

(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2013-533305

(P2013-533305A)

(43) 公表日 平成25年8月22日(2013.8.22)

(51) Int.Cl.

A61K 45/00 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61K 31/4178 (2006.01)
A61K 31/475 (2006.01)

F 1

A 61 K 45/00
A 61 P 1/16
A 61 P 43/00
A 61 K 31/4178
A 61 K 31/475

テーマコード(参考)

4 C 08 4
4 C 08 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 28 頁)

(21) 出願番号 特願2013-523660 (P2013-523660)
(86) (22) 出願日 平成23年8月12日 (2011.8.12)
(85) 翻訳文提出日 平成25年3月15日 (2013.3.15)
(86) 國際出願番号 PCT/GB2011/001217
(87) 國際公開番号 WO2012/020235
(87) 國際公開日 平成24年2月16日 (2012.2.16)
(31) 優先権主張番号 1013573.9
(32) 優先日 平成22年8月12日 (2010.8.12)
(33) 優先権主張国 英国(GB)

(71) 出願人 505367464
ユーシーエル ビジネス ピーエルシー
イギリス国 ダブリュー1ティー 4ティ
ーピー ロンドン、トッテンハム コート
ロード 97, ザ ネットワーク ビル
ディング
(74) 代理人 100091096
弁理士 平木 祐輔
(74) 代理人 100118773
弁理士 藤田 節
(74) 代理人 100122389
弁理士 新井 栄一
(74) 代理人 100111741
弁理士 田中 夏夫

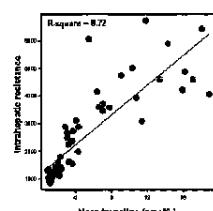
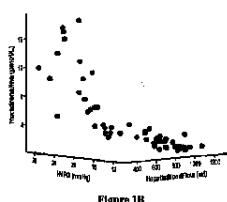
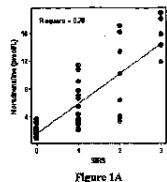
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】治療

(57) 【要約】

本発明は、アルファ2aアドレナリン受容体(ADRA2a)レベルの増加が慢性肝疾患に関連し、ADRA2aレベルを *in vivo*で減少させることにより慢性肝疾患のいくつかの症状及び結果が低減され得るとの知見に由来する。従って、本発明は、肝疾患を患っている個体を治療する方法における使用のためのADRA2aアンタゴニストを提供する。

【選択図】図1A



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

肝疾患を患っている個体を治療する方法における使用のためのアルファ2aアドレナリン受容体(ADRA2a)のアンタゴニスト。

【請求項 2】

前記個体が慢性肝疾患を患っている、請求項1に記載の使用のためのアンタゴニスト。

【請求項 3】

前記個体が肝硬変を患っている、請求項1又は2に記載の使用のためのアンタゴニスト。

【請求項 4】

前記方法が、肝不全を治療又は予防するための方法である、請求項1～3のいずれか一項に記載の使用のためのアンタゴニスト。 10

【請求項 5】

個体が、肝疾患を患っていない被験体と比較して、(a)内臓血管拡張及び正常、低下又は増加した心拍出量、(b)門脈圧亢進症、(c)平均動脈圧低下、(d)肝動脈血流低下、(e)肝内抵抗増加、(f)血漿アンモニア增加、(g)肝腎機能障害、(h)脳水増加、(i)血漿クレアチニン増加、(j)血漿乳酸増加、(k)アルコール性硬変及び/又は(l)非アルコール性脂肪肝疾患のうち1又は複数を患っている、又はそのリスクがある、請求項1～4のいずれか一項に記載の使用のためのアンタゴニスト。

【請求項 6】

個体が活動性肝炎を患っていない、及び/又は個体が肝臓の顕著な炎症を有さない、請求項1～5のいずれか一項に記載の使用のためのアンタゴニスト。 20

【請求項 7】

- (a)個体の肝臓におけるADRA2a発現の減少、及び/又は
- (b)個体の肝臓におけるADRA2aレベルの減少、及び/又は
- (c)個体の肝臓におけるADRA2a活性の減少、及び/又は
- (d)個体の肝臓におけるADRA2aを介したシグナル伝達の減少

をもたらす、請求項1～6のいずれか一項に記載の使用のためのアンタゴニスト。

【請求項 8】

BRL-44408、ヨヒンビン及びラウォルシンから選択される、請求項1～7のいずれか一項に記載の使用のためのアンタゴニスト。 30

【請求項 9】

- (a)ADRA2aの特異的アンタゴニストであり、
- (b)ADRA2aの選択的アンタゴニストであり、
- (c)ADRA2bのアンタゴニストではなく、
- (d)ADRA2cのアンタゴニストではなく、
- (e)ADRA1のアンタゴニストではなく、及び/又は
- (f)ADRBのアンタゴニストではない、

請求項1～8のいずれか一項に記載の使用のためのアンタゴニスト。

【請求項 10】

その必要がある個体における肝疾患を治療する方法であって、アルファ2aアドレナリン受容体(ADRA2a)のアンタゴニストを前記個体に投与するステップを含む方法。 40

【請求項 11】

肝疾患の治療における使用に適した薬剤を同定する方法であって、被験薬が、ADRA2aの量又は活性を減少させることができるか決定するステップを含み、ADRA2aの量又は活性を減少させる能力が、化合物が肝疾患の治療における使用に適切であり得ることを示す方法。

【請求項 12】

ADRA2aの量又は活性が、

- (a)肝臓又は肝臓に由来する組織若しくは細胞、
- (b)腎臓若しくは心臓又は腎臓若しくは心臓に由来する細胞、

50

- (c) 血小板又はニューロン、あるいは
- (d) ADRA2aを発現する別の細胞又は組織

のうち1又は複数において評価される、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

被験薬を門脈圧亢進症又は硬変の動物モデルに投与するステップと、被験薬の存在が、ラットの肝臓におけるADRA2aの量又は活性の減少をもたらすか決定するステップとを含む、請求項11又は12に記載の方法。

【請求項14】

動物モデルが、胆管結紮ラットである、請求項13に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、肝臓におけるアルファ2aアドレナリン受容体(ADRA2a)の発現が、胆管結紮ラット(硬変のモデル)において増加するとの予期せぬ知見に由来する。更に、ADRA2aをアンタゴナイズすることにより、門脈圧亢進症等、硬変の望ましくない結果又は症状の多くが低減され得る。本発明は、これらの知見を利用して、肝疾患の治療、例えば、門脈圧亢進症の治療において用いることのできるADRA2aアンタゴニストを同定及び提供する。

【背景技術】

【0002】

NIHによる1976～80年の期間に亘る統計は、米国における肝硬変による死亡が26,000人を超えたことを示唆する。このデータを外挿して、現在の西洋及び開発途上国におけるウイルス性及びアルコール性肝疾患の負担増大を組み入れると、この数は世界中で年間数百万人を超える。この数値は、進行リスクを有する慢性肝疾患としての認識が高まっている、非アルコール性脂肪肝疾患(糖尿病及びメタボリックシンドロームと関連)の新たな実体の認識に伴い増加し続ける可能性がある。

【0003】

硬変は、主として門脈圧亢進症に起因する重篤な罹患率及び死亡率を伴う。門脈血管における血圧上昇は、血管を流れる血液量の増加又は/及び肝臓を通る血流に対する抵抗の増加のいずれかに起因し得る。西洋諸国において、門脈圧亢進症の最大の原因是、殆どの場合、慢性的な過剰アルコール摂取により硬変した肝臓の広範な瘢痕が原因である、血流に対する抵抗増加である。

【0004】

門脈圧亢進症は、肝臓を迂回しつつ門脈血管を全身循環に直接的に連絡する、新しい静脈(側副血管と称される)を発生させる。この迂回のため、正常では肝臓により血液から除去される物質(毒素等)が、全身循環へと進行し得る。側副血管は、特に食道下端及び胃上部において発生する。すると、血管は静脈瘤となり得る。これらの充血静脈瘤血管は脆弱であり、時に重篤に、時に致死的結果を伴い出血する傾向がある。

【0005】

静脈瘤出血のリスクを低下させるために門脈圧を低下させるための現在の治療は、約40%の有効性に限定されており、これは一部には、ベータ遮断薬等の薬剤の耐容性に起因する。その上、このような薬剤は、全身の血管拡張にもかかわらず硬変における肝臓の血流は既に低くなっているため、肝灌流を減少させて、肝機能を更に損なう可能性があることが示唆される。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

交感神経緊張の増加は、硬変における肝内抵抗の重症度の調節において中心的な役割を果たす。本発明者らは、交感神経系活性化、炎症反応及び門脈圧亢進症重症度の間に密接な関係があることを示した。特に、本発明は、ADRA2aアンタゴニストによるアルファ2aアドレナリン受容体(ADRA2a)媒介性交感神経緊張の調節が、肝血流も増加させつつ、有意に

10

20

30

40

50

全身性血行動態を改善し、門脈圧を低下させるとの予期せぬ知見に基づく。この観察結果は予想と反対である。硬変において、交感神経活性化は、内臓の血管拡張の結果であり、血圧低下を代償するよう作用する。従って、体循環は、交感神経緊張増加依存的となる。従って、交感神経系のアンタゴナイスは、硬変におけるその有効性を制限するであろう更なる血管拡張及び血圧低下を伴うことが予想される。

【0007】

従って、本発明は、肝疾患を患っている個体を治療する方法における使用のためのアルファ2aアドレナリン受容体(ADRA2a)のアンタゴニストを提供する。

【0008】

個体は、肝硬変等、慢性肝疾患を患っていることがある。個体は、末梢血管拡張、内臓血管拡張、心拍出量低下、門脈圧亢進症、平均動脈圧低下、肝動脈血流低下、肝内抵抗増加、血漿アンモニア增加、腎機能障害、脳水(brain water)増加、血漿クレアチニン増加、血漿乳酸増加、血漿アラニン及び/又はアスパラギン酸アミノ基転移酵素増加、アルコール性肝疾患及び/又は非アルコール性脂肪肝疾患等、肝疾患に関連する様々な症状を患っていることがある。

10

【0009】

ADRA2aアンタゴニストは、硬変を有する個体における肝不全等、肝不全の治療又は予防に用い得る。ADRA2aアンタゴニストは、個体の肝臓におけるADRA2a発現の減少及び/又は個体の肝臓におけるADRA2aレベルの減少及び/又は個体の肝臓におけるADRA2aを介したシグナル伝達等、ADRA2a活性の減少をもたらし得る。アンタゴニストは、(a)ADRA2aの特異的アンタゴニストであり、(b)ADRA2bのアンタゴニストではなく、(c)ADRA2cのアンタゴニストではなく、(d)ADRA1のアンタゴニストではなく、及び/又は(e)ADRBのアンタゴニストではなくてよい。アンタゴニストは、BRL-44408、ヨヒンビン、ラウォルシンから選択し得る。

