

(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2008-528702
(P2008-528702A)

(43) 公表日 平成20年7月31日(2008.7.31)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/445 (2006.01)	A 6 1 K 31/445	4 C 0 5 4
C 0 7 D 211/94 (2006.01)	C 0 7 D 211/94	4 C 0 8 6
A 6 1 P 37/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/00	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2007-554269 (P2007-554269)	(71) 出願人	306040540 ミトス・ファーマシューティカルズ・インコーポレーテッド アメリカ合衆国・カリフォルニア・92660・ニューポート・ビーチ・サン・ジョーキン・プラザ・3・スイート・200
(86) (22) 出願日	平成18年2月2日 (2006.2.2)	(74) 代理人	100064908 弁理士 志賀 正武
(85) 翻訳文提出日	平成19年9月25日 (2007.9.25)	(74) 代理人	100089037 弁理士 渡邊 隆
(86) 国際出願番号	PCT/US2006/003973	(74) 代理人	100108453 弁理士 村山 靖彦
(87) 国際公開番号	W02006/084198	(74) 代理人	100110364 弁理士 実広 信哉
(87) 国際公開日	平成18年8月10日 (2006.8.10)		
(31) 優先権主張番号	60/649, 252		
(32) 優先日	平成17年2月2日 (2005.2.2)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫疾患の治療又は予防において使用するためのニトロキシド類

(57) 【要約】

免疫疾患の治療に有用な医薬組成物を提供する。本組成物は、医薬として許容可能な担体と、免疫疾患に関連する遺伝子の発現を変える治療又は予防に有効量のニトロキシド抗酸化剤とを含む。免疫疾患の治療又は予防における本医薬組成物の使用方法も提供する。好ましい態様においては、ニトロキシド抗酸化剤はTempol (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)である。前記遺伝子は、グルココルチコイド誘導性ロイシン・ジッパー、コラーゲンタイプI 1、及び補体成分6のうちの1つである。前記免疫疾患は、グレーブズ病、橋本甲状腺炎、自己免疫多腺性症候群、インスリン依存性真性糖尿病、免疫介在性不妊症、自己免疫性アディソン病、落葉状天疱瘡、疱疹状皮膚炎、白斑、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性血小板減少性紫斑病、悪性貧血、重症筋無力症、多発性硬化症、ギヤン-バレー症候群、スティッフマン症候群、急性リウマチ熱、交感性眼炎、グッドパスチャー症候群、全身性エリトマトーデス、関節リウマチ、全身性壊死性血管炎、ヴェーゲナー肉芽腫症、抗リン脂質症候群、シェーグレン症候群、強皮症、加速された移植後動脈硬化、移植片対宿主疾患、クローン病、又は結核である。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

免疫疾患に関連する 1 種以上のタンパク質の細胞内レベルを変える方法であって、以下のステップ：

免疫疾患関連タンパク質のレベルを変える必要のある個体を特定するステップ；及びその個体に、有効量のニトロキシド抗酸化剤を投与するステップ、を含む方法。

【請求項 2】

免疫疾患関連タンパク質のレベルが低下する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記免疫疾患関連タンパク質がグルココルチコイド誘発性ロイシンジッパーである、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

免疫疾患関連タンパク質のレベルが増大する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記免疫疾患関連タンパク質がコラーゲンタイプ 1 A 1 及び補体成分 6 からなる群から選択される、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記ニトロキシド抗酸化剤が、4 - ヒドロキシ - 2 , 2 , 6 , 6 - テトラメチルピペリジン - 1 - オキシルである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記免疫疾患が、グレーブズ病、橋本甲状腺炎、自己免疫多腺性症候群、インスリン依存性真性糖尿病、免疫介在性不妊症、自己免疫性アディソン病、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、疱疹状皮膚炎、白斑、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性血小板減少性紫斑病、悪性貧血、重症筋無力症、多発性硬化症、ギヤン - バレー症候群、スティッフマン症候群、急性リウマチ熱、交感性眼炎、グッドパスチャー症候群、全身性エリトマトーデス、関節リウマチ、全身性壊死性血管炎、ヴェーゲナー肉芽腫症、抗リン脂質症候群、シェーグレン症候群、強皮症、加速された移植後動脈硬化、移植片対宿主疾患、クローン病、及び結核からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 0 . 1 ~ 3 0 0 m g / k g の範囲である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 0 . 1 ~ 2 5 0 m g / k g の範囲である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 0】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 1 ~ 2 0 0 m g / k g の範囲である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 1】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 2 ~ 1 5 0 m g / k g の範囲である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 2】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 5 ~ 1 2 5 m g / k g の範囲である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 7 ~ 1 0 0 m g / k g の範囲である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 1 0 ~ 7 5 m g / k g の範囲である、請求項 1 に記載の方法。

