

(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2011-526244

(P2011-526244A)

(43) 公表日 平成23年10月6日(2011.10.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Y	4 C 0 8 4
A 6 1 P 9/14 (2006.01)	A 6 1 P 9/14	4 C 0 8 5
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10 1 O 1	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 98 頁) 最終頁に続く		

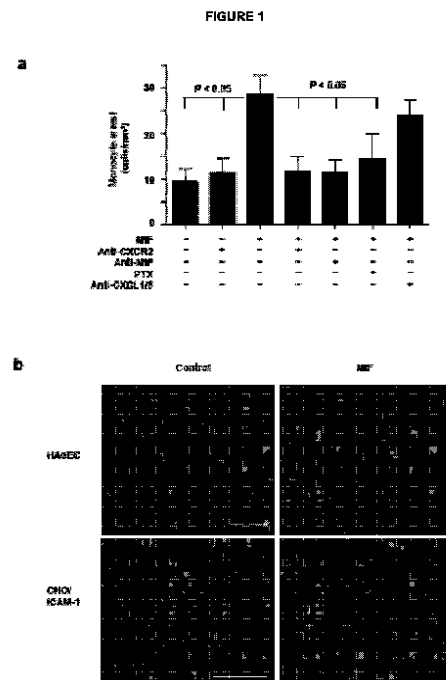
(21) 出願番号	特願2011-501003 (P2011-501003)	(71) 出願人	510251589 カロラス セラピューティクス, インク . アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92 037 ラホーヤ, スイート 320, プロスペクト・ストリート 888
(86) (22) 出願日	平成21年3月20日 (2009.3.20)	(74) 代理人	100082072 弁理士 清原 義博
(85) 翻訳文提出日	平成22年11月15日 (2010.11.15)	(72) 発明者	ベルンハーゲン ユルゲン ドイツ アーヘン 52066, ロンハ イダー・ヴェック 60
(86) 国際出願番号	PCT/US2009/037887	(72) 発明者	シュルツ ジョシュア ロバート アメリカ合衆国 ニューヨーク州 120 19, ボールストンレイク, ブルック ・ホロー・ロード 5
(87) 国際公開番号	W02009/117710		最終頁に続く
(87) 国際公開日	平成21年9月24日 (2009.9.24)		
(31) 優先権主張番号	61/038,381		
(32) 優先日	平成20年3月20日 (2008.3.20)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/039,371		
(32) 優先日	平成20年3月25日 (2008.3.25)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/045,807		
(32) 優先日	平成20年4月17日 (2008.4.17)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

(54) 【発明の名称】 炎症の処置方法

(57) 【要約】

特定の実施形態において、M I F 媒介性疾患の処置方法が、本明細書中に開示されている。いくつかの実施形態において、この方法は、(i) M I F の C X C R 2 及び C X C R 4 との結合、及び/又は (i i) C X C R 2 及び C X C R 4 の M I F 活性化、(i i i) ホモ多量体を形成する M I F の能力、又はこれらの組み合わせを抑制する活性薬剤を投与する工程を含む。

【選択図】 図 1 a 及び図 1 b



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

M I F 媒介性疾患を処置する方法であって、

前記方法は、処置上効果的な量の活性薬剤を、それを必要とする個体に投与する工程を備え、

前記抗体は、(i) M I F の C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 との結合、(i i) C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 の M I F 活性化、(i i i) ホモ多量体を形成する M I F の能力、(i v) M I F の C D 7 4 との結合、又は、これらの組み合わせを抑制することを特徴とする方法。

【請求項 2】

前記活性薬剤が、M I F の偽の E L R モチーフの全て又は一部と特異的に結合するか、又は、M I F の偽の E L R モチーフと競合することを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

前記活性薬剤が、M I F の N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合するか、又は、M I F の N - ループモチーフと競合することを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

前記活性薬剤が、M I F の偽の E L R 及び N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合することを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】

前記活性薬剤が、C X C R 2 アンタゴニスト、C X C R 4 アンタゴニスト、M I F アンタゴニスト、又は、それらの組み合わせから選択されることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】

前記活性薬剤が、C X C L 8 (3 - 7 4) K 1 1 R / G 3 1 P、S c h 5 2 7 1 2 3、N - (3 - (アミノスルホニル) - 4 - クロロ - 2 - ヒドロキシフェニル) - N ' - (2 , 3 - ジクロロフェニル) 尿素、I L - 8 (1 - 7 2)、(R) I L - 8、(R) I L - 8、N M e L e u、(A A R) I L - 8、G R O (1 - 7 3)、(R) G R O、(E L R) P F 4、(R) P F 4、S B - 2 6 5 6 1 0、アンチロイキナート、S B - 5 1 7 7 8 5 - M、S B 2 6 5 6 1 0、S B 2 2 5 0 0 2、S B 4 5 5 8 2 1、D F 2 1 6 2、レパリキシン、A L X 4 0 - 4 C、A M D - 0 7 0、A M D 3 1 0 0、A M D 3 4 6 5、K R H - 1 6 3 6、K R H - 2 7 3 1、K R H - 3 9 5 5、K R H - 3 1 4 0、T 1 3 4、T 2 2、T 1 4 0、T C 1 4 0 1 2、T N 1 4 0 0 3、R C P 1 6 8、P O L 3 0 2 6、C T C E - 0 2 1 4、C O R 1 0 0 1 4 0、又はそれらの組み合わせから選択されることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】

前記活性薬剤は、M I F の偽の E L R モチーフの全て又は一部に特異的に結合するペプチド、M I F の N - ループモチーフの全て又は一部に特異的に結合するペプチド、M I F の偽の E L R 及び N - ループモチーフの全て又は一部に特異的に結合するペプチド、M I F と C X C R 2 の結合を阻害するペプチド、M I F と C X C R 4 の結合を阻害するペプチド、M I F と J A B - 1 の結合を阻害するペプチド、M I F と C D 7 4 の結合を阻害するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q の全て又は一部と、M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインとに特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q と、M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインとを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：D Q L M A F G G S S E P C A L C S L の全て又は一部と、M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインとに特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：D Q L M A F G G S S E P C A L C S L と、M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインとを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E

10

20

30

40

50

L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q L M A F G G S S E P C A L C S L
の全て又は一部と、M I F 単量体又はM I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ド
メインとに特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F
L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q L M A F G G S S E P C A L
C S L と、M I F 単量体又はM I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインと
を模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：F G G S S E P C A L C S L H S I の
全て又は一部と、M I F 単量体又はM I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメ
インとに特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：F G G S S E P C A L
C S L H S I と、M I F 単量体又はM I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメ
インとを模倣するペプチド、又はそれらの組み合わせであることを特徴とする請求項1記
載の方法。

10

【請求項 8】

マクロファージの泡沫細胞への変換が、本明細書に開示される活性薬剤の投与を受けて抑制されることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 9】

心筋細胞のアポトーシスが、本明細書に開示される活性薬剤の投与を受けて抑制されることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 10】

浸潤マクロファージのアポトーシスが、本明細書に開示される活性薬剤の投与を受けて抑制されることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

20

【請求項 11】

腹部大動脈瘤の形成が、本明細書に開示される活性薬剤の投与を受けて抑制されることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 12】

腹部大動脈瘤の直径が、本明細書に開示される活性薬剤の投与を受けて減少することを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 13】

動脈瘤中の構造タンパク質が、本明細書に開示される活性薬剤の投与を受けて再発生することを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 14】

第 2 の活性薬剤を同時投与する工程をさらに備えることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

30

【請求項 15】

ナイアシン、フィブラート、スタチン、アポ - A 1 ペプチド模倣剤（例えば、D F - 4、ノバルティス社）、アポ A - I 転写上方制御剤、A C A T インヒビター、C E T P 修飾剤、糖タンパク質（G P）I I b / I I I a 受容体アンタゴニスト、P 2 Y 1 2 受容体アンタゴニスト、L p - P L A 2 - インヒビター、抗 T N F 剤、I L - 1 受容体アンタゴニスト、I L - 2 受容体アンタゴニスト、細胞毒性薬剤、免疫調節剤、抗生物質、T 細胞共刺激遮断薬、障害改善抗リウマチ薬、B 細胞除去剤、免疫抑制剤、抗リンパ球抗体、アルキル化剤、抗代謝物質、植物性アルカロイド、テルペノイド、トポイソメラーゼインヒビター、抗腫瘍抗生物質、モノクローナル抗体、ホルモン療法、又はそれらの組み合わせを同時投与する工程をさらに備えることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

40

【請求項 16】

前記 M I F 媒介性疾患が、アテローム性動脈硬化、腹部大動脈瘤、急性散在性脳脊髄炎、もやもや病、高安病、急性冠症候群、心臓同種移植片血管障害、肺炎症、急性呼吸促迫症候群、肺線維症、急性散在性脳脊髄炎、アジソン病、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群、自己免疫性ホモリシス貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患、水疱性類天疱瘡、シャーガス病、慢性閉塞性肺疾患、セリアック病、皮膚筋炎、1 型糖尿病、2 型糖尿病、子宮内膜症、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本病、特発性血小板減少性紫斑病、間質性膀胱炎、全身性エリテマトーデス（S L E）、メ

50

タバリック症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋炎、ナルコレプシー、肥満、尋常性天疱瘡、悪性貧血、多発筋炎、原発性胆汁性肝硬変、関節リウマチ、統合失調症、強皮症、シェーグレン症候群、脈管炎、白斑、ヴェーゲナー肉芽種、アレルギー性鼻炎、前立腺癌、非小細胞癌、卵巣癌、乳癌、メラノーマ、胃癌、結腸直腸癌、脳腫瘍、転移性骨障害、脾臓癌、リンパ腫、鼻ポリープ、消化管癌、潰瘍性大腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、虚血性大腸炎、空置大腸炎、ベーチェット症候群、伝染性大腸炎、不確定大腸炎、炎症性肝障害、エンドトキシンショック、敗血性ショック、リウマチ様脊椎炎、強直性脊椎炎、痛風性関節炎、リウマチ性多発筋痛、アルツハイマー病、パーキンソン病、てんかん、エイズ認知症、喘息、成人呼吸窮迫症候群、気管支炎、嚢胞性線維症、急性白血球媒介性肺損傷、遠位直腸炎、ヴェーゲナー肉芽種、線維筋痛、気管支炎、嚢胞性線維症、ブドウ膜炎、結膜炎、乾癬、湿疹、皮膚炎、平滑筋増殖障害、髄膜炎、帯状疱疹、脳炎、腎炎、結核、網膜炎、アトピー性皮膚炎、脾炎、歯周歯肉炎、凝固壊死、液化壊死、フィブリノイド壊死、新生内膜過形成、心筋梗塞、卒中、移植臓器拒絶反応、又はそれらの組み合わせであることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

10

【請求項 17】

個体において必要とされる、MIF 媒介性疾患を処置するための医薬組成物であって、前記医薬組成物が、(i) MIF の CXCR2 及び CXCR4 との結合、及び / 又は、(ii) CXCR2 及び CXCR4 の MIF 活性化、(iii) ホモ多量体を形成する MIF の能力、又は、これらの組み合わせを抑制する少なくとも 1 つの活性薬剤を備えることを特徴とする医薬組成物。

20

【請求項 18】

前記活性薬剤が、MIF の偽の ELR モチーフの全て又は一部と特異的に結合することを特徴とする請求項 17 記載の組成物。

【請求項 19】

前記活性薬剤が、MIF の N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合することを特徴とする請求項 17 記載の組成物。

【請求項 20】

前記活性薬剤は、MIF の偽の ELR 及び N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合することを特徴とする請求項 17 記載の組成物。

【請求項 21】

前記活性薬剤が、CXCR2 アンタゴニスト、CXCR4 アンタゴニスト、MIF アンタゴニスト、又はそれらの組み合わせから選択されることを特徴とする請求項 17 記載の組成物。

30

【請求項 22】

前記活性薬剤が、CXCL8 (3 - 74) K11R / G31P、Sch527123、N - (3 - (アミノスルホニル) - 4 - クロロ - 2 - ヒドロキシフェニル) - N' - (2, 3 - ジクロロフェニル) 尿素、IL - 8 (1 - 72)、(R) IL - 8、(R) IL - 8, NMeLeu、(AAR) IL - 8、GRO (1 - 73)、(R) GRO、(ELR) PF4、(R) PF4、SB - 265610、アンチロイキナート、SB - 517785 - M、SB265610、SB225002、SB455821、DF2162、レパリキシン、ALX40 - 4C、AMD - 070、AMD3100、AMD3465、KRH - 1636、KRH - 2731、KRH - 3955、KRH - 3140、T134、T22、T140、TC14012、TN14003、RCP168、POL3026、CTCE - 0214、COR100140、又はそれらの組み合わせから選択されることを特徴とする請求項 17 記載の組成物。

40

【請求項 23】

前記活性薬剤が、MIF の偽の ELR モチーフの全て又は一部と特異的に結合するペプチド、MIF の N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合するペプチド、偽の ELR 及び N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合するペプチド、MIF と CXCR2 の結合を阻害するペプチド、MIF と CXCR4 の結合を阻害するペプチド、MIF

50

FとJ A B - 1の結合を阻害するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Qの全て又は一部と、M I F単量体又はM I F三量体の少なくとも一つの対応する特徴／ドメインとに特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Qと、M I F単量体又はM I F三量体の少なくとも一つの対応する特徴／ドメインとを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：D Q L M A F G G S S E P C A L C S Lの全て又は一部と、M I F単量体又はM I F三量体の少なくとも一つの対応する特徴／ドメインとに特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：D Q L M A F G G S S E P C A L C S Lと、M I F単量体又はM I F三量体の少なくとも一つの対応する特徴／ドメインとを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q L M A F G G S S E P C A L C S Lの全て又は一部と、M I F単量体又はM I F三量体の少なくとも一つの対応する特徴／ドメインとに特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q L M A F G G S S E P C A L C S Lと、M I F単量体又はM I F三量体の少なくとも一つの対応する特徴／ドメインとを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：F G G S S E P C A L C S L H S Iの全て又は一部と、M I F単量体又はM I F三量体の少なくとも一つの対応する特徴／ドメインとに特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：F G G S S E P C A L C S L H S Iと、M I F単量体又はM I F三量体の少なくとも一つの対応する特徴／ドメインとを模倣するペプチド、又は、それらの組み合わせであることを特徴とする請求項17記載の組成物。

10

20

【請求項24】

第2活性薬剤をさらに含むことを特徴とする請求項17記載の組成物。

【請求項25】

ナイアシン、フィブラート、スタチン、アポ-A1ペプチド模倣剤（例えば、D F - 4、ノバルティス社）、アポA-I転写上方制御剤、A C A Tインヒビター、C E T P修飾剤、糖タンパク質（G P）I I b / I I I a受容体アンタゴニスト、P 2 Y 1 2受容体アンタゴニスト、L p - P L A 2 - インヒビター、抗T N F剤、I L - 1受容体アンタゴニスト、I L - 2受容体アンタゴニスト、細胞毒性薬剤、免疫調節剤、抗生物質、T細胞共刺激遮断薬、障害改善抗リウマチ薬、B細胞除去剤、免疫抑制剤、抗リンパ球抗体、アルキル化剤、抗代謝物質、植物性アルカロイド、テルペノイド、トポイソメラーゼインヒビター、抗腫瘍抗生物質、モノクローナル抗体、ホルモン療法、又はそれらの組み合わせをさらに備えることを特徴とする請求項17記載の組成物。

30

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本出願は、米国仮特許出願第61/038,381（出願日：2008年3月20日）、米国仮特許出願第61/039,371（出願日：2008年4月17日）、及び米国仮特許出願第61/121,095（出願日：2008年12月9日）の優先権を主張するものであり、これらの出願は、その全体を参照することにより本明細書中に組み込まれている。

40

【背景技術】**【0002】**

特定の炎症疾病は、影響を受けた組織へのリンパ球移動により部分的に特徴化される。リンパ球の移動は、組織の損傷を誘発し、炎症性疾病を悪化させる。多くの白血球は、影響を受けた組織に対するM I F勾配に従う。一般的に、M I Fは、白血球上のC X C R 2受容体及びC X C R 4受容体と相互作用し、白血球遊走を誘発し、維持する。

【発明の概要】**【課題を解決するための手段】****【0003】**

50

特定の実施形態において、M I F 媒介性疾患を処置する方法が本明細書中に開示されており、M I F 媒介性疾患は、治療上効果的な量の活性薬剤を、それを必要とする個体に投与する工程を備え、この活性薬剤は、(i) M I F の C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 との結合、(ii) C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 の M I F 活性化、(iii) ホモ多量体を形成する M I F の能力、(iv) M I F の C D 7 4 との結合、又はそれらの組み合わせを抑制する。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、M I F の偽の E L R モチーフの全て又は一部と特異的に結合するか、又は M I F の偽の E L R モチーフと競合する。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、M I F の N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合するか、又は M I F の N - ループモチーフと競合する。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、M I F の偽の E L R 及び N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合する。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、C X C R 2 アンタゴニスト、C X C R 4 アンタゴニスト、M I F アンタゴニスト、又はそれらの組み合わせから選択される。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、C X C L 8 (3 - 7 4) K 1 1 R / G 3 1 P、S c h 5 2 7 1 2 3、N - (3 - (アミノスルホニル) - 4 - クロロ - 2 - ヒドロキシフェニル) - N ' - (2 , 3 - ジクロロフェニル) 尿素、I L - 8 (1 - 7 2)、(R) I L - 8、(R) I L - 8、N M e L e u、(A A R) I L - 8、G R O (1 - 7 3)、(R) G R O、(E L R) P F 4、(R) P F 4、S B - 2 6 5 6 1 0、アンチロイキナート (Antileukinate)、S B - 5 1 7 7 8 5 - M、S B 2 6 5 6 1 0、S B 2 2 5 0 0 2、S B 4 5 5 8 2 1、D F 2 1 6 2、レパリキシン (Repalixin)、A L X 4 0 - 4 C、A M D - 0 7 0、A M D 3 1 0 0、A M D 3 4 6 5、K R H - 1 6 3 6、K R H - 2 7 3 1、K R H - 3 9 5 5、K R H - 3 1 4 0、T 1 3 4、T 2 2、T 1 4 0、T C 1 4 0 1 2、T N 1 4 0 0 3、R C P 1 6 8、P O L 3 0 2 6、C T C E - 0 2 1 4、C O R 1 0 0 1 4 0、又はそれらの組み合わせから選択される。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、具体的に M I F の偽の E L R モチーフの全て又は一部に結合するペプチド、M I F の N - ループモチーフの全て又は一部に特異的に結合するペプチド、M I F の偽の E L R 及び N - ループモチーフの全て又は一部に特異的に結合するペプチド、M I F と C X C R 2 の結合を抑制するペプチド、M I F と C X C R 4 の結合を抑制するペプチド、M I F と J A B - 1 の結合を抑制するペプチド、M I F と C D 7 4 の結合を抑制するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q の全て又は一部、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインに特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列を模倣するペプチド：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：D Q L M A F G G S S E P C A L C S L の全て又は一部、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインに結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：D Q L M A F G G S S E P C A L C S L、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q L M A F G G S S E P C A L C S L の全て又は一部、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインに結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q L M A F G G S S E P C A L C S L、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：F G G S S E P C A L C S L H S I の全て又は一部、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインに結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：F G G S S E P C A L C S L H S I、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインを模倣するペプチド、又はそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態において、マクロファージの泡沫細胞への変換は、本明細書中に開示される活性薬剤の投与を受けて抑制される。いくつかの実施形態において、心筋細胞のアポトーシスは、本明細書中に開示される活性薬剤の投与を受けて

10

20

30

40

50

抑制される。いくつかの実施形態において、湿潤マクロファージのアポトーシスは、本明細書中に開示される活性薬剤の投与を受けて抑制される。いくつかの実施形態において、腹部大動脈瘤の形成は、本明細書中に開示される活性薬剤の投与を受けて抑制される。いくつかの実施形態において、腹部大動脈瘤の直径は、本明細書中に開示される活性薬剤の投与を受けて減少される。いくつかの実施形態において、動脈瘤の構造タンパク質は、本明細書中に開示される活性薬剤の投与を受けて再発生される。いくつかの実施形態において、この方法は更に、第二活性薬剤の同時投与工程を含む。いくつかの実施形態において、この方法は更に、ナイアシン、フィブラート、スタチン、アポ-A 1 ペプチド模倣剤（例えば、D F - 4、ノバルティス社）、アポ A - I 転写上方制御剤（up-regulator）、A C A T インヒビター、C E T P 修飾剤、糖タンパク質（G P）I I b / I I I a 受容体アンタゴニスト、P 2 Y 1 2 受容体アンタゴニスト、L p - P L A 2 - インヒビター、抗 T N F 剤、I L - 1 受容体アンタゴニスト、I L - 2 受容体アンタゴニスト、細胞毒性薬剤、免疫調節剤、抗生物質、T 細胞共刺激遮断薬（co-stimulatory blocker）、障害改善抗リウマチ薬、B 細胞除去剤、免疫抑制剤、抗リンパ球抗体、アルキル化剤、抗代謝物質、植物性アルカロイド、テルペノイド、トポイソメラーゼインヒビター、抗腫瘍抗生物質、モノクローナル抗体、ホルモン療法、又はそれらの組み合わせの同時投与工程を含む。いくつかの実施形態において、M I F 媒介性疾患は、アテローム性動脈硬化、腹部大動脈瘤、急性散在性脳脊髄炎、もやもや病、高安病、急性冠症候群、心臓同種移植片血管障害（Cardiac-allograft vasculopathy）、肺炎症、急性呼吸促迫症候群、肺線維症、急性散在性脳脊髄炎、アジソン病、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群、自己免疫性ホモリシス貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患、水疱性類天疱瘡、シャーガス病、慢性閉塞性肺疾患、セリアック病、皮膚筋炎、1 型糖尿病、2 型糖尿病、子宮内膜症、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本病、特発性血小板減少性紫斑病、間質性膀胱炎、全身性エリテマトーデス（S L E）、メタボリック症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋炎、ナルコレプシー、肥満、尋常性天疱瘡、悪性貧血、多発筋炎、原発性胆汁性肝硬変、関節リウマチ、統合失調症、強皮症、シェーグレン症候群、脈管炎、白斑、ヴェーゲナー肉芽種、アレルギー性鼻炎、前立腺癌、非小細胞癌、卵巣癌、乳癌、メラノーマ、胃癌、結腸直腸癌、脳腫瘍、転移性骨障害、膵臓癌、リンパ腫、鼻ポリープ、消化管癌、潰瘍性大腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、虚血性大腸炎、空置大腸炎、ベーチェット症候群、伝染性大腸炎、不確定大腸炎、炎症性肝障害、エンドトキシンショック、敗血性ショック、リウマチ性脊椎炎、強直性脊椎炎、痛風性関節炎、リウマチ性多発筋痛、アルツハイマー病、パーキンソン病、てんかん、エイズ認知症、喘息、成人呼吸窮迫症候群、気管支炎、嚢胞性線維症、急性白血球媒介性肺損傷（Acute leukocyte-mediated lung injury）、遠位直腸炎（Distal proctitis）、ヴェーゲナー肉芽種、線維筋痛、気管支炎、嚢胞性線維症、ブドウ膜炎、結膜炎、乾癬、湿疹、皮膚炎、平滑筋増殖障害、髄膜炎、帯状疱疹、脳炎、腎炎、結核、網膜炎、アトピー性皮膚炎、膵炎、歯周歯肉炎（Periodontal gingivitis）、凝固壊死、液化壊死、フィブリノイド壊死、新生内膜過形成、心筋梗塞、卒中、移植臓器拒絶反応、又はそれらの組み合わせである。

【0004】

特定の実施形態において、個体において必要とされる、M I F 媒介性疾患を処置する医薬組成物が本明細書中に開示されており、医薬組成物は少なくとも一つの活性薬剤を含み、活性薬剤は、(i) C X C R 2 及び C X C R 4 に結合する M I F、及び/又は(ii) C X C R 2 及び C X C R 4 の M I F 活性化、(iii) ホモマルチマーを形成する M I F の能力、又はその組み合わせを抑制する。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、M I F の偽の E L R モチーフの全て又は一部と特異的に結合する。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、M I F の N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合する。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、M I F の偽の E L R 及び N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合する。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、C X C R 2 アンタゴニスト、C X C R 4 アンタゴニスト、M I F アンタゴニスト、又はそれらの組み合

10

20

30

40

50

わせから選択される。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、C X C L 8 (3 - 7 4) K 1 1 R / G 3 1 P、S c h 5 2 7 1 2 3、N - (3 - (アミノスルホニル) - 4 - クロロ - 2 - ヒドロキシフェニル) - N ' - (2 , 3 - ジクロロフェニル) 尿素、I L - 8 (1 - 7 2)、(R) I L - 8、(R) I L - 8、N M e L e u、(A A R) I L - 8、G R O (1 - 7 3)、(R) G R O、(E L R) P F 4、(R) P F 4、S B - 2 6 5 6 1 0、アンチロイキナート (Antileukinate)、S B - 5 1 7 7 8 5 - M、S B 2 6 5 6 1 0、S B 2 2 5 0 0 2、S B 4 5 5 8 2 1、D F 2 1 6 2、レパリキシン (Repalixin)、A L X 4 0 - 4 C、A M D - 0 7 0、A M D 3 1 0 0、A M D 3 4 6 5、K R H - 1 6 3 6、K R H - 2 7 3 1、K R H - 3 9 5 5、K R H - 3 1 4 0、T 1 3 4、T 2 2、T 1 4 0、T C 1 4 0 1 2、T N 1 4 0 0 3、R C P 1 6 8、P O L 3 0 2 6、C T C E - 0 2 1 4、C O R 1 0 0 1 4 0、又はそれらの組み合わせから選択される。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、M I F の偽の E L R モチーフの全て又は一部と特異的に結合するペプチド、M I F の N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合するペプチド、M I F の偽の E L R 及び N - ループモチーフの全て又は一部と特異的に結合するペプチド、M I F と C X C R 2 の結合を抑制するペプチド、M I F と C X C R 4 の結合を抑制するペプチド、M I F と J A B - 1 の結合を抑制するペプチド、M I F と C D 7 4 の結合を抑制するペプチド、以下のようなペプチド配列の：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q の全て又は一部、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインと特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：D Q L M A F G G S S E P C A L C S L の全て又は一部、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインと特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：D Q L M A F G G S S E P C A L C S L、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q L M A F G G S S E P C A L C S L の全て又は一部、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインと特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T G K P P Q Y I A V H V V P D Q L M A F G G S S E P C A L C S L、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：F G G S S E P C A L C S L H S I の全て又は一部、及び M I F 単量体又は M I F 三量体の少なくとも一つの対応する特徴 / ドメインと特異的に結合するペプチド、以下のようなペプチド配列：F G G S S E P C A L C S L H S I を模倣するペプチド、又はそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態において、組成物は更に、第二活性薬剤を含む。いくつかの実施形態において、組成物は更に、ナイアシン、フィブラート、スタチン、アポ - A 1 ペプチド模倣剤 (例えば、D F - 4、ノバルティス社)、アポ A - I 転写上方制御剤、A C A T インヒビター、C E T P 修飾剤、糖タンパク質 (G P) I I b / I I I a 受容体アンタゴニスト、P 2 Y 1 2 受容体アンタゴニスト、L p - P L A 2 - インヒビター、抗 T N F 剤、I L - 1 受容体アンタゴニスト、I L - 2 受容体アンタゴニスト、細胞毒性薬剤、免疫調節剤、抗生物質、T 細胞共刺激遮断薬、障害改善抗リウマチ薬、B 細胞除去剤、免疫抑制剤、抗リンパ球抗体、アルキル化剤、抗代謝物質、植物性アルカロイド、テルペノイド、トポイソメラーゼインヒビター、抗腫瘍抗生物質、モノクローナル抗体、ホルモン療法、又はそれらの組合せを更に含む。

【図面の簡単な説明】

【0005】

本発明の新たな特徴は、添付の請求項において詳細に説明される。本発明の特徴及び利点は、説明的な実施形態を説明する以下の詳細な記述を参照することにより、よりよく理解され、これらの実施形態において、本発明の原理が利用され、添付の図面は以下の通りである：

10

20

30

40

50

【 0 0 0 6 】

【図 1 a】図 1 a は、M I F 誘発性単核細胞の阻止が C X C R 2 / C X C R 4 及び C D 7 4 により媒介される図である。ヒト大動脈内皮細胞 (H A o E C)、I C A M - 1 (C H O / I C A M - 1) を安定に発現させる C H O 細胞、及びマウスの細小血管内皮細胞 (S V E C) は、図示されているように、M I F (M I F に対する抗体、C X C L 1 および C X C L 8 に対する抗体、又はアイソタイプ対照群と共に)、C X C L 8、C X C L 1 0、又は C X C L 1 2 を用いて、又は用いずに、2 時間、プレインキュベートされた。単核細胞は、図示されているように、C X C R 1、C X C R 2、2、C X C R 4、C D 7 4、又はアイソタイプ対照群に対する抗体を用いて 3 0 分間、又は百日咳毒素 (P T X) で 2 時間前処理された。(a) H A o E C は、主にヒト単球でかん流された。a のデータは、3 ~ 8 の独立実験の平均値 \pm s . d . を表す。

10

【図 1 b】図 1 b は、M I F 誘発性単核細胞の阻止が C X C R 2 / C X C R 4 及び C D 7 4 により媒介される図である。ヒト大動脈内皮細胞 (H A o E C)、I C A M - 1 (C H O / I C A M - 1) を安定に発現させる C H O 細胞、及びマウスの細小血管内皮細胞 (S V E C) は、図示されているように、M I F (M I F に対する抗体、C X C L 1 および C X C L 8 に対する抗体、又はアイソタイプ対照群と共に)、C X C L 8、C X C L 1 0、又は C X C L 1 2 を用いて、又は用いずに、2 時間、プレインキュベートされた。単核細胞は、図示されているように、C X C R 1、C X C R 2、2、C X C R 4、C D 7 4、又はアイソタイプ対照群に対する抗体を用いて 3 0 分間、又は百日咳毒素 (P T X) で 2 時間前処理された。(b) M I F に対する抗体を用いる免疫蛍光法は、2 時間の前処理後、H A o E C s 及び C H O / I C A M - 1 細胞上で、M I F (緑色) 表面 (surface presentation) を明らかにしたが、3 0 分間の前処理後では明らかにしなかった (図示せず) 。対照的に、M I F は、パフファ処置細胞 (対照群) 中に存在しなかった。スケールバー、1 0 0 μ m 。

20

【図 1 c】図 1 c は、M I F 誘発性単核細胞の阻止が C X C R 2 / C X C R 4 及び C D 7 4 により媒介される図である。ヒト大動脈内皮細胞 (H A o E C)、I C A M - 1 (C H O / I C A M - 1) を安定に発現させる C H O 細胞、及びマウスの細小血管内皮細胞 (S V E C) は、図示されているように、M I F (M I F に対する抗体、C X C L 1 および C X C L 8 に対する抗体、又はアイソタイプ対照群と共に)、C X C L 8、C X C L 1 0、又は C X C L 1 2 を用いて、又は用いずに、2 時間、プレインキュベートされた。単核細胞は、図示されているように、C X C R 1、C X C R 2、2、C X C R 4、C D 7 4、又はアイソタイプ対照群に対する抗体を用いて 3 0 分間、又は百日咳毒素 (P T X) で 2 時間前処理された。(c) C H O / I C A M - 1 細胞は、M o n o M a c 6 細胞でかん流された。c のデータは、3 ~ 8 の独立実験の平均値 \pm s . d . を表す。

30

【図 1 d】図 1 d は、M I F 誘発性単核細胞の阻止が C X C R 2 / C X C R 4 及び C D 7 4 により媒介される図である。ヒト大動脈内皮細胞 (H A o E C)、I C A M - 1 (C H O / I C A M - 1) を安定に発現させる C H O 細胞、及びマウスの細小血管内皮細胞 (S V E C) は、図示されているように、M I F (M I F に対する抗体、C X C L 1 および C X C L 8 に対する抗体、又はアイソタイプ対照群と共に)、C X C L 8、C X C L 1 0、又は C X C L 1 2 を用いて、又は用いずに、2 時間、プレインキュベートされた。単核細胞は、図示されているように、C X C R 1、C X C R 2、2、C X C R 4、C D 7 4、又はアイソタイプ対照群に対する抗体を用いて 3 0 分間、又は百日咳毒素 (P T X) で 2 時間前処理された。(d) C H O / I C A M - 1 細胞は、M o n o M a c 6 細胞でかん流された。d のデータは、3 ~ 8 の独立実験の平均値 \pm s . d . を表す。

40

【図 1 e】図 1 e は、M I F 誘発性単核細胞の阻止が C X C R 2 / C X C R 4 及び C D 7 4 により媒介される図である。ヒト大動脈内皮細胞 (H A o E C)、I C A M - 1 (C H O / I C A M - 1) を安定に発現させる C H O 細胞、及びマウスの細小血管内皮細胞 (S V E C) は、図示されているように、M I F (M I F に対する抗体、C X C L 1 および C X C L 8 に対する抗体、又はアイソタイプ対照群と共に)、C X C L 8、C X C L 1 0、又は C X C L 1 2 を用いて、又は用いずに、2 時間、プレインキュベートされた。単核細胞は、図示されているように、C X C R 1、C X C R 2、2、C X C R 4、C D 7 4、又はアイソタイプ対照群に対する抗体を用いて 3 0 分間、又は百日咳毒素 (P T X) で 2 時間前処理された。(e) C H O / I C A M - 1 細胞は、M o n o M a c 6 細胞でかん流された。e のデータは、3 ~ 8 の独立実験の平均値 \pm s . d . を表す。

50

胞は、図示されているように、 $CXCR1$ 、 $CXCR2$ 、 $CXCR2$ 、 $CXCR4$ 、 $CD74$ 、又はアイソタイプ対照群に対する抗体を用いて30分間、又は百日咳毒素（PTX）で2時間前処理された。（e）HAoECは、T細胞でかん流された。eのデータは、3～8の独立実験の平均値 \pm s.d.を表す。

【図1f】図1は、MIF誘発性単核細胞の阻止が $CXCR2$ / $CXCR4$ 及び $CD74$ により媒介される図である。ヒト大動脈内皮細胞（HAoEC）、ICAM-1（CHO/ICAM-1）を安定に発現させるCHO細胞、及びマウスの細小血管内皮細胞（SVEC）は、図示されているように、MIF（MIFに対する抗体、 $CXCL1$ および $CXCL8$ に対する抗体、又はアイソタイプ対照群と共に）、 $CXCL8$ 、 $CXCL10$ 、又は $CXCL12$ を用いて、又は用いずに、2時間、ブレインキュベートされた。単核細胞は、図示されているように、 $CXCR1$ 、 $CXCR2$ 、 $CXCR2$ 、 $CXCR4$ 、 $CD74$ 、又はアイソタイプ対照群に対する抗体を用いて30分間、又は百日咳毒素（PTX）で2時間前処理された。（f）CHO/ICAM-1細胞は、ジャーカットT細胞でかん流された。fのデータは、3～8の独立実験の平均値 \pm s.d.を表す。

【図1g】図1gは、MIF誘発性単核細胞の阻止が $CXCR2$ / $CXCR4$ 及び $CD74$ により媒介される図である。ヒト大動脈内皮細胞（HAoEC）、ICAM-1（CHO/ICAM-1）を安定に発現させるCHO細胞、及びマウスの細小血管内皮細胞（SVEC）は、図示されているように、MIF（MIFに対する抗体、 $CXCL1$ および $CXCL8$ に対する抗体、又はアイソタイプ対照群と共に）、 $CXCL8$ 、 $CXCL10$ 、又は $CXCL12$ を用いて、又は用いずに、2時間、ブレインキュベートされた。単核細胞は、図示されているように、 $CXCR1$ 、 $CXCR2$ 、 $CXCR2$ 、 $CXCR4$ 、 $CD74$ 、又はアイソタイプ対照群に対する抗体を用いて30分間、又は百日咳毒素（PTX）で2時間前処理された。（g）CHO/ICAM-1細胞は、ジャーカット $CXCR2$ トランスフェクタント又はベクター対照群で灌流された。ベクタートランスフェクトしたCHO細胞とのバックグラウンド結合は差し引かれた。gのデータは、3～8の独立実験の平均値 \pm s.d.を表す。

【図1h】図1hは、MIF誘発性単核細胞の阻止が $CXCR2$ / $CXCR4$ 及び $CD74$ により媒介される図である。ヒト大動脈内皮細胞（HAoEC）、ICAM-1（CHO/ICAM-1）を安定に発現させるCHO細胞、及びマウスの細小血管内皮細胞（SVEC）は、図示されているように、MIF（MIFに対する抗体、 $CXCL1$ および $CXCL8$ に対する抗体、又はアイソタイプ対照群と共に）、 $CXCL8$ 、 $CXCL10$ 、又は $CXCL12$ を用いて、又は用いずに、2時間、ブレインキュベートされた。単核細胞は、図示されているように、 $CXCR1$ 、 $CXCR2$ 、 $CXCR2$ 、 $CXCR4$ 、 $CD74$ 、又はアイソタイプ対照群に対する抗体を用いて30分間、又は百日咳毒素（PTX）で2時間前処理された。（h）マウスSVECは、 $CXCR4$ アンタゴニストAMD3465の存在下において、 $CXCR1$ 、 $CXCR2$ 又は $CXCR3$ を安定に発現させるL1.2トランスフェクタントでかん流され、及び内因性 $CXCR4$ のみを発現させる対照群でかん流された。阻止は、細胞/mm²又は対照細胞付着の割合として測定される。hのデータは、4つの実験の一つの代表的な実験から生じた結果である。

【0007】

【図2a】図2aは、MIF誘発性単核細胞の走化性が $CXCR2$ / $CXCR4$ 及び $CD74$ により媒介される図である。主なヒト単球（a～e）、 $CD3+T$ 細胞（f）及び好中球（g、h）は、MIFの存在下、又は欠如下において、遊走分析（transmigration analysis）に個々にかけられた。 $CCL2$ （a）、 $CXCL8$ （a、g、h）及び $CXCL12$ （f）は、陽性対照群としての役目を果たし、又はMIF（又は $CXCL8$ による、h）による脱感作の検査のために使用された。単球（a）上のMIF、 $CCL2$ 及び $CXCL8$ の走化性効果、又は好中球（g）上のMIFの走化性効果は、円錐型の用量反応曲線に従った。a及びf～hにおけるデータは、走化指数として表され、cにおけるデータは対照群のパーセントとして表され、及びb、d、並びにeにおけるデータは入力のパーセントとして表される。データは、4～10の独立実験の平均値 \pm s.d.を表すが、パネ

10

20

30

40

50

ル a、c 及び g、b の煮沸した M I F、及び二つの独立実験の平均値である b 並びに e における活性薬剤のみの対照群は除く。

【図 2 b】図 2 b は、M I F 誘発性単核細胞の走化性が C X C R 2 / C X C R 4 及び C D 7 4 により媒介される図である。主なヒト単球 (a ~ e)、C D 3 + T 細胞 (f) 及び好中球 (g、h) は、M I F の存在下、又は欠如下において、移動分析 (transmigration analysis) に個々にかけられた。M I F 誘発性単球の走化性は、M I F に対する活性薬剤、煮沸 (b)、又は示されている濃度での M I F (頂部チャンバー内、c) により、妨げられた。a 及び f ~ h におけるデータは、走化指数として表され、c におけるデータは対照群のパーセントとして表され、及び b、d、並びに e におけるデータは入力のパ

10

ーセントとして表される。データは、4 ~ 10 の独立実験の平均値 \pm s . d . を表すが、パネル a、c 及び g、b の煮沸した M I F、及び二つの独立実験の平均値である b 並びに e における活性薬剤のみの対照群は除く。

20

【図 2 d】図 2 d は、M I F 誘発性単核細胞の走化性が C X C R 2 / C X C R 4 及び C D 7 4 により媒介される図である。主なヒト単球 (a ~ e)、C D 3 + T 細胞 (f) 及び好中球 (g、h) は、M I F の存在下、又は欠如下において、遊走分析 (transmigration analysis) に個々にかけられた。(d) M I F 誘発性走化性は、G i / ホスホイノシチド - 3 - キナーゼシグナル伝達により媒介され、M I F 誘発性走化性は、百日毒素成分 A 及び B (P T X A + B)、P T X 成分 B のみ、又は L y 2 9 4 0 0 2 を用いる処置によって証明された。a 及び f ~ h におけるデータは、走化指数として表され、c におけるデータは対照群のパーセントとして表され、及び b、d、並びに e におけるデータは入力のパ

30

ーセントとして表される。データは、4 ~ 10 の独立実験の平均値 \pm s . d . を表すが、パネル a、c 及び g、b の煮沸した M I F、及び二つの独立実験の平均値である b 並びに e における活性薬剤のみの対照群は除く。

40

【図 2 f】図 2 f は、M I F 誘発性単核細胞の走化性が C X C R 2 / C X C R 4 及び C D 7 4 により媒介される図である。主なヒト単球 (a ~ e)、C D 3 + T 細胞 (f) 及び好中球 (g、h) は、M I F の存在下、又は欠如下において、遊走分析 (transmigration analysis) に個々にかけられた。(f) M I F により誘発される T 細胞走化性は、M I F 及び C X C R 4 に対する抗体により遮断された。a 及び f ~ h におけるデータは、走化指数として表され、c におけるデータは対照群のパーセントとして表され、及び b、d、並びに e におけるデータは入力のパ

50

実験の平均値である b 並びに e における活性薬剤のみの対照群は除く。

【図 2 g】図 2 g は、M I F 誘発性単核細胞の走化性が C X C R 2 / C X C R 4 及び C D 7 4 により媒介される図である。主なヒト単球 (a ~ e)、C D 3 + T 細胞 (f) 及び好中球 (g、h) は、M I F の存在下、又は欠如下において、移動分析 (transmigration analysis) に個々にかけられた。(g) M I F により誘発される好中球走化性。a 及び f ~ h におけるデータは、走化指数として表され、c におけるデータは対照群のパーセントとして表され、及び b、d、並びに e におけるデータは入力のパーセントとして表される。データは、4 ~ 10 の独立実験の平均値 \pm s . d . を表すが、パネル a、c 及び g、b の煮沸した M I F、及び二つの独立実験の平均値である b 並びに e における活性薬剤のみの対照群は除く。

10

【図 2 h】図 2 h は、M I F 誘発性単核細胞の走化性が C X C R 2 / C X C R 4 及び C D 7 4 により媒介される図である。主なヒト単球 (a ~ e)、C D 3 + T 細胞 (f) 及び好中球 (g、h) は、M I F の存在下、又は欠如下において、移動分析 (transmigration analysis) に個々にかけられた。(h) C X C L 8 誘発性好中球走化性に対する M I F 誘発性好中球走化、C X C R 2 又は C X C R 1 に対する抗体の効果、及び M I F による C X C L 8 の脱感作。a 及び f ~ h におけるデータは、走化指数として表され、c におけるデータは対照群のパーセントとして表され、及び b、d、並びに e におけるデータは入力のパーセントとして表される。データは、4 ~ 10 の独立実験の平均値 \pm s . d . を表すが、パネル a、c 及び g、b の煮沸した M I F、及び二つの独立実験の平均値である b 並びに e における活性薬剤のみの対照群は除く。

20

【0008】

【図 3 a】図 3 a は、M I F が急速なインテグリン活性化及びカルシウムシグナル伝達を引き起こす図である。(a) ヒト大動脈内皮細胞は、M I F 又は T N F - α を用いて 2 時間刺激された。C X C L 1 及び C X C L 8 m R N A は、リアルタイム P C R により分析され、対照群に基準化された。上澄み由来の C X C L 8 は、E L I S A (n = 繰り返し行われた 3 つの独立実験) により評価された。

【図 3 b】図 3 b は、M I F が急速なインテグリン活性化及びカルシウムシグナル伝達を引き起こす図である。(b) M o n o M a c 6 細胞は、M I F 又は C X C L 8 を用いて 1 分間直接刺激され、C H O - I C A M - 1 細胞上で 5 分間 (8 つの独立実験の平均値 \pm s . d .) かん流された。

30

【図 3 c】図 3 c は、M I F が急速なインテグリン活性化及びカルシウムシグナル伝達を引き起こす図である。(c) M o n o M a c 6 細胞は、M I F を用いて、示された回数刺激された。L F A - 活性化 (3 2 7 c 抗体により検出) は、F A C S A r i a により観察され、平均蛍光強度 (M I F) における伸び率として表された。c ~ e における阻止データは、5 つの独立実験の平均値 \pm s . d . を表す。

【図 3 d】図 3 d は、M I F が急速なインテグリン活性化及びカルシウムシグナル伝達を引き起こす図である。(d) c のように、主な単球を別にすれば、データは、M g 2 + / E G T A による最大活性化に対して表される。c ~ e における阻止データは、5 つの独立実験の平均値 \pm s . d . を表す。

【図 3 e】図 3 e は、M I F が急速なインテグリン活性化及びカルシウムシグナル伝達を引き起こす図である。(e) M o n o M a c 6 細胞は、4 インテグリン、C D 7 4 又は C X C R 2 に対する抗体を用いて前処理され、M I F を用いて 1 分間刺激され、V C A M - 1 . F c 上で 5 分間かん流された。接着は、対照群のパーセントとして表現される。c ~ e における阻止データは、5 つの独立実験の平均値 \pm s . d . を表す。

40

【図 3 f】図 3 f は、M I F が急速なインテグリン活性化及びカルシウムシグナル伝達を引き起こす図である。(f) F l u o - 4 A M 標識化好中球におけるカルシウムトランジェントは、M I F、C X C L 8、又は C X C L 7 を用いて刺激された。カルシウム由来の M I F は、F A C S A r i a により 0 ~ 2 4 0 秒記録された。脱感作のため、刺激が刺激作用前に 1 2 0 秒間加えられた。図示された跡は、4 つの独立した実験を表す。