20

【0010】

よって、本発明はまた、その必要がある個体における肝疾患を治療する方法であって、アルファ2aアドレナリン受容体(ADRA2a)のアンタゴニストを個体に投与するステップを含む方法に関する。同様に、本発明はまた、肝疾患を患っている個体の治療における使用のための医薬の製造における、ADRA2aアンタゴニストの使用に関する。

30

【0011】

本発明はまた、肝疾患の治療における使用に適した薬剤を同定する方法であって、被験薬が、ADRA2aを介したシグナル伝達の量等、ADRA2a活性の量を減少させることができることが決定するステップを含み、このようなADRA2a活性の量を減少させる能力が、化合物が肝疾患の治療における使用に適切であり得ることを示す方法を提供する。このような方法は、ADRA2aを発現又は含有する細胞又は組織におけるADRA2aを介したシグナル伝達等、ADRA2a活性の量を評価することにより行い得る。例えば、ADRA2aの量又は活性は、肝臓において、又は肝臓に由来する組織若しくは細胞において、腎臓若しくは心臓又は腎臓若しくは心臓に由来する細胞において、炎症細胞、血小板又はニューロンにおいて、あるいはADRA2aを発現する別の細胞又は組織において評価し得る。このような方法は、被験薬を胆管結紮ラットに投与し、被験薬の存在が、ラットの肝臓におけるADRA2aの量又は活性の減少をもたらすか決定することにより行い得る。

40

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1A】図1は、ノルアドレナリンレベルと種々の因子との関係を報告する図である。図1Aは、全身性炎症反応(SIRS)とノルアドレナリンレベルとの関係を報告する。

【図1B】図1は、ノルアドレナリンレベルと種々の因子との関係を報告する図である。図1Bは、門脈圧(HVPG)及び肝血流とノルアドレナリンレベルとの関係を報告する。最も色の薄い丸は、代償性患者の測定値を示し、次に薄い丸は、非代償性患者の測定値を示し、最も色の濃い丸は、慢性肝不全急性化(acute on chronic liver failure)(ACLF)患者の測定値を示す。

50

【図1C】図1は、ノルアドレナリンレベルと種々の因子との関係を報告する図である。図1Cは、肝内抵抗とノルアドレナリンレベルとの間の関係を報告する。この図は優れた相関を立証する。

【図2A】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。A:平均動脈血圧。

【図2B】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。B:心拍出量。

【図2C】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。C:門脈圧。

【図2D】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。D:肝動脈血流。

【図2E】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。E:肝内抵抗。

【図2F】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。F:血漿アンモニアレベル。

【図2G】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。G:脳水。

【図2H】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。H:血漿クレアチニン。

【図2I】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。I:血漿乳酸。

【図2J】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。J:血漿アスパラギン酸アミノ基転移酵素(AST)。

【図2K】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。K:血漿アラニンアミノ基転移酵素(ALT)。

【図2L】胆管結紮(BDL)又は偽手術(SHAM)ラットにおけるBRL-44408(BRL)又はプラセボ(生理食塩水、N/S)による処置の効果を報告する図である。L:肝臓組織における核内因子B(NF-B)の発現。

【図3】偽手術ラット及び胆管結紮ラットの肝臓におけるアルファ2a受容体の発現を報告する図である。

【図4】偽手術ラット及び胆管結紮ラットの肝臓におけるアルファ2a受容体の発現を報告する図である。図4A=偽手術ラット。図4B=胆管結紮ラット。

【発明を実施するための形態】

【0013】

交感神経系(SNS)は、生体における多くの恒常性維持機構の上方及び下方制御に関与する。SNS線維は、ほぼ全ての臓器系における組織を神経支配し、瞳孔径、腸運動性及び尿量といった多種多様なものに少なくとも一部の調節機能を提供する。

【0014】

ノルアドレナリン(又はノルエピネフリン)は、ホルモン及び神経伝達物質として等、複数の役割を有するカテコールアミンである。ノルエピネフリンは、アドレナリン受容体と結合し、それを活性化することにより、その作用を標的細胞に及ぼす。異なる種類の受容体の標的細胞発現は、最終的な細胞効果を決定し、よって、ノルエピネフリンは、異なる細胞型において異なる作用を有する。

【0015】

アドレナリン受容体は、数種のサブタイプを有する主要な2群 及び が存在する。

【0016】

- 受容体は、サブタイプ₁(G_q共役受容体)及び₂(G_i共役受容体)を有する。

【0017】

10

20

30

40

50

- 受容体は、サブタイプ₁、₂及び₃を有する。全3種共に、G_sタンパク質と連結する(尚、₂はGiとも共役する)。

【0018】

アルファ-2-アドレナリン受容体は、Gタンパク質共役受容体スーパーファミリーのメンバーである。これは、3種の高度に相同意向的なサブタイプ、アルファ2a、アルファ2b及びアルファ2cを包含する。これら受容体は、交感神経から及び中枢神経系におけるアドレナリン作動性ニューロンからの神経伝達物質放出の調節において重大な役割を有する。マウスにおける研究は、アルファ2a及びアルファ2cサブタイプが両者共に、心臓における交感神経から及び中枢性ノルアドレナリン作動性ニューロンからの伝達物質放出の正常なシナプス前制御に必要とされることを明らかにした。アルファ2aサブタイプは、高い刺激頻度で伝達物質放出を阻害し、一方、アルファ2cサブタイプは、より低レベルの神経活性で神経伝達を調節した。

10

【0019】

アルファ1アドレナリン受容体は、G_qGタンパク質と共に血管収縮を促進するホスホリパーゼC及びIP₃-カルシウム経路を刺激するシナプス後受容体である。アルファ2アドレナリン受容体は、アデニル酸シクラーゼ(adenyl cyclase)において阻害効果を有するG_iGタンパク質と共に、それらは血管弛緩を促進し血圧を下げる。

【0020】

G_iアルファサブユニット(又はG_i/G₀若しくはGiタンパク質)は、ATPからcAMPの産生を阻害するヘテロ三量体Gタンパク質サブユニットである。このアルファサブユニットは、目的の受容体である。これは染色体7q21に位置する。G_qGタンパク質は、正常には、アルファ1アドレナリン受容体と共に作用する。しかし、アルファ1受容体のアンタゴニスト及びアルファ2アドレナリン受容体のアンタゴニストとして作用し得るオキシメタゾリン等の多くの薬物が存在する。

20

【0021】

本発明は、アルファ2aアドレナリン受容体の標的化が、硬変等、肝疾患を患っている患者における特定の有用性を有するという知見にある。よって、アルファ2aアドレナリン受容体機能の阻害剤又はアルファ2aアドレナリン受容体アンタゴニストを用いることにより、硬変及び門脈圧亢進症に関連する症状等、肝疾患に関連する症状が、低下又は軽減され得る。

30

【0022】

ADRA2aアンタゴニスト

本発明は、アルファ2aアドレナリン受容体(ADRA2a)の拮抗作用に関する。ADRA2aのアンタゴニストは、ADRA2aの活性、機能又は量を阻害又は減少させるいかなる化合物又は分子でもよい。好ましくは、アンタゴニストは、患者の肝臓における等、ADRA2aを発現する細胞、組織又は臓器において機能する。アンタゴニストは、肝臓において優先的に作用し得、又は肝臓を含むいくつかの部位において作用し得る。アンタゴニストは、炎症細胞、血小板又はニューロン等、特定の細胞型において優先的に作用し得る。好ましくは、アンタゴニストは、個体の肝臓、腎臓、脳及び心臓のうち1又は複数における等、アンタゴニストが投与された個体の細胞、組織又は臓器におけるADRA2a活性、機能又は量の減少をもたらす。活性の減少は、ADRA2aを介したシグナル伝達の減少であり得る。アンタゴニストは、更に後述する通り投与において、上述の肝臓又は他の臓器、細胞若しくは組織を標的とし得る。

40

【0023】

好ましいアンタゴニストは、ADRA2aの活性(例えば、ADRA2aを介したシグナル伝達)又は量(例えば、mRNA若しくはタンパク質レベルとして測定される発現レベル)を、アンタゴニストの非存在下で観察される量と比較して少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%又は少なくとも90%減少させるアンタゴニストである。例えば、これらの規模の減少は、アゴニストが投与された被験体の肝臓又は肝臓組織において観察され得る。これらの

50

規模の減少は、個体の腎臓及び/又は心臓における等、個体の他の組織又は臓器において観察され得る。

【0024】

ADRA2aのアンタゴニストは、ADRA2aの活性又は量を、肝疾患を患っていない個体において観察されるものと同一、それと類似した又はそれに相当する量又は活性に低下させ得る。例えば、本明細書において説明されている通り、ADRA2aの発現は、硬変モデルに関連して増加することが見い出される。本発明によるADRA2aアンタゴニストの使用は、治療を受けている個体の肝臓におけるADRA2a発現を、慢性肝疾患又は硬変を患っていない個体において観察又は予想されるレベル等、正常レベルへと低下させ得る。

【0025】

アンタゴニストは、特異的又は選択的に作用して、ADRA2aをアンタゴナイズし得る。特異的及び選択的という用語は、本明細書において互換的に用いられ、他のアドレナリン受容体における効果に優先してADRA2aに関する効果を言う。即ち、ADRA2aにおけるアンタゴニストの効果は、アンタゴニストのその他の生物学的効果よりも大きくなり得る。このようなアンタゴニストは、ADRA2aの阻害に特異的であり得る、即ち、ADRA2aの活性を減少させ得るが、他のアドレナリン受容体の活性は減少させない。本明細書において、ADRA2aの活性は、例えば、ADRA2aのシグナル伝達を意味する。それに加えて又はその代わりに、このようなアンタゴニストは、ADRA2aの発現に特異的であり得る、即ち、ADRA2aの発現を減少させ得るが、他のアドレナリン受容体の発現は減少させない。