10

20

30

40

50

- 【請求項 15】
ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 15 ~ 30 mg / kg の範囲である、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 16】
免疫疾患を罹患しているか又は免疫疾患のリスクがある個体を同定するステップ；及びその個体に、前記免疫疾患に関連する遺伝子の発現を変えるために有効な量のニトロキシド抗酸化剤を投与するステップ、を含む、免疫疾患の進行を抑制する方法。
- 【請求項 17】
前記免疫疾患に関連するタンパク質の発現が増大する、請求項 16 に記載の方法。 10
- 【請求項 18】
免疫疾患に関連する前記タンパク質が、グルココルチコイド誘導性ロイシンジッパーである、請求項 17 に記載の方法。
- 【請求項 19】
前記免疫疾患に関連するタンパク質の発現が低下する、請求項 16 に記載の方法。
- 【請求項 20】
免疫疾患に関連する前記タンパク質が、コラーゲンタイプ 1 A 1 及び補体成分 6 からなる群から選択される、請求項 19 に記載の方法。
- 【請求項 21】
前記ニトロキシド抗酸化剤が 4 - ヒドロキシ - 2 , 2 , 6 , 6 - テトラメチルピペリジン - 1 - オキシルである、請求項 16 に記載の方法。 20
- 【請求項 22】
前記疾患が、グレーブズ病、橋本甲状腺炎、自己免疫多腺性症候群、インスリン依存性真性糖尿病、免疫介在性不妊症、自己免疫性アディソン病、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、疱疹状皮膚炎、白斑、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性血小板減少性紫斑病、悪性貧血、重症筋無力症、多発性硬化症、ギヤン - バレー症候群、スティッフマン症候群、急性リウマチ熱、交感性眼炎、グッドパスチャー症候群、全身性エリトマトーデス、関節リウマチ、全身性壊死性血管炎、ヴェーゲナー肉芽腫症、抗リン脂質症候群、シェーグレン症候群、強皮症、加速された移植後動脈硬化、移植片対宿主疾患、クローン病、及び結核からなる群から選択される、請求項 16 に記載の方法。 30
- 【請求項 23】
ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 0 . 01 ~ 300 mg / kg の範囲である、請求項 16 に記載の方法。
- 【請求項 24】
ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 0 . 1 ~ 250 mg / kg の範囲である、請求項 16 に記載の方法。
- 【請求項 25】
ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 1 ~ 200 mg / kg の範囲である、請求項 16 に記載の方法。
- 【請求項 26】
ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 2 ~ 150 mg / kg の範囲である、請求項 16 に記載の方法。 40
- 【請求項 27】
ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 5 ~ 125 mg / kg の範囲である、請求項 16 に記載の方法。
- 【請求項 28】
ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 7 ~ 100 mg / kg の範囲である、請求項 16 に記載の方法。
- 【請求項 29】
ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 10 ~ 75 mg / kg の範囲である、請求項 16 に記載の方法。 50

載の方法。

【請求項 3 0】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 1 5 ~ 3 0 m g / k g の範囲である、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 3 1】

マクロファージ活性を抑制するために有効な量のニトロキシド抗酸化剤を免疫疾患患者に投与することを含む、免疫疾患の治療方法。

【請求項 3 2】

マクロファージ活性の抑制に関連する少なくとも 1 つのタンパク質の細胞内レベルを増大させるために有効な量で前記ニトロキシド抗酸化剤が投与される、請求項 3 1 に記載の治療方法。

10

【請求項 3 3】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 0 . 0 1 ~ 3 0 0 m g / k g の範囲である、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 4】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 0 . 1 ~ 2 5 0 m g / k g の範囲である、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 5】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 1 ~ 2 0 0 m g / k g の範囲である、請求項 3 1 に記載の方法。

20

【請求項 3 6】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 2 ~ 2 5 0 m g / k g の範囲である、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 7】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 5 ~ 1 2 5 m g / k g の範囲である、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 8】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 7 ~ 1 0 0 m g / k g の範囲である、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 9】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 1 0 ~ 7 5 m g / k g の範囲である、請求項 3 1 に記載の方法。

30

【請求項 4 0】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 1 5 ~ 3 0 m g / k g の範囲である、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 4 1】

マクロファージ活性に関連する前記タンパク質が、グルココルチコイド誘発性ロイシンジッパーである、請求項 3 1 に記載の治療方法。

【請求項 4 2】

膜攻撃性複合体の活性を抑制するために有効な量のニトロキシド抗酸化剤を、免疫疾患患者に投与することを含む、免疫疾患の治療方法。

40

【請求項 4 3】

前記膜攻撃性複合体の活性の抑制に関連する少なくとも 1 つのタンパク質の細胞内レベルを低下させるために有効な量で、前記ニトロキシド抗酸化剤が投与される、請求項 4 2 に記載の治療方法。

【請求項 4 4】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 0 . 0 1 ~ 3 0 0 m g / k g の範囲である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 5】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 0 . 1 ~ 2 5 0 m g / k g の範囲である、請求項 4 2

50

に記載の方法。

【請求項 46】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 1 ~ 200 mg / kg の範囲である、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 47】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 2 ~ 250 mg / kg の範囲である、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 48】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 5 ~ 125 mg / kg の範囲である、請求項 42 に記載の方法。

