



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I593416 B

(45)公告日：中華民國 106 (2017) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：101103411

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 02 月 02 日

(51)Int. Cl. : A61K31/7125 (2006.01)

A61P17/02 (2006.01)

C07K14/78 (2006.01)

(30)優先權：2011/02/02 美國

61/438,879

2011/05/20 美國

61/488,666

2011/08/26 美國

61/527,821

(71)申請人：艾克厘德製藥公司(美國) EXCALIARD PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國(72)發明人：汀 尼可拉斯 M DEAN, NICHOLAS M. (US)；克拉克摩 林可林 KROCHMAL,
LINCOLN (US)；哈帝 葛瑞格里 HARDEE, GREGORY (US)；法克斯 J 葛
登 FOULKES, J. GORDON (US)；歐當尼爾 奈爾 O'DONNELL, NIAL (US)；楊
里羅伊 YOUNG, LEROY (US)；卓威爾 馬克 JEWELL, MARK (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 6133242A

WO 2010/042281A2

審查人員：廖彥昱

申請專利範圍項數：81 項 圖式數：7 共 159 頁

(54)名稱

利用針對結締組織生長因子 (CTGF) 目標之反義化合物治療癭痕或肥厚性疤痕之方法
METHOD OF TREATING KELOIDS OR HYPERTROPHIC SCARS USING ANTISENSE
COMPOUNDS TARGETING CONNECTIVE TISSUE GROWTH FACTOR (CTGF)

(57)摘要

本發明提供防止形成纖維性病變(包括皮膚疤痕，諸如癭痕及肥厚性疤痕)或治療該等纖維性病變之方法，其包括藉由一或多次注射，對個體投與包含經修飾之寡核苷酸，諸如經修飾之反義寡核苷酸、siRNA 或寡去氧核糖核苷酸之化合物，該化合物抑制與纖維化有關之蛋白質的表現。亦描述利用皮內穿刺技術進行反義藥物之給藥法。

This invention provides methods of preventing formation of, or treating, fibrotic lesions, including skin scars such as keloids and hypertrophic scars which comprise administering to the subject by one or more injection a compound which comprises a modified oligonucleotide, such as a modified antisense oligonucleotide, siRNA, or oligodeoxyribonucleotide, which inhibits expression of protein involved in fibrosis. Dosing of the antisense using an intradermal threading technique is also described.

指定代表圖：

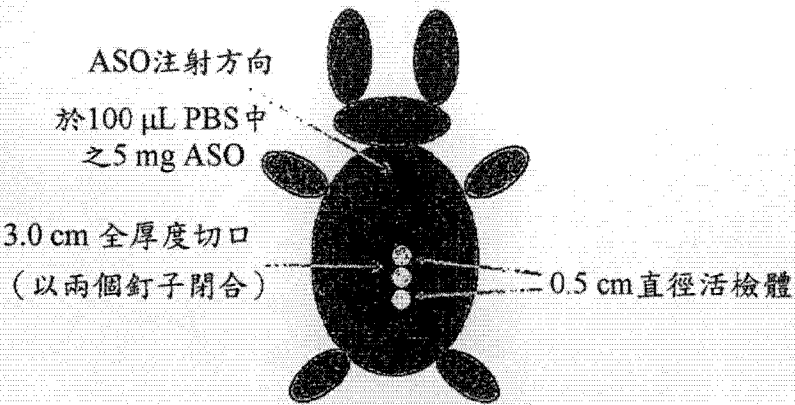


圖 1A

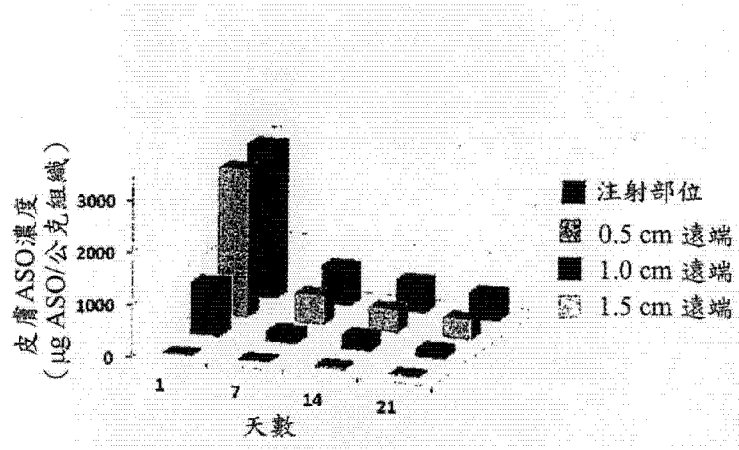


圖 1B

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101/03411

※申請日：101.2.2

※IPC 分類：A61K31/215 (2006.01)

A61P17/02 (2006.01)

C07K14/78 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

利用針對結締組織生長因子(CTGF)目標之反義化合物治療癭痕或肥厚性疤痕之方法

METHOD OF TREATING KELOIDS OR HYPERTROPHIC SCARS
USING ANTISENSE COMPOUNDS TARGETING CONNECTIVE
TISSUE GROWTH FACTOR (CTGF)

二、中文發明摘要：

本發明提供防止形成纖維性病變(包括皮膚疤痕，諸如癭痕及肥厚性疤痕)或治療該等纖維性病變之方法，其包括藉由一或多次注射，對個體投與包含經修飾之寡核苷酸，諸如經修飾之反義寡核苷酸、siRNA或寡去氧核糖核苷酸之化合物，該化合物抑制與纖維化有關之蛋白質的表現。亦描述利用皮內穿刺技術進行反義藥物之給藥法。

三、英文發明摘要：

This invention provides methods of preventing formation of, or treating, fibrotic lesions, including skin scars such as keloids and hypertrophic scars which comprise administering to the subject by one or more injection a compound which comprises a modified oligonucleotide, such as a modified antisense oligonucleotide, siRNA, or oligodeoxyribonucleotide, which inhibits expression of protein involved in fibrosis. Dosing of the antisense using an intradermal threading technique is also described.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1A、1B)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於防止纖維性病變，包括皮膚疤痕，諸如癍痕及肥厚性疤痕形成或治療該等纖維性病變之方法。

在本申請案中，參考多個專利及公開案。此等專利及公開案之全部揭示內容據此以引用的方式併入本申請案中以便更全面地描述本發明所涉及之技藝水準。

【先前技術】

反義化合物為減少特定基因產物之表現的有效工具且可唯一適用於許多治療應用，例如調節與纖維化有關之蛋白質，諸如結締組織生長因子(CTGF)的表現。(參見 Gaarde 等人之美國專利第 6,965,025B2 號)

反義化合物為能夠與目標核酸(例如目標 mRNA 分子)雜交且抑制目標核酸之表現的寡聚化合物。

用於調節 CTGF 之表現且用於治療與 CTGF 表現相關之疾病的反義化合物、組合物及方法揭示於美國專利第 6,965,025B2 號中。然而，仍然需要能夠提供對 CTGF 表現之增強抑制以及其他有利特性之其他此類化合物。

結締組織生長因子(CTGF；亦稱為 ctgrofact、纖維母細胞誘導性分泌蛋白、fisp-12、NOV2、類胰島素生長因子結合蛋白相關蛋白 2、IGFBP-rP2、IGFBP-8、HBGF-0.8、Hcs24 及伊考皂甙元(ecogenin))為模組化蛋白之 CCN (CTGF/CYR61/NOV) 家族之成員，指定為所鑑別之第一家族成員：富含半胱胺酸(CYR61)且腎母細胞瘤過度表現

(NOV)之結締組織生長因子，但該家族亦包括蛋白質ELM-1(於低轉移細胞中表現)、WISP-3(Wnt-1誘導之分泌蛋白)及COP-1(WISP-2)。已發現，CCN蛋白質為分泌之細胞外基質相關蛋白，其調控諸如黏著、遷移、有絲分裂發生、分化、存活之細胞過程、血管生成、動脈粥樣硬化、軟骨生成、創口癒合、腫瘤形成及如硬皮病之血管與纖維變性疾病(Lau及Lam, Exp. Cell Res., 1999, 248, 44-57)。結締組織生長因子蛋白顯示刺激DNA合成且促進纖維母細胞之趨化性(Bradham等人, J. Cell Biol., 1991, 114, 1285-1294)。

結締組織生長因子在涉及細胞外基質(ECM)產生及重塑之正常分化過程中於纖維母細胞中表現。結締組織生長因子亦頻繁地在纖維變性皮膚病症中過度表現，諸如全身性硬化、局部皮膚硬化、癍痕、疤痕組織、嗜酸性筋膜炎、結節性筋膜炎及杜普宜特朗氏攣縮(Dupuytren's contracture)。結締組織生長因子mRNA或蛋白質含量在包括肝、腎、肺、心血管系統、胰臟、腸、眼及齒齦之主要器官及組織之纖維性病變中升高。在特徵為大量結締組織受累之乳房、胰臟及纖維組織細胞腫瘤中，結締組織生長因子於基質區室中過度表現。

CTGF在癍痕疾病中之作用

癍痕疾病(KD)為良性皮膚纖維增生性腫瘤，其特徵為細胞外基質蛋白過度積聚，導致膠原蛋白形成過多。異常皮膚疤痕可在遺傳上易感之個體受傷後出現。KD亦可為家

族性病狀，其更常在具有較黑皮膚之種族群中發生。最高癍痕發生率見於黑人群體中，據估計為約4-6%且在非洲黑人之隨機樣本中高達16%。已提出KD之多種遺傳模式，其範圍自常染色體隱性至常染色體顯性變化，伴有不完全臨床外顯率(clinical penetrance)及可變表現。大多數癍痕會導致顯著的美容缺陷，而且可能生長至足夠大以致因造成畸形或限制關節活動而成為症狀。

儘管在正常皮膚中表現低含量之CTGF，但在皮膚損傷後CTGF變得上調，且當疤痕嚴重時，如在癍痕或全身性硬化中，CTGF變得持久過度表現。自肥厚性疤痕、癍痕及硬皮病病灶培養之纖維母細胞表現增加之基底CTGF(Exp. Cell Res. 2000, 259: 213-224)，且自肥厚性疤痕及癍痕培養之細胞顯示基底表現更多CTGF且亦對TGF- β 刺激作出反應而製造更多CTGF(Plast. Reconstr. Surg. 2005, 116: 1387-90)。類似地，在血清刺激後CTGF之轉錄在癍痕中相比於細胞培養物中之正常纖維母細胞顯著較高(Ann. Surg. 2007, 246(5):886-95)。

在癍痕組織中，發現表現CTGF mRNA之纖維母細胞分佈於整個病灶中，尤其周邊區域中(J. Invest. Derm. 1996, 106:729-733)。已在正常皮膚、癍痕性疤痕、肥厚性疤痕及成熟疤痕中比較CTGF mRNA表現量。在癍痕之所有狀況下皆明顯偵測到CTGF mRNA，但在成熟疤痕中並非如此。在癍痕與正常皮膚中所見之程度之間存在顯著差異(J. Japan Soc. Plastic Reconstr. Surg. 2002, 22:560-565)。新近

資料亦表明，相對於正常纖維母細胞，癭痕性疤痕纖維母細胞對外源性TGF- β 1作出反應而合成之CTGF為正常纖維母細胞所合成之100-150倍(Plast. Reconstr. Surg. 2005, 116:1387-1390)。當與正常皮膚相比時，在癭痕表皮之基底層中觀察到CTGF之局部化增加，且在癭痕組織提取物中觀測到CTGF之表現較高(J. Cell Physiol. 2006, 208(2):336-43)。先前尚未有資料產生以藉由顯示CTGF表現之抑制會抑制癭痕生長來驗證CTGF在癭痕疾病中之作用。

當前，尚未確立治療癭痕或預防手術後癭痕生長之有效單一治療方案。現有治療方法包括封閉敷料、壓縮療法、病灶內類固醇注射、冷凍手術、外科切除術、雷射治療、放射線療法、康寧克通(Kenalog)(曲安西龍(triamcinolone))、干擾素療法、博萊黴素(bleomycin)、5-氟尿嘧啶、維拉帕米(verapamil)、咪喹莫特(imiquimod)乳膏及其組合。基於聚矽氧之封閉敷料與非基於聚矽氧之封閉敷料在過去30年中已成為廣泛用於癭痕之臨床選擇，但所有此等方法皆產生極有限之功效且廣泛瞭解到迫切需要新的癭痕療法。

已嘗試各種形式之放射線療法作為癭痕之單一療法，但因治療後致癌之零星報導而仍然相當有爭議。在過去40年中已反覆嘗試利用氬氣、CO₂及脈衝染料之雷射療法，但其中無一者已被證實有效。根據多個研究，所有三種形式之雷射療法具有超過90%之復發率，顯示極少乃至無益處。冷凍療法已作為單一療法使用。然而，與此方法相關

之副作用包括治療部位處之疼痛及色素過少或色素過多。病灶內曲安西龍丙酮(triamcinolone acetone)注射劑為一類皮質類固醇，其頻繁作為一線療法用於治療疤痕，但再次，實際報導之臨床功效廣泛變化。另外，對多次注射之需要以及注射疼痛、皮膚萎縮、毛細血管擴張及色素沉著變化之副作用已促使臨床醫師及研究者繼續尋求其他治療手段。

因此，仍然長期需要其他方法及藥劑來有效預防疤痕、肥厚性疤痕及其他類型之纖維性病變形成，以及治療疤痕、肥厚性疤痕及纖維性病變以便消除或減少其及/或預防其復發。本文所述之臨床結果首次清楚展示針對CTGF目標之反義寡核苷酸減少手術後疤痕之生長及嚴重性的能力。

將反義藥物投與皮膚中

亦已首次展示，反義寡核苷酸在投與皮膚中之後不會側向擴散很遠(參見實例2)，若以單次快速投藥類型進行給藥，則此會導致此類藥物對直線切口/癒合疤痕或疤痕之作用不規則，從而使得反義藥物之濃度沿著顯現疤痕之長度可變。為克服此缺陷，已開發出一種藉由皮內穿刺技術傳遞反義寡核苷酸之方法。此技術沿著疤痕之全長有效傳遞恆定量之反義藥物，且沿著疤痕或疤痕之全長有效且一致地減少疤痕。

皮內穿刺由以下組成：以儘可能平行於皮膚之角度將針引入真皮中，及將針穿刺至真皮中並沿著真皮達通常介於

1 cm與5 cm之間的距離。在此點處，抽出針且當抽出針時將藥物沿著針道之全長注射至真皮中，從而使得等量及等體積之藥物沿著針道之全長沈積。

【發明內容】

本發明提供一種在有需要之個體中治療癍痕或預防皮膚損傷後癍痕形成、再形成或生長之方法，其包含藉由一或多次注射在癍痕之部位處或皮膚損傷之部位處，以可有效治療癍痕或預防癍痕形成、再形成或生長之量，投與該個體包含經修飾之寡核苷酸或其鹽或酯的組合物，該經修飾之寡核苷酸由12至30個鍵聯核苷組成，其至少12個核鹼基之序列部分存在於選自SEQ ID NO: 9之核苷酸553-611、718-751、1388-1423、1457-1689、2040-2069、2120-2147、2728-2797、2267-2301、1394-1423、1469-1508、1559-1605、1659-1689、2100-2129及1399-1423之區域內，其中該有效量為對癍痕或皮膚損傷之每直線公分長度每次注射0.1 mg至50 mg經修飾之寡核苷酸。

本發明亦提供一種在有需要之個體中治療肥厚性疤痕或預防皮膚損傷後肥厚性疤痕形成、再形成或生長之方法，其包含藉由一或多次注射在肥厚性疤痕之部位處或皮膚損傷之部位處，以可有效治療肥厚性疤痕或預防肥厚性疤痕形成、再形成或生長之量，投與該個體包含經修飾之寡核苷酸或其鹽或酯的組合物，該經修飾之寡核苷酸由12至30個鍵聯核苷組成，其至少12個核鹼基之序列部分存在於選自SEQ ID NO: 9之核苷酸553-611、718-751、1388-1423、

1457-1689、2040-2069、2120-2147、2728-2797、2267-2301、1394-1423、1469-1508、1559-1605、1659-1689、2100-2129及1399-1423之區域內，其中該有效量為對肥厚性疤痕或皮膚損傷之每直線公分長度每次注射0.1 mg至25 mg經修飾之寡核苷酸。

本發明另外提供一種在有需要之個體中減少皮膚損傷之部位處疤痕或癍痕形成、再形成或生長或治療原有疤痕或癍痕之方法，其包含藉由一或多次穿刺注射在損傷之部位或原有疤痕或癍痕之部位處，以可有效抑制與纖維化有關之蛋白質的表現且藉此減少損傷之部位處疤痕或癍痕形成、再形成或生長或治療原有疤痕或癍痕之量，投與該個體包含針對編碼該蛋白質之核酸目標的經修飾之寡核苷酸或其鹽或酯的組合物。

本發明另外提供一種在有需要之個體中減少損傷之部位處纖維性病變形成、再形成或生長或治療原有纖維性病變之方法，其包含藉由一或多次穿刺注射在損傷之部位或原有纖維性病變之部位處，以可有效抑制與纖維化有關之蛋白質的表現且藉此減少損傷之部位處纖維性病變形成、再形成或生長或治療原有纖維性病變之量，投與該個體包含針對編碼該蛋白質之核酸目標的經修飾之寡核苷酸或其鹽或酯的組合物。

【實施方式】

本發明提供一種在有需要之個體中治療癍痕或預防皮膚損傷後癍痕形成、再形成或生長之方法，其包含藉由一或

多次注射在癍痕之部位處或皮膚損傷之部位處，以可有效治療癍痕或預防癍痕形成、再形成或生長之量，投與該個體包含經修飾之寡核苷酸或其鹽或酯的組合物，該經修飾之寡核苷酸由12至30個鍵聯核苷組成，其至少12個核鹼基之序列部分存在於選自SEQ ID NO: 9之核苷酸553-611、718-751、1388-1423、1457-1689、2040-2069、2120-2147、2728-2797、2267-2301、1394-1423、1469-1508、1559-1605、1659-1689、2100-2129及1399-1423之區域內，其中該有效量為對癍痕或皮膚損傷之每直線公分長度每次注射0.1 mg至50 mg經修飾之寡核苷酸。

本發明亦提供一種在有需要之個體中治療肥厚性疤痕或預防皮膚損傷後肥厚性疤痕形成、再形成或生長之方法，其包含藉由一或多次注射在肥厚性疤痕之部位處或皮膚損傷之部位處，以可有效治療肥厚性疤痕或預防肥厚性疤痕形成、再形成或生長之量，投與該個體包含經修飾之寡核苷酸或其鹽或酯的組合物，該經修飾之寡核苷酸由12至30個鍵聯核苷組成，其至少12個核鹼基之序列部分存在於選自SEQ ID NO: 9之核苷酸553-611、718-751、1388-1423、1457-1689、2040-2069、2120-2147、2728-2797、2267-2301、1394-1423、1469-1508、1559-1605、1659-1689、2100-2129及1399-1423之區域內，其中該有效量為對肥厚性疤痕或皮膚損傷之每直線公分長度每次注射0.1 mg至25 mg經修飾之寡核苷酸。

本發明另外提供一種在有需要之個體中減少皮膚損傷之

部位處疤痕或癍痕形成、再形成或生長或治療原有疤痕或癍痕之方法，其包含藉由一或多次穿刺注射在損傷之部位或原有疤痕或癍痕之部位處，以可有效抑制與纖維化有關之蛋白質的表現且藉此減少損傷之部位處疤痕或癍痕形成、再形成或生長或治療原有疤痕或癍痕之量，投與該個體包含針對編碼該蛋白質之核酸目標的經修飾之寡核苷酸或其鹽或酯的組合物。本發明另外提供一種在有需要之個體中減少損傷之部位處纖維性病變形成、再形成或生長或治療原有纖維性病變之方法，其包含藉由一或多次穿刺注射在損傷之部位或原有纖維性病變之部位處，以可有效抑制與纖維化有關之蛋白質的表現且藉此減少損傷之部位處纖維性病變形成、再形成或生長或治療原有纖維性病變之量，投與該個體包含針對編碼該蛋白質之核酸目標的經修飾之寡核苷酸或其鹽或酯的組合物。

在前述方法之一個實施例中，一或多次穿刺注射包含針對每個疤痕之多次皮內穿刺注射。

在前述方法中，與纖維化有關之蛋白質可為結締組織生長因子、轉化生長因子 β -1、母親抗十五褶同源物3 (mothers against decapentaplegic homolog-3)、早期生長反應因子1、單核細胞趨化蛋白1、膠原蛋白或彈性蛋白。適合膠原蛋白之實例為膠原蛋白3A1、膠原蛋白1A2及膠原蛋白1A1。

在本發明方法之某些實施例中，有效量為對皮膚損傷之部位或原有疤痕之部位之每直線公分長度每次注射0.1 mg

至 50 mg，例如 0.1 mg 至 25 mg 經修飾之寡核苷酸。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸係每兩週投與至少一次，持續至少四週，亦即至少兩次。

在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸係每三週投與至少一次，持續至少六週，亦即至少兩次。

在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸係每四週投與至少一次，持續至少八週。在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸係每八週投與至少一次，持續至少十六週。

當前預期，經至少九週之時段，例如經 26 週之時段投與經修飾之寡核苷酸可能較佳。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸由 12 至 30 個鍵聯核苷組成，其至少 12 個核鹼基之序列部分存在於選自由 SEQ ID NO: 9 之核苷酸 553-611、718-751、1388-1423、1457-1689、2040-2069、2120-2147、2728-2797、2267-2301、1394-1423、1469-1508、1559-1605、1659-1689、2100-2129 及 1399-1423 組成之群的區域內。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸的至少 12 個核鹼基之序列部分存在於 SEQ ID NO: 28、30、39、40、43、44、45、50、51、52、56、78、125 或 166 所示之任一序列所示的核鹼基序列內。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸由至少 14 個(例如 20 個)鍵聯核苷組成。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸為單股寡核苷酸。在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸為雙股寡核苷酸。

在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸包含至少一個寡去氧核糖核苷酸或至少一個寡核糖核苷酸。

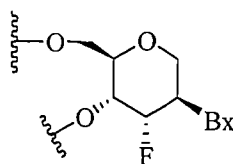
在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸的序列與SEQ ID NO: 28、30、39、40、43、44、45、50、51、52、56、78、125或166所示之任一序列之一部分長度具有100%一致性。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含至少一個經修飾之核苷間鍵，例如硫代磷酸酯核苷間鍵，使得一些或所有核苷間鍵可為硫代磷酸酯核苷間鍵。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸中之至少一個核苷包含經修飾之糖，諸如雙環糖。在一些此類實施例中，至少一個經修飾之糖包含2'-O-甲氧基乙基。

在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸包含至少一個經四氫嘧啶修飾之核苷，其中四氫嘧啶環替代嘧啶環。

在一些此類實施例中，至少一個經四氫嘧啶修飾之核苷中之每一者具有以下結構：



其中Bx為視情況經保護之雜環鹼基部分。

在某些實施例中，至少一個核苷包含經修飾之核鹼基，例如經修飾之去氧核苷、核糖核苷或5'-甲基胞嘧啶。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：

(a) 由鍵聯去氧核苷組成之間隔區段；

- (b) 由鍵聯經修飾核苷組成之5'側翼區段；及
- (c) 由鍵聯經修飾核苷組成之3'側翼區段；

其中間隔區段位於5'側翼區段與3'側翼區段之間且其中各側翼區段內各經修飾核苷包含經修飾之糖。

在某些當前較佳實施例中，經修飾之寡核苷酸包含：

- (a) 由十三個鍵聯去氧核苷組成之間隔區段；
- (b) 由兩個鍵聯經修飾核苷組成之5'側翼區段；及
- (c) 由五個鍵聯經修飾核苷組成之3'側翼區段；

其中間隔區段位於5'側翼區段與3'側翼區段之間，其中各側翼區段內各經修飾核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖；且其中各核苷間鍵為硫代磷酸酯鍵。

在某些實施例中，核鹼基之序列為SEQ ID NO: 39所示之序列。

在其他實施例中，核鹼基之序列為SEQ ID NO: 40所示之序列。

在其他實施例中，核鹼基之序列為SEQ ID NO: 45所示之序列。

在其他實施例中，核鹼基之序列為SEQ ID NO: 52所示之序列。

在其他實施例中，核鹼基之序列為SEQ ID NO: 166所示之序列。

在某些實施例中，組合物包含經修飾之寡核苷酸或其鹽，及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸直接或間接抑制膠

原蛋白或彈性蛋白或兩者之表現，以治療癍痕，預防癍痕形成、再形成或生長，治療肥厚性疤痕，預防肥厚性疤痕形成、再形成或生長，減少損傷部位處疤痕形成，治療原有疤痕，減少損傷部位處纖維性病變形成，或治療原有纖維性病變。

當前預期，前述方法另外包含投與個體第二化合物。

在某些實施例中，第二化合物可為針對相同或不同序列目標之反義化合物，且經修飾之寡核苷酸與第二化合物可同時或依序投與。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸以與部分體形成結合物形式存在，該部分體增強個體對化合物之吸收及/或延長化合物於個體中之滯留時間，其中該滯留時間較佳為7至60天。該結合部分體為聚乙二醇、玻尿酸、膽固醇、金剛烷乙酸(adamantine acetic acid)、1-萘丁酸、二氫單固酮、1,3-雙-O-(十六碳烷基)甘油、十六碳烷基甘油、十六碳烷胺、香葉氧基己基(geranyloxyhexyl)、棕櫚酸、肉豆蔻酸、精胺、亞精胺、葉酸、維生素E、碳水化合物集群(carbohydrate cluster)、肽(包括穿膜肽螺旋體(antennapedia helix)、HIV Tat片段、整合素結合肽)、轉運蛋白(transportin)或卟啉。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸係以一傳遞系統中投與，該傳遞系統增強個體對化合物之吸收及/或延長化合物於個體中之滯留時間，其中該滯留時間較佳為7至60天。傳遞系統包含陽離子脂質；脂質體；微粒；奈米粒

子；具有懸浮粒子且具有或不具有適於即刻釋放之呈溶液形式之藥物或具有呈粒子(尤其PLGA及聚Arg粒子)形式之藥物儲存物的液體調配物；注射後膠凝之液體調配物，諸如熱固性/反應性液體(例如普洛尼克凝膠(pluronic gel))；於生物相容性溶劑中含有聚合物及藥物之液體(例如阿特里凝膠(atrigel))，當溶劑由體液稀釋時，聚合物及藥物即沈澱；凝膠；半固體調配物，諸如水凝膠(具有基質襯底或呈噴霧溶液形式)；欲在手術期間噴撒之粉末；可再吸收縫合線；或快速溶解凝膠或聚合物條帶。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸係在瘢痕、疤痕或纖維性病變之外科切除術之後投與個體。

在某些實施例中，皮膚損傷為手術切開、活組織檢查、皮膚刺穿、皮膚移除、灼傷或創傷之結果。

在某些實施例中，有效量為對瘢痕、肥厚性疤痕、皮膚損傷、損傷部位、原有疤痕或原有纖維性病變之每直線公分長度每次注射約5 mg經修飾之寡核苷酸。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸投與長達6個月。在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸投與長達1年。