【図 3 g】図 3 g は、M I F が急速なインテグリン活性化及びカルシウムシグナル伝達を

50

引き起こす図である。(g)示された濃度での、L1.2-CXCR2トランスフェクタントにおける、CXCL8、CXCL7又はMIFにより誘発されるカルシウム流入の用量反応曲線。データは、基準値とピークのMIF(4~8の独立実験の平均値±s.d.)との差として表される。

【0009】

【図4a】図4aは、CXCR2/CXCR4とのMIF相互作用およびCXCR2/CD74複合体の形成の図である。HEK293-CXCR2トランスフェクタント(a)又はCXCR4を有するジャーカット細胞(c)は、MIF又は低温の同族リガンド(平均値±s.d.、n=6-10)により、[I125]CXCL8(a)又は[I125]CXCL12(c)の競合作用を分析する受容体結合アッセイにかけられた。

10

【図4b】図4bは、CXCR2/CXCR4とのMIF相互作用およびCXCR2/CD74複合体の形成の図である。(b)図のような、HEK293-CXCR2又はRAW264.7-CXCR2トランスフェクタント(挿入図は代表的なヒストグラムを示す)における、MIF-及びCXCL8-誘発性CXCR2の内在化、表面CXCR2発現のFACS分析(バッファの割合(Con)、平均値±s.d.、n=5)により評価される。

【図4c】図4cは、CXCR2/CXCR4とのMIF相互作用およびCXCR2/CD74複合体の形成の図である。HEK293-CXCR2トランスフェクタント(a)又はCXCR4を有するジャーカット細胞(c)は、MIF又は低温の同族リガンド(平均値±s.d.、n=6-10)により、[I125]CXCL8(a)又は[I125]CXCL12(c)の競合作用を分析する受容体結合アッセイにかけられた。

20

【図4d】図4dは、CXCR2/CXCR4とのMIF相互作用およびCXCR2/CD74複合体の形成の図である。(d)b(平均値±s.d.、n=4-6)におけるような、ジャーカット細胞におけるMIF-及びCXCL12-誘発性CXCR4の内在化。

【図4e】図4eは、CXCR2/CXCR4とのMIF相互作用およびCXCR2/CD74複合体の形成の図である。(e)フルオレセイン-MIFの、HEK293-CXCR2トランスフェクタント、又はFACSにより分析されるベクター対照群との結合。挿入図は、ビオチン-MIFの、ベクター対照群に対するHEK293-CXCR2トランスフェクタントからストレプトアゼジン(SAv)をプルダウンした後に、CXCR2に対する抗体を用いるウェスタンブロットにより評価されるCXCR2との結合を示す。データは3つの独立実験を表す(e~h)。

30

【図4f】図4fは、CXCR2/CXCR4とのMIF相互作用およびCXCR2/CD74複合体の形成の図である。(f)RAW264.7-CXCR2トランスフェクタントにおけるCXCR2及びCD74(橙黄色の重なり)の共局在化は、CXCR2、CD74、及び核(ヘキスト社)に関して染色され、蛍光顕微鏡検査法(頂部)又は共焦点レーザー走査顕微鏡法(底部)により分析された。スケールバー、10µm。データは3つの独立実験を表す(e~h)。

【図4g】図4gは、CXCR2/CXCR4とのMIF相互作用およびCXCR2/CD74複合体の形成の図である。(g)Hisタグを付けたCD74を発現させるHEK293-CXCR2トランスフェクタントのCHAPS抽出物におけるCXCR2/CD74複合体の免疫共沈降。抗His-免疫沈降(IP)後、抗CXCR2又は抗His-CD74のウェスタンブロット法(WB、頂部)が続き、又は抗CXCR2免疫沈降の後に、抗His-CD74又は抗CXCR2ウェスタンブロット法(底部)が続いた。対照群：免疫沈降を含まない可溶化液、又はビーズのみ。データは3つの独立実験を表す(e~h)。

40

【図4h】図4hは、CXCR2/CXCR4とのMIF相互作用およびCXCR2/CD74複合体の形成の図である。(h)L1.2-CXCR2トランスフェクタントに関して、gにおける通り。L1.2-CXCR2トランスフェクタントからの抗CXCR2免疫沈降後、抗CD74又は抗CXCR2ウェスタンブロット法(頂部)が続いた。アイソタイプIgG又はCXCR2-陰性L1.2-細胞(底部)を伴う免疫沈降は、対照群として機能した。データは3つの独立実験を表す(e~h)。

50

【 0 0 1 0 】

【図 5 a】図 5 a は、インビボで C X C R 2 を介した M I F 誘発性アテローム生成及び微小血管炎症、及び M I F の効果がプラーク退縮を遮断する図である。(a) インビボの管腔への単球付着、及び未変性の大動脈基部における病変マクロファージ内容物への単球付着は、固形飼料を 30 週間食事として与えられた M i f ⁺ / ⁺ L d l r ⁻ / ⁻ 及び M i f ⁻ / L d l r ⁻ / ⁻ マウス (n = 4) において測定された。代表的な画像が示されている。矢印は、管腔表面に付着した単球を示す。スケールバー、100 μ m。

【図 5 b】図 5 b は、インビボ C X C R 2 を介した M I F 誘発性アテローム生成及び微小血管炎症、及び M I F の効果がプラーク退縮を遮断する図である。(b、c) M I F 誘発性 C X C R 2 - 依存性白血球のインビボ動員への膨露。M I F のその後の陰嚢内注入、精巢拳筋の微小血管系は、生体顕微鏡検査により視覚化された。遮断 C X C R 2 抗体を用いる前処理は、I g G 対照群 (n = 4) と比較して、接着及び遊走を妨げた。

【図 5 c】図 5 c は、インビボで C X C R 2 を介した M I F 誘発性アテローム生成及び微小血管炎症、及び M I F の効果がプラーク退縮を遮断する図である。(b、c) M I F 誘発性 C X C R 2 - 依存性白血球のインビボ動員への膨露。M I F の以下の陰嚢内注入、精巢拳筋の微小血管系は、生体顕微鏡検査により視覚化された。遮断 C X C R 2 抗体を用いる前処理は、I g G 対照群 (n = 4) と比較して、接着及び遊走を妨げた。

【図 5 d】図 5 d は、インビボで C X C R 2 を介した M I F 誘発性アテローム生成及び微小血管炎症、及び M I F の効果がプラーク退縮を遮断する図である。(d) M I F 又はビヒクルの腹腔内注入は、野生型、但し I l 8 r b ⁻ / ⁻ ではない骨髄で再構築される野生型マウス (n = 3) における好中球動員を誘発した。

【図 5 e】図 5 e は、インビボで C X C R 2 を介した M I F 誘発性アテローム生成及び微小血管炎症、及び M I F の効果がプラーク退縮を遮断する図である。(e ~ h) C X C L 1 又は C X C L 1 2 でない遮断 M I F は、進行したアテローム硬化性プラークの退行及び安定をもたらす。アポ e ⁻ / ⁻ マウスは、高脂肪食を 12 週間与えられ、続いて M I F、C X C L 1 又は C X C L 1 2 に対する抗体を用いて、又はビヒクル (対照群) を用いて更に 4 週間、(n = 6 ~ 10 のマウス) 処置された。大動脈基部におけるプラークは、オイルレッド O を用いて染色された。代表的な画像は、e (スケールバー、500 μ m) において示される。f におけるデータは、ベースライン時 (12 週間)、及び 16 週間後のプラーク領域を表す。M O M A - 2 ⁺ マクロファージの相対含量は、g において示されており、h のセクションごとの C D 3 ⁺ T 細胞の数。データは平均値 ± s.d. を表す。

【図 5 f】図 5 f は、インビボで C X C R 2 を介した M I F 誘発性アテローム生成及び微小血管炎症、及び M I F の効果がプラーク退縮を遮断する図である。(e ~ h) C X C L 1 又は C X C L 1 2 でない遮断 M I F は、進行したアテローム硬化性プラークの退行及び安定をもたらす。アポ e ⁻ / ⁻ マウスは、高脂肪食を 12 週間与えられ、続いて M I F、C X C L 1 又は C X C L 1 2 に対する抗体を用いて、又はビヒクル (対照群) を用いて更に 4 週間、(n = 6 ~ 10 のマウス) 処置された。大動脈基部におけるプラークは、オイルレッド O を用いて染色された。代表的な画像は、e (スケールバー、500 μ m) において示される。f におけるデータは、ベースライン時 (12 週間)、及び 16 週間後のプラーク領域を表す。M O M A - 2 ⁺ マクロファージの相対含量は、g において示されており、h のセクションごとの C D 3 ⁺ T 細胞の数。データは平均値 ± s.d. を表す。

【図 5 g】図 5 g は、インビボで C X C R 2 を介した M I F 誘発性アテローム生成及び微小血管炎症、及び M I F の効果がプラーク退縮を遮断する図である。(e ~ h) C X C L 1 又は C X C L 1 2 でない遮断 M I F は、進行したアテローム硬化性プラークの退行及び安定をもたらす。アポ e ⁻ / ⁻ マウスは、高脂肪食を 12 週間与えられ、続いて M I F、C X C L 1 又は C X C L 1 2 に対する抗体を用いて、又はビヒクル (対照群) を用いて更に 4 週間、(n = 6 ~ 10 のマウス) 処置された。大動脈基部におけるプラークは、オイルレッド O を用いて染色された。代表的な画像は、e (スケールバー、500 μ m) において示される。f におけるデータは、ベースライン時 (12 週間)、及び 16 週間後のプラーク領域を表す。M O M A - 2 ⁺ マクロファージの相対含量は、g において示されており、

10

20

30

40

50

hのセクションごとのCD3⁺T細胞の数。データは平均値±s.d.を表す。

【図5h】図5hは、インビボでCXCR2を介したMIF誘発性アテローム生成及び微小血管炎症、及びMIFの効果がプラーク退縮を遮断する図である。(e~h)CXCL1又はCXCL12でない遮断MIFは、進行したアテローム硬化性プラークの退行及び安定をもたらす。アポe^{-/-}マウスは、高脂肪食を12週間与えられ、続いてMIF、CXCL1又はCXCL12に対する抗体を用いて、又はビヒクル(対照群)を用いて更に4週間、(n=6~10のマウス)処置された。大動脈基部におけるプラークは、オイルレッドOを用いて染色された。代表的な画像は、e(スケールバー、500μm)において示される。fにおけるデータは、ベースライン時(12週間)、及び16週間後のプラーク領域を表す。MOMA-2⁺マクロファージの相対含量は、gにおいて示されており、hのセクションごとのCD3⁺T細胞の数。データは平均値±s.d.を表す。

10

【0011】

【図6】図6は、アテローム発生内容物におけるMIFの細胞機構の図である。MIF発現は、血管壁の細胞及び内膜マクロファージ内において、様々なプロアテローム生成的刺激(proatherogenic stimuli)、例えば、酸化型LDL(oxLDL)又はアンジオテンシンII(ATII)により誘発される。続いて、MIFは、内皮細胞付着分子(例えば、血管VCAM-1)及び細胞内ICAM-1付着分子)並びにケモカイン(例えば、CCL2)を上方制御し、ヘプタヘリカル(heptahelical)(ケモカイン)受容体CXCR2及びCXCR4を介して結合又はシグナル伝達することにより、それぞれのインテグリン受容体(例えば、LFA-1及びVLA-4)の直接的活性化を引き起こす。このことは単核細胞(単球及びT細胞)の動員、並びにマクロファージの泡沫細胞への変換を伴い、アポトーシスを抑制し、SMCの移動又は増殖を制御する(例えば、損なう)。MMP及びカテプシンを誘発することにより、MIFは、エラスチン及びコラーゲン分解を促進し、最終的に不安定なプラークへの進行を招く。ROSは活性酸素種、PDGF-BB、血小板由来成長因子-BBを示す。

20

【0012】

【図7】図7は、機能的なMIF受容体複合体を介したシグナル伝達の図である。MIFは、サイトカイン生成を制御することによりその機能を無効にするグルココルチコイドにより誘発され、そのエンドサイトーシスの後、細胞内タンパク質、すなわちJAB-1と相互作用することが可能であり、それによりMAPKシグナル伝達を下方制御し、細胞酸化還元ホメオスタシスを調節する。いくつかの実施形態において、細胞外MIFは、細胞表面タンパク質CD74(インバリアント鎖Ii)に結合する。CD74は、シグナル伝達細胞内ドメインを欠いているが、プロテオグリガンCD44に相互作用すると共に、CD44を介してシグナル伝達を媒介することで、Src-ファミリーPTK及びMAPK/細胞外シグナル制御キナーゼ(ERK)の活性化を誘発し、P13K/Akt経路を活性化し、又はp53-依存性アポトーシス抑制を始める。MIFはまた、Gタンパク質共役型ケモカイン受容体(CXCR2及びCXCR4)のみを介して、結合及びシグナル伝達を行う。付属結合を可能にする、CD74を用いたCXCR2の複合体形成は、GPCR活性化及びGPCR-RTKのようなシグナル伝達複合体の形成を容易にして、カルシウム流入及び急速なインテグリン活性化を誘発する。

30

40

【0013】

【図8】図8は、心筋病変におけるMIFの効果の図である。虚血再かん流障害の内容物において、敗血症における低酸素、活性酸素種(ROS)、及びエンドトキシン(例えば、リポ多糖体[LPS])は、タンパク質キナーゼC(PKC)依存性機構を介して、心筋細胞からMIFの分泌を誘発し、心筋細胞アポトーシスに寄与する細胞外シグナル制御キナーゼ(ERK)活性化をもたらす。MIFは、生存している心筋細胞、又は、処置上の注入に用いられる内皮前駆細胞(例えば、eEPC)によって発現されるが、いくつかの実施形態において、MIFは、その受容体CXCR2及びCXCR4を介して血管形成を促進し、MAPKとPI3Kの活性化を要求する。

【0014】

50

【図 9 a】図 9 a は、C X C R 2 による随伴性干渉を伴わない C X C R 4 による干渉が、アテローム性動脈硬化を悪化させる図である。高脂質食を受けるアポ e - / - マウスは、浸透圧ミニポンプを介して 1 2 週間 (n = 各々 6)、ビヒクル (対照群) 又は A M D 3 4 6 5 を用いて持続的に処置された。アテローム硬化性プラークは、オイルレッド O での染色後、大動脈基部 (図 1 4 a) 及び胸腹部大動脈 (図 1 4 b) において数量化された。好中球の相対数は、表示された時点 (図 1 4 c) での末梢血液中のフローサイトメリー分析、又は標準的なサイトメトリーにより測定される。

【図 9 b】図 9 b は、C X C R 2 による随伴性干渉を伴わない C X C R 4 による干渉が、アテローム性動脈硬化を悪化させる図である。高脂質食を受けるアポ e - / - マウスは、浸透圧ミニポンプを介して 1 2 週間 (n = 各々 6)、ビヒクル (対照群) 又は A M D 3 4 6 5 を用いて持続的に処置された。アテローム硬化性プラークは、オイルレッド O での染色後、大動脈基部 (図 1 4 a) 及び胸腹部大動脈 (図 1 4 b) において数量化された。好中球の相対数は、表示された時点 (図 1 4 c) での末梢血液中のフローサイトメリー分析、又は標準的なサイトメトリーにより測定される。

【図 9 c】図 9 c は、C X C R 2 による随伴性干渉を伴わない C X C R 4 による干渉が、アテローム性動脈硬化を悪化させる図である。高脂質食を受けるアポ e - / - マウスは、浸透圧ミニポンプを介して 1 2 週間 (n = 各々 6)、ビヒクル (対照群) 又は A M D 3 4 6 5 を用いて持続的に処置された。アテローム硬化性プラークは、オイルレッド O での染色後、大動脈基部 (図 1 4 a) 及び胸腹部大動脈 (図 1 4 b) において数量化された。好中球の相対数は、表示された時点 (図 1 4 c) での末梢血液中のフローサイトメリー分析、又は標準的なサイトメトリーにより測定される。

【 0 0 1 5 】

【図 1 0】図 1 0 は、M I F 三量体の結晶構造を図示している。偽の E L R ドメインは、三量体中に環を形成する一方で、N - ループドメインは、偽の E L R 環から外向きに延出する。

【 0 0 1 6 】

【図 1 1】図 1 1 は、N - ループドメイン及び偽の E L R ドメインに相当する配列を示すために注釈を付けた、M I F のヌレオクチド配列を図示している。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 7 】

特定の実施形態において、C X C R 2 および C X C R 4 を介した M I F のシグナル伝達を抑制する方法が、本明細書中に開示される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 および C X C R 4 を介した M I F のシグナル伝達は、活性薬剤を用いて C X C R 2 および C X C R 4 という M I F 結合ドメインを占有することにより抑制される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 および C X C R 4 を介した M I F のシグナル伝達は、M I F 上のドメインを占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊することにより抑制される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 および C X C R 4 を介した M I F のシグナル伝達は、M I F 上のドメインを活性薬剤で占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊すること、及びそれにより M I F の C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 との結合を破壊することにより抑制される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 および C X C R 4 を介した M I F のシグナル伝達は、M I F 上のドメインを活性薬剤で占有、遮蔽、またその他に破壊すること、及びそれにより M I F 三量体形成を破壊することによって抑制される。

【 0 0 1 8 】

M I F の相互作用を抑制、又は M I F の発現を下方制御する方法は多くある一方で、当該技術は、M I F の特定の部分が、白血球相互作用に関して他の部分よりも重要であるという認識を欠いている。本明細書中において解決される問題は、ペプチド及び小分子の認識並びに産生であり、ペプチド及び小分子は、白血球走化性に対して重要である M I F の選択部分に結合する。

【 0 0 1 9 】

更に、多くのペプチド及び小分子が存在し、ペプチド及び小分子は、C X C R 2 及び C

10

20

30

40

50

X C R 4 とそれらのリガンドとの相互作用を抑制又は下方制御する。しかしながら、これらの受容体もまた、他のリガンド（例えば、I L - 8 / C X C L 8、G R O b e t a / C X C L 2 及び / 又はストロマ細胞由来因子- 1 a (S D F - 1 a) / C X C L 1 2) との相互作用に関わる。有害な副作用は、これら後者の相互作用が抑制される場合、しばしば生じる。本明細書中において解決される問題は、M I F の抗 C X C R 2 及び抗 C X C R 4 との相互作用を選択的に抑制するペプチド及び小分子を設計するための当該技術分野の失敗である。

【 0 0 2 0 】

特定の定義

用語「個体」、「被検体」、又は「患者」は、交互に用いられる。本明細書中において使用されるように、これら用語は任意の哺乳動物（即ち、分類学的な分類動物界内の任意の目、群、または属の種：脊索動物：脊椎動物：哺乳動物）を意味する。いくつかの実施形態において、哺乳動物はヒトである。いくつかの実施形態において、哺乳動物はヒトではない。いくつかの実施形態において、哺乳動物は、分類学目：霊長類（例えば、キツネザル、ロリス (lorids)、ガラゴ属、メガネザル、サル、類人猿、及びヒト）、げっ歯類（例えば、マウス、ネズミ、リス、シマリス、及びホリネズミ）、ウサギ目（例えば、ノウサギ、ウサギ、ナキウサギ）、ハリネズミ目 (erinaceomorpha)（例えば、ハリネズミ及びジムヌラ (gymnures)）、トガリネズミ目（例えば、トガリネズミ、モグラ、及びソレノドン）、翼手類（例えば、コウモリ）、クジラ目（例えば、クジラ、イルカ、及びネズミイルカ）、肉食動物（例えば、ネコ、ライオン、及びその他のネコ亜目、イヌ、クマ、イタチ、及びアザラシ）、奇蹄類（例えば、ウマ、シマウマ、バク、及びサイ）、偶蹄類（例えば、ブタ、ラクダ、牛、及びシカ）、長鼻目（例えば、ゾウ）、海牛目（例えば、マナティ、ジュゴン、及び海牛）、哺乳動物目異節上目被甲目 (cingulata)（例えば、アルマジロ）、有眉目（例えば、アリクイ及びナマケモノ）、有袋類オポッサム目 (didelphimophia)（例えば、アメリカンオポッサム (american opossums)、ケノレステス目 (paucituberculata)（例えば、ケノレステス (shrew opossums)）、ミクロピオテリウム目（例えば、チエロオポッサム (Monito del Monte)）、フクロモグラ目 (notoryctemorphia)（例えば、フクロモグラ）、フクロネコ目 (dasyuromorphia)（例えば、有袋類の肉食動物 (marsupial carnivores)）、バンディクート目（例えば、バンディクート及びビルビー (bilbies)）、又はカンガルー目（例えば、ウォンバット、コアラ、ポッサム、モモンガ (glider)、カンガルー、ワラルー、及びワラビー）の一員である。いくつかの実施形態において、動物は爬虫類（即ち、分類学的な分類動物界内の任意の目、群、及び属の種：脊索動物：脊椎動物：爬虫類）である。いくつかの実施形態において、動物は鳥類（即ち、動物界：脊索動物：脊椎動物：鳥類）である。どの用語も、医療従事者（例えば、医師、正看護師、上級看護師、医師の助手、病棟勤務員、又はホスピスワーカー）の管理（例えば、定常性又は間欠性）により特徴化される状況を要求しない、又はこれに制限されない。

【 0 0 2 1 】

結合分子（即ち、活性薬剤、例えば、ペプチド又はペプチド模倣剤）と、タンパク質又はポリペプチド或いはエピトープの間の相互作用に対する言及時、成句「特異的に結合する」は、一般的に結合分子を表し、この結合分子は、所望の対象となる標的を認識し、所望の対象となる標的を高い親和性で検出可能に特異的に結合する。好ましくは、指定の条件又は生理学的条件下で、特定の抗体又は結合分子は、特定のポリペプチド、タンパク質、又はエピトープに結合するが、検体中に存在する他の分子とは、莫大な、又は望ましくない量で結合しない。言い換えると、特定の抗体又は結合分子は、標的ではない抗原及び / 又はエピトープとの望ましくない交差反応は行わない。様々なイムノアッセイ様式 (immunoassay formats) を用いることにより、特定のポリペプチドと免疫的に活性であると共に、所望の特異性を備える抗体又は結合分子を選択する。例えば、固相 E L I S A イムノアッセイ、B I A c o r e、フローサイトメトリー、及びラジオイムノアッセイが、所望の免疫活性及び特異性を備える、モノクローナル抗体を選択するために使用される。イ

ムノアッセイ様式、及び免疫活性と特異性を定義又は評価するために使用される条件の記載については、文献「Harlow, 1988, ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Publications, New York (hereinafter, "Harlow")」を参照する。

【0022】

「選択的結合」、「選択性」などは、別の分子と比較して、一つの分子と相互作用する、活性薬剤の優先度を表す。好ましくは、本明細書中に記載されている活性薬剤とタンパク質の間の相互作用は、特異的であり選択的でもある。いくつかの実施形態において、活性薬剤は、他の望ましくない標的に結合することなく、二つの特徴的ではあるが同類の標的と、「特異的に結合」及び「選択的に結合」するために設計される。

【0023】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」は、アミノ酸残基のポリマーを表し、本明細書中において交互に用いられる。この用語は、自然発生アミノ酸ポリマーに適応し、同様に1以上のアミノ酸残基が非自然にアミノ酸（例えば、アミノ酸類似物）を発生させるアミノ酸ポリマーにも適応する。この用語は、任意の長さのアミノ酸鎖を包含し、完全長タンパク質（即ち、抗原）を含み、この場合、アミノ酸残基は共益ペプチド結合により結び付けられる。

【0024】

用語「抗原」は、抗体の産生を誘発することが出来る物質を表す。いくつかの実施形態において、抗原は抗体可変領域に特異的に結合する物質である。

【0025】

用語「抗体 (antibody) (antibodies)」は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二重特異性抗体、多特異的抗体、移植抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、合成抗体、キメラ抗体、ラクダ化 (camelized) 抗体、1本鎖 Fv (scFv)、1本鎖抗体、Fab フラグメント、F(ab') フラグメント、ジスルフィド結合 Fv (sdFv)、細胞内発現抗体 (intrabody)、及び抗イディオタイプ (抗 Id) 抗体、並びに上記のいずれかの抗原結合フラグメントのことを言う。特に、抗体は、免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫学的に活性なフラグメント、即ち、抗原結合部位を含む分子を含む。重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に依存して、免疫グロブリンは異なるクラスに割り当てられることがある。免疫グロブリンの異なる分類に対応する重鎖定常ドメイン (Fc) は、それぞれ、 γ 、 μ 、 δ 、及び ϵ と呼ばれている。免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造及び三次元立体構造がよく知られている。免疫グロブリン分子は、任意のタイプ（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 及び IgY）、クラス (IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁ 及び IgA₂) 又はサブクラスである。用語「抗体」及び「免疫グロブリン」は、広い意味において交互に使用される。いくつかの実施形態において、抗体は、より大きな分子の一部であり、1以上の他のタンパク質又はペプチドと抗体の共有結合性又は非共有結合性の関係により形成される。

【0026】

抗体に関して、用語「可変ドメイン」は、その特定の抗原に関して各々の特定の抗体の結合及び特異性に使用される抗体の可変ドメインを表す。しかしながら、可変性は、抗体の可変ドメインの全体に均一に分配されていない。むしろそれは、軽鎖及び重鎖の可変ドメインにおける、超可変領域 (CDR としても知られている) と呼ばれる3つのセグメントで濃縮される。可変ドメインの更に高度に保存された部分は、「フレームワーク領域」又は「FR」と呼ばれる。修飾されない重鎖及び軽鎖の可変ドメインはそれぞれ、4つのFR (FR1、FR2、FR3 及び FR4) を含み、ループ結合を形成する3つのCDRが分散したシート配置を選定し、いくつかの場合によって、シート構造の一部を選定する。各々の鎖におけるCDRは、FRによって極めて近接にまとめられ、他の鎖からのCDRを用いて、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991), pages 647-669を参照)。

【0027】

用語「超可変領域」及び「CDR」は、本明細書中における使用時、抗原結合の原因である抗体のアミノ酸残基を表す。CDRは、抗原と補完的に結合する3つの配列領域からのアミノ酸残基を備え、 V_H 及び V_L 鎖の各々に関してCDR1、CDR2、及びCDR3として知られている。軽鎖の可変ドメインにおいて、CDRは一般的に、およそ残基24-34 (CDRL1)、50-56 (CDRL2) 及び89-97 (CDRL3) に対応し、重鎖の可変ドメインにおいて、CDRは一般的に、およそ残基31-35 (CDRH1)、50-65 (CDRH2) 及び95-102 (CDRH3) に対応し、これらのことは、文献「Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))」によるものである。異なる抗体のCDRは、挿入を含むことが可能であり、従って、アミノ酸の番号付けは異なることがあるということが理解される。カバットによる番号付けシステムは、特定の残基（例えば、軽鎖におけるCDRL1の27A、27B、27C、27D、27E、及び27F）に付着する文字を利用する番号付け体系（a numbering scheme）を伴うそのような挿入を説明し、様々な抗体間の番号付けにおける任意の挿入を反映する。あるいは、軽鎖の可変ドメインにおいて、CDRは一般的に、およそ残基26-32 (CDRL1)、50-52 (CDRL2) 及び91-96 (CDRL3) に対応し、重鎖の可変ドメインにおいて、CDRは一般的に、およそ残基26-32 (CDRH1)、53-55 (CDRH2) 及び96-101 (CDRH3) に対応し、これらは、文献「Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 196: 901-917 (1987))」によるものである。

10

20

30

40

50

【0028】

抗体の定常ドメイン (Fc) は、抗体の抗原との結合に直接関わりはないが、むしろ、様々なエフェクター機能、例えば、Fc受容体 (FcR) などとの相互作用を介した抗体依存性細胞毒性への抗体の関与などを示す。Fcドメインはまた、患者への投与を伴う循環において、抗体のバイオアベイラビリティを増加することもある。

【0029】

本明細書中において使用されているように、用語「親和性」は、二つの薬剤の可逆的結合のための平衡定数を表し、 k_d として表される。エピトープのための抗体の親和性などの結合タンパク質の親和性は、例えば、約100ナノモル (nM) から約0.1 nM、約100 nMから約1ピコモル (pM)、又は約100 nMから約1フェムトモル (fM) である。本明細書中において使用されているように、用語「アビジティ」は、希釈後の分離に対する2以上の薬剤の複合体の抵抗性を表す。

【0030】

用語「ペプチボディ (peptibody)」は、抗体、又は1以上の抗体ドメイン（例えば、抗体のFcドメイン）に直接又は間接的のどちらかで融合されるペプチド（複数種）を含む分子を表し、この場合、ペプチド成分は所望の標的に特異的に結合する。ペプチド（複数種）は、Fc領域に融合される、又はFc-ループ、即ち修正されたFc分子へと挿入されるかのいずれかである。用語「ペプチボディ」は、Fc融合タンパク質（例えば、Fcドメインに融合される完全長タンパク質）を含まない。

【0031】

用語「単離された」及び「精製された」は、実質的又は本質的に自然環境から除かれる、又は自然環境で濃縮される物質を表す。例えば、単離された核酸は、被検体において、通常隣接する核酸の少なくともいくつかから、又は他の核酸、或いは構成成分（タンパク質、脂質など）から分離されたものである。もう一つの例において、ポリペプチドは、実質的に自然環境から除かれる、又は自然環境で濃縮される場合に精製される。核酸及びタンパク質の精製並びに単離方法は、立証された方法論である。「実質的に」の実施形態は、少なくとも20%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも75%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%を含む。

【0032】

用語「処置する (treat) (treating) (treatment)」及び他の文法的に同等のものは、本明細書中において使用されているように、症状を緩和、抑制、又は減少すること、

疾患又は疾病の症状の重症度を減少又は抑制すること、疾患又は疾病の症状の発生率を減少させること、疾患又は疾病の症状の予防的治療、疾患又は疾病の症状の再発を減少又は抑制すること、疾患又は疾病の症状の発現を予防すること、疾患又は疾病の症状の発現を遅らせること、症状の再発を遅らせること、疾患又は疾病の症状を低減又は改善すること、症状の根本的な代謝の原因を改善すること、疾患又は疾病を抑制すること、例えば、疾患又は疾病の発症を阻止させること、疾患又は疾病を取り除くこと、疾患又は疾病の退行を引き起こすこと、疾患又は疾病により生じた状態を取り除くこと、又は疾患又は疾病の症状を阻止させることを含む。この用語は更に、治療効果を達成することを含む。治療効果によるものは、個体において改善が見受けられるような、処置されるべき根本的な障害の根絶又は改善、及び/又は根本的な障害と関連した1以上の生理学的な症状の根絶又は改善を意味する。

【0033】

用語「予防 (prevent) (preventing) (prevention)」及び他の文法的に同等のものは、本明細書中において使用されているように、追加の症状を予防すること、症状の根本的な代謝原因を予防すること、疾患又は疾病を抑制すること、例えば、疾患又は疾病の発症を阻止することを含み、予防を含むことを目的としている。この用語は更に、予防効果の達成を含む。予防効果のために、組成物は、特定の疾患が進行する危険性がある個体、疾患の1以上の生理学的な症状を訴える個体、又は疾患の再発の危険性がある個体に対して、随意に投与される。

【0034】

用語「効果的な量」又は「治療上効果的な量」は、本明細書中において使用されているように、所望の結果を達成する投与されるべき少なくとも一つの薬剤の十分な量を表し、この結果とは、例えば、処置される疾患又は疾病1以上の症状をある程度和らげることである。特定の例において、結果は、疾患の兆候、症状、又は原因の減少及び/又は緩和であり、又は生命システムの任意の他の所望の変質である。具体的な例において、結果は、少なくとも一つの異常増殖型細胞、例えば、癌幹細胞におけるアポトーシスの増殖、死滅、又は誘発を減少させることである。特定の例において、治療上の使用に「効果的な量」は、疾患を臨床的に著しく減少させるのに必要な本明細書中に記載の薬剤を含む組成物の量である。任意の個体の場合における適切で「効果的な」量は、任意の適切な技術、例えば用量増加研究などを使用して定められる。

【0035】

用語「投与 (administer) (administering) (administration)」等は、本明細書中において使用されているように、薬剤又は組成物を、所望の生物作用の部位へ送達できるようにするために使用される方法を表す。これらの方法は、経口経路、十二指腸内経路、注射剤 (静脈、皮下、腹腔内、筋肉内、血管内、又は点滴を含む)、局所及び直腸投与を含むが、これらに限定されない。本明細書中に記載されている薬剤及び方法が随意に利用される投与技術は、例えば、文献「Goodman and Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, current ed, Pergamon, and Remington's, Pharmaceutical Sciences (current edition), Mack Publishing Co., Easton, Pa」の中で挙げられているものを含む。特定の実施形態において、本明細書中に記載されている薬剤及び組成物は、経口投与される。

【0036】

用語「薬学的に許容可能な」は、本明細書中において使用されているように、本明細書中に記述されている薬剤の生物活動又は性質を無効化しない物質を表し、相対的に無毒 (即ち、物質の毒性が物質の効果を大きく上回る) である。いくつかの例において、薬学的に許容可能な物質は、所望されない重大な生物学的効果を引き起こすことなく、又はその物質が含まれている組成物の任意の成分と有害的に著しい相互作用を起こすことなく、個体に投与される。

【0037】

マクロファージ遊走抑制因子 (MIF)

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、M I Fの活性を（部分的又は完全に）抑制する。特定の例において、M I Fは炎症促進性サイトカインである。特定の例において、M I Fは、感染、炎症、又は組織傷害に応答して、活性化免疫細胞（例えば、リンパ球（T細胞））によって分泌される。特定の例において、M I Fは、視床下部・下垂体・副腎系の刺激の後、脳下垂体前葉によって分泌される。特定の例において、M I Fは、膵臓細胞からインスリンと共に分泌され、自己分泌因子として作用し、インスリン放出を刺激する。特定の例において、M I Fは、受容体C X C R 2、C X C R 4、及びC D 7 4のリガンドである。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び／又は組成物は、C X C R 2、C X C R 4、及び／又はC D 7 4の活性を（部分的又は完全に）抑制する。

10

【0038】

特定の例において、M I Fは、M I F勾配に沿って、白血球（例えば、リンパ球、顆粒球、単球／マクロファージ、及びT H - 1 7細胞）のそばで走化性を誘発する。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、M I F勾配に沿って走化性を防ぎ、又はM I F勾配に沿って走化性を低下させる。特定の例において、M I Fは、感染、炎症、又は組織傷害の部位に対する白血球（例えば、リンパ球、顆粒球、単球／マクロファージ、及びT H - 1 7細胞）の走化性を誘発する。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、感染、炎症、又は組織傷害の部位に対する白血球の走化性を防ぐ又は低下させる。特定の例において、M I F勾配に沿った白血球（例えば、リンパ球、顆粒球、単球／マクロファージ、及びT H - 1 7細胞）の走化性は、感染、炎症、又は組織傷害の部位にて炎症を生じさせる。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、感染、炎症、又は組織傷害の部位での炎症を処置する。特定の例において、R A N T E S勾配に沿った単球の走化性は、傷害又は炎症の部位にて、単球阻止（arrest）（即ち、上皮での単球の蒸着（deposition））をもたらす。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、傷害又は炎症の部位での単球阻止を防ぐ又は低下させる。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、リンパ球媒介性疾患を抑制・処置する。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、顆粒球媒介性疾患を処置する。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、マクロファージ媒介性疾患を処置する。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、T h - 1 7媒介性疾患を処置する。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、膵臓細胞媒介性疾患を処置する。

20

30

【0039】

特定の例において、M I Fは、グルココルチコイド、即ちグルココルチコイド治療を要求する多くの疾患を伴うアテローム性動脈硬化の促進に関係がある機構により誘発できる。従って、いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される組成物及び方法は、グルココルチコイドによるM I F発現の誘発を抑制する。

【0040】

特定の例において、ヒトM I Fポリペプチドは、細胞発生帯2 2 q 1 1 . 2 3 . の染色体2 2上に位置するヌレオクチド配列によりコードされる。特定の例において、M I Fタンパク質は、1 2 . 3 k D aタンパク質である。特定の例において、M I Fタンパク質は、1 1 5のアミノ酸の三つのポリペプチドを備えるホモ三量体である。特定の例において、M I Fタンパク質は、ケモカイン上で発見されるE L Rモチーフを模倣する偽のE L Rモチーフを備える。特定の例において、偽のE L Rモチーフは、非隣接性ではあるが、適切に間隔が空いた二つの残基（A r g 1 2及びA s p 4 5、図1 1参照）を備える。いくつかの実施形態において、偽のE L Rモチーフは、アミノ酸1 2からアミノ酸4 5（このような番号付けは、最初のメチオニン残基を含む）までのアミノ酸配列を備える。これは、最初のメチオニン残基が数えられないアミノ酸1 1からアミノ酸4 4までの偽のE L Rモチーフと等しい（このような例において、偽のE L RモチーフはA r g 1 1及びA s p

40

50

44を備える)。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、偽のELRモチーフのCXCR2及び／又はCXCR4との結合を抑制することにより、MIF媒介性疾患を処置する。

【0041】

特定の例において、MIFタンパク質は、10-から20-までの残基のN末端ループモチーフ(N-ループ)を含む。特定の例において、MIFのN-ループは、CXCR2及び／又はCXCR4受容体への結合を媒介する。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、MIFの配列残基(47-56)(即ち、L47 M48 A49 F50 G51 G52 S53 S54 E55 P56、図11参照)を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸45~60を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸44~61を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸43~62を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸42~63を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸41~64を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸40~65を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸46~59を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸47~59を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸48~59を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸50~59を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸47~58を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸47~57を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸47~56を備える。特定の例において、MIFのN-ループモチーフは、アミノ酸48~58を備える。いくつかの実施形態において、N-ループモチーフは、アミノ酸48~57を備える。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、N-ループモチーフのCXCR2及び／又はCXCR4との結合を抑制することにより、MIF媒介性疾患を処置する。

【0042】

いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、(1)N-ループモチーフのCXCR2及び／又はCXCR4との結合、及び(2)偽のELRモチーフのCXCR2及び／又はCXCR4との結合を抑制することにより、MIF媒介性疾患を処置する。

【0043】

特定の例において、CD74は、Gタンパク質共役受容体(GPCR)を活性化し、CXCR2を活性化し、及び／又はこれらの分子と結びつき、シグナル伝達複合体を形成する。従って、いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、CD74による活性化GPCR又はCXCR2を抑制することにより、MIF媒介性疾患を処置する。

【0044】

特定の例において、MIFは、内皮細胞、SMC、単核細胞、及び／又は動脈損傷を伴うマクロファージによって発現される。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、内皮細胞、SMC、単核細胞、及び／又は動脈損傷を伴うマクロファージによるMIFの発現を抑制する。特定の例において、MIFは、内皮細胞、SMC、単核細胞、及び／又は酸化低密度リボタンパク質(oxLDL)、CD40リガンド、アンジオテンシンII、又はそれらの組合せへの暴露を伴うマクロファージによって発現される。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、内皮細胞、SMC、単核細胞、及び／又は酸化低密度リボタンパク質、CD40リガンド、アンジオテンシンII、又はそれらの組合せへの暴露を伴うマクロファージによるMIF発現を抑制する。

【0045】

特定の例において、MIFは、内皮細胞中のCCL2、TNF、及び／又はICAM-

1の発現を誘発する。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、内皮細胞中のCCL2、TNF、及び／又はICAM-1のMIF誘発性発現を抑制する。

【0046】

特定の例において、MIFは、SMC中のMMP及びカテプシンの発現を誘発する。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、SMC中のMMP及びカテプシンのMIF誘発性発現を抑制する。

【0047】

特定の例において、MIFは、CXCR2又はCXCR4を介してカルシウム流入を引き起こし、インテグリンの急速な活性化を誘発し、MAPKの活性化を誘発し、及び、単球並びにT細胞のGi-及びインテグリン依存性の阻止及び走化性を媒介する(図2及び3)。従って、いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、単球及び／又はT細胞におけるカルシウム流入を抑制し、MAPKの活性化を抑制し、インテグリンの活性化を抑制し、単球及びT細胞のGi-及びインテグリン依存性の阻止、又はそれらの組み合わせを抑制する。

10

【0048】

特定の例において、MIFにより誘発される単球動員は、MIF-結合タンパク質CD74に関わる。特定の例において、MIF-結合タンパク質CD74は、カルシウム流入、マイトジェン活性タンパク質キナーゼ(MAPK)活性化、又はGi-依存性インテグリン活性化を誘発する(図7)。いくつかの実施形態において、本発明は、それを必要とする個体におけるMIF媒介性MAPKキナーゼ活性化を抑制する方法を備える。いくつかの実施形態において、本発明は、それを必要とする個体におけるMIF媒介性Gi-依存性インテグリン活性化を抑制する方法を備える。

20

【0049】

特定の例において、CD74を介するMIF誘発性シグナル伝達は、CD44及びSrcキナーゼに関わる。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、CD74媒介性Srcキナーゼ活性化を抑制する。

【0050】

特定の例において、エンドサイトーシスにより取り込まれるMIFは、JAB-1と直接的に相互作用する。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は、MIFのエンドサイトーシスを抑制する。

30

【0051】

特定の例において、アレスチンは、MIF内面化を媒介するクラスリン被覆小胞に対するGタンパク質結合受容体の動員を促進する。従って、いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は更に、アレスチンアンタゴニストを備える。GPCRに結合するアレスチンを抑制する薬剤の例は、カルベジロール、イソブレナリン、イソプロテレノール、フォルモテロール、シメテロール、クレンブテロール、L-エピネフリン、スピノフィリン、及びサルメテロールを備える。

【0052】

特定の例において、MIFのユビキチン化は、(部分的又は完全にのいずれかで)MIFの急速な内在化及びその後の分解を生じさせる。従って、いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は更に、MIFのユビキチン化の抑制を備える。ユビキチン化を抑制する薬剤の例は、PYR-41及び関連するピラゾンを含むが、これらに限定されない。

40

【0053】

特定の例において、MIFは、クラスリン媒介性エンドサイトーシスを使用して細胞内に入る。従って、いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び／又は組成物は更に、MIFのクラスリン媒介性エンドサイトーシスの抑制工程を備える。

【0054】

特定の例において、MIFは、MAPKシグナル伝達を負に制御し、又はJAB-1を

50

介した細胞酸化還元ホメオスタシスを制御することにより細胞機能を調節する。特定の例において、M I F は、p 5 3 の発現を下方制御する。特定の例において、p 5 3 の発現の M I F による下方制御は、マクロファージのアポトーシス、及び生存期間の延長を抑制する。従って、いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び / 又は組成物は、マクロファージの M I F 調節された生存を抑制する。

【 0 0 5 5 】

特定の例において、M I F は、不安定なブラークにおいて M M P - 1 及び M M P - 9 を誘発する。特定の例において、不安定なブラークにおける M M P - 1 及び M M P - 9 の誘発は、コラーゲン分解、線維性被膜の衰弱、及びブラーク不安定化をもたらす（部分的又は完全にのいずれかで）。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び / 又は組成物は、（部分的又は完全にのいずれかで）コラーゲン分解、線維性被膜の衰弱、及びブラーク不安定化を抑制する。

10

【 0 0 5 6 】

C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達インヒビター

特定の実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達を抑制する方法が、本明細書中に開示される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達は、小分子、ペプチド、及び / 又はペプチボディ (peptibody) で、C X C R 2 及び C X C R 4 (即ち、G P C R アンタゴニスト手法) 小分子、ペプチド、及び / 又はペプチボディの M I F 結合ドメインを占有することにより抑制される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達は、M I F 上のドメインを占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊することにより抑制される (即ち、サイトカインインヒビター手法)。いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達は、小分子、ペプチド、及び / 又はペプチボディによる M I F 上のドメインを占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊することにより抑制され、それにより C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 の M I F への結合を破壊する。いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達は、小分子、ペプチド、及び / 又はペプチボディによる M I F 上のドメインを占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊することにより抑制され、それにより M I F 三量体形成を破壊する。特定の例において、M I F 上のドメインを占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊することは、他のアゴニスト / リガンド (例えば、I L - 8 / C X C L 8、G R O b e t a / C X C L 2 及び / 又はストロマ細胞由来因子 - 1 a (S D F - 1 a) / C X C L 1 2) により媒介される C X C R 2 および C X C R 4 のシグナル伝達に影響を及ぼさない。

20

30

【 0 0 5 7 】

M I F ドメイン破壊剤

いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達は、M I F (例えば、N - ループ及び / 又は偽の E L R モチーフ) 上のドメインを占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊することにより抑制される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達は、小分子、ペプチド、及び / 又はペプチボディによる M I F 上のドメインの占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊することにより抑制され、それにより C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 の M I F への結合を破壊する。いくつかの実施形態において、小分子、ペプチド、及び / 又はペプチボディは、(i) M I F の C X C R 2 及び C X C R 4 との結合、及び / 又は (i i) C X C R 2 及び C X C R 4 の M I F 活性化、又は (i i i) (i) と (i i) の任意の組み合わせを抑制する。特定の例において、M I F 上のドメインを占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊することは、他のアゴニスト / リガンド (例えば、I L - 8 / C X C L 8、G R O b e t a / C X C L 2 及び / 又はストロマ細胞由来因子 - 1 a (S D F - 1 a) / C X C L 1 2) により媒介される C X C R 2 および C X C R 4 のシグナル伝達に影響を及ぼさない。

40

【 0 0 5 8 】

特定の例において、N 末端細胞外ドメインは、第一及び / 又は第二細胞外ループと同様、M I F に結合するリガンドのメディエーターである。いくつかの実施形態において、小

50

分子、ペプチド、及び／又はペプチボディは、M I Fの偽のE L Rモチーフへの結合により、M I FのC X C R 2及び／又はC X C R 4のM I Fへの結合を抑制する。いくつかの実施形態において、小分子、ペプチド、及び／又はペプチボディは、M I FのN - ループモチーフへの結合により、M I FのC X C R 2及び／又はC X C R 4のM I Fへの結合を抑制する。いくつかの実施形態において、小分子、ペプチド、及び／又はペプチボディは、必須基質を調節し、及び／又は受容体或いは基質の相互作用を防ぐ、M I F中の高次構造変化を引き起こす。いくつかの実施形態において、小分子、ペプチド、及び／又はペプチボディは、C X C R 2及び／又はC X C R 4結合並びにシグナル伝達に関係のあるモチーフを妨げる。