10

【請求項 49】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 7 ~ 100 mg / kg の範囲である、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 50】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 10 ~ 75 mg / kg の範囲である、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 51】

ニトロキシド抗酸化剤の有効量が 15 ~ 30 mg / kg の範囲である、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 52】

マクロファージ活性の抑制に関連するタンパク質が補体成分 6 である、請求項 42 に記載の方法。

20

【請求項 53】

免疫疾患に関連する 1 つ以上のタンパク質の細胞内レベルを変えるための医薬の調製におけるニトロキシド抗酸化剤の使用。

【請求項 54】

免疫疾患の進行を抑制するための医薬の調製におけるニトロキシド抗酸化剤の使用。

【請求項 55】

マクロファージ活性を抑制するための医薬の調製におけるニトロキシド抗酸化剤の使用。

30

【請求項 56】

膜攻撃性複合体の活性を抑制するための医薬の調製におけるニトロキシド抗酸化剤の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、免疫疾患、例えば、自己免疫疾患を治療又は予防するために有用な医薬組成物、及びそのような疾患の治療又は予防におけるこれらの組成物の使用方法に関する。

【背景技術】

【0002】

ヒトの免疫システムは何百万年もかけて進化し、侵入する病原体に対して高特異的な防御機構を発展させた。2 つの主要な部門があり、より古く且つ無脊椎動物まで辿ることができる自然免疫システムと、脊椎動物にのみ存在する適応免疫システムである。

40

【0003】

先天性免疫システムは、病原菌に共通する分子特性を認識するために、生殖細胞系コード化タンパク質を用いる。免疫システムのこの部門に関連する一つのタイプの細胞であるマクロファージは、表面受容体分子を用いてこれらの特性 (PAMP といわれる) を認識する。ひとたびマクロファージが病原体を認識すると、それを貪食して破壊する。このプロセスによって活性化されたマクロファージは、サイトカイン及びケモカインを分泌し、それらが血管拡張、増大した血管透過性、及び炎症細胞、例えば好中球、の誘引をもたら

50

し、感染部位において侵入病原菌の破壊に加わる。その他の単球もその部位に誘引され、速やかに分化してマクロファージになる。炎症の特徴的兆候（熱、痛み、発赤、及び腫れ）を生み出すのはこの過程である。炎症はまた、補体カスケードによって誘発されうる。

【0004】

活性化されたマクロファージによって開始される自然免疫応答によって生じる炎症も、抗原を含むリンパ液及び抗原提示細胞のリンパ系組織中への流れを増大することによって、適応免疫応答の開始に寄与する。適応免疫応答は、マクロファージによっても開始されるが、感染した組織中の未成熟樹状細胞が病原体を貪食するときに最も多く開始される。これらの樹状細胞は、病原体抗原をリンパ系組織に運ぶ機能を果たし、それらをTリンパ球に提示し、適応免疫応答の開始に導く。自然免疫におけるのと同様、マクロファージが適用免疫のキー・エンド・エフェクターである。それらは特定の防御T細胞によって活性化され、侵入病原体を破壊しうる。したがって、マクロファージはそれが自然免疫であろうと適応免疫であろうと、免疫応答における主要リンクである。

10

【0005】

しかし、ヒトの免疫システムの精緻なバランスは、しばしば混乱し、不適切な又は過度の宿主免疫応答をもたらす。これが起こりうる一つのやりかたは、自己抗原を非自己抗原と誤って認識することにより、自己免疫応答をもたらすことである。このことは、多くの様式で生じうる。それは、特定病原体による分子擬態などの外部刺激、スーパー抗原刺激、自己抗原を認識する免疫細胞除外の失敗、通常は隔絶されている自己抗原の外傷に関連した露出（脳又は眼におけるものなど）である。しかし、自己免疫応答が刺激されると、場合によってはかなりひどい結果、例えば、正常な身体組織の広範囲な破壊、をもたらす可能性があり、応答及び罹患組織の重症度によっては、死に至る可能性がある。

20

【0006】

そのような結果を生じさせる不適切な免疫システム反応を抑える方法を開発することによってそのような結果を避けることが望ましい。そのようにするための一つの可能性ある方法は、例えば、免疫システムの2つの部門の両方に共通するエンドエフェクターであるマクロファージを標的にすることによって、免疫システム応答を低下させる遺伝子治療を用いることである。このために、免疫応答に関連する遺伝子を特定し、それらの遺伝子の発現パターンを変える方法を開発し、免疫疾患の発症を予防し又はひとたびそれが起こった場合にはその影響を低減することが望まれる。

30

【0007】

【特許文献1】米国特許第5352442号明細書

【特許文献2】米国特許第5462946号明細書

【非特許文献1】Berrebi et al., Blood 101(2); 729-738 (2003)

【非特許文献2】Louneva et al., Journal of Biological Chemistry, 278 (41), 40400-40407頁(2003)

