

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6411215号
(P6411215)

(45) 発行日 平成30年10月24日 (2018.10.24)

(24) 登録日 平成30年10月5日 (2018.10.5)

(51) Int. Cl.	F I	
A 6 1 K 31/145 (2006.01)	A 6 1 K 31/145	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 7/02 (2006.01)	A 6 1 P 7/02	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 31/37 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
請求項の数 11 (全 40 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2014-542590 (P2014-542590)	(73) 特許権者	506115514
(86) (22) 出願日	平成24年11月21日 (2012.11.21)		ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ ティ オブ カリフォルニア
(65) 公表番号	特表2014-533701 (P2014-533701A)		アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94 607-5200, オークランド, フラン クリン ストリート 1111, 12番 フロア
(43) 公表日	平成26年12月15日 (2014.12.15)	(74) 代理人	100091096
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/066288		弁理士 平木 祐輔
(87) 国際公開番号	W02013/078335	(74) 代理人	100118773
(87) 国際公開日	平成25年5月30日 (2013.5.30)		弁理士 藤田 節
審査請求日	平成27年11月20日 (2015.11.20)	(74) 代理人	100111741
(31) 優先権主張番号	61/563,034		弁理士 田中 夏夫
(32) 優先日	平成23年11月22日 (2011.11.22)	(74) 代理人	100169971
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 菊田 尚子
前置審査			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 虚血傷害を治療するためのシステアミンおよび/またはシスタミン

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ベースラインと比較して、対象者における低分子量 (LMW) アディポネクチンレベルを急速かつ有意に増大させる治療上有効量のシステアミンまたは製薬上許容されるその塩を含有する、それを必要とする対象者での中分子量 (MMW) アディポネクチンレベルおよび/または高分子量 (HMW) アディポネクチンレベルに対する低分子量 (LMW) アディポネクチンレベルの比率を急速に増大させることによって対象者における血栓症の結果として生じる虚血傷害を治療または予防するための医薬組成物であって、該対象者は、高コレステロール血症またはII型糖尿病に罹患していない、上記組成物。

【請求項2】

対象者の低分子量 (LMW) アディポネクチンレベルを急速かつ有意に増大させる治療上有効量のシステアミン、シスタミン、または製薬上許容されるその塩を含有する、LMWアディポネクチンの規定外または異常な低いレベルを有するか、または高分子量 (HMW) および/または中分子量 (MMW) アディポネクチンの比率の上昇を有する対象者を治療するための医薬組成物。

【請求項3】

前記対象者が、高血圧、喫煙、頸動脈疾患もしくは他の動脈疾患、末梢動脈疾患、心房細動、その他の心疾患、一過性脳虚血発作 (TIA)、血液障害、運動不足、肥満、過剰アルコール摂取、違法薬物使用、以前の脳卒中、鎌状赤血球貧血および以前の心臓発作からなる群より選択される疾患による血栓症の結果として生じる虚血に対するリスク因子を有

する、請求項1または2に記載の組成物。

【請求項4】

前記対象者が、血栓症の結果として生じる虚血イベントに以前に見舞われたことがある、請求項1または2に記載の組成物。

【請求項5】

システアミンまたは製薬上許容されるその塩を含有する、請求項1~4のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項6】

システアミン、シスタミン、または上記のうちのいずれかの製薬上許容される塩が、0.5~20mg/kg前記対象者体重の範囲内の濃度で投与される、請求項2~5のいずれか1項に記載の組成物。

10

【請求項7】

システアミン、シスタミン、または上記のうちのいずれかの製薬上許容される塩の1日合計用量が、0.5~4.0g/m²である、請求項1~5のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項8】

i)虚血を治療するために有用な1種以上の追加の薬剤、またはii)任意により抗凝固剤、ヘパリン、ビタミンKアンタゴニスト、4-ヒドロキシクマリン誘導体、ワーファリン、アセノクマロール、ジクマロール、ビスクマ酢酸エチル、フェンプロクモン、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、組織プラスミノゲンアクチベータ(tPA)、アルテプラーゼ(組み換え型tPA)、レテプラーゼ、テネクテプラーゼ、およびアルガトロバンである、血栓性障害を治療するために有用な1種以上の薬剤、をさらに含む、請求項1~7のいずれか1項に記載の組成物。

20

【請求項9】

i)1日4回未満、またはii)1日2回投与される、請求項1~8のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項10】

対象者での中分子量(MMW)アディポネクチンレベルおよび/または高分子量(HMW)アディポネクチンレベルに対する低分子量(LMW)アディポネクチンレベルの比率を急速に増大させることによって対象者における血栓症の結果として生じる虚血傷害を治療または予防するための医薬の製造のための、システアミン、シスタミン、または製薬上許容されるその塩から選択される治療剤、及び抗凝固剤、ヘパリン、ビタミンKアンタゴニスト、4-ヒドロキシクマリン誘導体、ワーファリン、アセノクマロール、ジクマロール、ビスクマ酢酸エチル、フェンプロクモン、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、組織プラスミノゲンアクチベータ(tPA)、アルテプラーゼ(組み換え型tPA)、レテプラーゼ、テネクテプラーゼ、およびアルガトロバンの1種以上の使用であって、該治療剤の投与によって、対象者のLMWアディポネクチンレベルの投与前のレベルと比較した急速な増大がもたらされ、該対象者は、高コレステロール血症またはII型糖尿病に罹患していない、上記使用。

30

【請求項11】

対象者の低分子量(LMW)アディポネクチンレベルを急速に増大させることによってLMWアディポネクチンの規定外または異常な低いレベルを有するか、または高分子量(HMW)および/または中分子量(MMW)アディポネクチンの比率の上昇を有する対象者を治療するための医薬の製造のための、システアミン、シスタミン、または製薬上許容されるその塩から選択される治療剤の使用。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、対象者(subject)を、システアミン、システアミン誘導体、シスタミンまたはシスタミン誘導体に接触させるステップを含む、虚血または虚血を引き起こす疾患もしくは障害を治療するための方法および組成物を提供する。本開示はまた、対象者を、シ

50

ステアミン、システアミン誘導体、シスタミンまたはシスタミン誘導体に接触させるステップを含む、対象者でのアディポネクチンレベルを調節する方法も提供する。

【0002】

関連出願の相互参照

本出願は、米国特許法第119条(35 U.S.C. § 119)のもとに、2011年11月2日出願の米国特許仮出願第61/563,034号に基づく優先権を主張する。この米国出願の開示は、参照により本明細書中に組み入れられる。

【背景技術】

【0003】

急性虚血性脳卒中は、1000人に約2~2.5人が罹患すると推定され、世界中で年間450万人以上の死亡および900万人の脳卒中生存者をもたらし、米国だけで現在500億ドルを超える費用がかかっている。

10

【発明の概要】

【0004】

本開示は、虚血傷害を低減させるのに有効な量で、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩を対象者に投与するステップを含む、虚血傷害または急性虚血イベントに見舞われている対象者を治療するための方法を提供する。一実施形態では、虚血傷害は、血栓性障害の結果である。さらなる実施形態では、血栓性障害は、鎌状赤血球症、深部静脈血栓症、肺塞栓症、心塞栓症(cardiac embolism)、凝固能亢進状態、栓友病(thrombophilia)、第V因子ライデン変異、アンチトロンピンIII欠乏症、プロテインC欠乏症、プロテインS欠乏症、プロトロンピン遺伝子突然変異(G20210A)、高ホモシステイン血症(Hyperhomocysteinemia)、抗リン脂質抗体症候群(APS)、抗カルジオリピン抗体(ACLA)血栓形成症候群、またはループス性凝固因子(LA)症候群である。上記の実施形態のいずれかでは、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩の量は、血栓症の結果として生じる虚血傷害のリスクを低減させるのに有効である。

20

【0005】

本開示はまた、血栓症の結果として生じる虚血傷害のリスクを低減させるのに有効な量の、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体、または上述のうちのいずれかの製薬上許容される塩を対象者に投与するステップを含む、血栓症およびその結果として生じる虚血傷害のリスクがある対象者を治療するための方法も提供する。

30

【0006】

上記の実施形態のいずれかでは、対象者は、癌、骨髄増殖性障害、多発性骨髄腫を有する場合があり、手術を受けたかもしくは外傷を負ったことがある場合があり、固定されている(immobilized)か、経口避妊薬を使用しているか、サリドマイドもしくはその同族体を適宜ステロイドと組み合わせて摂取している場合があり、ヘパリン誘導性血小板減少症を有する場合があり、妊娠している場合があり、炎症性腸疾患、ネフローゼ症候群、発作性夜間ヘモグロビン尿症、過粘稠度症候群、またはヴァルデンストレームマクログロブリン血症を有する場合がある。

40

【0007】

本開示はまた、血栓症に起因する虚血傷害のリスクを低減させるのに有効な量で、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩の一定量を対象者に投与するステップを含む、血栓症のリスクがある対象者を治療するための方法も提供する。一実施形態では、対象者は、癌、骨髄増殖性障害、多発性骨髄腫を有するか、手術を受けたか、外傷を負ったことがあるか、固定されている(under immobilization)か、経口避妊薬を摂取しているか、サリドマイドもしくはその同族体を適宜ステロイドと組み合わせて投与されているか、ヘパリン誘導性血小板減少症を有するか、妊娠しているか、炎症性腸疾患を有するか、ネフローゼ症候群を有するか、発作性夜間ヘモグロビン尿症を有するか、過粘稠度症候群を有するか、またはヴァルデンストレームマクログロブリン血症を有する。

50

【0008】

上記の実施形態のいずれかでは、虚血傷害は、組織障害、疾患または脳卒中の結果であり得る。さらなる実施形態では、傷害は再灌流傷害である。別の実施形態では、再灌流傷害は手術または臓器移植の結果である。別の実施形態では、疾患は鎌状赤血球症である。

【0009】

上記の実施形態のいずれかでは、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、虚血イベント後の72時間以内に投与される。さらなる実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、虚血イベントの後、継続的に投与される。上記の実施形態のいずれかでは、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、虚血イベントのリスクがある対象者に継続的に投与される。

10

【0010】

本開示はまた、それを必要とする対象者での中分子量 (MMW) および/または高分子量 (HMW) アディポネクチンレベルに対する低分子量 (LMW) アディポネクチンレベルの比率を増大させる方法も提供し、該方法は、対象者をシステアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩に接触させる前のベースラインと比較して低分子量アディポネクチンレベルの比率を増大させるのに有効な量の、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩を対象者に投与するステップを含み、ここで、該対象者は、高コレステロール血症またはII型糖尿病に罹患していない。

20

【0011】

本開示はまた、高分子量 (HMW) : 中分子量 (MMW) アディポネクチン、HMW : 低分子量 (LMW) アディポネクチン、もしくはMMW : LMWアディポネクチンの規定外または異常な比率を有する対象者を治療するための方法も提供し、該方法は、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩を投与されなかった対象者と比較して、該対象者でのアディポネクチン比を改善するのに有効な量のシステアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩を対象者に投与するステップを含む。

30

【0012】

上記のうちの一実施形態では、対象者は、高血圧、喫煙、頸動脈疾患もしくは他の動脈疾患、末梢動脈疾患、心房細動、その他の心疾患、一過性脳虚血発作 (TIA)、血液障害、血中高コレステロール、運動不足、肥満、過剰アルコール摂取、違法薬物使用、以前の脳卒中、鎌状赤血球貧血および以前の心臓発作からなる群より選択される、虚血に対するリスク因子を有する。別の実施形態では、対象者は、以前に虚血イベントに見舞われたことがある。上記の実施形態のいずれかでは、該方法は、システアミン、システアミン誘導体または製薬上許容されるその塩を投与するステップを含む。さらなる実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体、または上記のうちのいずれかの製薬上許容される塩は、該対象者の体重kgあたり約0.5~20mgの範囲の濃度で投与される。上記のうちのいずれかのさらなる実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体、または上記のうちのいずれかの製薬上許容される塩は、経口投与される。一実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミンもしくはシスタミン誘導体、または上記のうちのいずれかの製薬上許容される塩は、遅延放出剤形または制御放出剤形である。上記の実施形態のうちのいずれかでは、システアミン、システアミン誘導体、シスタミンもしくはシスタミン誘導体、または上記のうちのいずれかの製薬上許容される塩は、腹腔内投与される。さらなる実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミンもしくはシスタミン誘導体、または上記のうちのいずれかの製薬上許容される塩は、静脈内投与または動

40

50

脈内投与される。上記の実施形態のうちのいずれかでは、投与は、虚血性再灌流傷害または虚血イベントからの炎症の低減をもたらす。上記のうちのいずれかの別の実施形態では、該方法は、虚血を治療するのに有用な1種以上の追加の薬剤を投与するステップをさらに含む。さらなる実施形態では、1種以上の追加の薬剤は、再灌流剤（reperfusion agent）、フリーラジカル捕捉剤、およびスピントラップ剤（spin trap agent）、神経保護剤、抗凝固剤、抗血小板剤、ニモジピン、およびナロキソンからなる群より選択される。別の実施形態では、該方法は、血栓性障害を治療するのに有用な1種以上の薬剤（任意により抗凝固剤、ヘパリン、ビタミンKアンタゴニスト、4-ヒドロキシクマリン誘導体、ワーファリン、アセノクマロール、ジクマロール、ビスクマ酢酸エチル、フェンプロクモン、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、組織プラスミノゲンアクチベータ（tPA）、アルテプララーゼ（組み換え型tPA）、レテプララーゼ、テネクテプララーゼ、およびアルガトロバン）を投与するステップをさらに含む。また別の実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミンもしくはシスタミン誘導体、または上記のうちのいずれかの製薬上許容される塩は、1日4回未満、投与される。またさらなる実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミンまたはシスタミン誘導体は、1日2回投与される。上記の実施形態のうちのいずれかでは、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体、または製薬上許容されるその塩は、数日間、数週間または数ヶ月間にわたって継続的に投与される。

【0013】

本開示は、虚血イベントに見舞われている対象者を、有効量のシステアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩に接触させるステップを含む、虚血イベントを治療する方法を提供し、ここで、該対象者は、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩を投与されなかった対象者と比較して、改善された行動的転帰を有する。一実施形態では、対象者のアディポネクチンレベルは、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩との接触後に上昇する。また別の実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩の1日合計用量は、約0.5~4.0g/m²である。またさらなる実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、腹腔内投与される。また別の実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、経口投与される。さらなる実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、遅延放出剤形または制御放出剤形であり、これは、小腸へのシステアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩の増加した送達をもたらす。またさらなる実施形態では、遅延放出剤形または制御放出剤形は、腸溶コーティングを含み、これは、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩がpHが約pH4.5よりも高い、対象者の小腸または消化管の領域に到達したときに、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩を放出する。一実施形態では、腸溶コーティングは、重合ゼラチン、シェラック、メタクリル酸コポリマーC NF型、酪酸フタル酸セルロース（cellulose butyrate phthalate）、フタル酸水素セルロース（cellulose hydrogen phthalate）、プロピオン酸フタル酸セルロース（cellulose proprionate phthalate）、酢酸フタル酸ポリビニル（PVAP）、酢酸フタル酸セルロース（CAP）、トリメリト酸酢酸セルロース（CAT）、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテート、ジオキシプロピルメチルセルローススクシネート、カルボキシメチルエチルセルロース（CMC）、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートスクシネート（HPMCAS）、ならびにアクリル酸ポリマーおよびコポリマー（典型的にはアクリル酸メチル、アクリル酸エチル、メタクリル酸メチルおよび/またはメタクリル酸エチルと、アクリル酸エステルおよびメタクリル酸エステルのコポリマーとから形成されるもの）からなる群より選択される

10

20

30

40

50

コーティングである。また別の実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩を経口投与する場合、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、生物学的に利用可能な鉄製剤と共に投与される。上記の実施形態のうちいずれかでは、投与は、虚血イベントに由来する炎症の低減をもたらす。

【0014】

本開示はまた、対象者でのアディポネクチンレベルを上昇させる方法も提供し、該方法は、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または上記のうちいずれかの製薬上許容される塩と対象者を接触させる前のベースラインと比較して、アディポネクチンレベルを上昇させるのに有効な量のシステアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩に対象者を接触させるステップを含む。一実施形態では、総アディポネクチンレベルが上昇する。別の実施形態では、中分子量および/または高分子量アディポネクチンに対する低分子量アディポネクチンの比率が増大する。また別の実施形態では、対象者は、肥満であり、健康な対象者と比較して低いLMWアディポネクチンレベルを有する。一実施形態では、対象者は糖尿病を有し、健康な対象者と比較して低いLMWアディポネクチンレベルを有する。また別の実施形態では、対象者は、虚血イベントに見舞われている。

【0015】

本開示はまた、虚血、虚血傷害、急性虚血イベント、血栓症または血栓症の結果として生じる虚血傷害の治療での使用のためのシステアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩も提供する。一実施形態では、虚血または虚血傷害は血栓性障害の結果である。別の実施形態では、血栓性障害は鎌状赤血球症、深部静脈血栓症、肺塞栓症、凝固能亢進状態、栓友病、第V因子ライデン変異、アンチトロンビンIII欠乏症、プロテインC欠乏症、プロテインS欠乏症、プロトロンビン遺伝子突然変異(G20210A)、高ホモシステイン血症、抗リン脂質抗体症候群(APS)、抗カルジオリピン抗体(ACLA)血栓形成症候群、またはループス性抗凝固因子(LA)症候群である。また別の実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、システアミン、システアミン誘導体、または製薬上許容されるその塩である。またさらなる実施形態では、虚血は、高血圧、喫煙、頸動脈疾患もしくは他の動脈疾患、末梢動脈疾患、心房細動、その他の心疾患、一過性脳虚血発作(TIA)、血液障害、血中高コレステロール、運動不足、肥満、過剰アルコール摂取、違法薬物使用、以前の脳卒中、鎌状赤血球貧血および以前の心臓発作からなる群より選択されるリスク因子により引き起こされる。別の実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、腹腔内投与のために製剤化される。上記の実施形態のうちいずれかでは、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、経脈管的に投与される。上記のうちいずれかのまたさらなる実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、経口投与のために製剤化される。さらなる実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、腸溶コーティングされている。上記の実施形態のうちいずれかでは、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、継続的に投与される。別の実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、虚血イベント/クライシスの前に、それと同時にまたはその後で投与される。また別の実施形態では、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または製薬上許容されるその塩は、対象者でのアディポネクチンレベルを上昇させるために用いられる。

