

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6949100号
(P6949100)

(45) 発行日 令和3年10月13日(2021.10.13)

(24) 登録日 令和3年9月24日(2021.9.24)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 31/618 (2006.01)	A 6 1 K 31/618
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02
A 6 1 P 27/00 (2006.01)	A 6 1 P 27/00
A 6 1 P 25/04 (2006.01)	A 6 1 P 25/04

請求項の数 8 (全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-501940 (P2019-501940)
 (86) (22) 出願日 平成29年7月7日(2017.7.7)
 (65) 公表番号 特表2019-524734 (P2019-524734A)
 (43) 公表日 令和1年9月5日(2019.9.5)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2017/041092
 (87) 国際公開番号 W02018/013420
 (87) 国際公開日 平成30年1月18日(2018.1.18)
 審査請求日 令和2年4月28日(2020.4.28)
 (31) 優先権主張番号 62/362,951
 (32) 優先日 平成28年7月15日(2016.7.15)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(73) 特許権者 390023641
 ウィスコンシン アラムナイ リサーチ
 ファウンデーション
 WISCONSIN ALUMNI RE
 SEARCH FOUNDATION
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン 537
 26、マデイソン、ウォルナット ストリ
 ート 614
 (74) 代理人 100134832
 弁理士 瀧野 文雄
 (74) 代理人 100165308
 弁理士 津田 俊明
 (74) 代理人 100115048
 弁理士 福田 康弘

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 多発性硬化症を治療するためのホモサレートおよびサリチル酸オクチルの使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ホモサレート、サリチル酸オクチル、およびホモサレートとサリチル酸オクチルの組み
 合わせからなる群より選択される有効量の組成物を含む多発性硬化症(MS)治療剤。

【請求項 2】

前記組成物が毎日投与される、請求項 1 に記載の治療剤。

【請求項 3】

前記組成物が少なくとも 30 日の期間投与される、請求項 1 に記載の治療剤。

【請求項 4】

前記組成物が経口投与で送達される、請求項 1 に記載の治療剤。

【請求項 5】

前記組成物が局所投与で送達される、請求項 1 に記載の治療剤。

【請求項 6】

前記組成物が非経口投与で送達される、請求項 1 に記載の治療剤。

【請求項 7】

前記組成物が、視覚障害、浮動性めまい、回転性めまい、感覚機能障害、衰弱、調整に
 関する問題、バランスの崩れ、疲労、疼痛、神経認知障害、精神障害、膀胱機能障害、腸
 の機能不全、性的機能不全、熱感受性、筋力低下および/またはしびれ、および/または
 麻痺の組み合わせからなる群より選択される少なくとも 1 つの症状を有する対象に投与さ
 れる、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の治療剤。

【請求項 8】

前記症状が筋力低下および/またはしびれである、請求項 7 に記載の治療剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2016年7月15日出願の米国仮特許出願第62/362,951号の利益を主張し、これはあらゆる目的のために参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

中枢神経系に影響を及ぼす最も一般的な自己免疫疾患である多発性硬化症(MS)は、脳および脊髄の神経細胞の絶縁被覆が損傷している脱髄疾患である。この疾患は、神経系の一部が伝達する能力に影響を及ぼし、身体的、精神的、そして時には精神医学的問題を引き起こす。例えば、MS患者は、片目の失明または複視のような視覚障害をしばしば有する。患者はまた、筋力低下、感覚障害、および調整障害を示す。

【0003】

MS進行の根底にあるメカニズムは、免疫系による破壊またはミエリン産生細胞の不全のいずれかであると考えられている。この疾患の原因はわかっていないが、遺伝学やウイルス感染などの環境要因が含まれる場合がある。MSは通常、患者の症状の分析および補助的な医学的検査の結果に基づいて診断される。

【0004】

残念なことに、多発性硬化症の治療法は知られていない。現在の治療は、発作後の症状を改善し、新たな発作を防ぐことを試みている。MSを治療するために使用される薬は中程度の効果しかなく、副作用があり、耐性が低い可能性がある。理学療法は、患者の機能能力の助けになる。良い選択肢がないため、多くの患者は証明されていない代替治療を受けている。平均余命は、健常人に比べて5~10年短い(2)。

【発明の概要】

【0005】

当技術分野で必要とされているのは、有効なMS治療のための新しい治療用化合物である。

【図面の簡単な説明】

【0006】

【図1】図1は、日焼け止め剤の局所適用がマウスをEAE進行から保護することを示す実験を開示する。マウスは、日焼け止め剤、NBUBまたはその両方を局所投与された。全実験期間中(0日目~28日目)、EAE後の各マウスを毎日採点して、データを平均値として表す。N=10~12/群。

【図2A】図2A~Bは、EAEに対する特定の日焼け止め成分の効果を示す1組のグラフである。日焼け止め成分(アボベンゾンおよびオキシベンゾン)は、マウスにおけるEAE重症度を部分的に抑制する。図2Aは、さまざまな日焼け止め成分の分析である。アボベンゾンとオキシベンゾンはマウスのEAE重症度を部分的に抑制する。EAEの間(0日目~30日目)、毎日局所投与することによってマウスを日焼け止め成分(アボベンゾン、オキシベンゾンまたは組み合わせ)で処理した。日焼け止めスプレーを陽性対照として使用した。各マウスを毎日採点し、データを平均値として表す。N=10~12/群。

【図2B】図2Bは、異なる日焼け止め成分を投与したマウスの体重を示す。EAEの間(0日目~30日目)、毎日局所投与することによってマウスを日焼け止め成分(アボベンゾン、オキシベンゾンまたは組み合わせ)で処理した。日焼け止めスプレーを陽性対照として使用した。実験中、各マウスの体重を毎週測定し、データを平均値として表す。N=10~12/群。

【図3A】図3A~Bは、EAEに対する日焼け止め成分の効果を示す1組のグラフであ

10

20

30

40

50

る。図3Aは、日焼け止め成分（ホモサレートおよびサリチル酸オクチル）は、マウスにおいてEAE発症を劇的に抑制することを示す。EAEの間（0日目～30日目）、毎日局所投与することによってマウスを日焼け止め成分（ホモサレート、サリチル酸オクチルまたは組み合わせ）で処理した。日焼け止めスプレーを陽性対照として使用した。マウスを毎日採点し、データを平均値として表す。N = 11 ~ 12 / 群。

【図3B】図3Bは、異なる日焼け止め成分を投与されたマウスの体重を示す。EAEの間（0日目～30日目）、毎日局所投与することによってマウスを日焼け止め成分（ホモサレート、サリチル酸オクチルまたは組み合わせ）で処理した。日焼け止めスプレーを陽性対照として使用した。マウスの体重を毎週測定し、データを平均値として表す。N = 11 ~ 12 / 群。

10

【図4A】図4A～Cは、COPPERTONE SPRAY日焼け止め剤（SS）の局所適用がEAEを完全に遮断することを示す。図4Aは、NB UV B前の日焼け止め剤の局所適用である。平均スコアをEAE導入後に毎日記録した。データを平均 ± SEMとして表す。

【図4B】体重を毎週測定した。データを平均 ± SDとして表す。

【図4C】NB UV Bを含む、または含まない日焼け止め剤の局所適用は、EAE発症を完全に阻止した。免疫処理後、平均スコアを毎日測定した。データを平均 ± SEMとして表す。図4A、4Bおよび4Cの全ての処理群は、対照群と統計的に異なっていた（n = 12、p < 0.05）。

【図5A】図5A～Bは、市販の日焼け止め製剤がEAEを差別的に遮断する一方、遮光下では遮断しないことを示す。図5Aでは、6つの異なる日焼け止め剤を毎日局所投与し、平均スコアを記録した。データを平均値として表す。

20

【図5B】EAEに対する完全な遮光の影響を決定した。凡例に示すように、処理したマウスを様々な期間、遮光下で維持した。平均スコアを毎日測定した。データを平均値として表す。BANANA BOAT KIDSおよびCOTZ FACEを除くパネルAのすべて処理群は、対照と統計的に異なっていた（n = 12、P < 0.05）。パネルB群の間で統計的な差異は見られなかった（n = 12）。

【図6A】図6A～Dは、COPPERTONEスプレー日焼け止め剤（SS）によるEAEの抑制が時間および用量の両方に依存することを示す。図6Aは、COPPERTONEスプレー日焼け止め剤の投与時間に関連した疾患スコアである。平均スコアを毎日測定した。実験の間（30日目）、様々な開始処理時間を設け、マウスを毎日200 μlのSSで局所処理した。前処理：処理は免疫処理の7日前に開始した。免疫処理：免疫処理の時点で処理を開始した。発症：動物が最初に1.0以上のスコアを示したときに処理を開始した。

30

【図6B】体重を毎週測定した。

【図6C】COPPERTONEスプレー日焼け止め剤によるEAEの用量依存的抑制を示す。

【図6D】体重を毎週測定した。データは、図6Aおよび6Cでは平均 ± SEMとして、図6Bおよび6Dでは、平均 ± SDとして表す。前処理および免疫処理は、パネルAおよびBにおいて対照群と有意に異なっていた（n = 12、p < 0.05）。2つの最高レベルのSS（50および100 μl）は、パネルCおよびDにおいて対照と有意に異なっていた（n = 12、p < 0.05）。

40

【図7A】図7A～Dは、有効な日焼け止め剤の2つの成分（ホモサレートおよびサリチル酸オクチル）がEAEを有意に抑制することを示す。他の2つの成分（アボベンゾンとオキシベンゾン）はEAEを抑制することができない。図7Aおよび7Bでは、マウスを毎日局所的に（25 μlのDMSO中、12%アボベンゾン、16%オキシベンゾンまたは組み合わせ）の溶液で処理した。日焼け止め剤（COPPERTONE SPRAY）（100 μl）を陽性対照として使用した。図7Aでは、実験中、各マウスを毎日採点した。

