

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2011-506447

(P2011-506447A)

(43) 公表日 平成23年3月3日 (2011. 3. 3)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/00 (2006. 01)	A 6 1 K 37/02 Z N A	4 B 0 2 4
A 6 1 K 31/7088 (2006. 01)	A 6 1 K 31/7088	4 C 0 7 6
A 6 1 P 17/02 (2006. 01)	A 6 1 P 17/02	4 C 0 8 4
A 6 1 K 48/00 (2006. 01)	A 6 1 K 48/00	4 C 0 8 6
A 6 1 K 9/06 (2006. 01)	A 6 1 K 9/06	4 H 0 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 77 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2010-537971 (P2010-537971)	(71) 出願人	509135588
(86) (22) 出願日	平成20年12月11日 (2008. 12. 11)		コーダ セラピューティクス, インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成22年8月10日 (2010. 8. 10)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 92121, サン ディエゴ, ソレント バレー ロード 10505
(86) 国際出願番号	PCT/US2008/013656	(74) 代理人	100078282
(87) 国際公開番号	W02009/075882		弁理士 山本 秀策
(87) 国際公開日	平成21年6月18日 (2009. 6. 18)	(74) 代理人	100062409
(31) 優先権主張番号	61/007, 262		弁理士 安村 高明
(32) 優先日	平成19年12月11日 (2007. 12. 11)	(74) 代理人	100113413
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 森下 夏樹
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 損傷した創傷治癒組成物および治療

(57) 【要約】

第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤の組合せおよび使用を含む方法および組成物が、創傷ならびに創傷治癒および／または組織修復を促進および／または改善するための使用を含む治療的使用に提供される。本発明はまた、(a) 抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤と、(b) コネキシントタンパク質のmRNAに対するアンチセンスのポリヌクレオチドとを含む医薬組成物を包含する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

治療を必要とする対象に、治療有効量の第 1 の抗コネキシン剤および第 2 の抗コネキシン剤を含む組成物を投与する工程を含む治療の方法であって、前記第 1 の薬剤が抗コネキシンポリヌクレオチド剤であり、前記第 2 の薬剤が抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤である、方法。

【請求項 2】

前記ポリヌクレオチドが、アンチセンスポリヌクレオチドである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、配列番号 1 ～ 12 から選択される配列を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、
 G T A A T T G C G G C A A G A A G A A T T G T T T C T G T C
 (配列番号 1) ;
 G T A A T T G C G G C A G G A G G A A T T G T T T C T G T C
 (配列番号 2) ; および、
 G G C A A G A G A C A C C A A A G A C A C T A C C A G C A T
 (配列番号 3)
 から選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、約 15 ～ 約 35 ヌクレオチドを有し、生理学的状態下において約 20℃ を超える融点を有する二重鎖を形成するのに十分な程度にコネキシン 43 mRNA に対して相補的である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、約 15 ～ 約 35 ヌクレオチドを有し、コネキシン 43 mRNA のアンチセンス配列に対して少なくとも約 70 パーセントの相同性を有する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 7】

前記組成物が、約 0.1 ～ 約 1000 マイクログラムの前記抗コネキシン剤を含み、前記抗コネキシン 43 剤がアンチセンスポリヌクレオチドである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記ペプチドが、配列番号 14 ～ 23 から選択される配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記組成物が、約 0.01 ～ 約 100 ミリグラムの前記抗コネキシン 43 ペプチドまたは抗コネキシン 43 ペプチド模倣剤を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記抗コネキシン剤が RNA i ポリヌクレオチドまたは siRNA ポリヌクレオチドである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記対象が哺乳動物である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記哺乳動物が、家畜動物、農場動物、動物園動物、競技動物、およびペットからなる群から選択される、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 14】

前記対象が創傷を有する、請求項 1 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 15】

治療を必要とする対象に第1の組成物および第2の組成物を投与する工程を含む治療の方法であって、前記第1の組成物が治療有効量の抗コネキシン43ポリヌクレオチドを含み、前記第2の組成物が治療有効量の抗コネキシン43ペプチドまたは抗コネキシン43ペプチド模倣剤を含む方法。

【請求項 16】

前記第1前記第2の組成物が同時に投与される、請求項15に記載の方法。

【請求項 17】

前記第1および前記第2の組成物が互いから少なくとも約30分以内に投与される、請求項15に記載の方法。

10

【請求項 18】

前記第1および前記第2の組成物が互いから約1時間以内、互いから約1日以内、または互いから約1週間以内に投与される、請求項15に記載の方法。

【請求項 19】

前記第1の組成物が最初に投与される、請求項15に記載の方法。

【請求項 20】

前記第2の組成物が最初に投与される、請求項15に記載の方法。

【請求項 21】

抗コネキシンポリヌクレオチド、抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含む第3の創傷治癒組成物の投与をさらに含む、請求項15に記載の方法。

20

【請求項 22】

前記第3の組成物が最初に投与される、請求項15に記載の方法。

【請求項 23】

前記ポリヌクレオチドがアンチセンスポリヌクレオチドである、請求項15に記載の方法。

【請求項 24】

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、配列番号1～12から選択される配列を含む、請求項23に記載の方法。

【請求項 25】

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、
G T A A T T G C G G C A A G A A G A A T T G T T T C T G T C
(配列番号1)；
G T A A T T G C G G C A G G A G G A A T T G T T T C T G T C
(配列番号2)； および、
G G C A A G A G A C A C C A A A G A C A C T A C C A G C A T
(配列番号3)
から選択される、請求項23に記載の方法。

30

【請求項 26】

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、約15～約35ヌクレオチドを有し、生理学的状態下において約20℃を超える融点を有する二重鎖を形成するのに十分な程度にコネキシン43 mRNAに対して相補的である、請求項23に記載の方法。

40

【請求項 27】

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、約15～約35ヌクレオチドを有し、コネキシン43 mRNAのアンチセンス配列に対して少なくとも約70パーセントの同一性を有する、請求項23に記載の方法。

【請求項 28】

前記組成物が、約0.1～約1000マイクログラムの前記抗コネキシン剤を含み、前記抗コネキシン43剤がアンチセンスポリヌクレオチドである、請求項15に記載の方法。

【請求項 29】

50

前記ペプチドが、配列番号 14～23 から選択される配列を含む、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 30】

前記組成物が、約 0.01～約 100 ミリグラムの前記抗コネキシン 43 ペプチドまたは抗コネキシン 43 ペプチド模倣剤を含む、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 31】

前記抗コネキシン剤が、RNA i ポリヌクレオチドまたは siRNA ポリヌクレオチドである、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 32】

前記対象が哺乳動物である、請求項 15 に記載の方法。

10

【請求項 33】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

前記哺乳動物が、家畜動物、農場動物、動物園動物、競技動物、およびペットからなる群から選択される、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 35】

前記対象が創傷を有する、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 36】

前記対象が慢性創傷を有する、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 37】

前記慢性創傷が糖尿病性潰瘍である、請求項 36 に記載の方法。

20

【請求項 38】

前記慢性創傷が静脈性潰瘍である、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 39】

前記慢性創傷が褥瘡、血管炎性潰瘍、または動脈性潰瘍である、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 40】

創傷治癒を促進または改善するのに用いるための医薬組成物であって、治療有効量の抗コネキシン 43 ポリヌクレオチドおよび抗コネキシン 43 ペプチドまたは抗コネキシン 43 ペプチド模倣剤を含む医薬組成物。

30

【請求項 41】

前記ポリヌクレオチドがアンチセンスポリヌクレオチドである、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 42】

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、配列番号 1～12 から選択される配列を含む、請求項 41 に記載の医薬組成物。

【請求項 43】

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、
G T A A T T G C G G C A A G A A G A A T T G T T T C T G T C
(配列番号 1) ;
G T A A T T G C G G C A G G A G G A A T T G T T T C T G T C
(配列番号 2) ; および、
G G C A A G A G A C A C C A A A G A C A C T A C C A G C A T
(配列番号 3)
から選択される、請求項 41 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 44】

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、約 15～約 35 ヌクレオチドを有し、生理学的状態下において約 20℃を超える融点を有する二重鎖を形成するのに十分な程度にコネキシン 43 mRNA に対して相補的である、請求項 41 に記載の医薬組成物。

【請求項 45】

50

前記アンチセンスポリヌクレオチドが、約 15 ～ 約 35 ヌクレオチドを有し、コネキシン 43 mRNA のアンチセンス配列に対して少なくとも約 70 パーセントの相同性を有する、請求項 41 に記載の医薬組成物。

【請求項 46】

前記組成物が、約 0.1 ～ 約 1000 マイクログラムの前記抗コネキシン剤を含み、前記抗コネキシン 43 剤がアンチセンスポリヌクレオチドである、請求項 41 に記載の医薬組成物。

【請求項 47】

前記ペプチドが、配列番号 14 ～ 23 から選択される配列を含む、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 48】

前記組成物が、約 0.01 ～ 約 100 ミリグラムの前記抗コネキシン 43 ペプチドまたは抗コネキシン 43 ペプチド模倣剤を含む、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 49】

前記抗コネキシン剤が RNAi ポリヌクレオチドまたは siRNA ポリヌクレオチドである、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 50】

局所投与用に処方される、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 51】

ゲルとして処方される、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 52】

前記ゲルが、ポリオキシエチレンーポリオキシプロピレンコポリマーベースのゲルまたはカルボキシメチルセルロースベースのゲルである、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 53】

前記ゲルがプルロニックゲルである、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 54】

慢性創傷を治療する方法であって、慢性創傷の治療を必要とする対象に治療有効量の請求項 40 に記載の医薬組成物を投与する工程を含む方法。

【請求項 55】

前記慢性創傷が糖尿病性潰瘍である、請求項 54 に記載の方法。

【請求項 56】

前記慢性創傷が静脈性潰瘍である、請求項 54 に記載の方法。

【請求項 57】

前記慢性創傷が褥瘡、血管炎性潰瘍、または動脈性潰瘍である、請求項 54 に記載の方法。

【請求項 58】

瘢痕形成の軽減を必要とする対象における瘢痕形成を軽減する方法であって、前記対象に治療有効量の請求項 40 に記載の医薬組成物を投与する工程を含む方法。

【請求項 59】

前記医薬組成物が局所投与される、請求項 58 に記載の方法。

【請求項 60】

創傷を治療する薬剤を調製する方法であって、ある量の第 1 の組成物および第 2 の組成物を併せるステップを含み、前記第 1 の組成物が有効量の抗コネキシンポリヌクレオチドを含み、前記第 2 の組成物が有効量の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む方法。

【請求項 61】

前記抗コネキシン剤が抗コネキシン 43 アンチセンスポリヌクレオチドを含む、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 62】

前記医薬が局所投与用に処方される、請求項 61 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 6 3】

前記医薬が持続放出用に処方される、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 4】

創傷治癒または組織修復を促進または改善するために、対象の中または表面で使用するための指示書と共に、請求項 4 0 に記載の医薬組成物を含有するパッケージ材料を含む製品。

【請求項 6 5】

抗コネキシンポリヌクレオチド剤および抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む創傷包帯材。

【請求項 6 6】

前記創傷が持続性上皮欠損である、請求項 1 5 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、ギャップジャンクションならびに創傷および創傷治癒、特に、急性創傷、ならびに治癒が遅延している創傷、治癒が不完全な創傷、慢性創傷、および離開創など、予測される速度で治癒しない創傷に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

背景

以下は、本発明の理解に有用でありうる情報を含む。このことは、本明細書に記載される情報が、本明細書に記載または特許請求されている発明に対する先行技術であるか、もしくはこれに関連していることを認めるものでも、明示的にもしくは暗黙に言及される刊行物もしくは文書が先行技術であることを認めるものでもない。

【0 0 0 3】

ヒトおよび他の哺乳動物において、創傷は、細胞イベントおよび生化学的イベントの組織化された複雑なカスケードを誘発し、この結果、大半の場合において創傷の治癒がもたらされる。理想的に治癒した創傷とは、細胞レベル、組織レベル、器官レベル、および生物レベルにおける正常な解剖学的構造、機能、および外見が回復しているものである。外傷、微生物、または外来物質のいずれにより誘発されたものでも、創傷の治癒は、炎症、上皮形成、新脈管形成、およびマトリックス沈着を含めたいくつものオーバーラップした段階を包含する複雑な過程により進行する。通常、これらの過程により、創傷の完成 (mature wound) およびある程度の瘢痕形成がもたらされる。炎症および修復は、規定の経過に沿って生じることが大半であるが、この過程の感度は、例えば、調節サイトカインおよび増殖因子のネットワークを含む、各種の創傷治癒分子の均衡に依存する。

【0 0 0 4】

ギャップジャンクションは、直接的な細胞間情報伝達 (cell-cell communication) を促進する細胞膜構造である。ギャップジャンクションチャネルは、各々が 6 つずつのコネキシンサブユニットからなる 2 つのコネクソン (ヘミチャネル) から形成される。各 6 量体コネクソンは、向い側の膜内のコネクソンとドッキングして、単一のギャップジャンクションを形成する。ギャップジャンクションチャネルは、全身において見出される。例えば、角膜上皮などの組織は、6 ~ 8 層の細胞層を有するが、異なる層では異なるギャップジャンクションチャネルを発現することが報告されており、基底層ではコネキシン 4 3 を有し、基底層から中翼細胞層ではコネキシン 2 6 を有する。一般に、コネキシンは 1 つのタンパク質ファミリーであり、通常、それらの分子量により命名されるか、または系統発生に基づき、アルファ、ベータ、およびガンマのサブクラスに分類されている。ヒトで少なくとも 2 0 種のアイソフォームが、また、マウスで少なくとも 1 9 種のアイソフォームが同定されている。特徴的なパターンのコネキシンタンパク質発現を有する様々な組織および細胞型が報告されており、組織は、傷害または移植後において、コネキシンタンパク質の発現パターンを変化させることが示されている (Qui,

10

20

30

40

50

C. ら (2003 年)、Current Biology、第 13 巻、1967～1703 頁； Brander ら (2004 年)、J. Invest Dermatol.、第 122 巻、1310～20 頁)。

【0005】

異常なコネキシン機能は、特定の疾患状態 (例えば、心疾患) と関連し得ることが報告されている (A. C. de Carvalho ら、J Cardiovasc Electrophysiol、1994 年、第 5 巻、686 頁)。ある種のコネキシンタンパク質では、ギャップジャンクションを介した細胞間情報伝達レベルに影響を及ぼしうる外因性物質の追加により、代謝回転特性および輸送特性の変化が誘導されうる (Darrow, B.、J. ら (1995 年)、Circ Res、第 76 巻、381 頁； Lin R ら (2001 年)、J Cell Biol、第 154 巻、第 4 号、815 頁)。ウイルス性疾患、真菌性疾患、および代謝性疾患に関係する遺伝子の発現調節について、アンチセンス技術が報告されている。例えば、特許文献 1 (HIV に対するオリゴヌクレオチド阻害剤)、および特許文献 2 (単純ヘルペスウイルスの Vmw65 mRNA にハイブリダイズし、複製を阻害するオリゴマー) を参照されたい。また、Becker および Green に付与された特許文献 3 (コネキシンに対するアンチセンスヌクレオチドを含む製剤) も参照されたい。ギャップジャンクションおよびヘミチャネルに対するペプチド阻害剤もまた報告されている。例えば、Berthoud, V. M. ら、Am J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.、第 279 巻、L619～L622 頁 (2000 年)； Evans, W. H. および Boitano, S.、Biochem. Soc. Trans.、第 29 巻、606～612 頁；ならびに De Vriese A. S. ら、Kidney Int.、第 61 巻、177～185 頁 (2001 年) を参照されたい。また、Becker および Green、PCT/US06/04131 (「Anti-connexin compounds and uses thereof」) も参照されたい。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献 1】米国特許第 5, 166, 195 号明細書

【特許文献 2】米国特許第 5, 004, 810 号明細書

【特許文献 3】米国特許第 7, 098, 190 号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

創傷治癒過程の基礎をなす原理に対する理解の進展にもかかわらず、治癒が遅延している創傷、治癒が不完全な創傷、および慢性創傷など、予測される速度で治癒しない創傷を含む創傷治療に適する治療選択肢に対する必要は、依然としてほとんど満たされていない。本出願では、このような治療組成物および治療が記載および特許請求される。

【課題を解決するための手段】

【0008】

簡単な要旨

本明細書で記載および特許請求される発明は、この「簡単な要旨」において説明または記載または言及される属性および実施形態を含むがこれらに限定されない多くの属性および実施形態を有する。それは包括的であることが意図されるものでなく、本明細書で記載および特許請求される発明は、限定ではなくて例示だけを目的として組み入れられているこの「簡単な要旨」に限定されるものでも、「簡単な要旨」において特定される特徴または実施形態により限定されるものでもない。

【0009】

本発明は一般に、急性創傷、治癒が遅延している創傷、および慢性創傷を含む創傷を治療するための、1 または複数の抗コネキシンペプチド、抗コネキシンペプチド模倣剤 (例

10

20

30

40

50

えば、アルファ-1 抗コネキシンペプチドまたはアルファ-1 抗コネキシンペプチド模倣剤)、ギャップジャンクション閉鎖化合物、ヘミチャネル閉鎖化合物、およびコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドと組み合わせた、1 または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド (例えば、アルファ-1 コネキシンオリゴデオキシヌクレオチドなどのコネキシン阻害剤) の使用に関する。

【0010】

第1の抗コネキシン剤を第2の抗コネキシン剤と組み合わせて用いる、本発明の組成物および方法が開示および特許請求される。第1の抗コネキシン剤は、創傷治癒に有用な抗コネキシンオリゴヌクレオチド、抗コネキシンペプチド、抗コネキシンペプチド模倣剤、ギャップジャンクション閉鎖化合物、ヘミチャネル閉鎖化合物、コネキシンカルボキシ末端ポリペプチド、および他のギャップジャンクション調節剤からなる群から選択することができる。第2の抗コネキシン剤は、第1の抗コネキシン剤が選択された抗コネキシン剤のサブカテゴリーを差し引くように変更した上記の群から選択される。

【0011】

本発明は、創傷治癒のための、薬学的に許容される抗コネキシンポリヌクレオチドおよび薬学的に許容される抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を、対象における治癒または組織修復を促進するのに有効な量で含む医薬組成物を包含する。本発明はまた、第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤を含み、第1の抗コネキシン剤が、創傷治癒に有用な抗コネキシンオリゴヌクレオチド、抗コネキシンペプチド、抗コネキシンペプチド模倣剤、ギャップジャンクション閉鎖化合物、ヘミチャネル閉鎖化合物、およびコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドからなる群から選択され、第2の抗コネキシン剤が、第1の抗コネキシン剤が選択された抗コネキシン剤のサブカテゴリーを差し引くように変更した上記の群から選択される医薬組成物も包含する。このような製剤には、例えば、局所送達の状態および製剤が含まれる。このような送達の状態および製剤には、本明細書で開示される、対象の治療のための状態および製剤が含まれる。好ましい抗コネキシンポリヌクレオチドは、抗コネキシン43オリゴヌクレオチド(ODN)である。好ましいペプチドまたはペプチド模倣剤は、抗コネキシン43ペプチドまたは抗コネキシン43ペプチド模倣剤、例えば、抗コネキシン43ヘミチャネル遮断ペプチドまたは抗コネキシン43ヘミチャネル遮断ペプチド模倣剤である。好ましいギャップジャンクション閉鎖化合物およびヘミチャネル閉鎖化合物は、コネキシン43ギャップジャンクション閉鎖化合物およびコネキシン43ヘミチャネル閉鎖化合物である。好ましいコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドは、コネキシン43カルボキシ末端ポリペプチドである。本発明の1または複数の医薬組成物、例えば、抗コネキシンODNおよびコネキシンヘミチャネル遮断剤、例えば、ペプチドもしくはペプチド模倣剤、または第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤による、例えば、創傷に対する対象の治療は、それらの同時投与、個別投与、逐次投与、または持続投与を含む。

【0012】

本発明は、(a) 抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤と、(b) コネキシンタンパク質のmRNAに対するアンチセンスのポリヌクレオチドとを含む医薬組成物を包含する。このコネキシンは、コネキシン43であることが最も好ましい。本発明はまた、創傷治癒に有用な(a) および/または(b) ならびに1または複数のギャップジャンクション閉鎖化合物、ヘミチャネル閉鎖化合物、およびコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドを含む医薬組成物も包含する。創傷治癒に有用なギャップジャンクション閉鎖化合物およびヘミチャネル閉鎖化合物の場合、ギャップジャンクションまたはヘミチャネルは、コネキシン43ギャップジャンクションまたはコネキシン43ヘミチャネルであることが最も好ましい。創傷治癒に有用なコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドの場合、コネキシンは、コネキシン43であることが最も好ましい。

【0013】

医薬組成物はまた、例えば、2つ以上の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネ

キシンプепチド模倣剤の混合物としての組合せ調製物の形態で提供することもできる。

【0014】

「組合せ調製物」という用語は、薬学的形態で、または包帯材／マトリックス形態で、あるいはその両方の形態で、上記で定義した組合せパートナーを個別に投与することもでき、異なる量の組合せパートナー（a）および（b）による異なる固定の組合せを用いて投与することもできる、すなわち、同時投与、個別投与、または逐次投与しうるという意味における「要素キット（kit of parts）」を含む。したがって、キットの要素を、例えば、同時に投与することもでき、時間的にずらして投与する、すなわち、要素キットの任意の要素について、異なる時点および等しいかまたは異なる時間間隔で投与することもできる。

10

【0015】

一実施形態では、組合せ調製物が投与され、この場合、2つ以上の個別の組成物が対象に投与され、第1の組成物が治療有効量の抗コネキシン43ポリヌクレオチドを含み、第2の組成物が治療有効量の抗コネキシン43ペプチドまたは抗コネキシン43ペプチド模倣剤を含む。別の実施形態では、1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含む第3の組成物が投与される。第3の組成物はまた、創傷の治癒に有用な1もしくは複数のギャップジャンクション閉鎖化合物、ヘミチャネル閉鎖化合物、またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドも含みうる。

20

【0016】

医薬組成物は、組合せ投与、同時投与、個別投与、逐次投与、または持続投与用に提供される。一実施形態において、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含む組成物は、1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤と同時にまたはほぼ同時に投与される。一実施形態において、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含む組成物は、1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤から少なくとも約30分以内に投与される。一実施形態において、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含む組成物は、1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤から少なくとも約1時間以内に投与される。一実施形態において、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含む組成物は、1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤から少なくとも約12時間以内に投与される。一実施形態において、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含む組成物は、1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤から少なくとも約24時間以内に投与される。別の実施形態において、抗コネキシンポリヌクレオチド、および抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤は、互いから約1時間以内、互いから約1日以内、または互いから約1週間以内に投与される。他の実施形態は、1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および／あるいは1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに創傷治癒に有用な1もしくは複数のギャップジャンクション閉鎖化合物、創傷治癒に有用な1もしくは複数のヘミチャネル閉鎖化合物、および／または創傷治癒に有用な1もしくは複数のコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドの投与を含む。

30

40

【0017】

一態様において、本発明は、薬学的に許容される担体と、治療有効量の、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、創傷治癒に有用な抗コネキシンポリヌクレオチド、および創傷治癒に有用な1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤とを含む局所送達形態および製剤を含む医薬組成物を含む。抗コネキシンポリヌクレオチドの例は、アンチセンス（改変骨格アンチセンスおよび非改変骨格アンチセンスを含む）、RNAi、およびsiRNAを含む抗コネキシンオリゴデオキシヌクレオチド（「ODN」）を含む。適切な抗コネキシンペプチドは、結合ペプチドを含む。適切な抗コネキシン剤は、例えば、コネキシン43、26、37、30、および31.1、および32に対するアンチセンスODN、ペプチド、およびペ

50

プチド模倣剤を含む。一部の実施形態において、適切な組成物は、例えば、抗コネキシン 43 剤、抗コネキシン 26 剤、抗コネキシン 30 剤、および抗コネキシン 31.1 剤を含む、複数種の抗コネキシン剤を組合せて含む。抗コネキシンオリゴヌクレオチドと、抗コネキシンペプチドおよび抗コネキシンペプチド模倣剤とを含む好ましい抗コネキシン剤は、コネキシン 43 を対象とする。

【0018】

本発明は、同時投与、個別投与、または逐次投与された 2 種以上の抗コネキシン剤を用いて、創傷治癒の速度、程度、および／または質を上昇させる。好ましい実施形態において、本明細書に記載の第 1 の抗コネキシン剤および第 2 の抗コネキシン剤、例えば、1 または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および 1 もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤の組合せ使用は、創傷治癒を促進するのに相加効果、相乗効果、または超相加効果を有する。好ましい実施形態では、このような組合せ使用の結果としての組合せ調製物の投与により、投与時点が減少し、かつ／または投与間の時間間隔が延長される。別の好ましい実施形態では、本明細書に記載の第 1 の抗コネキシン剤および第 2 の抗コネキシン剤、例えば、1 または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および 1 もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤の組合せ使用により、投与頻度を低減させることができる。別の好ましい実施形態では、本明細書に記載の第 1 の抗コネキシン剤および第 2 の抗コネキシン剤、例えば、1 または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および 1 もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤の組合せ使用により、薬剤を単独で投与した場合に有効でありうる 1 または複数の用量と比較して、このような薬剤の用量を低減して用いることができる。

【0019】

別の態様において、本発明は、治癒が遅延しているかまたは不完全な創傷を全体的または部分的に特徴とする創傷を含む創傷を有する対象に対して、遅延放出調製物、徐放調製物、持続放出調製物、制御放出調製物、および／または反復作用調製物の形で処方された、治療有効量の、本明細書に記載の第 1 の抗コネキシン剤および第 2 の抗コネキシン剤、例えば、1 または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および 1 もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を投与する方法を包含する。

【0020】

他の一部の態様において、本発明はまた、このような組成物を用いて、急性創傷、ならびに治癒が遅延している創傷および慢性創傷を含めた、予測される速度で治癒しない創傷を含めた創傷と関連する各種の疾患、障害、および状態に罹患しているまたは罹患する危険性を示す対象を治療する方法にも関する。

【0021】

さらに別の態様において、本発明は、修復を必要とする創傷または組織を全体的または部分的に特徴とする任意の疾患、障害、および／もしくは状態を有するか、またはこれらを有することが疑われるか、またはこれらに対する素因を有するか、またはこれらに対する危険性を示す対象を治療する方法を包含する。そのような組成物には、例えば、局所送達形態および製剤が含まれる。

【0022】

別の態様において、本発明は、治療の方法であって、例えば、急性創傷、ならびに治癒が遅延している創傷および慢性創傷を含めた、予測される速度で治癒しない創傷を含めた創傷を治療するのに用いられる本発明の医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法を提供する。

【0023】

別の態様において、本発明は、治療を必要とする対象に、治療有効量の第 1 の抗コネキシン剤および第 2 の抗コネキシン剤を含む組成物を投与する工程を含む治療方法を提供し、前記第 1 の薬剤が抗コネキシンポリヌクレオチド剤であり、前記第 2 の薬剤が抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤である方法を提供する。

【0024】

さらに別の態様において、本発明は、治療を必要とする対象に第1の組成物および第2の組成物を投与する工程を含む治療方法を提供し、前記第1の組成物が治療有効量の抗コネキシン43ポリヌクレオチド剤を含み、前記第2の組成物が治療有効量の抗コネキシン43ペプチドまたは抗コネキシン43ペプチド模倣剤を含む。一実施形態では、第1の組成物が最初に投与される。別の実施形態では、第2の組成物が最初に投与される。さらなる実施形態において、上記方法は、抗コネキシンのポリヌクレオチド、抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含む第3の創傷治癒組成物の投与をさらに含む。一実施形態では、第3の組成物が最初に投与される。

【0025】

一態様において、本発明は、急性創傷を治療する方法であって、それらを必要とする対象に、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンのポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含む治療有効量の医薬組成物を投与する工程を含む方法を提供する。一実施形態において、前記方法は、第1の医薬組成物が1または複数の抗コネキシンのポリヌクレオチドを含み、第2の医薬組成物が1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含む、2つの医薬組成物の投与を含む。一実施形態では、第1の組成物が最初に投与される。別の実施形態では、第2の組成物が最初に投与される。さらなる実施形態において、上記方法は、抗コネキシンのポリヌクレオチド、抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含む第3の創傷治癒組成物の投与をさらに含む。一実施形態では、第3の組成物が最初に投与される。一実施形態では、第3の組成物が最初に投与される。一実施形態において、医薬組成物は局所投与される。