【0026】

本発明による使用のための特異的アンタゴニストは、ADRA2b、ADRA2c、ADRA1及び/又はADRB等の他のアドレナリン受容体型のアンタゴニストとして作用しない、本明細書に記載されているADRA2aのアンタゴニストであり得る。本発明による使用のための特異的アンタゴニストは、他のアドレナリン受容体型に優先してADRA2aにおいて作用し得る。例えば、本発明による使用のためのADRA2aのアンタゴニストは、ADRA2a発現又はADRA2aを介したシグナル伝達を低下させる能力等、本明細書に記載されているADRA2aアンタゴニストの特徴のうち1又は複数を有してよいが、他のアドレナリン受容体型に関するこのような特徴を有さなくてよく、又は他のアドレナリン受容体型に関してADRA2aと比較したときにより低レベルでこのような特徴を有してよい。例えば、ADRA2aの活性(例えば、該受容体を介したシグナル伝達)又は発現を減少させるアンタゴニストは、1若しくは複数の他のアドレナリン受容体型の活性(例えば、該受容体を介したシグナル伝達)若しくは発現を減少させず、又は他のアドレナリン受容体型(複数可)の活性を、ADRA2aよりも少ない程度で減少させ得る。より少ない程度は、例えば、アンタゴニスト非存在下の活性若しくは発現と比較したとき、又はADRA2aにおけるその効果と比較したとき、30%未満、20%未満、10%未満、5%未満、2%未満、1%未満若しくは0.5%未満の活性又は発現の減少等、アンタゴニスト非存在下の活性若しくは発現と比較したときにより少ないパーセンテージ減少として測定し得る。従って、ADRA2aの活性、発現又は量を減少させるアンタゴニストは、他のアドレナリン受容体型の発現若しくは量を減少させない、又は他のアドレナリン受容体型の発現を、ADRA2aにおけるその効果よりも少ないパーセンテージ減少等、より少ない程度で減少させ得る。

【0027】

本明細書における他のアドレナリン受容体型とは、アルファ2aアドレナリン受容体以外のいずれかのアドレナリン受容体を意味する。例えば、他のアドレナリン受容体型は、アルファ2bアドレナリン受容体(ADRA2b)、アルファ2cアドレナリン受容体(ADRA2c)、アルファ1アドレナリン受容体(ADRA1)又はベータ1、ベータ2若しくはベータ3アドレナリン受容体等のベータアドレナリン受容体(ADRB)のうち1又は複数であり得る。

【0028】

他のアドレナリン受容体は、これらのアドレナリン受容体型のうちいずれか1種であり得る。ADRA2aアンタゴニストは、その他のアドレナリン受容体型におけるその効果と比較して、上述の通りADRA2aに特異的であり得る。例えば、ADRA2aアンタゴニストは、ADRA1

10

20

30

40

50

と比較してADRA2aに特異的であり得る。

【0029】

他のアドレナリン受容体は、これらアドレナリン受容体型のうち2種以上であり得る。例えば、ベータアドレナリン受容体における薬剤の効果と比較したとき、アルファ1アドレナリン受容体における薬剤の効果と比較したとき、及び/又はアルファ2b及びアルファ2c受容体等、アルファ2aアドレナリン受容体以外の他のアルファ2アドレナリン受容体と比較した薬剤の効果と比較したときに、ADRA2a受容体におけるアンタゴニストの効果は、上述の通り特異的であり得る。ADRA2a受容体におけるアンタゴニストの効果は、存在するアドレナリン受容体のあらゆる他のクラスと比較したときに上述の通り特異的であり得る。

【0030】

ADRA2aアンタゴニストの特異性は、治療対象の個体の全身に適用し得る、即ち、ADRA2aアンタゴニストの作用が、個体の身体全体において上述の通り特異的であり得る。ADRA2aアンタゴニストの特異性は、肝臓、腎臓又は心臓等、個体の特定の組織内に適用し得る。即ち、一実施形態において、ADRA2aアンタゴニストは、治療を受けている個体の肝臓内におけるADRA2aを上述の通りアンタゴナイズするよう特異的に作用し得る。

10

【0031】

従って、ADRA2aアンタゴニストは、前述の通りADRA2aの特異的アンタゴニストであり得る。例えば、ADRA2aアンタゴニストは、ADRA2bのアンタゴニストではない、又はADRA2bの活性(例えば、シグナル伝達)若しくは発現における有意な効果を持たないことがある。ADRA2aアンタゴニストは、ADRA2cのアンタゴニストではない、又はADRA2cの活性若しくは発現におけるいかなる有意な効果も持たないことがある。ADRA2aアンタゴニストは、ADRA1(アルファ1アドレナリン受容体)のアンタゴニストではない、又はADRA1の活性若しくは発現におけるいかなる有意な効果も持たないことがある。ADRA2aアンタゴニストは、ベータアドレナリン受容体(ADRB)のアンタゴニストではない、又はADRBの発現若しくは活性におけるいかなる有意な効果も持たないことがある。

20

【0032】

ADRA2aの活性又は機能を阻害することができるいかなる薬剤も、本発明の方法における使用に適切であり得る。本発明による使用のためのアンタゴニストは、ADRA2aの直接又は間接アンタゴニストであり得る。

30

【0033】

直接アンタゴニストは、その活性が直接ADRA2aに対するものである薬剤である。例えば、直接アンタゴニストは、ADRA2a受容体に直接的に作用して、その活性を減少させる薬剤であり得る。直接アンタゴニストは、ADRA2a機能を崩壊させる、又はADRA2a受容体を不安定化させる薬剤であり得る。直接アンタゴニストは、患者におけるADRA2a分子を破壊又は崩壊させることにより、ADRA2aの量を減少させ得る。直接アンタゴニストは、ADRA2a遺伝子、プロモーター又は他の遺伝子調節領域において作用して、ADRA2aの発現を減少させる薬剤であり得る。直接アンタゴニストは、内在性ADRA2a遺伝子からの発現を抑制又は低下させることにより、ADRA2aの発現を減少させ得る。

【0034】

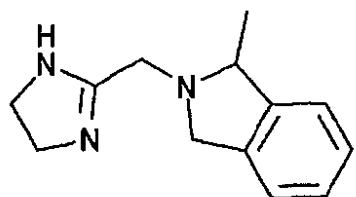
前述の特性を有するいかなる薬剤又は分子を、本発明によるADRA2aアンタゴニストとして用いてもよい。本発明により用い得るADRA2aアンタゴニスト又は阻害剤の例として、以下が挙げられる。

40

【0035】

- BRL-44408(2-[(4,5-ジヒドロ-1H-イミダゾール-2-イル)メチル]-2,3-ジヒドロ-1-メチル-1H-イソインドール)、シグマ(Sigma)英国から販売;

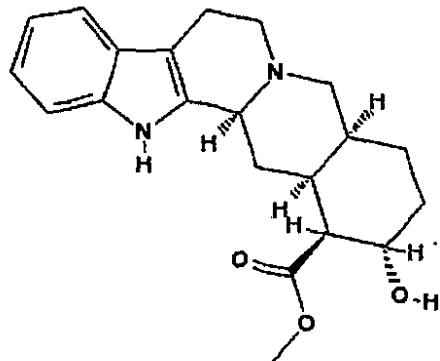
【化1】



【0036】

- ヨヒンビン;

【化2】



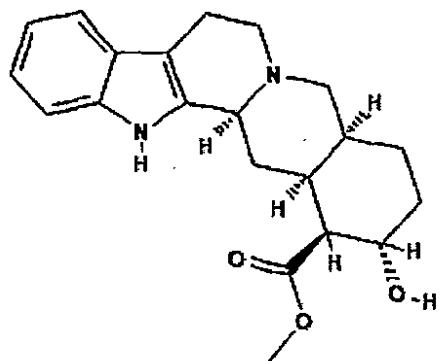
10

20

【0037】

- ラウォルシン;

【化3】



30

 $\text{Cl} \rightarrow \text{H}$

【0038】

40

ADRA2aアンタゴニストは、ADRA2aと結合して、その活性を抑制又は崩壊させることができる分子であり得る。

【0039】

従って、本発明による使用のためのADRA2aアンタゴニストの一群は、抗ADRA2a抗体である。このような抗体は、モノクローナルであってもポリクローナルであってもよく、又はその抗原結合性断片であってもよい。例えば、抗原結合性断片は、F(ab)2、Fab又はFv断片、即ち、抗原結合部位を含む抗体「可変」領域の断片であっても、それを含んでいてもよい。抗体又はその断片は、单鎖抗体、キメラ抗体、CDR移植抗体又はヒト化抗体であり得る。

【0040】

50

抗体は、ADRA2a分子に向けられていてよい、即ち、ADRA2aに存在するエピトープと結合し、よって、ADRA2aと選択的に及び/又は特異的に結合し得る。抗体は、ADRA2aの発現及び/又は活性に関与する別の分子に向けられていてよい。例えば、ADRA2a、及び/又はADRA2aの発現及び/又は活性に関与する1又は複数の他の分子における1又は複数のエピトープに対し広範な効果を有するポリクローナル抗体が產生されてもよい。

【0041】

抗体は、任意の適切な方法により產生することができる。抗体を調製及び特性評価するための手段は、当技術分野においてよく知られており、例えば、Harlow and Lane (1988)

「Antibodies: A Laboratory Manual」、コールド・スプリング・ハーバー研究所出版局(Cold Spring Harbor Laboratory Press)、ニューヨーク州コールド・スプリング・ハーバーを参照されたい。例えば、抗体は、宿主動物においてポリペプチド全体又はその断片、例えば、その抗原エピトープ、以下「免疫原」に対し抗体を作製することにより產生してもよい。

10

【0042】

抗体又は他の化合物は、それが特異的である分子とは優先的又は高親和性で結合するが、他の分子とは実質的に結合しない又は低親和性でしか結合しない場合、分子と「特異的に結合」する。抗体の特異的結合能を決定するための競合的結合又は免疫放射線測定法の様々なプロトコールは、当技術分野においてよく知られている(例えば、Maddoxら、J. Ex p. Med. 158、1211～1226、1993を参照)。このようなイムノアッセイは、典型的には、特異的タンパク質とその抗体との間の複合体の形成及び複合体形成の測定を含む。

20

【0043】

ADRA2aアンタゴニストは、ADRA2aタンパク質をコードする遺伝子に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド等、アンチセンスオリゴヌクレオチドであり得る。

【0044】

本明細書において使用される用語「アンチセンスオリゴヌクレオチド」は、所望の遺伝子のmRNAに相補的なヌクレオチド配列を意味する。このようなアンチセンスオリゴヌクレオチドは、所望の遺伝子と選択的にハイブリダイズし得る。本発明の文脈において、所望の遺伝子は、ADRA2aをコードする遺伝子であり得る。

【0045】

ADRA2aアンタゴニストは、ADRA2a遺伝子の発現を調節し得る。例えば、ADRA2aアンタゴニストは、低分子干渉核酸(siRNA)分子、二本鎖RNA(dsRNA)、マイクロRNA、デオキシリボ核酸干渉(DNAi)又は低分子ヘアピン型RNA(shRNA)分子であり得る。