【0016】

本開示の1つ以上の実施形態の詳細が、添付の図面および以下の詳細な説明に説明される。他の特徴、目的、および利点は、詳細な説明および図面から、また特許請求の範囲か

10

20

30

40

50

ら明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】90 μ Mシステアミンを用いた脂肪組織移植片 (adipose tissue explant) の45分、90分、および24時間の処理を示す図である。45分間の90 μ Mシステアミン処理に伴う総アディポネクチンの有意差： $p=0.002$ ；45分間の90 μ Mシステアミン処理に伴うHMWアディポネクチンの有意差： $p=0.04$ ；90分間の90 μ Mシステアミン処理に伴うHMWアディポネクチンの有意差： $p=0.02$ 。

【図2A】LMW、MMWおよびHMWアディポネクチンの模式図および相対的移動度シフトを表す図である。

【図2B】室温、37 $^{\circ}$ C、37 $^{\circ}$ C + 45 μ Mシステアミンにて1時間インキュベートした胃バンディング (Gastric Banding; GB) 血清およびアディポネクチン多量体の産生を表す図である。いずれの多量体についても、室温と37 $^{\circ}$ Cとの間には有意差が見られなかった。しかしながら、HMWはシステアミン処理に伴って有意に減少し： $p=0.009$ ；MMWはシステアミン処理に伴って有意に変化し；LMWはシステアミン処理に伴って有意に増加した： $p=0.05$ 。

【図2C】ベースライン、EC-システアミンを用いた24週間の治療後、およびその後EC-システアミンを打ち切ってから16週間後で測定した、BMI、ALT、およびASTについての平均値を示す図である。P値は、有意でない (ns)、* $P<0.05$ 、** $P<0.01$ として示す。平均BMIは、いずれの時点でも有意に異ならなかった。SEMを示す。

【図3】NAFLDを有する対象者でのアディポネクチン多量体化に対するシステアミンの *in vivo* 効果を示す図である。NAFLDを有する11名の対象者を、24週間にわたって経口投与腸溶コーティングシステアミンを用いて治療し、その後、治療なしで24週間モニタリングした。ベースライン、治療中の24週間、およびその後治療なしでの24週間後に血清を分析した。経口投与EC-システアミンの24週間に続いて総アディポネクチンおよびまたアディポネクチンのすべての亜型で有意な増加が見られ、その後治療を打ち切ってから24週間後に有意な減少が見られた。

【図4】*in vivo*システアミン治療に伴う総アディポネクチンを示す図である。総アディポネクチンは、0~24週で有意に増加し： $p=0.05$ ；24~40週で絶対レベルにて有意に減少し： $p=0.01$ ；ベースラインと40週との間には有意差がなかった。

【図5】図3と類似のデータを示すが、アディポネクチン多量体化に対するシステアミンの *in vivo* 効果の平均変化 (%) として表す図である。0時点 (基底)、治療第24週、および24週でのシステアミンの中断に続く第40週での、対象者からの血清である。非還元条件下での1 μ Lの血清についてのウエスタンブロットにより行われた半定量的分析である。対象者データは、24週とベースライン、および40週とベースラインとのアディポネクチン多量体の%変化を用いて標準化している。

【図6】痩身対照の絶対アディポネクチンレベルに対するシステアミンの *in vitro* 効果を示す図である。室温、37 $^{\circ}$ C、37 $^{\circ}$ C + 90 μ Mシステアミンで、痩身対照血清を、1時間インキュベートした。いずれの多量体についても室温と37 $^{\circ}$ Cとの間に有意差はなく、HMWはシステアミン処理に伴う有意な変化はなく、MMWはシステアミン処理に伴って絶対レベルが有意に減少し、LMWはシステアミン処理に伴って絶対レベルの有意な変化がなく (有意な増加に向かうデータ傾向があった)、システアミン処理に伴って有意な%変化があった。

【図7】1時間のインキュベーション後の室温、37 $^{\circ}$ C、37 $^{\circ}$ C + 90 μ Mシステアミンでの痩身対照血清を示す。いずれの多量体についても、室温と37 $^{\circ}$ Cとの間に有意差はなかった。HMWは、システアミン処理に伴って有意差を示さなかった。MMWは、システアミン処理に伴って絶対レベルでの有意な減少を示し；システアミン処理に伴って有意な%変化を示し；LMWは、システアミン処理に伴って絶対レベルの有意な変化を示さず (有意な増加に向かうデータ傾向があった)、システアミン処理に伴って有意な%変化を示した。

【図8】胃バンディング対象者から採取した血清に対するシステアミンの *in vitro* 効果のグラフである。システアミン濃度は0、7.5、15、30、45、60、90 μ Mであり、37 $^{\circ}$ Cにて1時間のインキュベーションを用いた。

10

20

30

40

50

【図9】肥満の患者4名からの血清への、システアミン(0、7.5、15、30、45、60および90 μ Mの種々の濃度で)の添加1時間後に測定したアディポネクチンレベルを示す図である。

【図10】種々の濃度のシステアミンでの異なるアディポネクチン多量体の%変化を示す図である。

【図11】種々の濃度のシステアミンとのBAT1-16血清の1時間のインキュベーション後の、アディポネクチン型についてのベースラインからの平均%変化を示す図である。

【図12】24週間のシステアミン療法後に増加したすべての多量体型のレベルを示す図である。しかしながら、総アディポネクチンを構成する各多量体の相対的割合は、HMWについて有意に増加し、MMWについて減少し、LMWについて変化しなかった。

【図13】NAFLDを有する対象者(n=10)での、アディポネクチン多量体の平均%変化を示す図である。室温(RT、白色バー)および37 (黒色バー)との間で、測定されたいずれの多量体についても有意差はなかった。37 にて1時間、45 μ Mのシステアミンと共にインキュベートした血清(斜線バー)では、処理なしの血清と比較した場合に、MMWでの有意な減少およびLMWでの増加が見られた。

【図14A】システアミンのin vivo効果を示す図である。システアミン治療群と対照群との虚血領域のリスク領域(または冠動脈の左前下行枝(LAD artery)により栄養供給される心筋の領域)の割合(%)としての有意差を示すグラフである。

【図14B】システアミンのin vivo効果を示す図である。システアミン治療群と対照群との虚血領域の左心室領域の割合(%)としての有意差を示すグラフである。

【図15A】システアミン治療モデルおよび未治療モデルでの拡張期容積を示す図である。IV緩衝液のみを投与された対照群での、24時間および72時間での拡張末期容積(μ L)を示す。2つの時点の間でEDV(拡張末期容積)に有意差はなく、このことは、時間経過による改善はなかったことを示唆する。

【図15B】システアミン治療モデルおよび未治療モデルでの拡張期容積を示す図である。IV緩衝液中のシステアミンを投与された対照群での、24時間および72時間での拡張末期容積(μ L)を示す。2つの時点の間でEDVに有意な減少があり、このことは、時間経過による改善があったことを示唆する。

【図16】24時間と72時間との間で、EDVでの%変化に有意差があったことを示すグラフである。EDVの減少は、心筋虚血後の心室拡張の減少を示唆する。マウスは、24時間から72時間の間に体重が減少し、嗜眠状態であった。対照マウスは13%体重減少し、システアミン群は14%体重減少した。

【図17A】対照およびシステアミン治療した虚血の動物モデルについての収縮末期容積(ESV)のグラフを示す図である。IV緩衝液のみを投与された対照群での24時間および72時間でのESV(μ L)を示す。ESVでの有意差があった。

【図17B】対照およびシステアミン治療した虚血の動物モデルについての収縮末期容積(ESV)のグラフを示す図である。緩衝液中のIVシステアミンを投与された治療群での24時間および72時間でのESV(μ L)を示す。ESVでの有意差があった。

【図18】ESVの%変化としてのグラフを示す図である。24時間と72時間との間で、ESVでの%変化に有意差があった。ESVの減少は、より良好な心室収縮を示唆する。

【発明を実施するための形態】

【0018】

本明細書および添付の特許請求の範囲で用いる場合、単数形「a」、「an」および「the」は、そうでないことを文脈が明確に指示しない限り、複数形の言及を含む。つまり、例えば、「抗酸化剤」(an antioxidant)への言及は、複数のそのような抗酸化剤を含み、「前記抗酸化剤」(the antioxidant)への言及は、1種以上の抗酸化剤への参照を含む。

【0019】

また、そうでないことが明記されない限り、「または」の使用は「および/または」を意味する。同様に、「含む」(comprise、comprises、comprising)、「含有する」(include、includes、including)は、相互に交換可能であり、限定を意図するものではない

10

20

30

40

50

。

【0020】

様々な実施形態の説明が「含む」(comprising)との用語を用いる箇所では、当業者は、一部の特定の例では、実施形態が「本質的に～からなる」(consisting essentially of)または「からなる」(consisting of)との表現を用いて代替的に記述できることを理解するであろうことが、さらに理解されるべきである。

【0021】

そうでないことが定義されない限り、本明細書中で用いるすべての技術用語および科学用語は、本開示が属する分野の当業者が通常理解するのと同じ意味を有する。本明細書中に記載されるものと類似であるかまたは等価な方法および材料を、開示された方法および組成物の実施で用いることができるが、例示的な方法、デバイスおよび材料が、本明細書中に記載される。

【0022】

上記および明細書全体を通して記載される刊行物は、本出願の出願日以前のそれらの開示についてのみ提供される。本明細書中のなにも、本発明者らが、従前の開示があるためにそのような開示より先行する資格がないこととの了解として解釈されるべきではない。

【0023】

本明細書中で用いる場合、虚血とは、脳、心臓、または他の組織などの身体の一部への血流および酸素の減少または欠如の結果として生じる状態を意味する。虚血傷害とは、一般的に、遠位側であるかまたはそれ以外の様式で血流および酸素の欠如により影響を受ける組織のダメージを意味する。虚血傷害は、多くの場合、酸素および体液の欠如の結果であるが、炎症性カスケードも含む。例えば、虚血および虚血傷害は、心臓、肺もしくは脳の損傷、臓器移植もしくは外科的処置、または疾患もしくは障害(例えば、鎌状赤血球貧血または鎌状赤血球症)の結果として生じ得る。

【0024】

急性虚血は、脳卒中および心臓損傷でもっとも頻繁に認識される。しかしながら、細胞死および組織ダメージをもたらす虚血イベントを引き起こす多数の障害および傷害がある。例えば、心臓発作(すなわち、心筋梗塞)が一般的である。また、間欠的な軽症型心虚血(すなわち、狭心症)の兆候を有する人も、システアミンから(おそらくはその長期型アディポネクチン効果を通じて)恩恵を被る可能性がある。脳卒中、脳血管イベントおよび心臓血管イベントは、それぞれ、脳または心臓の一領域への、脳または心臓の血流の急性閉塞の結果である。米国では毎年約50万件の脳卒中の症例が生じ、そのうちの30%が死亡し、したがって、脳卒中は米国では3番目に多い死因である。脳卒中のうち約80%が「虚血性」であり、血流の低下をもたらす脳動脈の急性閉塞の結果として生じる。残りのものは「出血性」であり、これは脳組織への出血を伴う脳動脈の破裂ならびに破裂した血管から遠位領域での血流の欠如および局所的な組織圧迫によって結果として生じる血流の閉塞によるものであり、虚血をもたらす。

【0025】

脳卒中は、一般的に65歳超の個体を襲い、最も強力なリスク因子は高血圧である。最近まで、急性脳卒中に対する承認された療法はなく、一般的な医療サポートのみ、およびそれに続く観察されるダメージからのリハビリテーションにより治療されていた。1996年に、FDAは、限られた数の管理された治験に基づいて、急性虚血性脳卒中に対する療法として組織プラスミノゲンアクチベータ(tPA)の使用を承認した。治験のうち、すべてではなく一部は、臨床転帰での30~55%の改善を明らかにし、これは罹患率(morbidity)での全体的な低下を伴ったが、死亡率(mortality)の低下は伴わなかった。tPAを用いて患者を治療する機会が非常に限られていることおよびtPAの使用に伴う無視できない副作用のために、該薬物は十分に用いられていない。tPAによる血栓溶解療法を用いてもなお、該療法でもたらされる症状の完全な解消は40%未満の確率であり、したがって、追加の形態の療法の必要性がある。多数の神経保護による戦略が臨床試験で試されてきたが、虚血性脳卒中を治療するためにFDAにより承認されているものはない。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 6 】

脳卒中のうちの約80%が、脳の一領域に到達する血液が少なすぎるにより引き起こされ、これは通常、血管を遮断した凝血塊（すなわち、例えば、脳血栓症）による。これは「虚血性脳卒中」と称される。罹患した脳組織が軟化し、これが微小血管の破壊につながり得るので、このタイプの脳卒中は、ときには脳出血を引き起こすことがある。また、脳出血は、人々が凝血塊を形成する問題を有する場合に起こり得る。何らかの出血を止める身体の方法である凝血塊は、凝固因子と呼ばれるタンパク質および血小板と呼ばれる粘着性の血液細胞により形成される。凝固因子または血小板が十分に働かないかまたは量が十分でない場合はいつでも、人々は、過剰に出血する傾向を生じ得る。

【 0 0 2 7 】

虚血性脳卒中には、一過性虚血発作（TIA）が先行する場合があります、米国では毎年約30万人がTIAに見舞われると推測される。血栓症はまた、糖尿病患者、鎌状赤血球症患者およびその他の患者での末梢動脈閉塞の原因であり、そのような患者での使用のための有効かつ安全な抗虚血傷害剤が必要である。

【 0 0 2 8 】

脳卒中のうち約20%が、脳内出血に関連する場合があります、これは近傍の脳組織に損傷を与える（例えば、出血性脳卒中）。出血性脳卒中は、脳の内部で血管が破裂した際に起こる。脳は出血に対して非常に敏感であり、血液それ自体の存在によるか、または体液が脳に対する圧を増大させて、頭蓋骨に対して脳を押し付けることにより脳を傷つけることによるかのいずれかにより、ダメージは非常に急速に生じ得る。出血は脳組織を刺激し、腫れを生じさせる。脳の周囲組織は出血の拡大に抵抗し、これは最終的に塊（例えば、脳内血腫）を形成することにより阻止される。腫れおよび血腫の両方が、正常脳組織を圧迫し、かつ移動させる。最も多くの場合、出血性脳卒中は高血圧に関連し、高血圧は動脈壁が破壊されるまで動脈壁にストレスを与える。

【 0 0 2 9 】

鎌状赤血球症では、虚血は、毛細血管の遮断ならびに組織への血流の妨害により酸素およびグルコースが枯渇する結果として起こる。この毛細血管の遮断は、正常な形状および柔軟性を失っており、硬性もしくは半硬性の「鎌状」形状にまでつぶれるかまたは変形した赤血球により引き起こされる。この毛細血管の遮断は、遮断された毛細血管により通常は栄養供給されている臓器または組織の部分を通る新鮮な血液の流れを止める。

【 0 0 3 0 】

ほとんどの患者では、鎌状赤血球貧血は、持続性のまたは慢性的な痛みを引き起こさない。しかしながら、ほとんどの鎌状赤血球貧血患者は、ときには虚血クライシスと称される、散発性であるが繰り返すエピソードに見舞われる。そのようなクライシスの間、鎌状赤血球患者は、通常、1箇所以上の場所での重度の痛みを経験し、この場所は、患者によってしばしば異なり、また特定の患者での異なるクライシス間で変化する。1箇所以上の関節が腫脹して痛むこと、および/または患者が腹部の鋭いかもしくはびまん性の痛みのいずれかに見舞われることは珍しくなく、これは、1つ以上の臓器の1箇所以上の部位での虚血状態によるものであると推測される。

【 0 0 3 1 】

ほとんどの鎌状赤血球患者は、通常、1年に数回、そのような虚血クライシスに見舞われる。これらのクライシスの間、患者は、通常は入院し、運動をほとんどまたは全く含まない床上安静に制限され、モルヒネ、コデイン、およびメペリジンなどの強力な鎮痛剤をはじめとする様々な薬物を用いて、および広域スペクトル抗生物質により、クライシスの原因であり得るいずれかの感染を制御すること、および虚血クライシスにより弱っている組織もしくは臓器でのさらなる感染を予防するかまたは低減させることの両方の目的で治療される。

【 0 0 3 2 】

鎌状赤血球症を有する低年齢小児の中では、手足の小骨および軟骨の虚血性壊死による指炎は一般的であり、脾臓へのダメージが蓄積することにより、急性腹痛が多くの場合に

10

20

30

40

50

引き起こされる。急性腹痛はまた、肝臓もしくは腎臓梗塞によるものであり、また血尿を伴い得る。胆石による胆嚢炎、大腿骨頭の無腐性壊死、頭蓋骨の骨髄腔拡大の放射線学的兆候、脊椎骨粗鬆症および腎乳頭壊死が、典型的には10歳超で起こり、多くの場合、18歳を超えた患者で、特に大腿骨頭および上腕骨頭で、病理学的骨折が続発する。成人患者では下腿潰瘍が一般的であり、大葉性肺炎、肺梗塞、脳卒中および網膜病変が生じる場合がある。すべての症例で、痛みは重度であり、多くの場合移動性であり、そしてびまん性である。

【0033】

出血性脳卒中の1つの原因は、動脈瘤である。これは、動脈壁の弱部であって、罹患動脈の内部を循環する血液の圧力によって外側に膨らんでいる。最終的に、これが破裂して、重大な損傷を引き起こし得る。動脈瘤が大きければ大きいほど、破裂しやすくなる。

10

【0034】

脳卒中の症状は、典型的には突然始まるものであり、急速に悪化し得る。脳卒中症状としては、限定するものではないが、以下のものが挙げられる：(i)身体部分の不十分な運動または運動不可能；(ii)無感覚または感覚の欠失；(iii)視野の減少または失明（部分的であり得る）；(iv)発話困難；(v)よく知っているものを認識または特定できないこと；(vi)突然の頭痛；(vii)目まい（Vertigo）；(viii)目まい（Dizziness）；(ix)協調運動障害；(x)嘔下困難；および(xi)眠気、昏迷、昏睡、意識障害、および/または意識不明。