【0026】

一態様において、本発明は、慢性創傷、または治癒が遅延しているもしくは緩徐な創傷を治療する方法であって、それらを必要とする対象に、治療有効量の、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンのポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む医薬組成物を投与するステップを含む方法を提供する。一実施形態において、前記方法は、第1の組成物が1または複数の抗コネキシンのポリヌクレオチドを含み、第2の医薬組成物が1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む2種の医薬組成物の投与を含む。一部の実施形態において、慢性創傷は、糖尿病性潰瘍、糖尿病性足部潰瘍、静脈性潰瘍、静脈鬱血性潰瘍、褥瘡、褥瘡性潰瘍、血管炎性潰瘍、動脈性潰瘍、感染性潰瘍、熱傷潰瘍、外傷誘導性潰瘍、または壊疽性膿皮症と関連する潰瘍である。一実施形態において、対象は糖尿病性である。一実施形態において、対象は心血管疾患または心血管状態を有する。一実施形態において、慢性創傷は、持続性上皮欠損である。一実施形態では、第1の組成物が最初に投与される。別の実施形態では、第2の組成物が最初に投与される。さらなる実施形態において、上記方法は、抗コネキシン剤、例えば、抗コネキシンのポリヌクレオチド、抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含む第3の創傷治癒組成物の投与をさらに含む。一実施形態では、本発明の方法を用いて、持続性上皮欠損を治療することができる。本発明の組成物の適用により、上皮および基底膜複合体の治癒を改善することができる。一実施形態では、第3の組成物が最初に投与される。一実施形態では、第3の組成物が最初に投与される。一実施形態において、医薬組成物は、局所投与される。

【0027】

さらなる態様において、本発明は、それを必要とする対象における瘢痕形成を軽減する方法であって、治療有効量の、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンのポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む医薬組成物を前記対象に投与するステップを含む方法を提供する。一実施形態において、前記方法は、第1

の組成物が1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含み、第2の医薬組成物が1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む2種の医薬組成物の投与を含む。一実施形態では、第1の組成物が最初に投与される。別の実施形態では、第2の組成物が最初に投与される。さらなる実施形態において、上記方法は、抗コネキシン剤、例えば、抗コネキシンポリヌクレオチド、抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含む第3の創傷治癒組成物の投与をさらに含む。一実施形態では、第3の組成物が最初に投与される。一実施形態において、医薬組成物は局所投与される。

【0028】

好ましい方法は、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤の逐次投与または同時投与を含み、該薬剤（単数または複数）が単独で投与される場合、すなわち、物理的に、創傷の治療の過程のいずれかで、それらが組み合わせて投与されない場合に用いられる量または用量よりも少ない量または用量でそれらの一方または両方が供給される。投与される薬剤のこのような低量は、単独で投与される場合の該薬剤の1つの量または複数の量の約20分の1～約10分の1であることが典型的であり、単独で投与される場合の量の約8分の1、単独で投与される場合の量の約6分の1、単独で投与される場合の量の約5分の1、単独で投与される場合の量の約4分の1、単独で投与される場合の量の約3分の1、および単独で投与される場合の量の約2分の1でありうる。

【0029】

さらなる態様において、本発明は、対象の皮膚に接着するかまたは他の形でこれと会合することが可能な経皮パッチ、包帯材、パッド、ラップ、マトリックス、および包帯を含み、前記物品は、治療有効量の本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を対象に送達することが可能である。

【0030】

別の態様において、本発明は、治療有効量の本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の薬学的に許容される抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の薬学的に許容される抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含有する容器と、対象の治療のための使用を含む使用のための指示書とを含む製品を包含する。

【0031】

本発明は、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含有する1または複数の剤形を含有する包装材料を含む製品であって、上記剤形を、急性、損傷、遅延型、または慢性の創傷治癒によって全体が、または一部が特徴づけられる疾患、障害、および／または状態を含めた、本明細書に記載されたかまたは本明細書に言及される疾患、障害、および／または状態のいずれかを有するか、またはこれを有することが疑われるか、またはこれに対する素因を有する対象に用い得ることを示すラベルを包装材料が有する製品を包含する。そのような投与形態は、例えば、局所送達の形態および製剤を含む。

【0032】

本発明は、対象において治癒または組織修復を促進するのに有効な量で、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含む製剤を包含する。本発明は、対象において創傷治癒を促進するのに有効な量で、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コ

ネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含む製剤を包含する。このような製剤は、例えば、局所送達の形態および製剤を含む。好ましい製剤は、例えば、泡沫、スプレー、またはゲルとして調合される本発明の医薬組成物を含む。一実施形態において、ゲルは、ポリオキシエチレンーポリオキシプロピレンコポリマーベースのゲルまたはカルボキシメチルセルロースベースのゲルである。好ましい実施形態において、ゲルは、プルロニックゲルである。

【0033】

好ましい製剤は、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤（例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤）を含み、それらの一方または両方は、1または複数の薬剤が、物理的に、または創傷治療の経過においてのいずれかで単独で投与される場合（すなわち、それらが組み合わせて投与されない場合）に用いられる量または用量よりも少ない量または用量で提供されている。組み合わせて投与される、または提供される薬剤のこのような低量は、単独で投与される場合の1または複数の量の約12分の1～約10分の1であることが典型的であり、単独で投与される場合の量の約8分の1、同量の約6分の1、同量の約5分の1、同量の約4分の1、同量の約3分の1、および同量の約2分の1でありうる。

【0034】

本発明は、医薬の製造において、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を含む治療有効量の組成物を用いる方法を包含する。このような医薬には、例えば、局所送達の形態および製剤が含まれる。このような医薬には、本明細書で開示される対象を治療するための医薬が含まれる。このような医薬には、好ましくは、本明細書に記載の低量の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、本明細書で言及される1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤が含まれうる。

【0035】

本発明は、創傷治療のための医薬を調製する方法であって、ある量の、第1の組成物および第2の組成物を含む、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤を併せる工程を含み、前記第1の組成物が有効量の抗コネキシンポリヌクレオチドを含み、前記第2の組成物が有効量の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む方法を包含する。抗コネキシンポリヌクレオチド、抗コネキシンペプチド、もしくは抗コネキシンペプチド模倣剤、創傷治癒に有用なギャップジャンクション閉鎖化合物、創傷治癒に有用なヘミチャネル閉鎖化合物、および／または創傷治癒に有用なコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドを含む第1の組成物および第2の組成物を含めた医薬を調製する他の実施形態。

【0036】

本発明は、剤形の製造において、治療有効量の、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤を用いる方法を包含する。このような剤形は、例えば、局所送達の形態および製剤を含む。このような剤形には、本明細書で開示される対象を治療するための剤形が含まれる。このような剤形には、本明細書で言及される低量の、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは創傷の治癒に有用な低量のギャップジャンクション閉鎖化合物、創傷の治癒に有用なヘミチャネル閉鎖化合物、および／または創傷の治癒に有用なコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドを含むことが好ましい。

【0037】

別の態様において、本発明は、創傷治癒の促進のための医薬品の製造における、本明細

10

20

30

40

50

書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、抗コネキシンポリヌクレオチド（例えば、抗アルファ-1 ODN）および抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤の使用を、それらを必要とする患者において提供する。

【0038】

他の一部の態様において、本発明は、（i）創傷治癒を促進する（例えば、治癒時間を短縮し、創傷転帰を改善する）別の抗コネキシン剤と組み合わせて用いるための指示書と共に抗コネキシン剤を含むパッケージと、（ii）創傷治癒を促進する1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤と組み合わせて用いるための指示書と共に、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含むパッケージと、（iii）慢性創傷の創傷治癒を促進するのに用いるための指示書と共に、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含むパッケージとを提供する。

10

【0039】

一実施形態において、本発明の医薬生成物は、創傷包帯材または創傷治癒を促進するマトリックスと組み合わせて提供される。本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を固体基質上またはこの中に分散させる固体基質の形態を含む、創傷包帯材または創傷マトリックスを提供することが適切である。

【0040】

本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、本発明の抗コネキシンポリペプチド、抗コネキシンペプチド、および抗コネキシンペプチド模倣剤は、同一の組成物中において投与することもでき、個別の組成物により投与することもできる。上記薬剤は、本明細書で言及される低量で投与されることが好ましい。

20

【0041】

抗コネキシン剤は、患者に同時投与、逐次投与、または個別投与することができる。個別投与される場合、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、（1または複数の）抗コネキシンポリヌクレオチドおよび（1もしくは複数の）抗コネキシンペプチド、または（1もしくは複数の）抗コネキシンペプチド模倣剤は、逐次投与されることが好ましい。上記薬剤は、互いから少なくとも約30分以内に逐次投与されることが好ましい。薬剤はまた、互いから約1時間以内に投与することもでき、約1日～約1週間以内に投与することもでき、適切であるとみなされる他の形で投与することもできる。抗コネキシン剤は、最初に投与されることが好ましい。例えば、コネキシンタンパク質発現の下方調節により、コネキシン発現またはヘミチャネルもしくはギャップジャンクションの形成を遮断するかまたは低減させる抗コネキシンポリヌクレオチドを投与する前に、本明細書に記載の第1の抗コネキシン剤および第2の抗コネキシン剤、例えば、抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、例えば、ヘミチャネルの開口を遮断するかまたは低減させる抗コネキシン剤を投与することが好ましい。1または複数の抗コネキシン剤は、（1または複数の）抗コネキシン43薬剤であることが好ましい。

30

【0042】

この「発明の概要」における情報に限定されるかまたはこれにより限定されることのない、本発明のこれらおよび他の態様を以下に記載する。

【発明を実施するための形態】

【0043】

定義

本明細書で用いられる「障害」とは、創傷治癒を促進し、かつ／または腫脹、炎症、および／もしくは瘢痕形成を軽減する薬剤から利益を得る任意の障害、疾患、または状態である。例えば、手術または外傷から生じる創傷と、神経障害性、虚血性、および微小血管性の病態、骨領域全体（尾骨（仙骨）、股関節（転子骨）、臀部（坐骨）、または足のか

40

50

かと)にわたる圧迫、再灌流による傷害、ならびに弁逆流による病因および状態と関連する創傷関連の異常とが含まれる。

【0044】

本明細書で用いられる「対象」とは、ヒト；イヌ、ウマ、ネコ、ヒツジ、ブタ、ウシなどの家畜動物および農場動物、ならびに動物園動物、競技動物、およびペット動物を含む任意の哺乳動物を指す。本明細書で好ましい哺乳動物は、成人、小児、および高齢者を含むヒトである。好ましい競技動物は、ウマおよびイヌである。好ましいペット動物は、イヌおよびネコである。

【0045】

本明細書で用いられる「予防」とは、全体的もしくは部分的な予防、または改善もしくは抑制を意味する。

10

【0046】

本発明の化合物または組成物に関して本明細書で用いられる「治療有効量」とは、所望の生物学的結果、薬学的結果、または治療結果を誘導するのに十分な量を指す。その結果は、疾患もしくは障害もしくは状態の徴候、症状、もしくは原因の緩和、または生物学的系の他の任意の望ましい変化でありうる。本発明において、結果は、創傷治癒および創傷閉鎖の速度を含む、創傷治癒の全体的または部分的な促進および／または改善を伴う。他の利益は、腫脹、炎症、および／または瘢痕形成の全体的または部分的な軽減を含む。

【0047】

本明細書で用いられる「治療すること (treating)」および「治療 (treatment)」という用語は、治療的処置および予防 (prophylacticまたはpreventative) 措置の両方を指す。

20

【0048】

本明細書で用いられる「抗コネキシン剤」とは、コネキシン、コネキシンヘミチャネル (コネクソン)、またはギャップジャンクションの活性、発現、または形成に影響を及ぼすかまたはこれを調節する化合物である。抗コネキシン剤は、限定せずに述べると、アンチセンス化合物 (例えば、アンチセンスポリヌクレオチド)、RNAi化合物およびsiRNA化合物、抗体およびそれらの結合フラグメント、ならびに「ペプチド模倣剤」を含むペプチドおよびポリペプチドと、ペプチド類似体とを含む。抗コネキシンポリヌクレオチド、および抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤に加えて、他の抗コネキシン剤は、創傷の治癒に有用なギャップジャンクション閉鎖化合物 (例えば、コネキシンリン酸化化合物)、創傷の治癒に有用なヘミチャネル閉鎖化合物 (例えば、コネキシンリン酸化化合物)、ならびに創傷の治癒に有用なコネキシカルボキシ末端ポリペプチドを含む。好ましい抗コネキシン剤は、抗コネキシン43剤、抗コネキシン43ギャップジャンクション剤、および抗コネキシン43ヘミチャネル剤である。例示的な抗コネキシン剤は、本明細書においてさらに詳細に論じられる。

30

【0049】

本明細書で用いられる「同時に」が、本発明の1または複数の薬剤を共時的に投与することを意味するように用いられるのに対し、「組み合わせて」という用語は、同時にまたは物理的に混合してではないにせよ、それらの両方を治療的な作用に用いられる時間枠内で「逐次的に」投与することを意味するように用いられる。したがって、「逐次的に」投与することにより、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤の両方が有効量で共時的に存在する限りにおいて、1つの薬剤を、他の薬剤の投与後数分 (例えば、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30分)、または約数時間、数日、数週間、もしくは数カ月以内に投与することが可能となりうる。成分の1回または複数回の投与間における時間の遅延は、それらの成分の正確な性質、それらの間における相互作用、およびそれら各々の半減期に応じて変化する。

40

【0050】

「ペプチド模倣剤」および「模倣剤」という用語は、それらが模倣するタンパク質領域

50

と同じ構造的特徴および機能的特徴を実質的に有しうる天然化合物および合成化合物が含まれる。コネキシンの場合、これらは、例えば、コネクソン間結合および細胞間のチャネル形成、ならびに／またはヘミチャネルコネキシンの細胞外ループに参与する、向かい合うコネキシンの細胞外ループを模倣しうる。

【0051】

本明細書中で使用される場合、「ペプチド類似体」とは、鋳型のペプチドの特性に類似する特性を有する化合物を指し、それらは非ペプチド薬剤でありうる。ペプチドベースの化合物を含む「ペプチド模倣剤」（また、「模倣ペプチド」としても公知）はまた、ペプチド類似体などの非ペプチドベースの化合物も含む。治療的に有用なペプチドに対して構造的に類似するペプチド模倣剤を用いて、同等であるかまたは増強された治療効果または予防効果をもたらすことができる。一般に、ペプチド模倣剤は、パラダイムポリペプチド（すなわち、生物学的または薬理的な機能または活性を有するポリペプチド）と構造上または機能上の模倣物（例えば、同一または類似）であるが、また、場合によって、例えば、 $-CH_2NH-$ 、 $-CH_2S-$ 、 $-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ （シスおよびトランス）、 $-COCH_2-$ 、 $-CH(OH)CH_2-$ 、および $-CH_2SO-$ からなる群から選択される結合により置換される1または複数のペプチド結合も有しうる。模倣剤は、天然のアミノ酸、合成化学化合物、非天然のアミノ酸類似体だけから構成されたものであっても、部分的に天然のペプチドアミノ酸と部分的に非天然のアミノ酸類似体からなるキメラ分子であってもよい。任意量の天然アミノ酸に対する保存的置換もまた実質的に模倣剤の活性を変化させない限りにおいて、模倣剤はまたこのような置換も含みうる。コネキシンの場合、これらは、例えば、コネクソン間結合および細胞間のチャネル形成に参与する、向かい合うコネキシンの細胞外ループを模倣しうる。例えば、コネクソンの結合によるギャップジャンクションを介する細胞間連絡の形成に対する阻害、またはコネクソンの開口による細胞質の細胞外環境への曝露に対する阻害など、コネクソンの生物学的な作用または活性を下方調節することが可能な場合、例えば、模倣組成物は、ギャップジャンクション調節剤として有用でありうる。ペプチド模倣剤は、本明細書に記載のペプチド模倣剤のほか、現在公知の場合であれ将来的に開発される場合であれ、当技術分野において公知でありうるペプチド模倣剤を包含する。

【0052】

本明細書においてその各形態において用いられるコネキシン活性の「調節剤」および「調節」という用語は、コネキシンまたはコネキシンヘミチャネルまたはコネキシングャップジャンクションの発現または作用または活性に対する全体的または部分的な阻害を指し、抗コネキシン剤（ギャップジャンクション調節剤を含む）として機能しうる。

【0053】

本明細書中で使用される場合、「タンパク質」という用語は、1つのアミノ酸（またはアミノ酸残基）のアルファ炭素に結合したカルボン酸基のカルボキシル炭素原子が、隣接するアミノ酸のアルファ炭素に結合したアミノ基のアミノ窒素原子に共有結合する場合に生じるペプチド結合により連結される、2つ以上の個々のアミノ酸（天然の場合であれ非天然の場合であれ）による任意のポリマーを指す。これらのペプチド結合、およびこれらを含む原子（すなわち、アルファ炭素原子、カルボキシルの炭素原子（およびこれらの置換基の酸素原子）、およびアミノの窒素原子（およびこれらの置換基の水素原子））は、タンパク質の「ポリペプチド骨格」を形成する。加えて、本明細書で用いられる「タンパク質」という用語は、「ポリペプチド」および「ペプチド」（本明細書では、場合によって、互換的に用いられうる）という用語を含む形で理解される。同様に、本明細書では、タンパク質のフラグメント、類似体、誘導体、および変異体も「タンパク質」と称し、別段に示されない限り、「タンパク質」とであるとみなされるものとする。タンパク質の「フラグメント」という用語は、タンパク質のすべてのアミノ酸残基よりも少数のアミノ酸残基を含むポリペプチドを指す。タンパク質の「ドメイン」もまたフラグメントであり、多くの場合、活性または機能を付与することが必要とされる、タンパク質のアミノ酸残基を含む。

【0054】

「創傷包帯材」という用語は、創傷に対する局所適用のための包帯材を指し、全身投与に適する組成物を除外する。例えば、ギャップジャンクション調節剤を含む、1または複数の抗コネキシン剤は、創傷接触材料（例えば、織られた布材料または不織の布材料）の固体シート中または固体シート上に分散させることもでき、ポリウレタン発泡体などの発泡体層中またはポリウレタンヒドロゲル、ポリアクリル酸ヒドロゲル、ゼラチン、カルボキシメチルセルロース、ペクチン、アルギネート、および／もしくはヒアルロン酸ヒドロゲルなどのヒドロゲル中、例えば、ゲルまたは軟膏中に分散させることもできる。一部の実施形態において、ギャップジャンクション調節剤を含む、1または複数の抗コネキシン剤は、創傷中への有効成分の持続的な放出をもたらす生体分解性のシート材料、例えば、凍結乾燥コラーゲンシート、凍結乾燥したコラーゲン／アルギネート混合物（Johnson & Johnson Medical Limited社から登録商標FIBRACOLの下に入手可能）、または凍結乾燥コラーゲン／酸化再生セルロース（Johnson & Johnson Medical Limited社から登録商標PROMOGRANの下に入手可能）の中またはこの上に分散される。

10

【0055】

本明細書で用いられる「マトリックス」は、例えば、コラーゲン、無細胞マトリックス、架橋生体骨格分子、組織ベースのマトリックス（ブタベースの創傷治癒マトリックスを含む）、培養による表皮自家移植片、培養による表皮同種移植片、組織改変皮膚、自己線維芽細胞および自己角化細胞を接種したコラーゲンおよびグリコサミノグリカンによる皮膚マトリックス、Alloderm（無傷の基底膜複合体を伴う、非生存同種異系無細胞皮膚マトリックス）、生存皮膚同等物（例えば、Dermagraft（分解性骨格上で増殖した生存同種異系皮膚線維芽細胞）、TransCyte（同種異系ヒト皮膚線維芽細胞により生成される細胞外マトリックス）、Appligraf（角化細胞、線維芽細胞、およびウシI型コラーゲンを含有する生存同種異系の2層型構築物）、およびOrCell（ウシコラーゲン2層型マトリックスの両面に播種された同種異系の線維芽細胞および角化細胞））、動物由来の包帯材（例えば、Oasis社製のブタ小腸の粘膜下無細胞コラーゲンマトリックス；およびE-Z Derm社製の無細胞異種コラーゲンマトリックス）、組織ベースの生体改変構造フレームワーク、生体加工による生体装具、また例えば、創傷治癒の促進に有用な、細胞の浸潤および増殖に適する血管グラフトなど、他の植え込み構造物または適用構造物などのマトリックスを含む。さらなる適切な生体マトリックス材料は、抗原性および免疫原性を軽減する化学修飾したコラーゲン組織を含みうる。他の適切な例は、創傷包帯材用のコラーゲンシート、抗原を含まないかまたは抗原を低減した無細胞マトリックス（Wilsonら、Trans Am Soc Artif Intern、1990年、第36巻、340～343頁）、または異種移植材料に対する抗原反応を軽減するように改変された他の生体マトリックスを含む。創傷治癒を促進するのに有用な他のマトリックスは、例えば、不溶性のコラーゲンおよびエラスチンを含む加工済みのウシ心膜タンパク質（Courtmanら、J Biomed Mater Res、1994年、第28巻、655～666頁）、および宿主細胞の移動が組織再生を加速させるための天然の微小環境をもたらすのに有用でありうる他の無細胞組織（Maloneら、J Vasc Surg、1984年、第1巻、181～91頁）を含みうる。一部の実施形態において、マトリックス材料には、このような薬剤の部位特異的な放出のための1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチドおよび／あるいは1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を補充することができる。

20

30

40

【0056】

本明細書で用いられる「創傷促進マトリックス」は、例えば、コラーゲン、無細胞マトリックス、架橋生体足場分子、組織ベースの生体改変構造フレームワーク、生体加工による生体装具、また例えば、創傷治癒の促進に有用な細胞の浸潤および増殖に適する血管グラフトなど、他の植え込み構造物など、合成または天然のマトリックスを含む。さらなる適切な生体マトリックス材料は、抗原性および免疫原性を軽減する化学修飾したコラーゲ

50

ン組織を含みうる。他の適切な例は、創傷包帯材用のコラーゲンシート、抗原を含まないかまたは抗原を低減した無細胞マトリックス（Wilson GJら、Trans Am Soc Artif Intern、1990年、第36巻、340～343頁）、または異種移植材料に対する抗原反応を軽減するように改変された他の生体マトリックスを含む。創傷治癒を促進するのに有用な他のマトリックスは、例えば、不溶性のコラーゲンおよびエラスチンを含む加工済みのウシ心膜タンパク質（Courtman DWら、J Biomed Mater Res、1994年、第28巻、655～666頁）、および宿主細胞の移動が組織再生を加速させるための天然の微小環境をもたらすのに有用でありうる他の無細胞組織（Malloneら、J Vasc Surg、1984年、第1巻、181～91頁）を含みうる。本発明は、1または複数の抗コネキシン剤を含む合成または天然のマトリックスを意図する。

10

【0057】

創傷および創傷の分類

本明細書で用いられる「創傷」という用語は、例えば、急性創傷、治癒が遅延しているかまたは困難な創傷、および慢性創傷を含めた、任意の組織に対する傷害を含む。創傷の例は、開放創傷および閉鎖創傷の両方を含みうる。創傷は、例えば、熱傷、切開、切除、裂傷、表皮剥離、穿通創における刺し傷、手術による創傷、挫傷、血腫、圧挫傷害、および潰瘍を含む。また、予測される速度で治癒しない創傷も含まれる。「創傷」という用語はまた、例えば、異なる形で誘発され（例えば、長期間の横臥静養に由来する褥瘡、および外傷により誘導される創傷）、また多様な特性を有する、皮膚および皮下組織に対する傷害も含みうる。創傷は、創傷の深さに応じて、i) グレード I：上皮に局限される創傷；ii) グレード II：真皮内に拡張する創傷；iii) グレード III：皮下組織内に拡張する創傷；およびiv) グレード IV（または全層創傷）：骨が露出する創傷（例えば、転子または仙骨などの骨圧点）の4つのグレードのうちの1つに分類することができる。

20

【0058】

「部分層創傷」という用語は、グレード I～IIIを包含する創傷を指し、部分層創傷の例は、褥瘡、静脈鬱血性潰瘍、および糖尿病性潰瘍を含む。本発明は、治癒が遅延している創傷、治癒が不完全な創傷、および慢性創傷を含む、予測される速度で治癒しない種類のすべての創傷の治療を意図する。

30

【0059】

「ある／予測される速度で治癒しない創傷」とは、予測されるかまたは典型的な時間枠内で治癒しない、任意の組織に対する傷害を意味し、治癒が遅延しているかまたは困難な創傷（治癒が遅延しているかまたは不完全な創傷を含む）、および慢性創傷を含む。予測される速度で治癒しない創傷の例は、糖尿病性潰瘍、糖尿病性足部潰瘍、血管性潰瘍、動脈性潰瘍、静脈性潰瘍、静脈鬱血性潰瘍、熱傷潰瘍、感染性潰瘍、外傷誘導性潰瘍、褥瘡、褥瘡性潰瘍、壊疽性膿皮症と関連する潰瘍形成、および混合潰瘍などの潰瘍を含む。予測される速度で治癒しない他の創傷は、離開創を含む。

【0060】

本明細書で用いられる、治癒が遅延しているかまたは困難な創傷は、例えば、1) 炎症期の持続、2) 細胞外マトリックスの形成遅延、および／または3) 上皮形成速度の低下を少なくとも部分的に特徴とする創傷を含みうる。

40

【0061】

「慢性創傷」という用語は、治癒しなかった創傷を指す。例えば、3か月以内に治癒しない創傷は、慢性であると考えられる。慢性創傷は、例えば、褥瘡、褥瘡性潰瘍、糖尿病性足部潰瘍および糖尿病性下腿部潰瘍を含む糖尿病性潰瘍、治癒が遅いかまたは治癒しない静脈性潰瘍、静脈鬱血性潰瘍、動脈性潰瘍、血管性潰瘍、熱傷潰瘍、外傷誘導性潰瘍、感染性潰瘍、混合潰瘍、および壊疽性膿皮症を含む。慢性創傷は、完全動脈遮断または部分動脈遮断から生じる潰瘍形成を含む動脈性潰瘍でありうる。慢性創傷は、静脈弁の機能不全および関連する血管疾患から生じる潰瘍形成を含む静脈性潰瘍または静脈鬱血性潰瘍

50

でありうる。一部の実施形態において、慢性創傷を治療する方法は、慢性創傷が、以下の褥瘡のAHCPR病期：病期1、病期2、病期3、および／または病期4のうちの1つまたは複数の特徴とする場合に提供される。

【0062】

本明細書で用いられる慢性創傷はまた、例えば、1) 創傷炎症の慢性自己永続状態、2) 創傷細胞外マトリックスの欠損および欠陥、3) (老化) 創傷細胞(線維芽細胞を含む)の応答不十分、4) 細胞外マトリックス生成の制約、ならびに／または5) 必要な細胞外マトリックスの組織化の欠如および移動のための足場の欠如に部分的に起因する再上皮形成不全を少なくとも部分的に特徴とする創傷も含みうる。慢性創傷はまた、1) 炎症およびタンパク質分解活性の持続による、例えば、糖尿病性潰瘍、褥瘡(褥瘡性潰瘍)、静脈性潰瘍、および動脈性潰瘍を含む潰瘍性病変の惹起、2) 罹患領域におけるマトリックスの進行性沈着、3) 修復時間の長期化、4) 創傷収縮の低減、5) 再上皮形成の遅延、ならびに6) 肉芽組織の肥厚も特徴とする。

10

【0063】

例示的な慢性創傷は、「褥瘡」を含みうる。例示的な褥瘡は、例えば、病期1を含む、AHCPR(米国保健福祉省、健康管理政策研究局)ガイドラインに基づく創傷分類の全4病期を含みうる。病期1の褥瘡は、身体上で隣接するかまたは反対側の領域と比較したその指標が、以下：皮膚温度(温熱または低温)、組織の硬さ(しまった感じがまたはゆるい感じ)、および／または感覚(疼痛、刺激)のうちの1つまたは複数における変化を含みうる、圧力と関連する無傷皮膚の観察可能な変化である。潰瘍は、わずかに色素沈着した皮膚における、明確な持続性の発赤領域として現れる一方、皮膚の色調がより暗色の場合、潰瘍は、持続性の赤色、青色、または紫色を伴って現れうる。病期1の潰瘍は、無傷皮膚の消退しない発赤、および皮膚潰瘍形成の前兆となる病変を含みうる。皮膚が暗色化している個体においては、皮膚の変色、温熱、浮腫、硬結、硬化もまた、病期1の潰瘍形成の指標でありうる。病期2：病期2の潰瘍形成は、表皮、真皮、またはこれらの両方に及ぶ部分層皮膚喪失を特徴としうる。潰瘍は表面的であり、臨床的には表皮剥離、水膨れ、または表層的な陥没として現れる。病期3：病期3の潰瘍形成は、基層の筋膜を貫通しないがこれへと拡張しうる、皮下組織に対する損傷またはこの壊死を伴う全層皮膚喪失を特徴としうる。潰瘍は、臨床的には、隣接組織を蝕む場合であれ、そうでない場合であれ、深い陥没として現れる。病期4：病期4の潰瘍形成は、筋肉、骨、または支持構造(例えば、腱、関節被膜)に対する広範な破壊、組織壊死、または損傷を伴う全層皮膚喪失を特徴としうる。一部の実施形態において、慢性創傷を治療する方法は、慢性創傷が、以下の褥瘡のAHCPR病期：病期1、病期2、病期3、および／または病期4のうちの1つまたは複数の特徴とする場合に提供される。