【非特許文献3】Tran et al., Journal of Immunology 168 (2002) 4293-300

【非特許文献4】Ota et al., Immunology 79:3 (2005) 276-291

【非特許文献5】Qian et al., Transplantation 72:5 (2001) 900-906

40

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

自己免疫疾患などの免疫疾患を予防及び治療するために有用な医薬組成物を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本組成物は、医薬として許容可能な担体と、上記疾患に関連する1以上の遺伝子の発現パターンを変更する、治療又は予防に有効な量の薬剤とを含む。免疫疾患関連タンパク質の分子内レベルを変えるための、前記医薬組成物の使用方法も提供する。好ましい態様では、前記薬剤はニトロキシド抗酸化剤、例えば、テンポル（Tempol）（4-ヒドロキシ-2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシル）である。

50

【 0 0 1 0 】

〔 好ましい態様の詳細な説明 〕

上述したように、自己免疫疾患などの免疫疾患を治療及び予防するのに有用な組成物及び方法を開示する。本明細書において用いるように、「免疫疾患」は、不適切な又は過大な宿主免疫反応を伴う疾患である。好ましい態様では、これらの疾患に関連する遺伝子の発現パターンを変えるために用いる薬剤は、ニトロキシド抗酸化剤である。Tempolは、抗酸化特性を有する、化学式4-ヒドロキシ-2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシルによって特徴づけられる安定なニトロキシドラジカルである。本出願人は、さらに、Tempolが、自己免疫疾患などの免疫疾患に関連するタンパク質をコードする遺伝子の発現を変える新規な特性をも有することを発見した（以下の表1-2を参照されたい）。従来の治療法は、一般に、そのような免疫疾患関連遺伝子の発現パターンを変えることに焦点を当てていない。

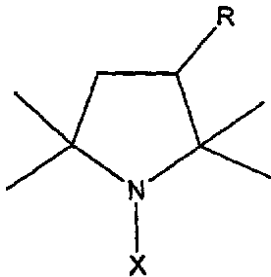
10

【 0 0 1 1 】

その他のニトロキシド化合物の使用もまた意図している。特定の態様によれば、ニトロキシド化合物は下記式から選択しうる。

【 0 0 1 2 】

【 化 1 】

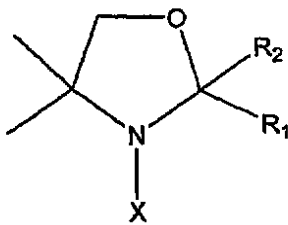


20

（式中、Xは、O・及びOHから選択され、Rは、COOH、CONH₂、CN、及びCH₂NH₂から選択される。）

【 0 0 1 3 】

【 化 2 】



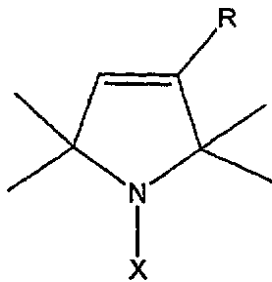
30

（式中、Xは、O・及びOHから選択され、R₁は、CH₃及びスピロシクロヘキシルから選択され、R₂はC₂H₅及びスピロシクロヘキシルから選択される。）

40

【 0 0 1 4 】

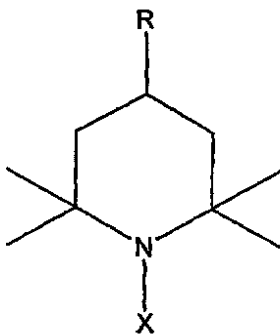
【化3】



(式中、XはO・及びOHから選択され、RはCONHから選択される。)

【0015】

【化4】



(式中、XはO・及びOHから選択され、Rは、H、OH、及びNH₂から選択される。)

【0016】

適切なニトロキシド化合物はまた、Proctorの米国特許第5352442号明細書、及びMitche IIらの米国特許第5462946号明細書にあり、これら両者を参照によりその全体を本願に援用する。

【0017】

ニトロキシド化合物の限定されないリストには以下が含まれる：

2-エチル-2,5,5-トリメチル-3-オキサゾリジン-1-オキシル(OXANO)、2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシル(TEMPO)、4-ヒドロキシ-2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシル(TEMPO L)、4-アミノ-2,2,6,6-テトラメチル-1-ピペリジニルオキシ(Tempamine)、3-アミノメチル-PROXYL、3-シアノ-PROXYL、3-カルバモイル-PROXYL、3-カルボキシ-PROXYL、及び4-オキソ-TEMPO。

TEMPOはまた、典型的には4位で置換されていてもよく、例えば、4-アミノ、4-(2-ブロモアセトアミド)、4-(エトキシフルオロホスホニルオキシ)、4-ヒドロキシ、4-(2-ヨードアセトアミド)、4-イソチオシアネート、4-マレイミド、4-(4-ニトロベンゾイルオキシ)、4-ホスホノオキシ、などである。