【 0 0 5 9 】

いくつかの実施形態において、活性薬剤は、M I F及びC X C R 2の結合を抑制するペプチド、M I F及びC X C R 4の結合を抑制するペプチド、M I F及びJ A B - 1の結合を抑制するペプチド、M I F及びC D 7 4の結合を抑制するペプチド、又はそれらの組み合わせである。

【 0 0 6 0 】

いくつかの実施形態において、活性薬剤は、M I Fの偽のE L Rモチーフの全て又は一部に特異的に結合するペプチド、M I FのN - ループモチーフの全て又は一部に特異的に結合するペプチド、M I Fの偽のE L R及びN - ループモチーフの全て又は一部に特異的に結合するペプチド、又はそれらの組み合わせである。

【 0 0 6 1 】

いくつかの実施形態において、活性薬剤は、以下のペプチド配列に特異的：P R A S V P D G E L S E L T Q Q L A Q A T K G P P Q Y I A V H V V P D Qの全て又は一部、及びM I F単量体又はM I F三量体の対応する少なくとも一つの特徴／ドメインに結合するペプチド、以下のペプチド配列：D Q L M A F G G S S E P C A L C S Lの全て又は一部、及びM I F単量体又はM I F三量体の対応する少なくとも一つの特徴／ドメインに特異的に結合するペプチド、以下のペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T K G P P Q Y I A V H V V P D Q L M A F G G S S E P C A L C S Lの全て又は一部、及びM I F単量体又はM I F三量体の対応する少なくとも一つの特徴／ドメインに特異的に結合するペプチド、以下のペプチド配列：F G G S S E P C A L C S L H S Iの全て又は一部、及びM I F単量体又はM I F三量体の対応する少なくとも一つの特徴／ドメインに特異的に結合するペプチド、又はそれらの組み合わせである。

【 0 0 6 2 】

M I Fドメイン破壊剤を同定するアッセイ

いくつかの実施形態において、ペプチドを破壊するM I Fドメインが同定される。いくつかの実施形態において、ペプチドを破壊するM I Fドメインは、C X C R 2及びC X C R 4にて、M I F依存性シグナル伝達イベントに影響を与えない。

【 0 0 6 3 】

いくつかの実施形態において、C X C R 2及びC X C R 4の細胞外N末端ドメイン及び／又は細胞外ループを覆うペプチドのライブラリが作られる。いくつかの実施形態において、ペプチドは、約5のアミノ酸から約20のアミノ酸まで、約7のアミノ酸から約18のアミノ酸まで、約10のアミノ酸から約15のアミノ酸までの大きさに及ぶ。いくつかの実施形態において、ペプチドライブラリは、いくつかの適切な方法（例えば、H T S G P C Rスクリーニング手法）を用いて、C X C R 2及びC X C R 4を介したM I F媒介性シグナル伝達の抑制のために選別される。任意の実施形態において、ペプチドライブラリは更に、C X C R 2及びC X C R 4上のI 1 - 8及び／又はS D F - 1媒介性シグナル伝達の抑制のために選別される。いくつかの実施形態において、ペプチドがC X C R 2及びC X C R 4を介したM I Fシグナル伝達を抑制するが、C X C R 2及びC X C R 4を介したI 1 - 8及び／又はS D F - 1媒介性シグナル伝達を許容すれば、ペプチドはペプチドを破壊するM I Fドメインとして同定される。

【 0 0 6 4 】

いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 の細胞外 N 末端ドメイン及び細胞外ループからのペプチド配列は、細胞膜上に配置される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 の細胞外 N 末端ドメイン及び細胞外ループからのペプチド配列は、細胞膜上に配置され、完全長 M I F を用いて調べられる。いくつかの実施形態において、M I F は標識化される（例えば、同位体で標識化、放射活性物質で標識化、又は蛍光色素分子で標識化される）。いくつかの実施形態において、標識化された M I F が特異的に結合するペプチド配列は、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F 媒介性シグナル伝達の抑制のために分析される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F 媒介性シグナル伝達を抑制するペプチド配列は、いくつかの適切な方法（例えば、G P C R スクリーニングアッセイ）を使用して選別される。

10

【0065】

いくつかの実施形態において、前述のペプチド又はポリペプチド（例えば、M I F の偽の E L R モチーフ又は M I F の N - ループモチーフに由来するペプチド）のいずれかは、「モデル」として使用され、構造 - 活性相関（S A R）化学（本明細書中の詳細において提供されているように）を行う。いくつかの実施形態において、S A R 化学は、より小さなペプチドを生み出す。いくつかの実施形態において、より小さなペプチドは小分子を生み出し、小分子は、C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 に結合するための M I F の能力を破壊する（例えば、C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 に結合するための M I F の能力の破壊に関わるアミノ酸残基を定めることにより）。

20

【0066】

M I F 三量体形成破壊剤

特定の実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達を抑制する方法が、本明細書中において開示される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達は、M I F 上のドメインを占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊することにより抑制される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達は、小分子、ペプチド、及び / 又はペプチボディによる M I F 上のドメインを占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊することにより抑制され、それにより M I F 三量体形成を破壊する。いくつかの実施形態において、ホモ三量体を形成する M I F ペプチドの能力の損傷は、受容体（例えば、C X C R 2、又は C X C R 4）に結合する M I F の能力を（部分的又は完全に）破壊する。特定の例において、M I F 上のドメインを占有、遮蔽、又はそれ以外に破壊することは、他のアゴニスト / リガンド（例えば、I L - 8 / C X C L 8、G R O b e t a / C X C L 2 及び / 又はストローマ細胞由来因子 - 1 a（S D F - 1 a） / C X C L 1 2）により媒介される C X C R 2 及び C X C R 4 シグナル伝達に影響を及ぼさない。

30

【0067】

特定の例において、M I F は、三つの M I F ポリペプチド配列（即ち、三量体）を備える。特定の例において、各々の M I F ポリペプチドの偽の E L R モチーフは、三量体において環を形成する。特定の例において、各々の M I F ポリペプチドの N - ループモチーフは、偽の E L R 環から外側へ広がる（図 10 参照）。特定の例において、三量体の破壊は、M I F のその標的受容体への高親和性結合を破壊する。特定の例において、一つのサブユニットの残基 3 8 - 4 4（ - 2 鎖）は、二つ目のサブユニットの残基 4 8 - 5 0（ - 3 鎖）と相互作用する。特定の例において、一つのサブユニットの残基 9 6 - 1 0 2（ - 5 鎖）は、二つ目のサブユニットの残基 1 0 7 - 1 0 9（ - 6 鎖）と相互作用する。特定の例において、N 7 3 R 7 4 S 7 7 K 7 8 C 8 1 により形成される一つのサブユニット上のドメインは、二つ目のサブユニットの N 1 1 1 S 1 1 2 T 1 1 3 と相互作用する。

40

【0068】

いくつかの実施形態において、M I F アンタゴニストは、M I F のアミノ酸残基 3 8 - 4 4（ - 2 鎖）のいずれか又は全てに由来及び / 又はそれらを組み込む。いくつかの実施形態において、M I F アンタゴニストは、M I F のアミノ酸残基 4 8 - 5 0（ - 3 鎖

50

）のいくつか又は全てに由来及び／又はそれらを組み込む。いくつかの実施形態において、M I F アンタゴニストは、M I F のアミノ酸残基 9 6 - 1 0 2 (- 5 鎖) のいずれか又は全てに由来及び／又はそれらを組み込む。いくつかの実施形態において、M I F アンタゴニストは、M I F のアミノ酸残基 1 0 7 - 1 0 9 (- 6 鎖) のいずれか又は全てに由来及び／又はそれらを組み込む。いくつかの実施形態において、M I F アンタゴニストは、M I F のアミノ酸残基 N 7 3、R 7 4、S 7 7、K 7 8、及び C 8 1 のいずれか又は全てに由来及び／又はそれらを組み込むペプチドである。いくつかの実施形態において、M I F アンタゴニストは、M I F のアミノ酸残基 N 1 1 1、S 1 1 2、及び T 1 1 3 のいずれか又は全てに由来及び／又はそれらを組み込むペプチドである。

【 0 0 6 9 】

M I F 三量体形成破壊剤を同定するアッセイ

いくつかの実施形態において、ペプチドを破壊する M I F ドメイン三量体形成が同定される。いくつかの実施形態において、ペプチドを破壊する M I F ドメイン三量体形成は、C X C R 2 及び C X C R 4 での M I F 非依存性シグナル伝達イベントに影響を及ぼさない。いくつかの実施形態において、任意の前述のアミノ酸配列（例えば、M I F のアミノ酸残基 3 8 - 4 4 (- 2 鎖)、M I F のアミノ酸残基 4 8 - 5 0 (- 3 鎖)、M I F のアミノ酸残基 9 6 - 1 0 2 (- 5 鎖)、M I F のアミノ酸残基 1 0 7 - 1 0 9 (- 6 鎖)、M I F のアミノ酸残基 N 7 3、R 7 4、S 7 7、K 7 8、及び C 8 1、及び／又は M I F のアミノ酸残基 N 1 1 1、S 1 1 2、及び T 1 1 3) に由来するペプチド又はポリペプチドは、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F 媒介性シグナル伝達を抑制するため、任意の適切な方法（例えば、H T S G P C R スクリーニング技術）を使用して選別される。

【 0 0 7 0 】

いくつかの実施形態において、任意の前述のアミノ酸配列（例えば、M I F のアミノ酸残基 3 8 - 4 4 (- 2 鎖)、M I F のアミノ酸残基 4 8 - 5 0 (- 3 鎖)、M I F のアミノ酸残基 9 6 - 1 0 2 (- 5 鎖)、M I F のアミノ酸残基 1 0 7 - 1 0 9 (- 6 鎖)、M I F のアミノ酸残基 N 7 3、R 7 4、S 7 7、K 7 8、及び C 8 1、及び／又は M I F のアミノ酸残基 N 1 1 1、S 1 1 2、及び T 1 1 3) に由来するペプチド又はポリペプチドは、「モデル」として使用され、構造-活性相関 (S A R) 化学を行う。いくつかの実施形態において、S A R 化学は、より小さなペプチドを生み出す。いくつかの実施形態において、より小さなペプチドは小分子を生み出し、小分子は、ホモ三量体を形成する M I F の能力を破壊する（例えば、ホモ三量体を形成する M I F の能力の破壊に関わるアミノ酸残基を見つけ出すことにより）。

【 0 0 7 1 】

いくつかの実施形態において、M I F のアンタゴニストは、M I F 遺伝子及び／又は M I F R N A 配列に対する s i R N A 分子及び／又はアンチセンス分子相補 (antisense molecule complementary) である。いくつかの実施形態において、s i R N A 分子及び／又はアンチセンス分子は、M I F m R N A 及び／又はタンパク質のレベル又は半減期を、少なくとも約 5 %、少なくとも約 1 0 %、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 3 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、又は少なくともほぼ 1 0 0 % 減少させる。

【 0 0 7 2 】

C X C R 2 及び C X C R 4 結合アンタゴニスト

特定の実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達を抑制する方法が、本明細書中において開示される。いくつかの実施形態において、C X C R 2 及び C X C R 4 を介した M I F シグナル伝達は、小分子又はペプチドを備える C X C R 2 及び C X C R 4 (即ち、G P C R アンタゴニスト手法) の M I F 結合ドメインの占有により抑制される。

【 0 0 7 3 】

いくつかの実施形態において、M I F のアンタゴニストは、ヒドロキシ桂皮酸エステル

10

20

30

40

50

(hydroxycinnamate)、Schiff-basedトリプトファンアナログ、又はアセトアミノフェンのイミノ-キノン代謝物の誘導体である。

【0074】

いくつかの実施形態において、MIFのアンタゴニストは、ゲルブリド、プロベネシド、DIDS(4,4-ジイソチオシアナトスチルベン-2,2-ジスルホン酸)、ブメタニド、フロセミド、スルホプロモフタレイン、ジフェニルアミン-2-カルボン酸、フルフェナム酸、又はそれらの組み合わせである。

【0075】

いくつかの実施形態において、CXCR2のアンタゴニストは、CXCL8(3-74)K11R/G31P、IL-8(4-72)、IL-8(6-72)、組換え型IL-8(rIL-8)、組換え型IL-8, NMeLeu(位置25でNメチル化したロイシンを備えるrIL-8)、(AAR)IL-8(Glu4-Leu5の代わりにN末端Ala4-Ala5を備えるIL-8)、GRO-(1-73)(CXCL1としても知られている)、GRO-(4-73)、GRO-(5-73)、GRO-(6-73)、組換え型GRO(rGRO)、(ELR)PF4(N末端でELR配列を備えるPF4)、組換え型PF4(rPF4)、アンチロイキナート(Antileukinate)、Sch527123(-ヒドロキシ-N,N-ジメチル-3-{2-[(R)-1-(5-メチル-フラン-2-イル)-プロピル]アミノ}-3,4-ジオキソ-シクロブト-1-エニルアミノ}-ベンズアミド)、N-(3-(アミノスルホニル)-4-クロロ-2-ヒドロキシフェニル)-N'-(2,3-ジクロロフェニル)尿素、SB-517785-M(GSK)、SB265610(N-(2-プロモフェニル)-N'-(7-シアノ-1H-ベンゾトリアゾル-4-イル)尿素)、SB225002(N-(2-プロモフェニル)-N'-(2-ヒドロキシ-4-ニトロフェニル)尿素)、SB455821(GSK)、SB272844(GSK)、DF2162(4-[(1R)-2-アミノ-1-メチル-2-オキソエチル]フェニルトリフルオロメタンスルホン酸)、レパリキシン、又はそれらの組み合わせから由来する。

【0076】

いくつかの実施形態において、CXCR4のアンタゴニストは、ALX40-4C(N-セチル-ノナ-D-アルギニンアミド酢酸)、AMD-070(AMD11070, AnormED)、プレリキサホル(AMD3100)、AMD3465(AnormED)、AMD-8664(1-ピリジン-2-イル-N-[4-(1,4,7-トリアザシクロテトラデカン-4-イルメチル)ベンジル]メタンアミン)、KRH-1636(Kreha Chemical Industry Co. Limited)、KRH-2731(Kreha Chemical Industry Co. Limited)、KRH-3955(Kreha Chemical Industry Co. Limited)、KRH-3140(Kreha Chemical Industry Co. Limited)、T134(C末端アミドのため、カルボン酸により置換されるLシトルリン16-TW70)、T22([Tyr^{5,2}, Lys⁷]-ポリフェムシンII)、TW70(デス-[Cys^{8,13}, Tyr^{9,12}]-[D-Lys¹⁰, Pro¹¹]-T22)、T140(H-Arg-Arg-Nal-Cys-Tyr-Arg-Lys-DLys-Pro-Tyr-Arg-Cit-Cys-Arg-OH)、TC14012(R-R-Nal-C-Y-(L)Cit-K-(D)Cit-P-Y-P-(L)シトルリン-C-R-NH₂、この場合、Nal=L-3-(2-ナフチルアラニン)、Cit=シトルリン、及びペプチドはシステインを用いて環化される)、TN14003、RCP168(N末端に加えられるDアミノ酸を備えるvMIP-II₍₁₁₋₇₁₎)、POL3026(Arg()-Arg-Nal(2)-Cys(1x)-Tyr-Gln-Lys-(d-Pro)-Pro-Tyr-Arg-Cit-Cys(1x)-Arg-Gly-(d-Pro)(-))、POL2438、化合物3(N-(1-メチル-1-フェニルエチル)-N-[(3S)-1-{2-[5-(4H-1,2,4-トリアゾル-4-イル)-1H-インドール-3-イル]エチル}ピロリジン-3-イル)メチル]アミン)、イソチオ尿素1a-1u(イソチオ尿素1a-1uに関する情報は、文献「Gebhard Thoma, et al., Orally Bioavailable Isothiourea

10

20

30

40

50

s Block Function of the Chemokine Receptor C X C R 4 In Vitro and In Vivo, J. M ed. Chem., Article ASAP (2008)」を参照したものであり、その全体を引用することにより本明細書中に組み込まれている。)、又はそれらの組み合わせである。

【0077】

いくつかの実施形態において、M I Fのアンタゴニストは、C X C R 2及び/又はC X C R 4に結合するM I Fの能力を(部分的又は完全に)抑制する。いくつかの実施形態において、M I Fのアンタゴニストは、C O R 1 0 0 1 4 0 (Genzyme Corp/Cortical Pty Ltd.)、I S O - 1 ((S , R) - 3 - (4 - ヒドロキシフェニル) - 4 , 5 - ジヒドロ - 5 - イソキサゾール酢酸、メチルエステル)、4 - I P P (4 - ヨード - 6 - フェニルピリミジン)、又はそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態において、M I F

10

【0078】

いくつかの実施形態において、小分子、ペプチド、及び/又は抗体アンタゴニストは、M I Fの生物学的活性型の放出を抑制する。いくつかの実施形態において、小分子、ペプチド、及び/又は抗体アンタゴニストは、M I Fのステロイド誘発性、T N F 誘発性、I F N - 誘発性、及びM I Fのエンドトキシン誘発性放出(例えば、マクロファージから、肺から、A T P 結合カセット (A B C) 輸送体から)を抑制する。

【0079】

M I F 模倣剤

いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び組成物は、M I Fを模倣し、C X C R 2及び/又はC X C R 4結合並びにシグナル伝達を抑制する、M I Fのようなレドックス活性ペプチドを備える。

20

【0080】

いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法及び組成物は、M I FのN - ループモチーフに類似した構造的又は機能的特徴を採用する小分子、ペプチド、及び/又は抗体を備える。いくつかの実施形態において、ペプチド、及び/又はポリペプチドは、残基 L 4 7 M 4 8 A 4 9 F 5 0 G 5 1 G 5 2 S 5 3 S 5 4 E 5 5 及び P 5 6 の少なくとも一つを備える。いくつかの実施形態において、小分子、ペプチド、及び/又は抗体は、残基 L 4 7 M 4 8 A 4 9 F 5 0 G 5 1 G 5 2 S 5 3 S 5 4 E 5 5 及び P 5 6 の全て又は一部を備える、ヒトM I Fの5 ~ 16の継続的なアミノ酸を備える。いくつかの実施形態において、M I FのN - ループモチーフに類似した構造的又は機能的特徴を採用するペプチド、及び/又はポリペプチドは、表1 - I乃至表1 - I Iから選択される1以上のペプチドを備える。いくつかの実施形態において、ペプチド、及び/又はポリペプチドは、A D M E - P Kを改善し、N - 及び/又はC - 末端化学修飾を備える。いくつかの実施形態において、ペプチド、及び/又はポリペプチドは、非自然アミノ酸を備える。いくつかの実施形態において、ペプチド、及び/又はポリペプチドは、周期性変異体を備える。

30

【0081】

【表 1 - A】

C	LMAFGGSSEPCAL	SSEPCALC	シクロ(GSSEPCAL)	
	LMAFGGSSEPCAL	GSSEPCALC	シクロ(GSSEPCA)	
	LMAFGGSSEPCA	GSSEPCAL	シクロ(GSSEPC)	
	LMAFGGSSEPC	GSSEPCA	シクロ(SSEPCALC)	10
	LMAFGGSSEP	GSSEPC	シクロ(SSEPCAL)	
	LMAFGGSSE	SSEPCALC	シクロ(SSEPCA)	
	LMAFGGSS	SSEPCAL	シクロ(SEPCALC)	
	LMAFGGS	SSEPCA	シクロ(SEPCAL)	
	LMAFGG	SEPCALC	シクロ(EPCALC)	20
	MAFGGSSEPCALC	SEPCAL	シクロ(QLMAFGGSSEPCAL C)	
	MAFGGSSEPCAL	EPCALC	シクロ(QLMAFGGSSEPCAL)	
	MAFGGSSEPCA	LC QLMAFGGSSEPCA	シクロ(QLMAFGGSSEPCA)	
	MAFGGSSEPC	L QLMAFGGSSEPCA	シクロ(QLMAFGGSSEPC)	30
	MAFGGSSEP	QLMAFGGSSEPCA	シクロ(QLMAFGGSSEP)	
	MAFGGSSE	QLMAFGGSSEPC	シクロ(QLMAFGGSSE)	
	MAFGGSS	QLMAFGGSSEP	シクロ(QLMAFGGSS)	
	MAFGGS	QLMAFGGSSE	シクロ(QLMAFGGS)	
	AFGGSSEPCALC	QLMAFGGSS	シクロ(QLMAFGG)	40
	AFGGSSEPCAL	QLMAFGGS	シクロ(QLMAFG)	
	AFGGSSEPCA	QLMAFGG	シクロ(AFGGSSEPCALC)	

【表 1 - B】

AFGGSSEPC	QLMAFG	シクロ(AFGGSSEPCAL)
AFGGSSEP	シクロ(LMAFGGSSEPCAL C)	シクロ(AFGGSSEPCA)
AFGGSSE	シクロ(LMAFGGSSEPCAL)	シクロ(AFGGSSEPC)
AFGGSS	シクロ(LMAFGGSSEPCA)	シクロ(AFGGSSEP)
LC FGGSSEPCA	シクロ(LMAFGGSSEPC)	シクロ(AFGGSSE)
L FGGSSEPCA	シクロ(LMAFGGSSEP)	シクロ(AFGGSS)
FGGSSEPCA	シクロ(LMAFGGSSE))	シクロ(FGGSSEPCALC)
FGGSSEPC	シクロ(LMAFGGSS)	シクロ(FGGSSEPCAL)
FGGSSEP	シクロ(LMAFGGS)	シクロ(FGGSSEPCA)
FGGSSE	シクロ(LMAFGG)	シクロ(FGGSSEPC)
C GGSSEPCAL	シクロ(MAFGGSSEPCALC)	シクロ(FGGSSEP)
GGSSEPCAL	シクロ(MAFGGSSEPCAL)	シクロ(FGGSSE)
GGSSEPCA	シクロ(MAFGGSSEPCA)	シクロ(GGSSEPCALC)
GGSSEPC	シクロ(MAFGGSSEPC)	シクロ(GGSSEPCAL)
GGSSEP	シクロ(MAFGGSSEP)	シクロ(GGSSEPCA)
GSSEPCALC	シクロ(MAFGGSSE)	シクロ(GGSSEPC)
GSSEPCAL	シクロ(MAFGGSS)	シクロ(GGSSEP)
GSSEPCA	シクロ(MAFGGS)	
GSSEPC	シクロ(GSSEPCALC)	

10

20

30

40

【 0 0 8 3 】

ペプチド模倣剤

いくつかの実施形態において、ペプチド模倣剤は、本明細書中に記載されているポリペプチドの代わりに使用され、本明細書中に開示される疾患の処置又は予防における使用を含む。

50

【 0 0 8 4 】

ペプチド模倣剤（及びペプチド基礎のインヒビター）は、例えば、コンピュータ処理された分子モデリングを使用して作り出される。ペプチド模倣剤は、1以上のペプチドリンケージを備える構造を含むように設計され、ペプチドリンケージは、リンケージによって任意に置換され、リンケージは当該技術分野においてよく知られている方法により、 $-CH_2NH-$ 、 $-CH_2S-$ 、 $-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ （シス及びトランス）、 $-CH=CF-$ （トランス）、 $-COCH_2-$ 、 $-CH(OH)CH_2-$ 、及び $-CH_2SO-$ からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、このようなペプチド模倣剤は、より大きな化学安定性を備え、薬理学的特性（半減期、吸収、効力、有効性など）を高め、特異性（例えば、生物活性の広域スペクトル）を変え、抗原性を減少し、より経済的に調整される。いくつかの実施形態において、ペプチド模倣剤は、定量的な構造活性データ及び/又は分子モデリングにより予測される1以上のラベル又は抱合体のアナログ上の非妨害位置（s）に対し直接又はスペーサー（例えば、アミド群）を介した共有結合を含む。このような非妨害位置は一般的に、受容体（複数種）との直接の接触を行わない位置であり、この受容体にペプチド模倣剤が治療効果を生み出すために特異的に結合する。いくつかの実施形態において、同じタイプのD-アミノ酸（例えば、L-リジンの代わりにD-リジン）を伴う共通配列の、1以上のアミノ酸の系統的置換は、所望の性質を備えるより安定したペプチドを産生するために使用される。

10

【 0 0 8 5 】

ファージディスプレイペプチドライブラリは、ペプチド模倣剤の産生における技術として表れた（Scott, J. K. et al. (1990) Science 249:386、Devlin, J. J. et al. (1990) Science 249:404、米国特許第5,223,409号、米国特許第5,733,731号、米国特許第5,498,530号、米国特許第5,432,018号、米国特許第5,338,665号、米国特許第5,922,545号、国際公開公報第96/40987号、及び国際公開公報第98/15833号（それぞれがこのような開示に対する参照により組み込まれている）。このようなライブラリにおいて、ランダムなペプチド配列は、繊維状ファージのコートタンパク質との融合により表示される。一般的に、示されたペプチドは、抗体固定化細胞外ドメイン（この場合において、PF4又はRANTES）に対し親和性溶出（affinity-eluted）される。いくつかの実施形態において、ペプチド模倣剤は、バイオパニング（Nowakowski, G.S, et al. (2004) Stem Cells 22:1030-1038）により単離される。いくつかの実施形態において、MIFを発現させる全体の細胞は、細胞に特異的に結合したファージを単離させるためにFACを利用するライブラリをスクリーニングするために使用される。保持されたファージは、バイオパニング及び再伝播を連続して行うことにより濃縮される。最良の結合ペプチドは、1以上のペプチドの具体的に関連したファミリー内の主要残基を確認するために配列される。ペプチド配列は又、DNAレベルでのアラニンスキャニング又は変異原性により置換される残基を示す。いくつかの実施形態において、変異原性ライブラリは、最良の結合剤の配列を更に最適化するために作り出され、スクリーニングされる。文献「Lowman (1997) Ann.Rev.Biophys.Biomol.Struct. 26:401-24」を参照。

20

30

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態において、タンパク質とタンパク質の相互作用の構造分析は、本明細書中に記載されているポリペプチドの結合活性を模倣するペプチドを示すために使用される。いくつかの実施形態において、このような分析の結果から生じる結晶構造は、ペプチドが設計されるポリペプチドの必須残基の固有性及び相対配向を示す。文献、例えば、「Takasaki, et al. (1997) Nature Biotech, 15:1266-70」を参照。

40

【 0 0 8 7 】

いくつかの実施形態において、活性薬剤はペプチド又はポリペプチドである。いくつかの実施形態において、ペプチドは、以下のようなペプチド配列：PRASVPDGEELS E L T Q Q L A Q A T K G P P Q Y I A V H V V P D Q、及びMIF単量体又は三量体の少なくとも一つの対応する特徴/ドメインを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配

50

列：D Q L M A F G G S S E P C A L C S L、及びM I F単量体又は三量体の少なくとも一つの対応する特徴／ドメインを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：P R A S V P D G F L S E L T Q Q L A Q A T K G P P Q Y I A V H V V P D Q L M A F G G S S E P C A L C S L、及びM I F単量体又は三量体の少なくとも一つの対応する特徴／ドメインを模倣するペプチド、以下のようなペプチド配列：F G G S S E P C A L C S L H S I、及びM I F単量体又は三量体の少なくとも一つの対応する特徴／ドメインを模倣するペプチド、又はそれらの組み合わせである。

【0088】

細胞株

特定の実施形態において、組換え型ヒトC X C R 4に加えてヒトC D 7 4を発現させる細胞株が、本明細書中において開示される。いくつかの実施形態において、組換え型ヒトC X C R 4に加えてヒトC D 7 4を発現させる細胞株は、ヒト細胞株（例えば、H E K 2 9 3）である。いくつかの実施形態において、組換え型ヒトC X C R 4に加えてヒトC D 7 4を発現させる細胞株は、非ヒト細胞株（例えば、C H O）である。

【0089】

炎症

いくつかの実施形態において、本明細書中において記述されている方法及び組成物は、炎症（例えば、急性又は慢性）を処置する。いくつかの実施形態において、本明細書中において記述されている方法及び組成物は、感染から生じる炎症を（部分的に又は完全に）処置する。いくつかの実施形態において、本明細書中において記述されている方法及び組成物は、組織の損傷（例えば、火傷、凍傷、細胞毒性薬への暴露、又は外傷によるもの）から生じる炎症を（部分的に又は完全に）処置する。いくつかの実施形態において、本明細書中において記述されている方法及び組成物は、自己免疫疾患から生じる炎症を（部分的に又は完全に）処置する。いくつかの実施形態において、本明細書中において記述されている方法及び組成物は、異物（例えば破片）の存在から生じる炎症を（部分的に又は完全に）処置する。いくつかの実施形態において、本明細書中において記述されている方法及び組成物は、毒及び／又は化学刺激物への暴露から生じる炎症を治療する。

【0090】

本明細書中において使用されているように、「急性炎症」は、数分から数時間のうちに発症することで特徴付けられる炎症のことを言い、ひとたび刺激が取り除かれると治まる（例えば、感染病原体は免疫応答又は処置薬の投与によって死滅、異物は免疫応答又は抽出によって取り除かれ、又は、損傷した組織は治癒した）。短時間の急性炎症は、半減期の短いほとんどの炎症性メディエーターに由来する。

【0091】

特定の例において、急性炎症は、白血球活性化（例えば、樹状細胞、内皮細胞、及びマスト細胞）から始まる。特定の例において、白血球は炎症性メディエーター（例えば、ヒスタミン、プロテオグリカン、セリンプロテアーゼ、エイコサノイド、及び、サイトカイン）を放出する。特定の例において、炎症性メディエーターは、（部分的又は全体のいずれか）炎症に関連する症状をもたらすことになる。例えば、特定の例において、炎症性メディエーターは、後毛細管細静脈を拡張させるとともに、血管透過性を増加させる。特定の例において、血管拡張を伴う増大した血流は、（部分的又は全体のいずれか）発赤及び熱をもたらす。特定の例において、血管の増加した透過性は、浮腫の原因となる組織への血漿の滲出をもたらすことになる。特定の例において、後者は、白血球が走化性勾配に沿って炎症刺激物の部位へ遊走することを可能にする。さらに、特定の例において、血管に対する構造的な変化（例えば、毛細管及び細静脈）が起こる。特定の例において、構造変化は、（部分的又は全体のいずれか）単球及び／又はマクロファージによって誘発される。特定の例において、構造変化は、血管リモデリング、及び血管形成を含むが、これらに限定されない。特定の例において、血管形成は、増加した白血球の輸送が可能となることによって、慢性的な炎症の維持に関与する。さらに、特定の例において、ヒスタミン及びブラジキニンは、かゆみ及び／又は疼痛の原因となる神経終末を刺激する。

【 0 0 9 2 】

特定の例において、慢性的な炎症は、持続性の刺激物（例えば、持続性の急性炎症、バクテリア感染症（例えば、結核菌による）、化学薬品（例えば、シリカ、又は、タバコの煙）への長期的な暴露、及び、自己免疫反応（例えば、関節リウマチ）の存在に由来する。特定の例において、持続性の刺激物は、絶え間ない炎症（例えば、単球の絶え間ない動員、及びマクロファージの増殖による）をもたらす。特定の例において、絶え間ない炎症はさらに組織を損傷し、この組織損傷は単核細胞のさらなる動員をもたらすことで、炎症を維持するとともに悪化させる。特定の例において、炎症に対する生理的反応は、血管形成及び線維症をさらに含む。

【 0 0 9 3 】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、炎症に関連する障害（即ち、M I F 媒介性疾患）を処置する。M I F 媒介性疾患は、アテローム性動脈硬化、腹部大動脈瘤、急性散在性脳脊髄炎、もやもや病、高安病、急性冠症候群、心臓同種移植片血管障害、肺炎症、急性呼吸促迫症候群、肺線維症、急性散在性脳脊髄炎、アジソン病、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患、水疱性類天疱瘡、シャーガス病、慢性閉塞性肺疾患、セリアック病、皮膚筋炎、1型糖尿病、2型糖尿病、子宮内膜症、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本病、特発性血小板減少性紫斑病、間質性膀胱炎、全身性エリテマトーデス（S L E）、メタボリックシンドローム、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋炎、ナルコレプシー、肥満症、尋常性天疱瘡、悪性貧血、多発性筋炎、原発性胆汁性肝硬変、関節リウマチ、統合失調症、強皮症、シェーグレン症候群、血管炎、白斑、ウェゲナー肉芽腫症、アレルギー性鼻炎、前立腺癌、非小細胞肺癌、卵巣癌、乳癌、黒色腫、胃癌、結腸直腸癌、脳癌、転移性骨障害、膀胱癌、リンパ腫、鼻茸、消化器癌、潰瘍性大腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、虚血性腸炎、空置大腸炎、ベーチェット病、感染性腸炎、分類不能大腸炎、炎症性肝疾患、エンドトキシシンショック、敗血症性ショック、リウマチ性脊椎炎、強直性脊椎炎、痛風性関節炎、リウマチ性多発筋痛症、アルツハイマー病、パーキンソン病、てんかん、エイズ認知症、喘息、成人呼吸窮迫症候群、気管支炎、急性白血球媒介性肺損傷、遠位直腸炎、ウェゲナー肉芽腫症、線維筋痛症、気管支炎、嚢胞性線維症、ブドウ膜炎、結膜炎、乾癬、湿疹、皮膚炎、平滑筋増殖性疾患、髄膜炎、帯状疱疹、脳炎、腎炎、結核、網膜炎、アトピー性皮膚炎、膀胱炎、歯周歯肉炎、凝固壊死、液化壊死、フィブリノイド壊死、新生内膜過形成、心筋梗塞、卒中、移植臓器拒絶反応、又は、これらの組み合わせを含むが、これらに限定されるわけではない。

【 0 0 9 4 】

アテローム性動脈硬化

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、アテローム性動脈硬化を処置する。本明細書中で使用されているように、「アテローム性動脈硬化」は、動脈壁の炎症を意味し、アテローム発生（例えば、脂質沈着、内膜中膜厚化（intima-media thickening）、及び単球による内膜下浸潤（subintimal infiltration））の全段階、並びに全ての動脈硬化病変（例えば、I型病変からV I I I型病変まで）を含む。特定の例において、アテローム性動脈硬化は、マクロファージの蓄積に（一部又は全て）由来する。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、マクロファージの蓄積を防ぎ、蓄積したマクロファージの数を減らし、及び/又はマクロファージが蓄積する速度を低下させる。特定の例において、アテローム性動脈硬化は、酸化L D Lの存在に（一部又は全て）由来する。特定の例において、酸化L D Lは、動脈壁に損傷を与える。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の方法及び組成物は、動脈壁への酸化L D L - 誘発性損傷を防ぎ、酸化L D Lによって損傷を受ける動脈壁部分を減少させ、動脈壁への損傷の重症度を軽減し、及び/又は動脈壁が酸化L D Lによって損傷を受ける速度を低下させる。特定の例において、単球は、損傷を受けた動脈壁に反応する（すなわち、該損傷を受けた動脈壁に対する走化性勾配を伴う）。特定の例におい

10

20

30

40

50

て、単球はマクロファージを分化させる。特定の例において、マクロファージは、酸化LDLを取り込む（取り込まれたLDLを備えるマクロファージ等の細胞は、「泡沫細胞」と呼ばれる）。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、泡沫細胞の形成を防ぎ、泡沫細胞の数を減少させ、及び／又は泡沫細胞が形成される速度を低下させる。特定の例において、泡沫細胞は死滅し、その後破裂する。特定の例において、泡沫細胞の破裂は、酸化コレステロールを動脈壁へ沈着させる。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、動脈壁へ沈着した酸化コレステロールの沈着を防ぎ、動脈壁へ沈着した酸化コレステロールの数を減少させ、及び／又は酸化コレステロールは動脈壁に沈着する速度を低下させる。特定の例において、動脈壁には、酸化LDLにより引き起こされた損傷によって炎症が生じる。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、動脈壁の炎症を防ぎ、炎症を起こす動脈壁部分を減少させ、及び／又は、炎症の重症度を軽減する。特定の例において、動脈壁の炎症は、マトリクスメタロプロテイナーゼ（MMP）- 2、CD40リガンド、及び、腫瘍壊死因子（TNF）- の（部分的又は全体的のいずれか）発現をもたらすことになる。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、マトリクスメタロプロテイナーゼ（MMP）- 2、CD40リガンド、及び、腫瘍壊死因子（TNF）- の発現を防ぎ、又は、発現したマトリクスメタロプロテイナーゼ（MMP）- 2、CD40リガンド、及び、腫瘍壊死因子（TNF）- の量を減少させる。特定の例において、細胞は、炎症領域上を覆う硬質の覆いを形成する。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、硬質の覆いの形成を防ぎ、硬質の覆いによって影響を受ける動脈壁部分を減少させ、及び／又は、硬質の覆いが形成される速度を低下させる。特定の例において、細胞の覆いは動脈を狭める。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、動脈狭小化を防ぎ、動脈狭小化部分を減少させ、狭小化の重症度を軽減し、及び／又は、動脈が狭まる速度を低下させる。

【0095】

特定の例において、動脈硬化性プラークは、（一部又は全て）狭窄症（すなわち、血管の狭小化）をもたらす。特定の例において、狭窄症は、（一部又は全て）血流の減少をもたらす。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、狭窄症及び／又は再狭窄症を処置する。特定の例において、経皮的インターベンション（例えば、バルーン血管形成術又はステント挿入）による狭窄症のアテローム硬化病変の機械的損傷は、新生内膜過形成の発症を誘発する。特定の例において、血管壁の急性損傷は、血管内壁中のSMCのアポトーシスだけでなく、急性の内皮露出及び血小板粘着を誘発する。特定の例において、損傷に反応して内膜層内で表現型的に独特のSMCが蓄積することは、動脈血管壁の統合性を回復させる機能を持つが、その後、血管の進行性狭窄を招くことになる。特定の例において、単球の動員は、より持続性及び慢性の炎症反応を引き起こす。いくつかの実施形態において、本明細書中で開示される方法及び組成物は、表現型的に独特のSMCが内膜層内で蓄積することを抑制する。いくつかの実施形態において、本明細書中で開示される方法及び組成物は、バルーン血管形成術又はステント挿入によって処置される個体において、表現型的に独特のSMCが内膜層内で蓄積することを抑制する。

【0096】

特定の例において、動脈硬化性プラークの破裂は、組織に対する梗塞（例えば、心筋梗塞又は卒中）を（一部又は全て）もたらす。特定の例において、心筋のMIF発現は、急性（cute）の心筋虚血障害を伴う生存している心筋細胞及びマクロファージにおいて上方制御される。特定の例において、低酸素症及び酸化ストレスは、異型タンパク質キナーゼC-依存性排出メカニズムを介して、心筋細胞からMIFの分泌を誘発するとともに、細胞外シグナル制御キナーゼの活性化をもたらす。特定の例において、増加したMIFの血清中濃度は、急性心筋梗塞を有する個体において検知される。特定の例において、MIFは、梗塞領域中のマクロファージ蓄積、及び、梗塞の間の筋細胞誘発性損傷の炎症性を促

10

20

30

40

50

進する役割に關与する。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、梗塞を処置する。特定の例において、再灌流傷害は梗塞を伴う。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、再灌流傷害を処置する。

【0097】

いくつかの実施形態において、本明細書中で開示される抗体は、アテローム硬化性プラークを同定及び／又は位置づけるために投与される。いくつかの実施形態において、抗体は、画像化のために標識化される。いくつかの実施形態において、抗体は、医療画像のために標識化される。いくつかの実施形態において、抗体は、放射線画像（radio-imaging）、PET画像、MRI画像、及び蛍光画像のために標識化される。いくつかの実施形態において、抗体は、高濃度のMIFを有する循環系の領域に局在化させる。いくつかの実施形態において、高濃度MIFを有する循環器系の領域は、動脈硬化性プラークである。いくつかの実施形態において、標識化された抗体は、任意の適切な方法（例えば、ガンマカメラ、MRI、PETスキャナー、X線コンピュータ断層撮影（CT）、機能的磁気共鳴画像法（fMRI）、及び、単一光子放射型コンピュータ断層撮影法（SPECT）を用いることによるもの）によって検知される。

10

【0098】

腹部大動脈瘤

特定の例において、アテローム硬化性プラークは、（一部又は全て）動脈瘤の発症をもたらす。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、動脈瘤を処置するために投与される。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、腹部大動脈瘤（「AAA」）を処置するために投与される。本明細書中で使用されているように、「腹部大動脈瘤」は、通常の動脈直径よりも少なくとも50%増加していることにより特徴付けられる、腹部大動脈の局在的な拡張である。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、腹部大動脈の拡張を減少させる。

20

【0099】

特定の例において、腹部大動脈瘤は、（一部又は全て）構造タンパク質（例えば、エラスチン及びコラーゲン）の分解に由来する。いくつかの実施形態において、本明細書中で開示される方法及び組成物は、構造タンパク質（例えば、エラスチン及びコラーゲン）の分解を、部分的に又は完全に抑制する。いくつかの実施形態において、本明細書中で開示される方法及び／又は組成物は、構造タンパク質（例えば、エラスチン及びコラーゲン）の再生を促進する。特定の例において、構造タンパク質の分解は、活性化MMPによって引き起こされる。いくつかの実施形態において、本明細書中で開示される方法及び／又は組成物は、MMPの活性化を部分的又は完全に抑制する。いくつかの実施形態において、本明細書中で開示される組成物及び／又は方法は、MMP-1、MMP-9、又は、MMP-12の上方制御を抑制する。特定の例において、MMPは、白血球（例えば、マクロファージ及び好中球）による腹部大動脈部分の浸潤を伴って活性化される。

30

【0100】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されている方法及び組成物は、白血球の浸潤を低下させる。特定の例において、MIFは初期の腹部大動脈瘤で上方制御される。特定の例において、白血球は、AAA（例えば、アテローム硬化性プラーク、感染症、嚢胞性中膜壊死、動脈炎、外傷、偽動脈瘤を生成する吻合破壊の影響を受けた大動脈部分）の発症に影響を受けやすい腹部大動脈部分へのMIF勾配を伴う。いくつかの実施形態において、本明細書中で開示される方法及び／又は組成物は、MIFの活動を部分的又は完全に抑制する。いくつかの実施形態において、本明細書中で開示される方法及び／又は組成物は、マクロファージ及び好中球に対してケモカインとして機能するMIFの能力を部分的に又は完全に抑制する。

40

【0101】

いくつかの実施形態において、本明細書中で開示される抗体は、それを必要としている

50

個体の A A A を同定する及び / 又は位置づけるために投与される。いくつかの実施形態において、それを必要としている個体は、A A A を発症させる 1 以上の危険因子を示している（例えば、年齢が 60 歳以上、男性、喫煙、高血圧、高血清コレステロール、糖尿病、アテローム性動脈硬化）。いくつかの実施形態において、抗体は、画像化のために標識化される。いくつかの実施形態において、抗体は、医療画像のために標識化される。いくつかの実施形態において、抗体は、放射線画像（radio-imaging）、P E T 画像、M R I 画像、及び、蛍光画像のために標識化される。いくつかの実施形態において、抗体は、高濃度 M I F を有する循環器系の領域に局在化する。いくつかの実施形態において、高濃度 M I F を有する循環器系の領域は、A A A である。いくつかの実施形態において、標識化された抗体は、任意の適切な方法（例えば、ガンマカメラ、M R I、P E T スキャナー、X 線コンピュータ断層撮影（C T）、機能的磁気共鳴画像法（f M R I）、及び、単一光子放射型コンピュータ断層撮影法（S P E C T）を用いることによって）によって検知される。

10

【0102】

様々な障害

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び組成物は、T 細胞媒介性自己免疫疾患を処置する。特定の例において、T 細胞媒介性自己免疫疾患は、それ自体に対する T 細胞媒介性免疫応答によって特徴づけられる（例えば、体内に生じた細胞及び組織）。T 細胞媒介性自己免疫疾患の例としては、大腸炎、多発性硬化症、関節炎、関節リウマチ、変形性関節症、若年性関節炎、乾癬性関節炎、急性膵炎、慢性膵炎、糖尿病、インスリン依存性糖尿病（I D D M 又は I 型糖尿病）、膵島炎、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、自己免疫性溶血性貧血症候群（autoimmune hemolytic syndromes）、自己免疫性肝炎、自己免疫性神経疾患、自己免疫性卵巣不全（autoimmune ovarian failure）、自己免疫性精巣炎、自己免疫性血小板減少症、反応性関節炎、強直性脊椎炎、シリコーン・インプラントに関連した自己免疫性疾患、シェーグレン症候群、全身性エリテマトーデス（S L E）、血管炎症候群（例えば、巨細胞性動脈炎、ベーチェット病 & ウェゲナー肉芽腫症）、白斑、自己免疫性疾患の第 2 の血液学的兆候（例えば、貧血）、薬物誘発性自己免疫、橋本甲状腺炎、下垂体炎、突発性血小板減少性紫斑病、金属誘発性自己免疫、重症筋無力症、天疱瘡、自己免疫性聴覚消失（例えば、メニエール病）、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、H I V 関連性自己免疫症候群、及び、ギラン - バレー症候群が挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

【0103】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び組成物は、疼痛を処置する。疼痛には、急性疼痛、急性の炎症性疼痛、慢性の炎症性疼痛、及び、神経因性疼痛が挙げられるが、これらに限定されない。

【0104】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び組成物は、過敏症を処置する。本明細書中で使用されているように、「過敏症」とは、好ましくない免疫系反応を表す。過敏症は、4 つの分類に分けられる。I 型過敏症は、アレルギー（例えば、アトピー、アナフィラキシー、又は、喘息）を含む。I I 型過敏症は、細胞毒性 / 抗体媒介性（例えば、自己免疫性溶血性貧血、血小板減少症、胎児赤芽球症、又は、グッドパスチャー症候群）である。I I I 型過敏症は、免疫複合体疾患（例えば、血清病、アルサス反応、又は、S L E）である。I V 型過敏症は、遅発型過敏症（D T H）、細胞媒介性免疫記憶応答、及び、抗体非依存性（例えば、接触性皮膚炎、ツベルクリン反応検査、又は、慢性的な移植拒絶反応）である。