20

30

【0064】

例示的な慢性創傷は、「褥瘡性潰瘍」を含みうる。例示的な褥瘡性潰瘍は、虚血をもたらす骨の突出部上において、圧力が長期間にわたり軽減されないことの結果として生じうる。創傷は、麻痺患者、意識喪失患者、または重度の衰弱患者など、自ら体位を変えて体重の負荷を除去することができない患者において生じる傾向がある。米国保健福祉省により定義される通り、主要な防止措置は、危険性の高い患者の同定；頻繁な評価；および定期的な体位変換、適切な圧力除去横臥、防湿バリア、および十分な栄養状態などの予防措置を含む。治療選択肢は、例えば、圧力の除去、手術による創面切除および酵素的創面切除、湿潤創傷の治療、および細菌負荷の抑制を含みうる。一部の実施形態では、虚血をもたらす骨の突出部上において、圧力が長期間にわたり軽減されないことの結果として生じる褥瘡性潰瘍または同潰瘍形成を特徴とする慢性創傷を治療する方法が提供される。一部の実施形態では、虚血をもたらす骨の突出部上において、圧力が長期間にわたり軽減されないことの結果として生じる褥瘡性潰瘍または同潰瘍形成を特徴とする慢性創傷を治療する方法が提供される。

40

【0065】

例示的な慢性創傷は、「動脈性潰瘍」を含みうる。慢性動脈性潰瘍とは一般に、動脈硬

50

化性および高血圧性の心血管疾患を伴う潰瘍形成であると理解される。これらは、有痛で、境界が明瞭であり、下肢側部およびつま先において見出されることが多い。動脈性潰瘍は、組織の壊死および／または潰瘍形成をもたらす完全動脈遮断または部分動脈遮断を特徴とする潰瘍を含みうる。動脈性潰瘍の徴候は、例えば、下肢の無脈；有痛の潰瘍形成；極めて限局性であることが通常な、小型の点状潰瘍；低温皮膚または寒冷皮膚；毛細血管復帰時間の遅延（つま先の端部を軽く押して放し、約3秒間以内につま先に正常な色彩が戻るものとする）；皮膚の萎縮外見（例えば、光沢、薄化、乾燥）；ならびに指および足の体毛喪失を含みうる。

【0066】

例示的な慢性創傷は、「静脈性潰瘍」を含みうる。例示的な静脈性潰瘍は、下肢が罹患する最も一般的な種類の潰瘍を含む場合があり、静脈弁の機能不全を特徴としうる。正常な静脈は、血液の逆流を防止する弁を有する。これらの弁が不全化すると、静脈血の逆流により、静脈鬱血が引き起こされる。赤血球からヘモグロビンが逸失して血管外腔へと漏出し、これにより、一般に言及される褐色の変色が引き起こされる。静脈性潰瘍を取り巻く皮膚の経皮酸素圧が低下することが示されており、これにより、領域の正常な血管形成を妨げる力が存在することが示唆される。リンパ液のドレナージおよび流動もまた、これらの潰瘍において役割を果たす。静脈性潰瘍は、内果近傍に現れる場合があり、通常、下肢の浮腫形成および硬結との組合せで生じ、浅く、それほど有痛でない場合があり、罹患部位からの滲出物の分泌を伴って現れる場合がある。一部の実施形態では、完全動脈遮断または部分動脈遮断に起因する動脈性潰瘍または同潰瘍形成を特徴とする慢性創傷を治療する方法が提供される。

【0067】

例示的な慢性創傷は、「静脈鬱血性潰瘍」を含みうる。鬱血性潰瘍とは、静脈機能不全と関連する病変であり、より一般的には内果全体に現れ、通常、圧痕性浮腫、静脈瘤、斑点状の色素沈着、紅斑、ならびに触知不能の点状出血および紫斑を伴う。鬱血性皮膚炎および鬱血性潰瘍は一般に、有痛ではなくて掻痒性である。例示的な静脈鬱血性潰瘍は、局所的低酸素症を結果としてもたらし下肢の慢性受動性静脈鬱血を特徴としうる。これらの創傷の1つの可能な発症機構は、厚い血管周囲のフィブリンカフを超える組織内への酸素拡散が妨害されることを含む。別の機構は、血管周囲組織内への高分子の漏出により、皮膚の完全性を維持するのに必要とされる成長因子が捕捉されることである。加えて、静脈鬱血により高分子である白血球の流動が遅くなり、白血球が毛細血管を閉塞させ、活性化し、血管内皮を損傷して潰瘍形成に対する素因を与える。一部の実施形態では、静脈弁の機能不全および関連する血管疾患に起因する静脈性潰瘍または同潰瘍形成を特徴とする慢性創傷を治療する方法が提供される。一部の実施形態では、下肢の慢性受動性静脈鬱血および／または結果として生じる局所的低酸素症に起因する静脈鬱血性潰瘍または同潰瘍形成を特徴とする慢性創傷を治療する方法が提供される。

【0068】

例示的な慢性創傷は、「糖尿病性潰瘍」を含みうる。糖尿病患者は、神経学的合併症および血管合併症の両方に起因する足部潰瘍形成を含む潰瘍形成に罹患しやすい傾向がある。末梢の神経障害は、足部および／または脚部における感覚の変化または感覚の完全な喪失を引き起こしうる。神経障害が進行した糖尿病患者は、とがったもの／まるいものを区別するすべての能力を失う。神経障害を有する患者では、足部に対する任意の切開または外傷が、数日間または数週間にわたって完全に知覚されないままの場合がある。神経障害を有する患者の場合、実際には潰瘍が現れてかなりの時間が経過していても、潰瘍が「今現れた」と知覚することがまれではない。神経障害患者の場合、グルコースの厳密な制御により疾患の進行が遅くなることが示されている。感覚低下の結果として、シャルコー足部変形もまた生じうる。自らの足部において「正常な」感覚を有する者は、足部領域上にある圧力が大きすぎる場合、これを自然に感知する能力を有する。それが同定されると、われわれの身体は、この圧迫を緩和するように体位を本能的に変える。神経障害が進行した患者は、持続的な圧迫を感知するこの能力を失い、結果として、例えば、足底部の潰瘍

形成をもたらす組織の虚血および壊死が生じうる。加えて、足部骨における微小骨折が感知および治療されずにおかれると、結果として、変形、慢性腫脹、およびさらなる骨の突出が生じうる。微小血管疾患は、これもまた潰瘍形成をもたらさうる、糖尿病の著明な合併症の1つである。一部の実施形態では、糖尿病の神経学的合併症および血管合併症の両方に起因する糖尿病性足部潰瘍および／または同潰瘍形成を特徴とする慢性創傷を治療する方法が提供される。

【0069】

例示的な慢性創傷は、「外傷性潰瘍」を含みうる。例示的な外傷性潰瘍の形成は、身体に対する外傷性傷害の結果として生じうる。これらの傷害は、例えば、動脈系、静脈系、またはリンパ系に対する損傷；骨格の骨構造に対する変化；組織層（表皮、真皮、皮下軟組織、筋肉、または骨）の喪失；身体部分または臓器に対する損傷および身体部分または臓器の喪失を含む。一部の実施形態では、身体に対する外傷性傷害と関連する潰瘍形成を特徴とする慢性創傷を治療する方法が提供される。

10

【0070】

例示的な慢性創傷は、例えば、第1度熱傷（すなわち、皮膚表面の発赤領域）；第2度熱傷（水膨れ液を除去した後で自然治癒しうる水膨れの傷害部位）；第3度熱傷（皮膚全層に及ぶ熱傷で、通常、創傷治癒には手術による介入を要する）；熱湯熱傷（熱湯、熱湯熱傷を引き起こすグリースまたはラジエータ液により生じうる）；火炎熱傷（火炎により生じる場合があり、通常、深部熱傷である）；化学熱傷（酸およびアルカリにより生じる場合があり、通常、深部熱傷である）；電気熱傷（家庭周辺の低電圧または業務地における高電圧）；爆発閃光熱傷（通常は表面的な傷害）；および接触熱傷（通常、深部熱傷であり、マフラーテールパイプ、高温のアイロン、およびストーブにより生じうる）を含む熱傷の結果として生じる潰瘍形成を含む「熱傷潰瘍」を含みうる。一部の実施形態では、身体に対する熱傷と関連する潰瘍形成を特徴とする慢性創傷を治療する方法が提供される。

20

【0071】

例示的な慢性創傷は、「血管炎性潰瘍」を含みうる。血管炎性潰瘍もまた、下肢において生じ、有痛で境界が明瞭な病変であり、病変は、触知可能な紫斑および出血性水泡と関連しうる。膠原病、敗血症、および各種の血液学的障害（例えば、血小板減少症、異タンパク血症）が、この重度で急性の状態の原因となりうる。

30

【0072】

例示的な慢性創傷は、壊疽性膿皮症を含みうる。壊疽性膿皮症は、単独または複数で圧痛の激しい下肢部の潰瘍として生じる。暗赤色～紫色の穿掘性辺縁部により、化膿性の中央部欠損が取り囲まれる。生検では、血管炎が明らかとならないことが典型的である。患者の半数において、それは、潰瘍性大腸炎、限局性回腸炎、または白血病などの全身疾患と関連する。一部の実施形態では、壊疽性膿皮症と関連する潰瘍形成を特徴とする慢性創傷を治療する方法が提供される。

【0073】

例示的な慢性創傷は、角膜潰瘍または無痛性潰瘍を含む、眼潰瘍を含みうる。また、持続性上皮欠損も含まれる。これらはヒトにおいて生じる場合があり、また、競技動物（ウマなど）およびペット動物（イヌを含む）においても生じる場合がある。

40

【0074】

例示的な慢性創傷は、感染性潰瘍を含みうる。感染性潰瘍は、各種生物の直接的接種の後に生じ、著明な限局性リンパ節肥大と関連しうる。Mycobacteria感染、炭疽病、ジフテリア、ブラストミセス症、スポロトリクム症、野兔病、および猫引っかき熱が例である。第1期梅毒の生殖器潰瘍は、清浄、堅固な基底を伴う無圧痛性であることが典型的である。軟性下疳および鼠径部肉芽腫の生殖器潰瘍は、ぼろぼろに汚れていっそうひどい病変となる傾向がある。一部の実施形態では、感染症と関連する潰瘍形成を特徴とする慢性創傷を治療する方法が提供される。

【0075】

50

本明細書で用いられる「離開創」という用語は、破裂または裂開した、通常は手術による創傷である創傷を指す。一部の実施形態では、離開を特徴とする、予測される速度では治癒しない創傷を治療する方法が提供される。

【0076】

前出に記載の定義に加えて、「創傷」という用語はまた、例えば、異なる形で誘発され（例えば、長期間の横臥静養に由来する褥瘡、および外傷により誘導される創傷）、また多様な特性を有する、皮膚および皮下組織に対する傷害も含みうる。

【0077】

抗コネキシン剤

本明細書に記載の本発明の抗コネキシン剤は、細胞内への、また細胞からの分子の輸送を調節するかまたはこれに影響を及ぼす（例えば、遮断するかまたは阻害するかまたは下方調節する）ことができる。したがって、本明細書に記載の一部の抗コネキシン剤は、細胞情報伝達（例えば、細胞間）を調節する。一部の抗コネキシン剤は、ギャップジャンクション調節剤である。一部の抗コネキシン剤は、細胞の細胞質と、ペリプラズム腔または細胞外腔との間における分子の移送を調節するかまたはこれに影響を及ぼす。このような抗コネキシン剤は一般に、コネキシンおよび／またはコネキシンヘミチャネル（コネクソン）を標的とする。コネキシンを含むヘミチャネルおよび結果として生じるギャップジャンクションは、開口ヘミチャネルの場合における、細胞質と細胞外腔または細胞外組織との間における低分子の放出または交換、また開口ギャップジャンクションの場合における、隣接する細胞の細胞質間における低分子の放出または交換に独立して関与する。したがって、本明細書で提供される抗コネキシン剤は、細胞間における結合および情報伝達を直接的または間接的に低下させる場合もあり、細胞と細胞外腔または細胞外組織との間における情報伝達（または分子の伝達）を低下させるかまたは遮断する場合もあり、細胞から細胞外腔もしくは細胞外組織への（または細胞外腔もしくは細胞外組織から細胞内への）または隣接する細胞間における分子輸送の調節は、本発明の抗コネキシン剤および本発明の実施形態の範囲内にある。コネキシンは、コネキシン43であることが好ましい。

【0078】

本発明の実施形態では、ギャップジャンクションまたはコネキシンヘミチャネルを介する分子の通過（例えば、輸送）に対する望ましい阻害を誘発することが可能な任意の抗コネキシン剤を用いることができる。ギャップジャンクションまたはコネキシンヘミチャネルを介する分子の通過を調節する任意の抗コネキシン剤はまた、特定の実施形態においても提供される（例えば、ある細胞の細胞質から細胞外腔または隣接する細胞の細胞質への分子の通過を調節するか、遮断するか、または低下させる抗コネキシン剤）。このような抗コネキシン剤は、ギャップジャンクションの結合解除（ギャップジャンクションを介する分子輸送の遮断）を伴う場合であれ伴わない場合であれ、ギャップジャンクションまたはコネキシンヘミチャネルを介する分子の通過を調節しうる。このような化合物は、例えば、タンパク質およびポリペプチド、ポリヌクレオチド、および他の有機化合物を含み、これらは、例えば、部分的または全体的にギャップジャンクションまたはヘミチャネルの機能または発現を遮断する場合もあり、全体的または部分的にコネキシンの生成を下方調節する場合もある。一部のギャップジャンクション阻害剤は、Evans, W. H. および Boitano, S., Biochem. Soc. Trans., 第29巻、606～612頁（2001年）において列挙されている。他の化合物は、全体的または部分的にギャップジャンクションおよび／またはヘミチャネルを閉鎖するコネキシンリン酸化化合物、ならびにコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドを含む。コネキシンは、コネキシン43であることが好ましい。

【0079】

一部の抗コネキシン剤は、コネキシン発現の下方調節（例えば、mRNAの転写または翻訳に対する下方調節による）をもたらすか、またはこれ以外の形で、コネキシンタンパク質、コネキシンヘミチャネル、もしくはギャップジャンクションの活性を低下させるかもしくは阻害する。下方調節の場合、これは、コネキシン発現が下方調節される部位にお

10

20

30

40

50

いて、ギャップジャンクションによる直接的な細胞間情報伝達、またはヘミチャネルによる細胞の細胞質の細胞外腔への曝露を低下させる効果を有する。抗コネキシン43剤が好ましい。

【0080】

抗コネキシン剤の例は、コネキシンmRNAおよび／もしくはコネキシンタンパク質の発現もしくは機能を低下させるかもしくは阻害するか、またはコネキシン、コネキシンヘミチャネル、もしくはギャップジャンクションの活性、発現、もしくは形成を低下させる薬剤を含む。抗コネキシン剤は、アンチセンスポリヌクレオチドおよび他のポリヌクレオチド（siRNAまたはリボザイムの機能性を有するポリヌクレオチドなどの）などの抗コネキシンポリヌクレオチドのほか、抗体およびその結合フラグメント、ならびにヘミチャネルまたはギャップジャンクションの活性または機能を調節するペプチド模倣剤およびペプチド類似体を含むペプチドおよびポリペプチドを含む。抗コネキシン43剤が好ましい。

10

【0081】

抗コネキシンポリヌクレオチド

抗コネキシンポリヌクレオチドは、コネキシンアンチセンスポリヌクレオチドのほか、それらによるコネキシン発現の下方調節を可能とする機能性を有するポリヌクレオチドも含む。他の適切な抗コネキシンポリヌクレオチドは、RNAiポリヌクレオチドおよびsiRNAポリヌクレオチドを含む。抗コネキシン43ポリヌクレオチドが好ましい。

【0082】

RNAi、siRNA、およびリボザイムポリヌクレオチドのほか、骨格が改変および混合されたポリヌクレオチドなどの、アンチセンスポリヌクレオチドおよび他の抗コネキシンポリヌクレオチドの合成は、当業者に公知である。例えば、Stein C. A. およびKrieg A. M.（編）、「Applied Antisense Oligonucleotide Technology」、1998年、（Wiley-Liss）を参照されたい。抗体および結合フラグメントのほか、ペプチド模倣剤およびペプチド類似体を含むペプチドおよびポリペプチドを合成する方法は、当業者に公知である。例えば、Lihu Yangら、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.、1；第95巻、第18号、10836～10841頁（1998年9月1日）；HarlowおよびLane（1988年）、「Antibodies: A Laboratory Manual」、Cold Spring Harbor Publications、New York；HarlowおよびLane（1999年）、「Using Antibodies: A Laboratory Manual」、Cold Spring Harbor Publications、New Yorkを参照されたい。

20

30

【0083】

一態様によれば、コネキシン発現の下方調節は一般に、アンチセンスポリヌクレオチド（DNAポリヌクレオチドまたはRNAポリヌクレオチドなど）を用いるアンチセンス法に基づき、またより具体的に、アンチセンスオリゴデオキシヌクレオチド（ODN）の使用に基づきうる。これらのポリヌクレオチド（例えば、ODN）は、（1または複数の）コネキシンタンパク質を標的としてこれらを下方調節する。ポリヌクレオチドは、一本鎖であることが典型的であるが、二本鎖の場合もある。

40

【0084】

アンチセンスポリヌクレオチドは、コネキシンの転写および／または翻訳を阻害しうる。ポリヌクレオチドは、コネキシン遺伝子またはコネキシンmRNAからの転写および／または翻訳の特異的な阻害剤であり、他の遺伝子またはmRNAからの転写および／または翻訳を阻害しないことが好ましい。生成物は、（i）コード配列に対する5'側、および／または（ii）コード配列に対する、および／または（iii）コード配列に対する3'側にあるコネキシン遺伝子またはコネキシンmRNAに結合しうる。

【0085】

50

アンチセンスポリヌクレオチドは一般に、コネキシンmRNA、好ましくはコネキシン43 mRNAに対してアンチセンスである。このようなポリヌクレオチドはコネキシンmRNAにハイブリダイズすることが可能であり、したがって、転写、mRNAのプロセッシング、核からのmRNAの輸送、翻訳、またはmRNAの分解を含む、コネキシンmRNA代謝の1つまたは複数の側面に干渉することにより、コネキシン発現を阻害しうる。アンチセンスポリヌクレオチドは、コネキシンmRNAにハイブリダイズして、mRNA翻訳の直接的な阻害および／またはmRNAの不安定化を引き起こしうる二重鎖を形成することが典型的である。このような二重鎖は、ヌクレアーゼによる分解に対して感受性でありうる。

【0086】

アンチセンスポリヌクレオチドは、コネキシンmRNAの全部または一部にハイブリダイズしうる。アンチセンスポリヌクレオチドは、コネキシンmRNAのリボソーム結合領域またはコード領域にハイブリダイズすることが典型的である。ポリヌクレオチドは、コネキシンmRNAの全部または一部の領域に対して相補的でありうる。例えば、ポリヌクレオチドは、コネキシンmRNAの全部または一部の完全な相補体でありうる。しかし、絶対的な相補性は必要とされず、生理学的条件下において約20℃、30℃、または40℃を超える融解温度を有する二重鎖を形成するのに十分な相補性を有するポリヌクレオチドが、本発明における使用に特に適する。

【0087】

したがって、ポリヌクレオチドは、mRNAに対して相補的な配列の相同体であることが典型的である。ポリヌクレオチドは、約50℃～約60℃における0.03M塩化ナトリウムおよび0.03Mクエン酸ナトリウムなどの中程度～高度に厳密な条件下においてコネキシンmRNAにハイブリダイズするポリヌクレオチドでありうる。

【0088】

一部の態様について述べると、適切なポリヌクレオチドは、約6～40ヌクレオチドの長さであることが典型的である。ヌクレオチドは、好ましくは約12～約35ヌクレオチドの長さでもあり、代替的には、約12～約20ヌクレオチドの長さでもあり、より好ましくは、約18～約32ヌクレオチドの長さでもありうる。代替的な態様によれば、ポリヌクレオチドは、少なくとも約40ヌクレオチド、例えば、少なくとも約60ヌクレオチドまたは少なくとも約80ヌクレオチドの長さでありえ、最長約100、約200、約300、約400、約500、約1000、約2000、または約3000ヌクレオチド以上の長さでありうる。

【0089】

ポリヌクレオチドにより標的とされる1または複数のコネキシンタンパク質は、下方調節が行われる部位に依存する。これは、コネキシンサブユニットの組成に関して、全身の異なる部位において（1または複数の）ギャップジャンクションの構成が一樣でないことを反映する。コネキシンは、一態様における、ヒトもしくは動物の天然に存在するコネキシンであるか、またはコネキシンの発現または活性を低下させる予定の組織内の天然に存在するコネキシンである。コネキシン遺伝子（コード配列を含む）は一般に、表8に示すコネキシン43コード配列との相同性など、本明細書で言及される1または複数の特異的なコネキシンのコード配列との相同性を有する。コネキシンは、αコネキシンまたはβコネキシンであることが典型的である。コネキシンはαコネキシンであり、治療される組織において発現することが好ましい。

【0090】

しかし、組織内における分布に関して、一部のコネキシンタンパク質は、他のコネキシンタンパク質よりも遍在性である。最も広範に存在するコネキシンタンパク質の1つが、コネキシン43である。コネキシン43を標的とするポリヌクレオチドが、本発明における使用に特に適する。他の態様では、他のコネキシンが標的とされる。

【0091】

抗コネキシンポリヌクレオチドは、コネキシンアンチセンスポリヌクレオチドのほか、

10

20

30

40

50

それらによるコネキシン発現の下方調節を可能とする機能性を有するポリヌクレオチドも含む。他の適切な抗コネキシンポリヌクレオチドは、RNAiポリヌクレオチドおよびsiRNAポリヌクレオチドを含む。

【0092】

好ましい一態様において、アンチセンスポリヌクレオチドは、1種のコネキシンタンパク質のmRNAだけを標的とする。このコネキシンタンパク質は、コネキシン43であることが最も好ましい。別の態様において、コネキシンタンパク質は、コネキシン26、30、31、32、36、37、40、または45である。他の態様において、コネキシンタンパク質は、コネキシン30、31、40、41、または46、6である。

【0093】

別個のコネキシンタンパク質を標的とするポリヌクレオチドを組み合わせて用いることもまた意図される（例えば、1種、2種、3種、4種以上の異なるコネキシンを標的とすることができる）。例えば、コネキシン43を標的とするポリヌクレオチドと、コネキシンファミリーの1つまたは複数の他のメンバー（コネキシン26、30、30、31、32、36、37、40、40、41、45、および46、6など）とを標的とするポリヌクレオチドを、組み合わせて用いることができる。

【0094】

代替的に、アンチセンスポリヌクレオチドは、複数種のコネキシンタンパク質に対するポリヌクレオチドを含みうる組成物の一部でもありうる。ポリヌクレオチドが対象とするコネキシンタンパク質の1つは、コネキシン43であることが好ましい。オリゴデオキシヌクレオチドが対象とする他のコネキシンタンパク質は、例えば、コネキシン26、30、30、31、32、36、37、40、40、41、45、および46、6を含みうる。各種のコネキシンを対象とするのに適する例示的なポリヌクレオチド（およびODN）を、表1に示す。

【0095】

個々のアンチセンスポリヌクレオチドは、特定のコネキシンに特異的な場合もあり、1種、2種、3種以上の異なるコネキシンを標的とする場合もある。特異的なポリヌクレオチドが一般に、コネキシン間において保存されないコネキシン遺伝子またはコネキシンmRNA内の配列を標的とする一方、非特異的なポリヌクレオチドは、各種コネキシンの保存的配列を標的とする。

【0096】

本発明で用いられるポリヌクレオチドは、非改変のホスホジエステルオリゴマーでありうるのが好都合である。このようなオリゴデオキシヌクレオチドは、長さが変わりうる。30マーのポリヌクレオチドが特に適することが分かっている。

【0097】

本発明の多くの態様は、オリゴデオキシヌクレオチドに関して説明される。しかし、これらの態様では、他の適切なポリヌクレオチド（RNAポリヌクレオチドなど）も用いることが理解される。

【0098】

アンチセンスポリヌクレオチドは、化学修飾することができる。これにより、ヌクレアーゼに対するこれらの耐性を増強することができ、これらが細胞内に入る能力を増強することができる。例えば、ホスホロチオエートオリゴヌクレオチドを用いることができる。他のデオキシヌクレオチド類似体は、メチルホスホネート、ホスホラミデート、ホスホロジチオエート、N3'-P5'-ホスホラミデート、ならびにオリゴリボヌクレオチドホスホロチオエートおよびそれらの2'-O-アルキル類似体、ならびに2'-O-メチルリボヌクレオチドメチルホスホネートを含む。代替的に、混合骨格オリゴヌクレオチド（「MBO」）も用いることができる。MBOは、ホスホチオエートオリゴデオキシヌクレオチドのセグメントと、改変されたオリゴデオキシヌクレオチドまたはオリゴリボヌクレオチドの適切に配置されたセグメントとを含有する。MBOは、ホスホロチオエート結合のセグメントと、非イオン性で、ヌクレアーゼまたは2'-O-アルキルオリゴリボヌクレ

10

20

30

40

50

オチドに対して極めて耐性なメチルホスホネートなどの、他の改変オリゴヌクレオチドの他のセグメントとを有する。改変骨格オリゴヌクレオチドおよび混合骨格オリゴヌクレオチドを調製する方法は、当技術分野において公知である。

【0099】

本発明で用いられるアンチセンスポリヌクレオチドの正確な配列は、標的のコネキシンタンパク質に依存する。一実施形態において、適切なコネキシンアンチセンスポリヌクレオチドは、表1に記載される以下の配列から選択されるオリゴデオキシヌクレオチドなどのポリヌクレオチドを含みうる。

【0100】

【表1-1】

表1

5' GTA ATT GCG GCA AGA AGA ATT GTT TCT GTC 3'	(コネキシン 43)	(配列番号 1)
5' GTA ATT GCG GCA GGA GGA ATT GTT TCT GTC 3'	(コネキシン 43)	(配列番号 2)
5' GGC AAG AGA CAC CAA AGA CAC TAC CAG CAT 3'	(コネキシン 43)	(配列番号 3)
5' TCC TGA GCA ATA CCT AAC GAA CAA ATA 3'	(コネキシン 26)	(配列番号 4)
5' CAT CTC CTT GGT GCT CAA CC 3'	(コネキシン 37)	(配列番号 5)
5' CTG AAG TCG ACT TGG CTT GG 3'	(コネキシン 37)	(配列番号 6)

【0101】

【表1-2】

5' CTC AGA TAG TGG CCA GAA TGC 3'	(コネキシン 30)	(配列番号 7)
5' TTG TCC AGG TGA CTC CAA GG 3'	(コネキシン 30)	(配列番号 8)
5' CGT CCG AGC CCA GAA AGA TGA GGT C 3'	(コネキシン 31.1)	(配列番号 9)
5' AGA GGC GCA CGT GAG ACA C 3'	(コネキシン 31.1)	(配列番号 10)
5' TGA AGA CAA TGA AGA TGT T 3'	(コネキシン 31.1)	(配列番号 11)
5' TTT CTT TTC TAT GTG CTG TTG GTG A 3'	(コネキシン 32)	(配列番号 12)

本明細書に記載の、ポリヌクレオチドの組合せ組成物の調製に適するポリヌクレオチドは、例えば、上記の表1に記載したコネキシンC x 43に対するポリヌクレオチドと、コネキシン26、30、31.1、32、および37に対するポリヌクレオチドとを含む。