【0035】

脳卒中イベントは、神経学的検査を用いることで検出することができ、この検査で異常な結果を示すことが予測される。さらに、患者は、眠そうで混乱したように見える場合がある。目の検査は、異常な眼球運動を示す場合があり、網膜検査（検眼鏡と呼ばれる器具を用いる目の裏側の検査）で変化が見られ得る。患者はまた、異常な反射も有し得る。コンピューター断層撮影は、脳の写真を提供することにより、脳出血の存在を確実にするであろう。脳磁気共鳴画像（MRI）スキャンもまた、出血が何によって引き起こされたかをよりよく理解するために、後に取得することができる。慣用の血管造影法（例えば、色素を用いた動脈のX線撮影）は、動脈瘤またはAVMを特定するために必要であり得る、他の検査としては、限定するものではないが、全血算、出血時間、プロトロンビン/部分トロンボプラスチン時間（PT/PTT）、およびCSF（脳脊髄液）検査が挙げられる。

20

30

【0036】

血栓症は、血管中の凝血塊（例えば、血栓（thrombus））の形成、発達、または存在として定義することができ、一般的な深刻な医学的障害であると考えられている。血栓症は、限定するものではないが、心筋梗塞、心虚血、および/または深部静脈血栓症をはじめとする様々な血管障害の発生に関与している可能性がある。

【0037】

動脈血栓症の最も頻繁にみられる例は、冠動脈血栓症であり、これは、冠動脈の閉塞および多くの場合に心筋梗塞（心臓発作）につながる。北米で毎年130万人を超える患者が心筋梗塞のために入院する。標準的な療法は、注入による血栓溶解タンパク質の投与である。急性心筋梗塞の血栓溶解治療は、治療を受けた患者1000人のうち30人の命を救うと推測され、それにもかかわらず、この障害についての30日致死率はかなりのものに留まっている（Mehta et al., Lancet 356:449-454 (2000)、参照により本明細書中に組み入れられる）。血栓症に由来する組織ダメージの大部分は、酸化ダメージが原因であると考えられる。慢性的もしくは急性的ポータス注入により、抗酸化剤または酸化ダメージを阻害するための薬剤を投与することが簡便であろう。

40

【0038】

冠動脈閉塞による心臓への不適切な酸素送達により引き起こされる不安定狭心症は、入院の最も一般的な原因であり、米国だけで年に150万症例を有する。

【0039】

深部静脈血栓症は、股関節形成術または膝関節形成術などの外科手術のよくある合併症

50

である。妊娠および出産に関連する静脈血栓症に、同様の考察が適用される。一部の人は、繰り返す静脈血栓症イベントを起こしやすく、現在は、クマリン型薬物などの抗血栓剤により治療されている。そのような薬物の用量は各患者で力価調整しなければならず、有効な抗血栓用量と、出血を増やす用量との間の余地は小さい。療法の一部としての抗酸化剤との併用療法は、塞栓（thromboly）および虚血に伴う酸化ダメージを低減させるのを助けるであろう。

【0040】

深部静脈血栓症は、限定するものではないが、(i)末端血流試験のドップラー超音波検査；(ii)脚の静脈造影法；または(iii)脚のプレチスモグラフィーをはじめとする検査により検出することができる。

10

【0041】

肺動脈塞栓は、脂肪、空気、凝血塊、または腫瘍細胞による肺の動脈の遮断である。肺動脈塞栓は、静脈、特に脚または骨盤内（臀部）の静脈中の凝血塊により最も頻繁に引き起こされる。それよりも稀に、気泡、脂肪滴、羊水、または寄生生物もしくは腫瘍細胞の塊が、肺血管を詰まらせる場合がある。肺塞栓の1つの原因は、深部静脈血栓症（DVT）（上記）と呼ばれる脚の静脈中の凝血塊である。多くのものは自然に解消するが、一部は深刻な病気または死さえも引き起こす場合がある。

【0042】

肺動脈塞栓に対するリスク因子としては、限定するものではないが、以下のものが挙げられる：(i)長期の床上安静または不活動（飛行機、自動車、または電車での長時間の旅

20

。

【0043】

肺塞栓の症状は、曖昧であるか、または他の疾患に関連する症状に似ている場合がある。症状としては、限定するものではないが、以下のものが挙げられる：(i)突然の咳；(ii)血痰（相当な量の視認できる血液または軽く血が混じった喀痰）；(iii)安静時または労作に伴う息切れの突然の発現；(iv)呼吸時にあばらを支えること（前かがみになるかまたは胸を押さえる）；(v)胸痛；(vi)呼吸促迫；または(vii)速い心拍（頻脈）。

30

【0044】

肺動脈塞栓は、限定するものではないが、以下の検査を用いて特定することができる：(i)動脈血ガス；(ii)パルスオキシメトリ；(iii)胸部X線；(iv)肺換気/血流スキャン；(v)肺血管造影；(vi)心電図；および(v)コンピュータ断層撮影肺血管造影。

【0045】

静脈血栓症は、凝血塊により引き起こされる静脈の膨張（炎症）である。そのような状態は、通常、長時間座ること（長時間の飛行機旅行など）の結果である。人の血液凝固の機会を増やす障害もまた、静脈血栓症につながる。表在性静脈炎は、皮膚表面近くの静脈を冒す。

40

【0046】

多くの場合に表在性静脈炎に関連する症状としては、限定するものではないが、以下のものが挙げられる：(i)静脈上の熱感および圧痛；(ii)罹患した身体部分での痛み；(iii)皮膚発赤（常にあるものではない）；または(iv)罹患した身体部分での炎症（腫脹）。静脈血栓症を検出するために、限定するものではないが、以下のものをはじめとする客観的検査を実施することができる：(i)ドップラー超音波法；(ii)静脈造影；および(iii)血液凝固試験。

【0047】

虚血クライシスが始めると、そのクライシスを、さらに重篤かつ止めることおよび治療することが困難なものにするイベントのカスケードが動き出す。これらの虚血クライシス

50

のカスケード性自己永続性の3つの側面が注目に値する。虚血傷害の部位への栄養素および酸素の減少に加えて、一連の過程は、炎症性ダメージおよび反応性酸素種の生成をもたらす。例えば、虚血性脳卒中に続く酸化ストレスは、過酸化水素 (H_2O_2)、ヒドロキシルラジカル ($HO\cdot$) およびスーパーオキシドアニオンラジカル ($O_2\cdot^-$) などの反応性酸素種の生成をもたらす、これらは脂質過酸化およびタンパク質修飾を引き起こし、神経および血管のダメージならびに臨床症状につながる。

【0048】

虚血はまた、リポキシゲナーゼ活性化を介するロイコトリエン産生につながる炎症カスケードの結果として生じる組織ダメージも引き起こす。リポキシゲナーゼ (LOX) は、アラキドン酸などの多価不飽和脂肪酸に分子酸素を取り込ませるジオキシゲナーゼであり、酸素の挿入部位に基づいて、一般的に、5-、12-、または15-LOXに分類される。近年の知見は、12/15-LOXが、虚血誘導性神経細胞欠失に重要であり得ることを示唆する。さらに、虚血でのGSHレベルの早期減少と12-LOXの活性化との間に相関があることが明らかになっている。in vitro細胞培養アッセイを用いて、12-LOX阻害剤が、グルタミン酸誘導性細胞死を阻止すること、ならびに5-LOX阻害剤および12-LOX阻害剤の両者が海馬スライス培養での虚血傷害を阻止することが示されている。

10

【0049】

下記でさらに完全に説明される通り、本開示は、上記の虚血傷害のうちのいずれかを治療するために有用な方法および組成物を提供する。一実施形態では、本開示は、直接的または間接的に、虚血傷害を低減させるシステアミン生成物 (例えば、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体または上記のうちのいずれかの製薬上許容される塩) の使用を提供する。一実施形態では、本開示は、例えば、システアミン生成物の投与により、対象者でのアディポネクチンレベルの促進を通じて虚血傷害を治療するための方法および組成物を提供する。

20

【0050】

アディポネクチン (ときには、GBP-28、apM1、AdipoQおよびAcrp30と称される) は、ヒトではADIPOQ遺伝子によりコードされるタンパク質である。アディポネクチンは、グルコースレベル、脂肪酸異化および炎症をはじめとする多数の代謝プロセスを変化させるタンパク質ホルモンである。アディポネクチンは、脂肪組織から血流中に分泌され、多くのホルモンと比較して血漿中に非常に豊富である。該ホルモンのレベルは、成人では体脂肪と逆相関する。アディポネクチンは血流中に分泌され、血流中では、約5~10 $\mu\text{g/mL}$ で、すべての血漿タンパク質の約0.01%である。アディポネクチンのレベルは、非糖尿病患者と比較して、糖尿病患者で低下する。

30

【0051】

アディポネクチンは、自動的に自己会合して、より大きな構造になる (例えば、高分子量 (HMW)、中分子量 (MMW) および低分子量 (LMW) 多量体)。最初は、3個のアディポネクチン分子が一緒に結合して、ホモ三量体を形成する。該三量体は、自己会合し続け、六量体または12量体を形成する。アディポネクチン単量体は、N末端シグナル配列、コラーゲン様ドメインおよびC末端球状ドメインの3つのドメインを有する。各LMW三量体のコラーゲン様ドメイン内で、未結合Cys-36残基が別の三量体と結合してMMW六量体を形成することができ、これが次に、より大きなHMWオリゴマー多量体を形成することができる (例えば、図2Aを参照されたい)。

40

【0052】

アディポネクチン多量体は、ジスルフィド交換反応 (おそらくはhEROおよびERp44を介する) を含むプロセスにより脂肪細胞内で組み立てられ、その後放出されて、血流中で循環する。細胞外腔へのこれらのタンパク質の放出は、ジスルフィド結合形成 (例えば、電子移動および酸化を介する) を通じて達成される正しい三次元構造配置に依存する。過剰な酸化は、細胞内でのタンパク質の凝集および過剰蓄積につながり得る。ジスルフィド結合の形成を通じてフォールディングすることに失敗すると、アディポネクチンタンパク質が細胞内に留まり、そこで分解されるであろう。ヒト細胞では、チオレドキシンドメイ

50

ンを含む小胞体タンパク質であるErp44に助けられて、Ero1-L およびEro1-L (hERO) が、継続的にタンパク質ジスルフィドイソメラーゼ (PDI) 媒介ジスルフィド結合形成を酸化する。ERp44は、hEROおよびカーゴ・フォールディング中間体 (cargo folding intermediate) との混合ジスルフィド (おそらくはシステイン末端を介して) を形成する。正常な生理的条件下で、LMW、MMW、およびHMWアディポネクチン多量体は血液循環中へと分泌され、そこではそれらは通常、相互転換可能でない。多量体間の細胞外での相互転換の欠如に加えて、この厳密に制御されたアディポネクチンの産生および放出は、異なる細胞で異なるシグナル誘導機能を有するアディポネクチンと矛盾しない。LMW型は、特に肝臓および骨格筋でインスリン作用を促進することにより血糖レベルを低下させることでは、他の型よりも生物学的に活性であることが示されている。アディポネクチンはまた、虚血傷害後に有益な機能を果たすことも実証されている。また、アディポネクチンは、その抗炎症作用を通して、脳保護機能を有することが示されている。しかしながら、アディポネクチンの送達は困難であり、さらなる研究開発が必要である。

10

【0053】

これらのシャペロンタンパク質の機能は、最適な細胞内条件および小胞体の弱い酸化環境に依存する。過剰な酸化は、アディポネクチン分子の異常なフォールディング、凝集、細胞内蓄積および最終的には分解につながり得る。したがって、肥満、II型糖尿病、インスリン抵抗性、心臓血管疾患および非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) などの酸化ストレスに関連する条件では、アディポネクチンの産生および放出は減少するであろう。さらに、肥満、糖尿病、心臓血管疾患および非アルコール性脂肪肝疾患を有する対象者は、虚血傷害/クライシスに対するリスクが高い。

20

【0054】

上記の通り、アディポネクチン生合成は、アディポネクチンと小胞体 (ER) シャペロンタンパク質との間の混合ジスルフィド中間体の形成および分解に依存する。システアミンおよびシスタミンは、スルフヒドリル含有物質であり、細胞プロセスに対して還元性同等物 (reducing equivalents) 当量を提供する能力を有する。本開示は、システアミンを用いた *in vivo* 治療が、アディポネクチンの循環レベルを著明に増大させることを実証する。いずれかの特定の作用機序に拘泥することを望むものではないが、データは、システアミンが、還元性同等物を提供することにより、細胞内アディポネクチンのジスルフィド結合した「連結型」プールを解放するように作用し得ることを示唆する。あるいは、システアミンは、循環中多量体アディポネクチンの相互転換を促進し、細胞レベルで最も強い作用強度を有するLMWアディポネクチンの濃度を増加させるように作用し得る。システアミン生成物の投与は、HMWアディポネクチンを含むアディポネクチンの総量をさらに増加させ得る。さらに、システアミンは、虚血傷害の部位での酸化ダメージを食い止めるかまたは低減させることができる抗酸化特性そのものを有する。上記で列挙した複数のメカニズムにかかわらず、データは、虚血傷害の低減における、システアミン生成物 (例えば、システアミンもしくはその誘導体、またはシスタミンもしくはその誘導体) の有益な作用を実証する。

30

【0055】

システアミン ($\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$) は、そのサイズの小ささによって、細胞膜を容易に通過することができる。現在では、システアミンは、リソソーム内シスチン蓄積障害である、シスチン症 (cystinosis) の治療に対してのみ、FDA承認されている。シスチン症では、システアミンは、シスチンをシステインおよびシステイン-システアミン混合ジスルフィドに変換することにより作用し、これらの両方が、その後、それぞれシステイントランスポーターおよびリシントランスポーターを介して、リソソームから離れることができる (Gahl et al., *N Engl J Med*, 347(2):111-21, 2002)。システアミンを用いた治療は、循環白血球での細胞内シスチンレベルの低下をもたらすことが示されている (Dohil et al., *J. Pediatr*, 148(6):764-9, 2006)。システアミン生成物は、以前には、虚血の治療に有用であることは示されていない。

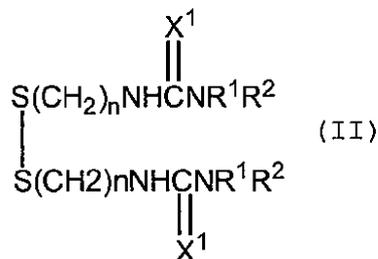
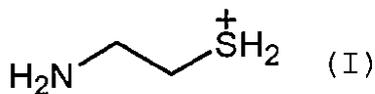
40

【0056】

50

本開示は、虚血傷害疾患および障害の治療で有用なシステアミン生成物を提供する。「システアミン生成物」とは、システアミンもしくはその誘導体、またはシスタミンもしくはその誘導体、生物学的に活性なこれらの代謝物、またはシステアミンもしくはシスタミンの組み合わせを意味し、上記のうちのいずれかの製薬上許容される塩、そのエステル、アミド、アルキル化合物、プロドラッグ、アナログ、リン酸化化合物、硫酸化化合物、またはその他の化学的修飾形態などを含む。そのような誘導体としては、例えば、生物学的に活性な代謝物；エステル化、アルキル化（例えば、C1、C2またはC3）、標識化（例えば、放射性核種または種々の酵素を用いる）、PEG化（ポリエチレングリコールを用いた誘導体化）などの共有的ポリマー連結などの技術による該化合物の化学的修飾形態；またはその混合物が挙げられる。一部の実施形態では、システアミン生成物としては、限定するものではないが、塩酸塩、酒石酸水素塩、リン酸化誘導体、および硫酸化誘導体が挙げられる。他のシステアミン生成物の例としては、2-アミノプロパンチオール-1、1-アミノプロパンチオール-2、N-およびS-置換システアミン、AET、アミノアルキル誘導体、ホスホロチオエート、アミホスチン（米国特許第4,816,482号）が挙げられる。一実施形態では、システアミン生成物は、特に、N-アセチルシステインを除外する。一実施形態では、システアミン生成物は、限定するものではないが、構造Iおよび/またはIIを含む：

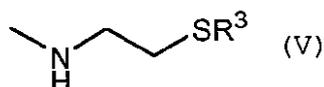
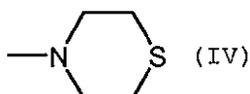
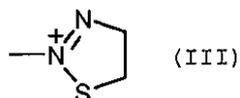
【化1】



【0057】

[式中、nは2または3を表し、R₁およびR₂はそれぞれ水素原子、または任意によりヒドロキシ、アミノ、アルキルアミノもしくはジアルキルアミノ基で置換されたアルキル基を表すか、あるいはシクロアルキルまたはアリール基を表し、X₁は=N-CN、=N-NO₂、=N-COR₄、=N-NR-COOR₄、=N-NR-CONH₂、=N-SO₂R₄、=CH-NO₂、-CH-SO₂R₄、=C(CN)₂、=C(CN)COOR₄および=C(CN)CONH₂からなる群より選択され、ここで、R₄はアルキルまたはアリール基である]。別の態様では、システアミン生成物は、以下の基からなる群より選択されるいずれかの数の非毒性基に連結されたシステアミン基（cysteamine radical）を含むことができる：

【化2】



【0058】

[式中、R³は水素原子または1～10個の炭素原子を有する直鎖もしくは分岐鎖アルキル基を表す]。

【0059】

システアミン生成物の製薬上許容される塩もまた含まれ、これは、製薬上許容されるアニオンおよび/またはカチオンを含む。製薬上許容されるカチオンとしては、とりわけ、

10

20

30

40

50

アルカリ金属カチオン（例えば、 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ ）、アルカリ土類金属カチオン（例えば、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} ）、非毒性重金属カチオンならびにアンモニウム（ NH_4^+ ）および置換型アンモニウム（ $\text{N}(\text{R}')_4^+$ 、式中、 R' は水素、アルキルまたは置換型アルキルであり、すなわち、メチル、エチル、またはヒドロキシエチルを含み、具体的には、トリメチルアンモニウム、トリエチルアンモニウム、およびトリエタノールアンモニウムカチオンである）が挙げられる。製薬上許容されるアニオンとしては、とりわけ、ハロゲン化物（例えば、 Cl^- 、 Br^- ）、硫酸アニオン、酢酸アニオン（例えば、酢酸アニオン、トリフルオロ酢酸アニオン）、アスコルビン酸アニオン、アスパラギン酸アニオン、安息香酸アニオン、クエン酸アニオン、および乳酸アニオンが挙げられる。