30

【0046】

本明細書において使用される用語「選択的にハイブリダイズする」とは、第二の核酸と検出可能且つ特異的に結合する核酸の能力を言う。オリゴヌクレオチドは、感知できる量の非特異的核酸との検出可能な結合を最小化するハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で、標的核酸鎖と選択的にハイブリダイズする。当技術分野において公知の通り、高ストリンジエンシー条件を用いて、選択的ハイブリダイゼーション条件を達成することができる。典型的には、ハイブリダイゼーション及び洗浄条件は、従来のハイブリダイゼーション手順に従って高ストリンジエンシーで行われる。洗浄条件は典型的には、1～3×SSC、0.1～1%SDS、50～70℃であり、約5～30分後に洗浄溶液を交換する。

40

【0047】

ADRA2aアンタゴニストは、アンチセンス分子又はアプタマー等、核酸分子であり得る。核酸分子は、特異的標的分子と結合し得る。

【0048】

アプタマーは、完全にin vitroで操作することができ、化学合成により容易に產生され、望ましい貯蔵特性を有し、治療適用において免疫原性を殆ど又は全く誘発しない。これらの特徴から、アプタマーは、製薬及び治療上の有用性において特に有用となる。

【0049】

用語「核酸分子」及び「ポリヌクレオチド」は、本明細書において互換的に用いられ、

50

デオキシリボヌクレオチド若しくはリボヌクレオチド又はそれらのアナログのいずれかである任意の長さのポリマー型ヌクレオチドを言う。核酸は、従来の塩基、糖残基及びヌクレオチド間結合を含み得るが、修飾塩基、修飾糖残基又は修飾結合を含んでもよい。核酸分子は、一本鎖でも二本鎖でもよい。

【0050】

一般に、アプタマーは、少なくとも5、少なくとも10又は少なくとも15ヌクレオチドの長さのオリゴヌクレオチドを含み得る。アプタマーは、最大40、最大60若しくは最大100又はそれ以上の長さのヌクレオチドである配列を含み得る。例えば、アプタマーは、5~100ヌクレオチド、10~40ヌクレオチド又は15~40ヌクレオチドの長さであり得る。可能であれば、他の分子又は材料による干渉が少ないとから、より短い長さのアプタマーが好みしい。

10

【0051】

アプタマーは、試験管内進化法(*Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment*) (SELEX)手順等、ルーチンの方法を用いて作製し得る。SELEXは、標的分子と高度に特異的に結合する核酸分子の*in vitro*進化のための方法である。これは、例えば、米国特許第5,654,151号明細書、米国特許第5,503,978号明細書、米国特許第5,567,588号明細書及び国際公開第96/38579号パンフレットにおいて記載されている。SELEX方法は、オリゴヌクレオチドのコレクションから核酸アプタマー、特に、所望の標的と結合することができる一本鎖核酸の選択を含む。結合に有利な条件下で、一本鎖核酸(例えば、DNA、RNA又はそれらの変種)のコレクションを標的と接触させ、混合物における標的と結合している核酸を結合していない核酸から分離し、核酸標的複合体を解離させ、標的と結合していた核酸を増幅して、所望の結合活性を有する核酸が濃縮されたコレクション又はライブラリーを得て、繰り返して、必要に応じてこの一連のステップを繰り返して、関連する標的に特異的結合親和性を有する核酸(アプタマー)ライブラリーを产生する。

20

【0052】

従って、本明細書に記載されているアンタゴニストのいずれかを用いて、ADRA2aをアンタゴナイズ、即ち、存在するADRA2aの量及び/又はADRA2aの活性(例えば、それを介したシグナル伝達)若しくは機能を減少させ得る。この拮抗作用は、ADRA2aが存在する任意の部位又は組織において行われ得る。拮抗作用は、脳、腎臓、肝臓及び心臓から選択される1又は複数の臓器において行われ得る。拮抗作用は、炎症細胞、血小板及び/又はニューロン等、ADRA2aを発現する細胞において行われ得る。好ましくは、これらのアンタゴナイズ効果は、肝臓において行われる。

30

【0053】

ADRA2aのアンタゴニストは、内在性ADRA2aの産生を減少させる薬剤であり得る。例えば、薬剤は、被験体の細胞内において作用して、ADRA2aの発現を阻害又は抑制し得る。このような薬剤は、ADRA2a遺伝子において作用して、遺伝子発現を阻害又は抑制する転写因子又は賦活薬であり得る。

40

【0054】

スクリーニング方法

本発明はまた、肝疾患の治療における使用に適した薬剤の同定のための方法を提供する。例えば、本発明は、門脈圧の低下における等、肝疾患の治療における使用に適したADRA2aのアンタゴニストの同定のための方法を提供する。本方法により同定されたアンタゴニストは、前述の特徴又は効果のいずれかを有するADRA2aのアンタゴニストであり得る。本明細書に記載されている方法により同定されたアンタゴニストは、肝疾患の治療における又は本明細書に記載されている状態若しくは症状のいずれかの治療若しくは予防における使用に適切であり得る。

【0055】

従って、本発明は、肝疾患の治療における使用のための薬剤を同定する方法であって、被験薬が、ADRA2aの活性又は発現を減少させることができるか決定するステップを含む方法を提供する。例えば、方法は、被験薬が、ADRA2aの量又は活性を減少させることができ

50

るか決定するステップを伴うことがあり、ADRA2aの量又は活性を減少させる能力は、化合物が、本明細書に記載されている肝疾患の治療における使用に適切であり得ることを示す。

【0056】

方法は、特定の細胞又は組織型におけるADRA2aの量又は活性を評価するステップを含み得る。これは、ADRA2aを発現するいかなる組織の細胞であってもよい。例えば、方法は、肝臓において、又は肝臓に由来する組織若しくは細胞において、腎臓若しくは心臓又は腎臓若しくは心臓に由来する細胞において、炎症細胞、血小板又はニューロンにおいて、あるいはADRA2aを発現するその他の細胞又は組織においてADRA2aの量又は活性を評価し得る。

10

【0057】

本発明のスクリーニング方法における使用のための被験薬は、ADRA2aを潜在的にアンタゴナイズし得る任意の化合物、分子又は薬剤を言う。被験薬は、例えば、公知のADRA2aのアンタゴニストから出発して合理的ドラッグデザインにより設計することのできるペプチド、ポリペプチド、タンパク質、ポリヌクレオチド、小分子又は他の化合物であり得る、又はそれを含み得る。

【0058】

被験薬は、前述の通りADRA2aのアンタゴニストの1又は複数の特徴を有する任意の薬剤であり得る。

【0059】

スクリーニングされる被験薬は、化学組成物又は人工の化合物に由来又はそれから合成することができる。候補薬は、合成又は天然化合物のライブラリーを含む幅広いソースから得てよい。上述のアッセイにおいて検査され得る適切な被験薬として、ディスプレイ(例えば、ファージディスプレイ)ライブラリー等、コンビナトリアルライブラリー、小分子ライブラリー及び天然物ライブラリーに由来する化合物が挙げられる。複数の被験薬は、ADRA2a活性又は発現の阻害等、ADRA2aにおいて適切な効果を有する1又は複数の薬剤を同定するために、本発明の方法を用いてスクリーニングし得る。

20

【0060】

本発明のスクリーニング方法は、*in vivo*、*ex vivo*又は*in vitro*において行い得る。特に、被験薬を、ADRA2a又はADRA2aを含む細胞若しくは組織と接触させるステップは、*in vivo*、*ex vivo*又は*in vitro*において行い得る。本発明のスクリーニング方法は、細胞ベース又は無細胞系において行い得る。例えば、本発明のスクリーニング方法は、ADRA2aを含む細胞又は組織を被験薬と接触させるステップと、被験薬の存在が、細胞又は組織におけるADRA2aの量又は活性の減少をもたらすか決定するステップとを含み得る。

30

【0061】

例えば、ADRA2aの活性又は発現を減少させる被験薬の能力は、ADRA2aを発現する宿主細胞又は組織において検査し得る。例えば、ADRA2aの量又は活性は、肝臓において、又は肝臓に由来する組織若しくは細胞において、腎臓又は心臓等、ADRA2aを発現する別の臓器に由来する組織又は細胞において、あるいは炎症細胞、血小板又はニューロン等、ADRA2aを発現する他の細胞において、*in vitro*、*in vivo*又は*ex vivo*において評価し得る。

40

【0062】

このような細胞ベースのアッセイにおいて、ADRA2a及び/又は被験薬は、宿主細胞若しくは組織に内在性であってよく、宿主細胞若しくは組織へと導入されてよく、発現コンストラクト若しくはベクターを発現させる若しくは発現できるようにすることにより宿主細胞若しくは組織へと導入されてよく、又は細胞における内在性遺伝子からの発現を刺激若しくは活性化することにより宿主細胞若しくは組織へと導入されてよい。

【0063】

このような細胞ベースの方法において、薬剤が、細胞若しくは組織におけるADRA2a発現の調節又は細胞若しくは組織内におけるADRA2aタンパク質の不安定化等により、細胞又は組織におけるADRA2aの量を変化させているか決定するため、ADRA2aの量は、被験薬の存在

50

下又は非存在下で評価し得る。被験薬存在下の細胞又は組織内における、より低いADRA2a活性(例えば、ADRA2aを介したシグナル伝達量の減少)の存在又はADRA2a量の減少は、被験薬が、肝疾患を有する個体の治療における、本発明による使用のためのADRA2aの適切なアンタゴニストであり得ることを示す。

【0064】

一実施形態において、このような細胞ベースのアッセイは、治療対象の患者に由来する細胞又は組織においてin vitro又はex vivoで行い得る。従って、被験薬が、該被験体の細胞又は組織におけるADRA2aの活性又は量を減少させることができるか否か決定し得る。例えば、このような方法は、患者の肝臓に由来する細胞又は組織の試料において行い得る。

10

【0065】

本発明の方法は、無細胞アッセイを用いてよい。例えば、ADRA2aは、無細胞環境に存在し得る。適切な無細胞アッセイは、細胞抽出物において行い得る。例えば、本発明の方法の接触ステップは、ADRA2a及び/又は被験薬を発現し、產生し、又はその他の方法で含有し得る細胞から得られた抽出物において行い得る。ADRA2aを含む無細胞系は、被験薬等、本発明の方法の他の成分とインキュベートし得る。

【0066】

このような無細胞方法において、薬剤が、ADRA2aタンパク質の不安定化等により、細胞又は組織におけるADRA2aの量を変化させているか決定するために、ADRA2aの量は、被験薬の存在下又は非存在下で評価し得る。いずれの場合においても、被験薬存在下における、より低いADRA2a活性の存在又はADRA2a量の減少は、被験薬が、肝疾患を有する個体の治療における本発明による使用に適切なADRA2aのアンタゴニストであり得ることを示す。