在某些實施例中，前述方法另外包含投與個體另一治療劑，其可為類固醇、聚矽氧敷包、TGF- β 3(亦即Juvista)、膠原蛋白酶(亦即Xyflex)、17 β -雌二醇(亦即Zesteem)、IL-10(亦即Prevascar)、甘露糖6-磷酸(亦即Juvidex)、平滑肌鬆弛劑(亦即AZX100，其為一種24個胺基酸合成肽)、幹細胞療法(亦即GBT009)、血清類澱粉蛋白、針對整合素

$\alpha v\beta 6$ 、CTGF、TGF β 目標之抗體、或抑制ALK-4及/或ALK-5(TGF β 受體)活性之分子、經設計以阻斷TNF活性之任何抑制劑(例如依那西普(etanercept))、封閉敷料、壓縮療法、冷凍手術、外科切除術、雷射治療、放射線療法、干擾素療法、博萊黴素、5-氟尿嘧啶、維拉帕米、咪喹莫特乳膏、能夠促進創口癒合者(諸如Dermagraft、Apligraf、PDGF(亦即Regranex))、電刺激、「生長因子」類、敷料類、小腸黏膜下層(SIS)、Promogran、高比例氧(hyperbaric oxygen)或其組合。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸係藉助於調配物、超音波、電穿孔、離子導入療法或顯微針投與。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸係鄰近於癒痕、肥厚性疤痕、皮膚損傷、損傷部位、原有疤痕或原有纖維性病變投與。

在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸係沿著癒痕、肥厚性疤痕、皮膚損傷、損傷部位、原有疤痕或原有纖維性病變之整個長度投與。

在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸係沿著癒痕、肥厚性疤痕、皮膚損傷、損傷部位、原有疤痕或原有纖維性病變之每一側投與。

在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸係直接投與癒痕、肥厚性疤痕、皮膚損傷、損傷部位、原有疤痕或原有纖維性病變中。

在某些實施例中，個體在遺傳上易於形成癒痕或肥厚性

疤痕或兩者。

在某些實施例中，經修飾之寡核苷酸經皮內投與。

在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸係藉由穿刺技術皮內投與。

在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸經皮下投與。

在其他實施例中，經修飾之寡核苷酸經局部投與。

本發明亦提供一種套組，其包含：

- a. 預填充有包含經修飾之寡核苷酸之組合物的裝置；及
- b. 使用說明書。

在某些實施例中，反義寡核苷酸與活性寡核苷酸所針對之CTGF目標之區域之一部分互補，該部分體自目標位點1396延伸至1424。此為oligo 418899、412295及412294/EXC 001(分別為SEQ ID NO: 166、40及39)所針對之序列空間目標。

本發明亦提供一種包含至少12個、較佳至少14個鍵聯核苷之經修飾之寡核苷酸，其核鹼基序列為SEQ ID NO: 28、30、39、40、43、44、45、50、51、52、56、78、125及166所示之核鹼基序列之一的一部分。

本文所述之反義化合物可包含具有12至30個、12至20個及較佳14至20個鍵聯核苷之寡核苷酸。

在本發明之一個實施例中，經修飾之寡核苷酸為單股或雙股寡核苷酸。

本發明採用寡聚化合物，尤其反義寡核苷酸，來用於調節編碼與纖維化有關之蛋白質之核酸分子的功能，最終調

節所產生之蛋白質的量。此係藉由提供與一或多個編碼與纖維化有關之蛋白質之核酸特異性雜交的反義化合物來實現。如本文所用之術語「目標核酸」及「編碼結締組織生長因子之核酸」涵蓋編碼與纖維化有關之蛋白質之DNA、自該DNA轉錄之RNA(包括 mRNA前體及 mRNA)，以及來源於該RNA之cDNA。

寡聚化合物與其目標核酸之特異性雜交干擾核酸之正常功能。藉由與目標核酸特異性雜交之化合物對該目標核酸之功能的此調節，一般稱作「反義」。欲受干擾之DNA功能包括複製及轉錄。欲受干擾之RNA功能包括所有重要功能，諸如RNA移位至蛋白質轉譯位點、蛋白質自RNA轉譯、RNA剪接產生一或多種mRNA物質，及RNA可參與或促進之催化活性。該對目標核酸功能之干擾的總體作用為調節結締組織生長因子之表現。在本發明之情形中，「調節」意謂增加(刺激)或減少(抑制)基因之表現。在本發明之情形中，抑制為調節基因表現之較佳形式且mRNA為較佳目標。

目標核酸、目標區域及核苷酸序列

較佳針對對反義具特異性之核酸目標。在本發明之情形中，使反義化合物針對特定核酸「目標」為多步過程。

應瞭解，在本文所含之實例中各SEQ ID NO所示之序列獨立於對糖部分、核苷間鍵或核鹼基之任何修飾。因而，由SEQ ID NO定義之反義化合物可獨立地包含一或多個對糖部分、核苷間鍵或核鹼基之修飾。由Isis編號(Isis No)所

述之反義化合物指示核鹼基序列與基元之組合。

在一個實施例中，目標區域為核酸之結構上經界定之區域。舉例而言，目標區域可涵蓋3' UTR、5' UTR、外顯子、內含子、編碼區、轉譯起始區、轉譯終止區或其他經界定之核酸區域。核酸之結構上經界定之區域可由來自諸如NCBI之序列資料庫之寄存編號獲得，且該資訊以引用的方式併入本文中。在其他實施例中，目標區域可涵蓋自目標區域內一個目標區段之5'目標位點至目標區域內另一目標區段之3'目標位點的序列。

針對目標包括確定反義化合物與其雜交，使得所要作用發生之至少一個目標區段。在某些實施例中，所要作用為mRNA目標核酸含量降低。在其他實施例中，所要作用為由目標核酸編碼之蛋白質之含量降低或與目標核酸相關之表型變化。

目標區域可含有一或多個目標區段。目標區域內之多個目標區段可重疊。或者，其可不重疊。在一個實施例中，目標區域內之目標區段由不超過約300個核苷酸隔開。在其他實施例中，目標區域內之目標區段由目標核酸上不超過約250、200、150、100、90、80、70、60、50、40、30、20或10個核苷酸隔開。在另一實施例中，目標區域內之目標區段由目標核酸上不超過約5個核苷酸隔開。在其他實施例中，目標區段為相連的。

適合之目標區段可見於5' UTR、編碼區、3' UTR、內含子或外顯子內。含有起始密碼子或終止密碼子之目標區段

亦為適合之目標區段。適合之目標區段可特定地排除某一結構上經界定之區域，諸如起始密碼子或終止密碼子。

確定適合之目標區段可包括在整個基因組中比較目標核酸之序列與其他序列。舉例而言，可利用BLAST演算法以鑑別不同核酸中之相似性區域。此比較可防止選擇可依非特異性方式與除所選目標核酸以外之序列(亦即非目標序列或脫靶序列)雜交之反義化合物序列。

活性目標區域內之反義化合物活性可存在變化(例如，如由目標核酸含量之降低百分比定義)。在一個實施例中，CTGF mRNA含量降低指示CTGF表現之抑制。CTGF蛋白質含量降低亦指示目標mRNA表現之抑制。此外，表型變化指示CTGF表現之抑制。

反義化合物

在本發明之情形中，術語「寡核苷酸」係指核糖核酸(RNA)或去氧核糖核酸(DNA)或其模擬物之寡聚物或聚合物。此術語包括由天然產生之核鹼基、糖及共價核苷間(主鏈)鍵構成之寡核苷酸以及具有發揮類似功能之非天然產生之部分的寡核苷酸。該等經修飾或經取代之寡核苷酸因所需特性而常常優於原生形式，該等特性為諸如細胞吸收增強、對核酸目標之親和力增強及在核酸酶存在下穩定性增加。

儘管反義寡核苷酸為反義化合物之較佳形式，但本發明涵蓋其他寡聚反義化合物，包括(但不限於)寡核苷酸模擬物。

反義化合物意謂能夠經氫鍵結而與目標核酸進行雜交之寡聚化合物。反義化合物包括(但不限於)寡核苷酸、寡核苷、寡核苷酸類似物、寡核苷酸模擬物、反義寡核苷酸、siRNA、RNAi、核糖核酸酶、外部指導序列(EGS)寡核苷酸(寡聚酶(oligozyme))，及與目標核酸雜交且調節其表現之其他寡核苷酸。

在某些實施例中，反義化合物具有如下核鹼基序列：當以5'-3'方向書寫時，其包含其所針對之目標核酸之目標區段的反向互補序列。在某些此類實施例中，反義寡核苷酸具有如下核鹼基序列：當以5'-3'方向書寫時，其包含其所針對之目標核酸之目標區段的反向互補序列。

在某些實施例中，針對核酸目標之反義化合物之長度為12至30個次單元。換言之，反義化合物為12至30個鍵聯次單元。在其他實施例中，反義化合物為8至80個、12至50個、15至30個、18至24個、19至22個、或20個鍵聯次單元。在某些此類實施例中，反義化合物之長度為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、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79或80個鍵聯次單元，或由上述值中之任兩者界定之範圍。在一些實施例中，反義化合物為反義寡核苷酸，且鍵聯次單元為核苷

酸。

在本發明之一個較佳實施例中，化合物包含20個或至少14個鍵聯核苷，其中經修飾之寡核苷酸具有與SEQ ID NO: 28、30、39、40、45、52、56、78、125及166所示之序列之一100%一致之序列。在另一較佳實施例中，相關主導化合物具有SEQ ID No: 39所示之序列(ISIS 412294)。

在某些實施例中，針對核酸目標之縮短或截短反義化合物具有自5'端缺失(5'截短)或者自3'端缺失(3'截短)之單一次單元。針對核酸目標之縮短或截短反義化合物可具有兩個自反義化合物之5'端缺失之次單元，或者可具有兩個自反義化合物之3'端缺失之次單元。或者，缺失之核苷可分散於整個反義化合物中，例如在具有一個自5'端缺失之核苷及一個自3'端缺失之核苷的反義化合物中。

當單一額外次單元存在於延長之反義化合物中時，該額外次單元可位於反義化合物之5'端或3'端處。當存在兩個更多之額外次單元時，添加之次單元可彼此相鄰，例如在具有兩個添加至反義化合物之5'端(5'添加)或者添加至反義化合物之3'端(3'添加)之次單元的反義化合物中。或者，添加之次單元可分散於整個反義化合物中，例如在具有一個添加至5'端之次單元及一個添加至3'端之次單元的反義化合物中。

有可能增加或減小反義化合物(諸如反義寡核苷酸)之長度，及/或在不消除活性之情況下引入錯配鹼基。舉例而言，在 Woolf 等人(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7305-

7309, 1992)中，測試一系列長度為13-25個核鹼基之反義寡核苷酸誘導卵母細胞注射模型中目標RNA裂解之能力。長度為25個核鹼基且接近反義寡核苷酸末端具有8或11個錯配鹼基之反義寡核苷酸能夠引導mRNA特異性裂解，不過程度小於不含錯配之反義寡核苷酸。類似地，利用13個核鹼基之反義寡核苷酸，包括具有1或3個錯配之反義寡核苷酸，達成目標特異性裂解。

Gautschi等人(J. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, 2001年3月)展示與bcl-2 mRNA具有100%互補性且相比bcl-xL mRNA具有3個錯配之寡核苷酸減少活體外及活體內bcl-2與bcl-xL之表現的能力。此外，此寡核苷酸展示活體內有效抗腫瘤活性。

Maher及Dolnick(Nuc. Acid. Res. 16:3341-3358, 1988)分別測試一系列串聯14核鹼基反義寡核苷酸及包含兩個或三個串聯反義寡核苷酸之序列之28及42核鹼基反義寡核苷酸在兔網狀紅血球檢定中遏止人類DHFR轉譯之能力。三個14核鹼基反義寡核苷酸中之每一者單獨能夠抑制轉譯，不過程度比28或42核鹼基反義寡核苷酸更小。

Bhanot等人(PCT/US2007/068401)提供短反義化合物，包括包含化學上經修飾之高親和力單體且長度為8至16個單體之化合物。此等短反義化合物顯示適用於以增加之效能及改良之治療指數減少細胞、組織及動物中之目標核酸及/或蛋白質。短反義化合物在較低劑量下比先前所述之反義化合物有效，使得毒性及治療成本降低。另外，所述

之短反義化合物具有經口給藥之較大潛力。

雜交

一旦已鑑別一或多個目標位點，即選擇與目標充分互補，亦即充分好地且以足夠特異性雜交，以產生所要作用之寡核苷酸。

在本發明之情形中，「雜交」意謂互補核苷或核苷酸鹼基之間的氫鍵結，其可為華特生-克里克氫鍵結(Watson-Crick hydrogen bonding)、胡格斯丁氫鍵結(Hoogsteen hydrogen bonding)或反向胡格斯丁氫鍵結(reversed Hoogsteen hydrogen bonding)。舉例而言，腺嘌呤及胸腺嘧啶為藉由形成氫鍵而配對之互補核鹼基。

一致性

本文所提供之反義化合物亦可與特定核苷酸序列SEQ ID NO或由特定oligo(Isis)編號表示之化合物具有規定之一致性百分比。如本文所用之反義化合物與本文所揭示之序列一致，條件為其具有相同核鹼基配對能力。舉例而言，在所揭示之DNA序列中含有尿嘧啶替代胸苷之RNA將視為與DNA序列一致，此係因為尿嘧啶與胸苷均與腺嘌呤配對之故。亦涵蓋本文所述之反義化合物之縮短及延長型式以及相對於本文所提供之反義化合物具有非一致鹼基之化合物。非一致鹼基可彼此相鄰或分散於整個反義化合物中。反義化合物之一致性百分比係根據相對於所比較之序列具有一致鹼基配對之鹼基數來計算。

在一個實施例中，反義化合物與本文所揭示之反義化合

物或 SEQ ID NO 中之一或多者或其一部分至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 一致。

修飾

在本發明之某一實施例中，對反義化合物之修飾涵蓋針對核苷間鍵、糖部分或核鹼基之取代或變化。

在本發明之一個實施例中，化合物包含至少一個選自由經修飾之核苷間鍵、經修飾之糖及經修飾之核鹼基組成之群的修飾。

儘管可採用含有多種經修飾之核苷間鍵之反義寡核苷酸，但當前較佳之經修飾之核苷間鍵為介於一或多個核苷之間的硫代磷酸酯鍵或其中所有核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。

一般而言，亦較佳的是，反義寡核苷酸含有至少一個及通常多於一個經修飾之糖，其中該糖為雙環糖。儘管可採用各種經修飾之糖，但目前較佳採用 2'-O-甲氧基乙基糖。

此外，反義寡核苷酸中所含之至少一個及通常多於一個核鹼基將為經修飾之核苷酸，諸如 5-甲基胞嘧啶。

核苷為鹼基-糖組合。核苷之核鹼基(亦稱為鹼基)部分通常為雜環鹼基部分。核苷酸為另外包括與核苷之糖部分共價鍵聯之磷酸酯基的核苷。對於包括呋喃戊糖基糖之彼等核苷，磷酸酯基可與該糖之 2'、3' 或 5' 羥基部分鍵聯。寡核苷酸係藉由相鄰核苷與彼此共價鍵聯，形成線性聚合寡核苷酸而形成。在寡核苷酸結構內，磷酸酯基通常被視為形

成寡核苷酸之核苷間鍵。

對反義化合物之修飾涵蓋針對核苷間鍵、糖部分或核鹼基之取代或變化。經修飾之反義化合物常常因所需特性而優於原生形式，該等特性為諸如細胞吸收增強、對核酸目標之親和力增強、在核酸酶存在下穩定性增加，或抑制活性增加。

亦可採用經化學修飾之核苷以增加縮短或截短之反義寡核苷酸對其目標核酸之結合親和力。因此，以具有該等經化學修飾之核苷的較短反義化合物常常可獲得類似結果。

經修飾之核苷酸間鍵

RNA及DNA之天然產生之核苷間鍵為3'-5'磷酸二酯鍵。具有一或多個經修飾，亦即非天然產生之核苷間鍵的反義化合物因所需特性而常常優選於具有天然產生之核苷間鍵之反義化合物，該等特性為諸如細胞吸收增強、對目標核酸之親和力增強及在核酸酶存在下穩定性增加。

具有經修飾之核苷間鍵之寡核苷酸包括保留磷原子之核苷間鍵以及不具有磷原子之核苷間鍵。代表性含磷核苷間鍵包括(但不限於)磷酸二酯、磷酸三酯、甲基膦酸酯、胺基膦酸酯及硫代膦酸酯。製備含磷鍵及非含磷鍵之方法為熟知的。

在一個實施例中，針對CTGF核酸目標之反義化合物包含一或多個經修飾之核苷間鍵。在一些實施例中，經修飾之核苷間鍵為硫代膦酸酯鍵。在其他實施例中，反義化合物之各核苷間鍵為硫代膦酸酯核苷間鍵。

如此項技術中已知，核苷為鹼基-糖組合。核苷之鹼基部分通常為雜環鹼基。該等雜環鹼基之兩個最常見種類為嘌呤及嘧啶。核苷酸為另外包括與核苷之糖部分共價鍵聯之磷酸酯基的核苷。對於包括呋喃戊糖基糖之彼等核苷，磷酸酯基可與該糖之2'、3'或5'羥基部分鍵聯。在形成寡核苷酸時，磷酸酯基使相鄰核苷與彼此共價鍵聯以形成線性聚合化合物。繼而，此線性聚合結構之各別末端可進一步接合形成環狀結構，然而，開放線性結構一般較佳。在寡核苷酸結構內，磷酸酯基通常被視為形成寡核苷酸之核苷間主鏈。RNA及DNA之常見鍵或主鏈為3'-5'磷酸二酯鍵。

適用於本發明之較佳反義化合物之特定實例包括含有經修飾之主鏈或非天然核苷間鍵之寡核苷酸。如本說明書所定義，具有經修飾之主鏈之寡核苷酸包括在主鏈中保留磷原子之寡核苷酸及在主鏈中不具有磷原子之寡核苷酸。就本說明書而言及有時如此項技術中所提及，在核苷間主鏈中不具有磷原子之經修飾之寡核苷酸亦可視為寡核苷。

較佳經修飾之寡核苷酸主鏈包括例如具有常見3'-5'鍵之硫代磷酸酯、對掌性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、胺基烷基磷酸三酯、甲基膦酸酯及其他烷基膦酸酯(包括3'-伸烷基膦酸酯、5'-伸烷基膦酸酯及對掌性膦酸酯)、亞膦酸酯、胺基磷酸酯(包括3'-胺基胺基磷酸酯及胺基烷基胺基磷酸酯)、硫代胺基磷酸酯、硫代烷基膦酸酯、硫代烷基磷酸三酯、碲代磷酸酯及硼代磷酸酯，此等者之2'-5'鍵聯類似物，及具有反極性者，其中一或多個核

苷酸間鍵為3'-3'、5'-5'或2'-2'鍵。具有反極性之較佳寡核苷酸在3'-最末核苷酸間鍵處包含單一3'-3'鍵，亦即單一反向核苷殘基，其可能無鹼基(核鹼基丟失或經羥基替代)。亦包括各種鹽、混合鹽及游離酸形式。

教示上述含磷鍵之製備的代表性美國專利包括(但不限於)美國專利第3,687,808號、第4,469,863號、第4,476,301號、第5,023,243號、第5,177,196號、第5,188,897號、第5,264,423號、第5,276,019號、第5,278,302號、第5,286,717號、第5,321,131號、第5,399,676號、第5,405,939號、第5,453,496號、第5,455,233號、第5,466,677號、第5,476,925號、第5,519,126號、第5,536,821號、第5,541,306號、第5,550,111號、第5,563,253號、第5,571,799號、第5,587,361號、第5,194,599號、第5,565,555號、第5,527,899號、第5,721,218號、第5,672,697號及第5,625,050號，其中某些專利與本申請案共同擁有，且各專利以引用的方式併入本文中。

其中不包括磷原子之較佳經修飾之寡核苷酸主鏈具有由短鏈烷基或環烷基核苷間鍵、混合雜原子及烷基或環烷基核苷間鍵、或一或多個短鏈雜原子或雜環核苷間鍵形成之主鏈。此等主鏈包括具有以下者：N-嗎啉基鍵(部分自核苷之糖部分形成)；矽氧烷主鏈；硫化物、亞碲及碲主鏈；甲醯乙醯基(formacetyl)及硫代甲醯乙醯基(thioformacetyl)主鏈；亞甲基甲醯乙醯基及硫代甲醯乙醯基主鏈；核糖乙醯基主鏈；含烯烴之主鏈；胺基磺酸酯主

鏈；亞甲基亞胺基及亞甲基胍基主鏈；磺酸酯及磺醯胺主鏈；醯胺主鏈；及具有混合N、O、S及CH₂組成部分之其他主鏈。

教示上述寡核苷之製備的代表性美國專利包括(但不限於)美國專利第5,034,506號、第5,166,315號、第5,185,444號、第5,214,134號、第5,216,141號、第5,235,033號、第5,264,562號、第5,264,564號、第5,405,938號、第5,434,257號、第5,466,677號、第5,470,967號、第5,489,677號、第5,541,307號、第5,561,225號、第5,596,086號、第5,602,240號、第5,610,289號、第5,602,240號、第5,608,046號、第5,610,289號、第5,618,704號、第5,623,070號、第5,663,312號、第5,633,360號、第5,677,437號、第5,792,608號、第5,646,269號及第5,677,439號，其中某些專利與本申請案共同擁有，且各專利以引用的方式併入本文中。

在其他較佳寡核苷酸模擬物中，核苷酸單元之糖與核苷間鍵(亦即主鏈)經新穎基團置換。鹼基單元維持與適當核酸目標化合物雜交。一種此類寡聚化合物，亦即已顯示具有極佳雜交特性之寡核苷酸模擬物，稱作肽核酸(PNA)。在PNA化合物中，寡核苷酸之糖主鏈經含醯胺之主鏈、尤其胺基乙基甘胺酸主鏈置換。核鹼基保留且直接或間接結合於主鏈之醯胺部分之氮雜氮原子。教示PNA化合物之製備的代表性美國專利包括(但不限於)美國專利第5,539,082號、第5,714,331號及第5,719,262號，各專利以引用的方式併入本文中。PNA化合物之其他教示可見於Nielsen等人，

Science, 1991, 254, 1497-1500 中。

本發明之最佳實施例為上文提及之美國專利第 5,489,677 號之具有硫代磷酸酯主鏈之寡核苷酸及具有雜原子主鏈之寡核苷，及尤其 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{CH}_2-$ [稱為亞甲基(甲基亞胺基)或 MMI 主鏈]、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 及 $-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ [其中原生磷酸二酯主鏈以 $-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-$ 表示]；及上文提及之美國專利第 5,602,240 號之鹽胺主鏈。上文提及之美國專利第 5,034,506 號之具有 N-嗎啉基主鏈結構之寡核苷酸亦較佳。

經修飾之糖部分

經修飾之寡核苷酸亦可含有一或多個經取代之糖部分。舉例而言，呋喃糖基糖環可依許多方式修飾，包括經取代基取代、橋連形成雙環核酸「BNA」及 4'-O 經諸如 S 或 N(R) 之雜原子取代，如 Seth 等人之美國專利第 7,399,845 號所述，該專利藉此以全文引用的方式併入本文中。BNA 之其他實例描述於公開之國際專利申請案第 WO 2007/146511 號中，該案藉此以全文引用的方式併入本文中。

本發明之反義化合物可視情況含有一或多個具有經修飾之糖部分之核苷酸。糖修飾可賦予反義化合物以核酸酶穩定性、結合親和力或某種其他有利生物特性。核苷之呋喃糖基糖環可依許多方式修飾，包括(但不限於)：添加取代基，尤其在 2' 位置處；兩個非偕位環原子橋連形成雙環核酸(BNA)；及諸如 $-\text{S}-$ 、 $-\text{N}(\text{R})-$ 或 $-\text{C}(\text{R}_1)(\text{R}_2)-$ 之原子或基團

取代4'位置處之環氧。經修飾之糖包括(但不限於)：經取代之糖，尤其具有2'-F、2'-OCH₂(2'-OMe)或2'-O(CH₂)₂-OCH₃(2'-O-甲氧基乙基或2'-MOE)取代基之2'-經取代糖；及具有4'-(CH₂)_n-O-2'橋之雙環經修飾糖(BNA)，其中n=1或n=2。製備經修飾之糖之方法為熟習此項技術者所熟知。

在某些實施例中，2'-經修飾核苷具有雙環糖部分。在某些此類實施例中，雙環糖部分為呈 α 組態之D糖。在某些此類實施例中，雙環糖部分為呈 β 組態之D糖。在某些此類實施例中，雙環糖部分為呈 α 組態之L糖。在某些此類實施例中，雙環糖部分為呈 β 組態之L糖。

在某些實施例中，雙環糖部分包含介於2'碳原子與4'碳原子之間的橋基。在某些此類實施例中，橋基包含1至8個鍵聯雙自由基。在某些實施例中，雙環糖部分包含1至4個鍵聯雙自由基。在某些實施例中，雙環糖部分包含2個或3個鍵聯雙自由基。在某些實施例中，雙環糖部分包含2個鍵聯雙自由基。在某些實施例中，鍵聯雙自由基係選自-O-、-S-、-N(R₁)-、-C(R₁)(R₂)-、-C(R₁)=C(R₁)-、-C(R₁)=N-、-C(=NR₁)-、-Si(R₁)(R₂)-、-S(=O)₂-、-S(=O)-、-C(=O)-及-C(=S)-；其中各R₁及R₂獨立地為H、羥基、C₁-C₁₂烷基、經取代之C₁-C₁₂烷基、C₂-C₁₂烯基、經取代之C₂-C₁₂烯基、C₂-C₁₂炔基、經取代之C₂-C₁₂炔基、C₅-C₂₀芳基、經取代之C₅-C₂₀芳基、雜環基、經取代之雜環基、雜芳基、經取代之雜芳基、C₅-C₇脂環基、經取

代之C5-C7脂環基、鹵素、經取代之氧基(-O-)、胺基、經取代之胺基、疊氮基、羧基、經取代之羧基、醯基、經取代之醯基、CN、硫醇、經取代之硫醇、磺醯基(S(=O)₂-H)、經取代之磺醯基、硫氧基(S(=O)-H)或經取代之硫氧基；且各取代基獨立地為鹵素、C1-C12烷基、經取代之C1-C12烷基、C2-C12烯基、經取代之C2-C12烯基、C2-C12炔基、經取代之C2-C12炔基、胺基、經取代之胺基、醯基、經取代之醯基、C1-C12胺基烷基、C1-C12胺基烷氧基、經取代之C1-C12胺基烷基、經取代之C1-C12胺基烷氧基或保護基。

在一些實施例中，雙環糖部分在2'碳原子與4'碳原子之間與選自以下之雙自由基橋連： $-O-(CH_2)_p-$ 、 $-O-CH_2-$ 、 $-O-CH_2CH_2-$ 、 $-O-CH(\text{烷基})-$ 、 $-NH-(CH_2)_p-$ 、 $-N(\text{烷基})-(CH_2)_p-$ 、 $-O-CH(\text{烷基})-$ 、 $-(CH(\text{烷基}))-(CH_2)_p-$ 、 $-NH-O-(CH_2)_p-$ 、 $-N(\text{烷基})-O-(CH_2)_p-$ 或 $-O-N(\text{烷基})-(CH_2)_p-$ ，其中p為1、2、3、4或5且各烷基可進一步經取代。在某些實施例中，p為1、2或3。