【0060】

本開示は、特定のシステアミンもしくはシスタミンの塩またはエステルまたは誘導体に限られず；本開示のシステアミン生成物組成物は、いずれかのシステアミンもしくはシスタミン、システアミンもしくはシスタミン誘導体、またはシステアミンおよびシスタミンの組み合わせを含むことができる。組成物中の活性薬剤（例えば、システアミンまたはシスタミン）は、製薬上許容される塩、エステル、アミド、プロドラッグもしくはアナログの形態で、またはそれらの組み合わせとして投与することができる。活性薬剤の塩、エステル、アミド、プロドラッグおよびアナログは、合成有機化学の分野の当業者に公知の標準的な手順を用いて調製することができ、例えば、J.Marchにより記載されている（"Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure," 4th Ed. (New York: Wiley-Interscience, 1992)。例えば、塩基付加塩は、活性薬剤の1つ以上の遊離ヒドロキシル基と好適な塩基との反応を含む慣用の手段を用いて、中性の薬物から調製される。一般的に、薬物の中性形態を、メタノールまたはエタノールなどの極性有機溶媒中に溶解させ、それに塩基を添加する。得られる塩は、沈殿するか、またはより極性の低い溶媒の添加により溶液から取り出すことができる。塩基付加塩を形成するために好適な塩基としては、限定するものではないが、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム、トリメチルアミンなどの無機塩基が挙げられる。エステルの調製は、該薬物の分子構造内に存在し得るヒドロキシル基の官能化を含む。エステルは、典型的には、遊離アルコール基のアシル置換誘導体（すなわち、式 R-COOH （ R はアルキルであり、典型的には低級アルキルである）のカルボン酸に由来する部分）である。エステルは、所望の場合、慣用の水素化分解または加水分解手順を用いることにより、遊離酸に再変換することができる。アミドおよびプロドラッグの調製は、類似の方法で実行することができる。活性薬剤の他の誘導体およびアナログは、合成有機化学の分野の当業者に公知の標準的技術を用いて調製することができるか、または関連文献を参照することにより推測することができる。

【0061】

システアミン生成物は、標的化送達または持続送達のために製剤化することができる。例えば、システアミンは、小腸への送達または下部消化管の所望のpHでの送達を促進するために、腸溶コーティングすることができる。腸溶コーティング薬または腸溶コーティング錠とは、一般的に、該薬物または錠剤が胃を通過するように完全または実質的に完全なままであるが、小腸では溶解して薬物を放出する物質（「腸溶コーティング」）を用いてコーティングされている薬物または錠剤を意味する。腸内送達、遅延放出および持続放出製剤は、鎌状赤血球症などの慢性虚血性疾患および障害を治療するために、特に好適である。

【0062】

本開示の製剤のいずれも、持続放出剤形で投与することができる。持続放出製剤は、該製剤の繰り返し投与の必要のない、長期間にわたる送達の利点を有する。

【0063】

持続放出は、例えば、ウエハー、免疫ビーズ（immunobead）、マイクロポンプまたはシステアミン生成物もしくは組み合わせ製剤の制御徐放を提供する他の材料などの持続放出材料を用いて達成することができる。そのような制御放出材料は、当技術分野で周知であ

10

20

30

40

50

り、商業的供給源から入手可能である。また、ポリ乳酸、ポリガラクト酸 (polygalactic acid)、再生コラーゲン (regenerated collagen)、多層リポソームまたは他の慣用のデポー製剤などの生体内分解性 (bioerodible) または生分解性 (biodegradable) 材料を、本発明の活性薬剤と共に製剤化することができ、システアミン生成物、血栓症薬 (thrombotic)、スピントラップ (spin trap)、およびNMDAアンタゴニスト剤を緩慢に放出するために移植することができる。注入ポンプ、マトリックス封入システム、および経皮送達デバイスの使用もまた、本発明で考慮される。

【0064】

活性薬剤/製剤はまた、ミセルまたはリポソーム中に有利に封入することもできる。リポソームカプセル化技術は周知である。リポソームは、所望の組織中の抗原または標的に結合することが可能な受容体、リガンドまたは抗体の使用を通じて、神経組織などの特定の組織に標的化することができる。これらの製剤の調製は、当技術分野で周知である (例えば、Pardridge, 上掲(1991)、およびRadin and Metz, Meth Enzymol. 98:613-618 (1983)を参照されたい)。

10

【0065】

システアミン生成物はまた、追加の製薬上許容される担体またはビヒクルを含むこともできる。製薬上許容される担体またはビヒクルとは、一般的に、対象者への投与に好適な材料を意味し、ここで、該担体またはビヒクルは生物学的に有害でないか、または望ましくない作用を引き起こさない。そのような担体またはビヒクルは、典型的には、薬剤の不活性成分である。典型的には、担体またはビヒクルは、いかなる望ましくない生物学的作用も引き起こすことなく、またはそれが含まれる医薬組成物中の他の成分のうちのいずれかと有害な様式で相互作用することなく、活性成分と共に対象者に投与される。

20

【0066】

システアミン生成物または他の活性成分は、製薬上許容される塩、エステルまたは他の誘導体を含むことができる。例えば、塩、エステルまたは他の誘導体は、親化合物と比較して同様の生物学的作用を有する生物学的に活性な形態である。例示的な塩としては、塩酸塩およびビス酒石酸塩 (bistartrate salt) が挙げられる。

【0067】

製薬的担体としては、特に、化合物中に塩基性基または酸性基が存在する製薬上許容される塩が挙げられる。例えば、--COOHなどの酸性置換基が存在する場合、アンモニウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩などの塩が、投与のために考慮される。また、酸性基が存在する場合、化合物の製薬上許容されるエステル (例えば、メチル、tert-ブチル、ピバロイルオキシメチル、スクシニルなど) が化合物の好ましい形態として考慮され、そのようなエステルは、持続放出製剤またはプロドラッグ製剤としての使用のために溶解度および/または加水分解特性を変化させるために、当技術分野で公知である。

30

【0068】

塩基性基 (アミノまたは塩基性ヘテロアリアル基 (ピリジルなど) など) が存在する場合、塩酸塩、臭化水素酸塩、酢酸塩、マレイン酸塩、パモ酸塩、リン酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩などの酸性塩が、投与のための形態として考慮される。

【0069】

さらに、化合物は、水または一般的な有機溶媒との溶媒和物を形成することができる。そのような溶媒和物は、同様に考慮される。

40

【0070】

本開示の活性成分、医薬組成物その他の組成物は、安定化剤を含むことができる。安定化剤とは、一般的に、貯蔵の環境条件下で、医薬品、特に経口医薬製剤が分解する速度を遅くする化合物を意味する。一部の安定化剤は、血管内送達のために好適である。例えば、以下の安定化剤のうちの1種以上を、血管内送達のためにシステアミン生成物を製剤化するのに用いることができる： - トコフェロール、2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール (BHT)、酢酸トコフェロール、2-tert-ブチル-4-ヒドロキシアニソールおよび/または3-tert-ブチル-4-ヒドロキシアニソール (BHA)、没食子酸ドデシル、アセテートお

50

よびアスコルビン酸。

【0071】

本明細書中で用いる場合、「治療上有効量」または「有効量」とは、症状の改善（例えば、関連する医学的状態の治療、治癒、予防もしくは改善、またはそのような状態の治療、治癒、予防もしくは改善の速度の増加）をもたらす、典型的には治療集団で統計学的に有意な改善を与えるのに十分な、システアミン、システアミン誘導体、シスタミン、シスタミン誘導体またはその塩の量を意味する。単独で投与される個別の活性成分に言及する場合、治療上有効用量とは、その成分単独を指す。組み合わせに言及する場合、治療上有効用量とは、連続的または同時投与を含む組み合わせでの投与であるか否かにかかわらず、治療効果をもたらす活性成分の併用量を意味する。一実施形態では、システアミン生成物の治療上有効量は、症状を改善し、これには、限定するものではないが、炎症性ダメージ、酸化ダメージ、酸化物質の量の減少、急性もしくは慢性虚血イベントの結果生じる虚血傷害の減少、アディポネクチンレベルの上昇および/またはLMWアディポネクチンの増加が挙げられる。

10

【0072】

本明細書中で用いる場合、「虚血傷害を緩和する量」または「有効量」との用語は、組織ダメージを軽減すること、行動変化を軽減すること、または損傷組織の再灌流を促進することによるか否かにかかわらず、虚血傷害の減少を引き起こすのに有用な、システアミン生成物を含む組成物の量を意味する。全身投与するための有効量は、対象者の体重に依存する。典型的には、全身投与するための有効量は、約0.1mg/kg～約100mg/kg（例えば、約0.5mg/kg～約20mg/kg）である。有効量は、当然ながら、例えば、対象者（例えば、ヒトなどの哺乳動物）の年齢および体重、治療を必要とする正確な症状およびその重症度、投与経路を含む多数の因子に依存し、最終的には、主治医または獣医師の裁量によるであろう。

20

【0073】

活性成分としてシステアミン生成物を含有する本開示の医薬組成物は、投与経路に応じて、製薬上許容される担体または添加剤を含有することができる。そのような担体または添加剤の例としては、以下のものが挙げられる：水、製薬上許容される有機溶媒、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルデンプンナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、エチルセルロース、キサントガム、アラビアゴム、カゼイン、ゼラチン、寒天、ジグリセリン、グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ワセリン、パラフィン、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン（HSA）、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、製薬上許容される界面活性剤など。用いる添加剤は、限定するものではないが、本開示の投与剤形に応じて、適宜、上記のものまたはそれらの組み合わせから選択される。

30

【0074】

医薬組成物の製剤化は、選択した投与経路に応じて変わるであろう（例えば、溶液剤、乳剤、コーティング錠剤）。投与されるシステアミン生成物を含む適切な組成物は、生理学的に許容されるビヒクルまたは担体中で調製することができる。溶液剤または乳剤に関して、好適な担体としては、例えば、生理食塩液および緩衝媒体をはじめとする水性またはアルコール/水性溶液、エマルションまたは懸濁液が挙げられる。非経口投与用ビヒクルとしては、塩化ナトリウム溶液、デキストロース加リンゲル液（Ringer's dextrose）、デキストロースおよび塩化ナトリウム、乳酸加リンゲル液または固定油が挙げられる。静脈内投与用ビヒクルとしては、種々の添加剤、保存剤、または液体、栄養素もしくは栄養補剤が挙げられる。

40

【0075】

様々な水性担体（例えば、水、緩衝水、0.4%食塩水、0.3%グリシン、または水性懸濁液）が、水性懸濁液の製造に好適な賦形剤と混合して、活性化化合物を含有することができ

50

る。そのような賦形剤は、懸濁化剤、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガカントゴムおよびアラビアゴムであり；分散剤または湿潤化剤は、天然に存在するホスファチド（例えば、レシチン）、またはアルキレンオキシドと脂肪酸との縮合生成物（例えば、ステアリン酸ポリオキシエチレン）、またはエチレンオキシドと長鎖脂肪族アルコールとの縮合生成物（例えば、ヘプタデカエチレンオキシセタノール（heptadecaethyleneoxycetanol））、またはエチレンオキシドと、脂肪酸およびヘキシトール（hexitol）に由来する部分エステルとの縮合生成物（例えば、ポリオキシエチレンソルビトールモノオレエート）、またはエチレンオキシドと、脂肪酸および無水ヘキシトールに由来する部分エステルとの縮合生成物（例えば、ポリエチレンソルビタンモノオレエート）であり得る。水性懸濁液はまた、1種以上の保存剤（例えば、p-ヒドロキシ安息香酸エチルまたはn-プロピル）、1種以上の着色剤、1種以上の香料、および1種以上の甘味料（スクロースまたはサッカリンなど）を含有することができる。

10

【0076】

一部の実施形態では、本開示のシステアミン生成物は、保存のために凍結乾燥して、使用前に好適な担体中に再構成することができる。いずれかの好適な凍結乾燥技術および再構成技術を用いることができる。凍結乾燥および再構成は、様々な程度の活性喪失をもたらす場合があり、使用レベルを調節して補わなければならないことが、当業者により理解される。

【0077】

20

水を加えることによる水性懸濁液の調製に好適な分散性粉末および顆粒は、分散剤または湿潤化剤、懸濁化剤および1種以上の保存剤と混合した活性化化合物を提供する。好適な分散剤または湿潤化剤および懸濁化剤は、上記で既に言及したものにより例示される。追加の賦形剤（例えば、甘味料、香料および着色剤）もまた存在し得る。

【0078】

一実施形態では、本開示は、腸溶コーティングシステアミン生成物組成物の使用を提供する。腸溶コーティングは、システアミン生成物が消化管、典型的には小腸に到達するまで、放出を引き延ばす。腸溶コーティングによって、小腸への送達が改善され、それにより、胃での副作用を低減しつつ、活性成分の取り込みが改善される。

【0079】

30

一部の実施形態では、コーティング材料は、剤形が小腸またはpHがpH 4.5より高い領域に到達した際に治療上活性な薬剤が放出されるように、選択される。コーティングは、胃の低pH環境では完全なままであるが、患者の小腸で通常見出されるpHでは崩壊または溶解する、pH感受性材料であり得る。例えば、腸溶コーティング材料は、pHが約4.5～約5.5の水溶液中で溶解し始める。例えば、pH感受性材料は、剤形が胃からなくなるまで、顕著に溶解しないであろう。小腸のpHは、十二指腸球部での約4.5～約6.5から、小腸の遠位部分での約7.2まで徐々に上昇する。約3時間（例えば、2～3時間）の小腸通過時間に対応する予測可能な溶解をもたらす、そこでの再現可能な放出を可能にするために、コーティングは、小腸内のpH範囲で溶解し始めなくてはならない。したがって、腸溶ポリマーコーティングの量は、近位腸および腸中央部などの小腸内での約3時間の通過時間の間に実質的に溶解するのに十分でなければならない。

40

【0080】

腸溶コーティングは、経口摂取可能な剤形からの薬物の放出を止めるために、長年用いられている。組成および/または厚みに依存して、腸溶コーティングは、それらが崩壊し始めて胃の下部または小腸の上部での薬物の放出を可能にする前に必要とされる時間、胃酸に対して抵抗性である。一部の腸溶コーティングの例が、米国特許第5,225,202号（参照により本明細書中に完全に組み入れられる）に開示されている。米国特許第5,225,202号に説明されている通り、以前に用いられていたコーティングの一部の例は、蜜ろうおよびモノステアリン酸グリセリン；蜜ろう、シェラックおよびセルロース；ならびにセチルアルコール、マスチック樹脂およびシェラック、ならびにシェラックおよびステアリン酸

50

(米国特許第2,809,918号) ; ポリ酢酸ビニルおよびエチルセルロース (米国特許第3,835,221号) ; およびポリメタクリル酸エステルの中性コポリマー (Eudragit(登録商標) L30D) (F. W. Goodhart et al., Pharm. Tech., pp. 64-71, April 1984) ; メタクリル酸およびメタクリル酸メチルエステルのコポリマー (Eudragit) 、またはステアリン酸金属塩を含有するポリメタクリル酸エステルの中性コポリマー (Mehta et al., 米国特許第4,728,512号および同第4,794,001号) である。そのようなコーティングは、脂質および脂肪酸の混合物、シェラックおよびシェラック誘導体ならびにセルロース酸フタル酸エステル (cellulose acid phthalates) (例えば、遊離カルボキシル含量を有するもの) を含む。好適な腸溶コーティング組成物の説明については、Remingtonの教科書、第1590頁、およびZeitovaら (米国特許第4,432,966号) を参照されたい。したがって、システアミン生成物組成物の腸溶コーティングによる小腸での吸収の増加は、有効性の改善をもたらし得る。

10

【0081】

一般的に、腸溶コーティングは、胃の低pH環境ではシステアミン生成物の放出を妨げるが、若干高いpH (典型的にはpH4~5) ではイオン化し、したがって小腸では十分に溶解して、そこで活性薬剤を徐々に放出する、ポリマー性材料を含む。したがって、最も効果的な腸溶コーティング材料は、約3~5の範囲のpKaを有するポリ酸である。好適な腸溶コーティング材料としては、限定するものではないが、以下のものが挙げられる：重合ゼラチン、シェラック、メタクリル酸コポリマーC NF型、酪酸フタル酸セルロース (cellulose butyrate phthalate) 、フタル酸水素セルロース (cellulose hydrogen phthalate) 、プロピオン酸フタル酸セルロース (cellulose proprionate phthalate) 、酢酸フタル酸ポリビニル (PVAP) 、酢酸フタル酸セルロース (CAP) 、トリメリト酸酢酸セルロース (CAT) 、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテート、ジオキシプロピルメチルセルローススクシネート、カルボキシメチルエチルセルロース (CMEC) 、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートスクシネート (HPMCAS) 、ならびにアクリル酸ポリマーおよびコポリマー (典型的にはアクリル酸メチル、アクリル酸エチル、メタクリル酸メチルおよび/またはメタクリル酸エチルと、アクリル酸エステルおよびメタクリル酸エステルのコポリマーとから形成されるもの) (Eudragit(登録商標) NE、Eudragit(登録商標) RL、Eudragit(登録商標) RS) 。例えば、腸溶コーティングは、Eudragit(登録商標) L30D、クエン酸トリエチル、およびヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) を含むことができ、ここで、コーティングは、最終生成物の10~13%を構成する。