【0018】

〔試験法〕

遺伝子発現に対するTempolの効果の評価するために、Tempolを生後14ヶ月～31ヶ月まで食餌1g当たり5mgの用量で実験用マウスに投与した。Tempolの添加無しと同じ食餌を与えたマウスをネガティブコントロールとして用いた。31ヶ月の年齢のとき、試験マウスを犠牲にし、心臓を手術で取り出した。心臓組織中の遺伝子の幅広いスペクトルの発現を、チップベースのマイクロアレイ技術を用いて評価した。そのようなチップは当技術分野では周知であり、遺伝子発現を評価するために広く用いられている。試験結果は、免疫疾患に関連する遺伝子であるグルココルチコイド誘導性ロイシン

10

20

30

40

50

ジッパー (GILZ) が、2倍より多い発現増加を示した。この遺伝子を表1に示す。

【0019】

【表1】

表1: TEMPOL投与後に心臓組織中での増大した発現を示す自己免疫疾患関連遺伝子

ORF	説明	対照マウス			TEMPOL処理したマウス			変化倍率
		tpc1	tpc2	tpc3	tp51	tp52	tp53	
上方制御された遺伝子								
AA097711	グルココルチコイド誘導性ロイシンジッパー	21	-31	-16	83	33	4	2.3

10

【0020】

さらなる遺伝子発現研究において、Tempolを、食餌1kg当たり5gの用量で、実験マウスに12ヶ月～15ヶ月まで投与した。Tempolの添加なしで同じ食餌を与えたマウスをネガティブコントロールとして用いた。15ヶ月の年齢で、実験用マウスの脂肪組織をとった。脂肪組織中の広範囲のスペクトルでの遺伝子の発現を、チップベースのマイクロアレイ技術を用いて評価した。特にこの場合、12960遺伝子を含むAffymetrix MOE430A2.0アレイを用いた。そのようなチップは当技術分野で周知であり、遺伝子発現を評価するために広く用いられている。脂肪組織についての試験結果は、自己免疫疾患である強皮症に関連する遺伝子（これは強皮症患者で過剰発現される）である、コラーゲンタイプI 1 (COL1A1) が、発現の低下を示したことを示していた。さらに、補体カスケードに関与する遺伝子である補体成分6（その低下したレベルが、動物モデルにおいて、同種移植片の長期生存及び多発性硬化症の弱化と関連することが示されている）が、発現の低下を示した。これらの遺伝子を表2に示す。

20

【0021】

【表2】

表2: TEMPOL投与後に、脂肪組織中で、低下した発現を示す自己免疫疾患関連遺伝子

説明	平均(対照マウス)	平均(Tempol処置したマウス)	P値	変化倍率
コラーゲンタイプIアルファ1(COL1A1)	2153	1688	0.023	-1.28
補体成分6(C6)	626	337	0.001	-1.85

30

【0022】

表1及び2に記載した遺伝子の簡単なまとめを以下に示す。

【0023】

グルココルチコイド誘導性ロイシンジッパー (GILZ)

40

GILZは、健康なマウスのリンパ球とヒトのリンパ造血細胞において発現するロイシンジッパーファミリーの新しく特定されたメンバーであり、2つの転写活性因子（活性化因子タンパク質1 (AP-1) 及び核因子 (NF))の機能を妨害することが示されている。AP-1及びNFの両方とも、免疫反応の動員におけるマクロファージの活性化において重要な役割を演じている。最近の研究は、GILZがマウス及びヒトのマクロファージによって構成的に産生され、産生は、グルココルチコイド及びインターロイキン10 (IL-10) の2つの自然に分泌される免疫抑制剤によって増強されることを実証している (Berrebi et al., Blood 101(2); 729-738 (2003))。GILZは、NFのサブユニットに結合し、かつNF依存性調節エレメントからの転写を防止することが示されており、単球におけるGILZ遺伝子の増大した発現は、免疫抑制グルココ

50

ルチコイドとIL-10の効果を再現することが示された〔すなわち、副刺激分子であるCD80及びCD86の炎症性ケモカイン及びトール様受容体2（これらはNF-κB経路を誘発する）の産生の阻害〕。GILZは、マクロファージの抑制を仲介するので、そのタンパク質は、不適切な又は過剰な宿主免疫反応、例えば、自己免疫疾患及び同種移植拒絶反応などによって特徴づけられる疾患の治療に有用である。

【0024】

表1に示すように、実験用マウスの心臓組織中のGILZの発現は、Tempolで処置した動物で2.3倍増大した。

【0025】

コラーゲンタイプI、アルファI (COL1A1)