40

【0105】

本明細書中で使用されているように、「アレルギー」は、I g E によるマスト細胞及び好塩基球の過剰な活性化によって特徴づけられる疾患である。特定の例において、I g E によるマスト細胞及び好塩基球の過剰な活性化は、（部分的又は完全のいずれか）炎症反応をもたらす。特定の例において、炎症反応は局所的なものである。特定の例において、

50

炎症反応は、気道狭窄をもたらす（すなわち、気管支収縮）。特定の例において、炎症反応は、鼻の炎症をもたらす（すなわち、鼻炎）。特定の例において、炎症反応は、全身性である（すなわち、アナフィラキシー）。

【0106】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び組成物は、血管形成を処置する。本明細書中で使用されているように、「血管形成」は、新しい血管の形成を表す。特定の例において、血管形成は慢性的な炎症を伴って生じる。特定の例において、血管形成は、単球及び/又はマクロファージにより誘発される。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び/又は組成物は、血管形成を抑制する。特定の例において、MIFは内皮前駆細胞において発現される。特定の例において、MIFは、腫瘍関連の新生脈管構造において発現される。

10

【0107】

いくつかの実施形態において、本発明は、腫瘍形成を処置する方法を備える。特定の例において、腫瘍形成細胞は、炎症反応を誘発する。特定の例において、腫瘍形成細胞に対する炎症反応の一部は血管形成である。特定の例において、血管形成は腫瘍形成の発症を促進する。いくつかの実施形態において、腫瘍形成は、血管肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、及び、他の肉腫、乳癌、盲腸癌、結腸癌、肺癌、卵巣癌、咽頭癌、直腸S状部癌、膵癌、腎癌、子宮内膜癌、胃癌、肝癌、頭頸部癌、乳癌、及び、他の癌、ホジキンリンパ腫及び他のリンパ腫、悪性黒色腫又は他の黒色腫、耳下腺腫瘍、慢性リンパ性白血病及び他の白血病、星状細胞腫、神経膠腫、血管腫、網膜芽細胞腫、神経芽細胞腫、聴神経腫瘍、神経線維腫、トラコーマ、及び、化膿性肉芽腫である。

20

【0108】

いくつかの実施形態において、MIF又はMIFアナログを前記個体に投与する工程を備える血管新生を促進する方法は、本明細書中に開示される。

【0109】

本明細書中で使用されているように、「敗血症」とは、全身炎症によって特徴づけられる疾患である。特定の例において、MIFの発現及び活性を抑制することは、敗血症にかかった個体の生存率を高める。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び組成物は、敗血症を処置する。特定の例において、敗血症は、（部分的又は完全のいずれか）心筋機能不全（例えば、心筋機能不全）をもたらす。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び組成物は、敗血症由来の心筋機能不全を処置する（例えば、心筋機能不全）。

30

【0110】

特定の例において、MIFは心臓におけるキナーゼ活性化及びリン酸化（すなわち、心機能低下の指標）を誘発する。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載の方法及び組成物は、敗血症由来の心筋機能不全（例えば、心筋機能不全）を処置する。

【0111】

特定の例において、LPSはMIFの発現を誘発する。特定の例において、MIFは、敗血症の間にエンドトキシンによって誘発され、心筋の炎症反応、心筋細胞のアポトーシス、及び心機能不全の開始因子として機能する（図8）。

40

【0112】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び組成物は、エンドトキシン暴露由来の心筋の炎症反応を抑制する。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び組成物は、エンドトキシン暴露由来の心筋細胞のアポトーシスを抑制する。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び組成物は、エンドトキシン暴露由来の心筋の心機能不全を抑制する。

【0113】

特定の例において、MIFの抑制は、（部分的又は完全のいずれか）生存因子（例えば、Bcl-2、Bax、及び、phospho-Akt）において著しい増加をもたらすと同時に、心筋細胞の生存及び心筋機能の改善をもたらす。いくつかの実施形態において

50

、本明細書中に記載される方法及び組成物は、B c l - 2、B a x、又は、p h o s p h o - A k t の発現を増加させる。

【0114】

特定の例において、M I F は、火傷に関連する組織損傷又は主要な組織損傷後の遅発型及び遅延性の心機能低下を媒介する。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び組成物は、火傷後の遅延性の心機能低下を処置する。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び組成物は、主要な組織損傷後の遅延性の心機能低下を処置する。

【0115】

特定の例において、M I F は敗血症の間、肺から放出される。

10

【0116】

特定の例において、M I F の抗体中和は、自己免疫性心筋炎の発症を抑制するとともに、自己免疫性心筋炎の重症度を軽減する。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される方法及び / 又は組成物は、自己免疫性心筋炎を処置する。

【0117】

併用

特定の例において、心血管系の障害を調節するために本明細書で開示される方法及び医薬組成物は、(i) M I F の C X C R 2 及び C X C R 4 との結合、及び / 又は、(i i) C X C R 2 及び C X C R 4 の M I F 活性化、(i i i) ホモ多量体を形成する M I F の能力、又は、これらの組み合わせを抑制する (a) 活性薬剤と、(b) M I F 媒介性疾患を処置する薬剤 (「 M I F 媒介性疾患剤」) から選択される第 2 の活性薬剤との相乗的な組み合わせを備える。

20

【0118】

特定の実施形態において、心血管系の障害を調節するために本明細書で開示される方法及び医薬組成物は、(i) M I F の C X C R 2 及び C X C R 4 との結合、及び / 又は、(i i) C X C R 2 及び C X C R 4 の M I F 活性化、(i i i) ホモ多量体を形成する M I F の能力、又は、これらの組み合わせを抑制する (a) 活性薬剤と、(b) その 1 つの要素が炎症である障害を治療する薬剤から選択される第 2 の活性薬剤との相乗的な組み合わせを備える。

【0119】

30

特定の実施形態において、心血管系の障害を調節するために本明細書で開示される方法及び医薬組成物は、(i) M I F の C X C R 2 及び C X C R 4 との結合、及び / 又は、(i i) C X C R 2 及び C X C R 4 の M I F 活性化、(i i i) ホモ多量体を形成する M I F の能力、又は、これらの組み合わせを抑制する (a) 活性薬剤と、(b) その副作用が好ましくない炎症である薬剤から選択される第 2 の活性薬剤との相乗的な組み合わせを備える。特定の例において、スタチン (例えば、アトルバスタチン、ロバスタチン、及び、シンバスタチン) は炎症を誘発する。特定の例において、スタチンの投与は、(部分的又は完全に) 筋炎をもたらす。

【0120】

40

本明細書中で使用されるように、用語「薬学的な併用」、「追加治療を実施する」、「追加治療薬を投与する」などは、1 以上の活性成分の混合又は併用に由来する薬物療法のことを言い、活性成分の定型的な及び非定型的な併用の双方を含む。用語「定型的な併用」は、本明細書中に記載される薬剤の少なくとも 1 つ、及び、少なくとも 1 つの助剤 (co-agent) の双方が、単一体又は単一容量の形状で同時に個体に投与されることを意味する。用語「非定型的な併用」は、本明細書中に記載される薬剤の少なくとも 1 つ、及び、少なくとも 1 つの助剤 (co-agent) の双方が、別々の存在として、同時に、併用して、又は、中断期間を置いて別々に、個体に投与されることを意味し、このような投与は、個体の身体において、効果的なレベルの 2 つ以上の薬剤を提供する。いくつかの例において、助剤は、一度又は一定期間投与され、その後、薬剤が一度又は一定期間投与される。他の例において、助剤は、一定期間投与され、その後、助剤と薬剤の双方の投与を含む治療が実

50

施される。さらに他の実施形態において、薬剤は、一度又は一定期間投与され、その後、助剤が、一度又は一定期間投与される。このような投与は、同様に、例えば、3つ以上の活性成分の投与などのカクテル療法にも応用される。

【0121】

本明細書中に使用されるように、用語「同時投与」、「併用投与」、及び文法的に等しい言葉は、選択された治療薬の単一個体への投与を包含することを意味するとともに、同一の又は異なる投与経路によって、あるいは、同一の又は異なる時間で、薬剤が投与される処置レジメンを含むよう意図されている。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される薬剤は、他の薬剤とともに同時投与される。このような用語は、薬剤及び/又はその代謝物が同時に動物内に存在するように、2つ以上の薬剤の動物への投与を包含する。このような用語は、別々の組成物における同時投与、別々の組成物における異なる時間での投与、及び/又は、両方の薬剤が存在する組成物における投与を含む。したがって、いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される薬剤、及び、他の薬剤は、単一組成物で投与される。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される薬剤、及び、他の薬剤（複数種）は、組成物において混合される。

10

【0122】

併用処置又は予防法が検討される場合、本明細書中に記載される薬剤が併用の特別な性質によって限定されることを意図したものではない。例えば、本明細書中に記載される薬剤は、化学合成物（chemical hybrids）と同様、単一の混合物として併用して任意で投与される。後者の一例は、標的の担体又は活性医薬品（an active pharmaceutical）と共役結合する薬剤である。共役結合は、市販の架橋剤の使用などの多くの手法で達成可能であるが、これに限定されない。さらに、併用処置は、任意で別々に又は同時に実施される。

20

【0123】

いくつかの実施形態において、（a）本明細書中で開示される活性薬剤と、（b）第2の活性薬剤との同時投与により、医療専門家が、MIF媒介性疾患剤の規定の用量を増やすことが（部分的又は完全に）可能となる。特定の例において、スタチン誘発性筋炎は、用量依存性である。いくつかの実施形態において、活性薬剤を処方することにより、医療専門家がスタチンの規定の用量を増やすことが（部分的又は完全に）可能となる。

【0124】

いくつかの実施形態において、（a）活性薬剤と、（b）第2の活性薬剤との同時投与により、医療専門家が、第2の活性薬剤を処方することが（部分的又は完全に）可能となる（即ち、同時投与が炎症性疾患薬を助ける）。

30

【0125】

いくつかの実施形態において、第2の活性薬剤は、間接的な手段（例えば、CETP抑制）によってHDLレベルを標的とする活性薬剤である。いくつかの実施形態において、非選択的なHDL療法を、本明細書中で開示される活性薬剤、（2）RANTESと血小板第4因子との間の相互作用の修飾薬、又は、（3）これらの組み合わせ、と併用することによって、間接的な手段によりHDLレベルを標的とする第2の活性薬剤を、さらに効果的な治療へと変換させる。

【0126】

いくつかの実施形態において、第2の活性薬剤は、炎症の修飾薬の前後、又は同時に、投与される。

40

【0127】

薬物療法

いくつかの実施形態において、第2の活性薬剤は、ナイアシン、フィブラート、スタチン、アポ-AI模倣ペプチド（例えば、DF-4、ノバルティス社）、アポA-I転写上方制御剤、ACATインヒビター、CETP修飾剤、糖タンパク質（GP）IIb/IIa受容体アンタゴニスト、P2Y₁₂受容体アンタゴニスト、Lp-PLA₂-インヒビター、抗TNF剤、IL-1受容体アンタゴニスト、IL-2受容体アンタゴニスト、細胞毒性薬剤、免疫調節剤、抗生物質、T細胞共刺激遮断薬、障害を改善する抗リウマチ

50

薬、B細胞除去剤、免疫抑制剤、抗リンパ球抗体、アルキル化剤、抗代謝産物、植物性アルカロイド、テルペノイド、トポイソメラーゼインヒビター、抗腫瘍抗生物質、モノクローナル抗体、ホルモン療法（例えば、アロマターゼインヒビター）、又は、これらの組み合わせである。

【 0 1 2 8 】

いくつかの実施形態において、第2の活性薬剤は、ナイアシン；ベザフィブラート；シプロフィブラート；クロフィブラート；ゲムフィブロジル；フェノフィブラート；DF4（Ac-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH₂）；DF5；RVX-208（Resverlogix）；アバシミベ（avasimibe）；パクチミベ硫酸塩（pactimibe sulfate）（CS-505）；CI-1011（2,6-ジイソプロピルフェニル[(2,4,6-トリイソプロピルフェニル)アセチル]スルファミン酸）；CI-976（2,2-ジメチル-N-(2,4,6-トリメトキシフェニル)ドデカンアミド）；VULM1457（1-(2,6-ジイソプロピルフェニル)-3-[4-(4'-ニトロフェニルチオ)フェニル]尿素）；CI-976（2,2-ジメチル-N-(2,4,6-トリメトキシフェニル)ドデカンアミド）；E-5324（n-ブチル-N'-(2-(3-(5-エチル-4-フェニル-1H-イミダゾル-1-イル)プロポキシ)-6-メチルフェニル)尿素）；HL-004（N-(2,6-ジイソプロピルフェニル)テトラデシルチオアセタミド）；KY-455（N-(4,6-ジメチル-1-ペンチルインドリン-7-イル)-2,2-ジメチルプロパンアミド）；FY-087（N-[2-[N'-ペンチル-(6,6-ジメチル-2,4-ヘプタジニル)アミノ]エチル]-(2-メチル-1-ナフチル-チオ)アセトアミド）；MCC-147（三菱製薬）；F12511（(S)-2',3',5'-トリメチル-4'-ヒドロキシ-ドデシルチオアセトアニリド）；SMP-500（住友製薬）；CL277082（2,4-ジフルオロ-フェニル-N[[4-(2,2-ジメチルプロピル)フェニル]メチル]-N-(ヘプチル)尿素）；F-1394（(1s,2s)-2-[3-(2,2-ジメチルプロピル)-3-ノニルウレイド]アミノシクロヘキサン-1-イル3-[N-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボニル)アミノ]プロピオン酸）；CP-113818（N-(2,4-ビス(メチルチオ)-6-メチルピリジン-3-イル)-2-(ヘキシルチオ)デカン酸アミド）；YM-750；トルセトラピブ；アナセトラピブ；JTT-705（日本たばこ産業/ロシュ社）；アブシキシマブ；エプチフィバチド；チロフィバン；ロキシフィバン；バリアピリン；XV459（N(3)-(2-(3-(4-ホルムアミジノフェニル)イソキサゾリン-5-イル)アセチル)-N(2)-(1-ブチルオキシカルボニル)-2,3-ジアミノプロピオン酸）；SR121566A（3-[N-{4-[4-(アミノイミノメチル)フェニル]-1,3-チアゾル-2-イル}-N-(1-カルボキシメチルピペリド（carboxymethylpiperid）-4-イル)アミノプロピオン酸、三塩酸塩）；FK419（(S)-2-アセチルアミノ-3-[(R)-[1-[3-(ピペリジン-4-イル)プロピオニル]ピペリジン-3-イルカルボニル]アミノ]プロピオン酸三水和物（trihydrate））；クロピドグレル；プラスグレル；カングレロール；AZD6140（アストラゼネカ）；MRS2395（2,2-ジメチル-プロピオン酸3-(2-クロロ-6-メチルアミノプリン-9-イル)-2-(2,2-ジメチル-プロピオニルオキシメチル)-プロピルエステル）；BX667（Berlex Biosciences）；BX048（Berlex Biosciences）；ダラブラディブ（SB480848）；SB-435495（グラクソスミスクライン社）；SB-222657（グラクソスミスクライン社）；SB-253514（グラクソスミスクライン社）；アレファセプト、エファリズマブ、メトトレキサート、アシトレチン、イソトレチノイン、ヒドロキシ尿素、ミコフェノール酸モフェチル、スルファサラジン、6-チオグアニン、ドボネックス、タクロネックス、ベタメタゾン、タザロテン、ヒドロキシクロロキン、スルファサラジン、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ、アバタセプト、リツキシマブ、トラスツズマブ、抗CD45モノクローナル抗体AHN-12（NCI）、ヨード-131抗B1抗体（Corixa Corp.）、抗CD66モノクローナル抗体BW250/183（NCI、Southampton General Hospital）、抗CD45モノクローナル抗体（NCI、Baylor College of Medicine）、抗体抗anb3インテグリン（NCI）、BIW-8962（BioWa Inc.）、抗体BC8（NCI）、抗体muJ591（NCI）、インジウムIn111モノクローナル抗体MN-14（NCI）、イットリウムY90モノクローナル抗体MN-14（NCI）、F105モノクロ

ーナル抗体 (N I A I D)、モノクローナル抗体 R A V 1 2 (Raven Biotechnologies)、
 C A T - 1 9 2 (ヒト抗 T G F - 1 モノクローナル抗体、ジェンザイム社)、抗体 3
 F 8 (N C I)、1 7 7 L u - J 5 9 1 (Weill Medical College of Cornell Universit
 y)、T B - 4 0 3 (BioInvent International AB)、アナキンラ、アザチオプリン、シ
 クロホスファミド、シクロスポリン A、レフルノミド、d ペニシラミン、アミトリプチリ
 ン、又は、ノルトリプチリン、クロラムブシル、ナイトロジェンマスタード、プラステロ
 ン、L J P 3 9 4 (アベチムスナトリウム)、L J P 1 0 8 2 (La Jolla Pharmaceutic
 al)、エクリズマブ、ベリムマブ (belimumab)、r h u C D 4 0 L (N I A I D)、エ
 ピラツズマブ、シロリムス、タクロリムス、ピメクロリムス、サリドマイド、抗胸腺細胞
 グロブリン - ウマ (Atgam, Pharmacia Upjohn)、抗胸腺細胞グロブリン - ウサギ (サイ
 モグロブリン、ジェンザイム社)、ムロモナブ - C D 3 (FDA Office of Orphan Product
 s development)、パシリキシマブ、ダクリズマブ、リルゾール、クラドリピン、ナタリ
 ズマブ、インターフェロン - 1 b、インターフェロン - 1 a、チザニジン、バクロフ
 エン、メサラジン、アサコール、ペンタサ、メサラミン、バルサラジド、オルサラジン、
 6 - メルカプトプリン、A I N 4 5 7 (抗 I L - 1 7 モノクローナル抗体、ノバルティス
 社)、テオフィリン、D 2 E 7 (Knoll Pharmaceuticalsからヒト抗 T N F m A b)、メ
 ポリズマブ (抗 I L 5 抗体、S B 2 4 0 5 6 3)、カナキヌマブ (抗 I L - 1 抗体
 、N I A M S)、抗 I L - 2 受容体抗体 (ダクリズマブ、N H L B I)、C N T O 3 2
 8 (抗 I L - 6 モノクローナル抗体、Centocor)、A C Z 8 8 5 (完全なヒト抗インター
 ロイキン - 1 モノクローナル抗体、ノバルティス社)、C N T O 1 2 7 5 (完全なヒ
 ト抗 I L - 1 2 モノクローナル抗体、Centocor)、(3S)-N-ヒドロキシ-4-({4-[(4-ヒドロ
 キシ-2-ブチニル)オキシ]フェニル}スルホニル)-2,2-ジメチル-3-チオモルホリンカルボ
 キサミド (アプラタスタット (apratatstat))、ゴリムマブ (C N T O 1 4 8)、オネ
 ルセプト、B G 9 9 2 4 (Biogen Idec)、セルトリズマブペゴール (CDP870、UCB Pharm
 a)、A Z D 9 0 5 6 (アストラゼネカ社)、A Z D 5 0 6 9 (アストラゼネカ社)、A
 Z D 9 6 6 8 (アストラゼネカ社)、A Z D 7 9 2 8 (アストラゼネカ社)、A Z D 2 9
 1 4 (アストラゼネカ社)、A Z D 6 0 6 7 (アストラゼネカ社)、A Z D 3 3 4 2 (ア
 ストラゼネカ社)、A Z D 8 3 0 9 (アストラゼネカ社)、[(1R)-3-メチル-1-({(2S)-3-
 フェニル-2-[(ピラジン-2-イルカルボニル)アミノ]プロパノイル}アミノ)ブチル]ボロ
 ン酸 (ボルテゾミブ)、A M G - 7 1 4、(抗 I L 1 5 ヒトモノクローナル抗体、アムジ
 エン社)、A B T - 8 7 4 (抗 I L - 1 2 モノクローナル抗体、Abbott Labs)、M R A
 (トシリズマブ、抗 I L - 6 受容体モノクローナル抗体、中外製薬)、C A T - 3 5 4 (ヒ
 ト抗インターロイキン - 1 3 モノクローナル抗体、Cambridge Antibody Technology, M
 edImmune)、アスピリン、サリチル酸、ゲンチシン酸、サリチル酸コリンマグネシウム (choline magnesium salicylate)、サリチル酸コリン、サリチル酸コリンマグネシウム、サリチル酸コリン、サリチル酸コリンマグネシウム、サリチル酸ナトリウム、ジフルニサル、カプロプロフェン、フェノプロフェン、フェノプロフェンカルシウム、フルロビプロフェン (flurobiprofen)、イブプロフェン、ケトプロフェン、ナブトン (nabutone)、ケト
 ロラク (ketolorac)、ケトロラクトロメタミン、ナブロキセン、オキサプロジン、ジク
 ロフェナク、エトドラク、インドメタシン、スリンダク、トルメチン、メクロフェナム酸
 、メクロフェナム酸ナトリウム、メフェナム酸、ピロキシカム、メロキシカム、セレコキ
 シブ、ロフェコキシブ、パルデコキシブ、パレコキシブ、エトリコキシブ、ルミラコキシ
 ブ、C S - 5 0 2 (三共)、J T E - 5 2 2 (日本たばこ産業)、L - 7 4 5、3 3 7 (A
 lmirall)、N S 3 9 8 (シグマ社)、ベタメタゾン (セレストン)、プレドニゾン (Delta
 sone)、アルクロメタゾン、アルドステロン、アムシノニド、ベクロメタゾン、ベタメタ
 ゾン、ブデソニド、シクレソニド、クロベタゾール、クロベタゾン、クロコルトロン、ク
 ロプレドノール、コルチゾン、コルチバゾール、デフラザコート、デオキシコルチコステ
 ロン、デソニド、デスオキシメタゾン、デスオキシコルトン、デキサメタゾン、ジフロラ
 ザン、ジフルコルトロン、ジフルプレドナート、フルクロロロン、フルドロコルチゾン、
 フルドロキシコルチド、フルメタゾン、フルニソリド、フルオシノロンアセトニド、フル

10

20

30

40

50

オシノニド、フルオコルチン、フルオコルトロン、フルオロメトロン、フルペロロン、フルブレドニデン、フルチカゾン、ホルモコータル、ホルモテロール、ハルシノニド、ハロメタゾン、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾンアセボン酸エステル、ヒドロコルチゾンブテプレート、ヒドロコルチゾン酪酸エステル、ロテブレドノール、メドリゾン、メブレドニゾン、メチルブレドニゾロン、アセボン酸メチルブレドニゾロン、フロ酸モメタゾン、パラメタゾン、ブレドニカルベート、ブレドニゾン、リメキシロン、チキシコルトール、トリアムシノロン、ウロベタゾール；シスプラチン；カルボプラチン；オキサリプラチン；メクロレタミン；シクロホスファミド；クロラムブシル；ピンクリスチン；ピンブラスチン；ピノレルピン；ピンデシン；アザチオプリン；メルカプトプリン；フルダラビン；ペントスタチン；クラドリビン；5-フルオロウラシル（5FU）；フロクスウリジン（FUDR）；シトシンアラビノシド；メトトレキサート；トリメトプリム；ピリメタミン；ベメトレキセド；パクリタキセル；ドセタキセル；エトボシド；テニボシド；イリノテカン；トポテカン；アムサクリン；エトボシド；エトボシドリル酸塩；テニボシド；ダクチノマイシン；ドキソルビシン；ダウノルビシン；バルルビシン（valrubicine）；イダルビシン；エピルビシン；プレオマイシン；プリカマイシン；マイトマイシン；トラスツズマブ；セツキシマブ；リツキシマブ；ベバシズマブ；フィナスチリド；ゴセレリン；アミノグルテチミド；アナストロゾール；レトロゾール；ボロゾール；エキセメスタン；4-アンドロステン-3,6,17-トリオン（"6-オキシ"；1,4,6-アンドロスタトリエン-3,17-ジオン（ATD）；ホルメスタン；テストラクトン；ファドロゾール；ミラツズマブ；ドキソルビシンと共役したミラツズマブ；又は、これらの組み合わせである。

10

20

【0129】

遺伝子治療

特定の実施形態において、本明細書で開示されるMIF媒介性疾患を調節するための組成物は、（a）本明細書で開示される活性薬剤と、（b）遺伝子治療との併用を備える。特定の実施形態において、本明細書で開示されるMIF媒介性疾患を調節するための方法は、（a）本明細書で開示される活性薬剤と、（b）遺伝子治療との併用を同時に実施する工程を備える。

【0130】

いくつかの実施形態において、遺伝子治療は、それを必要としている個体の血液中の脂質及び／又はリポタンパク質（例えば、HDL）の濃度を調節する工程を備える。いくつかの実施形態において、血液中の脂質及び／又はリポタンパク質（例えば、HDL）の濃度を調節する工程は、それを必要としている個体にDNAをトランスフェクトする工程を備える。いくつかの実施形態において、DNAは、アポAⅠ遺伝子、LCAT遺伝子、LDL遺伝子、IL-4遺伝子、IL-10遺伝子、IL-Ira遺伝子、ガレクチン-3遺伝子、又は、これらの組み合わせをコードする。いくつかの実施形態において、DNAは、肝細胞にトランスフェクトされる。

30

【0131】

いくつかの実施形態において、DNAは、超音波を用いて肝細胞にトランスフェクトされる。超音波を用いたアポAⅠDNAのトランスフェクトに関連する技術を開示するために、米国特許第7,211,248号を参照されたい。この文献は、開示目的のために参照することによって本発明に組み込まれるものとする。

40

【0132】

いくつかの実施形態において、個体は、ヒト遺伝子（「遺伝子ベクター」）を運ぶように操作されたベクターを投与される。LDL遺伝子を形成するための技術を開示するために、米国特許第6,784,162号を参照されたい。この文献は、開示目的のために参照することによって本明細書に組み込まれるものとする。いくつかの実施形態において、遺伝子ベクターは、レトロウィルスである。いくつかの実施形態において、遺伝子ベクターは、レトロウィルスではない（例えば、アデノウィルス；レンチウィルス；又は、META FECTENE、SUPERFECT（登録商標）、EFFECTENE（登録商標）、又は、MIRUS TRANSITなどの重合体送達システム（polymeric delivery system）である）。特定の例において、レト

50

ロウィルス、アデノウィルス、又は、レンチウィルスは、その能力が失われるように突然変異を有している。

【0133】

いくつかの実施形態において、ベクターは、インビボで（すなわち、ベクターが直接的に個体に、例えば、肝細胞に注入される）、エクスピボで（すなわち、個体の細胞がインビトロで成長し、遺伝子ベクターで形質導入され、担体に埋め込まれ、その後、個体に移植された）、又は、それらの組み合わせで、投与される。

【0134】

特定の例において、遺伝子ベクターの投与後、遺伝子ベクターは、投与部位（例えば、肝臓）の細胞に感染する。特定の例において、遺伝子配列は、個体のゲノムに組み込まれる（例えば、遺伝子ベクターがレトロウィルスの場合）。特定の例において、この治療は、定期的に再実施される（例えば、遺伝子ベクターがレトロウィルスでない場合）。いくつかの実施形態において、この治療は、毎年再実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、半年ごとに再実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体のHDLレベルが約60mg/dL以下に減少すると、再実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体のHDLレベルが約50mg/dL以下に減少すると、再実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体のHDLレベルが約45mg/dL以下に減少すると、再実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体のHDLレベルが約40mg/dL以下に減少すると、再実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体のHDLレベルが約35mg/dL以下に減少すると、再実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体のHDLレベルが約30mg/dL以下に減少すると、再実施される。

【0135】

RNAi治療

特定の実施形態において、本明細書で開示されるMIF媒介性疾患を調節するための組成物は、（a）本明細書で開示される活性薬剤と、（b）MIF媒介性疾患（「標的遺伝子」）の発症及び/又は進行に關与する遺伝子の発現を阻止させるよう設計されたRNAi分子との組み合わせを備える。特定の実施形態において、本明細書で開示されるMIF媒介性疾患を調節するための方法は、（a）本明細書で開示される活性薬剤と、（b）MIF媒介性疾患（「標的遺伝子」）の発症及び/又は進行に關与する遺伝子の発現を阻止させるよう設計されたRNAi分子とを併用して投与する工程を備える。いくつかの実施形態において、標的遺伝子は、アポリポタンパク質B（アポB）、熱ショックタンパク質110（Hsp110）、プロタンパク質転換酵素サブチリシンケキシン9（Subtilisin Kexin 9）（Pcsk9）、CyD1、TNF- α 、IL-1 α 、心房性ナトリウム利尿ペプチド受容体A（NPR A）、GATA-3、Syk、VEGF、MIP-2、FasL、DDR-1、C5aR、AP-1、又は、これらの組み合わせである。

【0136】

いくつかの実施形態において、標的遺伝子は、RNA干渉（RNAi）によって、発現を抑制される。いくつかの実施形態において、RNAi治療は、siRNA分子の使用を備える。いくつかの実施形態において、発現が抑制される（例えば、アポB、Hsp110、及び、Pcsk9）遺伝子のmRNA配列に相補的な配列を有する二本鎖RNA（dsRNA）分子は、（例えば、PCRによって）発生する。いくつかの実施形態において、発現を抑制される遺伝子のmRNA配列に相補的な配列を有する20-25bp siRNA分子が発生する。いくつかの実施形態において、20-25bp siRNA分子は、各鎖の3'末端上で2-5bpのオーバーハング、及び、5'リン酸末端及び3'ヒドロキシ末端を有する。いくつかの実施形態において、20-25bp siRNA分子は、平滑末端を有する。RNA配列を発生させる技術に関しては、文献「Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook et al., 1989)」、「Molecular Cloning: A Laboratory Manual, third edition (Sambrook and Russel, 2001)」（共に本明細書では「Sambrook」と呼ぶ）、「Current Protocols in Molecular Biology（

F. M. Ausubel et al., eds., 1987, including supplements through 2001)」、「Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry John Wiley & Sons, Inc., New York, 2000」を参照されたい。これらの文献は、開示目的のために参照することによって本明細書に組み込まれるものとする。

【0137】

いくつかの実施形態において s i R N A 分子は、標的遺伝子に対して「完全に相補的」（すなわち、100%相補的）である。いくつかの実施形態において、アンチセンス分子は、標的遺伝子に対して「ほとんど相補的」（例えば、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、又は、70%相補的）である。いくつかの実施形態において、1 b p のミスマッチ、2 b p のミスマッチ、3 b p のミスマッチ、4 b p のミスマッチ、又は、5 b p のミスマッチがある。

10

【0138】

特定の例において、d s R N A 又は s i R N A 分子の投与後、投与部位の細胞（例えば、肝臓及び／又は小腸の細胞）は、d s R N A 又は s i R N A 分子で形質転換する。形質転換を伴う特定の例において、d s R N A 分子は、約20 - 25 b p の複数のフラグメントへ切断されることによって、s i R N A 分子を産生する。特定の例において、フラグメントは、各鎖の3'末端上で約2 b p のオーバーハングを有する。

【0139】

特定の例において、s i R N A 分子は、R N A 誘発性のサイレンシング複合体（R I S C）によって、2つの鎖（ガイド鎖、及び、抗ガイド鎖）に分けられる。特定の例において、ガイド鎖は、R I S C の触媒成分（すなわち、アルゴノート）に組み込まれる。特定の例において、ガイド鎖は、相補的 R B 1 m R N A 配列と特異的に結合する。特定の例において、R I S C は、発現が抑制される遺伝子の m R N A 配列を切断する。特定の例において、発現が抑制される遺伝子の発現は、下方制御される。

20

【0140】

いくつかの実施形態において、標的遺伝子の m R N A 配列に対して相補的な配列は、ベクターに組み込まれる。いくつかの実施形態において、配列は、2つのプロモーター間に配される。いくつかの実施形態において、この2つのプロモーターは、逆の方向に方向づけられる。いくつかの実施形態において、ベクターは、細胞と接触する。特定の例において、細胞は、ベクターで形質転換する。形質転換を伴う特定の例において、配列のセンス及びアンチセンス鎖が発生する。特定の例において、センス及びアンチセンス鎖は、ハイブリッド形成することによって、s i R N A 分子へ切断される d s R N A 分子を形成する。特定の例において、鎖がハイブリッド形成することによって、s i R N A 分子を形成する。いくつかの実施形態において、ベクターはプラスミドである（例えば、p S U P E R ; p S U P E R . n e o ; p S U P E R . n e o + g f p ）。

30

【0141】

いくつかの実施形態において、s i R N A 分子は、インビボで（すなわち、ベクターは、個体に、例えば、肝細胞、又は、小腸細胞、又は、血流に直接的に注入される）で投与される。

40

【0142】

いくつかの実施形態において、s i R N A 分子は、送達媒体（delivery vehicle）（例えば、リポソーム、生分解性高分子、シクロデキストリン、P L G A 微粒子、P L C A 微粒子、生分解性ナノ粒子、生体接着微粒子、又は、タンパク質性ベクター）、担体及び希釈物、及び、他の薬学的に許容可能な賦形剤で処方される。核酸分子をそれを必要としている個体に処方及び投与する方法に関しては、文献「Akhtar et al., 1992, Trends Cell Bio., 2, 139; Delivery Strategies for Antisense Oligonucleotide Therapeutics, ed. Akhtar, 1995」、「Maurer et al., 1999, Mol. Membr. Biol., 16, 129-140」、「Hofland and Huang, 1999, Handb. Exp. Pharmacol., 137, 165-192」、「Lee et al., 2000, ACS Symp. Ser., 752, 184-192」、米国特許第6,395,713号（Beigelman et

50

al.)、国際公開公報 94/02595 号 (Sullivan et al.)、文献「Gonzalez et al., 1999, Bioconjugate Chem., 10, 1068-1074」、国際公開公報 03/47518 号及び 03/46185 号 (Wang et al.)、米国特許第 6,447,796 号、米国公開特許公報第 2002130430 号、国際公開公報第 00/53722 号 (O'Hare and Normand)、及び、米国公開特許公報第 20030077829 号、米国仮特許出願第 60/678,531 号を参照されたい。これら文献はすべて、開示目的のために、参照することによって本明細書に組み込まれるものとする。

【0143】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の siRNA 分子は、任意の適切な手法で肝臓に投与される (例えば、文献「Wen et al., 2004, World J Gastroenterol., 10, 244-9」、「Murao et al., 2002, Pharm Res., 19, 1808-14」、「Liu et al., 2003, Gene Ther., 10, 180-7」、「Hong et al., 2003, J Pharm Pharmacol., 54, 51-8」、「Herrmann et al., 2004, Arch Virol., 149, 1611-7」、及び、「Matsuno et al., 2003, Gene Ther., 10, 1559-66)」を参照)。

【0144】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の siRNA 分子は、イオン泳動的に、例えば、特定の組織又はコンパートメント (例えば、肝臓又は小腸) に投与される。イオン泳動送達の非限定的な例は、例えば、国際公開公報 03/043689 号、及び、国際公開公報 03/030989 号に記載されており、これらは開示目的のために参照することによって本明細書に組み込まれるものとする。

【0145】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の siRNA 分子は、全身的 (すなわち、血流中の siRNA 分子のインビボ体内吸収又は蓄積と、その後の全身への分布) に投与される。全身投与のために検討される投与経路は、静脈内、皮下、門脈、腹腔内、及び、筋肉内を含むが、これらに限定されない。このような投与経路の各々は、本発明の siRNA 分子を、到達可能な病変組織 (例えば、肝臓) に暴露する。

【0146】

特定の例において、治療は、定期的に再度実施される必要がある。いくつかの実施形態において、この治療は毎年、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、半年ごとに再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、毎月、実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、毎週、実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の HDL レベルが約 60 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の HDL レベルが約 50 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の HDL レベルが約 45 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の HDL レベルが約 40 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の HDL レベルが約 35 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の HDL レベルが約 30 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。

【0147】

アポ B 及び/又は Hsp110 の発現を抑制することに関する技術の開示については、米国公開公報第 2007/0293451 号を参照。これはこのような開示のために参照することにより本明細書に組み込まれる。Pcsk9 の発現を抑制することに関する技術の開示については、米国公開公報第 2007/0173473 号を参照。これはこのような開示のために参照することにより本明細書に組み込まれる。

【0148】

アンチセンス療法

特定の実施形態において、本明細書中に開示されるのは、MIF 媒介性疾患を調節するための組成物であり、この組成物は (a) 本明細書中に開示される活性薬剤、及び、(

b) M I F 媒介性疾患(「標的配列」)の発症及び/又は進行に關与するD N A 又はR N A 配列の発現及び/又は活性を抑制するよう設計されたアンチセンス分子、の組合せを備える。特定の実施形態において、本明細書中に開示されるのは、M I F 媒介性疾患を調節するための方法であり、この方法は、(a)本明細書中に開示される活性薬剤、及び、(b) M I F 媒介性疾患(「標的配列」)の発症及び/又は進行に關与するD N A 又はR N A 配列の発現及び/又は活性を抑制するよう設計されたアンチセンス分子、を同時投与する工程を備える。いくつかの実施形態において、標的配列の発現及び/又は活性を抑制する工程は、標的配列に相補的なアンチセンス分子の使用を備える。いくつかの実施形態において、標的配列はマイクロR N A - 1 2 2 (m i R N A - 1 2 2 又はm R N A - 1 2 2)、分泌型ホスホリパーゼA 2 (s P L A 2)、細胞内接着分子- 1 (I C A M - 1)、G A T A - 3、N F - B、S y k、又はこれらの組合せである。特定の例において、m i R N A - 1 2 2 の発現及び/又は活性を抑制することは、血液中のコレステロール及び/又は脂質濃度の減少を(部分的に又は完全に)もたらす。

10

【0149】

いくつかの実施形態において、標的配列に相補的なアンチセンス分子が(例えば、P C R によって)産生される。いくつかの実施形態において、アンチセンス分子は約15から約30のヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、アンチセンス分子は約17から約28のヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、アンチセンス分子は約19から約26のヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、アンチセンス分子は約21から約24のヌクレオチドである。R N A 配列の産生の技術は、文献「Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook et al., 1989)」及び「Molecular Cloning: A Laboratory Manual, third edition (Sambrook and Russel, 2001)」共に本明細書中に「Sambrook」と称される); 文献「Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel et al., eds., 1987), (2001までの補足を含む)」; 文献「Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry John Wiley & Sons, Inc., New York, 2000)」を参照。なおこれらはこのような開示のため参照することにより本明細書に組み込まれる。

20

【0150】

いくつかの実施形態において、アンチセンス分子は一本鎖、二本鎖、環状、又はヘアピンである。いくつかの実施形態において、アンチセンス分子は構造要素を含有する(例えば、インターナル(internal)又はターミナル(terminal)バルジ若しくはループ)。

30

【0151】

いくつかの実施形態において、アンチセンス分子は、標的配列に対して「完全に相補的」(すなわち、100%相補的)である。いくつかの実施形態において、アンチセンス分子は、標的R N A 配列に対して「ほとんど相補的」(例えば、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、又は、70%相補的)である。いくつかの実施形態において、1 b p のミスマッチ、2 b p のミスマッチ、3 b p のミスマッチ、4 b p のミスマッチ、又は、5 b p のミスマッチがある。

【0152】

いくつかの実施形態において、アンチセンス分子は標的配列にハイブリッド形成する。本明細書中に用いられる「ハイブリッド形成する」とは、アンチセンス分子のヌクレオチドと、標的配列の対応するヌクレオチドとの対合を意味する。特定の例において、ハイブリッド形成法は、対合を成すヌクレオチド間の1もしくはそれより多い水素結合(例えばワトソン-クリック、フーグスティーン又は逆(reversed)フーグスティーン水素結合)の形成を含む。

40

【0153】

特定の例において、ハイブリッド形成することは、R N A 配列の分解、切断及び/又は隔離を(部分的に又は完全に)もたらす。

【0154】

50

いくつかの実施形態において、*siRNA* 分子は、送達媒体 (delivery vehicle) (例えば、リポソーム、生分解性高分子、シクロデキストリン、*PLGA* 微粒子、*PLCA* 微粒子、生分解性ナノ粒子、生体接着微粒子、又は、タンパク質性ベクター)、担体及び希釈物、及び、他の薬学的に許容可能な賦形剤で処方される。核酸分子を、それを必要としている個体に処方及び投与する方法に関しては、文献「Akhtar et al., 1992, Trends Cell Bio., 2, 139; Delivery Strategies for Antisense Oligonucleotide Therapeutics, ed. Akhtar, 1995」、文献「Maurer et al., 1999, Mol. Membr. Biol., 16, 129-140」、文献「Hofland and Huang, 1999, Handb. Exp. Pharmacol., 137, 165-192」、文献「Lee et al., 2000, ACS Symp. Ser., 752, 184-192」、米国特許第 6, 395, 713 号 (Beigelman et al.)、国際公開公報 94/02595 号 (Sullivan et al.)、文献「Gonzalez et al., 1999, Bioconjugate Chem., 10, 1068-1074」、国際公開公報第 03/47518 号及び第 03/46185 号 (Wang et al.)、米国特許第 6, 447, 796 号、米国公開特許公報第 2002130430 号、国際公開公報第 00/53722 号 (O'Hare and Normand)、及び、米国公開特許公報第 20030077829 号、米国仮特許出願第 60/678, 531 号を参照されたい。これらの文献はすべて、開示目的のために、参照することによって本明細書に組み込まれるものとする。

【0155】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の *siRNA* 分子は、任意の適切な手法で肝臓に投与される (例えば、文献「Wen et al., 2004, World J Gastroenterol., 10, 244-9」、文献「Murao et al., 2002, Pharm Res., 19, 1808-14」、文献「Liu et al., 2003, Gene Ther., 10, 180-7」、文献「Hong et al., 2003, J Pharm Pharmacol., 54, 51-8」、文献「Herrmann et al., 2004, Arch Virol., 149, 1611-7」、及び、文献「Matsumoto et al., 2003, Gene Ther., 10, 1559-66)」を参照)。

【0156】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の *siRNA* 分子は、イオン泳動的に、例えば、特定の組織又はコンパートメント (例えば、肝臓又は小腸) に投与される。イオン泳動送達の非限定的な例は、例えば、国際公開公報第 03/043689 号、及び、国際公開公報第 03/030989 号に記載されており、これらは開示目的のために参照することによって本明細書に組み込まれるものとする。

【0157】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の *siRNA* 分子は、全身的 (すなわち、血流中の *siRNA* 分子のインビボ体内吸収又は蓄積と、その後の全身への分布) に投与される。全身投与のために検討される投与経路は、静脈内、皮下、門脈、腹腔内、及び、筋肉内を含むが、これらに限定されない。このような投与経路の各々は、本発明の *siRNA* 分子を、到達可能な病変組織 (例えば、肝臓) に暴露する。

【0158】

特定の例において、治療は、定期的に再度実施される必要がある。いくつかの実施形態において、この治療は毎年、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、半年ごとに再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、毎月、実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、毎週、実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の *HDL* レベルが約 60 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の *HDL* レベルが約 50 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の *HDL* レベルが約 45 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の *HDL* レベルが約 40 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の *HDL* レベルが約 35 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の *HDL* レベルが約 30 mg/dL 以下に減少すると、再度実施される。

【0159】

10

20

30

40

50

m i R N A - 1 2 2 の発現を抑制することに関する技術の開示については、国際公開公報第 0 7 / 0 2 7 7 7 5 号 A 2 を参照。これはこのような開示のために参照することにより本明細書に組み込まれる。

【 0 1 6 0 】

装置を介した治療

いくつかの実施形態において、装置を介した戦略は、それを必要としている個体内の H D L 分子から脂質を除去すること（脱脂（delipification））、それを必要としている個体の血液又は血漿から L D L 分子を除去すること（脱脂（delipification））、あるいはそれらの組合せを備える。それを必要としている個体の H D L 分子から脂質を除去する技術、及びそれを必要とする血液又は血漿から L D L 分子を除去するための技術の開示につ

10

【 0 1 6 1 】

特定の例において、脱脂治療（delipification therapy）は定期的に再実施される必要が生じる。いくつかの実施形態において、脱脂治療（delipification therapy）は毎年再実施される。いくつかの実施形態において、脱脂治療（delipification therapy）は半年ごとに再実施される。いくつかの実施形態において、脱脂治療（delipification therapy）は毎月再実施される。いくつかの実施形態において、脱脂治療（delipification therapy）は週に二回再実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の H D L レベルが約 6 0 m g / d L 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の H D L レベルが約 5 0 m g / d L 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の H D L レベルが約 4 5 m g / d L 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の H D L レベルが約 4 0 m g / d L 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の H D L レベルが約 3 5 m g / d L 以下に減少すると、再度実施される。いくつかの実施形態において、この治療は、個体の H D L レベルが約 3 0 m g / d L 以下に減少すると、再度実施される。

20

【 0 1 6 2 】

医薬組成物

特定の実施形態において、本明細書に開示されるものは、本明細書中に開示される活性薬剤の治療上効果的な量を備える、炎症及び／又は M I F 媒介性疾患を調節するための医薬組成物である。

30

【 0 1 6 3 】

本明細書中の医薬組成物は、活性薬剤を薬学的に用いられる製剤へと加工することを促進する賦形剤及び佐剤（auxiliaries）を含む、1 以上の生理学的に許容可能な担体を用いて処方される。適切な処方は、選択される投与経路に依存する。医薬組成物の概要は、例えば文献「Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed (East on, Pa.: Mack Publishing Company, 1995)」；文献「Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975」；文献「Lieberman, H.A. and Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980」；及び文献「Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, 1999)」に見出される。

40

【 0 1 6 4 】

特定の実施形態において、心血管系の疾患を調節するための医薬組成物はさらに、薬学的に許容可能な希釈剤（複数種）、賦形剤（複数種）、又は担体（複数種）を備える。いくつかの実施形態において、医薬組成物は、他の薬用又は医薬用薬剤、担体、保存剤、安定化剤、湿潤剤又は乳化剤、溶解促進剤（solution promoters）、浸透圧を制御するための塩、及び／又は緩衝剤等のアジュバントを含む。加えて、医薬組成物はまた、他の治療上有益な物質をも含有する。