20

30

【0082】

一実施形態では、システアミン生成物組成物は、錠剤剤形で投与される。種々の実施形態で、錠剤は、最初にシステアミン生成物を腸溶コーティングすることにより製造される。本明細書中の錠剤を形成する方法は、腸溶コーティングされたシステアミン生成物を含有する粉末を、任意により希釈剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、着色剤、安定化剤などと組み合わせ、直接圧縮することによる。種々の実施形態で、錠剤は、賦形剤をシステアミン生成物と混合するステップ、錠剤を圧縮するステップおよび腸溶コーティングするステップにより製造される。直接圧縮の代替法として、圧縮錠剤は、湿式造粒法、乾式造粒法またはローラー圧縮法を用いて調製することができる。錠剤はまた、好適な水溶性滑沢剤を含有する湿潤材料から出発して、圧縮するのではなく型に入れて作製することもできる。生物学的に利用可能な鉄を、胃投与製剤/経口投与製剤に含めて、システアミン生成物の取り込みを促進させることができる。

40

【0083】

本開示は、虚血傷害の部位での対象者での酸化ダメージを低減するのに有効な量で、システアミン生成物 (例えば、システアミンもしくはその誘導体、またはシスタミンもしくはその誘導体) を投与するステップを含む、虚血傷害および酸化ダメージに関連した炎症を治療する方法を提供する。該方法および組成物は、虚血イベントの前に、それと同時にまたはその後、対象者にシステアミン生成物を送達するステップを含む。一部のまたは

50

いずれかの実施形態では、システアミン生成物は、虚血傷害を低減させるのに有効な量で、急性虚血イベントと同時に、またはそのすぐ後の一定時間内に送達される。投与されたシステアミン生成物は、酸化ダメージの低減、酸化ダメージを阻害するためのアディポネクチン産生/循環の促進をはじめとする1種以上の効果を有する。

【0084】

本開示は、有効量のシステアミン生成物（例えば、システアミンもしくはその誘導体、またはシスタミンもしくはその誘導体、あるいは製薬上許容されるこれらの塩）を対象者に投与するステップを含む、対象者でのアディポネクチンレベルを促進するための方法および組成物を提供する。本開示は、細胞または対象者をシステアミン生成物と接触させることが、システアミン生成物の非存在下での同じ細胞または対象者と比較して、アディポネクチンレベルを上昇させることを実証する。一実施形態では、システアミンもしくはその誘導体、またはシスタミンもしくはその誘導体、あるいは製薬上許容されるこれらの塩は、アディポネクチンの低分子量多量体の産生を促進できる。

10

【0085】

本開示は、対象者でのアディポネクチンレベルを上昇させ、かつ/またはGSHレベルを変化させるのに有効な量で、システアミン生成物（例えば、システアミンもしくはその誘導体、またはシスタミンもしくはその誘導体、あるいは製薬上許容されるこれらの塩）を投与するステップを含む、虚血傷害および炎症を治療する方法を提供する。該方法および組成物は、虚血イベントの前に、それと同時にまたはその後、対象者にシステアミン生成物を送達するステップを含む。一部のまたはいずれかの実施形態では、システアミン生成物は、虚血傷害を低減させ、かつ/またはアディポネクチンレベルを上昇させるのに有効な量で、急性虚血イベントと同時に、またはそのすぐ後の一定時間内に送達される。一実施形態では、アディポネクチンレベルの上昇は、低分子量アディポネクチン多量体のレベルの上昇である。

20

【0086】

本開示は、アディポネクチンレベルおよび特にLMWアディポネクチンを増加させるための方法および組成物を提供する。さらに、本開示は、虚血傷害を治療するための方法および組成物を提供する。他の実施形態では、本開示は、アディポネクチンレベルを上昇させるのに有効な量でシステアミン生成物を用いる、上昇したアディポネクチンレベル（例えば、LMWアディポネクチン）を必要とする対象者の治療を提供する。対象者は、急性虚血イベント、虚血傷害を有する対象者または急性虚血イベントを有する蓋然性がある対象者であり得る。対象者は、血栓性障害を有する対象者であり得る。対象者は、糖尿病（例えば、II型糖尿病を有する対象者）または肥満の対象者であり得る。一部の実施形態では、糖尿病または肥満の対象者は、健康な対象者の集団（例えば、肥満でないかまたは糖尿病でない対象者）と比較して、低いLMWアディポネクチンレベル、または高いHMWアディポネクチンレベルを有する。一部の実施形態では、対象者は、糖尿病対象者でない。一部の実施形態では、対象者は、高コレステロール血症を有しない。

30

【0087】

本開示は、虚血のリスクを増大させる慢性疾患を治療するための方法および組成物を提供する。虚血傷害/クライシスの増大したリスクを有する慢性疾患としては、限定するものではないが、以下のものが挙げられる：アテローム性動脈硬化（動脈の内腔を詰まらせる脂質含有プラーク）；低血糖（グルコースの正常レベルよりも低いレベル）；頻脈（異常に速い心臓の拍動）；低血圧（低い血圧；例えば、敗血性ショック、心不全でのもの）；血栓塞栓症（血液凝固；例えば、癌に関連するもの）；血管の外側の圧迫（例えば、腫瘍による、または上腸間膜動脈症候群の場合）；塞栓症（血液循環中の異物、例えば、羊水塞栓症）；鎌状赤血球症（異常な形状の赤血球）；および貧血。そのような慢性疾患の治療で、あまり頻繁に投薬されない組成物は、経口投与できるかまたは（vs.）IV投与することができ、持続/遅延放出製剤が特に有用である。例えば、本開示は、4.5より高いpHで放出され、Cystagon(登録商標)よりも少ない頻度で投薬される、腸溶コーティングされたシステアミン生成物を提供する。そのような送達のための製剤はまた、生物学的に利用

40

50

可能な鉄補助剤またはシステアミン生成物の取り込みを促進する成分を含むことができる。対象者が臨床の場にいる場合、IV投与を長時間にわたって用いることができる。例えば、システアミン生成物を、IV投与用の安定化剤を含む製薬上許容される緩衝液中に製剤化することができる。

【0088】

本開示はまた、哺乳動物での再灌流中に危険にさらされた組織に対するダメージを阻害するための方法も提供し、該方法は、有効量のシステアミン生成物を単独で、または本明細書中に記載される通りの他の治療剤（例えば、血栓溶解剤、フリーラジカル捕捉剤など）と組み合わせて、哺乳動物に投与するステップを含む。

【0089】

複数の薬剤は、別個の製剤中で同時にもしくは連続的に投与することができ、または単一の製剤中で同時に投与することができる。いずれにしても、複数の薬剤のうちの2番目または3番目等の投与での遅延が、組織ダメージの阻害における、in vivoでの該薬剤の組み合わせの強化された効果の利益を損なうものであってはならない。

【0090】

上述の通り、システアミン生成物組成物は、経口投与、非経口投与、眼内投与（transocularly）、鼻内投与、経皮投与、経粘膜投与、吸入スプレーによる投与、腔内投与、直腸投与、脳脊髄液中への投与、または頭蓋内注入による投与のために調製することができる。本明細書中で用いる場合、非経口投与との用語は、皮下注入、静脈内投与、筋内投与、嚢内注入、または点滴技術を含む。静脈内注入、皮内注入、筋内注入、乳房内注入、腹腔内注入、髄腔内注入、球後注入、肺内注入による投与、および/または特定の部位への外科移植による投与が、同様に考慮される。一般的に、上記の方法のうちのいずれかによる投与のための組成物は、本質的に、発熱物質ならびにレシピエントに対して有害であり得る他の不純物を含まない。さらに、非経口投与のための組成物は、無菌である。

【0091】

直接的な頭蓋内注入または脳脊髄液中への注入もまた、有効量のシステアミン生成物を導入するために用いることができる。システアミン生成物は、本明細書中に記載される通り、他の治療剤と併用することができる。

【0092】

血管内点滴は、通常、点滴バッグもしくは点滴瓶、または電動式点滴シリンジに入れられた点滴液を用いて行われる。溶液は、重力送りによるかまたは点滴ポンプの使用により、対象者に、点滴バッグまたは点滴瓶から送達することができる。一部の例では、重力送り点滴システムの使用は、点滴液の投与速度に対して十分な制御をもたらさず、したがって、比較的高濃度のスピントラップ/血栓溶解製剤を含有する溶液を用いる場合は特に、点滴ポンプの使用が望ましい場合がある。電動点滴シリンジは、投与速度に対してさらに強い制御を与え得る。

【0093】

例えば、急性虚血性脳卒中に関連する神経損傷の治療のために、システアミン生成物製剤（例えば、システアミン、シスタミンまたは上記のうちのいずれかの誘導体を含む）の適切な一日全身投与量は、対象者の体重に基づき、約0.1 µg/kg ~ 約100mg/kgの範囲内にあるが、約0.1mg/kg ~ 約100mg/kg、または約0.5mg/kg ~ 約20mg/kgの投与量もまた考慮される。従って、典型的な70kgのヒトに対して、全身投与量は、一日約7 µg ~ 約7,000mgであり得る。局所投与される物質の一日投与量は、全身投与量よりも概ね一桁低い程度のものであろう。経口投与もまた考慮される。

【0094】

システアミン生成物は、虚血傷害（例えば、急性虚血傷害）の部位に局所的に投与することができ、または全身的に投与してもよい。一実施形態では、システアミン生成物は、虚血傷害のリスクがある可能性がある対象者（例えば、鎌状赤血球症を有する対象者）に、一定期間にわたって慢性的にまたは連続的に投与することができる。投与のための経路および製剤は、慢性または急性治療に応じて変わり得る。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 5 】

一実施形態では、システアミン生成物は、虚血傷害の時点で、または虚血イベントもしくは虚血傷害の直後の一定時間内に、急性的に投与することができる。該一定時間は、数分（例えば、1、2、3、4、5分以上）または10、20、30、60、90、120分以上から、虚血イベントの数時間後（例えば、3時間、6時間、10時間、12時間以上）の範囲であり得る。一実施形態では、システアミン生成物は、虚血を治療するのに有用な1種以上の追加の薬剤と組み合わせて投与することができる。例えば、本方法は、再灌流剤、フリーラジカル捕捉剤、スピントラップ剤などとの投与を含み得る。

【 0 0 9 6 】

別の実施形態では、対象者は、脳卒中、心虚血または他の虚血傷害のリスクがあり、例えば、脳卒中、肺虚血または心虚血に対するリスクを生む状態を経験したことがあるかまたは経験している。そのような状態の例としては、以下のものが挙げられる：高血圧；喫煙；糖尿病；頸動脈疾患もしくは他の動脈疾患；末梢動脈疾患；心房細動；その他の心疾患；一過性脳虚血発作（TIA）；一部の血液障害（例えば、高赤血球カウント；鎌状赤血球症）；血中高コレステロール；運動不足および肥満；過剰アルコール摂取；一部の違法薬物；以前の脳卒中；または以前の心臓発作。

【 0 0 9 7 】

慢性状態（例えば、鎌状赤血球症）では、持続放出製剤または制御放出製剤が適用可能である。急性状態（例えば、虚血性脳卒中）では、IV送達（または他の非経口送達）、局所脳送達等を介するものなどの即時放出製剤が適切である。一部の実施形態では、システアミン生成物組成物は、同量のシステアミン生成物を含有する即時放出剤形によりもたらされる C_{max} よりも、少なくとも約35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、または100%高い、システアミン生成物の C_{max} をもたらず遅延放出剤形または制御放出剤形である。一部の実施形態では、 C_{max} は、即時放出剤形の C_{max} よりも最大で約75%、100%、125%または150%高い。 C_{max} とは、投薬後の血中システアミン生成物の最大用量を意味し、薬物が全身的に吸収されることの指標を提供する。

【 0 0 9 8 】

一部の実施形態では、遅延放出剤形または制御放出剤形のAUCはまた、即時放出剤形と比較して少なくとも約20%、25%、30%、35%、40%、45%、もしくは50%、または最大で約50%、60%、75%もしくは100%増大する。AUCまたは「曲線下面積」とは、薬物の投与後に、時間に対して血漿薬物濃度を測定した場合に導かれる動態曲線を意味する。

【 0 0 9 9 】

所望の薬物動態特性を有する医薬組成物の遅延放出剤形、制御放出剤形または持続放出/徐放剤形の調製は、当技術分野で公知であり、様々な方法により遂行することができる。例えば、経口制御送達システムとしては、溶解制御放出（例えば、カプセル化溶解制御またはマトリックス溶解制御）、拡散制御放出（貯蔵デバイスまたはマトリックスデバイス）、イオン交換樹脂、浸透圧制御放出または胃保持システム（gastroretentive system）が挙げられる。溶解制御放出は、例えば、消化管での薬物の溶解速度を遅くすること、不溶性ポリマー中に薬物を組み込むこと、または種々の厚みのポリマー性材料で薬物粒子または顆粒をコーティングすることにより、得ることができる。拡散制御放出は、例えば、ポリマー膜またはポリマーマトリックスを介して拡散を制御することにより、得ることができる。浸透圧制御放出は、例えば、半透過膜を通過する溶媒流入を制御することにより得ることができ、これが次に、レーザードリル開口部を通して薬物を外側に運搬する。膜のそれぞれの側での浸透圧および静水圧の差異が、流体輸送を左右する。長時間の胃保持は、例えば、製剤の密度を変えること、胃内壁への生体接着、または胃での浮遊時間を増加させることにより達成することができる。さらなる詳細については、Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Wise, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, NY (2000)（参照によりその全体が本明細書中に組み入れられる）、例えば、第22章（「An Overview of Controlled Release Systems」）を参照されたい。

【 0 1 0 0 】

10

20

30

40

50

これらの製剤中のシステアミン生成物の濃度は、広範囲に変えることができ、例えば、約0.5重量%未満から、通常は約1重量%または少なくとも約1重量%から15または20重量%程度までであり得、選択される特定の投与様式に従って、主として液量、製造特性、粘性等に基づき選択される。投与可能な組成物を調製するための実際の方法は、当業者には公知であるかまたは明らかであり、より詳細には、例えば、Remington's Pharmaceutical Science, 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1980)に記載されている。

【0101】

システアミン生成物は、治療上有効量で組成物中に存在し；典型的には、該組成物は、単位投与剤形である。投与されるシステアミン生成物の量は、当然ながら、対象者の年齢、体重、および全身状態、治療対象者の状態の重症度、ならびに処方医師の判断に依存するであろう。好適な治療量は、当業者に公知であり、かつ/または関連する参考書および文献に記載されている。現在の非腸溶コーティング用量は約 $1.35\text{g}/\text{m}^2$ 体表面積であり、1日に4~5回投与される。一実施形態では、該用量は、慢性疾患状態（例えば、鎌状赤血球症）に対して1日1回または1日に複数回のいずれかで投与され、急性状態（例えば、急性虚血傷害）に対してはボラスまたはIVで投与することができる。システアミン生成物は、1日に1回、2回または3回または4回、投与することができる。一部の実施形態では、システアミン生成物は、1日に4回未満投与される。一部の実施形態では、システアミン生成物の有効投与量は、1日に体重kgあたり $0.01\text{mg} \sim 1000\text{mg}$ (mg/kg) の範囲内、または約 $0.1\text{mg}/\text{kg} \sim 約100\text{mg}/\text{kg}$ 、または1日に約 $0.5\text{mg}/\text{kg} \sim 約20\text{mg}/\text{kg}$ 体重であり得る。さらに、有効用量は、 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $1\text{mg}/\text{kg}$ 、 $5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $10\text{mg}/\text{kg}$ 、 $15\text{mg}/\text{kg}$ 、 $20\text{mg}/\text{kg}$ 、 $25\text{mg}/\text{kg}$ 、 $30\text{mg}/\text{kg}$ 、 $35\text{mg}/\text{kg}$ 、 $40\text{mg}/\text{kg}$ 、 $45\text{mg}/\text{kg}$ 、 $50\text{mg}/\text{kg}$ 、 $55\text{mg}/\text{kg}$ 、 $60\text{mg}/\text{kg}$ 、 $70\text{mg}/\text{kg}$ 、 $75\text{mg}/\text{kg}$ 、 $80\text{mg}/\text{kg}$ 、 $90\text{mg}/\text{kg}$ 、 $100\text{mg}/\text{kg}$ 、 $125\text{mg}/\text{kg}$ 、 $150\text{mg}/\text{kg}$ 、 $175\text{mg}/\text{kg}$ 、 $200\text{mg}/\text{kg}$ であり得、 $25\text{mg}/\text{kg}$ 増分で最大 $1000\text{mg}/\text{kg}$ まで増加させることができ、または上記の値のうちのいずれか2つの間の範囲であり得る。一部の実施形態では、システアミン生成物は、約 $0.25\text{g}/\text{m}^2 \sim 4.0\text{g}/\text{m}^2$ 体表面積、例えば、少なくとも約0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9または $2\text{g}/\text{m}^2$ 、または最大約0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.2、2.5、2.7、3.0、または $3.5\text{g}/\text{m}^2$ の一日合計用量で投与される。一部の実施形態では、システアミン生成物は、約 $0.5 \sim 2.0\text{g}/\text{m}^2$ 体表面積、 $1 \sim 1.5\text{g}/\text{m}^2$ 体表面積、または $0.5 \sim 1\text{g}/\text{m}^2$ 体表面積、または約 $0.7 \sim 0.8\text{g}/\text{m}^2$ 体表面積、または約 $1.35\text{g}/\text{m}^2$ 体表面積の1日合計用量で投与することができる。同じ活性成分の塩またはエステルは、該塩またはエステル部分の種類および重量に依存して、分子量が異なり得る。投与剤形（例えば、腸溶コーティングされたシステアミン生成物を含む錠剤またはカプセル剤または他の経口投与剤形）の投与に対して、約 $100\text{mg} \sim 1000\text{mg}$ の範囲の総重量が用いられる。投与剤形は、例えば、(i)標準外または異常な総アディポネクチンレベルに関連する疾患、(ii)標準外または異常なHMW:MMW、HMW:LMW、もしくはMMW:LMWアディポネクチンの比、(iii)慢性虚血リスクまたはイベント、あるいは(iv)急性虚血傷害（例えば、脳卒中または他の心血管疾患）に見舞われた患者に対して、経口投与される。投与は、疾患または障害（例えば、急性イベントまたは慢性疾患）に応じて、数時間、数日間、数週間、数ヵ月間または数年間継続することができる。