在一個態樣中，該等橋基中之每一者獨立地為 $-[C(R_1)(R_2)]_n-$ 、 $-[C(R_1)(R_2)]_n-O-$ 、 $-C(R_1R_2)-N(R_1)-O-$ 或 $-C(R_1R_2)-O-N(R_1)-$ 。在另一態樣中，該等橋基中之每一者獨立地為4'-(CH₂)₃-2'、4'-(CH₂)₂-2'、4'-CH₂-O-2'、4'-(CH₂)₂-O-2'、4'-CH₂-O-N(R₁)-2'及4'-CH₂-N(R₁)-O-2'，其中各R₁獨立地為H、保護基或C1-C12烷基。

在具有經修飾之糖部分之核苷酸中，核鹼基部分(天

然、經修飾或其組合)維持與適當核酸目標雜交。

在一個實施例中，針對核酸目標之反義化合物包含一或多個具有經修飾之糖部分之核苷酸。在一較佳實施例中，經修飾之糖部分為2'-MOE。在其他實施例中，經2'-MOE修飾之核苷酸排列於間隔體基元中。

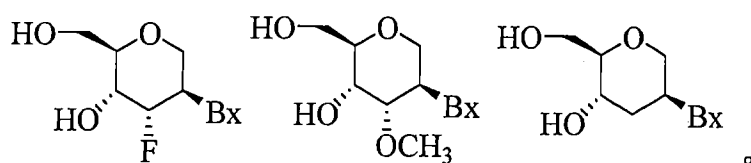
當前較佳之寡核苷酸在2'位置處包含以下之一：OH；
~~F；O-烷基、S-烷基或N-烷基；O-烯基、S-烯基或N-烯~~
~~基；O-炔基、S-炔基或N-炔基；或O-烷基-O-烷基，其中~~
~~烷基、烯基及炔基可為經取代或未經取代之C₁至C₁₀烷基~~
~~或C₂至C₁₀烯基及炔基。尤其較佳者為O[(CH₂)_nO]_mCH₃、~~
~~O(CH₂)_nOCH₃、O(CH₂)_nNH₂、O(CH₂)_nCH₃、O(CH₂)_nONH₂~~
~~及O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂，其中n及m為1至約10。其他~~
~~較佳寡核苷酸在2'位置處包含以下之一：C₁至C₁₀低碳烷~~
~~基、經取代之低碳烷基、烯基、炔基、烷芳基、芳烷基、~~
~~O-烷芳基或O-芳烷基、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、~~
~~CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ONO₂、NO₂、N₃、NH₂、~~
~~雜環烷基、雜環烷芳基、胺基烷基胺基、聚烷基胺基、經~~
~~取代之矽烷基、RNA裂解基團、報導基團、嵌入劑、改良~~
~~寡核苷酸之藥物動力學特性之基團，或改良寡核苷酸之藥~~
~~效學特性之基團，及具有類似特性之其他取代基。較佳修~~
~~飾包括2'-甲氧基乙氧基(2'-O-CH₂CH₂OCH₃，亦稱為2'-O-~~
~~(2-甲氧基乙基)或2'-MOE)(Martin等人，Helv. Chim. Acta,~~
~~1995, 78, 486-504)，亦即烷氧基烷氧基。另一較佳修飾包~~
~~括2'-二甲基胺氧基乙氧基，亦即O(CH₂)₂ON(CH₃)₂基團，~~

亦稱為2'-DMAOE；及2'-二甲基胺基乙氧基乙氧基(在此項技術中亦稱為2'-O-二甲基胺基乙氧基乙基或2'-DMAEOE)，亦即2'-O--CH₂--O--CH₂--N(CH₂)₂。另一較佳修飾包括雙環核酸(亦稱作鎖核酸(LNA))，其中2'-羥基與糖環之3'或4'碳原子鍵聯，藉此形成雙環糖部分。鍵聯較佳為使2'氧原子與4'碳原子橋連之亞甲基(--CH₂--)_n基團，其中n為1或2，包括α-L-亞甲基氧基(4'-CH₂-O-2')BNA、β-D-亞甲基氧基(4'-CH₂-O-2')BNA及伸乙基氧基(4'-(CH₂)₂-O-2')BNA。雙環經修飾糖亦包括(6'S)-6'甲基BNA、胺氧基(4'-CH₂-O-N(R)-2')BNA、氧胺基(4'-CH₂-N(R)-O-2')BNA，其中R獨立地為H、保護基或C1-C12烷基。LNA亦與互補DNA、RNA或具有高熱親和力之LNA形成雙螺旋。圓二色性(CD)光譜顯示涉及經完全修飾之LNA(尤其LNA:RNA)之雙螺旋結構上類似於A型RNA:RNA雙螺旋。LNA:DNA雙螺旋之核磁共振(NMR)檢查確認LNA單體之3'-內部構形。亦已展示雙股DNA之識別，其表明由LNA進行股侵入。錯配序列之研究顯示LNA遵守華特生-克里克鹼基配對法則(Watson-Crick base pairing rule)，與相應未經修飾之參考股相比具有一般改良之選擇性。

LNA中之2'-羥基與糖環之4'碳原子鍵聯，藉此形成2'-C,4'-C-氧基亞甲基鍵聯，從而形成雙環糖部分。鍵聯可為使2'氧原子與4'碳原子橋連之亞甲基(-CH₂-)_n基團，其中n為1或2(Singh等人，Chem. Commun., 1998, 4, 455-456)。LNA及LNA類似物與互補DNA及RNA一起展現極高雙螺旋

熱穩定性($T_m=+3$ 至 $+10^{\circ}\text{C}$)，對3'-核酸外切降解展現穩定性，且展現良好溶解度特性。其他較佳橋基包括2'-去氧-2'- CH_2OCH_2 -4'橋。LNA及其製備描述於公開之國際專利申請案第WO 98/39352號及第WO 99/14226號。

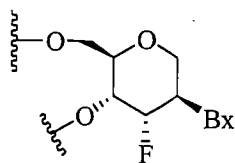
其他較佳修飾包括2'-甲氧基(2'- $\text{O}-\text{CH}_3$)、2'-胺基丙氧基(2'- $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$)、2'-烯丙基(2'- $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$)、2'-O-烯丙基(2'- $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$)及2'-氟(2'-F)。2'-修飾可處於阿拉伯糖(上)位置或核糖(下)位置。較佳2'-阿拉伯糖修飾為2'-F。類似修飾亦可在寡核苷酸上之其他位置處進行，尤其其3'端核苷酸上或2'-5'鍵聯寡核苷酸中之糖之3'位置及5'端核苷酸之5'位置。寡核苷酸亦可具有糖模擬物或替代物(有時稱作DNA類似物)，諸如替代呋喃戊糖基糖之環丁基部分。教示該等經修飾之糖結構之製備的代表性美國專利包括(但不限於)美國專利第4,981,957號、第5,118,800號、第5,319,080號、第5,359,044號、第5,393,878號、第5,446,137號、第5,466,786號、第5,514,785號、第5,519,134號、第5,567,811號、第5,576,427號、第5,591,722號、第5,597,909號、第5,610,300號、第5,627,053號、第5,639,873號、第5,646,265號、第5,658,873號、第5,670,633號、第5,792,747號及第5,700,920號，其中某些專利與本申請案共同擁有，且各專利以全文引用的方式併入本文中。在某些實施例中，核苷係藉由用諸如N-嗎啉基環、環己烯基環、環己基環或四氫吡喃基環之替代性環系統替代核糖基環而修飾，該四氫吡喃基環為諸如具有下式之一者：



許多其他雙環及三環糖替代性環系統在此項技術中亦為已知的，其可用於修飾核苷以供併入反義化合物中(參見例如評論文章：Leumann, Christian J.)。該等環系統可經歷各種額外取代以增強活性。

在本發明之一個實施例中，化合物包含至少一個經四氫嘧啶修飾之核苷，其中四氫嘧啶環替代呋喃糖環。

在本發明之另一實施例中，至少一個經四氫嘧啶修飾之核苷中之每一者具有以下結構：



其中Bx為視情況經保護之雜環鹼基部分。

經修飾之核鹼基

寡核苷酸亦可包括核鹼基(在此項技術中常常簡稱為「鹼基」)修飾或取代。核鹼基修飾或取代結構上可區別於天然產生或合成之未經修飾核鹼基，而功能上可與其互換。天然核鹼基與經修飾之核鹼基均能夠參與氫鍵結。該等核鹼基修飾可賦予反義化合物以核酸酶穩定性、結合親和力或某種其他有利生物特性。經修飾之核鹼基包括合成及天然核鹼基，諸如5-甲基胞嘧啶(5-me-C)。某些核鹼基取代，包括5-甲基胞嘧啶取代，尤其適用於增加反義化合物對目標核酸之結合親和力。舉例而言，5-甲基胞嘧啶取

代已顯示使核酸雙螺旋穩定性增加0.6-1.2°C (Sanghvi, Y.S., Crooke, S.T. 及 Lebleu, B. 編, Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, 第276-278頁)。

其他未經修飾之核鹼基包括5-羥甲基胞嘧啶；黃嘌呤；次黃嘌呤；2-胺基腺嘌呤；腺嘌呤及鳥嘌呤之6-甲基及其他烷基衍生物；腺嘌呤及鳥嘌呤之2-丙基及其他烷基衍生物；2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶及2-硫胞嘧啶；5-鹵尿嘧啶及胞嘧啶；5-丙炔基($-C\equiv C-CH_3$)尿嘧啶及胞嘧啶及嘧啶鹼基之其他炔基衍生物；6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶及胸腺嘧啶；5-尿嘧啶(假尿嘧啶)；4-硫尿嘧啶；8-鹵基、8-胺基、8-硫醇、8-硫烷基、8-羥基及其他8-經取代腺嘌呤及鳥嘌呤；5-鹵基(尤其5-溴)、5-三氟甲基及其他5-經取代尿嘧啶及胞嘧啶；7-甲基鳥嘌呤及7-甲基腺嘌呤；2-F-腺嘌呤；2-胺基-腺嘌呤；8-氮鳥嘌呤及8-氮腺嘌呤；7-去氮鳥嘌呤及7-去氮腺嘌呤及3-去氮鳥嘌呤及3-去氮腺嘌呤。

雜環鹼基部分亦可包括嘌呤或嘧啶鹼基經其他雜環置換者，例如7-去氮-腺嘌呤、7-去氮鳥苷、2-胺基吡啶及2-吡啶酮。尤其適用於增加反義化合物之結合親和力之核鹼基包括5-經取代嘧啶、6-氮嘧啶及N-2、N-6及O-6經取代嘌呤，包括2-胺基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶及5-丙炔基胞嘧啶。

在一個實施例中，針對CTGF核酸目標之反義化合物包含一或多個經修飾之核鹼基。在另一實施例中，針對

CTGF 核酸目標之間隔加寬反義寡核苷酸包含一或多個經修飾之核鹼基。在一些實施例中，經修飾之核鹼基為5-甲基胞嘧啶。在其他實施例中，各胞嘧啶為5-甲基胞嘧啶。

如本文所用之「未經修飾」或「天然」核鹼基包括嘌呤鹼基腺嘌呤(A)及鳥嘌呤(G)，及嘧啶鹼基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)及尿嘧啶(U)。經修飾之核鹼基包括其他合成及天然核鹼基，諸如5-甲基胞嘧啶(5-me-C)；5-羥甲基胞嘧啶；黃嘌呤；次黃嘌呤；2-胺基腺嘌呤；腺嘌呤及鳥嘌呤之6-甲基及其他烷基衍生物；腺嘌呤及鳥嘌呤之2-丙基及其他烷基衍生物；2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶及2-硫胞嘧啶；5-鹵尿嘧啶及胞嘧啶；5-丙炔基($-C\equiv C-CH_3$)尿嘧啶及胞嘧啶及嘧啶鹼基之其他炔基衍生物；6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶及胸腺嘧啶；5-尿嘧啶(假尿嘧啶)；4-硫尿嘧啶；8-鹵基、8-胺基、8-硫醇、8-硫烷基、8-羥基及其他8-經取代腺嘌呤及鳥嘌呤；5-鹵基(尤其5-溴)、5-三氟甲基及其他5-經取代尿嘧啶及胞嘧啶；7-甲基鳥嘌呤及7-甲基腺嘌呤；2-F-腺嘌呤；2-胺基-腺嘌呤；8-氮鳥嘌呤及8-氮腺嘌呤；7-去氮鳥嘌呤及7-去氮腺嘌呤及3-去氮鳥嘌呤及3-去氮腺嘌呤。其他經修飾之核鹼基包括三環嘧啶，諸如啡噁嗪胞苷(1H-嘧啶并[5,4-b][1,4]苯并噁嗪-2(3H)-酮)、啡噁嗪胞苷(1H-嘧啶并[5,4-b][1,4]苯并噁嗪-2(3H)-酮)；G-鉗狀物，諸如經取代之啡噁嗪胞苷(例如9-(2-胺基乙氧基)-H-嘧啶并[5,4-b][1,4]苯并噁嗪-2(3H)-酮)、卡唑胞苷(2H-嘧啶并[4,5-b]吡啶-2-酮)、吡啶并吡啶胞苷(H-吡啶并

[3',2':4,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-酮)。經修飾之核鹼基亦可包括嘌呤或嘧啶鹼基經其他雜環置換之核鹼基，例如7-去氮-腺嘌呤、7-去氮鳥苷、2-氨基吡啶及2-吡啶酮。其他核鹼基包括美國專利第3,687,808號中所述之核鹼基；The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering，第858-859頁，Kroschwitz, J. I.編，John Wiley & Sons, 1990中所揭示之核鹼基；由Englisch等人，Angewandte Chemie，國際版，1991，30，613揭示之核鹼基；及由Sanghvi, Y. S.，第15章，Antisense Research and Applications，第289-302頁，Crooke, S. T.及Lebleu, B.編，CRC Press, 1993揭示之核鹼基。此等核鹼基中之某些尤其適用於增加本發明寡聚化合物之結合親和力。此等核鹼基包括5-經取代嘧啶、6-氮嘧啶及N-2、N-6及O-6經取代嘌呤，包括2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶及5-丙炔基胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶取代已顯示使核酸雙螺旋穩定性增加0.6-1.2°C (Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T.及Lebleu, B.編，Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993，第276-278頁)，且為目前較佳之鹼基取代，當與2'-O-甲氧基乙基糖修飾組合時尤甚。

教示上述經修飾核鹼基中之某些核鹼基以及其他經修飾核鹼基之製備的代表性美國專利包括(但不限於)上述美國專利第3,687,808號；以及美國專利第4,845,205號、第5,130,302號、第5,134,066號、第5,175,273號、第5,367,066號、第5,432,272號、第5,457,187號、第5,459,255號、第

5,484,908 號、第 5,502,177 號、第 5,525,711 號、第 5,552,540 號、第 5,587,469 號、第 5,594,121 號、第 5,596,091 號、第 5,614,617 號、第 5,645,985 號、第 5,830,653 號、第 5,763,588 號、第 6,005,096 號及第 5,681,941 號，其中某些專利與本申請案共同擁有，且各專利以引用的方式併入本文中；及美國專利第 5,750,692 號，其所有人與本申請案之所有人相同，且亦以引用的方式併入本文中。

反義化合物基元

在本發明之某一實施例中，化合物包含經修飾之寡核苷酸，其包含：(a)由鍵聯去氧核苷組成之間隔區段，較佳由十三個鍵聯經修飾去氧核苷組成；(b)由鍵聯經修飾核苷組成之 5'側翼區段，較佳由兩個鍵聯經修飾核苷組成；及(c)由鍵聯經修飾核苷組成之 3'側翼區段，較佳由五個鍵聯核苷組成；其中間隔區段位於 5'側翼區段與 3'側翼區段之間，且其中各側翼區段內各經修飾核苷包含經修飾之糖，較佳包含 2'-O-甲氧基乙基糖；且其中各核苷間鍵為硫代磷酸酯鍵。

反義化合物中經修飾核苷酸之此等圖案稱為基元。此等基元賦予反義化合物以如下特性：增強抑制活性，增加對目標核酸之結合親和力，或增加對活體內核酸酶降解之抗性。

在某些實施例中，針對 CTGF 核酸目標之反義化合物具有排列成圖案或基元之經化學修飾之次單元，以賦予反義化合物以如下特性：諸如抑制活性增強、對目標核酸之結

合親和力增加，或對活體內核酸酶降解之抗性。

嵌合反義化合物通常含有至少一個如下區域：其經修飾以賦予對核酸酶降解之抗性增加、細胞吸收增加、對目標核酸之結合親和力增加及/或抑制活性增加。嵌合反義化合物之第二區域可視情況充當使RNA:DNA雙螺旋之RNA股裂解之細胞核酸內切酶RNase H的受質。

具有間隔體基元之反義化合物視為嵌合反義化合物。在間隔體中，具有複數個支持RNase H裂解之核苷酸之內部區域位於具有複數個化學上不同於內部區域之核苷之核苷酸的外部區域之間。在具有間隔體基元之反義寡核苷酸之狀況下，間隔區段一般充當核酸內切酶裂解之受質，而側翼區段包含經修飾之核苷。在一較佳實施例中，間隔體之區域係由包含各不同區域之糖部分之類型來區分。在一些實施例中，用於區分間隔體區域之糖部分之類型可包括 β -D-核糖核苷、 β -D-去氧-核糖核苷、2'-經修飾核苷(該等2'-經修飾核苷可尤其包括2'-MOE及2'-O-CH₃)，及經雙環糖修飾之核苷(該等經雙環糖修飾之核苷可包括具有4'-(CH₂)_n-O-2'橋之核苷，其中n=1或n=2)。各不同區域較佳包含均勻糖部分。翼-間隔-翼基元常常描述為「X-Y-Z」，其中「X」表示5'側翼區域之長度，「Y」表示間隔區域之長度，且「Z」表示3'側翼區域之長度。本文所述之反義化合物中之任一者可具有間隔體基元。在一些實施例中，X與Z相同；在其他實施例中，X與Z不同。在一較佳實施例中，Y介於8個與15個核苷酸之間。X、Y或Z可為1、2、

3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30個或30個以上核苷酸中之任一者。因此，本發明之間隔體包括(但不限於)例如2-13-5、5-10-5、4-8-4、4-12-3、4-12-4、3-14-3、2-16-2、1-18-1、3-10-3、2-10-2、1-10-1或2-8-2。

在一些實施例中，呈「側翼體(wingmer)」基元形式之反義化合物具有翼-間隔或間隔-翼組態，亦即，如上文針對間隔體組態所述之X-Y或Y-Z組態。因此，本發明之側翼體組態包括(但不限於)例如5-10、8-4、4-12、12-4、3-14、16-2、18-1、10-3、2-10、1-10或8-2。

在一個實施例中，針對核酸目標之反義化合物具有2-13-5間隔體基元。

在一些實施例中，針對CTGF核酸目標之反義化合物具有間隔加寬基元。在其他實施例中，針對CTGF核酸目標之反義寡核苷酸具有間隔加寬基元。

在一個實施例中，針對CTGF核酸目標之間隔加寬反義寡核苷酸具有位於三個經化學修飾之核苷之側翼區段之間的十四個2'-去氧核糖核苷酸之間隔區段。在一個實施例中，化學修飾包含2'-糖修飾。在另一實施例中，化學修飾包含2'-MOE糖修飾。

具有間隔體基元之反義化合物視為「嵌合」反義化合物或「嵌合體」，其含有兩個或兩個以上化學上不同之區域，各區域由至少一個單體單元，亦即在寡核苷酸化合物之狀況下的核苷酸構成。此等寡核苷酸通常含有至少一個

如下區域：其經修飾以賦予對核酸酶降解之抗性增加、細胞吸收增加、對目標核酸之結合親和力增加及/或抑制活性增加。未必既定化合物中之所有位置皆均勻地經修飾，且實際上一個以上前述修飾可併入單一化合物中或甚至寡核苷酸內之單一核苷處。

寡核苷酸之另一區域可充當能夠使 RNA:DNA 或 RNA:RNA 雜交體裂解之酶的受質。舉例而言，RNase H 為使 RNA:DNA 雙螺旋之 RNA 股裂解之細胞核酸內切酶。因此，RNase H 之活化引起 RNA 目標裂解，藉此大大增強寡核苷酸抑制基因表現之效率。因此，當利用嵌合寡核苷酸時，與雜交相同目標區域之硫代磷酸酯去氧寡核苷酸相比，以較短寡核苷酸常常可獲得類似結果。RNA 目標之裂解常規上可藉由凝膠電泳及必要時藉由此項技術中已知之相關核酸雜交技術來偵測。

本發明之嵌合反義化合物可成形為如上文所述之兩個或兩個以上寡核苷酸、經修飾之寡核苷酸、寡核苷及/或寡核苷酸模擬物之複合結構。該等化合物在此項技術中亦已稱作雜交體或間隔體。教示該等雜交結構之製備的代表性美國專利包括(但不限於)美國專利第 5,013,830 號、第 5,149,797 號、第 5,220,007 號、第 5,256,775 號、第 5,366,878 號、第 5,403,711 號、第 5,491,133 號、第 5,565,350 號、第 5,623,065 號、第 5,652,355 號、第 5,652,356 號及第 5,700,922 號，其中某些專利與本申請案共同擁有，且各專利以全文引用的方式併入本文中。

在具有間隔體基元之反義寡核苷酸之狀況下，間隔區段一般充當核酸內切酶裂解之受質，而側翼區段包含經修飾之核苷。在一較佳實施例中，間隔體之區域係由包含各不同區域之糖部分之類型來區分。用於區分間隔體區域之糖部分之類型可包括 β -D-核糖核苷、 β -D-去氧核糖核苷、2'-經修飾核苷(該等2'-經修飾核苷可包括2'-MOE)，及經雙環糖修飾之核苷。

本發明寡核苷酸之另一修飾涉及與寡核苷酸之一或多個增強寡核苷酸之活性、細胞分佈或細胞吸收之部分或結合物化學鍵聯。本發明之化合物可包括與諸如一級羥基或二級羥基共價結合之官能基的結合基。本發明之結合基包括嵌入劑、報導分子、聚胺、聚醯胺、聚乙二醇、聚醚、增強寡聚物之藥效學特性之基團及增強寡聚物之藥物動力學特性之基團。典型結合基包括膽固醇、脂質、磷脂、生物素、吩嗪、葉酸鹽、啡啶、蔥醌、吡啶、螢光素、若丹明(rhodamine)、香豆素及染料。在本發明之情形中，增強藥效學特性之基團包括改良寡聚物吸收，增強寡聚物對降解之抗性及/或增強與RNA之序列特異性雜交的基團。在本發明之情形中，增強藥物動力學特性之基團包括改良寡聚物吸收、分佈、代謝或排出之基團。代表性結合基揭示於1992年10月23日申請之國際專利申請案PCT/US92/09196中，該案之全部揭示內容以引用的方式併入本文中。結合部分包括(但不限於)脂質部分，諸如膽固醇部分(Letsinger等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556)；

膽酸(Manoharan等人, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053-1060); 硫醚, 例如己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等人, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309; Manoharan等人, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770); 硫代膽固醇(Oberhauser等人, Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538); 脂族鏈, 例如十二烷二醇或十一烷基殘基(Saison-Behmoaras等人, EMBO J., 1991, 10, 1111-1118; Kabanov等人, FEBS Lett., 1990, 259, 327-330; Svinarchuk等人, Biochimie, 1993, 75, 49-54); 磷脂, 例如二-十六碳烷基-外消旋-甘油或1,2-二-O-十六碳烷基-外消旋-甘油-3-H-磷酸三乙基-銨(Manoharan等人, Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654; Shea等人, Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783); 聚胺或聚乙二醇鏈(Manoharan等人, Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973); 或金剛烷乙酸(Manoharan等人, Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654); 十八烷醯基部分(Mishra等人, Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237); 或十八胺或己基胺基-羧基-氧基膽固醇部分(Crooke等人, J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937)。本發明之寡核苷酸亦可與活性原料藥結合, 該等原料藥為例如阿司匹靈(aspirin)、華法林(warfarin)、苯基丁氮酮(phenylbutazone)、布洛芬(ibuprofen)、舒洛芬(suprofen)、芬布芬(fenbufen)、酮洛芬(ketoprofen)、(S)-(+)-普拉洛芬(pranoprofen)、卡洛芬(carprofen)、丹磺醯基肌胺酸(dansylsarcosine)、2,3,5-

三碘苯甲酸、氟芬那酸(flufenamic acid)、亞葉酸(folinic acid)、苯并噻二嗪(benzothiadiazide)、氯噻嗪(chlorothiazide)、二氮呋(diazepine)、吲哚美辛(indomethicin)、巴比妥酸鹽(barbiturate)、頭孢菌素(cephalosporin)、磺胺藥(sulfa drug)、抗糖尿病劑、抗細菌劑或抗生素。寡核苷酸-藥物結合物及其製備描述於美國專利申請案第09/334,130號(1999年6月15日申請)中，該案以全文引用的方式併入本文中。

教示該等寡核苷酸結合物之製備的代表性美國專利包括(但不限於)美國專利第4,828,979號、第4,948,882號、第5,218,105號、第5,525,465號、第5,541,313號、第5,545,730號、第5,552,538號、第5,578,717號、第5,580,731號、第5,580,731號、第5,591,584號、第5,109,124號、第5,118,802號、第5,138,045號、第5,414,077號、第5,486,603號、第5,512,439號、第5,578,718號、第5,608,046號、第4,587,044號、第4,605,735號、第4,667,025號、第4,762,779號、第4,789,737號、第4,824,941號、第4,835,263號、第4,876,335號、第4,904,582號、第4,958,013號、第5,082,830號、第5,112,963號、第5,214,136號、第5,082,830號、第5,112,963號、第5,214,136號、第5,245,022號、第5,254,469號、第5,258,506號、第5,262,536號、第5,272,250號、第5,292,873號、第5,317,098號、第5,371,241號、第5,391,723號、第5,416,203號、第5,451,463號、第5,510,475號、第5,512,667號、第5,514,785號、第5,565,552號、第5,567,810號、第

5,574,142 號、第 5,585,481 號、第 5,587,371 號、第 5,595,726 號、第 5,597,696 號、第 5,599,923 號、第 5,599,928 號及第 5,688,941 號，其中某些專利與本申請案共同擁有，且各專利以引用的方式併入本文中。

在本發明之另一實施例中，化合物包含由 20 個鍵聯核苷組成之經修飾之寡核苷酸。

在本發明之一較佳實施例中，化合物所包含之核鹼基序列為 SEQ ID NO: 39、40、45、52 及 166 所示之序列。

在本發明之一個實施例中，組合物包含包含鍵聯核苷之經修飾之寡核苷酸，其核鹼基序列為 SEQ ID NO: 28、30、39、40、43、44、45、50、51、52、56、78、125 及 166 之一所示之序列，或其鹽，及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。醫藥學上可接受之鹽之實例為熟習此項技術者所熟知。

在本發明之一個實施例中，反義化合物在 CTGF 序列上之一定核苷酸範圍內互補。在某些實施例中，反義化合物在 SEQ ID NO: 9 之核苷酸 718-751、1388-1423、1457-1689、2040-2069、2120-2147 或 2267-2301 之範圍內互補。在某一實施例中，反義化合物在 SEQ ID NO: 10 之核苷酸 2728-2797 之範圍內互補。以此等範圍為目標之化合物展示至少 50% 抑制 (亦即 SEQ ID NO: 15、29、31、42、46-49、53、72、81、82、152-154、164 及 165)。表 1 中所列之某些目標位點亦展示至少 50% 抑制 (亦即 SEQ ID NO: 12、20、33、34、76、107、129、132、134、136 及 146)。在