【図7B】毎週体重を測定した。図7Aおよび7Bでは、全ての群が日焼け止め剤群と有

50

意に異なっていた ($n = 12$ 、 $p < 0.05$)。

【図7C】図7Cおよび7Dでは、マウスを2つの成分(30 μ lホモサレート(1.5g/kg)、10 μ lサリチル酸オクチル(0.5g/kg)およびそれらの組み合わせ)で局所的に処理した。COPPERTONE SPRAY日焼け止め剤200 μ lを陽性対照として使用した。図7Cは平均スコアを記録し他。データを平均値として表す。

【図7D】体重を記録した。図7Cおよび7Dにおいて、サリチル酸オクチル単独を除くすべての処理群は対照群と有意に異なっていた ($p < 0.05$)。

【図8A】図8A~Dは、ホモサレート(HS)およびサリチル酸オクチル(OS)によるEAEの用量依存的抑制を示す。図8Aおよび8Bでは、マウスを様々な用量(10、20および30 μ l、または0.5、1.0、1.5g/kg)のホモサレートまたはサリチル酸オクチルで局所的に処理した。図8Aでは平均スコアを記録した。全ての処理群が対照と有意に異なっていた ($p < 0.05$)。

【図8B】体重を記録した。ホモサレート0.5g/kgを除く全ての処理は、対照と有意に異なっていた ($p < 0.05$)。

【図8C】図8Cおよび8Dにおいて、マウスを様々な時点において、ホモサレート(30 μ lまたは1.5g/kg)で局所処理した。図8Cでは、毎日の平均スコアを記録した。

【図8D】体重を記録した。データを平均値として表す。8Cおよび8Dにおいて、毎日および2日ごとのホモサレートの平均スコアは、対照より有意に低かった ($p < 0.05$)。

【図9A】試験した日焼け止め剤のすべてが、マウスをEAEの発症から保護することを示している。

【図9B】試験した日焼け止め剤のすべてが、マウスをEAEの発症から保護することを示している。

【図9C】試験した日焼け止め剤のすべてが、マウスをEAEの発症から保護することを示している。

【図10A-F】試験した日焼け止め剤のすべてがマウスをEAEの発症から保護することを示す。

【発明を実施するための形態】

【0007】

用語

用語「含む(including)」および「含む(comprising)」は、無制限(open-ended)の用語であり、「を含むがこれに限定されない」という意味に解釈されるべきである。これらの用語は、「から本質的になる(consisting essentially of)」および「からなる(consisting of)」というより限定的な用語を包含する。

【0008】

単数形「a」、「an」、および「the」は複数形の言及を含む。同様に、用語「a」(または「an」)、「1つ以上」および「少なくとも1つ」は互換的に使用することができる。用語「含む(comprising)」、「含む(including)」、「によって特徴付けられる(characterized by)」、および「有する(having)」は、互換的に使用することができる。

【0009】

他に定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に具体的に記載された刊行物および特許文書のそれぞれは、刊行物に報告され、本発明に関連して使用され得る化学物質、機器、統計分析および方法論の記載および開示を含むあらゆる目的のためにその全体が参考として援用される。本明細書中に引用された全ての参考文献は、当業者の技術水準を示すものとして解釈されるべきである。本明細書中のいかなるものも、本発明が先行発明のためにそのような開示に先行する権利がないことの承

10

20

30

40

50

認として解釈されるべきではない。

【0010】

本明細書において「有効量」は、未処理の患者と比較して疾患の症状を改善するのに必要とされる量を指す。疾患の治療的処理のために本発明を実施するために使用される活性化化合物の有効量は、投与方法、対象の年齢、体重、および一般的な健康状態に応じて変わる。最終的には、主治医または獣医師が適切な量と投与計画を決定する。そのような量は「有効」量と呼ばれる。

【0011】

本明細書において、特に明記しない限りまたは文脈から明らかでない限り、用語「約 (about)」は、当技術分野における通常の許容範囲内、例えば平均の2標準偏差以内と理解される。文脈から他に明らかでない限り、本明細書に提供される全ての数値は用語「約 (about)」によって修飾される。

10

【0012】

本明細書で使用される用語「多発性硬化症」または「MS」は、脳および脊髄の軸索の周囲のミエリン鞘が損傷し、脱髄および瘢痕化ならびに広範囲の臨床的徴候および症状をもたらす神経系に影響を及ぼす炎症性疾患を指す。MSは、再発/寛解型MS (RRMS)、二次進行型MS、一次進行型MS、および進行性再発型MSを含む様々な疾患サブタイプに分類することができる。再発寛解型サブタイプは、予測不可能な再発とそれに続く数ヶ月から数年の比較的静かな期間 (寛解) を特徴とし、新たな疾患活動性の徴候は見られない。再発寛解型サブタイプは通常、臨床的に孤立した症候群 (CIS) から始まる。CISでは、患者は脱髄を示唆する発作を起こすことがある。多くの場合、CISはMSの発症を示す。

20

【0013】

多発性硬化症の診断は、確立された臨床症状に基づいて確立することができ、臨床症状は当業者に周知である。一の実施形態において、本発明は、症状の発生を軽減することによって、または症状の進行を遅らせるもしくは失速させることによってMSを治療するための組成物を開示する。

【0014】

多発性硬化症の臨床症状としては、視力障害、浮動性めまい、回転性めまい、感覚機能障害、脱力感、協調障害、バランス喪失、疲労、疼痛、神経認知障害、精神的健康障害、膀胱機能障害、腸の機能不全、性的機能不全、熱感受性が挙げられ得る。

30

【0015】

用語「多発性硬化症」はまた、中枢神経系のニューロンの脱髄によって現れる他の任意の自己免疫疾患も指す。MSの発症時に現れる最初の症状は、「MS関連症状」と呼ばれることがある。EAE誘発動物 (MSの動物モデル) におけるMSの症状は、典型的には動物の尾の衰弱および機能不全、それに続くその後足の衰弱および最後にその前足の衰弱であり得る。ヒトでは、そのような最初のMS関連症状は、典型的には、複視、顔面しびれ、顔面衰弱、回転性めまい、吐き気、嘔吐性運動失調、腕の衰弱等であり得る。

【0016】

本明細書で使用される用語「治療すること (treating)」または「治療 (treatment)」は、多発性硬化症の望ましくない症状のいくつかを改善すること、それらが起こる前のそのような徴候の現れの防止、疾患の進行を遅らせるかまたは完全に予防すること (再発エピソード間のより長い期間、症状の悪化の減速または予防などによって明らかになるように)、寛解期間の開始を促進すること、進行性 - 慢性期の病期 (一次期と二次期の両方) で生じる不可逆的な損傷を遅らせること、進行期の開始を遅らせること、または上記のうちの2つ以上の組み合わせを指す。

40

【0017】

本明細書で使用される用語「患者」または「対象」は、哺乳動物対象 (霊長類 (例えば、ヒト)、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット、マウス等) を指し、好ましくは多発性硬化症に関連する状態を有すると疑われるか、罹患しやすいか

50

、または罹患する可能性があるヒト対象を指す。一の実施形態において、本方法は、例えば上述のような任意の症状を伴う、多発性硬化症を患っている患者を治療するために使用することができる。別の実施形態において、本方法は、予備群の患者が多発性硬化症を発症するのを防ぐためにも使用され得る。

【 0 0 1 8 】

本明細書で使用される用語「患者予備群」は、MSを発症しているかまたは発症する危険がある任意のヒトまたは対象を指す。

【 0 0 1 9 】

本明細書で使用される用語「診断すること (diagnosing)」または「診断 (diagnosis)」は、疾患または障害を検出すること、またはMSなどの疾患または障害の病期または程度を決定することを指す。用語「診断 (diagnosis)」はまた、MSを治療するための薬物療法の治療効果を決定すること、またはMSの薬物療法に対する反応のパターンを予測することを包含する。診断方法は独立して、または他の診断および/または特定の疾患または障害 (例えばMS) に関して医学分野で知られている病期分類方法と組み合わせて使用され得る。

10

【 0 0 2 0 】

本明細書で使用される用語「薬学的に許容される」は、治療の必要性に照らして過度に有害な副作用なしに、本明細書に記載の治療を達成するための対象への投与に適した化合物または組成物または担体を指す。

【 0 0 2 1 】

本明細書で使用される用語「治療有効量」または「薬学的に適切な投与量」は、対象、組織または細胞の生物学的または医学的応答を引き出す化合物の量または投与量を指し、それは研究者、獣医師、医師または他の臨床医によって求められる。

20

【 0 0 2 2 】

本明細書において、「薬学的に許容される担体」は、あらゆる乾燥粉末、溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤、吸収遅延剤などを含む。薬学的に許容される担体は、本発明の方法において化合物を投与する目的のために有用な材料であり、これらは、好ましくは非毒性であり、固体、液体、または気体材料であってもよく、あるいは不活性であり薬学的に許容され、そして本発明の化合物と適合性がある材料である。このような材料の例としては、これらに限定されないが、ラクトース、グルコースおよびスクロース等の糖；これらに限定されないが、コーンスターチおよびポテトスターチ等のスターチ；これらに限定されないが、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロース等のセルロースおよびその誘導体；トラガント末；麦芽；ゼラチン；タルク；これらに限定されないが、カカオバターおよび坐剤ワックス等の賦形剤；これらに限定されないが、ラッカセイ油、綿実油、ペニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油およびダイズ油等の油；プロピレングリコールなどのグリコール類；オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチル等であるがこれらに限定されないエステル；寒天；これらに限定されないが、水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウム等の緩衝剤；アルギン酸；パイロジェンフリー水；等張食塩水；リンガー液；エチルアルコール、およびリン酸緩衝液、ならびに、これらに限定されないが、ラウリル硫酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウム等の非毒性適合性潤滑剤、ならびに着色剤、離型剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤および芳香剤、防腐剤および酸化防止剤が、組成物中に存在してもよい。そのような担体のさらなる例として、さまざまなラクトース、マンニトール、トウモロコシ油などの油、PBSなどの緩衝液、食塩水、ポリエチレングリコール、グリセリン、ポリプロピレングリコール、ジメチルスルホキシド、ジメチルアセトアミドなどのアミド、アルブミンなどのタンパク質、Tween 80のような洗剤、グルコースなどの単糖類およびオリゴ糖類、ラクトース、シクロデキストリンおよびデンプンを挙げることができる。