【 0 1 6 5 】

50

本明細書中に記載の医薬製剤は、複数の投与経路により個体に任意に投与される。上記投与経路は、経口、非経口（例えば、静脈内、皮下、筋肉内）、鼻腔内、口腔、局所、直腸、又は経皮投与経路を含むが、これらに限定されない。本明細書中に記載の医薬製剤は、水性液体分散剤、自己乳化分散剤、固溶体、リポソーム分散剤、エアロゾル、固形の剤型、粉末、即放性製剤（immediate release formulations）、放出制御製剤、急速溶解製剤（fast melt formulations）、錠剤、カプセル剤、丸剤、遅延放出製剤、持続放出製剤（extended release formulations）、パルス放出型製剤（pulsatile release formulations）、多粒子製剤（multiparticulate formulations）、及び即放性製剤及び放出制御製剤の混合された製剤を含むが、これらに限定されない。

【0166】

10

本明細書中に記載の医薬組成物は、処置される個体により経口摂取されるための、水性経口分散剤、液体、ゲル、シロップ、エリキシル剤、スラリー、懸濁液などと、及び固形の経口剤形、エアロゾル、放出制御製剤、急速溶解製剤、発泡製剤、凍結乾燥製剤、錠剤、粉末、丸剤、糖衣錠（dragees）、カプセル剤、放出調節製剤（modified release formulations）、遅延放出製剤、持続放出製剤、パルス放出型製剤、多粒子製剤、及び即放性製剤及び放出制御製剤の混合された製剤を含むがこれらに限定されない任意の適した剤形へと処方される。

【0167】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載の医薬組成物は、多粒子製剤として処方される。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載の医薬組成物は、粒子の第一ポピュレーション及び、粒子の第二ポピュレーションを備える。いくつかの実施形態において、第一ポピュレーションは活性薬剤を備える。いくつかの実施形態において、第二ポピュレーションは活性薬剤を備える。いくつかの実施形態において、第一ポピュレーションにおける活性薬剤の投与量は第二ポピュレーションにおける活性薬剤の投与量に等しい。いくつかの実施形態において、第一ポピュレーションにおける活性薬剤の投与量は第二ポピュレーションにおける活性薬剤の投与量に等しくない（例えば、それより多い又は少ない）。

20

【0168】

いくつかの実施形態において、第一ポピュレーションにおける活性薬剤は第二ポピュレーションにおける活性薬剤より前に放出される。いくつかの実施形態において、粒子の第二ポピュレーションは放出調節の（例えば、遅延放出性の、制御放出性の、あるいは持続放出性の）コーティングを備える。いくつかの実施形態において、粒子の第二ポピュレーションは放出調節の（例えば、遅延放出性の、制御放出性の、あるいは持続放出性の）マトリックスを備える。

30

【0169】

本明細書中に記載の医薬組成物とともに用いられるための被覆材は、ポリマー被覆材（例えば、酢酸フタル酸セルロース、セルロースアセテートトリマレート（cellulose acetate trimaleate）、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ポリビニルアセテートフタレート）；アンモニオメタクリレートコポリマー（例えば Eudragit（登録商標）RS 及び RL）；ポリアクリル酸及びポリアクリレート及びメタクリレートコポリマー（例えば、Eudragite S 及び L、ポリビニルアセタリジエチルアミノアセテート（polyvinyl acetaldieethylamino acetate）、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート、シェラック）；ハイドロゲル及びゲル形成物質（例えば、カルボキシビニルポリマー、アルギン酸ナトリウム、カルメロースナトリウム（sodium carmellose）、カルメロースカルシウム（calcium carmellose）、カルボキシメチル澱粉ナトリウム、ポリビニルアルコール、ヒドロキシエチルセルロース、メチルセルロース、ゼラチン、澱粉、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、架橋澱粉、結晶セルロース、キチン、アミノアクリル-メタクリレートコポリマー、プルラン、コラーゲン、カゼイン、寒天、アラビアガム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、（膨潤性親水性ポリマー）ポリ（ヒドロキシアルキ

40

50

ルメタクリレート) (m. wt. ~5 k - 5, 000 k)、ポリビニルピロリドン (m. wt. ~10 k - 360 k)、陰イオン性及び陽イオン性ヒドロゲル、低アセテート残渣を有するポリビニルアルコール、寒天及びカルボキシメチルセルロースの膨潤性混合物、無水マレイン酸とスチレン、エチレン、プロピレン又はイソブチレンとのコポリマー、ペクチン (m. wt. ~30 k - 300 k) ; 寒天、アカシア、カラヤ、トラガカント、アルギン及びグアーなどといった多糖類、ポリアクリルアミド、Polyox (登録商標) ポリエチレンオキシド (m. wt. ~100 k - 5, 000 k)、AquaKeep (登録商標) アクリレート重合体、ポリグルカン (polyglucan)、架橋されたポリビニルアルコール及びポリN - ビニル - 2 - ピロリドンのジエステル、スターチナトリウム (sodium starch) ; 親水性ポリマー (例えば、多糖類、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム又はカルボキシメチルセルロースカルシウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ニトロセルロース、カルボキシメチルセルロース、セルロースエーテル、ポリエチレンオキシド、メチルエチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、酢酸セルロース、酪酸セルロース、プロピオン酸セルロース、ゼラチン、コラーゲン、澱粉、マルトデキストリン、プルラン、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリ酢酸ビニル、グリセリン脂肪酸エステル、ポリアクリルアミド、ポリアクリル酸、メタクリル酸のコポリマー又はメタクリル酸、他のアクリル酸誘導体、ソルビタンエステル、天然ゴム、レシチン、ペクチン、アルギン酸塩、アルギン酸アンモニア、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸カルシウム、アルギン酸カリウム、アルギン酸プロピレングリコール、寒天、アラビアガム、カラヤガム、ローカストビーンガム、トラガカントガム、カラギーナガム (carrageens gum)、グアーガム、キサンタンガム、スクレログルカンガム (scleroglucan gum) ; 又はそれらの組合せを含むがこれらに限定されない。いくつかの実施形態において、被覆材は、可塑剤、潤滑剤、溶媒、又はそれらの組合せを備える。適切な可塑剤は、アセチル化モノグリセリド (acetylated monoglycerides) ; ブチルフタルイルブチルグリコラート ; 酒石酸ジブチル ; フタル酸ジエチル ; フタル酸ジメチル ; エチルフタルイルエチルグリコラート (ethyl phthalyl ethyl glycolate) ; グリセリン ; プロピレングリコール ; トリアセチン ; クエン酸塩 ; トリプロピオイン (tripropioin) ; ジアセチン ; フタル酸ジブチル ; アセチルモノグリセリド ; ポリエチレングリコール ; ヒマシ油 ; クエン酸トリエチル ; 多価アルコール、グリセロール、酢酸エステル、グリセロールトリアセテート、クエン酸アセチルトリエチル、フタル酸ジベンジル、フタル酸ジヘキシル、フタル酸ブチルオクチル、フタル酸ジイソノニル、フタル酸ブチルオクチル、アゼライン酸ジオクチル、エポキシ化タレート (epoxidised tallate)、トリメリット酸トリイソクチル (triisooctyl trimellitate)、フタル酸ジエチルヘキシル、フタル酸ジ - n - オクチル、フタル酸ジ - i - オクチル、フタル酸ジ - i - デシル、フタル酸ジ - n - ウンデシル、フタル酸ジ - n - トリデシル、トリメリット酸トリ - 2 - エチルヘキシル、アジピン酸ジ - 2 - エチルヘキシル、セバシン酸ジ - 2 - エチルヘキシル、アゼライン酸ジ - 2 - エチルヘキシル、セバシン酸ジブチルを含むがこれらに限定されない。

【0170】

いくつかの実施形態において、粒子の第二ポピュレーションは放出調節マトリックス材料を備える。本明細書中に記載の医薬組成物とともに使用される材料は微結晶性セルロース (microcrystalline cellulose)、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシアシルセルロース (hydroxyalkylcelluloses) (例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロース及びヒドロキシプロピルセルロース)、ポリエチレンオキシド、アルキルセルロース (例えば、メチルセルロース及びエチルセルロース)、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、酢酸セルロース (cellulose acetate)、酢酸酪酸セルロース、酢酸フタル酸セルロース (cellulose acetate phthalate)、酢酸トリメリット酸セルロース (cellulose acetate trimellitate)、ポリビニルアセテートフタレート、ポリアルキルメタクリレート、ポリ酢酸ビニル、又はそれらの組合せを含むがこれらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0171】

いくつかの実施形態において、粒子の第一ポピュレーションは心血管疾患薬剤を備える。いくつかの実施形態において、粒子の第二ポピュレーションは、(1) MIFの修飾剤、(2) RANTESと血小板第4因子間の相互作用の修飾剤、又は(3)それらの組合せを備える。いくつかの実施形態において、粒子の第一ポピュレーションは(1) MIFの修飾剤、(2) RANTESと血小板第4因子間の相互作用の修飾剤、又は(3)それらの組合せを備える。いくつかの実施形態において、粒子の第二ポピュレーションは心血管疾患薬剤を備える。

【0172】

糖衣錠コアは適切な被覆材とともに提供される。この目的のため、濃縮糖溶液が一般的に用いられ、濃縮糖溶液は任意にアラビアガム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボポールゲル(carbopol gel)、ポリエチレングリコール、及び/又は二酸化チタン、ラッカー溶液(lacquer solutions)、及び適切な有機溶媒又は溶媒混合液を含む。同定のため、あるいは活性薬剤の用量の異なる組合せを特徴づけるため、塗料又は顔料が錠剤又は糖衣錠コーティングに任意に加えられる。

【0173】

いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される固形の剤形は、錠剤(懸濁錠剤、速溶性錠剤、噛み砕き錠剤(bite-disintegration tablet)、急速崩壊錠、発泡錠、又はカプレットを含む)、丸剤、粉末(無菌包装された粉末、分配可能な粉末、又は沸騰散剤を含む)カプセル剤(軟カプセル剤又は硬カプセル剤の両方、例えば、動物由来のゼラチン又は植物由来のHPMCから作られたカプセル剤、又は「スプリンクルカプセル(sprinkle capsules)」を含む)、固体分散剤、固溶体、生体内分解性剤形、放出制御剤、パルス放出剤形、多粒子剤形、ペレット、顆粒剤、又はエアロゾルの形態である。他の実施形態において、医薬製剤は粉末の形態である。更に他の実施形態において、製剤処方

は速溶性錠剤を含むがこれに限定されない錠剤の形態である。更に、本明細書中に開示される医薬製剤は単一のカプセル剤として、又は複数のカプセル剤形で任意に投与される。いくつかの実施形態において、医薬製剤は2、又は3、又は4つのカプセル剤あるいは錠剤にて投与される。

【0174】

もう一つの態様において、剤形はマイクロカプセル化した製剤を含む。いくつかの実施形態において、1以上の他の相溶性のある(compatible)材料がマイクロカプセル化材料中に存在する。代表的な材料は、pH調剤、浸食促進剤(erosion facilitators)、消泡剤、酸化防止剤、香味料、及び、結合剤などの担体材料、懸濁化剤、崩壊剤、充填剤、界面活性剤、可溶化剤、安定剤、潤滑剤、湿潤剤、及び希釈剤を含むがこれらに限定されない。

【0175】

MIF受容体インヒビターを含む製剤の放出を遅延させるために有用な、代表的なマイクロカプセル化材料は、Klucel(登録商標)又はNissoHPCといったヒドロキシプロピルセルロースエーテル(HPC)と、低置換ヒドロキシプロピルセルロースエーテル(L-HPC)と、Seppifilm-LC、Pharmacoat(登録商標)、Metolose SR、Methocel(登録商標)-E、Opadry YS、PrimaFlo、Benecel MP824、及びBenecel MP843といったヒドロキシプロピルメチルセルロースエーテル(HPMC)と、Methocel(登録商標)-A、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテーステアレートAquat(HF-LS, HF-LG, HF-MS)及びMetolose(登録商標)といったメチルセルロースポリマーと、エチルセルロース(EC)及びE461、Ethocel(登録商標)、Aqualon(登録商標)-EC、Surelease(登録商標)といった、それらの混合物と、Opadry AMBといったポリビニルアルコール(PVA)と、NatroSol(登録商標)といったヒドロキシエチルセルロースと、カルボキシメチルセルロース及びAqualon(登録商標)-CMCといったカルボキシ

10

20

30

40

50

メチルセルロース (CMC) の塩と、K o l l i c o a t I R (登録商標) といったポリビニルアルコールとポリエチレングリコールの共重合体と、モノグリセリド (マイベロール (Myverol)) と、トリグリセリド (KLX) と、ポリエチレングリコールと、加工された食品用澱粉と、アクリルポリマー及び、E u d r a g i t (登録商標) E P O、E u d r a g i t (登録商標) L 3 0 D - 5 5、E u d r a g i t (登録商標) F S 3 0 D、E u d r a g i t (登録商標) L 1 0 0 - 5 5、E u d r a g i t (登録商標) L 1 0 0、E u d r a g i t (登録商標) S 1 0 0、E u d r a g i t (登録商標) R D 1 0 0、E u d r a g i t (登録商標) E 1 0 0、E u d r a g i t (登録商標) L 1 2 . 5、E u d r a g i t (登録商標) S 1 2 . 5、E u d r a g i t (登録商標) N E 3 0 D、及び E u d r a g i t (登録商標) N E 4 0 D といったアクリルポリマーとセルロースエーテルの混合物と、酢酸フタル酸セルロースと、HPMC 及びステアリン酸の混合物といったセピフィルム (sepifilms) と、シクロデキストリンと、及びこれらの物質の混合物を含むがこれらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0176】

経口投与のための液体剤形は任意に、以下の群から選択される水性懸濁液である。それらは薬学的に許容可能な水性経口分散剤、エマルション、溶液、エリキシル剤、ゲル、及びシロップを含むがこれらに限定されない。例えば文献「Singh et al., Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 2nd Ed., pp. 754-757 (2002)」を参照。M I F 受容体インヒビターに加えて、液体剤形は任意に以下のような添加物を含む。それらは、(a) 崩壊剤；(b) 分散剤；(c) 湿潤剤；(d) 少なくとも1つの保存料、(e) 粘性増強剤、(f) 少なくとも1つの甘味剤、及び(g) 少なくとも1つの香味料である。いくつかの実施形態において、水性分散剤は更に結晶形成インヒビターを含む。

【0177】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載の医薬製剤は自己乳化型薬物送達システム (SEDDS) である。エマルションは、他の通常であれば液滴形態中の一つの混ざらない相からなる分散剤である。通常、エマルションは活発な機械的分散により作られる。エマルション又はマイクロエマルションとは対照的に、SEDDS は、外部の機械的分散又は攪拌なしに過剰な水に加えられると、自然にエマルションを形成する。SEDDS の利点は、溶液中に液滴を分布させるために、ただそっと混ぜるだけで済むということである。加えて、水又は水相は投与の直前に任意に加えられ、それにより、不安定なあるいは疎水性の活性成分の安定性を確保する。このように、SEDDS は疎水性活性成分の経口及び非経口送達に効果的な送達システムを提供する。いくつかの実施形態において、SEDDS は、疎水性活性成分のバイオアベイラビリティの向上を提供する。自己乳化型剤形の製造方法は、例えば米国特許第 5, 8 5 8, 4 0 1 号、第 6, 6 6 7, 0 4 8 号及び第 6, 9 6 0, 5 6 3 号を含むがこれらに限定されない。

【0178】

適切な鼻腔内投与製剤は、例えば米国特許第 4, 4 7 6, 1 1 6 号、第 5, 1 1 6, 8 1 7 号、及び第 6, 3 9 1, 4 5 2 号に記載されるものを含む。経鼻剤形は一般的に、活性成分に加えて多量の水を含有する。pH 調整剤、乳化剤あるいは分散剤、保存料、界面活性剤、ゲル化剤、又は緩衝及び他の安定及び可溶化剤といった少量の他の成分が任意に存在する。

【0179】

吸入による投与のため、本明細書中に開示される医薬組成物は、任意にエアロゾル、ミスト又は粉末の形態である。本明細書中に記載の医薬組成物は、適切な噴霧剤を用いて、加圧バック又は噴霧器から提供されるエアロゾルスプレーの形態で好都合に送達される。適切な噴霧剤は例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素又は他の適切なガスである。加圧エアロゾルについては、投与量単位は計量された量を送達するためにバルブを提供することにより確定される。ほんの一例ではあるが、吸入器 (inhaler) 又は注入器 (insufflator) に使用されるゼラチンなどのカプセル剤及びカートリッジは、粉末混合物及び、ラクトース又は澱粉など

の適切な粉末基剤 (powder base) を含有して処方される。

【0180】

口腔製剤は、米国特許第4,229,447号、第4,596,795号、第4,755,386号、及び第5,739,136号を含むがこれらに限定されない。加えて本明細書中に記載の口腔剤形は任意に更に、剤形を頬粘膜に付着させる働きを同様に行う、生体内分解性の(加水分解性の)ポリマー担体を含む。口腔剤形は、所定の期間にわたって次第に腐食するよう作られる。口腔薬物送達は、経口薬物投与に見られる不都合例えば、遅い吸収、消化管に存在する体液による活性薬剤の劣化、及び/又は肝臓における初回通過の不活性化を回避する。生体内分解性の(加水分解性の)ポリマー担体は一般的に、頬粘膜の濡れた表面に付着する親水性の(水溶性の及び水膨張性の)ポリマーを備える。本明細書中に有用なポリマー担体の例は、アクリル酸ポリマーなど、例えば、「カルボマー」(Carbopol (登録商標)、これはB.F.グッドリッチ(Goodrich)から得られ、1つの同様のポリマーである)として知られるものを含む。本明細書中に記載の口腔剤形に同様に組み込まれる他の成分は、錠剤分解物質、希釈剤、結合剤、潤滑剤、香料、着色剤、保存料などを含むがこれらに限定されない。口腔又は舌下投与のために組成物は任意に、従来のように処方された錠剤、トローチ剤、又はゲルの形態を取る。

10

【0181】

本明細書に開示される医薬組成物の経皮製剤は例えば以下に記載されるものにより投与される。それらは、米国特許第3,598,122号、第3,598,123号、第3,710,795号、第3,731,683号、第3,742,951号、第3,814,097号、第3,921,636号、第3,972,995号、第3,993,072号、第3,993,073号、第3,996,934号、第4,031,894号、第4,060,084号、第4,069,307号、第4,077,407号、第4,201,211号、第4,230,105号、第4,292,299号、第4,292,303号、第5,336,168号、第5,665,378号、第5,837,280号、第5,869,090号、第6,923,983号、第6,929,801号、及び第6,946,144号である。

20

【0182】

本明細書中に記載の経皮製剤は少なくとも3つの成分、すなわち、(1)活性薬剤、(2)浸透促進剤、及び(3)水性アジュバントを含む。加えて、経皮製剤はゲル化剤、クリーム及び軟膏基剤などの成分を含むがこれらに限定されない。いくつかの実施形態において、経皮製剤は、吸収を増進し、皮膚からの経皮製剤の除去を防ぐため、織った(woven)又は不織の(non-woven)裏当て材を更に含む。他の実施形態において、本明細書中に記載の経皮製剤は皮膚への拡散を促進するため、飽和又は過飽和状態を維持する。

30

【0183】

いくつかの実施形態において、経皮投与に適切な製剤は経皮送達装置及び経皮送達パッチを使用し、同製剤はポリマー又は粘着剤中に溶解及び/又は分散された、親油性エマルション、又は緩衝水溶液である。このようなパッチは、医薬品の連続的、拍動性の、又は応需型の送達のために任意に構成される。更には、経皮送達はイオン導入パッチ等の手段によって任意に成し遂げられる。更に、経皮パッチは制御された送達を提供する。律速膜を使用することにより、又はポリマーマトリックス又はゲル内に活性薬剤を閉じ込めることにより、吸収速度は任意に落とされる。反対に、吸収を増大させるために、吸収促進薬が用いられる。吸収促進薬又は担体は、皮膚の通過を助けるために、吸収性の薬学的に許容可能な溶媒を含む。例えば、経皮装置は裏当て部分、任意に担体を備える活性薬剤を含有するリザーバ、任意に、長時間にわたって制御された所定の速度で宿主の皮膚へ活性薬剤を送達する速度制御バリア、及び装置を皮膚に固定する手段を備える包帯の形態である。

40

【0184】

筋肉内、皮下、あるいは静脈内注射のために適切な製剤は、生理学的に許容可能な無菌の水性又は非水性溶液、分散剤、懸濁液又はエマルション、及び無菌の注入可能な溶液又

50

は分散剤へと再構成されるための無菌散剤を含む。適切な水性又は非水性担体、希釈剤、溶媒、又はビヒクルの例は、水、エタノール、ポリオール（プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、グリセリン、クレモフォー（cremophor）など）、それらの適切な混合物、植物油（オリーブ油など）及びオレイン酸エチルなどの注入可能な有機エステルを含む。適切な流動性は、例えばレシチンなどのコーティングの使用により、分散剤の場合は要求される粒径を維持することにより、そして界面活性剤の使用により維持される。皮下注射のために適切な製剤はまた、保存剤、湿潤剤、乳化剤及び分配剤（dispensing agents）といった任意の添加物を含む。

【0185】

静脈注射には、活性薬剤は水溶液中に、望ましくはハanks液、リンガー液、又は生理食塩緩衝液といった生理学的に相溶性の緩衝液中に任意に処方される。経粘膜投与については、透過されるバリアに適切な浸透剤が製剤に用いられる。他の非経口注射については、適切な製剤は、望ましくは生理学的に相溶性の緩衝液又は賦形剤を伴う水性又は非水性溶液を含む。

10

【0186】

非経口注射は任意にボラス注入又は持続注入を含む。注射のための製剤は任意に、単位剤形例えば、アンプルで、又は多用量容器で保存料とともに提示される。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載の医薬組成物は、油性又は水性ビヒクル中の無菌の懸濁液、溶液、又は乳剤のような非経口注射に適切な形態であり、懸濁剤、安定剤、及び／又は分散剤といった製剤化剤（formulatory agents）を含む。非経口投与のための医薬製剤は、水溶性形状の活性薬剤の水溶液を含む。更に、適切な油性注射懸濁液として、懸濁液が任意に調製される。

20

【0187】

いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される活性薬剤は局所に投与され、また様々な局所投与可能な組成物、例えば、溶液、懸濁液、ローション剤、ゲル、ペースト剤、薬用スティック、バalm剤、クリーム又は軟膏に調製される。このような医薬組成物は、可溶化剤、安定剤、張性増強剤（tonicity enhancing agents）、緩衝剤及び保存料を任意に含む。

【0188】

本明細書中に開示される活性薬剤はまた、浣腸剤、直腸用ゲル、直腸用泡剤、直腸用エアロゾル、坐薬、ゼリー状の坐薬、又は停留浣腸といった直腸用組成物中に任意に調製され、この組成物は、ポリビニルピロリドン、PEGなどといった合成ポリマーだけでなく、カカオバター又は他のグリセリドといった、従来の座剤の基剤を含む。組成物の坐剤形態においては、脂肪酸グリセリドの混合物（これに限定されない）といった低融点ワックスが任意にカカオバターと組み合わせて、最初に融解される。

30

【0189】

本明細書中に開示される活性薬剤は任意に、改善により少なくとも部分的に恩恵を受けるであろう炎症性疾患又は疾病の予防的及び／又は治療上の処置のための薬物の調製に用いられる。加えて、このような処置を必要とする個体において、本明細書中に記載の疾病又は疾患のいずれかを処置する方法は、本明細書中に開示される活性薬剤を含む医薬組成物、又は薬学的に許容可能な塩、薬学的に許容可能なN-酸化物、薬学的に活性な代謝物、薬学的に許容可能なプロドラッグ、又は薬学的に許容可能なそれらの溶媒和物を、上記個体に治療上効果的な量で投与する工程を含む。

40

【0190】

個体の疾患が改善しない場合、医師の裁量に基づいて、本明細書中に開示される活性薬剤の投与は、個体の疾病又は疾患の症状を改善、又はそうでなければ制御又は制限するために、慢性的に、すなわち、個体の寿命の間中を含んで、長期間任意に投与される。

【0191】

個体の状態が改善しない場合、医師の裁量に基づいて、本明細書中に開示される活性薬剤の投与は任意に連続的に行われる。あるいは、投与される薬の投与量は一時的に減らさ

50

れ、又は一時的に特定の期間（すなわち、「休薬期間」）阻止される。休薬期間の長さは任意に2日から1年の間で変動し、ほんの一例であるが、2日、3日、4日、5日、6日、7日、10日、12日、15日、20日、28日、35日、50日、70日、100日、120日、150日、180日、200日、250日、280日、300日、320日、350日、又は365日を含む。休薬期間の投与量減量は10%から100%までを含み、ほんの一例であるが、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は100%を含む。

【0192】

一度個体の疾病が改善されると、必要に応じて維持投与量が投与される。その後、投与量又は投与の頻度又は両方は、症状の機能として、改善した疾病、障害又は疾患が保持されるレベルまで減らされる。いくつかの実施形態において、任意の症状の再発が起こると、個体は長期間にわたって間欠的処置を要する。

10

【0193】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の医薬組成物は、正確な投薬量の1回の投与に適切な単位剤形である。単位剤形において、製剤は、本明細書中に開示される活性薬剤の適量を含む単位投与量へ分けられる。いくつかの実施形態において、単位投薬量は製剤の分離量を含むパッケージの形態である。非限定的な例は、パッケージ化された錠剤又はカプセル剤、及びバイアル又はアンプル中の粉末である。いくつかの実施形態において、水性懸濁液組成物は、単回投与用の再密閉不可能な容器内に詰められる。代替的に、組成物に保存料を含むことが典型的である場合、複数回投与用の再密閉可能な容器が用いられる。ほんの一例ではあるが、非経口注射用製剤は追加される保存料とともに、アンプルを含むがこれに限定されない単位剤形で、又は複数回投与用容器で提示される。

20

【0194】

本明細書中に開示される活性薬剤に適切な1日の投薬量は、体重1キログラム当たり約0.01から3mgである。ヒトを含むがこれに限定されない大型哺乳動物において示される1日の投薬量は約0.5mgから約100mgまでの範囲内であり、1日4回までを含むがこれに限定されない分割投与量で、又は持続放出型で、都合良く投与される。経口投与のための適切な単位剤形は約1から50mgまでの活性成分を含む。前述の範囲はただ示唆的なものにすぎない、というのは個体の処置レジメに関する変数の数が大きく、そしてこのような推奨値からの大幅な逸脱は珍しくないためである。このような投薬量は任意に多数の変数次第で変わる。変数は、使用されるMIF受容体インヒビターの活性、処置される疾患又は疾病、投与方法、個体の必要条件、処置される疾患又は疾患の重症度、及び医療従事者の判断に限定されない。

30

【0195】

このような治療レジメンの毒性及び治療効果は、細胞培養物又は実験動物において任意に決定され、この効果はLD50（個体数の50%に致命的な投与量）及びED50（個体数の50%に治療上効果的な投与量）の決定を含むがこれに限定されない。毒性及び治療効果の間の投与量比は治療指数であり、LD50とED50の間の比として表わされる。高い治療指数を示す本明細書中に開示される活性薬剤は好ましい。細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータはヒトに用いられるさまざまな投薬量を処方するのに任意に用いられる。本明細書中に開示されるこのような活性薬剤の投薬量は望ましくは、最低毒性を備えるED50を含む血中濃度の範囲内にある。使用される剤形、及び利用される投与経路次第で、投薬量はこの範囲内において任意に異なる。

40

【0196】

実施例

以下の具体的な例は説明に役立つものとして理解されるものとし、本開示又は特許請求の範囲を制限するものではない。

【0197】

50

実施例 1

細胞株及び試薬

ヒト大動脈 (「Schober, A., et al. (2004) *Circulation* 109, 380-385」) 及び臍静脈 {さいじょうみゃく} (「Weber, K.S., et al. (1999) *Eur. J. Immunol.* 29, 700-712」) 内皮細胞 (プロモセル (PromoCell))、MonoMac 6 細胞 (「Weber, C., et al. (1993) *Eur. J. Immunol.* 23, 852-859」) 及びチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) ICAM-1-トランスフェクタント (「Ostermann, G., et al. (2002) *Nat. Immunol.* 3, 151-158」) が記載されるように用いられた。ジャーカット細胞及び RAW 264.7 マクロファージが、pcDNA3-CXCR2 でトランスフェクトされた。HL-60 細胞が pcDNA3.1/V5-HisTOPPO-TA-CD74 又はベクトル対照群 (Nucleofector Kit V, Amaxa) でトランスフェクトされた。シミアンウィルス-40 で形質転換されたマウスの微小血管内皮細胞 (SVEC) 上でのアッセイのため、L1.2 細胞が pcDNA3-CXCR2 又は pcDNA-CCR5 (UMR cDNA Resource Center) でトランスフェクトされた。末梢血単核細胞が、軟膜から調製され、単球が接着又は免疫磁気分離法 (ミルテニー (Miltenyi)) によって調製され、プライマリー T 細胞がフィトヘマグルチニン (phytohaemagglutinin) / インターロイキン-2 (バイオソース (Biosource)) 刺激及び / 又は免疫磁気選択 (CD3 / M-450 ダイナビーズ (DynaBeads)) に対する抗体) により調製され、そして好中球がフィコール勾配遠心分離により調製された。ヒト胚腎臓-CXCR2 トランスフェクタント (HEK 293-CXCR2) は前も

【0198】

組換え MIF (Recombinant MIF) は記載 (「Bernhagen, J., et al. (1993) *Nature* 365, 756-759」) されるように発現及び精製された。ケモカインは Peprotech 由来のものである。ヒト VCAM-1、Fc キメラ、CXCR1 (42705, 5A12)、CXCR2 (48311)、CXCR4 (44708, FABSP2 カクテル, R&D)、ヒト MIF 及びマウス MIF (NIHIIID.9) (「Lan, H.Y., et al. (1997) *J. Exp. Med.* 185, 1455-1465」)、CD74 (M-B741, ファーミンジェン (Pharmingen))、 α_2 インテグリン (TS1/18)、 α_4 インテグリン (HP2/1) (「Weber, C., et al. (1996) *J. Cell Biol.* 134, 1063-1073」) 及び CXCR2 (RII115) に対する遮断抗体、そして α_L インテグリン (327C) に対する抗体 (「Shamri, R., et al. (2005) *Nat. Immunol.* 6, 497-506」) が用いられた。PTX 及び B-オリゴマーは Merck 社由来のものである。

【0199】

実施例に用いられる方法

接着アッセイ

カルセイン-AM (分子プローブ (Molecular Probes)) 標識単球、T 細胞及び L1.2 トランスフェクタントの阻止は、平行に隔壁されたチャンバーにおいて流量で ($1.5 \text{ ダイン} / \text{cm}^2$, 5 分間)、定量化された (「Schober, A., et al. (2004) *Circulation* 109, 380-385; Ostermann, G., et al. (2002) *Nat. Immunol.* 3, 151-158; Weber, C., et al. (1996) *J. Cell Biol.* 134, 1063-1073」)。融合性内皮細胞、CHO-ICAM-1 細胞、VCAM-1、Fc でコーティングされた血小板及び白血球が、MIF、ケモカイン又は抗体を用いて事前処理された。MIF で (2 時間) インキュベートされた CHO-ICAM-1 細胞は、MIF Ka565 (「Leng, L., et al. (2003) *J. Exp. Med.* 197, 1467-1476」) に対する抗体、及び FITC 接合 (FITC-conjugated) 抗体を用いて染色された。

【0200】

走化性アッセイ

トランスウェルチャンバー (コスター (Costar)) を用いて、蛍光顕微鏡により、又はカルセイン AM 標識及びフルオロブロックフィルタ (FluoroBlok filters) (ファル

コン (Falcon)) を用いて、MIF 又はケモカインに対する主要な白血球遊走を定量化した。細胞は PTX/B-オリゴマー、Ly294002、MIF (脱感作用)、CXCR 又は CD74 に対する抗体、又はアイソタイプ IgG を用いて事前処理された。孔径及び間隔は 5 μ m と 3 時間 (単球)、3 μ m と 1.5 時間 (T 細胞)、及び 3 mm と 1 時間 (好中球) であった。

【0201】

Q-PCR 及び ELISA

RNA はオリゴ-dT プライマーを用いて逆転写された。RT-PCR が、SYBR グリーン (キアゲン (Qiagen))、特異的プライマー及び MJ Opticon 2 (Biozym) とともに、Quantitect キットを用いて実行された。CXCL8 は、Quantikine ELISA (R&D) により定量化された。

10

【0202】

L₂ インテグリン活性化アッセイ

MIF 又は Mg²⁺/EGTA (正の対照群) に刺激された単球は固定され、活性薬剤 27C 及びマウス IgG に対する FITC 接合抗体と反応させた。フローサイトメトリーにより分析された LFA-1 活性化が、平均蛍光強度 (MFI) の増大として、又は正の対照群 (Shamri, R., et al. (2005) Nat. Immunol. 6, 497-506) に関連して報告される。

【0203】

カルシウム動員

20

好中球又は L1.2 CXCR2 トランスフェクタントが Fluor-4AM (分子プローブ) を用いて標識化された。第一の又はその後の刺激 (MIF、CXCL8 又は CXCL7) を加えた後、MFI は細胞質の Ca²⁺ 濃度の指標として BD FACSAria を用いて 120 秒間監視された。L1.2 対照群がごくわずかなカルシウム流入を示した。

【0204】

受容体結合アッセイ

ヨウ素化された MIF は不活性 (「Leng, L., et al. (2003) J. Exp. Med. 197, 1467-1476; Kleemann, R., et al. (2002) J. Interferon Cytokine Res. 22, 351-363」) であるため、競合的受容体結合 (「Hayashi, S., et al. (1995) J. Immunol. 154, 814-824」) が、放射ヨウ素標識されたトレーサー (アマシャム (Amersham))、すなわち、4 nM (80 μ Ci/ml) で最終濃度 40 pM に再構成された [I¹²⁵] CXCL8、5 nM (100 μ Ci/ml) を用いて最終濃度 50 pM に再構成された [I¹²⁵] CXCL12 を用いて実行された。平衡結合アッセイにおける CXCR2 結合用の MIF との [I¹²⁵] CXCL8 の競合、又は CXCR4 結合用の MIF との [I¹²⁵] CXCL12 の競合のため、HEK293-CXCR2 又は CXCR4 を有するジャーカット細胞に対するトレーサーを備える低温の MIF 及び / 又は CXCL が加えられた。分析は液体シンチレーション計数により実行された。EC₅₀ 及び K_d 値を算出するため、一部位受容体リガンド結合モデルが想定され、チェン / プルソフ (Cheng/Prusoff) 等式及びグラフパッドプリズム (GraphPad Prism) が用いられた。

30

【0205】

40

ビオチン-MIF-CXCR 複合体のプルダウンのため、HEK293-CXCR2 トランスフェクタント又は対照群が、ビオチン標識 MIF でインキュベートされ、(「Kleemann, R., et al. (2002) J. Interferon Cytokine Res. 22, 351-363」) 免疫共沈降 (CoIP) バッファで洗浄及び溶解された。複合体はストレプトアビジンでコーティングされた電磁ビーズ (M280, ダイナル (Dyna)) により除去された可溶化液 (cleared lysates) から分離され、CXCR2 に対する抗体又はストレプトアビジン-ペルオキシターゼを用いて、ウェスタンブロット解析で分析された。フローサイトメトリーには、AMD3465 及び / 又は 20 倍 (20-fold) 過剰の非標識の MIF で事前処理された HEK293-CXCR2 トランスフェクタント又はジャーカット細胞がフルオレセイン標識された MIF でインキュベートされ、BD FACSCalibur を用いて分析

50

された。

【0206】

CXCR 内在化アッセイ

HEK293-CXCR2又はジャーカット細胞がCXCL8又はCXCL12でそれぞれに処理され、MIFで処理され、酸性のグリシン緩衝剤で洗浄され、CXCR2又はCXCR4に対する抗体で染色され、そしてフローサイトメリーにより分析された。内在化は緩衝剤処理された細胞(100%対照群)及び染色するアイソタイプ対照群(0%対照)の表面発現に関して算出された。すなわち、幾何学的なMFI[実験用]-MFI[0%対照群]/MFI[100%対照群]-MFI[0%対照群]×100である。

【0207】

CXCR2及びCD74の共存

RAW264.7-CXCR2トランスフェクタントがCXCR2及びマウスCD74に対するネズミ抗体(In-1, ファーミンジェン)で、続いてFITC接合のネズミIgGに対する抗体、及びマウスIgGに対するCy3接合抗体で共染色され、そして共焦点レーザー走査顕微鏡(ツァイス(Zeiss))により分析された。

【0208】

CXCR2及びCD74の免疫共沈降

pcDNA3.1/V5-HisTOPO-TA-CD74で一過的にトランスフェクトされたHEK293-CXCR2細胞が、非変性CoIPバッファ中に溶解された。上清がCXCR2抗体RII115又はアイソタイプ対照群とインキュベートされ、タンパク質G-セファロースで一晩予め遮断(preblock)された。タンパク質はHis-タグ(サンタクルズ(Santa Cruz))に対する活性薬剤を用いて、ウェスタンブロットにより分析された。同様に、CoIP及び免疫プロットが、His-タグ及びCXCR2それぞれに対する抗体を用いて実行された。L1.2-CXCR2細胞がCXCR2に対する抗体を用いて免疫沈降にさらされ、そして、マウスCD74に対する抗体を用いて免疫プロットにさらされた。

【0209】

頸動脈のエクスピボの灌流及び生体顕微鏡検査

Mif^{-/-}(「フィンゲルリ-ロウソン(Fingerle-Rowson), G., et al. (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, 9354-9359」)から交雑されたMif^{-/-}Ldl^{-/-}マウス及びMif^{+/+}Ldl^{-/-}同腹子対照群、及びLdl^{-/-}マウス(Charles River)、及びアポ^{e⁻/e⁻}マウスが、高脂肪食(21%脂肪;アルトロミン(Altromin))を6週間与えられた。あらゆる単一ノックアウト系統は、C57BL/6のバックグラウンドにおいて10回戻し交配された。Mif^{+/+}及びMif^{-/-}マウスはTNF- α (腹腔内に(i.p.)), 4時間)で処理された。外植された動脈が、落射蛍光顕微鏡の試料台に移され、CD74又はCXCR2に対する抗体、アイソタイプ対照群IgGで処理された、又は未処理で放置されたカルセインAM標識MonoMac6細胞を用いて、4 μ l/分で灌流された(「Huo, Y., et al. (2001) J. Clin. Invest. 108, 1307-1314」)。未処理の単球細胞はMIFに対する抗体で30分間遮断後、灌流された。生体顕微鏡検査のため、ローダミン-G(分子プローブ)が静脈内に(i.v.)投与され、頸動脈が麻酔下のマウス中に暴露された。標識された白血球の阻止(>30秒)は、落射蛍光顕微法(ツァイスアキシオテック(Zeiss AxioTECH)), 20×水浸)により分析された。全ての研究は地方局(行政区ケルン)により承認され、ドイツ動物愛護法Az:50.203.2-AC36, 19/05に従った。

【0210】

アテローム性動脈硬化症進行のマウスモデル

高脂肪食を12週間与えられたアポ^{e⁻/e⁻}マウスが、MIF(NIHIIID、9)、CXCL12(79014)又はCXCL1(124014、R&D)(n=6-10マウス)に対する抗体をさらに4週間注入された(1週間あたり3注射、それぞれ50 μ g

10

20

30

40

50

）。大動脈基部は、インサイチュー灌流により固定され、そしてアテローム性動脈硬化はオイルレッドOを用いて横断面を染色することにより定量化された。関連するマクロファージ及びT細胞の内容物は、MOMA-2 (MCA519, セロテック (Serotec)) 又はCD3 (PC3/188A, ダコ (Dako)) に対する抗体、及びFITC接合抗体を用いて染色することにより決定される。30週間固形飼料を食餌として与えられたMif^{-/-}Ldl^{-/-}及びMif^{+/+}Ldl^{-/-}マウスにおいて、大動脈基部内の多数の管腔の単球及び病変マクロファージが、記載される (「Verschuren, L., et al. (2005) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 25, 161-167」) ように決定された。

【0211】

精巣拳筋微小循環モデル

CXCR2に対する抗体 (100 µg 腹腔内) で処理されたマウスにおいて、ヒトMIF (1 µg) が陰嚢内に注入され、そして精巣拳筋が露出された。4時間後、生体顕微鏡検査 (ツァイス・アキシオプラン (Zeiss AxioPlan); 20x) が、後毛細血管細静脈中で実行された (「Gregory, J.L., et al. (2004) Arthritis Rheum. 50, 3023-3034; Keane, M.P., et al. (2004) J. Immunol. 172, 2853-2860」)。接着は30秒より長い間静止した白血球として、そして遊出はフィールド当たりの血管外白血球の数として測定された。

【0212】

骨髄移植

大腿及び脛骨が無菌で、ドナーIl8r^{b-/-} (ジャクソン・ラボラトリーズ (Jackson Laboratories)) 又はBALB/cマウスから除去された。細胞は、髄腔から流し出され、切除を伴う全身照射法 (Zernecke, A., et al. (2005) Circ. Res. 96, 784-791) の24時間後、Mif^{+/+}又はMif^{-/-}マウスに細胞は静脈内に投与された。

【0213】

急性腹膜炎のモデル

Il8r^{b+/+}又はIl8r^{b-/-}骨髄を再配置されたマウスが、腹腔内にMIF (200 ng) を注入された。4時間後、腹腔洗浄法が実行され、Gr-1⁺CD11b⁺F4/80⁺好中球が、関連する接合抗体を用いてフローサイトメトリーにより定量化された。

【0214】

統計分析

統計分析が、一方向分散分析 (ANOVA) 及びニューマン-ケウルス (Newman-Keuls) ポストホックテスト (post-hoc test) 又はウェルチの補正 (Welch's correction) (グラフパッドプリズム) を用いるアンペアードスチューデントt-検定 (unpaired Student's t-test) のいずれかを用いて実行された。

【0215】

実施例2:

CXCR2を介した表面結合のMIF誘発性の単球阻止

モノクローナル抗体及び百日咳毒素 (PTX) が、MIF誘発性の単球阻止が、CXCR2のG_i-共役活性に依存するかどうかを研究するために用いられた。組換えMIFで2時間事前処理されていたヒト大動脈内皮細胞が、流動条件の下、主要なヒト単球の阻止を実質的に増大したが、これはMIFに対する抗体に遮断される効果である (図1a)。特に、MIF誘発性の、しかし自然発生ではない単球阻止が、CXCR2に対する抗体により、又はPTXにより切断され、このことはG_i共役のCXCR2を暗に示した。CXCR2を介して単球阻止を誘発するMIFの能力は、単球のMono-Mac6細胞を用いて確認され、この活動は、大動脈内皮細胞上のMIFの固定化に関連付けられた (図1b)。このデータは、MIFが内皮細胞表面上にあり、そして非同族CXCR2リガンドとして、ケモカインのような阻止機能を発揮したことを示した。標準的なCXCR2アゴニスト (CXCL1/CXCL8) の遮断は、MIFのこれらの効果を妨げなかった

10

20

30

40

50

(図 1 a)。

【0216】

α_2 インテグリンリガンド、ICAM-1 (細胞間接着分子 1) を発現させる、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) のトランスフェクタントが、MIF がインテグリン依存性の阻止を促進する機構を分析するために用いられた。流動条件の下で定量化されたため、CHO トランスフェクタントを MIF に 2 時間暴露することにより、MIF の表面提示をもたらした (図 1 b)、またトランスフェクタントの CXCL8 への暴露のように、単球細胞の阻止を増大した (図 1 c)。この効果は PTX と α_2 インテグリンに対する抗体とに完全に影響を受けやすく (図 1 c)、MIF により誘発される α_2 インテグリン媒介の阻止における G_i の役割を確認した。主要な単球及び Mono Mac 6 細胞は、CXCR1 及び CXCR2 の両方を発現させる (「Weber, K.S., et al. (1999) Eur. J. Immunol. 29, 700-712」)。CXCR1 の遮断が全く効果を有さなかった一方、CXCR2 の遮断は実質的に、しかし完全にではなく、MIF 誘発性の及び CXCL8 誘発性の単球細胞阻止を損なった。CXCR1 及び CXCR2 の両方に対する抗体の追加は、MIF 又は CXCL8 の阻止機能を完全に抑制した (図 1 d 及び図 8)。CD74 に対する抗体の使用は、MIF 誘発性の阻止において CXCR2 とともにこのタンパク質に影響を及ぼした (図 1 d)。自発阻止は影響されなかった (図 8)。従って、CD74 により補助された CXCR2 が MIF 誘発性の阻止を媒介する。

10

【0217】

CXCR4 を介した MIF 誘発性の T 細胞阻止

20

大動脈内皮細胞上に固定された MIF 又は CXCL12 のいずれかが、主要なヒトエフェクター T 細胞の阻止を引き起こした (図 1 e)。MIF 誘発性の、しかし自然発生ではない T 細胞阻止は PTX に影響を受けやすく、CXCR4 に対する抗体により抑制された (図 1 e)。CXCR2 を発現させる単球におけるほど顕著ではないが (図 1 d)、ICAM-1 を発現させる CHO トランスフェクタント上の MIF (又は CXCL12) の提示は、 α_L α_2 依存性のジャーカット T 細胞の阻止を引き起こした。これは、CXCR4 により媒介される効果である (図 1 f)。