某些實施例中，反義化合物在SEQ ID NO: 9之核苷酸553-611、1394-1423、1469-1508、1559-1605、1659-1689或2100-2129及SEQ ID NO: 10之核苷酸2623-2647之範圍內互補。以該範圍為目標之化合物展示至少60%抑制(亦即SEQ ID NO: 27、28、38、39、40、43、44、45、50、51、52、54、55、56、77、78、79、138及139)。表1中所列之某些其他目標位點亦展示至少60%抑制(亦即SEQ ID NO: 24、30、61、63、67、69、73、86、125、128及161)。在某些實施例中，反義化合物在核苷酸1399-1423之範圍內互補。以該範圍為目標之化合物展示至少70%抑制(亦即SEQ ID NO: 39及40)。表1中所列之某些目標位點亦展示至少70%抑制(亦即SEQ ID NO: 28、30、44、45、51、56、78、128及138)。表1中所列之一個目標位點亦展示至少80%抑制(亦即SEQ ID NO: 44)。在某些實施例中，當反義化合物以50 nm之濃度傳遞至HuVec細胞時達成抑制百分比。關於更多細節，參考下文提供之實例8。

在組合物之一實施例中，經修飾之寡核苷酸為單股或雙股寡核苷酸。在本發明之另一實施例中，包含經修飾之寡核苷酸，其中該經修飾之寡核苷酸由20個鍵聯核苷組成。

在本發明之另一實施例中，提供一種抑制細胞或組織中結締組織生長因子表現之方法，其包含使該細胞或組織與相關化合物在抑制結締組織生長因子表現之條件下接觸。

反義寡核苷酸可與醫藥學上可接受之活性及/或惰性物質組合，以供製備醫藥組合物或調配物。組合物及調配醫

藥組合物之方法視許多準則而定，包括(但不限於)投藥途徑、疾病程度或欲投與之劑量。

針對核酸目標之反義化合物可藉由組合該反應化合物與適合之醫藥學上可接受之稀釋劑或載劑而在醫藥組合物中使用。醫藥學上可接受之稀釋劑包括磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。PBS為適合用於欲非經腸傳遞之組合物中之稀釋劑。因此，在一個實施例中，本文所述之方法中採用包含針對核酸目標之反義化合物及醫藥學上可接受之稀釋劑的醫藥組合物。在一個實施例中，醫藥學上可接受之稀釋劑為PBS。在另一實施例中，醫藥學上可接受之稀釋劑為醫藥級鹽水或醫藥級PBS。在其他實施例中，反義化合物為反義寡核苷酸。

包含反義化合物之醫藥組合物涵蓋任何醫藥學上可接受之鹽、酯、或該等酯之鹽、或任何其他寡核苷酸，其在投與動物(包括人類)時，能夠(直接或間接)提供其生物活性代謝物或殘基。因此，舉例而言，亦揭示反義化合物醫藥學上可接受之鹽、前藥、該等前藥之醫藥學上可接受之鹽，及其他生物等效物。適合之醫藥學上可接受之鹽包括(但不限於)鈉鹽及鉀鹽。

前藥可包括在反義化合物之一端或兩端處併入其他核苷，其在體內由內源性核酸酶裂解，以形成活性反義化合物。詳言之，本發明寡核苷酸之前藥型式係根據1993年12月9日公開之Gosselin等人之WO 93/24510、或WO 94/26764及Imbach等人之美國專利第5,770,713號中所揭示

之方法製備成 SATE [(S-乙醯基-2-硫乙基)磷酸鹽]衍生物。

術語「醫藥學上可接受之鹽」係指本發明化合物之生理學上及醫藥學上可接受之鹽：亦即，保留母體化合物所要之生物活性且不會賦予其不合需要之毒理學作用之鹽。

醫藥學上可接受之鹼加成鹽係用金屬或胺，諸如鹼金屬及鹼土金屬或有機胺形成。用作陽離子之金屬之實例為鈉、鉀、鎂、鈣及其類似物。適合胺之實例為N,N'-二苄基乙二胺、氯普魯卡因(chloroprocaine)、膽鹼、二乙醇胺、二環己胺、乙二胺、N-甲基葡糖胺及普魯卡因(procaine)(參見例如 Berge 等人，「Pharmaceutical Salts」，J. of Pharma Sci., 1977, 66, 1-19)。該等酸性化合物之鹼加成鹽係藉由依習知方式使游離酸形式與足量之所要鹼接觸以產生鹽來製備。游離酸形式可藉由依習知方式使鹽形式與酸接觸且分離游離酸而再生。游離酸形式與其各別鹽形式之微小區別在於某些物理特性，諸如於極性溶劑中之溶解度，但在其他方面就本發明而言，該等鹽與其各別游離酸等效。如本文所用之「醫藥加成鹽」包括本發明組合物之組分之一之酸形式的醫藥學上可接受之鹽。此等鹽包括胺之有機或無機酸鹽。較佳酸鹽為鹽酸鹽、乙酸鹽、水楊酸鹽、硝酸鹽及磷酸鹽。其他適合之醫藥學上可接受之鹽為熟習此項技術者所熟知且包括多種無機及有機酸之鹼性鹽，諸如與以下無機酸之鹽：諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸或磷酸；與以下有機羧酸、磺酸、硫代酸或磷代酸或N-經取代胺磺酸之鹽：例如乙酸、丙酸、乙醇酸、丁二酸、順丁

烯二酸、羥基順丁烯二酸、甲基順丁烯二酸、反丁烯二酸、蘋果酸、酒石酸、乳酸、草酸、葡萄糖酸、葡萄糖二酸、葡糖醛酸、檸檬酸、苯甲酸、肉桂酸、杏仁酸、水楊酸、4-氨基水楊酸、2-苯氧基苯甲酸、2-乙醯氧基苯甲酸、恩波酸(embonic acid)、菸鹼酸或異菸鹼酸；及與以下胺基酸之鹽：諸如在自然界中與合成蛋白質有關之20種 α -胺基酸，例如麩胺酸或天冬胺酸；以及與以下酸之鹽：苯基乙酸、甲烷磺酸、乙烷磺酸、2-羥基乙烷磺酸、乙烷-1,2-二磺酸、苯磺酸、4-甲基苯磺酸、萘-2-磺酸、萘-1,5-二磺酸、2-磷酸甘油酸或3-磷酸甘油酸、葡萄糖-6-磷酸、N-環己基胺磺酸(形成環己胺基磺酸鹽)；或與諸如抗壞血酸之其他酸性有機化合物之鹽。化合物之醫藥學上可接受之鹽亦可用醫藥學上可接受之陽離子製備。適合之醫藥學上可接受之陽離子為熟習此項技術者所熟知，且包括鹼金屬、鹼土金屬、銨及四級銨陽離子。亦可能為碳酸鹽或碳酸氫鹽。

對於寡核苷酸，醫藥學上可接受之鹽之較佳實例包括(但不限於)(a)與諸如鈉、鉀、銨、鎂、鈣之陽離子、諸如精胺及亞精胺之聚胺等形成之鹽；(b)與以下無機酸形成之酸加成鹽：例如鹽酸、氫溴酸、硫酸、磷酸、硝酸及其類似酸；(c)與以下有機酸形成之鹽：諸如乙酸、草酸、酒石酸、丁二酸、順丁烯二酸、反丁烯二酸、葡萄糖酸、檸檬酸、蘋果酸、抗壞血酸、苯甲酸、鞣酸、棕櫚酸、褐藻酸、聚麩胺酸、萘磺酸、甲烷磺酸、對甲苯磺酸、萘二磺

酸、聚半乳糖醛酸及其類似酸；及(d)自諸如氯、溴及碘之元素陰離子形成之鹽。

在本發明之某一實施例中，醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑為組合物中缺乏藥理學活性，但在醫藥學上為必需的或適宜作為用於傳遞一或多種核酸至人類或非人類動物之溶劑、懸浮劑或任何其他醫藥惰性媒劑的成分。醫藥載劑為熟習此項技術者所熟知。

載體

某些本發明組合物亦將載體化合物併入配方中。如本文所用之「載體化合物」或「載體」可指代核酸或其類似物，其呈惰性(亦即本身不具有生物活性)，但由活體內過程而識別為核酸，該等過程藉由例如使生物活性核酸降解或促進其自循環中移除而降低具有生物活性之核酸的生物可用性。核酸與載體化合物，通常與過量之後一種物質之共同投與會使得肝、腎或其他外循環儲集器中回收之核酸量實質性降低，據推測係歸因於載體化合物與核酸之間針對共同受體之競爭。舉例而言，部分硫代磷酸酯寡核苷酸當與聚核苷酸、硫酸葡聚糖、聚胞苷酸或4-乙醯氨基-4'異硫氰基-芪-2,2'-二磺酸共同投與時，在肝組織中之回收率可降低(Miyao等人，Antisense Res. Dev., 1995, 5, 115-121；Takakura等人，Antisense & Nucl. Acid Drug Dev., 1996, 6, 177-183)。

賦形劑

與載體化合物成對比，「醫藥載劑」或「賦形劑」為用

於傳遞一或多種核酸至動物之醫藥學上可接受之溶劑、懸浮劑或任何其他藥理惰性媒劑。賦形劑可為液體或固體，且以腦海中計劃之投藥方式來選擇，以當與既定醫藥組合物之核酸及其他組分組合時提供所要鬆密度、稠度等。典型醫藥載劑包括(但不限於)黏合劑(例如預膠凝化玉米澱粉、聚乙烯吡咯啉酮或羥丙基甲基纖維素等)；填充劑(例如乳糖及其他糖、微晶纖維素、果膠、明膠、硫酸鈣、乙基纖維素、聚丙烯酸酯或磷酸氫鈣等)；潤滑劑(例如硬脂酸鎂、滑石、矽石、膠態二氧化矽、硬脂酸、金屬硬脂酸鹽、氫化植物油、玉米澱粉、聚乙二醇、苯甲酸鈉、乙酸鈉等)；崩解劑(例如澱粉、乙醇酸澱粉鈉等)；及濕潤劑(例如月桂基硫酸鈉等)。

適合經腸投藥且不與核酸發生有害反應之醫藥學上可接受之有機或無機賦形劑亦可用於調配本發明組合物。適合之醫藥學上可接受之載劑包括(但不限於)水、鹽溶液、醇、聚乙二醇、明膠、乳糖、直鏈澱粉、硬脂酸鎂、滑石、矽酸、黏性石蠟、羥甲基纖維素、聚乙烯吡咯啉酮及其類似物。

用於局部投與核酸之調配物可包括無菌及非無菌水溶液、於諸如醇之常用溶劑中之非水溶液，或核酸於液體或固體油基中之溶液。溶液亦可含有緩衝劑、稀釋劑及其他適合添加劑。可利用適合經腸投藥且不與核酸發生有害反應之醫藥學上可接受之有機或無機賦形劑。

在本發明之一個實施例中，組合物包含經修飾之寡核苷

酸，其包含單股或雙股寡核苷酸，且其中該經修飾之寡核苷酸由20個鍵聯核苷組成。

在本發明之另一實施例中，涉及一種抑制細胞或組織中結締組織生長因子表現之方法，其包含使該細胞或組織與上述化合物中之任一者在抑制結締組織生長因子表現之條件下接觸。

在本發明之某一實施例中，涉及一種治療患有與結締組織生長因子表現相關之疾病或病狀之動物的方法，其包含投與該動物有效抑制結締組織生長因子表現，藉此治療該動物之量的上文所述化合物。

在本發明方法之實施中，動物包括人類以及非人類動物，較佳為人類。

本發明亦包括包括本發明反義化合物之醫藥組合物及調配物。視需要局部治療抑或全身治療及待治療之區域而定，本發明之醫藥組合物可依許多方式投與。投藥可為皮內投藥，包括注射針之皮內穿刺；皮下；局部(包括眼部及至黏膜，包括陰道及直腸傳遞)；肺部，例如藉由吸入或吹入散劑或氣霧劑，包括藉由噴霧器；氣管內、鼻內、經表皮及經皮；經口或非經腸。非經腸投藥包括靜脈內、動脈內、皮下、腹膜內或肌肉內注射或輸注；或顱內(例如鞘內腔或心室內)投藥。

用於局部投藥之醫藥組合物及調配物可包括經皮貼片、軟膏、洗劑、乳膏、凝膠、滴劑、栓劑、噴霧劑、液體及散劑。習知醫藥載劑，水性、粉末狀或油狀基質，增稠劑

及其類似物可為必需或所需的。經塗佈之保險套、手套及其類似物亦可適用。較佳皮內及局部調配物包括本發明寡核苷酸與局部傳遞劑混合之調配物，該局部傳遞劑為諸如脂質、脂質體、脂肪酸、脂肪酸酯、類固醇、螯合劑及界面活性劑。較佳脂質及脂質體包括中性(例如二油醯基磷脂醯乙醇胺DOPE、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼DMPC、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼)、陰性(例如二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油DMPG)及陽離子性(例如二油醯基四甲基胺基丙基DOTAP及二油醯基磷脂醯乙醇胺DOTMA)。本發明寡核苷酸可囊封於脂質體內或可與其形成複合物，尤其與陽離子脂質體。或者，寡核苷酸可與脂質複合，尤其與陽離子脂質。較佳脂肪酸及酯包括(但不限於)花生四烯酸、油酸、二十烷二酸、月桂酸、辛酸、癸酸、肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸、次亞麻油酸、二癸酸酯、三癸酸酯、單油酸甘油酯、二月桂酸甘油酯、1-單癸酸甘油酯、1-十二烷基氮雜環庚-2-酮、醯基肉鹼、醯基膽鹼、或C₁₋₁₀烷基酯(例如肉豆蔻酸異丙酯IPM)、單酸甘油酯、二酸甘油酯或其醫藥學上可接受之鹽。局部調配物詳細描述於1999年5月20日申請之美國專利申請案第09/315,298號中，該案以全文引用的方式併入本文中。

本發明之醫藥組合物包括(但不限於)溶液、乳液及含脂質體調配物。此等組合物可自包括(但不限於)預製液體、自乳化固體及自乳化半固體之多種組分產生。

宜呈單位劑型之本發明醫藥調配物可根據醫藥行業中熟

知之習知技術製備。該等技術包括使活性成分與醫藥載劑或賦形劑締合之步驟。一般而言，調配物係藉由均勻且精細地使活性成分與液體載劑或細粉狀固體載劑或兩者締合，接著必要時使產物定形來製備。

本發明組合物可調配成許多可能劑型中之任一者，諸如(但不限於)注射器、預填充注射器、錠劑、膠囊、凝膠膠囊、液體糖漿、軟凝膠、栓劑及灌腸劑。本發明組合物亦可調配成水性介質、非水性介質或混合介質中之懸浮液。水性懸浮液可另外含有增加懸浮液黏度之物質，包括例如羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇及/或葡聚糖。懸浮液亦可含有穩定劑。

在本發明之一個實施例中，醫藥組合物可經調配且用作發泡體。醫藥發泡體包括調配物，諸如(但不限於)乳液、微乳液、乳膏、凝膠劑及脂質體。儘管此等調配物之性質基本上類似，但最終產品之組分及稠度不同。該等組合物及調配物之製備一般為熟習醫藥及調配技術者所知，且可應用於本發明組合物之調配。

脂質體

除了已加以研究且用於調配藥物之微乳液以外，存在許多組織化之界面活性劑結構。此等結構包括單層、微胞、雙層及微脂粒。諸如脂質體之微脂粒因就藥物傳遞之觀點而言其特異性及其所提供之作用的持續時間而吸引極大關注。如本發明中所用之術語「脂質體」意謂由以球狀雙層或雙層排列之兩親媒性脂質構成之微脂粒。

脂質體為單層或多層微脂粒，其具有自親脂性物質形成之膜及水性內部。水性部分含有待傳遞之組合物。陽離子脂質體具有能夠與細胞壁融合之優點。非陽離子脂質體儘管不能與細胞壁有效融合，但在活體內由巨噬細胞吸收。

為穿過完整哺乳動物皮膚，脂質微脂粒必須在適合經皮梯度之影響下通過一系列各具有小於50 nm直徑之細孔。因此，需要利用脂質體，其具高度變形性且能夠通過該等細孔。

脂質體之其他優點包括自天然磷脂獲得之脂質體具生物相容性及生物可降解性；脂質體可併有多種水及脂質可溶性藥物；脂質體可保護其內部區室中囊封之藥物免於代謝及降解(Rosoff, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger及Banker (編)，1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 第1卷，第245頁)。製備脂質體調配物中之重要考慮因素為脂質表面電荷、微脂粒尺寸及脂質體之水性體積。

脂質體適用於輸送及傳遞活性成分至作用部位。由於脂質體膜結構上類似於生物膜，故當脂質體施用於組織時，脂質體開始與細胞膜合併在一起。隨著脂質體與細胞之合併進行，脂質體內含物流注入活性劑可起作用之細胞中。

脂質體調配物已作為許多藥物之傳遞模式而成為大量研究之焦點。愈來愈多之證據表明，對於皮內及局部投藥，脂質體呈現若干優於其他調配物之優點。該等優點包括與所投與藥物之高度全身吸收相關之副作用減少、所投與藥

物在所要目標處之積聚增加，及能夠將多種親水性與疏水性藥物投與皮膚中。

若干報導已詳述脂質體將包括高分子量DNA之藥劑傳遞至皮膚中之能力。已將包括止痛劑、抗體、激素及高分子量DNA之化合物投與皮膚。大多數應用係針對上表皮目標。

脂質體分成兩大類。陽離子脂質體為帶正電荷之脂質體，其與帶負電荷之DNA分子相互作用，以形成穩定複合物。帶正電荷之DNA/脂質體複合物結合於帶負電荷之細胞表面且於核內體中內化。歸因於核內體中之酸性pH值，脂質體破裂，從而將其內含物釋放至細胞質中(Wang等人，*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1987, 147, 980-985)。

pH敏感性或帶負電荷之脂質體截留DNA，而非與其複合。由於DNA與脂質帶類似電荷，故發生排斥，而非形成複合物。儘管如此，一些DNA仍截留於此等脂質體之水性內部。pH敏感性脂質體已用於將編碼胸苷激酶基因之DNA傳遞至培養物中之細胞單層。在目標細胞中偵測外源性基因之表現(Zhou等人，*Journal of Controlled Release*, 1992, 19, 269-274)。

一種主要類型之脂質體組合物包括除源自天然之磷脂醯膽鹼以外之磷脂。中性脂質體組合物可例如自二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼(DMPC)或二軟脂醯基磷脂醯膽鹼(DPPC)形成。陰離子性脂質體組合物一般自二肉豆蔻醯基磷脂醯甘

油形成，而陰離子性融合脂質體主要自二油醯基磷脂醯乙醇胺(DOPE)形成。另一類型之脂質體組合物係自磷脂醯膽鹼(PC)形成，諸如大豆PC及卵PC。另一類型係自磷脂及/或磷脂醯膽鹼及/或膽固醇之混合物形成。

若干研究已評估脂質體藥物調配物至皮膚之局部傳遞。含有干擾素之脂質體施用於天竺鼠皮膚使得皮膚疱疹瘡減少，而經由其他方式(例如以溶液形式或以乳液形式)傳遞干擾素不太有效(Weiner等人，*Journal of Drug Targeting*, 1992, 2, 405-410)。另外，另一研究測試作為脂質體調配物之一部分投與之干擾素相比利用水性系統投與干擾素之功效，且推斷出脂質體調配物優於水性投藥(du Plessis等人，*Antiviral Research*, 1992, 18, 259-265)。

亦已檢查非離子性脂質體系統以確定其傳遞藥物至皮膚之效用，尤其包含非離子性界面活性劑及膽固醇之系統。包含Novasome™ I(二月桂酸甘油酯/膽固醇/聚氧乙烯-10-十八烷基醚)及Novasome™ II(二硬脂酸甘油酯/膽固醇/聚氧乙烯-10-十八烷基醚)之非離子性脂質體調配物用於傳遞環孢素-A至小鼠皮膚之真皮中。結果指示該等非離子性脂質體系統有效促進環孢素-A沈積至皮膚之不同層中(Hu等人，*S.T.P. Pharma. Sci.*, 1994, 4, 6, 466)。

脂質體亦包括「空間穩定」脂質體，如本文所用之該術語係指包含一或多種專用脂質之脂質體，該一或多種專用脂質當併入脂質體中時，使得循環壽命相對於缺乏該等專用脂質之脂質體而言增強。空間穩定脂質體之實例為如下

脂質體：其中脂質體之微脂粒形成脂質部分之一部分(A)包含一或多種醣脂，諸如單唾液酸神經節苷脂 G_{M1} ，或(B)經一或多種親水性聚合物，諸如聚乙二醇(PEG)部分衍生處理。在不欲受任何特定理論約束下，在此項技術中據信，至少對於含有神經節苷脂、神經鞘磷脂或經PEG衍生處理之脂質的空間穩定脂質體，因吸收至網狀內皮系統(RES)之細胞中減少而使此等空間穩定脂質體之循環半衰期增強(Allen等人，FEBS Letters, 1987, 223, 42；Wu等人，Cancer Research, 1993, 53, 3765)。

包含一或多種醣脂之各種脂質體在此項技術中為已知的。Papahadjopoulos等人(Ann. N.Y. Acad. Sci., 1987, 507, 64)報導單唾液酸神經節苷脂 G_{M1} 、半乳糖腦苷脂硫酸酯及磷脂醯肌醇改良脂質體之血液半衰期的能力。此等發現係由 Gabizon 等人(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1988, 85, 6949)闡述。均出自 Allen 等人之美國專利第 4,837,028 號及 WO 88/04924 揭示包含(1)神經鞘磷脂及(2)神經節苷脂 G_{M1} 或半乳糖腦苷脂硫酸酯之脂質體。美國專利第 5,543,152 號(Webb 等人)揭示包含神經鞘磷脂之脂質體。包含 1,2-sn-二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼之脂質體揭示於 WO 97/13499(Lim 等人)中。

包含經一或多種親水性聚合物衍生處理之脂質的許多脂質體及其製備方法在此項技術中為已知的。Sunamoto 等人(Bull. Chem. Soc. Jpn., 1980, 53, 2778)描述包含含有 PEG 部分之非離子性清潔劑 $2C_{12}$ 15G 之脂質體。Illum 等人

(FEBS Lett., 1984, 167, 79)注意到，用聚合二醇對聚苯乙烯粒子進行親水性塗佈使得血液半衰期顯著增強。藉由連接聚烷二醇(例如PEG)之羧酸基而修飾之合成磷脂係由Sears(美國專利第4,426,330號及第4,534,899號)描述。Klibanov等人(FEBS Lett., 1990, 268, 235)描述如下實驗：其展示包含經PEG或PEG硬脂酸酯衍生處理之磷脂醯乙醇胺(PE)之脂質體的血液循環半衰期顯著增加。Blume等人(Biochimica et Biophysica Acta, 1990, 1029, 91)將該等觀測結果延伸至其他經PEG衍生處理之磷脂，例如自二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺(DSPE)與PEG之組合形成之DSPE-PEG。在外表面上具有共價結合之PEG部分的脂質體描述於歐洲專利第EP 0 445 131 B1號及Fisher之WO 90/04384中。含有1-20莫耳%經PEG衍生處理之PE的脂質體組合物及其使用方法係由Woodle等人(美國專利第5,013,556號及第5,356,633號)及Martin等人(美國專利第5,213,804號及歐洲專利第EP 0 496 813 B1號)描述。包含許多其他脂質-聚合物結合物之脂質體揭示於WO 91/05545及美國專利第5,225,212號(均出自Martin等人)及WO 94/20073(Zalipsky等人)中。包含經PEG修飾之神經醯胺脂質之脂質體描述於WO 96/10391(Choi等人)中。美國專利第5,540,935號(Miyazaki等人)及第5,556,948號(Tagawa等人)描述含PEG之脂質體，其可在其表面上經過官能基部分基團衍化。

此項技術中已知之包含核酸之脂質體之數量有限。

Thierry等人之WO 96/40062揭示將高分子量核酸囊封於脂

質體中之方法。Tagawa等人之美國專利第5,264,221號揭示蛋白質鍵結之脂質體，且聲明該等脂質體之內含物可包括反義RNA。Rahman等人之美國專利第5,665,710號描述將寡去氧核苷酸囊封於脂質體中之某些方法。Love等人之WO 97/04787揭示包含針對raf基因目標之反義寡核苷酸之脂質體。

輸送體(transfersome)為另一種類型之脂質體，且為具高度變形性之脂質聚集體，成為藥物傳遞運載體之具吸引力候選物。輸送體可描述為脂質小滴，其高度變形性使得其能夠輕易地穿透小於該小滴之孔。輸送體可適應其所使用之環境，例如其可自行優化(適應皮膚中孔之形狀)、自行修復、經常可在不需分段下即到達其目標，及常常可自行承載。為製造輸送體，有可能將表面邊緣活化劑(通常為界面活性劑)添加至標準脂質體組合物中。已利用輸送體將血清白蛋白傳遞至皮膚。輸送體介導之血清白蛋白傳遞已顯示與含有血清白蛋白之溶液之皮下注射一樣有效。

界面活性劑廣泛應用於諸如乳液(包括微乳液)及脂質體之調配物中。將許多不同類型之界面活性劑(天然與合成)之特性分類及分級之最常用方式為藉由利用親水/親脂平衡值(HLB)。親水性基團(亦稱為「頭部」)之性質提供最適用於分類調配物中所用之不同界面活性劑的方式(Rieger, Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, 第285頁)。

若界面活性劑分子未經離子化，則將其歸類為非離子性

界面活性劑。非離子性界面活性劑廣泛應用於醫藥及化妝產品中且在廣泛範圍之pH值上適用。一般而言，視其結構而定，其HLB值在2至約18之範圍內。非離子性界面活性劑包括非離子性酯，諸如乙二醇酯、丙二醇酯、甘油酯、聚甘油酯、脫水山梨糖醇酯、蔗糖酯及乙氧基化酯。此種類中亦包括非離子性烷醇醯胺及醚，諸如脂肪醇乙氧化物、丙氧基化醇，及乙氧基化/丙氧基化嵌段聚合物。聚氧乙烯界面活性劑為非離子性界面活性劑種類中之最常見成員。

若界面活性劑分子當溶解或分散於水中時帶有負電荷，則將該界面活性劑歸類為陰離子性。陰離子性界面活性劑包括羧酸鹽，諸如皂；醯基乳酸鹽；胺基酸之醯基醯胺；硫酸之酯，諸如硫酸烷基酯及乙氧基化硫酸烷基酯；磺酸鹽，諸如烷基苯磺酸鹽；醯基羥乙磺酸鹽；醯基牛磺酸鹽及磺基丁二酸鹽；及磷酸鹽。陰離子性界面活性劑種類中之最重要成員為硫酸烷基酯及皂。

若界面活性劑分子當溶解或分散於水中時帶有正電荷，則將該界面活性劑歸類為陽離子性。陽離子性界面活性劑包括四級銨鹽及乙氧基化胺。四級銨鹽為此種類中之最常用成員。

若界面活性劑分子能夠帶有正電荷或負電荷，則將該界面活性劑歸類為兩性。兩性界面活性劑包括丙烯酸衍生物、經取代之烷基醯胺、N-烷基甜菜鹼及磷脂。

界面活性劑於藥品、調配物及乳液中之用途已作評述

(Rieger, Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, 第285頁)。

穿透增強劑

在一個實施例中，本發明採用各種穿透增強劑以實現核酸、尤其寡核苷酸有效傳遞至動物之皮膚。大多數藥物以離子化形式與非離子化形式存在於溶液中。然而，通常僅脂溶性或親脂性藥物易於穿過細胞膜。已發現，若欲穿過之細胞膜經穿透增強劑處理，則甚至非親脂性藥物亦可穿過該膜。除有助於非親脂性藥物擴散穿過細胞膜以外，穿透增強劑亦增強親脂性藥物之滲透性。