30

40

【 0 0 2 3 】

本明細書で使用される用語「投与すること (administering)」または「投与 (administra

50

tion)」は、治療または予防されるべき疾患または状態に罹患しているかまたはその危険性がある対象に本発明の化合物または医薬組成物を提供することを指す。

【0024】

本明細書で使用される用語「全身送達」は、本発明の化合物を全身的に送達することができる任意の適切な投与方法を指す。一の実施形態において、全身送達は経口投与、非経口投与、鼻腔内投与、吸入器投与、舌下投与、直腸内投与、槽内投与、経皮投与、腔内投与、腹腔内投与、局所投与（粉末、軟膏または滴下による）、頬投与、あるいは経口または経鼻スプレー投与からなる群より選択し得る。本明細書で使用される用語「非経口」は、静脈内、筋肉内、腹腔内、胸骨内、皮下および関節内への注射および注入を含む投与様式を指す。

10

【0025】

一の実施形態において、本組成物または製剤は局所投与することができる。

【0026】

本明細書で使用される用語「局所投与」は、対象の皮膚または粘膜組織の表面上へ本発明の組成物またはキットの成分の局所的な投与を指す。局所投与は局所効果を強調し、そして物質はその活動が望まれるところに直接適用される。しかしながら、時には、局所という用語は、必ずしも物質の標的効果を含むことなく、身体の局所領域または身体部分の表面に適用されると定義され、むしろ適用場所に基づく分類の変形とすることができる。

【0027】

本発明の方法

20

【0028】

本発明は、多発性硬化症の進行を予防または抑制するために、サリチル酸オクチルおよび/またはホモサレート、またはサリチル酸オクチルおよびホモサレートの少なくとも1つを含む組成物を使用する方法を含む。以下の実施例は、本出願人らが、市販の日焼け止め製剤が、MSのマウスモデルであるEAEマウスにおけるEAEの発生率を減少または防止することを観察したことを示す。具体的には、本出願人らは、多発性硬化症(MS)患者またはMS患者予備群をホモサレート、サリチル酸オクチルおよびホモサレートとサリチル酸オクチルの組合せからなる群より選択される組成物で処理すると実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症を予防でき、したがってMSを治療することを証明する。サリチル酸オクチルおよびホモサレートを含む日焼け止め剤の使用とは対照的に、本発明の方法は少なくとも30日間、好ましくは少なくとも60または90日間、前記組成物を毎日使用することを必要とする。さらに、本発明の好ましい投与形態は、局所の日焼け止め剤投与とは対照的な、吸入による経口投与または非経口投与である。

30

【0029】

本発明の方法は、MSを発症する危険性がある一群の対象（例えば、ヒト）を診断し、そしてMS患者またはMSの少なくとも1つの症状を示すMS患者予備群を特定する工程を含む。

【0030】

MS症状の治療に適した対象または患者の同定は、いわゆるSchumacherおよびPoserの基準(Compston A, Coles A, October 2008, Multiple sclerosis. Lancet 372 (9648):1502-17; Trojano M, Paoliceili D, (2001) The differential diagnosis of multiple sclerosis: classification and clinical features of relapsing and progressive neurological syndromes. Neurol, Sci. 22 (Suppl 2):S98-102; Poser CM, Brinar VV (2004) Diagnostic criteria for multiple sclerosis: an historical review. Clin Neurol Neurosurg 108(3):147-58)、または臨床病理学的データ、実験室データ、およびMS病変の時間的空間的多発性の放射線学的データによる実証に焦点を当てたMcDonald基準(Compston A, Coles A, October 2008, Multiple sclerosis. Lancet 372(9648):1502-17; McDonald WI, Compston A, Edan G et al, (2001) Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Ann. Neurol. 50(1):121-7; Polman CH, Re

40

50

ingold SC, Edan G et al, (2005) Diagnostic criteria for multiple sclerosis:2005 revisions to the "McDonald Criteria". Ann. Neurol, 58(6):840-6)等の臨床医によって広く使用されている標準化された診断基準に基づいて行うことができる。

【 0 0 3 1 】

M S用に最も一般的に使用されている診断ツールは、ニューロイメージング、脳脊髄液の分析および誘発電位である。陽性診断では、脳と脊椎の磁気共鳴画像(M R I)で脱髄領域(病変またはプラーク)が認められる。造影剤としてM Sを有する患者に投与されたガドリニウムは、典型的にはこれらの「ホットスポット」または病変に局在し、そしてM R Iの使用により容易に同定され得る。病変のM R Iは、M Sを診断する最も効率的な方法の1つである。新しい病変の発生を測定することも、M Sの進行を監視するための重要かつ効率的な方法である。

10

【 0 0 3 2 】

あるいは、M Sは他の既知の方法で診断することができる。例えば、M S患者は、これらの神経経路の脱髄に起因する視神経(視覚および感覚誘発電位を用いて検査され得る)および感覚神経の刺激に対してあまり活発に反応しない可能性がある(Gronseth GS, Ashman EJ, (2000) Practice parameter: the usefulness of evoked potentials in identifying clinically silent lesions in patients with suspected multiple sclerosis (an evidence-based review): Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. Neurology 54(9):1720-5)。中枢神経系の慢性炎症は脳脊髄液の分析によって証明することができる。脳脊髄液は、M S患者の75~85%に存在するオリゴクローナルバンドで試験される(McDonald WI, Compston A, Edan G et al, (2001) Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Ann. Neurol.50(1):121-7; Link H, Huang YM, (2008) Oligoclonal bands in multiple sclerosis cerebrospinal fluid: an update on methodology and clinical usefulness. J. Neuroimmunol. 180(1-2):17-28)。

20

【 0 0 3 3 】

一の実施形態において、M S患者またはM S患者予備群を診断する方法は、M S症状の重症度のピークの減少、および/または累積疾患指数(C D I)の減少を伴う、M S症状の発症の遅延のうちの1つまたは複数を有する対象を診断または特定するステップを含み得る。

30

【 0 0 3 4 】

患者のM S症状が監視され、その症状の軽減または遅延が検出される。最も好ましくは、対象における新しい病変の発生はM R Iで定期的に(すなわち半年ごとに)監視される。監視され得るさらなる症状には、感覚の変化(感覚低下および感覚異常)、筋力低下、筋肉のけいれん、または移動の障害;協調とバランスの障害(運動失調);言語障害(構音障害)または飲み込み障害(嚥下障害)、視覚障害(眼振、視神経炎、または複視)、疲労、急性または慢性の痛み、および膀胱と腸の障害からなる群より選択されるものが含まれる。さまざまな程度の認知障害およびうつ病または不安定な気分の感情的症状もまた一般的である。障害の進行および症状の重症度に関する一般的な臨床的尺度の1つは、総合障害度尺度、またはE D S Sである。

40

【 0 0 3 5 】

一の実施形態において、患者の症状は視覚障害、浮動性めまい、回転性めまい、感覚機能障害、衰弱、調整に関する問題、バランスの崩れ、疲労、疼痛、神経認知障害、精神障害、膀胱機能障害、腸の機能不全、性的機能不全、熱感受性、筋力低下/しびれ、および/または麻痺を含み得る。

【 0 0 3 6 】

一の特定の実施形態において、患者の症状は麻痺を含む。

【 0 0 3 7 】

別の実施形態において、患者の症状は筋力低下/しびれを含む。

50

【 0 0 3 8 】

E A E (実験的 自己免疫性脳脊髄炎、あるいは実験的アレルギー性脳脊髄炎) は、有用な治療薬の開発に成功している中枢神経系 (C N S) の脳炎症および脱髄疾患の動物モデルである。マウスモデルは、多発性硬化症および急性散在性脳脊髄炎 (A D E M) を含むヒト C N S 脱髄疾患の動物モデルとして広く研究されている。

【 0 0 3 9 】

日焼け止め剤中に見られる成分を比較した後、本出願人らは、成分中のいくつかの可能性のある違いを確認し、次いで有効な日焼け止め剤中の 4 つの活性成分：アポベンゾン、オキシベンゾン、ホモサレートおよびサリチル酸オクチルに絞り込んだ。本出願人らは、疾患の誘発後にこれらの 4 つの化合物のそれぞれで E A E マウスを処理し、そして疾患の進行をモニターした。アポベンゾンおよびオキシベンゾンは疾患の進行をわずかに抑制したが、ホモサレートおよびサリチル酸オクチルはほぼ完全に E A E 発症を予防した。

10

【 0 0 4 0 】

一の実施形態において、本発明は、M S 患者または M S 患者予備群を特定するステップ、および、サリチル酸オクチル、ホモサレートおよびサリチル酸オクチルとホモサレートの混合物からなる群より選択される有効量の化合物によって患者を治療するステップを含む、M S 患者を治療する方法であり、M S 症状が軽減または消失する方法である。以下に開示するように、サリチル酸オクチル、ホモサレート、またはサリチル酸オクチルとホモサレートの混合物の量は、日焼け止め剤を使用する個人に適用される量とは異なる。

【 0 0 4 1 】

別の実施形態において、疾患の症状の進行は遅くなるか停止する。

20

【 0 0 4 2 】

一の実施形態において、M S 患者または M S 患者予備群を特定するステップは、上述したような任意の特定方法および / または当業者に知られている任意の他の方法を含み得る。