タイプIコラーゲンは、ほとんどの結合組織中に存在する、軟骨組織中の唯一のコラーゲン成分であり、骨基質の主要なタンパク質である。それは、強皮症（全身的硬化症として知られている）に罹患している患者の線維芽細胞中で上方制御されていることが示されており、この病気は、結合組織の蓄積の結果として皮膚が厚くなることによって特徴づけられ、かつ消化管、肺、心臓、及び腎臓を含めた内臓に関連する。さらに、免疫を仲介する細胞が、強皮症と関連する線維症の発症に役割を演じているという証拠がある。最近の研究は、強皮症患者から得られた線維芽細胞中で発現しているCOL1A1の発現レベルが抗ガン薬によって下方制御されたことを示している (Louneva et al., *Journal of Biological Chemistry*, 278 (41), 40400-40407頁(2003))。処置を受けたこの線維芽細胞は、COL1A1転写の54%下方制御を示したが、このことはこの疾患を特徴づけている病原性繊維形成の減少を導くと予想されうる。COL1A1は強皮症で過剰発現しているため、この遺伝子の発現レベルの低下を引き起こす薬剤は、有利な効果を有することが予測される。

【0026】

表2に示したように、実験用マウスの脂肪組織中のCOL1A1の発現は、Tempolで処置した動物で1.28倍低下した。

【0027】

補体成分6 (C6)

C6は、補体カスケードの活性化に続く脂質膜上の溶解性の末端複合体中に組み込まれている5種の血漿タンパクの1種である。ラットによる最近の研究は、心臓を移植された主要組織適合複合体不適合性動物がC6を欠く場合には、その動物中に移植した心臓が非常に長く生き残ることを示した。さらに、急速な移植動脈硬化の低下も、C6欠損ラットで実証されている。さらに、C6欠損ラットにおける試験的アレルギー性脳脊髄炎（多発性硬化症の動物モデル）が、ミエリン塩基性タンパク質による免疫を受けた後の正常ラットにおけるものよりも顕著に軽いことが示された (Tran et al., *Journal of Immunology* 168 (2002) 4293-300; Ota et al., *Immunology* 79:3 (2005) 276-291; Qian et al., *Transplantation* 72:5 (2001) 900-906)。これらの研究は、低下したC6レベルが膜攻撃性複合体の低下された活性をもたらすことができ、そのようなC6レベルの低下は、不適切又は過剰な免疫反応によって特徴づけられる疾患、例えば、自己免疫疾患及び同種移植拒絶反応など、の治療に有用である。

【0028】

表2に示したように、実験用マウスの脂肪組織中のC6の発現は、Tempolで処理した動物において1.85倍低下した。

【0029】

〔好ましい態様：自己免疫疾患の予防と治療プロトコル〕

上述したように、Tempolは免疫反応に関連する遺伝子の発現を変える効果を有する。発現が変えられるので、Tempolの投与は、不適切な免疫システムの応答を抑制するのに有利となるように遺伝子産物の濃度を変更することによって、有利な効果を有する。したがって、本発明の好ましい態様では、Tempolが、免疫疾患の発症を予防するために、免疫疾患、例えば自己免疫疾患の症状を全く示していない哺乳動物ホスト、例

10

20

30

40

50

えばヒト、に投与される。特に好ましい患者は、免疫疾患の素因があるか又はリスクがある患者であり、例えば、免疫疾患の家族履歴がある患者又は免疫疾患に関連する遺伝子マーカーもしくは血清マーカーのある患者、自己免疫疾患を引き起こすことが知られている物質に曝される患者、又は免疫応答を引き起こすことが予測される同種移植を受けた患者である。あるいは、Tempolは、患者への免疫疾患の影響を改善するために、免疫疾患を示している患者に投与されうる。この目的のためには、Tempol、その非毒性塩、その酸付加塩、又はその水和物は、通常は経口又は非経口投与によって、全身的に又は局所的に投与されうる。

【0030】

予防又は治療が考えられる具体的な病気には、例えば、グレーブズ病、橋本甲状腺炎、自己免疫多腺性症候群、インスリン依存性真性糖尿病、免疫介在性不妊症、自己免疫性アディソン病、落葉状天疱瘡、疱疹状皮膚炎、白斑、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性血小板減少性紫斑病、悪性貧血、重症筋無力症、多発性硬化症、ギャン-バレー症候群、強皮症、加速された移植後動脈硬化、スティッフマン症候群、急性リウマチ熱、交感性眼炎、グッドパスチャー症候群、全身性エリトマトーデス、関節リウマチ、全身性壊死性血管炎、ヴェーゲナー肉芽腫症、抗リン脂質症候群、シェーグレン症候群、移植片対宿主疾患、クローン病及び結核などの遅延型過敏性反応を含めた疾患、が含まれる。