【0102】

本発明において用いられるアンチセンスポリヌクレオチドの正確な配列は、標的のコネキシンタンパク質に依存するが、コネキシン43の場合、以下の配列：

G T A A T T G C G G C A A G A A G A A T T G T T T C T G T C (配列番号1)；

G T A A T T G C G G C A G G A G G A A T T G T T T C T G T C (配列番号2)；および

G G C A A G A G A C A C C A A A G A C A C T A C C A G C A T (配列番号 3)

を有するアンチセンスポリヌクレオチドが特に適することが分かっている。

【0103】

例えば、コネキシン 26、31.1、および 32 に適するアンチセンスポリヌクレオチドは、以下の配列：

5' T C C T G A G C A A T A C C T A A C G A A C A A A T A (コネキシン 26) (配列番号 4)；

5' C G T C C G A G C C C A G A A A G A T G A G G T C (コネキシン 31.1) (配列番号 9)；および

5' T T T C T T T T C T A T G T G C T G T T G G T G A (コネキシン 32) (配列番号 12)

を有する。

【0104】

本発明の方法により有用な他のコネキシンアンチセンスポリヌクレオチド配列は、

5' C A T C T C C T T G G T G C T C A A C C 3' (コネキシン 37) (配列番号 5)；

5' C T G A A G T C G A C T T G G C T T G G 3' (コネキシン 37) (配列番号 6)；

5' C T C A G A T A G T G G C C A G A A T G C 3' (コネキシン 30) (配列番号 7)；

5' T T G T C C A G G T G A C T C C A A G G 3' (コネキシン 30) (配列番号 8)；

5' A G A G G C G C A C G T G A G A C A C 3' (コネキシン 31.1) (配列番号 10)；および

5' T G A A G A C A A T G A A G A T G T T 3' (コネキシン 31.1) (配列番号 11)

を含む。

【0105】

コネキシンタンパク質を対象とする、ODNを含むポリヌクレオチドは、任意の簡便な従来の手法により、それらのヌクレオチド配列に関して選択することができる。例えば、コンピュータプログラムである Mac Vector および Oligo Tech (Oligos など、Eugene、Oregon、USA 製) を用いることができる。選択されると、DNA 合成器を用いて ODN を合成することができる。

【0106】

ポリヌクレオチドの相同体

本明細書では、相同性および相同体（例えば、ポリヌクレオチドは、コネキシン mRNA 中の配列に対する相補体の相同体でありうる）について論じる。このようなポリヌクレオチドは、例えば、（相同配列の）少なくとも約 15、少なくとも約 20、少なくとも約 40、少なくとも約 100 以上の連続ヌクレオチドの領域にわたって、対象の配列と少なくとも約 70% の相同性、好ましくは少なくとも約 80%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、または少なくとも約 99% の相同性を有することが典型的である。

【0107】

相同性は、当技術分野における任意の方法に基づいて計算することができる。例えば、UWGC G パッケージでは、相同性を計算するのに用いられる BESTFIT プログラム（例えば、そのデフォルト設定で用いられる）が提供される（Devereux ら（1984 年）、Nucleic Acids Research、第 12 巻、387～395 頁）。PILEUP アルゴリズムおよび BLAST アルゴリズムは、例えば、Altschul S. F.（1993 年）、J Mol Evol、第 36 巻、290～300 頁

10

20

30

40

50

； Altschul, S, Fら（1990年）、J Mol Biol、第215巻、403～10頁において説明される通り、相同性を計算するか、または配列を整列するのに用いることができる（それらのデフォルト設定における場合が典型的である）。

【0108】

BLAST解析を実施するためのソフトウェアは、米国国立バイオテクノロジー情報センター（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>）により公に入手可能である。このアルゴリズムは、まず、データベース配列中における同じ長さのワードにより整列する場合、ある正の値の閾値スコアTにマッチするかまたはこれを満たすクエリー配列中における長さWの短いワードを同定することによる、高スコアリング配列対（HSP）の同定を伴う。Tを、近傍ワードスコア閾値（Altschulら、前出）と称する。これらの初期近傍ワードヒットは、それらを含むHSPを見出す検索を開始するためのシード（seed）として作用する。ワードヒットは、累積のアライメントスコアが増大しうる限りにおいて、各配列に沿って両方向に延長される。各方向におけるワードヒットの延長は、累積アライメントスコアが、達成されたその最大値から量Xだけ低下する場合；累積スコアが、1つまたは複数の負のスコアの残基アライメントの累積により、ゼロ以下に低下する場合；またはいずれかの配列の端部に到達する場合に停止される。

10

【0109】

BLASTアルゴリズムのパラメータW、T、およびXにより、アラインメントの感度および速度が決定される。BLASTプログラムでは、ワード長（W）、BLOSUM62スコアリングマトリックス（HenikoffおよびHenikoff（1992年）、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、第89巻、10915～10919頁を参照されたい）によるアライメント（B=50）、期待値（E=10）、M=5、N=4、および両方の鎖の比較が、デフォルトとして用いられる。

20

【0110】

BLASTアルゴリズムでは、2つの配列間における類似性に対する統計学的解析が実施される。例えば、KarlinおよびAltschul（1993年）、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、第90巻、5873～5877頁を参照されたい。BLASTアルゴリズムにより提供される類似性の1つの尺度は、2つのヌクレオチド配列またはアミノ酸配列の間におけるマッチが偶然に生じる確率を示す、最小合計確率（P（N））である。例えば、第2の配列に対して第1の配列を比較した場合の最小合計確率が約1未満、好ましくは約0.1未満、より好ましくは約0.01未満、また最も好ましくは約0.001未満である場合、ある配列は別の配列に対して類似すると考えられる。

30

【0111】

相同配列は、少なくとも約2、5、10、15、20以上（または約2、5、10、15、20以下）の変異（置換、欠失、または挿入でありうる）により対象配列と異なることが典型的である。これらの変異は、相同性の計算との関連で、上述の領域のいずれかにわたって測定することができる。

【0112】

相同配列は、バックグラウンドを有意に上回るレベルで、元の配列に選択的にハイブリダイズすることが典型的である。選択的なハイブリダイゼーションは、中程度～高度に厳密な条件（例えば、約50℃～約60℃における0.03M塩化ナトリウムおよび0.03Mクエン酸ナトリウム）を用いて達成することが典型的である。しかし、このようなハイブリダイゼーションは、当技術分野において公知の任意の適切な条件下で実施することができる（Sambrookら（1989年）、「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」を参照されたい）。例えば、高い厳密性が必要とされる場合、適切な条件は60℃における0.2×SSCを含む。より低い厳密性が必要とされる場合、適切な条件は60℃における2×SSCを含む。

40

【0113】

ペプチドおよびポリペプチドによる抗コネキシン剤

50

ペプチド、ペプチド模倣剤、抗体、抗体フラグメントなどを含む結合タンパク質もまた、ギャップジャンクションおよびヘミチャネルに適する調節剤である。

【0114】

結合タンパク質は、例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体フラグメント（例えば、Fabフラグメント、 $F(ab')_2$ フラグメント、およびFvフラグメント；単鎖抗体；単鎖Fv；また例えば、特定の抗体または他の結合分子と接触する抗原決定基（すなわち、一般にエピトープと称する分子の部分）に結合可能な結合ドメイン、ヒンジ、CH2ドメインおよびCH3ドメイン、組換え抗体、ならびに抗体フラグメントを含む単鎖結合分子などの単鎖結合分子を含む）を含む。抗体、抗体フラグメントなどを含むこれらの結合タンパク質は、キメラの場合もあり、ヒト化される場合もあり、他の形でこれらが投与される対象においてより低い免疫原性に作製する場合もあり、また、合成する場合もあり、組換えにより作製する場合もあり、発現ライブラリー内において作製する場合もある。本明細書で言及され、かつ／または当技術分野においてより詳細に説明される結合分子など、当技術分野において公知であるかまたは将来的に発見される任意の結合分子が想定される。例えば、結合タンパク質は、抗体などだけではなく、リガンド、受容体、ペプチド模倣剤、または標的（例えば、コネキシン、ヘミチャネル、または関連する分子）に結合する他の結合フラグメントもしくは他の結合分子（例えば、ファージディスプレイにより作製される）も含む。

【0115】

結合分子は一般に、結合特異性を含むがこれに限定されない所望の特異性、および所望の親和性を有する。親和性は、例えば、約 $10^4 M^{-1}$ 以上、約 $10^6 M^{-1}$ 以上、約 $10^7 M^{-1}$ 以上、約 $10^8 M^{-1}$ のKaでありうる。約 $10^9 M^{-1}$ 以上、約 $10^{10} M^{-1}$ 以上、約 $10^{11} M^{-1}$ 以上、および約 $10^{12} M^{-1}$ 以上の親和性など、約 $10^8 M^{-1}$ をさらに超える親和性が適する。本発明による結合タンパク質の親和性は、従来の技法、例えば、Scatchardら、1949年、Ann. N. Y. Acad. Sci.、第51巻、660頁により説明される技法を用いて容易に決定することができる。

【0116】

ヒドロパシープロットから得られるデータを用いることにより、コネキシンは、4つの膜貫通領域および2つの短い細胞外ループを含有すると仮定されている。コネキシンの第1および第2の細胞外領域の配置は、分離されたギャップジャンクション上における対応するエピトープの免疫学的局在決定に用いられる抗ペプチド抗体の作製報告によりさらに特徴づけられた（Goodenough D. A.、J Cell Biol、第107巻、1817～1824頁（1988年）；Meyer R. A.、J Cell Biol、第119巻、179～189頁（1992年））。

【0117】

隣接する2つの細胞が寄与するヘミチャネルの細胞外ドメインが互いに「結合（dock）」して、完全なギャップジャンクションチャネルが形成される。これらの細胞外ドメインの相互作用に干渉する試薬は、細胞間情報伝達を損なうことが可能である。ギャップジャンクションおよびヘミチャネルに対するペプチド阻害剤が報告されている。例えば、Berthoud, V. M. ら、Am J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.、第279巻、L619～L622頁（2000年）；Evans, W. H. およびBoitano, S.、Biochem. Soc. Trans.、第29巻、606～612頁；ならびにDe Vriese A. S. ら、Kidney Int.、第61巻、177～185頁（2001年）を参照されたい。コネキシンの細胞外ループ内の配列に対応する短いペプチドが、細胞間情報伝達を阻害すると言われた（Boitano S. およびEvans W.、Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol、第279巻、L623～L630頁（2000年））。Xenopusの卵母細胞対において発現されるコネキシン（Cx）32によりもたらされる細胞間チャネル形成に対する阻害剤としてのペプチドの使用も

10

20

30

40

50

また報告されている (Dahl Gら、Biophys J、第67巻、1816～1822頁 (1994年))。Berthoud, V. M. およびSeul, K. H. によりこれらの結果の一部がまとめられた (Am J., Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.、第279巻、L619～L622頁 (2000年))。

【0118】

抗コネキシン剤は、コネキシン (例えば、コネキシン45、43、26、30、31、1、および37) の膜貫通領域 (例えば、第1～第4) に対応するアミノ酸配列を含むペプチドを含む。抗コネキシン剤は、コネキシン45の膜貫通ドメインの一部に対応するアミノ酸配列を含むペプチドを含みうる。抗コネキシン剤は、配列番号13の約5～20の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチド、配列番号13の約8～15の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチド、または配列番号13の約11～13の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチドを含む。他の実施形態は、配列番号13の少なくとも約5、少なくとも約6、少なくとも約7、少なくとも約8、少なくとも約9、少なくとも約10、少なくとも約11、少なくとも約12、少なくとも約13、少なくとも約14、少なくとも約15、少なくとも約20、少なくとも約25、または少なくとも約30の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチドである抗コネキシン剤を対象とする。本明細書で提供される一部の抗コネキシン剤では、配列番号13の位置46～75および199～228にあるアミノ酸に対応するコネキシン45の細胞外ドメインを用いて、特定のペプチド配列を開発することができる。本明細書に記載の一部のペプチドは、配列番号13の位置46～75および199～228にある領域に対応するアミノ酸配列を有する。ペプチドは、配列番号13のこれらの部分と同一のアミノ酸配列を有する必要はなく、ペプチドが結合活性または機能活性を保持するような保存的アミノ酸変化を作製することができる。代替的に、ペプチドは、細胞外ドメイン以外のコネキシンタンパク質の領域 (例えば、位置46～75および199～228に対応しない配列番号13の部分) も標的としうる。

【0119】

また、適切な抗コネキシン剤は、コネキシン43の膜貫通領域の一部に対応するアミノ酸配列を含むペプチドも含む。抗コネキシン剤は、配列番号14の約5～20の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチド、配列番号14の約8～15の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチド、または配列番号14の約11～13の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチドを含む。他の抗コネキシン剤は、配列番号14の少なくとも約5、少なくとも約6、少なくとも約7、少なくとも約8、少なくとも約9、少なくとも約10、少なくとも約11、少なくとも約12、少なくとも約13、少なくとも約14、少なくとも約15、少なくとも約20、少なくとも約25、または少なくとも約30の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチドを含む。他の抗コネキシン剤は、配列番号14の位置37～76および178～208にあるアミノ酸に対応するコネキシン43の細胞外ドメインを含む。抗コネキシン剤は、配列番号14の位置37～76および178～208にある領域に対応するアミノ酸配列を有する、本明細書に記載のペプチドを含む。ペプチドは、配列番号14のこれらの部分と同一のアミノ酸配列を有する必要はなく、ペプチドが結合活性または機能活性を保持するような保存的アミノ酸変化を作製することができる。代替的に、ペプチドは、細胞外ドメイン以外のコネキシンタンパク質の領域 (例えば、位置37～76および178～208に対応しない配列番号14の部分) も標的としうる。

【0120】

【化 1】

コネキシン45(配列番号13)

Met	Ser	Trp	Ser	Phe	Leu	Thr	Arg	Leu	Leu	Glu	Glu	Ile	His	Asn	His	
1				5					10					15		
Ser	Thr	Phe	Val	Gly	Lys	Ile	Trp	Leu	Thr	Val	Leu	Ile	Val	Phe	Arg	
			20					25					30			
Ile	Val	Leu	Thr	Ala	Val	Gly	Gly	Glu	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Asp	Glu	Gln	
		35				40						45				
Ser	Lys	Phe	Val	Cys	Asn	Thr	Glu	Gln	Pro	Gly	Cys	Glu	Asn	Val	Cys	10
	50					55					60					
Tyr	Asp	Ala	Phe	Ala	Pro	Leu	Ser	His	Val	Arg	Phe	Trp	Val	Phe	Gln	
65					70					75				80		
Ile	Ile	Leu	Val	Ala	Thr	Pro	Ser	Val	Met	Tyr	Leu	Gly	Tyr	Ala	Ile	
				85					90					95		
His	Lys	Ile	Ala	Lys	Met	Glu	His	Gly	Glu	Ala	Asp	Lys	Lys	Ala	Ala	
			100					105					110			
Arg	Ser	Lys	Pro	Tyr	Ala	Met	Arg	Trp	Lys	Gln	His	Arg	Ala	Leu	Glu	
		115					120					125				
Glu	Thr	Glu	Glu	Asp	Asn	Glu	Glu	Asp	Pro	Met	Met	Tyr	Pro	Glu	Met	20
	130					135				140						
Glu	Leu	Glu	Ser	Asp	Lys	Glu	Asn	Lys	Glu	Gln	Ser	Gln	Pro	Lys	Pro	
145					150					155				160		
Lys	His	Asp	Gly	Arg	Arg	Arg	Ile	Arg	Glu	Asp	Gly	Leu	Met	Lys	Ile	
			165					170					175			
Tyr	Val	Leu	Gln	Leu	Leu	Ala	Arg	Thr	Val	Phe	Glu	Val	Gly	Phe	Leu	
		180					185						190			
Ile	Gly	Gln	Tyr	Phe	Leu	Tyr	Gly	Phe	Gln	Val	His	Pro	Phe	Tyr	Val	30
		195					200					205				
Cys	Ser	Arg	Leu	Pro	Cys	Pro	His	Lys	Ile	Asp	Cys	Phe	Ile	Ser	Arg	
	210					215					220					

【 0 1 2 1 】

【化 2】

Pro Thr Glu Lys Thr Ile Phe Leu Leu Ile Met Tyr Gly Val Thr Gly
 225 230 235 240

Leu Cys Leu Leu Leu Asn Ile Trp Glu Met Leu His Leu Gly Phe Gly
 245 250 255

Thr Ile Arg Asp Ser Leu Asn Ser Lys Arg Arg Glu Leu Glu Asp Pro
 260 265 270

Gly Ala Tyr Asn Tyr Pro Phe Thr Trp Asn Thr Pro Ser Ala Pro Pro
 275 280 285

Gly Tyr Asn Ile Ala Val Lys Pro Asp Gln Ile Gln Tyr Thr Glu Leu
 290 295 300

Ser Asn Ala Lys Ile Ala Tyr Lys Gln Asn Lys Ala Asn Thr Ala Gln
 305 310 315 320

Glu Gln Gln Tyr Gly Ser His Glu Glu Asn Leu Pro Ala Asp Leu Glu
 325 330 335

Ala Leu Gln Arg Glu Ile Arg Met Ala Gln Glu Arg Leu Asp Leu Ala
 340 345 350

Val Gln Ala Tyr Ser His Gln Asn Asn Pro His Gly Pro Arg Glu Lys
 355 360 365

Lys Ala Lys Val Gly Ser Lys Ala Gly Ser Asn Lys Ser Thr Ala Ser
 370 375 380

Ser Lys Ser Gly Asp Gly Lys Asn Ser Val Trp Ile
 385 390 395

10

20

コネキシン43(配列番号14)

Met Gly Asp Trp Ser Ala Leu Gly Lys Leu Leu Asp Lys Val Gln Ala
 1 5 10 15

Tyr Ser Thr Ala Gly Gly Lys Val Trp Leu Ser Val Leu Phe Ile Phe
 20 25 30

Arg Ile Leu Leu Leu Gly Thr Ala Val Glu Ser Ala Trp Gly Asp Glu
 35 40 45

Gln Ser Ala Phe Arg Cys Asn Thr Gln Gln Pro Gly Cys Glu Asn Val
 50 55 60

Cys Tyr Asp Lys Ser Phe Pro Ile Ser His Val Arg Phe Trp Val Leu
 65 70 75 80

Gln Ile Ile Phe Val Ser Val Pro Thr Leu Leu Tyr Leu Ala His Val
 85 90 95

Phe Tyr Val Met Arg Lys Glu Glu Lys Leu Asn Lys Lys Glu Glu Glu
 100 105 110

Leu Lys Val Ala Gln Thr Asp Gly Val Asn Val Asp Met His Leu Lys
 115 120 125

Gln Ile Glu Ile Lys Lys Phe Lys Tyr Gly Ile Glu Glu His Gly Lys
 130 135 140

30

40

【0 1 2 2】

【化 3】

```

Val Lys Met Arg Gly Gly Leu Leu Arg Thr Tyr Ile Ile Ser Ile Leu
145                      150                      155                      160

Phe Lys Ser Ile Phe Glu Val Ala Phe Leu Leu Ile Gln Trp Tyr Ile
                      165                      170                      175

Tyr Gly Phe Ser Leu Ser Ala Val Tyr Thr Cys Lys Arg Asp Pro Cys
                      180                      185                      190

Pro His Gln Val Asp Cys Phe Leu Ser Arg Pro Thr Glu Lys Thr Ile
                      195                      200                      205

Phe Ile Ile Phe Met Leu Val Val Ser Leu Val Ser Leu Ala Leu Asn
210                      215                      220

Ile Ile Glu Leu Phe Tyr Val Phe Phe Lys Gly Val Lys Asp Arg Val
225                      230                      235                      240

Lys Gly Lys Ser Asp Pro Tyr His Ala Thr Ser Gly Ala Leu Ser Pro
                      245                      250                      255

Ala Lys Asp Cys Gly Ser Gln Lys Tyr Ala Tyr Phe Asn Gly Cys Ser
                      260                      265                      270

Ser Pro Thr Ala Pro Leu Ser Pro Met Ser Pro Pro Gly Tyr Lys Leu
                      275                      280                      285

Val Thr Gly Asp Arg Asn Asn Ser Ser Cys Arg Asn Tyr Asn Lys Gln
290                      295                      300

Ala Ser Glu Gln Asn Trp Ala Asn Tyr Ser Ala Glu Gln Asn Arg Met
305                      310                      315                      320

Gly Gln Ala Gly Ser Thr Ile Ser Asn Ser His Ala Gln Pro Phe Asp
                      325                      330                      335

Phe Pro Asp Asp Asn Gln Asn Ser Lys Lys Leu Ala Ala Gly His Glu
                      340                      345                      350

Leu Gln Pro Leu Ala Ile Val Asp Gln Arg Pro Ser Ser Arg Ala Ser
                      355                      360                      365

Ser Arg Ala Ser Ser Arg Pro Arg Pro Asp Asp Leu Glu Ile
370                      375                      380

```

10

20

30

40

抗コネキシンペプチドは、ペプチドが機能的に活性な抗コネキシン剤であるような保存的アミノ酸置換を伴う、コネキシンの細胞外ドメインの一部に対応する配列を含みうる。例示的な保存的アミノ酸置換は、例えば、別の非極性アミノ酸による非極性アミノ酸の置換、別の芳香族アミノ酸による芳香族アミノ酸の置換、別の脂肪族アミノ酸による脂肪族アミノ酸の置換、別の極性アミノ酸による極性アミノ酸の置換、別の酸性アミノ酸による酸性アミノ酸の置換、別の塩基性アミノ酸による塩基性アミノ酸の置換、および別のイオン性アミノ酸によるイオン性アミノ酸の置換を含む。

【0123】

コネキシン43を標的とする例示的なペプチドを、以下の表2に示す。M1、M2、M3、およびM4は、それぞれ、コネキシン43タンパク質の第1～第4の膜貫通領域を指す。E1およびE2は、それぞれ、第1および第2の細胞外ループを指す。

【0124】

【表 2】

表2:細胞間情報伝達に対するペプチド阻害剤(cx43)

FEVAFLLIQWI	M3 & E2	(配列番号 15)
LLIQWYIGFSL	E2	(配列番号 16)
SLSAVYTCKRDPCPHQ	E2	(配列番号 17)
VDCFLSRPTEKT	E2	(配列番号 18)
SRPTEKTIFII	E2 & M4	(配列番号 19)
LGTAVESAWGDEQ	M1 & E1	(配列番号 20)
QSAFRCNTQQPG	E1	(配列番号 21)
QQPGCENVCYDK	E1	(配列番号 22)
VCYDKSFPISHVR	E1	(配列番号 23)

10

表 3 は、ヘミチャネル機能またはギャップジャンクション機能を阻害するのに用いられる、さらなる例示的なコネキシンペプチドについて記載する。他の実施形態では、ペプチドまたはこれらのフラグメントに対して保存的なアミノ酸変化が作製される。

20

【 0 1 2 5 】

【表 3】

表3:細胞間情報伝達に対するさらなるペプチド阻害剤(Cx32、Cx43)

コネキシン	位置		アミノ酸および配列
Cx32	E1 39-77	AAESVWGDEIKSSFICNTLQPGCNSVCYDHFFPIS HVR	(配列番号 24)
Cx32	E1 41-52	ESVWGDEKSSFI	(配列番号 25)
Cx32	E1 52-63	ICNTLQPGCNSV	(配列番号 26)
Cx32	E1 62-73	SVCYDHFFPISH	(配列番号 27)
Cx32	E2 64-188	RLVKCEAFPCPNTVDCFVSRPTEKT	(配列番号 28)
Cx32	E2 166-177	VKCEAFPCPNTV	(配列番号 29)
Cx32	E2 177-188	VDCFVSRPTEKT	(配列番号 30)
Cx32	E1 63-75	VCYDHFFPISHVR	(配列番号 31)
Cx32	E1 45-59	VWGDEKSSFIICNTLQPGY	(配列番号 32)
Cx32	E1 46-59	DEKSSFIICNTLQPGY	(配列番号 33)
Cx32	E2 182-192	SRPTEKTVFTV	(配列番号 34)
Cx32/Cx43	E2 182-188/ 201-207	SRPTEKT	(配列番号 35)
Cx32	E1 52-63	ICNTLQPGCNSV	(配列番号 36)
Cx40	E2 177-192	FLDTLHVCRRSPCPHP	(配列番号 37)
Cx43	E2 188-205	KRDPCHQVDCFLSRPTEK	(配列番号 38)

10

20

30

表 4 は、本明細書に記載の使用に供するペプチド阻害剤を開発するのに用いられるコネキシンファミリーメンバーの細胞外ループについて記載する。表 4 に記載されるペプチドおよびこれらのフラグメントは、一部の非限定的な実施形態においてペプチド阻害剤として用いられる。他の非限定的な実施形態では、この表 4 中のペプチドの約 8 ～約 15、または約 11 ～約 13 の連続アミノ酸を含むペプチドが、ペプチド阻害剤である。ペプチドまたはこれらのフラグメントには、保存的なアミノ酸変化を作製することができる。

【0126】

【表 4 - 1】

表4:各種コネキシンファミリーメンバーの細胞外ループ

E1

huCx26	KEVWGDEQADFVCNTLQPGCKNVCYDHYFPISHIR	(配列番号 39)
huCx30	QEVWGDEQEDFVCNTLQPGCKNVCYDHFFPVSHIR	(配列番号 40)
huCx30.3	EEVWDDEQKDFVCNTKQPGCPNVCYDEFFPVSHVR	(配列番号 41)
huCx31	ERVWGDEQKDFDCNTKQPGCTNVCYDNYFPISNIR	(配列番号 42)
huCx31.1	ERVWSDDHKDFDCNTRQPGCSNVCFDEFFPVSHVR	(配列番号 43)
huCx32	ESVWGDEKSSFICNTLQPGCNSVCYDQFFPISHVR	(配列番号 44)
huCx36	ESVWGDEQSDFECNTAQPGCTNVCYDQAFPISHIR	(配列番号 45)
huCx37	ESVWGDEQSDFECNTAQPGCTNVCYDQAFPISHIR	(配列番号 46)
huCx40.1	RPVYQDEQERFVCNTLQPGCANVCYDVFS PVSHLR	(配列番号 47)

10

【 0 1 2 7 】

【表 4 - 2】

huCx43	ESAWGDEQSAFRCNTQQPGCENVCYDKSFPISHVR	(配列番号 48)
huCx46	EDVWGDEQSDFTCNTQQPGCBNVCYBRAFPISHIR	(配列番号 49)
huCx46.6	EAIYSDEQAKFTCNTRQPGCDNVCYDAFAPLSHVR	(配列番号 50)
huCx40	ESSWGDEQADFRCDTIQPGCQNVCTDQAFPIHSHIR	(配列番号 51)
huCx45	GESIYYDEQSKFVCNTEQPGCENVCYDAFAPLSHVR	(配列番号 52)
E2		
huCx26	MYVFYVMYDGFMSQRLVKCNAWPCPNTVDCFVSRPTEKT	(配列番号 53)
huCx30	MYVFYFLYNGYHLPWVLKCGIDPCPNLVDCFISRPEKT	(配列番号 54)
huCx30.3	LYIFHRLYKDYDMPRVVACSVPCPHTVDCYISRPEKK	(配列番号 55)
huCx31	LYLLHTLWHGFNMPRLVQCANVAPCPNIVDCYIARPEKK	(配列番号 56)
huCx31.1	LYVFHSFYPKYILPPVVKCHADPCPNIVDCFISKPSEKN	(配列番号 57)
huCx32	MYVFYLLYPGYAMVRLVKCDVYPCPNTVDCFVSRPTEKT	(配列番号 58)
huCx36	LYGWTMEPVFVCQRAPCPYLVDVCFVSRPTEKT	(配列番号 59)
huCx37	LYGWTMEPVFVCQRAPCPYLVDVCFVSRPTEKT	(配列番号 60)
huCx40.1	GALHYFLGFLAPKKFPCTRPCTGVVDCYVSRPTSXS	(配列番号 61)
huCx43	LLIQWYIYGFSLSAVYTCKRDPCPHQVDCFLSRPTEKT	(配列番号 62)
huCx46	IAGQYFLYGFELKPLYRCDRWPCPNTVDCFISRPEKT	(配列番号 63)
huCx46.6	LVGQYLLYGFVVRPFPCSRQPCPHVVDCFVSRPTEKT	(配列番号 64)
huCx40	IVGQYFIYGIFLTTLHVCRRSPCPHPVNCYVSRPTEKN	(配列番号 65)
huCx45	LIGQYFLYGFQVHPFYVCSRLPCHPKIDCFISRPEKT	(配列番号 66)