穿透增強劑可歸類為屬於五大類別，亦即界面活性劑、脂肪酸、膽汁鹽、螯合劑及非螯合性非界面活性劑之一 (Lee等人, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, 第92頁)。上述穿透增強劑種類中之每一者於下文更詳細地描述。

界面活性劑：與本發明相結合，界面活性劑(或「表面活性劑」)為如下化學實體：其當溶解於水溶液中時，降低溶液之表面張力或水溶液與另一液體之間的界面張力，從而使得寡核苷酸穿過黏膜之吸收增強。除膽汁鹽及脂肪酸以外，此等穿透增強劑包括例如月桂基硫酸鈉、聚氧乙烯-9-月桂基醚及聚氧乙烯-20-鯨蠟基醚(Lee等人, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, 第92頁)；及全氟化學乳液，諸如FC-43(Takahashi等人, J. Pharm. Pharmacol., 1988, 40, 252)。

脂肪酸：充當穿透增強劑之各種脂肪酸及其衍生物包括例如油酸、月桂酸、癸酸(正癸酸)、肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸、次亞麻油酸、二癸酸酯、三癸酸酯、單油酸甘油酯(1-單油醯基-外消旋-甘油)、二月桂酸甘油酯、辛酸、花生四烯酸、1-單癸酸甘油酯、1-十二烷基氮雜環庚-2-酮、醯基肉鹼、醯基膽鹼、其C₁₋₁₀烷基酯(例如甲酯、異丙基及第三丁酯)，及其單酸甘油酯及二酸甘油酯(亦即油酸酯、月桂酸酯、癸酸酯、肉豆蔻酸酯、棕櫚酸酯、硬脂酸酯、亞麻油酸酯等)(Lee等人，Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991，第92頁；Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33；El Hariri等人，J. Pharm. Pharmacol., 1992, 44, 651-654)。

膽汁鹽：膽汁之生理作用包括促進脂質及脂溶性維生素之分散及吸收(Brunton，第38章：Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics，第9版，Hardman等人編，McGraw-Hill, New York, 1996，第934-935頁)。各種天然膽汁鹽及其合成衍生物充當穿透增強劑。因此，術語「膽汁鹽」包括膽汁之天然產生組分中之任一者以及其合成衍生物中之任一者。本發明之膽汁鹽包括例如膽酸(或其醫藥學上可接受之鈉鹽，膽酸鈉)、去氫膽酸(去氫膽酸鈉)、去氧膽酸(去氧膽酸鈉)、葡糖膽酸(glucholic acid)(葡糖膽酸鈉(sodium glucholate))、甘胺膽酸(甘胺膽酸鈉)、甘胺去氧膽酸(甘胺去氧膽酸鈉)、牛磺

膽酸(牛磺膽酸鈉)、牛磺去氧膽酸(牛磺去氧膽酸鈉)、鵝去氧膽酸(鵝去氧膽酸鈉)、熊去氧膽酸(UDCA)、牛磺-24,25-二氫-夫西地酸鈉(STDHF)、甘胺二氫夫西地酸鈉(sodium glycodihydrofusidate)及聚氧乙烯-9-月桂基醚(POE)(Lee等人, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, 第92頁; Swinyard, 第39章: Remington's Pharmaceutical Sciences, 第18版, Gennaro編, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990, 第782-783頁; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; Yamamoto等人, J. Pharm. Exp. Ther., 1992, 263, 25; Yamashita等人, J. Pharm. Sci., 1990, 79, 579-583)。

螯合劑：與本發明相結合使用之螯合劑可定義為藉由與金屬離子形成複合物而自溶液中移除該等金屬離子，從而使得寡核苷酸穿過黏膜之吸收增強的化合物。關於其在本發明中作為穿透增強劑之用途，螯合劑具有更多優點：其亦充當DNase抑制劑，此係由於大多數經表徵之DNA核酸酶需要二價金屬離子用於催化且由此受螯合劑抑制(Jarrett, J. Chromatogr., 1993, 618, 315-339)。本發明之螯合劑包括(但不限於)乙二胺四乙酸二鈉(EDTA)、檸檬酸、水楊酸鹽(例如水楊酸鈉、5-甲氧基水楊酸鹽及高香草酸鹽)、膠原蛋白之N-醯基衍生物、月桂醇醚-9及 β -二酮之N-胺基醯基衍生物(烯胺)(Lee等人, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, 第92頁；

Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33 ; Buur等人, J. Control Rel., 1990, 14, 43-51)。

非螯合性非界面活性劑：如本文所用之非螯合性非界面活性劑穿透增強化合物可定義為作為螯合劑或作為界面活性劑展示微小活性，但儘管如此，仍增強寡核苷酸穿過消化道黏膜之吸收的化合物(Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33)。此類穿透增強劑包括例如不飽和環脲、1-烷基氮雜環-烷酮衍生物及1-烯基氮雜環-烷酮衍生物(Lee等人, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, 第92頁)；及非類固醇消炎劑，諸如雙氯芬酸鈉(diclofenac sodium)、吲哚美辛(indomethacin)及苯基丁氮酮(Yamashita等人, J. Pharm. Pharmacol., 1987, 39, 621-626)。

在細胞層面上增強寡核苷酸吸收之試劑亦可添加至本發明之醫藥組合物及其他組合物中。舉例而言，陽離子脂質，諸如脂質體(Junichi等人, 美國專利第5,705,188號)；陽離子性甘油衍生物；及聚陽離子分子，諸如聚離胺酸(Lollo等人, PCT申請案 WO 97/30731)，亦已知增強寡核苷酸之細胞吸收。

其他試劑可用於增強所投與核酸穿透至皮膚中及穿過皮膚，包括二醇，諸如乙二醇及丙二醇；吡咯，諸如2-吡咯；氮酮；及萜，諸如檸檬烯及薄荷酮。

其他組分

本發明組合物可另外含有醫藥組合物中通常所見之其他輔助組分，其用量經技術確定。因此，舉例而言，該等組合物可含有其他相容性醫藥活性物質，諸如止癢劑、收斂劑、局部麻醉劑或消炎劑；或可含有適用於物理調配本發明組合物之各種劑型的其他物質，諸如染料、調味劑、防腐劑、抗氧化劑、遮光劑、增稠劑及穩定劑。然而，該等物質在添加時不應不當地干擾本發明組合物之組分的生物活性。調配物可經滅菌，且必要時與以下助劑混合，例如潤滑劑、防腐劑、穩定劑、濕潤劑、乳化劑、影響滲透壓之鹽、緩衝劑、著色劑、調味劑及/或芳香物質及其不會與調配物之核酸發生有害相互作用之類似物。

水性懸浮液可含有增加懸浮液黏度之物質，包括例如羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇及/或葡聚糖。該懸浮液亦可含有穩定劑。

在另一相關實施例中，本發明組合物可含有一或多種針對第一核酸目標之反義化合物、尤其寡核苷酸，及一或多種針對第二核酸目標之其他反義化合物。反義化合物之眾多實例在此項技術中為已知的。兩種或兩種以上組合之化合物可一起或依序使用。

根據本發明使用之反義化合物適宜且常規上藉由熟知之固相合成技術來製備。本發明化合物亦可與其他分子、分子結構或化合物之混合物一起混合、囊封、結合或以其他方式締合，例如脂質體、針對受體目標之分子、口服、直腸、局部或其他調配物，以幫助攝取、分佈及/或吸收。

教示該等幫助攝取、分佈及/或吸收之調配物之製備的代表性美國專利包括(但不限於)美國專利第5,108,921號、第5,354,844號、第5,416,016號、第5,459,127號、第5,521,291號、第5,543,158號、第5,547,932號、第5,583,020號、第5,591,721號、第4,426,330號、第4,534,899號、第5,013,556號、第5,108,921號、第5,213,804號、第5,227,170號、第5,264,221號、第5,356,633號、第5,395,619號、第5,416,016號、第5,417,978號、第5,462,854號、第5,469,854號、第5,512,295號、第5,527,528號、第5,534,259號、第5,543,152號、第5,556,948號、第5,580,575號及第5,595,756號，各專利以引用的方式併入本文中。

某些適應症

熟習此項技術者亦利用反義藥物之特異性及敏感性用於治療性用途。反義寡核苷酸已用作動物及人類之疾病病況治療中之治療性部分。包括核糖核酸酶之反義寡核苷酸藥物已安全且有效地投與人類，且眾多臨床試驗目前正在進行中。因此確定，寡核苷酸可為適用治療模態，其可經組態以適用於治療細胞、組織及動物(尤其人類)之治療方案。

在本發明之一個實施例中，方法包含治療疾病或病狀，其中該疾病或病症為纖維變性疾病。在本發明方法之一個實施例中，纖維變性疾病為肥厚性疤痕、癍痕、皮膚疤痕、肝纖維化、肺纖維化、腎纖維化、心臟纖維化或再狹窄。

在本發明之另一實施例中，方法另外包含治療上述疾病或病狀，其中該疾病或病症為關節纖維化(包括冰凍肩症候群、肌腱及周邊神經損傷)、手術黏連、脊髓損傷、冠狀動脈繞道、腹部及腹膜黏連(包括子宮內膜異位、子宮平滑肌瘤及纖維瘤)、放射狀角膜切開術及屈光性角膜切開術、視網膜復位術、裝置介導之纖維化(例如糖尿病中)、肌腱黏連、杜普宜特朗氏攣縮或硬皮病。

在本發明之另一實施例中，亦提供一種在有需要之個體中減少因皮膚創口癒合所致之肥厚性疤痕或癍痕之方法，其包含投與該個體有效抑制個體中結締組織生長因子(CTGF)表現，藉此減少疤痕之量的反義寡核苷酸化合物。

咸信，治療性組合物之配方及其後續投藥處於熟習此項技術者之技能範圍內。給藥視欲治療之疾病病況之嚴重性及反應性而定，治療過程持續數天至數月，或直至實現治癒或達成疾病病況減輕為止。一般而言，利用針對疤痕之每直線公分長度每次注射0.1 mg至25 mg之劑量，且可每日、每週、每3週、每月或每兩個月給藥。

在本發明之另一實施例中，方法另外包含減少因皮膚創口癒合所致之肥厚性疤痕或癍痕，其中創口癒合為在選自由皮膚破損、手術切口及灼傷組成之群之創口處癒合。

在某些實施例中，本發明提供治療個體之方法，其包含投與一或多種本發明醫藥組合物。在某些實施例中，個體患有上述病症之一。在某些實施例中，個體處於上述病症之一的風險下。在某些實施例中，個體已鑑別為需要治

療。在某些實施例中，本發明提供預防性減少個體中之CTGF表現之方法。

某些實施例包括藉由投與有需要之個體治療有效量之針對CTGF核酸目標之反義化合物來治療該個體。

在一個實施例中，投與治療有效量之針對CTGF核酸目標之反義化合物伴隨監測個體之皮膚及/或血清中之CTGF含量，以確定個體對投與反義化合物之反應。醫師利用個體對投與反義化合物之反應來確定治療性干預之量及持續時間。

在一個實施例中，投與針對CTGF核酸目標之反義化合物使得CTGF表現減少至少15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%，或由此等值中之任兩者界定之範圍。在一個實施例中，投與針對CTGF核酸目標之反義化合物使得如標準測試所量測之CTGF變量，例如(但不限於)CTGF變化。在一些實施例中，投與CTGF反義化合物使該變量減少至少15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%，或由此等值中之任兩者界定之範圍。

在某些實施例中，包含針對CTGF目標之反義化合物之醫藥組合物用於製備用以治療罹患或易患上述病症中之任一者之患者的藥物。

某些組合療法

在某些實施例中，一或多種本發明醫藥組合物與一或多種其他醫藥劑共同投與。在某些實施例中，該一或多種其他醫藥劑經設計以與一或多種本發明醫藥組合物治療相同疾病或病狀。在某些實施例中，該一或多種其他醫藥劑經設計以與一或多種本發明醫藥組合物治療不同疾病或病狀。在某些實施例中，該一或多種其他醫藥劑經設計以處理一或多種本發明醫藥組合物之不當作用。在某些實施例中，一或多種本發明醫藥組合物與另一醫藥劑共同投與以處理該另一醫藥劑之不當作用。在某些實施例中，一或多種本發明醫藥組合物及一或多種其他醫藥劑係同時投與。在某些實施例中，一或多種本發明醫藥組合物及一或多種其他醫藥劑係在不同時間投與。在某些實施例中，一或多種本發明醫藥組合物及一或多種其他醫藥劑一起製成單一調配物。在某些實施例中，一或多種本發明醫藥組合物及一或多種其他醫藥劑係獨立地製備。

在某些實施例中，可與本發明醫藥組合物共同投與之醫藥劑包括第二治療劑。在某些此類實施例中，可與本發明醫藥組合物共同投與之醫藥劑包括(但不限於)第二治療劑。在某些此類實施例中，第二治療劑係在投與本發明醫藥組合物之前投與。在某些此類實施例中，第二治療劑係在投與本發明醫藥組合物之後投與。在某些此類實施例中，第二治療劑係與本發明醫藥組合物同時投與。在某些此類實施例中，共同投與之第二治療劑之劑量與單獨投與該第二治療劑時所投與之劑量相同。在某些此類實施例

中，共同投與之第二治療劑之劑量低於單獨投與該第二治療劑時所投與之劑量。在某些此類實施例中，共同投與之第二治療劑之劑量高於單獨投與該第二治療劑時所投與之劑量。

在某些實施例中，共同投與第二化合物增強第一化合物之治療作用，使得該等化合物之共同投與所產生的治療作用高於單獨投與第一化合物之作用，亦即協同效應。在其他實施例中，共同投藥所產生之治療作用為單獨投與之化合物之作用的加和。在其他實施例中，共同投藥所產生之治療作用超過單獨投與之化合物之作用的加和。在一些實施例中，第一化合物為反義化合物。在一些實施例中，第二化合物為反義化合物。

在以下實例部分中說明本發明。陳述此部分以幫助理解本發明，但其不欲且不應理解為以任何方式限制如隨附申請專利範圍中所陳述之本發明。

實例

實例1：選擇主導人類結締組織生長因子(CTGF)反義寡核苷酸候選物

引言

利用公開之序列(GenBank寄存編號NM_001901.2，以SEQ ID NO: 9併入本文中；及GenBank寄存編號NT_025741.14，以SEQ ID NO: 10併入本文中)來設計一系列寡核苷酸以針對人類結締組織生長因子RNA之不同區域目標。

此研究分析可用序列空間及針對CTGF之外顯子與內含子空間目標之經修飾反義寡核苷酸。每個目標合成約150個新穎序列，且評估在細胞培養中針對CTGF之活性。寡核苷酸展示於表1中。表1中之所有化合物皆為長度為20個核苷酸之嵌合寡核苷酸(「間隔體」)，其由中央「間隔」區構成，該中央「間隔」區由以下組成：10個2'-去氧核苷酸，其兩側(5'及3'方向)側接五個核苷酸「翼」；或13個2'-去氧核苷酸，其兩側(5'及3'方向)分別側接兩個及五個核苷酸「翼」。該等翼由2'-甲氧基乙基(2'-MOE)核苷酸構成。遍佈整個寡核苷酸之核苷間(主鏈)鍵聯為硫代磷酸酯(P=S)。所有胞苷殘基為5-甲基胞苷。藉由稍後所述之定量即時PCR分析該等化合物對人類結締組織生長因子mRNA含量之影響。數據為兩個實驗之平均值。若存在，則「N.D.」指示「無數據」。

表 1

具有2'-MOE翼及去氧間隔之嵌合硫代磷酸酯寡核苷酸對人類結締組織生長因子mRNA含量之抑制

ISIS 編號	區域	目標 SEQ ID NO	目標位點	序列	抑制 %	SEQ ID NO.
124173	CDS	9	380	CCAGCTGCTTGGCGCAGACG	35	11
124189	CDS	9	1003	GCCAGAAAGCTCAAACCTTGA	57	12
124212	3'-UTR	9	1783	CCACAAGCTGTCCAGTCTAA	47	13
124235	3'-UTR	9	2267	GGTCACACTCTCAACAAATA	47	14
124238	3'-UTR	9	2282	AAACATGTAACCTTTTGGTCA	53	15
412271	5'-UTR	9	4	GGGAAGAGTTGTTGTGTGAG	0	16
412272	5'-UTR	9	38	AGGGTGGAGTCGCACTGGCT	46	17
412273	CDS	9	228	ACGAAGGCGACGCGGACGGG	35	18



ISIS 編號	區域	目標 SEQ ID NO	目標位點	序列	抑制 %	SEQ ID NO.
412274	CDS	9	265	GCCGACGGCCGGCCGGCTGC	40	19
412275	CDS	9	475	GGTGCACACGCCGATCTTGC	52	20
412276	CDS	9	483	TCTTTGGCGGTGCACACGCC	0	21
412277	CDS	9	489	GCACCATCTTTGGCGGTGCA	0	22
412278	CDS	9	496	GCAGGGAGCACCATCTTTGG	16	23
412279	CDS	9	501	AAGATGCAGGGAGCACCATC	63	24
412280	CDS	9	507	CCACCGAAGATGCAGGGAGC	0	25
412281	CDS	9	512	CCGTACCACCGAAGATGCAG	47	26
412282	CDS	9	553	GTACTTGCAGCTGCTCTGGA	68	27
412283	CDS	9	592	GGGCATGCAGCCCACCGCCC	72	28
412284	CDS	9	718	AGGCCCAACCACGGTTTGGT	59	29
412285	CDS	9	723	AGGGCAGGCCCAACCACGGT	79	30
412286	CDS	9	732	TAAGCCGCGAGGGCAGGCC	55	31
412287	CDS	9	829	CCCACAGGTCTTGGAACAGG	30	32
412288	CDS	9	839	AGATGCCCATCCCACAGGTC	55	33
412289	3'-UTR	9	1273	CCAGTCTAATGAGTTAATGT	56	34
412290	3'-UTR	9	1281	TTCAAGTTCCAGTCTAATGA	10	35
412291	3'-UTR	9	1361	TTTTCCCCCAGTTAGAAAAA	38	36
412292	3'-UTR	9	1388	CACAATGTTTTGAATTGGGT	50	37
412293	3'-UTR	9	1394	ACATGGCACAATGTTTTGAA	67	38
412294	3'-UTR	9	1399	GTTTGACATGGCACAATGTT	73	39
412295	3'-UTR	9	1404	TATTTGTTTGACATGGCACA	74	40
412296	3'-UTR	9	1412	TGATAGACTATTTGTTTGAC	35	41
412297	3'-UTR	9	1457	GTTCCACTGTCAAGTCTTAA	55	42
412298	3'-UTR	9	1469	TGTACTAATGTAGTTCCACT	69	43
412299	3'-UTR	9	1482	CATTCTGGTGCTGTGTACTA	86	44
412300	3'-UTR	9	1489	TAATATACATTCTGGTGCTG	76	45
412301	3'-UTR	9	1495	ACACCTTAATATACATTCTG	54	46
412302	3'-UTR	9	1502	TAAAGCCACACCTTAATATA	54	47
412303	3'-UTR	9	1520	GTACCCTCCCCTGCTCCTA	53	48
412304	3'-UTR	9	1554	AAGATGCTATCTGATGATAC	52	49
412305	3'-UTR	9	1559	CGTATAAGATGCTATCTGAT	69	50
412306	3'-UTR	9	1577	AATAGCAGGCATATTACTCG	74	51

ISIS 編號	區域	目標 SEQ ID NO	目標位點	序列	抑制 %	SEQ ID NO.
412307	3'-UTR	9	1586	TACACTTCAAATAGCAGGCA	69	52
412308	3'-UTR	9	1591	TCAATTACACTTCAAATAGC	50	53
412309	3'-UTR	9	1659	GGAGAATGCACATCCTAGCT	66	54
412310	3'-UTR	9	1665	ATGGCTGGAGAATGCACATC	60	55
412311	3'-UTR	9	1670	TCTTGATGGCTGGAGAATGC	71	56
412312	3'-UTR	9	1729	GAATCAGAATGTCAGAGCTG	37	57
412313	3'-UTR	9	1946	CATTGAAATATCAAAGCATT	0	58
412314	3'-UTR	9	1952	GGCTAACATTGAAATATCAA	25	59
412315	3'-UTR	9	1958	AATTGAGGCTAACATTGAAA	1	60
412316	3'-UTR	9	1965	G TTCAGAAATTGAGGCTAAC	65	61
412317	3'-UTR	9	1971	TATGGTGTTCAGAAATTGAG	13	62
412318	3'-UTR	9	1976	CTACCTATGGTGTTCAGAAA	61	63
412319	3'-UTR	9	1982	TACATTCTACCTATGGTGTT	38	64
412320	3'-UTR	9	1991	GACAAGCTTTACATTCTACC	24	65
412321	3'-UTR	9	1996	GATCAGACAAGCTTTACATT	37	66
412322	3'-UTR	9	2007	ATGCTTTGAACGATCAGACA	64	67
412323	3'-UTR	9	2012	ATTCATGCTTTGAACGATC	44	68
412324	3'-UTR	9	2018	GTATCCATTTATGCTTTGA	60	69
412325	3'-UTR	9	2026	CCATATAAGTATCCATTTC	48	70
412326	3'-UTR	9	2032	GAATTTCCATATAAGTATCC	28	71
412327	3'-UTR	9	2040	TCTGAGCAGAATTCCATAT	58	72
412328	3'-UTR	9	2050	TGTCATTCTATCTGAGCAGA	61	73
412329	3'-UTR	9	2060	TTTGACGGACTGTCATTCTA	47	74
412330	3'-UTR	9	2070	AACAATCTGTTTTGACGGAC	48	75
412331	3'-UTR	9	2088	TGATGCCTCCCCTTTGCAAA	53	76
412332	3'-UTR	9	2100	TGCCAAGGACACTGATGCCT	68	77
412333	3'-UTR	9	2105	CAGCCTGCCAAGGACACTGA	75	78
412334	3'-UTR	9	2110	GAAATCAGCCTGCCAAGGAC	60	79
412335	3'-UTR	9	2115	ACCTAGAAATCAGCCTGCCA	46	80
412336	3'-UTR	9	2120	TTCTACCTAGAAATCAGCC	51	81
412337	3'-UTR	9	2128	TACCACATTTCTACCTAGA	59	82
412338	3'-UTR	9	2134	TGAGGCTACCACATTTCTTA	0	83
412339	3'-UTR	9	2140	TAAAAGTGAGGCTACCACAT	48	84

ISIS 編號	區域	目標 SEQ ID NO	目標位點	序列	抑制 %	SEQ ID NO.
412340	3'-UTR	9	2213	CAAATGCTTCCAGGTGAAAA	49	85
412341	3'-UTR	9	2219	TAGAAACAAATGCTTCCAGG	66	86
412342	3'-UTR	9	2230	TCATATCAAAGTAGAAACAA	12	87
412343	3'-UTR	9	2242	TCCGAAAAACAGTCATATCA	24	88
412368	內含子1	10	1308	ACCCGGCTGCAGAGGGCGAG	0	89
412369	內含子1	10	1313	CGCTTACCCGGCTGCAGAGG	0	90
412370	內含子1	10	1410	GACAGGGCGGTCAGCGGCGC	0	91
412371	內含子2	10	1730	AGTCCGAGCGGTTTCTTTTT	0	92
412372	內含子2	10	1735	AACTCAGTCCGAGCGGTTTC	19	93
412373	內含子2	10	1740	AAAGAACTCAGTCCGAGCG	10	94
412374	內含子2	10	1745	TGGAGAAAGAACTCAGTCC	45	95
412375	內含子2	10	1750	GCAGCTGGAGAAAGAACTC	14	96
412376	內含子2	10	1755	TGGCAGCAGCTGGAGAAAGA	46	97
412377	內含子2	10	1887	AGGGAGCACCATCTTTGGCT	20	98
412378	內含子3	10	2125	TCACCCGCGAGGGCAGGCCC	33	99
412379	內含子3	10	2137	GGAAGACTCGACTCACCCGC	0	100
412380	內含子3	10	2142	TTAGAGGAAGACTCGACTCA	0	101
412381	內含子3	10	2150	ACCCTGACTTAGAGGAAGAC	47	102
412382	內含子3	10	2155	TCACGACCCTGACTTAGAGG	31	103
412383	內含子3	10	2160	GAGAATCACGACCCTGACTT	2	104
412384	內含子3	10	2165	TGGGAGAGAATCACGACCCT	31	105
412385	內含子3	10	2170	CTCCCTGGGAGAGAATCACG	0	106
412386	內含子3	10	2191	GGTCGGCACAGTTAGGACTC	53	107
412387	內含子3	10	2196	CGTTCGGTCGGCACAGTTAG	30	108
412388	內含子3	10	2216	CCTGGATAAGGTATTTCCCC	0	109
412389	內含子3	10	2235	ACAAACACCATGTAAAACGC	11	110
412390	內含子3	10	2241	GAGCACACAAACACCATGTA	0	111
412391	內含子3	10	2251	TGCGAGAGCAGAGCACACAA	0	112
412392	內含子3	10	2256	TAAGCTGCGAGAGCAGAGCA	2	113
412393	內含子3	10	2261	GTCGGTAAGCTGCGAGAGCA	23	114
412394	內含子3	10	2266	TTCCAGTCGGTAAGCTGCGA	15	115
412395	內含子4	10	2472	ACATGTACCTTAATGTTCTC	0	116
412396	內含子4	10	2477	GCAGAACATGTACCTTAATG	0	117

ISIS 編號	區域	目標 SEQ ID NO	目標位點	序列	抑制 %	SEQ ID NO.
412397	內含子4	10	2482	TAGGAGCAGAACATGTACCT	9	118
412398	內含子4	10	2487	GTTAATAGGAGCAGAACATG	19	119
412399	內含子4	10	2496	TGAAAAATAGTTAATAGGAG	0	120
412400	內含子4	10	2511	CCACTGTTTTCTGTGAAA	10	121
412401	內含子4	10	2525	AAGTTGGGTCCTATCCACTG	28	122
412402	內含子4	10	2530	GCCCTAAGTTGGGTCCTATC	20	123
412403	內含子4	10	2535	CAAGAGCCCTAAGTTGGGTC	0	124
412404	內含子4	10	2540	CGTGGCAAGAGCCCTAAGTT	64	125
412405	內含子4	10	2558	CGGGCTTATACTAACAAGCG	6	126
412406	內含子4	10	2563	GATAACGGGCTTATACTAAC	33	127
412407	內含子4	10	2568	TTGGAGATAACGGGCTTATA	73	128
412408	內含子4	10	2573	TAGTTTTGGAGATAACGGGC	51	129
412409	內含子4	10	2578	TTAGATAGTTTTGGAGATAA	24	130
412410	內含子4	10	2584	CAATGGTTAGATAGTTTTGG	36	131
412411	內含子4	10	2589	CAGCTCAATGGTTAGATAGT	53	132
412412	內含子4	10	2594	CAAAACAGCTCAATGGTTAG	34	133
412413	內含子4	10	2599	TCCAGCAAAACAGCTCAATG	59	134
412414	內含子4	10	2604	CTCATTCCAGCAAAACAGCT	42	135
412415	內含子4	10	2609	AAGCTCTCATTCCAGCAAAA	57	136
412416	內含子4	10	2614	TACACAAGCTCTCATTCCAG	44	137
412417	內含子4	10	2623	GGTTGCTATTACACAAGCTC	72	138
412418	內含子4	10	2628	CTGGTGGTTGCTATTACACA	61	139
412419	內含子4	10	2633	GAAAACCTGGTGGTTGCTATT	29	140
412420	內含子4	10	2638	TAGTGGAACCTGGTGGTTG	5	141
412421	內含子4	10	2663	TTAACTAACCTGTGGAAGA	15	142
412422	內含子4	10	2672	TGTCTTGAATTAATAACCC	4	143
412423	內含子4	10	2677	TGGAATGTCTTGAATTAAC	0	144
412424	內含子4	10	2691	GCCAGAGCCTCTCTTGAAT	36	145
412425	內含子4	10	2698	AAAAATAGCCAGAGCCTCTC	59	146
412426	內含子4	10	2703	TGTCCAAAAATAGCCAGAGC	28	147
412427	內含子4	10	2708	TGCTATGTCCAAAAATAGCC	15	148
412428	內含子4	10	2713	TCATTTGCTATGTCCAAAAA	28	149
412429	內含子4	10	2718	GAGTCTCATTGCTATGTCC	20	150