20

【0067】

本発明の方法の接触ステップ(複数可)は、種々の成分のインキュベーションを含み得る。このようなインキュベーションは、任意の適切な温度、典型的には4 ~ 40 の間で行い得る。インキュベーション時間は、最適な活性のために選択してよいが、急速ハイスループットスクリーニングが容易となるように最適化してもよい。接触及び必要に応じたインキュベーションステップの後、対象とする方法は、結合していない成分を除去するための洗浄ステップを更に包含してよく、このような洗浄ステップは一般に、放射又は蛍光標識した非特異的に結合している成分等、検出の際にバックグラウンドシグナルを生じ得る標識を除去する必要がある場合に用いられる。

30

【0068】

細胞又は無細胞アッセイ系におけるインキュベーションは、マイクロタイタープレート(例えば、96ウェルプレート又は他のマイクロウェルプレート)において行ってよい。更に、インキュベーションは、自動方式(例えば、ハイスループットスクリーニングのため)で行い得る。

【0069】

本発明のスクリーニング方法は、in vivoで行ってよい。例えば、スクリーニング方法は、動物モデルにおいて行い得る。動物モデルは、門脈圧亢進症により特徴付けられたモデルであり得る。動物モデルは、硬変のモデルであり得る。このようなin vivoモデルにおいて、被験薬の効果は、肝臓において、又は腎臓若しくは心臓等、ADRA2aを発現する他の臓器、細胞若しくは組織において、あるいは炎症細胞、血小板又はニューロンにおいて評価し得る。好ましくは、動物は、ラット等、非ヒト動物である。例えば、スクリーニング方法は、実施例に記載されている通り、胆管結紩ラットモデルにおいて行い得る。実施例に示す通り、ラットにおける胆管結紩は、ラットの肝臓におけるADRA2aレベルの増加をもたらす。従って、このようなモデルは、ADRA2aレベルを減少させることのできる薬剤の同定に適切であり得る。従って、本発明のスクリーニング方法は、被験薬を胆管結紩ラットに投与するステップと、被験薬の存在が、上述のラットの肝臓又は他の臓器、細胞若しくは組織におけるADRA2aの量又は活性の減少をもたらすか決定するステップとを含み得る。

40

50

【 0 0 7 0 】

このようなモデルを用いて、被験薬の *in vivo* 効果を評価し得る。例えば、このようなモデルを用いて、被験薬が、*in vivo* で ADRA2a の活性又は量を減少させることができるか評価し得る。このような方法において、ADRA2a の量を評価し得る、及び/又は ADRA2a によるシグナル伝達等、ADRA2a の活性を評価し得る。

【 0 0 7 1 】

in vivo モデルを用いて、被験薬が、いかなる望ましくない副作用を有するか決定してもよい。例えば、本発明の方法は、被験薬が特異的であるか決定するため、ADRA2a における被験薬の効果を他の受容体におけるその効果と比較し得る。

【 0 0 7 2 】

本明細書に記載されている *in vivo* モデル又は本明細書に記載されている細胞ベース若しくは無細胞アッセイモデル等、*in vitro* モデルにおいて、ADRA2a における被験薬の効果は、他のアドレナリン受容体における同一薬剤の効果と比較し得る。上述の通り、本明細書に記載されている治療方法における使用のために好ましい ADRA2a アンタゴニストは、ADRA2a をアンタゴナイズするが、他のアドレナリン受容体はアンタゴナイズしない薬剤であり得る。よって、本発明のスクリーニング方法は、被験薬が、ADRA2a 以外の 1 又は複数のアドレナリン受容体等、1 又は複数の他のアドレナリン受容体の活性又は量において効果を有するか評価する追加的なステップを包含し得る。このような方法において、被験薬は、ADRA2a の活性又は量を減少させるが、同一アッセイにおいて 1 又は複数の他のアドレナリン受容体の活性又は量を減少させない、有意に減少させない、有意に減少させない、変化させない、又は有意に変化させないことが判明した場合、適切な ADRA2a アンタゴニストとして同定し得る。被験薬は、本発明の選択的 ADRA2a アンタゴニストに対する上述の要件のいずれかを満たす場合、適切な ADRA2a アンタゴニストとして同定し得る。例えば、適切な ADRA2a アンタゴニストは、1 若しくは複数の他のアドレナリン受容体の活性を減少させない、又は他のアドレナリン受容体(複数可)の活性を、ADRA2a におけるその効果と比較したときに 20% 未満、10% 未満、5% 未満、2% 未満、1% 未満若しくは 0.5% 未満等、より低いパーセンテージ減少等、より少ない程度で減少させ得る。1 又は複数の他のアドレナリン受容体は、アルファ 2b、アルファ 2c、アルファ 1 及びベータアドレナリン受容体のうち 1 又は複数から選択し得る。

10

20

【 0 0 7 3 】

30

アッセイが、*in vivo* で、例えば、本明細書に記載されている胆管結紮ラットモデルにおいて行われる場合、このような方法は、被験薬の存在下又は非存在下で被験動物の肝臓又は他の臓器における ADRA2a の量又は活性を比較するステップを含み得る。ADRA2a のレベル又は活性が、被験薬により処置されている動物の肝臓又は他の臓器において減少するという観察結果は、被験薬が、適切な ADRA2a のアンタゴニストであり得ることを示唆する。同一被験薬による処置が、ADRA2b 又は ADRA2c 等、1 又は複数の他のアドレナリン受容体のレベル又は活性を有意に減少又は変化させないという更なる知見は、被験薬が、本明細書に記載されている治療方法において用いてよい適切な特異的 ADRA2a のアンタゴニストであることを更に示し得る。

【 0 0 7 4 】

40

本明細書に記載されているスクリーニング方法において、被験薬の存在下における、より低い ADRA2a 活性の存在又は ADRA2a 量の減少は、被験薬が、門脈圧を低下させるため等、肝疾患を有する個体の治療のための、本発明による使用に適切な ADRA2a のアンタゴニストであり得ることを示す。

【 0 0 7 5 】

ADRA2a のアンタゴニストである被験薬は、被験薬の非存在下と比較して、被験薬の存在下において ADRA2a 活性(例えば、シグナル伝達)又はレベルの、少なくとも 5%、少なくとも 10%、少なくとも 25%、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 75% 若しくは少なくとも 85% 又はそれ以上の減少をもたらし得る。ADRA2a のアンタゴニストである被験薬は、ADRA2a の活性又はレベルが被験薬存在下で検出不能となるような、ADRA2a 活性又はレ

50

ベルの減少をもたらし得る。このような減少は、検査下の試料において、又は、例えば、方法が動物モデルにおいて、肝臓等、動物の特定の組織において行われる場合に観察され得る。

【0076】

ADRA2aのレベル又は量は、ADRA2a遺伝子の発現を評価することにより測定してよい。遺伝子発現は、mRNA産生若しくはレベル又はタンパク質産生若しくはレベルに着目することにより評価し得る。mRNA及びタンパク質等、発現産物は、当技術分野において公知の方法により同定又は定量化し得る。このような方法は、ハイブリダイゼーションを利用して、目的のmRNAを特異的に同定し得る。例えば、このような方法は、PCR又はリアルタイムPCRアプローチを含み得る。目的のタンパク質を同定又は定量化する方法は、タンパク質と結合する抗体の使用を含み得る。例えば、このような方法は、ウエスタンブロッティングを含み得る。ADRA2a遺伝子発現の調節は、被験薬の存在下又は非存在下で比較し得る。よって、被験薬非存在下で観察されるレベルと比較して、ADRA2a遺伝子発現を減少させる被験薬を同定することができる。このような被験薬は、本発明による適切なADRA2aのアンタゴニストであり得る。

10

【0077】

被験薬の効果は、ADRA2aを発現する細胞における該薬剤の効果を評価することにより評価し得る。薬剤の特異性は、ADRA2aのみか、又はADRA2b若しくはADRA2c等、ADRA2a以外の他の受容体のいずれかを発現する数種の細胞型における受容体の形態計測を評価し、下流のシグナルを検査して特異性を決定することにより、同様の仕方で評価し得る。このような実験は、種々のアドレナリン受容体型を発現することが知られた細胞型を用いて行い得る。このような実験は、その細胞によって天然では発現されないADRA2a等、1又は複数のアドレナリン受容体型を含有又は発現するよう操作された細胞を用いて行い得る。

20

【0078】

医薬製剤

本明細書に記載されている適切なADRA2aアンタゴニストは、典型的には、投与のために薬学的に許容される担体又は希釈剤と共に製剤化される。アンタゴニストは、本発明のスクリーニング方法により同定されたいずれかのアンタゴニストを含む、本明細書に定義されているいかなるアンタゴニストであってもよい。よって、アンタゴニストは、製薬技術においてルーチンである標準的な薬学的に許容される担体(複数可)及び/又は添加剤(複数可)と共に医薬として製剤化し得る。製剤の正確な性質は、所望の投与経路を含む数種の因子に依存する。典型的には、アンタゴニストは、経口、静脈内、胃内、血管内又は腹腔内投与のために製剤化し得る。

30

【0079】

医薬担体又は希釈剤は、例えば、生理食塩水等の等張液であり得る。固体の経口形態は、有効化合物と共に、希釈剤、例えばラクトース、デキストロース、サッカロース、セルロース、コーンスターーチ又はバレイショデンプン;潤滑剤、例えばシリカ、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム若しくはステアリン酸カルシウム及び/又はポリエチレングリコール;結合剤;例えばデンプン、アラビアゴム、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース又はポリビニルピロリドン;脱凝集剤、例えば、デンプン、アルギン酸、アルギネット又はデンブングリコール酸ナトリウム;発泡性混合物;色素;甘味料;レシチン、ポリソルベート、ラウリル硫酸等の湿潤剤;並びに一般に、医薬製剤において用いられる無毒性及び薬理学的不活性物質を含有し得る。このような医薬調製物は、公知の様式、例えば、混合、顆粒化、錠剤化(tableting)、糖衣コーティング又は膜コーティングプロセスにより製造し得る。

40

【0080】

経口投与のための液体分散系(liquid dispersion)は、シロップ、エマルジョン又は懸濁液であり得る。シロップは、担体として、例えばサッカロース若しくはサッカロースとグリセリン及び/又はマンニトール及び/又はソルビトールを含有し得る。

【0081】

50

懸濁液及びエマルジョンは、担体として、例えば天然ガム、寒天、アルギン酸ナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース又はポリビニルアルコールを含有し得る。筋肉内注射のための懸濁液又は溶液は、オルニチン並びにフェニルアセテート及びフェニルブチレートの少なくとも一方と共に、薬学的に許容される担体、例えば滅菌水、オリーブオイル、オレイン酸エチル、グリコール、例えばプロピレングリコール及び必要に応じて、適切な量の塩酸リドカインを含有し得る。