【0102】

投与に有用な組成物は、その有効性を増大させるために、取り込み促進剤または吸収促進剤と共に製剤化することができる。そのような促進剤としては、例えば、サリシレート、グリココレート/リノレエート、グリコレート、アプロチニン、バシトラシン、SDS、カプレート、鉄などが挙げられる。例えば、Fixの文献（J. Pharm. Sci., 85:1282-1285, 1996）ならびにOliyaiおよびStellaの文献（Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 32:521-544, 1993）を参照されたい。

【0103】

腸溶コーティングされたシステアミン生成物は、製薬技術の分野で周知の通り、組成物中のいずれの成分に対しても不安定化効果を示さない条件で、種々の賦形剤を含むことが

10

20

30

40

50

できる。従って、結合剤、増量剤、希釈剤、崩壊剤、滑沢剤、充填剤、担体などの賦形剤を、システアミン生成物と組み合わせることができる。固形組成物に関して、希釈剤は、典型的に、錠剤の嵩を増して、圧縮のために実用的なサイズがもたらされるようにするために必要である。好適な希釈剤としては、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、ラクトース、セルロース、カオリン、マンニトール、塩化ナトリウム、乾燥デンプンおよび粉糖が挙げられる。結合剤は、錠剤製剤に粘着性を付与し、したがって、錠剤が圧縮後に完全なままであることを確実にするために用いられる。好適な結合剤物質としては、限定するものではないが、以下のものが挙げられる：デンプン（コーンスターチおよび予備ゼラチン化デンプン（pregelatinized starch）を含む）、ゼラチン、糖（スクロース、グルコース、デキストロースおよびラクトースを含む）、ポリエチレングリコール、ワックス、ならびに天然および合成ゴム（例えば、アラビアゴム）、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、セルロース性ポリマー（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、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロースなど）、およびビーガム（Veegum）。滑沢剤は、錠剤製造を容易にするために用いられ；好適な滑沢剤の例としては、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、およびステアリン酸が挙げられ、典型的には、錠剤重量に対して約1重量%以下で存在する。崩壊剤は、投与後の錠剤の崩壊または「ブレイクアップ」（breakup）を容易にするために用いられ、一般的に、デンプン、粘土、セルロース、アルギン、ゴムまたは架橋ポリマーである。所望であれば、投与対象の医薬組成物はまた、湿潤化剤または乳化剤、pH緩衝剤などの微量の非毒性補助物質も含むことができ、それらは例えば、酢酸ナトリウム、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミン酢酸ナトリウム（triethanolamine sodium acetate）、オレイン酸トリエタノールアミンなどである。所望であれば、香料、着色剤および/または甘味料を同様に添加することができる。本明細書中の経口製剤への組み込みのための他の任意成分としては、限定するものではないが、保存剤、懸濁化剤、増粘剤などが挙げられる。充填剤としては、例えば、二酸化ケイ素、酸化チタン、アルミナ、タルク、カオリン、粉末セルロース、微結晶性セルロースなどの不溶性物質、ならびにマンニトール、尿素、スクロース、ラクトース、デキストロース、塩化ナトリウム、ソルビトールなどの可溶性物質が挙げられる。

【0104】

医薬組成物はまた、米国特許第4,301,146号に開示されている通り、ヒドロキシプロピルメチルセルロースまたはポリビニルピロリドンなどの安定化剤も含むことができる。他の安定化剤としては、限定するものではないが、以下のものが挙げられる：セルロースポリマー（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、メチルセルロース、エチルセルロース、酢酸セルロース、酢酸フタル酸セルロース、トリメリト酸酢酸セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、微結晶性セルロースおよびカルボキシメチルセルロースナトリウムなど）；ならびにビニルポリマーおよびコポリマー（ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアセテートフタレート（polyvinylacetate phthalate）、酢酸ビニルクロトン酸コポリマー（vinylacetate crotonic acid copolymer）、およびエチレン酢酸ビニルコポリマーなど）。安定化剤は、所望の安定化効果を提供するのに有効な量で存在し；一般的に、これは、システアミン生成物と安定化剤との比が少なくとも約1:500w/w、より一般的には約1:99w/wであることを意味する。

【0105】

錠剤は、最初にシステアミン生成物を腸溶コーティングすることにより製造することができる。一実施形態では、本明細書中の錠剤を形成する方法は、腸溶コーティングされたシステアミン生成物を、任意により希釈剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、着色剤、安定化剤などと組み合わせて含有する粉末の直接圧縮による。種々の実施形態では、錠剤は、賦形剤をシステアミン生成物と混合するステップ、錠剤を圧縮するステップおよび腸溶コーティングするステップにより製造される。直接圧縮の代替法として、圧縮錠剤は、湿式造粒法、乾式造粒法またはローラー圧縮法を用いて調製することができる。錠剤はまた、好適な水溶性滑沢剤を含有する湿潤材料から出発して、圧縮するのではなく型に入れて製造す

10

20

30

40

50

することもできる。

【0106】

代替的な実施形態では、腸溶コーティングされたシステアミン生成物を造粒し、造粒物を錠剤に圧縮するか、またはカプセルに充填することができる。カプセル材料は、硬質または軟質のいずれかであることができ、ゼラチンバンド (gelatin band) などを用いるなどして典型的には密封される。経口用途のための錠剤およびカプセル剤は、一般的に、本明細書中で議論される通りの1種以上の一般的に用いられる賦形剤を含むであろう。種々の実施形態で、カプセル剤は非密封型カプセル剤である。

【0107】

投与剤形 (すなわち、腸溶コーティングされたシステアミン生成物を含む錠剤またはカプセル剤) の投与のために、約100mg~1000mgの範囲の総重量が用いられる。投与剤形は、限定するものではないが、虚血性疾患および障害 (例えば、鎌状赤血球症、急性虚血イベント、脳卒中、心臓発作など) をはじめとする、システアミン生成物が典型的に適応であろう状態に見舞われた患者に対して経口投与される。

【0108】

本開示のシステアミン生成物組成物は、虚血イベントまたは異常なアディポネクチンレベルもしくは比に関連する疾患および障害の治療のために有用な他の療法と組み合わせて用いることができる。例えば、システアミンは、血栓溶解剤、フリーラジカル捕捉剤、スピントラップ剤などと組み合わせて、静脈内投与することができる。

【0109】

異なる作用機序を有する2種類以上の薬物を組み合わせることは、相加効果もしくは相乗効果を介して最大の虚血傷害防御を提供し、または化合物の治療ウィンドウを増加させることによるか、もしくは場合により副作用を低減することにより、追加の利益を提供することができる。虚血カスケードの活性化の影響を低減する必要がある一方で、血栓溶解剤は、それらが再疎通をもたらすので、有益な薬剤である。このことは、脳卒中が血栓または塞栓の結果である場合の虚血組織の再灌流を可能にするのみならず、梗塞組織の周縁部への、薬物および栄養素をはじめとする小分子のアクセスの改善ももたらす。

【0110】

本開示の方法および組成物は、システアミン生成物に加えて、(1)抗酸化剤；(2)血栓溶解剤、(3) NMDA受容体アンタゴニストおよび(4)スピントラップ剤；または(5)上記のいずれかの組み合わせを含むことができる。

【0111】

抗酸化剤としては、限定するものではないが、ニトロン (STAZN)、ポリフェノール、フラボノール (例えば、バイカレイン (baicalein)) およびフェニルプロパノイド (クロロゲン酸およびフィセチン) が挙げられ、神経保護として、および脳卒中の結果として生じる虚血傷害を治療するために、本開示の方法および組成物で有用である。種々の実施形態では、そのシステアミン生成物と組み合わせる抗酸化剤は、N-アセチルシステインを除外する。

【0112】

様々な血栓溶解剤も、当技術分野で公知であり (例えば、テネクテプラーゼ (Tenecteplase)、かつ/またはスピントラップ剤 (例えば、NXY-059) と組み合わせて、本発明の方法または組成物で有用である。いかなる数の血栓溶解剤でも、本発明の方法および組成物で用いることができる。本発明の方法および組成物で用いることができる血栓溶解剤の例としては、アルテプラーゼ、テネクテプラーゼ、レテプラーゼ (reteplase)、ストレプターゼ (streptase)、アボキナーゼ (abbokinase)、パミテプラーゼ、ナテプラーゼ、デスモテプラーゼ、デュテプラーゼ (duteplase)、モンテプラーゼ、レテプラーゼ、ラノテプラーゼ、およびプロライズ (Prolyse)TMが挙げられる。他の血栓溶解剤としては、例えば、マイクロプラスミン、Bat-tPA、BB-10153 (トロンビンによりプラスミンへと活性化される、遺伝子操作型のヒトプラスミノゲン) および吸血コウモリ唾液腺由来プラスミノゲンアクチベータ (Desmodus rotundus salivary plasminogen activator)

10

20

30

40

50

(DSPA) (例えば、DSPA 1) が挙げられる。

【0113】

フェノール酸としては、例えば、カフェ酸 (caffeic acid)、バニリン、およびクマリン酸が挙げられる。フェノール酸は、広く分布しているヒドロキシ安息香酸およびヒドロキシ桂皮酸を含む広範な群を形成する。ヒドロキシ桂皮酸化合物 (p-クマリン酸、カフェ酸、フェルラ酸) は、ヒドロキシカルボン酸またはグルコースとの単純なエステルとして最も多く存在するが、ヒドロキシ安息香酸化合物 (p-ヒドロキシ安息香酸、没食子酸、エラグ酸) は、グルコシドの形態で主に存在する。多くの場合、フェノール酸は、フラボノイド、アルコール、ヒドロキシ脂肪酸、ステロール、およびグルコシドとコンジュゲート化されたエステルまたはグリコシドとして存在する。

10

【0114】

NXY-059などのニトロン系スピントラップ剤およびテネクテプラーゼなどの血栓溶解剤は、それらが最も有望な薬物候補であるので、現在では、急性虚血性脳卒中 (AIS) の治療のために開発されている。

【0115】

ニトロキシドおよびニトロンなどのスピントラップ剤は、生物学的メッセンジャーの酸化窒素の安定化型である。他の抗酸化剤とは異なり、スピントラップ剤は、酸化促進剤 (proxidant) としては作用せず、またフリーラジカル連鎖反応を伝搬することもない。同様に、これらの薬剤は、ペルオキシ亜硝酸 (peroxinitrite) を生成するスーパーオキシドと酸化窒素との反応を阻害する。つまり、スピントラップ剤と、パーキンソン症、脳卒中、虚血傷害 (ischaemic injury)、心臓発作、および加齢性認知症などの疾患および障害に対する、現在開発中であるかまたは使用中の治療剤との併用療法は、本発明に含まれる。

20

【0116】

ニトロンおよびニトロソスピントラップ化合物は、市販されている。例示的なニトロンおよびニトロソスピントラップ化合物としては、以下のものが挙げられる：2,4-ジスルホフェニル-N-tert-ブチルニトロンニナトリウム (NXY-059)、N-t-ブチル-フェニルニトロン、3,5-ジプロモ-4-ニトロソベンゼンスルホン酸、5,5-ジメチル-1-ピロリンN-オキシド、2-メチル-2-ニトロソプロパン、ニトロソジスルホン酸、(4-ピリジル-1-オキシド)-N-t-ブチルニトロン、3,3,5,5-テトラメチルピロリンN-オキシド、2,4,6-トリ-t-ブチルニトロソベンゼン、PTIYO (4-フェニル-2,2,5,5-テトラメチルイミダゾリン-1-イルオキシ-5-オキシド) およびテンポール (4-ヒドロキシ2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシド) など。

30

【0117】

本発明の別の態様では、NMDA (N-メチル-D-アスパラギン酸) 受容体アンタゴニストを含む方法および製剤が提供され、これらは、血栓溶解剤と組み合わせて、挙動性能 (behavioral performance) を改善する。NMDA受容体アンタゴニストの例としては、3-オール-5-プレグナン-20-オンヘミスクシネート、ケタミン、メマンチン、デキストロメトर्फアン、デキストロルファン、および臭化水素酸デキストロメトर्फアンが挙げられる。NR2B選択的NMDAアンタゴニスト活性を有するフェノールまたはフェノール等価物で置換されたピペリジン誘導体およびアナログは、国際特許出願WO 90/14087、WO 90/14088、WO 97/23202、WO 97/23214、WO 97/23215、WO 97/23216、WO 97/23458、WO 99/21539、WO 00/25109、欧州特許出願EP 648744 A1および米国特許第5,436,255号に記載されている。同様の生物学的活性を有する、2-ベンゾオキサゾリノン部分構造を含む化合物が、国際特許出願WO 98/18793およびWO 00/00197に記載されている。縮合複素環構造を有する他のNR2B選択的NMDAアンタゴニストが、国際特許出願WO 01/30330、WO 01/32171、WO 01/32174、WO 01/32177、WO 01/32179、WO 01/32615、WO 01/32634に記載されている。

40

【0118】

システアミン生成物を単独でまたは1種以上の追加の薬剤と組み合わせて含む特定の療法の有効性を測定するためのアッセイは、塞栓性脳卒中モデルで行なうことができ、該モ

50

デルは、モニタリングするための挙動エンドポイント (behavioral endpoint) を生成し、化合物の有効性の比較を可能にする。挙動エンドポイントをモニタリングできるだけでなく、組織化学的技術を用いてエンドポイントおよび病理状態を測定することもできる。

【0119】

本開示の方法または組成物の有効性はまた、アディポネクチンレベルおよび/または種々のアディポネクチン多量体の比率を測定することによっても評価することができる。また、有効性は、虚血傷害の結果生じる組織ダメージの指標となる、臨床的観察、診断などにより、評価することができる。投与量調整および療方は、例えば、虚血イベントまたは異常な (aberrant or abnormal) アディポネクチンレベルに関連する疾患もしくは障害の重症度に依存して、医療専門家により行なうことができる。

10

【0120】

数種類の虚血傷害動物モデルを、本開示の治療の有効性を評価するために用いることができる。例えば、エンドセリン-1は、虚血性脳卒中の最中に内因的に産生される強力な血管収縮物質であり、細胞の全般的な喪失および能力障害 (disability) の原因となる。外来性エンドセリン-1もまた、再灌流を伴う持続的な血管収縮の後の脳卒中および細胞死を誘導するために用いることができる。これは、小さな組織体積 (例えば、皮質灰白質、白質または皮質下組織) での、または中大脳動脈近傍への注入後に、限局性脳卒中を誘導するために微量注入することができる。これは、再生促進療法 (pro-regenerative therapy) の候補を評価するための限局性脳卒中のモデルとして、しばしば用いられる。この脳卒中モデルの1つの利点は、非常に低い死亡率を有して、高い再現性で梗塞を引き起こすことである。

20

【0121】

別のモデルでは、中大脳動脈 (MCA) 閉塞は、虚血性脳卒中の動物モデルとして、動物の頸動脈に粒子状凝血塊 (血栓塞栓性MCAO) または人工球体を注入することにより、このモデルで達成される。血栓塞栓性MCAOは、in vitroで形成させた凝血塊を注入すること、またはin situ血液凝固のためのトロンビンの血管内点滴注入のいずれかにより、達成される。血栓塞栓性モデルは、ヒトの心塞栓性脳卒中 (cardio embolic stroke) の病態生理に最も近い。脳血液循環に球体を注入する場合、そのサイズが、脳梗塞のパターンを決定する：大型球体 (macrosphere) (300 ~ 400 μm) は近位MCAの閉塞により達成されるものと同様の梗塞を誘導し、微小球体 (microsphere) (約50 μm) 注入は遠位のびまん性閉塞を生じさせる。しかしながら、MCAOの質、およびしたがって脳梗塞の体積は、非常に変わりやすく、この事実は、注入された凝血塊の一定速度の自然発生的な溶解により、さらに悪化する。

30

【0122】

虚血性脳卒中の別の動物モデルでは、MCAを外科的に切断し、続いて、例えば、電気焼灼または結紮により、永続的に閉塞させる。閉塞は、MCAの近位部分または遠位部分で行なうことができる。後者では、虚血ダメージは、大脳皮質に限定される。MCAOは、一時的または永続的な総頸動脈閉塞と組み合わせることができる。これらのモデルは、小規模な開頭手術を必要とする。

【0123】

一時的な経頭蓋MCAOモデルを用いることができ、これは、永続的経頭蓋MCAOのものと同様であり、一定時間の限局的な脳虚血の後にMCAを再灌流させる。永続的MCAOと同様に、開頭手術が必要であり、総頸動脈 (CCA) 閉塞を組み合わせることができる。一方のMCAおよび両方のCCAを閉塞させることは、限局性脳虚血の三血管閉塞モデルと称される。

40

【0124】

システアミン生成物は、虚血傷害の誘導前、その最中、またはその後に治療剤を投与することにより、上記の動物モデルのうちのいずれかで、その使用についてアッセイすることができる。療法の有効性は、システアミン生成物を投与されなかった対照と比較して、組織学または行動欠陥により測定することができる。

【0125】

50

また他の実施形態では、本開示の方法は、脂肪細胞 (adipocyte) を単離すること、および該脂肪細胞をシステアミン生成物ありまたはなしでインキュベートすることにより、アッセイすることができる。システアミン生成物は、様々な投与量で脂肪細胞と接触させることができる。有効性は、細胞培養でのアディポネクチンレベルまたは多量体の変化を測定することによりアッセイことができ、ここで、アディポネクチンの増加またはアディポネクチン多量体の比率の変化が、アディポネクチンレベルに対する効果を有する薬剤を示す。

【0126】

以下の実施例は、本発明をさらに説明することを意図するが、上記の開示または添付の特許請求の範囲を限定するものではない。

【実施例】

【0127】

システアミン酒石酸水素塩 (Mylan Pharma, VA) カプセルは、Wursterユニット600型を用いて、Coating Place社 (Verona, WI) により腸溶コーティングされた。

【0128】

実施例1

脂肪生検組織 (AT) サンプルを、回転式水浴中、37 °Cにて1時間、コラゲナーゼ消化した。消化されたATを、次に425 μmナイロンメッシュを通してろ過し、脂肪細胞 (fat cell) を分離した。単離された脂肪細胞 (FC) を、生理食塩バッファー (Phillips 2008) 中で2回洗浄し、ろ過し、再度2回洗浄した。FCを50 × gで遠心して、濃縮した。1mLのFCを9mLの規定の培養培地 (Phillips 2008) 中に再懸濁し、FCを37 °Cにて10時間 (一晚)、回復させた。

