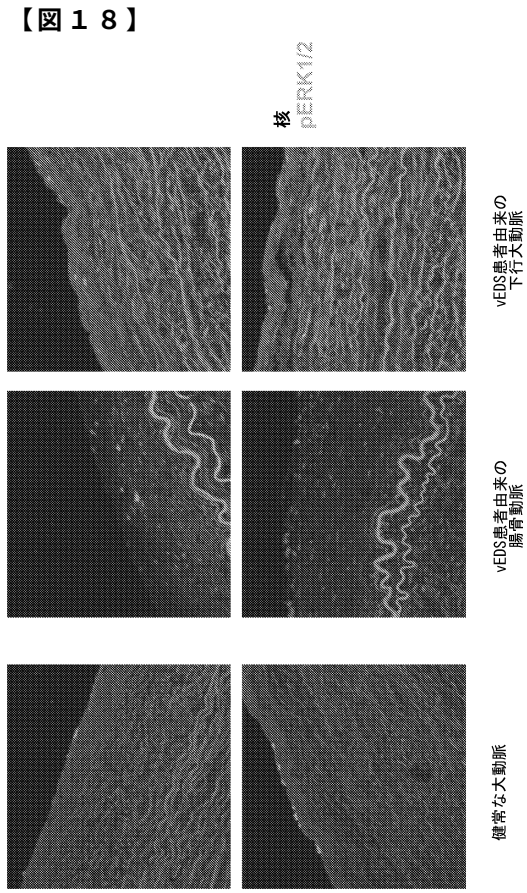
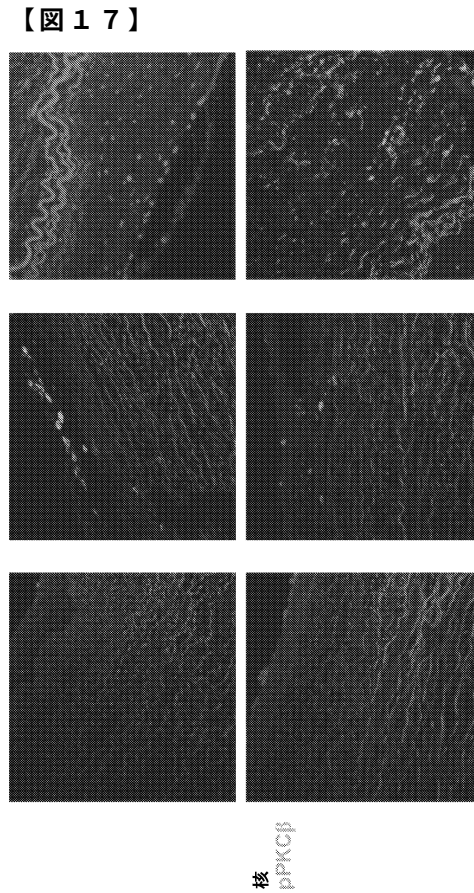
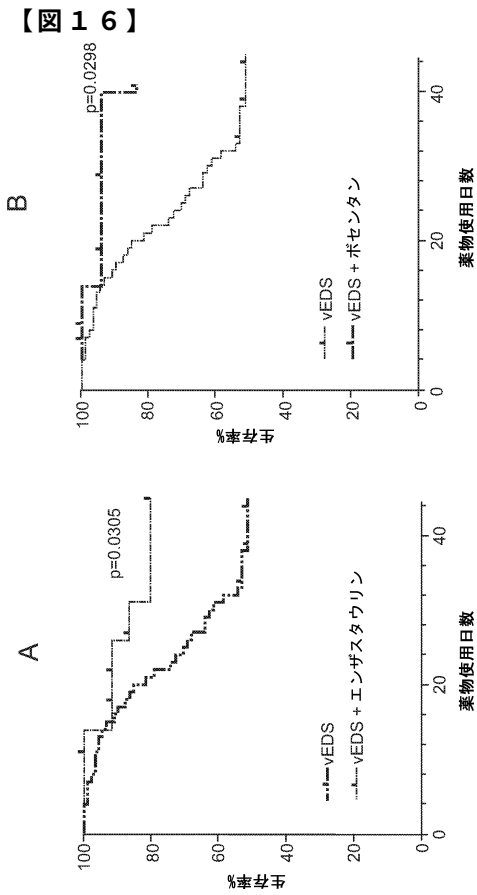
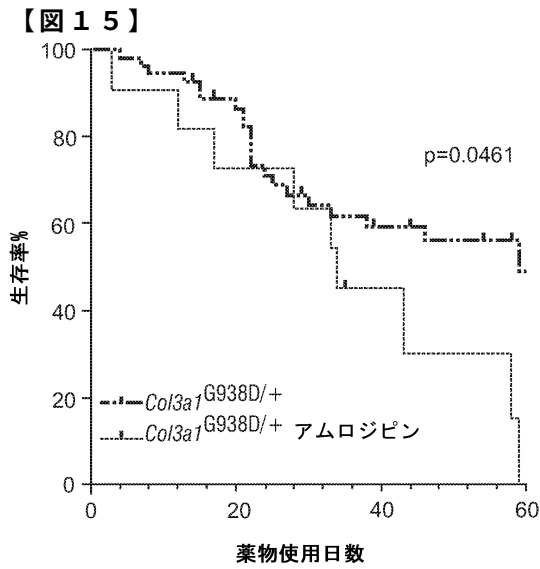
10