【0031】

投与される用量は、例えば、年齢、体重、症状、所望する治療効果、投与経路、及び治療の期間に応じて決定される。ヒトの成人では、一回に一人当たりの用量は、一般に経口投与によって、約0.01~約1000mgであり、一日当たり数回以下である。経口投与で意図される特定量の具体例には、約0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40, 0.45, 0.50, 0.55, 0.60, 0.65, 0.70, 0.75, 0.80, 0.85, 0.90, 0.95, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, 280, 285, 290, 295, 300, 305, 310, 315, 320, 325, 330, 335, 340, 345, 350, 355, 360, 365, 370, 375, 380, 385, 390, 395, 400, 405, 410, 415, 420, 425, 430, 435, 440, 445, 450, 455, 460, 465, 470, 475, 480, 485, 490, 495, 500, 505, 510, 515, 520, 525, 530, 535, 540, 545, 550, 555, 560, 565, 570, 575, 580, 585, 590, 595, 600, 605, 610, 615, 620, 625, 630, 635, 640, 645, 650, 655, 660, 665, 670, 675, 680, 685, 690, 695, 700, 705, 710, 715, 720, 725, 730, 735, 740, 745, 750, 755, 760, 765, 770, 775, 780, 785, 790, 795, 800, 805, 810, 820, 825, 830, 835, 840, 845, 850, 855, 860, 865, 870, 875, 880, 885, 890, 895, 900, 905, 910, 915, 920, 925, 930, 935, 940, 945, 950, 955, 960, 965, 970, 975, 980, 985, 990, 995, 1000又はそれより多いmg量が含まれる。一回当たり一人当たりの用量は、一般に非経口投与(好ましくは静脈内投与)により約0.01~約100mg/kgであり、一日あたり数回以下である。意図される特定量の具体例には、約0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40, 0.45, 0.50, 0.55, 0.60, 0.65, 0.70, 0.75, 0.80, 0.85, 0.90, 0.95, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, 280, 285, 290, 295, 300またはそれより多いmg/kgが含まれる。連続的静脈内投与も、約0.01mg/L~約100mg/Lの標的濃度を達成するために、一日当たり1~24時間意図され

10

20

30

40

50

る。この経路を介して意図される特定量の具体例には、約0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40, 0.45, 0.50, 0.55, 0.60, 0.65, 0.70, 0.75, 0.80, 0.85, 0.90, 0.95, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13.5, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 又はそれより多いmg/L量が含まれる。しかし、用いる用量は、様々な条件に左右され、上で特定した範囲よりも少ないか又は多い容量が使用される場合もあり得る。

10

【0032】

Tempolは、例えば、経口投与のための固形製剤、液体製剤、又はその他の製剤、非経口投与のための注入剤、塗布薬、又は座剤などの形態で投与されうる。

【0033】

経口投与のための固体制剤には、圧縮錠、丸薬、カプセル、散剤、及び顆粒が含まれる。カプセルには、ハードカプセル及びソフトカプセルが含まれる。そのような固体組成物中に、Tempolは賦形剤（例えば、ラクトース、マンニトール、グルコース、微結晶性セルロース、澱粉）、結合剤（ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、又はマグネシウムメタシリケートアルミネート）、崩壊剤（例えば、セルロースカルシウムグリコレート）、潤滑剤（例えば、マグネシウムステアレート）、安定化剤、溶解補助剤（例えば、グルタミン酸又はアスパラギン酸）、又はその他のもの、と混合されうる。所望に応じて、薬剤はコーティング剤（例えば、糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、又はヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート）で被覆されているか、又は2つ以上のフィルムで被覆されていてもよい。さらに、被覆には、ゼラチンなどの吸収性物質のカプセル内へ閉じ込めることも含む。

20

【0034】

経口投与のための液体製剤には、医薬として許容可能な溶液、懸濁液、エマルション、シロップ、及びエリキシル剤が含まれる。そのような製剤中に、Tempolは、一般的に用いられる希釈剤（例えば、精製水、エタノール、又はそれらの混合物）中に溶解され、懸濁され、又は乳化される。さらに、そのような液体組成物はまた、湿潤剤もしくは懸濁化剤、乳化剤、甘味剤、香味剤、着色料、保存料、緩衝剤、その他を含んでもよい。

30

【0035】

非経口投与のための注入剤には、溶液、懸濁液、エマルション、及び溶解又は懸濁される固体、が含まれる。注入剤中において、Tempolは、溶媒中に溶解され、懸濁され、及び乳化されることができる。溶媒は、例えば、注入のための蒸留水、生理食塩水、植物油、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、エタノールなどのアルコール、又はそれらの混合物である。さらに注入剤はまた、安定化剤、溶解補助剤（例えば、グルタミン酸、アスパラギン酸、又はPOLYSORBATE 80（登録商標））、懸濁化剤、乳化剤、無痛化剤、緩衝剤、保存料などを含んでもよい。それらは最終工程で滅菌され、又は無菌法によって調製される。それらは、滅菌固体制剤の形態（例えば、凍結乾燥製剤）で製造されてもよく、それらは、注入のための滅菌蒸留水又はその他の溶媒に、使用直前に溶解し、又は滅菌してもよい。

40

【0036】

非経口投与のためのその他の製剤には、Tempolを含有する、外用液体、及び軟膏、塗布剤、吸入剤、スプレー剤、直腸投与用座剤、及び膣投与用ペッサリーが含まれ、当分野で公知の方法によって投与される。