【0218】

ジャーカット T 細胞における CXCR2 の異所性発現は、MIF 誘発性の阻止を増大し (図 1 g)、これは、CXCR2 が白血球中の MIF への応答を伝えるという考えを実証するものである。CXCR1、CXCR2 又は CXCR3 を発現させる L1.2 プレ-B リンパ腫トランスフェクタント、及び内在性の CXCR4 のみを発現させる細胞を用いる対照群が、CXCR4 アンタゴニスト AMD3465 の存在下で用いられた。MIF は、正準リガンド CXCL8 及び CXCL12 のものと同様の有効性を備える内皮細胞上で、CXCR2 トランスフェクタント及び CXCR4 を有している対照群の阻止を引き起こし、その一方、CXCR1 及び CXCR3 トランスフェクタントは、CXCL8 及び CXCL10 にそれぞれ応答していたが、MIF に対してはそうでなかった (図 1 h)。このデータにより、CXCR1 又は CXCR3 ではなく、CXCR2 及び CXCR4 が、MIF 誘発性の阻止を支持することが立証された。

30

【0219】

実施例 3

40

CXCR2 / 4 活性化を介した MIF 誘発性白血球の走化性

ケモカインは走化性の誘発因子として名祖的に (eponymously) 定義されている (「Baggiolini, M., et al. (1994) Adv. Immunol. 55, 97-179; Weber, C., et al. (2004) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 24, 1997-2008」)。逆説的に、MIF は最初、「ランダムな」遊走 (Calandra, T., et al. (2003) Nat. Rev. Immunol. 3, 791-800) を妨げるものと思われていた。これは定方向の (directed) 遊出の活動的な反発又は脱感作に起因し得るが、遊走を制御する MIF により喚起される特定の機構はまだ明確にされていない。MIF が CXCR2 及び CXCR4 の G_i 媒介の機能を誘発したことを示す結果により、MIF がこれらの受容体を介して直接的に白血球走化性を引き起こすかどうかを

50

確かめることが促された。

【0220】

トランスウェル・システム (transwell system) を用いて、M I F 及び C X C L 8 のプロモ遊走性の (promigratory) 効果が、主要なヒト末梢血単核細胞由来の単球で比較された。C C L 2 はまた、単球に対するプロトタイプのケモカインとして用いられた。C X C L 8 及び C C L 2 と同様に、M I F を下方チャンバーに加えることにより遊走が誘発され、遊走は、低いピークの遊走指数 (図 2 a) を伴うにもかかわらず、25 ~ 50 ng / ml で最適値を取る、ケモカインに典型的な円錐型の用量反応曲線をたどった。熱処理又は M I F に対する中和抗体が、M I F 誘発性の遊出を無効にした。対照的に、アイソタイプの一一致した (isotype-matched) 免疫グロブリン (I g G) は効果を有さなかった (図 2 b)。上方チャンバーに加えられると、M I F は下方チャンバーで M I F 方向への遊走に対して用量依存的に脱感作したが (図 2 c)、上方チャンバーにのみ存する時、遊走を引き起こさなかった。これは M I F が化学運動性というより真の走化性を喚起することを示している。ホスホイノシチド - 3 - キナーゼを介した G_i 依存性のシグナル伝達と一致して、M I F 誘発性の単球走化は P T X に影響を受けやすく、L y 294002 により抑制された (図 2 d)。C X C R 2 及び C D 74 の両方が、M I F 誘発性の単球走化性に特異的に貢献した (図 2 e)。C X C R 2 の役割は、C X C R 2 をトランスフェクトされた L 1 . 2 細胞における、C X C L 8 誘発性走化性の M I F 媒介性の交差脱感作を示すことにより確認された。M I F の遊走能は、R A W 264 . 7 マクロファージ (図 8) 及び T H P - 1 単球において確認された。これらのデータは、M I F が C X C R 2 を介して単球走化性を引き起こすことを明示する。

10

20

【0221】

機能的 M I F - C X C R 4 相互作用を立証するため、C X C R 1 及び C X C R 2 を持たない最初の C D 3⁺ T リンパ球の遊出が評価された。C X C L 12、既知の C X C R 4 リガンド及び T 細胞化学誘引物質と同様に、抗体遮断及び C X C L 12 の交差脱感作により示されるように、M I F が遊出を、すなわち走化性であり、かつ C X C R 4 を介して形質導入された工程を用量依存的に誘発した (図 2 f 及び図 8)。従って、M I F は C X C R 4 を介した定方向の T 細胞の遊走を引き起こす。C X C R 2 を有する主要な細胞型である、主要なヒト好中球において、M I F は、C X C R 1 媒介ではなく C X C R 2 媒介の遊走能を発揮し、これは円錐型の用量反応曲線を示し、C X C L 8 を交差脱感作するものである (図 2 g, h)。M I F に向かう好中球の中程度の遊走能は、好中球における C D 74 の不在に関係し得る、というのは、C D 74⁺ 前骨髓球性 H L - 60 細胞におけるその異所性発現が、M I F 誘発性の遊走を増進したためである (図 8)。他の C X C R 2 リガンドのように、M I F は阻止 (arrest) ケモカインとして機能するが、現在のデータは、M I F は同様に、単核細胞及び好中球にかなりの走化性特性を有することを明らかにした。

30

【0222】

実施例 4

M I F が急速なインテグリン活性化及びカルシウム流動を引き起こす。

M I F の阻止機能は、直接的な M I F / C X C R のシグナル伝達を反映し得るが、M I F の固定化に要する時間の間、M I F が他の阻止ケモカインを誘発するということは、完全には除外され得ない。M I F が直接的に白血球阻止を誘発する (図 1) という証拠を強固にするため、リアルタイム P C R 及び E L I S A が実行され、ヒト大動脈 (又は静脈) 内皮細胞の M I F との 2 時間に及ぶインキュベーションが、C X C R 2 に結合すると知られている典型的な阻止ケモカインを上方制御できなかったことが分かった (図 3 a)。

40

【0223】

溶液中に存在する、又はインテグリンリガンド (例えば、血管細胞接着分子 (V C A M) - 1) に並べて置いて固定化されたケモカインへの短期間暴露は、急速にインテグリン活性を上方制御することができ、このことが白血球阻止を媒介する (「Laudanna, C., et al. (2006) Thromb. Haemost. 95, 5-11」)。これはリガンド結合の直前に行われるクラスタリング (例えば $\alpha_4 \beta_1$) 又は高次構造変化 (例えば $\alpha_L \beta_2$) により成し遂げら

50

れる。1 から 5 分間の単球細胞の M I F (又は C X C L 8) による刺激は、C H O / I C A M - 1 細胞上で L_2 依存性の阻止を引き起こした (図 3 b) 。単球インテグリン (monocyte integrins) の直接刺激の証拠を得るため、 L_2 の広範な (extended) 高親和性高次構造を認識するレポーター抗体 3 2 7 C が用いられた (Shamri, R., et al. (2005) Nat. Immunol. 6, 497-506) 。これらのアッセイは M o n o M a c 6 細胞 (図 3 c) 及びヒト血中単球 (図 3 d) 内の L_2 活性化が、M I F への暴露の 1 分後という早い時間に起こり、30 分間以上持続したことを明らかにした。M I F の作用が L_2 に限定されるかどうかを評価するために、V C A M - 1 上の L_4 L_1 依存性単球細胞の阻止が研究された。M I F への 1 から 5 分間の暴露により顕著な阻止が誘発され、その阻止は C X C R 2、C D 7 4 及び L_4 L_1 により媒介された (図 3 e) 。C X C L 1 2 の作用と同様に、ジャーカット T 細胞の M I F による 1 から 5 分間の刺激は、V C A M - 1 上で C X C R 4 依存性の接着を引き起こした (図 8) 。

10

【 0 2 2 4 】

C X C R 2 は、C X C L 8 により引き起こされる細胞質カルシウムの増加を媒介することができ (Jones, S.A., et al. (1997) J. Biol. Chem. 272, 16166-16169) 、カルシウム流入を刺激し、C X C L 8 シグナルを脱感作する M I F の能力が検査された。実際に、C X C L 8 のように、M I F は主要なヒト好中球中でカルシウム流入を誘発し、C X C L 8 又は M I F のいずれかに応答するカルシウムトランジェントを脱感作し (図 3 f) 、M I F が G P C R / G i シグナル伝達を活性化することを確認した。好中球において見られる M I F による C X C L 8 のシグナル伝達の部分的な脱感作は、他の C X C R 2 リガンド (Jones, S.A., et al. (1997) J. Biol. Chem. 272, 16166-16169) を用いた調査結果と近似し、そして C X C R 1 の存在を反映する。C X C R 2 を発現する L 1 . 2 トランスフェクタントにおいて、M I F は C X C L 8 誘発性のカルシウム流入を完全に脱感作し、そして好中球中において、M I F は、選択的 C X C R 2 リガンド C X C L 7 により誘発されたトランジェントを脱感作した (そして、C X C L 7 は M I F により誘発されるトランジェントを脱感作した) (図 3 f) 。C X C R 2 トランスフェクタントにおいて、M I F はカルシウム流入を用量依存的に誘発し、そして C X C L 8 又は C X C L 7 の強力さ及び効果にわずかに及ばないだけであった (図 3 g) 。結論として、M I F は C X C R 2 及び C X C R 4 に作用することによって、急速なインテグリン活性化及びカルシウム流入を引き起こした。

20

30

【 0 2 2 5 】

実施例 5

M I F は C X C R 2 及び C X C R 4 と相互作用する。

M I F の C X C R 2 及び C X C R 4 との物理的相互作用を評価するため、受容体結合競合及び、内在化研究を実施した。異所的に C X C R 2 を発現する H E K 2 9 3 細胞において、M I F は平衡条件下で、C X C R 2 結合に関して 125 I 標識 C X C L 8 と強く競合した。C X C L 8 トレーサーの、C X C R 2 への結合は、1 . 5 n M の最大半減反応に対するエフェクター濃度 (E C $_{50}$) を有する M I F により抑制された (図 4 a) 。C X C R 2 の M I F (K $_d$ = 1 . 4 n M) への親和性は、C X C L 8 (K $_d$ = 0 . 7 n M) への親和性に近く、最適な走化性を誘発する M I F 濃度の範囲内 (2 - 4 n M) であった。C X C R 2 への結合を確認するため、特異的な受容体 - リガンド相互作用を報告する受容体内在化アッセイを用いた。安定的 H E K 2 9 3 トランスフェクタント上の表面 C X C R 2 の F A C S 分析は、M I F が、C X C L 8 のものと似た用量反応を有する C X C R 2 の内在化を誘発したことを示した (図 4 b) 。同等のデータが、C X C R 2 をトランスフェクトされた R A W 2 6 4 . 7 マクロファージ中에서도得られた (図 4 b 挿入図) 。

40

【 0 2 2 6 】

M I F の C X C R 4 との相互作用を検証するため、受容体結合研究が、内因的に C X C R 4 を発現するジャーカット T 細胞内で実施された。M I F は C X C R 4 結合に対して、 125 I 標識 C X C L 1 2 と競合した (C X C L 1 2 の K $_d$ = 1 . 5 n M ; E C $_{50}$ = 1 9 . 9 n M、M I F の K $_d$ = 1 9 . 8 n M) (図 4 c) 。K $_d$ は T 細胞走化性を誘発する

50

M I F 濃度に一致していた。一貫して、M I F は C X C L 1 2 のように、用量依存的様式で C X C R 4 の内在化を引き起こした (図 4 d)。C X C R 2 及び C X C R 4 の M I F 誘発性の内在化はこれらの受容体に対し特異的であった。それは M I F が同族のリガンド C C L 5 とは異なり、L 1 . 2 C C R 5 トランスフェクタント中において C C R 5 の内在化を誘発することができなかったためである。

【 0 2 2 7 】

C X C R との相互作用を確認するため、M I F はビオチン又はフルオレセインで標識化され、それによりヨウ素化された M I F とは対照的に、直接的な受容体結合アッセイが可能となる。ベクター対照群ではなく C X C R 2 トランスフェクタントは、フローサイトメトリー (図 4 e)、ストレプトアビジンビーズを用いたブルダウン (図 4 e 挿入図) 及び 10 蛍光顕微鏡法により証明されるように、標識化された M I F の直接結合を支持した。加えて、フルオレセイン - M I F の C X C R 4 を有しているジャーカット細胞への特異的な結合は、C X C R 4 アンタゴニスト A M D 3 4 6 5 により抑制された。

【 0 2 2 8 】

C X C R 2 及び C D 7 4 間の複合体形成

我々のデータは、機能的な M I F の受容体複合体には G P C R 及び C D 7 4 の両方が含まれるという可能性を示唆している。従って、内因性の C D 7 4 及び C X C R 2 の共局在化が、ヒト C X C R 2 を発現する R A W 2 6 4 . 7 マクロファージ中で共焦点蛍光顕微鏡法を用いて可視化された。この技術を用いて、顕著な共局在化が、50% 以下の細胞において偏光パターン (polarized pattern) で観察された (図 4 f)。 20

【 0 2 2 9 】

加えて、免疫共沈降アッセイが、C X C R 2 が C D 7 4 と物理的に相互作用することを明らかにした。C X C R 2 / C D 7 4 複合体は、安定的に C X C R 2 を過剰発現させると共に、一過的に H i s タグをつけた C D 7 4 を発現する H E K 2 9 3 細胞において検出された。これらの複合体は、C X C R 2 に対する抗体を用いた沈降により、及び H i s タグに対するウェスタンブロットにより共沈された C D 7 4 を検出することにより観察された。共沈はまた、使用された抗体の順序が逆にされた時にも見られた (図 4 g)。複合体はまた、C X C R 2 に対する抗体を用いた免疫共沈降により評価されるように、ヒト C X C R 2 を安定的に発現する L 1 . 2 トランスフェクタント中の C D 7 4 を用いて検出された。対照的に、L 1 . 2 対照群又はアイソタイプ対照群では複合体は観察されなかった (図 4 h)。データは、M I F 機能を媒介するために C D 7 4 がシグナル伝達複合体を形成するモデルと一致する。 30

【 0 2 3 0 】

実施例 6

C X C R 2 は動脈内で M I F 誘発性の単球阻止を媒介する。

M I F は、大量の細胞増殖、マクロファージ浸潤、及び脂質沈着を伴う複合プラークの形成を促進する (「Weber, C., et al. (2004) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24, 1997-2008; Morand, E.F., et al. (2006) *Nat. Rev. Drug Discov.* 5, 399-410」)。これは o x L D L による内皮の M I F の誘導に関連しており、このことが単球阻止を誘発するものである (Schober, A., et al. (2004) *Circulation* 109, 380-385)。C X C R 2 リガンド C X C L 1 はまた、初期のアテローム硬化性の内皮を有するマウスのエクスピボで灌流された頸動脈内に、 α ₄ β ₁ 依存性単球の蓄積を引き起こすことができる (Huo, Y., et al. (2001) *J. Clin. Invest.* 108, 1307-1314)。このシステムは、M I F が動員を誘発するために C X C R 2 を介して作用するかどうかを検査するために用いられた。高脂肪食を与えられたアポ^{e - / -}マウスの頸動脈内の単球阻止は、C X C R 2、C D 7 4、又は M I F に対する抗体により抑制され (図 5 a 及び図 9)、M I F が C X C R 2 及び C D 7 4 を介してアテローム発生の動員に貢献したことを示した。24 時間の M I F、C X C R 2、及び C D 7 4 の遮断に続き、同様のパターンが腫瘍壊死因子 (T N F) - α で処理された野生型マウスの動脈中の単球阻止について観察され、急性の血管炎症に似た症状を示した (図 5 b)。T N F - α で処理された M i f^{- / -}マウスの動脈内で、C D 7 4 40 50

への抑制効果は弱められ、遮断 M I F は無効であったが、一方残存する C X C R 2 による抑制が存在し、他の誘導リガンドの関与があったことを暗に示した (図 5 c)。T N F - の刺激で観察される M I F 欠乏の効果と比較して、単球の蓄積は M i f^{-/-} L d l^{r/r} マウスの動脈内の M I F 欠乏により、より明らかに損なわれた (アテローム発生の M i f^{+/+} L d l^{r/r} マウスと比較して。 ; 図 5 d , e)。M I F の不在下においては、C X C R 2 の明らかな関与はなかった。さらに、M I F を遮断することは、効果を有さなかった (図 5 d , e)。C X C R 2 を遮断することの抑制効果は外因性の M I F を加えることによって回復された (図 5 f)。

【 0 2 3 1 】

C X C R 2 がインビボでの M I F 媒介性の単球の動員に必要とされるという考えに対する更なる証拠を提供するため、野生型又は I l 8 r^{b/-} 骨髄を用いて再構成された、キメラの野生型 M i f^{+/+} 及び M i f^{-/-} マウスの頸動脈に生体顕微鏡検査が実行された (I l 8 r^b は C X C R 2 をコードする ; 図 5 g , h)。T N F - で 4 時間処理した後、ローダミン G で標識化された白血球の蓄積は、野生型骨髄で再構成された野生型マウス中に比べて、野生型骨髄で再構成された M i f^{-/-} マウス中では減少した。骨髄の C X C R 2 の欠乏による白血球蓄積の減少は、キメラの M i f^{-/-} マウス中よりもキメラの野生型マウス中でより著しく確認された (図 5 g , h)。

【 0 2 3 2 】

実施例 7

インビボでの M I F 誘発性炎症は C X C R 2 に依存した。

アテローム発生の、又は炎症性の疾患下での M I F 媒介性の白血球の動員に関する C X C R 2 の重要性は、インビボで確認された。大動脈基部の管腔表面への単球の接着は、初期のアテローム性動脈硬化を有する M i f^{+/+} L d l^{r/r} マウスに対して初期のアテローム性動脈硬化を持つ M i f^{-/-} L d l^{r/r} マウスで減少し、これは病変マクロファージ内容物の著しい減少と類似していた (図 6 a)。精巣挙筋中の微小循環の生体顕微鏡検査は、その筋に隣接した M I F の注入が、後毛細血管細静脈中で (大部分は C D 6 8⁺ の) 白血球の接着及び遊出の著しい増加をもたらしたことを明らかにし、このことは C X C R 2 に対する抗体により抑制されたものである (図 6 b , c)。循環する単球の数値は影響されなかった。

【 0 2 3 3 】

次に、M I F 誘発性の腹膜炎のモデルが、野生型又は I l 8 r^{b/-} 骨髄で再構成されたキメラマウスで用いられた。M I F の腹腔内注射が 4 時間後、野生型骨髄を有するマウス内で好中球動員を引き起こし、このことは I l 8 r^{b/-} 骨髄を有するマウス内では妨げられた (図 6 d)。集約すると、これらの結果は M I F が C X C R 2 を介して、インビボでアテローム発生の及び炎症性の疾患下で、白血球動員を引き起こすことを明示した。

【 0 2 3 4 】

M I F を標的とすることがアテローム性動脈硬化の退行をもたらした。

本明細書中に記載されるように、M I F は C X C R 2 及び C X C R 4 の両方を介して作用した。アテローム性動脈硬化症の進行における M I F 及び C X C R 2 の役割を前提として、C X C L 1 又は C X C L 1 2 よりもむしろ M I F を標的とすることが、進行した病変及びそれらの C X C R 2⁺ 単球及び C X C R 4⁺ T 細胞の内容物を修飾するための方法として調査された。12 週間高脂肪食を与えられ、深刻なアテローム性動脈硬化症を発症したアポ^{e/-} マウスは、M I F、C X C L 1、又は C X C L 1 2 に対する中和抗体で 4 週間処理された。免疫プロット分析及び接着アッセイを用いることによって、M I F 抗体の特異性が検証された。これらのアッセイは、M I F 抗体が、C X C L 1 誘発性又は C X C L 8 誘発性のものではなく、M I F 誘発性の阻止を遮断したことを確認した (図 10)。

【 0 2 3 5 】

C X C L 1 又は C X C L 1 2 ではなく M I F の遮断が、16 週で大動脈基部においてブラック面積の減少をもたらし、そして 12 週で基準値と比較して著しい (P < 0.05) ブラックの退縮をもたらした (図 6 e , f)。加えて、C X C L 1 又は C X C L 1 2 では

なく M I F の遮断が、16 週のそれほど炎症的ではないプラーク表現型に関連付けられ、このことはマクロファージ及び C D 3 + T 細胞の両方の低い含有量によって証明される (図 6 g , h)。それゆえ、進行したアテローム性動脈硬化症の治療上の退行及び安定化が、M I F を標的とすることにより、及び C X C R 2 及び C X C R 4 の活性化を抑制することにより、成し遂げられた。いくつかの実施形態において、本発明は、それを必要とする個体のプラーク面積を縮小する方法を備え、この方法は、(i) M I F の C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 との結合、及び / 又は (i i) C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 の M I F 活性化 ; 又は (i i i) (i) 及び (i i) の任意の組合せ、を抑制する 1 以上の薬剤を前述の個体に投与する工程を備える。

【 0 2 3 6 】

実施例 8

C X C R 4 による干渉がアテローム性動脈硬化を悪化させる。

アテローム性動脈硬化における C X C R 4 の役割を研究するため、高脂肪食を与えられたアポ e - / - マウスが、浸透圧ミニポンプを介して C X C R 4 アンタゴニスト A M D 3 4 6 5 又はビヒクル (対照群) で連続的に処理され、そしてアテローム性動脈硬化のプラークの形成が 12 週間後分析される。対照群と比較して、A M D 3 4 6 5 処理は、オイルレッド O で染色された大動脈基部の切片中で (図 9 a)、そして正面 (en face) で調製された胸腹部大動脈中で (図 9 b) 病変形成を著しく悪化させる。加えて A M D 3 4 6 5 によるアポ e - / - マウスの連続的処理は 2 日以内に明白な血中の白血球増加を誘発し、それを研究期間中持続する。さらにこの連続的処理は循環好中球の相対数の拡大を誘発し、このことはさらに疾患進行中に増加する (図 9 c)。

【 0 2 3 7 】

実施例 9

多発性硬化症のマウスモデルにおける遮断 T h - 1 7 による発症

生後 8 乃至 12 週間の C 5 7 B L / 6 マウス (The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Main, USA から獲得) は、前日 (- 1 日目) に前処理され、その後、対照抗体 (グループ 1)、アンタゴニスト抗 M I F 抗体 (グループ 2)、C X C R 2 の M I F 結合及び / 又は活性化を遮断する C X C R 2 に対する抗体 (グループ 3)、C X C R 4 の M I F 結合及び / 又は活性化を遮断する C X C R 4 に対する抗体 (グループ 4)、又は、C X C R 4 の M I F 結合及び / 又は活性化を遮断する C X C R 4 に対する抗体及び C X C R 2 の M I F 結合及び / 又は活性化を遮断する C X C R 2 に対する抗体 (グループ 5) のいずれかを、毎週、5 m g / k g 腹腔内注射する。マウス (n = グループごとに 30) は、翌日 (0 日目) に、C F A 中の全部で 200 μ l の乳化した M O G 3 5 - 5 5 ペプチド (M E V G W Y R S P F S R V V H L Y R N G K ; Bachem AG 社、スイス、ブーベンドルフ) を、背中に 2 度、皮下注射することによって免疫性を与えた。ペプチド及び結核菌の最終濃度は、それぞれ、150 μ g / マウス、及び、1 m g / マウスである。P T X (400 n g ; LIST Biological Laboratories Inc.、米国カリフォルニア州カンベル) は、0 日目及び 2 日目に、腹腔内に注入される。疾患は、上記の 0 乃至 6 のスケールで、麻痺を測定することによって毎日モニタされる。平均的な最大疾患スコアが一方向 A N O V A を用いて各群で比較された。

【 0 2 3 8 】

麻痺測定が、グループ 2 のマウスとグループ 1 とで比較されることによって、E A E を処置又は予防するための、アンタゴニスト抗 M I F 抗体の有効性を測定する。グループ 5 のマウスは、E A E を処置又は予防するための、C X C R 2 及び C X C R 4 の M I F 結合及び / 又は活性化を遮断する薬剤の有効性を測定するために、グループ 1 のマウスと比較された。グループ 5 のマウスは、C X C R 2 又は C X C R 4 を個別に遮断する効果に対して、C X C R 2 及び C X C R 4 の双方の M I F 結合及び / 又は活性化を遮断する効果を測定するために、グループ 3 及び 4 と比較される。

【 0 2 3 9 】

混合 T 細胞は、免疫性を与えた後、7 - 11 日目に、流入領域リンパ節及び脾臓から作

10

20

30

40

50

られる。生存細胞 ($3.75 \times 10^6/\text{ml}$) は、様々な濃度で、(再刺激された) M O G ペプチド (アミノ酸 35 - 55) を含む、又は、含まない完全培地で、培養される。活性化細胞からの上清が 72 時間後に採取され、T N F、I F N - 、I L - 23、及び、I L - 17 が、E L I S A (BD Pharmingen社) によって測定された。高い I L - 17 及び I L - 23 のレベルは、T h - 17 細胞と、T h - 17 媒介性疾患表現型の発症を示している。M I F 遮断抗体 (グループ 2) によるマウス又は細胞培養の処理、又は、C X C R 2 及び C X C R 4 (グループ 5) 双方の M I F 結合及び / 又は活性化の遮断による、このようなサイトカインの抑制は、T h - 17 細胞の発症、及び、T h - 17 媒介性炎症性疾患 (つまり、多発性硬化症) の進行における、M I F の重要な制御的役割を示している。

【0240】

細胞内のサイトカイン染色のため、免疫性を与えたマウスからの脾臓及びリンパ節細胞は、ペプチド抗原で 24 時間、刺激され、ゴルジプラグ (GolgiPlug) (BD Pharmingen社) が最後の 5 時間に加えられるか、又は、 500 ng/ml のイオノマイシン、及び、 50 ng/ml のホルボール12-ミリスチン酸13-酢酸 (PMA; Sigma-Aldrich社) に加えて、ゴルジプラグが 5 時間加えられる。細胞染色のために、細胞は、製造業者のプロトコルに従って、Cytotfix / Cytoperm Plus Kit (BD Pharmingen社) で透過処理される。ゲート (Gated) C D 4 - 陽性 T 細胞は、細胞内の I L - 17、I L - 23、又は、細胞表面 I L 23 受容体 (I L 23 R) の存在に関して、フローサイトメトリーによって解析される。C D 4 +、I L - 17 + 二重陽性の T 細胞の存在は、疾患の進行を駆り立てる T h - 17 表現型の発症を示す。さらに、C D 4 +、I L - 17 二重陽性細胞上の I L - 23 の上方制御は、T h - 17 表現型を裏付ける証拠を提供する。C D 4 +、I L - 17 二重陽性細胞、又は、任意の白血球に、高細胞内 I L - 23 が存在していることは、T h - 17 細胞の増殖及び / 又は、維持を駆り立てる I L 23 R を裏付ける更なる証拠を提供するものである。M I F 遮断薬 (グループ 2 のマウス)、又は、C X C R 2 及び C X C R 4 (グループ 5 のマウス) の M I F 結合 / 又は活性化を遮断する薬剤で、マウスを処理することによって、上記実験に記載の如く、低レベルの I L - 17、I L - 23 R、又は、I L - 23 で定められる T h - 17 細胞の発症が抑制されることは、T h - 17 媒介性の自己免疫疾患の進行を駆り立てることにおける M I F の主要な役割を実証するものである。M I F を遮断することによって、マウスにおける T h - 17 細胞の発症及び E A E 進行が抑制されることは、(i) M I F の C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 との結合、及び / 又は、(i i) C X C R 2 及び / 又は C X C R 4 の M I F 活性化、又は、(i i i) 多発性硬化症などの T h - 17 媒介性自己免疫性疾患の処置及び / 又は予防のための、(i) 及び (i i) の 任意の組み合わせを抑制する薬剤の、有益な実用性を実証するものである。

【0241】

実施例 10

M I F ドメイン破壊剤の同定

C X C R 2 の細胞外 N 末端ドメインを覆うペプチドのライブラリが生成される。ペプチドは約 12 個のアミノ酸から約 15 個のアミノ酸の大きさにわたる。

【0242】

ペプチドライブラリは、H T S G P C R スクリーニング技術を用いて、C X C R 2 を介した M I F 媒介性シグナル伝達を抑制するためにスクリーンされる。

【0243】

M I F 媒介性シグナル伝達を抑制するペプチドは次に、C X C R 2 上の I L - 8 及び / 又は S D F - 1 媒介性シグナル伝達を抑制するためにスクリーンされる。

【0244】

C X C R 2 を介した M I F 媒介性シグナル伝達を抑制するものの、C X C R 2 を介した S D F - 1 及び I L - 8 媒介性シグナル伝達を許可するペプチドが、更に調査するために選択される。

【0245】

実施例 11

M I F 三量体形成破壊剤の同定

M I F のアミノ酸残基 3 8 - 4 4 (- 2 鎖) を備えるポリペプチドが生成される。

【 0 2 4 6 】

ポリペプチドは、H T S G P C R スクリーニング技術を用いて、C X C R 2 を介した M I F 媒介性シグナル伝達を抑制するためにスクリーンされる。

【 0 2 4 7 】

M I F 媒介性シグナル伝達を抑制するポリペプチドは次に、C X C R 2 上の I 1 - 8 及び/又は S D F - 1 媒介性シグナル伝達を抑制するためにスクリーンされる。

【 0 2 4 8 】

C X C R 2 を介した M I F 媒介性シグナル伝達を抑制するものの、C X C R 2 を介した S D F - 1 及び I L - 8 媒介性シグナル伝達を許可するペプチドが、更に調査するために選択される。

【 0 2 4 9 】

実施例 1 2

ヒト臨床試験

研究目的：本研究の主要な目的は、ホモ接合性家族性高コレステロール血症 (H o F H) を有する個体において、ペプチド 2 (C - K E Y F Y T S G K C S N P A V V F V T R - C) (P 2 ; 2 0 m g 、 4 0 m g 、 8 0 m g) の有効性を査定することである。

【 0 2 5 0 】

方法

研究デザイン：これは、H o F H を用いた、1 8 歳以上の男女における、多目的な、非盲検の、定型的な配合 P 2 の単一群強制的滴定研究 (single-group forced titration study) である。初期スクリーンの後、資格を満たした個体は、4 週間のスクリーニング期間に突入する。このスクリーニング期間は、2 度の来診 (- 4 週目及び - 1 週目) からなり、この期間中、すべての高脂血症治療薬が中断されるとともに (胆汁酸捕捉剤及びコレステロール吸収抑制剤を除く) 、治療のための生活習慣改善カウンセリング (therapeutic lifestyle change counseling) (T L C) が、全米コレステロール教育プログラム (N C E P) の成人治療委員会 (Adult Treatment Panel) (A T P - I I I) の臨床ガイドライン又は同等物にしたがって、開始される。すでにアフェレシス療法にある個体は、研究期間中に一貫した状態及び間隔を維持する処置計画を継続する。3 度目の来診で (0 週目) 、ベースラインの効果 / 安全値が測定され、個体は 6 週間 1 日 1 回 (Q D) 、P 2 (2 0 m g) の初期用量で処置が開始される。6 週目 (4 度目の来診) で、用量は 6 週間 1 日 1 回、P 2 (4 0 m g) に設定され、個体が以前の用量を許容する場合、1 2 週目 (5 度目の来診) で、用量は再び 6 週間 1 日 1 回、P 2 (8 0 m g) に設定される。最後の来診 (6 度目の来診) は 1 8 週目になる。研究のための来診は、適用可能な場合には、来診手順の直前に起こる個体のアフェレシス処置に合わせられている。アフェレシス療法間の間隔が研究用の薬物療法期間と調整しにくい場合、次に予定されているアフェレシス療法まで、及び、その間隔が元々の時間の長さに戻るまで、個体は同じ薬物療法期間に置かれる。効果測定は、前回のアフェレシス療法の少なくとも 2 週間後、及び、研究来診の日に予定されるアフェレシス療法直前に行われる。

【 0 2 5 1 】

参加者数：3 0 人から 5 0 人。

【 0 2 5 2 】

診断及び主な選定基準：世界保健機関のガイドラインによる家族性高コレステロール血症 (F H) ホモ接合体の明確な証拠を有する 1 8 歳以上の男女であるとともに、2 1 歳以上の個体については空腹時血清トリグリセリド (T G) が 4 0 0 m g / d L (4.52 mmol / L) 以下で、1 8 ~ 2 0 歳までの個体については 2 0 0 m g / d L (2.26 mmol / L) である個体が、研究に参加するために審査される。

【 0 2 5 3 】

研究処置：6 週間 3 回の非盲検の処置期間中、個体は朝食直後、食事と共に 1 日 1 回錠

10

20

30

40

50

剤を1錠摂取する。下方滴定 (down titration) は許可されない。個体が容量の増加を許容できない場合、研究を中断する。

【0254】

効果測定：主要な終点は、ベースラインから各々の処置期間（即ち、6週目、12週目、及び18週目）の終わりまでの、HDL-C及びLDL-Cにおける平均的なパーセント変化である。HDL-C及びLDL-Cを含む脂質プロファイルは、それぞれの研究来診において得られる。

【0255】

安全性評価：安全性は、日常的な臨床研究所の評価（-4週目、0週目、及び18週目での血液学及び検尿パネル、及び6週目並びに12週目での化学も同様に）を用いて査定される。バイタルサインは毎回の来診でモニタされ、身体検査及び心電図（EGG）は0週目及び18週目に行われる。尿妊娠検査（Urine pregnancy testing）は、-1週目を除いた毎回の来診で実行される。個体は0週目から18週目まで有害イベント（AE）をモニタされる。18週目の安全性査定は、これが起こるのであれば初期の終結で達成される。

10

【0256】

統計的な方法：主な有効性終点は、ベースラインから各々の処置期間（即ち、6週目、12週目、及び18週目）の終わりまでの、HDL-C及びLDL-Cにおけるパーセント変化である。主な有効性分析個体群（The primary efficacy analysis population）は、完全分析セット（the full analysis set）（FAS）であり、完全分析セットは研究薬を少なくとも1用量受けた全ての固体を含み、各々の分析期間でベースライン及び少なくとも1つの妥当なポストベースライン（post-baseline）測定を有した。

20

【0257】

主な有効性終点は、パーセント（又は名目上の）変化のサンプルの平均値、それらの95%の信頼区間（CI）、1-サンプル t-検定統計量、及び対応するp-値の算出を介して分析される。異なる用量レベル間の増加性処置の差異もまた測定され、95%のCIが得られる。仮定試験は、複数回繰り返された検定全体において第一種の過誤の割合が5%（an overall family-wise type I error rate of 5%）（即ち、 $p = 0.05$ の有意性レベル）である、両側検定である。ホックベルグの手順（Hochberg's procedure）は、多重比較に関する複数回繰り返された検定における過誤の割合（the family-wise error rate）を制御するために使用される。

30

【0258】

実施例13

腹部大動脈瘤（AAA）の処置のための動物モデル

動物モデルは、以下の様に用意される。生体の雄ラットは、2時間、エラスターゼを注入される。組織学的解析が、注入後12-24時間に行われることによって、断片化したエラスチン及び破壊されたエラスチンが存在することを確認する。超音波は、大動脈拡大領域を同定及びモニタするために、日々行われる。

【0259】

エラスターゼの投与後2週間、ラットは、ペプチド2（P2；C-KEYFYTSGBKCSNPAAVVFTVTR-C）を投与される。P2の初回投与は、0.5mg/時間の速度で注入される。注入毒性が存在しない場合、0.5mg/時間の増加注入速度は、30分ごとに、最大で2.0mg/時間まで増える。その後の各週、P2は、1.0mg/時間の速度で注入される。注入毒性が存在しない場合、1.0mg/時間の増加速度は、30分間隔で、最大で4.0mg/時間まで増える。

40

【0260】

有効性評価：主な終点は、ベースラインから3週目、6週目、及び、12週目までの、AAAの大きさ（すなわち、大動脈直径）の平均的なパーセント変化である。

【0261】

例14

50

腹部大動脈瘤（ＡＡＡ）を処置するためのヒト臨床試験

研究目的：本研究の主要な目的は、初期のＡＡＡを有する固体用いて、個体のペプチド 2（P 2；C - K E Y F Y T S G K C S N P A V V F V T R - C）の有効性を査定することである。

【 0 2 6 2 】

方法

研究デザイン：これは、初期ＡＡＡを用いた、１８歳以上の男女における、多目的な、非盲検の、P 2の単独群研究である。初期ＡＡＡの存在は、連続断層像を用いて確認される。０週目にベースラインの効果／安全性が測定され、個体はP 2の初回投与による処置を開始される。非検体は、１２週間、週に一度、P 2を投与される。

10

【 0 2 6 3 】

参加者数：３０人から５０人。

【 0 2 6 4 】

研究処置：P 2の初回投与は、５０mg／時間の速度で被検体に注入される。注入毒性が存在しない場合、５０mg／時間の増加注入速度は、３０分ごとに、最大で４００mg／時間まで増える。その後の各週、P 2は１００mg／時間の速度で注入される。注入毒性が存在しない場合、１００mg／時間の増加速度は、３０分間隔で、最大で４００mg／時間まで増える。

【 0 2 6 5 】

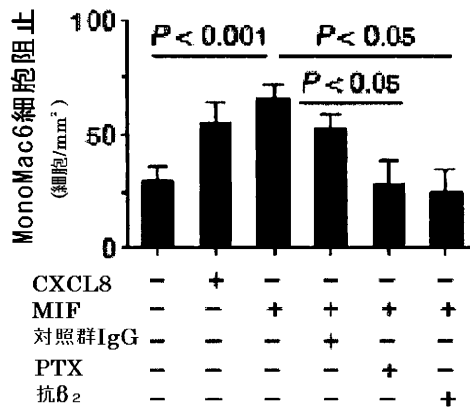
有効性評価：主な終点は、ベースラインから３週目、６週目、及び、１２週目までの、ＡＡＡの大きさ（すなわち、大動脈直径）の平均的なパーセント変化である。

20

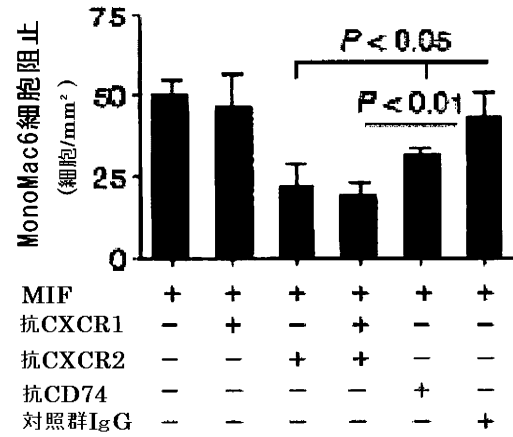
【 0 2 6 6 】

本発明の好適な実施形態が本明細書中に示され、記載される一方で、そのような実施形態がほんの一例にすぎないことは、当業者にとって自明のことである。多くの変更、変化、代用形態は、本発明を逸脱することなく当業者には思い当たることである。本明細書に記載の本発明の実施形態に対する様々な代替物は、本発明を実施する際に使用可能であることを理解されたい。以下の特許請求の範囲は本発明の範囲を定義するとともに、特許請求の範囲及び同等物の範囲内の方法及び構造はそれによって包含されるものであることが意図されている。

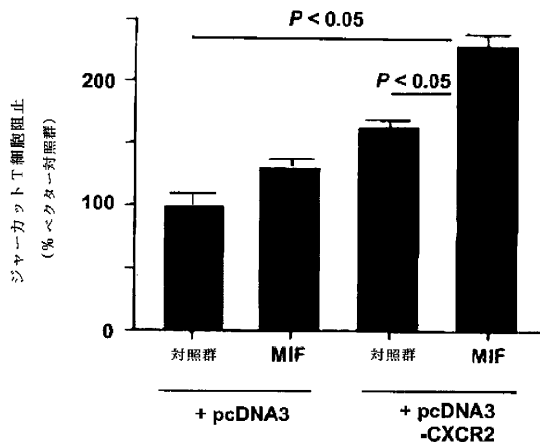
【図 1 c】



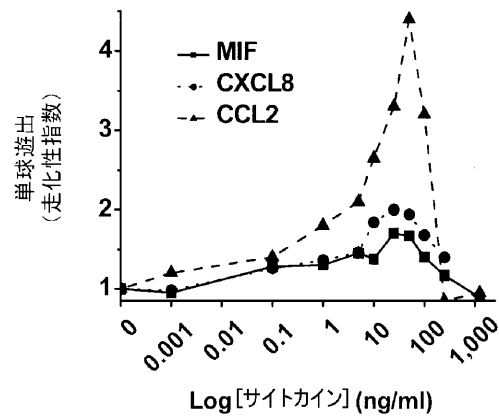
【図 1 d】



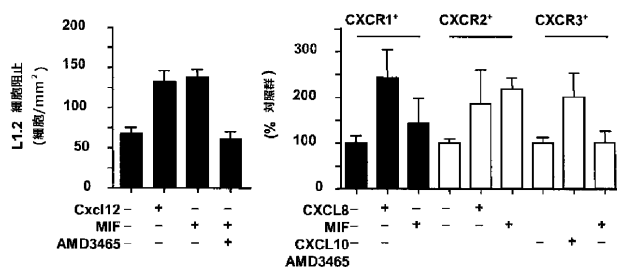
【図 1 g】



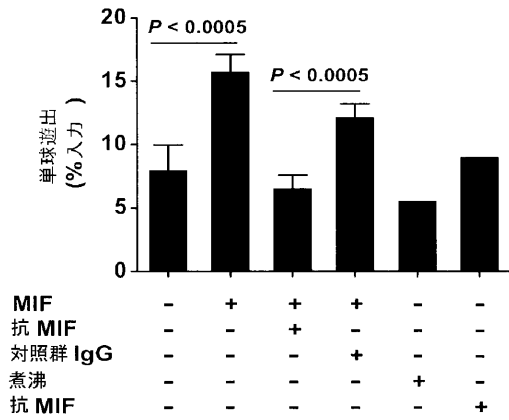
【図 2 a】



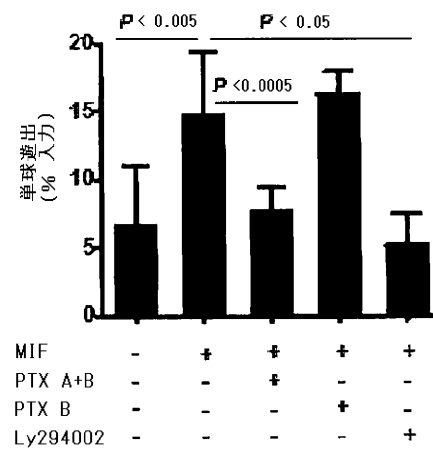
【図 1 h】



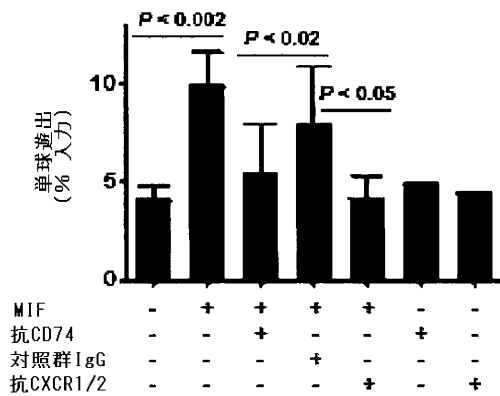
【図 2 b】



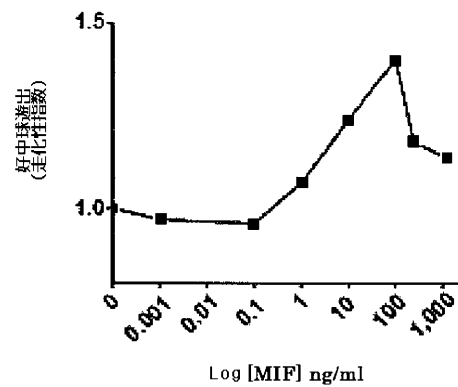
【図 2 d】



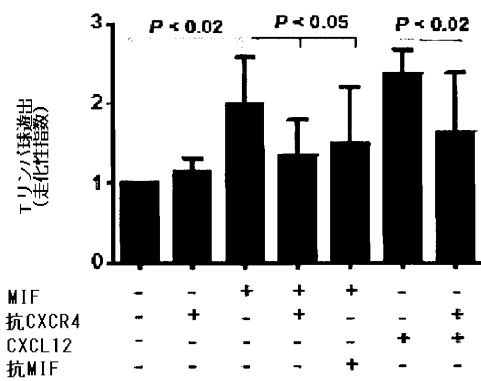
【図 2 e】



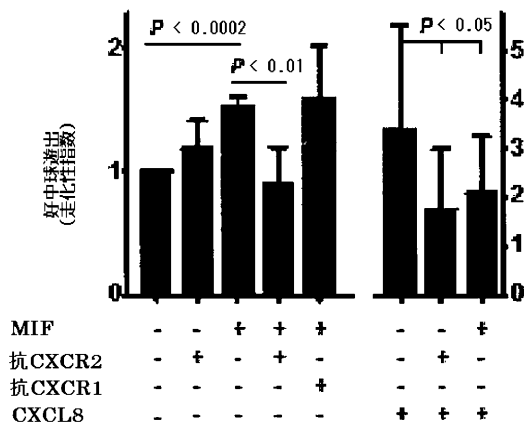
【図 2 g】



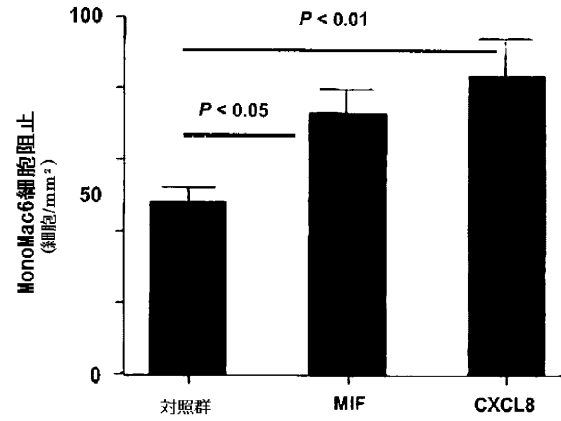
【図 2 f】



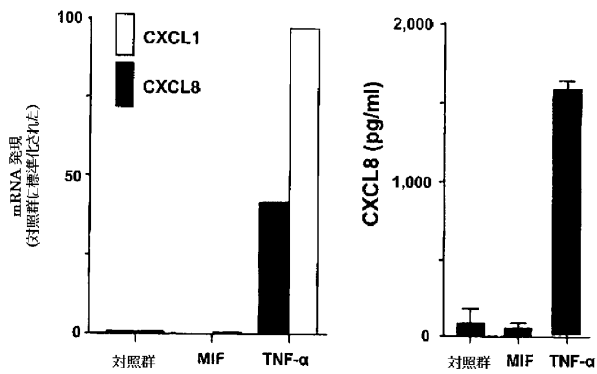
【図2h】



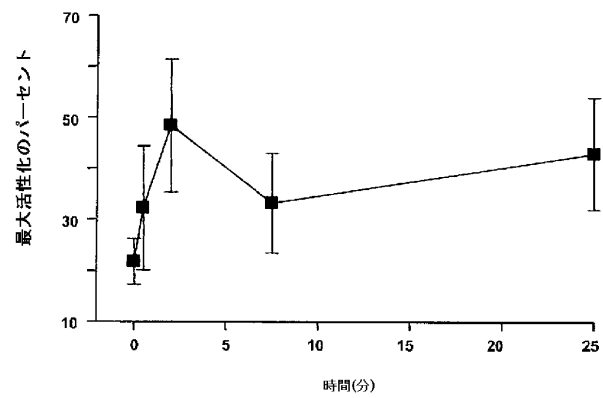
【図3b】



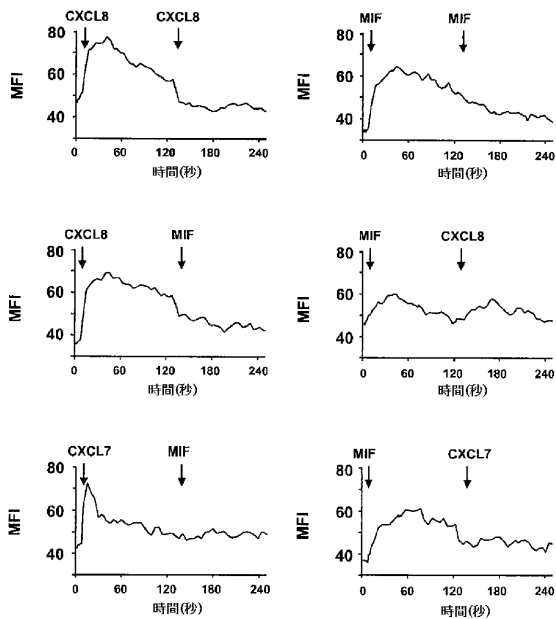
【図3a】



【図3d】



【図3f】



【図11】

MIFのアミノ酸配列

配列 ID No. 1

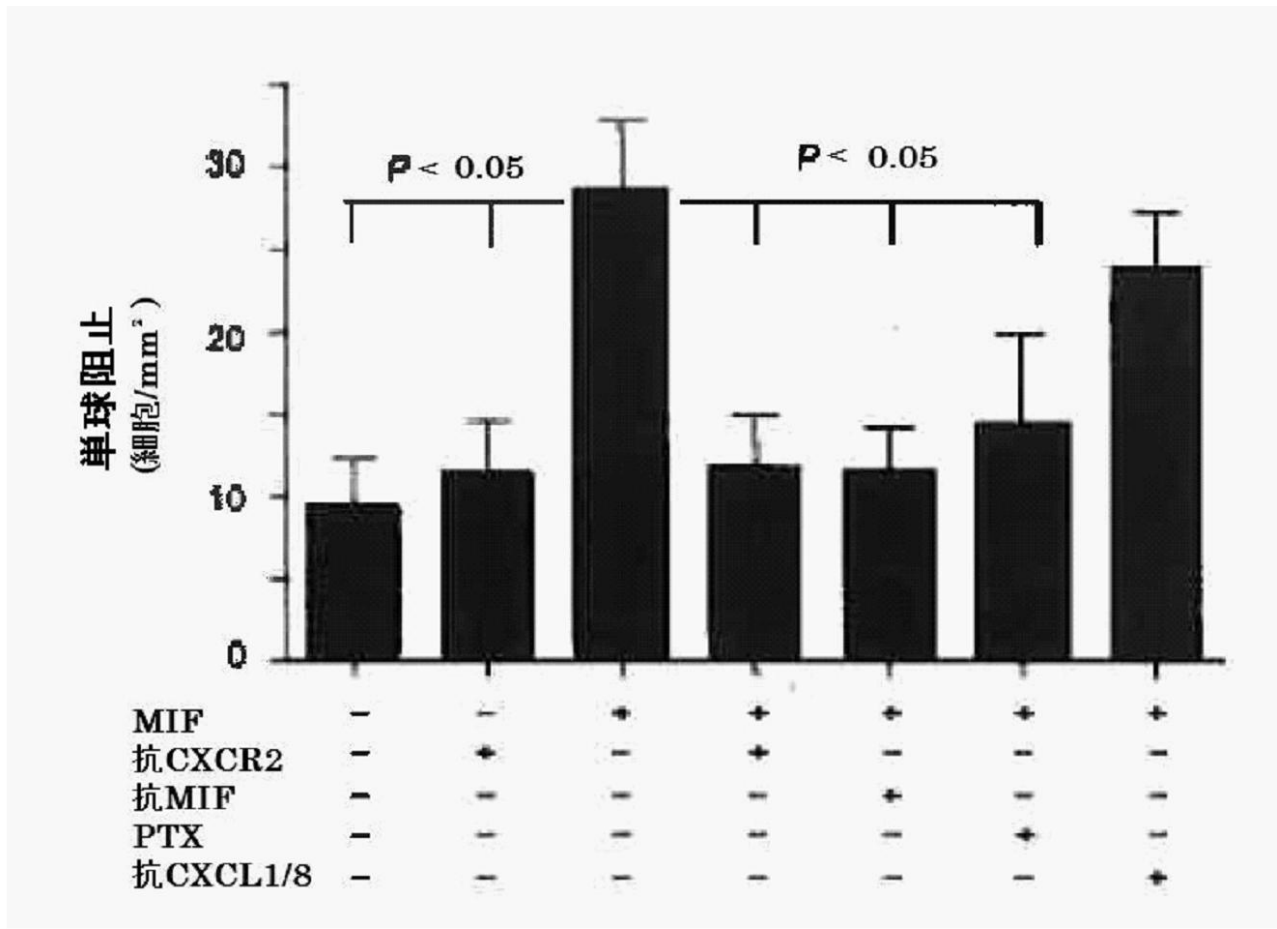
1 10 20 30 40
 * * * * *
 MPMFIVNTNVPRASVPDGF~~LS~~ELTQQLAQATGKPPQYIAV
 偽のELRモチーフ