20

30

40

50



10

20

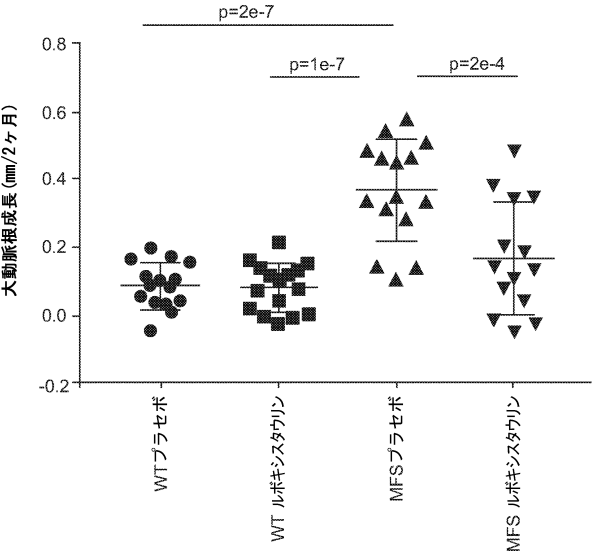
30

40

50

【図 19】

ルボキシスタウリン処置は129 MFSマウスにおける
大動脈根成長を低下させる



10

【配列表】

0007678748000001.app

20

30

40

50

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/838,049

(32)優先日 平成31年4月24日(2019.4.24)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 デイツ ハリー シー.

アメリカ合衆国 21286 メリーランド州 タウソン リゲート ロード 1104

(72)発明者 ボーエン ケイトリン ジェイ.

アメリカ合衆国 21231 メリーランド州 ボルチモア バンク ストリート 2054

(72)発明者 カルデロン ジアドロシク フアン フランシスコ

チリ共和国 7770174 サンティアゴ ニュニョア リカルド ライオン 3055-エー

審査官 横田 倫子

(56)参考文献 Cardiol Rev, 2012年, Vol.20 No.1, p.4-7, doi: 10.1097/CRD.0b013e3182342316

eLife, 2015年, Vol.4, Article.e08648 (p.1-18), DOI: 10.7554/eLife.08648

医学のあゆみ, 2018年01月20日, Vol.264 No.3, p.211-215

医学のあゆみ, 2018年01月20日, Vol.264 No.3, p.227-233

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

A 61 K 31/4545

A 61 K 31/506

A 61 K 31/407

A 61 P 9/00

A 61 K 31/4523

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)