10

20

30

表 5 は、ペプチドによる抗コネキシン剤を開発するのに用いるコネキシンファミリーメンバーの細胞外ドメインについて記載する。表 5 に記載されるペプチドおよびこれらのフラグメントもまた、ペプチドによる抗コネキシン剤として用いることができる。このようなペプチドは、この表 5 中のペプチド配列の約 8 ～約 15、または約 11 ～約 13 の連続アミノ酸を含みうる。ペプチドまたはこれらのフラグメントには、保存的なアミノ酸変化を作製することができる。

【0128】

40

【表 5】

表5:細胞外ドメイン

ペプチド	VDCFLSRPTEKT (配列番号 18)	
ペプチド	SRPTEKTIFII (配列番号 19)	
huCx43	LLIQWYIYGFSLSAVYTCKRDPCPHQVDCFSLRPTEKTIFII (配列番号 67)	
huCx26	MYVFYVMYDGFMSQRLVKCNAWPCPNTVDCFVSRPTEKTVFTV (配列番号 68)	10
huCx30	YVFYFLYNGYHLPWVLKCGIDPCPNLVDCFISRPTEKTVFTI (配列番号 69)	
huCx30.3	LYIFHRLYKDYDMPRVVACSVPCPHTVDCYISRPTEKKVFTY (配列番号 70)	
huCx31	LYLLHTLWHGFNMPRLVQCANVAPCPNIVDCYIARPTEKKTY (配列番号 71)	
huCx31.1	LYVFHSFYPKYILPPVVKCHADPCPNIVDCFISKPSEKNIFTL (配列番号 72)	
huCx32	MYVFYLLYPGYAMVRLVKCDVYPCPNTVDCFVSRPTEKTVFTV (配列番号 73)	
huCx36	LYGWTMEPVFVCQRAPCPYLVD CFVSRPTEKTIFII (配列番号 74)	20
huCx37	LYGWTMEPVFVCQRAPCPYLVD CFVSRPTEKTIFII (配列番号 75)	
huCx40.1	GALHYFLFGFLAPKKFPCTRPPCTGVVDCYVSRPTEKSLML (配列番号 76)	
huCx46	IAGQYFLYGFELKPLYRCDRWPCPNTVDCFISRPTEKTIFII (配列番号 77)	
huCx46.6	LVGQYLLYGFVVRPFPCSRQPCPHVVDCFVSRPTEKTVFLL (配列番号 78)	
huCx40	IVGQYFIYGIFLTTLHVCRRSPCPHPVNCYSRPTEKNVFIV (配列番号 79)	
huCx45	LIGQYFLYGFQVHPFYVCSRLPCHPKIDCFISRPTEKTIFLL (配列番号 80)	30

表 6 は、コネキシン 40 の細胞外ループ（E 1 および E 2）に関して示されるコネキシン 40 に対するペプチド阻害剤について記載する。太字のアミノ酸は、コネキシン 40 の膜貫通領域を対象とする。

【0129】

【表 6】

表6:Cx40ペプチド阻害剤

E2

LGTAAESSWGDEQADFRCDTIQPGCQNVCTDQAFPISHIR**FWVLQ** (配列番号 81)

LGTA**A**ESSWGDEQA (配列番号 82)

DEQADFRCDTIQ**P** (配列番号 83) 10

TIQPGCQNVCTD**Q** (配列番号 84)

VCTDQAFPISHIR (配列番号 85)

AFPISHIRFWVL**Q** (配列番号 86)

E2

MEVGFIVGQYFIYGIFLTTLHVCRRSPCPHPVNCYVSRPTEKN**VFIV** (配列番号 87)

MEVGFIVGQY**F** (配列番号 88) 20

IVGQYFIYGIFL (配列番号 89)

GIFLTTLHVCRR**SP** (配列番号 90)

RRSPCPHPVNCY (配列番号 91)

VNCYVSRPTEKN (配列番号 92)

SRPTEKNVFIV (配列番号 93)

表7は、コネキシン45の細胞外ループ（E1およびE2）に関して示されるコネキシン45に対するペプチド阻害剤について記載する。太字のアミノ酸は、コネキシン45の膜貫通領域を対象とする。

【0130】

30

【表 7】

表7:Cx45ペプチド阻害剤

E1

LTAVGGESIYYDEQSKFVCNTEQPGCENVCYDAFAPLSHVRFWVFQ (配列番号 94)

LTAVGGESIYYDEQS (配列番号 95)

DEQSKFVCNTEQP (配列番号 96)

TEQPGCENVCYDA (配列番号 97)

VCYDAFAPLSHVR (配列番号 98)

APLSHVRFWVFQ (配列番号 99)

10

E2

FEVGFLIGQYFLYGFQVHPFYVCSRLPCHPKIDCFISRPTTEKTIFLL (配列番号 100)

FEVGFLIGQYF (配列番号 101)

LIGQYFLYGFQV (配列番号 102)

GFQVHPFYVCSRLP (配列番号 103)

SRLPCHPKIDCF (配列番号 104)

IDCFISRPTTEKT (配列番号 105)

SRPTTEKTIFLL (配列番号 106)

20

一部の実施形態では、一部のペプチド阻害剤が、既存のギャップジャンクションを破壊することなく、ヘミチャネルを遮断することが好ましい。特定の理論または機構のいかなるものにも拘束されることを望まないが、一部のペプチド模倣剤（例えば、VCYDKSFPI SHVR（配列番号 23））はまた、ギャップジャンクションの結合解除を引き起こすことなくヘミチャネルを遮断する（Leybeartら、Cell Commun.

30

Adhes.、第10巻、251～257頁（2003年）を参照されたい）か、または低用量でヘミチャネルを遮断するとも考えられている。例えば、ギャップジャンクションの結合解除を伴わずにヘミチャネルを遮断するには、ペプチドSRPTTEKTIFII（配列番号 19）もまた用いることができる。ペプチドSRGGEKNVFIV（配列番号 107）は、対照配列として用いることができる（DeVriesら、Kidney

Internat.、第61巻、177～185頁（2002年））。コネキシン45に対するペプチド阻害剤の例は、YVCSRLPCHP（配列番号 108）、QVHPFYVCSRL（配列番号 109）、FEVGFLIGQYFLY（配列番号 110）、GQYFLYGFQVHP（配列番号 111）、GFQVHPFYVCSR（配列番号 112）、AVGGESIYYDEQ（配列番号 113）、YDEQSKFVCNTE（配列番号 114）、NTEQPGCENVCY（配列番号 115）、CYDAFAPLSHVR（配列番号 116）、FAPLSHVRFWVF（配列番号 117）およびLIGQY（配列番号 118）、QVHPFY（配列番号 119）、YVCSR（配列番号 120）、SRLPC（配列番号 121）、LPCHP（配列番号 122）およびGESIY（配列番号 123）、YDEQSK（配列番号 124）、SKFVCN（配列番号 125）、TEQPGCEN（配列番号 126）、VCYDAFAP（配列番号 127）、LSHVRFWVFQ（配列番号 128）である。ペプチドは、SRL、PCH、LCP、CHP、

40

50

IYY、SKF、QPC、VCY、APL、HVRを含む3アミノ酸長だけの場合もあり、例えば、LIQYFLYG FQVHPF（配列番号129）、VHPFYCSRLPCHP（配列番号130）、VGGESIYYDEQSKFVCNTEQPG（配列番号131）、TEQPGCENVCYDAFAPLSHVR F（配列番号132）、AFAPLSHVRFWVFQ（配列番号133）など、より長い場合もある。

【0131】

【表8-1】

表8

表8A

10

GenBank寄受託番号第M65188号(配列番号134)に由来するヒトコネキシン43

```

1   ggcttttagc gtaggaaag taccaaacag cagcggaggt taaacttta aatagacagg
61  tctgagtgcc tgaactgcc ttctatttt acttcactct ccaaggaggt caatcacttg
121 gcgtgacttc actacttta agcaaaagag tgggtcccag gcaacatggg tgactggagc
181 gccttaggca aactccttga caagggtcaa gcctactcaa ctgctggagg gaaggtgtgg
241 ctgtcagtac ttctatttt ccgaatcctg ctgctgggga cagcgggtga gtcagcctgg
301 ggagatgagc agtctgcctt tcgttgtaac actcagcaac ctggttgtga aaatgtctgc

```

【0132】

20

【表 8 - 2】

361 tatgacaagt ctttcccaat ctctcatgtg cgcttctggg tectgcagat catatttgtg
 421 tctgtacca cactcttgta cctggctcat gtgttctatg tgaatgcgaa ggaagagaaa
 481 ctgaacaaga aagaggaaga actcaaggtt gcccaactg atggtgtcaa tgtggacatg
 541 cacttgaagc agattgagat aaagaagttc aagtacggtt tgaagagca tggtaaggtg
 601 aaaatgcgag ggggggtgct gcgaacctac atcatcagta tctcttcaa gtctatctt
 661 gaggtggcct tcttctgat ccagtggtag atctatggat tcagcttgag tgcgtttac
 721 acttgcacaa gagatccctg cccacatcag gtggactgtt tctctctcg cccacggag
 781 aaaaccatct tcatcatctt catgctggtg gtgtccttgg tgccttggc ctggaatate
 841 attgaactct tctatgtttt ctcaagggc gtaaggatc gggtaaggg aaagagcgac
 901 ccttaccatg cgaccagtgg tgcgtgagc cctgcaaag actgtgggtc tcaaaaatat
 961 gcttatttca atggctgctc ctcaccaacc gctccctct cgcctatgtc tctctctggg
 1021 tacaagctgg ttactggcga cagaacaat tcttctgcc gcaattacaa caagcaagca
 1081 agtgagcaaa actgggctaa ttacagtga gaacaaaatc gaatggggca ggcgggaagc
 1141 accatctcta actcccatgc acagcctttt gatttccccg atgataacca gaattctaaa
 1201 aaactagctg ctggacatga attacagcca ctagecattg tggaccagcg acctcaagc
 1261 agagccagca gtcgtgccag cagcagacct cggcctgatg acctggagat ctatg

10

表8B

ヒトコネキシン43(配列番号135)

20

1 atgggtgactggagcgcctt aggcaaacctc cttgacaagg ttcaagccta ctcaactgtc
 61 ggaggggaagggtgtggctgctc agtacttttc atttccgaatcctgctgct ggggacagcg
 121 gttgagtcagcctggggaga tgagcagctc gctttctgtt gtaacactca gcaacctggt
 181 tgtgaaaatg tctgctatga caagtcttcccaatctctc atgtgcgctt ctgggtcctg
 241 cagatcatat ttgtgtctgt accacactctgtacctgg ctcatgtgttctatgtgatg
 301 cgaaagggaag agaaactgaa caagaaagag gaagaactca aggttgccca aactgatggt
 361 gtcaatgtgg acatgcactt gaagcagatt gagataaagaagtcaagta cggtattgaa
 421 gagcatggta aggtgaaaat gcgagggggg ttgctgcgaa cctacatcat cagtatcctc
 481 ttcaagtcta tctttgaggt ggcttcttg ctgacccagt ggtacatcta tggattcagc
 541 ttgagtctg ttacacttg caaaagagat ccctgccac atcaggtgga ctgttctc
 601 tctgcccca cggagaaaac catcttcatc atcttcatgc tgggtgtgct ctgtgtgctc
 661 ctggccttga atatcattga actcttctat gtttcttca agggcgtaa ggategggtt
 721 aagggaaga gcgacctta ccatgcgacc agtgggtgcg tgagccctgc caaagactgt
 781 gggctcaca aatatgtta ttcaatggc tgcctctcac caaccgtcc cctctgcct
 841 atgtctctc ctgggtacaa gctgggtact ggcgacagaa acaattctt tggccgcaat
 901 tacaacaagc aagcaagtga gcaaaactgg gctaattaca gtgcagaaca aaatcgaatg
 961 gggcaggcgg gaagcaccat ctctaactcc catgcacagccttttgattt ccccgatgat
 1021 aaccagaatt ctaaaaactagctgctgga catgaattac agccactagc cattgtggac
 1081 cagcgacctt caagcagagc cagcagctgtgccagcagca gacctggcctgatgacctg
 1141 gagatctag

30

ギャップジャンクション調節剤

40

本明細書に記載の一部の抗コネキシン剤は、細胞内へ、また細胞からの分子の輸送を調節するかまたはこれに影響を及ぼす（例えば、遮断するかまたは阻害する）ことが可能である。したがって、本明細書に記載の一部のギャップジャンクション調節剤は、細胞情報伝達（例えば、細胞間）を調節する。一部のギャップジャンクション調節剤は、細胞の細胞質とペリプラズム腔または細胞外腔との間における分子の伝達を調節するかまたはこれに影響を及ぼす。このような薬剤は一般に、細胞の細胞質と細胞外腔または細胞外組織との間における小分子の交換に独立して関与しうるヘミチャネル（コネクソンとも呼ばれる）を標的とする。したがって、本明細書で提供される化合物は、細胞間（ギャップジャンクションを介する）または細胞と細胞外腔もしくは細胞外組織との間（ヘミチャネルを介する）における結合を直接的または間接的に低下させることが可能であり、細胞から細胞

50

外腔内への分子の輸送の調節は、本発明の一部の化合物および実施形態の範囲内にある。

【0133】

本発明の実施形態では、ギャップジャンクションまたはヘミチャネルを介する分子の通過（例えば、輸送）に対する所望の阻害を誘発することが可能な任意の分子を用いることができる。ギャップジャンクションまたはヘミチャネルを介する分子の通過を調節する化合物はまた、特定の実施形態（例えば、細胞の細胞質から細胞外腔内への分子の通過を調節する実施形態）においても提供される。このような化合物は、ギャップジャンクションの結合解除を伴う場合であれ、伴わない場合であれ、ギャップジャンクションまたはヘミチャネルを介する分子の通過を調節しうる。このような化合物は、例えば、全体的または部分的にギャップジャンクションまたはヘミチャネルの機能または活性を遮断しうる、例えば、結合タンパク質、ポリペプチド、および他の有機化合物を含む。

10

【0134】

本明細書で用いられる「ギャップジャンクション調節剤」とは、ヘミチャネルまたはギャップジャンクションの活性、機能、または形成を全体的または部分的に防止するか、低下させるか、または調節するこれらの薬剤または化合物を広く含む。一部の実施形態において、ギャップジャンクション調節剤は、ヘミチャネルまたはギャップジャンクションの機能を、全体的または部分的に防止するかまたは低下させる。一部の実施形態において、ギャップジャンクション調節剤は、ヘミチャネルまたはギャップジャンクションの全体的または部分的な閉鎖を誘導する。他の実施形態において、ギャップジャンクション調節剤は、ヘミチャネルまたはギャップジャンクションを、全体的または部分的に遮断する。一部の実施形態において、ギャップジャンクション調節剤は、ヘミチャネルまたはギャップジャンクションの開口を、全体的または部分的に低下させるかまたは防止する。一部の実施形態において、ギャップジャンクション調節剤によるギャップジャンクションまたはヘミチャネルの前記遮断または閉鎖は、細胞外腔またはペリプラズム腔への開口チャネルを介する低分子の流動を防止するかまたは低下させることにより、また細胞外腔またはペリプラズム腔からの開口チャネルを介する低分子の流動を防止するかまたは低下させることにより、細胞外ヘミチャネル情報伝達を低下させることも可能であり、これを阻害することも可能である。ヘミチャネルおよび／またはギャップジャンクションの開口を遮断するペプチド模倣剤およびギャップジャンクションリン酸化化合物が現在好ましい。

20

【0135】

一部の実施形態において、ギャップジャンクション調節剤は、ヘミチャネルまたはギャップジャンクションの活性または機能を防止するか、低下させるか、または変化させる。本明細書で用いられるギャップジャンクションの活性または機能の調節は、ギャップジャンクションの閉鎖、ヘミチャネルの閉鎖、ならびに／またはギャップジャンクションおよび／もしくはヘミチャネルを介する分子もしくはイオンの通過を含む。

30

【0136】

例示的なギャップジャンクション調節剤は、限定なしに述べると、ポリペプチド（例えば、ペプチド模倣剤、抗体、これらの結合フラグメント、および合成構築物）、および他のギャップジャンクション遮断剤、およびギャップジャンクションタンパク質リン酸化剤を含む。ギャップジャンクションを閉鎖するのに用いられる例示的な化合物（例えば、コネキシン43のチロシン残基をリン酸化する）は、Jensenらへの米国特許第7,153,822号、米国特許第7,250,397号、および分類された（assorted）特許公報において報告されている。例示的なペプチドおよびペプチド模倣剤は、Greenら、WO2006134494において報告されている。また、Gourdierら、WO2006069181；およびTudorら、WO2003032964も参照されたい。

40

【0137】

本明細書で用いられる「ギャップジャンクションリン酸化剤」は、ギャップジャンクションまたはヘミチャネルの閉鎖を誘導するために、コネキシンのアミノ酸残基上においてリン酸化を誘導することが可能な薬剤または化合物を含む。

50

調節のための例示的なリン酸化部位は、コネキシンタンパク質上における1つもしくは複数のチロシン残基、セリン残基、またはトレオニン残基を含む。一部の実施形態において、リン酸化の調節は、1または複数のコネキシンタンパク質上における1つまたは複数の残基上において生じうる。例示的なギャップジャンクションリン酸化剤は当技術分野において周知であり、例えば、c-Srcチロシンキナーゼまたは他のGタンパク質共役受容体アゴニストを含みうる。Giepmans B (2001年)、J. Biol. Chem.、第276巻、第11号、8544～8549頁を参照されたい。一実施形態において、1つまたは複数のこれらの残基上におけるリン酸化の調節は、特に、ヘミチャネルの閉鎖によって、ヘミチャネルの機能に影響を及ぼす。別の実施形態において、1つまたは複数のこれらの残基上におけるリン酸化の調節は、特に、ギャップジャンクションの閉鎖によって、ギャップジャンクションの機能に影響を及ぼす。コネキシン43ギャップジャンクションおよびコネキシン43ヘミチャネルの閉鎖を標的とするギャップジャンクションリン酸化剤が好ましい。

10

【0138】

結合タンパク質（例えば、抗体、抗体フラグメントなど）、ペプチド、ペプチド模倣剤、およびペプチド模倣剤を含むポリペプチド化合物が、適切なギャップジャンクション調節剤である。

【0139】

結合タンパク質は、例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体フラグメント（例えば、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、およびFvフラグメント；単鎖抗体；単鎖Fv；また例えば、特定の抗体または他の結合分子と接触する抗原決定基（すなわち、一般にエピトープと称する分子の部分）に結合可能な結合ドメイン、ヒンジ、CH2ドメインおよびCH3ドメイン、組換え抗体、ならびに抗体フラグメントを含む単鎖結合分子などの単鎖結合分子を含む）を含む。抗体、抗体フラグメントなどを含むこれらの結合タンパク質は、キメラの場合もあり、ヒト化される場合もあり、他の形でこれらが投与される対象においてより低い免疫原性であるよう作製する場合もあり、また、合成する場合もあり、組換えにより作製する場合もあり、発現ライブラリー内において作製する場合もある。本明細書で言及され、かつ／または当技術分野においてより詳細に説明される結合タンパク質などの、当技術分野において公知であるかまたは将来的に発見される任意の結合タンパク質が想定される。例えば、結合タンパク質は、抗体などだけではなく、リガンド、受容体、ペプチド模倣剤、または標的（例えば、コネキシン、コネクソン、ギャップジャンクション、または関連する分子）に結合する他の結合フラグメントもしくは分子（例えば、ファージディスプレイにより作製される）も含む。

20

30

【0140】

結合タンパク質は一般に、結合特異性を含むがこれに限定されない所望の特異性、および所望の親和性を有する。親和性は、例えば、約 10^4 M^{-1} 以上、約 10^6 M^{-1} 以上、約 10^7 M^{-1} 以上、約 10^8 M^{-1} 以上の K_a でありうる。約 10^9 M^{-1} 以上、約 10^{10} M^{-1} 以上、約 10^{11} M^{-1} 以上、および約 10^{12} M^{-1} 以上の親和性など、約 10^8 M^{-1} をさらに超える親和性が適する。本発明による結合タンパク質の親和性は、従来技法、例えば、Scatchardら(1949年)、Ann. N. Y. Acad. Sci.、第51巻、660頁により説明される技法を用いて容易に決定することができる。

40

【0141】

本発明は、ギャップジャンクションおよびヘミチャネルを調節するペプチド（1および複数のペプチド模倣剤を含む）の使用を含む。ヒドロパシープロットから得られるデータを用いることにより、コネキシンは、4つの膜貫通領域および2つの短い細胞外ループを含有すると仮定されている。コネキシンの第1および第2の細胞外領域の配置は、分離されたギャップジャンクション上における対応するエピトープの免疫学的局在決定に用いられる抗ペプチド抗体の作製報告によりさらに特徴づけられた(Goodenough D. A. (1988年)、J. Cell Biol.、第107巻、1817～1824頁；

50

Meyer R. A. (1992年)、J Cell Biol、第119巻、179～189頁)。

【0142】

ペプチドまたはこれらの変異体は、例えば、固相ペプチド合成法によっても、酵素触媒ペプチド合成によっても、組換えDNA法を援用しても、*in vitro*で合成することができる。固相ペプチド合成法は確立されて広く用いられている方法であり、以下：Stewartら(1969年)、「Solid Phase Peptide Synthesis」、W. H. Freeman Co.、San Francisco；Merrifield(1963年)、J. Am. Chem. Soc.、第85巻、2149頁；Meienhofer、「Hormonal Proteins and Peptides」、C. H. Li編、第2巻(Academic Press、1973年)、48～267頁；ならびにBavaayおよびMerrifield、「The Peptides」、E. GrossおよびF. Meienhofer編、第2巻(Academic Press、1980年)、3～285頁などの参考文献中において説明されている。これらのペプチドは、免疫親和性カラムまたはイオン交換カラム上における分画；エタノール沈殿；逆相HPLC；シリカまたはDEAEなどの陰イオン交換樹脂上におけるクロマトグラフィー；クロマトフォーカシング；SDS-PAGE；硫酸アンモニウム沈殿；例えば、Sephadex G-75を用いるゲル濾過；リガンド親和性クロマトグラフィー；または非極性溶媒もしくは非極性／極性溶媒の混合物からの結晶化もしくは沈殿によりさらに精製することができる。結晶化または沈殿による精製が好ましい。

【0143】

隣接する2つの細胞が寄与するヘミチャネルの細胞外ドメインが互いに「結合」して、完全なギャップジャンクションチャネルが形成される。これらの細胞外ドメインの相互作用に干渉する試薬は、細胞間情報伝達を損なうかまたは細胞外環境に対するヘミチャネルの開口を損なうことが可能である。

【0144】

ギャップジャンクション調節剤は、コネキシン(例えば、コネキシン45、43、26、30、31.1、および37)の膜貫通領域(例えば、第1～第4)に対応するアミノ酸配列を含むペプチドを含む。コネキシン43の膜貫通領域の一部に対応するアミノ酸配列を含むペプチドを含むギャップジャンクション調節剤が、本発明における使用に好ましい。

【0145】

ギャップジャンクション調節剤は、コネキシン45の膜貫通領域の一部に対応するアミノ酸配列を含むペプチドを含みうる。ギャップジャンクション調節剤は、配列番号13の約5～20の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチド、配列番号13の約8～15の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチド、または配列番号13の約11～13の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチドを含む。他の実施形態は、配列番号13の少なくとも約5、少なくとも約6、少なくとも約7、少なくとも約8、少なくとも約9、少なくとも約10、少なくとも約11、少なくとも約12、少なくとも約13、少なくとも約14、少なくとも約15、少なくとも約20、少なくとも約25、または少なくとも約30の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチドであるギャップジャンクション調節化合物を対象とする。本明細書で提供される一部のギャップジャンクション調節剤では、配列番号13の位置46～75および199～228にあるアミノ酸に対応するコネキシン45の細胞外ドメインを用いて、特定のペプチド配列を開発することができる。本明細書に記載の一部のペプチドは、配列番号13の位置46～75および199～228にある領域に対応するアミノ酸配列を有する。ペプチドは、配列番号13のこれらの部分と同一のアミノ酸配列を有する必要はなく、ペプチドが結合活性または機能活性を保持するような保存的アミノ酸変化を作製することができる。代替的に、ペプチドは、細胞外ドメイン以外のコネキシンタンパク質の領域(例えば、位置46～75およ

び199～228に対応しない配列番号13の部分)も標的としうる。

【0146】

また、適切なギャップジャンクション調節剤は、コネキシン43の膜貫通領域の一部に対応するアミノ酸配列を含むペプチドも含みうる。ギャップジャンクション調節剤は、配列番号14の約5～20の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチド、配列番号14の約8～15の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチド、または配列番号14の約11～13の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチドを含む。他のギャップジャンクション調節剤は、配列番号14の少なくとも約5、少なくとも約6、少なくとも約7、少なくとも約8、少なくとも約9、少なくとも約10、少なくとも約11、少なくとも約12、少なくとも約13、少なくとも約14、少なくとも約15、少なくとも約20、少なくとも約25、または少なくとも約30の連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するペプチドを含む。他のギャップジャンクション調節剤は、配列番号14の位置37～76および178～208にあるアミノ酸に対応するコネキシン43の細胞外ドメインを含む。ギャップジャンクション調節剤は、配列番号14の位置37～76および178～208にある領域に対応するアミノ酸配列を有する、本明細書に記載のペプチドを含む。ペプチドは、配列番号14のこれらの部分と同一のアミノ酸配列を有する必要はなく、ペプチドが結合活性または機能活性を保持するような保存的アミノ酸変化を作製することができる。代替的に、ペプチドは、細胞外ドメイン以外のコネキシンタンパク質の領域(例えば、位置37～76および178～208に対応しない配列番号14の部分)も標的としうる。

【0147】

さらに他の抗コネキシン剤は、コネキシカルボキシ末端ポリペプチドを含む。Gourdierら、WO2006/069181を参照されたい。

【0148】

ギャップジャンクション改変剤：他の抗コネキシン剤

ギャップジャンクション調節剤は、ギャップジャンクションおよび／またはヘミチャネルを閉鎖もしくは遮断するか、またはギャップジャンクションを介する細胞間情報伝達を別の形で防止するもしくは低下させるか、またはヘミチャネルを介する細胞外環境への細胞の情報伝達を別の形で防止するもしくは低下させる薬剤を含む。これらは、ヘミチャネルまたはギャップジャンクションの活性、機能、または形成を、全体的または部分的に防止するか、低下させるか、または阻害する薬剤または化合物を含む。

【0149】

一部の実施形態において、ギャップジャンクション調節剤は、ヘミチャネルまたはギャップジャンクションの全体的または部分的な閉鎖を誘導する。他の実施形態において、ギャップジャンクション改変剤は、ヘミチャネルまたはギャップジャンクションを、全体的または部分的に遮断する。一部の実施形態において、ギャップジャンクション改変剤は、ヘミチャネルまたはギャップジャンクションの開口を、全体的または部分的に低下させるかまたは防止する。

【0150】

一部の実施形態において、ギャップジャンクション改変剤によるギャップジャンクションまたはヘミチャネルの前記遮断または閉鎖は、細胞外腔またはペリプラズム腔への開口チャネルを介する低分子の流動を防止するかまたは低下させることにより、また細胞外腔またはペリプラズム腔からの開口チャネルを介する低分子の流動を防止するかまたは低下させることにより、細胞外ヘミチャネル情報伝達を低下させることも可能であり、これを阻害することも可能である。

【0151】

ヘミチャネルまたはギャップジャンクションを閉鎖するのに用いられるギャップジャンクション改変剤(例えば、コネキシン43のチロシン残基をリン酸化する)は、Jensenらへの米国特許第7,153,822号、米国特許第7,250,397号、および分類された特許公報において報告されている。例えば、ZO-1タンパク質の結合を阻害

すると言われるコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドに関しては、Gourdiera、WO2006069181もまた参照されたい。Gourdiera、WO2006069181は、このようなペプチドを含む製剤の使用について説明している。