50 60 70 80
 * * * * *
 HVVPDQLMAFGGSSEPCALCSLHSGIGGAQNRSYSKLL
 N-ループモチーフ

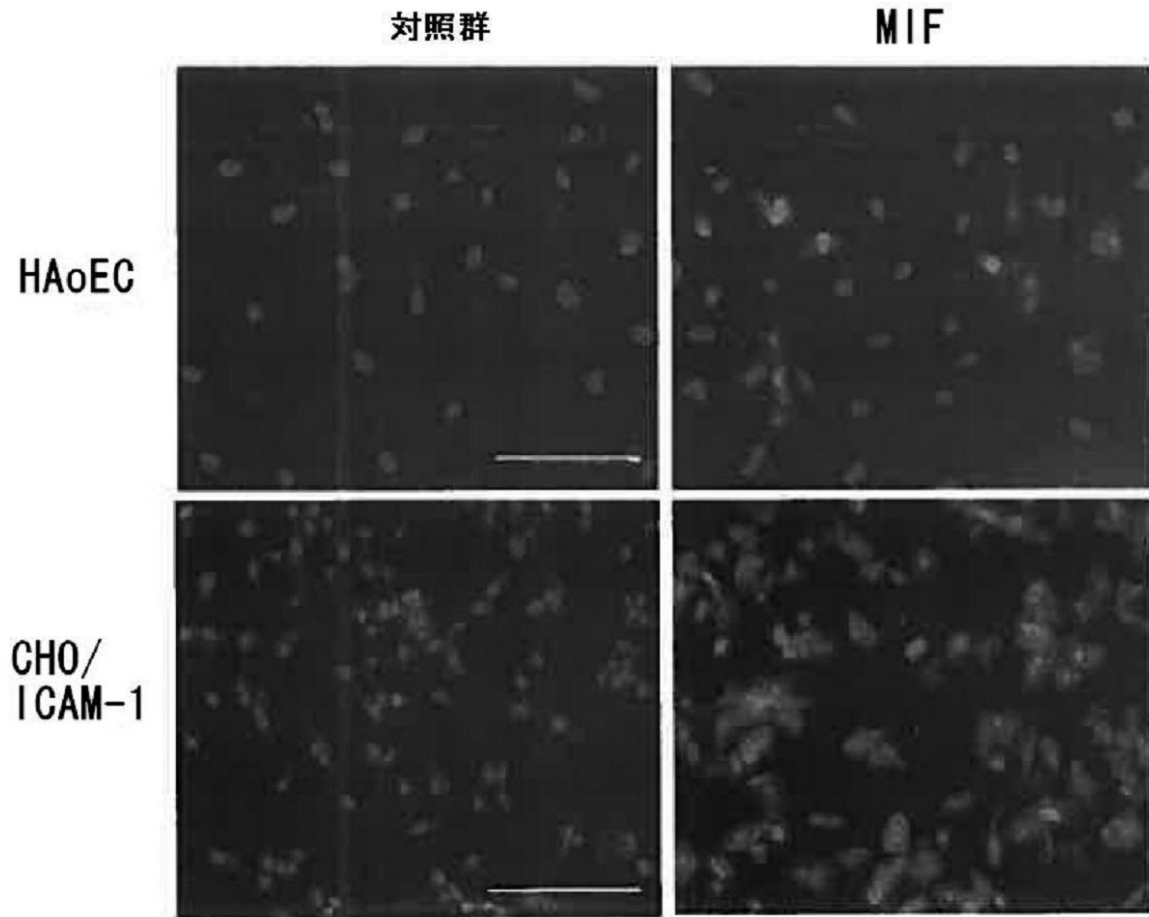
90 100 110
 * * *
 CGLLAERLRISPDRVYINYYDMNAANVGWNNSTFAL

*偽のELRモチーフは一本の下線で示される。
 ** N-ループモチーフは短い斜線下線で示される。

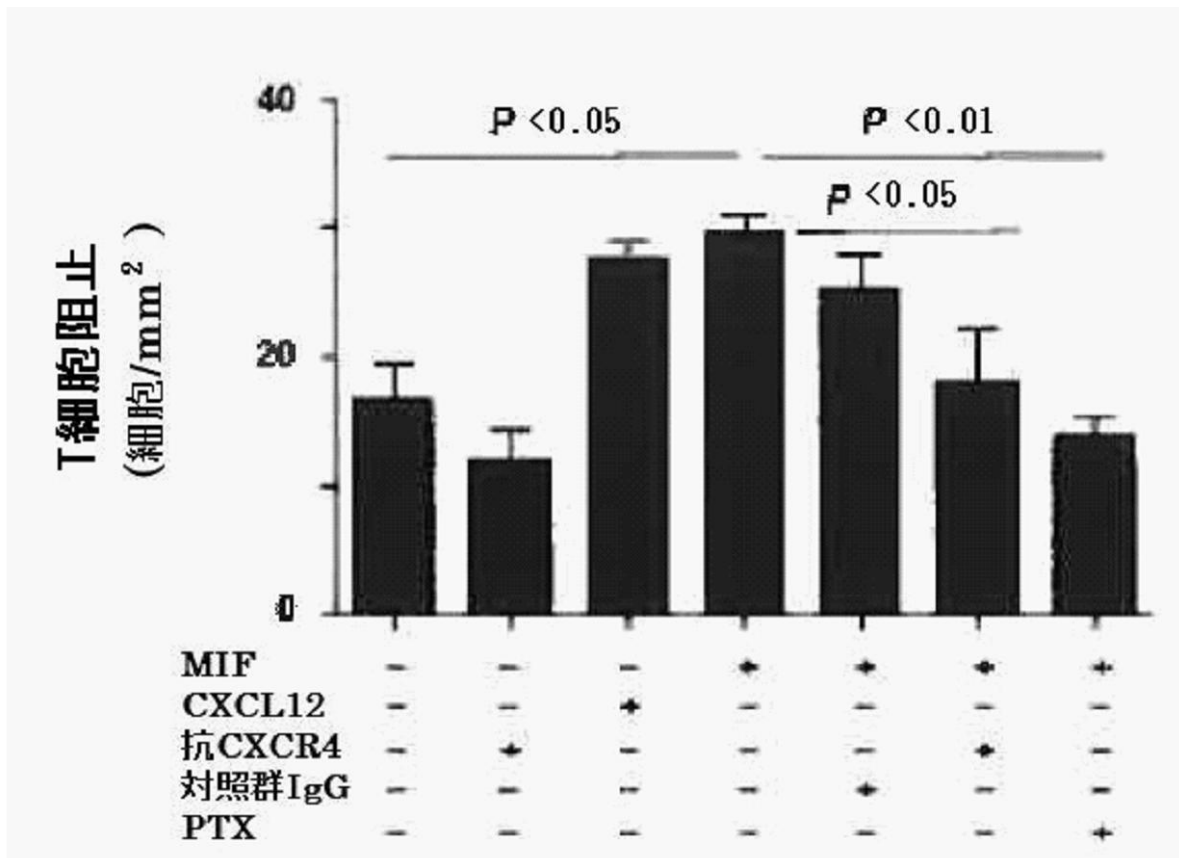
【図 1 a】



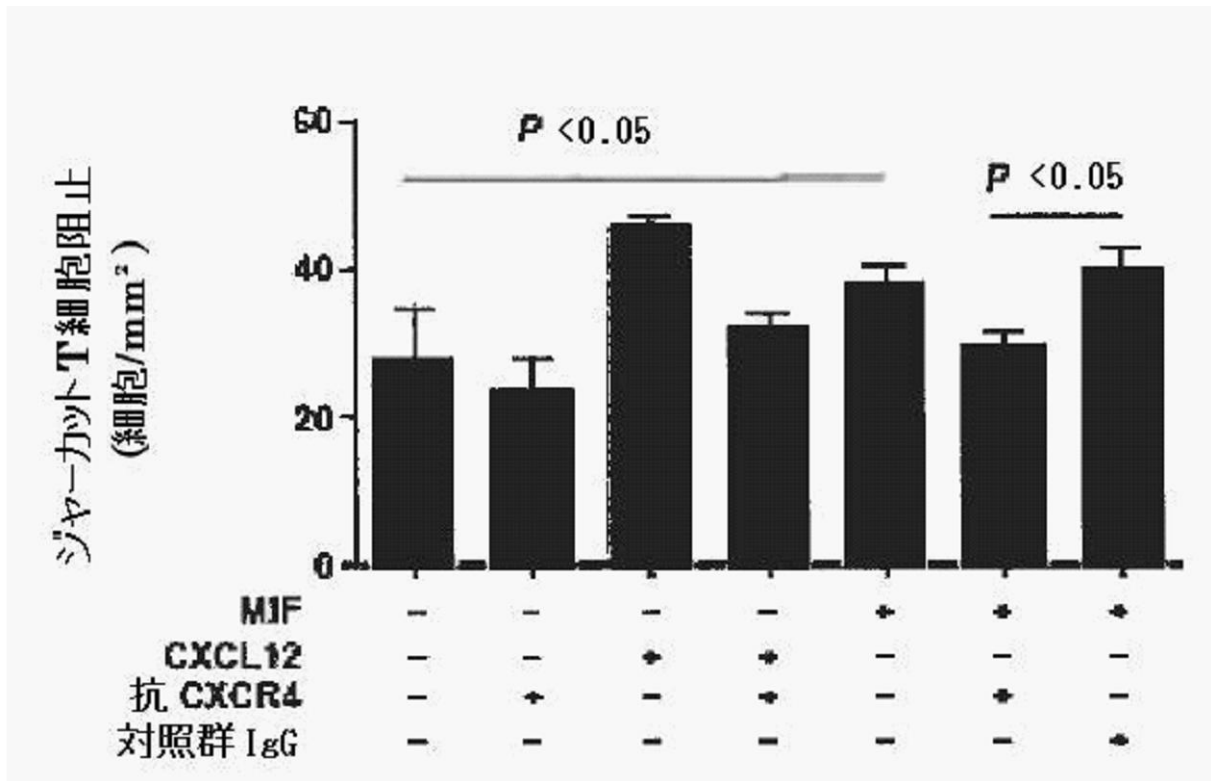
【図 1 b】



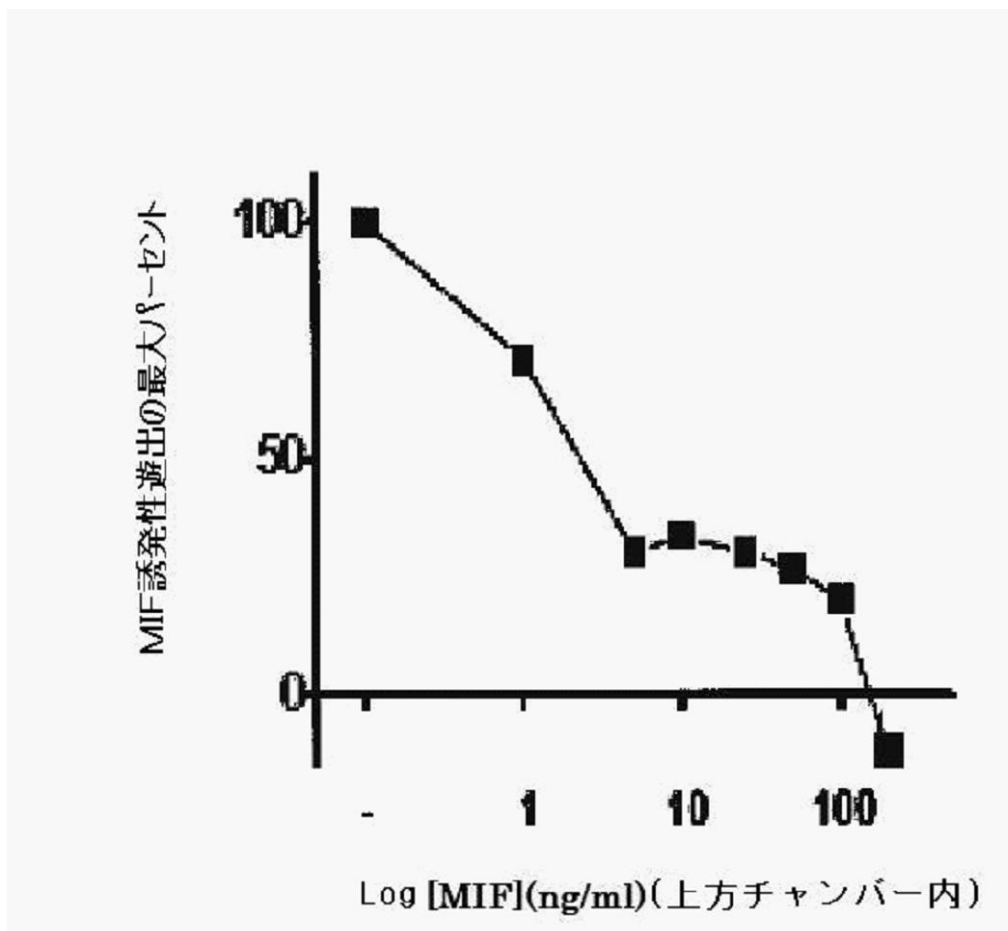
【図 1 e】



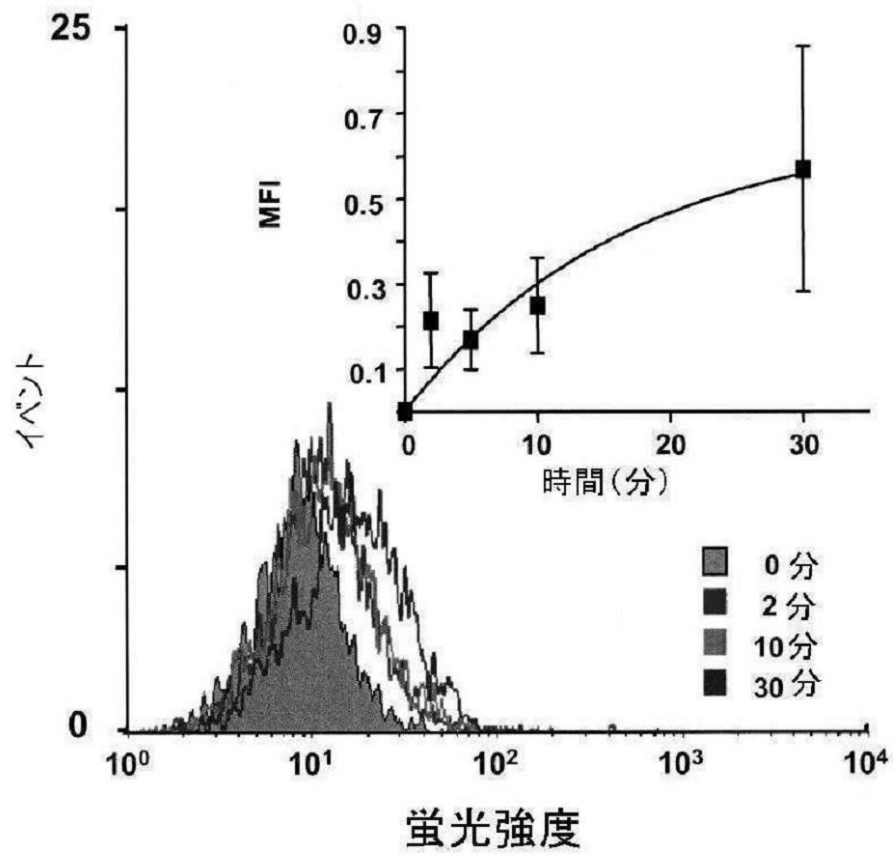
【図 1 f】



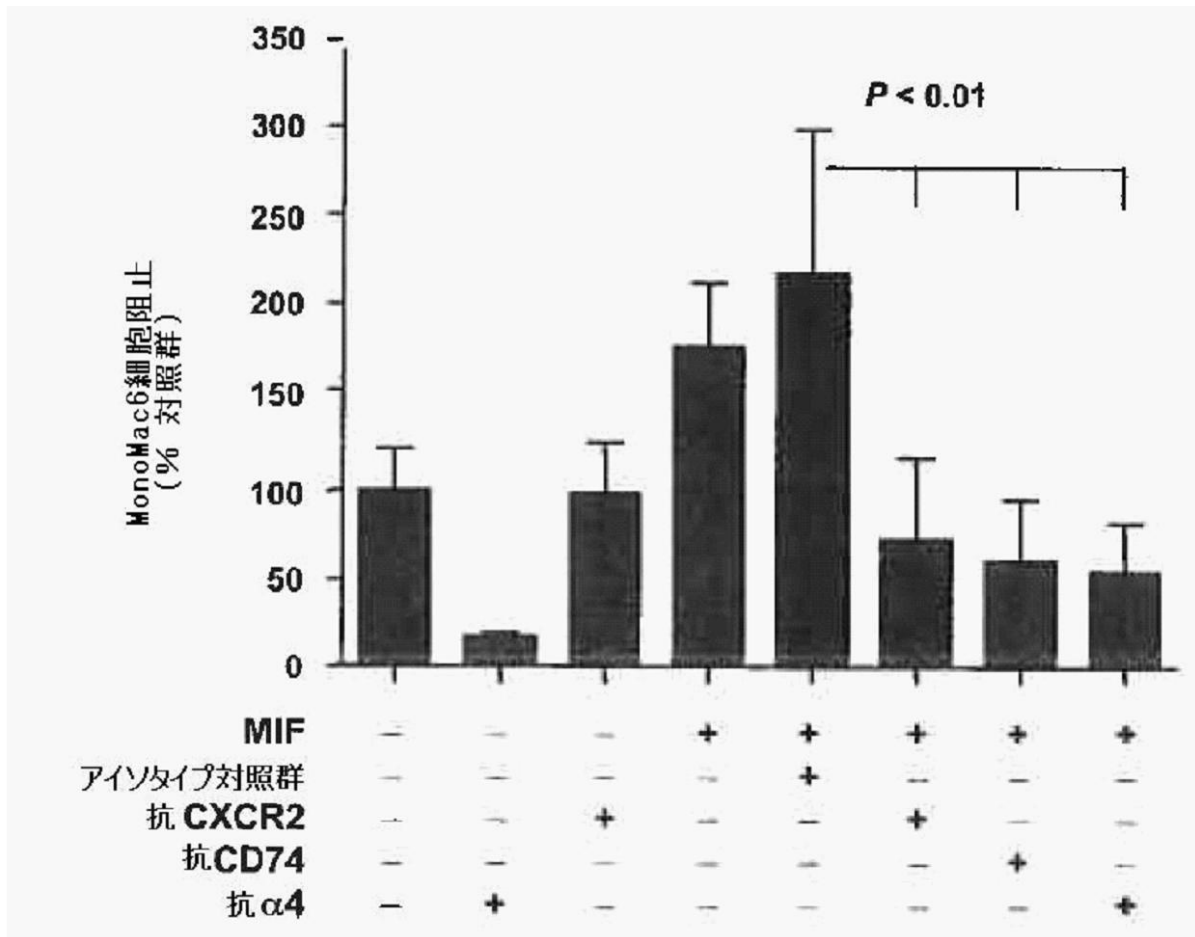
【図 2 c】



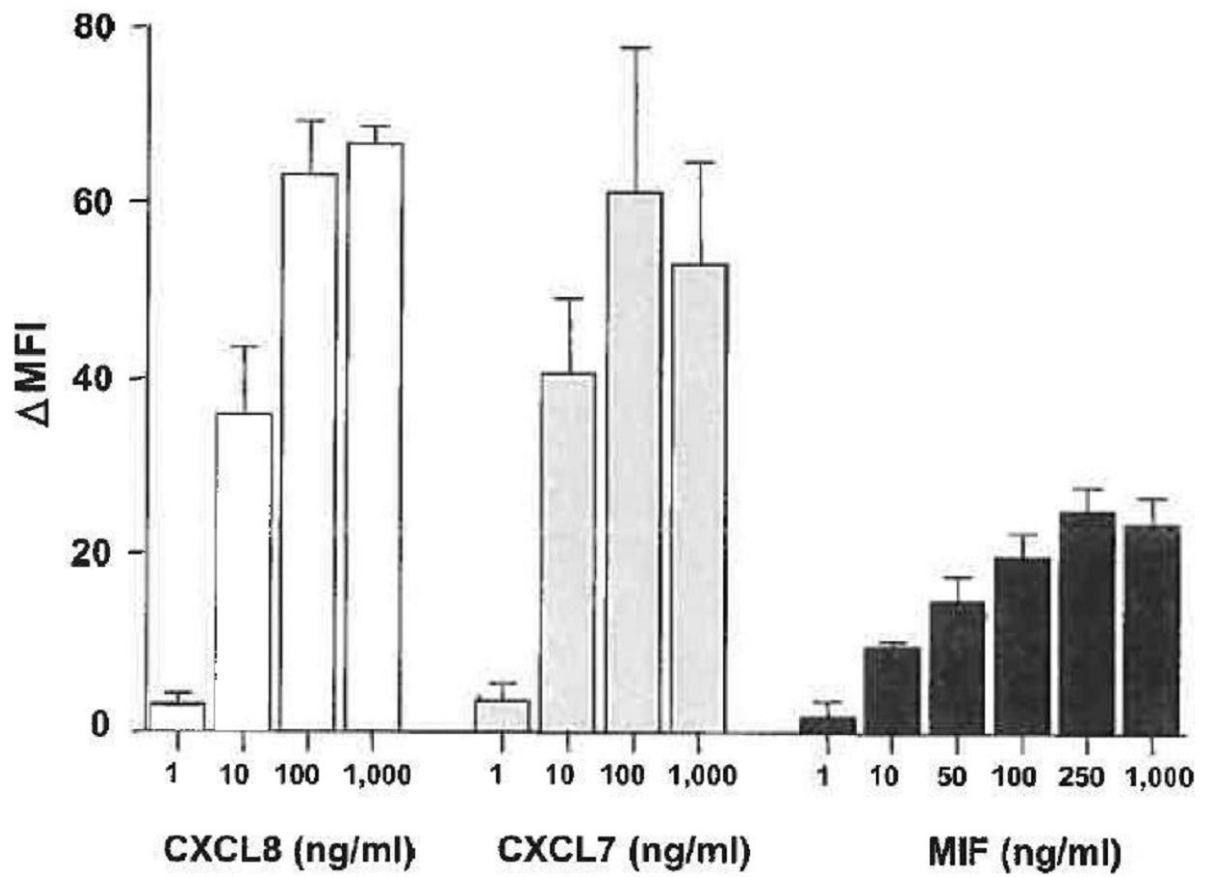
【図 3 c】



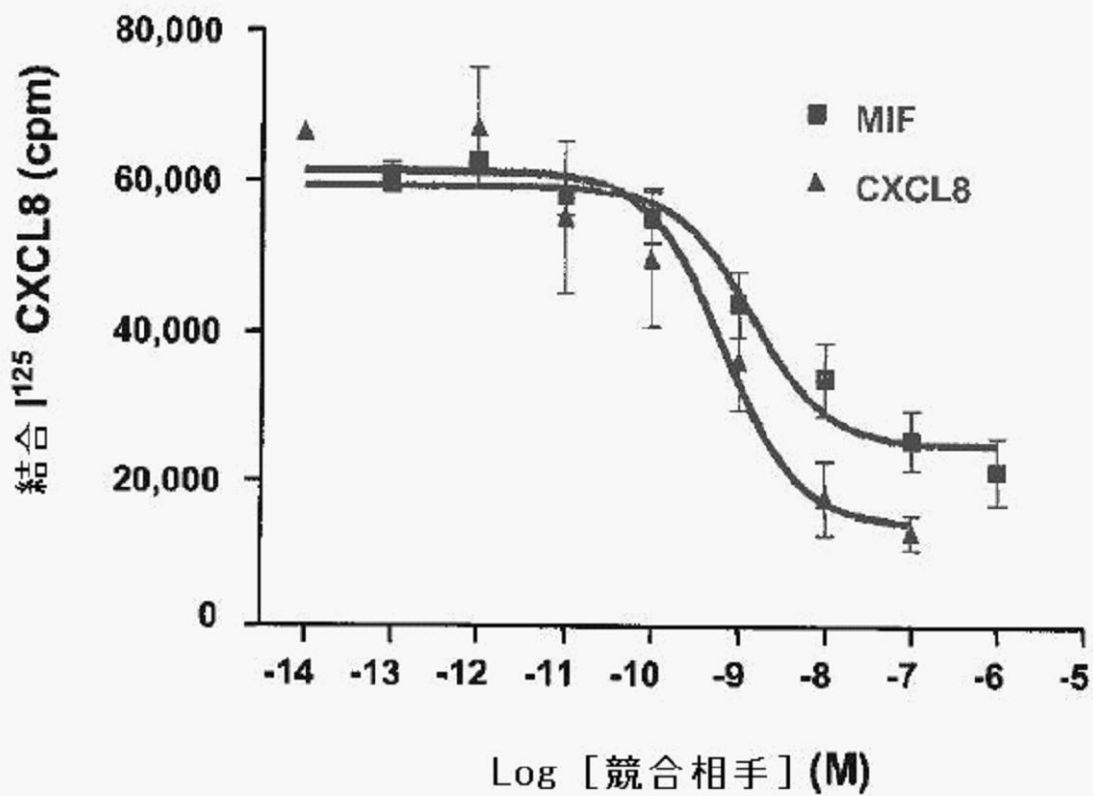
【図 3 e】



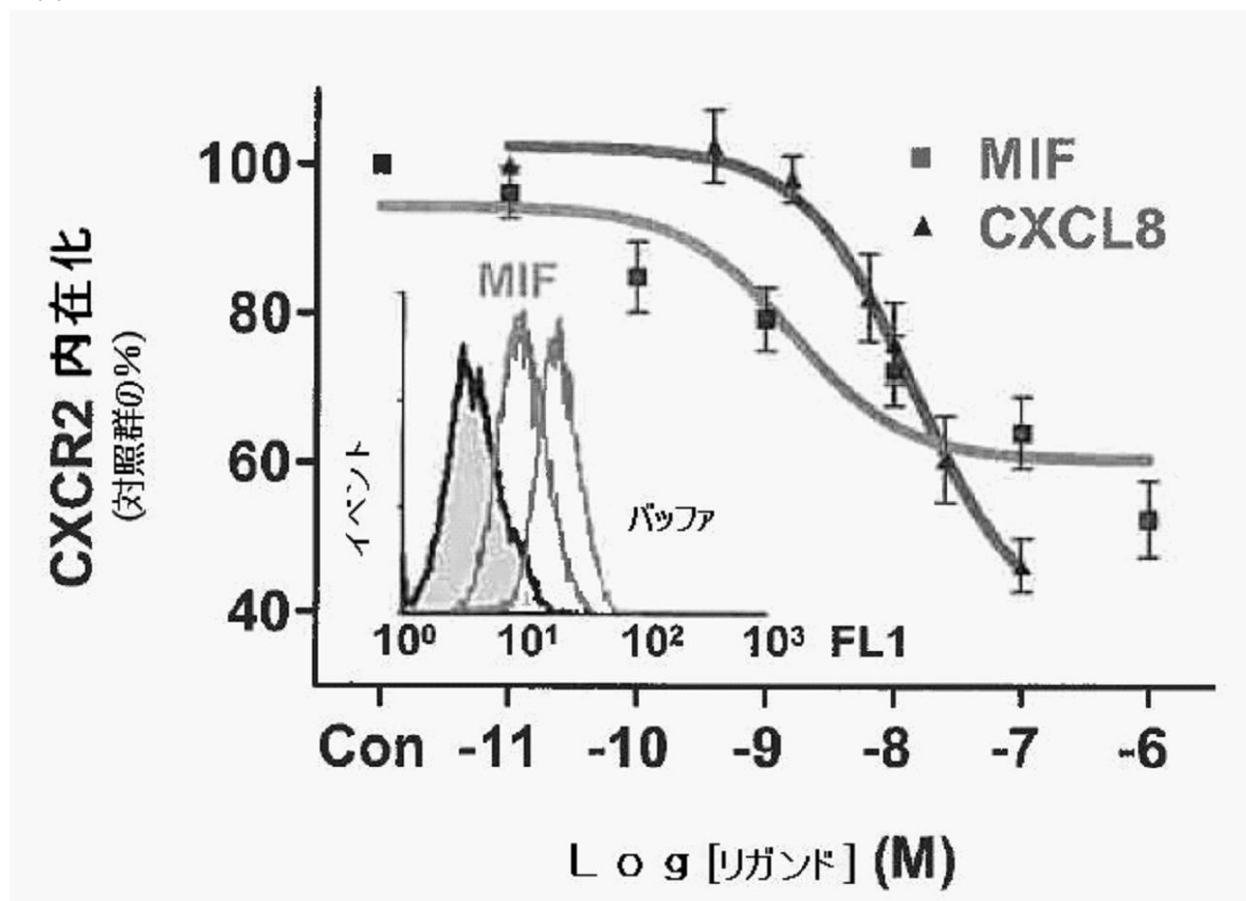
【図 3 g】



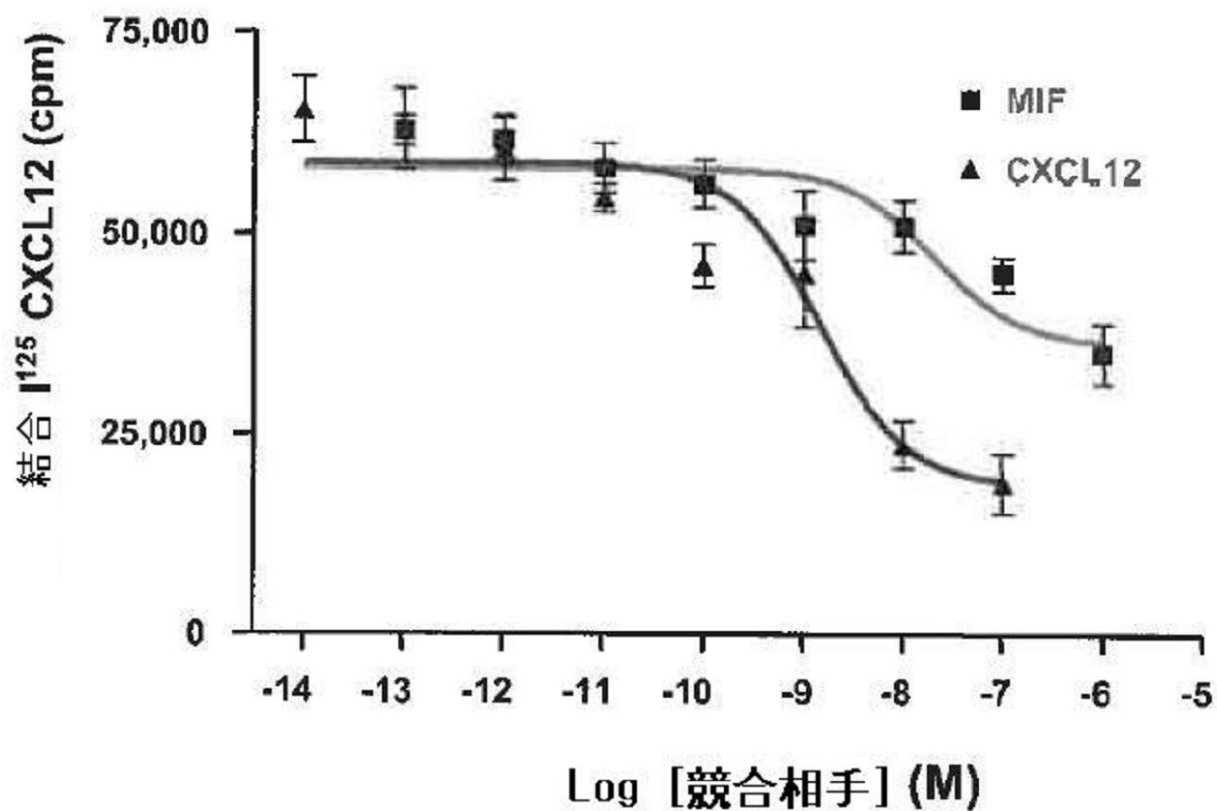
【図 4 a】



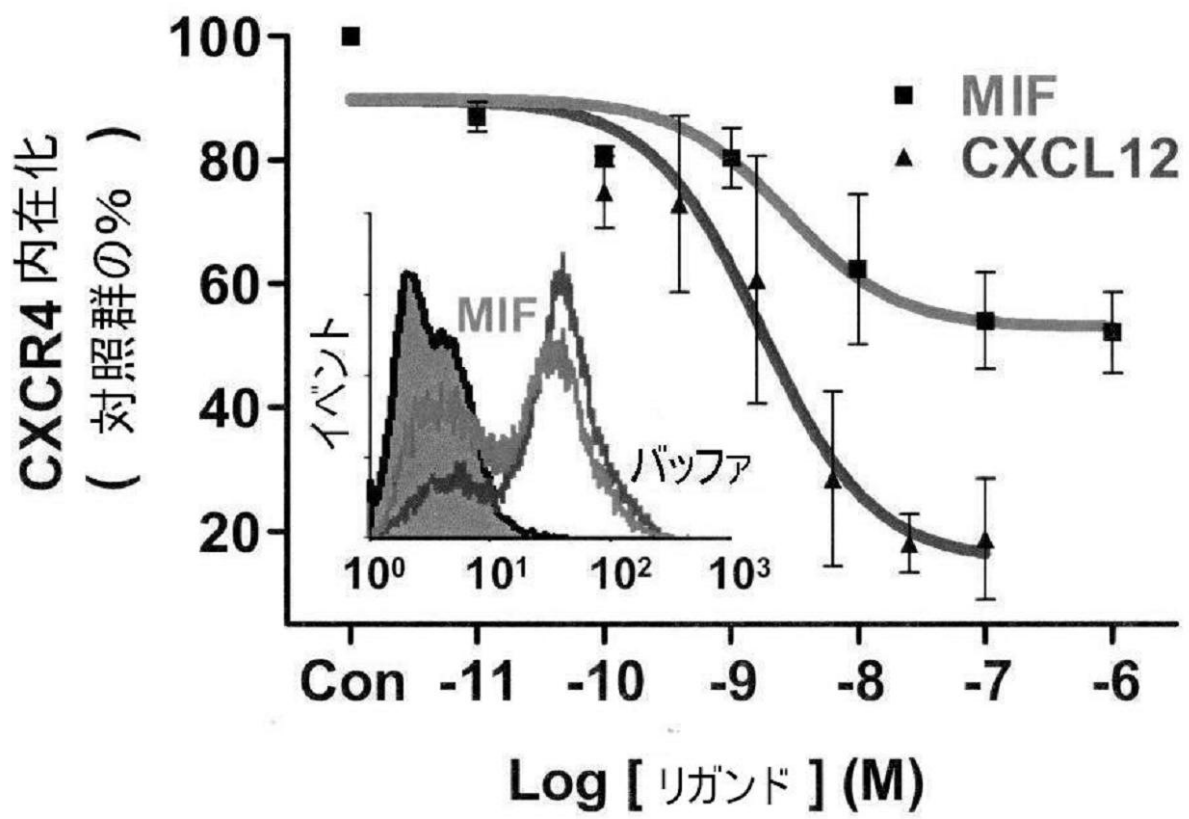
【図 4 b】



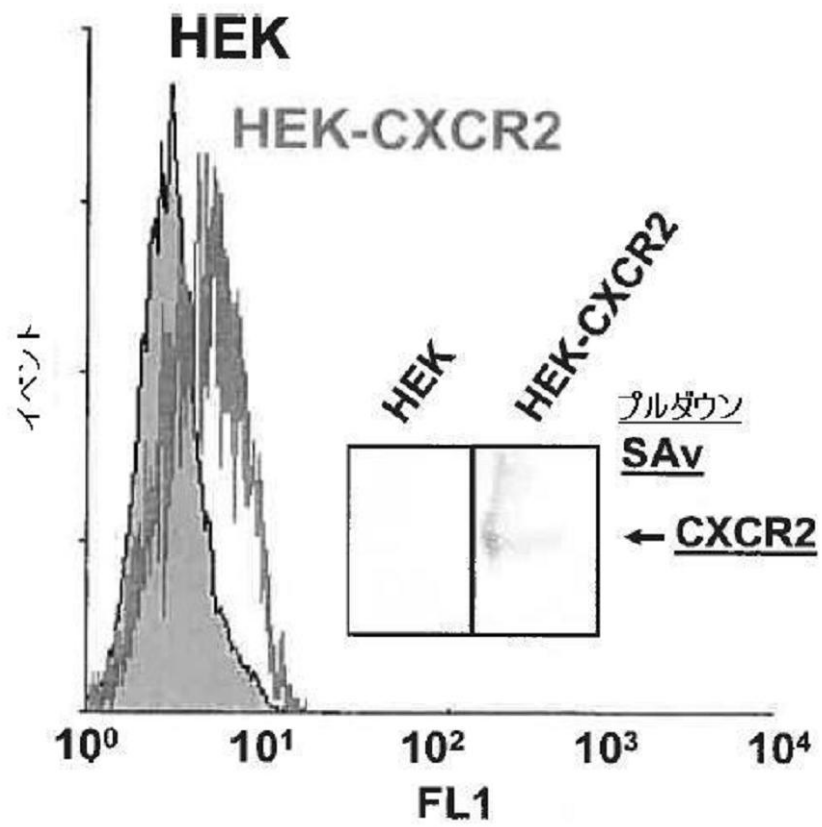
【図 4 c】



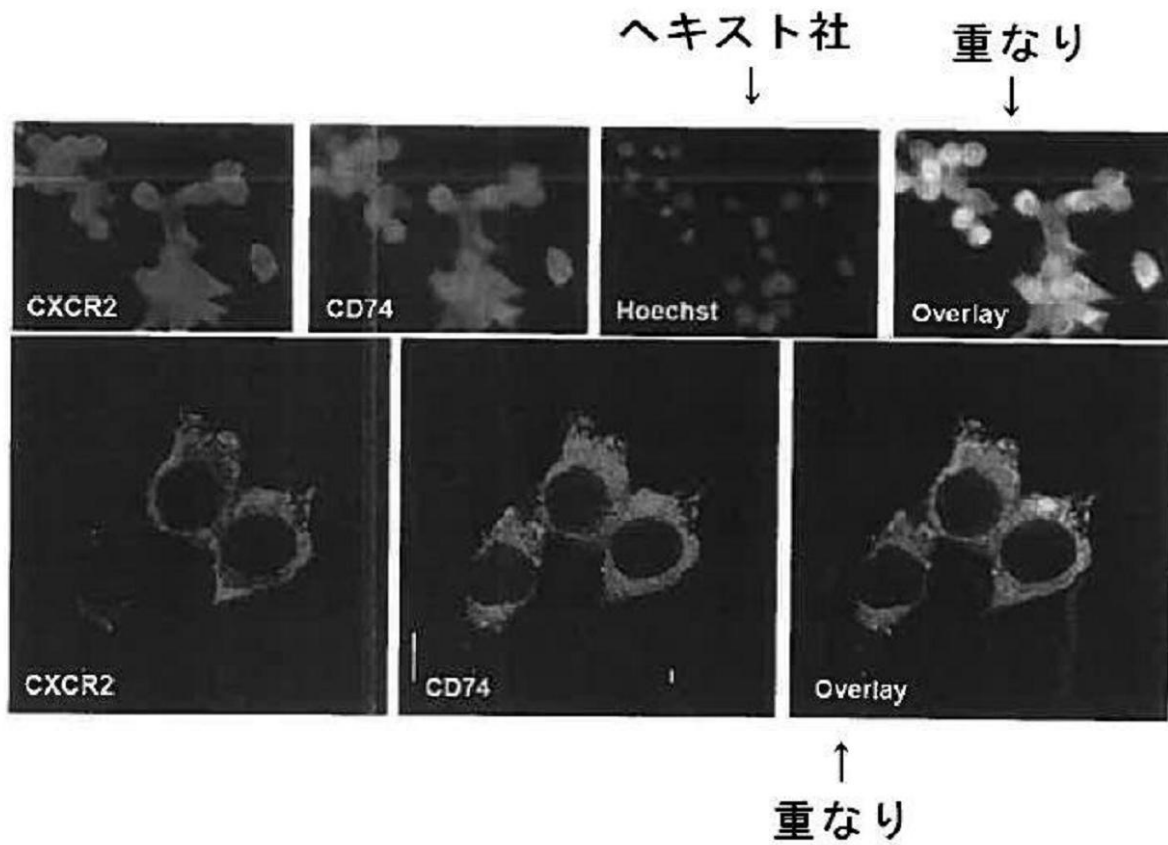
【 図 4 d 】



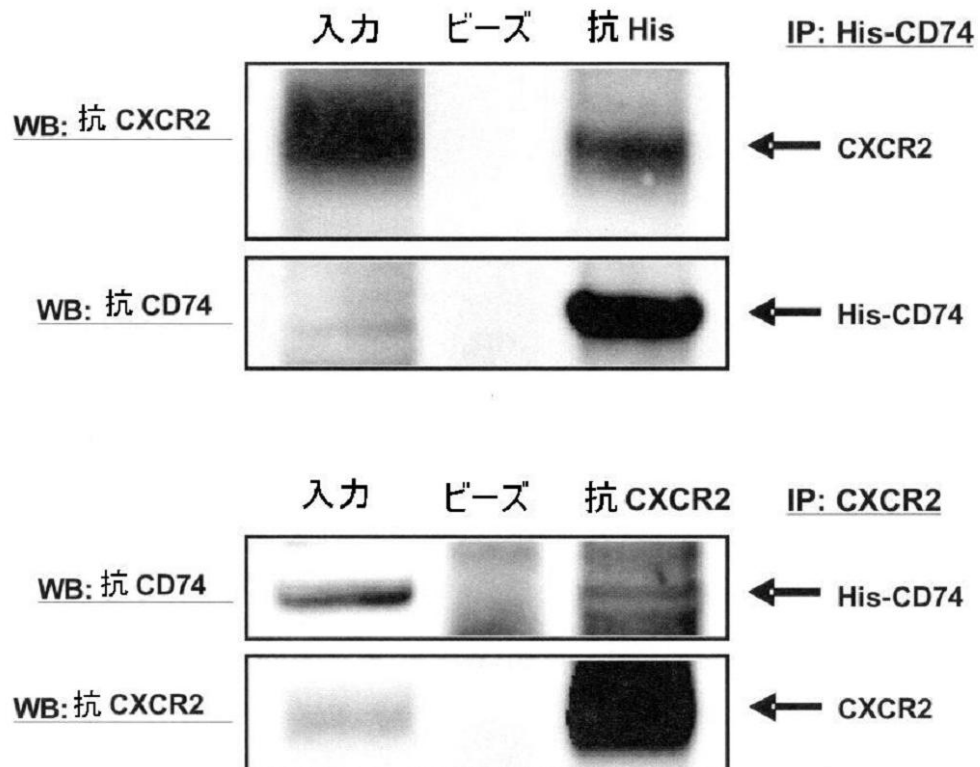
【図 4 e】



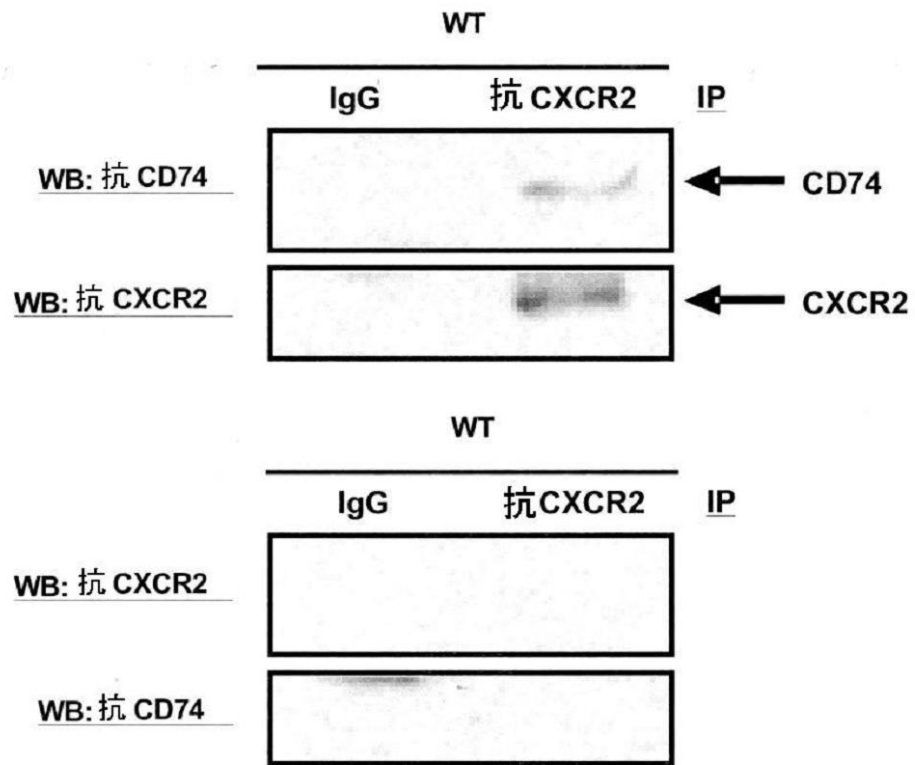
【 図 4 f 】



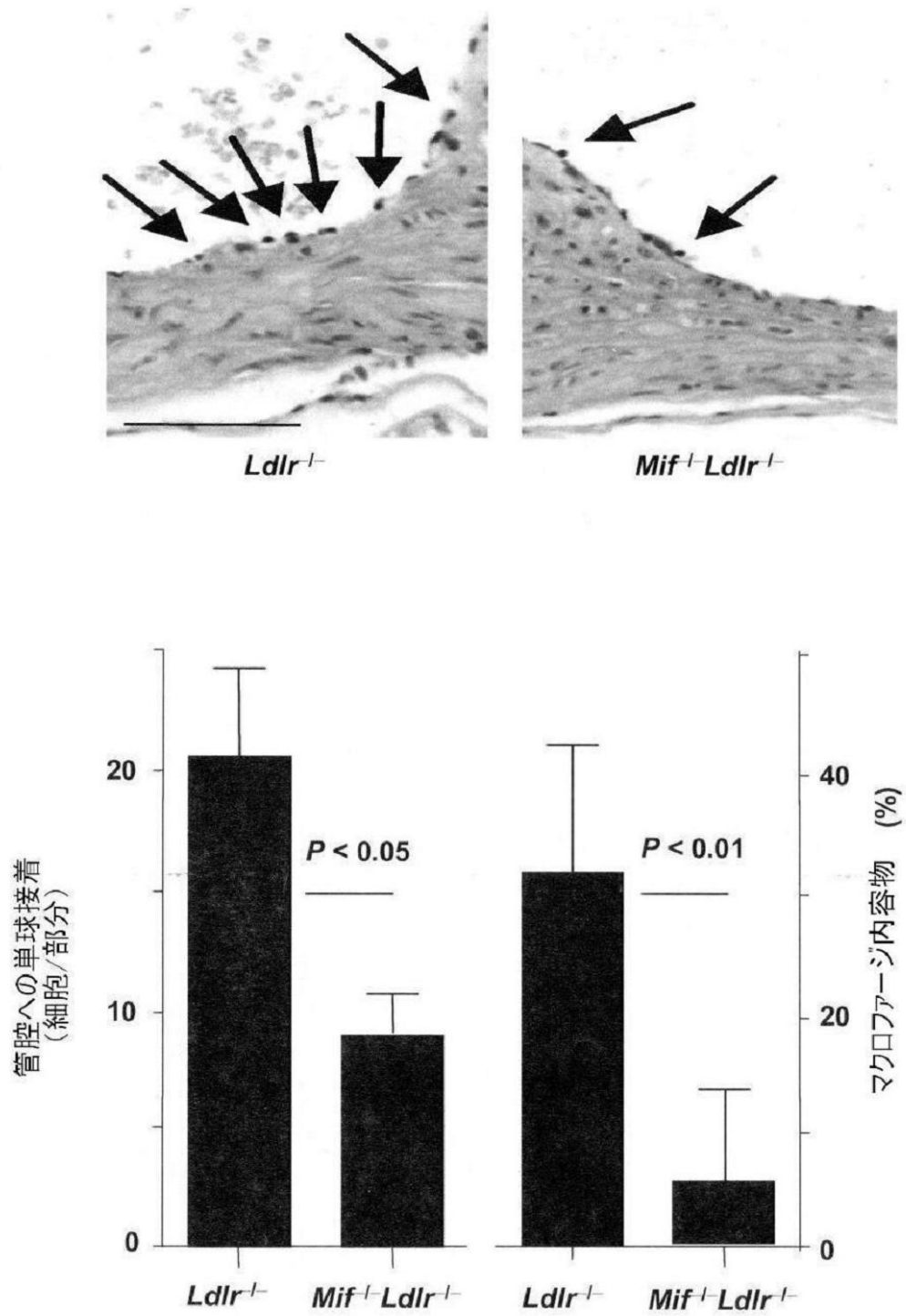
【 図 4 g 】



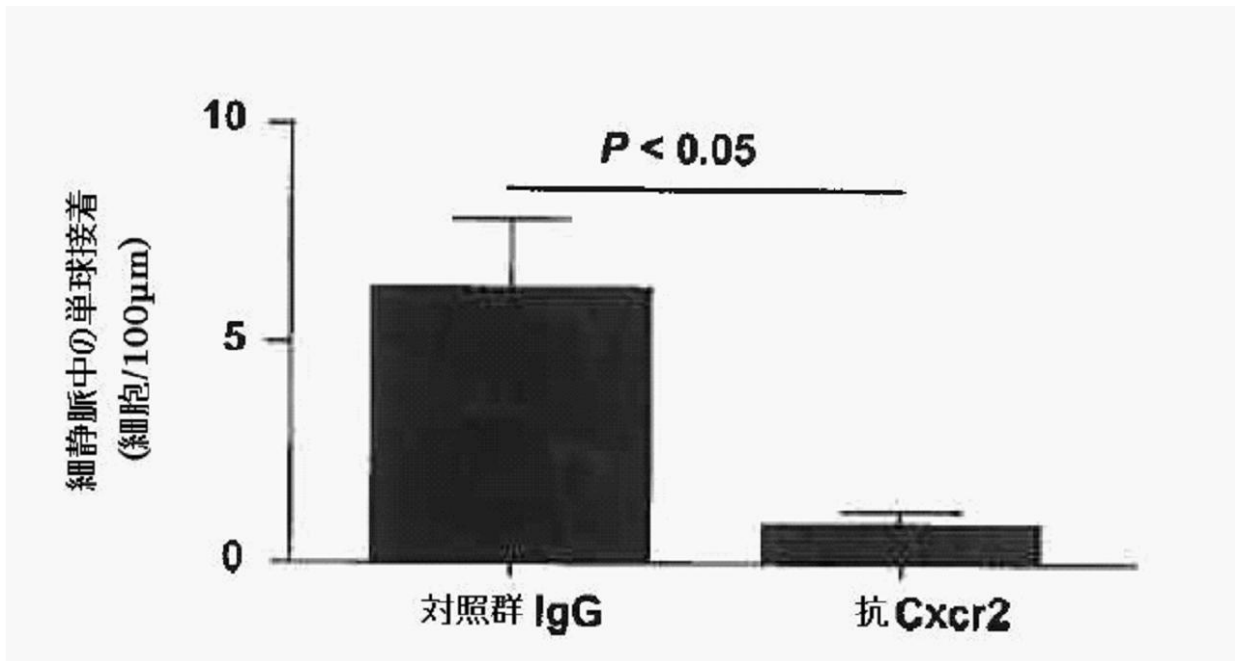
【 図 4 h 】



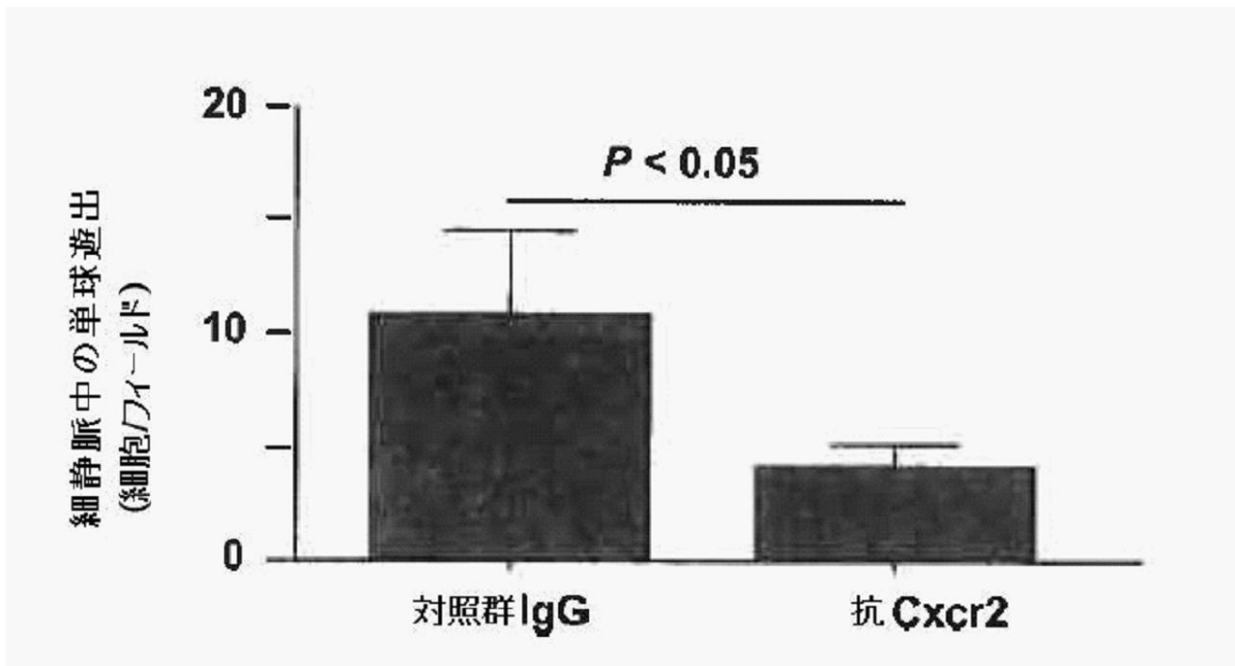
【図 5 a】



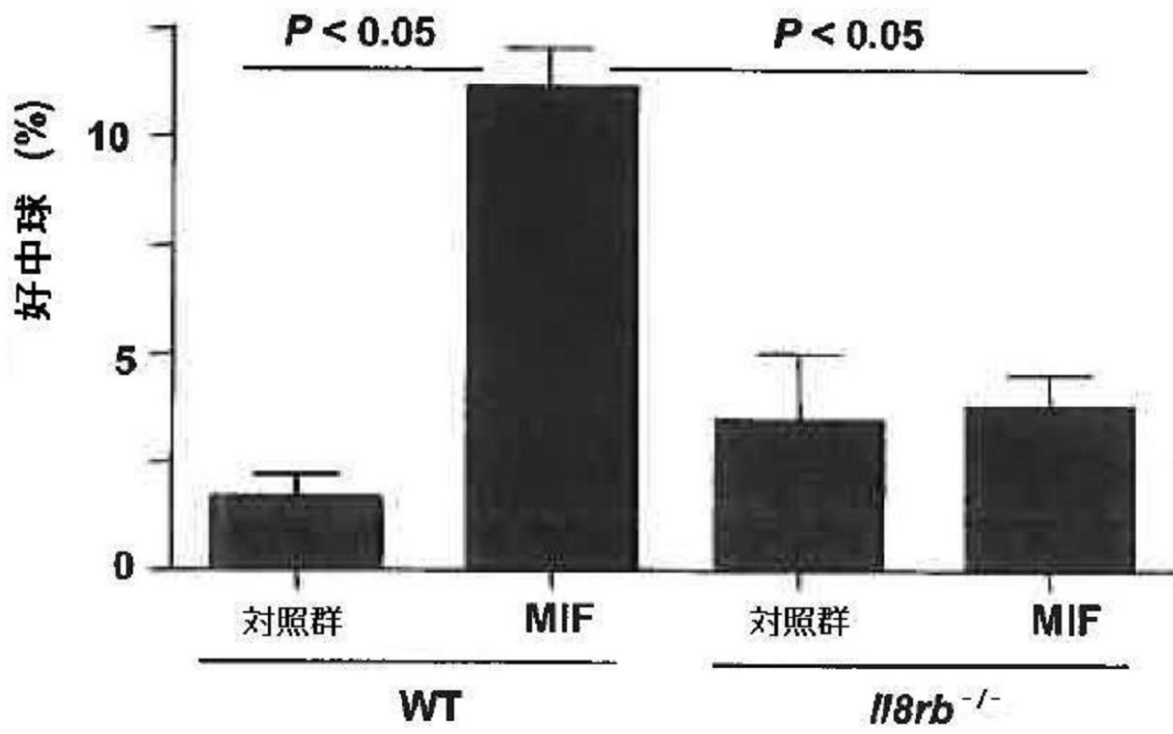
【図 5 b】



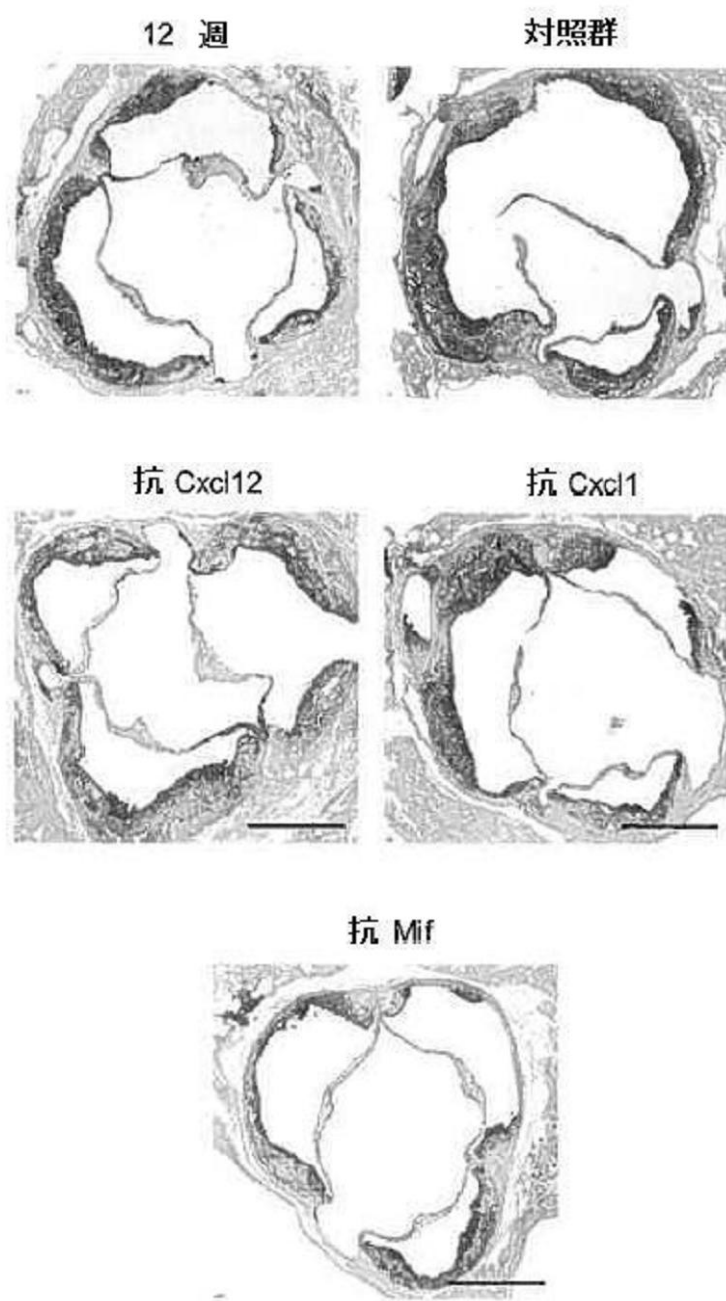
【図 5 c】



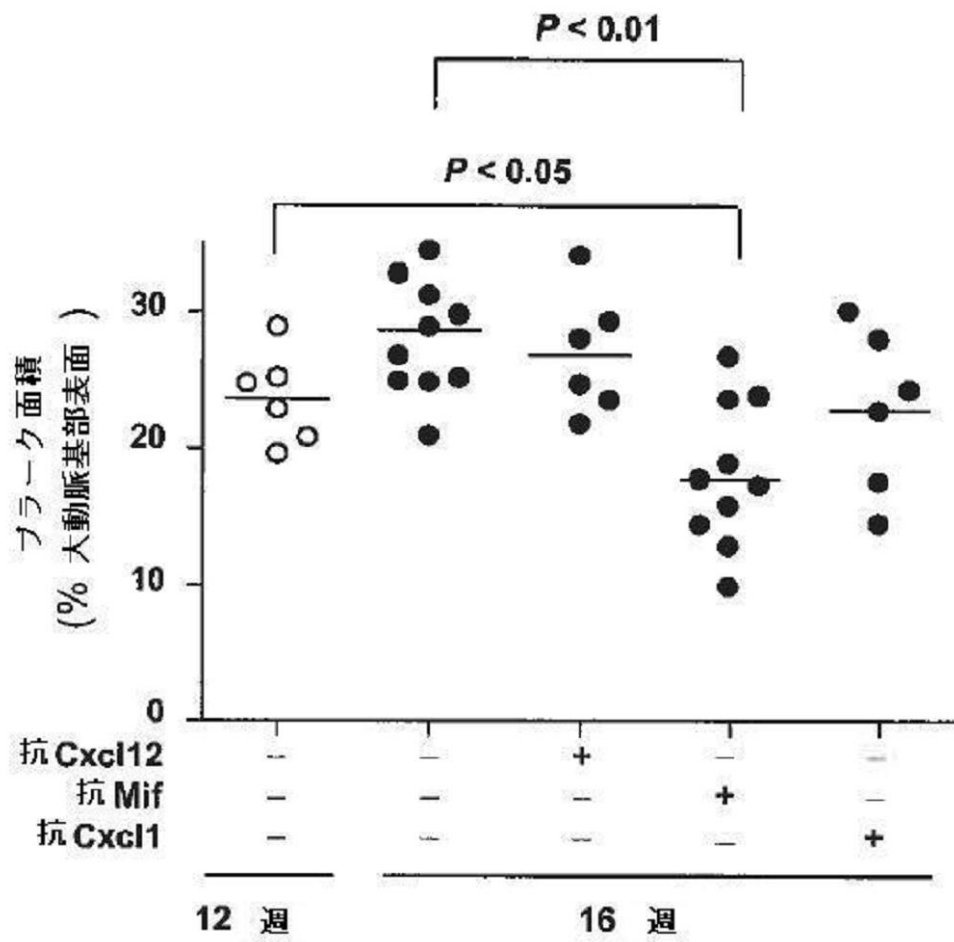
【図 5 d】



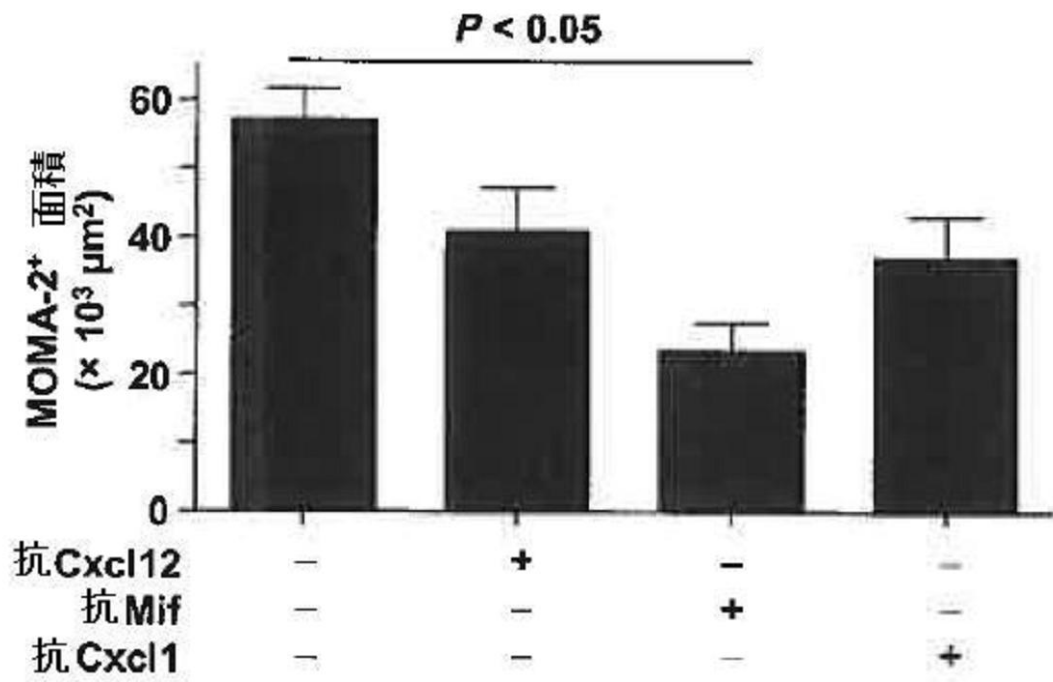
【図 5 e】



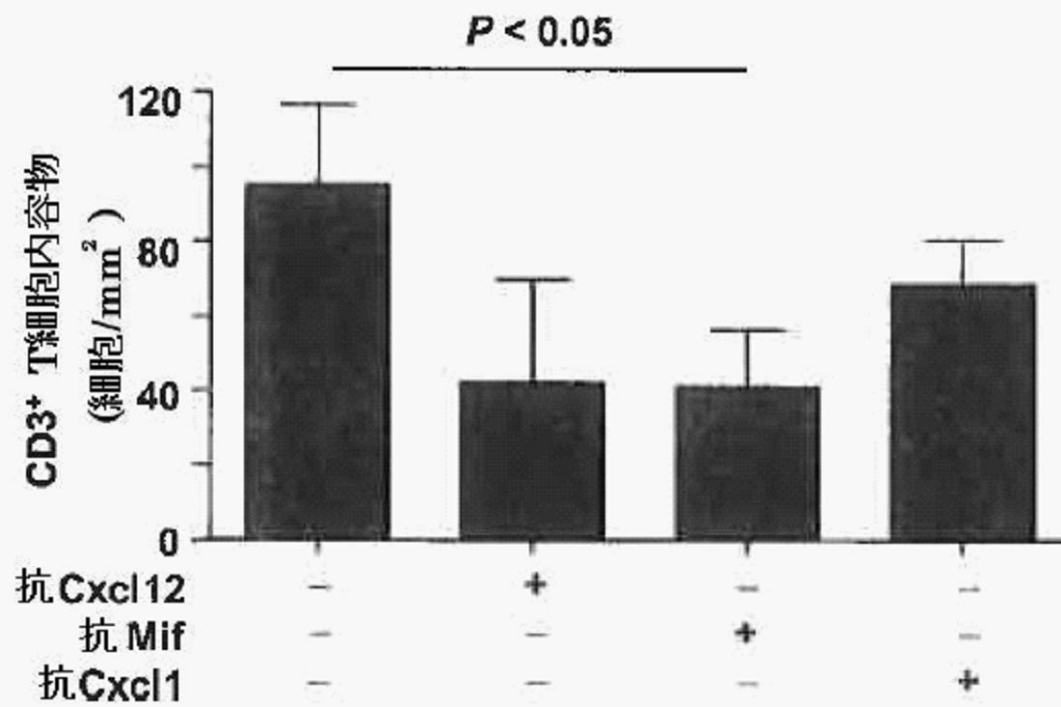
【図 5 f】



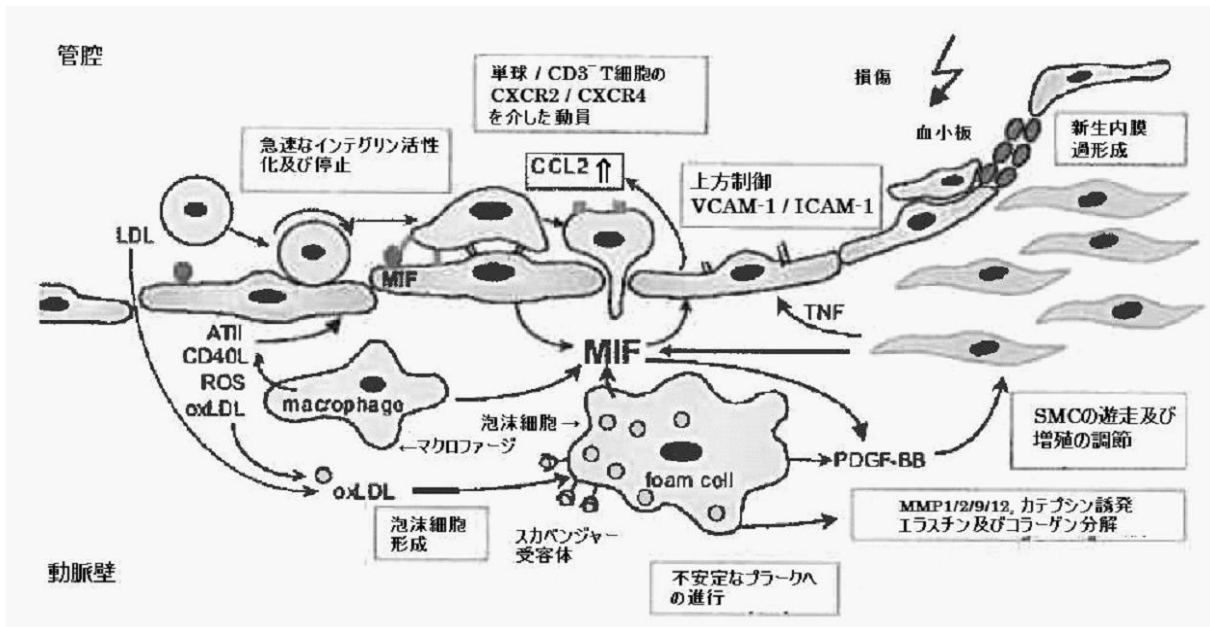
【 図 5 g 】



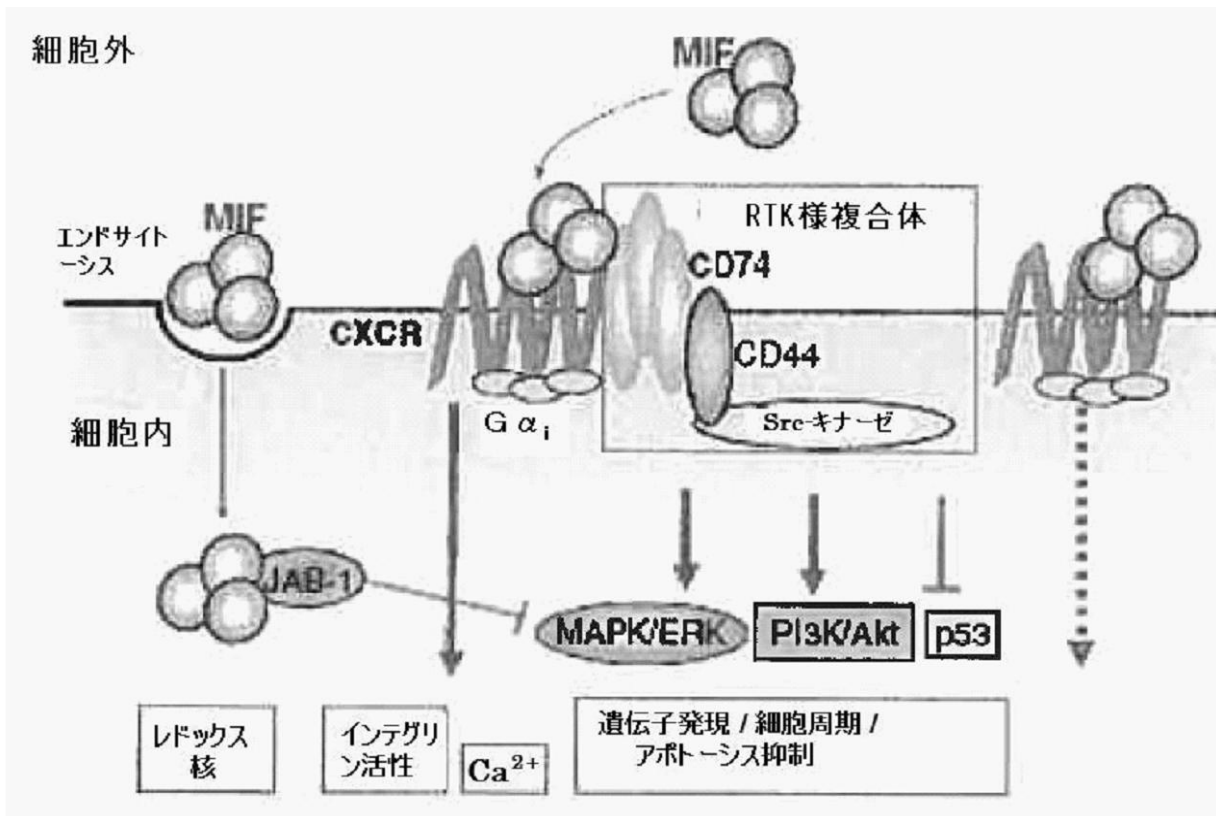
【 図 5 h 】



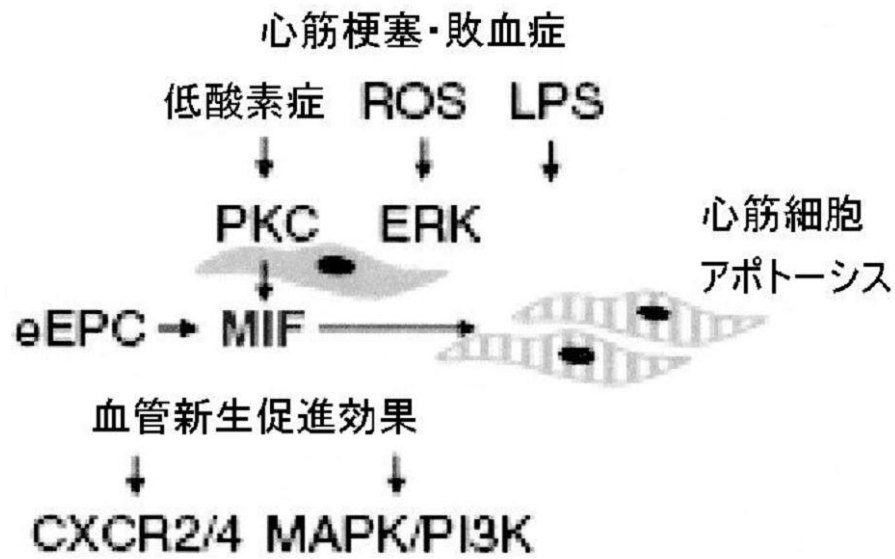
【図6】



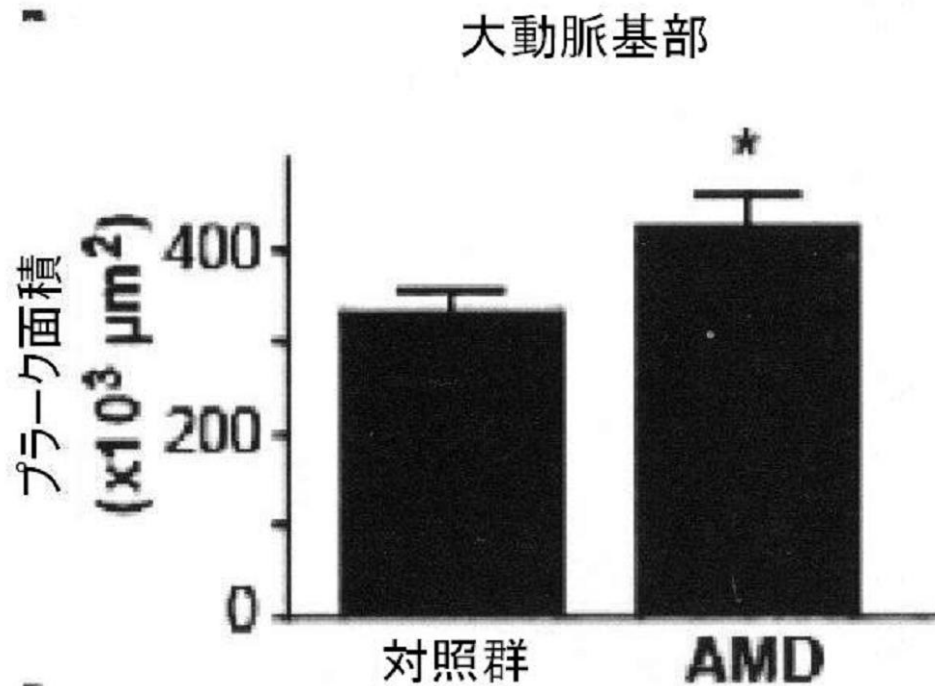
【図7】



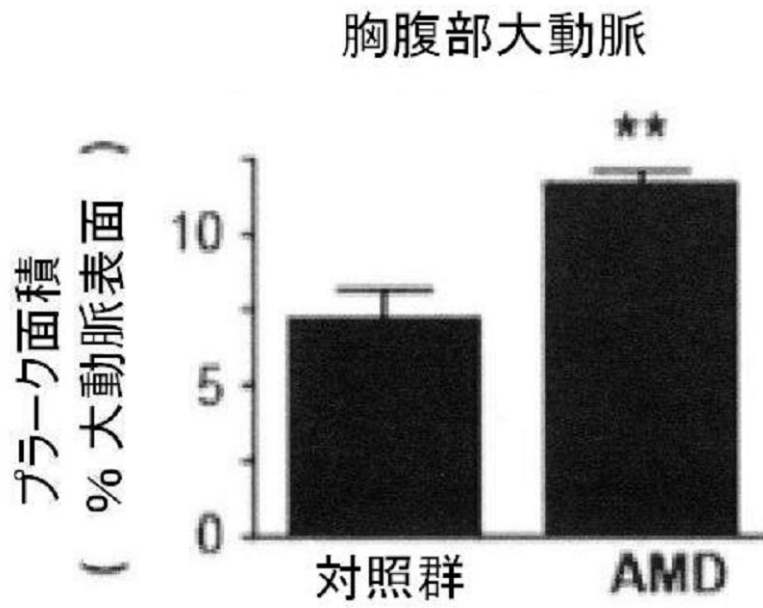
【 図 8 】



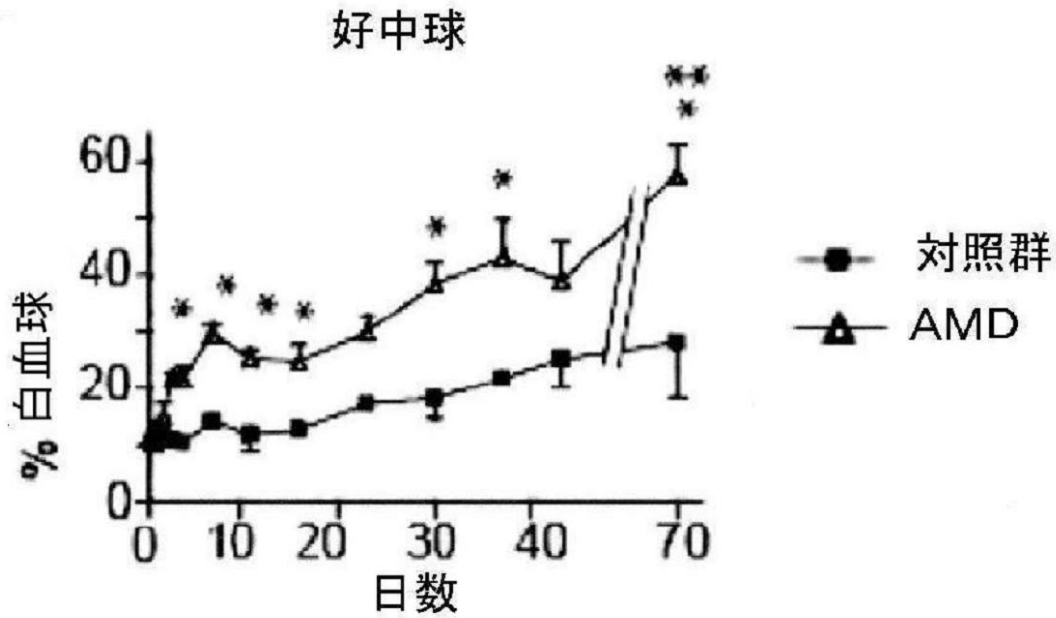
【 図 9 a 】



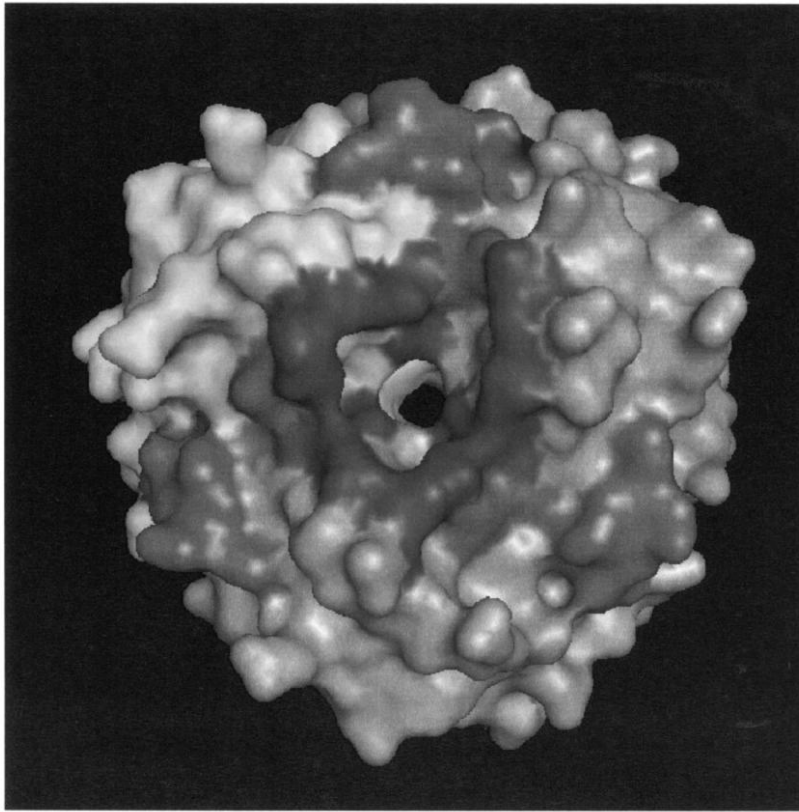
【図 9 b】





【図 9 c】



【図 10】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2009/037887
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>A61K 38/16(2006.01)i, A61P 29/00(2006.01)i, A61P 9/10(2006.01)i, A61K 38/20(2006.01)i, A61K 31/64(2006.01)i</i>		
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) IPC 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 practicable, search terms used) e-KOMPASS, PubMed(Keywords: MIF, CXCR, inflammation)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BERNHANGEN, J. et al., "MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment", Nat. Med., 2007, Vol. 13, No. 5, pages 587-596 See introduction, fig. 1 and pages 592, 594	17-25
A	US 20050176039 A1 (SEIGLER, K. M. et al.) 11 August 2005 See the abstract and all claims	17-25