【 0 0 4 3 】

例えば、M S 患者または M S 患者予備群に典型的な症状の 1 つを監視することによって、M S 患者または M S 患者予備群を特定することができる。

【 0 0 4 4 】

一の実施形態において、視覚障害、浮動性めまい、回転性めまい、感覚機能障害、衰弱、調整に関する問題、バランスの崩れ、疲労、疼痛、神経認知障害、精神障害、膀胱機能障害、腸の機能不全、性的機能不全、熱感受性、筋力低下 / しびれ、および / または麻痺を含む 1 つまたは複数の症状を監視することができる。

30

【 0 0 4 5 】

特定の一の実施形態において、監視する症状は麻痺を含む。

【 0 0 4 6 】

特定の一の実施形態において、監視する症状は麻痺である。

【 0 0 4 7 】

別の実施形態において、監視する症状は筋力低下 / しびれを含む。

【 0 0 4 8 】

別の実施形態において、監視する症状は筋力低下 / しびれである。

40

【 0 0 4 9 】

一の実施形態において、本願は、患者における多発性硬化症の進行を予防または抑制するために、サリチル酸オクチルおよびホモサレートの少なくとも 1 つを含む組成物または製剤を使用する。

【 0 0 5 0 】

一の実施形態において、本出願は、患者の多発性硬化症の進行を治療、予防または抑制するための唯一の活性化合物として、サリチル酸オクチルおよびホモサレートの少なくとも 1 つを含み得る。

【 0 0 5 1 】

50

別の実施形態において、本出願は、患者の多発性硬化症の進行を治療、予防または抑制するための、サリチル酸オクチルおよびホモサレートの少なくとも1つを他の活性化化合物と共に含み得る。

【0052】

一の実施形態において、標的患者は、哺乳動物対象（霊長類（例えば、ヒト）、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット、マウスなど）、またはヒトであり得る。一の実施形態において、患者は好ましくはヒトである。

【0053】

一の実施形態において、ヒト対象の患者は、多発性硬化症に関連する状態を有すると疑われるか、罹患しやすいか、または罹患する可能性がある。

10

【0054】

一の実施形態において、本出願は、MS患者またはMS患者予備群を特定するステップを含む。例えば、本出願のためのMS患者またはMS患者予備群は、視覚障害、浮動性めまい、回転性めまい、感覚機能障害、衰弱、調整に関する問題、バランスの崩れ、疲労、疼痛、神経認知障害、精神障害、膀胱機能障害、腸の機能不全、性的機能不全、熱感受性、筋力低下/しびれ、および/または麻痺を含む1つまたは複数の症状を監視することによって特定され得る。

【0055】

一の実施形態において、MS患者またはMS患者予備群を特定するステップは、麻痺または筋力低下/しびれの症状を監視することによるものである。

20

【0056】

一の実施形態において、MS患者またはMS患者予備群を特定するステップは、麻痺の症状を監視することによるものである。

【0057】

一の実施形態において、MS患者またはMS患者予備群を特定するステップは、筋力低下/しびれの症状を監視することによるものである。

【0058】

一の実施形態において、治療の評価を目的として、治療プロセス中に患者の症状をモニターし続けることができる。例えば、麻痺または筋力低下/しびれなどの患者の症状を治療中にモニターして、患者の治療を評価することができる。一例として、治療の成功は、治療後にMS症状の発生が減少するか、または症状の進行が遅くなるかまたは停止したときに示される。

30

【0059】

MS患者またはMS患者予備群が特定された後、MS患者またはMS患者予備群は、ホモサレート、サリチル酸オクチル、およびホモサレートとサリチル酸オクチルの組合せからなる群より選択される物質を含む治療有効量の組成物または製剤で治療される。

【0060】

一の実施形態において、ホモサレート、サリチル酸オクチル、およびホモサレートとサリチル酸オクチルの組合せからなる群より選択される物質が、本出願で使用される唯一の活性物質である。したがって、MS患者またはMS患者予備群は、ホモサレート、サリチル酸オクチル、およびホモサレートとサリチル酸オクチルの組合せからなる群より選択される治療有効量の物質で治療される。

40

【0061】

別の実施形態において、ホモサレート、サリチル酸オクチル、およびホモサレートとサリチル酸オクチルの組合せからなる群より選択される物質を活性物質の1つとして使用し得る。したがって、MS患者またはMS患者予備群は、ホモサレート、サリチル酸オクチル、およびホモサレートとサリチル酸オクチルの組み合わせからなる群より選択される物質を含む治療有効量の組成物または製剤で治療される。

【0062】

組成物または製剤はさらに、任意の薬学的に許容される担体、薬学的に許容される無菌

50

の水溶液または非水溶液、分散剤、懸濁剤もしくは乳剤、防腐剤などの補助剤、湿潤剤、乳化剤および分散剤、または他の必要な物質を含み得る。

【 0 0 6 3 】

一の実施形態において、組成物または製剤は、固体剤形または液体剤形のいずれかである。

【 0 0 6 4 】

液体剤形は、薬学的に許容される乳剤、液剤、懸濁剤、シロップ剤およびエリキシル剤を含み得る。活性化合物に加えて、液体剤形は、例えば水または他の溶媒、可溶化剤および乳化剤、例えばエチルアルコール、イソプロピルアルコール、エチルカーボネート、エチルアセテート、ベンジルアルコール、ベンジルベンゾエート、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油（特に綿実油、落花生油、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油およびゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコール、ならびにソルビタンの脂肪酸エステルおよびそれらの混合物などの当技術分野で一般的に使用される不活性希釈剤を含み得る。

10

【 0 0 6 5 】

固体剤形は、カプセル剤、錠剤、丸剤、散剤、および顆粒剤を含み得る。特定の実施形態において、固体剤形は、1%から95% (w/w) の本発明の化合物を含み得る。特定の実施形態において、本発明の化合物またはその薬学的に許容される塩は、5%から70% (w/w) の範囲で固体剤形中に存在し得る。そのような固体剤形では、活性化合物は、クエン酸ナトリウムまたはリン酸二カルシウム、および/または、a) デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトールおよびケイ酸等の充填剤または増量剤、b) カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロースおよびアラビアゴム等の結合剤、c) グリセロール等の湿潤剤、d) 寒天、炭酸カルシウム、ポテトまたはタピオカデンプン、アルギン酸、ある種のケイ酸塩、および炭酸ナトリウム等の崩壊剤、e) パラフィン等の溶解遅延剤、f) 4級アンモニウム化合物等の吸収促進剤、g) セチルアルコールおよびグリセロールモノステアレート等の湿潤剤、h) カオリンおよびベントナイト粘土等の吸収剤、i) 潤滑剤、例えばタルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウムおよびそれらの混合物等の少なくとも1つの不活性な薬学的に許容される担体と混合し得る。カプセル剤、錠剤および丸剤の場合、剤形は緩衝剤も含み得る。

20

30

【 0 0 6 6 】

本明細書に記載の化合物および製剤の局所投与用の剤形には、散剤、スプレー剤、軟膏剤、および吸入剤が含まれる。活性化合物は、滅菌条件下で薬学的に許容される担体および必要とされ得る任意の必要な防腐剤、緩衝剤または噴射剤と混合し得る。眼科用製剤、眼軟膏剤、粉末剤および液剤もまた本発明の範囲内であると考えられる。

【 0 0 6 7 】

本発明の化合物はまた、徐放形態によって、または徐放薬物送達システムによって投与し得る。

【 0 0 6 8 】

一の実施形態において、化合物、組成物および製剤は、経口投与、非経口投与、鼻腔内投与、吸入器投与、舌下投与、直腸内投与、槽内投与、経皮投与、腔内投与、腹腔内投与、局所投与（粉末、軟膏または滴下により）、頬投与、あるいは経口または経鼻スプレー投与からなる群より選択し得る。

40

【 0 0 6 9 】

一の実施形態において、化合物、組成物および製剤は、経口、非経口または局所的方法によって投与し得る。

【 0 0 7 0 】

一の実施形態において、化合物、組成物および製剤は局所投与することができる。

【 0 0 7 1 】

50

いくつかの実施形態において、ホモサレートおよび/またはサリチル酸オクチルに関する本発明の用量は、少なくとも約0.1 g/kg体重である。他の実施形態において、ホモサレートおよび/またはサリチル酸オクチルに関する本発明の用量は、少なくとも約0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1.0、1.05、1.1、1.15、1.2、1.25、1.3、1.35、1.4、1.45、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5または15 g/kg体重である。さらなる実施形態において、ホモサレートおよび/またはサリチル酸オクチルに関する本発明の用量は、約0.5 ~ 約15 g/kg体重の間である。他の実施形態において、ホモサレートおよび/またはサリチル酸オクチルに関する本発明の用量は、約0.5 ~ 14、1 ~ 10、2 ~ 10、1 ~ 8、1 ~ 5または0.5 ~ 2 g/kg体重である。

10

【0072】

一の実施形態において、ホモサレートおよび/またはサリチル酸オクチルは、上述のように組成物または製剤中の唯一の活性成分として投与される。例えば、ホモサレートおよび/またはサリチル酸オクチルの組成物は、MS患者または予備群の患者に投与し得る。ホモサレートおよび/またはサリチル酸オクチルの組成は、任意の薬学的に許容される担体、薬学的に許容される無菌の水溶液または非水溶液、分散剤、懸濁液または乳濁液、防腐剤などの補助剤、湿潤剤、乳化剤および分散剤、または他の必要な物質等の、他の成分と組み合わせることができる。

20

【0073】

一の実施形態において、本出願人は、ホモサレートおよび/またはサリチル酸オクチルを、MSを治療するための複数の活性成分のうちの一つとして投与することができることを考える。例えば、本出願人は、ホモサレートおよび/またはサリチル酸オクチルが、シクロオキシゲナーゼ(COX)阻害剤等の、他のMS治療プロトコルと共に使用され得ることを想定している。