ISIS 編號	區域	目標 SEQ ID NO	目標位點	序列	抑制 %	SEQ ID NO.
412430	內含子4	10	2723	AGTTTGAGTCTCATTTGCTA	30	151
412431	內含子4	10	2728	GAGGAAGTTTGAGTCTCATT	55	152
412432	內含子4	10	2763	CTTCTGTTGTCTGACTTCTG	55	153
412433	內含子4	10	2778	CCTCTGTGTTTTAGTCTTCT	56	154
412434	內含子4	10	2788	TTTCTTCAACCCTCTGTGTT	15	155
412435	內含子4	10	2796	GGAGTGGCTTTCTTCAACCC	43	156
412436	內含子4	10	2849	AGGAAGACAAGGGAAAAGAG	20	157
412437	內含子4	10	2854	TTCTAAGGAAGACAAGGGAA	0	158
412438	內含子4	10	2859	TGCCCTTCTAAGGAAGACAA	31	159
412439	內含子2	10	1791	GGATGCGAGTTGGGATCTGG	0	160
412440	CDS	9	380	CCAGCTGCTTGGCGCAGACG	64	161
412441	CDS	9	1003	GCCAGAAAGCTCAAACCTTGA	37	162
412442	3'-UTR	9	1783	CCACAAGCTGTCCAGTCTAA	32	163
412443	3'-UTR	9	2267	GGTCACACTCTCAACAAATA	59	164
412444	3'-UTR	9	2282	AAACATGTAACCTTTGGTCA	55	165
418899	3'-UTR	9	1391	TGACATGGCACAATGTTTTG	ND*	166

*ND-亦即，在該實驗中未測出，但在另一檢定中極具活性。

如表1所示，SEQ ID NO 11-15、17-20、24、26-34、36-57、59、61、63-82、84-86、88、95、97、99、102、103、105、107、108、122、125、127-140、145、146、149、151-154、156、159、161-165展示在此檢定中人類結締組織生長因子表現至少受到24%抑制且因此較佳。與此等較佳序列互補之目標位點在本文中稱作「活性位點」且因此為本發明化合物作為目標之較佳位點。

反義化合物在CTGF序列上之一定核苷酸範圍內互補，亦即在SEQ ID NO: 9之核苷酸718-751、1388-1423、1457-

1689、2040-2069、2120-2147或2267-2301之範圍內。在某一實施例中，反義化合物在SEQ ID NO: 10之核苷酸2728-2797之範圍內互補。以此等範圍為目標之化合物展示至少50%抑制(亦即SEQ ID NO: 15、29、31、42、46-49、53、72、81、82、152-154、164及165)。表1中所列之某些目標位點亦展示至少50%抑制(亦即SEQ ID NO: 12、20、33、34、76、107、129、132、134、136及146)。

在某些實施例中，反義化合物在核苷酸553-611、1394-1423、1469-1508、1559-1605、1659-1689或2100-2129之範圍內互補。以該範圍為目標之化合物展示至少60%抑制(亦即SEQ ID NO: 27、38、43、50、52、54、55、77、79及86)。表1中所列之某些目標位點亦展示至少60%抑制(亦即SEQ ID NO: 24、61、63、67、69、73、125、139及161)。

反義化合物亦在核苷酸1399-1423之範圍內互補。以該範圍為目標之化合物展示至少70%抑制(亦即SEQ ID NO: 39及40)。表1中所列之某些目標位點亦展示至少70%抑制(亦即SEQ ID NO: 28、30、45、51、56、78、128及138)。表1中所列之一個目標位點亦展示至少80%抑制(亦即SEQ ID NO: 44)。在某些實施例中，當反義化合物以50 nm之濃度傳遞至HuVec細胞時達成該抑制百分比。

在外顯子序列與內含子序列中鑑別多個表觀活性高於歷史ASO主導序列SEQ ID No. 15(ISIS 124238)之主導序列。

物質與方法

評估寡核苷酸且在人類臍靜脈內皮細胞(HuVEC)中利用脂質體介導之轉染在50 nM濃度下確認活性。將來自Cascade Biologics(Portland, OR)且維持於補充有低血清生長補充物(來自Cascade Biologics)之培養基200中的HuVEC細胞以5,000個細胞/孔塗於96孔盤中，且在37°C下於5% CO₂存在下培育隔夜。次日，抽吸出培養基且用含有Oligo-脂染胺2000(Invitrogen)混合物之預加溫的Opti-MEM I(Invitrogen)(每1 ml Opti-MEM I培養基3 mg脂染胺2000)替換。4小時後，將轉染混合物換成補充有低血清生長補充物之新鮮培養基200，且在37°C下於5% CO₂存在下培育。16-24小時後，在約80%匯合下，用磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)洗滌細胞且使其溶解以用Qiagen RNeasy套組進行RNA純化。藉由定量即時聚合酶鏈反應(RT-PCR)(下文所示之引子/探針組)量測CTGF訊息，且針對總RNA進行校正結果。

統計分析

一式兩份分析各樣品，且垂直條代表兩個量測之間的散佈。

結果與討論

在已合成且已評估在細胞培養中針對CTGF之活性的每個目標約150個之新穎序列中，CTGF寡核苷酸(SEQ ID NO: 28、30、39、40、45、52、56、78、125及166)顯示對人類CTGF mRNA表現之極佳抑制。

實例2：兔中CTGF反義寡核苷酸之單次劑量皮內藥物動力

學研究

研究目的

此兔子藥物動力學研究之目的在於評估在單次皮內注射之後的不同時間兔皮膚中CTGF反義寡核苷酸(SEQ ID NO:39, ISIS 412294)之擴散及濃度。

研究設計

研究第0天，所有動物均接受皮內(ID)注射一劑100 μ L之濃度50 mg/mL(總劑量5 mg)之CTGF反義寡核苷酸(SEQ ID NO:39)。在脊椎中線左側，大致平行於兔肩部且鄰近於縫合3 cm切開創口之部位處，向動物給與反義寡核苷酸(圖1A)。插入針頭，以便朝向動物身體之基部向下注射測試物質。第1天、第3天、第7天或第14天，對兔施以安樂死且獲得兩個全厚度1.0 cm之鑽取活檢體，一個集中於原始注射部位上且另一個垂直向下間隔0.5 cm處。瞬間冷凍樣品且儲存於-80°C下，隨後利用雜交捕捉法分析反義寡核苷酸藥物含量。結果代表在指定時間來自兩個活檢體之平均反義寡核苷酸含量。

結果與結論

直至皮內給藥後14天，仍存在顯著量之反義寡核苷酸(參見圖1B)。反義寡核苷酸亦保持接近於原始注射部位(≤ 1 cm)，趨向投藥部位遠端側向擴散之程度極為有限(圖1B)。舉例而言，在注射後之所有時間點，在注射部位遠端1.5 cm距離處之ASO含量極低。因此，此類分子之藥理學作用將限於緊鄰注射部位之皮膚區域。為克服此限制，

已開發出一項皮內注射穿刺技術(且已用於臨床研究中)，該技術沿著顯現疤痕之全長傳遞等量反義藥物。此等結果展示兩個新穎發現。首先，具有此化學組態之2'MOE反義寡核苷酸在皮膚中之滯留時間延長；其次，反義寡核苷酸在皮膚中具有極有限之側向擴散。此類分子之後一限制可藉由以如先前所述之穿刺技術給與反義寡核苷酸來克服。

實例3：在活體內模型系統中有關針對人類疤痕目標之CTGF反義寡核苷酸之動物研究

研究目的

此研究之目的在於在活體內模型系統中利用人類疤痕/小鼠異種移植模型來評估針對人類CTGF目標之反義寡核苷酸的功效。所測試之寡核苷酸為第412300號反義寡核苷酸(SEQ ID NO: 45)。

方法

人類疤痕/小鼠異種移植模型

利用使用移植至裸小鼠中之人類疤痕組織之人類疤痕/小鼠異種移植模型。

自出於美容原因而經歷疤痕選擇性切除之患者之廢棄組織匿名獲得疤痕組織之新鮮試樣。將疤痕樣品處理成10×5×5 mm樣品且在分析天平上稱重。接著如下文所述將疤痕樣品植入小鼠中。

利用3%異氟醚(isoflurane)麻醉小鼠。必要時，在手術前及手術後給與丁基原啡因(buprenorphine)(0.3 mg/ml丁基原啡因；2 mg/kg；SC)。

在達成全身麻醉且使動物預備好之後，在左肩胛骨及右肩胛骨上之皮膚中切出兩個10 mm切口，且利用細尖剪刀在皮下脂肪與筋膜之間產生囊腔。將一個癥痕樣品插入各囊腔中。用獸藥級氰基丙烯酸酯膠(VetBond或Nexaband)使切口閉合，且用70%乙醇擦拭該區域。接著用無菌半透膜(Op-Site™, Smith and Nephew)敷裹該區域。

在活體內針對癥痕評估ASO

利用針對人類(而非小鼠)CTGF目標之ASO(第412300號反義寡核苷酸；SEQ ID NO: 45)。為在上文所述之活體內模型系統中測試ASO之功效，對癥痕植入物注射ASO(溶解於PBS中)或PBS對照物。存在兩組動物，每組8隻動物(兩個癥痕/動物)。在植入癥痕後使動物適應約2週，隨後進行ASO給藥。

以100 µl總體積(來自5.0 mg/ml儲備溶液)投與每個癥痕樣品500 µg總劑量之oligo。每週兩次緊鄰各植入物投與ASO或PBS對照物，持續總共4週。最後一次注射後一週，移出一個植入物且對其進行qRT-PCR以分析基因表現，且移出對側癥痕並利用積分螢光密度(integrated density of fluorescence, IDF)對膠原蛋白含量進行組織學分析。

分離總RNA，且藉由定量即時PCR利用已顯示對人類mRNA序列具特異性之引子對來測定CTGF或膠原蛋白III型 $\alpha 1$ (Col3A1)mRNA。使mRNA含量與相同樣品中之GAPDH含量相關聯，且計算經ASO處理之樣品相比於單獨經PBS處理之對照物的任何變化。

結果

每個癭痕樣品用總體積為100 μ l之500 μ g第412300號反義寡核苷酸(SEQ ID NO: 45)處理4週後之結果指示個別癭痕樣品中CTGF及Col3A1 mRNA表現減少。用CTGF ASO處理使癭痕組織中之CTGF mRNA表現減至對照組之67%($p=0.082$)(圖2A)。用CTGF ASO處理使癭痕組織中之Col3a1 mRNA表現減至對照組之45%($p=0.153$)(圖2B)。

結論

癭痕之特徵在於纖維母細胞異常增殖及不同形式之膠原蛋白過度產生。在組織病理學上，其特徵在於在癭痕性疤痕之真皮中存在具有黏質性基質及相對極少纖維母細胞之厚玻璃質化膠原蛋白束或癭痕性膠原蛋白之渦旋及節結。大型厚膠原蛋白束及眾多薄原纖維緊密地堆積在一起。III型膠原蛋白為皮膚中所見之第二大豐富之膠原蛋白，且極其富含於癭痕中。與正常皮膚相比，癭痕中之Col3A1顯著升高。

此處已首次展示，經2'MOE化學修飾之ASO減少完整人類癭痕組織中之CTGF的能力。用ASO CTGF處理人類癭痕組織使目標CTGF mRNA表現減少33%。此亦已使得Col3A1表現減少55%。此Col3A1表現減少將對罹受癭痕生長之苦的患者產生顯著治療效益，且展示2'MOE ASO作為治療癭痕之新穎藥物的效用。

實例4：人類中之乳房疤痕修復研究

研究目的

此為在經歷因先前乳房手術而產生之疤痕的選擇性修復之個體中評估CTGF反義寡核苷酸(EXC 001)之功效及安全性的隨機、雙盲、個體內對照臨床研究。此研究要求個體具有足夠嚴重之原有疤痕以准許進行疤痕修復手術。因此，此研究在經修復之經安慰劑處理之疤痕中預篩選可預期具有高等級之肥厚性疤痕或癢痕形成的個體。

在已進行先前乳房手術且現在相同解剖位置處具有兩側匹配疤痕之患者中，經由皮內穿刺注射將EXC 001(SEQ ID NO:39)或安慰劑投與經修復乳房疤痕之部分。研究之主要目的在於評估EXC 001減少後續皮膚疤痕之功效。研究之次要目的在於評估EXC 001之安全性。

方法

在使手術切口閉合之後2週、5週、8週及11週，用4個劑量之EXC 001或安慰劑處理經修復乳房創口/疤痕之任一側之6 cm部分。在各個體中隨機確定哪一側經EXC 001或安慰劑處理。

所用EXC 001之劑量為每直線公分長度5 mg。所用EXC 001之濃度為25 mg/ml，且經修復乳房創口/疤痕之每直線公分長度注射100 µl EXC 001。在各切口之兩側上進行注射，每一側投與針對每直線公分長度之量的一半。在既定側上之注射相隔3 cm。為鄰近於切口且沿著切口長度傳遞安慰劑或EXC 001，利用皮內針(3 cm長)進行注射。在每一側上藉由穿刺技術緊鄰手術切口插入針，且當抽出針時注射EXC 001或安慰劑，以便沿著疤痕之長度投與等量反

義藥物。

研究持續時間為約31週。第1天個體接受疤痕修復，繼而在使手術切口閉合之後第2週、第5週、第8週及第11週接受4個劑量之EXC 001及安慰劑。第24週進行疤痕觀測及評估。

藉由對來自個別患者之各匹配切口對分級來確定功效(個體內分析)。在疤痕修復手術後第24週，利用三種對切口疤痕嚴重性分級之方法來評估功效：

- 個體對其疤痕之評估。在1-10之量表上，患者對其對疤痕外觀之「總體」看法分級。
- 醫師(研究者)對疤痕之評估。在1-10之量表上，醫師對其對疤痕外觀之總體看法分級。
- 專家團利用100 mm視覺類比量表(VAS)對成對盲法疤痕照片作出評估，其中0=最佳可能疤痕且100=最差可能疤痕。此方法提供關於疤痕絕對嚴重性以及配對中兩個疤痕之間的差異之資訊。

結果

21名個體完成此研究。手術後第24週之照片的檢查指示幾乎所有個體顯示在疤痕修復手術之後至少一側上之肥厚性疤痕重現。在一些狀況下，疤痕延伸超出原始切口之邊界且因此為癢痕性疤痕。

此研究在所有三個終點上達成偏向於EXC 001之統計顯著結果(負分代表所處理之安慰劑與EXC 001之間的差異，偏向於EXC 001-參見下表2)。

- 個體對其疤痕之評估：
 - 「總體」分級偏向於EXC 001具統計顯著性 ($p=0.033$)。
- 醫師對疤痕之評估：
 - 「總體」分級偏向於EXC 001具高度統計顯著性 ($p<0.001$)。
- 專家團對照片之VAS分級亦偏向於EXC 001具高度統計顯著性 ($p<0.001$)。

表 2

疤痕評估量表	安慰劑與EXC 001之間的差異	p值
個體總體	-2.4	0.003
醫師總體	-2.3	< 0.001
專家VAS	-26.0	< 0.001

圖 3A 展示用 CTGF 反義寡核苷酸 (EXC 001 或 SEQ ID NO: 39) 處理，在手術後 24 週抑制肥厚性疤痕形成及生長。圖 3B 展示亦在 24 週，來自不同個體之結果。在此第二實例中，患者在修復手術後 24 週在經安慰劑處理之疤痕中已形成癢痕。相比之下，藉由用 EXC 001 處理，幾乎完全防止在鄰近疤痕修復部位處癢痕性疤痕形成及生長。

因此，在此兩個實例中，藉由用 EXC 001 處理，肥厚性疤痕與癢痕性疤痕生長均受抑制。各組圖片下方之評分代表經安慰劑處理之疤痕與經 EXC 001 處理之疤痕之間的改良程度。舉例而言，在 100 分量表上，-19.3 之專家 VAS 評分指示安慰劑疤痕比經 EXC 001 處理之相應疤痕差 19.3。

在10分量表上，-1之醫師及個體評分意謂經安慰劑處理之疤痕比經EXC 001處理之相應疤痕差1分。結果展示EXC 001降低肥厚性疤痕與癢痕性疤痕之嚴重性。

實例5：人類中之初級預防腹部整形研究

研究目的

此為在經歷選擇性腹部整形手術之個體中評估CTGF反義寡核苷酸(EXC 001)之功效及安全性的隨機、雙盲、個體內對照臨床研究。

方法

研究持續時間為24週。第1天個體接受腹部整形，繼而經9週時段用EXC 001或安慰劑處理。

所用EXC 001之劑量為每直線公分長度5 mg。所用EXC 001之濃度為25 mg/ml，且腹部整形創口/疤痕之每直線公分長度注射100 µl EXC 001。在各切口之兩側上進行注射，每一側投與針對每直線公分長度之量的一半。在疤痕之各側向末端處沿著疤痕之兩個6 cm部分給與藥物或安慰劑，且因而已給藥之部分由至少10 cm未經處理之疤痕隔開。在既定側上之注射相隔3 cm。為鄰近於切口且沿著切口長度傳遞安慰劑或EXC 001，利用皮內針(3 cm長)進行注射。在每一側上利用穿刺技術緊鄰手術切口插入針，且當抽出針時注射EXC 001或安慰劑。

第1天個體接受疤痕修復，繼而在使手術切口閉合之後第2週、第5週、第8週及第11週接受4個劑量之EXC 001及安慰劑。第12週進行疤痕觀測及評估。

如先前實例中所述，藉由利用三種對切口疤痕之疤痕嚴重性分級之方法對已給藥之切口之各匹配部分分級(經安慰劑處理相比於經EXC 001處理)來確定功效。

結果

第12週，由此等準則確定EXC 001為有效的。功效之一實例展示於圖4中。在此實例中，清楚觀察到與安慰劑給藥相比由EXC 001給藥而引起之疤痕嚴重性降低。經安慰劑處理之切口部分已發展成肥厚性疤痕，而經EXC 001處理之疤痕部分為較細線。

EXC 001減少肥厚性疤痕形成之能力的另一實例展示於圖5中。在此實例中，疤痕右側(垂直線右側)上之腹部整形部分經EXC 001處理，而垂直線左側之疤痕未接受任何處理。顯然，右側之疤痕嚴重性相比於左側較不嚴重。

此實例亦展示EXC 001治療效益限於緊鄰藥物皮內穿刺給藥部位之疤痕區域。因此，藥物似乎遠離投藥部位具有有限擴散且將需要緊鄰疤痕進行給藥，例如藉由皮內穿刺來實現。

實例6：展示EXC 001對人類中多種基因之mRNA表現之影響的生物標記物研究

方法

在腹部整形程序之前13週，利用肚臍與恥骨上發際之間的區域作為產生總共20個2 cm切口之部位。2 cm長之切口處於四個切口之四行(A、B、C、D)中且用於在切開後第13週進行RNA分析。在腹部之每一側上處於此等行側面之

兩個其他切口 (a、b及c、d)用於4週或8週切開後 mRNA 分析。各行隔開至少 4 cm且各切口隔開至少 3 cm。

將對切開創口用 EXC 001或安慰劑進行之處理隨機分配成兩個處理組。A、B、C及D行中之每一行中之所有四個切開創口接受相同 EXC 001或安慰劑劑量。腹部一側上之所有切開創口/疤痕接受 EXC 001注射且另一側接受安慰劑注射。所有注射皆對接受測試劑之個體設盲。以相同給藥時程處理既定個體中之所有切口/疤痕。

將30名個體隨機分配至三個組之一，每組10名個體；以不同給藥時程處理各組(但所有組之高劑量及低劑量相同)：

第1組：第2週、第4週、第6週、第8週及第10週進行皮內注射

第2組：第2週、第5週、第8週及第11週進行皮內注射

第3組：第2週、第6週及第10週進行皮內注射

平行於切開創口/疤痕且距切開創口/疤痕約 3 mm處，將約 38 mm長之27號針皮內插入 2 cm(各切口之整個長度)(皮內穿刺技術)。接著注射 EXC 001或安慰劑，同時逐漸抽出針以使得針對每直線公分長度之正確量沿著切開線均勻沈積至真皮中。

切口之活組織檢查

第1天獲取鄰近於側向切口之每一側上之一個 6 mm穿孔活檢體用於 mRNA 分析，且用作未受傷皮膚樣品之對照物。第4週對第1組中之9名患者且第8週對第2組及第3組中

之20名患者自其側向切口(a、b、c、d)進行活組織檢查。藉由隨機化分配，此等切口中之兩者接受EXC 001，且兩者接受安慰劑。在即將進行腹部整形手術之前(第13週)，評定A、B、C及D行中之各疤痕的疤痕嚴重性(根據醫師及專家團量表，參見上述實例5)，且亦取樣用於組織學分析與RNA分析。

結果

當在高劑量下組合所有組時，針對醫師總體看法，經EXC 001處理之疤痕相對於經安慰劑處理之疤痕觀測到統計上顯著的改良(8.7%， p 值=0.018)。針對經組合之所有組及經組合之所有劑量的總體評估，亦觀測到統計上顯著的平均差異(5.9%， p 值=0.016)。此等結果再次展示EXC 001降低疤痕嚴重性之能力。

EXC 001減少肥厚性疤痕生長及形成之能力之一實例展示於圖6中。在此實例中，展示兩個匹配疤痕，一個經5 mg/cm EXC 001處理且一個經安慰劑處理。經EXC 001處理之疤痕之嚴重性小於經安慰劑處理之疤痕。此兩個疤痕之組織學分析亦揭示EXC 001介導之CTGF蛋白質表現減少(根據免疫組織化學)清楚展示EXC 001發揮功能以減少其預定目標(CTGF)之表現。在受傷後第4週、第8週及第13週亦進行9種不同mRNA轉錄物之表現的分析(表3)。

表 3：由 XP-PCR 分析之 mRNA 轉錄物

所量測之基因	識別符(寄存編號)
膠原蛋白1-a1(COL1A1)	NM_000088
膠原蛋白1-a2(COL1A2)	NM_000089
膠原蛋白III-a1(COL3A1)	NM_000090
結締組織生長因子(CTGF)	NM_001901
轉化生長因子- β 1(TGF- β 1)	NM_000660
母親抗十五褶同源物3(SMAD3)	NM_005902
彈性蛋白	M_36860
基質金屬蛋白酶1(MMP-1)	NM_002421
α -平滑肌肌動蛋白(α -SMA/ACTA2)	NM_001613

在手術後受傷之後，預期 CTGF 及膠原蛋白基因之 mRNA 表現增加。在所有三個時間點及在所有三個組中，疤痕中之 CTGF mRNA 表現相對於基線未受傷皮膚而言增加(約 2-5 倍)。如將在形成疤痕組織中預期，亦觀測到已知與疤痕相關之多種基因之表現增加，該等基因包括膠原蛋白基因，諸如 Col1A2(5-8 倍)及 Col3A1(3-7 倍)。

當在所量測之所有三個時間點與經安慰劑處理之相應疤痕相比時，在 EXC 001 注射後觀測到 CTGF mRNA 誘導之抑制。如圖 7A 中所示，第 13 週，總體(貫穿所有 3 個組)EXC 001 介導之 CTGF mRNA 誘導之減少為 53%。CTGF mRNA 抑制程度亦隨著時間及組給藥而變化。舉例而言，在一個組中，5 mg/cm 之單個劑量使 CTGF 表現之誘導減少 74% ($p=0.011$)，與未受傷皮膚相比達到僅 140% 表現之誘導(在 EXC 001 最後一次給藥後兩週獲取之量測值)(圖 7D)。另外，當在第 13 週量測時(貫穿所有三個組)，藉由 EXC 001

處理，Col1A2、Col3A1(圖 7B)及彈性蛋白纖維(ELASF)(圖 7C)之總體誘導之 mRNA 表現量亦顯著降低(分別降低 40% ($p=0.0013$)、69%($p<0.0001$)及 63%($p=0.0004$))。

膠原蛋白基因表現之完全抑制可能並非藥物處理之理想結果，此係由於需要某種膠原蛋白基因表現以促進正常創口修復及癒合過程。如圖 7D 及圖 7E 中所示，第 4 週或第 13 週，與安慰劑相比，藉由 EXC 001 處理，SMAD3 或 TGF β 1 mRNA 表現無顯著抑制。

此等資料展示 EXC 001 在人類中之作用機制。此等資料亦展示 EXC 001 能夠降低皮膚疤痕嚴重性之機制。

【圖式簡單說明】

圖 1 展示含 2'MOE 之反義寡核苷酸當藉由皮內注射而給藥時在兔皮膚中於相對短的距離(約 0.5 至 1.0 cm)內擴散(描述於實例 2 中)。

圖 2 展示在動物模型中用 CTGF 反義寡核苷酸處理癒痕使得移植至小鼠中之完整人類癒痕組織中 CTGF(圖 2A)與 Col3a1(圖 2B)mRNA 表現減少(描述於實例 3 中)。

圖 3 展示在人類中用 CTGF 反義寡核苷酸(EXC 001 或 SEQ ID NO: 39)處理在疤痕修復手術後 24 週抑制肥厚性疤痕與癒痕生長。各組圖片下方之評分代表經安慰劑處理之癒痕與經 EXC 001 處理之癒痕之間的改良程度。負分代表由 EXC 001 處理而引起之疤痕改良。圖 3A 展示在疤痕修復手術後 24 週經安慰劑處理之肥厚性疤痕及經 EXC 001 處理之肥厚性疤痕。圖 3B 展示在疤痕修復手術後 24 週經安慰劑處

理之癍痕性疤痕及經EXC 001處理之癍痕性疤痕(描述於實例4中)。

圖4展示用CTGF反義寡核苷酸(EXC 001或SEQ ID NO: 39)處理在腹部整形手術後12週抑制肥厚性疤痕形成及生長。圖片下方之評分代表經安慰劑處理之疤痕與經EXC 001處理之疤痕之間的改良程度。負分代表由EXC 001處理而引起之疤痕改良(描述於實例5中)。