【0082】

投与されるアンタゴニストが核酸分子である場合、例えば、アンタゴニストが発現ベクターの形態である場合、核酸取り込み及び/又は発現の特定の促進因子(facilitator)(「トランスフェクション促進剤」)が、組成物に包含されていてもよく、例えば、ブピバカイン、心臓毒及びショ糖等の促進因子並びに核酸分子の送達にルーチンに用いられるリポソーム又は脂質調製物等のトランスフェクション促進ビヒクルが挙げられる。10

【0083】

本発明による医薬製剤は、1又は複数の追加的な治療薬を更に含み得る。例えば、製剤は、本明細書に定義されている1又は複数のADRA2aアンタゴニストを含み得る。製剤は、本明細書に記載されている1又は複数のADRA2aアンタゴニスト並びに1又は複数の追加的な治療薬も含み得る。好ましくは、追加的な治療薬(複数可)は、治療対象の個体の治療又は予防において補助し得る薬剤である。例えば、肝疾患の治療に有効な1又は複数の薬剤は、本明細書に記載されている製剤の一部として投与し得る。患者におけるその根底にある肝臓の状態又は症状の治療に有効な1又は複数の薬剤は、本明細書に記載されている製剤の一部として投与し得る。20

【0084】

治療

本発明は、肝疾患有する個体の治療のため、特に、肝硬変に関連する又は起因する症状及び状態の治療のための方法を提供する。従って、本発明は、肝疾患有する個体を治療する方法であって、前記被験体にADRA2aのアンタゴニストを投与するステップを含む方法を提供する。同様に、ADRA2aのアンタゴニストは、肝疾患有する個体を治療する方法における使用のために提供し得る。肝疾患有する個体の治療における使用のための医薬の製造における、ADRA2aのアンタゴニストの使用も提供される。

【0085】

アンタゴニストは、本発明のスクリーニング方法により同定されたいずれかのアンタゴニストを含む、本明細書に記載されているいかなるアンタゴニストであってもよい。アンタゴニストは、本明細書に記載されている製剤において提供し得る。よって、本明細書に記載されているADRA2aのアンタゴニストは、被験体における肝疾患又は肝疾患に関連する特定の症状若しくは状態を治療するために、被験体に投与される。よって、本明細書に記載されているADRA2aのアンタゴニストは、被験体、例えば、肝疾患又は硬変を患っている被験体の状態を改善するために投与し得る。本明細書に記載されているADRA2aのアンタゴニストは、被験体の症状、例えば、肝疾患又は硬変に関連する症状を緩和するために投与し得る。本明細書に記載されているADRA2aのアンタゴニストは、肝不全若しくは門脈圧亢進症又はそれらに関与する静脈瘤等の任意の症状の発症に対抗する又はそれを遅延させるために投与し得る。従って、本発明は、硬変の医学的結果を予防することができる。個体は、例えば、硬変等の慢性肝疾患のために肝不全のリスクがあつてよい。本明細書に記載されている方法を用いて、硬変を有する患者等、このような患者における肝不全の発症を予防又は遅延させてよい。よって、本明細書に記載されているADRA2aのアンタゴニストの使用は、肝疾患有する患者の延命を為し得る。3040

【0086】

本明細書に記載されている肝疾患の治療、又は肝疾患有する個体の治療とは、肝疾患有する個体の治療を言う。個体は、急性肝不全(ALF)又は慢性肝不全急性化(ACLF)等、肝不全を患っていることがある。個体は、硬変等、慢性肝疾患を患っていることがある。個体は、アルコール性肝疾患(例えば、肝炎を含み得る)又は非アルコール性脂肪肝疾患50

を患っていることがある。本明細書に記載されている方法は、このような疾患のいずれかの予防又は治療において用いてよい。

【0087】

個体は、肝疾患又は硬変が原因の、又はそれに関連する1又は複数の症状又は状態を患っている、又はそのリスクがあることがある。これらの状態又は症状のうちいずれか1又は複数は、本発明により治療又は予防し得る。例えば、個体は、その肝疾患又は硬変の結果、次のうち1又は複数を患っている、又はそのリスクがあることがある：末梢血管拡張(例えば、正常、低下した又は増加した心拍出量を伴う)、内臓血管拡張(例えば、正常、低下した又は増加した心拍出量を伴う)、心拍出量低下、門脈圧亢進症、平均動脈圧低下、肝動脈血流低下、肝内抵抗増加、血漿アンモニア増加、脳水増加、血漿クレアチニン増加、腎機能障害、肝腎機能障害、血漿乳酸増加、血漿アラニン及び/又はアスパラギン酸アミノ基転移酵素増加、アルコール性肝疾患、非アルコール性脂肪肝疾患。本明細書に記載されている方法及び使用は、肝疾患を患っている個体におけるこれらの症状又は状態のいずれか1又は複数の治療又は予防において有用であり得る。

10

【0088】

本明細書に記載されている通り、ADRA2aのアンタゴニストは、被験体の肝臓におけるADRA2aの発現減少及び/又はレベル減少をもたらし得る。例えば、アンタゴニストは、被験体の細胞におけるADRA2aの転写を阻害する薬剤であり得る。

20

【0089】

本明細書に記載されている通り、ADRA2aのアンタゴニストは、個体の肝臓におけるADRA2aの活性減少をもたらし得る。

20

【0090】

被験体は、本明細書に記載されているADRA2aのアンタゴニストにより治療される。前述の通り、ADRA2aのアンタゴニストは、単独で又は医薬製剤の形態で投与してよい。製剤は、1又は複数のADRA2aのアンタゴニストを含んでよく、1又は複数の追加的な治療又は予防薬を含んでよい。

30

【0091】

本明細書に記載されている2種以上の異なるADRA2aアンタゴニストを組み合わせて用いて、被験体を治療してよい。2種以上のアンタゴニストは、共に、単一の製剤において、同時に、2種以上の別々の製剤において、又は組み合わせた投与計画の一部として別々に若しくは連続的に投与し得る。

30

【0092】

本発明のアンタゴニスト又は製剤は、任意の適切な経路により投与し得る。好ましくは、これは、経口、静脈内、胃内、腹腔内又は血管内経路により投与される。アンタゴニスト又は製剤は、被験体の肝臓に直接的に投与し得る。

40

【0093】

アンタゴニストは、治療上有効量が投与される。本発明のアンタゴニストの適切な用量は、治療対象の被験体の年齢、体重及び状態；肝疾患の種類及び重症度；投与経路；並びに必要とされる投与計画等、種々のパラメータに従って決定することができる。適切な用量は、個々のアンタゴニストに対し決定することができる。例えば、あるアンタゴニストでは、典型的な用量は、1mg/kg/日～30g/kg/日の程度であり得る。医師であれば、任意の特定の被験体に対するアンタゴニストの必要投薬量を決定することができる。

【0094】

本発明は、治療方法に広範に適用でき、予防的及び/又は治療的処置の開発と関連する。本明細書における治療に関するあらゆる言及は、根治的、対症的及び予防的治療を包含することが認識されよう。

40

【0095】

予防又は治療として、肝疾患又は硬変に関連又は起因する1又は複数の症状又は状態を低下させるための、ADRA2a量、機能又は活性の有効な減少の誘発が挙げられるが、これに限定されない。症状又は状態は、例えば上述のいずれかであり得る。例えば、予防又は

50

治療は、心拍出量増加、門脈圧低下、平均動脈圧増加、肝動脈血流増加、肝内抵抗減少、血漿アンモニア減少、腎機能改善、脳水減少、血漿クレアチニン減少、血漿乳酸減少をもたらし得る。予防又は治療は、硬変を有する個体等、このような肝不全リスクのある個体における肝不全の予防又は遅延等、このような症状の予防又は遅延をもたらし得る。予防又は治療は、肝疾患及び/又は硬変の結果症状が増加した、又は増加が予想される患者における心拍出量、平均動脈圧及び/又は肝動脈血流の特定のレベルの維持をもたらし得る。予防又は治療は、肝疾患及び/若しくは硬変の結果このような因子が増加した、又はこのような因子が増加すると予想される患者における門脈圧、肝内抵抗、血漿アンモニア、腎機能、脳水、血漿クレアチニン、血漿乳酸及び血漿アミノ基転移酵素の特定のレベルの維持をもたらし得る。予防又は治療は、このような処置なしで観察され得る、又は予想され得る変化と比較して低下した速度で変化するこのような個体における症状又は状態にこのような変化を生じ得る。

10

【0096】

予防又は治療は、本明細書に記載されている肝疾患又は硬変の症状又は結果のいずれかに関して同様の効果を有し得る。即ち、本発明による治療は、このような症状若しくは結果の重症度の低下、このような症状若しくは結果の既存のレベルの維持、又はこのような症状若しくは結果の悪化の緩徐化若しくは縮小をもたらし得る。

20

【0097】

治療対象の患者

本発明は、その必要がある個体における硬変等の肝疾患の治療に関する。従って、本発明における治療対象の個体は、硬変等の肝疾患を有してよく、又は硬変等の肝疾患のリスクが増加していてもよい。例えば、被験体は硬変を有してよい。被験体は門脈圧亢進症を有してよい。門脈圧亢進症は、門脈静脈及びその分岐における血圧上昇として定義し得る。門脈静脈は、腸から肝臓へと血液を運ぶ大きな静脈である。門脈圧勾配(肝静脈又は門脈静脈の圧力(例えば、門脈静脈又は肝静脈に挿し込まれたカテーテルの測定値)と、肝静脈又は下大静脈の圧力(例えば、肝静脈又は下大静脈における自由に動く位置での圧力読み取り値)との間の差)が、5mmHg以上、好ましくは10mmHg以上である場合、門脈圧亢進症は、臨床的に有意であると定義し得る。

20

【0098】

門脈圧亢進症を診断するための方法は、当技術分野において、特にこの分野の臨床医及び獣医によく知られている。好ましくは、被験体は、例えば、医学又は獣医学の専門家により門脈圧亢進症を有するとして診断されている。被験体は、門脈圧亢進症に関連する1又は複数の症状を呈示し得る。門脈圧は、直接的に測定し得る。例えば、カテーテルを頸部における切開から挿入し、血管から肝臓又は脾臓へと通して、門脈血管内の圧力を直接的に測定し得る。

30

【0099】

治療対象の個体は、例えばこれらの方法のいずれかにより、硬変、又は硬変に関連し得る本明細書に記載されている1若しくは複数の症状若しくは状態を患っていると診断されていてよい。治療対象の個体は、硬変又はこのような症状若しくは状態のリスクがあると診断されていてよい。例えば、個体は、硬変に関連する1又は複数の症状により診断されていてよい。例えば、治療対象の個体は、肝硬変、アルコール性肝炎、特発性非硬化性門脈圧亢進症、先天性肝線維症、部分的結節性変化(partial nodular transformation)、バッド・キアリ症候群、門脈静脈血栓症、右心不全又は住血吸虫感染症を有し得る。本明細書に記載されている方法を用いて、硬変を有する患者における肝不全を予防し得る。