【0074】

一の実施形態において、MSを治療するために上述の化合物、組成物および製剤を使用する方法は用量依存的である。例えば、MSのより良い治療を達成するために、0.8、0.85、0.9、0.95、1.0、1.05、1.1、1.15、1.2、1.25、1.3、1.35、1.4、1.45、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5または15 g/kg体重の、ホモサレートおよび/またはサリチル酸オクチルのいずれかを、MS患者またはMS患者予備群に投与し得る。

30

【0075】

好ましくは、1.0、1.05、1.1、1.15、1.2、1.25、1.3、1.35、1.4、1.45、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5または15 g/kg体重のホモサレートおよび/またはサリチル酸オクチルを、MS患者またはMS患者予備群に投与し得る。

40

【0076】

図8A、8B、8Cおよび8Dは、ホモサレート(HS)およびサリチル酸オクチル(OS)によるEAEの用量依存的抑制を示す。図8Aおよび8B：マウスを様々な用量(10、20および30 μ lまたは0.5、1.0、1.5 g/kg)のホモサレートまたはサリチル酸オクチルで局所的に処理した。平均スコア(図8A)および体重(図8B)を記録した。図8Cおよび8D、マウスを様々な時点においてホモサレート(30 μ lまたは1.5 g/kg)で局所的に処理した。毎日の平均スコア(図8C)および体重(図8D)を記録した。データを平均値として表す。図8Aでは、全ての処理群が対照と有意

50

に異なっていた ($p < 0.05$)。図 8 B では、ホモサレート 0.5 g/kg を除く全ての処理群が対照と有意に異なっており ($p < 0.05$)；図 8 C および 8 D では、毎日および 2 日ごとのホモサレートの平均スコアが対照よりも有意に低かった ($p < 0.05$)。

【0077】

好ましい患者

本発明の好ましい患者は、以下の自律神経症状、視覚症状、運動症状、または感覚症状のうちの少なくとも 1 つを示す MS 患者である：敏感さの喪失またはチクチクするような感覚の変化、しびれ、筋力低下、非常に顕著な反射神経、筋肉のけいれん、または移動の障害；協調とバランスの障害（運動失調）；言語または飲み込み障害、視覚障害（眼振、視神経炎、または複視）、疲労感、急性または慢性の痛み、膀胱と腸の障害、思考の混乱、うつ病や不安定な気分などの感情的な障害、ウートフ現象（通常よりも高い温度にさらされることによる症状の悪化）またはレルミット徴候（首を曲げたときに背中を走る電気感覚）。

10

【0078】

従来の MS モニタリンググループリックを使用することによって治療結果を測定することも望まれ得る。例えば、身体障害および重症度は、総合障害度尺度（EDSS）または多発性硬化症機能評価によって測定することができる。磁気共鳴はまた、神経系における新しい病変の減少を示すためにも使用され得る。

【0079】

「症状」の定義は、これらすべてのパラメータを含む。

20

【0080】

本発明の別の好ましい患者は、MS を発症する危険性がある患者、または「患者予備群」である。

【0081】

好ましい患者は、小児科患者、高齢者患者または成人患者であり得る。好ましい患者は男性でも女性でもよい。

【0082】

好ましい治療用組成物

本発明の方法は、患者を、サリチル酸オクチル、ホモサレートまたはこれらの組み合わせに暴露することを必要とする。

30

【0083】

サリチル酸オクチル；サリチル酸 2 - エチルヘキシル；2 - エチルヘキシル - 2 - ヒドロキシベンゾエート；サリチル酸エチルヘキシル；2 - エチルヘキシルエステルサリチル酸；サリチル酸 2 - エチルヘキシルエステル；2 - ヒドロキシ - 安息香酸 2 - エチルヘキシルエステル；2 - ヒドロキシ - 安息香酸 2 - エチルヘキシルエステル；2 - ヒドロキシ - 2 - エチルヘキシルエステル安息香酸；またはオクチサレートは、サリチル酸と 2 - エチルヘキサノロフテンとの縮合によって形成されるエステルであり、日焼け止めや化粧品の成分として使用され、太陽からの UVB（紫外線）を吸収する。それは一般的にわずかな花の匂いを伴う無色の油性液体として見出される。サリチル酸オクチルは、Spectrum Chemical MFG Corp. から入手することができる。（ニューブランズウィック、NJ）。

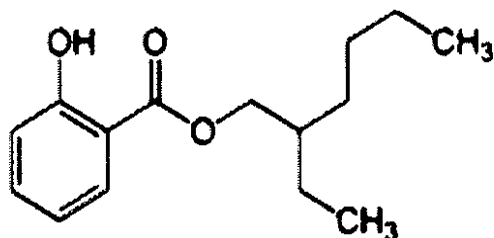
40

【0084】

分子のサリチル酸部分は紫外線を吸収して、日光への暴露の有害な影響から皮膚を保護する。エチルヘキサノール部分は脂肪アルコールであり、皮膚軟化および油様（耐水性）特性を付加する。

【0085】

【化1】



【0086】

ホモサレート、すなわち3,3,5-トリメチルシクロヘキシル2-ヒドロベンゾエートは、サリチル酸とシクロヘキサノールの誘導体である3,3,5-トリメチルシクロヘキサノールから形成されるエステルである。この化合物は、米国の日焼け止め剤の45%に含まれており、化学UVフィルターとして使用されることもある。分子のサリチル酸部分は、295 nmから315 nmまでの波長を持つ紫外線を吸収し、日焼けによるダメージから肌を守る。疎水性シクロヘキサノール部分は、それが水中に溶解するのを防止するグリース性を提供する。

10

【0087】

ホモサレートは、Spectrum Chemical MFG Corp.から入手することができる。(ニューブランズウィック、NJ)。

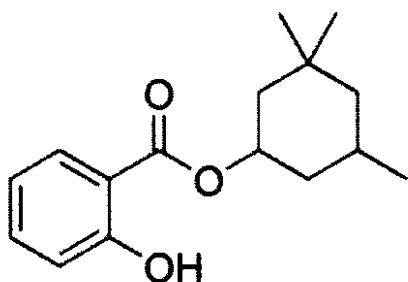
【0088】

ホモサレートの式を以下に示す。

20

【0089】

【化2】



30

【0090】

好ましい投与方法

化合物は様々な投与形態で患者に導入し得る。好ましい投与は、局所投与、静脈内投与、経口投与、非経口投与、または吸入による投与であり得る。他の投与様式もまた本発明の範囲内となるだろう。

【0091】

以下の実施例は、ホモサレートについては1日あたり1.5 g/kg、サリチル酸オクチルについては1日あたり0.5 g/kgのマウスモデルにおける有効局所投与量を開示している。対応するヒト用量は、0.1~5 g/体重1 kgの範囲であろう。ホモサレートについては、0.1~2 g/kg体重、サリチル酸オクチルについては0.1~1 g/kg体重の有効用量範囲と予測される。

40

【0092】

経口投与、吸入投与または非経口投与量は、一般的には局所投与量と同様であろう。

【0093】

好ましい用量は、化合物の有効全身濃度を達成するであろう。

【0094】

(実施例1)

材料と方法

50

動物と食事。Jackson Laboratoryから購入した雌性C57BL/6マウス(8~9週齢)に、標準的な実験室用飼料固形飼料5008(Purina Mills、リッチモンド、IN)を与え、生化学部門の動物施設で飼育した。マウスを12時間の明暗サイクルに曝した。すべての手順は、ウィスコンシン大学マディソン校の農学および生命科学学部の研究動物資源委員会によって承認された。異なる処理をするためにマウスを無作為に群に分けた(12匹のマウス/群)。

【0095】

日焼け止めと有効成分の処理

日焼け止め剤またはNBUB放射線を受けるためにマウスの背中を剃毛した。以下の日焼け止めクリームまたはスプレーを我々の研究で使用した(付録A参照)。1. Coppertoneスプレー(SPF50、MSD Consumer Care, Inc.、メンフィス、TN); 2. Coppertone water babies(SPF50、MSD Consumer Care, Inc.、メンフィス、TN); 3. Hawaiian Tropic(SPF50、Energizer Personal Care, LLC、シエルトン、CT); 4. Kiss my face(SPF50、Kiss My Face, LLC、ガーディナー、NY); 5. Blue Lizard Australian Sunscreen(SPF30、Crown Laboratories、ジョンソン、TN); 6. Banana Boat Kids(SPF50、Energizer Personal Care, LLC、シエルトン、CT); 7. CoTZ Face(SPF40、CoTZ Skincare、ウエストノーリントン、PA)。実験スケジュールに応じて、日焼け止めを手で塗って剃毛した皮膚を毎日覆った。4つの主な活性成分(アボベンゾン; オキシベンゾン; ホモサレート; サリチル酸オクチル)は、Spectrum Chemical MFG Corp.から購入した。(ニューブランズウィック、NJ)。各マウスの皮膚に局所投与された各成分の総用量は、日焼け止め剤中の成分の量に等しかった。

【0096】

ナローバンドUVB(NBUB)処理

NBUB処理のために、4つのTL20W/01 UVB 311ナローバンド2Ft電球(311nm~313nmを中心とする波長、Amjo Corp、ウエストチェスター、OH)のセットを使用した。302nmセンサーを備えたUV放射計(UVPLLC、アップランド、CA)を用いて放射出力を測定した。免疫処理前7日目から免疫処理後30日目まで毎日マウスにUVを照射するためにマウスを16室のプレキシガラスケージに入れた。実験中の不均一なUV照射を避けるために、各マウスを異なるチャンバー内でローテーションさせた。