【0152】

本明細書で用いられる「ギャップジャンクションリン酸化剤」は、ギャップジャンクションまたはヘミチャネルの閉鎖を誘導するために、コネキシンのアミノ酸残基上においてリン酸化を誘導することが可能な薬剤または化合物を含みうる。例示的なリン酸化部位は、コネキシンタンパク質上における1つもしくは複数のチロシン残基、セリン残基、またはトレオニン残基を含む。一部の実施形態において、リン酸化の調節は、1または複数のコネキシンタンパク質上における1つまたは複数の残基上において生じうる。例示的なギャップジャンクションリン酸化剤は当技術分野において周知であり、例えば、c-Srcチロシンキナーゼまたは他のGタンパク質共役受容体アゴニストを含みうる。Giepmans B, J. Biol. Chem., 第276巻、第11号、8544～8549頁、2001年3月16日を参照されたい。一実施形態において、1つまたは複数のこれらの残基上におけるリン酸化の調節は、特に、ヘミチャネルの閉鎖によって、ヘミチャネルの機能に影響を及ぼす。別の実施形態において、1つまたは複数のこれらの残基上におけるリン酸化の調節は、特に、ギャップジャンクションの閉鎖によって、ギャップジャンクションの機能に影響を及ぼす。コネキシン43ギャップジャンクションおよびコネキシン43ヘミチャネルの閉鎖を標的とするギャップジャンクションリン酸化剤が好ましい。

【0153】

さらに他の抗コネキシン剤は、コネキシンカルボキシ末端ポリペプチドを含む。Gourdiera、WO2006/069181を参照されたい。

【0154】

ある別の態様において、ギャップジャンクション改変剤は、例えば、脂肪族アルコール；オクタノール；ヘプタノール；麻酔剤（例えば、ハロタン）、エトレン、フルオタン、プロポフォル、およびチオペンタール；アナンダミド；アリアルアミノベンゾアート（FFA：親油性であるフルフェナム酸および類似の誘導体）；カルベンオキシロン；カルコン（2', 5'-ジヒドロキシカルコン）；CHF（クロロヒドロキシフラノン）；CMCF（3-クロロ-4-（クロロメチル）-5-ヒドロキシ-2（5H）-フラノン）；デキサメタゾン；ドキソルビシン（および他のアントラキノン誘導体）；エイコサノイドであるトロンボキサンA（2）（TXA（2））模倣剤；NO（一酸化窒素）；脂肪酸（例えば、アラキドン酸、オレイン酸、およびリポキシゲナーゼ代謝物）；フェナム酸（フルフェナム酸（FFA）、ニフルミン酸（NFA）、およびメクロフェナム酸（MFA））；ゲニステイン；グリチルレチン酸（GA）：18 α -グリチルレチン酸および18- β -グリチルレチン酸、ならびにこれらの誘導体；リンダン；リゾホスファチジン酸；メフロキン；メナジオン；2-メチル-1, 4-ナフトキノ、ビタミンK（3）；ナフェノピン；オカダ酸；オレアミド；オレイン酸；PH、細胞内酸性化によるゲーティング、例えば、酸性化剤；多価不飽和脂肪酸；脂肪酸GJIC阻害剤（例えば、オレイン酸およびアラキドン酸）；キニジン；キニーネ；全トランスレチノイン酸；およびタモキシフェンを含みうる。

【0155】

剤形および製剤ならびに投与

治療有効量の各組合せパートナー（例えば、抗コネキシンポリヌクレオチド、および抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤）は、同時投与、個別投与、または逐次投与が可能であり、しかも任意の順序で可能である。薬剤は、個別投与される場合もあり、固定の組合せとして投与される場合もある。固定の組合せとして投与されない場合、好ましい方法は、物理的にまたは創傷の治療の過程において、1または複数の薬剤が単独で投与される場合、すなわち、それらが組み合わせて投与されない場合に用いられる量または用量よりも少ない量または用量でそれらの一方または両方が供給される、1ま

たは複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤の逐次的投与を含む。投与される薬剤のこのような低量は、単独で投与される場合の該薬剤の1つの量または複数の量の約20分の1～約10分の1であることが典型的であり、単独で投与される場合の量の約8分の1、単独で投与される場合の量の約6分の1、単独で投与される場合の量の約5分の1、単独で投与される場合の量の約4分の1、単独で投与される場合の量の約3分の1、および単独で投与される場合の量の約2分の1であってよい。薬剤は、互いから少なくとも約30分以内に逐次投与されることが好ましい。薬剤はまた、互いから約1時間以内に投与することもでき、互いから約1日～約1週間以内に投与することもでき、適切であるとみなされる他の形で投与することもできる。抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、例えば、ヘミチャネルの開口を遮断するかまたは低下させうる抗コネキシン剤は、例えば、コネキシンタンパク質発現の下方調節により、コネキシン発現またはヘミチャネルの形成もしくはギャップジャンクションの形成を遮断するかまたは低下させる抗コネキシン剤の投与よりも前に投与されることが好ましい。1または複数の抗コネキシン剤は、（1または複数の）抗コネキシン43剤であることが好ましい。

10

【0156】

本発明の薬剤は、本明細書で言及される疾患または状態のいずれかを有する対象など、治療を必要とする対象に投与することができる。こうして、対象の状態を改善することができる。したがって、抗コネキシン剤は、治療による対象の身体の処置に用いることができる。これらは、本明細書で言及される状態のいずれかを治療する薬剤の製造において用いることができる。したがって、本発明により、細胞間情報伝達を一過性の様式および部位特異的な様式で下方調節しうる製剤が提供される。

20

【0157】

抗コネキシン剤は、実質的に単離形態で存在しうる。生成物は、生成物の意図される目的に干渉しない担体または希釈剤と混合することができ、これをなおも実質的に単離状態にあるとみなしうることを理解される。本発明の生成物はまた、実質的に精製形態の場合もあり、この場合、生成物は一般に、ポリヌクレオチド（または他の抗コネキシン剤）の、または調製物の乾燥質量の、約80%、85%、または90%、例えば、少なくとも約95%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%を含む。

【0158】

意図される投与の経路に応じて、本発明の医薬品、医薬組成物、組合せ調製物、および薬剤は、例えば、溶液、懸濁液、点滴、軟膏剤（salves）、クリーム、ゲル、泡沫、軟膏（ointment）、エマルジョン、ローション、ペイント、持続放出製剤、または粉末の形態をとる可能性があり、（1または複数の）有効成分の約0.1%～95%を含有することが典型的であり、（1または複数の）有効成分の約0.2%～70%を含有することが好ましい。他の適切な製剤は、プロニックゲルベースの製剤、カルボキシメチルセルロース（CMC）ベースの製剤、およびヒドロキシプロピルメチルセルロース（hydroxypropylmethylcellulose）（HPMC）ベースの製剤を含む。プルロニックゲルを含む適切な製剤は、例えば、約10～約15パーセント、適切には約12パーセントのプルロニックゲルを有する。他の有用な製剤は、徐放調製物または遅延放出調製物を含む。

30

40

【0159】

ゲルまたはゼリーは、ゼラチン、トラガカント、またはセルロース誘導体を含むがこれらに限定されない適切なゲル化剤を用いて作製することができ、保湿剤、皮膚軟化剤、および防腐剤としてグリセロールを含みうる。軟膏は、脂肪基剤、蠟基剤、または合成基剤中に組み込まれた有効成分からなる半固体調製物である。適切なクリームの例は、油中水エマルジョンおよび水中油エマルジョンを含むがこれらに限定されない。油中水クリームは、セチルアルコールまたはセトステアリルアルコールなどの脂肪族アルコールによる乳化剤および乳化蠟と類似するがこれらに限定されない特性を有する適切な乳化剤を用いて調合することができる。水中油クリームは、セトマクロゴール乳化蠟などの乳化剤を用い

50

て調合することができる。適切な特性は、エマルジョンの粘稠度を変化させる能力、および広範なpHにわたる物理および化学の両面における安定性を含む。水溶性または混和性のクリーム基剤は、防腐剤系を含有する場合があります、また、許容される生理学的なpHを維持するように緩衝化することもできる。

【0160】

泡沫調製物は、不活性の噴霧剤を用いる適切なアプリケーションにより、加圧エアゾールキャニスターから送達するように調合することができる。泡沫基剤の製剤に適する賦形剤は、プロピレングリコール、乳化蠟、セチルアルコール、およびステアリン酸グリセリルを含むがこれらに限定されない。潜在的な防腐剤は、メチルパラベンおよびプロピルパラベンを含む。

10

【0161】

本発明の薬剤を薬学的に許容される担体または希釈剤と組合せて、医薬組成物を作製することが好ましい。適切な担体および希釈剤は、等張性の食塩液、例えば、リン酸塩緩衝化食塩液を含む。適切な希釈剤および賦形剤はまた、例えば、水、食塩液、デキストロース、グリセロールなど、およびこれらの組合せ物も含む。加えて、所望の場合、保湿剤または乳化剤、安定化剤またはpH緩衝剤などの物質もまた存在しうる。

【0162】

「薬学的に許容される担体」という用語は、組成物を投与される個体に有害な抗体の生成をそれ自体では誘導せず、不適切な毒性なしに投与しうる任意の薬学的な担体を指す。適切な担体は、タンパク質、多糖、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリマーアミノ酸、およびアミノ酸コポリマーなどの大型でゆっくりと代謝される高分子でありうる。

20

【0163】

例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩、硫酸塩などのような鉱酸塩、および酢酸塩、プロピオン酸塩、マロン酸塩、安息香酸塩などの有機酸塩など、薬学的に許容される塩もまた存在しうる。

【0164】

適切な担体物質は、局所投与用のクリーム、ローション、ゲル、エマルジョン、ローション、またはペイントのための基剤として一般に用いられる任意の担体またはビヒクルを含む。例は、乳化剤、炭化水素による基剤を含む不活性担体、乳化基剤、非毒性溶媒、または水溶性の基剤を含む。特に適切な例は、プルロニック、HPMC、CMC、および他のセルロース基剤の成分、ラノリン、硬質パラフィン、液体パラフィン、軟質黄色パラフィン、または軟質白色パラフィン、白色蜜蝋、黄色蜜蝋、セトステアリルアルコール、セチルアルコール、ジメチコーン、乳化蠟、ミリスチン酸イソプロピル、微晶質蠟、オレイルアルコール、およびステアリルアルコールを含む。

30

【0165】

薬学的に許容される担体またはビヒクルは、ゲルであることが好ましく、非イオン性ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンコポリマーゲル、例えば、プルロニックゲル、好ましくはPluronic F-127 (BASF Corp.) であることが適切である。このゲルは、低温では液体であるが、生理学的温度では急速に固まり、これにより、薬剤の放出が適応部位またはその部位にすぐの近接部位に限定されるので特に好ましい。

40

【0166】

カゼイン、ゼラチン、アルブミン、膠、アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、またはポリビニルアルコールなどの補助剤もまた、本発明の製剤中に組み入れることができる。

【0167】

他の適切な製剤は、プロニックゲル基剤の製剤、カルボキシメチルセルロース (CMC) 基剤の製剤、およびヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) 基剤の製剤を含む。組成物は、局所投与、点滴投与、非経口投与、筋肉内投与、皮下投与、または経皮投与を含む、任意の所望の送達形態に応じて調合することができる。他の有用な製剤は、徐

50

放調製物または遅延放出調製物を含む。

【0168】

抗コネキシン剤が、ポリヌクレオチドなどの核酸である場合、哺乳動物細胞による核酸の取込みは、複数種の公知のトランスフェクション法、例えば、トランスフェクション剤の使用を含むトランスフェクション法により増強される。このような技法は、ポリヌクレオチドを含む一部の抗コネキシン剤と共に用いることができる。投与される製剤は、このようなトランスフェクション剤を含有しうる。これらの薬剤の例は、陽イオン剤（例えば、リン酸カルシウムおよびDEAEデキストラン）およびリポフェクション剤（例えば、lipofectam（商標）およびtransfectam（商標））、ならびに界面活性剤を含む。

10

【0169】

抗コネキシン剤がポリヌクレオチドを含む場合、製剤がポリヌクレオチドの細胞透過を補助する界面活性剤をさらに含むか、または製剤が任意の適切な充填剤を含有すると好都合である。DMSOなど、任意の適切な無毒性界面活性剤を組み入れることができる。代替的に、尿素などの経皮透過剤も組み入れることができる。

【0170】

所与の対象または状態に対して有効な用量は、日常的な実験または当技術分野において公知であるかもしくは将来的に開発される他の方法により決定することができる。例えば、ある範囲の用量値を調合するために、細胞培養アッセイおよび動物試験を用いることができる。このような化合物の用量は、集団の少なくとも50%に対して治療的に有効な用量内にあり、このレベルにおいてほとんどまたはまったく毒性を示さないことが好ましい。

20

【0171】

本発明の方法および組成物において用いられる各抗コネキシン剤の有効用量は、用いられる1または複数の特定の抗コネキシン剤、組合せのパートナー、投与方式、投与頻度、治療される状態、治療される状態の重症度、投与経路、治療される患者部分集団の必要、またはその患者の異なる必要がその患者に特異的な年齢、性別、体重、関連する治療状態に起因しうる個々の患者の必要を含むいくつかの因子に応じて異なりうる。

【0172】

患者に抗コネキシン剤が投与される場合の用量は、患者の年齢、体重、および全般的な状態、治療される状態、ならびに投与される特定の抗コネキシン剤などの、各種の因子に依存する。

30

【0173】

抗コネキシン剤の適切な治療有効用量は、約0.01～約0.4mg/kg体重など、約0.001～約1mg/kg体重でありうる。しかし、適切な用量は、約0.01～約0.050mg/kg体重など、約0.001～約0.1mg/kg体重でありうる。

【0174】

約1～100、100～200、100～300または200～300、100～400または200～400または300～400、および100～500または200～500または300～500または400～500マイクログラムの治療有効用量の抗コネキシン剤が適切である。約1～1000マイクログラムの用量もまた適切である。最大2ミリigramの用量もまた用いることができる。1または複数の抗コネキシン剤が包帯材の形態で提供される場合、用量は適切な形で調整され、所望の総用量投与を維持するよう上方に調整されることが典型的である。

40

【0175】

代替的に、抗コネキシンオリゴヌクレオチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤の場合、組成物中における各ギャップジャンクション調節剤の用量は、それが適用される領域のサイズ、長さ、深さ、面積、または容積に対する組成物の濃度を基準として決定することができる。例えば、一部の局所適用において、医薬組成物の用量は、医薬組成物の質量（例えば、グラム）または適用領域の長さ、深さ、面積、もしくは容積当たりの医薬組成物

50

の濃度（例えば、 $\mu\text{g}/\text{ul}$ ）に基づいて計算することができる。有用な用量は、創傷サイズの平方センチメートル当たり約1～約10マイクログラムの範囲にある。一部の用量は、創傷サイズの平方センチメートル当たり約1～2、約1～5、約2～4、約5～7、および約8～10マイクログラムである。他の有用な用量は、創傷サイズの平方センチメートル当たり約10マイクログラムを超え、創傷サイズの平方センチメートル当たり少なくとも約15マイクログラム、創傷サイズの平方センチメートル当たり少なくとも約20マイクログラム、創傷サイズの平方センチメートル当たり少なくとも約25マイクログラム、創傷サイズの平方センチメートル当たり約30マイクログラム、創傷サイズの平方センチメートル当たり少なくとも約35マイクログラム、創傷サイズの平方センチメートル当たり少なくとも約40マイクログラム、創傷サイズの平方センチメートル当たり少なくとも約50マイクログラム、および創傷サイズの平方センチメートル当たり少なくとも約100～少なくとも約150マイクログラムを含む。他の用量は、平方センチメートル当たり約150～200マイクログラム、平方センチメートル当たり約200～250マイクログラム、平方センチメートル当たり約250～300マイクログラム、平方センチメートル当たり約300～350マイクログラム、平方センチメートル当たり約350～400マイクログラム、および平方センチメートル当たり約400～500マイクログラムを含む。

10

【0176】

一部の実施形態において、抗コネキシン剤組成物は、治療部位および／または治療部位に隣接して、約0.01マイクロモル（ μM ）または0.05 μM ～約200 μM 、または最大300 μM 、または最大1000 μM 、または最大2000 μM 、または最大3200 μM 以上の最終濃度、およびこれらの用量数値内にある任意の用量および用量範囲で適用することができる。アンチセンスポリヌクレオチド組成物は約0.05 μM ～約100 μM の最終濃度で適用されることが好ましく、抗コネキシン剤組成物は約1.0 μM ～約50 μM の最終濃度で適用されることがより好ましく、抗コネキシン剤組成物は約5～10 μM ～約30～50 μM の最終濃度で適用されることがより好ましい。加えて、組合わされた抗コネキシン剤組成物は約8 μM ～約20 μM の最終濃度で適用され、また代替的に、抗コネキシン剤組成物は約10 μM ～約20 μM の最終濃度、または約10～約15 μM の最終濃度で適用される。他の一部の実施形態において、抗コネキシン剤は、約10 μM の最終濃度で適用される。さらに別の実施形態において、抗コネキシン剤組成物は、約1～15 μM の最終濃度で適用される。他の実施形態において、抗コネキシン剤は、約20 μM 、30 μM 、40 μM 、50 μM 、60 μM 、70 μM 、80 μM 、90 μM 、100 μM 、10～200 μM 、200～300 μM 、300～400 μM 、400～500 μM 、500～600 μM 、600～700 μM 、700～800 μM 、800～900 μM 、900～1000、または1000～1500 μM 、または1500 μM ～2000 μM 、または2000 μM ～3000 μM 以上で適用される。

20

30

【0177】

抗コネキシン剤の投与量は、例えば、約0.1～1、1～2、2～3、3～4、または4～5マイクログラム（ μg ）、約5～約10 μg 、約10～約15 μg 、約15～約20 μg 、約20～約30 μg 、約30～約40 μg 、約40～約50 μg 、約50～約75 μg 、約75～約100 μg 、約100 μg ～約250 μg 、および250 μg ～約500 μg を含む。上記で言及した通り、0.5～約1.0ミリグラム以上の投与量もまた提供される。投与容量は治療される部位のサイズに依存し、例えば、約25～100 μL ～約100～200 μL 、約200～500 μL ～約500～1000 μL の範囲でありうる。より大きな治療部位には、ミリリットル用量もまた適切である。

40

【0178】

さらに他の用量は、本明細書に記載の各薬剤に対して、1日当たり約1ナノグラム（ ng ）/ kg 体重～約1 mg/kg 体重のレベルである。一部の実施形態において、各対象化合物の用量は一般に、 kg 体重当たり約1 ng ～約1マイクログラム、 kg 体重当たり約1 ng ～約0.1マイクログラム、 kg 体重当たり約1 ng ～約10 ng 、 kg 体重当

50

たり約 10 ng ～ 約 0.1 マイクログラム、kg 体重当たり約 0.1 マイクログラム ～ 約 1 マイクログラム、kg 体重当たり約 20 ng ～ 約 100 ng、kg 体重当たり約 0.001 mg ～ 約 0.01 mg、kg 体重当たり約 0.001 mg ～ 約 0.1 mg、または kg 体重当たり約 0.1 mg ～ 約 1 mg の範囲である。一部の実施形態において、各対象化合物の用量は一般に、kg 体重当たり約 0.001 mg ～ 約 0.01 mg、kg 体重当たり約 0.001 mg ～ 約 0.1 mg、kg 体重当たり約 0.1 mg ～ 約 1 mg の範囲である。複数種の抗コネキシン剤を用いる場合、各抗コネキシン剤の用量は、他方の用量と同じ範囲である必要はない。例えば、1 種の抗コネキシン剤の用量は kg 体重当たり約 0.001 mg ～ 約 10 mg の可能性があり、別の抗コネキシン剤の用量は kg 体重当たり約 0.1 mg ～ 約 1 mg の可能性がある。

10

【0179】

本明細書で言及されるすべての用量および用量範囲は、例えば、抗コネキシンオリゴヌクレオチドに適用可能である。これらの用量範囲はまた、例えば、抗コネキシンペプチド、抗コネキシン模倣ペプチド、および抗コネキシンペプチド模倣剤にも適用可能である。

【0180】

抗コネキシン剤は、投与後少なくとも約 0.5 ～ 1 時間、少なくとも約 1 ～ 2 時間、少なくとも約 2 ～ 4 時間、少なくとも約 4 ～ 6 時間、少なくとも約 6 ～ 8 時間、少なくとも約 8 ～ 10 時間、少なくとも約 12 時間、または少なくとも約 24 時間にわたってコネキシンタンパク質の発現を下方調節するか、またはギャップジャンクションの形成もしくはコネクソンの開口を調節するのに十分な量で投与されると好都合である。

20

【0181】

本発明の組成物および方法における各抗コネキシン剤の用量はまた、それが適用される領域のサイズ、長さ、深さ、面積、または体積に対する組成物の濃度を基準として決定することもできる。例えば、一部の局所適用および他の適用、例えば、点滴において、医薬組成物の用量は、医薬組成物の質量（例えば、マイクログラム）または適用領域の長さ、深さ、面積、もしくは体積当たりの医薬組成物の濃度（例えば、 $\mu\text{g}/\text{ul}$ ）に基づいて計算することができる。

【0182】

本明細書で言及される通り、組合せで投与される抗コネキシンポリヌクレオチド、抗コネキシンペプチドもしくは抗コネキシンペプチド模倣剤、またはこれらの一方もしくは両方との組合せで投与される他の抗コネキシン剤の用量は、単独で施される場合に投与される用量よりも低く調整することができる。

30

【0183】

複数種の薬剤を組み合わせるにより、異なる薬剤の効果の発生および持続が補完的となりうるため、任意の個々の薬剤に対して必要とされる用量を低減することができる。好ましい実施形態において、2 種以上の抗コネキシン剤を組み合わせると、相加効果、相乗効果、または超相加効果が得られる。

【0184】

場合によって、1 または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および 1 もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはこれらの一方との組合せで投与されるかまたはこれらの両方との組合せで投与される他の抗コネキシン剤を組み合わせると、相加効果が得られる。他の場合において、組合せは、相加を超える効果を有しうる。本明細書では、このような効果を「超相加 (supra-additive)」効果と称し、これは、相乗的であるかまたは強化された相互作用に起因する可能性がある。

40

【0185】

「創傷治癒の超相加的促進」という用語は、1 または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および 1 もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはこれらの一方との組合せで投与されるかまたはこれらの両方との組合せで投与される他の抗コネキシン剤の組合せを投与することによりもたらされる平均創傷治癒が、

50

いずれかの薬剤を単独で個別に投与することによりもたらされる創傷治癒の和よりも統計学的に有意に高度であることを指す。1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはこれらの一方との組合せで投与されるかまたはこれらの両方との組合せで投与される他の抗コネキシン剤の組合せ投与によりもたらされるものが、個々の化合物について予測される加算値よりも「統計学的に有意に高度」であるかどうかは、本明細書に記載され、かつ／または当業者により公知である各種の統計学的方法により判定することができる。「相乗的」という用語は、抗コネキシンポリヌクレオチド、および抗コネキシンペプチドもしくは抗コネキシンペプチド模倣剤の両方、またはこれらの一方との組合せでもしくはこれらの両方との組合せで投与される他の抗コネキシン剤が、創傷治癒を促進する能力を個別に有する、超相加的阻害の種類を指す。「強化された」という用語は、抗コネキシンポリヌクレオチド、抗コネキシンペプチドもしくは抗コネキシンペプチド模倣剤、またはこれらの一方との組合せでもしくはこれらの両方との組合せで投与される他の抗コネキシン剤の一つが、創傷治癒を促進する増大した能力を個別にもつ、超相加的効果の種類を指す。

10

【0186】

一般に、それらの治療群それぞれにおいて個々の治療によりもたらされる平均創傷治癒増加の合計と比較した場合、組合せ治療が、治療群において統計学的に有意に超相加的な平均創傷治癒の増大をもたらすかどうかを判定することにより強化を評価することができる。平均創傷治癒の増大は、対照群の平均創傷治癒と、治療群の平均創傷治癒との間の差として計算することができる。創傷治癒の増加率である「作用率 (fraction affected)」(Fa)は、治療群における平均創傷治癒の増加を、対照群における平均創傷治癒で除することにより計算することができる。統計学的に有意な強化に対する検定は、各治療群に対するFaの計算を必要とする。組合せ治療に対して予測される相加Faは、組合せのいずれかのエレメントを投与される群に由来する平均Faの合計であると理解することができる。例えば、1試料による両側T検定を用いて、実験により得られる結果が偶然だけに起因する可能性はどの程度であるかを、p値による測定で評価することができる。0.05未満のp値は統計学的に有意である、すなわち、偶然だけに起因する可能性は低いと考えられる。したがって、組合せの結果として強化された超相加効果がもたらされるとみなすために、組合せ治療群に対するFaは、単一エレメントによる治療群に対して予測される相加Faよりも統計学的に有意に高くなければならない。

20

30

【0187】

組合せ治療から相乗効果がもたらされるかどうかは、中央値効果／組合せ指標によるアイソログラム法 (Chou, T. および Talalay, P. (1984年)、A d. Enzyme Reg.、第22巻、27～55頁)により評価することができる。この方法では、抗コネキシン剤単独、創傷治癒に有用な1または複数の薬剤単独、および一定のモル比における2者の組合せに対する中央値効果プロットに由来するパラメータに基づき、異なる用量効果レベルに対する組合せ指数 (CI) 値を計算する。CI値が ≤ 1 は相乗効果を示し、CI >1 は相加効果を示し、CI >1 はアンタゴニスト効果を示す。この解析は、CalcuSyn, Windows (登録商標) Software for Dose Effect Analysis (Biosoft, Cambridge UK)などのコンピュータソフトウェアツールを用いて実施することができる。

40

【0188】

組合せ療法について、超相加効果が存在するかどうかを解析するための、当技術分野において公知であるかまたは将来的に開発される任意の方法は、組み合わせて用いるのに適する抗コネキシン剤のスクリーニングにおける使用が意図される。

【0189】

別の好ましい実施形態では、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドと、1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤とを組み合わせるにより、前記薬剤が単独で投与される場合の有効用量と比較して、任意のこのよ

50

うな薬剤の有効用量が低下する。一部の実施形態において、組み合わせて用いられる場合の薬剤の有効用量は、単独で用いられる場合の薬剤用量の約 $1/15$ ～ 約 $1/2$ 、約 $1/10$ ～ 約 $1/3$ 、約 $1/8$ ～ 約 $1/6$ 、約 $1/5$ 、約 $1/4$ 、約 $1/3$ 、または約 $1/2$ である。

【0190】

別の好ましい実施形態では、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはこれらの一方と組み合わせるかまたはこれらの両方と組み合わせる他の抗コネキシン剤とを組み合わせることで、前記薬剤が単独で投与される場合の頻度と比較して、前記薬剤が投与される頻度が低下する。したがって、これらの組合せにより、所望の治療目標を達成するのに必要とされた場合よりも低量および/または低頻度の投与で、各薬剤を用いることができる。

【0191】

用量は、単一の適用で投与することもでき、分割した適用で投与することもできる。用量は、一度に投与することもでき、適用を反復することもできる。創傷治癒が促進されるまで適用を毎週反復するか、または創傷治癒が遅れるかもしくは停滞する場合には反復適用を行いうることが典型的である。用量は、3～7日間以上の間隔で適用することができる。慢性創傷の場合、例えば、毎週、もしくは隔週、もしくは毎月、または他の頻度、例えば、創傷治癒が遅れるかもしくは停滞する場合および時点において、反復適用を行うことができる。ある種の眼科使用など一部の適応の場合、最高1時間ごとのより高頻度の投与を用いることができる。

【0192】

1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を、同じ経路または異なる経路を介して投与することができる。本発明の各種の薬剤は、治療経過における異なる時点において個別に投与することもでき、組合せ形態を分割して投与することもでき、単一の組合せ形態で同時に投与することもできる。

【0193】

本発明の一態様では、抗コネキシンポリヌクレオチドを1種の組成物で投与し、抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を第2の組成物で投与する。一実施形態では、1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む第1の組成物を、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含む第2の組成物の前に投与する。一実施形態では、1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む第1の組成物を、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含む第2の組成物の後に投与する。一実施形態では、1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む第1の組成物を、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含む第2の組成物の前および後に投与する。一実施形態では、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含む第2の組成物を、1または複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む第1の組成物の前および後に投与する。一実施形態では、1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を含む第1の組成物を、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチドを含む第2の組成物とほぼ同時に投与する。

【0194】

1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはこれらの一方との組合せで投与されるかまたはこれらの両方との組合せで投与される他の抗コネキシン剤は、固体支持体（包帯材および他のマトリックスなど）および医薬製剤（ゲル、混合物、懸濁液、および軟膏など）を用いる局所投与を含むがこれらに限定されない局所投与（末梢投与または部位への直接投与）により送達されることが好ましい。一実施形態において、固体支持体は、生体適合膜または治療部位内への挿入を含む。別の実施形態において、固体支持体は、包