圖5展示當鄰近於疤痕給藥時EXC 001之有限擴散(描述於實例5中)。疤痕右側(垂直線右側)上之腹部整形疤痕部分經EXC 001處理，而垂直線左側之疤痕未接受任何處理。顯然，右側之疤痕嚴重性小於左側。此實例展示EXC 001治療效益限於緊鄰藉由皮內穿刺傳遞藥物之部位的疤痕區域。因此，藥物似乎遠離投藥部位具有有限擴散且將需要緊鄰潛在疤痕部位及沿著潛在疤痕部位之長度進行給藥，例如藉由皮內穿刺來實現。圖5：腹部整形研究(202號)；第12週。

圖6展示EXC 001減少肥厚性疤痕生長及形成之能力之一個實例(描述於實例6中)。在此實例中，展示兩個匹配2 cm腹部疤痕，一個經5 mg/cm EXC 001處理且一個經安慰劑處理。經EXC 001處理之疤痕之嚴重性小於經安慰劑處理之疤痕。此兩個疤痕之組織學分析亦揭示EXC 001介導之CTGF蛋白質表現減少(根據免疫組織化學)清楚展示EXC 001發揮功能以減少其預定目標(CTGF)之表現。

圖7展示在處理後之各個時間在具有多種基因之腹部疤

痕中 EXC 001 對 mRNA 表現之影響(描述於實例 6 中)。圖 7A 展示 EXC 001 抑制 CTGF mRNA 表現之作用(13週 - EXC 001 最後一次給藥後 2 或 3 週，EXC 001 介導之 CTGF 減少。)。圖 7B 展示 EXC 001 抑制膠原蛋白 III-a1(Col3A1)mRNA 表現之作用(13週 - EXC 001 最後一次給藥後 2 或 3 週，EXC 001 介導之 Col3A1 減少。)。圖 7C 展示 EXC 001 抑制彈性蛋白(ELASF)mRNA 表現之作用(13週 - EXC 001 最後一次給藥後 2 或 3 週，EXC 001 介導之 ELASF 減少。)。圖 7D 及圖 7E 展示與安慰劑相比，EXC 001 對 SMAD3 或 TGF- β 1 mRNA 表現無顯著抑制。圖 7D：血管翳模型研究(201 號)；EXC 001 單次給藥後 2 週(第 1 組)。圖 7E：血管翳模型研究(201 號)；13 週 - EXC 001 最後一次給藥後 2 週。

序列表

<110> 利用針對結締組織生長因子(CTGF)目標之反義化合物治療癭痕或肥厚性疤痕之方法
 <120> 美商艾克厘德製藥公司
 <140> 101103411
 <141> 2012-02-02
 <150> 61/438,879
 <151> 2011-02-02
 <150> 61/488,666
 <151> 2011-05-20
 <150> 61/527,821
 <151> 2011-08-26

<160> 167

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類H-ras之陽性對照寡核苷酸

<400> 1

tccgtcatcg ctcctcaggg

20

<210> 2

<211> 2075

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> exon

<222> (130)..(1180)

<400> 2

cccggccgac agccccgaga cgacagcccg gcgcgtcccg gtccccacct ccgaccacgg

60

ccagcgctcc agggccccgcg ctccccgctc gccgccaccg cgccttcgcg tccgccccga

120

gtgccaacc atg acc gcc gcc agt atg ggc ccc gtc cgc gtc gcc ttc gtg
 Met Thr Ala Ala Ser Met Gly Pro Val Arg Val Ala Phe Val
 1 5 10

171

gtc ctc ctc gcc ctc tgc agc cgg ccg gcc gtc ggc cag aac tgc agc
 Val Leu Leu Ala Leu Cys Ser Arg Pro Ala Val Gly Gln Asn Cys Ser
 15 20 25 30

219

ggg ccg tgc cgg tgc ccg gac gag ccg gcg ccg cgc tgc ccg gcg ggc
 Gly Pro Cys Arg Cys Pro Asp Glu Pro Ala Pro Arg Cys Pro Ala Gly
 35 40 45

267

gtg agc ctc gtg ctg gac ggc tgc ggc tgc tgc cgc gtc tgc gcc aag
 Val Ser Leu Val Leu Asp Gly Cys Gly Cys Cys Arg Val Cys Ala Lys
 50 55 60

315

cag ctg ggc gag ctg tgc acc gag cgc gac ccc tgc gac ccg cac aag
 Gln Leu Gly Glu Leu Cys Thr Glu Arg Asp Pro Cys Asp Pro His Lys
 65 70 75

363

ggc ctc ttc tgt gac ttc ggc tcc ccg gcc aac cgc aag atc ggc gtg
 Gly Leu Phe Cys Asp Phe Gly Ser Pro Ala Asn Arg Lys Ile Gly Val

411

80	85	90	
tgc acc gcc aaa gat ggt gct ccc tgc atc ttc ggt ggt acg gtg tac Cys Thr Ala Lys Asp Gly Ala Pro Cys Ile Phe Gly Gly Thr Val Tyr 95 100 105 110			459
cgc agc gga gag tcc ttc cag agc agc tgc aag tac cag tgc acg tgc Arg Ser Gly Glu Ser Phe Gln Ser Ser Cys Lys Tyr Gln Cys Thr Cys 115 120 125			507
ctg gac ggg gcg gtg ggc tgc atg ccc ctg tgc agc atg gac gtt cgt Leu Asp Gly Ala Val Gly Cys Met Pro Leu Cys Ser Met Asp Val Arg 130 135 140			555
ctg ccc agc cct gac tgc ccc ttc ccg agg agg gtc aag ctg ccc ggg Leu Pro Ser Pro Asp Cys Pro Phe Pro Arg Arg Val Lys Leu Pro Gly 145 150 155			603
aaa tgc tgc gag gag tgg gtg tgt gac gag ccc aag gac caa acc gtg Lys Cys Cys Glu Glu Trp Val Cys Asp Glu Pro Lys Asp Gln Thr Val 160 165 170			651
gtt ggg cct gcc ctc gcg gct tac cga ctg gaa gac acg ttt ggc cca Val Gly Pro Ala Leu Ala Ala Tyr Arg Leu Glu Asp Thr Phe Gly Pro 175 180 185 190			699
gac cca act atg att aga gcc aac tgc ctg gtc cag acc aca gag tgg Asp Pro Thr Met Ile Arg Ala Asn Cys Leu Val Gln Thr Thr Glu Trp 195 200 205			747
agc gcc tgt tcc aag acc tgt ggg atg ggc atc tcc acc cgg gtt acc Ser Ala Cys Ser Lys Thr Cys Gly Met Gly Ile Ser Thr Arg Val Thr 210 215 220			795
aat gac aac gcc tcc tgc agg cta gag aag cag agc cgc ctg tgc atg Asn Asp Asn Ala Ser Cys Arg Leu Glu Lys Gln Ser Arg Leu Cys Met 225 230 235			843
gtc agg cct tgc gaa gct gac ctg gaa gag aac att aag aag ggc aaa Val Arg Pro Cys Glu Ala Asp Leu Glu Glu Asn Ile Lys Lys Gly Lys 240 245 250			891
aag tgc atc cgt act ccc aaa atc tcc aag cct atc aag ttt gag ctt Lys Cys Ile Arg Thr Pro Lys Ile Ser Lys Pro Ile Lys Phe Glu Leu 255 260 265 270			939
tct ggc tgc acc agc atg aag aca tac cga gct aaa ttc tgt gga gta Ser Gly Cys Thr Ser Met Lys Thr Tyr Arg Ala Lys Phe Cys Gly Val 275 280 285			987
tgt acc gac ggc cga tgc tgc acc ccc cac aga acc acc acc ctg ccg Cys Thr Asp Gly Arg Cys Cys Thr Pro His Arg Thr Thr Thr Leu Pro 290 295 300			1035
gtg gag ttc aag tgc cct gac ggc gag gtc atg aag aag aac atg atg Val Glu Phe Lys Cys Pro Asp Gly Glu Val Met Lys Lys Asn Met Met 305 310 315			1083
ttc atc aag acc tgt gcc tgc cat tac aac tgt ccc gga gac aat gac Phe Ile Lys Thr Cys Ala Cys His Tyr Asn Cys Pro Gly Asp Asn Asp 320 325 330			1131

atc ttt gaa tog ctg tac tac agg aag atg tac gga gac atg gca tga a	1180
Ile Phe Glu Ser Leu Tyr Tyr Arg Lys Met Tyr Gly Asp Met Ala	
335 340 345	
gccagagagt gagagacatt aactcattag actggaactt gaactgatcc acatctcatt	1240
tttcogtaaa aatgatttca gtagcacaaag ttattttaaat ctgtttttct aactggggga	1300
aaagattccc acccaattca aaacattgtg ccatgtcaaa caaatagtct atcttccccca	1360
gacactgggt tgaagaatgt taagacttga cagtggaaact acattagtac acagcaccag	1420
aatgtatat attggtgtggc tttaggagca gtggggagggt accggcccggt ttagtatcat	1480
cagatcgact cttatacgag taatatgcct gctatttgaa gtgtaattga gaaggaaaat	1540
tttagcgtgc tcactgacct gcctgtagcc ccagtgcacg ctaggatgtg cattctccag	1600
ccatcaagag actgagtcaa gttgttccct aagtcagaac agcagactca gctctgacat	1660
tctgattcga atgacactgt tcaggaatcg gaatcctgtc gatttagactg gacagcttgt	1720
ggcaagtga tttgcctgta acaagccaga ttttttaaaa tttatatattgt aaatattgtg	1780
tgtgtgtgtg tgtgtgtata tatatatata tatgtacagt tatctaagtt aatttaaagt	1840
tgtttgtgcc tttttatttt tgtttttaat gctttgatat ttcaatgtta gcctcaattt	1900
ctgaacacca taggtagaat gtaaagcttg tctgatcggt caaagcatga aatggatact	1960
tatatggaaa ttctgctcag atagaatgac agtccgtcaa aacagattgt ttgcaaaggg	2020
gaggcatcag tgtcttggca ggctgatttc taggtaggaa atgtggtagc tcacg	2075

<210>	3
<211>	22
<212>	DNA
<213>	人工序列

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之正向PCR引子

```
<400> 3
acaagggcct cttctgtgac tt                22
```

<210>	4
<211>	22
<212>	DNA
<213>	人工序列

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反向PCR引子

```
<400> 4
ggtagaccgt accaccgaag at 22
```

<210> 5

<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之PCR探針

<400> 5
tgtgcaccgc caaagatggt gct 23

<210> 6
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類GAPDH之正向PCR引子

<400> 6
gaaggtgaag gtcggagtc 19

<210> 7
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類GAPDH之反向PCR引子

<400> 7
gaagatggtg atgggatttc 20

<210> 8
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類GAPDH之PCR探針

<400> 8
caagcttccc gttctcagcc 20

<210> 9
<211> 2358
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> exon
<222> (207)..(1256)

<400> 9
aaactcacac aacaactcctt ccccgctgag aggagacagc cagtgcgact ccaccctcca 60
gtctgacggc agccgccccg gccgacagcc ccgagacgac agcccgggcgc gtcccggtcc 120

ccacctccga ccaccgccag cgctccagga cccgcgcgtc cccgctcgcc gccaccgcgc	180
cctccgctcc gcccgagtg ccaacc atg acc gcc gcc agt atg gcc ccc gtc	233
Met Thr Ala Ala Ser Met Gly Pro Val	
1 5	
cgc gtc gcc ttc gtg gtc ctc ctc gcc ctc tgc agc cgg ccg gcc gtc	281
Arg Val Ala Phe Val Val Leu Leu Ala Leu Cys Ser Arg Pro Ala Val	
10 15 20 25	
ggc cag aac tgc agc ggg ccg tgc cgg tgc ccg gac gag ccg gcg ccg	329
Gly Gln Asn Cys Ser Gly Pro Cys Arg Cys Pro Asp Glu Pro Ala Pro	
30 35 40	
cgc tgc ccg gcg ggc gtg agc ctc gtg ctg gac ggc tgc ggc tgc tgc	377
Arg Cys Pro Ala Gly Val Ser Leu Val Leu Asp Gly Cys Gly Cys Cys	
45 50 55	
cgc gtc tgc gcc aag cag ctg ggc gag ctg tgc acc gag cgc gac ccc	425
Arg Val Cys Ala Lys Gln Leu Gly Glu Leu Cys Thr Glu Arg Asp Pro	
60 65 70	
tgc gac ccg cac aag ggc ctc ttc tgt gac ttc ggc tcc ccg gcc aac	473
Cys Asp Pro His Lys Gly Leu Phe Cys Asp Phe Gly Ser Pro Ala Asn	
75 80 85	
cgc aag atc gcc gtg tgc acc gcc aaa gat ggt gct ccc tgc atc ttc	521
Arg Lys Ile Gly Val Cys Thr Ala Lys Asp Gly Ala Pro Cys Ile Phe	
90 95 100 105	
ggt ggt acg gtg tac cgc agc gga gag tcc ttc cag agc agc tgc aag	569
Gly Gly Thr Val Tyr Arg Ser Gly Glu Ser Phe Gln Ser Ser Cys Lys	
110 115 120	
tac cag tgc acg tgc ctg gac ggg gcg gtg ggc tgc atg ccc ctg tgc	617
Tyr Gln Cys Thr Cys Leu Asp Gly Ala Val Gly Cys Met Pro Leu Cys	
125 130 135	
agc atg gac gtt cgt ctg ccc agc cct gac tgc ccc ttc ccg agg agg	665
Ser Met Asp Val Arg Leu Pro Ser Pro Asp Cys Pro Phe Pro Arg Arg	
140 145 150	
gtc aag ctg ccc ggg aaa tgc tgc gag gag tgg gtg tgt gac gag ccc	713
Val Lys Leu Pro Gly Lys Cys Cys Glu Glu Trp Val Cys Asp Glu Pro	
155 160 165	
aag gac caa acc gtg gtt ggg cct gcc ctc gcg gct tac cga ctg gaa	761
Lys Asp Gln Thr Val Val Gly Pro Ala Leu Ala Ala Tyr Arg Leu Glu	
170 175 180 185	
gac acg ttt ggc cca gac cca act atg att aga gcc aac tgc ctg gtc	809
Asp Thr Phe Gly Pro Asp Pro Thr Met Ile Arg Ala Asn Cys Leu Val	
190 195 200	
cag acc aca gag tgg agc gcc tgt tcc aag acc tgt ggg atg gcc atc	857
Gln Thr Thr Glu Trp Ser Ala Cys Ser Lys Thr Cys Gly Met Gly Ile	
205 210 215	
tcc acc cgg gtt acc aat gac aac gcc tcc tgc agg cta gag aag cag	905
Ser Thr Arg Val Thr Asn Asp Asn Ala Ser Cys Arg Leu Glu Lys Gln	
220 225 230	

agc cgc ctg tgc atg gtc agg cct tgc gaa gct gac ctg gaa gag aac Ser Arg Leu Cys Met Val Arg Pro Cys Glu Ala Asp Leu Glu Glu Asn 235 240 245	953
att aag aag ggc aaa aag tgc atc cgt act ccc aaa atc tcc aag cct Ile Lys Lys Gly Lys Lys Cys Ile Arg Thr Pro Lys Ile Ser Lys Pro 250 255 260 265	1001
atc aag ttt gag ctt tct ggc tgc acc agc atg aag aca tac cga gct Ile Lys Phe Glu Leu Ser Gly Cys Thr Ser Met Lys Thr Tyr Arg Ala 270 275 280	1049
aaa ttc tgt gga gta tgt acc gac ggc cga tgc tgc acc ccc cac aga Lys Phe Cys Gly Val Cys Thr Asp Gly Arg Cys Cys Thr Pro His Arg 285 290 295	1097
acc acc acc ctg ccg gtg gag ttc aag tgc cct gac ggc gag gtc atg Thr Thr Thr Leu Pro Val Glu Phe Lys Cys Pro Asp Gly Glu Val Met 300 305 310	1145
aag aag aac atg atg ttc atc aag acc tgt gcc tgc cat tac aac tgt Lys Lys Asn Met Met Phe Ile Lys Thr Cys Ala Cys His Tyr Asn Cys 315 320 325	1193
ccc gga gac aat gac atc ttt gaa tcg ctg tac tac agg aag atg tac Pro Gly Asp Asn Asp Ile Phe Glu Ser Leu Tyr Tyr Arg Lys Met Tyr 330 335 340 345	1241
gga gac atg gca tga agccagagag tgagagacat taactcatta gactggaact Gly Asp Met Ala	1296
tgaactgatt cacatctcat ttttccgtaa aaatgatttc agtagcaciaa gttattttaa	1356
tctgtttttc taactggggg aaaagattcc caccgaattc aaaacattgt gccatgtcaa	1416
acaaatagtc tatcaacccc agacactggg ttgaagaatg ttaagacttg acagtggaac	1476
tacattagta cacagcacca gaatgtatat taagggtgtg ctttaggagc agtgggaggg	1536
taccagcaga aaggtagta tcatcagata gcatottata cgagtaatata gctgtctatt	1596
tgaagtgtaa ttgagaagga aaatttttagc gtgctcactg acctgcctgt agccccagt	1656
acagctagga tgtgcattct ccagccatca agagactgag tcaagttggt ccttaagtoa	1716
gaacagcaga ctgagctctg acattctgat tcgaatgaca ctgttcagga atcggaatcc	1776
tgtcgattag actggacagc ttgtggcaag tgaatttgcc tgtaacaagc cagatttttt	1836
aaaatttata ttgtaaatat tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tatatatata tatatgtaca	1896
gttatctaag ttaattttaa gttgtttgtg cttttttatt tttgttttta atgctttgat	1956
atttcaatgt tagcctcaat ttctgaacac cataggtaga atgtaaagct tgtctgatcg	2016
ttcaaagcat gaaatggata cttatatgga aattctgctc agatagaatg acagtccgtc	2076
aaaacagatt gtttgcaaag gggaggcatc agtgccttg gcaggctgat ttctaggtag	2136
gaaatgtggt agcctcactt ttaatgaaca aatggccttt attaaaaact gactgactct	2196

atatagetga tcagtttttt cacctggaag catttgtttc tactttgata tgactgtttt 2256
 tcggacagtt tatttggtga gagtgtgacc aaaagttaca tgtttgacc tttctagttg 2316
 aaaataaagt gtatatTTTT tctataaaaa aaaaaaaaaa aa 2358

<210> 10
 <211> 6001
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 10
 tatattattc actgtcaatc ttagtttata tccagatata acagggatca ctgctcttgt 60
 aatggaatca gacttcttat ttttaacaaga caaaccaaat ccaatccaca tttgaagatt 120
 ataggtttta atataagaaa atgcactcat ttotcaaaga ccctagttaa gctgtgttta 180
 aatgctccta ggtgaacccc ctttgcatcc cagtgttccc accctgacac ccagagcccc 240
 tacctacca acacagaatc atttgctctg atagaacaat ggatcccttt ttctggaaac 300
 attgatggc actcctcct tgccttgcc tatataaaac tcctacatat attaagagaa 360
 aactaagcaa gagttttgga aatctgcccc aggagactgc atcctgagtc acacgcgtct 420
 ttgttctctt tcttgtecca aaaccgttac ctcaagtgc aaatgatcaa atctcaaata 480
 tagaattcag ggttttacag gtaggcactc tgaggatttc aaatggttaa aagcaactca 540
 ctctttttct actctttgga gagtttcaag agcctatagc ctctaaaacg caaatcattg 600
 ctaagggttg ggggggagaa accctttcga attttttagg aattcctgct gtttgcctct 660
 tcagctacct acttcctaaa aaggatgtat gtcagtggac agaacagggc aaacttattc 720
 gaaaaagaaa taagaaataa ttgccagtgt gtttataaat gatatgaatc aggagtgggtg 780
 cgaagaggat agggaaaaaa aaattctatt tgggtctgga aatactgcgc tttttttttt 840
 cctttttttt tttttctgtg agctggagtg tgccagcttt ttcagacgga ggaatgctga 900
 gtgtcaaggg gtcaggatca atccggtgtg agttgatgag gcaggaaggt ggggaggaat 960
 gcgaggaatg tccctgtttg tgtaggactc cattcagctc attggcgagc cgcggcgcgc 1020
 cggagcgtat aaaagcctcg ggccgcccgc cccaaactca cacaacaact ctccccgct 1080
 gagaggagac agccagtgcg actccacct ccagctcgac ggcagccgc ccggcgcaca 1140
 gccccgagac gacagcccg cgcgtcccg tccccacct cgaccacgc cagcgtctca 1200
 ggccccgcgc ctccccgctc gccgccaccg cgccctccgc tccgcgcga gtgccaacca 1260
 tgaccgccgc cagtatgggc ccggtccgc tgccttcgt ggtcctcctc gccctctgca 1320
 gccgggtaag cgcggggagc ccccgctgcg gccggcggct gccagggagg gactcggggc 1380
 cggccgggga gggcgtgcgc gccgaccgag cgcgctgac cgcctgtcc tccctgcagc 1440

cgcccgctcg	ccagaactgc	agcggggcgt	gccgggtgcc	ggacgagccg	gcgcgcgct	1500
gcccgccggg	cgtgagcctc	gtgctggacg	gctgcccgtg	ctgccgcgtc	tgcgccaaag	1560
agctggggcg	gctgtgcacc	gagcgcgacc	catgcgaccc	gcacaagggc	ctattctgtc	1620
acttcggctc	cccggccaac	cgcaagatcg	gcgtgtgcac	cggttaagacc	cgagcccccc	1680
accgctaggt	gtccggccgc	ctcctccctc	acgcccaccc	gcccgcctga	aaaagaaacc	1740
gctcggactg	agttttcttc	tccagctgct	gccagcccgc	cccctgcagc	ccagatocca	1800
actcgcctcc	ctgacgctct	ggatgtgaga	gtgcccgaat	gocctgacctc	tgcctcccc	1860
acccctctct	tcccttcctc	ttctccagcc	aaagatgggtg	ctccctgcat	cttcgggtgt	1920
acgggtgtacc	gcagcggaga	gtccttcacg	agcagctgca	agtaccagtg	cacgtgcctg	1980
gacggggcgg	tgggctgcat	gcccctgtgc	agcatggacg	ttcgtctgcc	cagccctgac	2040
tgcccccttc	cgaggagggg	caagctgccc	gggaaatgct	gcgaggagtg	ggtgtgtgac	2100
gagcccaagg	accaaaccgt	ggttgggcct	gccctcgcgg	gtgagtcgag	tcttcctcta	2160
agtcagggtc	gtgattctct	cccagggagg	gagtcctaac	tgtgccgacc	gaacggggga	2220
aataccttat	ccaggcggtt	tacatgggtg	ttgtgtgtct	tgtctctgca	gcttacccgac	2280
tggaagacac	gtttggccca	gacccaacta	tgattagagc	caactgcctg	gtccagacca	2340
cagagtggag	cgctgttcc	aagacctgtg	ggatgggcat	ctccaccccg	gttaccaatg	2400
acaacgcctc	ctgcaggcta	gagaagcaga	gccgcctgtg	catggtcagg	ccttgcgaag	2460
ctgacctgga	agagaacatt	aaggctacatg	ttctgtctct	attaactatt	tttcacagga	2520
aaaacagtgg	ataggaccca	acttagggct	cttgccacgc	ttgttagtat	aagcccgtta	2580
tctccaaaac	tatctaacca	ttgagctgtt	ttgttggaat	gagagcttgt	gtaatagcaa	2640
ccaccagttt	tccactacga	aatcttcac	agggtaggtt	aattcaagac	attccaagag	2700
aggctctggc	tatttttggg	catagcaaat	gagactcaaa	cttcctcccc	tcaaaatata	2760
aacagaagtc	agacaacaga	agactaaaac	acagaggggt	gaagaaagcc	actcctcttg	2820
tagagtcgct	gatttttttt	tttctctct	cttttccctt	gtcttcccta	gaagggcaaa	2880
aagtgcctcc	gtactcccaa	aatctccaag	cctatcaagt	ttgagctttc	tggctgcacc	2940
agcatgaaga	cataccgagc	taaattctgt	ggagtatgta	ccgacggccg	atgctgcacc	3000
ccccacagaa	ccaccaccct	gccggctggg	ttcaagtgcc	ctgacggcga	ggtcatgaag	3060
aagaacatga	tgttcctcaa	gacctgtgcc	tgccattaca	actgtcccgg	agacaatgac	3120
atctttgaat	cgctgtacta	caggaagatg	tacggagaca	tggcatgaag	ccagagagtg	3180
agagacatta	actcattaga	ctggaacttg	aactgattca	catctcattt	ttcogtaaaa	3240
atgatttcag	tagcacaagt	tatttaaate	tgtttttcta	actgggggaa	aagattccca	3300

cccaattcaa aacattgtgc catgtcaaac aaatagtcta tcaaccccag acactgggtt	3360
gaagaatggt aagacttgac agtggaaacta cattagtaca cagcaccaga atgtatatta	3420
aggtgtggct ttaggagcag tgggagggtta ccagcagaaa ggtagtata atcagatagc	3480
atcttatagc agtaatatgc ctgctatttg aagtgttaatt gagaaggaaa atttttagcgt	3540
gctcactgac ctgcctgtag cccagtgac agctaggatg tgcattctcc agccatcaag	3600
agactgagtc aagttgttcc ttaagtcaga acagcagact cagctctgac attctgattc	3660
gaatgacact gttcaggaat cgggaatcctg tgcattagac tggacagctt gtggcaagt	3720
aatttgcctg taacaagcca gattttttta aatttatatt gtaaatttg tgtgtgtgtg	3780
tgtgtgtgta tatatatata tatgtacagt tatctaagtt aatttaaagt tgtttgtgcc	3840
tttttatttt tgtttttaat gctttgatat ttcaatgtta gcctcaattt ctgaacacca	3900
taggtagaat gtaaagcttg tctgatcgtt caaagcatga aatggatact tatatggaaa	3960
ttctgtcag atagaatgac agtcogtcaa aacagattgt ttgcaaaggg gaggcacag	4020
tgtccttggc aggtgattt ctaggtagga aatgtggtag cctcactttt aatgaacaaa	4080
tggcctttat taaaaactga gtgactctat atagctgac agttttttca cctggaagca	4140
tttgtttcta ctttgatatg actgtttttc ggacagttta tttgttgaga gtgtgaccaa	4200
aagttacatg tttgcacctt tctagttgaa aataaagtgt atattttttc tataaagggc	4260
ttggttattc attttatcctt ctaaacattt ctgagttttc ttgagcataa ataggaagtt	4320
cttattaatc ataagataat tcaccaataa ttttctaaat atctttaatt attctataca	4380
ttaataaatt gattattcca tagaattttt atgtaaacat acttcacact gaatcaagta	4440
tcacagactt gcaggcatac acaccacatt gactatacag ccattttttt tgttatcttc	4500
acagaacttt atagacactt taaattcaat tctctctaga ttaactcagt ctccattaac	4560
cctgttgat tacacttggc ccttttggca tttgtacctc tctggcgtt ataggttagt	4620
ttccaaccct tcacatcaca aactagtcta tgtgccttgc acgtggaaaa tgtttacatt	4680
ttttaaaaaat tttatgctct aggtctgttt ctgaacttca ttaccttact gttaaatctg	4740
aaaattatga aatgaaatcc tcatttaaatt ggagctattt cataagtctt gttttgtata	4800
attccgtttt tggttgccat gataaccaat gacaaacaga tggcataaat agaaaaggga	4860
ggatgagcaa atcttccatt cattaacatt aatagaaatt tgttttgaaa gtaattcctc	4920
catttgccca agtcttttagc tttatcagac ttccagatta atgcaccta ccttaccaag	4980
tggtttatatc atgagaaaaat ggaattgttc aagaagcctc atgtggaaac aatattgtac	5040
ctaccaggt aggttttttac taaagagtga accaaagtga atggtaaaca aaagcaatac	5100
accaaaggca actagaatct tctccacatg aggatagctg aggattctag gggaaaaaaa	5160

```

aattgcagac agactaactt ttcccaaggt aattagcaac gttgtagtgc caatgtcatt 5220
tggacagaca aaaatacacc tgaaaataaa gactagctct acaaacaact gtccacacca 5280
caaaccaaag ggaaaacttc ccgtgttcag aatgtgaaaa tttatggtca aaactctggg 5340
ctttaaggat acaccacacat ctgtatatag cagtgtgtgc aggagcagca cccacactcc 5400
ccaaataaat ggcgatgtac acatacacat aggcacacac acagagtaca ctgttagttc 5460
acaacttcctt tctgtcaatt aattcctaac tgcaaagatg aagggccatg catgataaac 5520
gagactgact actgaattag agcattcttg aaatatagaa gcagcaggaa aagcatagat 5580
ttcacatttt ccaaataccc acattaaaga aaaaaaaaaag agtcactaga ttgcaaaaca 5640
aaaatccac aggcgaatgtt tctacaaaaa ttagatggca atgcacactt tcacccccca 5700
aatatcggag gtaggggggtg ccaaatacat aaccaccgta agatctgcac cgtgtcagca 5760
catgtgtgag aaaagcagag aaacaacaag gtatctgatg cttctgagaa cagcagagct 5820
ctcaaacagc cagcaggtag tcactagata tatagaaggc caggctgaca gcagctgttg 5880
aatctagtag gggtttggcc tagcactcca acaaagctta caagccaggg ctgcctccca 5940
ggagaagatc ctcatactcc tggaagtgga atctaaattg agcaggtcac cagacagatg 6000
t 6001