40

【0100】

治療対象の個体は、次の適応症のうち1又は複数を有すると同定し得る：慢性肝不全急性化、急性肝不全、アルコール性肝疾患及び非アルコール性脂肪肝疾患、非アルコール性脂肪性肝炎。これらの状態のいずれかを患っている個体は、本発明により治療し得る。本発明を用いて、これらの状態のいずれかの影響を治療、予防又は改善し得る。

50

【0101】

治療対象の個体は、炎症又は炎症性の症状を患っていないことがある。例えば、個体は、活動性肝炎又は他の肝臓炎症を患っていないことがある。個体は、肝臓の顕著な若しくは検出可能な炎症を有さないことがあり、又は治療対象の状態に関連する肝臓の炎症を有さないことがある。個体は、C反応性タンパク質、血清アミロイドA、TNF 、IL-6、IL-8又はIL-18等、1又は複数の炎症性マーカーのレベル上昇を示さないことがある。

【0102】

治療対象の被験体は、門脈圧亢進症等、門脈圧増加に対し感受性である任意の個体であり得る。被験体は、雄であっても雌であってもよい。女性は、アルコールの有害作用に対し男性よりも感受性であり得る。女性は、男性よりも短い時間枠で、かつより少量のアルコールからアルコール性慢性肝疾患を発症し得る。

10

【0103】

治療対象の被験体は、ヒトであり得る。治療対象の被験体は、非ヒト動物であり得る。治療対象の被験体は、家畜、例えば、雌ウシ(cow)若しくは雄ウシ(bull)、ヒツジ、ブタ、ウシ(ox)、ヤギ又はウマであっても、イヌ又はネコ等、飼育動物であってもよい。被験体は、肝疾患の動物モデルであってもなくてもよい。動物は、いかなる齢数であってもよいが、多くの場合、成熟した成体被験体である。

【実施例1】

【0104】

肝不全患者におけるノルアドレナリンレベル

標準的診断基準を用いて代償性、非代償性又は慢性肝不全急性化(ACLF)として患者を分類した。ノルアドレナリン、門脈圧(HVPG)及び肝血流のレベルに関して患者を評価した。

20

【0105】

図1に示す通り、より高いノルアドレナリンレベルは、より高い門脈圧(HVPG)及びより低い肝血流と相關した。この結果は、疾患進行に伴うより高い肝内抵抗の存在を示す。

【実施例2】

【0106】

アルファ2aアンタゴニストの効果

方法

これらの実験は、硬変の確立された動物モデルである、胆管結紮(BDL)ラットを利用した。BDLラットは、当技術分野において公知の方法により作製し得る。例えば、この手順のために雄のスプラーグドーリー(Sprague-Dawley)ラット(200~250g)を用い得る。麻酔後、正中開腹手術を行い、胆管を露出し、4.0シルク縫合糸により三重に結紮し、第二と第三の結紮の間を切断し得る。続いて吸収性縫合糸により傷を層縫合し、動物保管施設に戻すまで静音室(quiet room)で動物を回復させる。

30

【0107】

4週間後に29匹の胆管結紮ラット及び17匹の偽手術ラットを試験した。動物を無作為抽出し、プラセボ(生理食塩水)又はアルファ2aアンタゴニスト(BRL 44408、シグマ(Sigma)、英国)を投与した。適用した用量は、皮下注射による10mg/Kgであった。試験24時間前に2用量を送達した。

40

【0108】

左頸動脈を通したトランステューサーにより平均動脈圧を測定した。門脈静脈の直接穿刺及びトランステューサーにより門脈圧の読み取りを行った。遷音速流プローブ及びメーターにより門脈静脈及び肝動脈の流れの測定を行った。全測定は、3回複製して行い、データコレクションシートにおいて記録した。

【0109】

Cobas Integraを用いた比色分析により血漿の生化学を測定した。アルファ2aアドレナリン受容体(ADRA2a)及び核内因子 B(NF-B)タンパク質発現をウエスタンプロットティングにより評価した。免疫組織化学によりADRA2a発現を決定した。

【0110】

データは、中央値(範囲)又は平均値±標準誤差(SEM)として示す。両側独立t検定を用い

50

て、等分散の正規分布したデータの平均値の間の差を定義した。均等に分布しないデータのため、マンホイットニーの検定を用いた。複数の群の比較は、複数の比較のためのボンフェローニ補正を用いた分散分析(ANOVA)によった。

【0111】

結果

ADRA2aアンタゴニストで処置した後、プラセボ処置群と比較して、MAPの有意な増加($p < 0.05$)及び門脈圧の有意な低下が見られた(11.4 ± 3.4 対 18.0 ± 3.7 mmHg, $p < 0.001$)。

【0112】

図2Aに示す通り、平均動脈圧(MAP)は、未処置胆管結紉(BDL)[N=9]ラットと比較してBRL 44408(アルファ2aアンタゴニスト)[N=7]で処置した胆管結紉動物において有意に改善した。偽手術ラット[N=4]とBRL 44408で処置した偽手術ラットとの間でMAPに差はなかった。左頸動脈を通したトランステューサーによりMAPを測定し、3分間の安定化期間の後に3回複製して測定した。

【0113】

図2Bに示す通り、心拍出量(心臓の機能の測定)は、未処置BDLラット[N=7]と比較して、BRL 44408で処置したBDLラット[N=7]において有意に改善した。心拍出量は、1分間当たりの心拍動率に一回拍出量(stroke volume)(拍動毎に駆出した血液の容量)を掛けることにより計算した。これらの値は、経胸壁心エコー図(trans-thoracic echocardiogram)により得られた。

【0114】

図2Cに示す通り、門脈圧は、生理食塩水で処置したBDLラット[N=15]と比較して、BRL 44408で処置したBDLラット[N=14]において有意に低下した。BRL 44408で処置した偽手術ラット[N=7]と生理食塩水で処置したBDL[N=8]との間で門脈圧に差はなかった。門脈静脈の直接穿刺及び圧トランステューサーにより門脈圧を測定した。3分間の安定化期間の後、3回複製して読み取りを行った。

【0115】

肝動脈血流は処置群において著しく増加したが、門脈静脈血流は有意に変化せず、処置後に肝内抵抗の有意な低下をもたらした(1.1 ± 0.2 対 0.5 ± 0.1 mmHg/ml/分, $p < 0.05$)。

【0116】

図2Dに示す通り、肝動脈血流は、生理食塩水で処置したBDL[N=7]と比較して、BRL44408で処置したBDLラット[N=7]において改善した。生理食塩水で処置した偽手術ラット[N=4]と比較して、BRL44408で処置した偽手術ラット[N=3]において肝動脈血流に改善が見られた。10分間の安定化期間の後、肝動脈における遷音速流プローブにより肝動脈血流を測定し、3回複製して読み取りを行った。

【0117】

図2Eに示す通り、肝内抵抗は、BDLラット[N=6]と比較して、BRL 44408で処置したBDLラット[N=6]において有意に低下した。偽手術ラット[N=4]と比較して、BRL 44408で処置した偽手術ラット[N=3]との間で肝内抵抗に差はなかった。門脈圧を肝血流で割ることにより肝内抵抗を計算した。

【0118】

図2Fに示す通り、血漿アンモニアは、BDLラット[N=15]と比較して、BRL 44408で処置したBDLラット[N=10]において低下傾向を示した。より高い血漿アンモニアは、硬変の主要合併症の一つである肝性脳症に寄与するため、硬変において有害事象を有することが示されている。

【0119】

図2Gに示す通り、脳水含量は、BDLラット[N=6]と比較して、BRL 44408で処置したBDLラット[N=7]において有意に減少した。BDLラットは、偽手術ラット[N=4]と比較して脳水含量が有意に増加した。脳水含量は、脳における炎症の結果生じた脳腫脹の量を示す。これは、予後悪化の徵候であることが示されている。

【0120】

10

20

30

40

50

生化学的分析は、処置動物における血漿乳酸($p<0.05$)、AST($p<0.05$)における有意な低下及びクレアチニンの低下傾向を示した。

【0121】

図2Hに示す通り、血漿クレアチニンレベルは、BDLラット[N=16]と比較して、BRL 44408で処置したBDLラット[N=13]において改善した。偽手術ラット[N=7]と比較して、BRL 44408で処置した偽手術ラット[N=6]との間に差はなかった。血漿クレアチニンは、腎機能のマーカーである。

【0122】

図2Iに示す通り、血漿乳酸レベルは、BDLラット[N=4]と比較して、BRLで処置したBDLラット[N=4]において有意に低下した。乳酸は、身体のいずれかの部分への血流喪失において及び/又は代謝ストレスにおいて上昇するため、臓器灌流の間接測定値である。

10

【0123】

図2Jに示す通り、血漿アスパラギン酸アミノトランスアミナーゼ(aspartate aminotransaminase)(AST)レベルは、BDLラット[N+12]と比較して、BRL 44408処置BDLラット[N=9]において低下した($p=0.13$)。

【0124】

図2Kに示す通り、肝臓特異的アラニンアミノ基転移酵素(ALT)における有意な増加($p=0.5$)も見られない。

【0125】

図2Lに示す通り、肝臓組織におけるNFkBタンパク質発現は、BDLラット[N=5]と比較してBRL 44408で処置したBDLラット[N=5]において低下した。ウエスタンブロッティング技法によりタンパク質発現を評価した。NFkBは、アポトーシス及び炎症を含む細胞シグナル伝達経路の重要な制御因子である。

20

【0126】

BDLラットは、偽手術ラットと比較して、肝臓におけるADRA2aのタンパク質発現が有意に増加し、免疫組織化学的手法により、これは主に肝細胞に存在することが示された。

【0127】

図4Aに示す通り、免疫組織化学的手法により測定したところ、偽手術ラットにおけるアルファ2a受容体の発現はなかった。この結果は、正常ラット肝臓においてアルファ2a受容体発現がないことを示す。しかし、図4Bに示す通り、胆管結紉ラットの肝臓においてアルファ2a受容体は有意に発現した。この結果は、アルファ2a受容体が、胆管結紉ラットの肝臓における肝疾患/硬変において過剰発現し得ることを示す。