帯材またはマトリックスを含む。本発明の一実施形態において、固体支持体組成物は、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはこれらの一方との組合せで投与されるかまたはこれらの両方との組合せで投与される他の抗コネキシン剤が、アルギン酸塩、コラーゲン、または合成の生体吸収性ポリマーのマトリックスなどの徐放固体マトリックス中に分散される、徐放の固体支持体組成物でありうる。固体支持体組成物は、無菌であるかまたは低バイオバーデンであることが好ましい。一実施形態では、2つ以上の抗コネキシン剤を含む洗浄液を用いることができる。

【0195】

1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはこれらの一方との組合せで投与されるかまたはこれらの両方との組合せで投与される他の抗コネキシン剤を含む製剤を、ある時間、場合によって、約1～2時間、約2～4時間、約4～6時間、約6～8時間、または約24時間以上にわたり送達することは、より重度の傷害または状態において特に有利でありうる。場合によって、細胞喪失は、手術部位をはるかに超えて、周囲の細胞にまで拡大しうる。このような喪失は、元の手術から24時間以内に生じる可能性があり、ギャップジャンクションによる細胞間情報伝達またはヘミチャネルの開口によって媒介される。したがって、例えば、コネキシン発現の下方調節、またはコネクソンの開口もしくは活性の遮断もしくは阻害のための(1または複数の)抗コネキシン剤の投与により、細胞間情報伝達が調節されるか、またはコネクソン調節の場合には細胞外腔内への喪失が調節され、さらなる細胞の喪失もしくは傷害または傷害の帰結が最小化される。

【0196】

下方調節が誘導される部位および所望される治療効果の両方に送達時間が依存する一方で、約0.5～1時間、約1～2時間、約2～4時間、約4～6時間、約6～8時間または約24時間以上にわたる連続送達または徐放送達がもたらされる。本発明によれば、これは、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはこれらの一方と組み合わせるかまたはこれらの両方と組み合わせる他の抗コネキシン剤を、薬学的に許容される担体またはビヒクルと一体の製剤、特に、連続投与または徐放投与のための製剤の形態で組み入れることにより達成される。

【0197】

言及の通り、本発明の1または複数の薬剤は、例えば、創傷前、創傷の間、創傷直後、または例えば、創傷後約180日以内、約120日以内、約90日以内、約60日以内、または約30日以内に投与し得るが、好ましくは創傷後約10日以内、約9日以内、約8日以内、約7日以内、約6日以内、約5日以内、約4日以内、約3日以内、または約2日以内に投与し得、最も好ましくは創傷後約24時間以内、約12時間以内、約10時間以内、約9時間以内、約8時間以内、約7時間以内、約6時間以内、約5時間以内、約4時間以内、約3時間以内、約2時間以内、または創傷後約60分以内、約45分以内、約30分以内、約15分以内、約10分以内、約5分以内、約4分以内、約3分以内、約2分以内、約1分以内に投与することができる。

【0198】

医師により、任意の特定の患者および状態に対して最適な投与経路および用量が決定されるので、本明細書に記載の投与経路および用量は、指針だけのものとして意図される。

【0199】

本明細書で言及または説明される創傷および／または状態を有する対象を治療する方法のいずれかでは、本明細書に記載の用量、剤形、製剤、および／または組成物のいずれかが投与されうる。

【0200】

包帯材およびマトリックス

一態様において、1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチドおよび／または1も

しくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤は、包帯材またはマトリックスの形態で提供される。一部の実施形態では、本発明の1または複数の薬剤が直接的な適用のための液体組成物、半固体組成物、もしくは固体組成物の形態で提供されるか、あるいは組成物が包帯材ガーゼもしくはマトリックスなどの固体接触層の表面へと適用されるか、またはこの中へと組み込まれる。包帯材組成物は、例えば、流体またはゲルの形態で提供することができる。1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤は、局所適用のための従来の医薬賦形剤と組合せて提供することができる。適切な担体は、プルロニックゲル、ポロキサマーゲル、セルロース誘導体（ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、およびこれらの混合物を含む）を含有するヒドロゲル；ならびにポリアクリル酸を含有するヒドロゲル（Carbopol s）を含む。適切な担体はまた、局所医薬調製物に用いられるクリーム／軟膏、例えば、セトマクロゴール乳化軟膏に基づくクリームも含む。上記の担体は、アルギン酸塩（増粘剤または刺激剤として）、ベンジルアルコールなどの防腐剤、リン酸水素二ナトリウム／リン酸二水素ナトリウムなどのpH調整のための緩衝液、塩化ナトリウムなどの浸透圧を調整するための薬剤、およびEDTAなどの安定化剤を含みうる。

10

【0201】

既に言及した生物学的マトリックスに加え、適切な包帯材またはマトリックスは、例えば、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤（またはこれらの一方もしくは両方と組み合わせて投与される他の抗コネキシン剤）を伴う以下のものを含みうる。

20

【0202】

1) 吸収材：適切な吸収材は、例えば、セルロース、木綿、またはレーヨンなどの高度に吸収性の繊維層と組み合わせた、例えば、半接着質または非接着層をもたらしうる、例えば、吸収性包帯材を含みうる。代替的に、吸収材は、主要な（primary）包帯材または補助的な（secondary）包帯材として用いることができる。

【0203】

2) アルギン酸塩：適切なアルギン酸塩は、例えば、天然の多糖繊維または海藻に由来するキセロゲルからなる不織パッド、非接着パッド、およびリボンである包帯材を含む。適切なアルギン酸塩包帯材は、例えば、滲出物との接触の場合イオン交換過程を介して湿潤ゲルを形成しうる。一部の実施形態において、アルギン酸塩包帯材は、やわらかく快適であり、不規則的な形状をした領域上での填塞、陥入、または適合が容易であるように設計される。一部の実施形態において、アルギン酸塩包帯材は、第2の包帯材と共に用いることができる。

30

【0204】

3) 抗菌包帯材：適切な抗菌包帯材は、例えば、例えば銀およびポリヘキサメチレンピグアニド（PHMB）などの生体活性薬剤の送達を促進して、これが必要であるかまたは望ましい場所で、感染に対する効力を維持しうる包帯材を含みうる。一部の実施形態において、適切な抗菌包帯材は、例えば、スポンジ、浸透化織りガーゼ、フィルム包帯材、吸収性製品、アイランド包帯材、ナイロン繊維、非接着バリア、または材料の組合せとして入手可能でありうる。

40

【0205】

4) 生体物質および生合成物質：適した生体物質包帯材または生合成物質包帯材は、例えば、天然供給源（例えば、ブタまたはウシ）に由来するゲル、溶液、または半透性シートを含みうる。一部の実施形態において、ゲルまたは溶液は、治療部位に適用され、バリア保護のための包帯材により被覆される。別の実施形態では、膜として作用する可能性があり、単回の適用後においてその場に残存する生体物質基剤（例えば、ブタの腸粘膜または膀胱組織）もしくは生合成物質基剤のシートをin situで配置するか、または1もしくは複数の、好ましくは2つの抗コネキシン剤を組み入れるように、生体物質包帯材も

50

しくは生合成物質包帯材をあらかじめ調製することができる。

【0206】

5) コラーゲン：適切なコラーゲン包帯材は、例えば、ウシ、ブタ、もしくは鳥類の供給源、または他の天然の供給源もしくはドナーに由来する、例えば、ゲル、パッド、粒子、ペースト、粉末、シート、または溶液を含みうる。一部の実施形態において、コラーゲン包帯材は、治療部位における滲出物と相互作用してゲルを形成しうる。一部の実施形態において、コラーゲン包帯材は、補助的な包帯材と組み合わせて用いることができる。

【0207】

6) 複合材料：適切な複合材料包帯材は、例えば、物理的に異なる成分を単一の生成物へと混合して、例えば、細菌バリア、吸収、および接着など複数の機能を提供する包帯材を含みうる。一部の実施形態において、複合材料包帯材は、例えば、複数の層からなり、半接着パッドまたは非接着パッドを組み込む。一部の実施形態において、複合材料はまた、例えば、接着性の輪郭を有する不織布製テープまたは透明フィルムも含む。他の一部の実施形態において、複合材料包帯材は、例えば、主要な包帯材としても補助的な包帯材としても機能することが可能であり、さらに別の実施形態において、包帯材は、局所医薬組成物と組み合わせて用いることができる。

【0208】

7) 接触層：適切な接触層包帯材は、例えば、ある領域上に配置されて、例えば、治療部位に適用された他の薬剤または包帯材との直接的な接触から組織を保護する、薄型の非接着シートを含みうる。一部の実施形態において、接触層は、治療部位領域の形状に調和するように配置することができ、また多孔性であるため、透過する滲出物を、上部の補助的な包帯材に吸収させることができる。さらに別の実施形態において、接触層包帯材は、局所医薬組成物と組み合わせて用いることができる。

【0209】

8) 弾性包帯：適切な弾性包帯は、例えば、伸縮して身体の外形に調和する包帯材を含みうる。一部の実施形態において、繊維成分は、例えば、木綿、ポリエステル、レーヨン、またはナイロンを含みうる。他の一部の実施形態において、弾性包帯は、例えば、第2層としてのまたは補助的な包帯材としての吸収をもたらす、被覆をその場に保持するか、圧力を加えるか、または治療部位にクッションを与えることができる。さらに別の実施形態において、接触層包帯材は、局所医薬組成物と組み合わせて用いることができる。

【0210】

9) 発泡体：適切な発泡体包帯材は、例えば、流体の保持が可能な小さな開放セルを有する、発泡ポリマー溶液（ポリウレタンを含む）のシートおよび他の形状を含みうる。例示的な発泡体は、例えば、他の材料と組み合わせて浸透化または層状化することができる。一部の実施形態では、発泡体の厚さおよび組成に基づいて吸収能を調製することができる。他の一部の実施形態において、治療部位と接触する領域は、取り外しを容易とするために非接着性でありうる。さらに別の実施形態において、発泡体は、接着性の輪郭および／または抗感染性バリアとして働きうる透明のフィルムコーティングと組み合わせて用いることができる。

【0211】

10) ガーゼおよび不織包帯材：適切なガーゼ包帯材および織地包帯材は、例えば、吸収性の程度が多様な乾燥織地スポンジまたは吸収性の程度が多様な乾燥不織スポンジおよび吸収性の程度が多様な乾燥織地ラップまたは吸収性の程度が多様な乾燥不織ラップを含みうる。例示的な繊維組成物は、例えば、木綿、ポリエステル、レーヨンを含みうる。一部の実施形態において、ガーゼおよび不織包帯材は、バルクにおいて滅菌の場合であれ非滅菌の場合であれ、また、接着性の輪郭を伴う場合であれ伴わない場合であれ入手可能でありうる。例示的なガーゼ包帯材および不織包帯材は、各種の治療部位を消毒、パッキング、被覆に用いることができる。

【0212】

11) 親水コロイド：適切な親水コロイド包帯材は、例えば、ゼラチン、ペクチン、ま

10

20

30

40

50

たはカルボキシメチルセルロースからなるウェハー、粉末、またはペーストを含みうる。一部の実施形態において、ウェハーは自己接着性であり、接着性の輪郭を伴う場合であれ伴わない場合であれ入手可能であり、また多種多様な形状およびサイズで入手可能である。例示的なハイドロコロイドは、外形合わせを必要とする領域において有用である。一部の実施形態において、粉末およびペーストの親水コロイドは、第2の包帯材と組み合わせて用いることができる。

【0213】

12) ヒドロゲル（アモルファス）：適切なアモルファスヒドロゲル包帯材は、例えば、水分を与え、湿潤性の治癒環境を維持し、治療部位に水分を補給するように設計された、水、ポリマー、および不定形の他の成分による製剤を含みうる。一部の実施形態において、ヒドロゲルは、補助的な包帯材カバーと組み合わせて用いることができる。

10

【0214】

13) ヒドロゲル：浸透化包帯材：適切な浸透化ヒドロゲル包帯材は、例えば、アモルファスヒドロゲルに浸したガーゼおよび不織スポンジ、ロープ、ならびにストリップを含みうる。アモルファスヒドロゲルは、例えば、乾燥治療部位に水分を与え、湿潤性の治癒環境を維持するように設計された、水、ポリマー、および不定形の他の成分による製剤を含みうる。

【0215】

14) ヒドロゲルシート：適切なヒドロゲルシートは、例えば、水中において不溶性であり、膨潤により水溶液と相互作用する、架橋された親水性ポリマーの三次元ネットワークを含みうる。例示的なヒドロゲルは、高度に適合性でありそして透過性であり、それらの組成に応じて、広範な量のドレナージを吸収できる。一部の実施形態において、ヒドロゲルは、治療部位に対して非接着性であるか、または取り外しが容易であるように処置される。

20

【0216】

15) 浸透化包帯材：適切な浸透化包帯材は、例えば、溶液、エマルジョン、油、ゲル、または例えば、食塩液、油、亜鉛塩、ワセリン、ゼロフォーム（xerof orm）、およびスカーレットレッド（scarlet red）のほか、本明細書に記載の化合物を含む、他の一部の薬学的に活性な化合物もしくは担体薬剤に浸したガーゼおよび不織スポンジ、ロープ、ならびにストリップを含みうる。

30

【0217】

16) シリコンゲルシート：適切なシリコンゲルシート包帯材は、例えば、メッシュまたは布により補強されるかまたはこれに結合した架橋ポリマーからなる軟質カバーを含みうる。

【0218】

17) 溶液：適切な液体包帯材は、例えば、細胞外マトリックス中に見出される多タンパク質物質および他のエレメントの混合物を含みうる。一部の実施形態では、デブリドマンおよび洗浄の後において例示的な溶液を治療部位に適用し、次いで、吸収性包帯材または非接着性パッドにより被覆することができる。

【0219】

18) 透明フィルム：適切な透明フィルム包帯材は、片面が接着剤によりコーティングされる、多様な厚さのポリマー膜を含みうる。一部の実施形態において、透明フィルムは液体、水、および細菌に対しては不透過性であるが、水蒸気および大気中の気体に対しては透過性である。一部の実施形態では、透明性により、治療部位が視覚化される。

40

【0220】

19) 充填剤：適切な充填剤包帯材は、例えば、ビーズ、クリーム、発泡体、ゲル、軟膏、パッド、ペースト、クッション（pillow）、粉末、ストランド、または他の調合物を含みうる。一部の実施形態において、充填剤は非接着性であり、経時放出型抗菌剤を含みうる。例示的な充填剤は、湿潤環境の維持、滲出物の管理、また、例えば、部分層創傷および全層創傷、感染創傷、排液性創傷、およびパッキングを要する深部創傷の治療

50

に有用でありうる。

【0221】

創傷の組合せ治療

一般的な態様

本発明は、治療有効量の1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチドおよび／または抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤と組み合わせた他の抗コネキシン剤を含む医薬組成物およびそれらの使用方法に関する。組成物は、急性創傷、および慢性創傷などの予測される速度では治癒しない創傷、ならびに従来の創傷治療または創傷治癒促進療法に対して治癒が遅いかあるいは不応な場合もある他の創傷を含む創傷の治癒を増強または促進するのに有用である。

10

【0222】

他の組織損傷（特に、創傷）の場合も同様に、本発明の方法および組成物は、創傷治癒過程の促進、腫脹および炎症の軽減、ならびに瘢痕形成の最小化において有効である。製剤は、それが外部外傷（火傷を含む）、内部外傷、または手術による介入のほか、慢性創傷のいずれの結果であれ、創傷の治療において明白な利益をもたらす。

【0223】

組成物

したがって、一態様において、本発明は、少なくとも1種の抗コネキシンポリヌクレオチド、および少なくとも1種の抗コネキシンペプチドもしくは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはこれらの一方と組合せるかもしくはこれらの両方と組み合わせてまたは単独で投与される他の抗コネキシン剤を含む、治療的処置において用いられる組成物を提供する。好ましい実施形態において、組成物は、薬学的に許容される担体またはビヒクルをさらに含む。

20

【0224】

好ましい一形態において、組成物は、1種のコネキシンタンパク質のmRNAだけに対する1または複数のアンチセンスポリヌクレオチドを含有する。別の好ましい形態において、組成物は、1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドを含む。このコネキシンタンパク質は、コネキシン43であることが最も好ましい。

30

【0225】

別の好ましい形態において、組成物は、抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、およびコネキシンタンパク質のmRNAに対するアンチセンスポリヌクレオチドを含む。このコネキシンタンパク質は、コネキシン43であることが最も好ましい。

【0226】

組成物は、複数種のコネキシンタンパク質を対象とする、ポリヌクレオチドもしくは抗コネキシンペプチド、またはこれらの一方もしくは両方を伴う他の抗コネキシン剤を含む。ポリヌクレオチドもしくは抗コネキシンペプチドまたは他の抗コネキシン剤が対象とするコネキシンタンパク質の1つが、コネキシン43であることが好ましい。ポリヌクレオチドもしくは抗コネキシンペプチドまたは他の抗コネキシン剤が対象とする他のコネキシンは、例えば、コネキシン26、30、30.3、31.1、32、36、37、40、40.1、44.6、45、および46を含む。各種のコネキシンを対象とするのに適する例示的なポリヌクレオチド（およびODN）を、表1に記載する。本明細書では、適切な抗コネキシンペプチドもまた提供される。適切なギャップジャンクションリン酸化剤またはヘミチャネルリン酸化剤およびコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドは、当技術分野において公知である。

40

【0227】

キット、医薬、および製品

50

場合によって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤はまた、医薬の製造においても用いることができる。

【0228】

一態様において、本発明は、説明される1もしくは複数の組成物または製剤を含むキットを提供する。例えば、キットは、有効量の1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤を含む組成物を含みうる。

10

【0229】

本明細書に記載の本発明の組成物または製剤を含有する容器と、対象の治療のために用いられる指示書とを含む製品もまた提供される。例えば、別の態様において、本発明は、治療有効量の1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤を含有する容器と、対象を治療するための使用を含む使用のための指示書とを含む製品を含む。

20

【0230】

治療

本発明の組成物および製剤は、創傷の治癒を促進するための組成物と共に用いることもでき、これと組み合わせて用いることもでき、これらはまた、腫脹、炎症、および／または瘢痕形成を軽減することも可能である。本発明の組成物および製剤はまた、急性創傷または慢性創傷の治癒を促進および／または改善するための組成物と共に用いることもでき、これと組み合わせて用いることもできる。一態様において、創傷は、手術もしくは外傷、または、例えば、糖尿病、末梢浮腫、血管炎、もしくは心血管疾患などの基礎的な医学的状态の結果である。

【0231】

一態様において、本発明は、対象における創傷治癒を促進または改善する方法であって、治療有効量の1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは場合によって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の投与を含む方法に関する。一部の実施形態において、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは場合によって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の投与は、炎症を軽減し、創傷の閉鎖および治癒を促進する細胞移動を促進し、かつ／または上皮成長および表面回復を促進するのに有効である。一部の実施形態において、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは場合によって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の投与は、瘢痕形成を軽減または予防するのに有効である。

30

40

50

【0232】

一態様において、本発明は、対象における創傷治癒を促進または改善する方法であって、上皮基底細胞の分裂および増殖を調節するのに有効な量の1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは場合によって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の投与を含む方法を対象とする。一実施形態において、抗コネキシン剤は、上皮基底細胞の分裂および増殖を調節するのに有効なコネキシンアンチセンスポリヌクレオチドである。一実施形態において、コネキシンアンチセンスポリヌクレオチドは、コネキシン26のアンチセンスポリヌクレオチド、ペプチド、もしくはペプチド模倣剤、コネキシン43のアンチセンスポリヌクレオチド、ペプチド、もしくはペプチド模倣剤、またはこれらの混合物である。

10

【0233】

一態様において、本発明は、創傷治癒を促進または改善する方法であって、外層におけるケラチン分泌を調節するのに有効な量の1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは場合によって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の投与を含む方法に関する。一実施形態において、抗コネキシン剤は、外層におけるケラチン分泌を調節するのに有効なコネキシンアンチセンスポリヌクレオチドである。一実施形態において、コネキシンアンチセンスポリヌクレオチドは、コネキシン43のアンチセンスポリヌクレオチド、ペプチド、もしくはペプチド模倣剤、コネキシン31・1のアンチセンスポリヌクレオチド、ペプチド、もしくはペプチド模倣剤、またはこれらの混合物である。

20

【0234】

またさらなる態様において、本発明は、創傷、例えば、手術による創傷（例えば、美容手術または他の手術などにおける）を受けた患者における瘢痕形成を軽減し、かつ／または瘢痕の外見を改善する方法であって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは場合によって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤を前記創傷に投与して、前記創傷部位にあり、また同部位にすぐ隣接する1つまたは複数のコネキシンタンパク質の発現を下方調節するステップを含む方法を提供する。また、創傷は、外傷の結果である場合もあり、手術の結果である場合もあり、例えば、手術に対する修復および／またはその閉鎖の直前に創傷に製剤を適用する。本明細書で言及される通り、瘢痕の形成または外見を軽減または改善する方法では、適量の抗コネキシンポリヌクレオチドの投与と組み合わせて、またはその投与後もしくはその投与前に、抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤を投与することが好ましい。

30

40

【0235】

一態様において、本発明は、対象における組織損傷を軽減、予防、または改善する方法であって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは場合によって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の投与を含む方法に関する。

50

10

20

30

40

50

一態様において、本発明は、創傷を有する対象を治療する方法であって、有効量の１または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および１もしくは複数の抗コネキシンのペプチドまたは抗コネキシンのペプチド模倣剤、あるいは場合によって、１または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および１もしくは複数の抗コネキシンのペプチドまたは抗コネキシンのペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャンネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の創傷への持続投与を含む方法を提供する。さらなる態様において、本発明は、対象における創傷治癒を促進または改善する方法であって、１または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および１もしくは複数の抗コネキシンのペプチドまたは抗コネキシンのペプチド模倣剤、あるいは場合によって、１または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および１もしくは複数の抗コネキシンのペプチドまたは抗コネキシンのペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャンネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の創傷への持続投与を含む方法を提供する。さらなる態様において、本発明は、対象における腫脹および／または炎症を軽減、予防、または改善する方法であって、１または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および１もしくは複数の抗コネキシンのペプチドまたは抗コネキシンのペプチド模倣剤の創傷への持続投与、あるいは場合によって、１または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および１もしくは複数の抗コネキシンのペプチドまたは抗コネキシンのペプチド模倣

倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の創傷への持続投与を含む方法を提供する。さらなる態様において、本発明は、対象における瘢痕形成を軽減、予防、または改善する方法であって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは場合によって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の創傷への持続投与を含む方法を提供する。

10

【0239】

別のさらなる態様によれば、本発明は、創傷を有する対象における創傷治癒を促進または改善する方法であって、創傷領域における再上皮形成の速度を増大させるのに有効な量の1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤の創傷への持続投与、あるいは場合によって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の創傷領域への持続投与を含む方法を提供する。一実施形態において、方法は、コネキシン43のアンチセンスポリヌクレオチド、ペプチド、もしくはペプチド模倣剤、および／またはコネキシン31・1のアンチセンスポリヌクレオチド、ペプチド、もしくはペプチド模倣剤の持続投与を含む。一実施形態において、1または複数の組成物は、持続放出製剤により投与される。別の実施形態において、1または複数の組成物は、ある持続時間にわたり投与される。組成物は、コネキシン43および／または31・1のレベルまたは活性（例えば、ヘミチャネルまたはギャップジャンクションの活性）を、少なくとも約24時間にわたり低下させるのに有効であると好都合である。一実施形態によれば、創傷は慢性創傷である。治療されうる対象は、糖尿病の対象を含む。

20

【0240】

また別の態様において、本発明は、創傷を有する対象における創傷治癒を促進または改善する方法であって、上皮基底細胞の分裂および増殖を調節し、かつ／または外層におけるケラチン分泌を調節するのに有効な量の1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは場合によって、1または複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、ならびに／あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなど、他の抗コネキシン剤の創傷領域への持続投与を含む方法を提供する。一実施形態において、組成物は、上皮基底細胞の分裂および増殖を調節するのに有効なコネキシンアンチセンスポリヌクレオチド、好ましくは、コネキシン26のアンチセンスポリヌクレオチド、ペプチド、および／もしくはペプチド模倣剤、コネキシン43のアンチセンスポリヌクレオチド、ペプチド、および／もしくはペプチド模倣剤、またはこれらの混合物を含む。一実施形態において、組成物は、外層におけるケラチン分泌を調節するのに有効なコネキシンアンチセンスポリヌクレオチド、好ましくは、コネキシン31・1のアンチセンスポリヌクレオチド、ペプチド、および／またはペプチド模倣剤を含む。一実施形態において、1または複数の組成物は、持続放出製剤により投与される。別の実施形態において、1または複数の組成物は、ある持続時間にわたり投与される。組成物は、コネキシン43、26、および／または31・1のレベルを、少なくとも約24時間にわたり低下させるのに有効であると好都合である。一実施形態によれば、創傷は慢性創傷である。治療されうる対象は、糖尿病の対象を含む。

30

40

【0241】

50

別の態様では、慢性創傷を有する対象を治療する方法が提供される。このような方法は、コネキシンまたはコネキシンヘミチャンネルの発現、形成、または活性を阻害することが可能な抗コネキシン剤を、別の抗コネキシン剤と組み合わせて対象に投与するステップを含む。

【0242】

一態様において、本発明は、慢性創傷を治療または予防する方法であって、別の抗コネキシン剤と組み合わせて、前記慢性創傷または前記慢性創傷に関連する組織へと投与される有効量の抗コネキシン剤を、それを必要とする対象に投与するステップを含む方法に関する。別の実施形態において、慢性創傷は慢性皮膚創傷であり、本発明の組成物は、効果的な期間にわたって、前記対象の皮膚または皮膚に関連する組織へと投与される。治療に適する慢性皮膚創傷は、例えば、褥瘡、糖尿病性潰瘍、静脈性潰瘍、動脈性潰瘍、血管性潰瘍、および混合潰瘍、ならびに本明細書で言及される他の潰瘍からなる群から選択することができる。慢性創傷は、完全動脈遮断または部分動脈遮断から生じる潰瘍形成を含む動脈性潰瘍でありうる。慢性創傷は、静脈弁の機能不全および関連する血管疾患から生じる潰瘍形成を含む静脈鬱血性潰瘍でありうる。慢性創傷は、外傷誘導性潰瘍でありうる。慢性創傷は、持続性上皮欠損でありうる。

10

【0243】

固定した組合せとして投与されない場合、好ましい方法は、1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは場合によって、1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および／または1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャンネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなどの他の抗コネキシン剤の逐次投与を含む。薬剤は、互いから少なくとも約30分以内に逐次投与されることが好ましい。薬剤はまた、互いから約1時間以内に投与することもでき、互いから約1日～約1週間以内に投与することもでき、適切であるとみなされる他の形で投与することもできる。抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、例えば、ヘミチャンネルの開口を遮断するかまたは低下させる抗コネキシン剤は、例えば、コネキシンタンパク質発現の下方調節により、コネキシン発現またはヘミチャンネルの形成もしくはギャップジャンクションの形成を遮断するかまたは低下させる抗コネキシン剤の投与よりも前に投与されることが好ましい。1または複数の抗コネキシン剤は、（1または複数の）抗コネキシン43剤であることが好ましい。

20

30

【0244】

慢性創傷を含む創傷の治療するための別の実施形態では、1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および1もしくは複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいは場合によって、1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および／または1もしくは複数の抗コネキシンペプチド、または抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャンネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなどの他の抗コネキシン剤の一方または両方が、物理的に、または創傷治療の経過において、1または複数の薬剤が単独で投与される場合（すなわち、それらが組み合わせて投与されない場合）に用いられる量または用量よりも少ない量または用量で、供給される。投与される薬剤のこのような低量は、単独で投与される場合の該薬剤の1つの量または複数の量の約20分の1～約10分の1であることが典型的であり、単独で投与される場合の量の約8分の1、単独で投与される場合の量の約6分の1、単独で投与される場合の量の約5分の1、単独で投与される場合の量の約4分の1、単独で投与される場合の量の約3分の1、および単独で投与される場合の量の約2分の1でありうる。

40

【0245】

一実施形態において、慢性創傷の治療または予防方法は、1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチドおよび1もしくは複数の抗コネキシン剤またはペプチド模倣剤、ある