【0097】

EAEの誘導

この実験では、マウスをミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質ペプチド(MOG)₃₅₋₅₅により免疫処理した。MOG₃₅₋₅₅キット(EK-2110)は、Hooke Lab(ローレンス、MA)から購入した。各マウスを、20μlのMOG₃₅₋₅₅/CFAエマルジョンの皮下注射および滅菌PBSで希釈した200ngの百日咳毒素(List Biological Laboratories)の腹腔内注射により免疫処理を行った。2回目の百日咳毒素追加注射を48時間後に行った。以下の尺度を用いて、各マウスを毎日、EAEの臨床徴候についてスコア付けした。0、臨床疾患なし。1、尾の緊張の損失。2、非定常歩行。3、後肢麻痺。4、前肢麻痺。5、死。

【0098】

統計分析

臨床徴候が現れて少なくとも2日間継続した最初の日を平均することによって発症を判断した。実験全体の間、臨床スコアを平均することによって平均重症度を決定した。CDI(臨床疾患指数)は、各動物における臨床スコアを合計し、群あたりのマウスの数で割ることによって計算した。発生率については両側フィッシャーの正確確率検定、臨床スコ

10

20

30

40

50

アについてはマンホイットニーのノンパラメトリックu検定、その他すべての測定値については対応のないスチューデントt検定を用いて統計解析を行った。P < 0.05の値を統計学的に有意と見なした。

【0099】

結果

焼け止め剤は異なるレベルで保護するが、図9A、9B、9C、10A、10B、10C、10D、10E、および10Fは、EAEの発症からのマウスに対する様々な日焼け止め剤の保護効果を示す。個々の日焼け止め成分の試験は、ホモサレートおよびサリチル酸オクチル成分が保護を提供することを実証する。

【0100】

図1によると、我々のデータは、日焼け止め剤の局所適用がマウスをEAE進行から保護することを実証している。マウスは、MOG₃₅₋₅₅/CFAエマルジョンで免疫処理した後に、日焼け止め剤、NBUVBまたは両方の局所投与を受けた。実験全体を通して、各マウスをEAE後に毎日採点した。データは平均値、N = 10 ~ 12 / 群として表す。

【0101】

図2Aおよび2Bを参照して、異なる日焼け止め成分を分析した。アボベンゾンとオキシベンゾンはマウスのEAE重症度を部分的に抑制する。マウスを毎日の局所投与により、日焼け止めの成分(アボベンゾン、オキシベンゾン、またはそれらの組み合わせ)で処理した(0日目~30日目)。日焼け止めスプレー200µlも陽性対照として使用した。各マウスを毎日採点し、実験中(30日間)毎週体重を測定した。データは平均値、N = 10 ~ 12 / 群として表す。

【0102】

図3Aおよび3Bによると、日焼け止め成分(ホモサレートおよびサリチル酸オクチル)は、体重に影響を与えることなく、マウスにおけるEAE発生を劇的に抑制する。EAEの間(0日目~30日目)、毎日局所投与することによって、マウスに日焼け止め剤の成分(ホモサレート、サリチル酸オクチルまたは組み合わせ)を投与した。1日200µlの日焼け止めスプレーを陽性対照として使用した。マウスを毎日採点し、毎週体重を測定した。データは平均値、N = 10 ~ 12 / 群として表す。

【0103】

以下の表1は、EAEマウスに対する異なる日焼け止め成分の効果をまとめたものである。

【0104】

【表1】

処理	発生率	発症日	平均重症度	CDI
対照	100% (12/12)	16±1	2.5±0.8	42±1
ホモサレート	8% (1/12)*	22±0*	1.3±0.0*	1±0*
サリチル酸オクチル	75% (9/12)	18±3*	2.0±0.8*	20±1*
ホモ+オクチル	0% (0/12)*	0±0*	0.0±0.0*	0±0*
日焼け止め剤	0% (0/11)*	0±0*	0.0±0.0*	0±0*

データは平均値±SDとして表した。
N = 11 ~ 12。*対照に対してP < 0.05。

【0105】

(実施例2)

日焼け止め剤中に見いだされるサレート誘導体は、マウスにおける実験的自己免疫性脳脊髄炎を阻止する。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 6 】

要約

紫外線（UV）は、マウスの実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE、MSの動物モデル）を抑制し、赤道地域におけるMSの発生率の低下の原因となる可能性がある。

【 0 1 0 7 】

この概念をさらに試験するために、我々は市販の日焼け止め製剤をマウスに適用してからUVに曝した。驚くべきことに、いくつかの日焼け止め製剤はUVなしでEAEを遮断した。さらに、様々な日焼け止め製剤は、EAEを抑制する可変能力を有していた。最も効果的な薬剤の成分を調べることにより、ホモサレートとサリチル酸オクチルがEAEの抑制に関与する成分であることがわかった。したがって、サレートはMSの進行を止めるのに役立つ可能性があり、自己免疫疾患を制御するメカニズムへの新しい洞察を提供するかもしれない。

10

【 0 1 0 8 】

意義

【 0 1 0 9 】

多発性硬化症（MS）は、管理が難しく治癒しない自己免疫疾患である。我々は、ある種の特定の日焼け止め製剤が、広く使用されているMSの動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）の発症を予防できることを発見した。日焼け止め製剤中のサレートエステルは、EAEを予防する原因であることが判明した。このことは、サレートエステルがMSの症状の予防に価値があることを示唆している。

20

【 0 1 1 0 】

序論

【 0 1 1 1 】

多発性硬化症（MS）は中枢神経系（CNS）の慢性炎症性自己免疫疾患であり、世界中で250万人が罹患している（1）。1974年に、AgranoффとGoldbergは、MSの発生率が両半球における日光曝露に反比例することを観察した（2）。Goldbergは、日光への曝露によって引き起こされるビタミンD産生の増加がMSの発生率の低下の原因である可能性を示唆した（3）。しかし、より最近の結果ではこの仮説の通りではなく、代わりに300 - 315ナノメートルのUVB光のナローバンド（NB UVB）がMSの動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）を抑制することが示されている（4）。このナローバンドの光は7-デヒドロコレステロールからのビタミンDの合成を引き起こさない（5）。我々の研究の過程で、我々はNB UVBによるEAEの抑制を防ぐのではないかと予測し、市販の日焼け止め剤を使用した。予想外にも、いくつかの日焼け止め剤自体がUVなしでEAEを完全に防いだ。さらに、市販の日焼け止め製剤は、EAEを抑制するそれらの能力において大きく異なっていた。製剤の成分を調べることにより、我々は2つの成分がEAEの抑制に関与していることを見出した。これらの2つの成分はサリチル酸エステル、すなわちホモサレートおよびサリチル酸オクチルである。我々は今これらの調査結果を報告する。

30

【 0 1 1 2 】

結果

【 0 1 1 3 】

日焼け止め剤（Coppertoneスプレー）の局所適用は、EAEの発症を完全に抑制した。

40

【 0 1 1 4 】

マウスをNB UVBで処理した場合、平均疾患重症度は以前の研究と同様に劇的に減少した（図4A）。NB UVBより前の日焼け止め剤適用は、NB UVBによる抑制を妨げなかった（図4Aおよび4C）。これらの動物において観察された体重変化は、疾患の結果において一貫していた（図4B）。驚くべきことに、日焼け止め自体の局所投与は完全にEAEを防止した（図4C）。

【 0 1 1 5 】

50

市販の日焼け止め剤は、EAEを抑制するそれらの能力において著しく異なる。

【0116】

6つのブランドの日焼け止め剤をEAEで試験したところ、4つのブランド(HAWAIIAN TROPIC、COPPERTONE、KISS MY FACE、BLUE LIZARD)のみが有意な抑制を生じ(図5A)、残りの2つのブランドの日焼け止め剤(BANANA BOAT、COTZ FACE)は効果がなかった(図5A)。日焼け止め剤の効果が単に全波長の全遮断を妨げなかった、ということを確認するために、遮光下(7~30日)での試験を行ったが、それがいつ開始されたかにかかわらずEAEに影響を及ぼさなかった(図5B)。興味深いことに、追加の試験は、免疫処理時に日焼け止め剤の適用が必要であることを示した(図6A)。免疫処理前またはその時点で日焼け止め剤による処理を受けているマウスでは、体重はわずかではあるが有意に高かった(図6B)。日焼け止め剤による疾患の抑制は用量依存的であり(図6C)、体重の増加は疾患の改善と関連していた(図6D)。

10

【0117】

ホモサレートおよびサリチル酸オクチルが、EAE抑制を引き起こした成分であった；アポベンゾンおよびオキシベンゾンはEAEのほんのわずかな抑制をもたらした。

【0118】

30 μ lのホモサレート(1.5g/kg)および10 μ lのサリチル酸オクチル(0.5g/kg)の用量が、Coppertonスプレー日焼け止め剤によって送達される量であると計算された。この量をマウスに適用した。陽性対照として、200 μ lの日焼け止めスプレー(ホモサレート15%、サリチル酸オクチル5%を含有)をEAEマウスに適用した。結果は、ホモサレートのみ、およびホモサレートとサリチル酸オクチルの組み合わせが、EAEの重症度を劇的に抑制することを示した(図7Cおよび表1)。0.5g/kgの用量のサリチル酸オクチルは中程度の抑制を生じたが、統計的有意性には達しなかった(図7Cおよび表1)。疾患の程度は体重に反映されていた(図7D)。他の2つの成分(アポベンゾンおよびオキシベンゾン)およびその組み合わせは、EAEの有意な抑制をほとんどまたは全く生じず(図7A)、体重の有意な変化を生じなかった(図7B)。

20

【0119】

ホモサレートとサリチル酸オクチルの抑制は用量依存的であった。3つの異なる投与量(0.5、1.0、1.5g/kg)で試験したとき、ホモサレートおよびサリチル酸オクチルは両方も用量依存的なEAEの抑制を示した(図8A)。ホモサレートの最低用量を除いて、全ての治療は体重を増加させた(図8B)。ホモサレートを毎日よりも少ない頻度で適用した場合、その有効性は減少した(図8Cおよび8D)。