【0037】

スプレー製剤は、希釈剤以外の追加の物質を含むことができる。例えば、安定化剤（例えば、亜硫酸水素ナトリウム）、等張緩衝液（例えば、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、又はクエン酸）である。そのようなスプレー剤の調製については、例えば、米国特

50

許第2868691号明細書又は同3095355号明細書に記載された方法を用いることができる。手短に言えば、本医薬の有効な分配のために有用な小さなエアロゾル粒子径は、噴射剤組成物中に分散された微粒子形態の薬剤を含む自己噴射性組成物を用いることによって得られる。微細に分割した薬物粒子の有効な分散液は、微細化された薬物粒子上のコーティングとして存在する、ごく少量の懸濁化剤の使用で達成されうる。エアロゾル容器からスプレーされた後、エアロゾル粒子から噴射剤が蒸発して、懸濁化剤の薄い膜でコーティングされた細かく分割された薬物粒子が残る。微細化された形態では、平均粒径は約5ミクロン未満である。噴射剤組成物は、懸濁化剤として、オレイルアルコールなどの脂肪アルコールを用いることができる。懸濁化剤の最小量は、全組成物の約0.1~0.2重量%である。懸濁化剤の量は、10ミクロン未満、好ましくは5ミクロン未満の上限の粒子径限度を維持するために、全組成物の約4重量%未満であることが好ましい。用いることができる噴射剤には、ハイドロフルオロアルカン噴射剤及びクロルフルオロカーボン噴射剤が含まれる。乾燥粉末吸入剤も用いることができる。

10

【0038】

〔実施例1〕

自己免疫疾患と診断された70kgの患者に、一日当たり1500mg用量のTempolを180日間投与する。これは単一用量で投与してもよく、あるいは24時間にわたり多数の少ない用量として、投与してもよい。例えば、8時間間隔で3回の500mg用量である。処置に続いて、循環血液中の単球中のグルコルチコイド誘導性ロイシンジッパーのタンパク質レベルが増加し、血漿中の補体成分6と線維芽細胞中のコラーゲンタイプ1A1のタンパク質レベルが低下した。

20

【0039】

〔実施例2〕

70kgの患者に、臓器移植を受ける前の180日間、一日当たり1500mgの用量のTempolを投与した。これは単一用量で投与してもよく、あるいは24時間にわたり多数の少ない用量として、投与してもよい。例えば、8時間間隔で3回の500mg用量である。処置に続いて、循環血液中の単球中のグルコルチコイド誘導性ロイシンジッパーのタンパク質レベルが増加し、血漿中の補体成分6と線維芽細胞中のコラーゲンタイプ1A1のタンパク質レベルが低下した。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US06/03973
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8): A61K 31/513 (2006.01) C07D 239/545 (2006.01) USPC: 514/269;544/309 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) U.S. : 514/269; 544/309 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	BRANDS, et al. Nitric Oxide May Prevent Hypertension Early in Diabetes by Counteracting Renal Actions of Superoxide, 1 December 2003, Hypertension, Vol. 43 No. 1 pages 57-63, see entire document.	1-56
Y	CUZZOCREA et al. Beneficial Effects of Tempol, a Membrane-Permeable Radical Scavenger, in a Rodent Model of Collagen-Induced Arthritis, February 2000, Arthritis and Rheumatism, Vol 43, No. 2 pages 320-328	1-56
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"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
"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)	"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
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"Z" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 19 June 2007 (19.06.2007)		Date of mailing of the international search report 16 JUL 2007
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer Donna Jagoe <i>Julia Jackson</i> Telephone No. (571) 272-0600 <i>Don</i>

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US06/03973

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:

STN, file Reg, File Medicine, search terms, tempol, nitroxide antioxidant, autoimmune, diabetes, rheumatoid arthritis, collagen, Graves, Hashimoto's, Addison's, pemphigus, dermatitis herpetiformis, vitiligo, hemolytic anemia, multiple sclerosis, myasthenia gravis, stiff man, Sjogren's, scleroderma, vasculitis, arteriosclerosis, graft host, Crohn's, tuberculosis.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P	7/06 (2006.01)	A 6 1 P 7/06	
A 6 1 P	7/04 (2006.01)	A 6 1 P 7/04	
A 6 1 P	21/04 (2006.01)	A 6 1 P 21/04	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P	27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P	31/06 (2006.01)	A 6 1 P 31/06	
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	

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

(72)発明者 ルイス・ハバッシュ

アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 2 6 5 7・ニューポート・コースト・シュガー・パイン・ロード・1 2

(72)発明者 クラレンス・ジョーンズ

アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 2 6 4 6・ハンティングトン・ビーチ・モスフォード・ドライブ・8 6 0 2

Fターム(参考) 4C054 AA02 BB03 CC07 DD04 DD08 EE01 FF24
 4C086 AA01 AA02 BC21 MA01 MA04 NA14 ZA02 ZA33 ZA45 ZA53
 ZA55 ZA66 ZA81 ZA94 ZB07 ZB11 ZB15 ZB35 ZC35