A	GREGORY, J. L. et al., "Macrophage migration inhibitory factor induces macrophage recruitment via CC chemokine ligand 2", J. Immunol., 2006, Vol. 177, No. 1, pages 8072-8079 See the abstract	17-25
A	WHITE, E. S. et al., "Macrophage migration inhibitory factor and CXC chemokine expression in non-small cell lung cancer: role in angiogenesis and prognosis", Clin. Cancer Res., 2003, Vol. 9, pages 853-860 See the abstract	17-25
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 application or patent 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 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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 04 DECEMBER 2009 (04.12.2009)		Date of mailing of the international search report 04 DECEMBER 2009 (04.12.2009)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer KIM, YUN-KYUNG Telephone No. 82-42-481-8406 

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2009/037887

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 1-16
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 1-16 pertain to methods of treatment of the human by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims, it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family membersInternational application No.
PCT/US2009/037887

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2005-0176039 A1	11.08.2005	WO 05065328 A2	13.10.2005
		WO 05065328 A3	21.07.2005

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 P	27/16	(2006.01)	A 6 1 P	27/16
A 6 1 P	3/04	(2006.01)	A 6 1 P	3/04
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00 1 0 1
A 6 1 P	25/18	(2006.01)	A 6 1 P	25/18
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/00
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	11/02	(2006.01)	A 6 1 P	11/02
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/06
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/06
A 6 1 P	1/02	(2006.01)	A 6 1 P	1/02
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00

(31)優先権主張番号 61/121,095

(32)優先日 平成20年12月9日(2008.12.9)

(33)優先権主張国 米国(US)

(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,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,SE,SI,S K,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,K E,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 ヴォーラス ベネディクト

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 0 7 , サンディエゴ , ナイアガラ・アベニュー
4 7 0 4

(72)発明者 ツェルンエッケ アルマ

ドイツ アーヘン 5 2 0 7 4 , カイザー フリードリッヒ アレー 5 9

(72)発明者 ウェーバー クリスティアン

ドイツ アーヘン 5 2 0 7 4 , カイザー フリードリッヒ アレー 5 9

Fターム(参考) 4C084 AA17 AA20 MA02 NA14 ZA012 ZA162 ZA342 ZA362 ZA592 ZA672

ZA752 ZA892 ZB082 ZB152 ZB262 ZC022

4C085 AA13 BB11 BB31 CC22 DD62 EE03