30

【0128】

結論

正常肝臓は、2aアドレナリン受容体の発現が非常に限定期であることが判明したが、一方、BDLラット(硬変のモデル)の肝臓は、顕著な発現増加を示した。

【0129】

アルファ2aアドレナリン受容体アンタゴニストBRL 44408によるBDLラットの処置は、

- 門脈圧低下、
- MAP及び肝動脈血流増加、
- 肝内抵抗低下、並びに
- アンモニア、脳腫脹及び腎機能障害低下

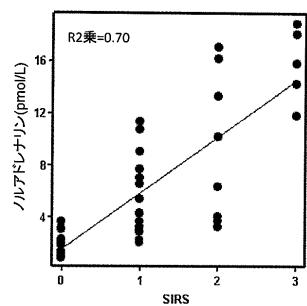
40

等、いくつかの効果を有した。

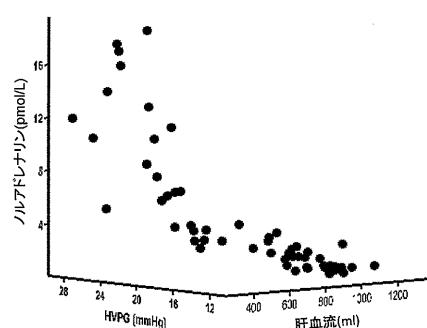
【0130】

これらの効果は全て、肝疾患の治療、特に、門脈圧亢進症の治療等、硬変の結果の治療において有用である。

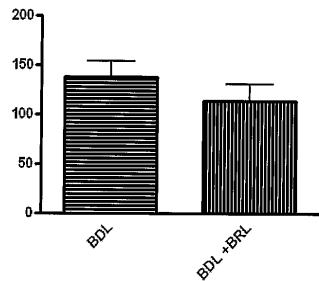
【図 1 A】



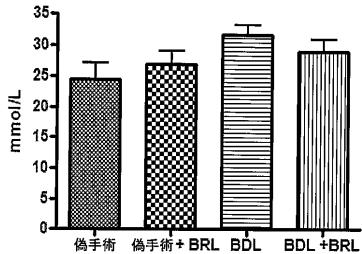
【図 1 B】



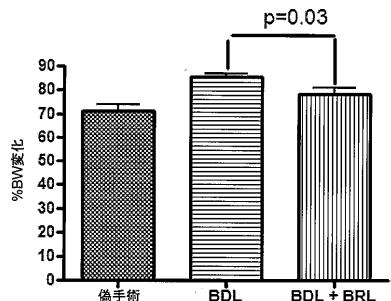
【図2F】



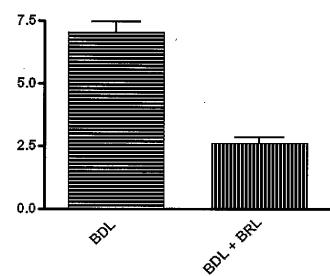
【図2H】



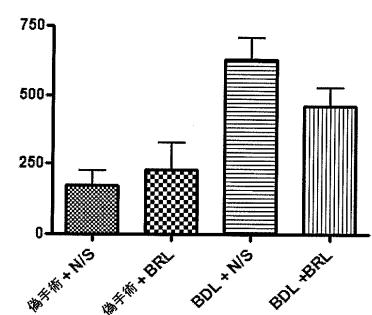
【図2G】



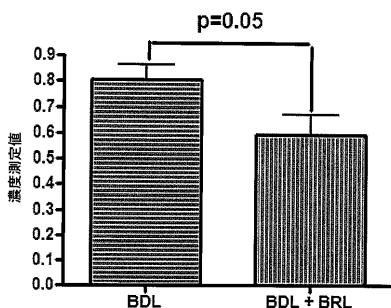
【図2I】



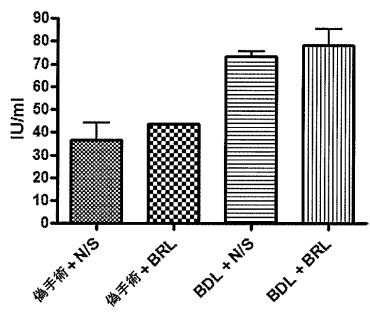
【図2J】



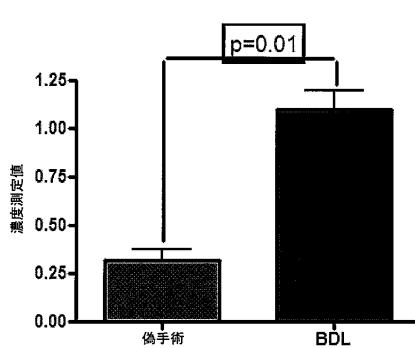
【図2L】



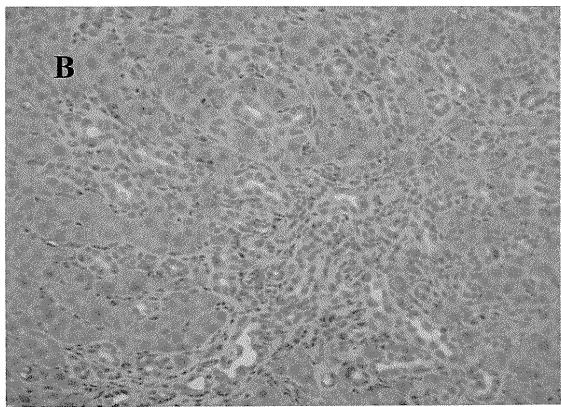
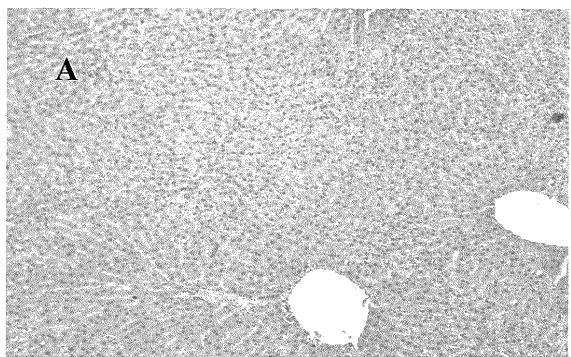
【図2K】



【図3】



【図4】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2011/001217

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/00 A61K31/417 A61K31/4178 A61K31/475 A61P1/16
ADD.

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)
A61K A61P

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YANG SHAOLONG ET AL: "Norepinephrine-induced hepatocellular dysfunction in early sepsis is mediated by activation of alpha2-adrenoceptors", AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY, vol. 281, no. 4 Part 1, October 2001 (2001-10), pages G1014-G1021, XP009152438, ISSN: 0002-9513 page G1018, left-hand column, paragraph 2; figures 1-5 ----- -----	1,4-14
Y	page G1018, left-hand column, paragraph 2; figures 1-5 ----- -----	1-14

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

23 September 2011

13/10/2011

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Loher, Florian

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2011/001217

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KERGER B D ET AL: "ANTAGONISM OF BROMOBENZENE-INDUCED HEPATOTOXICITY BY THE ALPHA-ADRENERGIC BLOCKING AGENTS PHENTOLAMINE AND IDAZOXAN", TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY, ACADEMIC PRESS, US, vol. 95, no. 1, 1 January 1988 (1988-01-01), pages 12-23, XP009152425, ISSN: 0041-008X figure 2; table 1 page 15, left-hand column, last paragraph - page 16, left-hand column, last paragraph page 21, left-hand column -----	1,4-7, 10-12
X	DATABASE MEDLINE [Online] US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; February 1997 (1997-02). ZHU J ET AL: "[Effect of phentolamine on portal pressure in cirrhotic patients with portal hypertension].", XP002659800, Database accession no. NLM10374485 the whole document	1-3,5-7, 10
Y	& ZHONGHUA WAI KE ZA ZHI [CHINESE JOURNAL OF SURGERY] FEB 1997 LNKD-PUBMED:10374485, vol. 35, no. 2, February 1997 (1997-02), pages 92-94, ISSN: 0529-5815 -----	1-14
X	DATABASE MEDLINE [Online] US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; September 1989 (1989-09). WEI J L ET AL: "[Phentolamine in cases of liver cirrhosis with bleeding from esophageal variceal rupture].", XP002659801, Database accession no. NLM2627824 the whole document	1-3,5-7, 10
Y	& ZHONGHUA NEI KE ZA ZHI [CHINESE JOURNAL OF INTERNAL MEDICINE] SEP 1989 LNKD-PUBMED:2627824, vol. 28, no. 9, September 1989 (1989-09), pages 532-533, 572, ISSN: 0578-1426 -----	1-14
		-/-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2011/001217

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	IKEDA M: "EFFECT OF PHENOXYBENZAMINE ON PORTAL VENOUS PRESSURE IN PATIENTS WITH PORTAL HYPERTENSION", AMERICAN JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, vol. 71, no. 4, 1979, pages 389-394, XP009152420, ISSN: 0002-9270 table 1 -----	1-3,5-7, 10
X,P	SHARMA VIKRAM ET AL: "TREATMENT WITH AN ALPHA 2A ADRENORECEPTOR ANTAGONIST MODULATES HEPATIC INFLAMMATION, MARKEDLY REDUCES PORTAL PRESSURE, AND IMPROVES ARTERIAL PRESSURE AND HEPATIC BLOOD FLOW IN CIRRHOTIC RATS", HEPATOLOGY, vol. 52, no. 4, Suppl. S, October 2010 (2010-10), page 1012A, XP009152419, & 61ST ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-ASSOCIATION-FOR-THE-STUDY-OF-LIVE R-DISEASES; BOSTON, MA, USA; OCTOBER 29 -NOVEMBER 02, 2010 the whole document -----	1-14
Y	BIECKER ERWIN ET AL: "Long-term treatment of bile duct-ligated rats with rapamycin (sirolimus) significantly attenuates liver fibrosis: Analysis of the underlying mechanisms", JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS, vol. 313, no. 3, June 2005 (2005-06), pages 952-961, XP002417368, ISSN: 0022-3565 page 952 -----	13,14

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,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,R,S,SE,SI,SK,SM,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,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,D0,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM

(72)発明者 ムーケルジー, ラジェシュワ, ピー.

イギリス国 エヌダブリュ3 2ピーエフ ロンドン, ロウランド ヒル ストリート, ロイヤル
フリー キャンパス, ザ ユーシーエル インスティテュート オブ ヘパトロジー

(72)発明者 シャーマ, ヴィクラム

イギリス国 エヌダブリュ3 2ピーエフ ロンドン, ロウランド ヒル ストリート, ロイヤル
フリー キャンパス, ザ ユーシーエル インスティテュート オブ ヘパトロジー

(72)発明者 ジャラン, ラジフ

イギリス国 エヌダブリュ3 2ピーエフ ロンドン, ロウランド ヒル ストリート, ロイヤル
フリー キャンパス, ザ ユーシーエル インスティテュート オブ ヘパトロジー

F ターム(参考) 4C084 AA17 MA16 MA34 MA52 MA66 NA14 ZA75 ZC42

4C086 AA01 AA02 BC38 CB05 GA07 MA01 MA04 MA16 MA34 MA52
MA66 NA14 ZA75 ZC42