【0129】

脂肪細胞 (adipocyte) を単離して、一晚回復させ、続いて90 μMシステアミンありまたはなしで培養し、以下の時点で培地を回収した (45、90、180、24時間)。20 μLの培地のウエスタンブロット分析を、非還元性5×ローディングバッファーを用いて行なった。ブロッキングし、ブロッキングし、一次抗体と共にインキュベートした (抗アディポネクチンマウスモノクローナル、1:500で一晩)。ブロットを洗浄し、二次抗体 (ヤギ抗マウスIR 800) と共にインキュベートし、LICORデンシトメーターで濃度 (densitometry) を測定した (図1を参照されたい)。

【0130】

アディポネクチンに対するシステアミン作用の時間経過を測定するために、培地を交換し、FCを9mLの規定培地 ± 90 μMシステアミン中に再懸濁した。FC含有量および培地中へのアディポネクチンの分泌を、0、45、90、180分および24時間で、二重に (in duplicate) 培養して評価した。FC含有量の分析のために、単離FCを、以前に記載された通りに抽出した (Phillips, 2008)。非還元性非熱変性SDS-PAGE電気泳動によりタンパク質を分離し、1:500一次モノクローナル抗アディポネクチン抗体 (BD Transduction Laboratories) および1:20,000 LiCOR Odyssey二次抗体を用いた免疫ブロッキングのためにニトロセルロースに転写した。シグナル検出および定量的分析を、LiCOR Odyssey Machine (LiCOR, Lincoln, NE) を用いて完了させた。細胞アディポネクチンの多量体含有量は、サンプル当たりの総AUで多量体についてのAUを除算することにより決定した。馴化培地の多量体含有量を細胞含有量に関して決定し、次に、このパーセンテージを、ELISA (Millipore Billerica, Massachusetts) により測定した培地中の総アディポネクチンに乘算した。

【0131】

実施例2

生検により確定診断されたNAFLDおよび60IU/L以上のアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) レベルを有する10歳以上の11名の小児を登録した。小児は、新規に診断されたか、または試験に参加する前の少なくとも3ヵ月間、ビタミンEもしくはインスリン抵抗性改善剤などのNAFLDに対する特異的治療を受けていなかった。全員が、3ヵ月超、食事および運動を含む標準的治療 (standard of care) の生活習慣変更に取り組んでいた。本試験

10

20

30

40

50

の最初の結果の指標は、EC-システアミン療法の第24週でのベースライン血清ALTの標準化（40IU/L）または50%の減少であり；これらの対象者は応答者とみなされた。

【0132】

対象者を24週間治療し、その停止後に24週間、モニタリングし続けた。摂取された平均EC-システアミン用量は、654mgを1日2回または15.2mg/kg/日（中央値用量900mg）を24週間であった。

【0133】

予備試験の間、所定の間隔で血液を採取した。血清を、アッセイ時まで-80 で保存した。十分な血清量が、NAFLDを有する11名の対象者のうちの10名で、最大で治療後16週間だけ、入手可能であった。

【0134】

総アディポネクチンレベルおよび多量体アディポネクチンレベルを、以下の対象者から取得した血清で測定した：(1)NAFLDを有する対象者、システアミン療法の第0週および第4週および治療停止後第16週（すなわち、第40週）で再び採取；(2)室温および37 の前処理した（pretreated）NAFLDを有する第0週対象者およびNAFLDを有しない成人、ならびにまた37 で1時間の90 μMシステアミンとのインキュベーション後；(3)用量応答プロフィールを確立するための、37 で1時間の様々な濃度（15、30、45、60、90、120 μM）でのシステアミンとのインキュベーション前および後のNAFLDを有する前処理した（pretreated）第0週対象者。

【0135】

ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）を、標準的なLaemmli法に従って行なった。非還元性非熱変性条件のためのサンプルバッファーは、3%SDS；50mmol/L Tris-HCl、pH6.8および20%グリセロールを含有した。製造業者の取扱説明書によって、Tris酢酸ランニングバッファーを用いて、3~8%Tris酢酸ゲル（Invitrogen, Carlsbad CA）を用いてタンパク質を分離した。免疫プロットングのために、タンパク質をニトロセルロースメンブレンに転写した。メンブレンを、Tween（Tris緩衝生理食塩液、0.1%Triton-X-100）を用いて洗浄し、モノクローナル抗体（1：500 BD Transduction Laboratories, San Diego, CA）と共にインキュベートした。0.1%Tweenを含むTris緩衝生理食塩液での洗浄後（4×5分）、メンブレンを1：20,000でL-COR二次抗体（LI-COR Biotechnology, Lincoln NE）と共にインキュベートした。LICORイメージャーおよびソフトウェア解析プログラムを用いて、アディポネクチン多量体を検出し、かつ定量化した。アディポネクチン多量体の相対的分布は、合計濃度（細胞アディポネクチン）によって、またはELISA（Millipore, Billerica, MA）により測定した総アディポネクチンによって、バンド濃度を除算することにより、測定した。アディポネクチン多量体の割合（%）を、次に、総アディポネクチンレベルに乗算して、絶対的オリゴマー値を算出した。

【0136】

別の実験では、25 μLの合計サンプル量（5 μL希釈血清 + 15 μL水 + 5 μL 5×LB）を、37 で1時間、システアミンありまたはなしでインキュベートした。対照はシステアミンなしで調製し、実験台上で1時間、室温にてインキュベートした。次に、調製物を2×15ウェル 1.5mm 3~8%Tris酢酸ゲル上で泳動した。一次抗体：マウス抗アディポネクチン、1：500、4 で一晩、二次抗体：ヤギ抗マウスIR800、1：20,000。

【0137】

ベースラインおよびシステアミンを用いた治療の第24週、ならびに療法が停止された後第16週（すなわち、参加後第40週）で再び、10名の対象者から取得した血清を分析した。10名の対象者のうちの7名が応答者であった。3名の対象者は、AST/ALTレベルの低下を有したが、試験のエンドポイントには到達しなかった。平均BMIの測定では、ベースラインと比較して、第24週（P=0.47）または第40週（P=0.43）で有意な変化はなかった。すべての対象者において、ベースライン（123IU/L）からの平均ALTの減少が第24週（55IU/L、P=0.003）および第40週（71IU/L、P=0.055）で見られた。ベースライン（60.9IU/L）からの平均ASTの減少が第24週（32IU/L、P=0.001）および第40週（35IU/L、P=0.012）で

10

20

30

40

50

見られた。応答者に関して、平均レプチンレベルは、それぞれ21.3、15.7、および19.5ng/mLであり、第0週の時点と第24週の時点とで、有意な減少があった ($P=0.04$) (図2B)。

【0138】

健康な対象者、1時間90 μ Mシステアミン

HMWレベルは、ベースラインと比較して変化しなかった。NAFLDを有する対象者と同様に、ベースラインと比較して、LMWレベルの平均割合(%)の増加 ($P<0.005$) およびまたMMWレベルの平均割合(%)の減少 ($P<0.01$) が検出された。HMW、MMW、LMW多量体を含む総アディポネクチンレベルの平均割合(%)は、システアミンとのインキュベーション後、それぞれ42.9%、46.0%、および11.1%から、42.7%、39.3%、および18.0%へと変化した。

10

【0139】

血清アディポネクチン多量体の減少に対するシステアミンの閾値用量を決定するために、血清を採取し、様々な濃度のシステアミンと共にインキュベートした。6 μ Lの希釈GB血清を、24 μ Lの水および種々の濃度のシステアミンと共にインキュベートした。サンプルを、システアミンを添加していない対照チューブと一緒に、37 $^{\circ}$ Cで1時間、組織培養インキュベーター中でインキュベートした。次に、各チューブに5 μ Lの5 \times 非還元性ローディングバッファーを加えた。サンプルをボルテックスにかけ、3~8%Tris酢酸ゲルにロードし、125Vの定電圧で75分間泳動した。ゲルを転写し、ブロッキングした。プロットを、次に、3%BSA/TBS中1:500の抗アディポネクチン抗体と共に一晩インキュベートした。プロットを洗浄し、二次抗マウス抗体と共に1時間インキュベートした。LICORデンシトメーターで濃度 (densitometry) を測定した。結果を定量化し、図8~9に示す。

20

【0140】

アディポネクチン多量体、24週間のECシステアミン

すべての対象者について、24週間のシステアミン酒石酸水素塩療法の後、ベースラインからのHMW、MMW、LMWおよび総アディポネクチンについての平均割合(%)の増加は、それぞれ、53% ($P=0.02$)、19% ($P=0.02$)、29.4% ($P=0.03$)、および49.3% ($P=0.05$)であった (図3および5)。第24週での治療の終わりの時点と、第40週の時点では、HMW ($P=0.02$)、MMW ($P=0.01$)、LMW ($P=0.009$)、および総アディポネクチン ($P=0.01$)での有意な平均割合(%)の減少が見られた。第40週の時点で、すべてのアディポネクチン多量体レベルが、ベースラインの2%以内であった。これは、40週でベースラインレベルに戻らなかった平均ALTおよびASTレベルについての傾向に従わなかった。総アディポネクチンレベルは、第0週から第24週で49.3%上昇し ($P=0.05$)、第24週から40週でベースラインレベルに低下した ($P=0.01$)。すべての多量体型のレベルは24週のシステアミン療法後に上昇したが、アディポネクチン多量体の相対的割合は、HMWについてのみ有意に増加し (12.2%~14.9%、 $P=0.02$)、MMWについては減少し (73.7%~70.3%、 $P=0.03$)、LMWについては変化しなかった (14.1%~14.8%)。応答者であったNAFLDを有する7名の対象者について、24週でのHMW、MMW、LMW、および総アディポネクチンに関する平均変化(%)は、それぞれ87.7%、13.7%、33.9%、および57.5%、ベースラインから上昇した。

30

【0141】

アディポネクチン多量体、1時間システアミン

室温と37 $^{\circ}$ Cでは、処理前のアディポネクチン多量体レベルに差異は見られなかった (図4)。37 $^{\circ}$ Cで1時間のシステアミンとのインキュベーションは、処理前と比較して、LMWレベルでの平均割合(%)の増加 ($P<0.0001$)、およびまたMMWレベルでの平均割合(%)の減少 ($P<0.0001$) をもたらした。HMWレベルはベースラインと比較して変化しなかった。HMW、MMW、およびLMW多量体を含む総アディポネクチンレベルの平均割合(%)は、システアミンインキュベーションの後に、それぞれ、8.2%、63.3%、および28.5%から、8.6%、54.7%、および36.7%へと変化した。図13を参照されたい。

40

【0142】

用量応答プロフィール

50

15、30、45、および60 μM の濃度のシステアミン中で血清をインキュベートした場合、HMWレベルが、ベースラインよりも約10%上昇した。MMWレベルは、すべてのシステアミン濃度で、ベースラインよりも低かった。平均LMWレベルは、用いたすべての濃度でのシステアミンを用いた処理後に、ベースラインよりも60%超、上昇した(図11)。最も大きなLMWの増加(%)である77%は、120 μM システアミン濃度で達成され、これは、ベースラインからのHMWおよびMMWレベルの低下と同時に発生した。

【0143】

実施例3

上記のデータは、システアミンがアディポネクチン多量体化に対して2つの作用を有することを示す：(1)ヒトでの毎日の治療に続く *in vivo*効果は、すべてのアディポネクチン多量体レベルを上昇させるであろう、(2)1時間にわたって90 μM システアミンに曝露したヒト血清でのLMWアディポネクチンの急速かつ有意な増加を伴う *in vitro*効果。現在まで、循環中のアディポネクチンレベルを上昇させる薬物は限られた数しかなく、アディポネクチンの多量体分布を変化させるものはない。

【0144】

虚血/再灌流試験を受けたアディポネクチンノックアウトマウスでの以前の研究は、組み換えアディポネクチンを投与された動物が、組織学においてより少ない心筋虚血ダメージを有し、またより多くの心筋機能を保持したことを示した。組み換えアディポネクチンは、容易に入手することができない。上記のデータは、システアミンが、NAFLDを有するヒトおよび健康な成人対照から取得した血清中の血清LMWアディポネクチンレベルを急速に上昇させたことを示す。また、システアミンは、強力な抗酸化剤であることが知られており、グルタチオンを誘導し、反応性酸素種を捕捉し、組織トランスグルタミナーゼ活性を阻害すること、ならびに電波保護特性 (radio-protective properties) を有することが示されている。

【0145】

虚血ダメージおよびシステアミンを用いた治療を解析するために、前処理されているかまたはシステアミン酒石酸水素塩を投与されていないかのいずれかであるマウス (C57BL/6、オス、12週、25g) での研究を、以下の通りに行なった。

【0146】

前処理群の動物は、LAD動脈結紮術の2時間前に、腹腔内システアミンを60mg/kgで2回 (120mg/kg/日) 投与された。60分間の結紮時間の後、閉塞を除去し、システアミンの別の用量を再灌流の時点で速やかに投与し、また再灌流後の4日間、1日2回注入した。対照群は、システアミンの代わりに、同量の対照IV溶液を注入された。炎症の代理マーカーおよび血漿システアミンのレベルを測定するために、許容できる量の血液を、ベースライン、および虚血発作後の所定の時点で採取した。動物は、IR後すぐに、およびIRの3日後に心エコー検査/血行動態検査を受けた。非虚血領域を明らかにするために、屠殺前に、LADを再開塞させ、JVCを通してエバンスブルーを注入した。心筋組織を、2,3,5-塩化トリフェニルテトラゾリウム (代謝的に活性な組織と不活性または損傷している (infarcted) 組織とを区別する)、HE染色およびまたTUNEL染色に出した。心エコー検査は、心室容量データならびに壁関数を提供した。血行動態検査は、筋肉収縮データ (具体的には、心収縮期データ) を提供した。

【0147】

これまで、7匹のマウスを研究した。4匹は対照溶液を投与され、3匹はシステアミンを投与された。対照マウスは、25.8gの平均初期体重 (25~27gの範囲)、および22.5gの最終体重 (21~24g) を有した。これは13%の減少である。動物は開胸手術後は嗜眠状態であり、あまり食餌を取らなかった。

【0148】

システアミンマウスは、21.3gの平均初期体重 (21~22gの範囲) および18.3gの最終体重 (18~19g) を有した。これは14%の減少である。動物は開胸手術後は嗜眠状態であり、あまり食餌を取らなかった。

10

20

30

40

50

【 0 1 4 9 】

動物は、手術後に定期的な皮下生理食塩液ポーチを受けたが、血行動態/エコー検査の時点で部分的に脱水状態であった可能性がある。しかしながら、両方の群が、同様に侵された。脱水は、体積および機能を低下させることにより、血行動態/エコー検査に影響する可能性がある。

【 0 1 5 0 】

虚血ダメージ

システアミン群と対照群との間で、リスク領域 (area at risk ; AAR) に対する梗塞領域 (infarct area ; IA) の比 (すなわち、IA/AAR) ($p=0.004$) および左心室に対する梗塞領域の比 (IA/LV) ($p=0.008$) の有意な減少があった。虚血ダメージの相対量は、対照群と比較してシステアミン治療群で約半分であった (例えば、図14A~Bを参照されたい ; 生データは表A~Bに示す)。

【表 1】

表 A

	LV 領域	AAR	IA	AAR/LV (対照)(%)	IA/AAR (対照)(%)	IA/LV (対照)(%)
RD21	110.80	27.32	18.61	24.65	68.13	16.80
RD22	85.61	25.75	15.32	30.08	59.48	17.89
RD24	90.99	27.27	14.19	29.97	52.05	15.60
RD26	79.94	29.71	16.23	37.26	54.61	20.35
平均	91.84	27.51	16.09	30.49%	58.57%	17.66%
SD	13.42	1.636	1.877	5.176	7.081	2.023

酢酸/アスコルビン酸を投与された 4 匹の対照マウスについての生データ

LV=左心室

AAR=リスク領域(Area at Risk)

IA=虚血領域(Ischemic Area)

【表 2】

表 B

	LV 領域	AAR	IA	AAR/LV (システアミン)(%)	IA/AAR (システアミン)(%)	IA/LV (システアミン)(%)
RD27	73.99	24.64	9.37	33.31	38.02	12.66
RD28	178.34	32.02	11.14	17.95	34.78	6.24
RD29	63.25	12.84	3.46	20.31	26.92	5.47
平均	105.2	23.17	7.99	23.86%	33.24%	8.12%
SD	63.57	9.675	4.022	8.271	5.708	3.948

酢酸/アスコルビン酸と混合したシステアミンを投与された 3 匹のマウスについての生データ

LV=左心室

AAR=リスク領域(Area at Risk)

IA=虚血領域(Ischemic Area)

IA/AAR(%)および IA/LV(%)は、対照群と比較してシステアミン治療群で約半分であった。

【 0 1 5 1 】

拡張末期容積 (EDV)

MI後のEDVの増加は、虚血ダメージによる心室拡大を示唆するであろう。間隔減少 (interval reduction) (24時間~72時間) が望ましいであろう。対照群では、24時間と72時間とで測定した平均EDVの間に有意差はなかった ($p=0.59$)。しかしながら、システアミン群では、24時間と72時間とで測定した平均EDVの間に有意差があった ($p=0.032$) (例えば、図15A~Bを参照されたい)。

【0152】

EDV変化(%)

2つの群のEDVを比較するために、実際の心室容積 (μL) の変化 (%) を、2つの群のそれぞれについて24時間の時点から算出した。システアミン治療群は、対照群と比較して、72時間の時点で (24時間と比較して) EDVの有意に大きな減少 (%) を有していた ($p=0.04$) (図16を参照されたい)。

10

【0153】

収縮末期容積 (ESV)

MI後のESVの上昇は、心室収縮性の低下を示唆するであろう。対照群 ($p=0.01$) およびシステアミン群 ($p=0.025$) で24時間および72時間にて測定された平均ESVの間には、有意差があった (例えば、図17A~Bを参照されたい)。