```

<210> 11
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 11
 ccagctgctt ggcgcagacg 20

<210> 12
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 12
 gccagaaagc tcaaacttga 20

<210> 13
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 13
ccacaagctg tccagtctaa 20

<210> 14
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 14
ggtcacactc tcaacaaata 20

<210> 15
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 15
aaacatgtaa ctttttggcca 20

<210> 16
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 16
gggaagagtt gttgtgtgag 20

<210> 17
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 17
aggggtggagt cgcactggct 20

<210> 18
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 18
 acgaaggcga cgcggaagg 20

<210> 19
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 19
 gccgacggcc ggccggctgc 20

<210> 20
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 20
 ggtgcacacg ccgatcttgc 20

<210> 21
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 21
 tctttggcgg tgcacacgcc 20

<210> 22
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 22
 gcaccatctt tggcggtgca 20

<210> 23
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 23 gcagggagca ccattcttgg	20
<210> 24 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 24 aagatgcagg gagcaccatc	20
<210> 25 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 25 ccaccgaaga tgcagggagc	20
<210> 26 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 26 ccgtaccacc gaagatgcag	20
<210> 27 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 27 gtacttgcag ctgctctgga	20
<210> 28 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 28	

gggcatgcag cccaccgccc

20

<210> 29
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 29
aggcccaacc acggtttggt

20

<210> 30
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 30
agggcaggcc caaccacggt

20

<210> 31
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 31
taagccgcga gggcaggccc

20

<210> 32
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 32
cccacaggtc ttggaacagg

20

<210> 33
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 33
agatgcccat cccacaggtc

20

```

<210> 34
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 34
ccagtctaata gagttaatgt
20

<210> 35
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 35
ttcaagttcc agtctaataga
20

<210> 36
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 36
ttttccccca gttagaataaa
20

<210> 37
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 37
cacaatgttt tgaattgggt
20

<210> 38
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 38
acatggcaca atgttttgaa
20

<210> 39

```

<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 39
gtttgacatg gcacaatggt 20

<210> 40
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 40
tatttggttg acatggcaca 20

<210> 41
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 41
tgatagacta tttgtttgac 20

<210> 42
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 42
gttccactgt caagtcttaa 20

<210> 43
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 43
tgtactaatg tagttccact 20

<210> 44
<211> 20
<212> DNA

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400>	44	
	cattctggtg ctgtgtacta	20
<210>	45	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400>	45	
	taatatacat tctggtgctg	20
<210>	46	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400>	46	
	acaccttaat atacattctg	20
<210>	47	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400>	47	
	taaagccaca ccttaatata	20
<210>	48	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400>	48	
	gtaccctccc actgctccta	20
<210>	49	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 49
 aagatgctat ctgatgatac 20

<210> 50
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 50
 cgtataagat gctatctgat 20

<210> 51
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 51
 aatagcaggc atattactcg 20

<210> 52
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 52
 tacacttcaa atagcaggca 20

<210> 53
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 53
 tcaattacac ttcaaatagc 20

<210> 54
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 54	
ggagaatgca catcctagct	20
<210> 55	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 55	
atggctggag aatgcacatc	20
<210> 56	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 56	
tcttgatggc tggagaatgc	20
<210> 57	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 57	
gaatcagaat gtcagagctg	20
<210> 58	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 58	
cattgaaata tcaaagcatt	20
<210> 59	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 59	

ggctaacatt gaaatatcaa

20

<210> 60
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 60
aattgaggct aacattgaaa

20

<210> 61
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 61
gttcagaaat tgaggctaac

20

<210> 62
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 62
tatggtgttc agaaattgag

20

<210> 63
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 63
ctacctatgg tgttcagaaa

20

<210> 64
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 64
tacattctac ctatggtgtt 20

<210> 65
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 65
gacaagcttt acattctacc 20

<210> 66
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 66
gatcagacaa gctttacatt 20

<210> 67
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 67
atgctttgaa cgatcagaca 20

<210> 68
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 68
atttcattgct ttgaacgatc 20

<210> 69
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 69

gstatccattt catgctttga	20
<210> 70	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 70	20
ccatataagt atccatttca	
<210> 71	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 71	20
gaatttccat ataagtatcc	
<210> 72	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 72	20
tctgagcaga atttccatat	
<210> 73	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 73	20
tgtcattcta tctgagcaga	
<210> 74	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	

<400> 74
tttgacggac tgtcattcta 20

<210> 75
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 75
aacaatctgt tttgacggac . 20

<210> 76
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 76
tgatgcctcc cctttgcaaa 20

<210> 77
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 77
tgccaaggac actgatgcct 20

<210> 78
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 78
cagcctgcca aggacactga 20

<210> 79
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 79

gaaatcagcc tgccaaggac

20

<210> 80

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 80

acctagaaat cagcctgcc

20

<210> 81

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 81

ttcctaccta gaaatcagcc

20

<210> 82

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 82

taccacattt cctacctaga

20

<210> 83

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 83

tgaggctacc acatttccta

20

<210> 84

<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 84
taaaagtgag gctaccacat 20

<210> 85
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 85
caaagtcttc caggtgaaaa 20

<210> 86
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 86
tagaaacaaa tgcttccagg 20

<210> 87
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 87
tcatatcaaa gtagaaacaa 20

<210> 88
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 88
tccgaaaaac agtcatatca 20

```

<210> 89
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 89
acccggctgc agagggcgag 20

<210> 90
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 90
cgcttaccgg gctgcagagg 20

<210> 91
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 91
gacagggcgg tcagcggcgc 20

<210> 92
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 92
agtccgagcg gtttcttttt 20

<210> 93
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 93
aactcagtcg gagcggtttc 20

```

<210> 94
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 94
aaagaaactc agtccgagcg 20

<210> 95
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 95
tggagaaaga aactcagtc 20

<210> 96
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 96
gcagctggag aaagaaactc 20

<210> 97
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 97
tggcagcagc tggagaaaga 20

<210> 98
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 98
agggagcacc atcttttggt 20

<210> 99
<211> 20

```

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 99
tcacccgcga gggcaggccc 20

<210> 100
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 100
ggaagactcg actcaccgc 20

<210> 101
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 101
ttagaggaag actcgactca 20

<210> 102
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 102
accctgactt agaggaagac 20

<210> 103
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 103
tcacgaccct gacttagagg 20

<210> 104
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

```

```

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 104
gagaatcacg accctgactt                                20

<210> 105
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 105
tgggagagaa tcacgaccct                                20

<210> 106
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 106
ctccctggga gagaatcacg                                20

<210> 107
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 107
ggtcggcaca gttaggactc                                20

<210> 108
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 108
cgttcggtcg gcacagttag                                20

<210> 109
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

```

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 109

cctggataag gtatttcccc

20

<210> 110

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 110

acaaacacca tgtaaaacgc

20

<210> 111

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 111

gagcacacaa acaccatgta

20

<210> 112

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 112

tgcgagagca gagcacacaa

20

<210> 113

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 113

taagctgcga gagcagagca

20

<210> 114

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 114	
gtcggtaagc tgcgagagca	20
<210> 115	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 115	
ttccagtcgg taagctgcga	20
<210> 116	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 116	
acatgtacct taatgttctc	20
<210> 117	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 117	
gcagaacatg taccttaatg	20
<210> 118	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 118	
taggagcaga acatgtacct	20
<210> 119	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 119	
gttaatagga gcagaacatg	20

<210> 120
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

 <400> 120
 tgaaaaatag ttaataggag 20

 <210> 121
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

 <400> 121
 ccactgtttt tctgtgaaa 20

 <210> 122
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

 <400> 122
 aagttgggtc ctatccactg 20

 <210> 123
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

 <400> 123
 gccctaagtt gggtcctatc 20

 <210> 124
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

 <400> 124
 caagagccct aagttgggtc 20

```

<210> 125
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 125
cgtggcaaga gccctaagtt                                20

<210> 126
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 126
cgggcttata ctaacaagcg                                20

<210> 127
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 127
gataacgggc ttataactaac                                20

<210> 128
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 128
ttggagataa cgggcttata                                20

<210> 129
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 129
tagttttgga gataacgggc                                20

<210> 130
<211> 20

```

<212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

 <400> 130
 ttagatagtt ttggagataa 20

 <210> 131
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

 <400> 131
 caatgggttag atagttttgg 20

 <210> 132
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

 <400> 132
 cagctcaatg gttagatagt 20

 <210> 133
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

 <400> 133
 caaaacagct caatgggttag 20

 <210> 134
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

 <400> 134
 tccagcaaaa cagctcaatg 20

 <210> 135
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

```

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 135
ctcattccag caaaacagct                                20

<210> 136
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 136
aagctctcat tccagcaaaa                                20

<210> 137
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 137
tacacaagct ctcattccag                                20

<210> 138
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 138
ggttgctatt acacaagctc                                20

<210> 139
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 139
ctggtggttg ctattacaca                                20

<210> 140
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

```

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 140

gaaaactggt ggttgctatt

20

<210> 141

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 141

tagtggaata ctggtggttg

20

<210> 142

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 142

ttaactaacc ctgtggaaga

20

<210> 143

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 143

tgtcttgaat taactaacc

20

<210> 144

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 144

tggaatgtct tgaattaact

20

<210> 145

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 145 gccagagcct ctcttggaat	20
<210> 146 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 146 aaaaatagcc agagcctctc	20
<210> 147 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 147 tgtccaaaaa tagccagagc	20
<210> 148 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 148 tgctatgtcc aaaaatagcc	20
<210> 149 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 149 tcatttgcta tgtccaaaaa	20
<210> 150 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400> 150 gagtcctcatt tgetatgtcc	20

```

<210> 151
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 151
agtttgagtc tcatttgcta
20

<210> 152
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 152
gaggaagttt gagtctcatt
20

<210> 153
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 153
cttctgttgt ctgacttctg
20

<210> 154
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 154
cctctgtggt ttagtcttct
20

<210> 155
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 155
tttcttcaac cctctgtggt
20

```

<210>	156	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400>	156	
	ggagtggcctt tcttcaaccc	20
<210>	157	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400>	157	
	aggaagacaa gggaaaagag	20
<210>	158	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400>	158	
	ttctaaggaa gacaaggga	20
<210>	159	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400>	159	
	tgcccttcta aggaagacaa	20
<210>	160	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物	
<400>	160	
	ggatgagagt tgggatctgg	20
<210>	161	
<211>	20	

<212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物
 <400> 161
 ccagctgctt ggcgcagacg 20
 <210> 162
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物
 <400> 162
 gccagaaagc tcaaacttga 20
 <210> 163
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物
 <400> 163
 ccacaagctg tccagtctaa 20
 <210> 164
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物
 <400> 164
 ggtcacactc tcaacaata 20
 <210> 165
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物
 <400> 165
 aaacatgtaa ctttttgtca 20
 <210> 166
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 166
tgacatggca caatgttttg

20

<210> 167
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 針對人類結締組織生長因子 (CTGF) 之反義藥物

<400> 167
ccttcctga aggttcctcc

20

七、申請專利範圍：

1. 一種包含經修飾之寡核苷酸或其鹽或酯之組合物的用途，其係用於製造用以為有需要之個體治療直線癍痕或預防皮膚直線損傷後癍痕形成、再形成或生長之藥物，該經修飾之寡核苷酸係由12至30個鍵聯核苷組成，至少12個核鹼基之序列部分係與存在於選自SEQ ID NO: 9之核苷酸553-611、718-751、1388-1423、1457-1689、2040-2069、2120-2147、2267-2301、1394-1423、1469-1508、1559-1605、1659-1689、2100-2129及1399-1423及SEQ ID NO: 10之核苷酸2728-2797之區域內之核苷酸互補，其含量為有效治療直線癍痕或預防直線癍痕形成、再形成或生長之量，其中該藥物係藉由一或多次穿刺注射在該癍痕之部位或該皮膚損傷之部位處而投與該個體，且其中該有效量為對該癍痕或該皮膚損傷之每直線公分長度每次注射0.1 mg至50 mg該經修飾之寡核苷酸。
2. 一種包含經修飾之寡核苷酸或其鹽或酯之組合物的用途，其係用於製造用以為有需要之個體治療直線肥厚性疤痕或預防皮膚直線損傷後肥厚性疤痕形成、再形成或生長之藥物，該經修飾之寡核苷酸由12至30個鍵聯核苷組成，至少12個核鹼基之序列部分係與存在於選自SEQ ID NO: 9之核苷酸553-611、718-751、1388-1423、1457-1689、2040-2069、2120-2147、2267-2301、1394-1423、1469-1508、1559-1605、1659-1689、2100-2129

及 1399-1423 及 SEQ ID NO: 10 之核苷酸 2728-2797 之區域內之核苷酸互補，其含量為有效治療直線肥厚性疤痕或預防直線肥厚性疤痕形成、再形成或生長之量，其中該藥物係藉由一或多次穿刺注射在該肥厚性疤痕之部位或該皮膚損傷之部位處而投與該個體，且其中該有效量為對該肥厚性疤痕或該皮膚損傷之每直線公分長度每次注射 0.1 mg 至 25 mg 該經修飾之寡核苷酸。

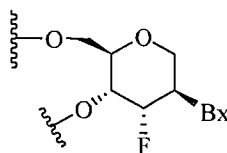
3. 一種包含經修飾之寡核苷酸之組合物的用途，其係用於製造用以為有需要之個體減少皮膚直線損傷部位處疤痕或癍痕形成、再形成或生長或用以治療原有直線疤痕或癍痕之藥物，該經修飾之寡核苷酸由 12 至 30 個鍵聯核苷組成，至少 12 個核鹼基之序列部分係與存在於選自由 SEQ ID NO: 9 之核苷酸 553-611、718-751、1388-1423、1457-1689、2040-2069、2120-2147、2267-2301、1394-1423、1469-1508、1559-1605、1659-1689、2100-2129 及 1399-1423 及 SEQ ID NO: 10 之核苷酸 2728-2797 組成之群的區域內之核苷酸互補，其含量為有效抑制 CTGF 之表現且藉此減少皮膚直線損傷之部位處疤痕或癍痕形成、再形成或生長之量，或為有效治療原有直線疤痕或癍痕之量，其中該藥物係藉由一或多次穿刺注射在該損傷部位或該原有疤痕或癍痕之部位處而投與該個體。
4. 如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中該一或多次穿刺注射包括每個疤痕進行多次皮內穿刺注射。
5. 一種包含經修飾之寡核苷酸之組合物的用途，其係用於

製造用以減少直線損傷部位處該纖維性病變形成、再形成或生長或用以治療原有直線纖維性病變之藥物，該經修飾之寡核苷酸由12至30個鍵聯核苷組成，至少12個核苷基之序列部分係與存在於選自由SEQ ID NO: 9之核苷酸 553-611、718-751、1388-1423、1457-1689、2040-2069、2120-2147、2267-2301、1394-1423、1469-1508、1559-1605、1659-1689、2100-2129及1399-1423及SEQ ID NO: 10之核苷酸2728-2797組成之群的區域內之核苷酸互補，其含量為有效抑制CTGF之表現且藉此減少直線損傷部位處纖維性病變形成、再形成或生長之量，或為有效治療原有直線纖維性病變之量，其中該藥物係藉由一或多次穿刺注射在該損傷部位或該原有纖維性病變之部位處而投與該個體。

6. 如請求項3之用途，其中該有效量為對該皮膚損傷之部位或該原有疤痕之部位之每直線公分長度每次注射0.1 mg至25 mg該經修飾之寡核苷酸。
7. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係至少每兩週投與一次，持續至少四週。
8. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係至少每三週投與一次，持續至少六週。
9. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係至少每四週投與一次，持續至少八週。
10. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係至少每八週投與一次，持續至少十六週。

11. 如請求項7之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係投與至少九週之時間。
12. 如請求項7之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係投與26週之時間。
13. 如請求項1、2、3或5中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸的至少12個核鹼基之序列部分係存在於SEQ ID NO: 28、30、39、40、43、44、45、50、51、52、56、78、125或166所示之任一序列所示的核鹼基序列內。
14. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸由20個鍵聯核苷組成。
15. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少14個鍵聯核苷。
16. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸為單股寡核苷酸。
17. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸為雙股寡核苷酸。
18. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個寡去氧核糖核苷酸。
19. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個寡核糖核苷酸。
20. 如請求項14之用途，其中該經修飾之寡核苷酸的序列與SEQ ID NO: 28、30、39、40、43、44、45、50、51、52、56、78、125或166所示之任一序列之一部分長度具有100%一致性。

21. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸包含至少一個經修飾之核苷間鍵。
22. 如請求項21之用途，其中至少一個經修飾之核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。
23. 如請求項22之用途，其中所有該等核苷間鍵為硫代磷酸酯核苷間鍵。
24. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中至少一個核苷包含經修飾之糖。
25. 如請求項24之用途，其中該經修飾之糖為雙環糖。
26. 如請求項25之用途，其中至少一個該經修飾之糖包含2'-O-甲氧基乙基。
27. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其包含至少一個經四氫嘧啶修飾之核苷，其中四氫嘧啶環替代呋喃糖環。
28. 如請求項27之用途，其中該至少一個經四氫嘧啶修飾之核苷分別具有以下結構：



其中 Bx 為視情況經保護之雜環鹼基部分。

29. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中至少一個核苷包含經修飾之核鹼基。
30. 如請求項29之用途，其中該經修飾之核鹼基為去氧核苷。

31. 如請求項29之用途，其中該經修飾之核鹼基為核糖核苷。
32. 如請求項29之用途，其中該經修飾之核鹼基為5'-甲基胞嘧啶。
33. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸包含：
- (a) 由鍵聯去氧核苷組成之間隔區段；
 - (b) 由鍵聯經修飾核苷組成之5'側翼區段；及
 - (c) 由鍵聯經修飾核苷組成之3'側翼區段；
- 其中該間隔區段位於該5'側翼區段與該3'側翼區段之間且其中各側翼區段內各經修飾核苷包含經修飾之糖。
34. 如請求項33之用途，其中該經修飾之寡核苷酸包含：
- (a) 由十三個鍵聯去氧核苷組成之間隔區段；
 - (b) 由兩個鍵聯經修飾核苷組成之5'側翼區段；及
 - (c) 由五個鍵聯經修飾核苷組成之3'側翼區段；
- 其中該間隔區段位於該5'側翼區段與該3'側翼區段之間，其中各側翼區段內各經修飾核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖；且其中各核苷間鍵為硫代磷酸酯鍵。
35. 如請求項13之用途，其中該核鹼基序列為SEQ ID NO:39所示之序列。
36. 如請求項13之用途，其中該核鹼基序列為SEQ ID NO:40所示之序列。
37. 如請求項13之用途，其中該核鹼基序列為SEQ ID NO:45所示之序列。

38. 如請求項13之用途，其中該核鹼基序列為SEQ ID NO:52所示之序列。
39. 如請求項13之用途，其中該核鹼基序列為SEQ ID NO:166所示之序列。
40. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該組合物包含該經修飾之寡核苷酸或其鹽，及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。
41. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其另外包括投與該個體第二反義化合物，該第二反義化合物針對相同或不同序列目標。
42. 如請求項41之用途，其中該經修飾之寡核苷酸及該第二反義化合物係同時投與。
43. 如請求項41之用途，其中該經修飾之寡核苷酸及該第二反義化合物係依序投與。
44. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係以與部分體形成結合物形式存在，該部分體增強該個體對該化合物之吸收及/或延長該化合物於該個體中之滯留時間，其中該滯留時間較佳為7至60天，且其中該部分體為聚乙二醇、玻尿酸、膽固醇、金剛烷乙酸(adamantine acetic acid)、1-萘丁酸、二氫畢固酮、1,3-雙-O-(十六碳烷基)甘油、十六碳烷基甘油、十六碳烷胺、香葉氧基己基(geranyloxyhexyl)、棕櫚酸、肉豆蔻酸、精胺、亞精胺、葉酸、維生素E、碳水化合物集群(carbohydrate cluster)、肽、轉運蛋白(transportin)或

吓嚇。

45. 如請求項44之用途，其中該肽係選自穿膜肽螺旋體 (antennapedia helix)、HIV Tat片段及整合素結合肽。
46. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係以傳遞系統投與，該傳遞系統增強該個體對該化合物之吸收及/或延長該化合物於該個體中之滯留時間，其中該滯留時間較佳為7至60天。
47. 如請求項46之用途，其中該傳遞系統包含陽離子脂質；脂質體；微粒；奈米粒子；具有懸浮粒子且具有或不具有適於即刻釋放之呈溶液形式之藥物或具有呈粒子形式之藥物儲存物的液體調配物；注射後膠凝之液體調配物；於生物相容性溶劑中含有聚合物及藥物之液體，當該溶劑被體液稀釋時，該聚合物及該藥物即沈澱；凝膠；半固體調配物(具有基質襯底或呈噴霧溶液形式)；欲在手術期間噴撒之粉末；可再吸收縫合線；或快速溶解凝膠或聚合物條帶。
48. 如請求項47之用途，其中該粒子係選自PLGA及聚Arg粒子。
49. 如請求項47之用途，其中該注射後膠凝之液體調配物係熱固性/反應性液體。
50. 如請求項49之用途，其中該熱固性/反應性液體係普洛尼克凝膠(pluronic gel)。
51. 如請求項47之用途，其中該生物相容性溶劑中含有聚合物及藥物之液體係阿特里凝膠(atrigel)。

52. 如請求項47之用途，其中該半固體調配物係水凝膠。
53. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係在該瘢痕、疤痕或纖維性病變之外科切除術之後投與該個體。
54. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該損傷為手術切開、活組織檢查、皮膚刺穿、皮膚移除、灼傷或創傷之結果。
55. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該有效量為對該瘢痕、該肥厚性疤痕、該皮膚損傷、該損傷部位、該原有疤痕或該原有纖維性病變之每直線公分長度每次注射約5 mg該經修飾之寡核苷酸。
56. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係投與長達6個月。
57. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係投與長達1年。
58. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其另外包含投與該個體另一治療劑，其中該另一治療劑為類固醇、聚矽氧敷包、TGF- β 3、膠原蛋白酶、17 β -雌二醇、IL-10、甘露糖6-磷酸、平滑肌鬆弛劑、幹細胞療法、血清類澱粉蛋白、針對整合素 α v β 6、CTGF、TGF β 目標之抗體、或抑制ALK-4及/或ALK-5(TGF β 受體)活性之分子、經設計以阻斷TNF活性之任何抑制劑、壓縮療法、冷凍手術、外科切除術、雷射治療、放射線療法、干擾素療法、博萊黴素(bleomycin)、5-氟尿嘧啶、維拉帕米

(verapamil)、咪喹莫特(imiquimod)乳膏、能夠促進創口癒合者、電刺激、「生長因子」類、敷料類、小腸黏膜下層(SIS)、Promogran、高比例氧(hyperbaric oxygen)或其組合。

59. 如請求項58之用途，其中該TGF- β 3為Juvista。
60. 如請求項58之用途，其中該膠原蛋白酶為Xyflex。
61. 如請求項58之用途，其中該17 β -雌二醇為Zesteem。
62. 如請求項58之用途，其中該IL-10為Prevascar。
63. 如請求項58之用途，其中該甘露糖6-磷酸為Juvidex。
64. 如請求項58之用途，其中該平滑肌鬆弛劑為AZX100，其為一種24個胺基酸合成肽。
65. 如請求項58之用途，其中該幹細胞療法為GBT009。
66. 如請求項58之用途，其中該經設計以阻斷TNF活性之抑制劑為依那西普(etanercept)。
67. 如請求項58之用途，其中該能夠促進創口癒合者係Dermagraft、Apligraf或PDGF (Regranex)。
68. 如請求項58之用途，其中該敷料類包含封閉敷料。
69. 如請求項14之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係藉助於調配物、超音波、電穿孔、離子導入療法或顯微針投與。
70. 如請求項1、3及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係鄰近於該瘢痕投與、沿著該瘢痕之整個長度投與、沿著該瘢痕之每一側投與或直接投與該瘢痕中。
71. 如請求項2之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係鄰近於

該肥厚性疤痕投與、沿著該肥厚性疤痕之整個長度投與、沿著該肥厚性疤痕之每一側投與或直接投與該肥厚性疤痕中。

72. 如請求項1至3及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係鄰近於該皮膚損傷投與、沿著該皮膚損傷之整個長度投與、沿著該皮膚損傷之每一側投與或直接投與該皮膚損傷中。
73. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係鄰近於該損傷部位投與、沿著該損傷部位之整個長度投與、沿著該損傷部位之每一側投與或直接投與該損傷部位中。
74. 如請求項3及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係鄰近於該原有纖維性病變投與、沿著該原有纖維性病變之整個長度投與、沿著該原有纖維性病變之每一側投與或直接投與該原有纖維性病變中。
75. 如請求項5之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係鄰近於該損傷部位投與、沿著該損傷部位之整個長度投與、沿著該損傷部位之每一側投與或直接投與該損傷部位中。
76. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸經皮內投與。
77. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸係藉由穿刺技術皮內投與。
78. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸經皮下投與。

79. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該經修飾之寡核苷酸經局部投與。
80. 如請求項1至3、5及6中任一項之用途，其中該個體在遺傳上易於形成癍痕或肥厚性疤痕或兩者。
81. 一種用於實現如請求項1至80中任一項之用途之套組，其包含：
- a. 預填充有包含該經修飾之寡核苷酸之該組合物的裝置；及
 - b. 使用說明書。