50

いは場合によって、1もしくは複数の抗コネキシンポリヌクレオチド、および／または1または複数の抗コネキシンペプチドまたは抗コネキシンペプチド模倣剤、あるいはギャップジャンクションリン酸化剤もしくはヘミチャネルリン酸化剤またはコネキシンカルボキシ末端ポリペプチドなどの他の抗コネキシン剤の持続投与を含む。一実施形態において、1または複数の組成物は、持続放出製剤において投与される。別の実施形態において、1または複数の組成物は、持続的な期間にわたり投与される。組成物は少なくとも約1～2時間、約2～4時間、約4～6時間、約4～8時間、約12時間、約18時間、または約24時間にわたり、コネキシン43レベルを低下させるか、またはコネキシン43ヘミチャネルの開口を遮断するかもしくは抑制するのに有効であると好都合である。治療される対象は、糖尿病患者、および他の潰瘍（静脈性潰瘍、および本明細書に記載される他のものおよび当該分野で公知の他のものを含む）を有する患者を含む。

10

【0246】

以下の実施例は、例示のみを目的として記載されるものであり、本発明の範囲に対する限定を構成するものではないと理解される。

【実施例】

【0247】

（実施例1）

以下の例示的な配列：SRPTEKTI F I I（配列番号19）を用いて調製された抗コネキシン43ペプチド製剤を逐次投与し、続いて以下の例示的な配列：GTAATTGCGGCAGGAGGAATTGTTTCTGTCTC（コネキシン43）（配列番号2）およびGACAGAAACAATTCTCTCTGCGCGCATTTAC（センス対照）（配列番号136）を用いて調製された抗コネキシン43ポリヌクレオチド製剤を投与する方法を、ラット糖尿病モデルにおける創傷治癒の効力について評価する。

20

【0248】

クエン酸緩衝液中にストレプトゾトシン65mg/kgを含有する単回腹腔内注入によって、成体Sprague-Dawleyラット（350～400g）において糖尿病を誘導する（Shotton HR、Clarke S、Lincoln J.（2003年）。糖尿病性自律神経障害の治療の有効性は、異なる器官に分布している自律神経において同じではない（同上）。糖尿病性自律神経障害の治療の有効性は、異なる器官に分布している自律神経において同じではない（同上）。糖尿病性自律神経障害の治療の有効性は、異なる器官に分布している自律神経において同じではない（同上）（1時点当たりN=6の糖尿病、6の対照）。ほとんどの糖尿病性創傷治癒試験は、糖尿病誘導の2週間後に行い、同じ時点はこの創傷治癒試験について使用する。しかしながら、糖尿病ラットの皮膚におけるコネキシン発現を8週間でも検査し（1時点当たりN=6の糖尿病、6の対照）、2週間で検出された変化が同じままであることを確認する。正常な背の皮膚を切除し、凍結切片化し、コネキシンについて免疫染色し、共焦点顕微鏡法によって染色し、Saitongdeera（2000年）Effects of hibernation on expression of multiple gap junction connexins in hamster myocardium、Cardiovascular Res. 47巻、108～115頁に記載されている通り染色を定量化する。

30

40

【0249】

ラットにハロタンで麻酔をかけ、背中の中毛を剃る。2組の5×5mm全層切除創傷を作る。プルロニックF-127ゲル中100～500マイクログラムの抗コネキシン43ペプチドSRPTEKTI F I I（配列番号19）を1つの創傷に適用し、対照（プルロニックF-127ゲルのみ）を第2の創傷に適用した。

【0250】

プルロニックF-127ゲル中10μMのコネキシン43オリゴデオキシヌクレオチドGTAATTGCGGCAGGAGGAATTGTTTCTGTCTC（配列番号2）を1つの創傷に、対照（センス）ゲルをもう一方に、1分、5分、10分、30分、1時間また

50

は6時間のいずれか以内に適用する。

【0251】

創傷の1、2、5、10および15日後に組織を採取し、コネキシン免疫組織化学またはH&E染色の準備のために切片化する(Coutinho Pら(2003年) *Dyn amic changes in connexin expression correlate with key events in the wound healing process. Cell Biol. Int.* 27巻:525~541頁)。1時点当たりN=6匹の糖尿病、6匹の対照ラット。

【0252】

細胞間コミュニケーションを、ゲルフォーム綿球中の4%Lucifer Yellow CH(Sigma)溶液を新しい全層皮膚切開中へ適用することによって評価する。5分間色素が移動するままにした後、ゲルフォームの除去および組織の固定を行った。損傷細胞に入るがギャップジャンクションを通過しない、10kD Kd FITC-デキストランを対照として使用する。組織を凍結切片化し、Leica SP2UV(Leica、Milton Keynes、UK)において共焦点顕微鏡によって撮像する。

【0253】

移動した色素およびコネキシン免疫染色を、共焦点顕微鏡を使用して検査する。最適ゲインおよびオフセットを事前に設定し、画像取得処理の間一定に保つ。単一光学切片画像を連続して取得し、傷口から皮膚の合成写真を作成する。デジタル画像(8ビット)を、Image-Jソフトウェア(NIH)を使用して解析する。色素の移動を評価するために、1500×30ピクセルの対象領域ボックスを切断端部から真皮中央に置き、ボックスを横切る画像強度グラフを作成する。50を下回るグレーレベル強度を、Lucifer Yellowが移動した点とする。同様に、表皮において、傷口からLucifer Yellowシグナルが50を下回った場所までの距離を記録する。各動物の3つの画像の最小値を分析する。コネキシンタンパク質のレベルを比較するために、真皮または表皮の6つの単一光学切片画像を、各創傷について異なる切片から撮影する。レーザー出力、ピンホール、ゲイン/オフセットおよび対物レンズの全てのパラメータを、対照および糖尿病群の両方にわたって一定に保つ。コネキシン発現を、Saitongdee Pら(2000年)(同上)に記載の通りに定量する。最小のバックグラウンドノイズを有するギャップジャンクションプラークを検出するために閾値を設定し、全ての画像について一定に保つ。各画像に関してコネキシンプラークの数および大きさを記録し、表皮100μmまたは真皮10000μm²当たりで表す。このアプローチは、細胞レベルでのタンパク質発現に関する情報を発するため、ウェスタンブロットよりもはるかに正確であることが分かった。ウェスタンブロットは、表皮細胞と真皮細胞を区別することも、創縁に近接していることの影響も検出できない。このアプローチを使用して、創縁(WE)の領域および500μm離れた(AD)領域におけるケラチン生成細胞中のコネキシンレベルを、創傷の1または2日後に定量することができる。創傷後5日目に、追加の、新生表皮の先端(LE)領域も撮像する。H&E染色の画像を、DC300Fデジタルカメラを備えたLeica DMLFS顕微鏡を使用して撮影する。再上皮化率の測定は、Qiu, Cら(2003年) *Targeting connexin43 expression accelerates the rate of wound repair. Curr. Biol.* 13巻:1697~1703頁において詳細に記述されている。Statview5.0.1に提供されているWilcoxonの符号付き順位検定を使用して、処置間の全ての数値差を有意性に関して試験する。

【0254】

正常ラットおよびSTZ糖尿病ラット皮膚における相対的なコネキシン43および26染色レベルを、糖尿病誘導後2週および8週で測定し、比較する。グラフをプロットして、表皮および真皮におけるプラークの数を示す。対照および糖尿病皮膚における典型的なコネキシン43およびコネキシン26免疫染色の画像を8週で取得する(矢印は表皮と真皮の境界を示す;スケールバー25μm)。対照および糖尿病ラットの表皮および真皮に

10

20

30

40

50

において、ギャップジャンクション透過色素である Lucifer Yellow が 5 分で移動した相対距離を定量する。

【0255】

典型的には点状のコネキシン 43 免疫染色が、表皮基底層において、ならびに真皮線維芽細胞、毛包、血管および付属器において見られる。しかしながら、糖尿病皮膚ではコネキシン 43 染色は、表皮において、ギャップジャンクションプラークの大きさおよび数の両方に関して顕著に低減しうる。表皮の上層におけるコネキシン 26 の染色は、糖尿病表皮において同様に低減しうる。

【0256】

糖尿病表皮および真皮における細胞間コミュニケーションを評価するために、ギャップジャンクション透過色素 Lucifer Yellow が 5 分で組織を通して移動する程度を検査する。コネキシン 43 タンパク質の発現上昇およびコミュニケーション増加が、ヒト糖尿病線維芽細胞において報告されており (Abdullah KM ら (1999 年) Cell-to-cell communication and expression of gap junctional proteins in human diabetic and nondiabetic skin fibroblasts: effects of basic fibroblast growth factor, Endocrine 10 巻: 35~41 頁); 糖尿病に対する異なるコネキシンの混合反応が腎臓系において言及されている (Zhang J, Hill CE. (2005 年) Differential connexin expression in preglomerular and postglomerular vasculature: accentuation during diabetes, Kidney Int. 68 巻: 1171~1185 頁)。

【0257】

対照および糖尿病表皮における損傷後の再上皮化およびコネキシン 43 およびコネキシン 26 タンパク質レベルの反応の相対的な比率を測定する。創傷の 1 または 2 日後に創縁 (WE) の表皮および 500 μ m 離れた隣接 (AD) 表皮におけるプラークを計数することによって、染色を定量する。5 日目に、新生表皮の先端 (LE) のさらなる領域を定量する。

【0258】

創傷治癒過程の間、対照および糖尿病皮膚の表皮創縁のコネキシン 43 およびコネキシン 26 染色 (緑色) および核染色 (青色) を測定し、画像解析によって処理する。

【0259】

損傷に対するコネキシン発現の動的応答を測定するため、創縁 (WE) のケラチン生成細胞および 500 μ m 離れた隣接 (AD) 領域内のケラチン生成細胞におけるコネキシン染色を、創傷の 1 または 2 日後に定量する。5 日後、先端 (LE) ケラチン生成細胞を撮像する。

【0260】

糖尿病 WE ケラチン生成細胞において起こりうるコネキシン 43 タンパク質の増加の作用を、損傷時に創傷に適用されるコネキシン 43 特異的アンチセンスゲルで、その増加を阻止することによって評価する。

【0261】

糖尿病の表皮創縁におけるコネキシン 43 の異常な上方制御の新知見は重要であり、様々な様式における創傷閉鎖の過程に影響を及ぼす可能性を有している。再生中の表皮の中における連絡区画の形成は、創傷治癒において役割を果たすと提唱されている (Martin P (1997 年) Wound healing - aiming for perfect skin regeneration, Science 276 巻: 75~81 頁; Lampe PD ら (1998 年) Cellular interaction of integrin $\alpha 3 \beta 1$ with laminin 5 promotes gap junctional communication. J

10

20

30

40

50

. Cell Biol. 143巻:1735~1747頁;Hodgins M(2004年)Connecting wounds with connexins. J. Invest. Dermatol. 122巻:解説)。先端部の細胞におけるコネキシン26の発現およびコネキシン43の除去によって、これらのコネキシンは相互のジャンクションを形成しないため、通常の条件において区画化を効率的にもたらしることができるであろう。したがって、糖尿病における創傷治癒の遅延は、このような区画化が起こりうる点までコネキシン43発現を下方制御するのに必要な追加の時間を反映するものでありうるであろう。あるいは、コネキシン43のCテールは、細胞骨格成分またはP120ctn/Rho GTPaseと相互作用することが公知であり、そのためコネキシン43の下方制御は、創縁のケラチン生成細胞の運動性を変化させるのに必要であり得、これは、それらが移動して創傷を閉鎖するのを可能にする(Wei CJら(2004年)Connexins and cell signaling in development and disease, Annu Rev Cell Dev Biol. 20巻:811~838頁)。

10

【0262】

(実施例2)

以下の例示的な配列:SRPTEKTIFI I (配列番号19)を用いて調製された抗コネキシン43ペプチド製剤の投与に続いて、以下の例示的な配列:GTAATTGCGGCAGGAGGAATTGTTTCTGTCTC(コネキシン43)(配列番号2)およびGACAGAAACAATTCTCTCTGCGCGCAATTTAC(センス対照)(配列番号136)を用いて調製された抗コネキシン43ポリヌクレオチド製剤を、糖尿病オスSprague Dawleyラットにin vivoで逐次投与した後、糖尿病対象における創傷治癒効果を調査する。糖尿病対象における創傷治癒を定量するために、創傷の引張強度を調査し、引張強度の増強は創傷治癒の向上を反映する。

20

【0263】

糖尿病ラット動物モデルは、治癒しにくい糖尿病性創傷を研究するための確立されたモデル系である(Davidson, Arch. Dermatol. Res. 290巻:S1~S11頁)。糖尿病は微小血管病を伴うため、この動物モデルは創傷治癒における動脈性要因の障害を研究するのにも適している。

【0264】

糖尿病を誘導するために、250~300gの体重を有するラットに新しく調製したストレプトゾトシン(Sigma)の水溶液を腹腔内注入する(50mg/体重kg)。誘導の7~9日後動物の血糖を調べ、200mg/dLを超える血糖濃度値で糖尿病状態を確認する。糖尿病ラットおよび非糖尿病対照動物に、その後2%O₂(2l/分)および1.25%イソフルランからなる混合物で麻酔をかける。背中を除毛し、その後の創傷のために各動物の背中に2箇所印をつける。次いで創傷箇所に長さ1cmの切開創傷を作製し、創傷を創傷クリップで閉鎖する。

30

【0265】

プルロニックF-127ゲル中100~500マイクログラムの抗コネキシン43ペプチドSRPTEKTIFI I (配列番号19)を1つの創傷に適用し、対照(プルロニックF-127ゲルのみ)を第2の創傷に適用した。その後、プルロニックF-127ゲル中10μMのコネキシン43オリゴデオキシヌクレオチドGTAATTGCGGCAGGAGGAATTGTTTCTGTCTC(配列番号2)を1つの創傷に、対照(センス)ゲルをもう一方に、1分、5分、10分、30分、1時間または6時間のいずれか以内に適用する。

40

【0266】

10日後に創傷生検を採取し、製造業者の使用説明書に従ってInstron張力計を使用して創傷の引張強度を測定し、創傷の断面積を標準化する。

【0267】

その後、処置される創傷の引張強度の絶対値および対照製剤を投与されるだけの同じ動

50

物における創傷の引張強度の絶対値から、商（ E/C 値）を計算する。 E/C 値の平均を決定し、処置に対する引張強度の変化を測定する。

【0268】

（実施例3）

本明細書に開示されている方法および組成物を使用して、慢性創傷（例えば、血管性潰瘍）を有するヒト対象を治療する。

【0269】

糖尿病、または末梢血管もしくは動脈基礎疾患を有するヒト対象は、まず、閉鎖していない足の創傷から生じる合併症を呈する。創傷を、適当な1つまたは複数の用量の抗コネキシンペプチドSRPTEKTIFFII（配列番号19）、例えば、100～500マイクログラムで処置する。その後、創傷を配列番号1の抗コネキシンポリヌクレオチドにより、抗コネキシンペプチド1分、10分、30分、1時間、6時間、12時間、または24時間以内で処置する。深さ約3～4mmで約7cm×5cm（約35cm²）の創傷の大きさに基づいて、プルロニックゲル中の2mLの20μMの配列番号1製剤（例えば、総用量約200～400μg）を投与する（別の適切な投与される投薬量は、創傷の大きさに従って当業者が容易に決定することができる）。

【0270】

創傷部位に包帯をして7日間保護する。7日目に創傷の包帯を取り、創傷治癒結果を評価する。

【0271】

必要または所望に応じて上記で概説した処置を繰り返す（適切な投薬量で）。この処置の後、創傷および創傷の外観を評価する。2週間、1カ月および／または2カ月で患者を再度評価し、創傷（減少があれば）を再度評価する。

【0272】

（実施例4）

本明細書に開示されている方法および組成物を使用して、慢性静脈脚潰瘍を有するヒト対象を治療する。

【0273】

ヒト試験対象を、潰瘍の大きさならびに最小および最大潰瘍面積（例えば、2cm²および50cm²）に従って群に分ける。患者の安静時足関節上腕ドップラー動脈血圧比をベースラインとして測定する（例えば、0.80以上）。

【0274】

全ての患者に圧迫包帯をする。追跡することによって潰瘍の面積を測定し、プルロニックゲル製剤中の試験抗コネキシンペプチドSRPTEKTIFFII（配列番号19）の適当な投薬量、例えば、100～500マイクログラムを逐次投与し、その後配列番号1の抗コネキシンポリヌクレオチド（全ゲルが約200～400μgのプルロニックゲル中）を、抗コネキシンペプチド1分、10分、30分、1時間、6時間、12時間、または24時間以内で投与する。

【0275】

試験製剤を創傷表面に適用する間、診察用長椅子に横になり、圧迫包帯を適用する前の15分間そこにいるよう患者に求める。

【0276】

7日目に創傷の包帯を取り、創傷治癒結果を評価する。創傷液および血液試料を、バイオアッセイを使用して関連する創傷治癒バイオマーカーについて分析する。

【0277】

上記で概説した処置を繰り返す（適切な投薬量で）。この処置の後、創傷および創傷の外観を評価する。創傷閉鎖まで、この過程を毎週もしくは隔週、または治癒の状態を考慮して適切に繰り返す。

【0278】

（実施例5）

10

20

30

40

50

以下を使用して、糖尿病性および別の慢性潰瘍の治癒速度の促進における、例示的な製剤の逐次投与の治療効果を判定する。

【0279】

有効性の主要エンドポイントは、12～20週間以内に完全な創傷閉鎖を達成する患者の割合である。副次エンドポイントには、100%閉鎖までの時間、80%閉鎖までの時間、50%閉鎖までの時間、ならびに3、5、10、15、および20週におけるベースラインの創傷の大きさからの変化の割合としての創傷閉鎖量が含まれる。Kaplan-Meier生存分析技法を用いて、イベント発生までの時間エンドポイントを検査する。

【0280】

全ての患者は、最初の壊死組織切除（sharp debridement）、創傷洗浄、創傷包帯、および創傷圧力軽減からなる標準的な糖尿病性（または別の）潰瘍治療のレジメンを受ける。最初の壊死組織切除および創傷洗浄によって潰瘍を処置する。プルロニックゲル製剤中の100～500マイクログラムの抗コネキシンペプチドSRPTEKTIFI（配列番号19）を逐次投与し、その後配列番号1の抗コネキシンポリヌクレオチド（全ゲルが約200～400μgのプルロニックゲル中）を、抗コネキシンペプチド1分、10分、30分、1時間、6時間、12時間、または24時間以内に投与する。創傷に、粘着防止包帯および圧迫包帯をまく。

10

【0281】

どちらが早いとしても12～20週までまたは創傷閉鎖まで、週に2回、創傷を評価する。患者が臨床感染を発症した場合、または創傷状態が著しく悪化した場合は、患者を試験から排除する。各創傷評価時に（週に2回）、創傷面積の測定のために創傷周囲をトレースし、デジタルカメラで創傷を撮影する。患者登録時、ならびに5、10、15、および20週で、血液化学および血液学試験を行う。基礎的な骨組成に対する作用を試験するために、X線評価を5週間ごとに実施してもよい。

20

【0282】

（実施例6）

抗コネキシン剤は、好都合には、本発明の方法による投与に適する形態に処方される。

【0283】

適当な製剤は、以下の処方剤の混合物を含む。1つまたは複数の個々の抗コネキシン剤の量は、予定される特定の用途に依存するはずである。

30

【0284】

【表 9】

PBS中ASO
ポリクオタニウム10
HEC/HPMC/CMC
ヒアルロン酸Na
ツイーン20
ポロキサマー188
プルロニック87NF
SLES
ポリ-L-リシン/ポリエチレンイミン
塩化ベンザルコニウム
メチルパラベン
プロピルパラベン
プロピレングリコール
10mMリン酸緩衝液

10

20

本明細書において参照されたかまたは言及されたすべての特許、出版物、科学論文、ウェブサイトならびに他の文書および資料は、本発明が属する技術分野の当業者の技術水準を示すものであり、これらの参照文書および資料はそれぞれ、個別にその全体が参照により組み込まれたか、またはその全体が本明細書に記載された場合と同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。出願人は、任意の上記の特許、出版物、科学論文、ウェブサイト、電子的に利用可能な情報、および別の参照資料または文書の、任意のおよびすべての資料および情報を本明細書に物理的に組み込む権利を保有する。

【0285】

30

本明細書に記載されている具体的な方法および組成物は、好ましい実施形態を代表するものであり、それらは例示的であって本発明の範囲を限定するものではない。別の目的、態様、および実施形態が、本明細書を考慮すれば当業者には思いつくはずであり、本特許請求の範囲によって定義されている通り本発明の精神に包含される。本発明の範囲および精神から逸脱することなく、様々な置換および変更を本明細書に開示されている本発明に対して行ってもよいことが、当業者には容易に明らかとなるはずである。例示的に本明細書に適当に記載されている本発明は、本明細書において不可欠であると特に開示されていない任意の1つまたは複数の要素、あるいは1つまたは複数の限定の不在下で実施されてもよい。したがって、例えば、本発明の実施形態または実施例において、本明細書におけるそれぞれの場合において、「含む」、「から本質的になる」、「および「からなる」のいずれかの用語は、本明細書中の他の2つの用語のいずれかと置き換えてもよい。また、「含む (comprising)」、「含んでいる (including)」、「含有している」などの用語は、包括的であって限定ではないと読み取るべきである。例示的に本明細書に記載されている方法およびプロセスは、異なる順序の工程で適当に実施されてもよく、必ずしも本明細書または本特許請求の範囲に示された工程の順序に制限されない。本明細書および添付の特許請求の範囲においても使用されているように、単数形「a」「an」および「the」は、文脈上別途明確に指示のない限り複数形への言及を含む。いかなる場合においても、本特許は、本明細書に特に開示されている具体的な実施例または実施形態または方法に限定されると解釈されるものではない。いかなる場合においても、本特許は、そのような陳述が、出願人による答弁書において明確に認められた限定または制

40

50

限がなければ、特許商標庁のいかなる審査官またはいかなる別の当局者もしくは関係者によってなされたいかなる陳述によっても限定されると解釈されるものではない。

【0286】

採用されている用語および表現は、説明であって限定するものではない用語として使用され、このような用語および表現の使用において、示されているおよび説明されている特徴のいかなる均等物またはその一部も除外する意図はないが、請求されている本発明の範囲内で様々な変更形態が可能であることが認識される。したがって、本発明を、好ましい実施形態および任意選択の特徴によって具体的に開示してきたが、本明細書に開示されている概念の変更形態および変形形態が当業者によって用いられてもよいこと、およびこのような変更形態および変形形態が、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲内であるとみなされることが理解されるはずである。

10

【0287】

本発明が、本明細書において広く一般的に記載された。一般的開示に含まれるそれぞれのより狭い種 (species) および亜属集団 (subgeneric grouping) もまた、本発明の一部を形成する。これは、削除された材料が本明細書で具体的に挙げられているか否かに関係なく、その属の任意対象を除くという条件または否定的な限定を伴う本発明の一般的記載を含む。

【0288】

別の実施形態は以下の特許請求の範囲内である。加えて、本発明の特徴または態様がマーカッシュ (Markush) グループに関して記載される場合、当業者は、本発明がマーカッシュグループの任意の個々のメンバーまたはメンバーのサブグループに関してもそれによって記載されることを認識するはずである。

20

【配列表】

2011506447000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2008/013656

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N15/11 A61K38/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2006/134494 A (CODA THERAPEUTICS LTD [NZ]; GREEN COLIN R [NZ]; BECKER DAVID L [GB]) 21 December 2006 (2006-12-21) cited in the application abstract page 5, line 7 - line 24 page 7, line 22 - page 9, line 2 page 9, line 23 - page 10, line 4 page 11, line 7 - line 20 page 58, line 8 - line 11 page 100, line 8 - line 11; claims 48-50	1-7, 10-28, 31-37, 40-46, 49-55, 58-65
Y		8, 9, 29, 30, 38, 39, 47, 48, 56, 57, 66
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 May 2009

Date of mailing of the international search report

15/06/2009

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Pilat, Daniel

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2008/013656

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GOURDIE ROBERT G ET AL: "The unstoppable connexin43 carboxyl-terminus - New roles in gap junction organization and wound healing" ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES BLACKWELL PUBLISHING, 9600 GARSINGTON RD, OXFORD OX4 2DQ, OXEN, UK SERIES : ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES (ISSN 0077-8923(PRINT)), 2006, pages 49-62, XP002529574 & 4TH LARRY AND HORTI FAIRBERG WORKSHOP ON INTERACTIVE AND INTEGRATIVE CARDIOLOGY; CHARLESTON, SC, USA; APRIL 23 -27, 2006 ISSN: 978-1-57331-651-4(H) page 56 - page 57; figure 4	8,9,29, 30,38, 39,47, 48, 56-59,66
Y	WANG CHINHUI MARY ET AL: "Abnormal connexin expression underlies delayed wound healing in diabetic skin" DIABETES, vol. 56, no. 11, November 2007 (2007-11), pages 2809-2817, XP002529575 ISSN: 0012-1797 the whole document	8,9,29, 30,38, 39,47, 48, 56-59,66
Y	MORI RYOICHI ET AL: "Acute downregulation of connexin43 at wound sites leads to a reduced inflammatory response, enhanced keratinocyte proliferation and wound fibroblast migration" JOURNAL OF CELL SCIENCE, vol. 119, no. 24, December 2006 (2006-12), pages 5193-5203, XP002529576 ISSN: 0021-9533 the whole document	8,9,29, 30,38, 39,47, 48, 56-59,66
A	WO 2006/069181 A (MUSC FOUND FOR RES DEV [US]; GOURDIE ROBERT [US]; GHATNEKAR GAUTAM [US] 29 June 2006 (2006-06-29) abstract claims 1-8,31-35,42	
A	US 2005/119211 A1 (CHOWRIRA BHARAT [US] ET AL) 2 June 2005 (2005-06-02) abstract paragraphs [0011], [0137], [0139] - [0141], [0147], [0372] - [0376], [0418]	
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2008/013656

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SALAMEH ET AL: "Pharmacology of Gap junctions. New pharmacological targets for treatment of arrhythmia, seizure and cancer?" BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA. BIOMEMBRANES, AMSTERDAM, NL, vol. 1719, no. 1-2, 20 December 2005 (2005-12-20), pages 36-58, XP005211716 ISSN: 0005-2736 table 1 -----	
A	QIU C ET AL: "Targeting Connexin43 Expression Accelerates the Rate of Wound Repair" CURRENT BIOLOGY, CURRENT SCIENCE, GB, vol. 13, no. 19, 30 September 2003 (2003-09-30), pages 1697-1703, XP004545249 ISSN: 0960-9822 the whole document -----	
A	BERTHOUD V M ET AL: "Peptide inhibitors of intercellular communication." AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. LUNG CELLULAR AND MOLECULAR PHYSIOLOGY OCT 2000, vol. 279, no. 4, October 2000 (2000-10), pages L619-L622, XP002529577 ISSN: 1040-0605 cited in the application the whole document -----	
P, X	WO 2008/060622 A (CODA THERAPEUTICS INC [US]; GREEN COLIN R [NZ]; DUFT BRADFORD J [US];) 22 May 2008 (2008-05-22) abstract page 3, line 9 - line 27 page 4, line 9 - line 16 page 4, line 29 - page 5, line 3 page 6, line 15 - line 21 page 7, line 27 - line 31 page 9, line 29 - page 10, line 2 page 15, line 5 - line 11 page 22, line 9 - page 23, line 17 page 47, line 16 - line 22 page 54, line 19 - line 28 claims -----	1-66

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2008/013656

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006134494 A	21-12-2006	AU 2006257283 A1 CA 2596412 A1 EP 1959981 A2 JP 2008528678 T KR 20080031154 A	21-12-2006 21-12-2006 27-08-2008 31-07-2008 08-04-2008
WO 2006069181 A	29-06-2006	AU 2005319155 A1 BR PI0519737 A2 CA 2593979 A1 EP 1827480 A2 JP 2008523843 T KR 20070102998 A US 2008095819 A1	29-06-2006 27-01-2009 29-06-2006 05-09-2007 10-07-2008 22-10-2007 24-04-2008
US 2005119211 A1	02-06-2005	US 2005119212 A1	02-06-2005
WO 2008060622 A	22-05-2008	NONE	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 K	47/34	(2006.01)	A 6 1 K	47/34
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00 A
C 0 7 K	14/47	(2006.01)	C 0 7 K	14/47

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MT,NL,NO,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ダフト, ブラッドフォード ジェイ.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 92067, ランチョ サンタ フェ, ピー. オー. ボックス 1133

Fターム(参考) 4B024 AA01 CA01 CA11 GA11 HA17
 4C076 AA09 BB31 EE17 EE32 EE49
 4C084 AA02 AA13 BA44 MA02 NA14 ZA89 ZA891 ZA892
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA04 MA28 MA63 NA14 ZA89
 4H045 BA10 CA40 EA20