【0154】

ESV変化(%)

2つの群のESVを比較するために、実際の心室容積の変化 (%) を、2つの群のそれぞれについて24時間の時点から比較した。システアミン治療群は、対照群と比較して、72時間の時点でESVの有意に大きな減少 (%) を有していた ($p=0.039$) (例えば、図18を参照されたい)。

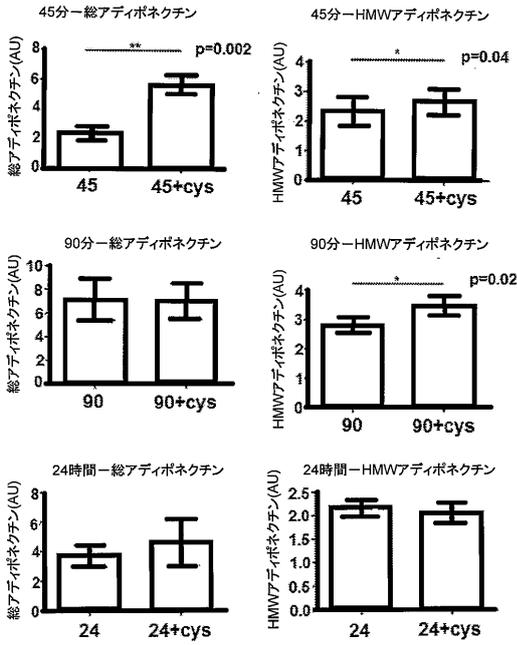
20

【0155】

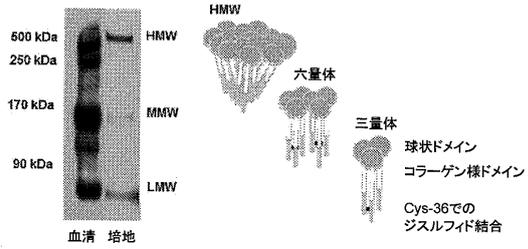
上記で説明した実施例は、本発明の方法、治療および組成物の実施形態をいかにして作製しかつ使用するかの開示および説明を当業者に与えるために提供され、本発明者らが自分たちの発明とみなすものの範囲を限定することを意図しない。当業者には自明である本発明を実施するための上記の様式の改変は、以下の特許請求の範囲内に入ることが意図される。本明細書中で言及されたすべての特許および刊行物は、本発明が属する分野の当業者のレベルを示すものである。本開示中で引用したすべての参考文献は、それぞれの参考文献がその全体で参照により組み入れられたのと同程度に参照により組み入れられる。

30

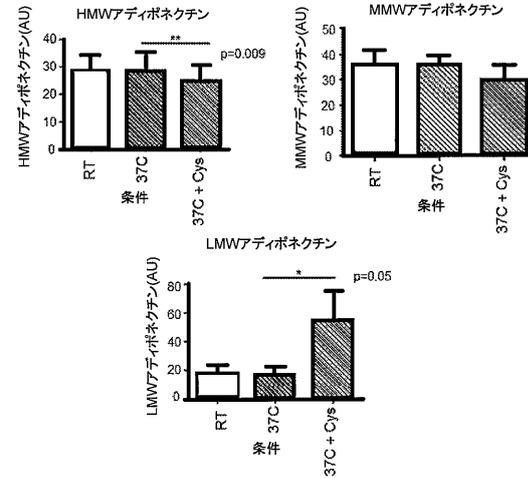
【図1】



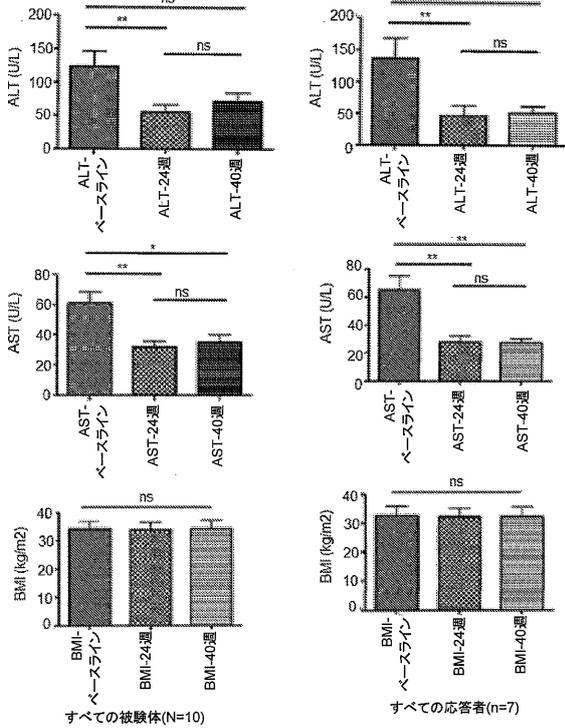
【図2A】



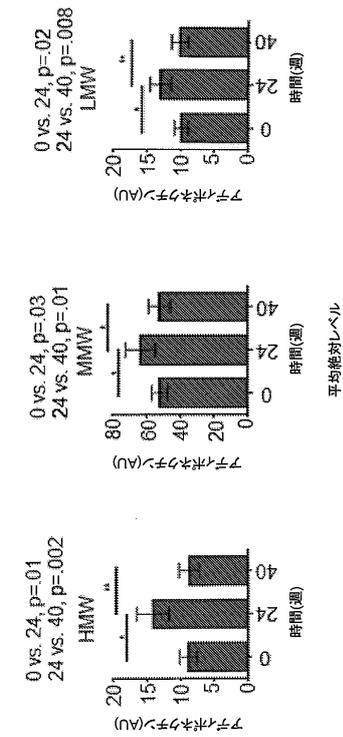
【図2B】



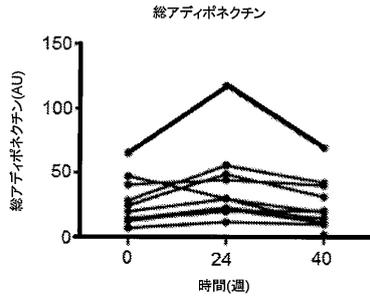
【図2C】



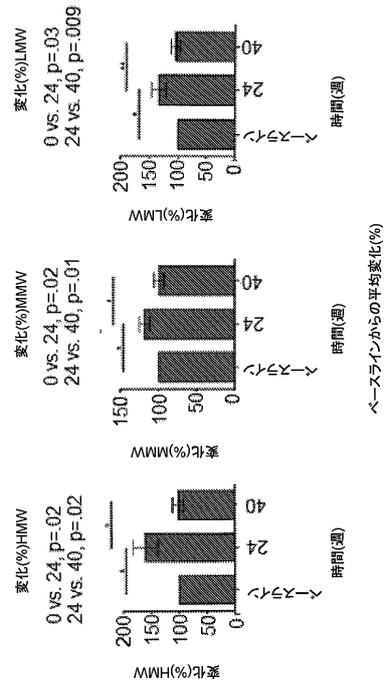
【図3】



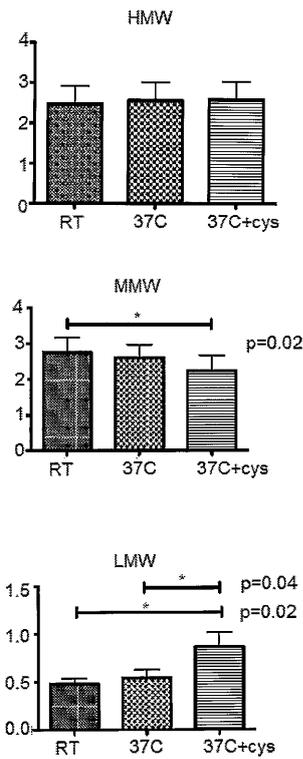
【 図 4 】



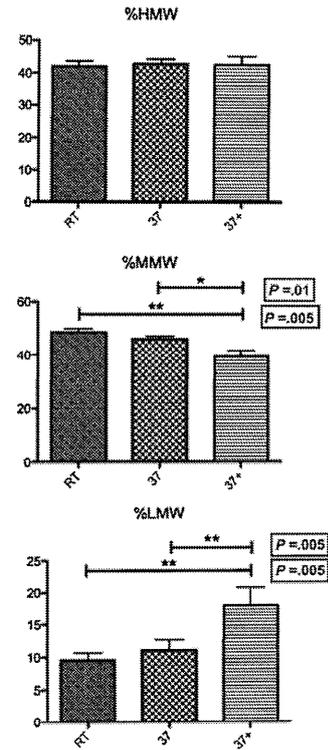
【 図 5 】



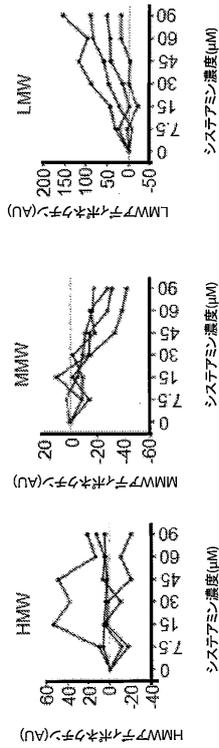
【 図 6 】



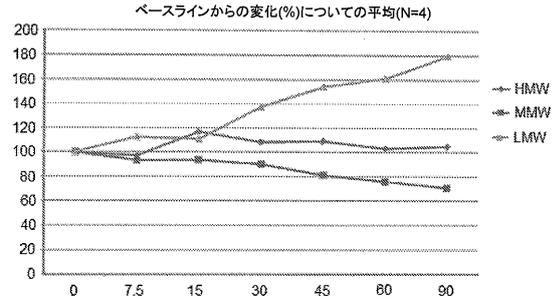
【 図 7 】



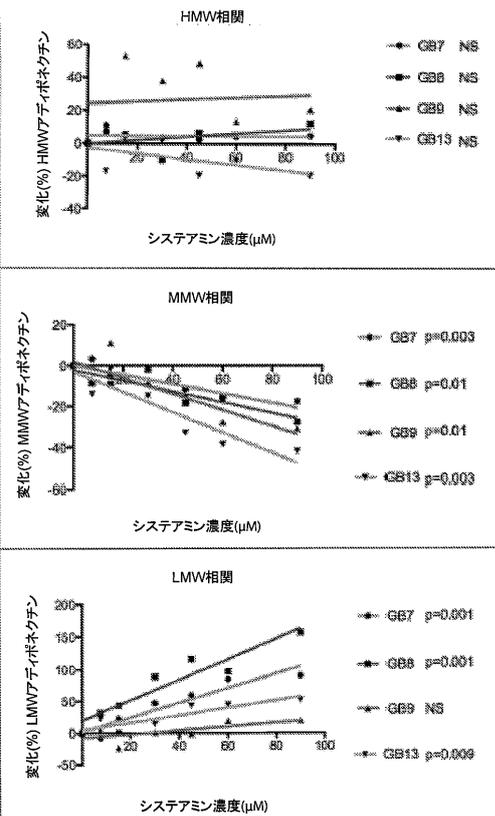
【 図 8 】



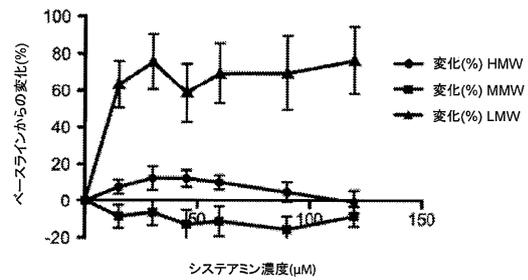
【 図 9 】



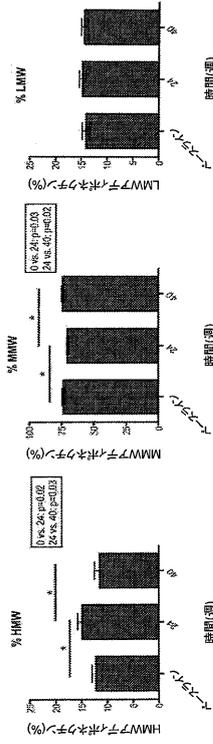
【 図 10 】



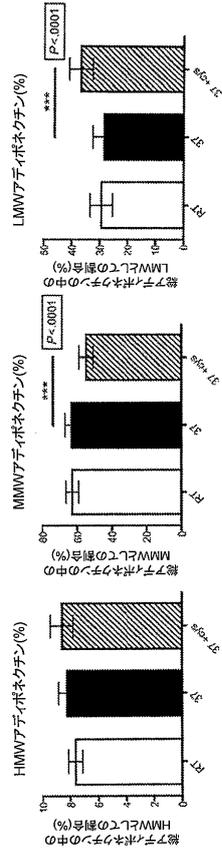
【 図 11 】



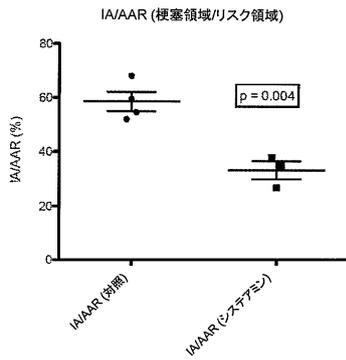
【 1 2 】



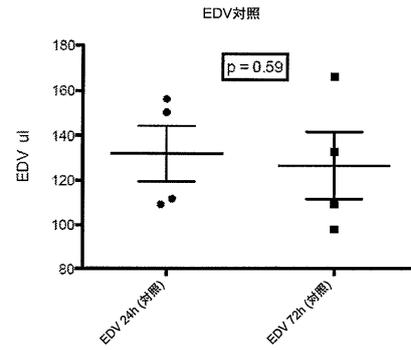
【 1 3 】



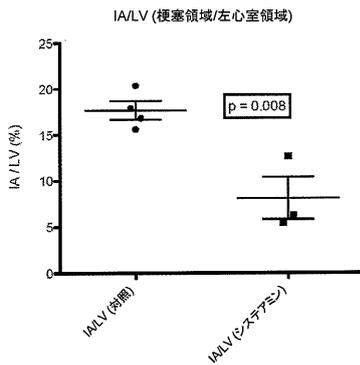
【 1 4 A 】



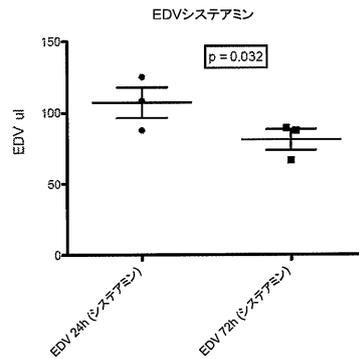
【 1 5 A 】



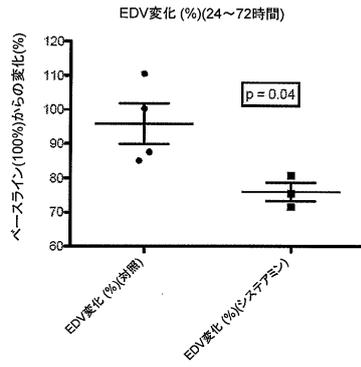
【 1 4 B 】



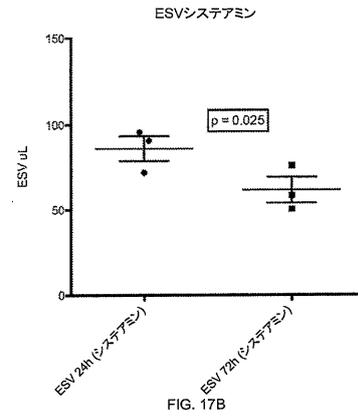
【 1 5 B 】



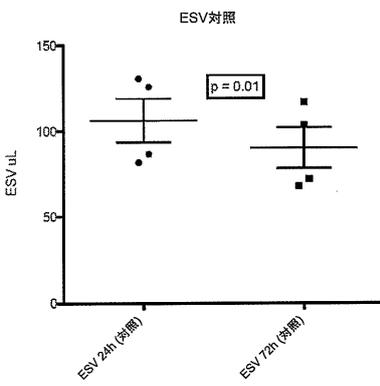
【 図 16 】



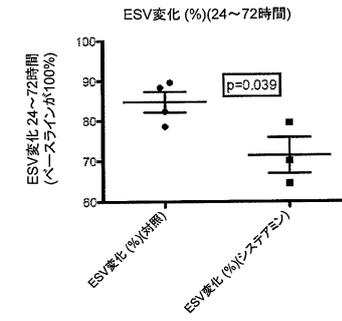
【 図 17 B 】



【 図 17 A 】



【 図 18 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
 A 6 1 K 31/47 (2006.01) A 6 1 K 31/37
 A 6 1 K 31/47

(74)代理人 100171505

弁理士 内藤 由美

(72)発明者 ドヒル,ランジャン

アメリカ合衆国 9 2 1 3 0 カリフォルニア州,サンディエゴ,トヨン メサ コート 1 2 7
 8 4

(72)発明者 フィリップス,スーザン,エー.

アメリカ合衆国 9 2 1 2 2 カリフォルニア州,サンディエゴ,カミニート カシス 3 9 6 7

審査官 馬場 亮人

(56)参考文献 特開平02-243619(JP,A)

特開昭61-178967(JP,A)

特表2007-536244(JP,A)

Protective effects of sulfhydryl-compounds on ischemia/reperfusion induced arrhythmias in the isolated rabbit heart. , Yaoxue Xuebao (1991), 26(2), 91-5, 1991年

Expression of tissue-type transglutaminase (tTG) and the effect of tTG inhibitor on the hippocampal CA1 region after transient ischemia in gerbils. , Brain Res. , 2009年, Vol.263, p. 134-42

Cystamine prevents ischemia-reperfusion injury by inhibiting polyamination of RhoA, Biochemical and Biophysical Research Communications, 2008年, Vol.365, p. 509-514

The Journal of Clinical Investigation, Inc. , 1984年, Vol. 74, p. 411-416

Enteric-coated cysteamine for the treatment of paediatric non-alcoholic fatty liver disease. , Aliment Pharmacol Ther. , 2011年 5月, Vol.33, No.9, p. 1036-44

肥満症とアディポサイトカイン, 日本内科学会雑誌, 2011年 4月, Vol.100, No.4, p. 911-916

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 3 / 4 4

A 6 1 K 4 5 / 0 0

A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2

A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)