30

【0120】

考察

【0121】

UV、特にナローバンドUVはEAEを抑制できるため、日焼け止めクリームがUVなしでもEAEの発症を予防できることを発見したのは驚くべきことであった。詳細に調べると、すべての日焼け止め製剤がこの性質を有するわけではないことが明らかになった。さらに、光が完全になくなってもEAEに影響はなかった。したがって、我々は有効な日焼け止め製剤の成分に注目した。有効な日焼け止め製剤によるEAEの抑制は、2つのサレートエステル、すなわちホモサレートおよびサリチル酸オクチルに起因していた。直接試験したところ、両方のサレートはEAEの抑制において約1.5g/kgで同等に有効であった。これらの化合物は、UVを遮断または吸収することによって作用していない可能性がある。マウスを完全に光の当たらない状態に保つだけでは、EAEの発症には影響しなかった。さらに、日焼け止め剤として有効ないくつかの日焼け止め剤はEAEを抑制しない。サレートエステルを含む日焼け止め剤だけが効果的であり、サレート自体は明らかにEAEを防止する。ホモサレートとサリチル酸オクチルの唯一の悪影響は、一時的な軽度の皮膚刺激である。EAEを完全に遮断した1.5g/kgのホモサレートの局所投

40

50

与量は、未発表の急性経皮毒性を下回っている（ウサギではLD50 > 5 g / kg）。

【0122】

ホモサレートおよびサリチル酸オクチルの局所投与によるEAEの完全な抑制は新規の発見である。サリチル酸塩はよく知られている非ステロイド系抗炎症薬（NSAID）である（6）。ホモサレートの抗炎症作用は、マウスの耳浮腫試験を用いた別の研究でも実証されている（7）。関連化合物である、アスピリン（アセチルサリチル酸、ASA）は、伝統的な抗炎症薬である（8）。アスピリンとMSの関係は1961年に研究されたが、対照群と処理群との間に有意差はなかった（9）。アスピリンとMSの開発に関する直接的な研究はない。シクロオキシゲナーゼ（COX）阻害は、NSAIDの主要なメカニズムである（10）。COX-2はMS病変で観察されている（11）。最近、シクロオキシゲナーゼ（COX）阻害剤がEAEの有意な抑制を示した（12、13）。どのようにしてサレートがEAEを予防するかについての説明ができないのは明らかである。しかし、この所見はメカニズムだけでなくMSの治療への新しいアプローチを探る明確な機会を提示する。

10

【0123】

材料および方法

動物の管理。Jackson Laboratory（バーハーバー、ME）から購入した雌C57BL/6マウス（8～10週齢）に標準実験用飼料5008（Purina Mills、リッチモンド、IN）を与えた。マウスを12時間の明暗サイクルに曝した。一実験において、動物を常に暗所に置いた。すべての手順は、ウィスコンシン大学マディソン校の農学および生命科学学部の施設内動物管理使用委員会によって承認された。

20

【0124】

EAE誘導

【0125】

マウスをMOG₃₅₋₅₅キット（EK-2110、Hooke Lab（ローレンス、MA）から購入）により免疫処理した。各マウスを、20 μlのMOG₃₅₋₅₅/CFAエマルジョンの皮下注射および無菌PBSで希釈した200 ngの百日咳毒素（List Biological Laboratories）の腹腔内注射により免疫処理した（14）。48時間後に2回目の百日咳毒素追加注射を行った。以下の尺度を用いて、各マウスを毎日、EAEの臨床徴候についてスコア付けした（15）：0、臨床疾患なし。1、尾の緊張の損失。2、非正常歩行。3、後肢麻痺。4、前肢麻痺。5、死。

30

【0126】

日焼け止め剤および有効成分による処理

【0127】

マウスの剃毛した背中 of the 皮膚に毎日局所適用した日焼け止めクリームまたはスプレーを以下に示す（表2）。1. BANANA BOAT KIDS（SPF50、EnerGizer Personal Care, LLC、シエルトン、CT）；2. BLUE LIZARD AUSTRALIAN SUNSCREEN（SPF30、Crown Laboratories、ジョンソン、TN）；3. COPPERTONE SPRAY（SPF50、MSD Consumer Care, Inc.、メンフィス、TN）；4. COTZ FACE（SPF40、CoTZ Skincare、ウエストノーリントン、PA）；5. HAWAIIAN TROPIC（SPF50、EnerGizer Personal Care, LLC、シエルトン、CT）；6. KISS MY FACE（SPF50、Kiss My Face, LLC、ガーディナー、NY）。各日焼け止め剤を剃毛した皮膚を覆うように毎日適用した（100～200 μL）。アポベンゾン、オキシベンゾン、ホモサレート、およびサリチル酸オクチルは、Spectrum Chemical MFG Corp. から購入した（ニューブランズウィック、NJ）。アポベンゾンおよびオキシベンゾンはDMSOで溶解した。ホモサレートとサリチル酸オクチルは直接適用した。各マウスの皮膚に局所投与した各成分の総用量は、それぞれの日焼け止め剤によって提供された量に等しかった。

40

50

【 0 1 2 8 】

【表 2】

試験した日焼け止め剤のブランド

商標名	SPF	活性成分	
Banana Boat Kids	50	二酸化チタン3.1%、酸化亜鉛4.0%	
Blue Lizard	30	オクチノキサート7.5%、オクチクリレン2.0%、オキシベンゾン3.0%、酸化亜鉛6.0%	10
Coppertone (スプレー)	50	アボベンゾン3.0%、ホモサレート15.0%、サリチル酸オクチル5.0%	
CoTZ Face	40	二酸化チタン8.0%、酸化亜鉛3.8%	
Hawaiian Tropic	50	アボベンゾン2.7%、ホモサレート8.0%、サリチル酸オクチル4.5%、オクチクリレン5.0%	
Kiss My Face	50	アボベンゾン4.0%、ホモサレート5.0%、オクチノキサート 7.5%、サリチル酸オクチル 5.0%、酸化亜鉛1.7%	20

【 0 1 2 9 】

ナローバンドUVB (NB UVB) 処理

【 0 1 3 0 】

NB UVB 処理のために、4つのTL 20 W / 0 1 UVB 3 1 1 ナローバンド 2 f t 電球 (3 1 1 - 3 1 3 nm を中心とする波長、Amj o Corp、ウエストチェスター、OH) のセットを毎日、1 0 K J / m² で使用した (1 4) 。 3 0 2 nm センサーを備えたUV放射計 (UV P L L C、アップランド、CA) を用いて放射出力を測定した。1 6 室のプレキシガラスケージを毎日のUV照射に使用した。各室に1匹のマウスを入れた。各マウスが等しい光曝露を受けるようにマウスを異なるチャンバー内でローテーションさせた。免疫処理と同じ日に開始し、免疫処理後30日まで続けてマウスにUVを照射した。

【 0 1 3 1 】

参考文献

1. Compston A & Coles A (2002) Multiple sclerosis. Lancet (London, England) 359(9313):1221-1231.
2. Agranoff BW & Goldberg D (1974) Diet and the geographical distribution of multiple sclerosis. Lancet (London, England) 2(7888):1061-1066.
3. Goldberg P (1974) Multiple sclerosis: vitamin D and calcium as environmental determinants of prevalence. International Journal of Environmental Studies 6(1): 19-27. 40
4. Wang Y, et al. (2013) Suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by 300-315nm ultraviolet light. Archives of biochemistry and biophysics 536(1):81-86.
5. MacLaughlin JA, Anderson RR, & Holick MF (1982) Spectral character of sunlight modulates photosynthesis of previtamin D3 and its photoisomers in human skin. Science (New York, N.Y.) 216(4549):1001-1003.
6. Paulus HE & Whitehouse MW (1973) Nonsteroid anti-inflammatory agents. Annual review of pharmacology 13:107-125.
7. Couteau C, Chauvet C, Papisaris E, & Coiffard L (2012) UV filters, ingredients 50

with a recognized anti-inflammatory effect. *PloS one* 7(12):e46187.

8. Tsau S, Emerson MR, Lynch SG, & Levine SM (2015) Aspirin and multiple sclerosis. *BMC medicine* 13:153.

9. Miller H, Newell DJ, & Ridley A (1961) Multiple sclerosis. Trials of maintenance treatment with prednisolone and soluble aspirin. *Lancet (London, England)* 1(7169):127-129.

10. Farah AE & Rosenberg F (1980) Potential therapeutic applications of aspirin and other cyclo-oxygenase inhibitors. *British journal of clinical pharmacology* 10 Suppl 2:261s-278s.

11. Rose JW, Hill KE, Watt HE, & Carlson NG (2004) Inflammatory cell expression of cyclooxygenase-2 in the multiple sclerosis lesion. *Journal of neuroimmunology* 149(1-2):40-49.

10

12. Miyamoto K, et al. (2006) Selective COX-2 inhibitor celecoxib prevents experimental autoimmune encephalomyelitis through COX-2-independent pathway. *Brain: a journal of neurology* 129(Pt 8):1984-1992.

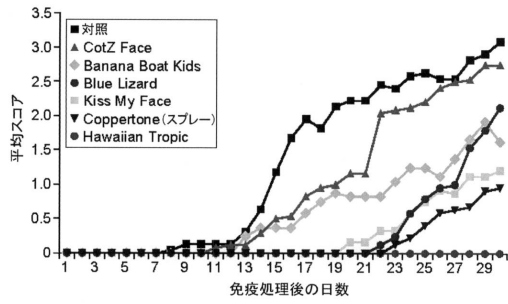
13. Marusic S, et al. (2008) Blockade of cytosolic phospholipase A2 alpha prevents experimental autoimmune encephalomyelitis and diminishes development of Th1 and Th17 responses. *Journal of neuroimmunology* 204(1-2):29-37.

14. Wang Y, Marling SJ, Martino VM, Prah J, & DeLuca HF (2016) The absence of 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase potentiates the suppression of EAE in mice by ultraviolet light. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*.

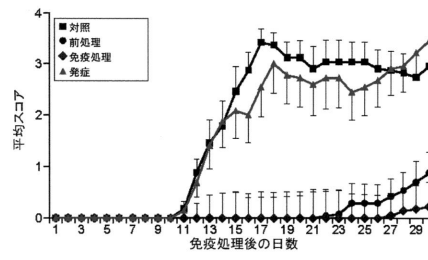
20

15. Becklund BR, Severson KS, Vang SV, & DeLuca HF (2010) UV radiation suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis independent of vitamin D production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(14):6418-6423.

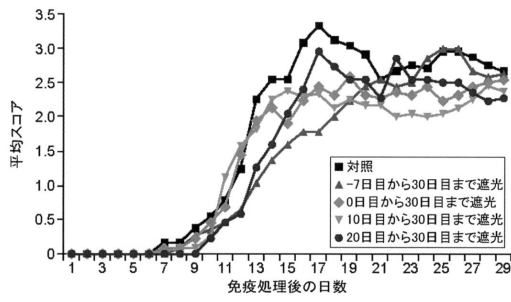
【図 5 A】



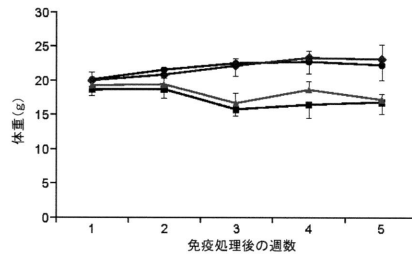
【図 6 A】



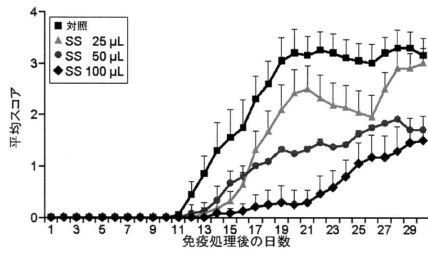
【図 5 B】



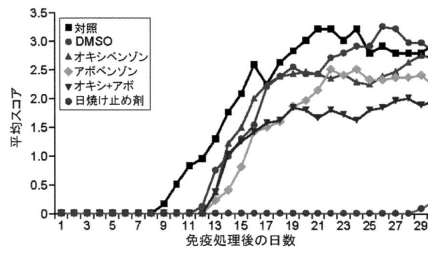
【図 6 B】



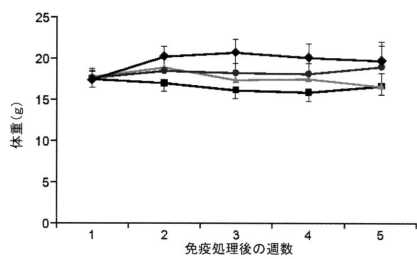
【図 6 C】



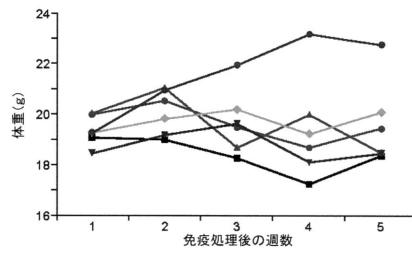
【図 7 A】



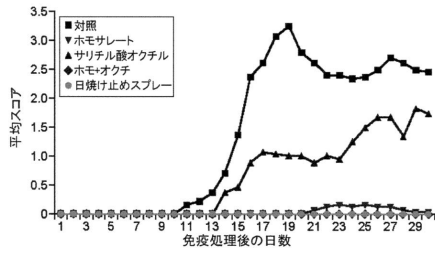
【図 6 D】



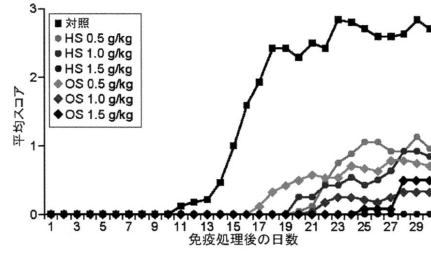
【図 7 B】



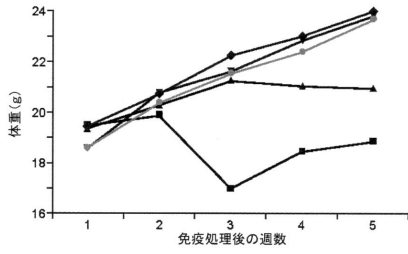
【図 7 C】



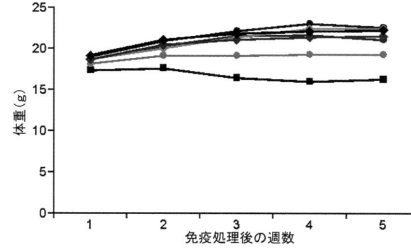
【図 8 A】



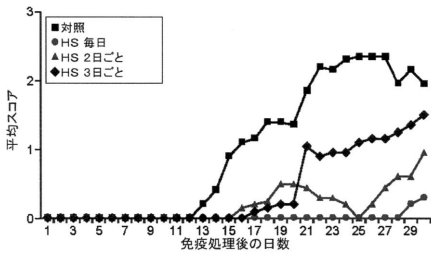
【図 7 D】



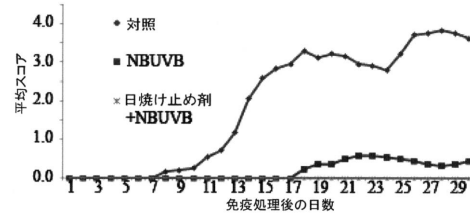
【図 8 B】



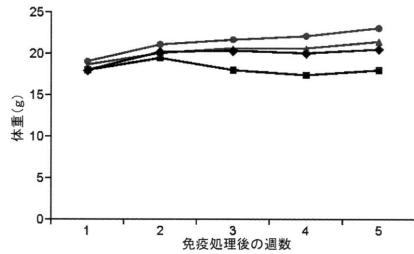
【図 8 C】



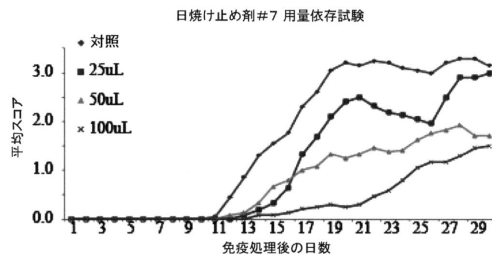
【図 9 A】



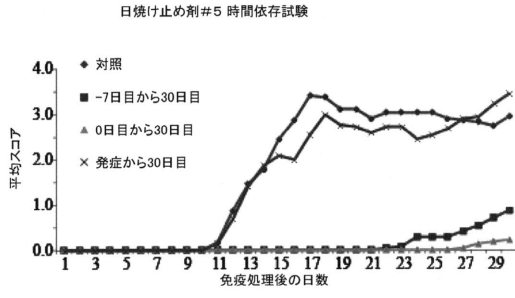
【図 8 D】



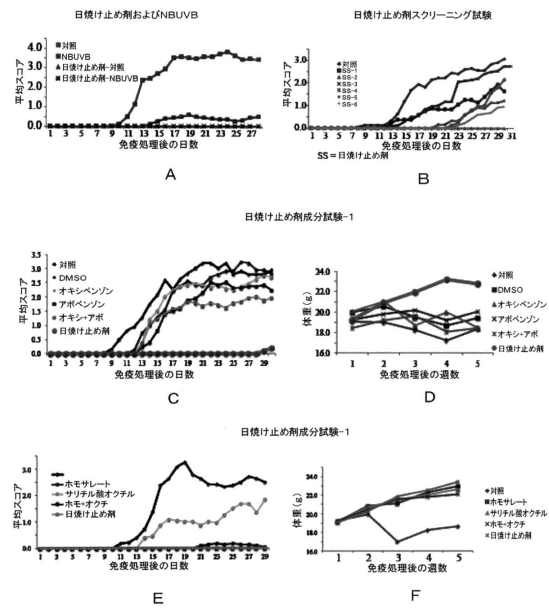
【図 9 B】



【 図 9 C 】



【 図 10 A - F 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 25/18	(2006.01)	A 6 1 P 25/18
A 6 1 P 13/10	(2006.01)	A 6 1 P 13/10
A 6 1 P 1/00	(2006.01)	A 6 1 P 1/00
A 6 1 P 15/10	(2006.01)	A 6 1 P 15/10
A 6 1 P 21/00	(2006.01)	A 6 1 P 21/00
A 6 1 P 25/02	(2006.01)	A 6 1 P 25/02

- (72)発明者 デルカ ヘクター エフ .
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 5 3 1 ディアフィールド ハイウェイ ビービー 1
 8 0 9
- (72)発明者 マーリング スティーヴン
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 0 3 マディソン ノース ハンコック ストリート
 1 5 ユニット 4エル
- (72)発明者 ブラム ロリ エイ .
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 5 0 3 アリーナ ハイウェイ エイチ 6 1 3 9
- (72)発明者 ワン ヤンビン エフ .
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 1 9 マディソン オンドッサゴン ウェイ 7 0 1

審査官 福山 則明

- (56)参考文献 特表2012-514592(JP,A)
 特表2013-501067(JP,A)
 JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 2013年, Vol. 288, No. 25, pp. 18533-18545
 PNAS, 2017年08月08日, Vol. 114, No. 32, pp. 8528-8531

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
 A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0
 C a p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S / W P I D S
 (S T N)
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)